

HPLC 法测定通光藤药材及消癌平片中通光藤苷 A

陈 敏¹, 李媛媛², 李先荣^{1*}

1. 山西省中医药研究院方剂研究所, 山西 太原 030012

2. 北京中医药大学, 北京 100102

摘要:目的 建立通光藤药材及消癌平片中通光藤苷 A 的 HPLC 测定方法。方法 色谱柱为 Sinocrom ODS-BP 分析柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸(41:59); 检测波长 230 nm。结果 通光藤苷 A 在 20.2~404.0 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系, $r=0.999\ 95$, 平均加样回收率为 96.6%, RSD 值为 2.19% ($n=6$)。结论 该方法简单, 结果准确, 稳定性好, 重现性高, 可用于通光藤药材及消癌平片定量测定及质量控制。

关键词: 通光藤; 消癌平; 通光藤苷 A; HPLC

中图分类号: R284.1 R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2012)05-0362-03

Determination of tenacissosides A in *Marsdeniae Tenacissimae Caulis* and Xiaoaiping Tablets by HPLC method

CHEN Min¹, LI Yuan-yuan², LI Xian-rong¹

1. Shanxi Province Institute of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: Objective To develop an HPLC method for determination of tenacissosides A in *Marsdenia tenacissima* and Xiaoaiping Tablets. **Methods** Sinocrom ODS-BP column was used (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% (41:59), and the UV detection wavelength was at 230 nm. **Results** Good linear correlation for tenacissosides A was found in the concentration range of 20.2—404.0 μg ($r = 0.999\ 95$). The average recovery rate was 96.6%, with RSD of 2.19% ($n = 6$). **Conclusion** The method is simple, accurate, and stable which is fit for determination and quality control of *Marsdeniae Tenacissimae Caulis* and Xiaoaiping Tablets.

Key words: *Marsdenia tenacissima*; Xiaoaiping Tablets; tenacissosides A; HPLC

通光藤, 又名乌骨藤、通光散、通关藤等, 是萝藦科牛奶菜属植物通光藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb). Wight et Arn. 的干燥茎、藤^[1], 主要分布于贵州、云南、广西等地。通光藤含有多种化学成分, 包括 C₂₁ 甾体苷类、三萜皂苷类、多糖类、醇类、挥发油、生物碱、有机酸类等化学成分。消癌平片是由通光藤制成的单方制剂, 具有清热解毒、止咳平喘、散结止痛、抗癌之功效^[1]。通光藤提取物在体外对胃癌、肝癌、食管癌等肿瘤细胞具有抑制作用^[2-6]。已有研究表明 C₂₁ 甾体皂苷类为通光藤中主要抗肿瘤成分^[7], 然而目前文献报道的消癌平制剂多以绿原酸的量为评价指标, 未见以 C₂₁ 甾体皂苷

类成分为指标的质量标准研究。本研究建立通光藤苷 A 的 HPLC 测定方法, 为规范通光藤药材及其制剂的质量提供科学依据。

1 仪器与试药

Agilent1100 高效液相色谱仪: 包括 Agilent G1321A 四元泵, G1322A 真空在线脱气机, G1313A 自动进样器, G1315 DAD 二极管阵列检测器, Agilent 化学工作站; KQ3200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); BP211D 电子天平(德国赛多利斯公司)。

通光藤苷 A 对照品(质量分数为 98.3%), 实验室自制。5 批消癌平片(批号 091220、091221、

收稿日期: 2012-06-28

基金项目: 通光藤种质鉴定与药材质量相关性研究(2011011035-1)

作者简介: 陈 敏, 山西省中医药研究院 2010 级硕士研究生, 研究方向中药化学。Tel: 18636863970 Email: 592472212@qq.com

*通讯作者 李先荣, 教授, 主任药师, 研究方向: 中药新药开发。Tel: (0351)4168040 Email: XRLi-01@163.com

091222、091224、091227, 江苏天禾制药有限公司)。乙腈(色谱纯, 天津四友公司); 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

