

斑蝥素的提取及 *N*-羧乙基斑蝥酰亚胺的合成

陈阶, 王中康, 汪会荣, 靳贵晓, 殷幼平*

(重庆大学生物工程学院, 重庆市基因功能与调控重点实验室, 重庆 400044)

摘要 目的: 提取斑蝥素, 合成斑蝥素羧基衍生物, 探究合成反应最佳条件及产率并比较二者的胃毒毒力的强弱。方法: 有机溶剂萃取方法提取斑蝥素, 在单因素不同的体系中与 β -丙氨酸进行缩合反应, 且用 GC、TLC、UV、MS、NMR 等对提取物及反应产物进行鉴定, 并通过改良寇氏法测定二者的 LD_{50} 以比较其毒性。结果: 提取的斑蝥素纯度达 98.53%, 缩合产物为 *N*-羧乙基斑蝥酰亚胺。最佳反应条件: $n(\text{斑蝥素})/n(\beta\text{-丙氨酸}) = 1/1.2$ 媒介溶剂与催化剂均为 E_t_3N , 最佳用量为 1 mol 的斑蝥素需 72 mL 的 E_t_3N , 125~150 °C 下脱水反应 4~5 h, 产率可达 74.4%。衍生物对小鼠的胃毒力仅为斑蝥素毒性的 1/400。结论: 可以利用药用斑蝥虫体提取高纯度斑蝥素, 并用以合成低毒性的斑蝥素羧基衍生物, 且在最佳条件下有较高产率。

关键词: 斑蝥素; *N*-羧乙基斑蝥酰亚胺; NMR; 缩合反应; 产率; LD_{50}

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)01-0025-06

Extraction of cantharidin and synthesis of *N*-carboxyethylcantharidin imide

CHEN Jie, WANG Zhong-kang, WANG Hui-rong, JIN Gui-xiao, YIN You-ping*

(Bio-Engineering College of Chongqing University, Key Lab of Genetic Function and Regulation in Chongqing, Chongqing 400044, China)

Abstract Objectives To extract the cantharidin and synthesize its carboxyl derivative, optimize the reaction condition and determine the derivative yield under this condition, and compare the stomach toxicity between cantharidin and its derivative. **Methods** Extract the cantharidin by organic reagent, then use it to condense with β -Alanine in different systems with a single factor changed, identify the cantharidin and its derivative with GC, TLC, UV, MS and NMR; compare the toxicity by determining the two chemicals' LD_{50} in mice with modified Kaber method. **Results** The purity of the extracted cantharidin reached 98.53%, the product of the condensation was *N*-carboxyethylcantharidin imide, the yield reached 74.4% in the optimized condition with the ratio of cantharidin to β -Ala was 1:1.2 and with the E_t_3N as intermediary agent and catalyzer that 1 mol cantharidin needed 72 mL E_t_3N to catalyze in 125~150 °C for 4~5 h; the stomach toxicity of the derivative was only 1/400 of that of cantharidin. **Conclusions** It is feasible to extract the high purity cantharidin from polypile powder of cantharis. The synthesized carboxyl derivative showed with much lower toxicity, and the yield can arrive as high as 74.4% in optimized condition.

Key words cantharidin; *N*-carboxyethylcantharidin imide; NMR; condensation reaction; yield; LD_{50}

斑蝥是鞘翅目 (Coleoptera) 芫菁科 (Meloidae) 斑芫菁属 (*Mylabris*) 的药用昆虫, 具有消肿破瘀、解毒、消炎、抗癌、通经、杀虫等功效^[1], 其有效成分为斑蝥素 (cantharidin), 为剧毒萜类物质, 其化学结构如图 1-A 所示。自从人工合成斑蝥素以来, 国内外学者对斑蝥素分子结构骨架进行修饰, 合成了大量的重要斑蝥素衍生物, 并提出了合成目标模型^[2], 如图 1-B 所示。

本研究从斑蝥体内提取高纯度 (纯度 > 98%)

