

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/547

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00130606.5

[43]公开日 2001 年 5 月 30 日

[11]公开号 CN 1297153A

[22]申请日 2000.9.27 [21]申请号 00130606.5

[71]申请人 刘文泰

地址 050091 河北省石家庄市新石南路 326 号河北中医学院

[72]发明人 刘文泰

[74]专利代理机构 河北省科技专利事务所

代理人 王 琪

权利要求书 2 页 说明书 16 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 用特异性抗体进行中药成分测定的方法

[57]摘要

本发明提出一种无须分离便可直接定性定量测定中药提取液中各种成分的方法。将标准药材中提取的纯成分作为抗原,与免疫佐剂混合,免疫动物,制备抗已知中药成分特异性抗体制剂,用抗原抗体反应法对待检中药提取液进行检测,依其所发生的抗原抗体反应,标示相应中药成分的定性定量测定结果。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权 利 要 求 书

1、用特异性抗体进行中药成分测定的方法，其特征在于将标准药材中提取的纯一成分作为抗原，与免疫佐剂混合，免疫动物，制备抗已知中药成分特异性抗体制剂，用抗原抗体反应法对待检中药提取液进行检测，标示相应中药成分的定性定量测定结果。

2、根据权利要求 1 所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法，其特征在于对于标准中药材中具有免疫原性的成分可直接作抗原；不具有免疫原性的半抗原成分，则通过物理和化学方法与载体连结成完全抗原。

3、根据权利要求 1 所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法，其特征在于所述制备抗已知中药成分特异性抗体包括制备免疫动物血清多克隆抗体和使用杂交瘤技术制备单克隆抗体。

4、根据权利要求 1 所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法，其特征在于所述抗已知中药成分特异性抗体制剂形式包括标准抗体制剂、免疫标记的抗体制剂、琼脂扩散标准板、ELISA 板及其它免疫诊断学上应用的制剂形式。

5、根据权利要求 1 所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法，其特征在于所述对待检中药提取液进行检测的方法为抗原抗体反应法，包括单向琼脂扩散法、双向琼脂扩散法、火箭电泳法、对流电泳法、免疫电泳法、免疫荧光标记法、免疫酶标记法、放射免疫测

定法及其它抗原抗体反应的方法。

6、根据权利要求 1 所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法，其特征在于所述免疫佐剂包括完全福氏佐剂和不完全福氏佐剂。

说 明 书

用特异性抗体进行中药成分测定的方法

中草药是我们的国宝，但中药有效成分的定性定量检测问题一直是制约其发展的最大障碍。目前比较先进的测定方法是：先用不同物理、化学方法对中药成分进行初步的提取分离，然后再用高效液相层析或薄层扫描等技术进一步分离定量。中药复方制剂由多味中药组成，而单味中药通常含有几十种甚至上百种成分，分离过程异常繁琐，即使用高效液相等方法，确定分离条件也相当艰巨，通常一种成分的分离精制从开始实验到确定最佳方法需数月之久，而且同一成分在不同中药、不同制剂中的分离方法常常是不能通用的。因此制定每种制剂的质量标准都需要从头摸索，必然耗费很大的人力、物力、财力。更严重的问题是，某些成分因结构、性质过于相近，在现有的条件下难以找到合适的分离方法；某些中药如蝉蜕等提取物，用物理、化学方法难于找到其特异性成分。致使某些疗效很好的中药却没有客观的定性定量标准，而无法打入国际市场。

本发明的目的在于提出一种无须分离便可直接定性定量测定中药提取液中各种成分的方法。用抗中药成分特异性抗体，与中药复方或不同中药材中所含的同一中药成分发生抗原抗体反应，进行定性定量测定。从而为中成药质量控制和药材品质鉴定提供一种简便、快捷、准确的先进方法。

这种用特异性抗体进行中药成分测定的方法的技术方案是：将标准药材中提取的纯一成分作为抗原，与免疫佐剂混合，免疫动物，制备抗已知中药成分特异性抗体制剂，用抗原抗体反应法对待检中药提取液进行检测，依其所发生的抗原抗体反应，标示相应中药成分的定性定量测定结果。

所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法，对于标准中药材中具有免疫原性的成分可直接作抗原；不具有免疫原性的半抗原成分，则通过物理和化学方法与载体连结成完全抗原。

所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法中所述制备抗已知中药成分特异性抗体包括制备免疫动物血清多克隆抗体和使用杂交瘤技术制备单克隆抗体。

所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法中所述抗已知中药成分特异性抗体制剂形式包括标准抗体制剂、免疫标记的抗体制剂、琼脂扩散标准板、ELISA 板及其它免疫诊断学上应用的制剂形式。

