

3.7 重现性试验:取同一供试品(批号 060201)约 0.5 g,精密称定,称取 6 份,进样测定,结果淫羊藿苷的平均质量分数为 2.55 mg/g,RSD 为 0.75%。

3.8 稳定性试验:精密吸取同一供试品(批号 060201)溶液 20 μ L,分别在制备后的 0、1、4、6、12、24 h,进样测定淫羊藿苷的峰面积,结果 RSD 为 2.2%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

3.9 加样回收率试验:精密称取同一批样品(批号 061104,含淫羊藿苷 1.50 mg/g)6 份,每份约 0.25 g,分别精密加入淫羊藿苷对照品约 0.4 mg,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果平均回收率为 100.3%,RSD 为 1.37%。

3.10 样品测定:取本品 10 批,每批 2 份,制备供试品溶液,进样测定,用外标法计算样品中淫羊藿苷的平均质量分数,结果见表 1。根据以上 10 批样品实验结果来看,为保证产品质量,确定本品含淫羊藿苷($C_{33}H_{46}O_{15}$)不得少于 0.80 mg/g。

4 讨论

4.1 测定波长的选择:取淫羊藿苷对照品溶液(10 μ g/mL),在 200~400 nm 波长扫描,结果在 270 nm 波长处有最大吸收,与《中国药典》2005 年版一部淫羊藿测定项下的测定波长一致。

表 1 祛痹舒肩丸中淫羊藿苷的测定结果($n=2$)

Table 1 Determination of icariin in Qubi Shujian Pill ($n=2$)

批号	淫羊藿苷/(mg·g ⁻¹)	批号	淫羊藿苷/(mg·g ⁻¹)
060201	2.55	060610	0.91
060202	2.48	061002	1.34
060203	2.48	061102	1.38
060608	1.00	061104	1.50
060609	0.99	061107	1.36

4.2 流动相的选择:曾尝试①乙腈-水(30:70)、②乙腈-水(28:72)、③甲醇-水(60:40)3 种流动相,实验结果表明①不利于本品中淫羊藿苷峰的分离;②较适合于供试品中淫羊藿苷的分离;③虽可减少毒性,但杂质分离效果不如②好。综合各流动相的分离效果,结果确定以②为佳。

4.3 不同色谱柱考察:取同一供试品(批号 060201)溶液进样测定,分别考察使用 Diamonsil C₁₈、Inertsil ODS-3 和 Hypersil C₁₈ 3 种色谱柱对淫羊藿苷测定的影响。实验表明,不同厂家色谱柱对测定结果的影响很小(RSD 为 3.77%)。

参考文献:

- [1] 金向群,刘永刚,随志刚,等. D140 大孔树脂分离纯化淫羊藿黄酮的研究[J]. 中成药, 2004, 26(11): 872-875.

RP-HPLC 法测定番荔枝种子中阿诺宁 I

李建华^{1,2}, 邹节明^{1,2*}, 云 强²

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004)

摘 要:目的 考察不同产地番荔枝种子中阿诺宁 I。方法 采用 HPLC 法测定。选用 C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-水(75:25), 检测波长为 220 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 体积流量 1 mL/min。药材粉末分别采用正己烷脱脂和氯仿回流提取, 用甲醇溶解即得。结果 阿诺宁 I 在 0.3~3.0 μ g 与峰面积具有良好的线性关系($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 98.9%, RSD 为 1.78%。结论 建立的定量方法可以用于番荔枝种子中阿诺宁 I 的质量控制。

关键词: 番荔枝; 种子; 阿诺宁 I; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)07-1019-02

番荔枝的果实是著名的热带水果,在广东、海南、云南和广西等地有大量种植。番荔枝植物的种子含有丰富的番荔枝内酯,自第一个番荔枝内酯 acéfogemin 化合物紫玉盘辛(uvaricin)^[1]发现以来,至今已发现了 400 个左右的这类化合物^[2]。番荔枝内酯是一类很有希望的新型抗癌药物,其作用机制是

通过抑制细胞线粒体中 NADH 氧化还原酶,阻止呼吸链电子的传递,使 ADP 不能转化成 ATP,进而使细胞因能量耗竭而凋亡^[2]。其中阿诺宁 I (番荔枝宁 I,annonin I)是其含有的最高的番荔枝内酯类成分,具有强大的抗肿瘤活性。番荔枝种子已被《广东省中药材标准》收载,但标准中没有对指标性成分进

行定量,因此本实验采用 HPLC 法对不同产地的番荔枝科植物番荔枝的干燥成熟种子中阿诺宁 I 进行考察,所得数据可为其质量评价提供参考。

1 材料、仪器与试剂

番荔枝果实于 2007 年 8—9 月分别采自海南三亚、海口、儋洲,广东虎门、东莞,广西北海、防城港,云南大理,取其种子,干燥。

美国 Waters 2690 色谱仪,996 DAD 检测器,Empower 液相色谱工作站;阿诺宁 I 对照品(自制,HPLC 归一化法检测质量分数>98%);乙腈(色谱纯);水(超纯水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱: C_{18} 柱(150 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相为乙腈-水(75:25);体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 $^{\circ}$ C;检测波长为 220 nm;进样量为 5 μ L。在此条件下阿诺宁 I 的保留时间为 26.19 min;阿诺宁 I 能与其他成分很好地分开。对照品及样品的 HPLC 色谱图见图 1。

