

远志炮制前后5种寡糖酯类成分的变化规律

孟艳¹, 张学兰^{1*}, 唐玉秋², 李慧芬¹

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 济南市中心医院, 济南 250033)

[摘要] **目的:**比较远志不同炮制品中5种寡糖酯类成分的含量,探讨远志炮制前后寡糖酯类成分的变化规律。**方法:**采用HPLC同时测定远志不同炮制品中西伯利亚远志糖A₅,西伯利亚远志糖A₆,球腺糖A, tenuifolioside B及3,6'-二芥子酰基蔗糖的含量,流动相乙腈(A)-0.1%甲酸溶液(B)梯度洗脱(0~5 min, 10%~12% A; 5~20 min, 12%~25% A; 20~25 min, 25% A),检测波长330 nm。**结果:**远志根皮中5种寡糖酯类成分含量均明显高于木心。远志根皮中5个成分质量分数分别为0.173%, 0.155%, 0.071%, 0.120%, 0.648%, 木心中5个成分质量分数分别为0.090%, 0.053%, 0.029%, 0.018%, 0.205%。蜜远志中西伯利亚远志糖A₆和球腺糖A含量高于生品,而其他3种成分的含量则较生品降低。制远志中西伯利亚远志糖A₅,西伯利亚远志糖A₆,3,6'-二芥子酰基蔗糖和 tenuifolioside B含量较生品显著降低,而球腺糖A含量则较生品升高。**结论:**远志木心与远志根皮中5种寡糖酯类成分含量相差较大,炮制对远志中寡糖酯类成分的含量具有一定影响,经甘草汁煮制后西伯利亚远志糖A₅,西伯利亚远志糖A₆,3,6'-二芥子酰基蔗糖及 tenuifolioside B均产生了质变。

[关键词] 远志; 炮制品; 寡糖酯类; 球腺糖A; 西伯利亚远志糖A₅

[中图分类号] [R943.1]; R283.3; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0010-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015090010

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150317.1048.008.html>

[网络出版时间] 2015-03-17 10:48

Variation of Five Oligosaccharide Esters in Polygalae Radix Before and After Processing MENG Yan¹, ZHANG Xue-lan^{1*}, TANG Yu-qiu², LI Hui-fen¹ (1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China; 2. Ji'nan Central Hospital, Ji'nan 250033, China)

[Abstract] **Objective:** To compare contents of five kinds of oligosaccharide esters in different processed products of Polygalae Radix and to discuss its variation before and after processing. **Method:** Contents of sibiricose A₅, sibiricose A₆, glomeratose A, tenuifolioside B and 3, 6'-disinapoyl sucrose in different processed products of Polygalae Radix were determined by HPLC, mobile phase of acetonitrile-0.1% formic acid solution in gradient program and detection wavelength of 330 nm. **Result:** Contents of five oligosaccharide esters in root bark of Polygalae Radix were all obviously higher than them in the core. Contents of these five ingredients in root bark were 0.173%, 0.155%, 0.071%, 0.120%, 0.648%, contents of them in the core were 0.090%, 0.053%, 0.029%, 0.018%, 0.205%, respectively. In honey-stir-baked products, contents of sibiricose A₆ and glomeratose A were higher than them in the crude, but sibiricose A₅, tenuifolioside B and 3, 6'-disinapoyl sucrose were lower than them in the crude. In licorice juice boiled products, contents of sibiricose A₅, sibiricose A₆, tenuifolioside B and 3, 6'-disinapoyl sucrose were obviously lower than them in the crude, but glomeratose A was higher than them in the crude. **Conclusion:** Contents of five oligosaccharide esters are quite different between root bark and the core of Polygalae Radix, processing has a certain influence on contents of oligosaccharide esters. Sibiricose A₅, sibiricose A₆, tenuifolioside B and 3, 6'-disinapoyl sucrose in Polygalae Radix all have quality change after boiled with licorice juice.

[Key words] Polygalae Radix; processed products; oligosaccharide esters; glomeratose A; sibiricose A₅

[收稿日期] 20140723(006)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09301-013);济南市科技计划项目(201201036)

[第一作者] 孟艳,在读硕士,从事中药新药研发与中药炮制原理研究, Tel:13075309852, E-mail:1939744741@qq.com

[通讯作者] *张学兰, 硕士, 教授, 从事中药新药研发与中药炮制原理研究, Tel:0531-89628081, E-mail:zhang8832440@sina.com

远志为临床常用的安神益智药^[1],具有戟人咽喉、令人呕吐的副作用,故历来入药均以炮制品为主,炮制方法主要有去心、甘草汁煮制、蜜炙等^[2]。2010 年版《中国药典》收录了远志和甘草汁煮远志 2 种饮片规格,但关于煮制时间和煮制程度无明确规定,致使各地炮制品质量差异很大^[3]。关于远志去心《雷公炮炙论》曰:“凡使,先须去心,若不去心,服之令人闷”。甘草汁制远志可减缓其“戟人咽喉”的燥性,协同补脾益气、安神益智之功效^[4],蜜炙则可增强远志的润肺化痰作用^[5],但其炮制机制尚未明确。