所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法中所述对待检中药提取液进行检测的方法为抗原抗体反应法，包括单向琼脂扩散法、双向琼脂扩散法、火箭电泳法、对流电泳法、免疫电泳法、免疫荧光标记法、免疫酶标记法、放射免疫测定法及其它抗原抗体反应的方法。

所述的用特异性抗体进行中药成分测定的方法中所述免疫佐

剂包括完全福氏佐剂和不完全福氏佐剂。

本发明的优点是：1、有高度特异性；2、敏感性高，可测 mg/ml、 μ g/ml、ng/ml 甚至 pg/ml 水平。3、方法简便、快捷、准确。4、只要制备出抗单一中药成分抗体，不须进行成分分离即可用于所有含有该中药成分药物的定性定量测定，测定结果不受其他成分影响。

下面结合实施例进一步说明本发明的技术内容

实施例 1：用抗穿山甲蛋白抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

从穿山甲中提取蛋白质，直接作为抗原。

2、制备抗穿山甲蛋白多克隆抗体

(1) 免疫动物：

取穿山甲蛋白 100-600 μ g 与完全福氏佐剂（石蜡油+羊毛脂+卡介苗）1：1 混合，给家兔多点（如：足掌、国窝淋巴结周围、背部两侧、颌下、耳后等 8-10 点）皮下注射进行免疫，间隔 7-20 天注射 1 次，共注射 5-8 次。

(2)、制备抗穿山甲蛋白抗体

末次注射后 5-7 天，无菌采血制血清，依次用 40%、35%、33%饱和硫酸铵盐析浓缩抗体，即得抗穿山甲蛋白抗体。

3、制备抗穿山甲蛋白单克隆抗体

(1)、免疫动物

取穿山甲蛋白 100-200 μ g 与完全福氏佐剂（石蜡油+羊毛脂+卡

介苗) 1:1 混合, 进行 BALB/c 小鼠腹腔初次免疫, 间隔 3-6 周, 同法再次加强免疫一次, 最后于细胞融合前 3-4 天单用穿山甲蛋白腹腔免疫。

(2)、制备杂交瘤

取免疫小鼠, 剪颈放血, 收集血液, 可分离血清测定抗体浓度。将鼠体浸于 75%酒精中消毒, 然后无菌取脾, 制备脾细胞悬液。取其脾细胞与骨髓瘤细胞按 2:1-5:1 比例于 50ml 塑料离心管内混合, 离心 1000rpm, 10 分钟去上清, 叩击管底, 使其沉淀物混匀呈糊状, 置 37℃水浴, 将预温的 50%PEG 液滴入 0.3-0.5ml (1 分钟内滴完, 边滴边摇), 静置 90 秒钟, 逐滴加入 GKN 液 15ml (2-4 分钟内滴完) 以停止 PEG 作用。离心 (1000rpm, 10 分钟) 去上清, 依据细胞数量加入 HAT 培养液, 加到 96 孔培养板, 每孔加入 $0.5-1.5 \times 10^5$, 同时加入饲养细胞 (小鼠腹腔细胞) 2×10^4 , 置 37℃含 5-7%CO₂ 培养箱培养 7 天, 全部吸除 HAT 培养液, 换用 HT 培养液继续培养。当杂交瘤细胞生长达 1/3-1/2 培养孔面时, 检测抗穿山甲蛋白特异性抗体, 及时进行细胞克隆化。

(3)、制备抗穿山甲蛋白单克隆抗体

选择抗体阳性孔, 采用试管连续稀释法, 最终使 96 孔板每孔平均只含一个杂交瘤细胞, 培养后即得单细胞克隆。经 3-5 次反复克隆化后, 将高效价抗体阳性杂交瘤细胞株扩大培养。其培养上清液即含有大量抗穿山甲蛋白单克隆抗体。可将杂交瘤细胞株 $5-10 \times 10^5$

接种于 BALB/c 小鼠腹腔，7-10 天即可诱出腹腔肿瘤并产生含有大量抗穿山甲蛋白单克隆抗体的腹水。10-14 天可分次采集腹水，每只鼠可得 5-20ml 腹水（含抗穿山甲蛋白单克隆抗体 5-20mg/ml），将腹水离心去除细胞，经 56℃ 30 分钟灭活，即得抗穿山甲蛋白单克隆抗体。腹水依次用 40%、35%、33%饱和硫酸铵盐析浓缩，最后可用 SPA 亲和层析法或 DEAE 离子交换层析法纯化 IgG 类抗穿山甲蛋白单克隆抗体。也可用 Sephadex G-200、Sephacryl S300 或凝集素亲和层析法纯化 IgM 类抗穿山甲蛋白单克隆抗体。