的斑蝥素入手, 依据上述模型, 用 β -丙氨酸直接对天然斑蝥素进行修饰, 缩合生成斑蝥素羧基衍生物 *N*-羧乙基斑蝥酰亚胺 (*N*-carboxyethylcantharidin imide), 如图 2。并对其反应条件及产物的胃毒性进行了初步的探讨。

1 实验材料

1.1 主要实验材料及试剂 斑蝥成虫 (本实验室自养南方眼斑芫菁); KM 小白鼠 (18~22 g SPF 级, 重庆腾鑫生物技术有限公司); 斑蝥素对照品 (中国

* 通讯作者, Tel: (023) 65120489, E-mail: yyp128@vip.sina.com

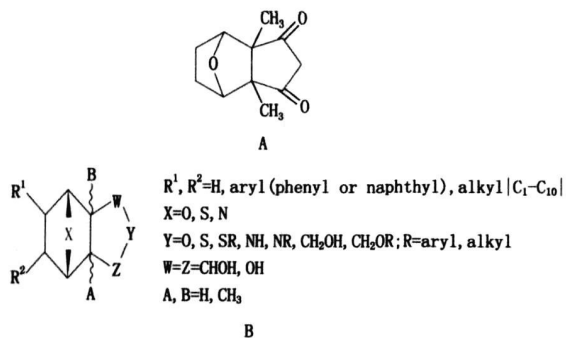


图1 斑蝥素化学结构(A)及斑蝥素衍生物的合成模型(B)

Fig 1 The chemical structure of cantharidin (A) and the synthesis model of cantharidin derivative (B)

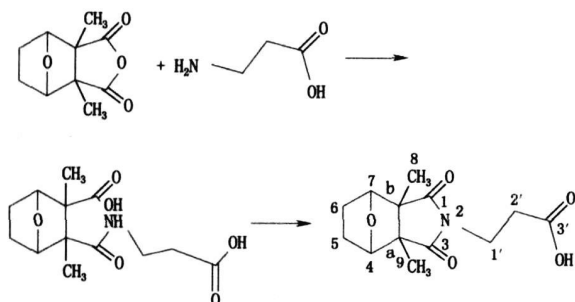


图2 N-羧乙基斑蝥酰亚胺的合成历程

Fig 2 The synthesis process of N-carboxyethylcantharidimide

药品生物制品检定所); 溴甲酚绿 (ND, 上海试一化学试剂有限公司); β -丙氨酸 (BR级, 国药集团); 硅胶板 (G型, 青岛海洋化工厂分厂); 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器 Varian CP-3800气相色谱仪(美国); UV-2450紫外-可见分光光度计(日本); Agilent GC-MS 6890/5973 质谱仪(美国); Bruker Avance 500核磁共振仪(瑞士); WRS-1B数字熔点仪(上海精密科学仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 斑蝥素的提取 斑蝥素的提取参照 Prestwich CD等方法^[3-5]并加以改进。具体方法: 斑蝥成虫粉 20 g 用氯仿-浓盐酸-无水乙醇(1:1:1) 150 mL 于 60~65 °C 下搅拌浸提 12 h 后抽滤, 取滤液浓缩近干, 再用水-氯仿(1:1) 30 mL 搅拌浸泡, 待静置分层后取下层有机相, 浓缩近干, 再用无水乙醇-石油醚(1:1, 0~4 °C) 20 mL 多次洗涤, 最后用丙酮重结晶, 得白色纯结晶(85 mg 产率 0.425%); mp 215.4~215.9 °C, 与理论值^[6]相符。

2.2 斑蝥素的鉴定

2.2.1 硅胶板薄层层析^[7] 展开剂: 氯仿-无水乙醇(6:4); 显色剂: 0.1% 溴甲酚绿乙醇溶液; 点样浓度: $3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 点样溶剂: 氯仿; 点样量: 6.5 μL 。

2.2.2 气相色谱鉴定

柱系统: 1.5% OV-17(2 mm \times 2 m), 载气 N_2 分离条件: 进样 2 μL , 柱温 60 °C 等温 0.5 min 30 °C $\cdot \text{min}^{-1}$ 升至 180 °C 等温 1 min 检测器: FID, 240 °C; 溶剂: 氯仿; 斑蝥素的出峰时间为 4.6 min。

