

RP-HPLC-ELSD 法分离制备抗肿瘤成分达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇差向异构体

杨春红¹, 张 瑜², 张赛楠³, 路静静³, 崔炯谟^{1*}, 赵余庆^{3,4*}

1. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133000

2. 辽宁新中现代医药有限公司, 辽宁 沈阳 110041

3. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

4. 沈阳药科大学 基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 目的 以制备反相高效液相-蒸发光散射检测 (RP-HPLC-ELSD) 法为基础, 大量分离制备达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇 (25-OH-PPD) 差向异构体, 比较间隔连续进样法和离线制备法大量分离制备 25-OH-PPD 差向异构体的制备效率, 探寻出最佳的分离制备色谱法。方法 分别对间隔连续进样法以及离线制备法在不同比例的流动相和不同进样量下对 25-OH-PPD 差向异构体分离制备情况进行了考察, 通过比较制备效率、转移率等筛选出最佳的制备方法。结果 2 种方法最佳分离制备色谱条件和制备结果: 间隔连续进样法流动相为甲醇-水 (83 : 17), 体积流量 20 mL/min, 进样质量浓度 20 mg/mL, 进样量 1 mL, 20(*S*)-25-OH-PPD 的制备效率为 18.01 mg/h, 20(*R*)-25-OH-PPD 的制备效率为 35.36 mg/h; 离线制备法流动相为甲醇-水 (81 : 19), 体积流量 20 mL/min, 进样质量浓度 200 mg/mL, 进样量 2.5 mL; 20(*S*)-25-OH-PPD 的制备效率为 50.55 mg/h, 20(*R*)-25-OH-PPD 的制备效率为 51.93 mg/h。结论 离线制备法分离制备效率优于小质量浓度间隔连续进样法, 离线制备法操作简单, 重现性好, 制备量大, 为 25-OH-PPD 差向异构体混合物的大量分离制备奠定了良好的基础。

关键词: 达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇; 差向异构体; 反相高效液相色谱法; 间隔连续进样法; 离线制备法; 抗肿瘤

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253 - 2670(2016)07 - 1126 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.07.011

Preparation of antitumor component 25-OH-PPD isomers by RP-HPLC-ELSD

YANG Chun-hong¹, ZHANG Yu², ZHANG Sai-nan³, LU Jing-jing³, CUI Jiong-mo¹, ZHAO Yu-qing^{3,4}

1. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China

2. Liaoning Xinzhong Modern Medicine Co., Ltd., Shenyang 110041, China

3. School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

4. Key Laboratory of Structure-based Drug Design and Discovery of Ministry of Education, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective A method of reversed phase high performance liquid chromatogram-light scattering detector (RP-HPLC-ELSD) was developed to separate and prepare a large number of 25-OH-PPD epimeric mixture, in order to explore the best separation conditions between method of continuous sampling interval and off-line preparation method. **Methods** The separation consequence of the method of continuous sampling interval and off-line preparation method were investigated respectively, under different proportion of mobile phase and concentration of sample volume, the optimum preparation method was screened by comparing the efficiency and transfer rate. **Results** The suitable operation conditions of the two methods and the result of the preparation were obtained: method of continuous sampling interval as follow: the mobile phase is methanol and water (83 : 17), and the volume flow and

收稿日期: 2015-10-19

基金项目: “十一五”国家重大新药创制项目 (2009ZX09102-114); 国家自然科学基金资助项目 (81273389); 中药标准提取物的工业化色谱制备平台建设 (2009ZX09301-012-105B)

作者简介: 杨春红 (1991—), 女, 侗族, 贵州黎平人, 在读硕士研究生。Tel: 18742404873 E-mail: 358776815@qq.com

*通信作者 赵余庆 (1957—), 男, 辽宁东港人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然药物和药食同源品的活性成分研究。

