

炮制对远志中皂苷元类成分的影响^{*}

房敏峰, 付志玲, 王相人, 陈焕, 赵桂仿, 郑晓晖

(西北大学 生命科学学院 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 西安 710069)

摘要 目的: 考察 17 种不同炮制方法对远志中皂苷元组成和含量的影响, 探讨古人炮制意图, 为远志炮制机理和饮片质量控制提供依据。方法: 采用 17 种不同炮制方法制备远志饮片, 经甲醇超声提取, 10% 盐酸水解, 电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析远志酸解产物中 3 个主要色谱峰的化学结构, 高效液相色谱测定远志皂苷元的含量。结果: 炮制辅料能显著促进远志皂苷元的生成; 经过不同方法炮制后, 远志皂苷元含量有不同程度的变化。结论: 炮制对远志中皂苷元的组成和含量有明显影响。

关键词: 远志; 炮制; 皂苷元; 电喷雾质谱; 高效液相色谱

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)03-0452-06

Research on the senegenin composition in *Polygala tenuifolia* with different processing drugs method^{*}

FANG Min-feng FU Zhi-ling WANG Xiang-ren, CHEN Huan,

ZHAO Gui-fang ZHENG Xiao-hui^{**}

(Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China Ministry of Education,

The College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract Objective To provide the basis for *Polygala tenuifolia* processing mechanism and quality control by study the effects of 17 processing methods on the composition and content of senegenin in *P. tenuifolia*. In the other hand, to explore the processed intention of ancient Methods *P. tenuifolia* decoction pieces were processed by 17 methods, extracted by methanol and ultrasonic and hydrolyzed in 10% hydrochloric acid. The chemical structure of three main peaks of *P. tenuifolia* were analyzed by electrospray mass spectrometry (ESI-MS), and the contents of senegenin were determined by HPLC. **Results** The generation of cyclosenegenin can be promoted significantly by different processing excipient. The contents of *P. tenuifolia* senegenin have been changed in varying degrees by different processing methods. **Conclusion** The composition and contents of senegenin in *P. tenuifolia* have been obviously affected by processing.

Key word: *Polygala tenuifolia*, processing, senegenin, electrospray ionization mass spectrometry, HPLC

远志为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd 或卵叶远志 *Polygala sibirica* L. 的干燥根。古人认为生品“戟人咽喉”, 用于临床须经炮制, 炮制方法可归纳为不加辅料的炒、焙、制炭等和加辅料的甘草制、蜜制、姜汁制、酒制和朱砂制等^[1,2]。探讨炮制对远志化学成分的影响, 有利于理解古人炮制意图, 揭示炮制机理, 改进炮制工艺, 制定突出饮片特色的质量标准。已有文献集中在制远志、蜜远志和生品总皂苷或远志皂苷元含量对比上^[3,4], 而从

远志历代主要炮制方法比较的角度探讨制远志成因的研究尚未见报道。因此, 本文采用高效液相色谱 (HPLC) 和电喷雾质谱 (ESI-MS) 对远志经 17 种方法炮制后饮片中的皂苷元进行了定性定量分析, 期望为远志炮制机理和质量标准研究提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1100 系列高效液相色谱-电喷雾-离子阱质谱联用仪, 包括二元梯度泵、柱温箱、7725 手动进样器、DAD 二极管阵列检测器、Agilent

* 陕西省社会发展基金项目 (2008K16-03); 陕西省教育厅产业化培育项目 (07JC17)

第一作者 Tel: (029) 88302686 E-mail: fmf85@126.com

4102工作站、电喷雾电离源和 SL 型离子阱质谱, 美国安捷伦公司; 岛津 LC-10AT_{vp} 高效液相色谱仪, SPD-10A_{vp} 紫外检测器, SHIMADZU CBM-102 色谱工作站, 日本岛津公司; HC-3018 高速离心机, 科大创新股份有限公司中佳分公司; FA2004 万分之一电子天平, 上海良平仪器仪表有限公司。

