

(neuronal NOS, nNOS); II型存在于巨噬细胞和中性粒细胞中, 称为诱导型 NOS (inducible NOS, iNOS); II型存在于内皮细胞中, 称为内皮型 NOS(endothelial NOS, eNOS)。eNOS 和 nNOS 又称为组成型 NOS(constitutive NOS, cNOS), 其激活依赖于 Ca^{2+} 和钙调素; 而 iNOS 的激活不依赖于 Ca^{2+} 和钙调素, 其表达主要在基因水平上接受调控。内皮细胞内 NOS 主要为 cNOS, 同时含少量的 iNOS。 本研究发现, 西红花苷可浓度依赖性地提高内皮细胞 tNOS 及 cNOS 的活性, 使细胞合成及分泌 NO 升高, 而对 iNOS 的活性基本无影响。NO 是血管舒张因子, 能清除体内的自由基, 与 AS 的发生与发展密切相关^[8]。西红花苷能通过提高细胞内 NOS 的活性, 升高 NO 含量而保护内皮细胞不受损伤, 进而发挥 AS 作用。

参考文献:

[1] 王保华, 欧阳静萍, 刘永明, 等. 当归对高脂血清所致 ECV304

细胞损伤的保护作用[J]. 生理学报, 2001, 53(3): 240
[2] 严金川, 吴宗贵, 何松青, 等. 维生素 E 对氧化性低密度脂蛋白致大鼠主动脉平滑肌细胞毒性及增殖的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2001, 9(4): 298
[3] 龚国清, 刘同征, 钱之玉, 等. 西红花酸的体外抗氧化作用的研究[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(4): 306
[4] He Shu- ying, Qian Zhi- yu, Tang Fu- tian, *et al.* Effect of crocin on experimental atherosclerosis in quails and its mechanisms [J]. Life Sciences, 2005, 77: 907
[5] 何书英, 钱之玉. 西红花苷对氧化性低密度脂蛋白所致内皮细胞损伤的保护作用[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(2): 169
[6] 孟超, 陆惠华, 方宁远, 等. 益气活血剂对兔动脉粥样硬化模型血脂、动脉内脂质及钙的影响[J]. 中国中医药大学学报, 2000, 14(1): 49
[7] Chen L, Liang B, Froese DE, *et al.* Oxidized low- density lipoproteins in normal and hyperlipidemic patients: Effect of lysophosphatidylcholine composition on vascular relaxation [J]. J Lipid Res, 1997, 38(3): 546
[8] Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthesis in mammals [J]. Biochem J, 1994, 298(2): 249

收稿日期: 2005- 09

温度对手性固定相 HPLC 分离克仑特罗和丙卡特罗的影响

孙 娟¹, 唐小海², 宋 航^{1*}, 唐 琴³, 付 超¹

(1. 四川大学制药与生物工程系, 四川 成都 610065; 2. 成都药友科技发展有限公司, 四川 成都 610041; 3. 湖北民族学院化工系, 湖北 恩施 445000)

摘要: 目的 讨论温度对药物克仑特罗和丙卡特罗在手性固定相 Whelk- O1 上手性分离因子(α) 的影响。方法 考察在不同流动相配比条件下, 柱温在 - 10℃ ~ 30℃ 间变化时 $\ln\alpha$ 与 $1/T$ 的关系, 计算出两种药物对映体与固定相相互作用的焓变差值和熵变差值。结果 手性分离因子 α 随温度增加而变小, $\ln\alpha$ 与 $1/T$ 呈线性关系。结论 两种药物对映体的拆分过程都是焓控过程。

关键词: 高效液相色谱; 对映体分离; 手性固定相 Whelk- O1; 热力学参数; 克仑特罗; 丙卡特罗

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0103(2006)01- 0030- 03

Influence of temperature on the enantioseparations of clenbuterol and procaterol on a chiral column

SUN Juan¹, TANG Xiao- hai², SONG Hang^{1*}, TANG Qing³, FU Chao¹

(1. Department of Pharmaceutical and Biological Engineer., Sichuan University, Chengdu, 610065, China; 2. Chengdu Yaoyou Technologies Co., Ltd., Chengdu 610061, China; 3. Department of Chemical Engineer, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China)

Abstract: OBJECTIVE To investigate the influence of temperature on the enantioseparations of clenbuterol and procaterol on Whelk- O1 CSP. **METHODS** With various mobile phase compositions, the relationship between $\ln\alpha$ and $1/T$ was investigated during the column temperature changing from - 10℃ to 30℃, and the thermodynamic parameters were calculated. **RESULTS** The enantioseparations decreased when the temperature increased, and the relationship between $\ln\alpha$ and $1/T$ was linear. **CONCLUSION** These chiral recognition processes were controlled by enthalpy.

