

# HPLC-ELSD法检测消癌平丸中通关藤苷H的含量及稳定性考察

薛敏强\*,刘显锋(宛西制药股份有限公司,河南南阳 474500)

中图分类号 R283.64;R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)19-1777-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.19.16

**摘要** 目的:测定消癌平丸中通关藤苷H的含量,并考察其稳定性。方法:采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法测定消癌平丸中通关藤苷H的含量;分别于下列条件测定消癌平丸中通关藤苷H的含量:(1)温度(25±2)℃、相对湿度(60±10)%,将3批消癌平丸放置0、3、6、9、12个月;(2)温度(30±2)℃、相对湿度(65±5)%,将3批消癌平丸放置0、1、2、3、6个月;(3)温度(40±2)℃、相对湿度(75±5)%,将3批消癌平丸放置0、1、2、3、6个月。结果:通关藤苷H的进样量在0.390 2~3.902 0 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系( $r=0.998\ 0$ );平均加样回收率为99.03%,RSD=1.75%。通关藤苷H在条件(1)下基本稳定,在条件(2)和(3)下不稳定,其RSD>3%。结论:采用HPLC-ELSD法测定消癌平丸中通关藤苷H的含量,样品中通关藤苷H与其他色谱峰完全分离,且峰形良好,可作为消癌平丸中通关藤苷H的含量测定方法。稳定性试验结果显示,通关藤苷H在消癌平丸中不稳定,不宜作为消癌平丸的质量控制指标。

**关键词** 消癌平丸;通关藤苷H;稳定性;含量测定;高效液相色谱-蒸发光散射检测器法

## Content Determination and Stability of Tenacissoside H in Xiaoaiping Pills

XUE Min-qiang, LIU Xian-feng (Henan Province Wanxi Pharmaceutical Co., Ltd., Henan Nanyang 474500, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To determine the contents of tenacissoside H in Xiaoaiping pills, and to investigate the stability of it. METHODS: The contents of tenacissoside H in Xiaoaiping pills were determined by HPLC-ELSD. The contents of tenacissoside H in Xiaoaiping pills were determined under the following conditions: (1) at (25±2)℃, relative humidity of (60±10)%, keeping for 0, 3, 6, 9, 12 months; (2) at (30±2)℃, relative humidity of (65±5)%, keeping for 0, 1, 2, 3, 6 months; (3) at (40±2)℃, relative humidity of (75±5)%, keeping for 0, 1, 2, 3, 6 months. RESULTS: The linear range of tenacissoside H were 0.390 2-3.902 0 μg ( $r=0.998\ 0$ ) with an average recovery of 99.03% (RSD=1.75%,  $n=6$ ). The content of tenacissoside H kept stable under the condition of (1) but was not stable under the condition of (2) and (3). CONCLUSIONS: The method is accurate and feasible, but tenacissoside H can not used as quality control index of Xiaoaiping pills.

**KEYWORDS** Xiaoaiping pills; Tenacissoside H; Stability; Content determination; HPLC-ELSD

消癌平丸为宛西制药股份有限公司生产的新药,是由消癌平片经剂型改革研制而成的丸剂,原剂型收载于《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂》第二十册<sup>[1]</sup>。其由乌骨藤(通关藤)加水提取、浓缩后加入辅料制成,具有抗癌、消炎、平喘的功效,临床用于食道癌、胃癌、肺癌的治疗,对大肠癌、宫颈癌、白血病等多种恶性肿瘤,亦有一定疗效,亦可配合放疗、化疗及手术后治疗,也用于治疗慢性气管炎和支气管哮喘。方中药材乌骨藤(通关藤)为萝藦科植物乌骨藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn. 的干燥藤茎<sup>[2]</sup>,产于贵州、云南等地,为常用的传统中药,性苦、微寒,具有清热解毒、止咳平喘、通乳、抗癌的功效,主治咽喉肿痛、肺热咳喘、湿热黄疸、小便不利、乳汁不通、癌肿、疮疖等。现代药理研究结果表明,乌骨藤(通关藤)具有抗肿瘤、平喘的作用<sup>[3]</sup>。当前市售的消癌平片剂工艺复杂,将其制成丸剂,以简化工艺。消癌平片质量标准中只有片剂的常规检查和简单的理化鉴别控制产品质量。为了有效控制药品质量,本实验建立了高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法测定消癌平丸中通关

