

# HPLC 法测定古方定志丸不同配伍中的远志皂苷元含量

房敏峰, 陈 焕, 付志玲, 孟 雪, 郑晓晖\*  
(西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069)

[摘要] 目的: 测定古方定志丸不同配伍中远志皂苷元的含量。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱: SHIMADZU C<sub>18</sub>(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸水溶液(41: 59); 检测波长: 205 nm; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 定志丸全方组、远志-人参组、远志-石菖蒲组、远志-茯苓组、远志-朱砂组、远志-蜂蜜组和远志单味组中远志皂苷元含量分别为 0.359%、0.397%、0.313%、0.294%、0.563%、0.466% 和 0.449%。结论: 方中不同药味与远志配伍后, 对远志皂苷元的含量有不同程度的影响。

[关键词] 高效液相色谱; 定志丸; 远志皂苷元; 含量

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)04-0010-03

## Determination of Senegenin Contents in Traditional Formula Dingzhi Pill and its Different Compatibility of Recipes by HPLC

FANG Minfeng, CHEN Huan, FU Zhi-ling, MENG Xue, ZHENG Xiao-Hui\*  
(The College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the contents of dissolved senegenin in Dingzhi pill and its compatible recipes. **Methods:** Senegenin contents both in Dingzhi pill and its compatible recipes were determined by HPLC, which are compared with senegenin contrast from national institute for the control of pharmaceutical and biological products (NICPBP). **Results:** The contents of dissolved senegenin was 0.359% in Dingzhi pill group, 0.397% in Yuan-Ren group, 0.313% in Yuan-Shi group, 0.294% in Yuan-Fu group, 0.563% in Yuan-Zhu group, 0.466% in Yuan-Feng group and 0.449% in single Radix Polygala. **Conclusion:** Radix Polygala combined with different herbs in Dingzhi pill would evidently affect the contents of dissolved Senegenin.

[Key words] HPLC; Dingzhi pill; senegenin; contents

定志丸由人参、远志、石菖蒲、茯苓组成, 用朱砂包衣, 是《太平惠民和剂局方》中治疗失眠惊悸、恍惚狂眩的良方, 具有方简效佳的特点<sup>[1]</sup>。本文以臣药远志为对象, 采用高效液相色谱法测定全方及各药对中远志皂苷元的含量, 以考察不同配伍对远志皂苷元溶出量的影响。

### 1 仪器与试剂

[收稿日期] 2008-10-06

[基金项目] 陕西省社发攻关项目(2008K16-03); 陕西省教育厅产业化培育项目(07JC17)。

[通讯作者] \* 郑晓晖, Tel: (029) 88302686; E-mail: fff885@126.com

岛津 SPD-10Avp 高效液相色谱仪, SPD-10Avp 紫外检测器, CBM-102 工作站(日本岛津公司)。KQ-500DE 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司), HHS 型电热恒温水浴锅(江苏省医疗器械厂), FA2004 型万分之一天平(上海良平仪器仪表公司), HC-3018 高速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司)。远志皂苷元对照品(批号: 111572-200301, 面积归一化法得纯度为 98.1%, 购自中国药品生物制品检验所)。乙腈为色谱纯(天津科密欧化学试剂有限公司, 批号 20080128); 甲醇、乙醚、磷酸为分析纯(西安试剂厂 071029-2、071201-1、051101-2); 水为重蒸水。

远志、人参、石菖蒲、茯苓均购自西安药材市场,

经西北大学生命科学学院王玛丽副教授鉴定。人参为五加科人参 *Panax ginseng* C. A. Mey 的干燥根及根茎。远志为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd 的干燥根(去心),石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Sohott 的干燥根茎。茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件<sup>[2]</sup>** 色谱柱: SHIMADZU ODS C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 日本岛津公司。流动相: 乙腈-0.05% 磷酸水溶液(41: 59)。检测波长: 205 nm; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量 20 μL。

**2.2 标准曲线的绘制** 精密称取减压干燥至恒重的远志皂苷元对照品 0.005 0 g, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.20 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品储备液。分别精密量取对照品储备液稀释成系列对照品溶液。在拟定色谱条件下进样测定。将峰面积 *Y* 与浓度 *X* 进行回归, 得线性回归方程:  $Y = 6.76 \times 10^6 X - 1.07 \times 10^4$ ,  $r = 0.999 1$ 。远志皂苷元在 0.4 μg~ 4 μg 范围内线性关系良好。

**2.3 精密度试验** 取远志样品的供试品溶液, 连续进样 5 次, 进行色谱分析。测得峰面积的 RSD 为 0.55%。

**2.4 稳定性试验** 取远志样品的供试品溶液, 室温放置, 在拟定色谱条件下于 0, 2, 4, 6, 8 h 分别进样。测得峰面积的 RSD 为 0.86%。

**2.5 重复性试验** 取远志样品, 按供试品溶液制备方法平行制备 5 份, 进样分析。测得远志皂苷元含量的 RSD 为 0.81%。

**2.6 加样回收率** 取远志样品粉末约 0.5 g, 5 份, 分别加入 0.2 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液各 10 mL, 按供试品制备方法制备所需溶液, 在拟定色谱条件下测定, 测得其回收率为 98.85%, RSD 为 1.96%, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

