

全、高效、高亲和力的AT₁受体拮抗剂,由于其各方面的优越特性,其临床评价相当高,值得进一步的研究探讨。

参考文献

- [1] 周玲洁.坎地沙坦西酯片人体药动学和生物等效性及坎地沙坦吸收机制的研究[D].上海:复旦大学.2008.
- [2] 董秀珍,陈自仁,梁玮,等.坎地沙坦阻断血管紧张素 II 介导的原代急性髓样白血病细胞增殖的作用及机制[J].中国病理生理杂志.2011.27(3):514-517.

- [3] 吴绥生,王赞,庞丽,等.坎地沙坦干预KA致痫大鼠心肌细胞ERK 1/2的表达及其机制[J].吉林大学学报(医学版).2008.34(3):446-448.
- [4] 张明辉,赵秀丽,周延明,等.高剂量坎地沙坦西酯16mg治疗轻中度原发性高血压65例临床观察[J].中国新药杂志.2008.17(21):1873-1876.
- [5] 朱淑芳.坎地沙坦的临床应用[J].中国美容医学.2011.20(z2):440-441.

野生和栽培金铁锁抗氧化活性比较

黄建华^{1,2} 肖建青¹ 刘锡葵^{1*}

(1 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201;

2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

【摘要】目的 野生和栽培金铁锁抗氧化活性比较。**方法** 以Vc和BHA为参照,采用DPPH方法对野生和栽培金铁锁根乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水提取物抗氧化活性进行测试。**结果** 野生和栽培金铁锁根乙醇、正丁醇提取物抗氧化活性IC₅₀值分别为443 μg/mL、1265 μg/mL和378 μg/mL、1877 μg/mL。**结论** ①野生和栽培金铁锁各提取物抗氧化活性基本一致;②无论野生还是栽培金铁锁抗氧化作用都比较弱;③无论栽培还是野生金铁锁,抗氧化活性物质基本都集中在乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物之中,均以乙酸乙酯提取物最强;④虽然栽培金铁锁乙酸乙酯提取物抗氧化活性要强于野生金铁锁、野生金铁锁正丁醇提取物抗氧化活性要强于栽培金铁锁,但相对于阳性对照Vc和BHA来说均很小,差异并不是很明显。

【关键词】 金铁锁; DPPH; 抗氧化活性

中图分类号: R961

文献标识码: B

文章编号: 1671-8194 (2013) 02-0060-03

金铁锁 (*Psammosilene tunicoides* W.C. Wuet C.Y.Wu) 为石竹科单属单种植物,别名独定子、小霸王、昆明沙参、金丝矮陀陀、土人参、对叶七、麻参等,主要分布于我国云南的大部分地区、贵州西北部、四川西南部和西藏东南部,为我国西南地区特有物种^[1]。始载于《滇南本草》,以根入药,有散瘀定痛、止血、消痛排脓散瘀、祛风除湿的功效^[2]。味苦、辛,性温,有小毒。归肝经。用于治疗跌扑损伤、风湿痹痛、胃寒痛、疮疖及创伤出血等症^[3],是多种著名中药的组成成份,如:云南白药系列、云南红药胶囊、贵州金骨莲胶囊、福建痛血康胶囊等^[4]。化学研究表明金铁锁主要含有齐墩果烷型五环三萜皂苷、环肽及有机酸等化合物^[5-13]。药理研究证明,金铁锁水煎浸膏及其总皂苷对实验性类风湿性关节炎大鼠灌胃后具有显著的镇痛、抗炎作用^[14-16];对慢性增殖性炎症、抑菌有一定的作用^[17];对免疫细胞具有一定的增强和调节作用^[17]。

中药的抗菌、消炎和增强免疫调节作用,一般与抗氧化活性具有一定的相关性,具有重要的作用,通过清除人体内自由基,还原氧化物质,从而达到保护和促进机体的作用^[18,19]。关于金铁锁的抗氧化活性未见文献报道,本文采用DPPH方法,应用Vc和BHA为参照,通过对野生和栽培金铁锁根的抗氧化作用进行比较分析,探讨野生和栽培金铁锁活性的差异,为金铁锁的人工栽培提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 仪器与试剂