1.2 试药 远志皂苷元对照品 (批号: 111572-200301 薄层扫描法含量测定用, 纯度 98.1%), 购自中国药品生物制品检定所; 远志、甘草、干姜和朱砂均购自西安市药材公司, 经鉴定远志为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd 的干燥根, 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 的干燥根及根茎, 干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc 的干燥根茎, 朱砂为硫化物类矿物辰砂族辰砂, 主含硫化汞 (HgS); 蜂蜜为槐花蜜, 散装, 用前炼制成中蜜; 大米为东北糯米, 酒为二锅头酒 (56度), 由北京二锅头酒业股份有限公司生产。乙腈为色谱纯, 水为重蒸水。

1.3 样品制备^[5-7]

1.3.1 不加辅料炮制 远志: 取原药材, 除去杂质, 略洗, 润透, 切段, 干燥。炒远志: 取净远志置热锅内, 用文火炒至表面黄色, 断面微黄为度, 取出, 放凉。炮制得率 93.69%。焦远志: 取净远志置热锅内, 用中火炒至表面焦黄色, 断面色加深为度, 取出, 放凉。炮制得率 86.06%。远志炭: 取净远志置热锅内, 用武火炒至表面焦黑、内面焦褐色为度, 取出, 放凉。炮制得率 78.66%。

1.3.2 加辅料炮制 甘草汁煮远志: 取甘草, 加适量水煎煮 2 次, 合并煎液浓缩至甘草量的 10 倍, 再加入净远志, 用文火煮至汤被吸尽, 取出, 干燥。每 100 kg 远志段, 用甘草 6 kg, 炮制得率 100.5%。甘草汁浸远志: 将净远志浸于甘草水中 20 min 左右捞起, 抢水洗净, 干燥。每 100 kg 远志段, 用甘草 6 kg, 炮制得率 96.73%。甘草汁炒远志: 取净远志, 加适量甘草水拌匀, 置锅内, 用文火炒至甘草汁被吸尽, 取出, 晾干。每 100 kg 远志段, 用甘草 6 kg, 炮制得率 99.91%。

蜂蜜炙远志: 取炼蜜, 加入少许开水稀释后, 淋于远志段中, 稍闷, 用文火炒至蜜被吸尽, 药色深黄, 略带焦斑, 疏散不粘手为度, 取出, 放凉。每 100 kg 远志段, 用炼蜜 25 kg, 炮制得率 117.6%。蜂蜜蒸远志: 取炼蜜, 加入少许开水稀释后, 淋于远志段中, 加入净远志拌匀, 置适宜容器内, 加热蒸透, 取出, 干燥。每 100 kg 远志段, 用炼蜜 25 kg, 炮制得率 122.6%。

麸炒远志: 取麸皮, 撒在热锅内, 加热至冒烟时, 放入净远志, 迅速翻动, 炒至表面色变深时, 取出, 筛去麸皮, 放凉。每 100 kg 远志段, 用麸皮 10 kg, 炮制得率 97.54%。

生姜汁煮远志: 取干姜, 捣碎后加水适量煎煮 2 次, 合并, 取汁, 加入净远志, 用文火煮至汤被吸尽, 取出, 干燥。每 100 kg 远志段, 用干姜 3 kg, 炮制得率 97.69%。生姜汁浸远志: 将净远志浸于姜汁中 20 min 左右捞起, 抢水洗净, 干燥。每 100 kg 远志段, 用干姜 3 kg, 炮制得率 98.10%。生姜汁炒远志: 取净远志, 加姜汁拌匀, 置锅内, 用文火炒至姜汁被吸尽, 取出, 晾干。每 100 kg 远志段, 用干姜 3 kg, 炮制得率 98.82%。