藤苷H的方法,并考察了消癌平丸中通关藤苷H的稳定性。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LHH-250SD 药物稳定性试验箱(上海一恒科学仪器有限公司);Waters E2695型HPLC仪及其化学工作站(美国Waters公司);AG-1602型空气泵(北京科普生分析科技公司);KQ300DE型数控超声波清洗器(功率:300 W,频率:40 kHz,昆山市超声仪器有限公司);BP211D型十万分之一电子天平(德国Satorius公司)。

### 1.2 药品与试剂

通关藤苷H对照品(批号:111913-201202,供含量测定用,纯度:99.8%,中国食品药品检定研究院);消癌平丸样品(塑料瓶装,铝塑封口)由宛西制药股份有限公司提供;甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 通关藤苷H含量测定方法的建立

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Xtimate C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(50:50, V/V);流速:1.0 ml/min;ELSD检测器雾化温度:50℃;空气压力:20 psi。

\*工程师。研究方向:药品质量控制。E-mail:radioxuemin@163.com

## 2.2 对照品溶液的制备

精密称取通关藤苷H对照品19.55 mg(纯度:99.8%),置100 ml容量瓶中,加甲醇溶解并定容至100 ml,摇匀,即得通关藤苷H质量浓度为0.1951 mg/ml的对照品溶液。

## 2.3 供试品溶液的制备

取消癌平丸适量,研细,取约5 g,精密称定后置于50 ml容量瓶中,加入甲醇约40 ml,超声处理45 min(功率:250 W,频率:40 kHz),放冷,用甲醇定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液25 ml,蒸至近干,残渣用甲醇溶解,转移至5 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

## 2.4 阴性对照溶液的制备

按制法要求制成缺乌骨藤的阴性样品,按“2.3”项的供试品溶液制备方法制成缺乌骨藤的阴性样品溶液。

## 2.5 测定法

分别精密吸取对照品溶液5 μl和20 μl,供试品溶液10 μl,注入液相色谱仪测定,用外标两点法对数方程计算。

## 2.6 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液(0.1951 mg/ml)2、5、10、15、20 μl进样,注入高效液相色谱仪中,按“2.1”项色谱条件测定峰面积。以进样质量(μg)取对数为横坐标(x),峰面积积分为纵坐标(y),进行线性回归,得回归方程为 $y=1.533x+7.3018$ , $r=0.9980$ 。结果表明,通关藤苷H进样量在0.3902~3.9020 μg范围内与峰面积积分值线性关系良好。

## 2.7 阴性对照试验

精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进行分析,结果显示供试品溶液色谱中,在与通关藤苷H对照品相同保留时间处有吸收峰,而阴性样品溶液在相同保留时间处未显示吸收峰,见图1。

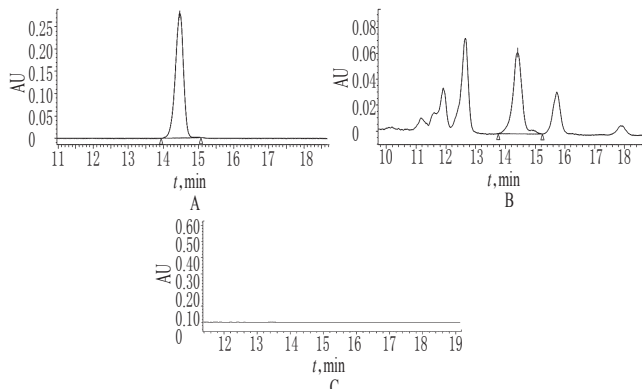


图1 高效液相色谱图

A. 通关藤苷H对照品; B. 供试品; C. 阴性对照

Fig 1 HPLC chromatograms

A. tenacissoside H control; B. test sample; C. negative control

## 2.8 精密度试验

分别精密吸取通关藤苷H对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件分别连续进样6次,测定峰面积。结果显示,RSD=1.62%,表明本方法精密度良好。

