

红豆杉及其近缘植物中紫杉醇与同系物 的高效液相色谱分析

罗士德 宁冰梅 阮德春 王惠英

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

摘要 应用高效液相色谱法分析了云南3种红豆杉科植物、3种三尖杉科植物和1种罗汉松科植物不同部位的抗癌活性成分紫杉醇(taxol)及其同系物巴卡亭Ⅲ(baccatin Ⅲ)和赛法罗马宁(cephalomannine)的存在和含量, 为合理开发并保护我国的有关植物资源提供依据。

关键词 红豆杉科; 三尖杉科; 罗汉松科; 紫杉醇; 巴卡亭Ⅲ; 赛法罗马宁

HPLC analysis of taxol and related compounds from *Taxus* and its related plants Luo Shi-De, Ning Bing-Mei, Ruan De-Chun and Wang Hui-Ying (Kunming Institute of Botany, Academia Sinica), *J. Plant Resour. & Environ.* 1994, 3(2): 31~33

By the analysis of HPLC method, the active composition and contents with anti-cancer effect of taxol and related compounds were detected in seven species of Taxaceae, Cephalotaxaceae and Podocarpaceae from southwest China, which will provide scientific basis to utilize and protect these plant resources.

Key words Taxaceae; Cephalotaxaceae; Podocarpaceae; taxol; cephalomannine; baccatin Ⅲ

1963年, 美国学者从红豆杉属植物太平洋紫杉(*Taxus brevifolia* Nutt.)的皮中得到抗癌活性物质紫杉醇(taxol)^[1]。经过近30年的研究, 1992年由美国国家食品和药物管理局(FDA)批准为一种治疗卵巢癌的药物。研究还证明, 紫杉醇对乳腺癌、肺癌以及恶性黑色素瘤也有治疗作用, 其应用范围尚有扩大的可能。

我国没有太平洋紫杉, 同属红豆杉属植物仅有4种和1变种, 分布不广泛, 资源也不多, 近年报道从云南红豆杉(*Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu)树皮中分离到紫杉醇^[2], 但尚未对含量及树木其他部位紫杉醇的存在状况作分析, 为合理应用和保护我国这种药用植物资源并开发新的药源, 我们对不同地区, 不同树龄云南红豆杉的叶、皮和木质部分进行了定性和定量分析, 同时, 对同科植物红豆杉(*T. chinensis* (Pilger) Rehd.)、榧树(*Torreya grandis* Fort. ex L. K. Fu)及与红豆杉科植物近缘的三尖杉科三尖杉属植物高山三尖杉(*Cephalotaxus fortunei* Hook. f.), 海南粗榧(*C. hainanensis* Li), 西双版纳粗榧(*C. manni* Hook. f.)中紫杉醇及巴卡亭Ⅲ和赛法罗马宁的存在进行了分析, 发现紫杉烷类二萜化合物巴卡亭Ⅲ在三尖杉科、罗汉松科植物中的存在并测定了其含量。

1. 实验部分

1.1 材料和设备

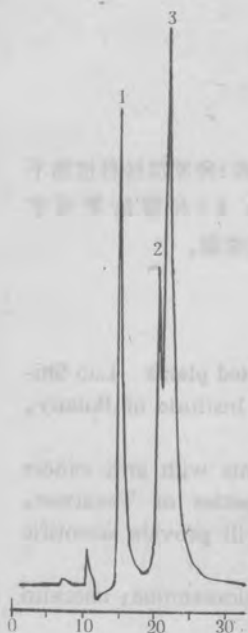


图1 标准品之高压液相图(HPLC)

Fig 1 The HPLC chromatogram

of compounds 1 to 3

- 1, 巴卡亭Ⅲ baccatin Ⅲ;
2, 赛法罗马宁 cephalomannine;
3, 紫杉醇 taxol

并注入一次巴卡亭Ⅲ、赛法罗马宁和紫杉醇混合标准样品作对照,利用计算机测出3个化合物的峰面积值与标准品数据对照,用C-RSA数据处理机处理,得各化合物的浓度,再根据分析样品相对应的植物样品量计算出样品中这几种化合物的百分含量。分析结果如表1。

仪器 岛津 LC-4A 高效液相色谱仪; SPD-2AS 紫外检测器。

试剂 甲醇和乙腈均为分析纯(北京化学试剂厂),二次重蒸过滤蒸馏水。

样品 分别采自昆明植物研究所植物园、西双版纳和云南昭通地区,学名经本所鉴定。

1.2 方法与结果

样品制备 风干后的样品粉碎,各称50 g,分别用甲醇回流两次,每次4 h,合并甲醇滤液,抽干,称重,得甲醇提取物。用等量的二氯甲烷和水分配萃取分出二氯甲烷溶液,用无水硫酸钠干燥后过滤,蒸干称重,待用。