米泔水浸远志: 取净远志, 加入米泔水中, 浸泡 20 min 左右捞起, 抢水洗净, 干燥。每 100 kg 水, 用米粉 2 kg, 炮制得率 98.12%。

酒炙远志: 取净远志, 加酒拌匀, 置锅内, 炖至酒被吸尽, 取出, 干燥。每 100 kg 远志段, 用黄酒 30 kg, 炮制得率 99.58%。酒蒸远志: 取净远志, 加酒拌匀, 置锅内, 加热蒸透, 取出, 干燥。每 100 kg 远志段, 用黄酒 30 kg, 炮制得率 98.13%。

朱远志: 净远志加水润湿后拌入朱砂, 即可。每 100 kg 远志段, 用朱砂 2 kg, 炮制得率 103.7%。

2 方法与结果

2.1 方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: SHIMADZU VP-ODS (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈 - 0.05% 磷酸溶液 (pH 3.2) (41:59); 流速: 1 mL · min⁻¹; 检测波长: 205 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 20 μL。质谱条件: 电喷雾离子源, 正离子模式, 喷雾电压: 315 kV; 毛细管电压: -3200 V; 干燥气流速: 7.0 L · min⁻¹; 干燥气温度: 350 °C; 雾化气压力: 241.3 kPa 雾化气温度: 325 °C; 质量扫描范围: 300~1500 amu。

2.1.2 线性关系考察 远志皂苷元减压干燥至恒重。精密称取 0.0050 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⁻¹ 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。在拟定的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:

$$Y = 6.762 \times 10^4 X - 1.073 \times 10^4 \quad r = 0.9991$$

远志皂苷元在 0.02~0.20 mg · mL⁻¹ 浓度范围内呈现良好的线性关系。

2.1.3 精密度试验 取远志供试品溶液, 连续进样 5 次, 进行色谱分析。测得远志皂苷元含量的 RSD

为 0.55%。

2.1.4 稳定性试验 取远志供试品溶液, 室温放置, 在拟定的色谱条件下于 0 2 4 6 8 h 分别进样。测得远志皂苷元含量的 RSD 为 0.78%。

2.1.5 重复性试验 按供试品溶液制备方法, 平行制备溶液 5 份, 进样分析。测得远志皂苷元含量的 RSD 为 1.6%。

2.1.6 加标回收率 取远志粉末约 0.5 g 5 份, 分别加入 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液各 1 mL, 按供试品溶液制备方法制备所需溶液, 在拟定的色谱条

