

## 氧化苦参碱-甘珀酸钠复合物的制备及其药理活性初探

戴小军<sup>1</sup>, 刘利军<sup>1\*</sup>, 蒋袁絮<sup>2</sup>, 金少举<sup>2</sup>

(1. 宁夏大学化学化工学院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏医学院 药理系, 宁夏 银川 750004)

**摘要:**目的 研究氧化苦参碱-甘珀酸钠复合物的制备方法及其药理活性。方法 分别配制氧化苦参碱和甘珀酸钠溶液, 将两种溶液按比例混合, 分离提纯后得到复合物样品。采用紫外分光光度法确定形成常数, 用 X 射线粉末衍射, 红外光谱和核磁来表征该复合物。将制得的药物测其急性毒性, 采用 CCl<sub>4</sub> 制备小鼠急性肝损伤模型, 检测经不同比例氧化苦参碱-甘珀酸钠复合物干预后小鼠血清天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)。结果 氧化苦参碱-甘珀酸钠可形成 1:1 的复合物; 1:1, 2:1 比例形成的复合物的急性毒性均比其前体药物甘珀酸钠、氧化苦参碱低; 与 CCl<sub>4</sub> 模型组比较, 经氧化苦参碱-甘珀酸钠 1:1, 2:1 复合物处理的小鼠血清 AST、ALT 水平较低。结论 氧化苦参碱与甘珀酸钠不同比例复合物的毒性均比其前体药物低; 对小鼠急性 CCl<sub>4</sub> 肝损伤有保护作用。

**关键词:**氧化苦参碱; 甘珀酸钠; 复合物; 药理活性

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2006)11-0044-03

### Preparation of oxymatrine-carbenoxolone sodium complex and its pharmacological activity

DAI Xiao-jun<sup>1</sup>, LIU Li-jun<sup>1</sup>, JIANG Yuan-xu<sup>2</sup>, JIN Shao-ju<sup>2</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2. Department of Pharmacology, Ningxia Medical College, Yinchuan 750004, China)

**Abstract: Objective** Complex of oxymatrine (OMT) - carbenoxolone sodium (CS) was prepared, and the acute toxicity of the OMT-CS complex and their protective effects on injured liver induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) were also studied. **Methods** The OMT-CS complex was formed after preparing OMT and CS solutions individually then mixing them in ratio, the constant was determined by UV-vis, the complex was characterized by powder X-ray diffraction, IR, and NMR. The sequence method was employed to test LD<sub>50</sub> of the complex by iv injection. The aspartate transaminase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in serum were measured in acute hepatic injured models by CCl<sub>4</sub> proportionally im injected the complex in mice. **Results** The ratio of OMT and CS in the complex appeared to be 1:1. The results of powder X-ray diffraction measurement indicated that a novel crystalline structure of complex was formed. The acute toxicities of LD<sub>50</sub> of the complexes in 1:1, and 2:1 were lower than that of both OMT and CS only. Compared with the model group by CCl<sub>4</sub>, AST and ALT levels in serum were lower than that in the complex at 1:1 and 2:1 ratios. **Conclusion** The toxicity of the complex in different proportions on acute hepatic injured mice by CCl<sub>4</sub> decreases obviously, compared with their precursor drugs.

**Key words:** oxymatrine (OMT); carbenoxolone sodium (CS); complex; pharmacological activity

氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)是广泛存在于豆科植物中的羽扇豆烷类生物碱, 具有抗肿瘤、抗炎、镇痛、镇咳、平喘、免疫调节、抗心律失常等多种药理作用, 临床用于癌症、白细胞减少症、支气管哮喘和喘息型慢性气管炎、肝炎等的治疗<sup>[1,2]</sup>。甘珀酸钠(carbenoxolone sodium, CS)是一种高效口服抗溃疡药, 有良好的抗炎、抗病毒、抗过敏及抑制癌细

