

## HPLC 法测定参茸安神片中远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲

丁广军, 刘 源, 陈慧慧

商丘市第一人民医院 药学部, 河南 商丘 476100

**摘要:** 目的 建立 HPLC 法同时测定参茸安神片中远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲的方法。方法 采用 Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸溶液, 梯度洗脱; 检测波长: 320 nm (0~16 min 检测远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖)、210 nm (16~24 min 检测细叶远志皂苷、远志皂苷 B)、250 nm (24~35 min 检测五味子醇甲); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 30 ℃; 进样量为 10 μL。结果 远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲分别在 3.85~77.00、6.22~124.40、6.57~131.40、7.61~152.20、4.96~99.20 μg/mL 线性关系良好 ( $r \geq 0.999 2$ ); 平均回收率分别为 98.17%、99.24%、99.90%、97.63%、96.83%, RSD 值分别为 1.14%、1.23%、0.70%、1.52%、0.81%。结论 本法稳定可靠、简便易行, 为全面控制参茸安神片的质量提供了参考。

**关键词:** 参茸安神片; 远志吡啶酮Ⅲ; 3,6'-二芥子酰基蔗糖; 细叶远志皂苷; 远志皂苷 B; 五味子醇甲; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2017)02-0188-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.02.006

## Determination of polygalaxanthone III, 3,6'-disinapoyl sucrose, tenuifolin, onjisaponin B, and schisandrin in Shenrong Anshen Tablets by HPLC

DING Guang-jun, LIU Yuan, CHEN Hui-hui

Department of Pharmacy, Shangqiu First People's Hospital, Shangqiu 476100, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method for simultaneous determination of polygalaxanthone III, 3,6'-disinapoyl sucrose, tenuifolin, onjisaponin B, and schisandrin in Shenrong Anshen Tablets. **Methods** The determination was carried out with Kromasil C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile - 0.1% phosphoric acid solution with gradient elution. The detection wavelengths were 320 nm in 0 — 16 min (determination of polygalaxanthone III and 3,6'-disinapoyl sucrose), 210 nm in 16 — 24 min (determination of tenuifolin and onjisaponin B), and 250 nm in 24 — 35 min (determination of schisandrin). The flow rate was 1.0 mL/min, and the column temperature was set at 30 ℃ with injection volume of 10 μL. **Results** There were good linear relationships of polygalaxanthone III, 3,6'-disinapoyl sucrose, tenuifolin, onjisaponin B, and schisandrin in the concentration ranges of 3.85 — 77.00, 6.22 — 124.40, 6.57 — 131.40, 7.61 — 152.20, 4.96 — 99.20 μg/mL ( $r \geq 0.999 2$ ). The average recoveries were 98.17%, 99.24%, 99.90%, 97.63%, and 96.83% with RSD 1.14%, 1.23%, 0.70%, 1.52%, and 0.81%, respectively.

**Conclusion** The method is simple and valid, which can be used in quantity control for Shenrong Anshen Tablets.

**Key words:** Shenrong Anshen Tablets; polygalaxanthone III; 3,6'-disinapoyl sucrose; tenuifolin; onjisaponin B; schisandrin; HPLC

参茸安神片处方源于《卫生部颁药品标准》中药成方制剂第八册<sup>[1]</sup>, 由玉竹、山药、白术(炒)、丹参、芡实、琥珀、人参、远志、酸枣仁(炒)、菟丝子(炒)、玄参、柏子仁、五味子、肉苁蓉(制)、地黄、鹿茸、石菖蒲、桔梗 18 味中药加工而成, 具有补气养血、益精补肾、宁心安神的功效, 对精血不足、神志不安、健忘症、心跳失眠等症状治疗效

果显著。参茸安神片现行质量控制标准简单, 仅规定了性状和显微鉴别, 未对该制剂中的活性成分进行定量控制。石上梅等<sup>[2]</sup>对参茸安神片中的人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 进行定量测定, 而单一成分难以控制复方制剂的产品质量。远志和五味子为参茸安神片方中的主要药味, 远志具有安神益智、交通心肾的功效, 主要成分为远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细

