

## 代谢分析

苦碟子中 2 个倍半萜内酯的牛血清白蛋白结合率的测定<sup>\*</sup>张秀平<sup>1</sup>, 董鲁艳<sup>1</sup>, 刘思焱<sup>1</sup>, 蔡伟<sup>1</sup>, 王菲<sup>1</sup>, 尚展鹏<sup>1</sup>,张加余<sup>2</sup>, 王子健<sup>2</sup>, 卢建秋<sup>3\*\*</sup>, 刘颖<sup>2\*\*</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 北京中医药大学中医药研究院, 北京 100029;

3. 北京中医药大学图书馆, 北京 100029)

**摘要** 目的: 研究苦碟子中倍半萜内酯类化合物苦茛菪内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦茛菪内酯 Z 的牛血清白蛋白的结合率。方法: 采用 HPLC 法测定苦茛菪内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦茛菪内酯 Z 的总浓度及游离药物浓度, 色谱分离采用 Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu$ m), 以水 (A)-甲醇 (B) 为流动相, 线性梯度洗脱 (0~5 min, 30%B $\rightarrow$ 37%B; 5~15 min, 37%B $\rightarrow$ 52%B; 15~22 min, 52%B $\rightarrow$ 60%B), 流速 1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>, 柱温 30  $^{\circ}$ C, 检测波长 272 nm, 进样量 10  $\mu$ L; 在 37  $^{\circ}$ C 条件下, 应用平衡透析法测定苦茛菪内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦茛菪内酯 Z 的牛血清白蛋白结合率。结果: 低、中、高 3 个浓度下, 苦茛菪内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦茛菪内酯 Z 的牛血清白蛋白结合率分别为 51.21%、54.72%、52.14% 和 50.63%、52.82%、50.28%。结论: 苦茛菪内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦茛菪内酯 Z 具有中等强度的蛋白结合率, 且无明显的浓度依赖性。

**关键词:** 苦碟子; 倍半萜内酯; 苦茛菪内酯 Z; 11, 13 $\alpha$ -二氢苦茛菪内酯 Z; 蛋白结合率; 药代动力学参数; 高效液相色谱

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2017) 03-0524-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.03.23

Determination of bovine serum albumin binding rates on two sesquiterpene lactones of *Ixeris sonchifolia*<sup>\*</sup>ZHANG Xiu-ping<sup>1</sup>, DONG Lu-yan<sup>1</sup>, LIU Si-yi<sup>1</sup>, CAI Wei<sup>1</sup>, WANG Fei<sup>1</sup>, SHANG Zhan-peng<sup>1</sup>, ZHANG Jia-yu<sup>2</sup>, WANG Zi-jian<sup>2</sup>, LU Jian-qiu<sup>3\*\*</sup>, LIU Ying<sup>2\*\*</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Beijing Research Institution of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. Library of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**Abstract Objective:** To determine the bovine serum albumin binding rate of Ixerin Z, 11, 13 $\alpha$ -dihydroixerin Z on sesquiterpene lactones of *Ixeris sonchifolia*. **Methods:** The total concentration of Ixerin Z and 11, 13 $\alpha$ -dihydroixerin Z

<sup>\*</sup> 国家重点基础研究发展计划 (973 计划, 2012CB518406); 国家自然科学基金青年科学基金 (81503244)<sup>\*\*</sup> 通信作者 卢建秋 Tel: (010) 64287502; E-mail: lujq@vip.sina.com

