

第三章 實驗材料與方法

第一節 實驗材料

一、實驗試藥

Acetic acid, glacial	J.T. Baker, Inc. (Phillipsburg, NJ, U.S.A.)
Acetonitrile (LC Grade)	J.T. Baker, Inc. (Phillipsburg, NJ, U.S.A.)
Aloe-emodin	Aldrich Chemical Co, Inc. (Milwaukee, WI, U.S.A)
L(+)-Ascorbic acid	Riedel-deHaën AG (Seelze, Germany)
Chrysophanol	Aldrich Chemical Co, Inc. (Milwaukee, WI, U.S.A)
Emodin	Carl Roth GmbH & Co.(Karlsruhe Germany)
Emodin	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
Ethyl acetate (LC Grade)	Mallinckrodt Baker, Inc. (Paris, Kentucky, U.S.A.)
Ethyl alcohol	台灣菸酒公賣局
Ethyl ether	Shimakyu' s Pure Chemicals (Osaka, Japan)
β -Glucuronidase (Type B-1)	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
Hydrochloric acid	Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan)
Methyl alcohol (LC Grade)	Mallinckrodt Baker, Inc. (Paris, Kentucky, U.S.A.)
Midium 199	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
Milli-Q	Millipore corporation(Billerica, MA, U.S.A.)

第三章 實驗材料與方法

Neoral [®]	Novartis Co. Ltd. (Taiwan)惠贈
Ortho-phosphoric acid (85%)	Riedel-deHaën AG (Seelze, Germany)
Polyethylenglycol 400	Merck-Schuchardt (Hohenbrunn, Germany)
1,2-Propandiol	Ferak Berlin E.Gründemann (Berlin, Germany)
Rhein	Aldrich Chemical Co, Inc. (Milwaukee, WI, U.S.A.)
Rhodamine 123	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
Sodium acetate, anhydrous	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
Sodium bicarbonate	Shimakyu' s pure Chemicals (Osaka, Japan)
Sodium hydroxide	Riedel-deHaën AG (Seelze, Germany)
Sulfatase (Type H-1)	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
TDx [®] TDxFLx [®] Cyclosporine Monoclonal Whole blood Reagent Pack	Abbott Laboratories (Abbott Park, Illinois, U.S.A.)
大黃	欣隆藥行 (台灣省台中市)
北大黃	勝昌製藥廠股份有限公司惠贈
何首烏	欣隆藥行 (台灣省台中市)
虎杖	欣隆藥行 (台灣省台中市)
黃酒	台灣菸酒公賣局

二、儀器設備

(一) 儀器

- | | |
|---|---|
| 1. 酸鹼測定儀
Microprocessor pH-mV meter | Wissenschaftlich-Technische
Werkstätten GmbH & Co. KG
(Weilheim, Germany) |
| 2. 高速離心機
Z 200 M/H | Hermle Labortechnik GmbH (Wehingen,
Germany) |
| 3. 渦旋振盪器
Vortex Genie G-560 | Scientific Industries Inc. (Bohemia, NY,
U.S.A.) |
| 4. 超音波振盪器
Branson 8120 | Branson Ultrasonics Co. (Taiwan.) |
| 5. 控溫往復式振盪水槽
BT-350 | Yih Der Instruments Co., Ltd. (Taiwan) |
| 6. 氮氣濃縮裝置
N-EVAP 112 | Organomation Associates Inc. (Berlin,
MA, U.S.A.) |
| 7. 分析天平
AB 104 | Mettler Toledo (Switzerland) |
| 8. 微量移液管
Pipette 2-20 μ L, 10-100 μ L,
20-200 μ L, 100-1000 μ L | Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH
(Germany) |
| 9. 水壓抽氣機
Eyela Aspirator A-2S | Tokyo Rikakikai Co. Ltd. (Tokyo, Japan) |
| 10. 電熱板
HP-20 | Shin Kwang Machinery Industry
(Taiwan) |
| 11. 高效液相層析儀包括:
幫浦
LC-10AT | Shimadzu (Kyoto, Japan) |
| 層析管
Cosmosil 5C18AR-
(250 \times 4.0 mm i.d, 5 μ m) | Nacalai tesque(Kyoto, Japan) |
| 管柱前濾膜
Xperten [®] 0.5 μ m(UPCH A-102X) | P.J.Cobert Associates, Inc. (St.Louis,
Missouri, USA) |
| 紫外光偵測器
SPD-M10AVP diode array detector | Shimadzu (Kyoto, Japan) |

