

通关藤饮片中两种特异性C21甾体皂苷含量测定方法的建立^Δ

王祁民^{1*}, 鞠倩¹, 范理菊^{1,2}, 李颖^{1,2}, 马银玲^{1,2}, 董占军^{1,2#} (1. 河北省人民医院药学部, 石家庄 050051; 2. 河北省临床药学重点实验室, 石家庄 050051)

中图分类号 R917;R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)17-2254-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.17.07



摘要 **目的** 建立通关藤饮片中两种特异性C21甾体皂苷——11-*O*-异丁酰基-12-*O*-乙酰基通关藤苷元B-3-*O*-茯苓二糖基(化合物T)与17 β -通关藤苷元B的含量测定方法。**方法** 采用超高效液相色谱-串联质谱联用法(UPLC-MS/MS), 用XSelect HSS T3 XP色谱柱, 以0.1%甲酸水-甲醇为流动相进行梯度洗脱, 流速为0.3 mL/min, 进样量为5 μ L, 柱温为40 $^{\circ}$ C; 质谱采用电喷雾离子源, 以多反应监测模式进行正/负离子采集。**结果** 化合物T和17 β -通关藤苷元B的质量浓度分别在10~200、20~200 ng/mL范围内与峰面积呈良好线性关系, r 分别为0.993 1、0.998 6; 精密度、重复性、准确度及稳定性的RSD均小于4.5% ($n=5\sim6$); 在3批饮片中的含量分别为94.0~102.8、1 705.4~1 736.2 μ g/g。**结论** 所建立的方法可用于通关藤饮片中上述两种特异性C21甾体皂苷的含量测定。

关键词 通关藤; 11-*O*-异丁酰基-12-*O*-乙酰基通关藤苷元B-3-*O*-茯苓二糖基; 17 β -通关藤苷元B; 含量测定

Establishment of content determination method for two specific C21-steroid saponins in *Marsdenia tenacissima* decoction pieces

WANG Qimin¹, JU Qian¹, FAN Liju^{1,2}, LI Ying^{1,2}, MA Yinling^{1,2}, DONG Zhanjun^{1,2} (1. Dept. of Pharmacy, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China; 2. Hebei Key Laboratory of Clinical Pharmacy, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish a content determination method for two specific C21-steroid saponins namely 3-*O*- β -allopypyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -oleandropyranosyl-11-*O*-isobutyryl-12-*O*-acetyl tenacigenin B (compound T) and 17 β -tenacigenin B in *Marsdenia tenacissima* decoction pieces. **METHODS** Ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was adopted. An XSelect HSS T3 XP chromatographic column was used. Gradient elution was performed with 0.1% formic acid aqueous solution-methanol as the mobile phase. The flow rate was 0.3 mL/min, the injection volume was 5 μ L, and the column temperature was 40 $^{\circ}$ C. An electrospray ionization source was applied for mass spectrometry, and multiple reaction monitoring mode was used for positive- and negative-ion acquisition. **RESULTS** The linear relationships of compound T and 17 β -tenacigenin B were good within the concentration ranges of 10-200 ng/mL and 20-200 ng/mL, with r values of 0.993 1 and 0.998 6, respectively; the RSD values of precision, repeatability, accuracy, and stability were all below 4.5% ($n=5\sim6$). Their contents in three batches of decoction pieces were 94.0-102.8 μ g/g and 1 705.4-1 736.2 μ g/g, respectively. **CONCLUSIONS** The established method can be applied for the content determination of the two specific C21-steroid saponins mentioned above in *M. tenacissima* decoction pieces.

KEYWORDS *Marsdenia tenacissima*; 3-*O*- β -allopypyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -oleandropyranosyl-11-*O*-isobutyryl-12-*O*-acetyl tenacigenin B; 17 β -tenacigenin B; content determination

通关藤饮片由萝藦科植物通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn. 的干燥茎炮制而成。通关藤最早记载于《滇南本草》, 别名乌骨藤、通光散、通关

散、通光藤、下奶藤等, 有清热解毒、止咳平喘、祛痰通乳之功^[1-2]。现代药理研究证实, 通关藤具有显著的抗肿瘤、抗炎、祛风湿等作用^[3-4], 其单方制剂消癌平已广泛应用于肝癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤的临床治疗, 疗效确切^[5-6]。

通关藤化学成分复杂, 主要包含甾体皂苷、多糖、萜类、有机酸等成分, 其中C21甾体皂苷类化合物是其抗肿瘤、抗炎的特异性药效物质基础之一^[3-4]。目前从通关藤中分离鉴定的C21甾体皂苷类单体已达100余种^[3], 但受限与分离纯化与检测技术, 可实现定性、定量分析的

