

经皮给药系统中的体外释放度测定,是基质释放性能的主要参数。药物首先要从骨架材料中释放出来,达到皮肤表面,进而经皮渗透进入体内发挥作用。本实验采用透皮吸收的方法进行体外释放试验,只是将经皮渗透变成药物直接释放,结果表明正交试验优选出的巴布剂基质配方具有良好的体外释放性能,对黄芩苷药物持续释放可达12 h以上。

体外透皮吸收试验结果表明正交试验优选出的基质配方可稳定持续释放黄芩苷并促进其经过皮肤吸收,且随着时间的延长黄芩苷的透皮速率略有增大。经皮给药系统中,药物透过皮肤的主要屏障是角质层^[1]。角质层厚约10~15 μm,其中角质细胞的胞浆、胞膜及细胞间隙的脂质分子都对药物有屏障作用。形成了主要屏障区,限制了药物透皮的传输,所

以12 h体外透皮累积透过量比体外释放累积释放量要小的多。

综上所述,本实验通过正交试验优选出一个生物相容性良好的黄芩苷巴布剂的基质配方,其黏接性能良好且载药量大、释放性好,是具有较好前景的新型巴布剂基质。

References

- [1] Zhang X P, Tian H, Cheng Q H. The current situation in pharmacological study on baicalin [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2003, 19(11): 1212-1215.
- [2] Jia M, Gao W Y, Wang T, et al. Cataplasma of traditional Chinese medicine [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(1): 10-11.
- [3] Williams A C, Barry B W. Penetration enhancers [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, 56(5): 603-618.
- [4] Li F M. *Medical High Performance Liquid Chromatography* (医用高效液相色谱技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1999. 535-536.

HPLC 法从瘤果紫玉盘叶中分离制备紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G

许琼明^{1,2}, 刘艳丽¹, 赵葆华², 徐丽珍², 杨世林^{2,3*}, 王少军³

(1. 苏州大学药学院, 江苏 苏州 215123; 2. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094;

3. 国家中药固体制剂工程技术研究中心, 江西 南昌 330006)

瘤果紫玉盘为番荔枝科紫玉盘属植物。该属植物主要分布于我国的西南地区,在民间广泛应用于癌症、贫血和炎症的治疗^[1,2]。紫玉盘属植物中主要含有多氧取代环己烯、番荔枝内酯、黄酮、生物碱等类成分^[3]。本课题组研究表明多氧取代环己烯类化合物具有较强的抗肿瘤活性,如能抑制核苷的转移,对胸腺嘧啶脱氧核苷和尿嘧啶核苷抑制作用强,能显著抑制人结肠癌细胞、乳腺癌、肝癌细胞等的增殖,同时对多药耐药瘤株同样有效^[4]。为合理利用植物资源,创制新型癌症治疗药物,笔者对瘤果紫玉盘叶进行了化学成分研究,发现紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G 的量共约 0.5%,且具有较强的抗肿瘤活性^[5]。目前,市场上无紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G 对照品出售。因此为了控制紫玉盘属植物药材质量,开发该属植物资源,本实验采用常规色谱和高效液相结合的方法制备这两种多氧取代环己烯对照品紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G,结构见图 1。该法简便易行,产品质量分数可达 98%以上,满足了常规定量

分析检测的需求。

1 仪器、材料与试剂

Waters 2690 分析型高效液相色谱仪,996PDA 检测器(美国 Waters 公司)。R200 型旋转蒸发器。Fisher-Johns 熔点测定仪。Peikin-Elmer 983 G 红外仪(美国 PE 公司);Varian Inova 600 spectrometer 核磁共振仪(美国 Varian 公司);Micromass Zabspec spectrometer 质谱测定仪(美国 Micromass 公司);JASCO-715 CD spectrometer(日本 Jasco 公司)。

