

化剂的用量、制备方法、放置条件等都制约着其稳定性。Mehnert 等^[3]通过试验证明纳米分散液中脂质粒子从亚稳态转变为稳态的过程中,由于粒径较小及乳化剂的存在导致药物从纳米粒中溶出。

Cavalli 等^[7]研究在固体脂质纳米粒灭菌过程中,如果使用了聚合物泊洛沙姆系列在 121 ℃ 下灭菌,纳米粒会被破坏。原因可能是此温度已超过了聚合物的临界絮凝温度,造成纳米粒稳定性降低,粒子聚集形成絮状沉淀,所以本实验采取 100 ℃ 下灭菌,延长灭菌时间,结果纳米粒分散液的粒径、Zeta 电位均无明显变化,可以为注射剂生产中的灭菌操作提供可靠、准确的灭菌条件。

参考文献:

- [1] Feng S S, Huang G F. Effects of emulsifiers on the controlled release of paclitaxel (Taxel ®) from nanospheres of biodegradable polymers [J]. *J Controlled Release*, 2001, 71:

53-69.

- [2] Wong H L, Bengavan R, Rauth A M, *et al.* Development of solid lipid nanoparticles containing ionically complexed chemotherapeutic drugs and chemosensitizers [J]. *J Pharm Sci*, 2004, 93: 1993-2008.
- [3] Mehnert W, Mader K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and application [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47: 165-196.
- [4] Westesen K, Bunjes H, Koch M H J. Physicochemical characterization of lipid nanoparticles and evaluation of their drug loading capacity and sustained release potential [J]. *J Controlled Release*, 1997, 48: 223-236.
- [5] Rainer H M, Karsten M, Sven G. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—a review of the state of the art [J]. *Eur J Pharm Bio*, 2000, 50: 161-177.
- [6] Venka T V, Manjunath K. Preparation, characterization and *in vitro* release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles [J]. *J Controlled Release*, 2004, 95: 627-638.
- [7] Cavallir, Caputo O, Carlotti M E, *et al.* Sterilisation and freeze-drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles [J]. *Int J Pharm*, 1997, 148: 47-54.

荧光脂质体法研究芍药甘草汤对磷脂酶 A₂ 的抑制效应及其配伍作用

刘陶世,赵新慧,段金彪,狄留庆,黄耀洲

(南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室,江苏 南京 210029)

摘要:目的 采用荧光脂质体研究芍药甘草汤对磷脂酶 A₂(PLA₂)的抑制效应及其配伍作用。方法 以磷脂酰胆碱和胆固醇等为主要材料,采用薄膜分散法-超声-膜挤出-葡聚糖凝胶柱色谱分离-冷冻干燥的联用技术制备包封羧基荧光素的脂质体;利用 PLA₂ 能水解磷脂破坏脂质体造成羧基荧光素渗漏的原理,将药物、PLA₂ 和荧光脂质体共同温孵,检测从脂质体渗漏的羧基荧光素的荧光强度,该强度反映药物对 PLA₂ 的抑制强度。结果 芍药甘草汤、甘草、甘草酸和对照药氯丙嗪对 PLA₂ 活性均具有较强的抑制作用,白芍抑制作用较弱,而芍药苷几乎无抑制作用;芍药甘草汤复方对 PLA₂ 的抑制作用强于单味甘草和白芍。结论 芍药甘草汤对 PLA₂ 具有较强的抑制活性,白芍与甘草具有协同作用。

关键词:芍药甘草汤;甘草酸;磷脂酶 A₂(PLA₂);脂质体

中图分类号:R283.2;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)07-1000-05

Inhibition and compatibility of Shaoyao Gancao Decoction on phospholipase A₂ by fluorescent liposome

LIU Tao-shi, ZHAO Xin-hui, DUAN Jin-ao, DI Liu-qing, HUANG Yao-zhou

(Jiangsu Key Laboratory for Research of Pharmacology of Traditional Chinese Medical Formula, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract: **Objective** To study the inhibition and compatibility of Shaoyao Gancao Decoction on phospholipase A₂(PLA₂) by fluorescent liposome. **Methods** Liposome encapsulated carboxyfluorescein was prepared with phosphatidyl choline and cholesterol by conventional rotary-evaporated film dispersion, sonication, membrane extrusion, and purified on Sephadex G-50, then lyophilized. The drug, PLA₂, and fluo-

