

# 高效液相色谱-飞行时间质谱法快速鉴定远志生、制饮片的化学成分

孟艳, 吴鹏, 张学兰\*, 蒋海强, 李慧芬, 张群群, 王均秀  
(山东中医药大学, 济南 250355)

**[摘要]** **目的:**采用高效液相色谱-飞行时间质谱(HPLC-TOF/MS)联用技术快速鉴定远志生、制饮片的化学成分,探讨远志炮制前后化学成分的变化规律。**方法:**高效液相色谱采用 Halo®C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm),流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱;质谱使用电喷雾离子源,在正离子模式下扫描,获得远志生、制饮片总离子流图和离子峰质谱数据;通过对照品定位、质谱数据和文献参照对各离子峰进行归属,比较远志炮制前后离子峰数目和峰强度的变化。**结果:**从生远志中鉴定了21个化合物,其中13种寡糖酯类成分,8种皂苷类成分。从制远志中鉴定了20种化合物,其中11种寡糖酯类成分,9种皂苷类成分。远志经甘草汁煮制后,tenuifoliose C 或 tenuifoliose E, tenuifoliose K 的分子离子峰消失,而西伯利亚远志糖 A<sub>5</sub>, 西伯利亚远志糖 A<sub>6</sub>, tenuifoliside A, tenuifoliside B, tenuifoliside C, 3, 6'-二芥子酰基蔗糖, tenuifoliose A, tenuifoliose B 或 tenuifoliose D, tenuifoliose H, 远志皂苷 Vg, 远志皂苷 Wg 及远志皂苷 Gg 的分子离子峰强度显著降低,且产生新成分细叶远志皂苷。**结论:**远志经甘草汁煮制后,部分寡糖酯类成分和多种皂苷类成分含量变化显著。

**[关键词]** 远志; 制远志; 细叶远志皂苷; 高效液相色谱-飞行时间质谱

**[中图分类号]** R282.6; R284.1; R283.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)20-0017-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015200017

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150826.1528.012.html>

**[网络出版时间]** 2015-08-26 15:28

**Rapid Identification of Chemical Components in Raw and Processed Products of Polygalae Radix by HPLC-TOF/MS** MENG Yan, WU Peng, ZHANG Xue-lan\*, JIANG Hai-qiang, LI Hui-fen, ZHANG Qun-qun, WANG Jun-xiu (Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

**[Abstract]** **Objective:** To identify chemical components rapidly in raw and processed products of Polygalae Radix by high performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry (HPLC-TOF/MS) and discuss chemical components change in Polygalae Radix before and after being processed. **Method:** An HPLC method was applied with a Halo®C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm), acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution as mobile phase with gradient elution. Mass spectrometry with ESI ion source and was performed in the positive ion mode to scan MS data about MS total ion chromatogram and ion peaks of raw and processed products of Polygalae Radix. Belonging each ion peak according to control product positioning, MS date and literature reference, number and intensity changes of ion peak of Polygalae Radix before and after processing were compared. **Result:** Twenty-one kinds of compounds were obtained from raw product of Polygalae Radix, which contained 13 kinds of oligosaccharide esters and 8 kinds of saponins. Twenty kinds of compounds were obtained from processed products of Polygalae Radix, which contained 11 kinds of oligosaccharide esters and 9 kinds of saponins. After boiled with licorice juice, molecular ion peak intensity of tenuifoliose C or tenuifoliose E, tenuifoliose K were disappeared; molecular ion peak intensity of sibiricose A<sub>5</sub>, sibiricose A<sub>6</sub>, tenuifoliside A, tenuifoliside B, tenuifoliside C, 3, 6'-disinapoly-sucrose, tenuifoliose A, tenuifoliose B or tenuifoliose D, tenuifoliose H, onjisaponin Vg, onjisaponin Wg and onjisaponin Gg were decreased significantly, and generated a

**[收稿日期]** 20150423(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81573606);国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09102-003-06)

**[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,硕士生导师,教授,从事中药炮制与中药新药研发研究, Tel:0531-89628081, E-mail:zhang8832440@sina.com

new component which named as tenuifolin. **Conclusion:** After boiled with licorice juice, contents of part of oligosaccharide esters and a variety of saponins in Polygalae Radix are changed significantly.