Key words: HPLC; Enantioseparation; Whelk- O1 CSP; Thermodynamics parameter; Clenbuterol; Procaterol

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006- 0103(2006)01- 0030- 03

手性药物不同对映体在活性、代谢、毒性等方面 存在着显著差异。获得单一对映体的药物, 可提高

作者简介: 孙娟(1980-), 女, 四川达州, 正攻读生物化工专业的硕士学位。

* 通讯作者(Correspondent author): zhangsong@vip.sina.com

药物活性, 减少不良反应。采用 HPLC 在手性固定相上直接拆分手性药物, 方法简单、快速。在直接拆分对映异构过程中, 手性固定相、流动相的组成、温度对分离效果有重大影响^[1]。一些常温不能分离的对映体, 低温时能得到很好的分离^[2]。对于不同化合物, 温度对分离度的影响有差异^[3]。而不同流动相配比条件下, 温度对分离度的影响也不同^[4]。通过研究温度对对映体分离的影响, 计算有关参数, 可加深对手性分离过程的了解, 获得最佳分析结果。

现选择丙卡特罗和克仑特罗为研究对象。丙卡特罗可在酰胺型手性固定相 DNB-PG 上获得分离^[5], 克仑特罗在 Whelk-O1 上可得到手性分离^[6]。实验进一步研究不同流动相配比下, 温度(-10℃~30℃)对手性固定相 Whelk-O1 拆分两个药物对映体的影响。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

515 型高效液相色谱泵(美国 Waters 公司); CBL Modle 100 型柱温箱(美国 Photoelectron technology 公司); 2487 双波长紫外检测器(美国 Waters 公司); Chrom station 色谱工作站(美国 Sage 公司)。正己烷、异丙醇(AR)使用前均精馏处理; 盐酸丙卡特罗(中国大冢制药有限公司); 克仑特罗(江苏林海药业有限公司)。两种药物的结构见图 1。

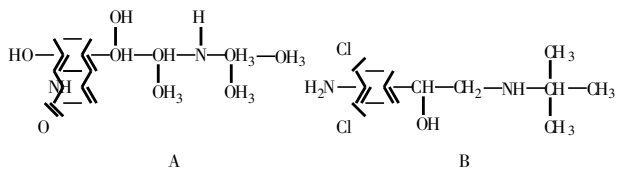


图 1 丙卡特罗(A)和克仑特罗(B)的结构式
Fig 1 Structures of Procatreol (A) and Clenbuterol (B)

1.2 方法和结果

1.2.1 色谱条件 色谱柱为 Whelk-O1 (R, R) (250 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国 Regis technologies 公司); 流动相以正己烷(HEX)为主, 异丙醇(IPA)为极性调节剂, 所有流动相均经 0.45 μm 滤膜过滤并超声脱气后使用; 流速 1.5 ml·min⁻¹; 检测波长 254 nm; 柱温-10℃~30℃, 由低温恒温槽控制; 死时间以乙酸乙酯测定。

1.2.2 温度对样品保留因子 k' 和分离因子 α 的影响 在-10℃~30℃范围内, 考察不同流动相配比下温度对丙卡特罗、克仑特罗第一个峰保留因子 k' 和 α 的影响(丙卡特罗的数据见表 1)。从表 1 可见, 在-10℃~30℃范围内, α 均随异丙醇浓度增加而下降, 可能因为这两种对映体与固定相的作用涉及

π-π 面面作用力、π-π 面边缘作用力及氢键作用力。随着异丙醇浓度的增加, 流动相对固定相作用位点的竞争吸附增加, 对手性分离不利。在相同温度下, 丙卡特罗和克仑特罗的 α 均随异丙醇浓度的增加而减小。随温度升高, 两种药物的 α 均减小。因温度升高后, 溶剂传质速度增加, 溶质在固定相上解吸附加快, 保留时间减少, 对手性识别过程不利。但与流动相极性变化相比, 温度对 α 的影响较小。