件下进行测定, 测得其平均回收率为 98.85%, RSD 为 2.1%。

2.1.5 样品测定^[8] 同法制备远志不同炮制工艺饮片及空白辅料的供试溶液, 在拟定的色谱条件下进样测定。

2.2 结果

2.2.1 皂苷元色谱峰 ESI-MS 分析结果

将甘草煮远志供试品溶液在拟定的色谱-质谱条件下进行多级质谱分析, 对 3 个主要皂苷元色谱峰定性^[9]。见图 1。

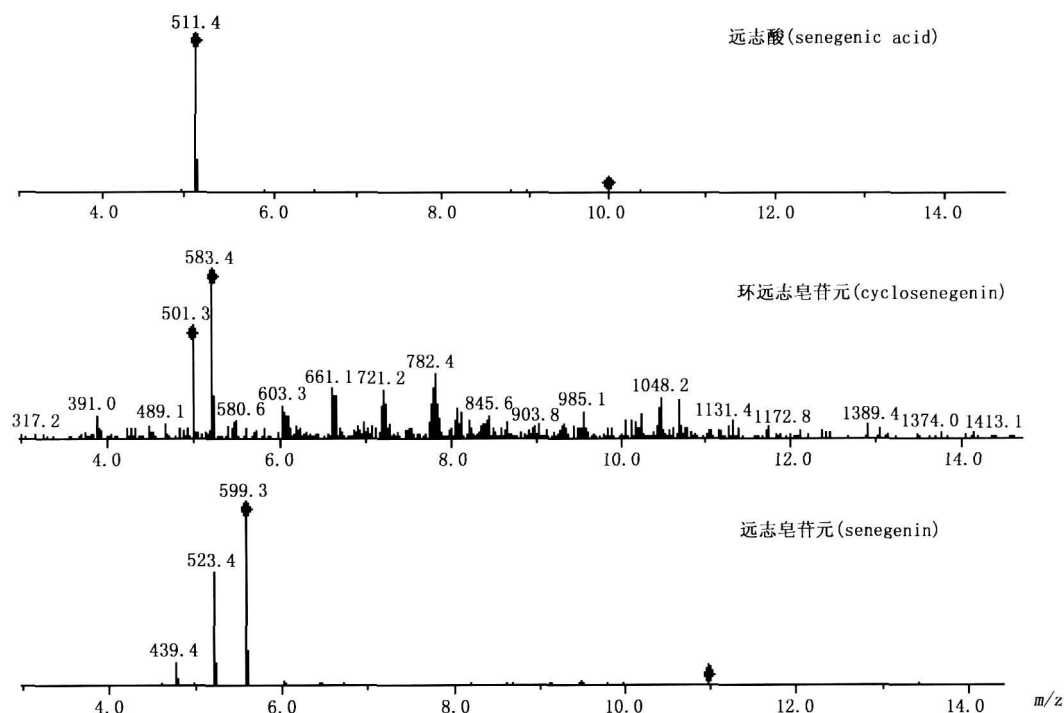


图 1 甘草煮远志 LC-MS 离子流图

Fig 1 HPLC and Mass spectra of *Polygala tenuifolia* processed by *Glycyrrhiza*

ESI-MS m/z : 511.4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 推测为远志酸 ($\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_6$, 488.3); ESI-MS m/z 523.4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 501.3 $[\text{M}]^+$, 推测为环远志皂苷元 ($\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{O}_6$, 501.6); ESI-MS m/z 559.3 $[\text{M} +$

$\text{Na}]^+$, 523.4 $[\text{M} + \text{Na} - \text{Cl}]^+$, 与远志皂苷元对照品一致, 推测为远志皂苷元 ($\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{ClO}_6$, 537.1)。结构式见图 2。