[**Key words**] Polygalae Radix; processed products of Polygalae Radix; tenuifolin; HPLC-TOF/MS

在中医防治老年痴呆的临床用药方剂中,远志出现的频次高居第二位<sup>[1]</sup>。远志生用有毒,甘草制远志可减缓其“戟人咽喉”的毒性,增强安神益智作用,故远志历代临床入药均以炮制品为主<sup>[2-3]</sup>。2010年版《中国药典》收载远志和制远志(甘草汁煮制)2种饮片规格。远志主要含有皂苷类、寡糖酯类、甾酮类成分,还含有有机酸、挥发油等<sup>[4]</sup>。皂苷类和寡糖酯类成分具有抗痴呆、脑保护及镇静等活性,为远志安神益智的主要活性成分<sup>[5-10]</sup>。远志总皂苷的急性毒性大于生远志<sup>[11]</sup>。远志经甘草汁煮制后,3,6'-二芥子酰基蔗糖, tenuifoliside B, 西伯利亚远志糖 A<sub>5</sub> 和西伯利亚远志糖 A<sub>6</sub> 含量显著降低<sup>[12]</sup>。甘草制远志可显著降低生远志对大鼠胃肠运动和消化功能的抑制毒性<sup>[13]</sup>。制远志可提高小鼠学习记忆能力,其作用显著强于生远志<sup>[14]</sup>。但关于制远志的化学成分信息及远志生、制饮片化学成分的差异尚未见系统研究,远志炮制后减毒增效机制尚未阐明。本实验采用高效液相色谱-飞行时间质谱(HPLC-TOF/MS)联用技术快速分析鉴定远志生、制饮片中的化学成分,探讨远志炮制前后化学成分的变化规律,为揭示远志炮制机制及制定远志饮片质量标准提供科学依据。

## 1 仪器与试药

1260型高效液相色谱仪和6230型液相色谱-飞行时间质谱联用系统(美国Agilent公司)。远志购自山东百味堂中药饮片有限公司,经山东中医药大学李峰教授鉴定为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* 干燥根的去木心段状饮片;3,6'-二芥子酰基蔗糖,西伯利亚远志糖 A<sub>5</sub>, 球腺糖 A, tenuifoliside A, tenuifoliside B, tenuifoliside C 对照品(自制,纯度均>98%);制远志(按2010年版《中国药典》一部远志项下制远志的炮制方法自制),西伯利亚远志糖 A<sub>6</sub> 对照品(成都普思生物科技有限公司,批号20110506,纯度96.62%),远志皂苷 B 对照品(成都普瑞法科技有限公司,批号 MUST-13100801,纯度≥98%),细叶远志皂苷对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号 A0345,纯度≥98%),乙睛、甲醇和甲酸为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 分别称取3,6'-二芥子酰

基蔗糖 1.36 mg, 西伯利亚远志糖 A<sub>5</sub> 1.03 mg, 西伯利亚远志糖 A<sub>6</sub> 1.05 mg, 球腺糖 A 1.12 mg, tenuifoliside A 1.15 mg, tenuifoliside B 1.09 mg, tenuifoliside C 1.21 mg, 远志皂苷 B 1.52 mg, 细叶远志皂苷 1.15 mg 分别置于1 mL量瓶中,分别加甲醇稀释至刻度,分别精密吸取上述9种对照品溶液各0.1 mL置5 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度分别为0.027 2, 0.020 6, 0.021 0, 0.022 4, 0.023 0, 0.021 8, 0.024 2, 0.030 4, 0.023 0 g·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。

**2.2 供试品溶液的制备** 精密称取远志生、制饮片粉末(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,称定质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

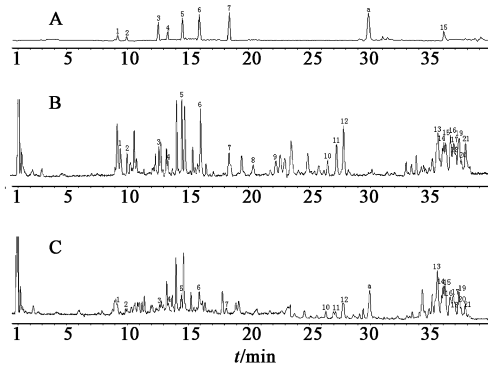
### 2.3 液相色谱-质谱联用分析条件

**2.3.1 色谱条件** Halo® C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm),流动相乙睛(A)-0.1%甲酸溶液梯度洗脱(0~5 min, 5%~12% A; 5~10 min, 12%~25% A; 10~18 min, 25% A; 18~23 min, 25%~30% A; 23~33 min, 30%~45% A; 33~40 min, 45%~70% A),流速0.25 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30℃,进样量2 μL。