表 1 丙卡特罗在不同温度及流动相配比时的 k' 1 和 α
Table 1 Capacity factor of the first duted enantiomer k' 1 and separation factor α of Procatreol with various mobile phases and temperatures

T/ ℃	A ₁		A ₂		A ₃		A ₄		A ₅	
	k' 1	α	k' 1	α	k' 1	α	k' 1	α	k' 1	α
-10	4.0	1.58	2.25	1.47	1.79	1.43	1.51	1.38	1.21	1.29
0	3.4	1.54	1.77	1.46	1.45	1.40	1.20	1.34	1.06	1.28
10	2.90	1.50	1.44	1.42	1.20	1.37	0.99	1.31	0.89	1.27
20	2.49	1.46	1.20	1.38	1.05	1.34	0.86	1.29	0.75	1.26
30	2.33	1.41	1.10	1.36	0.91	1.32	0.82	1.28	0.66	1.25

A₁= 99% HEX+ 1% IPA; A₂= 95% HEX+ 5% IPA; A₃= 90% HEX+ 10% IPA; A₄= 80% HEX+ 20% IPA; A₅= 70% HEX+ 30% IPA 体积比

1.2.3 热力学参数的测定 图 2 为不同流动相组成条件下, 丙卡特罗、克仑特罗的 lnα~1/T 关系图(T 为表 1 中温度所对应的绝对温度)。可见, 两种对映体在 Whelk-O1 固定相上, α 受流动相和温度的影响相似。由于具有相似的结构, 可以推测, 在分离过程中两种物质的手性识别模式相同。在-10℃~30℃, lnα 与 1/T 呈线性关系。图 2 的线性关系可以由 Van't Hoff 方程推导出为: lnα= - ΔΔH/RT+ ΔΔS/R。式中, ΔΔH 和 ΔΔS 分别为一对对映体在固定相上手性分离过程中的焓变差值及熵变差值。线性的 lnα~1/T 关系说明, 在试验条件下, 丙卡特罗、克仑特罗对映体的手性识别机理在温度变化的过程中无变化。根据这一关系式可分别求出直线的斜率和截距, 从而计算出对映体与手性固定相在手性识别过程中的 ΔΔH 和 ΔΔS(表 2)。

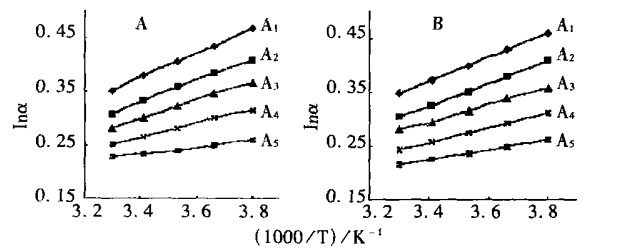


图 2 不同流动相组成下丙卡特罗(A)和克仑特罗(B)的 lnα~1/T 关系图(A₁~A₅ 同表 1)
Fig 2 Plot of lnα vs. 1/T of Procatreol (A) and Clenbuterol (B) with various mobile phases

表 2 丙卡特罗和克仑特罗对映体手性分离中的热力学参数(J mol⁻¹)
 Table 2 The thermodynamics parameters of the chiral recognition processes of Clenbuterol and Procaterol (J mol⁻¹)

Mobile phase*	Procaterol		Clenbuterol	
	- ΔΔH	ΔΔS	- ΔΔH	ΔΔS
A ₁	1929	- 3. 14	1844	- 3. 171
A ₂	1668	- 2. 96	1759	- 3. 3
A ₃	1444	- 2. 47	1311	- 2. 02
A ₄	1079	- 1. 47	1162	- 1. 83
A ₅	545	- 0. 08	755	- 0. 72

* A₁~ A₅ are the same as table 1

从表 2 可以看出, | ΔΔH| > | T ΔΔS|, 故该手性分离为焓控制过程。ΔH 是表示溶质从流动相转移到固定相时的热效应。ΔΔH 的变化与流动相的组成有很大关系, 随着流动相中异丙醇含量的减少, ΔΔH 增加, 药物的两个光学异构体与固定相吸附作用的差别增加, 有利于手性识别和分离。

2 讨论

文中采用 Whelk- O1 手性柱, 考察了在不同流动相组成条件下, 温度对丙卡特罗和克仑特罗对映体手性拆分的影响。在- 10℃~ 30℃范围内, 随着温度的升高, 对映体的保留时间、分离因子都减小,

