

蜜远志配方颗粒质量标准的研究

潘杰^{1,2}, 甘杰华^{1,2}, 郑晓英³, 张辉³, 严萍^{1,2*}, 詹若挺^{1,2}

(1. 广州中医药大学中药资源科学与工程研究中心, 广东广州 510006; 2. 广州中医药大学岭南中药资源教育部重点实验室, 广东广州 510006; 3. 华润三九医药股份有限公司, 广东深圳 518110)

摘要: 目的 建立蜜远志配方颗粒(蜜远志)的质量标准。方法 TLC法定性鉴别细叶远志皂苷和远志山酮Ⅲ, HPLC法定量测定细叶远志皂苷、远志山酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖含有量。结果 TLC斑点清晰, 分离度好。细叶远志皂苷、远志山酮Ⅲ、3,6'-二芥子酰基蔗糖分别在0.0102~1.0239 mg/mL ($R^2 = 0.9991$)、0.0040~0.4956 mg/mL ($R^2 = 0.9993$)、0.0050~0.5452 mg/mL ($R^2 = 0.9993$)范围内呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为101.29%、97.61%、102.73%, RSD分别为1.99%、0.90%、1.57%。结论 该方法稳定可行, 可用于蜜远志配方颗粒的质量控制。

关键词: 蜜远志配方颗粒; 细叶远志皂苷; 远志山酮Ⅲ; 3,6'-二芥子酰基蔗糖; TLC; HPLC

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)04-0751-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2017.04.018

Quality standard for Miyuanzhi Dispensing Granules

PAN Jie^{1,2}, GAN Jie-hua^{1,2}, ZHENG Xiao-ying³, ZHANG Hui³, YAN Ping^{1,2*}, ZHAN Ruotong^{1,2}

(1. Research Center of Chinese Herbal Resource Science and Engineering, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Ministry of Education Key Laboratory for Chinese Medicinal Resource from Lingnan, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 3. China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518110, China)

KEY WORDS: Miyuanzhi Dispensing Granules; tenuifolin; polygalaxanthone III; 3,6'-disinapoylsucrose; TLC; HPLC

中药配方颗粒是以中药饮片为原料, 采用现代技术提取、浓缩、干燥、制粒而成的免煎颗粒^[1], 与传统汤剂比较, 其具有便于生产、服用方便等优点^[2], 不但体现了中医辨证用药的特点, 与中成药相比具有调配灵活的优势, 而且临床依从性较好^[3]。该剂型在国内外有着广阔的市场前景, 但在饮片原有性状与显微鉴别特征消失后如何控制其质量, 是目前生产研究中的难点与热点, 而常见HPLC法^[4-7]和TLC法^[8-9]适用性强, 适合大多数中药成分的分离分析, 成为中药质量评价的重要方法。

远志为我国常用中药, 始载于《神农本草经》, 为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd.

或卵叶远志 *Polygala sibirica* L. 的干燥根^[10], 具有益智安神、消痰驱肿之功效, 用于心肾不交、失眠多梦、健忘惊悸、神志恍惚、咳痰不畅、疮疡肿毒等症。但生远志的毒性较大, 若使用过量或过久, 对胃肠运动有显著抑制作用, 故其减毒增效的研究也正在开展, 其中最常用炮制品有制远志和蜜远志^[11-13], 本实验将以蜜远志配方颗粒为研究对象, 建立稳定可靠的质量标准。

远志的主要成分为皂苷、寡糖酯、山酮, 以及少量生物碱等, 其中皂苷经碱水解后会转化为细叶远志皂苷。研究表明^[14-16], 远志山酮Ⅲ和3,6'-二芥子酰基蔗糖具有一定生理活性, 如止痛、抗真菌、抗抑郁等。因此, 本实验将参照2015年

收稿日期: 2016-12-17

基金项目: 广东省科技计划项目(2016ZC0097); 广东省普通高校创新团队项目(2016KYTD02)

作者简介: 潘杰(1991—), 男, 硕士生, 从事中药质量评价与研究。Tel: 15989187540, E-mail: panjetom@vip.qq.com

