

发生作用 与紫杉醇最难分离的 cephalomannine不具有这种特性。通过初步的研究,在一定的条件下,紫杉醇与 cephalomannine的混和物经药理作用靶点法纯化后,紫杉醇的纯度可达 95% 以上。

作为一种紫杉醇纯化新技术,药理作用靶点法具有以下特点: 1)依据天然抗癌物质与其药理作用靶点的可逆特异性结合作用来进行分离纯化,较常规的萃取、柱层析及各种组合色谱等方法具有简便、高效特异性的特点; 2)紫杉醇与其药理作用靶点微管,在天然抗癌物质及药理作用靶点两方面都具有代表性,其研究成果易于推广到其它抗癌物质及其药理作用靶点的物系,具有普遍应用价值。

9 结束语

天然抗癌药物如紫杉醇是目前世界范围内医药界的一大热点,前景广阔,对攻克人类顽症、提高健康水平具有重大意义。而在这些药物的研究、开发尤其是生产中,产品的分离纯化是最难解决的问题之一,迫切需要新型化工分离技术和化工研究人员的参与,这也是目前医药行业与化工技术结合越来越紧密的关键所在。

参 考 文 献

1 阎家麒,刘虹,王九一,等. 中国医药工业杂志, 1994, 25(10): 433; 1996, 27(12): 531
2 赵凌云. 离子交换树脂催化解离键合紫杉醇机理及工艺的研究[学位论文]. 天津: 天津大学化工学院, 1998
3 锅田怎助,田崎弘之,江部洋史,等. 日本: 特开平, 6-157329, 1994
4 徐礼葵,刘爱茹. 药学报, 1991, 26(7): 537
5 Hoke S H, Wood J M, Cooks R G, *et al.* Analytical Chem, 1992, 64: 2313
6 Aurillola S O K, Lepisto A M, Naranlahti T, *et al.* J Chro-

matogr, 1992, 153: 594
7 Witherup K M, Look S A, Stasko M W, *et al.* J Liq Chromatogr, 1989, 12(11): 2117
8 Cardellina J H. J Liq Chromatogr, 1991, 14(4): 659
9 Wickremesinhe E R M, Arteca R N. J Liq Chromatogr, 1993, 16(15): 3263
10 Mattina M J L. J Chromatogr A, 1994, 679: 269
11 Stasko M W, Witherup K M, Ghiorzi T J, *et al.* J Liq Chromatogr, 1989, 12(11): 2133
12 Matysik G, Glowniak K, Jozefczyk A, *et al.* Chromatography, 1995, 41(7/8): 485
13 Chan K C, Muschik G M, Issaq H J. J High Res Chromatogra, 1994, 17: 51
14 Vanhaelen-Fastre R, Diallo B, Jaziri M, *et al.* J Liq Chromatogr, 1992, 15(4): 697
15 饶畅,刘欣,张佩玲,等. 药学报, 1991, 26(7): 510
16 Carver D R, Prout T R, Workman C T, *et al.* WO 9412268, 1994
17 Ketchum R E B, Gibson D M. J Liq Chromatogr, 1995, 18(6): 1093
18 Jennings D W, Deutsch H M, Zalkow L H, *et al.* J Supercrit Flu, 1992, 5: 1
19 Nair J B. EP0521675, 1993
20 Castor T P. WO 9420486, 1994
21 元英进,那平,胡宗定,等. 离子交换与吸附, 1994, 10(6): 543
22 杨雪峰,刘开录. CN 1140170A, 1996
23 Senilh V, Bleichert S, Colin M, *et al.* J Nat Prod, 1984, 47: 131
24 Durzan D J, Ventimiglia F. Cell Dev Biol, 1994, 30P: 219
25 Carver D R, Drout T R, Workman C T, *et al.* US 5281727, 1994
26 Kingston D G I, Gunatilake A A L, Ivey C A. J Nat Prod, 1992, 55(2): 259
27 Murray C K, Ziebarth T D, Bechvermit J T. US 5334732, 1994
28 Murray C K, Beckvermit J T, Anziano D J. US 5364747, 1994
29 Rimoldi J M, Molinero A A, Chordia M D, *et al.* J Nat Prod, 1996, 59: 167
30 肖剑. 药理作用靶点法分离纯化紫杉醇的研究[学位论文]. 天津: 天津大学化工学院, 1999