收稿日期: 2016-10-31

作者简介: 丁广军(1963—), 男, 副主任药师, 从事制剂质量标准研究和医院药学研究。Tel: 13903702779 E-mail: dingguangjun2779@hotmail.com

叶远志皂苷和远志皂苷 B 等<sup>[3]</sup>。五味子具有益气生津、补肾宁心等功效, 主要成分为五味子醇甲<sup>[3]</sup>。为有效控制参茸安神片的质量, 确保临床用药的安全, 本实验采用 HPLC 梯度洗脱法同时对参茸安神片中的远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲进行测定, 为全面控制参茸安神片的质量提供参考。

## 1 仪器、试药与试剂

### 1.1 仪器

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪 (美国赛默飞); BS210S 型电子天平 (德国赛多利斯); KH2200DB 型数控超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司)。

### 1.2 试药

远志吡啶酮Ⅲ (批号 111850-201504, 质量分数 95.5%)、细叶远志皂苷 (批号 111849-201504, 质量分数 95.6%)、五味子醇甲 (批号 110857-201513, 质量分数 99.9%) 对照品购自中国食品药品检定研究院; 3,6'-二芥子酰基蔗糖 (批号 139891-98-8, 质量分数 91.0%)、远志皂苷 B (批号 35906-36-6, 质量分数 98.0%) 对照品购自江莱生物科技有限公司; 参茸安神片来源于鞍山制药有限公司, 批号分别为 150605、160302、160411。

### 1.3 试剂

乙腈为色谱纯, 磷酸、甲醇为分析纯, 水为重蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品储备液的制备** 分别精密称取远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲对照品各适量, 用甲醇分别制成质量浓度分别为 0.385、0.622、0.657、0.761、0.496 mg/mL 对照品储备液。

**2.1.2 混合对照品溶液的制备** 分别依次量取各对照品储备液适量, 用甲醇制成含远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲各为 15.4、31.1、65.7、76.1、49.6  $\mu\text{g/mL}$  的混合对照品溶液。

**2.1.3 系列对照品溶液的配制** 取 6 个 10 mL 量瓶, 依次精密吸取 5 个成分的对照品储备液各 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL, 分别用甲醇稀释并加至刻度, 振摇均匀, 即得 6 个系列质量浓度的混合对照品溶液。

**2.1.4 供试品溶液的制备** 取参茸安神片适量, 除去糖衣后, 研细, 取约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 精密称定, 超声提取 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.5 阴性样品溶液的制备** 按《卫生部颁药品标准》中药成方制剂第八册中参茸安神片<sup>[1]</sup>质量标准项下的处方和工艺过程, 分别制备缺远志、缺五味子的样品, 按 2.1.4 项下的方法制成相应的阴性样品溶液。

### 2.2 色谱条件及系统适用性试验

Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈 - 0.1% 磷酸溶液, 梯度洗脱 (0~10 min, 25.0% A; 10~16 min, 25.0%A $\rightarrow$ 30.0% A; 16~24 min, 30.0%A $\rightarrow$ 45.0% A; 24~30 min, 45.0% A $\rightarrow$ 65.0% A; 30~35 min, 65.0% A $\rightarrow$ 25.0% A); 检测波长: 320 nm<sup>[3-4]</sup> (0~16 min 检测远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖)、210 nm<sup>[3,5]</sup> (16~24 min 检测细叶远志皂苷、远志皂苷 B)、250 nm<sup>[3,6]</sup> (24~35 min 检测五味子醇甲); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量为 10  $\mu\text{L}$ 。理论塔板数均不低于 3 500, 各峰分离度均大于 1.5。在上述色谱条件下, 供试品中其他成分对所测成分远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲的测定无干扰, 色谱图见图 1。

