

· 药剂与工艺 ·

HPLC法测定远志中去羟基远志皂苷元含量

刘友平¹, 万德光¹, 宋 英²

(1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院 药剂科, 四川 成都 610075)

摘要: 目的 建立远志药材的质量控制方法。方法 采用 HPLC法对远志中去羟基远志皂苷元进行含量测定, ODS Hypersil 色谱柱 (5 μ m, 125 mm $\times$ 4 mm); 流动相: 甲醇-0.05% 磷酸溶液 (74: 26); 检测波长 210 nm; 结果 去羟基远志皂苷元在 0.585~11.7 μ g 范围内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.999\ 99$; 平均回收率为 99.2% ($n=5$), 精密度的 RSD 为 0.25% ($n=5$)。结论 该方法简便、准确、重现性好, 可作为远志药材及其复方制剂质量控制标准。

关键词: 远志; 去羟基远志皂苷元; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)09-0786-02

Determination of dehydroxypresenegenin in *Polygalae tenuifolia* by HPLCLIU You-ping¹, WAN De-guang¹, SONG Ying²

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu Sichuan 610075, China; 2. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu Sichuan 610075, China)

Abstract **Object** To establish an HPLC method for the determination of dehydroxypresenegenin for the quality control of *Polygalae tenuifolia* Willd. **Methods** Dehydroxypresenegenin was separated by ODS column (125 mm $\times$ 4 mm, 5 μ m) with a mobile phase of methanol-0.05% phosphoric acid (74: 26) and detected at a wavelength of 210 nm. **Results** The calibration curve was linear in the range of 0.585~11.7 μ g, with a correlation coefficient of 0.999 99. The average recovery was 99.2% ($n=5$), and $RSD=0.25\%$ ($n=5$). **Conclusion** The method is simple and accurate, with good repeatability and can be used for the quality control of *Polygalae tenuifolia* Willd and compound preparations of *Radix Polygalae*.

Key words *Polygalae tenuifolia* Willd.; dehydroxypresenegenin; HPLC

远志为一常用中药,《中国药典》2000年版一部收载其来源为远志科 Polygalaceae 植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 或卵叶远志 *P. sibirica* L. 的干燥根。关于远志药材质量标准, 2000年版药典一部远志项下收载了以远志药材为对照的薄层色谱鉴别^[1], 未见对药材有效成分进行定性、定量质量控制。据文献报道, 远志总皂苷为镇静、祛痰有效部位^[2], 我们进行的药效学研究结果与此一致。本研究从远志总皂苷中分离鉴定了一齐墩果烷型三萜类化合物去羟基远志皂苷元, 并对其结构进行了鉴定 (结果另文报道)。以所分离的去羟基远志皂苷元为对照, 采用 HPLC 法测定了药材中去羟基远志皂苷元含量, 方法简便、灵敏度高、重现性好, 可作为远志药材及制剂质量控制方法。

1 仪器和药品

HP-1100 高效液相色谱仪测定系统 (惠普公司); ODS Hypersil 色谱柱 (5 μ m, 125 mm $\times$ 4 mm); 甲醇 (色谱纯), 蒸馏水 (重蒸), 所用试剂均为分析纯。

去羟基远志皂苷元由作者自远志 *P. tenuifolia* 的根中分离, 并经 mp, UV, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT 及 MS 鉴定 (鉴定结果另文报道)。

所测样品均为作者采集或收集自产区, 均经本校药用植物教研室万德光教授鉴定为 *Polygala tenuifolia* Willd。

2 方法与结果

2.1 液相色谱条件: ODS Hypersil 色谱柱 (5 μ m, 125 mm $\times$ 4 mm) 柱, 预柱 (2.1 mm $\times$ 20 mm, 30

收稿日期: 2000-12-24

基金项目: “九·五”国家重点科技攻关资助项目 (No. 95-903-04)

作者简介: 刘友平, 女, 36岁, 副研究员, 硕士生导师。现在太极集团博士后工作站从事博士后研究。主要研究方向: 中药质量标准化及中药新药研究。目前承担国家自然科学基金、“九·五”国家重点科技攻关、新药研究基金、国家中医药管理局青年基金及省级科研项目 25项, 发表科研论文 26篇, 参与编写著作 2部。获四川省科技进步奖二等奖 2项, 三等奖 2项。

μm);流动相: 甲醇-0.05% 磷酸溶液 (74: 26);检测波长 210 nm;流速 1 mL/min;柱温 25℃。理论塔板数按羟基远志皂苷元计算应不低于 1800

2.2 对照品的纯度检查: 按中药新药质量标准用对照品研究的技术要求^[3],对所分离的去羟基远志皂苷元的纯度进行了检查,按峰面积归一化法计算,所分离对照品的纯度为 98.63%,达到了含量测定用对照品的纯度要求。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取去羟基远志皂苷元对照品 5 mg,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 含去羟基远志皂苷元 0.5 mg)。