刘颖 Tel: (010) 64287540; E-mail: liuyingtem@gmail.com

第一作者 Tel: 17801085367; E-mail: 17801085367@163.com

as well as the free drugs were determined by HPLC method. The separation was performed on a Zorbax SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). A linear gradient elution of solvent water (A) and methanol (B) was applied with the following program: 0–5 min, 30% B → 37% B; 5–15 min, 37% B → 52% B and 15–22 min, 52% B → 60% B. The flow rate was set as 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The temperature of column was set at 30 °C. The detection wavelength was set at 272 nm. And the injection volume was 10 μL. The protein binding rates of Ixerin Z and 11, 13 α-dihydroixerin Z were determined by equilibrium dialysis method at 37 °C. **Results:** The protein-binding rate of Ixerin Z and 11, 13 α-dihydroixerin Z at low, middle and high concentration were 51.21%, 54.72%, 52.14% and 50.63%, 52.82%, 50.28%, respectively. **Conclusion:** The two sesquiterpene lactones have moderate intensity protein-binding rate. And the binding rates are not remarkable concentration-dependent manner of Ixerin Z, 11, 13 α-dihydroixerin Z. **Keywords:** *Ixeris sonchifolia*; sesquiterpene lactones; Ixerin Z; 11, 13 α-dihydroixerin Z; protein-binding rate; pharmacokinetic parameters; HPLC

苦碟子, 为菊科苦蕒菜属抱茎苦蕒菜 *Ixeris sonchifolia* (Bunge) Hance 的全草<sup>[1]</sup>, 具有清热<sup>[2]</sup>、凉血活血<sup>[3]</sup>、消肿排脓<sup>[2]</sup>等功效。苦碟子中的化学成分种类繁多, 主要含黄酮、倍半萜内酯、三萜皂苷和有机酸等化合物<sup>[4-6]</sup>。其中倍半萜内酯类化合物广泛存在于菊科、八角科及木兰科<sup>[7-9]</sup>等多植物中, 是多种药用植物的重要活性成分。近年来国内外研究表明, 倍半萜内酯类成分在强心<sup>[10]</sup>、抗肿瘤<sup>[11-12]</sup>、抗炎、抑菌<sup>[13]</sup>等方面均具有较好的生物活性。苦蕒菜内酯 Z (Ixerin Z) 和 11, 13 α-二氢苦蕒菜内酯 Z (11, 13 α-dihydroixerin Z) 成分为苦碟子中 2 种重要的倍半萜内酯类成分。药物与血清蛋白结合率是药物代谢动力学的重要参数之一, 影响药物在体内的作用规律<sup>[14-16]</sup>。本实验室采用高速逆流色谱分离技术<sup>[17]</sup>从苦碟子中首次分离得到苦蕒菜内酯 Z 和 11, 13 α-二氢苦蕒菜内酯 Z, 并采用平衡透析法结合 HPLC 技术研究苦蕒菜内酯 Z, 11, 13 α-二氢苦蕒菜内酯 Z 与牛血清白蛋白 (BSA) 的结合率, 为其药物动力学研究提供参数, 对研究该类成分在体内的药理效应强度、作用时间有重要的参考意义。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (安捷伦科技有限公司), TARGIN VX- II 型多管涡旋振荡器 (北京踏锦科技有限公司); Thermo Fresco 21 微量离心机 (赛默飞世尔科技有限公司); 梅特勒 MS205D μ 分析天平 (上海梅特勒-托利多仪器有限公司); TTL-DCI 型氮吹仪 (北京同泰联科技发展有限公司); Millipore Synergy UV 型超纯水机 (Millipore 公司)。

苦蕒菜内酯 Z 和 11, 13 α-二氢苦蕒菜内酯 Z

的对照品由实验室自苦碟子药材中分离纯化制得, 通过 <sup>1</sup>H- 和 <sup>13</sup>C-NMR 以及 LC-MS 等分析并与文献数据对照鉴定结构, 采用 HPLC 面积归一化法测定其纯度均大于 98%; 透析袋 (截留相对分子质量: 12 000~14 000; 规格: 干燥时直径 21 mm, 每卷长 5 m; 北京拜尔迪生物技术有限公司); 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4, 0.01 mol · L<sup>-1</sup>; 北京拜尔迪生物技术有限公司); BSA 标准品 (纯度 ≥ 98%; 美国 Sigma 公司); 甲醇为色谱纯, 实验用水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液配制

**2.1.1 对照品储备液** 分别精密称取苦蕒菜内酯 Z 和 11, 13 α-二氢苦蕒菜内酯 Z 对照品适量, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得苦蕒菜内酯 Z 和 11, 13 α-二氢苦蕒菜内酯 Z 的对照品储备液, 备用。