### 2.3 线性关系考察

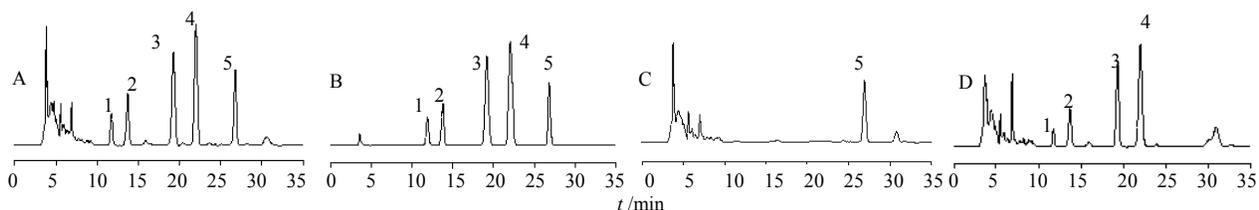
分别取 6 个系列质量浓度的混合对照溶液, 进样测定。采用质量浓度作为横坐标, 测得的峰面积作为纵坐标进行线性回归, 计算回归方程, 结果见表 1。

### 2.4 精密度试验

取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲峰面积的 RSD 值分别为 1.12%、0.41%、1.07%、0.82%、0.95%。

### 2.5 稳定性试验

取参茸安神片 (批号 150605) 样品, 制备供试品溶液, 在室温下放置 0、2、4、6、8、12 h 依次进样测定, 结果远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲峰面积的 RSD 值分别为 1.08%、1.01%、0.90%、1.35%、0.87%, 结果表明供试品溶液中 5 个成分在室温下放置 12 h 稳定。



1-远志卟啉Ⅲ 2-3,6'-二芥子酰基蔗糖 3-细叶远志皂苷 4-远志皂苷 B 5-五味子醇甲  
1-polygalaxanthone III 2-3,6'-disinapoyl sucrose 3-tenuifolin 4-onjisaponin B 5-schisandrin

图 1 参茸安神片 (A)、混合对照品 (B)、缺远志阴性样品 (C) 和缺五味子阴性样品 (D) 的 HPLC 色谱图  
Fig. 1 HPLC chromatogram of Shenrong Anshen Tablets (A), mixed reference substances (B), negative sample without *Polygalae Radix* (C), and negative sample without *Schisandrae Fructus* (D)

表 1 线性方程、相关系数及线性范围

Table 1 Linear relationship, correlation coefficient, and linearity

成分	线性方程	r	线性范围/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
远志卟啉Ⅲ	$A=6.3309\times 10^5 C-288.1$	0.999 2	3.85~77.00
3,6'-二芥子酰基蔗糖	$A=8.3527\times 10^5 C+305.7$	0.999 8	6.22~124.40
细叶远志皂苷	$A=1.0986\times 10^6 C-475.8$	0.999 3	6.57~131.40
远志皂苷 B	$A=1.3512\times 10^6 C+410.9$	0.999 5	7.61~152.20
五味子醇甲	$A=1.1057\times 10^6 C+197.0$	0.999 9	4.96~ 99.20

2.6 重复性试验

取参茸安神片 (批号 150605) 约 1.0 g, 精密称定, 共称取 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 分别计算远志卟啉Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲的质量分数, 结果 RSD 值分别为 1.69%、0.71%、1.16%、0.57%、1.21%。

2.7 回收率试验

精密称取参茸安神片 (批号 150605) 样品 6 份, 除去糖衣后, 研细, 每份约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入混合对照品溶液 (含远志卟啉Ⅲ 0.082 4 mg/mL、3,6'-二芥子酰基蔗糖 0.148 2

mg/mL、细叶远志皂苷 0.316 8 mg/mL、远志皂苷 B 0.403 2 mg/mL、五味子醇甲 0.263 0 mg/mL) 5 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果远志卟啉Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲的平均回收率分别为 98.17%、99.24%、99.90%、97.63%、96.83%, RSD 值分别为 1.14%、1.23%、0.70%、1.52%、0.81%。

2.8 样品测定

取 3 批参茸安神片各适量, 制备供试品溶液, 依法测定, 采用外标法计算样品中远志卟啉Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲的质量分数, 结果见表 2。

表 2 参茸安神片中远志卟啉Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲的测定结果 (n = 3)  
Table 2 Determination of polygalaxanthone III, 3,6'-disinapoyl sucrose, tenuifolin, onjisaponin B, and schisandrin in Shenrong Anshen Tablets (n = 3)

