藤黄酸稳定性研究

侯文洁[1,2,3,4]，陈保来[2,3,4]，赵祎武[2,3,4]，萧 伟[2,3,4*]
1. 南京中医药大学，江苏 南京 210046
2. 江苏康缘药业股份有限公司，江苏 连云港 222001
3. 中药制药过程新技术国家重点实验室，江苏 连云港 222001
4. 江苏省企业院士工作站，江苏 连云港 222001

摘 要：目的 考察藤黄酸在高温、高湿、强光照、氧化、稀碱水溶液及不同有机溶剂中的稳定性。**方法** 采用高效液相色谱法测定供试品中藤黄酸的量。**结果** 藤黄酸在稀氢氧化钠溶液、高温、乙醇等有机溶剂中不稳定；在强光照、高湿及氧化条件下较稳定。**结论** 藤黄酸对热较敏感，在稀碱溶液、乙醇中不稳定，制剂研究要考虑避免高温及接触碱性溶液、乙醇。

关键词：藤黄酸；藤黄树；稳定性；降解产物；高效液相色谱法
中图分类号：R284.2；R286.02 **文献标志码：**B **文章编号：**0253 - 2670(2011)09 - 1755 - 04

Stability of gambogic acid

HOU Wen-jie[1,2,3,4], CHEN Bao-lai[2,3,4], ZHAO Yi-wu[2,3,4], XIAO Wei[2,3,4]
1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China
2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China
3. State Key Laboratory of Pharmaceutical Process New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China
4. Enterprises Academician Workstations in Jiangsu Province, Lianyungang 222001, China

Key words: gambogic acid (GA); *Garcinia hanbaryi* Hook.f.; stability; degradation products; HPLC

藤黄酸（gambogic acid，GA）为藤黄科植物藤黄树 *Garcinia hanbaryi* Hook. f. 分泌的干燥树脂中提取纯化获得的有效成分[1-2]。其对 S_{180}、肝癌、艾氏腹水癌等动物移植性肿瘤有明显的抑制作用，其抗癌作用与一般的化疗抗癌药有所区别，能选择性地杀死癌细胞，而对正常的造血细胞和白细胞没有影响，毒性较低，动物耐受良好[3-5]。目前尚未见关于藤黄酸稳定性研究的报道，本研究旨在通过考察湿、热、光、氧化、碱性条件及有机溶剂对藤黄酸稳定性的影响，为该药新剂型研究提供一定的参考。

1 仪器与材料

LC2010AB 岛津液相色谱仪（日本岛津），包含岛津 SPD—20AV 紫外检测器；可程式恒温恒湿试验机（上海高昱测试仪器设备有限公司）；Sartorius BP211D 电子天平（德国赛多利斯）；甲醇、乙醇、乙腈为色谱纯，水为 Milli-Q 超纯水；其他试剂均为分析纯。

藤黄酸（批号 090925、090930、091006、100801，质量分数均大于 90%，江苏康缘药业股份有限公司提供）；藤黄酸对照品（质量分数大于 99%，江苏康缘药业股份有限公司提供）。

2 方法与结果

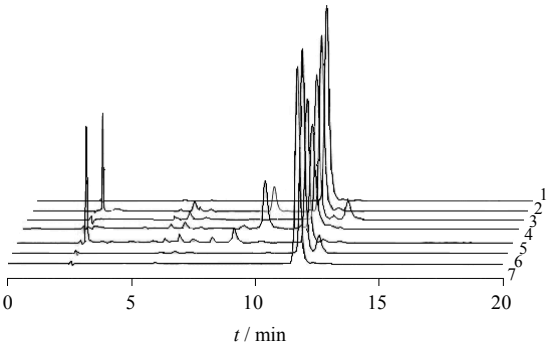
2.1 HPLC 法测定藤黄酸

2.1.1 色谱条件 色谱柱 Agilent Eclipse XDB-C_8 柱（150 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈-0.1% 冰醋酸（80∶20），检测波长 362 nm，柱温 25 ℃，体积流量 1.0 mL/min，进样量 10 μL。色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 取藤黄酸对照品适量，精密称定，加流动相配制成 0.1 mg/mL 藤黄酸对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取藤黄酸适量，精密称定，加流动相配制成质量浓度为 0.1 mg/mL 的藤黄

