

远志不同炮制品皂苷类成分含量的比较

林敬开, 闫小平*, 官仕杰, 黎丽
(中国中医科学院 西苑医院, 北京 100091)

[摘要] 目的: 研究生远志、制远志、蜜远志中皂苷类成分含量的差异。方法: 以远志酸和远志皂苷元含量为指标对 3 种炮制品进行 HPLC 测定。色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸 (41:59); 检测波长 210 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C。结果: 远志酸含量和远志皂苷元含量, 均为制远志 > 生远志 > 蜜远志。结论: 不同炮制方法能改变远志皂苷类成分的含量, 蜜远志的远志酸含量与远志皂苷元含量均低于生远志与制远志。

[关键词] 远志; 炮制品; 远志酸; 远志皂苷元; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0089-03

The Study on the Content of the Saponins in the Different Processed Products of Radix Polygalae

LIN Jing-kai, YAN Xiao-ping*, GUAN Shi-jie, LI Li
(Xi Yuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the difference of the saponins in the different processed products of Radix Polygalae (crude Radix Polygalae, licorice And Honey Processed Radix Polygalae). **Method:** The content of polygalacic acid and senegenin in the different processed products of Radix Polygalae was determine by HPLC using an Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.1% phosphoric acid (41:59) as the mobile phase; the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; temperatures was 25 °C and UV detection wavelength at 210 nm. **Result:** The order of the content of polygalacic acid and senegenin (from higher to lower) was: crude Radix Polygalae, licorice processed Radix Polygalae, honey processed Radix Polygalae. **Conclusion:** The different process method has some effects on the content of saponins in Radix Polygalae. The content of polygalacic acid and senegenin in honey processed Radix Polygalae was the lowest. The LD₅₀ experiment result suggests that honey processed can reduce the toxic composition of crude Radix Polygalae.

[Key words] Radix Polygalae; prepared products; Polygalacic acid; senegenin; HPLC

甘草制远志是目前临床应用最多的远志炮制品, 为 2010 年版《中国药典》所收载。而蜜远志亦为现今临床常用的炮制品种。毒理研究表明, 蜜制的确能降低远志生品的毒性^[4]。研究表明皂苷类成分

既是远志的药效成分, 也是其引起不良反应的毒性成分。目前 HPLC 法测定远志总皂苷含量主要以其水解产物为指标。远志皂苷类成分酸水解主要生成远志酸与远志皂苷元, 但水解过程不够稳定, 生成的皂苷元种类较多^[5]。而细叶远志皂苷是远志皂苷类成分碱水解的唯一产物, 是控制远志总皂苷含量较为理想的指标性成分^[6]。《中国药典》2010 年版亦将控制远志总皂苷含量的指标性成分由远志酸改为细叶远志皂苷。但目前市场上尚未提供合格的细叶远志皂苷对照品, 故本实验以远志酸和远志皂苷元含量为指标, 对生远志、制远志与蜜远志三者的皂苷

[收稿日期] 2011-01-25

[第一作者] 林敬开, 硕士, 研究方向: 中药制备工艺及质量标准, Tel: 010-62869813, E-mail: ljikai_2010@163.com

[通讯作者] * 闫小平, 主任药师, 研究方向: 中药制备工艺及质量标准, Tel: 010-62869813, E-mail: yanxiaoping1954@126.com

类成分进行 HPLC 含量测定,并比较三者之间的成分差异,为远志炮制与其毒性作用做进一步研究提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(G1311A 输液泵,G1314A VWD 检测器,Agilent chem station,G1313A 标准型自动进样器),GR-202 电子分析天平,B5200S 超声波清洗器(220V,50Hz)。

1.2 炮制辅料 甘草:为豆科植物胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 的干燥根和根茎。购自河北神农(北京)药业有限公司。经检查本品质量符合《中国药典》2010 年版一部甘草项下有关规定。

蜂蜜:为蜜蜂科昆虫中华蜜蜂 *Apis cerana* Fabricius 或意大利蜂 *Apis mellifera* Linnaeus 所酿的蜜。购自北京市香山海耳思蜜蜂研究所。经检查符合《中国药典》2010 年版一部蜂蜜项下有关规定。