收稿日期:2007-10-08

基金项目:江苏省科技厅自然科学基金资助项目(BK2005148);江苏省方剂研究重点实验室开放课题

作者简介:刘陶世(1971—),男,湖南邵阳人,助理研究员,博士,1992年毕业于湖南中医学院中药系,工作于湖南中医学院第三附属医院药剂科,1998、2006年分别获得南京中医药大学硕士和博士学位,在南京中医药大学中医药研究院制剂室从事科研教学工作,主持厅局级以上纵向课题4项,参加省部级以上课题10余项,发表论文30余篇,学术著作2本,申请专利4项,研究方向为中药新剂型、重大疾病的新药研制、医药膜科学(生物膜仿生和膜分离技术等)。

Tel:(025)86798188 E-mail:tsliur4111@sina.com

rescent liposome were incubated. The content of the leakage carboxyfluorescein from liposome was determined by fluorescence spectrophotometry. The content indicated the inhibition degree of drug on PLA₂.

Results The inhibition of Shaoyao Gancan Decoction, *Glycyrrhiza uralensis*, glycyrrhizin, and chlorpromazine on PLA₂ respectively was strong, while the inhibition of *Paeoniae Alba* was weak and paeoniflorin had little inhibition. **Conclusion** The inhibition of Shaoyao Gancan Decoction on PLA₂ is strong. *Glycyrrhiza uralensis* and *Paeoniae Alba* show the synergism in inhibiting PLA₂.

Key words: Shaoyao Gancan Decoction; glycyrrhizin; phospholipase A₂(PLA₂); liposome

近几十年来,类风湿性关节炎、慢性结肠炎等重大难治性炎症性疾病的病理生理、诊断和治疗药物研究取得了很大进展,但此类疾病的治疗仍不尽人意。临床实践表明许多中药及其复方对类风湿性关节炎、慢性结肠炎和慢性肝炎等炎症性疾病具有良好疗效,但其抗炎的物质基础、分子作用机制和配伍机制多数不明。磷脂酶 A₂ (phospholipase A₂, PLA₂) 在炎症病理过程中具有重要作用,是磷脂 sn-2 位脂酰基水解酶,能水解细胞膜磷脂,释放花生四烯酸,再进一步代谢生成前列腺素和白三烯而释放大量的炎性介质,导致炎症发生。PLA₂ 的激活是生成炎性介质的限速步骤,抑制其活性可以减少前列腺素和白三烯的数量。以 PLA₂ 为选择性靶标的新型抗炎药成为未来发展趋势^[1]。研究中药对 PLA₂ 的影响对阐明抗炎有效中药及其复方的作用机制具有重要意义。目前尚无合适的分子、细胞、离体器官等高效药理模型来研究中药及其复方对 PLA₂ 的影响。由于中药及其复方的复杂性,采用整体动物模型探讨中药及其复方对 PLA₂ 影响,存在工作量巨大,研究时间长、费用高、干扰因素多等缺点,难以阐明中药抑制 PLA₂ 的物质基础、作用机制及其配伍机制。本研究制备了包封羧基荧光素的脂质体,利用 PLA₂ 能水解磷脂破坏脂质体造成羧基荧光素渗漏的原理,构建了一种具有体外高通量筛选性能的 PLA₂ 荧光脂质体抗炎药理模型,间接检测抗炎药物对 PLA₂ 的抑制活性。芍药甘草汤是《伤寒论》名方,由甘草和白芍两味中药组成,具有调和肝脾、缓急止痛功效,现代临床常用于各种炎症性疾病和痉挛性痛症的治疗,如妇科炎症性腹痛、病毒性肝炎、慢性溃疡性结肠炎、慢性胃炎、类风湿性关节炎等,疗效显著,但其抗炎作用机制尚不完全明确。本研究采用 PLA₂ 荧光脂质体体外抗炎药理模型研究芍药甘草汤对分泌型 PLA₂ 的抑制效应及其配伍作用,以阐明其抗炎的分子机制。