收稿日期：2010-11-25
作者简介：侯文洁（1985—），女，江苏南京人，南京中医药大学 2008 级硕士研究生，研究方向为中药制剂的研发。
Tel: 13913861900 E-mail: nickyn529@hotmail.com
*通讯作者 萧 伟 E-mail: wzhzh-nj@tom.com



1-对照品　2-缓冲盐溶液　3-乙醇溶液　4-2.5 mmol/L 氢氧化钠溶液
5-0.03%过氧化氢乙腈溶液　6-60 ℃高温　7-强光照射
1-reference substance　2-PBS　3-ethanol　4-2.5 mmol/L NaOH
5-0.03% H_2O_2 acetonitrile　6-60 ℃ high temperature　7-strong light

图 1　藤黄酸稳定性试验 HPLC 色谱图

Fig. 1　HPLC chromatograms of GA stability

酸供试品溶液。

2.1.4　线性关系考察　精密称取藤黄酸对照品 22.51 mg，加流动相配制成藤黄酸质量浓度分别为 225.10、135.06、112.55、90.040、45.020、27.012、18.008 μg/mL 的系列对照品溶液，分别进样测定，记录峰面积。以藤黄酸峰面积积分值对其质量浓度进行线性回归，得回归方程 Y＝14 827.846 8 X－3 595.732 7，r＝0.999 9，表明藤黄酸在 18.008～225.10 μg/mL 线性关系良好。

2.1.5　精密度试验　取 90.040 μg/mL 藤黄酸对照品溶液，进样测定，重复 6 次，计算得其峰面积的 RSD 为 0.08%。

2.1.6　稳定性试验　分别取藤黄酸对照品溶液及供试品溶液，分别于 0、0.5、1、2、4、6、8、12 h 进样测定，计算得藤黄酸峰面积的 RSD 分别为 0.1%、0.1%，表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.7　重现性试验　取藤黄酸适量，制备供试品溶液 6 份，依法测定，外标法计算得藤黄酸质量分数的 RSD 为 0.5%。

2.1.8　回收率试验　分别取已测定的藤黄酸约 10、10、12 mg 各 3 份，精密称定，分别置 250、200、200 mL 量瓶中，再分别加藤黄酸对照品约 10、10、12 mg，精密称定，加流动相制成供试品溶液，依法测定，外标法计算得藤黄酸的平均回收率为 99.9%，RSD 为 0.4%。

2.1.9　样品测定　分别吸取对照品溶液、供试品溶液，依法测定，外标法计算藤黄酸的质量分数。

2.2　稳定性考察

2.2.1　高温试验　取本品适量，分别置 60、40 ℃恒温器中，于第 0、5、10 天取样测定，考察其性状和质量分数的变化，结果见表 1。藤黄酸在 60 ℃条件下不稳定，放置 10 d 性状变化明显，质量分数下降显著；在 40 ℃条件下较稳定，性状无明显变化，质量分数略有降低。

表 1　藤黄酸高温下稳定性结果

Table 1　Stability of GA exposed to high temperature

温度/℃	t / d	性　状	GA/%
60	0	橙黄色粉末	93.67
	5	橙黄色粉末	87.24
	10	橙黄色粉末（结块）	77.09
40	0	橙黄色粉末	93.67
	5	橙黄色粉末	93.12
	10	橙黄色粉末	92.63

2.2.2　高湿试验　取本品适量置表面皿中，铺成 5 mm 厚度的薄层，放入含饱和硝酸钾溶液（相对湿度为 92.5%）的干燥器中，分别于第 0、5、10 天取样测定，考察其性状和质量分数的变化，结果见表 2。高湿条件下藤黄酸稳定性良好，药物性状没有显著变化。

表 2　藤黄酸高湿下稳定性结果

Table 2　Stability of GA exposed to humidity

t / d	性　状	吸湿增加质量/%	GA/%
0	橙黄色粉末	0	93.67
5	橙黄色粉末	0.36	93.55
10	橙黄色粉末	0.85	93.60

2.2.3　强光照射试验　取本品适量置表面皿中，铺成 5 mm 厚度的薄层，放置在照度（4 500±500）lx 的光照箱内，分别于第 0、5、10 天取样测定，考察其性状和质量分数的变化，结果见表 3。强光照射条件下藤黄酸的性状和质量分数均无显著变化，对光较稳定。