批号	质量分数/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )				
	远志卟啉Ⅲ	3,6'-二芥子酰基蔗糖	细叶远志皂苷	远志皂苷 B	五味子醇甲
150605	0.813	1.479	3.152	4.074	2.636
160302	0.862	1.550	3.007	3.975	2.816
160411	0.829	1.374	3.388	4.200	2.497

### 3 讨论

#### 3.1 供试品溶液提取条件的选择

实验对回流提取和超声提取进行了对比考察,以远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲的提取率为考察指标,结果 2 种提取方式下所测各成分的提取率差异不大。考虑到超声提取操作简便,重复性高等因素,选取超声提取作为供试品溶液制备的提取方式;在此基础上,对不同的提取溶剂乙醇、50%甲醇、70%甲醇<sup>[4-6]</sup>、甲醇<sup>[7-8]</sup>进行了对比考察,以所测成分的提取率为指标,优选出的最佳提取溶剂为甲醇;同时考察了不同超声提取时间(15、30、45 min),结果显示超声提取 30 min 各成分就可以提取完全。故最终优化供试品溶液提取条件为甲醇超声提取 30 min。

#### 3.2 色谱条件的优化

在流动相的确定上,实验考察了甲醇-水<sup>[7]</sup>、乙腈-水<sup>[8]</sup>、乙腈-磷酸溶液<sup>[4-6,9]</sup>。以基线平稳、各峰之间干扰性、拖尾情况等方面为指标,优选最佳的流动相体系,结果表明以乙腈-磷酸溶液为流动相时,所测各成分峰形和分离效果较好,基线较平稳;在此基础上又考察了不同体积分数的磷酸水溶液(乙腈-0.05%磷酸溶液<sup>[3-4]</sup>、乙腈-0.1%磷酸水溶液<sup>[6,9]</sup>)的分离效果,最终选择以乙腈-0.1%磷酸溶液梯度洗脱为流动相对参茸安神片中 5 个成分进行同时测定。同时还比较不同柱长色谱柱(200 mm×4.6 mm、250 mm×4.6 mm)对所测定 5 个成分分离效果的影响,结果显示使用色谱柱(200 mm×4.6 mm)时,细叶远志皂苷与杂质峰得不到有效分离,使用色谱柱(250 mm×4.6 mm)时,所测 5 个成分均能达到有效分离,故最终选用 Kromasil

C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)作为参茸安神片定量测定用色谱柱。

本文建立了 HPLC 梯度洗脱法同时测定参茸安神片中远志吡啶酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖、细叶远志皂苷、远志皂苷 B 和五味子醇甲,该方法稳定可靠、简便易行,为全面控制参茸安神片的质量提供了参考。

#### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部颁药品标准(中药成方制剂第八册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 108.
- [2] 石上梅, 施法. RP-HPLC 法测定参茸安神片中人参皂苷 R<sub>g1</sub> 的含量 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2008, 8(7): 513-515.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 66-67, 156-157.
- [4] 刘艳芳, 姜勇, 屠鹏飞. 不同来源远志药材有效成分的定量分析 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(24): 1879-1883.
- [5] 梁晓, 张学兰, 李慧芬, 等. 甘草汁蒸制远志对远志皂苷 B 和细叶远志皂苷含有量的影响 [J]. 中成药, 2015, 37(4): 824-827.
- [6] 窦智, 胡长明, 文莉, 等. 高效液相色谱法测定生远志及其炮制品中远志皂苷 B 的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(19): 1676-1678.
- [7] 饶君凤, 占小珺. 高效液相色谱法测定 3 种不同产地五味子中五味子醇甲含量 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(10): 2441-2442.
- [8] 窦志华, 安莉萍, 张琳, 等. HPLC 测定五味子种子及果皮中的 6 种木脂素类成分 [J]. 华西药学杂志, 2016, 31(2): 205-207.
- [9] 庄珊珊, 刘志宏, 黄爱文, 等. 高效液相色谱法测定甘草远志合剂中 4 种指标成分的含量 [J]. 中南药学, 2014, 12(10): 1005-1008.