斑蝥素标准曲线制定: 依次配制浓度为 0, 0.1375, 0.275, 0.55, 1.1, 2.2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的斑蝥素对照品氯仿溶液, 分别进行气相色谱检测, 根据斑蝥素的峰高 Y 与其浓度 X 的关系制定出标准曲线:

$$Y = 2.897X$$

根据斑蝥素对照品的出峰时间, 将提取物 GC 图谱中 4.6 min 处的峰高与标准曲线对比, 计算出该待测液中斑蝥素的浓度 C ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 并计算待测液中斑蝥素的纯度 $X = C \times VM \times 100\%$ (V : 待测液的体积, mL; M : 配制待测液所耗粗提物的质量, mg)。

2.2.3 质谱鉴定 柱系统: HP-5MS 载气 N_2 分离条件: 溶剂为氯仿, 进样 0.5 μL , 柱温 60 °C 等温 0.5 min 30 °C $\cdot \text{min}^{-1}$ 升至 180 °C 等温 5 min 进样口温度 230 °C; 接头温度 280 °C, 分流比为 50:1, 溶剂延迟时间为 3 min 离子化方式为 EI 70 eV, 离子源温度为 230 °C, 扫描范围 m/z 30~250。

2.3 斑蝥素与 β -丙氨酸的缩合反应 鉴于目前尚无斑蝥素与 β -丙氨酸缩合反应的相关文献, 本反应参考罗顺中、Adam McCloskey、Stanton HLK 等^[8-10]关于其他斑蝥素衍生物的合成方法, 并结合兰云军^[11]对于马来酰亚胺的合成参数, 通过单因素优化得该缩合反应最佳方法为: 斑蝥素结晶 70.6 mg (0.36 mmol)、 β -丙氨酸 37.6 mg (0.422 mmol) 以及 20 mL 的冰醋酸于 35~40 °C 中混合水浴 5 h 后, 蒸去冰醋酸, 加 Et₃N 15 mL, 于密闭容器中 135~140 °C 回流反应 4 h 后, 蒸去 Et₃N, 调 pH 至 1~2, 随后用 50 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 取黄绿色水相, 浓缩近干, 最后依次用甲醇、乙酸乙酯、水和二氯甲烷重结晶, 得精制白色粉末 (80.5 mg 产率 74.4%); mp 242.7~245.0 °C。

2.4 缩合产物的鉴定

2.4.1 溶解性试验 分别用水、甲醇、乙醇、氯仿以及二氯甲烷等作为溶剂, 测定缩合产物、斑蝥素以及 β -丙氨酸的溶解性试验。

2.4.2 硅胶板薄层层析 同“2.2.1”项下所述方法。

2.4.3 紫外波谱鉴定 用水作为溶剂, 对 β -丙氨酸和缩合产物作紫外全波长扫描, 得出缩合产物与

β -丙氨酸的紫外吸收图谱。

2.4.4 质谱鉴定 同“2.2.3”项下所述方法。

2.4.5 核磁共振鉴定 用 Bruker Avance 500 NMR 核磁共振仪测缩合产物的氢谱及碳谱 (D_2O 为溶剂, 500 MHz, 常温), 确定缩合产物结构。

2.5 斑蝥素与 *N*-羧乙基斑蝥酰亚胺胃毒毒力比较

按改良寇氏法^[12], 将 60 只小白鼠分成 A、B 组, 每组 30 只, 雌雄各半。每组再平均分为 5 个浓度处理, 以灌胃 (ig) 方式对 2 组的小鼠分别灌按等比浓度稀释的斑蝥素及 *N*-羧乙基斑蝥酰亚胺, 10 d 内观察小鼠死亡情况, 计算致死中量 (LD_{50}), 并比较斑蝥素与 *N*-羧乙基斑蝥酰亚胺的毒性。