722 S型可见分光光度计:上海精密科学仪器有限公司生产;FA 2004型电子天平:上海精密科学仪器有限公司生产。DPPH (1, 1-二苯基-2-苦基肼自由基)和BHA (叔丁基羟茴香醚):为Sigma-Fluka公司产品;Vc:国产分析纯试剂;95%乙醇,分析纯,天津化学试剂

有限公司;其他溶剂均为国产分析纯。

1.2 药材

栽培金铁锁于2010年10月采自云南武定县,野生金铁锁根于2010年11月购于云南白药集团,经鉴定均为金铁锁 (*Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu),标本均保存于中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室。

2 方法

2.1 样品的提取

野生金铁锁根部5kg、栽培金铁锁根部2kg分别粉碎后用80%乙醇浸提6次,每次浸提时间1d,减压回收至无乙醇味,分别得到乙醇提取物1370g、184g。乙醇提取物分别用2倍体积的蒸馏水混悬后依次用等体积石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取3~5次,合并相同萃取溶剂分别减压回收溶剂得石油醚提取物5.6g、1.0g,乙酸乙酯提取物22.4g、3.4g,正丁醇提取物257g、60.3g,水提取物886g、102g,作为待测样品。

2.2 抗氧化活性测定^[20]

2.2.1 DPPH液的配制

准确称取DPPH试剂25mg,用95%分析纯的乙醇溶解,并定量转入250mL容量瓶中,用95%乙醇定容,摇匀,得质量浓度为100mg/L (约 2.5×10^{-4} mol/L)的DPPH储备液,置于冰箱中冷藏备用。

2.2.2 样品溶液的配制

准确称取以上待测试的样品10.0mg,溶解在分析纯的乙醇中,并转入25mL的容量瓶中,用乙醇定容,摇匀,得质量浓度为400mg/L的样品溶液,置于冰箱中冷藏备用。

2.2.3 BHA标准溶液的配制

准确称取BHA样品2.5mg,溶解在分析纯的乙醇中,并转入100 mL的容量瓶中,用乙醇定容,摇匀,得质量浓度为25mg/L的样品溶液,置于冰箱中冷藏备用,作为阳性对照样品。

*通讯作者: E-mail: liuxikui@mail.kib.ac.cn

2.2.4 VC标准溶液的配制

准确称Vc样品1.5mg, 溶解在分析纯的乙醇中, 并转入100mL的容量瓶中, 用乙醇定容, 摇匀, 得质量浓度为15mg/L的样品溶液, 置于冰箱中冷藏备用, 作为阳性对照样品。

2.2.5 清除DPPH自由基能力的测定

准确量取1.2mLDPPH液, 加入2.8mL 95%乙醇溶液, 混匀, 在λ=520nm测吸光度Ac (自由基清除率为0)。分别准确量取各样品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.4、1.8、2.2mL, 加入1.2 mL DPPH液及2.6、2.4、2.2、2.0、1.8、1.4、1.0、0.6mL的95%乙醇溶液混合均匀, 在λ=520nm测吸光度Ai。另外分别准确量取各样品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.4、1.8、2.2mL, 加入3.8、3.6、3.4、3.2、3.0、2.6、2.2、1.8mL的95%乙醇溶液后混合均匀, 在λ=520nm测吸光度Aj (空白校正因子)。同时以BHA和Vc作为阳性对照。按式K=[1-(Ai-Aj)/Ac]×100%计算自由基清除率K值, 并进一步计算其自由基清除率IC50值。

3 结果

3.1 野生金铁锁根、栽培根各部分提取物的DPPH自由基清除率

3.1.1 野生金铁锁根各提取物对DPPH自由基清除率的测得结果 (表1)。

表1 野生金铁锁根部提取物对DPPH自由基清除率

样品	K(%)							
	0.02mL	0.4mL	0.6mL	0.8mL	1.0mL	1.4mL	1.8mL	2.2mL
乙醇提取物	2.6	5.0	5.0	6.9	8.4	8.7	10.2	13.5
石油醚提取物	2.7	4.2	7.5	10.1	11.9	13.1	16.7	18.9
乙酸乙酯提取物	11.7	23.7	33.3	39.9	47.3	56.1	63.6	69.5
正丁醇提取物	9.0	13.1	18.2	24.2	28.3	33.0	37.5	42.6
水提取物	3.2	4.9	3.6	6.5	8.5	9.0	10.1	11.9
Vc	6.6	10.6	15.3	22.4	25.4	34.4	46.5	56.0
BHA	31.4	47.1	62.9	75.7	82.8	89.5	92.0	93.0

