



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101852801 A

(43) 申请公布日 2010.10.06

(21) 申请号 201010171825.1

(22) 申请日 2010.05.14

(71) 申请人 中国药科大学

地址 211198 江苏省南京市江宁区龙眠大道
639 号

(72) 发明人 余伯阳 王晶 刘吉华

(51) Int. Cl.

G01N 33/566 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种菝葜皂苷元含量的 ELISA 测定方法

(57) 摘要

本发明公开了检测菝葜皂苷元含量的酶联免疫分析方法,涉及菝葜皂苷元抗体的制备,酶联免疫分析方法的建立及其在含有菝葜皂苷元中药材或相关样品含量测定中的应用。本发明用与载体蛋白偶联的菝葜皂苷元作为完全抗原,获得针对菝葜皂苷元的抗体,并且用于药材及相关样品中菝葜皂苷元含量的测定。目的是提供一种新的菝葜皂苷元检测分析方法。本分析方法灵敏度高,样品前处理简单,测定过程简便,快速,适合于研究单位,检验部门,贸易大批量样品分析检测的需要。

1. 一种菝葜皂苷元含量的酶联免疫 (ELISA) 测定方法,其特征就在于主要步骤如下:
 - 第一步、琥珀酸酐和菝葜皂苷元反应使菝葜皂苷元羧基化;
 - 第二步、采用活泼酯法将菝葜皂苷元琥珀酰衍生物与 N,N'-二环己基碳酰亚胺,N-羟基丁二酰亚胺,在 N,N-二甲基甲酰胺中搅拌反应 2-8 小时,最后与 10-50mg 载体蛋白搅拌反应 4-48 小时,生成免疫抗原;
 - 第三步、用免疫抗原免疫动物,获得抗菝葜皂苷元的多克隆抗体;
 - 第四步、检测抗体效价;
 - 第五步、建立间接竞争 ELISA 分析方法,用此方法检测中药材及相关样品中菝葜皂苷元的含量。
2. 根据权利要求 1 所述的菝葜皂苷元含量的 ELISA 测定方法,其特征是:所述第一步包括以下步骤:
 - A. 菝葜皂苷元 10-200mg,琥珀酸酐 0.1-4g,吡啶 1-2mL,60-100℃水浴反应 4-10 小时;
 - B. 反应后产物经过溶剂萃取,凝胶柱纯化,得到白色粉末。
3. 根据权利要求 2 所述的菝葜皂苷元含量的 ELISA 测定方法,其特征是:所述第二步中,载体蛋白为牛血清白蛋白,羧基化后的菝葜皂苷元与牛血清白蛋白偶联产物作为免疫抗原。
4. 根据权利要求 2 所述的菝葜皂苷元含量的 ELISA 测定方法,其特征是:所述第二步中,载体蛋白为卵清白蛋白,羧基化后的菝葜皂苷元与卵清白蛋白偶联产物作为检测抗原。
5. 根据权利要求 1 所述的菝葜皂苷元含量的 ELISA 测定方法,其特征是:其检测过程是包被酶标板,封闭酶标板,酶标板中加入待测药物和抗体,加入酶标二抗,底物显色,终止反应测定吸光值包含有能特异性识别菝葜皂苷元的免疫球蛋白。
6. 根据权利要求 5 所述的菝葜皂苷元含量的 ELISA 测定方法,其特征是:所述免疫球蛋白来自兔。
7. 根据权利要求 1 所述的菝葜皂苷元含量的 ELISA 测定方法,其特征是:第五步所述的分析方法为间接竞争 ELISA。

一种菝葜皂苷元含量的 ELISA 测定方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测菝葜皂苷元 (Sarsasapogenin, 简写 SAR) 含量的方法, 具体说来就是用酶联免疫的分析方法定量检测药材及相关样品中 SAR 的含量, 此方法特别适合于大批量样本中 SAR 含量的快速检测。属于酶联免疫领域的一种新的快速检测方法。