*通信作者: 严萍(1976—), 女, 副研究员, 从事中药质量评价与研究。E-mail: ycyp22@163.com

版《中国药典》中远志的含有量测定项和薄层鉴定项，选择细叶远志皂苷、远志山酮Ⅲ、3, 6'-二芥子酰基蔗糖作为指标成分，采用 TLC 法和 HPLC 法对蜜远志配方颗粒额质量标准进行研究。

1 材料、试药和仪器

蜜远志配方颗粒共 10 批，均由华润三九医药股份有限公司提供。远志山酮Ⅲ（含有量 93.5%，111850-201202；含有量 95.5%，111850-201504）、3, 6'-二芥子酰基蔗糖（含有量 94.2%，111848-201202）、细叶远志皂苷（含有量 95.6%，111849-201504）对照品均购自于中国食品药品检定研究院。远志标准药材（120989-201006）购自中国食品药品检定研究院，经鉴定符合《中国药典》标准。甲醇、乙腈为色谱纯（德国 Merck 公司）；水为超纯水（自制，电阻率 $18.2 \text{ m}\Omega \cdot \text{cm}$ ）；甲醇、乙醇、正丁醇、甲酸、磷酸等均为分析纯。Thermo Ultimate-3000 高效液相色谱仪四元泵，配置二极管阵列检测器 DAD、自动进样器、Chromelen 7.2 色谱工作站（美国赛默飞世尔科技公司）；KQ-700DE 超声波提取仪（昆山市超声仪器有限公司）；BS224S 电子分析天平（德国赛多利斯公司）；XR205SM-DR 电子天平（瑞士 Precisa 公司）；Milli-Q 超纯水系统（美国 Millipore 公司）；薄层色谱成像仪（瑞士 Camag 公司）；硅胶 G 预制板（ $100 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ 、 $100 \text{ mm} \times 200 \text{ mm}$ ）、G₂₅₄ 预制板（ $100 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ ）（青岛海洋化工厂分厂）；硅胶 HSGF₂₅₄ 预制板（ $100 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ ，烟台江友硅胶开发有限公司）；硅胶 G 预制板（ $100 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ ，德国 Merck 公司）；硅胶 G 预制板（ $100 \text{ mm} \times 200 \text{ mm}$ ，浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂）。

2 方法

2.1 TLC 定性鉴别

2.1.1 远志山酮Ⅲ 参照 2015 年版《中国药典》（一部），取样品约 0.5 g，加 70% 甲醇 20 mL，超声 30 min，滤过，滤液蒸干，残渣加 1 mL 甲醇溶解，作为供试品溶液。另取对照品适量，加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 该成分的对照品溶液。取供试品溶液 8 μL、对照品溶液 2 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（7:3:1）下层溶液为展开剂，预饱和 30 min，展开，取出，自然晾干。将硅胶 G 板置于紫外灯（366 nm）下检视，结果见图 1。由图可知，供试品色谱在与对照品相应的位置上，呈现出相同颜色斑点，显色清晰。

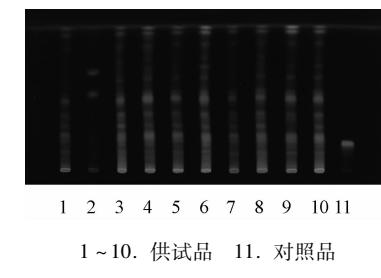


图 1 远志山酮Ⅲ TLC 色谱图

Fig. 1 TLC chromatogram of polygalaxanthone III

2.1.2 细叶远志皂苷 参照 2015 年版《中国药典》（一部），取样品粉末约 1 g，加 70% 甲醇 50 mL，超声 60 min，滤过，精密量取 25 mL，蒸干，残渣加 10% 氢氧化钠溶液 50 mL，加热回流 2 h，放冷，盐酸调节 pH 值为 4~5，水饱和正丁醇提取 3 次，每次 50 mL，合并正丁醇液，回收溶液至干，残渣加甲醇溶解，转移至 25 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，作为供试品溶液。取远志对照药材 0.5 g，同法制备对照药材溶液。取细叶远志皂苷对照品适量，加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 该成分的对照品溶液。取供试品溶液 12 μL、对照药材溶液 12 μL、对照品溶液 0.5 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（6:3:0.5）溶液为展开剂，预饱和 30 min，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇显色，105 °C 加热至斑点显色清晰，置紫外灯（365 nm）和白光下检视，结果见图 2。由图可知，供试品色谱在与对照药材及对照品相应的位置上，呈现出相同颜色斑点，显色清晰。