远志主要含有皂苷类、寡糖酯类等成分。其中寡糖酯类是该药材安神益智的主要活性成分^[6-8],具有安神、抗老年痴呆、抗抑郁和神经保护作用。生远志对大鼠胃肠运动及消化功能呈明显的抑制毒性,而蜜远志、甘草制远志的抑制作用相对较弱^[9-10]。研究表明远志不同炮制品 HPLC 指纹图谱具有明显差异,经不同方法炮制后远志皂苷元、远志酸含量有所变化^[11-14]。但有关炮制对远志中寡糖酯类成分含量的影响报道甚少。本实验采用 HPLC 同时测定远志不同炮制品中 5 种寡糖酯类成分的含量,探讨该药材炮制前后寡糖酯类成分的变化规律,为揭示远志的炮制机制及其不同饮片的质量标准制定提供参考。

1 材料

L-2000 型高效液相色谱仪(日本日立公司),FA1604N 型 1/10 万电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。远志购自山东百味堂中药饮片有限公司,经山东中医药大学中药鉴定教研室李峰教授鉴定为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* 干燥根的除去木心的段状饮片。3,6'-二芥子酰基蔗糖、西伯利亚远志糖 A₅ 和球腺糖 A, tenuifolioside B 对照品(自制,纯度均 >98%);西伯利亚远志糖 A₆ 对照品(成都普思生物科技有限公司,批号 20110506,纯度 96.62%),蜜炙远志、甘草汁煮远志(自制),乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

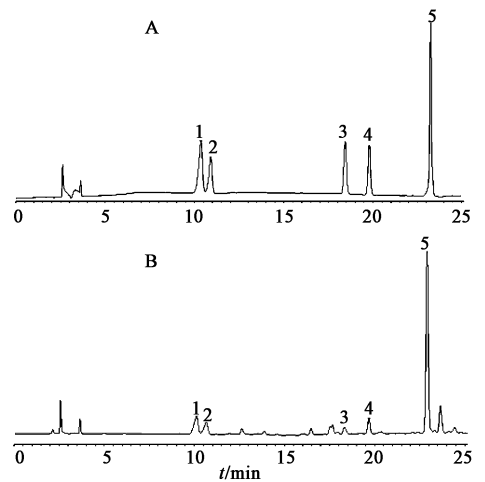
2.1 色谱条件

表 1 远志中 5 种寡糖酯类成分的线性关系考察

Table 1 Linear relationships of five kinds of oligosaccharide esters from *Polygalae Radix*

化合物	回归方程	r	线性范围/ μg
西伯利亚远志糖 A ₅	$Y = 1\ 894.8 X + 8.48$	0.999 8	0.019 2 ~ 0.768
西伯利亚远志糖 A ₆	$Y = 1\ 352.2 X + 0.34$	0.999 9	0.020 3 ~ 0.812
球腺糖 A	$Y = 1\ 064.3 X + 3.06$	0.999 9	0.017 4 ~ 0.696
tenuifolioside B	$Y = 1\ 127.5 X - 3.85$	0.999 9	0.018 6 ~ 0.744
3,6'-二芥子酰基蔗糖	$Y = 2\ 949.6 X - 2.39$	1.000 0	0.016 3 ~ 0.652

mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸溶液(B)梯度洗脱(0~5 min, 10%~12% A; 5~20 min, 12%~25% A; 20~25 min, 25% A), 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 330 nm, 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 西伯利亚远志糖 A₅; 2. 西伯利亚远志糖 A₆; 3. 球腺糖 A; 4. tenuifolioside B; 5. 3,6'-二芥子酰基蔗糖

图 1 远志生品 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of crude *Polygalae Radix*

2.2 对照品溶液的制备 精密称取西伯利亚远志糖 A₅ 1.92 mg, 西伯利亚远志糖 A₆ 2.03 mg, 球腺糖 A 1.74 mg, tenuifolioside B 1.86 mg, 3,6'-二芥子酰基蔗糖 1.63 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 分别精密移取上述 4 种对照品溶液各 0.1 mL 置同一 1 mL 量瓶中, 摇匀, 得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取远志各炮制品粉末(过 40 目筛)各约 0.2 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 20 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取 40 min, 取出, 放冷, 加 50% 甲醇补足减少的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系考察 精密量取 2.2 项下混合对照品溶液 1, 2, 5, 10, 40 μL , 按 2.1 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 结果各成分在一定范围内线性关系良好, 见表 1。