胞活性等作用, 且不良反应小, 对慢性肝炎和肝硬化也有显著疗效<sup>[3]</sup>。本实验制备了两种药物复合物并对其药理作用进行了研究。

#### 1 仪器与试药

甘珀酸钠(质量分数为 99%, 宁夏制药厂), 氧化苦参碱(质量分数为 99%, 宁夏博尔泰利有限公司), X-4 数字显微熔点测定仪。Shimadzu UV-

收稿日期: 2006-05-06

基金项目: 科技部 863 计划资助项目(2003AA2Z3534); 宁夏大学自然科学基金资助项目(LG0516)

作者简介: 戴小军(1977-), 男, 陕西人, 讲师, 硕士, 主要研究有机合成及分析。 E-mail: xjdai@nxu.edu.cn

\* 通讯作者 刘利军 Tel: (0951)2062366 E-mail: liliu@163.com

265 紫外-可见分光光度计, Shimadzu FTIR-8400s 红外光谱仪; Rigaku SA-HF3 X-ray Diffractometer, Bruker AC 400 核磁共振仪。天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨 (ALT) 测试剂盒 (南京建成生物制品研究所)。TGL-16B 台式高速离心机 (上海安亨科学仪器厂), 恒温水浴箱 (北京长源实验设备厂)。其余试剂均为分析纯。在使用前未经进一步纯化。昆明种小鼠, 雄雌各半, 体重 25~30 g, 购自第四军医大学动物中心。

2 方法与结果

2.1 复合物的制备: 将一定配比的 OMT 和 CS 溶于一定量的乙醇中, 静置过夜, 至折光率不变化。蒸干溶剂, 真空干燥, 得到固体复合物, 重结晶纯化, 得复合物样品。甘草酸可以与某些化合物形成复合物<sup>[4]</sup>, 但 CS 形成复合物还未见文献报道。

将所得的固体样品测其熔点和比旋光度, 结果见表 1。

表 1 CS、DMT 及其复合物的物理常数  
Table 1 Physical constants of CS, OMT, and OMT-CS complex

名称	mp/°C	[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> /°
CS	337~338	+166.9
OMT	119~120	+56.0
CS/OMT	248~251	+105.1

复合物的 <sup>1</sup>H-NMR 及 IR 数据为: <sup>1</sup>H-NMR: 5.50 (1H, s), 4.44 (1H, dd), 4.22 (1H, dd), 3.24 (1H, dt), 2.36 (3H, s), 2.31~1.33 (13H, m), 1.15 (3H, s), 0.99 (3H, s), 0.97 (6H, s), 0.89 (3H, s), 0.87 (3H, s), 0.84 (3H, s), 0.54 (3H, s)。IR: 3 440.5, 2 949.1, 1 717.5, 1 652.9, 1 558.4, 1 512.1, 1 463.9, 1 398.3, 1 357.8, 1 286.4, 1 252.7 cm<sup>-1</sup>。由 IR 数据, OMT 在 1 608.5 cm<sup>-1</sup> 处有特征吸收峰, 而在复合物中, 此特征吸收峰消失。复合物中部分质子的化学位移发生变化, OMT 中 H-17a, H-17e, H-2, H-10 由于各向异性的屏蔽作用, 都移向高场, 其中 1 号 N 旁的两个氢 H-2, H-10 位移最大, 由 δ 3.20 移到 δ 2.97。

2.2 复合物稳定常数的测定

2.2.1 复合物的紫外光谱: 称取 CS 0.614 2 g, OMT 0.264 2 g 分别置于 50 mL 量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度, 得到 0.02 mol/L 的溶液。取此溶液 1 mL 于 50 mL 量瓶中, 用二次蒸馏水稀释至刻度。取浓度为 4×10<sup>-4</sup> mol/L 的稀释 OMT 溶液, 加入不同量的 CS 溶液, OMT 与 CS 成不同的配比。以同浓度的 CS 溶液作参比, 分别测定各复合物溶液在

190~350 nm 的紫外吸收曲线。结果见图 1。OMT 的最大吸收波长为 211 nm, 而复合物的最大吸收波长与 OMT 的最大吸收波长相比发生了不同程度的蓝移, 最大蓝移 11 nm, 移至 200 nm。表明 OMT 与 CS 发生了复合作用。随 OMT 物质的量由 1 变化到 0.1, 最大吸收强度逐渐降低。

