

南方红豆杉中 10-脱乙酰巴卡亭 III(10-DAB)的测定

★ 张美珍 应群芳 (浙江衢化医院 衢州 324004)

摘要:目的:测定南方红豆杉枝叶中 10-脱乙酰巴卡亭 III(10-deacetylbaicatin III, 10-DAB III)的含量。方法:采用 RP-HPLC 法。 C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 乙腈-水系统(乙腈:水=30:70)为流动相,检测波长 232 nm,流速 1.0 ml/min。结果:10-DAB III 在进样 0.3~6 μ g 之间有良好的线性关系($R=0.999\ 9$),平均回收率=97.3%, $RSD=2.14\%$ ($n=6$)。结论:该方法简单、精确、快速、重复性好,可以满足其原料和制剂的质量控制要求。

关键词:南方红豆杉;10-脱乙酰巴卡亭(10-DAB);高效液相色谱

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**B

紫杉醇是南方红豆杉所含紫杉烷类衍生物中活性最为确切的一种成分,但其主要存在于树皮中,且含量非常少。与之并存的其他成分也具有一定的抗癌活性,并且可以通过结构修饰合成紫杉醇或其类似物,因此对红豆杉资源中紫杉烷类评价分析具有重要意义。其中,10-脱乙酰巴卡亭 III(10-deacetylbaicatin III, 10-DAB III)^[1]即为有抑制肿瘤作用的紫杉烷类化合物,它同时是合成多西紫杉醇的主要原料。本文就采用 HPLC 法对南方红豆杉枝叶中 10-DAB III 的含量进行测定,用于南方红豆杉药材质量的控制,并为新药研究开发提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 美国 SII-MODEL500 型紫外检测器、美国 SSI-III 型高效液相泵、JS-3050 型色谱工作站、kromasil C18 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m)、旋转蒸发仪(上海申生)、KQ5200 超声波清洗器(160 W, 40 kHz)。

1.2 对照品来源及纯度 10-DAB III 对照品(sigma 公司提供,批号:054K1372)。采用面积归一化法对其纯度进行测定,进样量为 6 μ g,结果纯度为 99.47% 甲醇(分析纯),色谱纯乙腈(TEDIA)。

2 方法及结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 kromasil C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m),采用乙腈-水系统为流动相(乙腈:水=30:70),检测波长为 232 nm,流速为 1 ml/min,柱温为 32 $^{\circ}$ C,进样量为 10 μ l。在该色谱条件下,能达到较好的分离,分离度>1.5,理论塔板数不得低于 2000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取 10-DAB III 对照

品约 30.0 mg 于 50 ml 量瓶中以甲醇溶解并定容,即得对照品储备液(0.6 mg/ml)。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取样品粉末约 1 g 于 250 ml 三角瓶中,加入甲醇超声提取 20 分钟,三次,滤过,残渣以甲醇冲洗 3 次,合并滤液,40 $^{\circ}$ C 减压浓缩,加入三氯甲烷:水(2:1)50 ml 萃取,水层再以三氯甲烷萃取两次,合并滤液于 40 $^{\circ}$ C 水浴挥干溶剂,用 10 ml 甲醇定容,用 0.45 μ m 滤膜滤过,即得。

2.4 标准曲线与线性范围 精密吸取 0.6 mg/ml 的 10-DAB III 母液,用甲醇稀释成 0.03、0.06、0.15、0.3、0.4、0.6 mg/ml 的溶液,分别进样 10 μ l,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得一直线,回归方程为: $Y=2E+0.6X+30806$, $R=0.999\ 9$ 。表明 10-DAB III 在进样 0.3~6 μ g 之间有良好的线性关系。

2.5 稳定性试验 0.6 mg/ml 的 10-DAB III 标准品母液配制好后,分别于 0、3、7、12、24、48 小时后吸取 10 μ l 注入色谱仪记录峰面积,结果表明,标准品溶液在 48 小时内稳定。

2.6 精密度试验 取 0.6 mg/ml 的 10-DAB III 对照品溶液,连续进样 6 次,测定峰面积,结果 $RSD=0.46\%$ ($n=6$),仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一批样品 6 份,按正文含量测定方法操作, $RSD=1.63\%$,说明方法的重复性较好。

2.8 回收率试验 准确移取 0.6 mg/ml 的 10-DAB III 标准溶液 1.5 ml,加入已知含量的样品中,按正文测定方法测定,计算回收率,平均回收率=97.3%, $RSD=2.14\%$ ($n=6$)。