背景技术

[0002] 知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎。SAR 为知母中的代表性甾体皂苷元, 具有多种药理活性, 能提高记忆, 抗抑郁, 抗肿瘤。

[0003] 由于 SAR 无紫外吸收, 目前对其的检测方法主要是比色法、薄层扫描法和高效液相色谱-蒸发光散射检测法 (HPLC-ELSD)。这些方法灵敏度低, 步骤繁琐耗时, 制约了该微量成份的快速分析检测, 也制约了其在体内作用机理方面的深入研究。比色法检测易受糖类物质的干扰, 误差大, 只能测定能被显色剂显色的总皂苷类成分, 无法用于药材鉴定、中药复方及生物样品中该类化合物的测定; HPLC-ELSD 对皂苷类的检测前期处理程序复杂, 灵敏度较低, 且需要样品与杂质的分离, 难以满足该类成分吸收、代谢等研究; 高效液相色谱-紫外检测器 (HPLC-UV) 方法采用末端吸收测定, 干扰大, 不易获得准确结果。因而目前的检测方法难以满足该类成分在药材、复方及体内过程中快速、微量特异性检测的需求, 严重制约了含此活性成分药物的质量控制、作用机理等方面的研究, 至今国内外对这类化合物吸收、代谢、分布及其作用机制研究鲜有报道。

[0004] ELISA 这种新的分析方法, 具有灵敏、快速、样品前处理简单, 利于批量测定的优点。这种新的分析方法, 不需要高效液相色谱、液质联用等仪器分析中对样品前处理的要求, 也不需高效液相分析中样品与杂质分离。因而它的优势是比 HPLC-ELSD 更加灵敏, 省时方便, 尤其是在大批量样品的分析中。建立 SAR 快速、微量特异性检测方法, 对于含有该活性成分中药及复方质量控制和临床用药监测、探索 SAR 作用机理及研究化学成分清晰、作用机理明确的现代中药具有重要的理论和现实意义。

发明内容

[0005] 本发明要解决技术问题是: 为了克服现有分析技术的不足, 提供一种灵敏、快速、有效的检出 SAR 的方法。

[0006] 本发明所解决的问题:

[0007] 1. 知母药材中 SAR 含量的 ELISA 检测方法。

[0008] 2. 药材中 SAR 的含量测定及生物样本中微量测定。

[0009] 3. 现有分析方法灵敏度低, 步骤繁琐的问题。

[0010] 实现本目的的方法: 载体蛋白与 SAR 偶联形成的完全抗原用于免疫动物, 另一种载体蛋白与 SAR 偶联形成的完全抗原用作固相抗原间接竞争酶联免疫法测定药材中 SAR 的含量。

[0011] 本发明 SAR 含量的 ELISA 测定方法, 其特征在于主要步骤如下:

[0012] 第一步、琥珀酸酐和 SAR 反应使 SAR 羧基化；

[0013] 第二步、采用活泼酯法将 SAR 琥珀酰衍生物与 N,N'-二环己基碳酰亚胺, N-羟基丁二酰亚胺, 在 N,N-二甲基甲酰胺中搅拌反应 2-8 小时, 最后与 10-50mg 载体蛋白搅拌反应 4-48 小时, 生成免疫抗原；