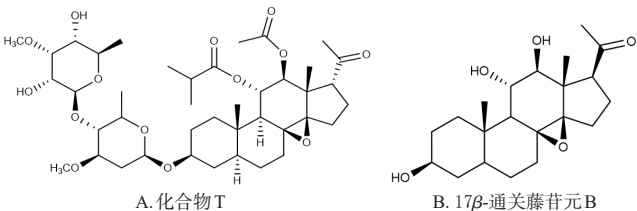
Δ 基金项目 国家自然科学基金项目(No.82104286); 河北省自然科学基金项目(No.H2020307043); 河北省医学科学研究课题(No.20230353)

* 第一作者 副主任药师, 硕士。研究方向: 药理学。E-mail: wangqimin8@qq.com

通信作者 主任药师, 硕士生导师。研究方向: 药物评价、药理学。E-mail: 13313213656@126.com

单体成分较少。李思雨等^[7]与吕磊等^[8]分别采用高效液相色谱-二极管阵列检测器-蒸发光散射检测器联用法及高效液相色谱(HPLC)法,测定了不同产地通关藤中皂苷G、H、I的含量;李洋等^[9]采用高效液相色谱-电喷雾电离-质谱联用法测定了消癌平注射液中上述3种皂苷的含量。本课题组前期分别采用HPLC法及超高效液相色谱-串联质谱联用(UPLC-MS/MS)法建立了通关藤中皂苷H、G、A、I的定量分析方法^[10-11]。

现阶段通关藤质量评价体系存在明显短板,这严重制约其质量控制与药效机制研究。一方面,学界对多数C21甾体苷类单体的理化性质、生物活性及构效关系研究不够深入,尚未明确核心药效标志物,难以系统阐释通关藤的作用机制;另一方面,2025年版《中国药典》仅以通关藤皂苷H为单一指标成分控制通关藤饮片质量,评价维度单一,代表性不足;而消癌平制剂现行质量标准(WS3-B-3959-98-2013)以绿原酸为检测指标,该成分广泛存在于多种中药材中,缺乏物种特异性,无法特异性地表征通关藤的药材特征与药效活性。为弥补现有质控体系的缺陷,挖掘通关藤特异性质量标志物,完善其饮片质量评价标准,本研究选取未见文献定量报道的两种特异性C21甾体皂苷:11-*O*-异丁酰基-12-*O*-乙酰基通关藤苷元B-3-*O*-茯苓二糖基(化合物T)和17 β -通关藤苷元B(结构式见图1)^[3],采用UPLC-MS/MS法,建立通关藤苷中上述两种特异性C21甾体皂苷的定量分析方法,并测定其在通关藤饮片中的含量,旨在为丰富通关藤药效物质研究提供支撑,为其质量控制体系的建立提供参考。