**2.1.2 BSA 溶液** 精密称定 BSA 适量, 加 PBS 溶液制得 1 mmol · L<sup>-1</sup> 的 BSA 溶液, 备用。

**2.1.3 样品溶液** 精密量取苦蕒菜内酯 Z 和 11, 13 α-二氢苦蕒菜内酯 Z 的对照品储备液适量, 用甲醇分别逐级稀释, 配制成质量浓度分别为 0.36、1.56、3.12 mg · mL<sup>-1</sup> 和 0.48、1.82、3.6 mg · mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液, 分别精密量取上述 2 个化合物的 3 种不同浓度对照品溶液各 100 μL, 置 1.5 mL 离心管中混合, 并加入 PBS 或 BSA 溶液 1 mL, 涡旋 60 s, 取上清即得 2 个化合物的低、中、高 3 个浓度混合溶液, 即苦蕒菜内酯 Z (0.03、0.13、0.26 mg · mL<sup>-1</sup>) 和 11, 13 α-二氢苦蕒菜内酯 Z (0.04、0.16、0.30 mg · mL<sup>-1</sup>) 的 PBS 样品溶液或 BSA 样品溶液 (模拟经过透析平衡后的透析袋外或内样品溶液)。

**2.1.4 供试溶液** 取 PBS 样品溶液或 BSA 样品溶液 200  $\mu\text{L}$ , 加甲醇 600  $\mu\text{L}$  沉淀蛋白, 涡旋混合 30 s, 以  $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 5 min, 取上清液 500  $\mu\text{L}$  置于离心管中, 氮吹, 残渣加 200  $\mu\text{L}$  甲醇复溶, 涡旋混合 30 s, 以  $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 5 min, 取上清即得苦荚菜内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 的 PBS 供试溶液或 BSA 供试溶液。