2.4 供试样品溶液的制备方法: 考察了甲醇提取法、正丁醇提取法、正丁醇大孔树脂法、正丁醇超声提取法提取皂苷对 HPLC 色谱及测定结果的影响,水解方法同 2.5 项下。结果甲醇提取法提取皂苷制备的供试液, HPLC 色谱图显示所提成分较多,被测成分所受干扰较大;正丁醇法提取皂苷并以大孔树脂分离纯化皂苷制备的供试液, HPLC 色谱图显示分离度较好,但由于上柱皂苷损失过多,致使测定结果偏低;而采用正丁醇提取法和正丁醇超声提取法方法制备的供试液中测定结果接近,以正丁醇超声提取更为简便、快捷、提取更完全, HPLC 色谱图显示其分离度较好,故确定正丁醇超声提取法为供试品溶液制备方法。

2.5 供试品溶液的制备: 取远志药材粗粉 2 g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚回流脱脂 2 h,取出滤纸筒,挥尽乙醚,将药渣连同滤纸筒转移至 150 mL 具塞锥形瓶中,精密加入水饱和正丁醇 50 mL,密塞,放置过夜,超声处理(功率 250 W,频率 50 Hz) 30 min,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 10 mL,减压回收正丁醇,于残渣中加入 10% HCl 40 mL,置水浴中水解 2 h,滤过,沉淀以蒸馏水洗至中性。将沉淀以甲醇溶解并转移至 4 mL 量瓶中,漏斗及抽滤瓶以少量甲醇洗涤数次并入容量瓶,加甲醇至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.6 标准曲线的制备: 自动进样器分别取对照品溶液进样 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 和 10.0 μL ,进行分析测定。以对照品的质量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,经回归处理,得回归方程, $Y = 601.66C - 14.68$, $r = 0.9999$,去羟基远志皂苷元在 0.585~11.7 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验: 精密吸取同一远志供试品溶液,连续进样 5 次,每次 2 μL ,测定峰面积, RSD 为

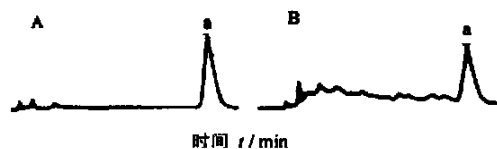
0.25% ($n = 5$)。

2.8 稳定性试验: 取同一远志药材供试液,每隔 2 h 进样 1 次,每次 2 μL ,测定其峰面积,共考察 8 h, RSD 为 0.31% ($n = 5$)。

2.9 重现性试验: 精密称取同一样品 5 份,分别按供试品溶液制备方法制得供试品溶液,依法测定去羟基远志皂苷元含量, RSD 为 4.45%。

2.10 加样回收率试验: 精密称取已知含量的远志药材粗粉各 200 mg,共 5 份,精密加入去羟基远志皂苷元对照品溶液(浓度为 0.5 mg/mL) 3 mL,按供试品溶液制备方法制得供试液,依法测定其中去羟基远志皂苷元的含量,计算回收率,结果平均回收率为 99.21%, $RSD = 2.19\%$ 。

2.11 样品测定: 按 2.3 项下方法制备各供试液,自动进样,依法测定,测定结果见表 1。HPLC 色谱图见图 1。



A 对照品 B 远志药材 a 去羟基远志皂苷元

图 1 药材 HPLC 图

表 1 远志样品中含量测定结果 (%)

样品编号	产地	品种	含量 ($n = 3$)
1	陕西合阳	远志	1.44
2	陕西蒲城	远志	0.82
3	山西汾县	远志	1.28
4	山西洪洞	远志	1.09
5	山西太谷	远志	1.29
6	吉林长春	远志	0.82
7	内蒙	远志	1.22
8	甘肃东乡县	远志	1.09
9	甘肃临夏	卵叶远志	1.20
10	四川南坪	远志	1.43

3 结果与讨论

3.1 远志药材富含脂肪油,故药材以乙醚脱脂处理,除去脂溶性杂质对测定结果的影响。从测定结果看,以去羟基远志皂苷为指标控制药材质量,样品中含量均在 0.70% 以上,可用于药材质量控制。

3.2 采用 HPLC 法测定远志药材中三萜皂苷元含量,该方法简便、准确、重现性好,可作为远志药材及其复方制剂质量控制标准。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部,2000.
- [2] 徐国钧,何宏贤,徐璐珊,等.中国药理学[M].北京:中国医药科技出版社,1996.
- [3] 国家药品监督管理局.中药新药研究的技术要求[S].1999.