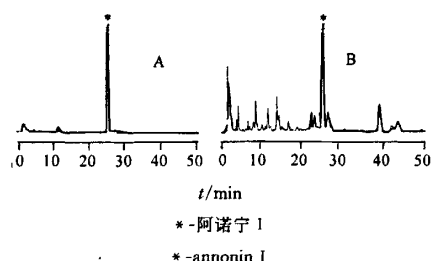


图 1 阿诺宁 I 对照品(A)和番荔枝种子(海南三亚产)(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of annonin I reference substance (A) and seeds of *A. squamosa* from Sanya, Hainan Province (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取阿诺宁 I 对照品 15.56 mg,加甲醇溶解并定容至 25 mL,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取药材干燥粉末 1 g,加正己烷 20 mL 回流提取 2 次,每次 1 h,滤过,取药渣,加氯仿 20 mL 回流提取 2 次,每次 1 h,滤过,合并提取液,减压回收除去溶剂,用甲醇 25 mL 溶解,再取 1 mL 溶液,用甲醇稀释至 5 mL,作为供试品溶液。

2.4 标准曲线的绘制:分别精密吸取阿诺宁 I 对照品溶液 0.5、1、2、3、4、5 μ L 进样测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=9.719 \times 10^5 X + 2.364 \times 10^3$, $r=0.9999$ 。表明阿诺宁 I 在 0.3~3.0 μ g 与峰面积呈线性关系。

2.5 精密度试验:取同一阿诺宁 I 对照品溶液连续进样 5 次,测其峰面积,计算 RSD 为 0.31%。

2.6 重现性试验:取海南三亚产同一批药材 6 份,制备供试品溶液,进样,测定阿诺宁 I 峰面积,计算质量分数的 RSD 为 1.68%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液在 1、2、4、8、16、24 h 进样测定阿诺宁 I 峰面积,计算其 RSD 为 1.01%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验:精密称取 6 份海南三亚产样品各 0.5 g,分别精确加入 1 mL 0.60 mg/mL 阿诺宁 I 对照品溶液,制备供试品溶液,进样测定,计算得阿诺宁 I 的平均回收率为 98.9%,RSD 为 1.78%。

2.9 样品测定:取 8 个不同产地的番荔枝种子粉末,分别制备供试品溶液。同时取阿诺宁 I 对照品溶液,各取 5 μ L 进样作 HPLC 分析,采用外标法计算,结果见表 1。

表 1 不同产地番荔枝种子中阿诺宁 I 的测定结果($n=2$)

Table 1 Determination of annonin I in seeds of *A. squamosa* from various habitats ($n=2$)

产 地	阿诺宁 I / %	产 地	阿诺宁 I / %
海南三亚	1.225	广东东莞	0.709
海南海口	0.978	广西北海	0.682
海南儋洲	0.911	广西防城港	0.663
广东虎门	0.662	云南大理	0.407

3 讨论

番荔枝种子中含油脂量很高,需进行脱脂处理,实验中比较了石油醚和正己烷对番荔枝种子脱脂的效果,结果发现两种溶剂都能脱去药材的大部分油脂,但石油醚在脱脂过程中能溶解一部分阿诺宁 I,而正己烷对阿诺宁 I 的溶解度很小,因此,本实验选择正己烷为脱脂的溶剂。

色谱条件选择时,比较了甲醇-水和乙腈-水系统,发现前一种流动相的目标峰有拖尾,且与杂质峰分不开,后一种流动相能使各组份有较好的峰形和分离度。

不同产地的番荔枝种子中阿诺宁 I 的差异较大,由此可推断各地由于气候、土壤等地理条件的不同,其有效成分的量也有较大差异,因此在人工栽培时应考虑这些必要的因素。

参考文献:

- [1] Jolad S D, Hoffmann J J, Schram K U, et al. Uvaricin: a new antitumor agent from *Uvaria acuminata* (Annonaceae) [J]. *J Org Chem*, 1982, 47: 3151-3153.
- [2] Alali F Q, Liu X X, McLaughlin J L. Annonaceous acetogenins: recent progress [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 504-540.

RP-HPLC法测定番荔枝种子中阿诺宁 I

作者： 李建华， 邹节明， 云强
作者单位： 李建华, 邹节明 (北京中医药大学中药学院, 北京, 100102; 桂林三金药业股份有限公司, 广西, 桂林, 541004), 云强 (桂林三金药业股份有限公司, 广西, 桂林, 541004)
刊名： 中草药 **ISTIC PKU**
英文刊名： CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS
年，卷(期)： 2008, 39 (7)

参考文献(2条)

1. Jolad S D;Hoffmann J J;Schram K U [Uvaricin, a new antitumor agent from Uvaria](#)
[accuminata\(Annonaeae\)](#) 1982
2. Alali F Q;Liu X X;McLaughlin J L [Annonaeous acetogenins: recent progress](#)[外文期刊] 1999(3)

本文链接： http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807020.aspx