



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1908005 B

(45) 授权公告日 2010.05.12

(21) 申请号 200610010399.7

CN 1570633 A, 2005.01.26, 全文.

(22) 申请日 2006.08.11

CN 1110279 A, 1995.10.18, 全文.

(73) 专利权人 哈尔滨医科大学

审查员 姜涛

地址 150086 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健
路 157 号

(72) 发明人 杜智敏 张波

(74) 专利代理机构 哈尔滨市松花江专利商标事
务所 23109

代理人 单军

(51) Int. Cl.

C07K 1/30 (2006.01)

(56) 对比文件

EP 1170593 A2, 2002.01.09, 全文.

CN 1276725 A, 2000.12.13, 全文.

权利要求书 1 页 说明书 2 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种复合蛋白沉淀剂

(57) 摘要

一种复合蛋白沉淀剂,它涉及一种蛋白沉淀剂。它解决了现有单一组分蛋白沉淀剂蛋白沉淀率低、提取分离效果差,10%的三氯醋酸与6%的高氯酸酸性过强对色谱柱损害大及采用液-液萃取法提取生物样本中药物耗时长、操作繁琐、样本损耗大的缺陷。复合蛋白沉淀剂按重量份数由1~1.5份纯度为分析纯的5-磺基水杨酸、75~85份纯度为分析纯的甲醇和15~25份蒸馏水制成。所发明的复合蛋白沉淀剂的蛋白沉淀率达99%以上,pH呈弱酸性对色谱柱损害小。使用本发明的复合蛋白沉淀剂,蛋白沉淀与生物样本中的药物提取分离一步完成,操作简单,用时少,样本中药物成分损耗少,药物提取回收率达70%以上,大大提高了体内药物分析的效率与准确性,能够满足药物研究的需要。

1. 一种复合蛋白沉淀剂,其特征在于复合蛋白沉淀剂按重量份数由 1 ~ 1.5 份纯度为分析纯的 5- 磺基水杨酸、75 ~ 85 份纯度为分析纯的甲醇和 15 ~ 25 份蒸馏水制成。

2. 根据权利要求 1 所述的复合蛋白沉淀剂,其特征在于复合蛋白沉淀剂按重量份数由 1.1 ~ 1.4 份纯度为分析纯的 5- 磺基水杨酸、76 ~ 84 份纯度为分析纯的甲醇和 16 ~ 24 份蒸馏水制成。

3. 根据权利要求 1 所述的复合蛋白沉淀剂,其特征在于复合蛋白沉淀剂按重量份数由 1.2 ~ 1.3 份纯度为分析纯的 5- 磺基水杨酸、78 ~ 82 份纯度为分析纯的甲醇和 18 ~ 22 份蒸馏水制成。

4. 根据权利要求 1 所述的复合蛋白沉淀剂,其特征在于复合蛋白沉淀剂按重量份数由 1.2 份纯度为分析纯的 5- 磺基水杨酸、80 份纯度为分析纯的甲醇和 20 份蒸馏水制成。

一种复合蛋白沉淀剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种蛋白沉淀剂。

背景技术

[0002] 现有的有机溶剂蛋白沉淀剂、酸性或碱性蛋白沉淀剂与重金属蛋白沉淀剂多为单一组分,蛋白沉淀率低,提取分离效果差。虽然,10%的三氯醋酸与6%的高氯酸有较高的蛋白沉淀率,与样本等体积的情况下蛋白沉淀率达98.5%~99.5%,但存在酸性过强,对色谱柱损害大,成本高的问题;而采用液-液萃取法进行生物样本中的药物提取,耗时长、操作繁琐、样本中药物成分损耗大,极大的影响了体内药物分析的效率与准确性,不能满足快速、准确提供实验数据的需要。

发明内容

[0003] 本发明的目的是为了解决现有单一组分蛋白沉淀剂蛋白沉淀率低、提取分离效果差,10%的三氯醋酸与6%的高氯酸酸性过强对色谱柱损害大、成本高以及采用液-液萃取法提取生物样本中药物耗时长、操作繁琐、样本损耗大的缺陷,从而提供了一种复合蛋白沉淀剂。复合蛋白沉淀剂按重量份数由1~1.5份纯度为分析纯的5-磺基水杨酸、75~85份纯度为分析纯的甲醇和15~25份蒸馏水制成。本发明复合蛋白沉淀剂配制简单,组分少,蛋白沉淀率高,达99%以上。本发明复合蛋白沉淀剂pH呈弱酸性,对色谱柱损害小(样本PH<2.5对色谱柱损害大),成本低。使用本发明的复合蛋白沉淀剂,蛋白沉淀与生物样本中的药物提取分离一步完成,操作简单,用时少,样本中药物成分损耗少,药物提取回收率达70%以上,大大提高了体内药物分析的效率与准确性,能够满足药物研究的需要。

附图说明

[0004] 图1是经浓度为6%的高氯酸处理的空白血浆色谱图,图2是经复合蛋白沉淀剂处理的空白血浆色谱图。

具体实施方式

[0005] 具体实施方式一:本实施方式为复合蛋白沉淀剂按重量份数由1~1.5份纯度为分析纯的5-磺基水杨酸、75~85份纯度为分析纯的甲醇和15~25份蒸馏水制成。

[0006] 本实施方式将纯度为分析纯的5-磺基水杨酸、纯度为分析纯的甲醇和蒸馏水按重量份数比混合、溶解后即可使用。

[0007] 本实施方式复合蛋白沉淀剂应用于盐酸塞利洛尔等心血管类药物生物样本的前处理,以便进行反相高效液相色谱分析。生物样本(血浆)的处理步骤:

[0008] (一)按1:1的体积比将生物样本与本实施方式复合蛋白沉淀剂混合、振荡;

[0009] (二)离心,蛋白沉淀,取上清液进行液相色谱分析,分析生物样本中的药物成分。

[0010] 生物样本经本实施方式复合蛋白沉淀剂沉淀后高效液相色谱分析的精密度高于

现有其它蛋白沉淀剂采用液-液萃取后高效液相色谱分析的精密度。对几种蛋白沉淀剂进行比较,结果如表 1 所示。

[0011] 表 1

[0012]

蛋白沉淀剂	上清液 pH 值	蛋白沉淀率 (与样本等体积)	对色谱柱的影响
10%三氯醋酸	1.4~2.0	>99.3%	影响大
6%高氯酸	<1.5	>98.3%	影响大
甲醇	8.5~9.5	>30%	无影响
复合蛋白沉淀剂	3.0~3.5	>99%	影响小

[0013] 分别以浓度为 6% 的高氯酸和本实施方式复合蛋白沉淀剂为蛋白沉淀剂对空白血浆生物样本进行沉淀,然后再进行液相色谱分析,检测波长:254nm,流动相:甲醇:H₂O(65:35,色谱柱:C₁₈柱,流速:1mL/min,运行时间:10min,进样量:20μL。色谱分析结果如图 1 和图 2 所示,血浆杂质峰均在开始后 4.5 分钟内出现,其后无任何杂质峰干扰,说明复合蛋白沉淀剂的应用有利于药物样品与杂质的分离测定。

[0014] 具体实施方式二:本实施方式与具体实施方式一的不同点是:复合蛋白沉淀剂按重量份数由 1.1~1.4 份纯度为分析纯的 5-磺基水杨酸、76~84 份纯度为分析纯的甲醇和 16~24 份蒸馏水制成。其它步骤与实施方式一相同。

[0015] 具体实施方式三:本实施方式与具体实施方式一的不同点是:复合蛋白沉淀剂按重量份数由 1.2~1.3 份纯度为分析纯的 5-磺基水杨酸、78~82 份纯度为分析纯的甲醇和 18~22 份蒸馏水制成。其它步骤与实施方式一相同。

[0016] 具体实施方式四:本实施方式与具体实施方式一的不同点是:复合蛋白沉淀剂按重量份数由 1.2 份纯度为分析纯的 5-磺基水杨酸、80 份纯度为分析纯的甲醇和 20 份蒸馏水制成。其它步骤与实施方式一相同。

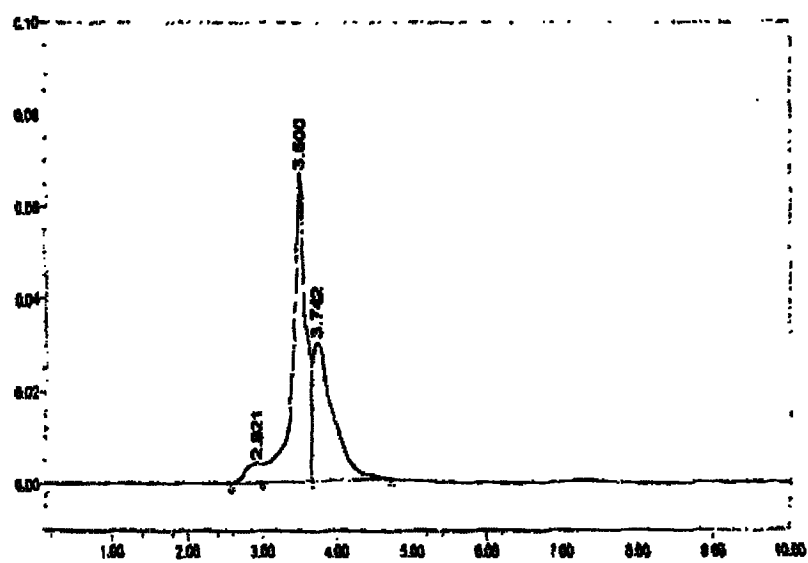


图 1

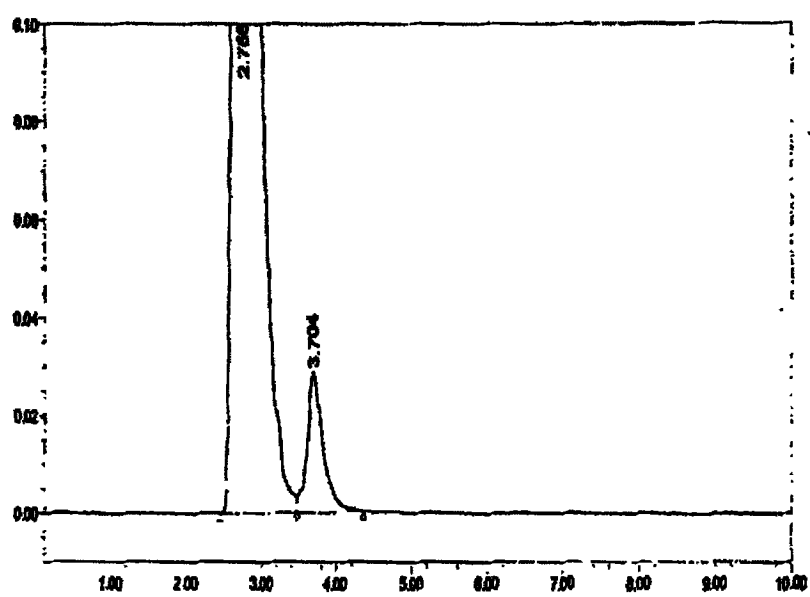


图 2