2.2 HPLC 定量测定

2.2.1 细叶远志皂苷

2.2.1.1 色谱条件 Agela Technology Venusil XBP C₁₈ 色谱柱（ $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$ ）；流动相甲醇-0.05% 磷酸（70:30）；检测波长 210 nm；柱温为 25 °C；进样量 10 μL。结果，该色谱条件下空白样品无干扰，专属性良好，色谱图见图 3。

2.2.1.2 对照品溶液制备 称取细叶远志皂苷 10.71 mg，甲醇定容至 10 mL 量瓶中，并稀释至刻度，即得（质量浓度为 1.023 9 mg/mL）。

2.2.1.3 供试品溶液制备 精密称取样品粉末（过 3 号筛）约 1 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 70% 甲醇 50 mL，称定质量，超声 1 h，放冷，70% 甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 25 mL，置于圆底烧瓶中，蒸干，残渣加 10% 氢氧化钠溶液 50 mL，加热回流 1 h，放冷，

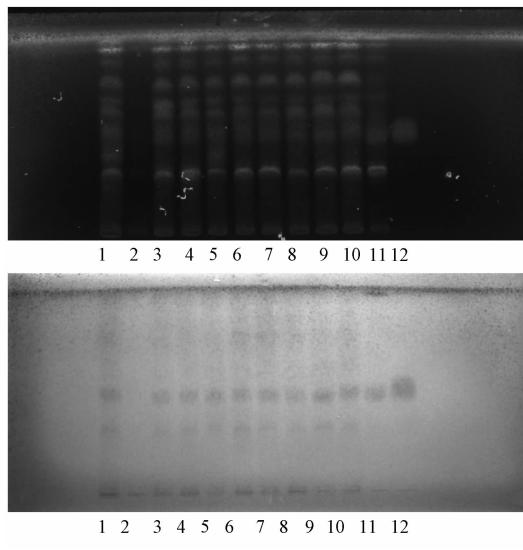


图2 细叶远志皂苷 TLC 色谱图

Fig. 2 TLC chromatogram of tenuifolin

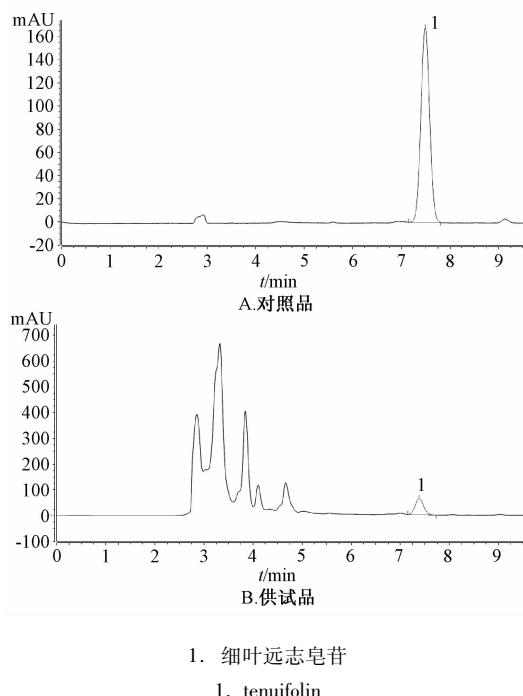


图3 细叶远志皂苷 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of tenuifolin

盐酸调节 pH 至 4~5，水饱和正丁醇振摇提取 3 次，每次 50 mL，合并正丁醇液，回收溶剂至干，残渣加甲醇溶解，转移至 25 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，摇匀，取续滤液，即得。