瘤果紫玉盘叶采集于贵州省黔东南地区,由中国医学科学院药用植物研究所李国强副教授鉴定为瘤果紫玉盘 *Uvaria kweichowensis* P. T. Li。分析所用正己烷和异丙醇均为 HPLC 级,其他试剂均为分析纯,水为双蒸水。Sephadex LH-20(英国 Pharmacia 公司),色谱用(100~200 目与 200~300 目,柱色谱用)购于青岛海洋化工厂。

2 条件与方法

2.1 色谱条件:半制备色谱柱:Zorbax 苯基柱(250

收稿日期:2007-02-13

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970084)。

作者简介:许琼明(1975—),男,湖北蕲春人,讲师,博士,主要从事天然药物活性成分研究及中药新药开发。

Tel: (0512) 65880301 E-mail: xuqiongming@suda.edu.cn

* 通讯作者 杨世林 Tel: (010) 62899705 (0791) 7119638 E-mail: yangshilin9705@ hotmail.com

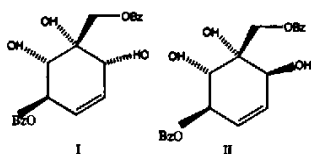


图1 瘤果紫玉盘中环己烯醇(I)和大花紫玉盘醇G(II)的结构

Fig. 1 Structures of zeyleanol (I) and uvarigranol G (II) from *U. kweichowensis*

mm×9.4 mm, 7 μm); 柱温: 室温; 检测波长: 230 nm; 流动相: 甲醇-水(70:30); 体积流量: 2.0 mL/min。

分析色谱柱: Altech 正相硅胶柱(250 mm×9.4 mm, 5 μm); 柱温: 室温; DAD 检测器, 检测波长: 230 nm; 流动相: 正己烷-异丙醇(98:2); 体积流量: 2.0 mL/min。

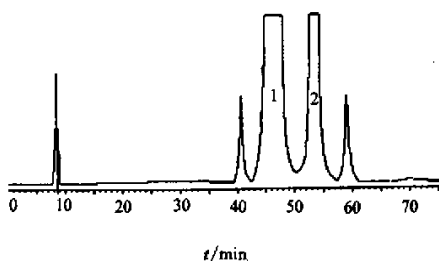
2.2 样品预处理: 瘤果紫玉盘叶 5 kg, 粉碎, 90% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩挥去乙醇, 以氯仿萃取 5 次, 萃取液浓缩, 得提取物 150 g, 拌硅胶上 100~200 目, 石油醚(30~60 °C)-醋酸乙酯梯度洗脱, 收集石油醚-醋酸乙酯(8:2)洗脱部分, 得到黑色胶状物 35 g。将此黑色胶状物再经过 200~300 目硅胶柱色谱分离, 收集石油醚-醋酸乙酯(8:2)洗脱部分, 经第二次硅胶柱色谱分离得到的产品上 Sphadex LH-20 柱, 以氯仿-甲醇(1:1)洗脱除去色素得白色胶状物 28 g。

2.3 半制备色谱分离: 取 1 g 白色胶状物溶于乙腈溶液, 配制成 1 g/mL 的溶液, 超声 30 min, 用半制备高效液相色谱法纯化, 进样量为 50 μL, 分别收集保留时间为 46.2 和 53.4 min 的两个组分, 见图 2。将其减压浓缩(100 °C 以下)后置恒温干燥箱内干燥 24 h (40 °C), 最后得到两个白色针状结晶, 各 600 和 320 mg。

2.4 单体质量分数分析: 由于至今国内尚无多氧取代环己烯类成分的法定对照品, 本实验采用半制备型高效液相色谱分离出紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G, 依照上述正相分析条件, 经 HPLC 归一化法检测 2 个单体质量分数均达到 98.0 % 以上(图 3), 符合要求。