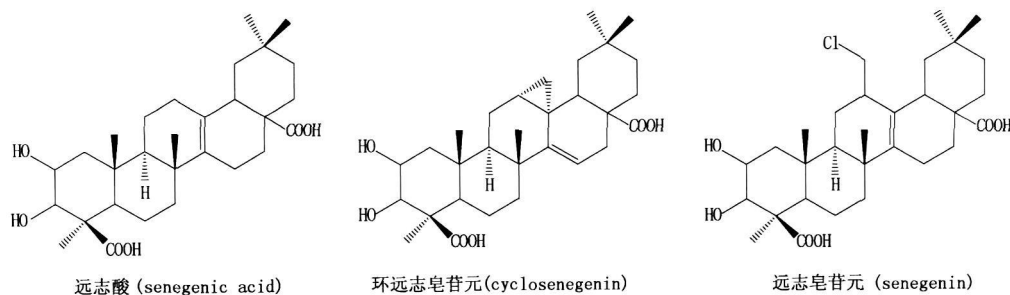


图 2 远志皂苷元类成分结构式

Fig 2 Chemical structures of various senegenins

2.2.2 远志不同炮制工艺样品的高效液相色谱分析结果

在拟定色谱条件下, 分析远志不同炮制工艺所得样品的酸解产物, 结果见图 3。

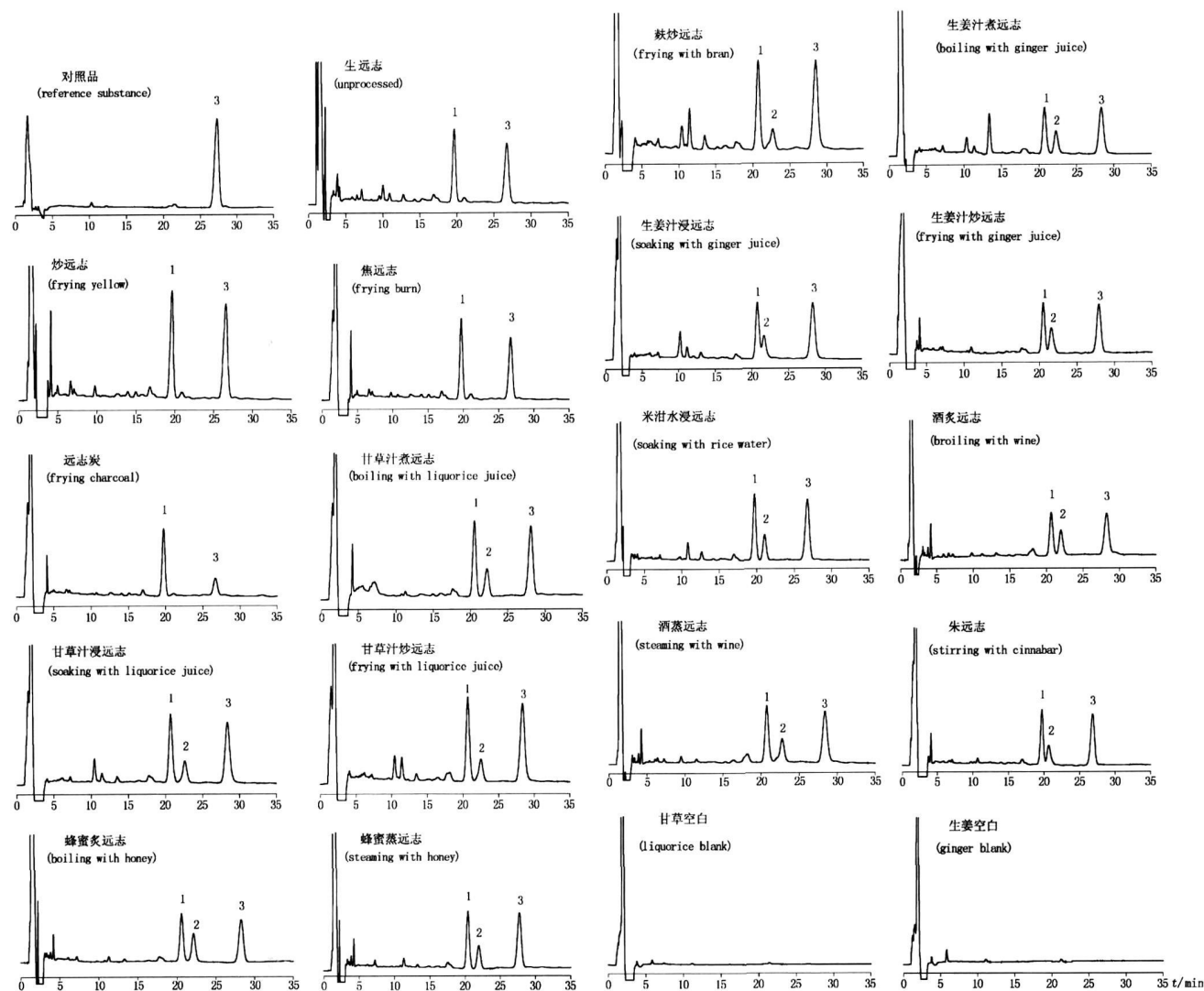


图 3 远志不同炮制方法的 HPLC 图

Fig 3 HPLC chromatograms of the samples in *Polygonum tenuifolium* by different processing methods

1 远志酸 (senegenic acid) 2 环远志皂苷元 (cyclosenegenin) 3 远志皂苷元 (senegenin)

