

图2 体外兔血浆中 HX0969w 和丙泊酚的药-时曲线(A)和血浆中 HX0969w 的释放曲线(B)

Fig 2 In vitro concentration - time curves of HX0969w and Propofol in rabbit plasma (A) ,in vitro release curve of HX0969w in rabbit plasma (B)

2 讨论

HX0969w 是丙泊酚的水溶性前药,具有较强的碱性,紫外吸收较弱,在普通的甲醇-水体系中难以与溶剂峰达到基线分离,峰形较差,且无法与丙泊酚同时出峰。四丁基氢氧化铵为常用的离子对试剂,可很好地改善水溶性前药的保留时间和峰形。流动相中同时使用了少量三乙胺和磷酸来改善峰形和调节流动相的 pH,实现了在同样条件下分离前药和丙泊酚,效果较好。HX0969w 和丙泊酚分别为水溶性和脂溶性化合物,难以找到合适的萃取剂同时萃取这两种物质,因此,文中采用甲醇作为蛋白沉淀剂直接沉淀血浆样品。实验得到两种药物稀释后绝对回收率为 64% ~ 78% ,相对于其他化合物经萃取法处

理得到的回收率偏低,主要是由于加入沉淀剂使药物的浓度被稀释,上清液中药物的绝对浓度降低所致。减少甲醇用量,可在一定程度上提高药物的回收率,但沉淀效果变差;加大甲醇用量,可使沉淀的效果更好,但药物回收率小于 50% ,不符合分析测定的一般原则。经考察,两倍体积的甲醇可较好地同时满足沉淀效果和回收率的要求,且操作简单,缩短了样品处理的时间和成本。文中方法适用于药动学初期的较高血药浓度的分析与测定,同时适用于前药原料药与制剂含量和稳定性的测定。

参考文献:

- [1] Scott RP,Saunders DA,Norman J. Propofol: clinical strategies for preventing the pain of injection [J]. Anaesthesia,1988,43(6) : 492 - 494.
- [2] Tan CH,Onsiong MK. Pain on injection of Propofol [J]. Anaesthesia,1998,53(5) : 468 - 476.
- [3] Baker MT,Naguib M. Propofol: the challenges of formulation [J]. Anesthesiology,2005,103(4) : 860 - 876.
- [4] Wolf A,Weir P,Segar P,et al. Impaired fatty acid oxidation in Propofol infusion syndrome [J]. Lancet,2001,357(9256) : 606 - 607.
- [5] Parke TJ,Stevens JE,Rice AS,et al. Metabolic acidosis and fatal myocardial failure after Propofol infusion in children: five case reports [J]. British Med J,1992,305(6854) : 613 - 616.

收稿日期:2010 - 11 - 22

HPLC 测定伏康树籽中的柳叶水甘草碱

白珂珂¹,苏艳红¹,陈晓春¹,姚 晨²,蔡元丽¹,李 晖^{1*}

(1. 四川大学化学工程学院,四川 成都 610065;2. 成都合盛生物技术有限公司,四川 成都 610065)

摘要: 目的 采用 HPLC 测定伏康树籽中柳叶水甘草碱的含量。方法 色谱柱为 Agilent Extend - C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);柱温 30 ℃;流动相为甲醇 - 0.1 mol·L⁻¹ 醋酸铵(pH6) (70 : 30);检测波长 290 nm;流速 1.0 mL·min⁻¹;进样量 20 μL。结果 柳叶水甘草碱的进样量 0.1708 ~ 5.4656 μg 与峰面积具有良好的线性关系,回归方程为: $Y = 7.2697 \times 10^3 X - 9.1125$ ($r = 0.9995$)。伏康树籽中柳叶水甘草碱的含量为 2.65%。结论 所用方法操作简便、快捷、结果准确。

关键词: 高效液相色谱法;柳叶水甘草碱;伏康树籽;含量

中图分类号:R917

文献标志码:A

文章编号:1006 - 0103(2011)05 - 0492 - 02

Determination of tabersonine in the seeds of *Voacanga africana* by HPLC

BAI Ke - ke¹,SU Yan - hong¹,CHEN Xiao - chun¹,YAO Chen²,CAI Yuan - li¹,LI Hui^{1*}

(1. School of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610065 P. R. China;2. Chengdu Hosea Bio - tech Co., Ltd. Chengdu, Sichuan, 610065 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To measure tabersonine in the seeds of *Voacanga africana* Stapf. by an RP - HPLC method. **METHODS**

作者简介:白珂珂(1986 -),女,河南许昌,正攻读应用化学专业的硕士学位。Email: baikk86@163.com

* 通信作者(Correspondent author),Email: lihuilab@sina.com

Agilent Extend - C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was adopted. The mobile phase consisted of methanol and 0.1 mol·L⁻¹ ammonium acetate (70 : 30) with flow rate of 1 mL·min⁻¹, and the detector wavelength was 290 nm. **RESULTS** The standard curve was linear in the range from 0.1708 to 5.4656 μg for tabersonine ($r = 0.9995$). The content of the sample was 2.65%. **CONCLUSION** The method is simple, fast and accurate.