1 实验材料

R-205 型旋转蒸发器(瑞典 Buchi 公司),

KQ-500E 型超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司),ALPHA 1-6 型冷冻干燥机(德国),AG-285 型电子天平(瑞典 Mettler 公司),GEMINI XS 微孔板荧光检测仪(美国 MD 公司),H600-11 透射电子显微镜(日本日立公司),聚偏氟乙烯微滤膜(北京九鼎高科过滤设备有限公司)。

羧基荧光素(天津立功精细化工有限公司,质量分数大于 99.0%),磷脂酰胆碱(国药集团化学试剂有限公司),胆固醇(中国慧兴生化试剂有限公司),sPLA₂(Sigma 公司)。Sephadex G-50 葡聚糖凝胶,海藻糖等均为分析纯。甘草酸(批号 110731-200511)和芍药苷(批号 110736-200321)对照品均购自中国药品生物制品检验所。

甘草和白芍药材均购自安徽省亳州市药材总公司,经南京中医药大学吴启南教授鉴定,甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎,白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 荧光脂质体的制备:精密称取磷脂酰胆碱 600 mg、胆固醇 300 mg 溶解于 60 mL 氯仿中,置于 2 L 茄形瓶中于旋转蒸发器上 30 ℃ 蒸去氯仿使类脂在茄形瓶内壁均匀成膜;将羧基荧光素 10 mg、海藻糖 300 mg、蔗糖 300 mg 溶于 40 mL PBS 缓冲液,然后加到茄形瓶中,于旋转蒸发器上 40 ℃ 旋转水化和洗脱类脂膜,洗脱液超声处理 10 min;用 0.45 μm 聚偏氟乙烯微滤膜挤压滤过;滤液过葡聚糖凝胶柱(玻璃柱 25 cm×2.0 cm, Sephadex G-50 葡聚糖 8 g),用含海藻糖和蔗糖各 0.75% 的 PBS 液洗脱,收集先流出的黄绿色浑浊脂质体液,在 -45 ℃ 下预冻,然后冷冻干燥,即得荧光脂质体冻干粉。

2.2 羧基荧光素的测定

2.2.1 标准曲线的绘制:精密称取羧基荧光素 1.06 mg,加 PBS 溶液定容至 100 mL,配成 10.6 μg/mL 贮备液。再依次配成 1 060、530、265、132.5、66.25、33.125 ng/mL 对照品溶液进行荧光分光光

度法测定。所用激发波长为488 nm,发射波长为518 nm,狭缝为2 nm,96孔微孔板样品量200 μ L。以荧光强度为纵坐标(Y),羧基荧光素质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,得回归方程: $Y=24.603 X+42.914$, $r=0.9999$ 。结果表明羧基荧光素在33.125~1060 ng/mL与荧光强度呈良好线性关系。

2.2.2 荧光脂质体中羧基荧光素的测定:精密称取荧光脂质体冻干粉400 mg,加4 $^{\circ}$ C的蒸馏水10 mL,冰箱中4 $^{\circ}$ C条件下放置2 h水化,即得液态荧光脂质体。吸取0.5 mL荧光脂质体,加适量 Triton-X 100(聚乙二醇辛基苯基醚)破坏脂质体使成澄清溶液,用PBS溶液定容至25 mL,吸取200 μ L置96孔微孔板中,用微孔板荧光检测仪测定,即得脂质体中羧基荧光素的总量。结果表明冻干荧光脂质体中羧基荧光素的质量分数为0.077%。