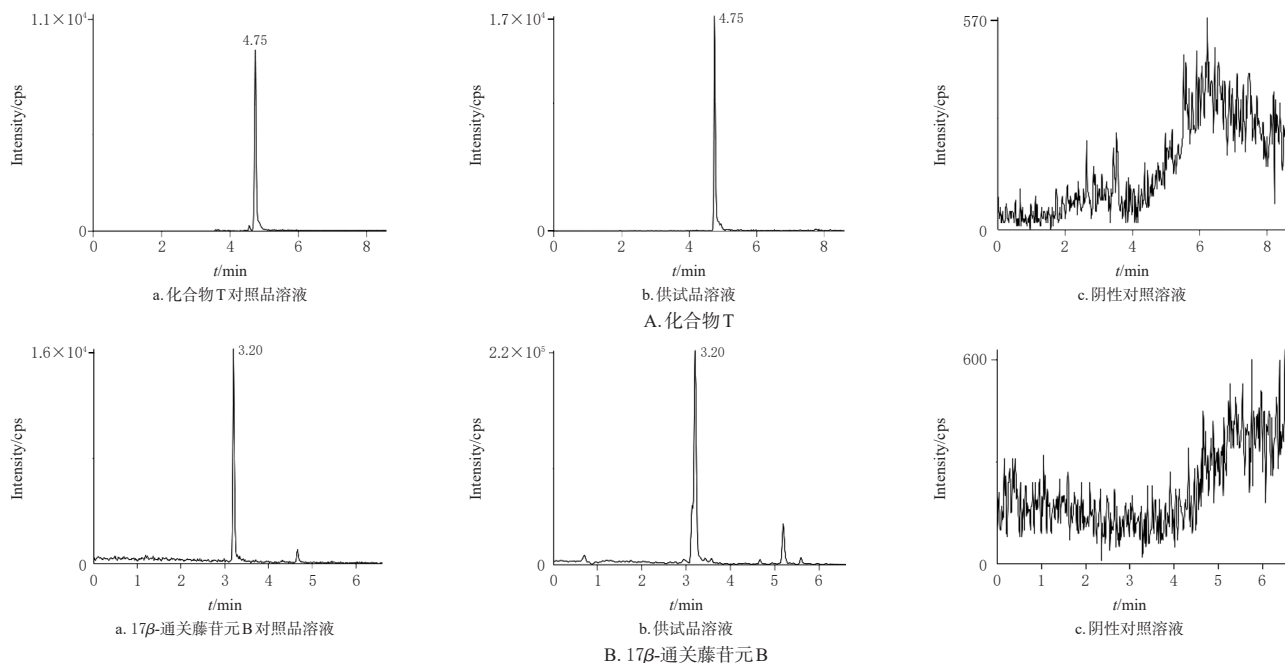


图2 两种特异性C21甾体皂苷的提取离子流图

质量浓度分别为10、20、40、80、120、160、200 ng/mL；17β-通关藤苷元B质量浓度分别为20、40、80、120、160、180、200 ng/mL)，按“2.1”项下色谱与质谱条件进样测定，记录色谱图。以对照品质量浓度为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)，进行线性回归，结果见表2。化合物T在10~200 ng/mL、17β-通关藤苷元B在20~200 ng/mL范围内线性关系良好。线性方程、定量限见表2。

表2 两种特异性C21甾体皂苷的线性关系及定量限考察结果

待测物	回归方程	r	线性范围/(ng/mL)	定量限/(ng/mL)
化合物T	$Y=7.64 \times 10^3 X + 1.64 \times 10^4$	0.993 1	10~200	5.0
17β-通关藤苷元B	$Y=743 X + 3.13 \times 10^3$	0.998 6	20~200	5.0

2.3.3 精密度

取“2.2.2”项下的同一供试品溶液，按“2.1”项下色谱与质谱条件重复进样6次，记录峰面积。结果显示，化合物T和17β-通关藤苷元B峰面积的RSD均小于4.0% ($n=6$)，表明该方法精密度良好。

2.3.4 重复性

取同一批次通关藤饮片粉末6份，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱与质谱条件进样测定，记录峰面积，代入回归方程计算含量。结果显示，化合物T和17β-通关藤苷元B含量的RSD均小于4.0% ($n=6$)，表明该方法重复性良好。

2.3.5 准确度

取已知含量的通关藤饮片(批号22010701)粉末0.5 g，精密称定，分别加入与样品中含量相当的化合物T和17β-通关藤苷元B对照品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，各6份，再按“2.1”项下色谱与质谱条件进样测定，记录峰面积，并计算加样回收率，结果见表3。

表3 加样回收率测定结果

待测物	已知量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	加样回收率/%	平均值/%	RSD/%
化合物T	51.4	50	103.6	104.4	101.3	4.4
	51.3	50	103.8	105.0		
	51.3	50	104.2	105.8		
	51.4	50	100.5	98.2		
	51.4	50	101.4	100.0		
	51.2	50	98.5	94.6		
17β-通关藤苷元B	852.6	850	1 695.6	99.2	99.1	1.5
	852.4	850	1 690.2	98.6		
	852.2	850	1 710.3	101.0		
	852.6	850	1 685.6	98.0		
	852.1	850	1 707.5	100.6		
	852.3	850	1 678.4	97.2		

2.3.6 稳定性

取“2.2.2”项下的同一供试品溶液，在室温下放置0、2、8、12、24 h后，按“2.1”项下色谱与质谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，化合物T和17β-通关藤苷元B峰面积的RSD均小于3.5% ($n=5$)，表明供试品溶液稳定性良好。

2.4 样品含量测定

取3个批次的通关藤饮片粉末各适量，分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，每批平行制备3份，按“2.1”项下色谱与质谱条件进样测定，记录化合物T与17β-通关藤苷元B的峰面积，代入回归方程计算含量，结果见表4。

表4 3批通关藤饮片中两种特异性C21甾体皂苷的含量测定结果($n=3$, $\mu\text{g/g}$)

待测物	批号21052401	批号22010701	批号21110901
化合物T	96.4	102.8	94.0
17β-通关藤苷元B	1 728.0	1 705.4	1 736.2