Key words: HPLC; Tabersonine; *Voacanga africana* Stapf.; Content

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103(2011) 05 - 0492 - 02

伏康树又名非洲马铃薯 *Voacanga africana* Stapf., 是一种产自非洲的夹竹桃科植物, 其种子提取物的主要成分为柳叶水甘草碱^[1]。柳叶水甘草碱为吲哚型生物碱, 具有较高的药用价值^[2-3], 是长春胺生物碱的合成前体化合物。文献^[4]用 TSP - MS 法测定了长春花中的柳叶水甘草碱, 文献^[5]采用 HPLC 法同时测定了长春花中的多种生物碱, 取得了较好的结果。现采用 HPLC 法测定了伏康树籽中柳叶水甘草碱的含量, 获得了满意的结果。

1 实验部分

1.1 仪器与试药

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent)。伏康树籽购于非洲加纳, 经成都中医药大学严铸云博士鉴定为伏康树籽 *Voacanga africana* Stapf.; 柳叶水甘草碱对照品(上海同田生物技术有限公司); 甲醇为色谱纯; 其他试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Extend - C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 °C; 流动相为甲醇 - 0.1 mol·L⁻¹ 醋酸铵 (pH6) (70 : 30); 检测波长 290 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL。

1.2.2 溶液的制备 精密称取 10.98 mg 柳叶水甘草碱对照品, 加甲醇溶解并定容至 50 mL, 得到 0.2196 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。将伏康树籽粉碎, 过 40 目筛, 取 1 g 干燥粉末, 精密称定, 置 250 mL 圆底烧瓶中, 加入 70% 的甲醇 - 盐酸溶液 (pH2), 称重, 加热回流提取 6 h, 冷却后补足重量, 提取 3 次, 料液比为 1 : 10。合并滤液, 用 70% 的甲醇 - 盐酸溶液 (pH2) 定容至 50 mL, 即得供试品溶液。

1.2.3 线性范围与回归方程 精密称取对照品适量, 用甲醇溶解并定容到 10 mL, 作为贮备液, 置 4 °C 冰箱中保存。依次精密量取 0.1、0.5、0.8、1.6、3.2 mL 贮备液以甲醇定容至 10 mL, 分别配制成 8.50、42.70、68.30、136.600、273.30 μg·mL⁻¹ 的对照溶液, 进样。以峰面积为纵坐标、浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为: $Y = 7.2697 \times 10^3 X - 9.1125$ ($r = 0.9995$)。柳叶水甘草碱进样量 0.1708 ~ 5.4656 μg 和峰面积的线性关系良好。

1.2.4 精密度试验 吸取 0.0427 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液, 重复进样 5 次, 计算峰面积积分值的 $RSD = 1.84\%$, 表明方法进样精密度良好。

1.2.5 稳定性试验 将同一对照品溶液放置一段时间后进样, 分别隔 5、20、40 d 进样一次, 共测 3 次, 密封对照品溶液, 于 4 °C 以下保存 40 d, 含量变化的相对偏差在 1.11% 以内, 表明稳定性相对较好。

1.2.6 回收率试验 精密称取 0.10 g 已知含量的伏康树籽, 准确计算柳叶水甘草碱的含量, 分别加入柳叶水甘草碱对照品溶液适量, 配成低、中、高浓度的溶液。按“1.2.2”项制备供试品溶液。按“1.2.1”项条件进样 20 μL。计算样品的平均回收率为 98.28%, $RSD = 0.79\%$ 。

1.2.7 样品的测定 取制备好的供试品溶液, 按“1.2.1”项色谱条件分析, 计算供试品中柳叶水甘草碱的含量为 2.65%。色谱图见图 1。

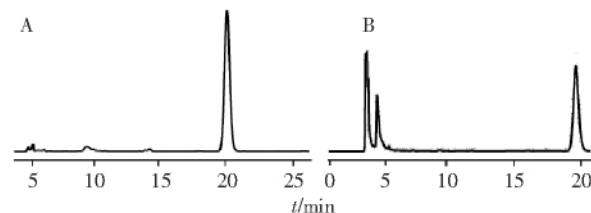


图1 对照品(A)和供试品(B)溶液的色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of control solution (A) and sample solution (B)

2 讨论

曾以 60%、70%、75% 甲醇作流动相试验, 结果以 70% 甲醇分离效果最优。文中测定伏康树籽中柳叶水甘草碱含量的方法精密度、稳定性较好, 回收率效果良好, 结果满意。

参考文献:

- [1] Kikura - Hanajiri R, Maruyama T, Miyashita A, et al. Chemical and DNA analyses for the products of a psychoactive plant [J]. *Voacanga Africana Yakugaku Zasshi*, 2009, 129(8): 975.
- [2] Gangoué - Piéboji J, Pegnyemb DE, Niyitegeka D, et al. The *in vitro* antimicrobial activities of some medicinal plants from Cameroon [J]. *Anna Trop Med Parasitol*, 2006, 100(3): 237 - 303.
- [3] Paul V Tan. Anti - ulcer actions of the bark methanol extract of *Voacanga africana* in different experimental ulcer models in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2000, 73: 423 - 428.
- [4] Auriola S, Ranta VP, Naaranlahti T, et al. Thermospray liquid - chromatographic mass - spectrometric analysis of catharanthus alkaloids [J]. *J Chromatogr*, 1989, 474: 181 - 185.
- [5] Tikhomiroff C, Jolicoeur M. Screening of catharanthus roseus secondary metabolites by HPLC [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 955(1): 87 - 93.

收稿日期: 2010 - 11 - 15