2.2.1.4 方法学考察 取细叶远志皂苷母液，甲

醇按一定比例稀释，制成对照品溶液，进样 10 μL，记录峰面积，以溶液质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归，得回归方程为 $Y = 33.867X - 0.2075$ ($R^2 = 0.9991$)，在 0.0102~1.0239 mg/mL 范围内线性关系良好。精密称取本品粉末（批号 10，过 3 号筛）约 1 g，按“2.2.1.3”项下方法制备供试品溶液，平行 6 份，测得含有量 RSD 为 1.00%，表明该方法重复性良好；峰面积 RSD 为 0.93%，表明仪器精密度良好；于 0、3、9、12、15、18、21、24、27 h 进样，测得峰面积 RSD 为 1.60%，表明供试品溶液在 27 h 内稳定性良好。取含有量已知的样品（批号 10，含有量 9.13 mg/g）粉末 6 份，每份加入 4.33 mg 对照品，按“2.2.1.3”项下方法制备供试品溶液，测定回收率，结果见表 1。

表1 细叶远志皂苷加样回收率试验结果 (n=6)

Tab. 1 Results of recovery tests for tenuifolin (n=6)

取样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/%
0.4999	4.52	4.33	8.96	102.66		
0.5002	4.52	4.33	9.02	103.91		
0.4997	4.52	4.33	8.85	100.16	101.29	1.99
0.4996	4.52	4.38	8.89	99.89		
0.4996	4.52	4.38	8.84	98.64		
0.5000	4.52	4.38	9.01	102.47		

2.2.1.5 样品含有量测定 取各批样品适量，按“2.2.1.3”项下方法制备供试品溶液，测定含有量，结果见表 2。

表2 细叶远志皂苷含有量测定结果

Tab. 2 Results of content determination of tenuifolin

批号	细叶远志皂苷/%	批号	细叶远志皂苷/%
1	0.91	6	1.71
2	0.08	7	1.56
3	1.67	8	1.80
4	1.76	9	1.67
5	1.88	10	1.83

2.2.2 远志山酮Ⅲ和 3, 6'-二芥子酰基蔗糖

2.2.2.1 色谱条件 Agela Technology Venusil XBP C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)；流动相乙腈-0.05% 磷酸 (18:82)；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 320 nm；柱温 25 °C；进样量 10 μL。结果，该色谱条件下空白样品无干扰，专属性良好，色谱图见图 4。

2.2.2.2 对照品溶液制备 称取远志山酮Ⅲ对照品 10.69 mg，置于 20 mL 量瓶中，甲醇溶解并定容至刻度 (质量浓度 0.4998 mg/mL)。再称取 3,

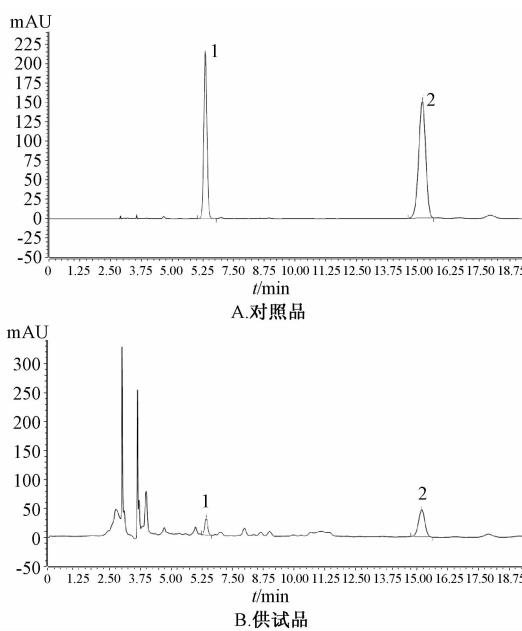


图4 远志山酮Ⅲ和3, 6'-二芥子酰基蔗糖HPLC色谱图
Fig. 4 HPLC chromatograms of polygalaxanthone III and 3, 6'-disinapoysucrose

