

HPLC 法测定加拿大紫杉中紫杉醇的含量

李西林*, 南艺蕾, 张钰泉, 周秀佳
(上海中医药大学, 上海 201203)

[摘要] 目的: 测定加拿大紫杉中紫杉醇的含量。方法: 高效液相色谱法(HPLC), Agilent ZOBAX C₁₈ 色谱柱(250 × 4.6mm, 5μm); 流动相: 甲醇-水(65: 35), 流速: 1mL/min, 检测波长: 227nm。结果: 紫杉醇线性范围为 0.068~ 0.34μg, $r = 0.9998$; 平均回收率为 98.90%, RSD= 3.17%。结论: 本法操作简便、准确, 可作为加拿大紫杉的质量控制方法之一。

[关键词] 高效液相色谱法; 加拿大紫杉; 紫杉醇

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)03-0009-02

Determination of Taxol in Canadian Yew by HPLC

LI Xi-lin, NAN Yi-lei, ZHANG Yu-quan, ZHOU Xiu-jia
(Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for determination of taxol in Canadian yew. **Method:** ZOBAX C₁₈ Column was used. The mobile phase was methanol-water(65: 35) at a flow rate of 1mL/min. The detection wavelength was at 227nm. **Results:** The linear relationship of peak area and injection amount of Taxol was in the range 0.068~ 0.34μg, $r = 0.9998$. The average recovery was 98.90% and RSD was 3.17%. **Conclusion:** This method is simple, accurate and could be used for quality control of Canadian yew.

[Key words] HPLC; Canadian yew; taxol

从红豆杉科植物中分离的紫杉醇具有明显的抗癌生物活性而成为天然的抗癌药用资源, 紫杉醇能

有效阻止癌细胞的增殖, 是治疗转移性卵巢癌和乳腺癌的最好药物之一, 同时对肺癌、食道癌也有显著疗效。紫杉醇含量的高低可作为评价红豆杉类植物资源价值和药用价值的指标, 作者采用高效液相色谱法测定加拿大紫杉中紫杉醇含量, 用以控制加拿

大紫杉的质量。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 样品来自加拿大, 经上海中医药大学周秀佳教授鉴定为红豆杉科植物加拿大紫杉 *Taxus canadensis* Marsh. 样品经干燥后粉碎过 100 目筛, 备用。紫杉醇(Taxol) 由美国提供, 甲醇为色谱级, 其余试剂均为国产分析纯试剂。

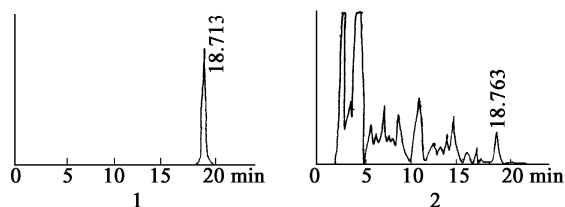


图 1 加拿大紫杉的 HPLC 图
1. 对照品 2. 样品

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent ZOBAX C₁₈ (250 × 4.6mm, 5μm); 流动相: 甲醇-水(65: 35); 流速: 1mL/min; 检测波长: 227nm; 进样量: 20μL; 柱温为室温。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的紫杉醇对照品适量, 加甲醇制成 0.85mg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末约 2g, 精密称定, 置 50mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20mL, 塞紧, 超声提取 30min, 静置, 取上清液离心, 残渣再加甲醇 20mL, 超声提取 20min, 静置, 取上清液离心, 合并上清液, 去除药渣, 滤液于 50℃水浴减压蒸干, 残渣溶于水 10mL, 并加入二氯甲烷 10mL, 超声提取 5min, 离心, 分取二氯甲烷层, 水层再加 10mL 二氯甲烷, 重复操作, 合并二氯甲烷层, 室温下减压蒸干, 残渣加入甲醇 5mL 定容。制备液经 0.45μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液注入液相色谱仪, 按峰面积计算, 即得。

2.4 标准曲线及线性范围 用十万分之一天平称取紫杉醇(Taxol) 对照品 1.7mg 溶于 2mL 色谱级甲醇中, 配成 0.85mg/mL 对照品溶液, 精密吸取 0.5mL, 置 25mL 量瓶中, 加色谱级甲醇稀释至刻度, 配成 0.017mg/mL 对照品溶液。将对照品溶液用甲醇梯度稀释, 得不同浓度的对照品溶液, 分别取对照品溶液 20μL 注入液相色谱仪, 测定其峰面积, 将结果进行计算, 得回归方程: $Y = -3.630 + 31.587X$, $r = 0.9998$ ($n = 6$), 在 0.068~ 0.34μg 范围内呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取同一对照品溶液 20μL, 在上述色谱条件下重复进样 6 次, 计算 RSD 为 1.24%。

2.6 稳定性试验 取 2.3 项下供试品溶液, 分别在 1 2 4 8 16 24h 进样, RSD 为 1.92%, 结果表明, 供试品溶液在 24h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一供试样品 6 份, 按供试品溶液的制备项下操作, 在上述色谱条件下进样测定, RSD 为 1.35%, 表明本方法重复性好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的样品 6 份, 精密称定, 分别精密加入一定量的紫杉醇对照品, 按供试品溶液的制备项下操作, 在上述色谱条件下进样测定, 测定结果见表 1。

表 1 紫杉醇加样回收率测定结果($n = 6$)

样品号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.124	0.152	0.271	96.71		
2	0.124	0.152	0.278	101.32		
3	0.162	0.152	0.308	96.05	98.90	3.17
4	0.162	0.152	0.312	98.68		
5	0.206	0.152	0.364	103.95		
6	0.206	0.152	0.353	96.71		

2.9 样品测定 分别精密称取 3 个批号的加拿大紫杉粉末, 按上述供试品溶液的制备方法和色谱测定条件, 测定加拿大紫杉中紫杉醇的含量, 结果三批不同批号的样品含紫杉醇分别为 0.174、0.166 和 0.187mg/g。

3 讨论

红豆杉类植物中的活性成分紫杉醇含量低, 加上其他成分复杂, 用甲醇 2 次超声处理, 提取液杂质多, 色谱峰彼此重叠, 干扰严重, 无法进行测定, 故本实验将甲醇提取液减压蒸干后, 再用二氯甲烷提取 2 次, 进一步除去水溶性杂质后, 最后用甲醇定容, 经过上述分离操作后, 待测成分不受干扰, 净化处理后的样品进行含量测定, 获得满意结果。

用本方法对多份加拿大紫杉样品中的紫杉醇进行含量测定, 结果灵敏、准确、可靠, 具有推广应用价值, 可以作为加拿大紫杉质量控制的方法之一, 为评价其资源的开发利用提供依据。

[参考文献]

[1] 王喜军. 高效液相色谱在中药研究中的应用[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1994. 146-147.
[2] 张鸿, 杨明惠. 影响红豆杉树皮中紫杉醇含量的若干因素[J]. 中草药, 2002, 33(1): 39-41.
[2] 蔡朝辉, 高山林, 朱丹妮. 东北红豆杉愈伤组织的诱导、生长和紫杉醇含量测定[J]. 药物生物技术, 1995, 2(3): 11-14.