**2.1.5 空白溶液** 取 PBS 200  $\mu\text{L}$ , 其余操作同“2.1.4”项下供试溶液制备, 即得。

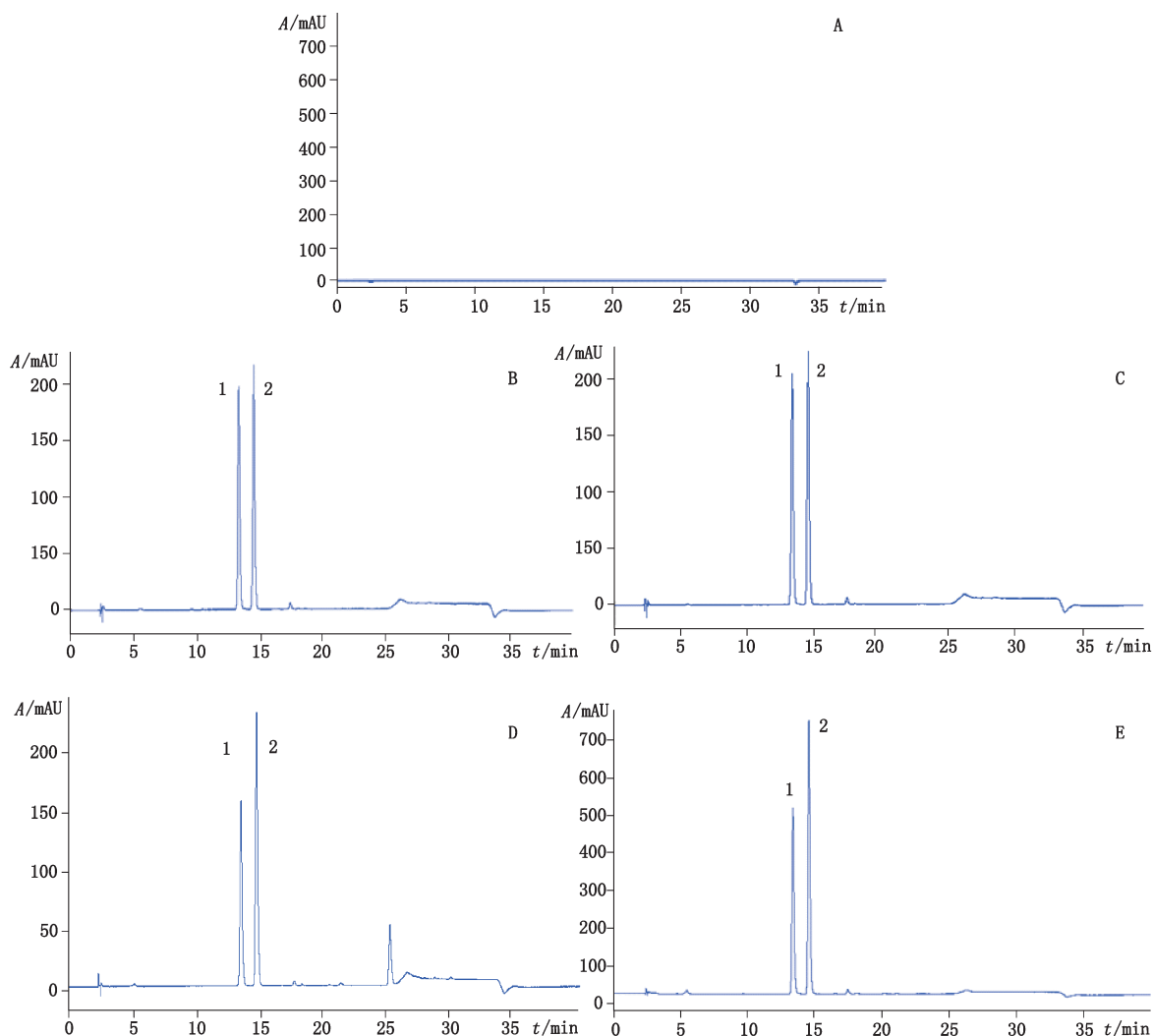
## 2.2 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 水 (A)–甲醇 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 30%B  $\rightarrow$  37%B; 5~15 min, 37%B  $\rightarrow$  52%B;

15~22 min, 52%B  $\rightarrow$  60%B); 流速:  $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 柱温:  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 检测波长: 272 nm。分别取苦荚菜内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 透析袋内外溶液、PBS 供试溶液、BSA 供试溶液及空白溶液均为 10  $\mu\text{L}$  进样。在上述色谱条件下, 本试验中苦荚菜内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 的 PBS 及 BSA 溶液的 HPLC 色谱图峰形良好, 无杂质干扰测定, 具有较高的特异性, 分析条件可以满足测定。色谱图见图 1。

## 2.3 方法学考察

**2.3.1 标准曲线的绘制** 在 BSA 溶液的标准曲线: 取苦荚菜内酯 Z 和 11, 13 $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 的对照品储备液适量, 用甲醇依次稀释得系列对照品



1. 苦荚菜内酯 Z (Ixerin Z) 2. 11, 13 $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z (11, 13 $\alpha$ -dihydroixerin Z)

图 1 空白 PBS 溶液 (A)、BSA 供试溶液 (B)、PBS 供试溶液 (C)、透析袋外样品溶液 (D)、透析袋内样品溶液 (E) 的 HPLC 图

Fig. 1 Chromatograms obtained from blank PBS (A), BSA test solution (B), PBS test solution (C), sample solution outside dialysis bag (D) and sample solution inside dialysis bag (E)