从表1可以看出: 野生金铁锁根各提取物对DPPH自由基的清除率随着浓度增大呈现逐步增强的趋势; 但不同提取物对自由基的清除差别较大, 同样浓度下乙酸乙酯提取物对自由基的清除率最强, 其次是正丁醇提取物。乙醇、石油醚和水提取物对自由基的清除率比较弱, 其中, 水提取物对DPPH自由基的清除率最弱, 其次是乙醇提取物; 并且乙醇提取物、石油醚提取物和水提取物随着浓度加大对自由基的清除率没有明显变化。实验结果表明野生金铁锁根对自由基清除物质主要集中在乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物中。

3.1.2 栽培金铁锁根各提取物对DPPH自由基清除率的测得结果 (表2)。

表2 栽培金铁锁根部提取物清除DPPH自由基清除率

样品	K (%)							
	0.2mL	0.4 mL	0.6 mL	0.8 mL	1.0 mL	1.4 mL	1.8 mL	2.2 mL
乙醇提取物	3.7	3.4	4.3	6.3	7.1	7.2	6.8	7.4
石油醚提取物	3.9	4.7	5.4	6.6	8.4	9.2	10.3	12.0
乙酸乙酯提取物	16.2	27.6	36.6	44.1	52.8	61.6	66.6	71.6
正丁醇提取物	8.9	12.8	17.4	20.4	24.2	29.5	32.8	35.9
水提取物	4.6	4.9	6.7	7.2	9.1	9.5	11.8	11.4
Vc	6.6	10.6	15.3	22.4	25.4	34.4	46.5	56.0
BHA	31.4	47.1	62.9	75.7	82.8	89.5	92.0	93.0

从表2可以看出: 栽培金铁锁根各提取物对DPPH自由基的清除率同样也随着浓度增大呈现逐步增强的趋势且不同提取物对自由基的清除差别较大, 乙酸乙酯提取物对自由基的清除率最大, 其次是正丁醇提取物; 石油醚和水提取物对自由基的清除率都很小, 乙醇提取物对DPPH自由基清除率最弱, 乙醇、石油醚和水提取物随浓度加大对自由基清除率没有明显变化; 栽培金铁锁根对自由基清除物质也主要集中在乙酸乙酯和正丁醇提取物中。

3.2 金铁锁野生根、栽培根各部分提取物的DPPH自由基清除活性IC50值及其比较 (表3)。

表3 野生和栽培金铁锁抗DPPH自由基氧化活性 (IC50)

样品	DPPH·IC ₅₀ (μg/mL)	
	野生根 (wild roots)	栽培根 (cultivated roots)
乙醇提取物	>5000	>5000
石油醚提取物	4087	>5000
乙酸乙酯提取物	443	378
正丁醇提取物	1265	1877
水提取物	>5000	>5000
Vc (control)		32.6
BHA (control)		9.4

从表3可看出, 野生和栽培金铁锁各提取物抗氧化活性基本一致: ①无论野生还是栽培金铁锁抗氧化作用都比较弱; ②无论栽培还是野生金铁锁, 抗氧化活性物质基本都集中在乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物之中, 均以乙酸乙酯提取物最强; ③虽然栽培金铁锁乙酸乙酯提取物抗氧化活性要强于野生金铁锁、野生金铁锁正丁醇提取物抗氧化活性要强于栽培金铁锁, 但相对于阳性对照Vc和BHA来说均很小, 差异并不是很明显。

4 讨论

金铁锁野生资源分布比较狭窄, 同时生长比较缓慢, 已严重限制了药材资源的应用和开发利用。开展金铁锁人工栽培繁殖已成为缓解金铁锁资源的重要途径和手段, 同时也有利于野生资源的保护。然而栽培金铁锁和野生金铁锁是否存在差异? 差异有多大? 是否具有于野生药材同等的药效? 已成为金铁锁人工栽培的关键, 必须进行全面的比较分析和评价。本文采用DPPH自由基清除法对栽培和野生金铁锁抗氧化活性进行了初步的快速比较评价, 结果表明野生金铁锁和栽培金铁锁的抗氧化活性和部位基本一致, 栽培金铁锁具有与野生金铁锁同样的作用, 为金铁锁的人工栽培提供了初步的依据; 为下一步进一步的化学成分和活性比较评价提供了一定的依据和基础。