**2.3.2 质谱条件** 离子源电喷雾离子源(ESI),雾化器压力241.3 kPa,干燥器流量11 L·min<sup>-1</sup>,干燥气温度350℃,质谱扫描范围 *m/z* 50~2 000。

**2.4 远志生制饮片化学成分的分析 and 鉴定** 按2.3项下液相色谱-质谱联用分析条件对混合对照品溶液及远志生、制饮片进行分析,获得二者的总离子流图和离子峰质谱数据。通过对对照品定位、质谱数据并结合文献参照对各离子峰进行鉴定,质谱总离子流见图1。

**2.4.1** 根据对照品定位和质谱数据鉴定的化合物保留时间(*t<sub>R</sub>*)9.381 min的色谱峰获得 *m/z* 541.153 5 [M + Na]<sup>+</sup>的分子离子峰,其 *t<sub>R</sub>* 和质谱行为与西伯利亚远志糖 A<sub>5</sub> 对照品一致,据此确定该化合物为西伯利亚远志糖 A<sub>5</sub>。*t<sub>R</sub>* 为9.914 min的色谱峰获得 *m/z* 571.163 6 [M + Na]<sup>+</sup>的分子离子峰,其 *t<sub>R</sub>* 和质谱行为与西伯利亚远志糖 A<sub>6</sub> 对照品一致,



A. 混合对照品; B. 生远志; C. 制远志

图 1 远志 HPLC-TOF/MS 正离子模式总离子流

Fig. 1 MS total ion chromatogram of Polygalae Radix scanned in the positive ion mode

据此确定该化合物为西伯利亚远志糖 A<sub>6</sub>。t<sub>R</sub> 为 12.579 min 的色谱峰获得 m/z 585.179 2 [M + Na]<sup>+</sup> 的分子离子峰,其 t<sub>R</sub> 和质谱行为与球腺糖 A 对照品一致,据此确定该化合物为球腺糖 A。t<sub>R</sub> 为 13.279 min 的色谱峰获得 m/z 691.184 7 [M + Na]<sup>+</sup> 的分子离子峰,其 t<sub>R</sub> 和质谱行为与 tenuifolioside B 对照品一致,据此确定该化合物为

tenuifolioside B。t<sub>R</sub> 为 14.462 min 的色谱峰获得 m/z 777.221 8 [M + Na]<sup>+</sup> 的分子离子峰,其 t<sub>R</sub> 和质谱行为与 3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品一致,据此确定该化合物为 3,6'-二芥子酰基蔗糖。t<sub>R</sub> 为 15.977 min 的色谱峰获得 m/z 705.200 3 [M + Na]<sup>+</sup> 的分子离子峰,其 t<sub>R</sub> 和质谱行为与 tenuifolioside A 对照品一致,据此确定该化合物为 tenuifolioside A。t<sub>R</sub> 为 18.326 min 的色谱峰获得 m/z 791.235 7 [M + Na]<sup>+</sup> 的分子离子峰,其 t<sub>R</sub> 和质谱行为与 tenuifolioside C 对照品一致,据此确定该化合物为 tenuifolioside C。t<sub>R</sub> 为 36.116 min 的色谱峰获得 m/z 1 595.685 2 [M + Na]<sup>+</sup> 的分子离子峰,其 t<sub>R</sub> 和质谱行为与远志皂苷 B 对照品一致,据此确定该化合物为远志皂苷 B。t<sub>R</sub> 为 29.836 min 的色谱峰获得 m/z 703.366 5 [M + Na]<sup>+</sup> 的分子离子峰,其 t<sub>R</sub> 和质谱行为与细叶远志皂苷对照品一致,据此确定该化合物为细叶远志皂苷。

2.4.2 化合物的鉴定 根据远志生、制饮片 HPLC-TOF/MS 正离子模式下获得的分子离子峰质谱数据并参考相关文献,鉴定了 13 种化合物,结果见表 1。

表 1 远志生、制饮片 HPLC-TOF/MS 正离子模式数据及成分鉴定

Table 1 HPLC-TOF/MS data in the positive ion mode and components identification of raw and processed products of Polygalae Radix