4、穿山甲蛋白定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：用巴比妥缓冲液 1000ml 琼脂 10g 加热至 100℃使其溶解，冷却至 50℃左右定量加入抗穿山甲蛋白抗体，混匀，注成平板，凝固后间隔 15 mm 打孔、孔径约 3mm，各孔分别加入不等量标准穿山甲蛋白，置室温或 37℃ 24-48 小时，测量沉淀环直径。穿山甲蛋白含量 (C) 与沉淀环直径 (D) 呈线性关系，可依 $C/D^2=K$ 制标准曲线图 (Mancini 曲线)，还可将其制成标准板，用于测定所有含穿山甲蛋白的中药复方制剂。即将中药复方制剂提取液加入孔内，同上 24-48 小时测量沉淀环直径，查 Mancini 曲线，即可得知穿山甲蛋白含量值。本法可测到 mg/ml、 μ g/ml 以上抗原含量。

(2)、火箭电泳：本法由单向琼脂扩散法发展而来，只是将其放入电场中加快扩散速度、缩短时间、提高敏感度。

用巴比妥缓冲液 1000ml 琼脂 10 克加热至 100℃使其溶解，冷

却至 50℃左右定量加入抗穿山甲蛋白抗体,混匀,注成平板,凝固后打两排孔,孔径 3 mm,孔距 5 mm,第一排距琼脂板端 1 cm,第二排距第一排 4-6 cm。各孔分别加入不同浓度标准穿山甲蛋白或含穿山甲蛋白的中药制剂提取液,立即开始电泳,电泳 2-4 小时,精确测量沉淀峰高度,峰形高度与抗原含量呈正比。以不同浓度标准穿山甲蛋白孔的沉淀峰高度作标准曲线,测量中药制剂孔沉淀峰高度,查标准曲线,即得中药制剂提取液中穿山甲蛋白的含量。可测 $\mu\text{g/ml}$ 以上抗原含量。如果抗原含量过低,可用少量 I^{125} 标记标准抗原与被检抗原共同电泳,干燥后用 X 线胶片显影,可测 ng/ml 水平。

(3)、ELISA 抗原竞争法:用抗穿山甲蛋白抗体标准化包被 ELISA 板;用辣根过氧化物酶标记标准穿山甲蛋白;实验分三组,即含穿山甲蛋白中药复方制剂提取液组、含穿山甲蛋白中药复方制剂提取液与一定量的酶标标准穿山甲蛋白混合组、酶标标准穿山甲蛋白组。每组设 3-10 个平行孔,分别加入包被抗体的 ELISA 板孔内,保温后,用吸管吸去反应液,洗涤 3-6 次。加辣根过氧化物 0.1 ml,室温 (20℃以上) 放置,待酶标标准穿山甲蛋白孔呈色明显后 (约 15-30 分钟),每孔分别加入终止液一滴;用酶标仪 492nm 波长测定 OD 值。本法可测到 ng/ml 甚至 pg/ml 水平。

(4)、ELISA 夹心法:用抗穿山甲蛋白抗体标准化包被 ELISA 板;用辣根过氧化物酶标记抗穿山甲蛋白抗体。实验分三组,即含穿山甲

蛋白中药复方制剂提取液组、标准穿山甲蛋白组、阴性对照组；每组设 3-10 个平行孔，分别加入包被抗体的 ELISA 板孔内，保温后，用吸管吸去反应液，洗涤 3-6 次；定量加酶标抗穿山甲蛋白抗体，保温后，用吸管吸去反应液，洗涤 3-6 次。加辣根过氧化物 0.1 ml，室温（20℃以上）放置，待标准穿山甲蛋白孔呈色明显后（约 15-30 分钟），每孔分别加入终止液一滴。用酶标仪 492nm 波长测定 OD 值。本法可测到 ng/ml 甚至 pg/ml 水平。

5、 穿山甲蛋白定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：用巴比妥缓冲液 1000ml 琼脂 10 克加热至 100℃使其溶解，注成平板。在琼脂板上相距 3-5 mm 打一对孔（孔径约 3 mm），各相对孔中分别加入含穿山甲蛋白的中药制剂提取液和抗穿山甲蛋白抗体，置室温或 37℃18-24 小时，观察两孔之间是否出现沉淀线，若出现沉淀线，则证明该中药制剂中含有穿山甲，否则不含有穿山甲。