Tel: (024)23986522 E-mail: zyx4885@126.com

崔炯谟 (1956—), 男, 朝鲜族, 吉林龙井人, 主要从事生药学与抗溃疡天然药物活性成分研究。

Tel: (0433)2732016 E-mail: cuijiongmo@yahoo.com.cn

injection volume are 20 mg/mL and 1 mL, respectively, while the flow rate is 20 mL/min; Under above conditions the preparation efficiency of 20(S)-25-OH-PPD and 20(R)-25-OH-PPD is 18.01 and 35.36 mg/h, respectively; Off-line preparation method, the mobile phase is methanol and water (81 : 19), and the volume flow and injection volume is 200 mg/mL and 2.5 mL, while the flow rate is 20 mL/min, The preparation efficiency of 20(S)-25-OH-PPD and 20(R)-25-OH-PPD is 50.55 and 51.93 mg/h, respectively. **Conclusion** Preparation efficiency of off-line preparation method is higher than that of the method of continuous sampling interval; This method is convenient and reliable and has large amount of 20(S)-25-OH-PPD and 20(R)-25-OH-PPD, which can establish a good foundation for the separation and preparation of 25-OH-PPD isomer.

Key words: 25-OH-PPD; epimers; RP-HPLC; method of continuous sampling interval; off-line preparation method; antitumor

达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇 (25-OH-PPD) 是一类原人参二醇 (PPD) 的衍生物, 它普遍存在于人参属植物的皂苷水解产物中, 为达玛烷型四环三萜类原人参二醇型苷元^[1-3]。1982 年 Wei 等^[4]首次从三七叶总皂苷的酸水解产物中分离得到 25-OH-PPD, 并确定其化学结构。之后药学工作者也相继从三七芦头及茎叶、西洋参茎叶以及花蕾和绞股蓝总皂苷的水解物中分离得到^[1]。2008 年马晓宁等^[5]及许志超等^[6]分别从绞股蓝皂苷和西洋参茎叶皂苷水解物中首次分离得到 25-OH-PPD。王丹等^[7]用碱水解人参总皂苷, 经过反复柱色谱最后重结晶得到 25-OH-PPD。王凯等^[8]用 10%醋酸水解三七芦头皂苷用硅胶柱色谱及 HPLC 分离得到 25-OH-PPD。胡晗绯等^[9]把三七叶干燥粉碎后用 70%乙醇回流提取, 经大孔吸附树脂以 70%乙醇洗脱, 得到的浸膏经硅胶色谱柱分离得到该化合物。陶婵娜^[10]用 10%的盐酸-乙醇为条件降解人参根总皂苷, 再用柱色谱、萃取以及结晶等方法分离得到 25-OH-PPD。

2007 年 Wang 等^[11]首次从人参总皂苷中发现了 25-OH-PPD, 发现其活性高于 PPD 和人参皂苷 Rg₂、Rg₃。本课题组研究发现 25-OH-PPD 对细胞周期相关蛋白 cdk4、cyclinD1、E2F1、MDM2 及 p21 的表达均有明显的抑制作用, 其对肿瘤生长的抑制活性要比目前国内广泛使用的抗癌药物人参皂苷 Rg₃ 高 5~15 倍^[11-12]。Wang 等^[12]在体外实验中发现 25-OH-PPD 能够抑制癌细胞的扩散和移植瘤细胞的生长, 且无宿主毒性。Wang 等^[13]用 25-OH-PPD 制备氨基酸衍生物, 得到的产物抗癌活性比原产物提高 10 倍。Qu 等^[14]用 25-OH-PPD 制备氯乙酰氯衍生物, 部分衍生物有很强的抗癌活性, C-20 位形成双键的衍生物抗癌活性尤为明显。25-OH-PPD 的 C-20 位为手性碳原子, 其存在差向异构体, 即 20(S)-25-OH-PPD 和 20(R)-25-OH-PPD。

异构体的构型不同, 通常也会有不同的药理、药动学特征以及毒性等生物学性质。异构体的拆分

及其药理活性的研究在新药开发中也占有重要地位, 是新药的主要来源之一。大多数化学药品是由等量的左旋和右旋 2 种对映体组成的外消旋体, 而单一对映体或光学百分比较高的药物, 同外消旋药物相比, 在临床治疗以及用药中, 更有利于药物动力学以及药物使用剂量的控制, 且使用的药物专一, 使得疗效更好, 副作用小, 毒副反应更容易监控。手性拆分具有结晶拆分法、化学拆分法、生物学拆分法、萃取拆分、分子印迹技术、色谱拆分、膜拆分、毛细管电泳拆分、旋转带蒸馏技术等^[15-20], 而色谱拆分法是手性拆分中的主要方法, 其中 HPLC 法拆分又以其应用广泛、操作简单、分离条件简单、分离效果好、灵敏度高等优势而备受关注。本实验利用非手性的 HPLC 法, 通过低能高效的间隔连续进样以及稳定性、重现性好的离线制备法, 对 25-OH-PPD 差向异构体进行分离制备, 并考察不同流动相组成以及进样量对这 2 种分离制备方法的影响, 对分离制备的结果进行了优选与评价, 这不仅为接下来大规模分离制备 25-OH-PPD 异构体提供了方法与条件, 同时也为其进一步进行抗癌活性的研究奠定了基础。