3 结果与分析

3.1 斑蝥提取物的鉴定

3.1.1 硅胶板薄层层析 图 3 所示, 斑蝥提取物 (1) 与斑蝥素对照品 (2) 斑点颜色相同, 且迁移率一致 ($R_f = 0.82$), 表明二者是同一物质; 层析板中无杂点及拖尾现象, 表明提取的斑蝥素纯度较高。

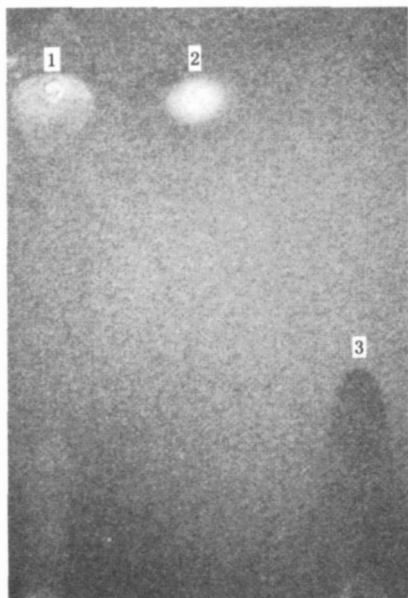


图 3 3 种化学物质的 TLC

Fig 3 The TLC of the three chemical substances

1 斑蝥提取物 (extraction of polyptide) 2 斑蝥素对照品 (cantharidin reference substance) 3 缩合产物 (condensation product)

3.1.2 气相色谱 斑蝥提取物 30 mg 加入氯仿 10 mL 所配制的溶液经 GC 检测, 在 4.6 min 处有斑蝥素特征峰, 峰高为 8.563 V, 根据标准曲线方程 $Y = 2.897X$, 可得该提取物中斑蝥素浓度为 $2.956 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。则提取物的纯度为 $X = C \times V / M \times 100\% = 2.956 \times 10 / 30 \times 100\% = 98.53\%$ 。

3.1.3 质谱鉴定 斑蝥提取物经质谱扫描, 得质谱特征峰如下: m/z 128 (10000), 109 (1200), 96 (7600), 70 (2800), 41 (1700), 与文献^[13]及 NIST 库中斑蝥素标准图谱相符。

3.2 缩合产物的鉴定

3.2.1 溶解性 β -丙氨酸、斑蝥素以及缩合产物的溶解性差异如表 1 所示, 缩合产物的溶解性明显不同于 β -丙氨酸和斑蝥素, 其在所用的 5 种溶剂中都有一定溶解度, 说明反应物 β -丙氨酸和斑蝥素确实发生了化学反应, 有新的物质生成。由于在斑蝥素结构中引入了亲水性的自由羧基, 使得新物质的溶解谱大大增加。

表 1 斑蝥素、 β -丙氨酸以及缩合产物的溶解性

Tab 1 The solubilities of cantharidin, β -Ala and condensation product

化合物 (compound)	H_2O	CH_3OH	CH_3CH_2OH	$CHCl_3$	CH_2Cl_2
缩合产物 (condensation product)	++	++	+	+	++
斑蝥素 (cantharidin)	-	-	-	++	++
β -丙氨酸 (β -Ala)	++	-	-	-	-

注 (note): ++ 极易溶解 (easily dissoluble), + 可溶 (dissoluble), - 难溶 (undissoluble)

3.2.2 硅胶板薄层层析 实验显示缩合产物的迁移率 ($R_f = 0.41$) 明显低于斑蝥素, 且该缩合产物的层析带干净无杂斑, 表明缩合产物的纯度较高 (见图 3)。从其结构来说, 缩合产物比斑蝥素的结构多了 1 个自由的羧基, 极性增大, 理论上在层析板的迁移率会降低。实验符合预期设想。

3.2.3 紫外波谱 β -丙氨酸: $\lambda_{max} 214 \text{ nm}$ (水溶剂); 缩合产物 (产物): $\lambda_{max} 245.5 \text{ nm}$ (水溶剂), 即 β -丙氨酸在引入斑蝥酰基后吸收波发生了明显的红移。