溶液, 浓度分别为 0.04、0.12、0.24、0.52、1.04、1.08  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和 0.08、0.16、0.32、0.60、1.20、2.40  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。各精密取上述 2 个化合物系列浓度溶液 100  $\mu\text{L}$  于 1.5 mL 离心管中; 另取 BSA 溶液 200  $\mu\text{L}$  共 12 份, 依次加入上述各离心管中, 涡旋 60 s, 分别得到质量浓度分别为 0.01、0.03、0.06、0.13、0.26、0.52  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的苦荚菜内酯 Z 溶液, 0.02、0.04、0.08、0.15、0.30、0.60  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 溶液。按“2.1.4”项下方法制备所需溶液, 进样测定; 以苦荚菜内酯 Z 或 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 分别得到苦荚菜内酯 Z 和 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 的线性方程:

$$Y=2.021 \times 10^4 X + 268.10 \quad r^2=0.9990$$

$$Y=2.260 \times 10^4 X + 150.07 \quad r^2=0.9997$$

在 PBS 溶液的标准曲线: 取苦荚菜内酯 Z 和 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 的对照品储备液适量, 用甲醇依次稀释得系列对照品溶液, 浓度分别为 0.04、0.12、0.24、0.52、1.04、1.08  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和 0.08、0.16、0.32、0.60、1.20、2.40  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。各精密取上述 2 化合物系列浓度溶液 100  $\mu\text{L}$  于 1.5 mL 离心管中; 另取 200  $\mu\text{L}$  PBS 溶液 12 份, 依次加入上述各离心管中, 涡旋 60 s, 得到质量浓度分别为 0.01、0.03、0.06、0.13、0.26、0.52  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的苦荚菜内酯 Z 溶

液, 0.02、0.04、0.08、0.15、0.30、0.60  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 溶液。按“2.1.4”项下方法处理制备所需溶液, 以苦荚菜内酯 Z 和 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 分别得到苦荚菜内酯 Z 和 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 的线性方程:

$$Y=2.177 \times 10^4 X - 29.96 \quad r^2=0.9997$$

$$Y=2.260 \times 10^4 X - 29.47 \quad r^2=0.9991$$

结果表明, 在 BSA 溶液和 PBS 溶液中, 苦荚菜内酯 Z 质量浓度在 0.01~0.52  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的线性范围内线性关系良好, 方法的定量下限为 0.01  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 质量浓度在 0.02~0.60  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的线性范围内线性关系良好, 方法的定量下限为 0.02  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**2.3.2 准确度与精密性试验** 按“2.1.4”项下方法分别制备低、中、高 3 个浓度的 PBS 和 BSA 的供试溶液, 每个浓度平行制备 6 份, 进行 HPLC 分析, 以当日随行标准曲线计算供试溶液中 2 个化合物的实测浓度, 分别计算苦荚菜内酯 Z 和 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 在 BSA 和 PBS 溶液中的准确度 (相对偏差, RE)。按“2.1.4”项下方法制备低、中、高 3 个浓度的 PBS 和 BSA 的供试溶液, 每个浓度平行制备 6 份, 在 1 d 内及连续 3 d 用同台仪器进行 HPLC 分析, 根据峰面积计算日内和日间精密度 (RSD), 结果见表 1。

表 1 准确度和精密性 ( $n=6$ )

Tab. 1 Intra- and inter-day accuracy and precision

化合物 (compound)	质量浓度 (concentration) /( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	BSA 溶液 (BSA solution)			PBS 溶液 (PBS solution)		
		RE/%	日内 (intra-day) RSD/%	日间 (inter-day) RSD/%	RE/%	日内 (intra-day) RSD/%	日间 (inter-day) RSD/%
苦荚菜内酯 Z (Ixin Z)	0.03	3.12	2.32	2.05	3.12	3.96	5.20
	0.13	4.69	4.25	3.61	1.56	3.21	4.62
	0.26	4.69	4.30	3.32	4.30	1.28	1.44
11, 13 $\alpha$ -二氢苦荚菜 内酯 Z (11, 13 $\alpha$ - dihydroixin Z)	0.04	5.00	3.79	2.74	2.63	3.79	3.15
	0.15	2.56	1.98	4.78	1.32	3.18	2.27
	0.30	1.30	3.91	3.40	1.65	4.77	2.55

**2.3.3 稳定性试验** 按“2.1.4”项下方法制备低、中、高 3 个浓度的 PBS 和 BSA 的供试溶液, 每个浓度平行制备 6 份, 于室温下保存, 分别于 0、2、6、10 h 进行 HPLC 分析。以当日随行标准曲线计算苦荚菜内酯 Z 和 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 在 BSA 和 PBS 供试溶液的浓度; 结果在 BSA 溶液中, 苦荚菜内酯