通光藤药材经山西省中医药研究院李先荣主任药师鉴定, 为通光藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb). Wight et Arn. 的干燥茎、藤。药材来源见表 1。

表 1 通光藤药材来源

Table 1 Sources of *Marsdeniae Tenacissimae Caulis*

编号	采收时间	产地
SS1	2007-10	云南丽江
SS2	2007-12	云南大理
SS3	2007-12	云南玉溪
SS4	2008-10	云南建水
SS5	2008-12	云南红河
SS6	2009-06	四川都江堰
SS7	2009-06	贵州贵阳
SS8	2009-12	贵州盘县
SS9	2009-12	云南楚雄

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取不同产地通光藤药材过 60 目筛粉末 1 g, 精密称定, 置于锥形瓶中, 加入 40 mL 甲醇, 超声 30 min, 滤过, 滤液浓缩, 于 10 mL 量瓶中加至刻度, 即得。

称取消癌平片 20 片, 去包衣, 精密称定, 碾细,

取 2.4 g 粉末, 加 120 mL 蒸馏水于烧杯中溶解。滤过, 滤液用氯仿萃取 3 次, 每次用氯仿 30 mL, 收集氯仿层, 合并萃取液, 水浴蒸干, 甲醇定容至 5 mL, 即得。

2.2 对照品溶液的制备

称取通光藤苷 A 10 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解, 定容, 即得 0.996 mg/mL 通光藤苷 A 对照品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱为 Sinochrom ODS-BP 分析柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸(41:59), 检测波长 230 nm, 进样量 10 μL, 柱温室温。理论塔板数按通光藤苷 A 峰计算应不低于 1 500。通光藤苷 A 峰型良好, 色谱图见图 1。

2.4 标准曲线的绘制

精密吸取通光藤苷 A 对照品溶液 1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 μL, 注入液相色谱仪, 依法测定, 以通光藤苷 A 进样量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 进行线性回归, 方程为 $Y=441\,389X-62.216$, $r=0.999\,95$ 。结果表明, 通光藤苷 A 进样量在 20.2~404.0 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取上述对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 重复进样 6 次, 测定峰面积。结果 RSD 为 0.13% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

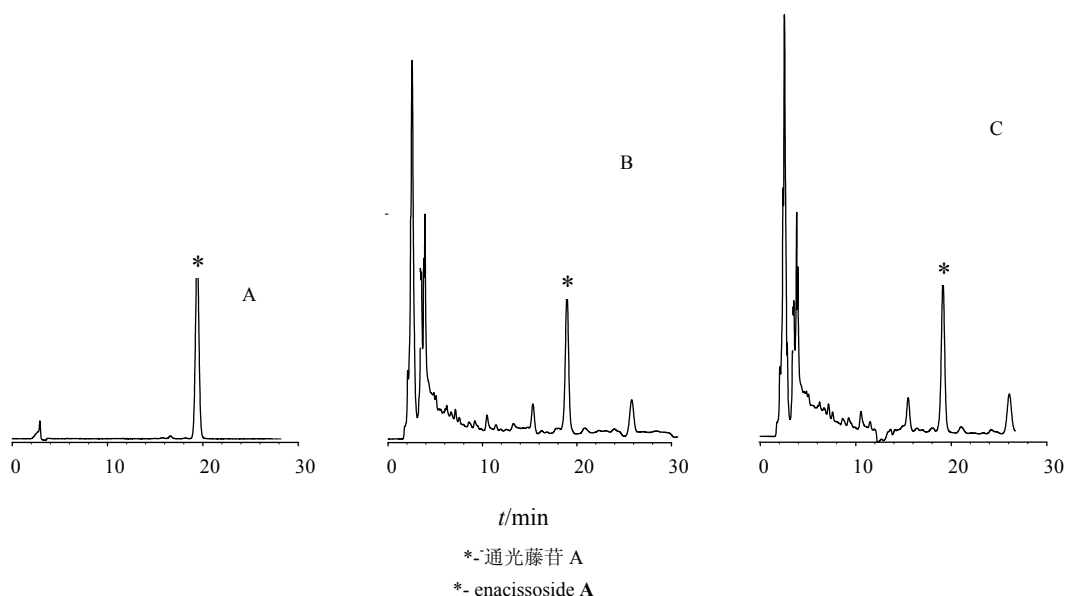


图 1 通光藤苷 A 对照品 (A)、通光藤药材 (B) 及消癌平片 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of tenacisside A reference substance (A), sample of *Marsdeniae Tenacissimae Caulis* (B), and Xiaoai Ping Tablets (C)