3 讨论

3.1 指标成分的选择

C21甾体皂苷类化合物是通关藤抗肿瘤及抗炎的主要药效物质,亦是其特异性化学成分,专属性强。该类成分母核含21个碳原子,常见苷元包括通关藤苷元甲A、B、C,西索苷元,苦绳苷元Q,通光素,17 β -通关藤苷元B,二氢肉珊瑚苷元及多种苷元B衍生物等^[3-4]。

虽然文献报道的通关藤皂苷种类繁多,但目前可分离提取、结构明确且化学性质稳定的单体仅有通关藤皂苷H、G、A、I及17 β -通关藤苷元B等少数几种。本研究参考通关藤药材化学成分及C21甾体皂苷特征指纹图谱研究成果^[12-13],选取分子结构明确、药材中含量较高的两种特异性C21甾体皂苷作为通关藤定量分析指标。其中,17 β -通关藤苷元B在指纹图谱中峰面积占比最高,且为通关藤(消癌平)注射液国家药品标准[WS-10630(ZD-0630)-2002-2011Z]的鉴别指标成分;化合物T为通关藤苷元B的主要衍生物,亦属通关藤发挥生物活性的代表性皂苷类成分。二者因母核相同(均为苷元B)且含量较高,可能在抗肿瘤及抗炎等药效发挥中起重要作用。本研究对通关藤饮片中上述两种苷的含量进行测定,旨在为后续药效物质基础及作用机制的深入探究提供数据支撑。

3.2 色谱和质谱条件的选择

本研究前期考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%甲酸水及乙腈-0.1%甲酸水4种流动相体系。结果表明,甲醇较乙腈对两种特异性C21甾体皂苷待测成分具有更优的分离效果,而甲酸的加入可显著改善色谱峰形,故最终确定流动相为甲醇-0.1%甲酸水。鉴于17 β -通关藤苷元B无紫外吸收特征,本研究采用UPLC-MS/MS法,以MRM模式进行检测。通过系统优化色谱分离条件及质谱检测参数,在8 min内实现了两种特异性C21甾体皂苷的基线分离与准确定量,方法专属性良好。

综上,本研究所建立的UPLC-MS/MS法可用于通关藤饮片中化合物T和17 β -通关藤苷元B的含量测定,可为该饮片的质量控制提供新的指标成分与方法参考。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 兰茂. 滇南本草[M]. 昆明: 云南人民出版社, 1975: 89-90.
- [2] 吴子薇, 李晓波, 麻文谦, 等. 通关藤注射液研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2023, 37(4): 71-82.
- [3] 刘思雨, 王嘉唯, 潘洪旭, 等. 通关藤化学成分及其质量评价研究进展[J]. 中南药学, 2026, 24(3): 197-205.
- [4] 李双凤, 黄家彦, 韩笑, 等. 通关藤抗肿瘤主要成分及作用机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2023, 46(1): 187-197.
- [5] 武阳. 伊立替康单药与联合消癌平治疗老年晚期胃癌的比较研究[J]. 中国药房, 2016, 27(5): 657-659.
- [6] 宇明慧, 祝永福, 黄万秋. 通关藤注射液联合SOX方案治疗进展期胃癌临床观察[J]. 安徽中医药大学学报, 2024, 43(4): 17-20.
- [7] 李思雨, 张冬月, 韩丽, 等. HPLC-DAD-ELSD法同时测定22个产地通关藤中3种皂苷[J]. 中成药, 2019, 41(5): 1144-1146.
- [8] 吕磊, 杨伟, 吴于初, 等. HPLC法同时测定不同产地通关藤中通关藤苷GIH的含量[J]. 解放军药科学学报, 2017, 33(4): 323-325.
- [9] 李洋, 王慧, 吕磊, 等. HPLC-ESI/MS测定消癌平注射液中3种主要成分的含量[J]. 广东药学院学报, 2015, 31(4): 463-465.
- [10] 王祁民, 安静, 李颖, 等. UPLC-MS/MS法同时测定通关藤药材中3种皂苷的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(8): 1048-1051.
- [11] 王祁民, 安静, 李颖, 等. 高效液相色谱法测定通关藤药材中通关藤苷G含量[J]. 医药导报, 2018, 37(7): 879-881.
- [12] 李媛媛, 倪艳, 李先荣, 等. 通关藤药材C21甾体皂苷类成分特征图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 43-46.
- [13] 乔佳, 沃源青, 张慧, 等. 通关藤化学成分HPLC指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(8): 69-72.

(收稿日期: 2026-03-31 修回日期: 2026-08-21)

(本文责编: 邹丽娟)