

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.03.010

高效液相色谱法测定消癌平注射液中通关藤苷 G 含量

王祁民, 马银玲, 李颖, 安静

(河北省人民医院药学部, 河北 石家庄 050051)

摘要:目的 建立测定消癌平注射液中通关藤苷 G 含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱采用 Symmetry C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液(45:55), 等度洗脱, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 230 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 20 μL。结果 通关藤苷 G 质量浓度在 4~80 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好; 平均加样回收率为 98.58%, RSD 为 0.99% (n=9)。结论 该方法准确、简便、可靠, 可为消癌平注射液的质量控制提供参考。

关键词: 高效液相色谱法; 消癌平注射液; 通关藤苷 G; 含量测定

中图分类号: R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)03-0033-02

Content Determination of Tenacissoside G in Xiaoaiping Injection by HPLC

Wang Qimin, Ma Yinling, Li Ying, An Jing

(Department of Pharmacy, Hebei General Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China 050051)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for content determination of the tenacissoside G in Xiaoaiping Injection. **Methods** Symmetry C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was adopted, the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric-acid water solution (45:55) with isocratic elution, the flow rate was 1 mL/min, the detection wavelength was 230 nm, the column temperature was 25 ℃, and the sample size was 20 μL. **Results** The tenacissoside G had good linear relationship in the range of 4-80 μg/mL. The average recovery rate was 98.85%, RSD was 0.99% (n=9). **Conclusion** The method is accurate, simple and reliable, which can provide reference for the quality control of Xiaoaiping Injection.

Key words: HPLC; Xiaoaiping Injection; tenacissoside G; content determination

消癌平注射液为通关藤(乌骨藤)的根、藤茎提取物制成的水溶液,具有止咳平喘、清热解毒、化痰软坚等功效,主要用于治疗肺癌、胃癌、肝癌、食道癌等各种恶性肿瘤^[1-3],疗效较好,但仍见不良反应报道^[4],因此需要对其成分进行分析。消癌平注射液含多种成分,包括酚酸类、C₂₁甾体苷类、甾醇/环醇类、多糖类、三萜类化合物等,近年的研究显示,其主要活性成分为甾体苷类化合物^[5]。本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法测定其中通关藤苷 G 的含量。现报道如下。

1 仪器与试剂

仪器: Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器(美国 Waters 公司); PHs-3c 型电子 pH 计(上海雷磁仪器厂); AB204-S 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 仪器有限公司); KQ3200 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 雷勃尔 LG16-B 型高速离心机(北京雷勃尔离心机有限公司)。

试剂: 通关藤苷 G 对照品(北京北纳创联生物技术研究院, 批号为 160103, 纯度>98%); 消癌平注射液(南京圣和制药股份有限公司, 国药准字 Z20025868, 批号分别为 201603111, 201603021, 201604191, 规格为每支 20 mL); 甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Merk 公司), 水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Symmetry C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);

流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液(45:55); 检测波长: 230 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 25 ℃; 进样量: 20 μL。

2.2 溶液制备

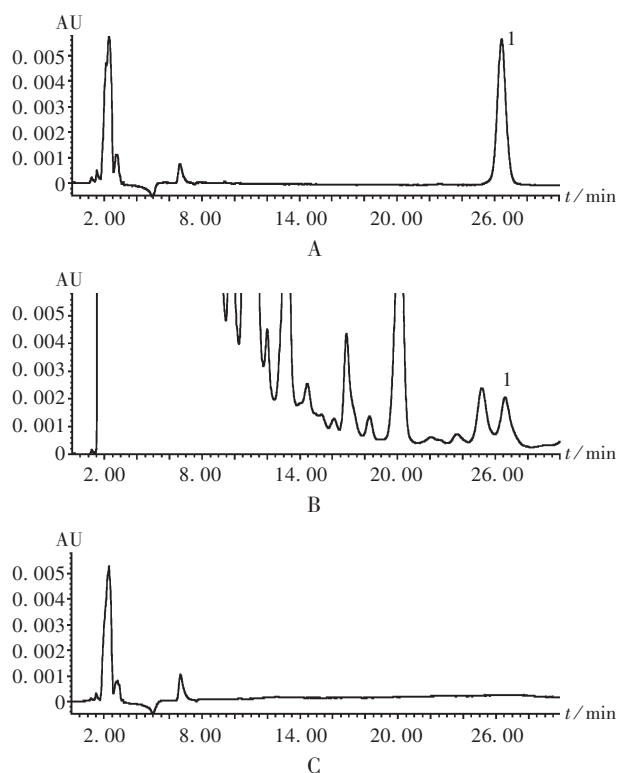
取消癌平注射液, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 离心(12 000 r/min)10 min, 取上清液作为供试品溶液。取通关藤苷 G 对照品 13.4 mg, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 得通关藤苷 G 质量浓度为 1.34 g/L 的对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性考察: 取对照品溶液适量, 用甲醇稀释, 得质量浓度为 67 μg/mL 的对照品溶液。分别精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液(甲醇)各 20 μL, 进样测定。结果显示, 阴性对照无干扰。色谱图见图 1。