2.2.3 羧基荧光素包封率的测定:采用葡聚糖凝胶柱色谱分离脂质体和未封装的游离羧基荧光素(20 $^{\circ}$ C)。吸取上述脂质体0.5 mL,过葡聚糖凝胶柱(玻璃柱,12 cm $\times$ 1.5 cm,1.0 g 葡聚糖凝胶 Sephadex G-50),PBS液洗脱,分别收集先流出的黄绿色脂质体浑浊液和后流出的游离羧基荧光素澄清液。向脂质体液中加入适量 Triton-X 100 破坏脂质体使成澄清溶液,用PBS溶液定容至25 mL。游离羧基荧光素液用PBS溶液定容至25 mL。结果表明复水成液态脂质体后的包封率为95.89%(制备工艺中未经葡聚糖凝胶分离前的包封率为13.13%)。冻干荧光脂质体复水后羧基荧光素的渗透性考察:取上述液态荧光脂质体于25 $^{\circ}$ C和37 $^{\circ}$ C水浴中放置,分别于10、30、60 min 取样0.5 mL,经葡聚糖凝胶柱色谱分离后测定羧基荧光素从脂质体中渗漏程度[以泄漏率表示,泄漏率=(95.89-各温孵条件下脂质体包封率)/95.89 $\times$ 100%]。结果表明,冻干荧光脂质体复水后的液态脂质体在25 $^{\circ}$ C条件下1 h内羧基荧光素渗漏小于2%,37 $^{\circ}$ C条件下1 h内羧基荧光素渗漏小于3%,见表1。

表1 荧光脂质体的稳定性试验结果
Table 1 Stability of fluorescent liposome

温度/ C	时间/ min	脂质体 CF 荧光 RFU	游离 CF 荧光 RFU	脂质体 CF 包封率/%	CF 渗透率/ %
20	0	14 781	674.3	95.89	0
25	10	14 652	705.2	95.41	0.50
	30	14 584	726.7	95.25	0.66
	60	14 507	794.3	94.81	1.13
37	10	14 461	879.6	94.27	1.69
	30	14 375	946.4	93.82	2.16
	60	14 268	1067.5	93.04	2.97

2.3 溶液的制备

2.3.1 待测药液的制备:称取甘草10 g和白芍10 g,加蒸馏水200 mL煎煮2次,每次1 h,滤过,合并滤液,减压浓缩至20 mL(1 g/mL),加95%药用乙醇至药液中乙醇体积分数为80%,室温静置12 h,减压回收乙醇,加蒸馏水定容至40 mL,即得含甘草和白芍各0.25 g/mL的复方提取液。同法制备甘草提取液(0.25 g/mL)和白芍提取液(0.25 g/mL)。另称取甘草酸配成5.0 mg/mL甘草酸PBS溶液,取芍药苷配成5.0 mg/mL芍药苷PBS溶液。

2.3.2 氯丙嗪(阳性对照药)溶液的配制:称取盐酸氯丙嗪20 mg,加PBS缓冲液10 mL溶解,即得2 mg/mL盐酸氯丙嗪溶液。再依次配成1.0、0.5、0.25 mg/mL系列氯丙嗪溶液。

底物(冻干荧光脂质体的复水)的制备:精密称取荧光脂质体冻干粉400 mg,加4 $^{\circ}$ C蒸馏水10 mL,冰箱中4 $^{\circ}$ C条件下放置2 h水化,即得液态荧光脂质体。

2.3.3 PBS缓冲液的配制:精密称取磷酸二氢钠1.9 mmol、磷酸氢二钠8.1 mmol、氯化钠0.15 mol,加重蒸馏水至1000 mL配制而成,pH值为7.4。

磷脂酶A₂溶液的配制:取磷脂酶A₂(分泌型)冻干粉2 mg,加PBS溶液定容至10 mL,即得0.2 mg/mL磷脂酶A₂溶液,4 $^{\circ}$ C冷藏备用。

2.3.4 氯化钙溶液(激活剂)的配制:分泌型磷脂酶A₂的激活需要钙离子。精密称取氯化钙0.222 g,加PBS缓冲液配成100 mL,即得20 mmol/L氯化钙PBS溶液。

乙二胺四乙酸溶液(反应终止液)的配制:乙二胺四乙酸(EDTA)能络合钙离子,可终止磷脂酶A₂的催化活性。精密称取EDTA 0.584 g,加PBS缓冲液配成200 mL,即得10 mmol/L的EDTA溶液。