6'-二芥子酰基蔗糖对照品11.07 mg, 置于10 mL量瓶中, 甲醇溶解并定容至刻度(质量浓度1.0428 mg/mL)。分别精密移取3、2 mL, 置于10 mL量瓶中, 甲醇溶解并定容至刻度, 即得(含远志山酮Ⅲ0.1499 mg/mL、3, 6'-二芥子酰基蔗糖0.2086 mg/mL)。

2.2.2.3 供试品溶液制备 精密称取样品粉末约1 g(过3号筛), 置于干燥具塞锥形瓶中, 精密加入70%甲醇50 mL, 称定质量, 加热回流90 min, 放冷至室温, 70%甲醇补足减失的质量, 摆匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.2.4 方法学考察 取远志山酮Ⅲ母液适量, 用甲醇按一定比例稀释, 制成对照品溶液, 进样10 μL, 以溶液质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y)进行回归, 得回归方程为 $Y = 210.13X - 0.7807$ ($R^2 = 0.9993$), 在0.0040~0.4956 mg/mL范围内线性关系良好; 取3, 6'-二芥子酰基蔗糖母液适量, 同法操作, 得回归方程为 $Y = 456.07X + 0.2907$ ($R^2 = 0.9993$), 在0.0050~0.5452 mg/mL范围内线性关系良好。精密称取样品粉末(批号10, 过3号筛)约1 g, 按“2.2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 平行6份, 测得远志山酮Ⅲ、3, 6'-二芥子酰基蔗糖含有量RSD分别为1.97%、1.70%, 表明该方法重复性良好; 峰面积RSD分别为1.68%、1.10%, 表明仪器精密度良好; 于0、3、9、12、15、18、21、24 h进样, 测得峰面积RSD分别为1.75%、2.01%, 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。取含有量已知的样品粉末6份, 加入远志山酮Ⅲ(0.25 mg/g)、3, 6'-二芥子酰基蔗糖(1.23 mg/g)对照品, 按“2.2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 测定回收率, 结果见表3。

表3 远志山酮Ⅲ和3, 6'-二芥子酰基蔗糖加样回收率试验结果($n=6$)
Tab. 3 Results of recovery tests for polygalaxanthone III and 3, 6'-disinapoysucrose ($n=6$)

成分	取样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
远志山酮Ⅲ	0.5000	0.246	0.257	0.494	96.33	97.61	0.90
	0.4999	0.246	0.257	0.494	96.65		
	0.4997	0.246	0.257	0.499	98.54		
	0.4996	0.246	0.257	0.497	97.82		
	0.4999	0.246	0.257	0.498	97.87		
	0.5001	0.246	0.257	0.499	98.46		
3,6'-二芥子酰基蔗糖	0.5000	0.620	0.474	1.10	102.07	102.73	1.57
	0.4999	0.620	0.474	1.10	101.03		
	0.4997	0.620	0.474	1.10	102.23		
	0.4996	0.620	0.474	1.10	101.37		
	0.4999	0.620	0.474	1.12	104.86		
	0.5001	0.620	0.474	1.12	104.81		

2.2.2.5 样品含有量测定 取各批样品适量, 按“2.2.2.3”项下方法供试品溶液, 测定含有量, 结果见表4。

3 讨论

本实验考察了甲醇-磷酸、乙腈-磷酸、甲醇-甲酸、乙腈-甲酸、甲醇-乙酸、乙腈-乙酸、甲醇-水、

表4 远志山酮Ⅲ和3, 6'-二芥子酰基蔗糖含有量测定结果

Tab. 4 Results of content determination of polygalaxanthone III and 3, 6'-disinapoysucrose

远志山酮Ⅲ/3,6'-二芥子		远志山酮Ⅲ/3,6'-二芥子酰基蔗糖	
批号	%	批号	%
1	0.02	6	0.04
2	0.00	7	0.05
3	0.04	8	0.04
4	0.03	9	0.04
5	0.04	10	0.04
	0.27		0.32