峰号	t <sub>R</sub> /min	分子离子峰	m/z	推断化合物	相对分子质量	分子式	化合物类型
1	9.381	[M + Na] <sup>+</sup>	541.153 5	西伯利亚远志糖 A <sub>5</sub>	518	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	寡糖酯
2	9.914	[M + Na] <sup>+</sup>	571.163 6	西伯利亚远志糖 A <sub>6</sub>	548	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	寡糖酯
3	12.579	[M + Na] <sup>+</sup>	585.179 2	球腺糖 A	562	C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	寡糖酯
4	13.279	[M + Na] <sup>+</sup>	691.184 7	tenuifolioside B	668	C <sub>30</sub> H <sub>36</sub> O <sub>17</sub>	寡糖酯
5	14.462	[M + Na] <sup>+</sup>	777.221 8	3,6'-二芥子酰基蔗糖	754	C <sub>34</sub> H <sub>42</sub> O <sub>19</sub>	寡糖酯
6	15.977	[M + Na] <sup>+</sup>	705.200 3	tenuifolioside A	682	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>17</sub>	寡糖酯
7	18.326	[M + Na] <sup>+</sup>	791.235 7	tenuifolioside C	768	C <sub>35</sub> H <sub>44</sub> O <sub>19</sub>	寡糖酯
8	20.308	[M + Na] <sup>+</sup>	1 319.382 6	tenuifolioside C 或 tenuifolioside E <sup>[15]</sup>	1 296	C <sub>58</sub> H <sub>72</sub> O <sub>33</sub>	寡糖酯
9	22.157	[M + Na] <sup>+</sup>	1 289.575 5	tenuifolioside K <sup>[16]</sup>	1 266	C <sub>57</sub> H <sub>70</sub> O <sub>32</sub>	寡糖酯
10	26.455	[M + Na] <sup>+</sup>	1 361.394 3	tenuifolioside B 或 tenuifolioside D <sup>[15]</sup>	1 338	C <sub>60</sub> H <sub>74</sub> O <sub>34</sub>	寡糖酯
11	27.137	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1 368.437 4	tenuifolioside H <sup>[17]</sup>	1 350	C <sub>61</sub> H <sub>74</sub> O <sub>34</sub>	寡糖酯
12	27.770	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1 398.449 2	tenuifolioside A <sup>[15]</sup>	1 380	C <sub>62</sub> H <sub>76</sub> O <sub>35</sub>	寡糖酯
13	35.499	[M + Na] <sup>+</sup>	1 655.708 2	远志皂苷 O <sup>[18,7]</sup>	1 632	C <sub>77</sub> H <sub>116</sub> O <sub>37</sub>	皂苷
14	35.982	[M + Na] <sup>+</sup>	1 641.691 5	远志皂苷 R <sup>[18,7]</sup>	1 618	C <sub>76</sub> H <sub>114</sub> O <sub>37</sub>	皂苷
15	36.116	[M + Na] <sup>+</sup>	1 595.685 2	远志皂苷 B	1 572	C <sub>75</sub> H <sub>112</sub> O <sub>35</sub>	皂苷
16	36.515	[M + Na] <sup>+</sup>	1 785.733 6	远志皂苷 Vg <sup>[19]</sup>	1 762	C <sub>82</sub> H <sub>122</sub> O <sub>41</sub>	皂苷
17	36.815	[M + Na] <sup>+</sup>	1 709.712 5	远志皂苷 Ng <sup>[18,7]</sup>	1 686	C <sub>80</sub> H <sub>118</sub> O <sub>38</sub>	皂苷
18	36.882	[M + Na] <sup>+</sup>	1 841.757 5	远志皂苷 J <sup>[18,7]</sup>	1 818	C <sub>85</sub> H <sub>126</sub> O <sub>42</sub>	皂苷
19	37.248	[M + Na] <sup>+</sup>	1 611.680 4	远志皂苷 Wg <sup>[7]</sup>	1 588	C <sub>75</sub> H <sub>112</sub> O <sub>36</sub>	皂苷
20	37.415	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1 428.674 8	tenuifolioside N <sup>[16]</sup>	1 410	C <sub>63</sub> H <sub>78</sub> O <sub>36</sub>	寡糖酯
21	37.781	[M + Na] <sup>+</sup>	1 623.676 9	远志皂苷 Gg <sup>[18]</sup>	1 600	C <sub>76</sub> H <sub>112</sub> O <sub>36</sub>	皂苷
a	29.836	[M + Na] <sup>+</sup>	703.366 5	细叶远志皂苷	680	C <sub>36</sub> H <sub>56</sub> O <sub>12</sub>	皂苷

### 3 讨论

采用 HPLC-TOF/MS 技术对远志化学成分进行分析,结果从生远志中鉴定了 21 种化合物,其中,13 种寡糖酯类成分,8 种皂苷类成分;从制远志中鉴定了 20 种化合物,其中 11 种寡糖酯类成分,9 种皂苷类成分。该方法快速、灵敏,准确度高,可较为全面地了解远志生、制饮片的化学物质基础信息。

