

远志中远志呔酮Ⅲ含量测定方法的改进

陈静静^{1*}, 王相¹, 连云岚², 倪艳^{1#}(1.山西省中医药研究院, 太原 030012; 2.山西省食品药品检验所, 太原 030012)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)03-0397-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.03.38

摘要 目的:改进2010年版《中国药典》所载远志中远志呔酮Ⅲ含量测定的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Hypersil BDS C₁₈,流动相为乙腈-0.05%磷酸(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为320 nm,柱温为25℃,进样量为10 μl。结果:远志呔酮Ⅲ检测质量浓度线性范围为0.029~0.928 μg/ml($r=0.999 1$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为94.66%~100.90%(RSD=2.46%, $n=6$)。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好,虽测定时间有所延长,但提高了测定的准确度,更适用于远志中远志呔酮Ⅲ的含量测定。

关键词 远志;远志呔酮Ⅲ;方法改进

Improvement of Content Determination for Polygala Xanthone III in Polygalae Radix

CHEN Jingjing¹, WANG Xiang¹, LIAN Yunlan², NI Yan¹(1. Shanxi Institute of TCM, Taiyuan 030012, China; 2. Shanxi Institute for Food and Drug Control, Taiyuan 030012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To improve the content determination for polygala xanthone III in Polygalae Radix contained in Chinese Pharmacopoeia (2010 edition). METHODS: HPLC was performed on the column of Hypersil BDS C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min; detection wavelength was 320 nm, column temperature was 25℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of polygala xanthone III was 0.029-0.928 μg/ml ($r=0.999 1$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recovery was 94.66%-100.90% (RSD=2.46%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, stable and reproducible. Although the determination time is prolonged, it has improved the accuracy and it is more suitable for the content determination of polygala xanthone III in Polygalae Radix.

KEYWORDS Polygalae Radix; Polygala xanthone III; Improved method

远志为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 或卵叶远志 *Polygala sibirica* L. 的干燥根,其味苦、辛,性微温,具有安神益智、祛痰开窍、消肿散痛的功效。临床上广泛应用于治疗失眠多梦、健忘惊悸、咳嗽不爽、乳房肿痛等症^[1]。远志所含的化学成分主要有皂苷类、呔酮类、生物碱类与糖类^[2],常用的炮制品有制远志、蜜远志等^[3]。根据文献报道,蜜远志有优于其他炮制品的药效,除可降低药材毒性外^[4-5],还可延长小鼠睡眠时间^[6],增强祛痰作用^[7]。而2010年版《中国药典》中只收录了生远志和制远志的质量标准,蜜远志仅收录于各地方炮制规范^[8-9]中;而在制定蜜远志地方药材标准时,拟采用药典方法^[1]测定远志呔酮Ⅲ的含量,却发现远志呔酮Ⅲ峰未能达到很好的分离。故本研究对远志及其蜜炙品中该成分的含量测定方法进行了改进,经方法学考察,完全符合相关要求,可更准确地反映远志中该成分的真实含量。

1 材料

1.1 仪器

1100型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);LC-2010AHT型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);KQ3200DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SE202F型电子天平(美国Ohaus公司);BP211D型电子分析

* 硕士研究生。研究方向:中药制剂创新技术。E-mail: 1204981182@qq.com

通信作者:主任药师,教授,硕士生导师。研究方向:中药物质基础。电话:0351-4668016。E-mail: niyan-01@hotmail.com

天平(德国Sartorius公司);DZKW-4型电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);DFT-200C型粉碎机(上海比朗仪器有限公司)。

1.2 试药

远志呔酮Ⅲ对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111850-201203,纯度≥98%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

1.3 药材

生远志及蜜远志饮片(见表1)经山西省中医药研究院倪艳教授鉴定为真品。

表1 远志来源

Tab 1 Origin of Polygalae Radix

编号	品名	产地	批号	来源	收集时间	备注
1	蜜远志	山西	130608	日照援康药业有限公司	2013.11	饮片
2	蜜远志	山西	121208	日照援康药业有限公司	2013.11	饮片
3	蜜远志	山西	YP131102	安国药材市场	2014.2	饮片
4	蜜远志	陕西	A14030101	山西德元堂药业	2014.5	饮片
5	蜜远志	陕西	A14030201	山西德元堂药业	2014.5	饮片
6	蜜远志	陕西	A14030301	山西德元堂药业	2014.5	饮片
7	蜜远志	山西	Y140401	北京同仁堂	2014.7	饮片
8	蜜远志	山西	Y140901	亳州市远光中药厂	2014.7	自制
9	蜜远志	山西	Y140801	亳州市远光中药厂	2014.7	自制
10	蜜远志	山西	Y140201	仁和医药有限公司	2014.7	自制
11	生远志	山西	140401	北京同仁堂	2014.7	饮片
12	生远志	山西	140801	亳州市远光中药厂	2014.7	饮片
13	生远志	山西	140201	仁和医药有限公司	2014.7	饮片