3.2.4 质谱数据 m/z 250 (800) [$M - OH$]⁺, 235 (600), 206 (1000), 192 (1000), 128 (9000), 96 (7000), 84 (4000) [$C_3H_2NO_2$]⁻, 60 (10000) [$C_2H_4O_2$]⁺⁺, 57 (3000), 53 (3000), 45 (5000), 44 (2000), 41 (1500)。

3.2.5 核磁共振 缩合产物 ^{13}C -NMR δ 8.449 (q C-8'9), 11.579 (t C-5'6), 23.286 (t C-2'), 35.910 (t C-1'), 46.787 (d C-a b), 54.245 (s C-4'7), 163.782 (s C-1'3), 183.959 (s C-3'); 1H -NMR δ 12.21 (1H, s H-3'), 3.72 (2H, t H₂-1'), 2.94 (2H, dd H-4'7), 2.59 (2H, t H₂-2'), 1.81 (2H, m, H_a-5'6), 1.57 (2H, m, H_B-5'6), 1.41 (4H, s H₃-8'9)。

3.3 缩合产物产率的主要影响因素的优化

缩合反应是动态反应体系,其生成物产率受反应物比例、反应温度及时间、溶剂种类及催化剂等因素影响。由于 E_tN 是此类缩合反应的常用催化剂^[9-11],故对影响该反应产率的单因素分析实验中均以 E_tN 作催化剂。

3.3.1 反应物的比例对产率的影响 斑蝥素参与反应的化学基团为酸酐部分,与马来酸酐相似,故难以自聚,反应时无需添加阻聚剂^[11]。因此,从原料上影响产率的因素是 2 种反应物的比例。如图 4 当斑蝥素与 β -丙氨酸的摩尔比为 1.0:1.2 时,产率最高。

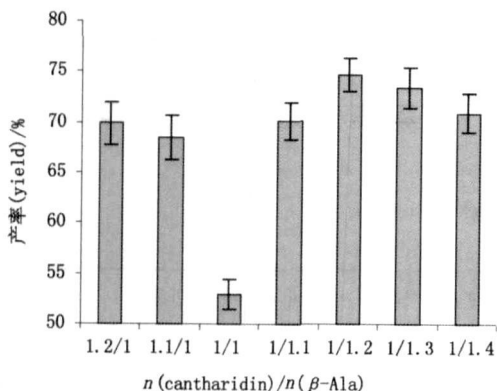


图 4 反应物的比例对产率的影响

Fig 4 The effects of the ratio of reagents on yield

3.3.2 不同媒介溶剂对产率的影响 该合成反应中有水的生成,故要求反应溶剂中不能含有水分。本实验选择了 3 种能与水产生共沸的 E_tN 、甲苯以及冰醋酸等做为反应媒介,用 E_tN 进行催化反应,结果表明媒介溶剂用 E_tN 最好(图 5)。