1 仪器与材料

LC-3000 制备型高效液相色谱, 北京创新通恒科技有限公司; HPLC PUMP K-501 分析高效液相色谱, 德国 KNAUER 公司; Model 100 ELSD, 美国 SofTA 公司; ELSD-UM3000 蒸发光散射检测器, 上海通微分析技术有限公司; BS-100A 型自动馏分收集器, 上海沪西分析仪器厂有限公司; N-1001 型旋转蒸发器, 上海爱郎仪器有限公司-东京理化器械(株)独资工厂; DLSB-10/20 型低温冷却循环泵, 上海爱郎仪器有限公司-东京理化器械(株)独资工厂。

25-OH-PPD 差向异构体混合物 (R: 73.1%; S: 26.9%)、20(S)-25-OH-PPD、20(R)-25-OH-PPD 对照品, 经 HPLC 检测质量分数>98%, 沈阳药科大学基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室自

制; 甲醇, 色谱纯, 天津康科德科技有限公司; 纯化水。

2 方法与结果

2.1 间隔连续进样法分离制备 25-OH-PPD 异构体

2.1.1 制备色谱条件 色谱柱为北京创新通恒 Fuji-C₁₈ 柱 (250 mm×30 mm, 10 μm); 柱温为室温; 进样量 1 mL; 体积流量 20 mL/min; 蒸发光散射检测器。

2.1.2 分析色谱条件 色谱柱为 Agilent HC-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 25 ℃; 流动相为甲醇-水 (87:13); 进样量 20 μL; 体积流量 1 mL/min; 蒸发光散射检测器。

2.1.3 不同比例流动相的考察 分别称取 25-OH-PPD 差向异构体混合物 41.52、60.29、81.10、123.82 mg, 溶于 4 mL 甲醇中, 配制成质量浓度分别为 10、15、20、30 mg/mL 的样品溶液, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过后备用。分别考察了以上不同的进样质量浓

度在不同比例的流动相 (甲醇-水为 81:19、83:17、85:15、87:13) 下色谱峰的分离周期 (从进样到目标物质峰结束的时间)、流动相耗损 (分离周期内所用的流动相体积)、产量 (是基于 25-OH-PPD 差向异构体混合物中的 20(S)-25-OH-PPD 进行计算)、转移率 (制备所得样品的实际量/制备所得样品的理论量) 和质量分数情况。

流动相组成为甲醇-水 (81:19) 时, 流动相极性偏大, 样品在色谱柱中的保留时间延长, 峰形变宽, 柱效下降, 分离周期为其他比例下的 2 倍, 流动相耗损大; 流动相组成为甲醇-水 (87:13) 时, 20(S)-25-OH-PPD 与 20(R)-25-OH-PPD 的分离度小于 1.0, 因此, 以上比例的流动相组成不作为最佳考虑。最终对流动相组成为甲醇-水 (85:15、83:17) 下的分离制备情况进行了比较, 结果见表 1。以 20(S)-25-OH-PPD 为例 (下同)。

由表 1 可知, 随着进样质量浓度的增大, 分离

表 1 流动相组成为甲醇-水 (83:17、85:15) 对 20(S)-25-OH-PPD 分离制备结果的影响

Table 1 Influence of mobile phase methanol-water (83:17 and 85:15) on separation and preparation of 20(S)-25-OH-PPD

