



图 2 透析法(A)与葡聚糖凝胶树脂法(B)纯化蛋白液电泳谱图

Fig. 2 Electrophoretogram of proteins purified by dialysis (A) and Sephadex (B) methods

提取完全。

聚丙烯酰胺凝胶电泳实验中优化筛选了 4 种分离胶 Acr/Bis 的配比,分别为 20、25、37.5、60,结果发现比例在 25~37.5 时显色比较明显,故选择 Acr/Bis 为 32.33 配比。

从蛋白质量角度分析象皮与拟替代品黄牛皮近似,水牛皮差距较大;从蛋白质组成成分角度分析,3 种样品中均含有药用所需的肌球蛋白、肌动蛋白、原肌球蛋白、血红蛋白等,为今后进一步深入探讨象皮替代品研究提供了重要参考依据。

References:

- [1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai, Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] Li J. Mechanism of action of Sheng ji Xiangpo Mastic [J]. *J Liaoning Coll Tradit Chin Med* (辽宁中医学院学报), 2005, 7(4): 329.
- [3] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol II. 2005.
- [4] Li L, Zhu H F. Application of spectrophotometric method in determination of the contents of the protein in the milk products [J]. *Acta Acad Med Jiangxi* (江西医学院学报), 2005, 4(2): 34.
- [5] Wang X Y, Li X L, et al. Study of antiinflammation effect of *Corium power* [J]. *China Osteol* (中国骨伤), 1993, 6(2): 6-7.
- [6] Yang D L. Choose protein purification [J]. *Prac J Med Pharm* (实用医学杂志), 2004, 12, 21(12): 1121.
- [7] Hefti M H, van Vugt-Van der Toorn C J G, Dixon R. A novel purification method for histidine-tagged proteins containing a thrombin cleavage site [J]. *Anal Biochem*, 2001, 295(2): 180.
- [8] Cheng Z Y. *Clinical Biochemistry and Short Protocols in Biochemistry* (临床生物化学和生物化学检验实验指导) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003.
- [9] Tao J Y. Application of electrophoresis method in pharimic analyse [J]. *Anhui Med Pharm J* (安徽医药), 2004, 9(2): 125-126.
- [10] Wang L F, Yang L F. *Protein and Nucleic Acid* (蛋白质与核酸) [M]. Beijing: Beijing Medical University and Peking Union Medical College Publishing House, 1998.

比色法测定阿诺宁脂肪乳注射剂中总内酯

潘小平,吴萍,林立东*

(中国科学院华南植物园,广东广州 510650)

阿诺宁是我园从国产番荔枝科植物番荔枝 *Annona squamosa* 种子中发现的一个具有高抗癌活性的番荔枝内酯有效部位药物。该药是由质量分数大于 90% 的 5~6 个番荔枝内酯化合物和质量分数小于 10% 的未知成分组成^[1]。阿诺宁的活性部位为番荔枝内酯,含有一个不饱和五元内酯环,在碱性溶液中,双键转位形成活性次甲基,从而能够与 Kedde 试剂反应而显色^[2],在 534 nm 波长下有最大吸收值,可用于总内酯的测定^[3]。因此本实验建立比色法测定阿诺宁脂肪乳注射剂中番荔枝总内酯的方法。

1 试剂与仪器

Kedde 试剂:1g3,5-二硝基苯甲酸溶于 50 mL 无水乙醇中,缓慢加入 50 mL 1 mol/L NaOH,摇匀待用(新鲜配置)。阿诺宁脂肪乳注射剂由桂林三金

制药有限公司生产,squamocin 对照品(华南植物园植物化学实验室制备),Lambda 25 UV/Vis 紫外分光光度计,PerKinElmer 公司。

2 方法与结果

2.1 对照品储备液的制备:精密称取 squamocin 约 24.5 mg,置于 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,制得对照品储备液(4.9 mg/mL)。

2.2 供试品溶液的制备:精密移取阿诺宁脂肪乳注射剂 5 mL,加入少量无水乙醇,用旋转蒸发仪浓缩,得淡黄色透明油状物。加入约 4 mL 氯仿溶解,过 2 g 硅胶柱(内径:8 mm,100~200 目柱色谱硅胶,青岛海洋化工厂),再用 15 mL 氯仿洗脱油脂后,用 30 mL 氯仿-甲醇(95:5)洗脱,收集洗脱液,用旋转蒸发仪浓缩蒸去溶剂后,加入 1 mL 乙醇溶解,即得。