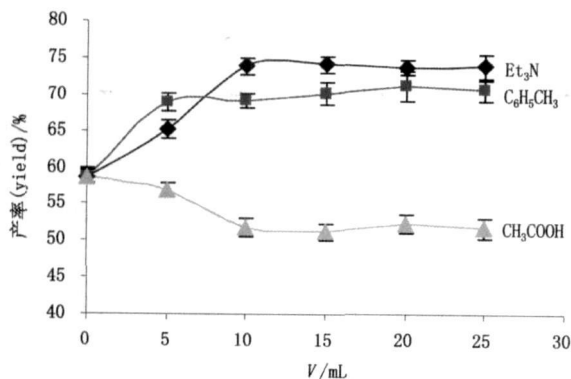


图 5 溶剂种类对产率的影响

Fig 5 The effects of solvents on yield

3.3.3 脱水闭环反应的反应温度以及时间对产率的影响 如图 6 所示,本研究在不同的温度范围及反应时间进行对比实验(溶剂及催化剂均为 E_tN 、

其他条件相同)。由图可知最佳的反应温度为 125 ~ 150 $^{\circ}C$,反应时间 4~5 h 为宜。

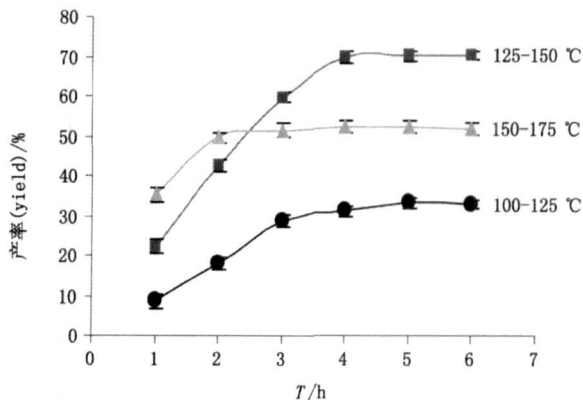


图 6 反应温度及反应时间对产率的影响

Fig 6 The effects of reaction temperature or time on yield

3.3.4 催化剂 E_tN 用量对产率的影响 为了能考察催化剂的量对产率的影响,采用甲苯作为媒介溶剂,以不同量的催化剂在 125~150 $^{\circ}C$ 下反应 5 h,由图 7 可知,催化剂最佳的用量为:1 mmol 的斑蝥素需 72 mL 的 E_tN 作为催化剂。

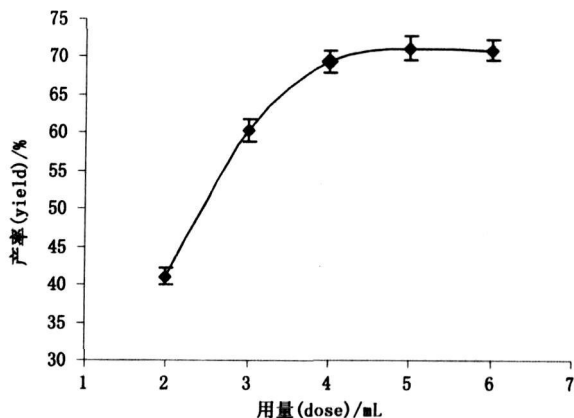


图 7 催化剂 Et_3N 用量对产率的影响

Fig 7 The effect of Et_3N 's dose on yield

3.4 斑蝥素与 N-羧乙基斑蝥酰亚胺胃毒毒力比较 表 2、表 3 为 2 组小鼠的药胃毒性试验结果。按改良寇氏法计算得出:提取的斑蝥素的致死中量 $LD_{50} = 4.190 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (置信区间 $3.680 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \leq LD_{50} \leq 4.472 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $\alpha = 0.05$); N-羧乙基斑蝥酰亚胺的致死中量 $LD_{50} = 1677.416 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (置信区间 $1554.098 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \leq LD_{50} \leq 1810.519 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $\alpha = 0.05$)。由此可见,斑蝥素与 β -丙氨酸缩合后形成的 N-羧乙基斑蝥酰亚胺对哺乳动物小鼠的胃毒明显降低,毒性仅为斑蝥素的 1/400。

表 2 斑蝥素对小鼠的 LD₅₀测定结果

Tab 2 The results for measuring LD₅₀ of cantharidin administered orally in Kunming mice

A组 (group A)	剂量 (dose) /mg·kg ⁻¹	小鼠只数 (mice)	死亡小鼠数 (mice died)	死亡率 (mortality) %	lg d
A 1	3.425	6	2	33.333	0.535
A 2	4.110	6	3	50.660	0.614
A 3	4.863	6	4	66.667	0.687
A 4	5.822	6	4	66.667	0.765
A 5	6.986	6	5	83.333	0.844

表 3 N-羧乙基斑蝥酰亚胺对小鼠的 LD₅₀测定结果

Tab 3 The results for measuring LD₅₀ of N-carboxyethylcantharidide administered orally in Kunming mice

B组 (group B)	剂量 (dose) /mg·kg ⁻¹	小鼠只数 (mice)	死亡小鼠数 (mice died)	死亡率 (mortality) %	lg d
B 1	1352.740	6	1	16.667	3.131
B 2	1521.920	6	2	33.333	3.182
B 3	1721.330	6	4	66.667	3.236
B 4	1925.680	6	4	66.667	3.285
B 5	2165.790	6	5	83.333	3.336