2.6 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 注入液相色谱仪, 分别于 0、2、4、8、16、24 h 测定峰面积值。结果 RSD 为 1.16% ($n=6$), 表明供试品溶液在室温下 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一产地通光藤药材 1 g, 6 份, 依照“2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取各供试品溶液 10 μL , 注入液相色谱仪, 测定峰面积。结果通光藤苷 A 平均质量分数为 0.142%, RSD 为 2.34% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取 0.5 g 通光藤药材 SS8, 3 份, 分别加入 5 mL 通光藤苷 A 对照品溶液, 按照“2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取各供试品溶液 10 μL , 注入液相色谱仪, 测定峰面积积分值, 计算平均回收率 96.6%, RSD 为 2.19% ($n=6$)。

3 样品测定

取“2.1”项下配制的不同产地通光藤供试品溶液和消癌平片供试品溶液分别注入液相色谱仪, 测定峰面积积分值, 由方程计算质量, 从而计算出药材及消癌平片中所含对照品通光藤苷 A 的量, 结果见表 2 和 3。

4 结论

通过对通光藤苷 A 对照品和不同产地药材的扫描, 发现最大吸收波长均在 223 nm 处, 所以检测波长使用 223 nm。测定量相对较低。本实验所采用

表 2 9 批药材通光藤苷 A 的量

Table 2 Determination of tenacisside A in *Marsdeniae Tenacissimae Caulis* from nine habitats

序号	通光藤苷 A / %
SS1	0.86
SS3	0.57
SS4	0.17
SS5	0.55
SS6	0.50
SS7	0.58
SS8	0.91
SS9	0.89

表 3 5 批消癌平片中通光藤苷 A 的量

Table 3 Determination of tenacisside A in five batches of Xiaoaiping Tablets

序号	通光藤苷 A / %
091220	0.45
091221	0.46
091222	0.44
091224	0.45
091227	0.44

的测定方法操作简单, 重现性良好, 可用于通光藤苷 A 的定量测定。

不同产地通光藤药材中通光藤苷 A 差异较大。明显能分为 3 个范围, 药材 SS1、SS8、SS9 接近, 为 0.9% 左右; 药材 SS3、SS5、SS7、SS6 相差不大, 在 0.5%~0.6%; 药材 SS2、SS4 中通光藤苷 A 量相对较低。

消癌平片为通光藤药材水提物制得的制剂, 前期用 D-101 及 ZTC 树脂处理该片剂, 但杂质峰明显, 且方法操作繁琐费时, 后改用液-液萃取法得到的溶液中杂质低, 操作简便省时, 不影响通光藤苷 A 的测定, 可用于消癌平片中通光藤苷 A 的定量测定。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 赵陆华, 朱萱萱, 张忠华, 等. 乌骨藤提取物对人肝癌细胞 (HepG2) 增殖的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(12): 2633-2635.
- [3] 张明智, 何 振, 吴广银, 等. 消癌平对 Ec-9706 食管癌细胞的作用及机制实验 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(5): 1182-1184.
- [4] 李茂全, 沈建华, 胥 彬, 等. 消癌平对 SGC-7901 胃癌细胞的作用及机制的实验研究 [J]. 介入放射学杂志, 2001, 10(4): 228-230.
- [5] 李红岩, 王 威, 董方言. 通光藤化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(7): 1101-1104.
- [6] 谢丽艳, 居文政, 周 玲, 等. 通光藤及其制剂的药理作用和临床应用进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(6): 439-443.
- [7] 于少帅, 陈明苍, 李志雄, 等. 通光藤的化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中国实验方剂杂志, 2011, 17(21): 279-283.