样品质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	甲醇-水 (83:17)					甲醇-水 (85:15)				
	分离周期/min	流动相耗损/mL	转移率/%	质量分数/%	产量/mg	分离周期/min	流动相耗损/mL	转移率/%	质量分数/%	产量/mg
10	60.67	1 213.4	97.78	100.0	2.63	47.85	897.0	96.78	99.0	2.60
15	60.89	1 217.8	90.95	100.0	3.76	48.00	960.0	78.56	99.6	3.17
20	61.26	1 225.2	87.92	99.0	4.73	49.89	997.8	75.09	98.9	4.04
30	61.98	1 239.6	80.17	98.0	6.81	50.13	1 002.6	84.39	97.0	6.81

周期延长, 流动相的耗损增加, 产量也随之增大。20(S)-25-OH-PPD 的转移率随着进样质量浓度增加而降低, 质量分数也有下降趋势, 但不成线性关系。在相同的进样质量浓度下, 流动相组成为甲醇-水 (83:17、85:15) 2 个比例中, 前者的 20(S)-25-OH-PPD 转移率和实际产量比后者高, 虽分离周期延长, 流动相耗损增加, 但效率提高。综合考虑几项指标, 最终确定间隔连续进样法的制备条件: 流动相组成为甲醇-水 (83:17), 体积流量为 20 mL/min, 进样质量浓度为 20 mg/mL, 进样量为 1 mL, 柱温为室温, 色谱柱为北京创新通恒 Fuji-C₁₈ 柱 (250 mm×30 mm, 10 μm)。

2.1.4 样品的制备 按“2.1.3”项优选的最佳条件, 以间隔连续进样法分离制备 25-OH-PDD 差向异构体混合物 401.081 mg, 分别连续收集 1、2 号峰 (图 1), 得到的组分经减压干燥, 称定质量, 用分析型 HPLC-ELSD 验纯, 结果见图 2。连续间隔进样法制

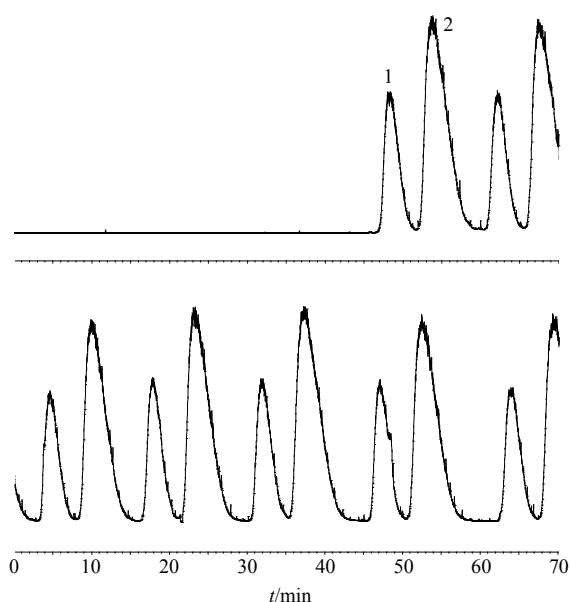
备耗时 5 h 得到 20(S)-25-OH-PPD 91.58 mg, 转移率为 83.68%, 制备效率为 18.01 mg/h, 质量分数 98.32%; 20(R)-25-OH-PPD 176.82 mg, 转移率为 60.31%, 制备效率为 35.36 mg/h, 质量分数 97.08%。

2.2 离线制备法分离制备 25-OH-PPD 异构体

2.2.1 制备色谱条件 色谱柱为北京创新通恒 Fuji-C₁₈ 柱 (250 mm×30 mm, 10 μm); 柱温为室温; 进样质量浓度 200 mg/mL, 进样量 2.5 mL; 体积流量 20 mL/min; 蒸发光散射检测器。

2.2.2 分析色谱条件 色谱条件同“2.1.2”项。自动流分收集器参数设置: 间隔 1 min 接样。

2.2.3 不同比例流动相的考察 分别以流动相组成为甲醇-水 (81:19), 进样量为 1.0、2.5 mL 以及流动相组成为甲醇-水 (79:21), 进样量为 2.5 mL 进样, 当出现第 1 个色谱峰时开始以离线法接取流分, 后用分析型 HPLC-ELSD 进行检测, 合并流分。考察分离条件 (流动性组成及进样量) 对首峰出峰时