1.3 药材 远志为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 的干燥根。购自山西,系栽培药材。

1.4 试药 远志酸对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号 A0013 111572-200702),远志皂苷元对照品(中国药品生物制品检定所),乙腈(色谱纯,广州西陇化工股份有限公司),甲醇(色谱纯,天津四友精细化学品有限公司),液相用水为自制重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 不同炮制样品的制备 3 种炮制样品均参考《全国中药炮制规范》(1988 年版)中规定的远志炮制方法进行炮制。具体制备方法如下^[7]。生远志:取原药材,除去杂质,略洗,润透,去心,切断,干燥即得。

制远志:取甘草饮片,加适量水浸泡 30 min,煎煮 2 次(1 h,45 min),滤过,去渣,合并滤液,适当浓缩。加入生远志段,文火煮至水吸尽,取出,均匀铺开,70 ℃ 烘干,取出放冷即得。每 100 kg 生远志,用甘草 6 kg。

蜜远志:取炼蜜,用适量开水稀释后,加入生远志段拌匀,闷透,置锅内,用文火炒至表面变黄,不粘手为度,取出,放冷即得。每 100 kg 远志,用蜂蜜 25 kg。

2.2 远志酸与远志皂苷元含量测定方法的建立

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取远志酸 52.50 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为远志酸对照品储备液;精密称取远志皂苷元 55.0 mg,

置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为远志皂苷元对照品储备液。精密量取上述储备液各 1 mL,分别加甲醇稀释定容于 10 mL 量瓶中,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.2 样品溶液制备 分别取 3 种炮制品,粉碎,过 60 目筛,分别取细粉约 1 g(相当于生药量),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 60% 乙醇 10 mL,称重,超声提取 30 min,放冷,称重补足。提取液过滤,精密移取续滤液 2 mL 于具塞锥形瓶中,蒸干,残渣加 10% 盐酸 10 mL,沸水浴回流 2 h。取出放冷,滤过,沉淀水洗至中性后,用甲醇沉淀溶解并转移至 10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀即得。

2.2.3 色谱条件 色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液(41:59),流速 1 mL·min⁻¹;检测波长 210 nm;柱温 25 ℃。理论塔板数按远志皂苷元峰计算不低于 1 500。远志酸对照品、远志皂苷元对照品及样品色谱图见图 1。

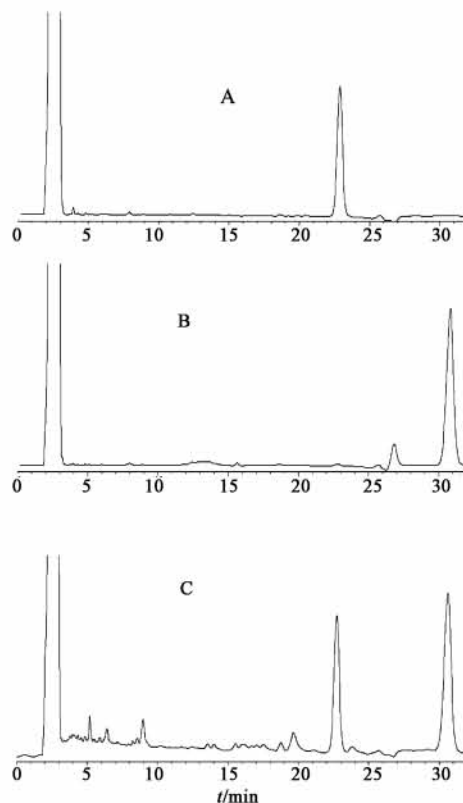


图 1 远志 HPLC 色谱图

A. 远志酸; B. 远志皂苷元; C. 生远志

2.2.4 线性关系考察 取 2.2.1 项中制备的远志酸对照品溶液 2, 2.5, 5, 10, 15, 20 μL, 分别注入色谱仪,以峰面积为纵坐标,远志酸进样量(μg)为横坐

标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 500.54X - 8.8091$ ($r = 0.9999$),远志酸进样量与峰面积在 $0.420 \sim 4.200 \mu\text{g}$ 呈现良好的线性关系。

取 2.2.1 项中制备的远志皂苷元对照品溶液 2, 2.5, 5, 10, 15, 20 μL , 分别注入色谱仪,以峰面积为纵坐标,远志皂苷元进样量 (μg) 为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 750.36X - 9.0957$ ($r = 1$),远志皂苷元进样量与峰面积在 $0.440 \sim 4.400 \mu\text{g}$ 呈现良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取生远志细粉约 1 g,精密称定,按 2.2.2 项样品溶液制备项下方法制备,测定 5 次,每次进样量 10 μL ,远志酸峰面积 RSD 0.70%,远志皂苷元峰面积 RSD 0.22%,表明重现性良好。