2.5 精密度试验 精密量取生远志供试品溶液 40 μL ,按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算西伯利亚远志糖 A_5 ,西伯利亚远志糖 A_6 ,球腺糖 A, tenuifolioside B,3,6'-二芥子酰基蔗糖峰面积的 RSD 分别为 1.7%,1.6%,1.1%,1.5%,1.2%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密量取生远志供试品溶液 40 μL ,分别在 0,2,4,8,12,24 h 按 2.1 项下色谱条件测定,计算西伯利亚远志糖 A_5 ,西伯利亚远志糖 A_6 ,球腺糖 A, tenuifolioside B,3,6'-二芥子酰基蔗糖峰面积的 RSD 分别为 1.5%,1.9%,1.0%,1.5%,1.2%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 精密称取生远志粉末(过 40 目

筛)6 份,每份约 0.2 g,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算西伯利亚远志糖 A_5 ,西伯利亚远志糖 A_6 ,球腺糖 A, tenuifolioside B,3,6'-二芥子酰基蔗糖含量的 RSD 分别为 1.7%,1.2%,0.7%,1.5%,0.9%,表明该方法重复性较好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的生远志粉末(过 40 目筛)6 份,每份约 0.1 g,各精密加入 0.176 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 西伯利亚远志糖 A_5 ,0.145 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 西伯利亚远志糖 A_6 ,0.075 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 球腺糖 A,0.127 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ tenuifolioside B,0.673 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品溶液 1 mL,用 50% 甲醇补足至 20 mL,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,结果见表 2,表明该方法准确可靠。

表 2 远志中 5 种寡糖酯类成分的加样回收率试验

Table 2 Recovery tests of five kinds of oligosaccharide esters from Polygalae Radix

成分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
西伯利亚远志糖 A_5	0.100 1	0.173 2	0.176	0.347 0	98.75	97.96	1.8
	0.100 3	0.173 5	0.176	0.345 5	97.73		
	0.100 7	0.174 2	0.176	0.345 0	97.05		
	0.101 1	0.174 9	0.176	0.344 3	96.25		
	0.100 5	0.173 9	0.176	0.344 5	96.93		
	0.101 3	0.175 2	0.176	0.353 0	101.02		
西伯利亚远志糖 A_6	0.100 1	0.155 2	0.145	0.299 2	99.31	98.56	1.3
	0.100 3	0.155 5	0.145	0.298 5	98.62		
	0.100 7	0.156 1	0.145	0.301 4	100.21		
	0.101 1	0.156 7	0.145	0.298 7	97.93		
	0.100 5	0.155 8	0.145	0.295 8	96.55		
	0.101 3	0.157 0	0.145	0.300 2	98.76		
球腺糖 A	0.100 1	0.071 17	0.075	0.143 5	96.44	98.06	1.0
	0.100 3	0.071 31	0.075	0.144 5	97.59		
	0.100 7	0.071 60	0.075	0.146 1	99.33		
	0.101 1	0.071 88	0.075	0.145 8	98.56		
	0.100 5	0.071 46	0.075	0.145 0	98.05		
	0.101 3	0.072 02	0.075	0.145 8	98.37		
tenuifolioside B	0.100 1	0.120 1	0.127	0.245 3	98.58	97.97	1.0
	0.100 3	0.120 4	0.127	0.244 8	97.95		
	0.100 7	0.120 8	0.127	0.247 2	99.53		
	0.101 1	0.121 3	0.127	0.245 2	97.56		
	0.100 5	0.120 6	0.127	0.243 5	96.77		
	0.101 3	0.121 6	0.127	0.245 3	97.40		
3,6'-二芥子酰基蔗糖	0.100 1	0.684 7	0.673	1.334 7	96.58	98.19	1.0
	0.100 3	0.686 1	0.673	1.350 5	98.72		
	0.100 7	0.688 8	0.673	1.359 7	99.69		
	0.101 1	0.691 5	0.673	1.353 4	98.35		
	0.100 5	0.687 4	0.673	1.346 7	97.96		
	0.101 3	0.692 9	0.673	1.351 4	97.85		

2.9 样品测定 精密称取远志不同炮制品粉末各约 0.2 g,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,精密吸取混合对照品溶液 20 μL 和各供试品溶液 40 μL ,按 2.1 项下色谱条件测定,按干燥品计算样品中各指标成分含量,结果见表 3。

3 讨论

本文采用 HPLC 同时测定远志不同炮制品中 5 种寡糖酯类成分的含量,结果表明该方法操作简便、灵敏可靠、重复性好,为远志饮片的质量控制和评价提供新方法。远志的根细小,产量低、临床用量大,

表 3 远志不同炮制品中 5 种寡糖酯类成分的含量测定 (n=2)

