

疤痕平霜中超氧化歧化酶(SOD)的活力测定

倪维芳 孙建伟 (浙江省药品检验所, 杭州 310004)

摘 要 用微量连苯三酚法测定疤痕平霜中SOD的活力, 操作简便, 结果准确, 平均回收率为 97.7% ($n=5$), 相对标准偏差为 3.7%。

关键词 超氧化歧化酶; 醋酸曲安缩松; 霜剂; 中药; SOD

疤痕平霜是采用超氧化歧化酶、醋酸曲安缩松及止痒中药等研制而成的一种新型霜剂, 具有消炎、止痒、镇痛, 防治皮肤疤痕增生及皮肤色素沉着之功效。关于本品中 SOD 活力测定方法现未见报道, 本文利用微量连苯三酚法^[1]测定本品中 SOD 活力, 具有较好的准确性、稳定性及重现性。

1 仪器与试液

- 1.1 UV-7530 型紫外分光光度计 (上海分析仪器厂)
- 1.2 J2-21 型高速冷冻离心机 (美国 BECKMAN 公司)
- 1.3 pHs-99 型智能酸度计 (杭州华光无线电厂)

1.4 连苯三酚试液：取本品用盐酸液 (0.01 mol/L) 配制成含连苯三酚 0.045 mol/L 浓度的溶液。

1.5 SOD 对照品 (华东理工大学提供)

1.6 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.2), 内含 EOTA 0.001 mol/L^[2,3]。

1.7 疤痕平霜 (杭州整形医院提供)

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备：取 SOD 对照品一支，用水制成每 1 ml 中约含 200~300 u 的溶液。

2.2 供试品溶液的制备：取疤痕平霜适量，精密称定，加水后，充分振摇，使软膏分散 (制成每 1 ml 中约含 SOD 200~300 u 的溶液)，置 0~10°C 离心机内 (10000 r/min)，离心 15 min，取上清液测定。

2.3 连苯三酚自氧化速率的测定^[1]

在 25°C，0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.2) 3.0 ml 中加入 0.045 mol/L 的连苯三酚试液约 7 μ l，迅速摇匀，倒入光径 1 cm 的比色杯内，在 325 nm 波长下每隔 1 min 测定吸收度一次，测定 4 min 内的吸收度变化，自氧化速率应在 0.070 ΔA /min 左右。

2.4 SOD 活力测定^[1]

在 25°C，取 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液 3.0 ml，加入待测供试品或对照品溶液 10 μ l，再加入 0.045 mol/L 的连苯三酚试液约 7 μ l，以下按 3 同样操作。在上述酶活力测定条件下，SOD 每分钟抑制连苯三酚自氧化速率 50% 时，所需要的酶量，定义为一个酶活力单位，即每毫升反应液中酶活力单位，

$$\frac{0.07 - \Delta A / \text{min}}{0.070} \times 100\% \times \frac{\text{反应体积}}{\text{供试液体积}} \times \text{稀释倍数} \times \frac{\text{对照品 SOD 已知 u/支}}{\text{实测 u/支}}$$

样品测定结果见表 1。

2.5 回收率试验

按处方比例，准确加入已知活力单位的 SOD 溶液 5 份，混匀，按供试品制备方法处理后接 4 测定

表 1 样品测定结果 n = 5

批 号	规格(u/g)	酶活力($\bar{u}$ /g)	RSD(%)
930319	>140	164	2.46
930917	>140	290	2.94
930918	>140	309	2.91

方法求出酶活力，结果见表 2

表 2 回收率试验结果

实际加入量 (u)	实际测定量 (u)	回 收 率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
308	289	93.8		
308	300	97.4		
308	292	94.8	97.7	3.7
308	308	100.0		
308	316	102.6		

2.6 空白试验

取不含 SOD 的疤痕平霜同法操作，结果表明连苯三酚自氧化速率 4 min 内不变，即其它主成份及基质不影响 SOD 活力测定。

3 讨论

上述结果表明，采用微量连苯三酚法测定疤痕平霜中 SOD 活力方法准确、可行。由于产品规格要求不得少于 140 u/g，本品稳定性又较差，故厂方往往增加投料量确保药品疗效，这次对三批样品测定结果在 164~309 u/g 范围，与贮藏期长短有关。

参 考 文 献

- 1 谢卫华等. 连苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶活性的改进. 医药工业, 1988, 19(5): 217
- 2 Marklund S et al. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem 1974, 47(3): 469
- 3 徐秀兰等. 铜离子对超氧化物歧化酶提取液活力测定的影响及其消除. 生化药物杂志, 1988, 3: 15

收稿日期: 1994-12-14