标准曲线绘制: 精密量取对照品溶液, 用甲醇稀释成质量浓度为 4, 6, 8, 10, 20, 40, 60, 80 μg/mL 的系列溶液, 按拟订色谱条件进样测定, 记录色谱图。以色谱峰面积(Y)为纵坐标、待测物质量浓度(X)为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 5 \times 10^6 X - 6\,011.7$ ($r = 0.999\,4$)。结果表明, 通关藤苷 G 质量浓度在 4~80 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 取对照品溶液适量, 制备成通关藤苷 G 低、中、高质量浓度(20.1, 33.5, 40.2 μg/mL)的对照品溶液, 分别重复进样 6 次, 记录峰面积。结果低、中、高质



1. 通关藤苷 G

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图1 高效液相色谱图

量浓度对照品溶液的 RSD 分别为 1.36%, 1.79% 和 2.11% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 时按拟订色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果的 RSD 为 2.05% ($n=6$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

重复性试验: 取同一批(批号为 201603021)样品 6 份, 依法制备供试品溶液, 按拟订色谱条件进样测定。结果的 RSD 为 1.42% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

耐用性试验: 取同一批(批号为 201603021)样品, 改变流动相中磷酸含量(分别为 0.05%, 0.1%, 0.15%)后进行测定, 结果的 RSD 为 1.83% ($n=6$); 改变柱温(分别为 20 °C, 25 °C, 30 °C)后进行测定, 结果的 RSD 为 1.32% ($n=6$); 按拟订色谱条件, 分别用色谱柱 Symmetry C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Kromasil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Phenomenex Gemini C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 进行测定, 结果的 RSD 为 1.78% ($n=6$)。结果表明该方法试验耐用性良好。

加样回收试验: 取供试品溶液适量, 共 9 份, 分别加入同体积低、中、高质量浓度(6.7, 10.1, 13.4 μg/mL)对照品溶液, 分别精密吸取混合溶液 20 μL, 注入色谱仪, 测定, 以峰面积计算回收率。结果见表 1。

2.4 样品含量测定

取 3 批样品, 依法制备供试品溶液, 按拟订色谱条件进样测定峰面积, 计算含量。结果 3 批(批号分别为

表 1 通关藤苷 G 加样回收试验结果 ($n=9$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
10.02	6.68	16.65	99.25		
10.02	6.68	16.47	96.56		
10.02	6.68	16.57	98.05		
10.02	10.10	19.99	98.71		
10.02	10.10	19.89	97.72	98.58	0.99
10.02	10.10	20.07	99.51		
10.02	13.42	23.27	98.73		
10.02	13.42	23.37	99.48		
10.02	13.42	23.33	99.18		

201603111, 201603021, 201604191) 样品通关藤苷 G 含量分别为 9.98, 10.02, 10.07 μg/mL。

3 讨论

经全波长扫描, 通关藤苷 G 的最大吸收波长为 230 nm, 因此确定 230 nm 为检测波长。流动相筛选发现, 以乙腈-水(45:55)等度洗脱时, 对照品溶液中通关藤苷 G 出峰较好, 但供试品溶液中的通关藤苷 G 与相邻色谱峰分离度较差; 以乙腈-0.1% 磷酸水溶液(45:55)为流动相时, 通关藤苷 G 色谱峰与相邻峰分离好(分离度大于 1.5), 故最终选定等度洗脱。

消癌平注射液含有甾体皂苷、酚酸、萜类、多糖等多种成分^[6], C21 甾体皂苷是其主要活性成分^[7]。目前, 从通关藤药材中提取分离出的 C21 甾体皂苷达 50 多种^[8], C21 甾体皂苷是一类苷元为孕甾烷衍生物与 2-去氧糖等形成的苷, 广泛分布于龙胆科、薯蓣科、毛茛科、夹竹桃科、萝藦科等植物。通关藤苷 G 在通关藤药材中有一定含量, 但在消癌平注射液中的含量需要建立可行的方法测定才能明确, 结合预试验结果, 最终选择通关藤苷 G 作为消癌平注射液含量测定的指标成分。

参考文献:

- [1] 李述娜, 王芳, 钦松, 等. 消癌平注射液抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(9): 111-112.
- [2] 谢丽艳. 消癌平注射液药物相互作用研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2013.
- [3] 曾庆花. 消癌平注射液的药代动力学及相互作用研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2013.
- [4] 朱红, 刘峰群. 医院 13 例消癌平注射液不良反应报告分析[J]. 中国药业, 2015, 24(17): 69-70.
- [5] 钱军, 华海涛, 秦叔逵. 通关藤制剂抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(1): 11-13.
- [6] 韩丽, 张慧, 康廷国, 等. 中药通关藤的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(10): 2329-2331.
- [7] 谢丽艳, 居文政, 周玲, 等. 通关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.
- [8] 方奕奇, 孙雪梅. 通关藤化学成分及抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(2): 165-167.

(收稿日期: 2017-10-12; 修回日期: 2017-11-12)