(2)、对流免疫电泳：用巴比妥缓冲液 1000ml 琼脂 10 克加热至 100℃使其溶解，注成平板。在琼脂板上相距 3-5 mm 打一对孔（孔径约 3 mm），各相对孔中分别加入含穿山甲蛋白的中药制剂提取液和抗穿山甲蛋白抗体，将琼脂板放置电泳槽内，抗原孔在阴极侧，抗体在阳极侧。电泳 1-2 小时，观察两孔之间是否出现沉淀线，若出现沉淀线，则证明该中药制剂中含有穿山甲，否则不含有穿山甲成分。

(3)、免疫电泳：用巴比妥缓冲液 1000ml 琼脂 10 克加热至 100℃使

其溶解，注成平板。在中间偏上打一孔，加入穿山甲蛋白提取液，将琼脂板放置电泳槽内电泳，分散各种蛋白成分，形成电泳区带。然后在琼脂板偏底部开一长槽，加入抗穿山甲蛋白抗体，置室温或 37℃18-24 小时，观察抗体槽上部形成沉淀线的条数及分布，即可了解穿山甲蛋白及其相应抗体的数目。

实施例 1 可适用于各种植物性药物和动物性药物蛋白质成分的定性定量测定，从而标示中药制剂所含相应生药的含量或有无。

实施例 2：用抗大黄酸特异性抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

大黄酸上羧基通过碳化二亚胺法（或氯甲酸异丁酯法）与蛋白质上氨基形成肽键。制成大黄酸-蛋白完全抗原。

2、免疫动物

制备抗大黄酸多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗大黄酸单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

3、制备抗大黄酸抗体

制备抗大黄酸多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗大黄酸单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

4、大黄酸定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、火箭电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、ELISA 抗原竞争法：与实施例 1 操作相同

5、大黄酸定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、对流免疫电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、免疫电泳：与实施例 1 操作相同

实施例 2 的定性、定量测定方法也适用于绿原酸、黄芩甙、汉黄芩甙、甘草皂甙、商陆皂甙、七叶皂甙等含羧基中药成分的中药材或复方制剂检测。

实施例 3：用抗小檗碱特异性抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

小檗碱与酸性蛋白发生中和反应，制成小檗碱-蛋白完全抗原

2、免疫动物

制备抗小檗碱多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗小檗碱单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

3、制备抗小檗碱抗体

制备抗小檗碱多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗小檗碱单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

4、小檗碱定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、火箭电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、ELISA 抗原竞争法：与实施例 1 操作相同

5、小檗碱定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、对流免疫电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、免疫电泳：与实施例 1 操作相同

实施例 3 的定性、定量测定方法也适用于莨菪碱、吗啡、苦参碱等碱性中药成分的中药材或复方制剂的检测。

实施例 4：用抗山奈酚特异性抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

山奈酚与碱性蛋白发生中和反应，制成山奈酚-蛋白完全抗原

2、免疫动物

制备抗山奈酚多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗山奈酚单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

3、制备抗山奈酚抗体

制备抗山奈酚多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗山奈酚单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

4、山奈酚定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、火箭电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、ELISA 抗原竞争法：与实施例 1 操作相同

5、山奈酚定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、对流免疫电泳：与实施例 1 操作相同。

(3)、免疫电泳：与实施例 1 操作相同

实施例 4 的定性、定量测定方法也适用于大黄素、芹菜素等酸性中药成分的中药材或复方制剂的检测。

实施例 5：用抗麻黄碱特异性抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

酸性蛋白与氯化亚砷（或五氯化磷、三氯化磷等）反应，使其羧基生成酰氯。再与麻黄碱发生酰化反应，制成麻黄碱-蛋白完全抗原。

2、免疫动物

制备抗麻黄碱多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗麻黄碱单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

3、制备抗麻黄碱抗体

制备抗麻黄碱多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗麻黄碱单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

4、麻黄碱定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同。

(2)、火箭电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、ELISA 抗原竞争法：与实施例 1 操作相同

5、麻黄碱定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、对流免疫电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、免疫电泳：与实施例 1 操作相同

实施例 5 的定性、定量测定方法也适用于包公藤甲素、木防己碱等伯胺及仲胺碱中药成分的中药材或复方制剂的检测。

实施例 6：用抗穿心莲内酯特异性抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

将穿心莲内酯和琥珀酸酐在无水的吡啶中反应，即可得到带有羧基的穿心莲内酯琥珀酸衍生物，再经碳化二亚胺或氯甲酸异丁酯法与蛋白质的氨基形成肽键，制备穿心莲内酯-蛋白完全抗原。