研究表明远志经甘草汁煮制后,有 2 种寡糖酯类成分(tenuifoliose C 或 tenuifoliose E, tenuifoliose K)分子离子峰消失,另有 9 种寡糖酯成分(西伯利亚远志糖 A<sub>5</sub>, 西伯利亚远志糖 A<sub>6</sub>, tenuifoliside A, tenuifoliside B, tenuifoliside C, 3,6'-二芥子酰基蔗糖, tenuifoliose A, tenuifoliose B 或 tenuifoliose D, tenuifoliose H)和 3 种皂苷类成分(远志皂苷 Vg, 远志皂苷 Wg, 远志皂苷 Gg)的分子离子峰强度显著降低,提示在炮制过程中上述成分含量降低,且产生新成分细叶远志皂苷,为阐明远志炮制减毒增效机制及制定具有生、制品个性特点的远志饮片质量标准提供了科学依据。

据报道,远志皂苷经碱水解而得的混合物具有安神益智的药效,但与原皂苷相比,其毒性显著降低<sup>[20]</sup>,远志皂苷水解产物的主要活性成分为 3,4,5-三甲氧基肉桂酸、对甲氧基肉桂酸和细叶远志皂苷<sup>[21]</sup>。远志炮制后细叶远志皂苷含量增加,分析是由于远志中部分皂苷类成分性质不稳定,在甘草汁煮制过程中发生水解反应所致,远志炮制后毒性降低可能与在炮制过程中远志皂苷类成分的水解有关。

#### [参考文献]

[1] 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.  
[2] 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.  
[3] 李强, 崔远武, 张玉莲. 中医药治疗老年性痴呆临床用药文献分析[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(7): 207-210.  
[4] 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): 32-36.  
[5] 赵大鹏, 李晓峰, 陈树沙, 等. 远志总皂苷对 AD 模型大鼠学习记忆及海马 nAChR $\alpha$ 7 亚基的影响[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2012, 19(5): 349-353.  
[6] Chung I W, Moore N A, Oh W K, et al. Behavioural pharmacology of polygalasaponins indicates potential antipsychotic efficacy[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2002, 71(12): 191-195.

[7] Li C J, Yang J Z, Yu S S, et al. Triterpenoid saponins with neuroprotective effects from the roots of *Polygala tenuifolia* [J]. Planta Med, 2008, 74(2): 133-141.  
[8] Karakida F, Ikeya Y, Tsunakawa M, et al. Cerebral protective and cognition-improving effects of sinapic acid in rodents[J]. Biol Pharm Bull, 2007, 30(3): 514-519.  
[9] Ikeya Y, Takeda S, Tunakawa M, et al. Cognitive improving and cerebral protective effects of acylated oligosaccharides in *Polygala tenuifolia* [J]. Biol Pharm Bull, 2004, 27(7): 1081-1085.  
[10] 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.  
[11] 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.  
[12] 孟艳, 张学兰, 唐玉秋, 等. 远志炮制前后 5 种寡糖酯类成分的变化规律[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(9): 10-13.  
[13] 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.  
[14] 王光志, 陈林, 万德光, 等. 不同炮制方法对远志药效学的比较研究[J]. 成都医学院学报, 2011, 6(4): 280-282.  
[15] Miyase T, Iwata Y, Ueno A. Tenuifolioses A-F, oligosaccharidemulti-esters from the roots of *Polygala tenuifolia* Willd. [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39(11): 3082-3084.  
[16] Iwata Y, Ueno A. Tenuifolioses G-P, oligosaccharide multi-ester from the root of *Polygala tenuifolia* Willd. [J]. Chem Pharm Bull, 1992, 40(10): 2741-2748.  
[17] 涂海华, 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.  
[18] 李创军, 杨敬芝, 庾石山, 等. 远志中的三萜皂苷和寡糖多酯类成分[J]. 中国天然药物, 2011, 9(5): 321-328.  
[19] 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.  
[20] Xu S P, Yang Y Y, Xue D, et al. Cognitive-enhancing effects of polygalasaponin hydrolysate in  $\alpha$ B(25-35)-induced amnesic mice [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011, doi: 10.1155/2011/839720.  
[21] 王君, 刘新民, 常琪, 等. 远志皂苷碱水解产物的化学成分研究[J]. 中中药学, 2010, 8(11): 811-814.

[责任编辑 刘德文]