2.2.4　强氧化试验　取藤黄酸约 10 mg，置 100 mL 量瓶中，适量乙腈溶解，加 3% H_2O_2 溶液 1 mL，乙

表 3　藤黄酸光照下稳定性结果

Table 3　Stability of GA exposed to light

t / d	性　状	GA/%
0	橙黄色粉末	93.67
5	橙黄色粉末	93.70
10	橙黄色粉末	93.60

腈稀释至刻度，摇匀，室温放置，分别于第 0、5、10 天取样测定，考察其溶液性状和质量分数的变化，结果见表 4。强氧化条件下藤黄酸溶液的性状无明显变化，其质量分数略有下降，对氧化剂 H_2O_2 较稳定。

表 4 藤黄酸强氧化下稳定性结果

Table 4 Stability of GA exposed to H_2O_2

t / d	性 状	GA/%
0	淡黄色澄明溶液	93.62
5	淡黄色澄明溶液	93.01
10	淡黄色澄明溶液	92.30

2.2.5 稀碱水溶液中的稳定性 取藤黄酸约 10 mg，加 2.5 mmol/L 氢氧化钠溶液稀释至 100 mL 量瓶中，室温放置，分别于 0、0.5、1、2、4 h 取样测定，考察其溶液性状和质量分数的变化。结果见表 5。在稀碱水溶液中，藤黄酸溶液的性状无明显变化，但质量分数显著下降，表明藤黄酸降解显著。

表 5 藤黄酸稀碱水溶液中的稳定性

Table 5 Stability of GA exposed to dilute alkaline solution

t / h	性 状	GA /%
0	红黄色澄明溶液	93.47
0.5	红黄色澄明溶液	82.30
1	红黄色澄明溶液	70.78
2	红黄色澄明溶液	49.10
4	红黄色澄明溶液	8.36

2.2.6 缓冲盐溶液中的稳定性 取藤黄酸约 10 mg，加醋酸铵缓冲液（pH 8.0）溶解并定容至 100 mL 量瓶中，室温放置，分别于 0、1、2、4、6、8 h 取样测定，考察其溶液性状和质量分数的变化。结果见表 6。藤黄酸在缓冲盐溶液中性状无明显变化，但质量分数有所下降，表明藤黄酸有降解。

2.2.7 有机溶剂中的稳定性 分别取藤黄酸约 10 mg 4 份，置 150 mL 圆底烧瓶中，分别加乙醇、乙腈、醋酸乙酯、丙酮各 100 mL，40 ℃水浴加热，分别于 0、1、2、4、6、8 h 取样测定，考察其质量分数的变化。结果见表 7。藤黄酸在乙醇中不稳定，而在乙腈、醋酸乙酯、丙酮中较稳定。

表 6 藤黄酸缓冲盐溶液中的稳定性

Table 6 Stability of GA exposed to buffer solution

t / h	性 状	GA/%
0	淡黄色澄明溶液	93.58
1	淡黄色澄明溶液	93.01
2	淡黄色澄明溶液	92.37
4	淡黄色澄明溶液	91.86
6	淡黄色澄明溶液	91.25
8	淡黄色澄明溶液	90.79

表 7 藤黄酸在不同有机溶剂中的稳定性

Table 7 Stability of GA exposed to organic solvents

t / h	GA/%			
	乙醇	乙腈	醋酸乙酯	丙酮
0	93.51	93.62	93.59	93.46
1	90.02	93.54	93.62	93.51
2	82.13	93.60	93.58	93.62
4	75.66	93.48	93.43	93.57
6	70.45	93.46	93.65	93.52
8	73.32	93.57	93.39	93.48

2.2.8 加速及长期稳定性试验 取 3 批藤黄酸（批号 090925、090930、091006）模拟市售包装，按《中国药典》2010 年版二部附录 XIX C 进行加速及长期稳定性试验，考察其性状和质量分数的变化。结果见表 8、9。样品经（40±2）℃、相对湿度（75±5）%条件的加速试验，性状未发生显著变化，质量分数略有降低；室温放置 1 年，其性状未发生明显变化，质量分数降低不明显。