样品	西伯利亚远志糖 A ₅	西伯利亚远志糖 A ₆	球腺糖 A	tenuifoliside B	3,6'-二芥子酰基蔗糖	%
远志木心	0.090	0.053	0.029	0.018	0.205	
远志根皮(生品)	0.173	0.155	0.071	0.120	0.684	
蜜炙远志	0.167	0.187	0.072	0.106	0.670	
甘草汁煮远志	0.033	0.054	0.142	0.033	0.140	

导致药材价格较高。本文研究表明远志木心中 5 种寡糖酯类成分含量明显低于根皮,以 3,6'-二芥子酰基蔗糖含量较高,达 0.205%。曾对远志根皮和木心的 HPLC 指纹图谱进行比较,结果二者的色谱峰基本相似,只是峰面积有所不同,木心的各色谱峰面积远小于根皮。鉴于远志木心占药材的比例较大,且去木心操作费工费时,故建议远志以不去心入药为宜,但应增加给药剂量。

远志经蜜炙和甘草水煮制后 5 种寡糖酯类成分含量均有所变化,但变化趋势不一。其中蜜远志中西伯利亚远志糖 A₆ 含量显著高于生品,而制远志中西伯利亚远志糖 A₅,西伯利亚远志糖 A₆,3,6'-二芥子酰基蔗糖含量均较生品显著降低。说明远志中西伯利亚远志糖 A₅,西伯利亚远志糖 A₆,3,6'-二芥子酰基蔗糖和 tenuifoliside B 性质不稳定,在炮制过程中易产生质变,且存在其他成分向西伯利亚远志糖 A₆ 转化的情况。寡糖酯类成分为远志抗老年痴呆和抗抑郁的活性成分,远志甘草汁炮制后益智药效增强,分析与寡糖酯类成分的转化密切相关。

远志中糖酯类成分为蔗糖或寡糖与各种酚酸所形成的酯类化合物,目前从远志中分离出的寡糖酯类成分已达 40 余种^[15]。研究表明 3,6'-二芥子酰基蔗糖性质不稳定,在分离纯化过程中结构易发生变化^[16]。3,6'-二芥子酰基蔗糖等分子中均含有西伯利亚远志糖 A₆ 母核,远志蜜炙后西伯利亚远志糖 A₆ 含量升高,可能与蜜炙过程中 3,6'-二芥子酰基蔗糖等分子中的酯碱水解有关。

[参考文献]

[1] 倪建新,陈木水,林跃虹. 远志属植物三萜皂苷及其生物活性研究进展[J]. 中药材, 2011, 34(2): 317-319.

[2] 毛福英,赵云生,王建寰. 远志炮制历史沿革及研究进展[J]. 亚太传统医药, 2010, 6(10): 148-150.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 146.

[4] 单建学. 远志的炮制及临床应用[J]. 湖南中医药导报, 2001, 7(2): 89.

[5] 王建,瞿燕,吴晖晖,等. 远志及其不同蜜炙品的镇静安神作用对比研究[J]. 江苏中医药, 2007, 39(6): 60-61.

[6] Hu Y, Liu M, Liu P, et al. Possible mechanism of the antidepressant effect of 3, 6'-disinapoyl sucrose from *Polygala tenuifolia* Willd. [J]. J Pharm Pharmacol, 2011, 63(6): 869-874.

[7] 余海华,刘屏,马亮,等. 远志抗抑郁有效部位中寡糖酯单体的分离及活性研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(11): 1278-1280.

[8] 黄志雄,穆丽华,赵海霞,等. 远志寡糖酯化化合物的神经保护作用及初步构效关系研究[J]. 解放军药学报, 2012, 28(5): 377-384.

[9] 吴晖晖,王建,刘贤武,等. 远志及其不同蜜炙品的急性毒性及其对胃肠运动的影响[J]. 四川中医, 2006, 24(11): 16-18.

[10] 王建,郭娟,武云. 远志不同炮制品对胃肠运动及消化功能的影响[J]. 中药药理与临床, 2006, 22(3): 120-124.

[11] 房敏峰,付志玲,腾红梅,等. HPLC 评价远志种质资源及炮制品的质量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(1): 50-53.

[12] 冯向东,高光伟,黄海欣. 远志炮制前后质量变化的比较研究[J]. 中药材, 2008, 31(6): 818-820.

[13] 房敏峰,付志玲,王相人,等. 炮制对远志中皂苷元类成分的影响[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(3): 452-456.

[14] 林敬开,闫小平,官仕杰,等. 远志不同炮制品皂苷类成分含量的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 89-91.

[15] 易东阳,闫磊,张慧,等. 远志的化学成分及治疗阿尔茨海默病的药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2014, 25(11): 1049-1051.

[16] 梁键谋,邱峰,王乃利,等. 3,6'-二芥子酰基蔗糖的稳定性研究[J]. 中国药学杂志, 2010, 45(18): 1423-1427.

[责任编辑 刘德文]