3 鉴定

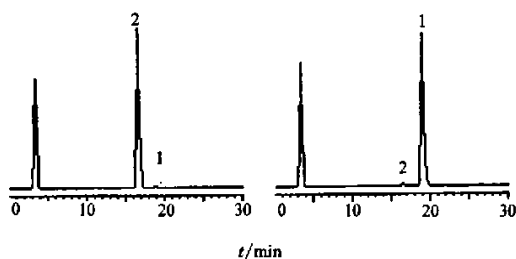
紫玉盘醇: 白色针晶, mp 126~127 °C, $[\alpha]_D^{20} = -99.3^\circ$, (c=0.07, CHCl₃), $UV\lambda_{max}^{MeOH}$ nm: 230, 274, 280; IR (KBr) cm⁻¹: 3 480, 1 709, 1 605, 1 455, 1 280, 1 120, 712; FAB-MS m/z: 385.2 ([M+H]⁺); ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ: 4.22



1-紫玉盘醇 2-大花紫玉盘醇 G
1-zeyleanol 2-uvarigranol G

图2 瘤果紫玉盘中多氧取代环己烯类化学成分的制备液相色谱图

Fig. 2 Preparative chromatogram of polyoxygenated cyclohexenes from *U. kweichowensis*



1-紫玉盘醇 2-大花紫玉盘醇 G
1-zeyleanol 2-uvarigranol G

图3 紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G 的高效液相色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of zeyleanol and uvarigranol G

(1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-2), 5.69 (1H, ddt, $J = 6.6$, 2.6, 1.8 Hz, H-3), 5.81 (1H, ddd, $J = 11.2$, 2.6, 0.6 Hz, H-4), 5.94 (1H, ddd, $J = 11.2$, 3.6, 1.8 Hz, H-5), 4.36 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-6), 4.60 和 4.68 (各 1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-7), 7.30~8.10 (10H, m, H-Ar), 3.05 (3H, s, -OH). ¹³C-NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ: 76.0 (C-1), 70.9 (C-2), 74.4 (C-3), 127.0 (C-4), 128.5 (C-5), 68.6 (C-6), 66.8 (C-7)。以上数据与文献报道^[5]基本一致。

大花紫玉盘醇 G: 白色针晶, mp 68~69 °C, $[\alpha]_D^{20} = -44.0^\circ$, (c=0.05, CHCl₃), $UV\lambda_{max}^{MeOH}$ nm: 230, 274, 280; IR (KBr) cm⁻¹: 3 480, 1 709, 1 605, 1 455, 1 280, 1 120, 712; FAB-MS m/z: 385.2 ([M+H]⁺); ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ: 3.98 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-2), 5.82 (1H, m, H-3), 5.82 (1H, m, H-4), 5.77 (1H, ddd, $J = 10.8$, 1.8, 2.4 Hz, H-5), 4.39 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 4.56 和 4.63 (各 1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-7), δ: 7.30~8.10 (10H, m, H-Ar), 3.25 (3H, s, -OH), ¹³C-NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ: 76.5 (C-1), 71.4 (C-2), 75.0 (C-3), 126.2

(C-4), 128.1(C-5), 67.0(C-6), 65.8(C-7)。以上数据与文献报道^[5]基本一致。

4 讨论

色谱分离方法的选择:紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G 为一对同分异构体,仅 C-6 的绝对构型不同,极性十分相近,普通方法很难将它们分离开。由于紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G 的极性较小,适合用正相 HPLC 分离,但正相色谱试剂要求较高,价格昂贵,故采用反相 HPLC 分离制备单体,正相 HPLC 鉴定质量分数。

制备条件的选择:紫玉盘醇和大花紫玉盘醇 G 的极性小,性质相近,实验起初采用 ODS 柱,甲醇-水(75:25)为流动相,流量 2 mL/min,120 min 出峰,未分离开。根据它们的性质,考虑改用苯基柱分离制备单体,经摸索采用甲醇-水(70:30)为流动相,可将它们基本分开,时间虽然稍长,但每次制备

量较大,基本达到半制备目的。

致谢:感谢贵州省林业研究所邓朝义研究员采集植物材料,军事医学科学院陈合兵和薛燕等同志代测 NMR 和 MS 谱。

References:

- [1] Leboeuf M, Cave A, Bhaumik P K, et al. The phytochemistry of the annonaceae [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21 (12): 2783-2813.
- [2] Nkunya M H H, Weenen H, Koyl N J, et al. Cyclohexene epoxides, (+)-pandoxide, (+)- β -senepoxide and (-)-pipoxide, from *Uvaria pandensis* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26 (9): 2563-2565.
- [3] Liu A, Xu L Z, Zou Z M, et al. The phytochemistry of the *Uvaria* genus [J]. *Foreign Med Sci: Tradit Chin Med* (国外医学: 中医中药分册), 2001, 23(4): 195-204.
- [4] Liao Y H, Xu L Z, Yang S L, et al. Three cyclohexene oxides from *Uvaria grandiflora* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(4): 729-732.
- [5] Xu Q M, Xu L Z, Yang S L. New polyoxygenated cyclohexenes from *Uvaria kweichowensis* and their antitumor activities [J]. *Chem Pharm Bull.* 2005, 53(7): 826-829.

象皮与拟替代品黄牛皮、水牛皮中蛋白的研究

李 莹¹, 李秀兰³, 张燕玲¹, 石 森², 王 昊¹, 李惠芬^{1*}

(1. 天津医科大学, 天津 300070; 2. 天津市天津医院, 天津 300210; 3. 天津市安定医院, 天津 300052)

象皮属象科动物亚洲象 *Elephas maximus* Linnaeus. 的皮, 具有止血敛疮、祛腐生肌作用。其主要成分为蛋白质、氨基酸及微量元素^[1]。以象皮为君药的生肌象皮膏可以促进表皮细胞的增生、分化, 对巨噬细胞膜 Fc 及 C₃b 受体有明显的增强作用, 还可以使伤口的 pH 值变化过程加快, 促进伤口愈合^[2]。但是《中华人民共和国野生动物保护法》已将大象列为国家一级保护动物。为寻找替代品, 本实验选择与象皮具有相似药效作用的黄牛皮和水牛皮作为比较对象, 将 3 种样品提取液中蛋白质的量及组成进行对比分析。

1 仪器与材料

日本日立 U-3310 分光光度计, DYY-III 型电泳仪(北京六一仪器厂)。

象皮由天津医院骨研所组织工程室李秀兰研究员提供, 经天津医科大学药学院周晔副教授鉴定。黄牛皮、水牛皮采自河北省承德市郊区, 属于壮年期 4 岁的牛, 该年龄的牛其后背皮中的蛋白质的量较高,

宰杀放血直至放尽后取该部位的皮。对照品人胎盘血蛋白由天津医科大学检验系生化教研室张燕玲教授提供。丙烯酰胺(Acr, 电泳级)、甲叉丙烯酰胺(Bis)、葡聚糖凝胶树脂(中国医药集团上海化学试剂公司), 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 双缩脲法^[3,4]测定蛋白质

2.1.1 供试品溶液的提取^[4,5]: 精密称取象皮、黄牛皮、水牛皮粉末各 1 g, 加聚山梨酯 80 与少许石英砂于研钵中冰浴研磨 10 min, 加 0.01 mol/L Tris-HCl 缓冲液 300 mL, 于冰浴条件下超声混匀 2 h, 0~4℃冰箱中放置过夜使之充分溶胀。次日冰浴超声提取 6 h 后, 4 000 r/min 离心 15 min, 转移上清液, 下层沉淀加缓冲液 300 mL, 重复操作 4 次, 弃去沉淀, 合并上清液, 加固体 (NH₄)₂SO₄ 至 100% 饱和度, 4 000 r/min 离心 15 min, 沉淀以 Tris-HCl 缓冲液溶解定容 50 mL 量瓶, 得初提液, 0~4℃冰箱中短期保存。

收稿日期: 2007-01-30

基金项目: 天津市自然科学基金重点资助项目(033802911)