前列安颗粒的质量标准研究

★ 应海燕¹ 沈国兴² (1. 浙江省杭州市上城区中西医结合医院 杭州 310008; 2. 浙江省青春医院 杭州 310016)

摘要:目的:建立前列安颗粒的质量控制标准。方法:采用薄层色谱法对前列安颗粒中的主要成分白芍、黄柏进行定性鉴别,并运用高效液相色谱法测定芍药苷的含量。结果:薄层鉴别方法专属性强。芍药苷在 0.1~3.2 μg 范围内与色谱峰面积呈良好的线性关系,回归方程 $y = 10\,247x - 7\,312.1$ ($r = 0.999\,5$),平均加样回收率为 99.72%, RSD 2.01%。结论:该法操作简便、准确、稳定性好,为制剂的质量控制提供了可靠的方法。

关键词:前列安颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**B

前列安颗粒是由白芍、黄柏、地黄、当归等药组成的纯中药制剂。具有滋阴补肾、清热化湿、理气化瘀之功效,用于治疗湿热下注,气滞血瘀引起的慢性前列腺炎(包括细菌性和非细菌性)。本制剂系本院郑佑君主任中医师的经验方,沿用至今,临床观察药效肯定,未见不良反应反馈。为有效地控制制剂的质量,本实验制定了其质量标准,对方中白芍、黄柏进行了薄层色谱鉴别,采用高效液相色谱法测定其主要成分之一芍药苷的含量^[1-3],并对其含量测定方法进行了研究。

2.9 样品测定与含量限度的制定 按正文方法对 6 批样品进行含量测定,结果如下表:

批次	1	2	3	4	5	6
含量	0.023%	0.044%	0.0745%	0.057%	0.081%	0.063%

3 讨论

3.1 检测波长的选择 10-DAB III 对照品甲醇溶液在 200~400 nm 波长中进行全波段扫描,最大吸收波长为 232 nm,故选 232 nm 为本品的检测波长。

3.2 流动相的选择 对比了乙腈-水 = 35:65 洗脱系统,分离尚好,10-DAB III 出峰时间为 7.8 分钟左右,样品峰出现重叠;调整流动相为乙腈-水 = 30:70,出峰时间 12.5 分钟左右,分离度达到要求,且稳定。因此选用乙腈-水 = 30:70 作为流动相。

3.3 药材提取方法的考察 10-DAB III 受热不稳定,不考虑热提取法,超声提取效率较高,故采用超声提取。曾对比了 1 g 药材以相同量(250 ml)的甲醇和甲醇-氯仿(1:1)混合液为溶剂超声提取 1 小

1 仪器与试剂

日本岛津高效液相色谱仪:LC-10ADVP 系列,LC-10ADVP 高压泵,CTO-10AVP 柱温箱,SPD-10AVP 紫外检测器;USC-202 超声波清洗器(上海波龙电子设备有限公司);AG135 电子天平(瑞士,梅特勒-托利多仪器有限公司);Simplicity 超纯水仪(美国 Millipore corporation)。

芍药苷标准品、盐酸小檗碱对照品、黄柏对照药材(批号依次为 110736-200321,0713-200107,120937-200506,均购自中国药品生物制品检定所);前列安颗粒由我院制剂室生产,

时,结果以甲醇提取效果较好。又考察了甲醇超声提取 30 分钟和 1 小时的 10-DAB III 的含量,结果以超声提取 1 小时效果较好。

3.4 供试品纯化方法的考察 对比了醋酸乙酯和氯仿萃取的纯化去杂效果,结果以氯仿萃取为好,减少了大极性杂质,使样品检测峰稳定。又对氯仿的萃取次数进行了考察,对 3 次、4 次、5 次进行了比较,结果萃取 4 次与 5 次含量基本一致,故定为萃取 4 次。

3.5 对检测波长、流动相系统、提取方法进行考察

建立了 HPLC 测定南方红豆杉枝叶提取物中 10-DAB III 含量的方法。实验结果表明,该方法简便、灵敏度高、专属性强。可用于红豆杉提取物中紫杉烷萜类 10-DAB III 的质量控制。

参考文献

[1] 马淑祯,吴绵斌.南方红豆杉枝叶中 10-脱乙酰巴卡亭 III 的分离与纯化[J].中国新药杂志,2006,15(13):1 084-1 086.

(收稿日期:2008-12-11 责任编辑:曹征)