(1999-11-02收稿)

中药药动学血样预处理方法回顾与展望△

第四军医大学西京医院中药临床药理研究室 (西安 710032) 张莉* 黄熙** 王骊丽

摘 要 综述了以血药浓度法研究中药药动学中的血样预处理方法并作简要评价,特别介绍了水浴法作为方剂血样预处理的新方法,为中药药动学及中药药效物质基础研究提供参考。
关键词 中药药动学 预处理 血药浓度

在以血药浓度法为研究的药动学中,药物成分从血样中的提取 (包括简单的分离、纯化和富集)即预处理,常常是方法学研究的首要步骤。中药 (指单

味或复方)中多种有效成分共存一体,因而不同于化学合成药物或经提取的天然药物单体,血样预处理方法是中药药动学研究中普遍性问题之一。国内多

* Address: Zhang Li, Laboratory of Clinical Pharmacokinetics of Chinese Materia Medica, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an
张莉女,1988年国防科技大学本科毕业,在职研究生,讲师、主治医师。曾从事输血及血液质量控制工作,专业研究方向现为药物分析和中药临床药理,已发表论文 11篇。
** 为指导老师
△国家自然科学基金项目: No 39870932

位学者对中药药动学研究方法进行了综述^[1~3],但均未述及血样预处理,有学者已在此方面作出了有益的探索^[4]。为更好地探索适合中药药动学的研究方法,笔者就近年来中药药动学研究中血样预处理方法作一综述和简要评价。

1 中药药动学血样预处理方法

中药药动学研究中,一部分是服用中药中提取的有效成分进行药动学研究^[1],其预处理方法本质上与西药没有差别,大多沿用传统和经典的方法,主要是液-液萃取(LLE)和固相萃取(SPE);另一部分则称为复方药动学(单味药可作为小复方),即将方剂或复方看作为一种药品^[5]服用,研究其有效成分的药动学特征,这也是中医药有别于西药的特点,因此血样预处理也以提取它们为主要目的。

1.1 大量应用的传统方法:无论是单味药(常称为小复方)制成的注射液还是多味药组成的复方,药动学研究中血样预处理大多使用经典的有机溶剂加入提取法(为便于综述,将以是否加入溶剂为主要提取手段作一简单划分):此法包括LLE和沉淀蛋白法。作者查阅了1993~1996年的国内文献约50余篇,其样品预处理大部分沿用有机溶剂加入提取法,部分使用固相萃取法(包括SPE法),国外类似Yukihiro等人测定了口服甘草甜素和甘草小复方后在大鼠血中的甘草甜素(GL)浓度,进行了不同来源GL的药动学特征对比,预处理采用LLE法^[6];Rie等人用SPE法预处理血样,HPLC-MS等法测定了口服小柴胡汤后代谢新生物的血浆浓度及其化学结构^[7]。

1.2 多步提取方法相结合:中药复方所含成分类型较多,主要有生物碱、苷类、内酯、有机酸、糖类、氨基酸等,各类有效成分的理化性质不同。已报道以催化动力学分析法为检测手段,利用二价锰离子对高锰酸钾-罗丹明B反应体系的催化作用,使用邻菲罗啉为活化剂,对兔血中源于大青叶淫羊藿中的微量锰进行药动学研究^[8]。报道用偶合反应化学发光法研究丹皮酚在兔体内的药动学^[9]。预处理采取了先用乙醚提取丹皮酚,然后用薄层分离、点样对照,得到较纯的丹皮酚后再液-固萃取。报道了胶束荧光技术检测秦艽中龙胆苦苷^[10]和大黄中大黄素、大黄酚血药浓度的检测^[11],均利用LLE法、薄层分离和形成胶束的原理进行处理。