2、免疫动物

制备抗穿心莲内酯多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗穿心莲内酯单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

3、制备抗穿心莲内酯抗体

制备抗穿心莲内酯多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗穿心莲内酯单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

4、穿心莲内酯定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、火箭电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、ELISA 抗原竞争法：与实施例 1 操作相同

5、穿心莲内酯定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、对流免疫电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、免疫电泳：与实施例 1 操作相同

实施例 6 的定性、定量测定方法也适用于豆甾醇、雷公藤内酯、香橙醇等多种含羟基中药成分的中药材或复方制剂的检测。

实施例 7：用抗毒毛旋花子甙特异性抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

将毒毛旋花子甙与 O-（羧甲基）羟胺反应，即可得到带有羧基的毒毛旋花子甙衍生物，再经碳化二亚胺或氯甲酸异丁酯法与蛋白质的氨基形成肽键，制备毒毛旋花子甙-蛋白完全抗原

2、免疫动物

制备抗毒毛旋花子甙多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗毒毛旋花子甙单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

3、制备抗毒毛旋花子甙抗体

制备抗毒毛旋花子甙多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗毒毛旋花子甙单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

4、毒毛旋花子甙定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、火箭电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、ELISA 抗原竞争法：与实施例 1 操作相同

5、毒毛旋花子甙定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、对流免疫电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、免疫电泳：与实施例 1 操作相同

实施例 7 的定性、定量测定方法也适用于海可皂甙、卡莫皂甙、海葱甙 A 等多种含有羰基中药成分的中药材或复方制剂的检测。

实施例 8：用抗芫花素特异性抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

将芫花素和一氯醋酸钠反应（或用重氮化的对氨基苯甲酸法），制备带有羧基的芫花素衍生物，再经碳化二亚胺或氯甲酸异丁酯法与蛋白质的氨基形成肽键，制备芫花素-蛋白完全抗原。

2、免疫动物

制备抗芫花素多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗芫花素单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

3、制备抗芫花素抗体

制备抗芫花素多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗芫花素单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

4、芫花素定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、火箭电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、ELISA 抗原竞争法：与实施例 1 操作相同

5、芫花素定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、对流免疫电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、免疫电泳：与实施例 1 操作相同

实施例 8 的定性、定量测定方法也适用于大黄酚、山奈酚等多种含酚羟基中药成分的中药材或复方制剂的检测。

实施例 9：用抗铃蓝毒甙特异性抗体定性定量测定中药中的相应成分

1、抗原制备

将铃蓝毒甙吸附于淀粉（或聚乙烯吡咯烷酮、硫酸葡聚糖、羧甲基纤维素、活性炭等）上，制成铃蓝毒甙-淀粉完全抗原（或铃蓝毒甙-聚乙烯吡咯烷酮、铃蓝毒甙-硫酸葡聚糖、铃蓝毒甙-羧甲基纤维素、铃蓝毒甙-活性炭等完全抗原）。

2、免疫动物

制备抗铃蓝毒甙多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗铃蓝毒甙单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

3、制备抗铃蓝毒甙抗体

制备抗铃蓝毒甙多克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

制备抗铃蓝毒甙单克隆抗体，操作与实施例 1 相同。

4、铃蓝毒甙定量测定

(1)、单向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、火箭电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、ELISA 抗原竞争法：与实施例 1 操作相同

5、铃蓝毒甙定性测定

(1)、双向琼脂扩散法：与实施例 1 操作相同

(2)、对流免疫电泳：与实施例 1 操作相同

(3)、免疫电泳：与实施例 1 操作相同

实施例 9 的定性、定量测定方法也适用于各种中药成分的中药材复方制剂的检测。

专利名称(译)	用特异性抗体进行中药成分测定的方法		
公开(公告)号	CN1297153A	公开(公告)日	2001-05-30
申请号	CN00130606.5	申请日	2000-09-27
[标]申请(专利权)人(译)	刘文泰		
申请(专利权)人(译)	刘文泰		
当前申请(专利权)人(译)	刘文泰		
[标]发明人	刘文泰		
发明人	刘文泰		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/547		
代理人(译)	王琪		
其他公开文献	CN1155826C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提出一种无须分离便可直接定性定量测定中药提取液中各种成分的方法。将标准药材中提取的纯 - 成分作为抗原,与免疫佐剂混合,免疫动物,制备抗已知中药成分特异性抗体制剂,用抗原抗体反应法对待检中药提取液进行检测,依其所发生的抗原抗体反应,标示相应中药成分的定性定量测定结果。