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Hypersil BDS C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.05% 磷酸(B), 梯度洗脱(洗脱程序见表2); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 320 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μl。在上述色谱条件下, 理论板数以远志卽酮Ⅲ峰计不少于3 000, 分离度>1.5, 各成分基线分离良好。色谱见图1。

表2 梯度洗脱程序

Tab 2 Gradient elution program

时间, min	A, %	B, %
0	15	85
30	15	85
50	30	70
52	100	0
60	100	0
62	15	85
75	15	85

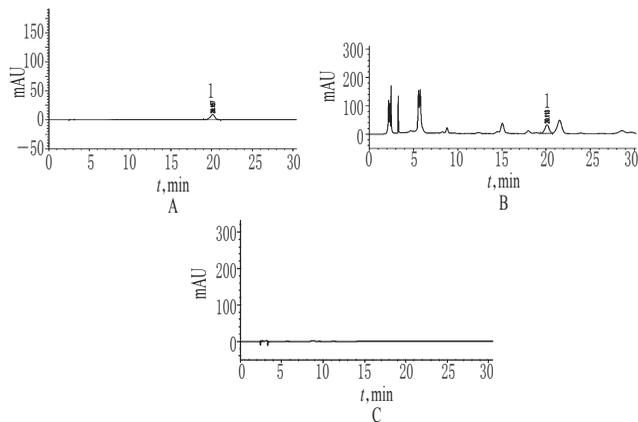


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 远志卽酮Ⅲ

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. polygala xanthone III

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取远志卽酮Ⅲ对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解, 制成每1 ml 含远志卽酮Ⅲ 0.02 mg 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液^[1] 取样品粉末(过3号筛)约1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇25 ml, 称定质量, 加热回流1.5 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液 以甲醇作为阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下远志卽酮Ⅲ对照品溶液, 加甲醇制成质量浓度分别为0.029、0.058、0.116、0.232、0.464、0.928 μg/ml 的系列对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各10 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以远志卽酮Ⅲ质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $y=18\ 262x+0.259\ 4$ ($r=0.999\ 1$)。结果表明, 远志卽酮Ⅲ检测质量浓度线性范围为0.029~0.928 μg/ml。

2.4 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次, 记录峰面积。结果, 远志卽酮Ⅲ峰面积的RSD=1.90% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(编号:2)适量, 分别于放置0、2、4、8、10 h 时进样测定, 记录峰面积。结果, 远志卽酮Ⅲ峰面积的RSD=0.89% ($n=5$), 表明供试品溶液在10 h 内基本稳定。

2.6 重复性试验

精密称取同一批样品(编号:2)适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 共6份, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 远志卽酮Ⅲ峰面积的RSD=1.59% ($n=6$), 表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

取已知含量样品(编号:2)适量, 共6份, 分别加入一定质量的远志卽酮Ⅲ对照品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算远志卽酮Ⅲ含量, 并计算加样回收率, 结果见表3。

表3 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 3 Results of recovery tests ($n=6$)

取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.500 15	0.329 6	0.32	0.633 0	94.66		
0.500 26	0.329 7	0.32	0.647 0	99.14		
0.502 46	0.331 1	0.32	0.654 0	100.77	98.38	2.46
0.500 44	0.329 8	0.32	0.644 0	98.07		
0.500 13	0.329 6	0.32	0.639 0	96.75		
0.500 78	0.330 0	0.32	0.653 0	100.90		

2.8 样品含量测定

取各编号样品粉末1 g, 精密称定, 分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液和上述供试品溶液各10 μl, 分别采用改进方法(色谱条件见“2.1”项)、药典方法进行测定, 结果见表4。

表4 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 4 Results of contents determination of samples ($n=3$)

样品编号	远志卽酮Ⅲ, %	
	改进方法	药典方法
1	0.056	0.173
2	0.054	0.126
3	0.058	0.165
4	0.040	0.192
5	0.043	0.207
6	0.050	0.175
7	0.034	0.112
8	0.063	0.180
9	0.061	0.151
10	0.063	0.170
11	0.065	0.195
12	0.061	0.150
13	0.063	0.212

3 讨论

在采用药典方法进行远志卽酮Ⅲ含量测定时, 发现远志卽酮Ⅲ峰是个肩峰, 经纯度检测包含了其他成分。故笔者在药典方法基础上, 首先对流动相比例进行了调整, 分别考察了乙腈-0.05% 磷酸不同体积比14:86、15:85、16:84、17:83 的等度洗脱结果, 但分离效果均不甚理想; 后采用梯度洗脱, 虽测定时间有所延长, 但出峰纯度明显提高。同时, 对改进方法后的耐用性进行了考察, 选用不同色谱仪(Agilent液相色谱仪和Shimadzu液相色谱仪)和色谱柱[Hypersil BDS (250 mm×4.6 mm, 5 μm)和Wonda Cract ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm)], 结