[0014] 第三步、用免疫抗原免疫动物, 获得 SAR 的多克隆抗体；

[0015] 第四步、检测抗体效价；

[0016] 第五步、建立间接竞争 ELISA 分析方法, 用此方法检测中药材及相关样品中 SAR 的含量。

[0017] 其中, 第一步包括以下步骤：

[0018] A. SAR 10-200mg, 琥珀酸酐 0.1-4g, 吡啶 1-2mL 60-100℃水浴反应 4-10 小时；

[0019] B. 反应后产物经过溶剂萃取, 凝胶柱纯化, 得到白色粉末。

[0020] 所述第二步中, 载体蛋白为牛血清白蛋白, 羧基化后的 SAR 与牛血清白蛋白偶联产物作为免疫抗原。

[0021] 所述第二步中, 载体蛋白为卵清白蛋白, 羧基化后的 SAR 与卵清白蛋白偶联产物作为检测抗原。

[0022] 本发明采用琥珀酸酐法将 SAR 衍生化成 SAR 琥珀酰酯, 再采用活泼酯法与牛血清白蛋白 (BSA) 和卵清白蛋白 (OVA) 分别偶联成完全抗原后免疫新西兰大耳兔, 产生多克隆抗体。以 SAR 偶联 OVA 的作为包被抗原, SAR 偶联 BSA 的作为免疫抗原, 间接 ELISA 法检测抗体的效价, 间接竞争 ELISA 方法作为检测样品中 SAR 含量的方法。此 ELISA 分析方法检测的线性范围为 20 ~ 1311ng/mL。与其它结构类似的甾体皂苷元有一定程度的交叉反应。SAR 加样回收实验表明重复性好、准确度高、达到生物分析的要求。且此测定含量方法与 HPLC-ELSD 具有良好的相关性。

[0023] 在本发明的第一方面, 提供一种 SAR 完全抗原的合成方法。

[0024] 在本发明的第二方面, 提供一种免疫球蛋白, 其特征在于, 是一种能特异性结合 SAR 的多克隆抗体, 此免疫球蛋白来源于兔。

[0025] 在本发明的第三方面, 提供了一种基于此多克隆抗体的 ELISA 检测方法。

[0026] 在本发明的第四方面, 提供了基于此 SAR 多克隆抗体的 ELISA 检测方法的用途, 它被应用于含有 SAR 的样品如中药知母、大鼠血浆等样品中 SAR 含量的测定。

[0027] 在本发明的基础上, 可制备成皂苷元 ELISA 检测试剂盒, 用于大批量样本的快速、简便的检测。

[0028] 本发明具有以下优点：

[0029] 1. 检测的灵敏度高, 所需样品量少。

[0030] 2. 检测过程简化, 检测时间短, 尤其适合大批量样品的同时检测。

[0031] 3. 仪器设备成本低, 只需酶标仪, 因此投入少、成本低。

[0032] 本发明可为质检部门, 加工生产企业提供大批量检测药材中 SAR 含量的方法。

附图说明

[0033] 图 1 是大鼠灌胃 SAR 后血药浓度随时间变化曲线

具体实施方式

[0034] 材料：

[0035] 试剂：琥珀酸酐（国药集团化学试剂有限公司），N, N' - 二环己基碳酰亚胺（简称 DCC）、N- 羟基丁二酰亚胺（简称 NHS）、弗氏不完全佐剂、弗氏完全佐剂均为 Sigma 产品，SAR（纯度 > 98%，购自芜湖贰尔塔医药科技公司），HRP 标记羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥，TMB 为 Amresco 产品。甲醇为色谱纯，N, N- 二甲基甲酰胺（简称 DMF）购自江苏永华精细化学品有限公司。

[0036] 动物：新西兰大耳兔购自南通大学实验动物中心，SD 大鼠购自扬州大学比较医学中心。莪莪皂苷元酶联免疫分析方法的建立过程和检测过程如下：

[0037] 实施例 1

[0038] 抗 SAR 多克隆抗体的制备

[0039] 1. 完全抗原的合成：

[0040] (1) SAR 与 BSA 偶联产物的制备（用于免疫动物）：

[0041] SAR 50mg, 丁二酸酐 1g, 1ml 吡啶沸水浴回流 8 小时，产物用氯仿溶解，水萃取 3 次（每次 25mL），收集合并氯仿层。再用活泼酯法将 SAR 琥珀酰衍生物（SAR-HS）分别和 BSA 和 OVA 偶联。具体方法为：SAR-HS 12mg, DCC 19mg, NHS 13mg, 1ml 的 DMF 中室温磁力搅拌反应 4 小时。此反应产物加到含有 30mgBSA 的 10mlPBS 中，室温磁力搅拌反应过夜。反应后的产物经双蒸水 4 度透析 72 小时，冻干即得 SAR-HS-BSA 的复合物。