Z 低、中、高 3 个浓度的 RSD 分别为 2.49%、5.45%、3.37%, 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 低、中、高 3 个浓度的 RSD 分别为 2.50%、2.52%、2.69%; 在 PBS 溶液中, 苦荚菜内酯 Z 低、中、高 3 个浓度 RSD 分别为 2.98%、4.24%、1.35%, 11, 13  $\alpha$ -二氢苦荚菜内酯 Z 低、中、高 3 个浓度 RSD 分别为 2.79%、2.40%、

1.83%。结果表明,2个化合物在BSA和PBS溶液中室温下放置10h基本稳定。

**2.3.4 透析时间的确定** 采用平衡透析法原理,在透析袋内装入1mL PBS溶液,结扎透析袋两端使不漏液,将透析袋置于盛有10mL含苦苣菜内酯Z(0.03、0.13、0.26 mg·mL<sup>-1</sup>)和11,13α-二氢苦苣菜内酯Z(0.04、0.15、0.30 mg·mL<sup>-1</sup>)的PBS溶液的离心管中,使袋内外液面处于同一水平高度,每个浓度平行做3份。在37℃水浴中透析,在9、12、24h于透析袋两侧分别取样,参照“2.1.4”项下方法处理并测定透析袋内、外的苦苣菜内酯Z和11,13α-二氢苦苣菜内酯Z质量浓度,以两者质量浓度比值确定两者从袋内外自由扩散达到平衡的时间,结果见表2。结果表明两化合物24h已透析完全。

表2 透析时间的确定(n=3)

Tab. 2 The determination of dialysis time

化合物 (compound)	质量浓度 (concentration) /(mg·mL <sup>-1</sup> )	透析袋内外浓度比 (interal and external concentration ratio of dialysis bag)		
		9 h	12 h	24 h
苦苣菜内酯Z (Ixin Z)	0.03	0.85	0.96	0.98
	0.13	0.88	0.94	0.99
	0.26	0.78	0.93	1.00
11,13α-二氢苦苣菜 内酯Z(11,13α- dihydroixin Z)	0.04	0.85	0.95	1.02
	0.15	0.89	0.97	1.00
	0.30	0.87	0.95	0.99

**2.3.5 2个化合物在透析袋上的吸附作用** 参照“2.3.4”项下实验方法操作,在37℃水浴透析,24h2个化合物透析达到平衡后,于透析袋两侧分别取样,参照“2.1.4”项下方法处理,根据参考文献<sup>[18]</sup>并以标准曲线法,计算透析袋外2个化合物的浓度,求得吸附率,结果见表3。结果表明,透析袋对2个化合物有微弱的吸附,该吸附量可忽略不计。

**2.3.6 2个化合物BSA结合率的测定** 精密量取1mL BSA溶液代替1mL PBS溶液加入透析袋中,参照“2.3.4”项下实验方法操作,在37℃水浴透析至24h平衡后,使用10%(v/v)高氯酸溶液检查透析袋外PBS溶液中是否有蛋白漏出,若有浑浊出现说明此袋泄露,实验数据作废<sup>[19]</sup>。取透析袋外和透析袋内溶液各200μL,按“2.1.4”项下方法处

表3 透析袋对苦苣菜内酯Z和11,13α-二氢苦苣菜内酯Z的吸附率(n=3)

Tab. 3 The adsorption rate of Ixin Z and 11,13α-dihydroixin Z by dialysis membrane

化合物 (compound)	质量浓度 (concentration)/(mg·mL <sup>-1</sup> )	吸附率 (adsorption rate)/%
苦苣菜内酯Z (Ixin Z)	0.03	2.89
	0.13	3.74
	0.26	5.04
11,13α-二氢苦苣菜 内酯Z(11,13α- dihydroixin Z)	0.04	6.53
	0.15	5.43
	0.30	4.02

