

# 高效液相色谱法测定药物涂层球囊提取液中的紫杉醇含量

LC-338

**摘要：** 本文建立了高效液相色谱仪分析药物涂层球囊提取液中紫杉醇的分析方法。结果表明：仪器定量限低于 0.02  $\mu\text{g/mL}$ ；10.01-200.12  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内，校准曲线线性良好，相关系数为 0.9999；100.99  $\mu\text{g/mL}$  标样连续 6 针测试结果显示，紫杉醇保留时间和峰面积 RSD 值分别不高于 0.14% 和 0.10%，仪器精密度良好；药物涂层球囊提取液样品加标（50  $\mu\text{g/mL}$  紫杉醇）平行测定三次，平均回收率为 105.1%，相对标准偏差为 3.04%，回收率良好。该方法快速简单，灵敏度高，重复性和回收率好，适合药物涂层球囊提取液中紫杉醇含量的检测。

**关键词：** 高效液相色谱仪 药物涂层球囊提取液 紫杉醇

紫杉醇 (Taxol) 是从短叶红豆杉树皮中提取的一类有抗癌抗肿瘤活性的二萜生物碱类天然产物，分子式为  $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$ 。微管和微管蛋白在维持正常细胞形态、有丝分裂过程中染色体的移动等方面具有重要地位。紫杉醇是首个被发现作用于真核细胞微管和微管系统而发挥抗肿瘤作用的药物。其独特的空间结构可以特异性的与  $\beta$ -微管蛋白结合，促微管蛋白装配成微管并使之稳定，从而抑制细胞中诸如运动和分泌等依赖微管蛋白的过程，阻断细胞的有丝分裂，使之停止于 G2 晚期和 M 期。目前紫杉醇是临床上治疗乳腺癌、卵巢癌、

非小细胞肺癌等的广谱抗肿瘤药物，疗效显著。紫杉醇由于其新颖复杂的化学结构、广泛而显著的生物活性、全新独特的作用机制、奇缺的自然资源使其受到了植物学家、化学家、药理学家、分子生物学家的极大青睐。时至今日，仍然是最好的用于治疗癌症的天然药物之一。

高效液相色谱仪是检测紫杉醇含量的常用检测手段，本文建立了高效液相色谱仪分析紫杉醇的分析方法。该方法快速简单，灵敏度高，重复性好，适合紫杉醇含量的检测。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 Nexera Bio 高效液相色谱仪系统，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20A	自动进样器：	SIL-20ACXR
柱温箱：	CTO-20A	输液泵：	LC-20ADXR ×2
脱气机：	DGU-20A 5R	紫外检测器：	SPD-20A
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 6.102		

### 1.2 分析条件

色谱柱：	ACE3 C18 DV19-2674, (150 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	柱温：	40°C
流动相 A：	5 mM 磷酸二氢钠溶液 (pH=3.5)	检测波长：	227 nm
流动相 B：	乙腈		
流速：	1.0 mL/min		
进样体积：	10 $\mu\text{L}$		
洗脱方式：	等度洗脱 (流动相 A: 流动相 B=4:6)，分析时间 12 min		

### 1.3 样品处理

移取药物涂层球囊提取液 0.5 mL，置于 5 mL 量瓶中，加入初始比例流动相进行稀释，过滤、混匀后上样。

### 1.4 标准溶液的制备

紫杉醇标准系列工作液：移取一定量的标准中间液，用流动相溶液（流动相 A：流动相 B=4：6）稀释定容，配置成浓度分别为 10 µg/mL、20 µg/mL、50 µg/mL、100 µg/mL、200 µg/mL 的标准系列工作溶液。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准溶液色谱图与定量限

定量限 10 µg/mL 紫杉醇标准溶液色谱图如图 1 所示，同空白比较，出峰位置未有干扰。

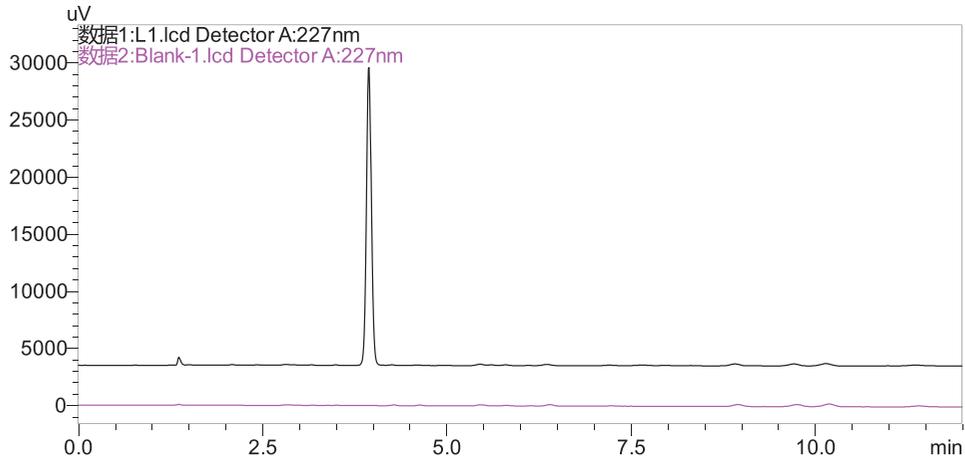


图 1 10 µg/mL 紫杉醇标准溶液和空白溶剂色谱图

### 2.2 校准曲线

如图 2 所示，紫杉醇标准药物涂层球囊提取液在 10.01-200.12 µg/mL 的浓度范围内，外标法校准曲线线性良好。其中线性方程为  $Y=10465.0X+16610$ ，线性相关系数 R 为 0.9999。准确度在 98.9%~101.2% 之间。将校准曲线最低点 10.01 µg/mL 浓度标准工作液按 1.2 中的分析条件下进行测定，通过 LabSolutions Ver. 6.102 软件计算信噪比（采用 ASTM 计算方式），计算得到检出限和定量限分别为 0.05 µg/mL，和 0.16 µg/mL。