参考文献

- [1] 王特文.西南特有植物—金铁锁[J].中药材.2003.26(23):22.
- [2] 中华人民共和国药典一部1977版[M].北京:人民卫生出版社.1978:362.
- [3] 王学勇.邱德文.蒋朝晖.苗族药物金铁锁研究进展[J].中国中医基础医学杂志.2002.8(11):77-82.
- [4] 张庆滢.刘小焯.毛常丽.药用植物金铁锁的研究进展[J].云南农业大学学报.2009.24(1):139-143.
- [5] 浦湘渝.周俊.金铁锁的一个新三萜成分[J].云南植物研究.1987.9(3):36.
- [6] 浦湘渝.周俊.金铁锁皂甙的研究[J].云南植物研究.1989.11(12):198-202.
- [7] 钟惠民.华燕.倪伟.等.金铁锁的两个新三萜皂苷[J].云南植物研究.2003.25(3):361-365.
- [8] 钟惠民.倪伟.华燕.等.金铁锁的新三萜皂苷[J].云南植物研究.2002.24(6):781-786.
- [9] 丁中涛.周俊.谭宁华.金铁锁中的四个环二肽[J].中草药.2000.31(11):803-805.
- [10] 丁中涛.汪有初.周俊.等.金铁锁根中的环肽成分[J].云南植物研究.2000.22(3):331-336.
- [11] 丁中涛.保志娟.杨雪琼.等.金铁锁根中的3个环二肽[J].中国中药杂志.2003.28(4):337-339.
- [12] Tian JM. Shen YH. Yang XW. et al. Tunicyclin A. the First Plant

- Tricyclic Ring Cycloheptapeptide from Psammosilene tunicoides [J].Organic Letters.2009.11(5):1131.
- [13] 赵鑫.王丹.朱瑞良.等.金铁锁的化学成分和药理活性研究进展[J].中草药.2006.37(5):796-799.
- [14] 王学勇.许建阳.邱德文.等.金铁锁总皂苷抗炎镇痛作用及作用机理研究[J].中国实验方剂学杂志.2006.12(5):56.
- [15] 许建阳.王发强.郑维发.等.金铁锁水煎浸膏对实验性类风湿关节炎镇痛作用的研究[J].武警医学.2003.14(10):589.
- [16] 许建阳.王发强.郑维发.等.金铁锁对实验性RA小鼠痛阈及血清

- N0/NOS含量的影响[J].中医药学刊.2004.22(1):82-84.
- [17] 郑维发.石枫.金铁锁总皂苷对小鼠细胞免疫功能的影响[J].武警医学.2003.14(10):598-602.
- [18] 先宏.吴可.孙存普.中药抗氧化活性的主要成分及其自由基清除作用[J].国外医学中医中药分册.2003.25(3):150.
- [19] 李秋红.李廷利.黄莉莉.等.中药抗氧化的作用机理及评价方法研究进展[J].时珍国医国药.2008.19(5):1257.
- [20] 廖红梅.肖建青.刘锡葵.野生树头菜抗氧化活性[J].食品研究与开发.2011.32(2):13-15.

薄层色谱法测定注射用硫酸奈替米星的有关物质

袁玉和

(河南省平舆县食品药品检验所, 河南 平舆 463400)

【摘要】目的 探讨测定不同硫酸奈替米星有关物质的薄层色谱条件,选择合适的展开系统和高灵敏度的显色剂,保证分离度良好,Rf值合适,且可准确检测硫酸奈替米星的有关物质。**方法** 采用硅胶G板和GF254板,采用了不同比例的二氯甲烷:甲醇:浓氨和氯仿:甲醇:浓氨,以不同显色溶液为显色剂。**结果** 硅胶GF254板采用氯仿:甲醇:浓氨(2:1:0.3)展开系统,1%碘的四氯化碳溶液,可得到很好的分离度、灵敏度。**结论** 本研究的薄层色谱条件具有灵敏度高,分离效果好,显色迅速的特点,可用于不同注射用硫酸奈替米星有关物质的检测。

