

半合成紫杉醇的质量控制

孙浩岩, 王继良*, 黄兴富, 郭亚东, 邹澄

(昆明医学院药学院, 昆明 650500)

摘要 目的: 建立 HPLC 法同时测定半合成紫杉醇中的 10- 去乙酰巴卡亭 III、巴卡亭 III、7- 三氯乙氧羰酰巴卡亭 III、13- *O*- [(4*S*, 5*R*)-2-(4- 甲氧基苯基)-*N*- 苯甲酰基-4- 苯基- 噁唑烷基]-7- 三氯乙氧羰酰巴卡亭 III 和紫杉醇的含量。方法: 用 Angilent ODS C₁₈ 分析柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 甲醇-乙腈-0.1% 乙酸水溶液线性梯度洗脱: 0~8.5 min (24:31:45), 8.5~38.5 min (57:43:0), 38.5~60 min (24:31:45); 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长 227 nm。结果: 该测定方法回收率高, 成分的分离度好。结论: 该法简便快速, 重现性好, 适用于半合成紫杉醇的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 半合成紫杉醇; 质量控制

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)02-0383-04

The quality control of semisynthetic paclitaxel

SUN Hao-yan, WANG Ji-liang*, HUANG Xing-fu, GUO Ya-dong, ZOU Cheng

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kunming Medical College, Kunming 650500, China)

Abstract Objective To establish an HPLC method for determination of 10- deacetyl baccatin III, baccatin III, 7- trichloroacetyl- baccatin III, 13- *O*- [(4*S*, 5*R*)-2-(4- methoxyphenyl)-*N*- benzoyl-4- phenyl- oxazolily]-7- trichloroacetyl- baccatin III, paclitaxel from semisynthetic paclitaxel. **Method** Angilent ODS C₁₈ 4.6 mm × 150 mm, 5 μm column was used. The mobile phase of methanol- acetonitrile- 0.1% acetic acid water solution 0-8.5 min (24:31:45), 8.5-38.5 min (57:43:0), 38.5-60 min (24:31:45) was pumped at a flow rate of 0.8 mL·min⁻¹ and detection wavelength of 227 nm. **Result** Recovery and separation of the method was very well. **Conclusion** This method is simple, quick, reproducible and is suitable for the quality control of semisynthetic paclitaxel.

Key words HPLC; semisynthetic paclitaxel; the quality control

紫杉醇 (paclitaxel, 商品名 Taxol) 是具有抗癌活性的二萜类化合物^[1]。目前, 药用紫杉醇的主要来源是从天然红豆杉属植物的树皮中提取分离, 但由于该种属植物数量少, 生长慢, 含量低, 无法满足日益增长的临床需求。近年来, 紫杉醇的化学全合成取得可喜的进展^[2,3], 因此紫杉醇化学半合成具有实用价值。本文以 10- 去乙酰基巴卡亭 III (10- DAB) 为前体的化学半合成紫杉醇 (见图 1) 为研究对象, 参照文献^[4-6] 建立以高效液相色谱法测定半合成紫杉醇中的 10- DAB、巴卡亭 III (a)、7- 三氯乙氧羰酰巴卡亭 III (b)、(4*S*, 5*R*)-13-(2-(4- 甲氧基苯基)-*N*- 苯甲酰基-4- 苯基- 噁唑烷基)-7- 三氯乙氧羰酰巴卡亭 III (c) 及半合成紫杉

醇 (d)、前体、中间产物、最终产物 5 个成分的含量, 为化学半合成紫杉醇的质量控制提供了有效方法。

1 仪器与材料

岛津 SIL-20A 高效液相色谱仪。

半合成紫杉醇试样 (图 1 合成路线的 3 个批次 20090515、20090612、20090724); 对照品 a、b、c、d 参照文献方法^[7-10] 自制, 10- DAB (99%, 昆明多希生物技术有限公司, 批号 20080917); 甲醇、乙腈 (美国 Tedia 色谱纯); 去离子水 (0.45 μm 膜过滤); 醋酸 (国产, 分析纯)。