1 号峰主要含 20(S)-25-OH-PPD, 保留时间 (t_R) 为 47.48 min;
2 号峰主要含 20(R)-25-OH-PPD, t_R 为 52.54 min
The first peak mainly contained 20(S)-25-OH-PPD, with the retention time (t_R) of 47.48 min. The second peak mainly contained 20(R)-25-OH-PPD, with the t_R of 52.54 min

图 1 RP-HPLC 制备色谱图
Fig. 1 Preparation RP-HPLC

表 2 流动相组成对 25-OH-PPD 差向异构体分离制备的影响

Table 2 Influence of mobile phase on separation and preparation of 25-OH-PPD epimers

分离条件	首峰出峰	含 20(S)-25-OH-PPD	含 25-OH-PPD 差向异构	含 20(R)-25-OH-PPD	流分收取	20(S)-25-OH-PPD
甲醇-水	进样量/mL	时间/min	流分时间/min	体混合物流分时间/min	PPD 流分时间/min	时间/min 制备效率/(mg·h ⁻¹)
81:19	2.5	59	0~5	6~17	18~42	42 50.55
81:19	1.0	59	0~6	7~9	10~36	36 26.00
79:21	2.5	80	0~8	9~26	27~70	70 28.15

Fuji-C₁₈ 柱 (250 mm×30 mm, 10 μm); 柱温为室温; 流动相组成为甲醇-水 (81:19); 体积流量 20 mL/min; 进样质量浓度 200 mg/mL, 进样量 2.5 mL。

2.2.4 样品的制备 按“2.2.3”项优选的最佳条件, 以离线制备法分离制备 25-OH-PPD 差向异构体混合物 2 004.5 mg, 得到的 20(S)-25-OH-PPD 和 20(R)-25-OH-PPD 经减压干燥, 称定质量, 用分析型 HPLC-ELSD 验纯, 结果见图 3。离线制备法分离制备耗时 5.5 h, 得到 20(S)-25-OH-PPD 280.81 mg, 转移率 51.98%, 制备效率 50.55 mg/h, 质量分数 99.81%; 得到 20(R)-25-OH-PPD 285.63 mg, 转移率 19.48%, 制备效率 51.93 mg/h, 质量分数 98.39%。

3 分析与讨论

间隔连续进样法即在保证 2 次进样之间的时间

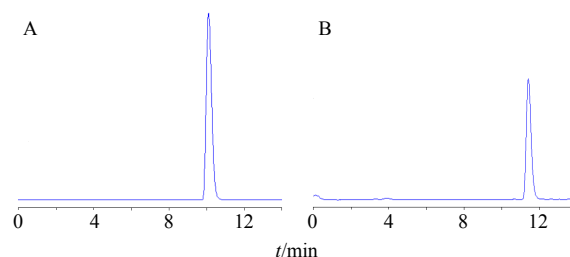


图 2 间隔连续进样法分离制备 20(S)-25-OH-PPD (A) 和 20(R)-25-OH-PPD (B) HPLC 图

Fig. 2 HPLC of 20(S)-25-OH-PPD (A) and 20(R)-25-OH-PPD (B) prepared by continuous sampling interval method

间 [20(S)-25-OH-PPD 的出峰时间]、流分收取时间 [分析型 HPLC 检测到 20(S)-25-OH-PPD 组分出现时至 20(R)-25-OH-PPD 组分结束的时间] 和 20(S)-25-OH-PPD 制备效率 (制备样品所得的实际质量/制备时间) 的影响, 结果见表 2。

由表 2 可知, 流动相的极性增大时, 保留时间、制备时间延长, 影响制备效率; 当减小进样量时, 2 峰间的分离度增加, 柱效升高, 但制备效率却大大降低, 因此选择流动相组成为甲醇-水 (81:19)。离线制备法的最佳制备条件: 色谱柱为北京创新通恒

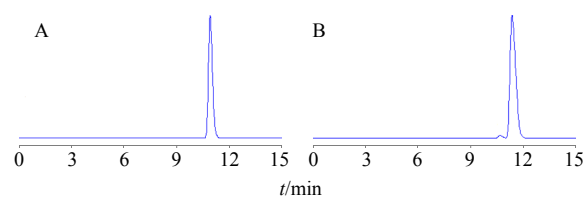


图 3 离线制备法分离制备 20(S)-25-OH-PPD (A) 和 20(R)-25-OH-PPD (B) HPLC 图

Fig. 3 HPLC of 20(S)-25-OH-PPD (A) and 20(R)-25-OH-PPD (B) prepared by off-line preparation method