[0042] (2) SAR 与 OVA 偶联产物的制备（用作 ELISA 检测抗原）：

[0043] SAR 50mg, 丁二酸酐 1g, 1ml 吡啶沸水浴回流 8 小时，产物用氯仿溶解，水萃取 3 次（每次 25mL），收集合并氯仿层。再用活泼酯法将 SAR-HS 分别和 BSA 和 OVA 偶联。具体方法为：SAR-HS 12mg, DCC 19mg, NHS 13mg, 1ml 的 DMF 中室温磁力搅拌反应 4 小时。此反应产物加到含有 23mgOVA 的 10mlPBS 中，室温磁力搅拌反应过夜。反应后的产物经双蒸水 4℃ 透析 72 小时，冻干即得 SAR-HS-BSA 的复合物。

[0044] 2. 多克隆抗体的制备

[0045] 新西兰大耳兔，皮下多点注射 1mg SAR-HS-BSA 和弗氏完全佐剂混合后的乳剂。此后的加强免疫剂量同上，注射 SAR-HS-BSA 和弗氏不完全佐剂混合后的乳剂。加强免疫后的第 10 天取血测效价。6 次免疫后，收集兔血清。

[0046] 3. 抗体效价的检测：

[0047] 采用间接 ELISA 方法：

[0048] 1) 包被抗原包被酶联板，4℃ 过夜。

[0049] 2) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，封闭液封闭 1 小时。

[0050] 3) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，加入从 1 : 1000 开始倍比稀释的抗血清，37 度反应 2 小时。

[0051] 4) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，加入 HRP 标记的羊抗小鼠 IgG, 37 度反应 1 小时。

[0052] 5) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，加底物溶液，37 度避光显色 20 分钟。

[0053] 6) 2M H₂SO₄ 终止反应。酶标仪 450nm 读数。

[0054] 根据抗体效价判定原则：阳性 (P)，阴性 (N)，P/N > 2.1, P-N > 0.2, 6 免后抗体效

价达到 32000。

[0055] 实施例 2

[0056] 间接竞争 ELISA 分析方法的建立

[0057] 1. ELISA 检测线性范围的确定

[0058] 1) 包被抗原包被酶联板, 4℃ 过夜。

[0059] 2) 弃去板中液体, PBST 洗 3 遍后, 封闭液封闭 1 小时。

[0060] 3) 弃去板中液体, PBST 洗 3 遍后, 同时加入 SAR 标准品配成的 5000ng/mL, 1000ng/mL, 500ng/mL, 100ng/mL, 50ng/mL, 10ng/mL, 5ng/mL 的各浓度梯度溶液和 SAR 多克隆抗体, 37 度反应 2 小时。

[0061] 4) 弃去板中液体, PBST 洗 3 遍后, 加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG, 37 度反应 1 小时。

[0062] 5) 弃去板中液体, PBST 洗 3 遍后, 加底物溶液, 37 度避光显色 20 分钟。

[0063] 6) 2M H₂SO₄ 终止反应。酶标仪 450nm 读数。

[0064] 加入竞争药物 SAR 时的吸光值为 B, 不加 SAR 的吸光值为 B₀, B/B₀ 为纵坐标, 竞争药物浓度的对数值为横坐标, 得到竞争抑制曲线。以 $\ln((B/B_0)/(1-B/B_0))$ 为纵坐标, 竞争药物浓度的对数值为横坐标作图, 得到直线方程: $y = -1.5337x + 3.3954$, 在 20 ~ 1311ng/mL 范围内线性良好, R² = 0.9868。

[0065] 2. 多克隆抗体特异性分析

[0066] 按上述 3 中的方法, 将第 3 步反应各浓度的 SAR 标准品替换成其它结构类似的标准品, 其它步骤同上。抗体的交叉反应测定结果如下:

[0067] 表 1 菝葜皂苷元多克隆抗体交叉反应实验

[0068]