2 溶液配制及色谱条件

2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取 10- DAB、

* 通讯作者, Tel: (0871)5922780, E-mail: wangjiliangkm@yahoo.com.cn

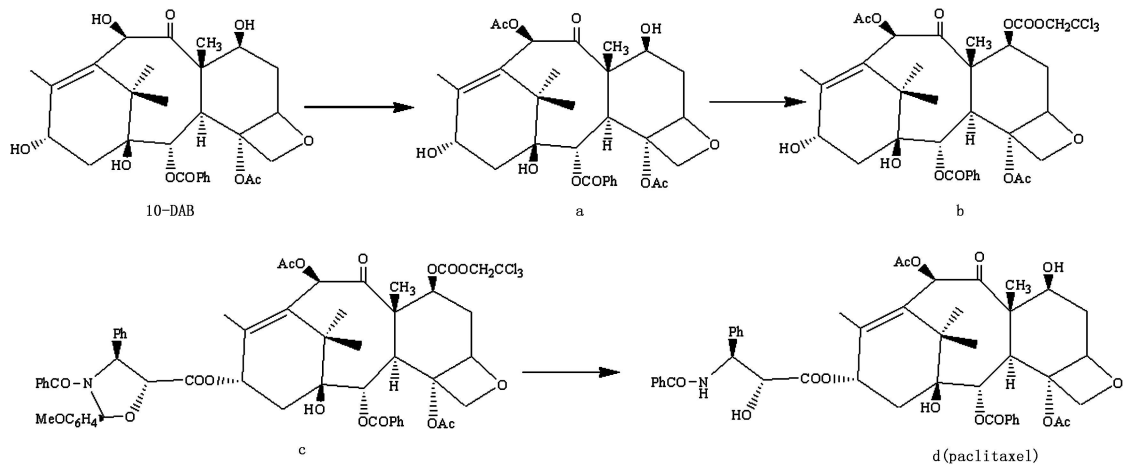


图 1 紫杉醇的半合成路线

Fig 1 Semi-synthetic route of paclitaxel

a b c d 配成浓度分别为 0.18 0.19 0.25 0.22 0.17 mg · mL⁻¹ 的溶液。

2.2 供试品溶液的制备 分别精密称取 4.57 mg 的 20090515a、2.57 mg 的 20090515b、3.64 mg 的 20090515c 置于 10 mL 的量瓶中、0.97 mg 的 20090515 d 置于 5 mL 的量瓶中,用乙腈定容。20090612、20090724 批试样操作方法相同。

2.3 色谱条件 ODS C₁₈ 分析柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 甲醇-乙腈-0.1% 乙酸水溶液线性梯度洗脱: 0~8.5 min (24:31:45), 8.5~38.5 min (57:43:0), 38.5~60 min (24:31:45); 流速 0.8 mL · min⁻¹; 检测波长 227 nm。对照品及样品色谱图见图 2。

3 方法与结果

3.1 线性关系考察 精密吸取对照品溶液, 10-DAB a 均为 4、6、8、10、12 μL; b 为 5、10、15、20、25 μL; c 为 10、20、30、40、50 μL; d 为 2、5、10、20、30 μL。按“2.2”项下的色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标, 对照品进样量为横坐标, 绘制标准曲线。10-DAB a b c d 回归方程 (n = 5) 分别为:

$$Y = 1.7 \times 10^6 X - 1.2 \times 10^4 \quad r = 0.9999$$

$$Y = 1.8 \times 10^5 X - 1.9 \times 10^5 \quad r = 0.9999$$

$$Y = 1.6 \times 10^6 X + 5.4 \times 10^{-4} \quad r = 0.9999$$

$$Y = 2.0 \times 10^4 X - 4.4 \times 10^4 \quad r = 0.9999$$

$$Y = 2.8 \times 10^4 X - 1.4 \times 10^4 \quad r = 0.9998$$

10-DAB a b c d 的线性范围分别为 0.74~2.20 μg、0.74~2.23 μg、1.26~6.43 μg、2.15~10.75 μg、0.34~5.03 μg。

3.2 精密度试验 按“2.3”项下色谱条件分别对

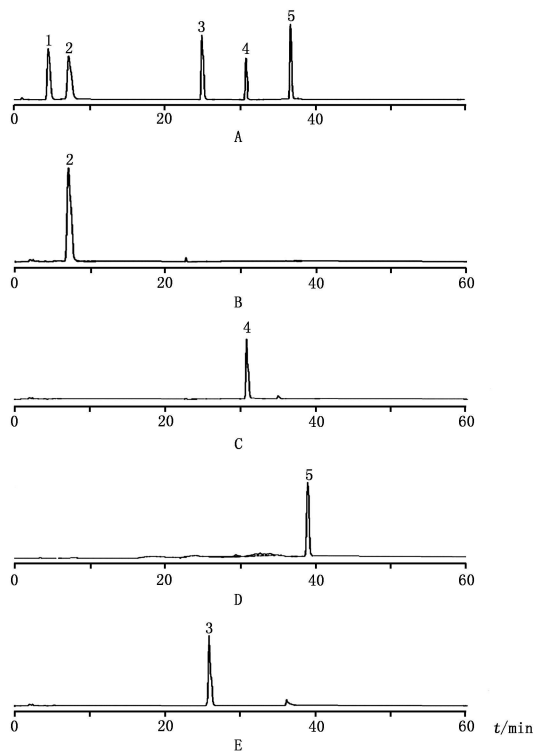


图 2 对照品 (A)、样品 20090515a (B)、20090515b (C)、20090515c (D) 及 20090515 d (E) 色谱图

Fig 2 HPLC chromatogram of reference substance (A), sample 20090515a (B), 20090515b (C), 20090515c (D) and 20090515 d (E)