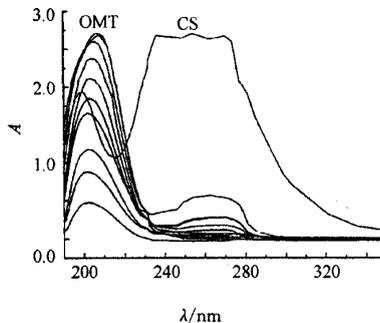


图 1 CS 加入后 OMT 的紫外吸收光谱

Fig. 1 UV Absorption spectra of OMT with CS added

2.2.2 复合体系稳定常数的计算<sup>[5]</sup>: 如果 CS 与 OMT 形成 1:1 的复合物, 则吸光度的变化值 ΔA 同 CS 和 OMT 的浓度关系为:

$$1/\Delta A = 1/c(\text{OMT})K_a \cdot 1/c(\text{CS})\Delta\alpha + 1/c(\text{OMT})\Delta\alpha$$

Δα 为 OMT 和 CS 形成复合物前后 211 nm 处摩尔吸光系数的差, K<sub>a</sub> 为复合稳定常数。

对上述所测紫外光谱数据进行处理, 发现 1/ΔA 与 1/c(CS) 呈良好的线性关系, 相关系数 r = 0.999 6。表明 CS 与 OMT 形成了 1:1 的复合物, 用截距比斜率求得 25 °C 的复合常数为 1 971.7 L/mol。

2.3 固体复合物结构的表征: 对 CS、OMT、物理混合物以及复合物进行 X 射线粉末衍射, 见图 2。在复合物中, 出现了复合物新的特征衍射峰。这是由于复合之后, 破坏了 OMT 原有的晶体结构, 原来的特征衍射峰消失。

2.4 药理活性: 为研究复合后药物药理作用是否改变, 同样方法按物质的量之比制备 CS:OMT 为 2:1 的复合物, 以期与 CS:OMT 为 1:1 的复合物及前体药物进行对比。

2.4.1 急性毒性: 采用序贯法, 分别测定 CS、OMT 及甘珀酸钠-氧化苦参碱 1:1, 2:1 复合物 iv 所致小鼠 LD<sub>50</sub>, 分别为 (196.33 ± 42.12)、(222.79 ± 91.75)、(385.35 ± 100.40)、(283.67 ± 45.71) mg/mL。可见, 不同比例甘珀酸钠-氧化苦参碱复合物的毒性均明显低于其前体药物。

2.4.2 待测药物对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠转氨酶的影响: 将小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别是正常对

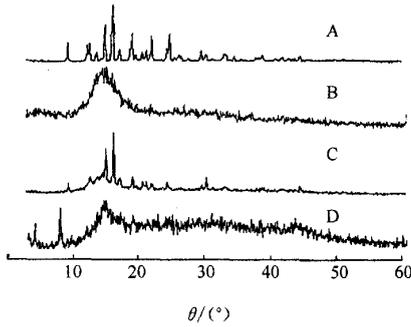


图 2 CS (A)、OMT (B)、氧化苦参碱和甘珀酸钠物理混合物(C)、氧化苦参碱的-甘珀酸钠复合物(D)的 X-射线粉末衍射图

Fig. 2 X-ray Diffraction pattern of CS (A), OMT (B), physical mixture of OMT and CS (C), and OMT-CS complex (D)

照组、CCl<sub>4</sub> 损伤组、氧化苦参碱-甘珀酸钠 1 : 1 复合物、甘珀酸钠-氧化苦参碱 2 : 1 复合物、CS 组、OMT 组。正常对照组和 CCl<sub>4</sub> 损伤组 im NS(0.1 mL/10 g), 其余各组按 1/3 LD<sub>50</sub> im 相应药物, 即 1 : 1 复合物组 125 mg/kg、2 : 1 复合物组 95 mg/kg、OMT 组 70 mg/kg、CS 组 65 mg/kg, 连续 7 d, 末次给药后 24 h, 除对照组 ip 花生油 0.1 mL/10 g 外, 其他各组均 ip 0.5% CCl<sub>4</sub> 花生油溶液 0.1 mL/10 g。24 h 后小鼠断头取血, 测血清 AST 和 ALT。实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间对照用 SPSS 统计软件包进行方差分析。结果见表 2。