2.4 温孵:精密吸取药液10~50 μ L(不足50 μ L的用PBS液补足)和磷脂酶A₂50 μ L混合,于37 $^{\circ}$ C水浴温孵10 min。再加入液态荧光脂质体200 μ L,20 mmol/L氯化钙PBS溶液100 μ L,混匀,继续于37 $^{\circ}$ C水浴温孵60 min。取出,置冰浴中立即加入含10 mmol/L乙二胺四乙酸(EDTA,络合钙离子终止反应)200 μ L,混匀,放置10 min终止反应。

2.5 葡聚糖凝胶柱色谱分离脂质体和游离的羧基荧光素:吸取上述液体,过葡聚糖凝胶柱(玻璃柱12 cm $\times$ 1.5 cm,Sephadex G-50 葡聚糖1.0 g),PBS液洗脱,分别收集先流出的脂质体浑浊液和后流出的

游离羧基荧光素澄清液。向脂质体液中加入适量 Triton-X 100(聚乙二醇辛基苯基醚)破坏脂质体使成澄清溶液,用 PBS 溶液定容至 25 mL。游离羧基荧光素液用 PBS 溶液定容至 25 mL。

2.6 样品的测定结果:吸取上述各样品液 200 μ L 置 96 孔微孔板中用微孔板荧光检测仪测定,激发波长为 488 nm,发射波长为 518 nm,狭缝为 2 nm。并计算 PLA₂ 抑制率[抑制率=100%-(药物抑制后的游离荧光强度-374.1)/(3 845.7-374.1)×

100%],结果见表 2。芍药甘草汤、甘草、甘草酸和氯丙嗪对磷脂酶 A₂ 水解磷脂酰胆碱的活性均具有较强的抑制作用,且具有明显量效关系。白芍抑制作用较弱,而芍药甘几乎无抑制作用。在相同剂量条件下芍药甘草汤抑制磷脂酶 A₂ 活性的作用强于单味甘草和白芍,说明甘草和白芍具有协同效果。芍药甘草汤抑制磷脂酶 A₂ 活性的主要有效成分是甘草酸,但还有其他有效成分的参与,其化学结构有待进一步研究。

表 2 芍药甘草汤对磷脂酶 A₂ 的抑制效应和配伍作用

Table 2 Inhibition and compatibility of Shaoyao Gancao Decoction on PLA₂

样 品		加入量/ μ L	体系药物浓度/ (mg·mL ⁻¹)	脂质体荧光强度 RFU	游离荧光强度 RFU	PLA ₂ 抑制率/%
阴性	PBS+加酶	50	0	2 271.6	3 845.7	0
	PBS+不加酶	50	0	5 692.8	374.1	100
氯丙嗪	高剂量	50	0.5	5 562.4	483.1	96.86
	低剂量	50	0.125	3 604.9	2 447.2	40.28
芍药甘草汤	高剂量	25	31.25	5 504.3	537.5	95.29
	低剂量	10	12.5	4 927.1	1 178.2	76.84
甘草	高剂量	25	15.625	5 163.4	960.5	83.11
	低剂量	10	6.25	4 518.5	1 575.9	65.38
白芍	高剂量	25	15.625	3 896.3	2 182.7	47.90
	低剂量	10	6.25	3 572.7	2 534.8	37.76
甘草酸	高剂量	50	0.625	4 162.2	1 891.7	56.29
	低剂量	25	0.312 5	3 423.1	2 672.4	33.80
芍药甘	高剂量	50	0.625	2 657.8	3 419.6	12.27
	低剂量	25	0.312 5	2 574.3	3 520.1	9.38

3 讨论

炎症在许多难治性疾病如类风湿性关节炎、慢性结肠炎和慢性肝炎等的发病中占有重要地位,磷脂酶 A₂(PLA₂)是炎症发生的关键酶。目前国内外以 PLA₂ 为靶标探讨中药及其复方抗炎的分子机制比较少见,且多以整体动物进行研究,如邱耕等^[2]研究了苦参碱对内毒素致炎大鼠 PLA₂ 活性的影响,结果表明苦参碱对 PLA₂ 活性的抑制作用可能是其抗炎机制之一。林秀珍等^[3]发现急性细菌性胆管炎家兔口服胆必清颗粒后能明显抑制 PLA₂ 活性和炎性细胞因子(TNF α 和白介素-6)的过量产生。PLA₂ 活性的测定多采用从致炎动物中提取淋巴细胞,加入¹³C 或³H 标记的花生四烯酸温孵使进入磷脂双分子层中;由于 PLA₂ 可水解磷脂,导致花生四烯酸释放,因此通过检测花生四烯酸的释放,可反映血浆 PLA₂ 的水平及活性。但该法操作繁琐、误差大,不利于高通量筛选。日本有学者以 D,L-二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)为膜材包封 PLA₂ 和羧基荧光素(CF,释放指示剂)制备人工生物膜,并通过光跃迁法测定了甘草酸对 PLA₂ 的抑制效果,结果表明甘