10-DAB a b c d 的对照品储备液进行测定, 其 RSD (n = 5) 分别为 0.17%, 1.73%, 0.37%, 0.74%, 1.19%, 均符合含量测定要求。

3.3 重复性试验 取 20090515 批样品 20090515a、20090515b、20090515c、20090515 d 均 5 mg 各 6 份精密称定, 置 25 mL 的量瓶, 乙腈定溶。按“2.3”项下色谱条件进行测定, 计算平均含量与 RSD 分别为

91.7% (0.98%), 88.3% (1.10%), 91.8% (0.56%), 70.9% (0.97%)。

3.4 稳定性考察 精密吸取 10- DAB a, b, c, d 的对照品储备液均为 20 μL, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时测定, 峰面积 RSD 分别为 0.56%, 0.73%, 1.34%, 0.98%, 1.09%。表明对照品溶液在 24 h

内稳定。

3.5 回收率试验 精密称取已知含量样品 20090515a~ d, 20090612 a~ d, 200907240 a~ d 分别加入各对照品 a, b, c, d 溶液适量。按“2.2”项下方法制备溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行测定, 结果见表 1。

表 1 回收率实验结果 (n = 5)
Tab 1 Results of recovery test

样品批号 (sample Lot No)	组分 (component)	原含量 (content) /mg	加入量 (added) /mg	测得量 (found) /mg	平均回收率 (average recovery) %	RSD %
20090515a	a	4.56	5.02	9.54	99.2	0.22
20090612a	a	4.61	5.02	9.56	98.7	0.65
20090724a	a	4.52	5.10	9.56	99.2	1.1
20090515b	b	4.49	5.09	9.34	98.5	0.64
20090612b	b	4.41	5.12	9.43	98.8	30.94
20090724b	b	4.42	4.99	9.27	98.2	41.00
20090515c	c	4.61	5.08	9.58	97.73	0.90
20090612c	c	4.70	4.99	9.19	98.74	1.15
20090724c	c	4.62	4.97	9.40	98.23	0.98
20090515d	d	3.62	5.02	8.55	98.84	0.94
20090612d	d	3.62	5.10	8.65	99.16	0.77
20090724d	d	3.66	4.76	8.35	99.02	1.07

3.6 样品测定及结果分析 对 3 批半合成紫杉醇的产物及中间体进行了含量测定, 各步反应收率稳定 (见表 2, 10- DAB 为起始原料, d 为最终产物, 中

间每步反应得到的产物即为下一步反应的原料, 含量为目标物的含量), 10- DAB 转化率 100%, 紫杉醇的产率为 53.8%。说明该合成路线重现性良好。

表 2 样品的含量测定结果 (n = 2)
Tab 2 Results of sample content test

组分 (component)	20090515		20090612		20090724	
	原料或产物 (material or product) /g	含量 (content) %	原料或产物 (material or product) /g	含量 (content) %	原料或产物 (material or product) /g	含量 (content) %
10- DAB	66.1	99.0	66.4	99.0	66.0	99.0
a	69.7	92.0	69.9	91.7	69.0	91.0
b	89.7	88.2	91.2	88.3	89.3	88.1
c	179.2	82.3	179.8	82.1	178.9	82.4
d	79.5	72.1	80.0	72.4	79.1	73.1

4 讨论

4.1 波长的选择 根据文献^[11]报道, 紫杉烷类化合物在 230 nm 和 227 nm 有吸收, 经试验结果证明 230 nm 杂质干扰较多, 而 227 nm 图谱特征性强, 可排除杂质的干扰且基线平直, 分离效果良好, 故选用此波长。

4.2 流动相的选择 通过实验选用甲醇 (0.1% 醋酸) - 乙腈线性梯度洗脱, 较好的分离上述 5 个化合物, 与文献^[12]报道的流动相中缓冲盐相比较, 醋酸对柱子的负面影响更小, 故选用醋酸。

参考文献

- 1 ZHANG Zuo-yu (张佐玉), ZHANG Xi-zi (张喜紫). The study of develop and quickly produce the drug of anticancer of paclitaxel (紫杉醇抗癌药物的开发和快速生产研究). *Res Inf Trad Chin Med* (中药研究与信息), 2000, 2(8): 29
- 2 Holton RA, Sanoza C, Kinn HB, et al. First total synthesis of taxol. *Am Chem Soc* 1994 116 (14): 1579
- 3 Nicolaou KC, Yang Z, Liu J et al. Total synthesis of taxol. *Nature* 1994 367 (17): 630
- 4 SU Jian-rong (苏建荣), ZHANG Zhi-jun (张志钧), DENG Jiang (邓疆). Study on the taxol content in *Taxus yunnanensis* of different age and different provenance (不同树龄、不同地理种源