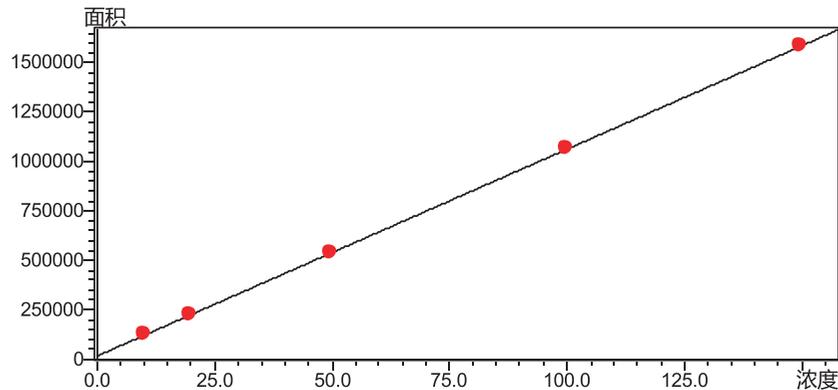


图 2 紫杉醇溶液校准曲线

### 2.3 精密度

取 100.99  $\mu\text{g}/\text{mL}$  紫杉醇标准药物涂层球囊提取液重复进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性如结果如表 1 所示，结果显示：紫杉醇保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.20%，0.22%，表明仪器精密度良好。

表 1 保留时间和峰面积重复性

No.	紫杉醇			
	保留时间 (min)	RSD(%)	峰面积	RSD(%)
1	3.948	0.14	150729	0.10
2	3.952		150761	
3	3.950		150603	
4	3.947		150324	
5	3.938		150251	
6	3.941		149927	

### 2.4 加标回收率

取药物涂层球囊提取液样品，添加 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  紫杉醇标准物质，平行测定三次，测得平均回收率为 105.1%，相对标准偏差为 3.04%，回收率良好。

表 2. 加标回收率结果

No.	紫杉醇						
	样品浓度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	加标浓度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	保留时间 (min)	实测浓度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	回收率 %	平均回收率 %	RSD(%)
1	3.68	20.00	3.946	24.14	102.3	105.1	3.04
2			3.951	25.39	108.6		
3			3.947	24.54	104.3		

### 2.5 样品分析

将所建立的方法用于实际样品分析，10 批药物涂层球囊提取液处理后各自进样分析，其色谱图和测定结果分别如图 3 和表 3 所示。

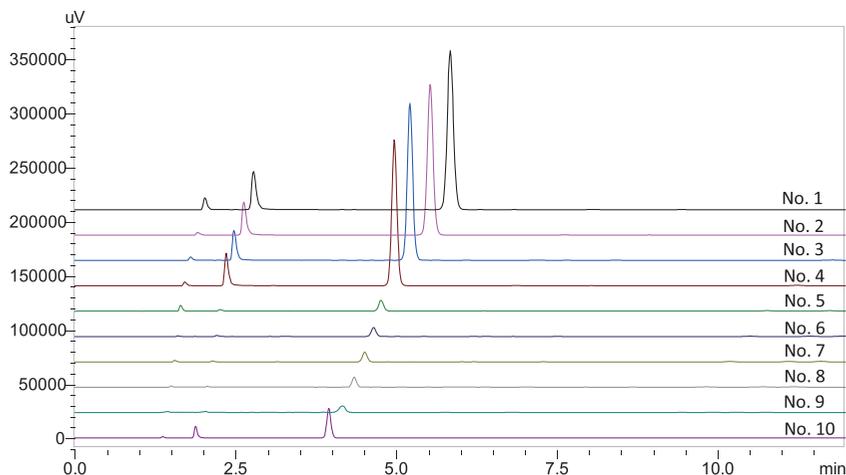


图 3 10 批样品药物涂层球囊提取液色谱图

表3 药物涂层球囊提取液中紫杉醇含量

样品 No.	移取量 (mL)	定容体积 (mL)	检测浓度 (µg/mL)	样品含量 (µg/g)
1	0.5	5	60.36	503.00
2	0.5	5	56.18	468.17
3	0.5	5	58.62	488.50
4	0.5	5	54.77	456.42
5	0.5	5	3.68	30.67
6	0.5	5	3.00	25.00
7	0.5	5	3.32	27.67
8	0.5	5	3.38	28.17
9	0.5	5	2.93	24.42
10	0.5	5	10.82	90.17

## ■ 结论

本文采用岛津高效液相色谱仪建立了药物涂层球囊提取液中紫杉醇的分析方法，该方法快速简单，灵敏度高，线性、重复性，加标回收率良好。并使用该方法对 10 批样品进行含量检测。实验表明，该方法满足适合药物涂层球囊中紫杉醇含量的检测。

岛津应用云