## 2.9 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液10 μl,分别于0、3、6、9、12 h进

样,求得峰面积的RSD=1.98%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

## 2.10 重复性试验

取同一供试品样品(批号120601)粉末适量,共6份,按“2.3”项的制备方法制备6份供试品溶液,分别进行测定,计算得通关藤苷H平均含量为0.148 mg/g,RSD=1.51%,表明本方法重复性良好。

## 2.11 加样回收率试验

取重复性试验项下样品粉末6份,每份约2.5 g,各精密加入通关藤苷H对照品溶液(0.1951 mg/ml)2 ml,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别进行测定,计算回收率。结果,平均加样回收率为99.03%,RSD=1.75%,见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests (n=6)

序号	取样量,g	样品中原有量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
1	2.5019	0.3703	0.3902	0.7536	98.23		
2	2.5036	0.3705	0.3902	0.7543	98.46		
3	2.5067	0.3710	0.3902	0.7645	100.85	99.03	1.75
4	2.5011	0.3702	0.3902	0.7511	97.62		
5	2.5006	0.3701	0.3902	0.7504	97.46		
6	2.5096	0.3714	0.3902	0.7676	101.54		

## 3 稳定性试验

### 3.1 检测标准

稳定性试验参照《中国药典》<sup>[3]</sup>2010版(二部)附录中“药物制剂稳定性试验指导原则”要求测定。

### 3.2 长期稳定性试验

取消癌平丸120601、120602、120603 3个批次的样品各15瓶,各分成5份(每份3瓶)置于药物稳定性试验箱,在(25±2)℃、相对湿度60%±10%条件下分别放置0、3、6、9、12个月,检测通关藤苷H的含量。

### 3.3 加速稳定性试验

取消癌平丸120601、120602、120603 3个批次的样品各30瓶,各分成10份(每份3瓶)分别置于药物稳定性试验箱,分别在(30±2)℃、相对湿度65%±5%和(40±2)℃、相对湿度75%±5%条件下放置0、1、2、3、6个月,分别检测通关藤苷H的含量。

### 3.4 样品测定结果

分别取放置0、1、2、3、6、9、12个月的消癌平丸样品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,进样测定,记录峰面积,计算通关藤苷H含量,结果见表2。结果表明,在(40±2)℃、相对湿度75%±5%条件下放置1、2、3、6个月的消癌平丸3批样品中,通关藤苷H含量分别平均下降了19.84%、28.94%、42.82%、58.37%,下降明显;在(30±2)℃、相对湿度65%±5%条件下放置1、2、3、6个月的消癌平丸3批样品中,通关藤苷H含量分别平均下降了3.90%、10.86%、19.51%、29.36%,下降明显;在(25±2)℃、相对湿度60%±10%条件下放置3、6、9、12个月的消癌平丸3批样品中,通关藤苷H含量分别平均下降了4.30%、6.69%、8.83%、14.83%,有下降趋势,下降不明显;RSD值均>3%,说明通关藤苷H在消癌平丸中不稳定,不

表2 稳定性试验结果(mg/ml, n=5)  
Tab 2 Results of stability tests(mg/ml, n=5)

放置时间,月	(40±2)℃、相对湿度(75±5)%			(30±2)℃、相对湿度(65±5)%			(25±2)℃、相对湿度(60±5)%		
	120601	120602	120603	120601	120602	120603	120601	120602	120603
0	0.148	0.137	0.132	0.148	0.137	0.132	0.148	0.137	0.132
1	0.126	0.108	0.101	0.145	0.121	0.125	-	-	-
2	0.112	0.096	0.089	0.135	0.109	0.116	-	-	-
3	0.091	0.075	0.073	0.125	0.109	0.104	0.141	0.131	0.127
6	0.065	0.058	0.051	0.109	0.095	0.091	0.137	0.128	0.124
9	-	-	-	-	-	-	0.133	0.126	0.121
12	-	-	-	-	-	-	0.124	0.118	0.113
RSD	28.99	32.09	34.06	12.10	13.77	14.45	6.56	5.44	5.75