云南红豆杉紫杉醇含量变化的研究). *Forest Res* (林业科学研究), 2005, 18(4): 369

5 SHI Shu-yun(施树云), ZHONG Shi-an(钟世安), ZHOU Chun-shan(周春山). Determination of paclitaxel of Yew of Hunan by high-performance liquid chromatography (高效液相色谱测定湖南红豆杉中紫杉醇的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2004, 24(5): 552

6 XIONG Jie(熊洁), PENG Yong-fang(彭永芳). Determination of paclitaxel of Yew of Yunnan by HPLC (云南红豆杉中紫杉醇含量的 HPLC 测定). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 1997, 17(2): 123

7 ZHAN Ji-xun(占纪勋), ZHANG Yuan-xing(张元兴), NING Li-li(宁黎丽). Microbial transformation of taxol by *Pseudomonas aeruginosa* as 1.860 (铜绿假单胞菌 AS1.860 对紫杉醇的微生物转化). *Chin J Appl Environ Biol*(应用与环境生物学报), 2003, 9(4): 429

8 Battaglia Arturo, Dambrosio Paolo. A process for the preparation of paclitaxel. WO: 0114084, 2001-12-03

9 ZHAN Hua-xing(詹华杏), SHEN Xin(沈鑫), LIAO Li-xin(廖立新), et al. Semi-synthesis method of paclitaxel and polyene-paclitaxel (紫杉醇和多烯紫杉醇的半合成方法). CN 200710036488.3, 2007-01-16

10 KANG Li-tao(康立涛), WANG Gang(王刚), WANG Tao(王涛), et al. A synthesis method of paclitaxel and polyene-paclitaxel (一种紫杉醇和多烯紫杉醇的合成方法). CN 200610027595.5, 2006-06-12

11 XIE Rui-xiang(谢瑞祥), FAN Fang(范芳), WU Guo-sen(吴国森). Determination of stabilization of paclitaxel in 5% glucose solution by HPLC (反相高效液相色谱法测定紫杉醇浓度及其稳定性考察). *Strait Pharm J* (海峡药学), 2003, 15(1): 29

12 GE Zhao-heng(葛召恒), LI Hua(李桦). Simultaneous determination of three components of sulfadiazine, sulfamethoxazole and trimethoprim in tablets by HPLC (高效液相色谱法测定犬血浆和小鼠组织、体液中的紫杉醇). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 1997, 17(5): 301

(本文于 2010 年 1 月 21 日收到)

市场办召开 2011 年国家医疗器械抽验工作实施方案讨论会

为落实好 2011 年国家医疗器械抽验工作, 制定具体的抽样实施方案和检验方案, 2011 年 1 月 26 日, 国家局药品市场监督办公室在北京组织召开了“2011 年国家医疗器械抽验工作实施方案讨论会”。国家局稽查局崔恩学副局长, 稽查四处王志刚处长、药品市场监督办公室黄志禄主任助理出席了会议。参加此次会议的有北京、江苏和广东省食品药品监督管理局稽查局, 国家局北京、天津、济南、沈阳、广州、湖北医疗器械质量监督检验中心, 湖南、河南、陕西、吉林、山西 5 家省医疗器械检验所, 中国食品药品检定研究院有关领导和专家, 共计 30 余人。

会议由药品市场监督办公室抽验管理处李静莉副处长主持, 崔恩学副局长针对近年来医疗器械抽验工作以调研和抽验相结合的方式给予肯定的同时, 也鼓励大家面临抽验经费少、任务重、困难多的情况下, 各部门、各单位专家要集思广益, 发挥优势, 积极探索, 逐渐使我们的工作制度化、规范化, 保证抽验工作能高效完成。黄志禄主任助理重点对医疗器械抽验工作中引入风险评估和影响因素等概念, 对可能涉及的产品提出风险评价指数, 为将来监管提供数据。李静莉副处长对医疗器械抽验工作实施方案的要求和工作思路做了具体部署, 针对讨论的结果提出了下一步工作要求, 要求各单位在时间紧的情况下, 保质保量地完成抽验工作的前期准备, 确保国家医疗器械抽验工作按时顺利地顺利完成。

济南、天津和广州医疗器械检验中心(相应产品的标准技术委员会所在单位)针对导尿管抽验、物理治疗及康复设备和体外循环及血液处理设备的调研及抽样工作分别提出了初步方案。参会人员针对方案具体内容提出了意见和建议。最终确定了各方案涉及的调研内容和分类原则及承检任务的初步分配等相关内容。

详情请浏览: www.nicpbp.org.cn