4 讨论

斑蝥素及其相关衍生物是一类抗癌药物,能有效治疗多种癌症^[14-16],也能用于治疗疼痛综合症^[17]。但由于斑蝥野生资源的限制,以及天然斑蝥素的高毒性^[18],使得斑蝥素的利用开发受到很大影响。

本研究的意义在于直接引入了β-丙氨酸对斑蝥素进行结构修饰,得到了含有自由羧基的斑蝥素衍生物,以期能借此自由羧基对斑蝥素进行靶向定位或与其他抗癌药物链接成新的抗癌药物,而且也可以借此来制备具有免疫活性的完全抗原及斑蝥素特异性抗体,并构建斑蝥素酶联免疫检测体系,从而为斑蝥素生物合成及代谢途径的深入研究提供有效工具。

斑蝥素的提取研究中,多采用酸法提取^[8-10],本研究在此基础上,依据斑蝥素与斑蝥虫粉内水溶性及脂溶性杂质的溶解性不同,在浸提过程中2次采用两相混合液,从源头上大大降低了杂质的含量。

斑蝥素化学结构上的活性基团并不多,依据有关各种斑蝥素衍生物对磷酸酶PP2A活性抑制差异的研究^[19,20]可知,斑蝥素结构中维持其抗癌生物活

性的是氧桥基团,对斑蝥素酸酐部分的结构修饰并不明显影响其生物活性。因此本研究选取酸酐部分作为结构修饰位点。

有机合成反应是一个动态平衡体系,本研究从反应温度、反应时间、媒介体系及催化剂用量上进行了分析,可以看出斑蝥素与β-丙氨酸的合成反应条件并不苛刻,适合化工上的应用。反应产物N-羧乙基斑蝥酰亚胺虽然只经过重结晶纯化,但硅胶板薄层层析结果表明已达到较高纯度,且该产物的核磁共振图谱中杂峰非常弱,无干扰现象,也表明产物重结晶纯化后达到了较高的纯度,符合核磁共振技术对物质的纯度要求^[21]。

斑蝥素的胃毒毒力测定实验中,斑蝥素的LD₅₀为4.190 mg·kg⁻¹,与文献报道的1.86 mg·kg⁻¹^[22]不一致,其主要原因是由于给药方式不一致,文献是用腹腔注射方式。在同等对比处理下,本实验结论N-羧乙基斑蝥酰亚胺的胃毒毒性比斑蝥素低得多是可信的。但是,毒性降低的机制是因其其在胃里的吸收变差还是由于其自身毒力的改变?这有待于对其药物动力学做进一步研究,且羧乙基斑蝥酰亚胺是否具有抗癌活性也有待进一步研究。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol I (一部): 253
- 2 CA. 2000 132, 108123a
- 3 Prestwich CD, Blomquist GJ. Pheromone Biochemistry. New York: Academic Press INC, 1987. 307
- 4 GAO Yang(高阳), YU Zhi-guo(于治国), BIKai-shun(毕开顺). Fingerprint chromatogram analysis of Mylabris(斑蝥素药材指纹图谱分析方法研究). *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 4
- 5 Nikbakhtzadeh MR, Trigari S. Cantharidin component of Italian blister beetles (Col. Meloidae) and their differences between Italian and exotic species. *J Public Health*, 2002, 31(3-4): 113
- 6 REN Ren-an(任仁安). Identification of Traditional Chinese Medicine(中药鉴定学). Shanghai(上海): Shanghai Science and Technology Publishers(上海科学技术出版社), 1986. 572
- 7 CHENG Cun-liang(程存良), ZHANG Jian-ping(张建平), SUN Cheng-kao(孙成考), et al. Compare the content of cantharidin in cantharis and their's processed products by TLC(薄层扫描法比较斑蝥及其炮制品中斑蝥素的含量). *Shandong J Tradit Chin Med* (山东中医杂志), 2000, 19(2): 109
- 8 JIAN Yuan(蹇源), LUO Shun-zhong(罗顺忠), LIU Zhong-lin(刘中林), et al. Synthesis, labeled and biodistribution study of norcantharidin derivatives(斑蝥素衍生物的合成, 标记及生物分布研究). *J Nucl Radiochem* (核化学与放射化学), 2003, 25(4): 228
- 9 McCluskey A, Walker C, Bowyer M, C, et al. Cantharimides: A new