化合物	交叉反应率 (%)
SAR	100
鲁斯可皂苷元	23
薯蓣皂苷元	22
短亭山麦冬皂苷 C	26
甘草酸二铵	<0.01
三七皂苷 R1	<0.01

[0069] 3. ELISA 检测方法与 HPLC-ELSD 检测方法的相关性:

[0070] 色谱条件: 采用 Diamonsil 柱 (250×4.6mm, 5 μ); Shimadzu LC-10A 型高效液相色谱仪;

[0071] Alltech 2000ES 型蒸发光检测器。

[0072] 甲醇-水 (95 : 5) 为流动相; 流速为 1.0mL/min; 漂移管温度: 63℃; 载气流速: 1.7L/min。对照品溶液稀释成浓度为 100 μg/mL, 150 μg/mL, 200 μg/mL, 250 μg/mL, 300 μg/mL, 350 μg/mL 的溶液, 用 HPLC-ELSD 测定, 此各浓度溶液稀释 500 倍后, 用 ELISA 测定, 考察 ELSD 测定值和 ELISA 测定值之间的相关性。

[0073] 各浓度梯度样品 ELISA 测定结果与 ELSD 的测定结果基本一致, 具有相关性, 相关

性方程为 $y = 1.0108x - 11.711$, $R^2 = 0.9853$ 。

[0074] 实施例 3

[0075] 中药知母中 SAR 含量的 ELISA 测定

[0076] 1. 知母药材处理方法：

[0077] 取知母药材，粉碎，过 60 目筛，精密称取药材粉末 0.5g，置具塞锥形瓶中，加入甲醇 25mL，静置过夜，超声处理 40min，过滤，精密量取续滤液 10mL，加入 10% 盐酸加热回流 2 小时，提取液加入 40% NaOH 中和。氯仿萃取两次，每次 30mL。合并氯仿层，回收溶剂，残渣用甲醇溶解定容至 2mL。

[0078] 2. 重复性试验

[0079] 精密称取知母药材粉末 0.5g，平行 6 份，按知母药材处理方法制备供试品溶液，间接竞争 ELISA 法测定含量，计算 6 份药材含量之间的 RSD 值。同一来源知母样品 6 份，测得 SAR 含量为 0.6%，RSD 值为 3.7%。

[0080] 3. 加样回收试验：

[0081] 精密称取知母药材粉末 0.25g，平行 9 份，置具塞锥形瓶中，精密加入 SAR 标准品 0.9mg、1.5mg、2.1mg，制备供试品溶液，间接竞争 ELISA 方法测定含量，计算回收率和日内精密密度。同时精密称取知母药材粉末 0.25g，连续 3 天精密加入 0.9mg SAR，测定含量，计算日间变异系数。

[0082] 表 2 ELISA 测定 SAR 加样回收率 (n = 3)

[0083]

添加量(mg)	SAR测量值(mg) _a	RSD(%) _b	回收率(%) _c
0.9	2.33±0.10	4.3	92.2
1.5	2.94±0.10	3.4	95.9
2.1	3.54±0.09	2.5	96.9

[0084] a SAR 测量值为 3 份样品的平均值 ±SD ;b 相对标准偏差；

[0085] c 加样回收率计算公式：回收率 (%) = (测定值 - 1.5) / 添加量 × 100

[0086] 4. 知母药材中 SAR 含量测定：

[0087] 不同产地知母药材样品处理方法如上所述，各样品溶液用 ELISA 方法和 ELSD 方法同时测定。

[0088] 间接竞争 ELISA 测定含量步骤如下：

[0089] 1) 包被抗原包被酶联板，4℃ 过夜。

[0090] 2) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，封闭液封闭 1 小时。

[0091] 3) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，同时加入 SAR 标准品配成的标曲各浓度梯度溶液，适当稀释的待测样品和 SAR 多克隆抗体，37 度反应 2 小时。

[0092] 4) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG，37 度反应 1 小时。

[0093] 5) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，加底物溶液，37 度避光显色 20 分钟。