乙腈-水等流动相的分离效果，发现甲醇-0.05% 磷酸（70:30）洗脱时，细叶远志皂苷峰形较好，分离度理想；乙腈-0.05% 磷酸（18:82）洗脱时，远志山酮Ⅲ和3, 6'-二芥子酰基蔗糖峰形较好，分离度理想。而且，两种定量测定方法对不同厂家色谱柱、体积流量、柱温等均有良好的耐用性。

同时，考察了pH值、水解时间（30、60、90、120、150 min）、NaOH溶液体积分数（5%、10%、15%）的水解效果，发现加10%氢氧化钠溶液50 mL，加热回流2 h，pH值4~5时提取效果较好。再考察了提取方法（加热回流、超声提取、冷浸）、提取溶剂（70%甲醇、甲醇、乙醇、乙酸乙酯、石油醚）、提取时间（30、60、90 min）、体积（25、50、100 mL）等条件，发现用50 mL 70%甲醇加热回流90 min的提取效果较好。

实验结果表明，TLC法和HPLC法均较为稳定可靠，可用于蜜远志配方颗粒的质量控制，但远志山酮Ⅲ含有量较低，故能否作为指标成分还需扩大样本量和来源作进一步研究。另外，不同批次样品间的含有量也存在一定差异，可能与制备工艺和药材来源不同有关。因此，为推进该药物质量的可控性和稳定性，建议其生产工艺需要进一步优化，并控制主要药材来源和炮制工艺。

参考文献：

- [1] 谢靖屹. 中药配方颗粒特点分析[J]. 广州医药, 2011, 42(2): 40-42.

- [2] 李松林, 宋景政, 徐宏喜. 中药配方颗粒研究浅析[J]. 中草药, 2000, 40(S1): 1-7.
- [3] 刘晖晖, 李盛青, 詹若挺, 等. 中药配方颗粒发展现状与临床推广应用面临的主要问题分析[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2011, 13(1): 9-17.
- [4] 刘晖晖, 张 辉, 莫结丽. 一测多评法测定黄连配方颗粒中4个成分的含量[J]. 中国药业, 2012, 21(10): 39-40.
- [5] 李 宁, 潘晓玲. 溶剂/流速双梯度-HPLC 整体柱分析三七中药配方颗粒中4种皂苷成分[J]. 化学学报, 2011, 69(8): 981-986.
- [6] Chen B, Ma L H, Wang X B, et al. Simultaneous determination of 5 phenolic acids in fried *Fructus Xanthii* from different production sites and its dispensing granules by using ultra-pressure liquid chromatography [J]. *Pharmacogn Mag*, 2013, 9 (34): 103-108.
- [7] 王 婵, 韦 刀, 黄晓玉. 用高效液相色谱法测定银翘散配方颗粒中连翘酯苷A的含量[J]. 药学实践杂志, 2015, 33(2): 156-158.
- [8] 刘淑花, 刘玉涛, 姚继红, 等. 白芍在配方颗粒冲剂与传统饮片煎剂薄层色谱鉴别及芍药苷含量比较[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(8): 2665-2668.
- [9] 陈培胜, 廖彩震, 成守玲, 等. 白花蛇舌草配方颗粒薄层色谱鉴别方法研究[J]. 环球中医药杂志, 2010, 3(5): 347-350.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 156-157.
- [11] Liu J Y, Yang X D, He J M, et al. Structure analysis of triterpene saponins in *Polygala tenuifolia* by electrospray ionization ion trap multiple-stage mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2007, 42(7): 861-873.
- [12] Ikeya Y, Sugama K, Okada M, et al. Four new phenolic glycosides from *Polygala tenuifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(10): 2600-2605.
- [13] 刘大伟, 康利平, 马百平. 远志化学及药理作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2012, 39(1): 44-51.
- [14] 闫 明, 李 萍. 远志抗衰老作用研究[J]. 实用药物与临床, 2006, 9(1): 22-23.
- [15] 刘 屏, 王东晓, 郭代红, 等. 远志3, 6'-二芥子酰基蔗糖在药物诱发抑郁模型上的药效评价[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(18): 1391-1394.
- [16] 杨学东, 徐丽珍, 杨世林, 等. 远志属植物中山酮类成分及其药理研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 5 (12): 88-94.