1.3 快速流动馏分技术(RFF):所用装置由3个连接的玻璃柱组成,内装硅藻土,不同的pH洗提液流过,得到不同的馏分后进行测定,日本学者报道了

应用此项技术进行了小柴胡汤等中药药动学的研究^[12,13],可依次提取并检测多种有效成分或代谢物。

1.4 简单方便的新方法——水浴法:黄熙等报道了方剂血样预处理的新方法^[4],有别于其它各种预处理方法。该法为:于1 mL含药血清中加入内标,涡旋混匀15 s,100℃水浴10 min,用超微型搅拌器搅拌1 min制成匀浆,12 000 r/min离心10 min,取上清液直接上机进样。复方水煎液中的化学成分能耐受长时间的沸水高温和水解作用,水浴法提取时,这些成分在体内和体外所处环境基本一致,且血清中源自复方的成分以水溶性成分为主,兼有双溶性成分或部分脂溶性成分,但能溶于热水。水浴法优点:1)步骤简单,一次提取,直接进样;2)引入外来因素少,减少误差;3)实验条件简单,易于控制;4)无毒,不使用有机溶剂;5)费用低廉;6)高效,可同时处理大批量血样。作者将乙腈提取法和水浴法提取川芎煎剂和赤芍汤,分别灌胃大鼠后测定血清中阿魏酸并进行了对比,实验表明用水浴法取得良好效果。除阿魏酸外,作者还用水浴法测定了川芎嗪、原儿茶醛、芍药苷和丹参素等^[14]。

2 评价及意义

2.1 评价:虽然中药药动学研究报道较之西药为少,但借助于灵敏度高、专属性强的现代分析手段研究中药药动学已是该领域研究的必然趋势,预处理方法是大部分分析测定方法的一个重要步骤。作者以Pharmacokinetics and sample preparation为关键词查阅了1991~1999年的medline中的文摘共89篇,明确写出预处理方法70篇,其中溶剂加入法为26篇,SPE法26篇,柱切换法4篇,自动处理系统4篇,其它还有自动顺序跟踪透析、在线衍生、直接酶联免疫测定等,各种预处理方法均有所应用,从而提示血样预处理方法是朝着多样、简单、多选择性、高效和自动化的趋势发展。相比之下,国内的预处理方法则以溶剂加入法为主,在中药药动学研究中尤其如此。方剂中各类有效成分血中浓度都很低,因而中药血样预处理方法更要求达到提取多类型的有效成分并快速将其富集的目的,如水溶性的多糖类、一些不很稳定的酸类和易挥发性药效物质等,溶剂加入法常常不能满足这一要求。该法确有方便、简易、费用低廉、无需特别仪器设备的优点,然而有机溶剂的毒性和对环境的污染是其不可避免的缺点。

SPE法较之LLE法用量少、速度快、无乳化现象,提取率一般较高,可对中药多成分同时进行提

取,但这一方法费用远高于LLE法。其它各种在线的处理技术大都需要专门的装置,在药动学研究需对大批量样品处理时则实验费用显然太高。

胶束荧光技术是利用表面活性剂在水溶液中能聚集形成胶束,刚性荧光分子在胶束中形成分子探针而起到增溶、富集和增敏的技术,能够提高测定的灵敏度。除此之外,还有设备要求不高的优点,但需多步提取,并通过大量实验选择表面活性剂。有报道曾设计乌头碱-胶束荧光分子模型和磺胺甲基异噻唑-胶束荧光分子模型均未获成功^[15]。薄层分析作为一种中药血样本预处理方法具有提取后干扰物质少的优点,但操作繁琐、时间长、常使用有毒的有机试剂等。

水浴法作为一种新方法,尚有待进一步开发,但它提示人们要重视中药成分中兼有水溶性的成分,诸如甘草甜素、芍药苷等相当一部分可溶于水。热水或沸水中,符合溶解度一般随温度升高而增大的规律。笔者根据“相似相溶”原理推测,对那些极性较强的植物药成分,水可能具有一定的溶解性。同时,这一方法与中药传统的服用高温水煎液的实际情况相一致,且可多成分一次提取。因此,此法可能更接近方剂进入体内的有效成分作用情况,可能更为适合方剂的血样预处理。步骤简单、无毒、价廉,同时大批量处理无乳化现象,无需特别设备,这是该法突出的优点,作者认为进一步研究会有广泛的应用前景。