理,分别测定苦苣菜内酯Z和11,13α-二氢苦苣菜内酯Z袋内BSA溶液中的质量浓度(总浓度D<sub>t</sub>)及袋外PBS溶液中苦苣菜内酯Z和11,13α-二氢苦苣菜内酯Z的质量浓度(游离浓度D<sub>f</sub>),按血浆白蛋白结合率=(D<sub>t</sub>-D<sub>f</sub>)/D<sub>t</sub>×100%,计算2个化合物的BSA结合率,结果见表4。

表4 苦苣菜内酯Z和11,13α-二氢苦苣菜内酯Z的BSA结合率的测定(n=3)

Tab. 4 The binding rates of Ixin Z and 11,13α-dihydroixin Z with bovine serum albumin

化合物 (compound)	质量浓度 (concentration)/(mg·mL <sup>-1</sup> )	蛋白结合率 (binding rates)/%
苦苣菜内酯Z (Ixin Z)	0.03	51.21
	0.13	54.72
	0.26	52.14
11,13α-二氢苦苣菜 内酯Z(11,13α- dihydroixin Z)	0.04	50.63
	0.15	52.82
	0.30	50.28

### 3 总结与讨论

平衡透析法具有原理简单,操作简便等特点,是目前进行化合物蛋白结合率测定的常用方法。本文首次采用平衡透析法对苦苣菜中倍半萜内酯类成分苦苣菜内酯Z和11,13α-二氢苦苣菜内酯Z的单体与BSA的结合率进行了测定。本实验采用透析温度为37℃,通过对透析时间的考察,最终确定了2个化合物透析平衡时间为24h的条件,同时采用10%高氯酸溶液检查透析结束后透析袋外PBS溶液中无蛋白漏出,表明所建立的方法适用于苦苣菜内酯Z和11,13α-二氢苦苣菜内酯Z的BSA结合率的测定。

本实验结果表明,苦蕒菜内酯 Z 和 11, 13  $\alpha$ -二氢苦蕒菜内酯 Z 与 BSA 具有中等强度的结合率,且在实验浓度内 BSA 结合率与 PBS 中药物浓度无关。稳定的血浆蛋白结合率,使发挥药效作用的游离型药物质量浓度保持相对稳定,同时血浆蛋白结合具有可逆性,当游离型药物因组织分布而质量浓度下降时,结合型药物与蛋白解离,补充到组织中,从而有利于药效的持续充分发挥。