草酸对 PLA₂ 具有明显抑制作用,与消炎痛等药物相似。但国内尚未见到类似报道。

磷脂酶 A₂ 来源于蛇毒、蜂毒和哺乳动物的胰液,可分为依赖钙离子激活的分泌型磷脂酶 A₂ (sPLA₂)和胞内型磷脂酶 A₂ (cPLA₂),以及不需要钙离子激活的非钙依赖型磷脂酶 A₂ (iPLA₂)。磷脂酶 A₂ 通过催化体内磷脂水解而广泛参与炎症、细胞信号传导和细胞凋亡等生理病理过程。sPLA₂ 相对分子质量为 1.4×10⁴,对磷脂的 Sn-2 位脂酰基无选择性作用,激活需要毫摩尔级的钙离子;而 cPLA₂ 相对分子质量为 8.5×10⁴,仅水解 Sn-2 位带有花生四烯酸基团的磷脂,激活需要微摩尔级的钙离子。sPLA₂ 可分为胰型(I 型)和非胰型(II 型),I 型 sPLA₂ 主要存在于胰腺中,参与食物磷脂消化、细胞增殖和急性胰腺炎的组织损伤等生理病理过程;而 II 型 sPLA₂ 主要存在于血小板、关节滑液和脾等部位,在风湿性关节炎的滑膜液、牛皮癣的皮肤和创伤休克患者血清中量较高。cPLA₂ 通过水解磷脂产生花生四烯酸而在炎症和细胞信号传导等方面具有重要意义,iPLA₂ 相对分子质量大小不一,激活机制和

功能不甚明了,可能参与吞噬过程中微粒摄取、吸收、膜融合、DNA合成和转录等生理过程^[4]。磷脂酶A₂活性的传统测定方法是滴定法(滴定脂肪酸),药品和试剂用量大,成本高,且特异性和敏感性不高,已逐渐淘汰;采用高效液相色谱法直接测定脂肪酸难度亦大(生成的脂肪酸需进行衍生化反应)。目前主要采用合成底物测定PLA₂的催化活性,通常是在甘油磷脂的Sn-2位接上可显色的基团(如1-十六酰基-2-花生四烯酰巯基-甘油-3-磷酸胆碱)、或荧光基团(Sn-2位酰基的末端接上萘基团等)或同位素基团(将磷脂用¹⁴C同位素标记),或合成与磷脂结构类似能被PLA₂水解的非磷脂化合物(6-庚酸-7-羟基香豆素等)。上述底物被PLA₂水解后通过紫外-可见分光光度法测定显色的产物,或通过荧光分光光度法测定荧光产物,或通过放射检测测定同位素标记的产物。这些方法较为成熟,且灵敏度高,但需要特殊标记物或专用仪器而难以推广应用^[5]。

本实验以磷脂酰胆碱和胆固醇等为主要材料,采用薄膜分散法-超声-微滤膜挤出-葡聚糖凝胶柱色谱分离-冷冻干燥联用技术制备包封羧基荧光素的脂质体(固态脂质体便于保存),利用PLA₂能水解磷脂破坏脂质体造成羧基荧光素渗漏的原理,将药物、PLA₂和复水后的液态荧光脂质体共同温孵,采用荧光分光光度计检测从脂质体渗漏的羧基荧光素的荧光强度,该强度反映药物对PLA₂的抑制强度。采用本法氯丙嗪(PLA₂公认抑制剂)对PLA₂的