2.2 意义:血样预处理方法是中药药动学血药浓度法的重要组成部分。药动学是一门借助先进仪器设备,利用动力学原理和方法,用数学模型反映药物在

体内经时过程的一门定量化科学^[16]。血药浓度法的贡献在于提供了较为精确而严谨的研究方法。中药方剂血样本是一复杂体系,预处理乃是将其“白化”的过程。因此,改进预处理方法可能使更多的有效成分得到研究,特别是有关中药体内成分谱和靶成分的研究^[17],从而有助于揭示药效物质基础及其作用机制。

参 考 文 献

- 1 黄教成.药学报,1987,9(2):31
- 2 庞志功,汪宝琪.西安医科大学学报,1997,18(3):417
- 3 潘国宇,刘晓东.中草药,1998,29(9):462
- 4 黄熙,任平,张莉,等.中草药,1999,30(3):175
- 5 黄熙,陈可冀.中医杂志,1997,38(12):745
- 6 Yukihiro O, Mamora N, Hiroyuki K, *et al.* Yakugaku Zasshi, 1990, 110(1):77
- 7 Rie M, Takeshi M, Masahiro N, *et al.* Yukugaku Zasshi, 1998, 118(3):79
- 8 汪宝琪,庞志功,曹治权.西安医科大学,1993,14(3):226
- 9 庞志功,汪宝琪,张清.分析化学,1993,21(12):1417
- 10 汪宝琪,庞志功,朱慧勤.92中国药杂志岛津杯全国药物分析优秀论文评选论文集.北京:中国药杂志社,1992:208
- 11 庞志功,汪宝琪,李生有.西安医科大学学报,1993,1(4):346
- 12 Masato H, Kitaro O, Tadashi Y, *et al.* Anal Biochem, 1992, 202:179
- 13 Masato H, Kitaro O, Chizu T, *et al.* Biome Chromatogr, 1997, 11:125
- 14 黄熙.第三届生命科学青年学者研讨会论文摘要汇编.西安.1998:94
- 15 汪宝琪,庞志功.西北药学分析杂志,1993,8(2):90
- 16 黄圣凯.药代动力学.南京:南京药学院出版社,1980:3
- 17 黄熙.第四军医大学学报,1999,20(4):277

(1999-11-24收稿)

2000-04-07修回)

红豆杉细胞培养生产紫杉醇的研究进展[△]

河北师范大学生命科学学院(石家庄050016) 庄晓蕾* 张秀清 于树宏 王刚**

摘 要 利用红豆杉细胞培养技术生产紫杉醇是目前的研究热点之一,并已取得了较大进展。就近年来在红豆杉细胞培养及紫杉醇生产方面的研究进展进行简要论述,主要包括代谢机制、细胞培养条件、代谢调节等几部分,其中着重介绍了促进紫杉醇代谢的基本方法。
关键词 紫杉醇 细胞培养 关键酶 前体 诱导子

紫杉醇(paclitaxel,商品名为Taxol)是存在于红豆杉科红豆杉属(*Taxus* L.)植物中的一种四环二萜酰胺类化合物^[1],由于其对癌症的独特疗效而日益受到人们关注。随着对紫杉醇需求的日益增加,

仅靠从红豆杉树中直接提取已不能满足目前的需要,因此,对其他途径的开发就显得尤为必要,细胞培养就是其中一条很重要的途径。利用离体培养的红豆杉细胞生产紫杉醇,一方面能加强对红豆杉野

* Address: Zhuang Xiaolei, College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang
庄晓蕾 女,24岁,河北师范大学生命科学学院硕士研究生,主要从事植物细胞培养和次生代谢研究。
** 联系人
△河北省自然科学基金资助项目 No. 300162