注:“-”未检测

note:“-” no detected

宜作为消癌平丸的质量控制指标。

#### 4 讨论

本制剂中的原料药材乌骨藤主要含有酯类、多糖、绿原酸等成分<sup>[4-6]</sup>,但目前仅有绿原酸、通关藤苷H对照品出售,绿原酸在很多药材中存在,文献中多以绿原酸为指标来评价通关藤(乌骨藤)提取物制成的消癌平制剂的质量<sup>[7-9]</sup>,不具有专属性,故本研究以通关藤苷H作为定量控制指标成分。考虑到不同的流动相及比例对通关藤苷H洗脱分离能力不同,应选择合适的色谱条件。有研究者以乙腈-水(50:50, V/V)<sup>[10-11]</sup>、甲醇-水(75:25, V/V)<sup>[12]</sup>为流动相,结果发现乙腈-水(50:50, V/V)样品中通关藤苷H与其他色谱峰完全分离,且峰形良好,可作为消癌平丸中通关藤苷H的含量测定条件。

稳定性试验结果显示,通关藤苷H在消癌平丸中不稳定,不宜作为消癌平丸的质量控制指标。

#### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂:第二十册[S].1998:277.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].1977年版.北京:人民卫生出版社,1977:507.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010版.

北京:中国医药科技出版社,2010:附录199.

- [4] 刘峰群,曹红,靳守东,等.比色法测定消癌平注射液中总酚酸的含量[J].华西药学杂志,2003,18(3):220..
- [5] 南京中医药大学.中药大辞典:下册[M].2版.上海:上海科学技术出版社,2005:2774-2775.
- [6] 张慧,裴志东,李春雪,等.乌骨藤的化学成分研究[J].中国中药杂志,2010,35(23):3175.
- [7] 王青.HPLC法测定消癌平注射液中绿原酸的含量[J].中医药导报,2006,12(3):60.
- [8] 卜文奎,任爽,张晓宇,等.消癌平片中绿原酸的含量测定[J].中国实用医药,2008,3(12):135.
- [9] 杨毅生,王栋,刘敏.HPLC法测定消癌平糖浆中绿原酸的含量[J].现代测量与实验室管理,2010,18(1):15.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版第一增补本[S].北京:中国医药科技出版社,2012:114.
- [11] 李华丽,卢燕,胡嘉蕴,等.HPLC-ELSD测定通关藤中通关藤苷H的含量[J].中国中药杂志,2010,35(16):2083.
- [12] 党小平.乌骨藤皂苷类成分及其总皂苷制备工艺研究[D].南京:南京中医药大学,2009.

(收稿日期:2013-09-17 修回日期:2014-03-03)

## 国家中医药管理局副局长马建中一行赴山西调研

本刊讯 国家中医药管理局副局长马建中一行就中医师执业及准入制度、中医医院“治未病”工作及中医预防保健服务体系、基层中医药工作开展等情况赴山西调研。

中医师执业问题与百姓健康息息相关。在太原、运城召开的中医师执业暨准入制度专题调研座谈会上,调研组通过与各级卫生计生行政部门领导和法监人员、中医药管理部门人员、医疗机构代表、民间中医从业人员代表的交流,详细了解了中医类别执业医师的分类、医师资格考试内容及中西医知识比例、中医从业人员执业范围和地点、中医一技之人员合法执业、保障中医师的合理权益等情况。

调研组还深入太原、晋中、临汾、运城四市的市、县级中医院以及社会养生保健机构、民营中医院、乡镇卫生院和村卫生室,了解各地中医医院“治未病”工作开展情况、中医预防保健服务体系、中西医结合医院办院模式及服务模式、基层中医药工作开展情况等。

马建中副局长在调研中指出,各中医医院要充分认识医改工作的紧迫性和重要性,重视学科、专科和人才队伍建设,加强精细化管理,不断提高服务能力和医疗水平,充分发挥中医药在医改中的特色和优势。