### 参考文献

- [1] 南京中医药大学. 百科全书中药[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1783  
Nanjing University of Chinese Medicine. Encyclopedia of Chinese Materia Medica [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 2006: 1783
- [2] 王晓芝. 苦蕒子的药理作用及临床应用[J]. 中国实用医药, 2006, 1(5): 41  
WANG XZ. The pharmacological action and clinical application of *Ixeris sonchifolia* Hance [J]. China Pract Med, 2006, 1(5): 41
- [3] 聂霞. 苦蕒子的药理作用及其临床应用[J]. 山西医药杂志, 2006, 35(7): 658  
NIE X. The pharmacological action and clinical application of *Ixeris sonchifolia* Hance [J]. J Med Shanxi, 2006, 35(7): 658
- [4] 李玲. 苦蕒子化学成分的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2008  
LI L. Studies on Chemical Constituents of *Ixeris sonchifolia* (Bge.) Hance [D]. Changchun: Jilin University, 2008
- [5] 刘颖, 卢建秋, 张加余. 苦蕒子药材及其注射液中化学成分的分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 16(38): 2675  
LIU Y, LU JQ, ZHANG JY. Analysis of chemical composition on *Ixeris sonchifolia* (Bge.) Hance and the injection by HPLC-ESI-MS<sup>n</sup> [J]. China J Chin Mater Med, 2013, 16(38): 2675
- [6] 张囡, 吕阿丽, 王玓, 等. 苦蕒子的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(9): 549  
ZHANG N, LÜ AL, WANG D, et al. Studies on chemical constituents of *Ixeris sonchifolia* (Bge.) Hance [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2007, 24(9): 549
- [7] 刘清华, 杨峻山, 索茂荣. 斑鸠菊属的倍半萜内酯类及甾体皂苷类化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(1): 10  
LIU QH, YANG JS, SUO MR. Studies on chemical constituents and pharmacological activities of sesquiterpene lactones and steroidal saponins of *Vernonia* [J]. China J Chin Mater Med, 2007, 32(1): 10
- [8] 胡岩, 段天璇, 曹枫, 等. 八角科植物果皮化学成分的 LC-MS 图谱特征及其在分类和药材鉴别上的意义[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(14): 1836  
HU Y, DUAN TX, CAO F, et al. LC-MS spectra characteristic chemical composition of Illiciaceae plants peel and its significance in the classification and identification of medicinal herbs [J]. China J Chin Mater Med, 2010, 35(14): 1836
- [9] 杨茜. 金沸草含量测定以及倍半萜内酯类成分的药动学研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2012  
YANG Q. Studies on Content Determination and Pharmacokinetics of Sesquiterpenes from *Inulae Herba* [D]. Shanghai: The Second Military Medical University, 2012
- [10] BARSBY RW, SALAN U, KNLSHT DW, et al. Fevefewand vascular smooth muscle: Extracts from fresh and dried plants show opposing pharmacological profiles, dependent upon sesquiterpene lactone content [J]. Planta Med, 1993, 59(1): 20
- [11] EVSTRATOVA RI, SHEICHENKO VI, RYBALLKO KS. Sesquiterpene lactones from *Inula japonica* [J]. Khim Prii Soedin, 1974, 9(6): 730
- [12] KISELEVA EY, SHEICHENKO VI, RYBALLKO KS, et al. Sesquiterpene lactone of inuladin from *Inula japonica* [J]. Khim Prii Scodin, 1971, 7(3): 263
- [13] HUANG CC, LIN KJ, CHENG YW, et al. Hepatoprotective effect and mechanistic insights of deoxyelephantopin, a phyto-sesquiterpene lactone, against fulminant hepatitis [J]. J Nutr Biochem, 2013, 24(3): 516
- [14] 陆国弟, 吴德康, 马宏跃, 等. 沙蟾毒精与牛血清蛋白的结合及分子对接研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(3): 373  
LU GD, WU DK, MA HY, et al. Study of binding and molecular docking between arenobufagin and bovine serum protein [J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(3): 373
- [15] 张海, 刘浩, 王本伟, 等. 五味子甲素 4℃ 条件下血浆蛋白结合率的测定[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(6): 941  
ZHANG H, LIU H, WANG BW, et al. Determination of plasma protein binding rate of deoxyschisandrin at 4 °C [J]. Chin J Pharm Anal, 2013, 33(6): 941
- [16] ERIKSSON MAL, GABRIELSSON J, NILSSON LB. Studies of drug binding to plasma proteins using a variant of equilibrium dialysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2005, 38(3): 381
- [17] CAI W, ZHANG JY, LI GL, et al. Isolation and purification of sesquiterpene lactones from *Ixeris sonchifolia* (Bunge) Hance by high-speed countercurrent chromatography and semi-preparative high performance liquid chromatography [J]. Trop J Pharm Res, 2014, 13(12): 2065
- [18] 张弘, 张晖芬, 常会超, 等. 齐墩果酸在入血浆蛋白和血清白蛋白中结合率的测定[J]. 药学报, 2011, 46(2): 243  
ZHANG H, ZHANG HF, CHANG HC, et al. Determination of protein binding rate of oleanolic acid in human plasma and serum albumin [J]. Acta Pharm Sin, 2011, 46(2): 243
- [19] 卢来春, 蒋学华, 杨俊毅, 等. 阿莫西林对格列美脲血浆蛋白结合率的影响[J]. 华西药理学杂志, 2003, 18(4): 246  
LU LC, JIANG XH, YANG JY, et al. The effects of amoxicillin on plasma protein-binding rate of glimepiride [J]. West China J Pharm Sci, 2003, 18(4): 246

(本文于 2016 年 2 月 26 日收到)