【关键词】 薄层色谱法; 硫酸奈替米星; 有关物质; 显色剂; 展开剂

中图分类号: R917

文献标识码: B

文章编号: 1671-8194 (2013) 02-0062-02

硫酸奈替米星(又称乙基西梭米星),是国内已经广泛应用于临床的新型氨基糖苷类广谱抗生素,具有广谱的抗菌效果,而且其是氨基糖苷类中细菌耐药性、耳毒性、肾毒性最小的,不需多次给药,日内单剂量给药即可满足组织药物浓度,提高疗效且降低毒性。主要剂型是注射液,包括葡萄糖、山梨醇、氯化钠等多种注射液^[1]。但由于奈替米星及注射液性质,多存在不稳定性的问题,一般会加入大量的稳定剂和抗氧化剂,不利于临床的安全使用^[2]。奈替米星的有关物质主要为生产过程中引入,主要有西梭米星及降解产物,以西梭米星毒性最大。国家药典的方法仍有拖尾或无法检测的问题存在,本研究在药典方法的基础上不断改善,取得了良好的分离度和灵敏度,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料与试药

高效硅胶GF254薄层板(100mm×200mm)青岛海洋化工厂;高效硅胶G薄层板(100mm×200mm)青岛海洋化工厂;展开缸(50mm×100mm×200mm)。注射用硫酸奈替米星(济南利民制药有限责任公司,浙江震元制药有限公司;福州福药制药有限公司);对照品:奈替米星(中国药品生物制品检定所,批号130355-200702),西梭米星(中国药品生物制品检定所,130353-200001)。山梨醇原料批号:110708,南宁化学制药责任有限公司;二氯甲烷、三氯甲烷、甲醇、浓氨水、碘、四氯化碳均为分析纯试剂。

1.2 方法与结果

1.2.1 展开系统及硅胶板的选择

A:二氯甲烷:甲醇:浓氨(4:4:2);B:二氯甲烷:甲醇:浓氨(5:3.5:1.5);

C:氯仿:甲醇:浓氨(5:3:1);D:氯仿:甲醇:浓氨(5:

12:6);E:氯仿:甲醇:浓氨(2:1:0.3)

结果:见表1,从表中可知每种展开剂都可分离奈替米星和西梭米星,但是不同展开剂Rf值不同,最后综合比较,认为E展开剂系统氯仿:甲醇:浓氨(2:1:0.3)为最佳。

表1 不同展开系统的比较

	硅胶GF254板		硅胶G板	
	奈替米星Rf值	西梭米星Rf值	奈替米星Rf值	西梭米星Rf值
A:二氯甲烷:甲醇:浓氨(4:4:2)	0.70	0.40	0.75	0.48
B:二氯甲烷:甲醇:浓氨(5:3.5:1.5)	0.65	0.48	0.70	0.53
C:氯仿:甲醇:浓氨(5:3:1)	0.52	0.45	0.56	0.46
D:氯仿:甲醇:浓氨(5:12:6)	0.63	0.54	0.64	0.56
E:氯仿:甲醇:浓氨(2:1:0.3)	0.54	0.25	0.56	0.28

1.2.2 显色方法

A:0.1%茚三酮的水饱和正丁醇溶液;B:饱和碘蒸气;C:1%碘的四氯化碳溶液。

1.2.3 操作方法

取不同厂家的硫酸奈替米星注射剂配制1mg/mL的供试品水溶液A、B和C。分别配制含奈替米星0.5mg/mL、1.0mg/mL的水溶液,作为对照品溶液D和E;配制含西梭米星0.50mg/mL的水溶液,作为对照液F用微量吸样器吸取上述溶液2μL点于距薄层板下端1.5cm处,控制在2mm误差以内,分别点于同一薄层板上,置于不同展开剂系统中展开后,晾干,置不同显色剂下显色。

1.2.4 定量下限

将上述奈替米星溶液和西梭米星稀释至50μg/mL,100μg/mL,150μg/mL,200μg/mL,500μg/mL的溶液,分别吸取2μL点于同一硅胶薄板,同时用不同展开剂和显色剂显色。

结果:1%碘的四氯化碳溶液斑点显色为黄色,背景色为白色,灵