有效浓度为微摩尔级,且具有明显量效关系,与国外报道^[6]相近(国外学者以放射性标记法测定氯丙嗪抑制猪胰腺sPLA₂活性的IC₅₀为517 μmol/L,即0.16 mg/mL),表明该方法是可行的。目前甘草酸对PLA₂的抑制作用已得到国内外学者的证实^[7]。本实验的研究结果表明芍药甘草汤、甘草和甘草酸对PLA₂活性均具有较强的抑制作用,且量效关系明显,但白芍抑制作用较弱,芍药几乎无抑制作用。在相同剂量条件下芍药甘草汤抑制PLA₂活性强于单味甘草和白芍,说明甘草和白芍具有协同效果。甘草酸是芍药甘草汤抑制磷脂酶A₂活性的主要成分,其他活性成分有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Dennis E A. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A₂ [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(18): 13057-60.
- [2] 邱耕,涂植光,李晓文. 苦参碱对内毒素致炎大鼠PLA₂活性影响及其抗炎机制研究[J]. *中草药*, 2002, 33(7): 630-632.
- [3] 赵承梅,沈彬,华潜棠,等. 中药清解灵配合胆管减压引流对急性重症胆管炎大鼠脏器中磷脂酶A₂和氧自由基含量的影响[J]. *天津中医学院学报*, 2004, 23(1): 16-18.
- [4] 王晓辉,颜光涛. 磷脂酶A₂抑制剂的研究进展[J]. *标记免疫分析与临床*, 2003, 10(1): 33-36.
- [5] 赵树铭,康格非. 磷脂酶A₂测定方法进展[J]. *国外医学:临床生物化学与检验学分册*, 1995, 16(6): 242-244.
- [6] Chang J, Musser J H, McGregor H. Phospholipase A₂: function and pharmacological regulation [J]. *Biochem Pharmacol*, 1987, 36(15): 2429-2436.
- [7] Okimasu E, Moromizato Y, Watanabe S, et al. Inhibition of phospholipase A₂ and platelet aggregation by glycyrrhizin, an antiinflammation drug [J]. *Acta Med Okayama*, 1983, 37(5): 385-391.

大鼠灌胃棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷后血清中药物的分析

许彤彤,王 郅,郭 慧,赵玉英,张庆英*

(北京大学医学部药学院 天然药物学系 天然药物与仿生药物国家重点实验室,北京 100083)

摘要:目的 研究大鼠灌胃棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷后血清中药物的分析检测方法。方法 大鼠灌胃250 mg/kg 棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷,收集血样,进行适当的前处理,采用HPLC-DAD、LC-MSⁿ法对血清样品进行检测。结果 HPLC-DAD和LC-MSⁿ两种方法均能检测到血清中的棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷,但未能检测到其代谢产物。血清样品前处理中的离心转速、pH值、纯化方法对血清中棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷的分析检测有明显影响。结论 建立了大鼠灌胃棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷后血清中药物的快速灵敏的分析检测方法,为棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷的进一步药动学研究提供参考依据。

关键词:棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷;高效液相色谱;高效液相色谱-质谱联用

中图分类号:R285.61;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)07-1004-04

收稿日期:2007-09-07

基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(20432030);长江学者和创新团队计划资助项目(985-2-063-112)

作者简介:许彤彤(1982-),女,北京大学医学部生物医学专业硕士研究生。E-mail: xutong821124@163.com

*通讯作者 张庆英 Tel: (010) 82801725 Fax: (010) 82801592 E-mail: qyzhang@bjmu.edu.cn

荧光脂质体法研究芍药甘草汤对磷脂酶A2的抑制效应及其配伍作用

作者：[刘陶世](#)，[赵新慧](#)，[段金廛](#)，[狄留庆](#)，[黄耀洲](#)，[LIU Tao-shi](#)，[ZHAO Xin-hui](#)，[DUAN Jin-ao](#)，[DI Liu-qing](#)，[HUANG Yao-zhou](#)
作者单位：[南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室](#)，江苏，南京，210029
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39 (7)
被引用次数：2次

参考文献(7条)