<i>n</i>	远志皂苷元	添加远志皂苷	测得远志皂苷	回收率	平均回收	RSD
	含量(mg)	元含量(mg)	元含量(mg)	(%)	率(%)	(%)
1	2.245	2.0	4.242	99.93		
2	2.453	2.0	4.362	97.95		
3	2.395	2.0	4.425	96.13	98.85	1.96
4	2.360	2.0	4.413	101.22		
5	2.355	2.0	4.313	99.03		

**2.7 空白试验** 按定志丸处方制成缺远志阴性样品, 在拟定色谱条件下测定。

## 2.8 样品及供试品制备

**2.8.1 定志丸处方及制法<sup>[1]</sup>** 处方: 人参 1.5 g, 远志 1 g, 石菖蒲 1 g, 茯苓 1.5 g。制法: 朱砂水飞或粉碎成极细粉, 其余人参等 4 味药材粉碎成细粉, 配研, 过筛, 混匀。每 100 g 粉末加炼蜜(90~ 100) g, 制成适量的大蜜丸, 朱砂粉包衣, 干燥, 即得。

**2.8.2 药对组合** 分为定志丸全方组、远志-人参组、远志-石菖蒲组、远志-茯苓组、远志-朱砂组、远志-蜂蜜组和远志组, 共 7 组, 各组配伍组成和比例见表 2。

**2.8.3 供试品的制备<sup>[3]</sup>** 精密称取干燥至恒重的粉末适量(20 目, 相当于远志药材 1 g), 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 10 mL; 密塞后超声处理(功率 500 W, 频率 40 KHz) 30 min, 放置过夜。精密吸取上清液 2 mL 加入 3 倍量乙醚, 13 000 r·min<sup>-1</sup> 离心沉淀, 倾去上清液, 加 10% 盐酸 10 mL 使之溶解, 并转入圆底烧瓶中, 水浴回流 2 h, 过滤得褐色沉淀于滤纸上, 用甲醇 8 mL 少量多次洗滤纸, 使沉淀溶解并过滤于 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容即得供试品溶液。

**2.9 样品含量测定** 各组供试品溶液在拟定色谱条件下分别测定, 计算各组样品中远志皂苷元含量, 平行 3 份, 结果见表 2。计算公式如下:

远志皂苷元含量(%) =

$$\frac{\text{对照品浓度}(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}) \times \text{样品色谱峰面积} \times 10 \text{ mL} \times 5 \text{ 倍}}{\text{对照品色谱峰面积} \times \text{称样量}(\text{mg}) \times \text{配伍中含远志}\%} \times 100\%$$

表 2 定志丸及方中药对远志皂苷元含量(*n* = 3)

配伍分组	药味及剂量(g)	平均含量(%)	RSD(%)	相对定志丸组(%)	相对远志组(%)
定志丸	远志 1, 人参 1.5, 石菖蒲 1, 茯苓 1.5, 朱砂 0.06, 炼蜜 5	0.359 <sup>1)</sup>	1.70	—	— 20.3
远志-人参	远志 1, 人参 1.5	0.397 <sup>1, 2)</sup>	2.67	10.6	— 12.8
远志-石菖蒲	远志 1, 石菖蒲 1	0.313 <sup>1, 2)</sup>	1.27	— 12.8	— 30.3
远志-茯苓	远志 1, 茯苓 1.5	0.294 <sup>1, 2)</sup>	1.10	— 18.1	— 34.5
远志-朱砂	远志 1, 朱砂 0.06	0.563 <sup>1, 2)</sup>	1.22	49.3	25.4
远志-蜂蜜	远志 1, 炼蜜 5	0.466 <sup>1, 2)</sup>	1.68	29.8	3.79
远志	远志 1	0.449 <sup>2)</sup>	1.12	25.1	—
阴性	人参 1.5, 石菖蒲 1, 茯苓 1.5, 朱砂 0.06, 炼蜜 5	—	—	—	—

注: 与远志组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与定志丸组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

表2显示,定志丸中远志皂苷元含量显著低于单味远志,其中茯苓、石菖蒲显著抑制远志皂苷元的溶出,而朱砂则促进远志皂苷元的溶出,方剂中远志皂苷元的含量是各药味综合作用的结果。

### 3 讨论

远志皂苷类既是远志的有效成分,又是毒性成分<sup>[3,4]</sup>,定志丸中远志作为臣药,既协助君药加强疗效,同时通过配伍其毒副作用也得到有效控制。本实验结果为中药配伍减毒增效的理论提供了佐证。

### [参考文献]

- [1] 任廷苏,李 云,张镐京,等. 增广太平惠民和剂局方[M]. 海南出版社. 2002: 156.
- [2] 张文娟,房敏峰,李云峰,等. HPLC法研究甘草制远志减毒增效的物质基础[J]. 分析试验室, 2007, 26(增刊): 13-15.
- [3] 杨国红,孙晓飞. 反相高效液相色谱法测定远志中远志皂苷元的含量[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(4): 260-263.
- [4] 田 徽,武 云,王 建,夏厚林. 生远志中总皂苷、生物碱、口山酮、脂肪油的急性毒性研究[J]. 中药药理与临床, 2005; 21(4): 50-51.