间隔使 2 次出峰不重叠的前提下连续重复进样, 是大量制备样品的方法之一。一般的制备方法为单一的不连续的进样, 这种传统的制备方法没有充分利用从进样到出峰的这一段时间, 从而降低了制备效

率。而通过间隔连续进样,可以节省时间、提高效率、节约流动相,减少消耗,降低废液的排放。

离线制备法即进样量超出或接近了制备柱的最大承受量,而远远超出了检测器的检测限,制备时不连接检测器,而是通过分析型 HPLC 作为检测器来检测不同时间段的流出液。离线法的优势在于制备量大,不受检测器检测限的限制,因此其应用范围更广,不受实验仪器的条件限制,能够很好地达到制备分离的目的。

间隔连续进样法和离线制备法制备效率等比较是在两者各自最佳的制备条件下进行比较。间隔连续进样法在比较了甲醇-水(85:15、83:17、81:19)比例和不同进样量后得到最佳制备条件:流动相比例为甲醇-水(83:17),进样量 20 mg/mL, 1 mL。离线制备法由于进样量大,在甲醇-水(85:15、83:17)时分离度差,2 种异构体没法分开。比较了甲醇-水(81:19、79:21)比例和不同进样量后,得到最佳制备条件:流动相为甲醇-水(81:19),进样质量浓度 200 mg/mL,进样量 2.5 mL。

在实验中,流动相组成和进样量对整个分离制备的影响尤为显著。随着流动相中水的比例增加,极性变大,出峰延迟,导致样品在色谱柱中保留时间过长,柱效降低,峰型变宽,流动相的耗损增多,工作效率随之降低。在间隔连续进样法中流动相比例为甲醇-水 85:15、83:17 时,两者之间除了出峰时间其他差距不明显,但当流动相变为(81:19)时,柱效变低,峰宽为前 2 者的 2 倍。离线制备法中流动相甲醇-水比例为 79:21 时制备效率为 28.15 mg/h,而甲醇-水 81:19 时制备效率为 50.55 mg/h。虽在离线制备法中进样量增大,已经超出了制备柱的最大载样量,但是超量并不影响制备效率,反而在一定的流动相比例和进样量下制备效率增高。

在间隔连续进样法最佳制备条件筛选时,相同流动相比例下随着进样质量浓度增大得到的样品质量分数整体呈下降的趋势,但是在接取峰的过程为人工手动接峰,存在一定误差,导致在流动相组成为甲醇-水(85:15),进样质量浓度为 10 mg/mL 时,20(S)-25-OH-PPD 的质量分数为 99.0%。

本实验中,所用的离线制备法和间隔连续进样法未见相关文献报道。间隔连续进样法是在小浓度进样、2 峰分离度很好的情况下进行分离,接取流出液时舍去交叉部分较离线制备法少,回收率比离线制备法的高,但是由于进样量小制备效率远远低

于离线制备法。离线制备法中流分的接取是在线和离线相结合(出峰前和出峰快结束时连接检测器,中间制备时由于制备量大而断开检测器连接),此方法避免系统不稳定导致各个组分保留时间不确定的问题,重现性好,能高效地制备出高质量分数样品。其次,在离线制备法分离纯体的过程中结合间隔连续进样法,间隔时间虽然比低质量浓度的间隔连续进样法长,但相对单针进样可以节约时间提高制备效率。在离线制备法中进样量、流动相等影响使得 2 个异构体存在交叉,制备过程中为了保证纯度而舍去交叉部分,从而降低了制备效率,尤其是后出峰的 20(R)-25-OH-PPD。在交叉部分 20(R)-25-OH-PPD 成分就已经达到最大值被冲出,而在出峰后 20 min 才接取的含 20(R)-25-OH-PPD 流出液,其分量已经变少,而且进样量大导致的拖尾现象使 20(R)-25-OH-PPD 成分跨越时间长,使得 20(R)-25-OH-PPD 转移率只为 19.48%,制备效率 51.93 mg/h,而 20(S)-25-OH-PPD 转移率 51.98%,制备效率 50.55 mg/h。离线制备法中 20(S)-25-OH-PPD 制备效率为间隔连续进样的 3 倍,20(R)-25-OH-PPD 制备效率为其 1.5 倍,优于间隔连续进样法。