[0094] 6) 2M H₂SO₄ 终止反应。酶标仪 450nm 读数。

[0095] 每份样品检测 3 次取平均值，根据样品稀释倍数和 OD 值，由标准曲线计算出样品的含量。每块 96 孔板，可同时检测 20 份以上的样品。测定结果如下表：

[0096] 表 3 ELISA 和 HPLC-ELSD 方法测定不同产地知母药材中 SAR 含量($\bar{X} \pm SD$)

[0097]

样品	浓度	
	ELISA (mg/g)	HPLC-ELSD (mg/g)
湖南	2.01±0.10	1.94±0.03
吉林	2.93±0.06	2.82±0.03
河北	11.51±0.16	11.96±0.06
安徽	6.00±0.22	5.77±0.22
山西	9.89±0.21	9.20±0.10

[0098] 实施例 4

[0099] 大鼠血浆中 SAR 含量测定：

[0100] 1. 血浆标曲的建立：

[0101] 10 μ L 不同浓度的 SAR 标准品溶液加入到大鼠空白血清中，涡旋仪上涡旋混合 20s，配成 5000ng/mL, 1000ng/mL, 500ng/mL, 100ng/mL, 50ng/mL, 10ng/mL 的血浆标曲溶液。

血浆标曲的 ELISA 建立步骤：

[0102] 1) 包被抗原包被酶联板，4℃ 过夜。

[0103] 2) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，封闭液封闭 1 小时。

[0104] 3) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，同时加入 SAR 标准品配成的血浆标曲各浓度梯度溶液和 SAR 多克隆抗体，37 度反应 2 小时。

[0105] 4) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG，37 度反应 1 小时。

[0106] 5) 弃去板中液体，PBST 洗 3 遍后，加底物溶液，37 度避光显色 20 分钟。

[0107] 6) 2M H_2SO_4 终止反应。酶标仪 450nm 读数。

[0108] 以血浆中加入竞争药物 SAR 时的吸光值为 B，不加 SAR 的吸光值为 B_0 ， B/B_0 为纵坐标，竞争药物浓度的对数值为横坐标，得到竞争抑制曲线。以 $\ln((B/B_0)/(1-B/B_0))$ 为纵坐标，竞争药物浓度的对数值为横坐标作图，得到直线方程： $y = -1.1097x + 1.8125$ ，在 2.4-763ng/mL 范围内线性良好， $R^2 = 0.9879$ 。

[0109] 2. 血浆加样回收实验：

[0110] 200 μ L 空白大鼠血浆中，添加 10 μ L 的 SAR 标准品，使配成终浓度为 500ng/mL, 100ng/mL, 10ng/mL 的血浆样品溶液。采用间接竞争 ELISA 方法测定。此各浓度样品连续 3 天测定。计算日内日间精密度以及回收率。结果如表 4 所示：

[0111] 表 4 ELISA 测定大鼠血浆中 SAR 含量的精密度和准确度

[0112]

	添加量(ng/mL)	测定值 (ng/mL) ^a	回收率 (%) ^b	变异系数 (%) ^c
日内	10	9.1±0.7	91.0	8.3
	100	92.7±6.3	92.7	6.8
	500	480.9±15.1	96.2	3.1
日间	10	8.9±1.3	89.0	14.1
	100	89.7±7.1	89.7	7.9
	500	460.1±27.8	92.0	6.0

[0113] a 测定值=平均值 ±SD (n = 6)

[0114] b 回收率= SAR 测定值 /SAR 添加量 ×100%

[0115] c 变异系数

[0116] 3. 大鼠灌胃 SAR 后血浆中 SAR 含量测定：

[0117] SD 大鼠 6 只，提前 12 小时禁食，口服灌胃 SAR100mg/kg，分别于给药后 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72h 取血。血浆样本 8000rpm 离心 10 分钟，上层血清 -20℃ 保存。采用上述间接竞争 ELISA 方法测定血药浓度，计算的药代动力学参数如表 5 所示，血药浓度随时间变化见附图。