3 讨论

稳定性研究结果表明藤黄酸主要受温度、乙醇和碱性水溶液的影响，在 60 ℃高温条件下产生降

表 8 加速试验结果

Table 8 Results of accelerated test

批 号	0 个月		1 个月		2 个月		3 个月		6 个月	
	性 状	GA/%	性 状	GA/%	性 状	GA/%	性 状	GA/%	性 状	GA/%
090925	橙黄色粉末	93.47	橙黄色粉末	93.01	橙黄色粉末	92.63	橙黄色粉末	92.27	橙黄色粉末	91.17
090930	橙黄色粉末	93.95	橙黄色粉末	93.47	橙黄色粉末	93.06	橙黄色粉末	92.73	橙黄色粉末	91.66
091006	橙黄色粉末	92.89	橙黄色粉末	92.35	橙黄色粉末	91.97	橙黄色粉末	91.61	橙黄色粉末	90.64

表 9　长期稳定性试验结果

Table 9　Results of long-term stability test

批 号	0 个月		3 个月		6 个月		9 个月		12 个月	
	性　状	GA/%	性　状	GA/%	性　状	GA/%	性　状	GA/%	性　状	GA/%
090925	橙黄色粉末	93.47	橙黄色粉末	93.30	橙黄色粉末	93.11	橙黄色粉末	92.95	橙黄色粉末	92.43
090930	橙黄色粉末	93.95	橙黄色粉末	93.71	橙黄色粉末	93.52	橙黄色粉末	93.30	橙黄色粉末	92.76
091006	橙黄色粉末	92.89	橙黄色粉末	92.66	橙黄色粉末	92.43	橙黄色粉末	92.21	橙黄色粉末	91.74

解，主要降解产物在色谱图上表现为相对保留时间 1.06（图 1），质谱扫描，分子离子峰 *m*/*z* 629，参考文献数据[6]可能为藤黄酸 C-2 位的同分异构体；在高温醇溶液中的主要降解产物可能为藤黄酸与醇的加成产物；在碱性水溶液中的主要降解产物可能为藤黄酸与水的加成产物，具体结构有待进一步确证。鉴于此，在药物储运过程中要避免高温条件，提示在药物新剂型开发时应避免使用高温条件及强碱性溶液、醇类试剂，另外可以采用冷冻干燥、低温保存等方法，从而避免温度对藤黄酸的影响。

参考文献

[1] 侯文洁, 萧　伟. 藤黄酸的研究进展 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 617-620.

[2] 叶定红, 吴　皓, 胡　永, 等. 藤黄及其炮制品中藤黄酸的含量比较 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(10): 601-602.

[3] 黄恺飞. 藤黄酸诱导胃癌细胞凋亡及抗肿瘤转移的实验研究 [J]. 中草药, 2010, 41(11): 1823-1828.

[4] 崔国惠, 舒文秀, 吴　青, 等. 藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钾通道蛋白的调控作用 [J]. 中草药, 2009, 40(6): 915-919.

[5] 舒文秀, 陈　燕, 何　静, 等. 藤黄酸对急性白血病细胞 U937 增殖和凋亡的影响及对核孔蛋白 Nup88 的调控作用 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 74-78.

[6] 周　安, 李庆林, 彭代银, 等. 高校液相色谱-质谱联用法鉴定中药藤黄中桥环类化合物 [J]. 药学学报, 2008, 43(8): 838-842.

天津中草药杂志社开通网上在线投稿系统

天津中草药杂志社编辑出版的 4 种期刊《中草药》、*Chinese Herbal Medicines*（CHM，中草药英文版）、《现代药物与临床》（原刊名《国外医药·植物药分册》）、《药物评价研究》（原刊名《中文科技资料目录·中草药》），为提高稿件处理效率，更好地为广大读者和作者服务，中草药杂志社开通网上在线投稿系统。

1. 在线投稿请登陆天津中草药杂志社网站: **http://www.中草药杂志社.中国或 www.tiprpress.com** 点击进入 4 刊网页，在页面左侧有“作者登录”链接，第一次登陆按操作说明注册后进行在线投稿；作者可通过点击“作者登录”进行稿件查询。

2. 原则上不再采用电子邮件、纸质投稿。

衷心感谢广大读者、作者和编委对本刊长期以来的关心和支持！

天津中草药杂志社