4 结论

本实验考察了不同流动相组成比例和进样量对间隔连续进样法与离线制备法分离制备 25-OH-PPD 异构体的影响,比较了 2 种方法的分离制备效率。最终离线制备法因其操作方法简单,制备量大,分离效率高,产品产量大的优势,确定为更理想的分离制备方法,此方法也可以用作其他成分简单的物质和异构体分离与制备。

参考文献

- [1] 郭军辉,曲凡志,赵余庆,等. 达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇及其衍生物的抗肿瘤活性研究进展 [J]. 中国药物化学杂志, 2015, 25(1): 66-73.
- [2] 魏均娴,王良安,杜 华,等. 三七绒根皂苷中 B1 及 B2 的分离和鉴定 [J]. 药学报, 1985, 20(4): 288-293.
- [3] 魏均娴,杜元冲. 传统中药三七的研究和开发 [J]. 中药新药和临床药理, 1992, 8(1): 43-47.
- [4] Wei J X, Chang L Y, Wang J F, et al. Two new Dammaran sapogenins from leaves of *Panax notoginseng* [J]. *Planta Med*, 1982, 45(3): 167-171.
- [5] 马晓宁,柴瑞华,赵余庆. 西洋参茎叶皂苷水解产物中稀有抗肿瘤成分的化学研究 [J]. 中草药, 2008, 39(9): 1291-1294.
- [6] 许志超,韩 凌,赵余庆. 绞股蓝总皂苷水解物中稀有

- 抗肿瘤成分的研究 [J]. 亚太传统医药, 2008, 11(4): 41-43.
- [7] 王 丹, 赵余庆. 人参果总皂苷水解产物中稀有活性皂苷元化学研究 [J]. 中国现代中药, 2008, 10(1): 12-14.
- [8] 王 凯, 赵余庆. 三七芦头总皂苷降解水解物中稀有活性苷元的化学研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2008, 18(4): 288-290.
- [9] 胡晗绯, 赵余庆. 三七茎叶皂苷水解产物中有抗肿瘤成分的化学研究 [J]. 中国现代中药, 2008, 10(4): 6-8.
- [10] 陶婵娜. 人参根总皂苷降解产物的化学成分的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2009.
- [11] Wang W, Zhao Y Q, Rayburn E R, *et al.* *In vitro* anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng* [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2007, 59(5): 589-601.
- [12] Wang W, Rayburn E R, Zhao Y Q, *et al.* Novel ginsenosides 25-OH-PPD and 25-OCH₃-PPD as experimental therapy for pancreatic cancer: anticancer activity and mechanisms of action [J]. *Cancer Lett*, 2009, 278(2): 241-248.
- [13] Wang P, Bi X L, Xu J, *et al.* Synthesis and anti-tumor evaluation of novel 25-hydroxyprotopanaxadiol analogs incorporating natural amino acids [J]. *Steroids*, 2013, 78(2): 203-209.
- [14] Qu F Z, Liu Y F, Cao J Q, *et al.* Novel 25-hydroxyprotopanaxadiol derivatives incorporating chloroacetyl chloride and their anti-tumor evaluation [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(23): 5390-5394.
- [15] 乔小飞, 许松林. 手性药物的工业拆分 [J]. 天津化工, 2007, 21(5): 1-5.
- [16] 杨千姣, 刘 丹, 曲 蕾, 等. 手性拆分技术及其在手性药物合成中的应用新进展 [J]. 中国药物化学杂志, 2009, 19(6): 429-435.
- [17] 肖文清, 孙曰圣. 手性药物的结晶法拆分研究进展 [J]. 江西化工, 2004(4): 23-25.
- [18] 秦胜利, 于建生. 手性药物拆分技术进展 [J]. 山东化工, 2011, 40(3): 51-54.
- [19] 王明媚. 手性药物的制备方法 [J]. 医药导报, 2006, 25(4): 325-327.
- [20] 黄善定, 方海飞. 手性药物拆分的研究进展 [J]. 医药导报, 2005, 24(8): 710-712.