* 通讯作者 李惠芬 Tel: (022)23529243 E-mail: lihuifen@tjmu.edu.cn

HPLC法从瘤果紫玉盘叶中分离制备紫玉盘醇和大花紫玉盘醇G

作者: [许琼明](#), [刘艳丽](#), [赵葆华](#), [徐丽珍](#), [杨世林](#), [王少军](#)
作者单位: [许琼明\(苏州大学药学院, 江苏, 苏州, 215123; 中国医学科学院, 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京, 100094\)](#), [刘艳丽\(苏州大学药学院, 江苏, 苏州, 215123\)](#), [赵葆华, 徐丽珍\(中国医学科学院, 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京, 100094\)](#), [杨世林\(中国医学科学院, 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京, 100094; 国家中药固体制剂工程技术研究中心, 江西, 南昌, 330006\)](#), [王少军\(国家中药固体制剂工程技术研究中心, 江西, 南昌, 330006\)](#)
刊名: [中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2007, 38(11)
被引用次数: 1次

参考文献(5条)

1. [Leboeuf M;Cave A;Bhaumik P K](#) [The phytochemistry of the annonaceae](#)[外文期刊] 1982(12)
2. [Nkunya M H H;Weenen H;Koyl N J](#) [Cyclohexene epoxides, \(+\)-pandoxide, \(+\)-β-senepoxide and \(-\)-pipoxide, from Uvaria pandensis](#)[外文期刊] 1987(09)
3. [Liu A;Xu L Z;Zou Z M](#) [The phytochemistry of the Uvaria genus](#) 2001(04)
4. [Liao Y H;Xu L Z;Yang S L](#) [Three cyclohexene oxides from Uvaria grandiflora](#)[外文期刊] 1997(04)
5. [Xu Q M;Xu L Z;Yang S L](#) [New polyoxygenated cyclohexenes from Uvaria kweichowensis and their antitumor activities](#) 2005(07)

本文读者也读过(10条)

1. [杨早](#) [番荔枝科植物抗肿瘤作用研究概况](#)[期刊论文]-[安徽医药](#)2005, 9(7)
2. [许琼明](#) [瘤果紫玉盘和阜康阿魏化学成分的研究](#)[学位论文]2005
3. [杨向楠, 陈海生](#), [YANG Xiang-nan, CHEN Hai-sheng](#) [紫玉盘属植物的化学成分和药理研究进展](#)[期刊论文]-[药与实践杂志](#)2009, 27(2)
4. [陈立军, 于利人, 姚丽, 靳秋月](#) [哥纳香三醇衍生物抗肿瘤活性研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#)2006, 37(7)
5. [顾正兵, 梁华清, 陈海生, 徐一新, 杨根金, 张卫东](#), [GU Zheng-Bing, LIANG Hua-Qing, CHEN Hai-Sheng, XU Yi-Xin, YANG Gen-Jin, ZHANG Wei-Dong](#) [景洪哥纳香中一新型生物碱的分离和结构](#)[期刊论文]-[云南植物研究](#)2000, 22(4)
6. [许琼明, 邹忠梅, 刘艳丽, 徐丽珍, 杨世林](#) [瘤果紫玉盘叶中的多氧取代环己烯类化学成分及其抗肿瘤活性研究](#)[会议论文]-2007
7. [王奇志, 何明芳, 梁敬钰](#) [哥纳香属植物化学成分和生理活性的研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#)2003, 34(3)
8. [陈虹, 刘振华, 李灵芝, 胡迎庆, 吴芳, 严黎, 韩光](#) [Goniotriol和8a-Isogoniotriol的合成](#)[期刊论文]-[武警医学院学报](#)2001, 10(1)
9. [穴位按摩可改变女性肤色](#)[期刊论文]-[科学大观园](#)2009(3)
10. [范燕萍, 李慧玲, 李浩健](#), [FAN Yan-ping, LI Hui-ling, LI Hao-jian](#) [几种花叶线艺兰叶片色斑色素组成和叶绿体超微结构研究](#)[期刊论文]-[华南农业大学学报](#)2006, 27(2)

引证文献(1条)

1. [杨向楠, 陈海生](#) [紫玉盘属植物的化学成分和药理研究进展](#)[期刊论文]-[药与实践杂志](#) 2009(2)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200711019.aspx