两头尖的HPLC指纹图谱研究

张彦飞*,李智萌,赵利利,贡济宇,蔡广知[#](长春中医药大学药学院,长春 130117)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)03-0399-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.03.39

摘要 目的:建立两头尖的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。方法:采用HPLC法。色谱柱为Phenomenex Gemini C₁₈,流动相为0.1%磷酸-乙腈(梯度洗脱),流速为1 ml/min,检测波长为206 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。以竹节香附素A为参照物,分析13批两头尖样品,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件进行相似度分析,并采用SPSS 13.0统计软件对样品进行聚类分析。结果:13批两头尖样品有11个共有峰,相似度>0.90。经验证,两头尖的指纹图谱与对照指纹图谱具有较好的一致性。13批药材产地中吉林桦甸、吉林蛟河、吉林天岗、吉林左家、黑龙江尚志、吉林舒兰、吉林通化、吉林抚松为第1类,黑龙江哈尔滨、黑龙江亚布力镇、辽宁清原、黑龙江一面坡、山东济南为第2类。结论:所建指纹图谱可为两头尖的鉴别和质量评价提供参考。

关键词 两头尖;高效液相色谱法;指纹图谱

Study on the HPLC Fingerprint of *Anemone raddeana*

ZHANG Yanfei, LI Zhimeng, ZHAO Lili, GONG Jiyu, CAI Guangzhi (School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the HPLC fingerprint for *Anemone raddeana*. METHODS: HPLC was performed on the column of Phenomenex Gemini C₁₈ with mobile phase of 0.1% phosphoric acid-acetonitrile (gradient elution) at a flow rate of 1 ml/min, the detection wavelength was 206 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 20 μl. With the reference of raddeanin A, 13 batches of *A. raddeana* were analyzed, chromatographic fingerprint similarity evaluation system software was conducted for similarity analysis, and SPSS 13.0 was conducted for cluster analysis. RESULTS: There were 11 common peaks in the 13 batches of *A. raddeana* with similarity of higher than 0.90. According to the verification, the fingerprint and control fingerprint shows good consistency. The drugs in Huadian, Jiaohe, Tiangang, Shulan, Tonghua and Fusong of Jilin and Shangzhi of Heilongjiang were regarded as category 1, and in Harbin, Yabuli town and Yimianpo of Heilongjiang, Qingyuan of Liaoning, Jinan of Shandong were category 2. CONCLUSIONS: The established fingerprint can provide reference for the identification and quality evaluation of *A. raddeana*.

KEYWORDS *Anemone raddeana*; HPLC; Fingerprint

中药两头尖又名竹节香附,为毛茛科(Ranunculaceae)银莲花属多被银莲花 *Anemone raddeana* Regel 的干燥根茎。药

材多夏季采收,除去残茎及须根,晒干。该中药首载于明朝刘文泰所著《本草品汇精要》,具有祛风除湿、消痈肿的功效^[1],现

果显示其测量结果基本无差别,远志吡啶Ⅲ含量分别为0.063%和0.064%,说明该方法有较好的耐用性。

改进方法不仅适宜远志蜜炙品,也适宜于生远志,经两种方法对比研究发现,同批远志改进方法的测定结果约为药典方法测定结果的1/3(见表3),可见2010年版《中国药典》方法测定的远志吡啶Ⅲ含量结果偏高,标准所定限度也偏高(2010年版《中国药典》规定远志吡啶Ⅲ含量不得少于0.15%)。

综上所述,本方法操作简便、稳定、重复性好,虽测定时间有所延长,但提高了测定的准确度,更适用于远志中远志吡啶Ⅲ的含量测定。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:146.
- [2] 易东阳, 闫磊, 张慧, 等. 远志的化学成分及治疗阿尔茨海

默病的药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2014, 25(11): 1 049.

- [3] 万德光, 陈林, 刘友平, 等. 远志炮制沿革考[J]. 中药材, 2005, 28(3): 233.
- [4] 康卫东, 梁永枝. 远志炮制品减毒增效的实验研究[J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(12): 55.
- [5] 官仕杰, 闫小平, 林开敬, 等. 远志不同炮制品的急性毒性比较研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 3(32): 398.
- [6] 王光志. 远志资源与品质评价[D]. 成都: 成都中医药大学, 2006.
- [7] 郭娟, 王建. 生远志及炮制品对小鼠止咳化痰作用[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(4): 29.
- [8] 河南省食品药品监督管理局. 河南省中药饮片炮制规范[S]. 郑州: 河南人民出版社, 2005: 67.
- [9] 浙江省食品药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范[S]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2005: 51.

(收稿日期:2015-04-03 修回日期:2015-08-28)

(编辑:张静)

* 硕士研究生。研究方向:药物分析新方法与新技术。E-mail: zhangyanfei69@126.com

[#] 通信作者:讲师,博士。研究方向:中药的鉴定及质量分析。电话:0431-86172193。E-mail:caiguangzhi@126.com