2.2.6 稳定性试验 取生远志细粉约 1 g,精密称定,按 2.2.2 项样品溶液制备项下方法制备,分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 进样分析,每次进样量 10 μL ,供试品中远志酸和远志皂苷无峰面积,在 0 ~ 12 h 的 RSD 分别为 1.24%, 0.85%。

2.2.7 重复性试验 取生远志细粉约 1 g,精密称定 5 份,按 2.2.2 项样品溶液制备项下方法制备与测定,结果远志酸的平均含量为 $10.96 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 0.78%,远志皂苷元平均含量为 $10.91 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.19%。

2.2.8 加样回收率试验 取已知含量(远志酸含量 $10.69 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,远志皂苷元含量 $10.90 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)的生远志细粉约 0.5 g,精密称定 6 份,分别精密加入 2.2.1 项中制备的远志酸对照品储备液 2.5 mL 与远志皂苷元对照品储备液 2.5 mL,再精密加入 60% 乙醇 5 mL,其后步骤按前 2.2.2 项样品溶液制备方法制备,进样量 10 μL ,测得远志酸平均回收率为 98.06%, RSD 1.20%,远志皂苷元平均回收率为 95.02%, RSD 1.18%,结果见表 1, 2。

表 1 远志酸加样回收试验

No.	称样量/ g	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.495 6	5.298 0	5.250 0	10.376 8	96.74	98.06	1.20
2	0.501 1	5.356 8	5.250 0	10.460 3	97.21		
3	0.507 8	5.428 4	5.250 0	10.600 2	98.51		
4	0.498 9	5.333 2	5.250 0	10.436 5	97.20		
5	0.500 3	5.348 2	5.250 0	10.577 8	99.61		
6	0.503 4	5.381 3	5.250 0	10.584 1	99.10		

2.2.9 样品含量测定 分别取 3 种炮制品各 2 份,按 2.2.2 项样品溶液制备项下方法制得样品溶液,

表 2 远志皂苷元加样回收试验

No.	称样量 /g	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.495 6	5.402 0	5.500 0	10.656 5	95.54	95.02	1.18
2	0.501 1	5.462 0	5.500 0	10.621 0	93.80		
3	0.507 8	5.535 0	5.500 0	10.825 3	96.19		
4	0.498 9	5.438 0	5.500 0	10.703 8	95.74		
5	0.500 3	5.453 3	5.500 0	10.703 8	95.46		
6	0.503 4	5.487 1	5.500 0	10.626 4	93.44		

测定。计算远志酸与远志皂苷元的平均含量,远志酸及远志皂苷元含量均为制远志 > 生远志 > 蜜远志,结果见表 3。

表 3 远志不同炮制品含量测定 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

炮制品	远志酸	远志皂苷元
生远志	10.96	10.91
制远志	11.28	11.26
蜜远志	9.54	9.43

3 讨论

本实验结果蜜远志的远志酸含量与远志皂苷元含量均低于生远志与制远志,从物质基础角度为远志的毒理研究结论提供了佐证,为进一步探究远志炮制增效解毒机理提供科学依据。

本实验曾尝试增加流动相中乙腈的比例、调节磷酸浓度及采用梯度洗脱以改善峰形和缩短分析时间,但结果谱图中远志酸峰拖尾。故结合文献及实验条件采用乙腈-0.1% 磷酸(41:59)作为流动相。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:146.
- [2] 刘晓义.远志的炮制沿革及现代研究[J].基层中药杂志,1996,10(2): 17.
- [3] 万德光,陈林,刘友平,等.远志炮制规范沿革[J].中药材,2005,28(3):233.
- [4] 王建,吴晖晖,武云,等.生远志及其总皂苷与蜜远志的急性毒性比较研究[J].中药药理与临床,2004,20(6):21.
- [5] Dugan J. J., Mayo P., Starratt A. N. Polygalic acid[J]. Tetrahedron Letters, 1964, 5(37):2567.
- [6] Pelletier S. W., Nakamura S., Soman R., et al. Constituents of Polygala species The structure of tenuifolin, a prosopogenin from P. senega and P. tenuifolia[J]. Tetrahedron, 1971, 27(19):4417.
- [7] 中华人民共和国药政管理局.全国中药炮制规范 1988 年版[S].北京:人民卫生出版社,1988:57.

[责任编辑 蔡仲德]