1. [Dennis E A](#) Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2 1994 (18)
2. [邱耕](#), [涂植光](#), [李晓文](#) 苦参碱对内毒素致炎大鼠PLA2活性影响及其抗炎机制研究[期刊论文]-[中草药](#) 2002 (07)
3. [赵承梅](#), [沈彬](#), [华潜棠](#) 中药清解灵配合胆管减压引流对急性重症胆管炎大鼠脏器中磷脂酶A2和氧自由基含量的影响[期刊论文]-[天津中医学院学报](#) 2004 (01)
4. [王晓辉](#), [颜光涛](#) 磷脂酶A2抑制剂的研究进展[期刊论文]-[标记免疫分析与临床](#) 2003 (01)
5. [赵树铭](#), [康格非](#) 磷脂酶A2测定方法进展 1995 (06)
6. [Chang J](#), [Musser J H](#), [McGregor H](#) Phospholipase A2: function and pharmacological regulation[外文期刊] 1987 (15)
7. [Okimasn E](#), [Moromizato Y](#), [Watanabe S](#) Inhibition of phospholipase A2 and platelet aggregation by glyeyrrhizin, an antiinflammation drug 1983 (05)

本文读者也读过(10条)

1. [陈妍](#), [邓英杰](#), [郝艳丽](#), [王秀敏](#), [王振远](#), [盛军](#), [CHEN Yan](#), [DENG Ying-jie](#), [HAO Yan-Li](#), [WANG Xiu-min](#), [WANG Zhen-yuan](#), [SHENG Jun](#) 膜修饰脂质体的制备及对心肌细胞的靶向作用[期刊论文]-[沈阳药科大学学报](#) 2005, 22 (2)
2. [石学魁](#), [王雅贤](#), [张晓莉](#), [唐小云](#) 芍药甘草汤免疫学研究[期刊论文]-[牡丹江医学院学报](#) 2006, 27 (2)
3. [陈妍](#), [邓英杰](#), [郝艳丽](#), [王振远](#), [盛军](#), [CHEN Yan](#), [DENG Ying-jie](#), [HAO Yan-Li](#), [WANG Zhen-yuan](#), [SHENG Jun](#) 心肌细胞靶向脂质体的制备及体外靶向性研究[期刊论文]-[药学报](#) 2005, 40 (6)
4. [李晓峰](#), [张素峰](#), [陈立功](#), [陈磊](#), [万谦宏](#) 亲和毛细管电泳测定羧基荧光素与β-环糊精的结合常数[期刊论文]-[广西师范大学学报\(自然科学版\)](#) 2003, 21 (z5)
5. [吴晓虎](#), [成坤](#) 加味芍药甘草汤治疗慢性萎缩性胃炎90例[期刊论文]-[陕西中医](#) 2008, 29 (9)
6. [刘平](#) 芍药甘草汤止咳平喘和抗炎作用的实验研究[期刊论文]-[海南医学](#) 2008, 19 (1)
7. [康恩莲](#) 芍药甘草汤新用举隅[期刊论文]-[山西中医](#) 2009, 25 (9)
8. [雷学成](#), [何金军](#), [Lei Xuecheng](#), [He Jinjun](#) 加味芍药甘草汤治疗慢性骨盆痛综合征的临床观察[期刊论文]-[贵阳中医学院学报](#) 2010, 32 (2)
9. [徐晓娟](#), [金沈锐](#) 芍药甘草汤不同配伍比例对痛经大鼠β-内啡肽的影响研究[期刊论文]-[中国中医基础医学杂志](#) 2004, 10 (6)
10. [吴惠明](#), [WU Huiming](#) 加味芍药甘草汤与羌活胜汤治疗颈椎病的疗效观察[期刊论文]-[中国中医骨伤科杂志](#) 2008, 16 (1)

引证文献(2条)

1. [郭建明](#), [段金廛](#), [郝海平](#), [唐于平](#), [钱大玮](#), [刘培](#) 基于药物体内代谢过程的中药配伍禁忌研究思路与方法[期刊论文]-[中草药](#) 2011 (12)

2. [张保国](#), [刘庆芳](#) [芍药甘草汤方剂学实验研究](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2012(7)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807014.aspx