- 自動注射器
SIL-10A Shimadzu (Kyoto, Japan)
12. 螢光光譜儀
Luminescence Spectrometer Perkin Elmer Inc, (Shelton,CT, U.S.A.)
LS-50B
13. 螢光偏極免疫分析儀
TDxFLx Analyzer Abbott Laboratories (Abbott Park,
Illinois, U.S.A.)
14. 顯微鏡
Nikon Eclipse E200 Nikon corporation (Tokyo, Japan)
15. 照相機
Digital Camera Nikon corporation (Tokyo, Japan)
Coolpix5000

(二) 實驗動物用器材

1. 拋棄式注射針及針筒
3.0 mL Syringe (0.55×25 mm) Terumo Medical
1.0 mL Syringe (0.45×13 mm) Corporation(Elkton, MD, U.S.A.)
2. 胃管
(0.9×L 70 mm, 1.5×L 120 mm) 晶龍科技儀器有限公司 (Taiwan)
3. 真空採血管
(含 0.073 mL, 7.5 % K₃ EDTA 溶液) Becton, Dickinson & Co. (Franklin
Lakes, NJ, U.S.A.)
4. 微量吸管
(200 μL, 1000 μL) Axygen Scientific, Inc. (Union city,
CA, U.S.A.)
5. 微量離心管
(1.7 mL) Axygen Scientific, Inc. (Union city,
CA, U.S.A.)
6. 針頭濾膜
Millex[®] (0.45 μm, 13 mm) Millipore carrigtwohill,Co.(Cork,
Ireland)

三、實驗動物

Sprague-Dawley 大白鼠

中國醫藥學院動物中心

四、溶液製備

1. 內標準溶液

(1)精確稱取 2-methylantraquinone 10.0 mg , 加入乙酸乙酯定容至 10.0

mL，即得 1.0 mg/mL 之儲存溶液，再以乙酸乙酯稀釋成各種所需濃度之內標準溶液。

(2)精確稱取 2-methylantraquinone 10.0 mg，加入甲醇定容至 10.0 mL，即得 1.0 mg/mL 之儲存溶液，再以甲醇稀釋成各種所需濃度之內標準溶液。

2. 緩衝溶液 (pH 5.0)

取 0.1N 醋酸鈉溶液 (1) 68 mL，加入 0.1N 醋酸溶液 (2) 至 100 mL，再加 1N 氫氧化鈉調至 $\text{pH} = 5.0 \pm 0.1$ 。

(1) 0.1N 醋酸鈉溶液：

稱取 0.82 g 無水醋酸鈉，加水溶解至 100 mL。

(2) 0.1N 醋酸溶液：

量取冰醋酸 ($d = 1.049$) 0.6 mL，加水至 100 mL。

3. -Glucuronidase 溶液

取 -glucuronidase (2.44×10^6 units/g, type B-1) 20.5 mg，以 pH 5.0 緩衝溶液溶解使成 50 mL，貯存於-30 備用。

4. Sulfatase 溶液

取 Sulfatase (2×10^4 units/g, type H-1) 2.5 g，以 pH 5.0 緩衝溶液溶解使成 50 mL，貯存在-30 備用。

5. 抗壞血酸溶液

稱取抗壞血酸 100 mg, 加水至 1 mL 即得 100 mg/mL 之抗壞血酸溶液, 使用前新鮮製備。

6. 1.2 N 鹽酸溶液之製備

取濃鹽酸 11.4 mL, 加水定容至 100 mL。

7. 環孢靈溶液

(1)精確量取 125 μ L 環孢靈 (100 mg/mL), 加水定容至 20.0 mL, 即得 0.625 mg/mL 之環孢靈溶液, 使用前新鮮製備。

(2)精確量取 125 μ L 環孢靈 (100 mg/mL), 加水定容至 10.0 mL, 即得 1.25 mg/mL 之環孢靈溶液, 使用前新鮮製備。

(3)精確量取 80 μ L 環孢靈 (100 mg/mL), 加水定容至 10.0 mL, 即得 0.8 mg/mL 之環孢靈溶液, 使用前新鮮製備, 並經 0.22 μ m 濾膜過濾滅菌, 即得環孢靈靜脈注射溶液。

8. Medium 199 溶液

稱取 medium 199 9.8 g, 加入碳酸氫鈉 2.2 g, 再加水溶解成 1000 mL, 以 1 N 氫氧化鈉或 1 N 鹽酸調整 pH 至 7.4 ± 0.1 , 貯存在 2~8 $^{\circ}$ C, 於一星期內使用。

9. Rhodamine 123 溶液

精確稱取 rhodamine 123 5.0 mg, 加水定容成 25.0 mL, 即得 200.0 μ g/mL 之 rhodamine 123 貯存溶液, 使用前新鮮製備。