标准品 紫杉醇(taxol)⁽³⁾,巴卡亭Ⅲ(baccatin Ⅲ)和赛法罗马宁(cephalomannine)⁽²⁾标准样品得自美国国家癌症研究所(NCI) Dr. G. Cragg 和 Dr. J. Nemeč。

精确称取紫杉醇、巴卡亭Ⅲ和赛法罗马宁标准品,用甲醇溶解,制成0.25 mg/ml之标准溶液,备用。

色谱条件 使用 Watman Partisil ODS (10×250 mm)柱,流动相为甲醇:水:乙腈(20:41:39),流速1 ml/min;检测波长227 nm;灵敏度0.08 AUs,纸速2.0 mm/min,标准品分离情况如图1。

图2为计算机处理所得紫杉醇的峰面积与进样量在0.005~10 μg之间的线性关系图。

样品测定 精密称取上述制备样品,置于容量瓶内用甲醇溶解到刻度使其浓度为20 mg/ml,每次进样5 μl,每样品重复3次,

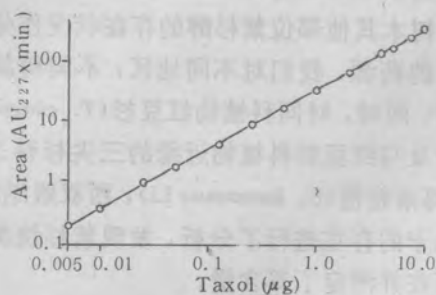


图2 紫杉醇的峰面积与进样量的关系

Fig 2 Taxol linearity curve between peak area and injections

表1 7种植物中紫杉醇和同系物的含量

Tab 1 Contents of taxol and related constituents from the seven species of plants

植物名 Species	树龄 Age	分析部位 Parts	产地 Location	成分 Components ($\mu\text{g/g}$ or ppm)		
				巴卡亭 III Baccatin III	赛法罗马宁 Cephalomannine	紫杉醇 Taxol
云南红豆杉 <i>Taxus yunnanensis</i>	5	细枝茎叶	昆明	51.1	17.6	20.1
	30	皮	昆明	8.0	13.7	15.1
	30	木质部	昆明	0	5.7	2.4
	100	细枝皮	昭通	155.0	283.0	3.3
	100	细枝木质部	昭通	1.3	0	10.7
	100	叶	昭通	0	159.0	51.4
	1000	细枝皮	昭通	287.0	42.2	24.0
	1000	细枝木质部	昭通	0	65.2	17.9
	1000	叶	昭通	0	22.4	137.0
	1000	主干皮	昭通	19.3	6.0	89.0
红豆杉 <i>Taxus chinensis</i>	5	细枝皮	昆明植物园	27.0	22.5	7.5
	5	叶	昆明植物园	0	20.1	2.1
榧树 <i>Torreya grandis</i>	10	茎叶	昆明	0	0	0.02
	10	叶	昆明	4.7	0	0
西双版纳粗榧 <i>Cephalotaxus mannii</i>	10	带皮茎	云南西双版纳	22.0	0	2.4
高山三尖杉 <i>Cephalotaxus fortunei</i>	5	茎叶	昆明	26.4	0	0
	5	叶	昆明	8.8	0	0
海南粗榧 <i>Cephalotaxus hainanensis</i>	10	带皮茎	云南西双版纳	10.1	0	0
大理罗汉松 <i>Podocarpus forrestii</i>	5	茎叶	昆明	115.6	20.5	0

2. 讨 论

分析结果表明, 云南红豆杉的叶、皮、木质部都含有紫杉醇, 其含量随个体差异变化较大, 一般而言, 树龄较高的树木相对含量高一些; 单株叶子和皮的含量比木质部高, 云南红豆杉树皮中的紫杉醇含量最高达90 ppm, 较之太平洋紫杉70~400 ppm为低, 但是叶中含量最高达137 ppm, 较太平洋紫杉叶中含量20~70 ppm为高⁽³⁾。

其他同科及近缘种植物中, 红豆杉和西双版纳粗榧也含有紫杉醇, 其中榧树仅具检出量存在。

除红豆杉科植物外, 在三尖杉科3种植物及罗汉松科植物大理罗汉松中都发现了巴卡亭 III, 有的种含量还不低, 这在植物化学研究中尚属首次报道。本实验发现3个科的7种植物都含有紫杉烷型化合物, 这一化学证据说明它们有比较近的亲缘关系。

参 考 文 献

- 1 陈未名, 张佩玲, 吴 斌等. 1991; 药学报 26(10): 747.
- 2 Wani M C. 1971; J. Am. Chem. Soc. 93(9): 2325~2327.
- 3 Stu Borman. 1991; CEN Washington 9(2): 11~18.

(责任编辑: 罗 董)