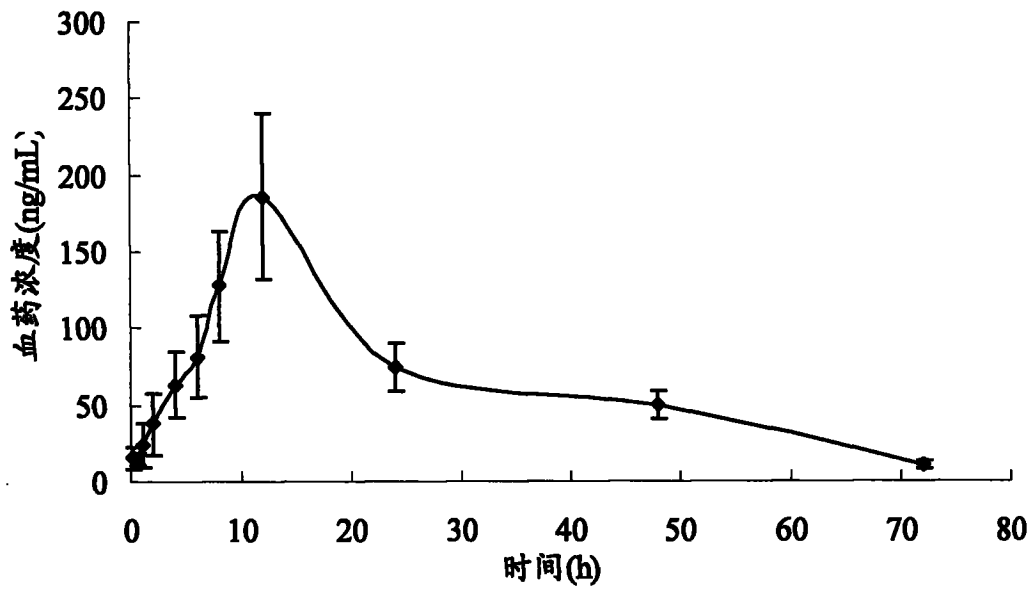
[0118] 表 5 大鼠灌胃 SAR100mg/kg 后药代动力学参数

[0119]

参数	测定值
AUC _(0-t) (ng/mL×h)	4899.055
AUC _(0-∞) (ng/mL×h)	5207.945
t _{1/2} (h)	17.719
t _{max} (h)	12
MRT _(0-t) (h)	24.902

[0120]

MRT _(0-∞) (h)	29.301
CL/F (L/h/kg)	19.797
C _{max} (ng/mL)	185.719



附图

专利名称(译)	一种菝葜皂苷元含量的ELISA测定方法		
公开(公告)号	CN101852801A	公开(公告)日	2010-10-06
申请号	CN201010171825.1	申请日	2010-05-14
[标]申请(专利权)人(译)	中国药科大学		
申请(专利权)人(译)	中国药科大学		
当前申请(专利权)人(译)	中国药科大学		
[标]发明人	余伯阳 王晶 刘吉华		
发明人	余伯阳 王晶 刘吉华		
IPC分类号	G01N33/566 G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了检测菝葜皂苷元含量的酶联免疫分析方法，涉及菝葜皂苷元抗体的制备，酶联免疫分析方法的建立及其在含有菝葜皂苷元中药材或相关样品含量测定中的应用。本发明用与载体蛋白偶联的菝葜皂苷元作为完全抗原，获得针对抗菝葜皂苷元的抗体，并且用于药材及相关样品中菝葜皂苷元含量的测定。目的是提供一种新的菝葜皂苷元检测分析方法。本分析方法灵敏度高，样品前处理简单，测定过程简便，快速，适合于研究单位，检验部门，贸易大批量样品分析检测的需要。

化合物	交叉反应率 (%)
SAR	100
鲁斯可皂苷元	23
薯蓣皂苷元	22
短亭山麦冬皂苷 C	26
甘草酸二铵	<0.01
三七皂苷 R1	<0.01