用 lnk 对 1/T 作图得到的曲线均是线性。通过热力学关系式计算出了在实验温度范围内的焓变差值及熵变差值。据此判别该对映体的分离过程为焓控过程, 流动相变化引起的 ΔΔH 和 ΔΔS 变化较大。在实验范围内, 异丙醇含量为 1% 时两种对映体分离的 ΔΔH 值最大。

参考文献:

- [1] Norbert M Maier, Pilar Franco, Wolfgang Lindner. Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives [J]. Chromatogr A, 2001, 906: 3
- [2] Bengt- Arne Persson, Shalini Andersson. Unusual effect of separation condition on chiral separations [J]. Chromatogr A, 2001, 906: 195
- [3] 吕海涛, 云自厚. 液相色谱手性柱温度效应 [J]. 色谱, 1995, 13 (3): 192
- [4] 严全鸿, 吴彩娟. 2- 芳基丙酸类手性药物色谱拆分的热力学研究 [J]. 色谱, 2004, 22(4): 408
- [5] William H Pirkle. Unusual effect of temperature on the retention of enantiomers on a chiral column [J]. Chromatogr, 1991, 558: 1
- [6] 郑文丽, 宋航, 梁彦明. 利用二硝基苯甲酰- 苯基甘氨酸型手性固定相直接拆分丙卡特罗药物对映体 [J]. 色谱, 2003, 21(3): 239
- [7] 唐琴, 宋航, 付超. 高效液相色谱手性固定相法拆分克仑特罗对映体 [J]. 分析化学, 2004, 32(6): 755

收稿日期: 2005- 06

大鼠和家犬体内加替沙星的测定及药物动力学研究

邓立东¹, 蒋学华², 梁荣感³, 邓俊刚¹, 邓 航¹, 付 翔¹

(1. 桂林医学院附属医院, 广西 桂林 541001; 2. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 3. 桂林医学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 目的 采用 HPLC 测定加替沙星在犬和大鼠各组织中的浓度并研究其体内过程。方法 家犬 po 5、10、20 mg• kg⁻¹ 加替沙星后, 测定不同时间血清中浓度, 计算药动学参数。大鼠 po 20 mg• kg⁻¹ 加替沙星后, 测定各组织的药物浓度, 并测定尿液、胆汁与粪便累积排泄率。结果 加替沙星的犬药动学符合一室模型, AUC₀₋₂₄ 和 C_{max} 与剂量平行, T_{max} 与剂量无关。大鼠 po 加替沙星后快速分布在各组织中, 其中肝、肾、小肠、胃分布最多, 大脑未检测到药物。48 h 后, 尿液、胆汁与粪便中的药物累积排泄率分别为 66. 2% ± 8. 8%、8. 05% ± 3. 08% 和 3. 63% ± 1. 65%。结论 加替沙星口服吸收快, 消除半衰期长, 组织分布广。
 关键词: 加替沙星; 体内过程分析; 药物动力学; 反相高效液相法

中图分类号: R969. 1

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0103(2006)01- 0032- 04

Pharmacokinetics and tissues distribution of Gatifloxacin in rats and dogs by HPLC

DENG Li- dong¹, JIANG Xue- hua², LIANG Rong- gan³, DENG Jun- gang¹, DENG Hang¹, FU Xiang¹

(1. Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, China; 2. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Guilin Medical College, Guilin 541004, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish an HPLC method for determination of Gatifloxacin *in vivo* course of rats and dogs. **METHODS** Following administration of a single of 5, 10 and 20 mg• kg⁻¹ Gatifloxacin to dogs, the concentration of Gatifloxacin in intravenous blood from 0. 25 h to 24 h were examined by HPLC. And then the pharmacokinetic parameters were calculated. After a single of 20 mg• kg⁻¹ Gatifloxacin to rats, tissues of drug concentrations at 5, 15 min and 4 h were determined. The urinary, bile and dejection accumulative excretions were determined. **RESULTS** The pharmacokinetic process of dogs fitted one compartment model. AUC₀₋₂₄ and C_{max} were in proportion to the dosage

基金项目: 广西自然科学基金资助(编号: 0249016)

作者简介: 邓立东(1957年), 男, 广西贺州人, 硕士, 副主任药师, 从事临床药学和药物新制剂的开发工作。