- class of modified cantharidin analogues inhibiting protein phosphatases 1 and 2A. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11(22): 2941
- 10 Stanton HLK, Chung HC, Wing SL, *et al*. Induction of apoptosis on carcinoma cells by two synthetic cantharidin analogues. *Int J Mol Med*, 2006, 17: 151
 - 11 LAN Yun-jun(兰云军), LI Lin-sheng(李临生), YANG Jin-zong(杨锦宗). Study on acylation of maleic anhydride with ethanecm ine(马来酸酐与乙醇胺的酰化反应研究). *Chin Leath(中国皮革)*, 1999, 28(15): 7
 - 12 XU Shu-yun(徐叔云), BIAN Ru-lian(卞如濂), CHEN Xiu(陈修). *Pharmacological Experimental Methods(药理实验方法)*. 2nd Ed(第二版). Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 1991: 731
 - 13 Steyn JM, Hundt HKL. Gas chromatographic-mass spectrometric method for the quantitation of cantharidin in human serum. *J Chromatogr B*, 1988, 432: 177
 - 14 ZHANG Han-zao(张含藻). *Breeding and Processing of Medical Animal(药用动物养殖及加工)*. Beijing(北京): Jindun Publishing House(金盾出版社), 2002: 176
 - 15 GUO Chang-cao(郭常巢), LIU Jie(刘杰), WANG Ying-zhao(王英照). The anti-cancer effects and clinical application of cantharidin(斑蝥的抗癌作用及临床应用). *Dandong Med(丹东医药)*, 2002, 4: 45
 - 16 JIA Min-nu(贾敏如). The natural medicines which can prevent and treat the malignancy(防治恶性肿瘤的天然药物). *J Chengdu Univ Tradit Chin Med(成都中医药大学学报)*, 2002, 25: 25
 - 17 R ampp T, Michalen A. Can pleurary treatment of pneumonia with pleural effusion. *J Forsch Kam Plantam ed*, 2006, 13: 116
 - 18 Tagw ireyi D, Ball DE, Loga PJ *et al*. Cantharidin poisoning due to "Blister beetle" ingestion. *J Toxicol*, 2000, 38: 1865
 - 19 Adam MC, Cherie T, Ronald JQ. Inhibition of protein phosphatase 2A by cantharidin analogues. *Bioorg Med Chem Lett*, 1996, 6(9): 1025
 - 20 McCuskey A, Keane MA, Mudgee IM, *et al*. Anhydride modified cantharidin analogues: Is ring opening important in the inhibition of protein phosphatase 2A. *Eur J Med Chem*, 2000, 35(10): 957
 - 21 CHANG Jian-hua(常建华), DONG Qi-gong(董绮功). *Principle and Analysis of Spectrum(波谱原理及解析)*. 2nd Ed(第二版). Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 2005: 6
 - 22 ZOU Jian-jun(邹建军), ZHANG Sheng-qiang(张胜强), FENG Rui-xiang(冯瑞祥). The toxicity and pharmacokinetics of cantharidin(斑蝥素毒性及其药(毒)动力学研究). *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)*, 2002, 33(5): 393

(本文于 2007 年 12 月 3 日收到)

欧洲药品质量管理局局长访问中检所

受中国药品生物制品检定所所长李云龙的委托, 2008 年 12 月 4 日下午中国药品生物制品检定所常务副所长金少鸿和副所长王军志会见了欧洲药品质量管理局局长 Susanne Keitel 女士。

常务副所长金少鸿向外宾简要介绍了中检所的职能和组织机构等整体情况。Susanne Keitel 局长对我所的热情接待表示感谢。双方就今后可能开展的合作领域进行了交流。

Susanne Keitel 局长还参观了我所的实验室和中药标本馆。

(中国药品生物制品检定所药检处、外事处供稿)