收稿日期:2006-12-08

作者简介:潘小平,女,华南植物园公共实验室工程师。Tel: (020)37252699-550 E-mail: xppan@scbg.ac.cn

* 通讯作者 林立东 Tel: (020)37252537 E-mail: lind@scbg.ac.cn

2.3 测定波长的选择:精密移取对照品储备液 1 mL 置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释,得对照品溶液(0.98 mg/mL)。在 3 mL 比色皿中加入新鲜配制的 Kedde 试剂 2 mL,再加入 1 mL 甲醇摇匀后作为空白,在另一 3 mL 比色皿中加入 2 mL Kedde 试剂,再加入 1 mL 对照品溶液或供试品溶液,摇匀,于紫外分光光度计上在 400~700 nm 波长进行扫描。结果供试品溶液与对照品溶液均在 534 nm 波长处有最大吸收,故确定测定波长为 534 nm。

2.4 线性关系考察:精密移取对照品储备液 100、200、400、600、800、1000 μ L 置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释成 5 mL 的对照品系列溶液。在 3 mL 比色皿中加入新鲜配制的 Kedde 试剂 2 mL,再加入 1 mL 甲醇摇匀后为空白,在另一 3 mL 比色皿中加入 2 mL Kedde 试剂,再加入 1 mL 对照品溶液,摇匀后立即在 534 nm 波长处测定,并记录 3 min 内吸光度随时间的变化值,记录最大吸光度值,以最大吸光值为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得线性回归方程为 $Y=0.3354 X$, $r=0.9998$,结果表明 squamocin 在 0.1~1.0 mg/mL 与吸光度呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密移取对照品储备液 1 mL 5 份分别置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释成 5 mL 溶液。依法显色后测定吸光度,结果 RSD 为 0.5%。

2.6 重现性试验:精密移取阿诺宁脂肪乳注射剂 5 mL,制备供试品溶液,共制备样品 5 份,依法分别测定吸光度,计算,结果 RSD 为 2.3%。

2.7 稳定性试验:移取对照品储备液,配置成质量浓度约为 0.6 mL/mg 的溶液,分别在 4、24、34 $^{\circ}$ C 下依法显色后测定,并记录 3 min 内吸光度随时间的变化值。结果表明,反应随温度的升高而加快,在 4~

34 $^{\circ}$ C,温度越高,最大吸光度值出现的越快。记录不同温度下最大吸光度,结果 RSD 为 2.9%,说明温度在 3 min 对测定结果影响不大。

2.8 加样回收率试验:精密吸取含番荔枝内酯 0.092 mg/mL 阿诺宁脂肪乳注射剂 5 mL (编号 040905) 5 份,加入 squamocin 对照品适量,制备供试品溶液,依法显色后测定吸光度,计算得平均回收率为 101.6%,RSD% 为 3.0($n=5$)。

2.9 样品测定:取阿诺宁脂肪乳注射剂 5 mL,制备供试品溶液,测定吸光度,代入线性回归方程,计算质量浓度,结果见表 1。

表 1 阿诺宁脂肪乳注射剂中总内酯的测定结果($n=3$)
Table 1 Determination of acetogenin
in Annonia Injection ($n=3$)

样品编号	总内酯/(mg·mL) ⁻¹	RSD/%
040905	0.092	1.8
050407	0.092	2.3

3 讨论

由于番荔枝内酯与 Kedde 试剂反应显色后只能维持一定的时间,温度对其反应速度有很大影响,通常在 24 $^{\circ}$ C 时,大约在 1 min 左右可达到最大吸收,2 min 后颜色开始渐渐退去,所以采用测试吸光值随时间的变化,记录最大吸光值,可以减少误差。在不同温度下,显色后到达最大吸收的时间不同,但最大吸光值变化不大。

采用硅胶柱色谱分离纯化阿诺宁内酯,然后采用比色法测定内酯的总量,可以消除杂质干扰。

References:

- [1] Wei X Y, Xie H H, Wu S H, et al. Anti-cancer activity components and its preparation method [P]. CN, ZL01107594.5, 2004-03-18.
- [2] Xu R S, Ye Y, Zhao W M. Natural Product Chemistry (天然产物化学) [M]. Beijing: Science Press, 2004.
- [3] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

木香炮制品中木香烃内酯和去氢木香内酯的 HPLC 测定

李 慧,陈宝田,翁立冬,刘 强*

(南方医科大学中医药学院,广东 广州 510515)

木香系菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根,味苦,性辛温,归脾、胃、大肠、胆、三焦经,具有行气止痛、消食健脾之功效。木香烃内酯

和去氢木香内酯是木香的主要活性成分之一。木香烃内酯具有利胆和抑制溃疡,抑制由 KCl 诱导的主动脉收缩^[1],诱导癌细胞凋亡的作用^[2]。木香的炮制

收稿日期:2006-12-31

作者简介:李 慧(1982—),女,山东省淄博市人,在读硕士。Tel:(020)62841816 E-mail,lihui36@fimmu.com

*通讯作者 刘 强 Tel:(020)61648264

比色法测定阿诺宁脂肪乳注射剂中总内酯

作者: 潘小平, 吴萍, 林立东
作者单位: 中国科学院, 华南植物园, 广东, 广州, 510650
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(3条)

1. Wei X Y; Xie H H; Wu S H Anti-cancer activity components and its preparation method 2004
2. Xu R S; Ye Y; Zhao W M 天然产物化学 2004
3. 中华人民共和国药典(二部) 2005

本文读者也读过(10条)

1. 贾梦醒. 罗南富. 张文胜. 周建新. 刘进 挥发性麻醉药在脂肪乳及其组分中的分配系数[期刊论文]-华西药学期刊 2004, 19(6)
2. 熊威威. 林高翔. 蒋奕红. 庾俊雄. 谭永星. 王华 依托咪酯脂肪乳与氯胺酮静脉复合麻醉在小儿短小手术中的应用[期刊论文]-医学临床研究 2011, 28(3)
3. 董隽. 郭建新. 平其能. DONG Jun. GUO Jian-xin. PING Qi-Neng 羟基喜树碱脂肪乳的制备及其在人血浆中稳定性考察[期刊论文]-中国新药杂志 2005, 14(6)
4. 薛艳. 孔妍. 李洪宇. 江荣高. XUE Yan. KONG Yan. LI Hong-yu. JIANG Rong-gao 羟基喜树碱脂肪乳与市售注射液在家兔肝脏中分布的比较[期刊论文]-中南药学 2008, 6(2)
5. 赵荣丽. 侯世祥. 毛声俊. 郭丹丹. 何峻瑶. ZHAO Rong-li. HOU Shi-xiang. MAO Sheng-jun. GUO Dan-dan. HE Jun-yao 川芎嗪脂肪乳在小鼠体内分布的研究[期刊论文]-中南药学 2008, 6(3)
6. 王春龙. 江荣高. 刘健华. 薛艳 羟基喜树碱脂肪乳的光照稳定性及其在家兔体内的药动学和肝靶向性[期刊论文]-中草药 2008, 39(5)
7. 唐斌斌. 郝保华. 岳奇峰. 李伟泽. 张寒. 杜书君. 刘森. 李凡 连翘萜烯脂肪乳制备工艺研究[期刊论文]-中成药 2008, 30(10)
8. 陈银芳. 徐群志. 魏惠珍. 张红红. 金浩鑫. 饶毅 Kedde比色法测定复方雷公藤片中总内酯[期刊论文]-中草药 2008, 39(2)
9. 刘健华. 江荣高. 王春龙. LIU Jian-hua. JIANG Rong-gao. WANG Chun-long 利用脂肪乳载体提高羟基喜树碱的胰腺靶向性[期刊论文]-中草药 2008, 39(6)
10. 刘丽岚. 马守栋. 梁东升. 李明春. 李晓 尼莫地平脂肪乳制备条件的优选[期刊论文]-实用医药杂志 2009, 26(12)

引证文献(1条)

1. 逯获. 任晓文. 王博. 李洪起 载药脂肪乳剂的研究进展[期刊论文]-现代药物与临床 2011(5)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200711021.aspx