3 讨论

与纯的 OMT 相比, 复合物紫外最大吸收波长蓝移 11 nm; OMT 的 IR、<sup>1</sup>H-NMR、熔点数据的改变标志着形成 1 : 1 的复合物。经甘珀酸钠复合后, 复合物的熔点较 OMT 熔点有很大提高, 说明复合物中 OMT 与 CS 的分子间作用力极强。

表 2 待测药物对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠血清 AST 及 ALT 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Effect of OMT-CS complex on serum AST and ALT in CCl<sub>4</sub> hepatic injured models of mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	AST/(IU · L <sup>-1</sup> )	ALT/(IU · L <sup>-1</sup> )
正常对照	61.20 ± 14.42	41.91 ± 26.53
CCl <sub>4</sub> 损伤	108.09 ± 24.81**	188.60 ± 63.02**
CS : OMT=1 : 1	69.92 ± 32.88 $\Delta$	118.05 ± 57.56** $\Delta$
CS : OMT=2 : 1	64.31 ± 18.27 $\Delta\Delta$	94.81 ± 38.41 $\Delta\Delta$
OMT	92.74 ± 18.89**	225.10 ± 43.65**
CS	78.63 ± 18.31**	178.13 ± 54.91**

与正常对照组比较: \*\* P < 0.01  
与 CCl<sub>4</sub> 损伤组比较:  $\Delta$  P < 0.05  $\Delta\Delta$  P < 0.01  
\*\* P < 0.01 vs normal control group  
 $\Delta$  P < 0.05  $\Delta\Delta$  P < 0.01 vs CCl<sub>4</sub> injured group

本研究采用 CCl<sub>4</sub> 制备小鼠急性肝损伤模型, 观察药物对小鼠血清 AST、ALT 的影响。结果显示, 氧化苦参碱-甘珀酸钠复合物均能显著降低小鼠 AST、ALT 水平, CS 只对 AST 有显著降低作用, 而 OMT 无降低小鼠血清 AST、ALT 作用。本实验还显示甘珀酸钠-氧化苦参碱以不同比例复合后可明显降低其毒性, 对肝脏保护作用明显增强。

References :

[1] Li D, Wang P Q, Zhang N S. Research progress and clinical application of matrine type [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(5): 308-311.  
[2] Yin J, Guo L G. *The Modern Research of Traditional Chinese Medicine and the Clinical Application* (中药现代研究与临床应用) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 1994.  
[3] Takahashi K, Shibata S, Yano S, et al. Chemical modification of glycyrrhetic acid in relation to the biological activities [J]. *Chem Pharm Bull*, 1980, 28(11): 3499-3452.  
[4] Gusakov V N, Maistrenko V N, Safiullin P P. Thermodynamics of formation of molecular complexes of aromatic nitro derivatives with lincomycin and  $\beta$ -glycyrrhizic acid [J]. *Russian J General Chem*, 2001, 71(8): 1307-1310.

酶法修饰人参茎叶总皂苷及其 HPLC 图谱研究

喻春皓<sup>1,2</sup>, 魏峰<sup>2</sup>, 何志敏<sup>1</sup>

(1. 天津大学化工学院 化学工程与技术博士后流动站, 天津 300072; 2. 天士力集团有限公司研究院 博士后工作站, 天津 300402)

摘要: 目的 研究生物酶制剂对人参茎叶总皂苷的修饰及其修饰前后 HPLC 图谱的变化。方法 利用复酶制剂 A 对人参茎叶总皂苷进行酶法修饰, 采用 TLC 法鉴别修饰前后的变化, 并比较修饰前后的 HPLC 图谱的变化。结

收稿日期: 2006-04-09

作者简介: 喻春皓(1974—), 男, 天津大学化学工程与技术专业博士后, 研究方向为中草药生物转化研究与开发。  
Tel: (022) 81834576 E-mail: chunhaoyu@sina.com, chunhaoyu@hotmail.com