图 3 显示, 在生品和清炒品中环远志皂苷元色谱峰不明显, 但用甘草汁、蜂蜜、麦麸、姜汁、米泔水、白酒及朱砂炮制后, 色谱图中明显出现了环远志皂苷元, 说明加辅料炮制能促进环远志皂苷元的生成。

2.2.3 不同炮制方法所得饮片中远志皂苷元的含量

按照炮制工艺每个规格平行制备 3 份样品, 按样品测定项方法测定, 结果见表 1。

由表 1 可见, 远志加辅料炮制后, 环远志皂苷元含量与生品相比升高 6~8 倍, 而远志酸和远志皂苷

元与生品含量水平相当。远志炭中皂苷元含量远低于生品, 经过不同方法炮制后, 远志皂苷元含量有不同程度的变化。

3 讨论

3.1 本文对色谱柱、流动相、流速、检测波长及柱温进行了比较, 发现柱温对环远志皂苷元的检出影响明显。当柱温高于 28℃ 时, 环远志皂苷元被包裹在远志酸中, 这时远志酸峰形出现拖尾, 当柱温高于 31℃ 时, 环远志皂苷元被远志酸完全包裹, 峰形对称。

表 1 不同炮制方法所得饮片中 3个皂苷元含量测定结果 (*n* = 6)

Tab 1 The three senegenin contents of decoction pieces processed by different methods

序号 (No.)	样品 (samples)	3个皂苷元相对含量 % (the relative contents of three senegenin)			远志皂苷元含量 % (senegenin)	RSD %
		远志酸	环远志皂苷元	远志皂苷元		
		(senegenic acid)	(cyclosenegenin)	(senegenin)		
1	生远志 (unprocessed)	1. 00	1. 00	1. 00	0. 56	1. 0
2	炒远志 (frying yellow)	1. 34	1. 08	1. 40	0. 82	2. 0
3	焦远志 (frying burn)	1. 12	1. 11	1. 01	0. 63	1. 8
4	远志炭 (frying charcoal)	0. 90	0. 46	0. 26	0. 17	0. 45
5	甘草汁煮远志 (boiling with liquorice juice)	1. 08	7. 80	1. 17	0. 63	1. 6
6	甘草汁浸远志 (soaking with liquorice juice)	1. 07	6. 38	1. 15	0. 76	1. 6
7	甘草汁炒远志 (frying with liquorice juice)	1. 33	6. 98	1. 49	0. 95	1. 2
8	蜂蜜炙远志 (broiling with honey)	0. 64	6. 65	0. 70	0. 40	1. 2
9	蜂蜜蒸远志 (steaming with honey)	0. 86	6. 57	0. 96	0. 43	1. 1
10	麸炒远志 (frying with Bran)	1. 45	7. 16	1. 73	0. 90	1. 7
11	生姜汁煮远志 (boiling with ginger juice)	0. 69	5. 88	0. 85	0. 49	1. 2
12	生姜汁浸远志 (soaking with ginger juice)	0. 86	6. 13	1. 03	0. 50	1. 3
13	生姜汁炒远志 (frying with ginger juice)	0. 70	7. 01	0. 80	0. 44	0. 88
14	米泔水浸远志 (soaking with Rice Water)	0. 89	5. 86	0. 98	0. 56	2. 1
15	酒炙远志 (broiling with wine)	0. 68	6. 88	0. 74	0. 63	0. 94
16	酒蒸远志 (steaming with wine)	0. 85	6. 92	0. 89	0. 62	1. 6
17	朱远志 (stirring with cinnabar)	0. 94	6. 46	1. 06	0. 55	1. 7

3.2 本文对不同产地、不同规格及不同贮藏年限的远志药材进行了对比分析,结果陕西合阳、陕西新绛、河南卢氏产远志之间,合阳远志肉和远志棍之间,一级筒和统货之间,贮藏 1 年、3 年和 5 年之间,经甘草制和姜制对比,峰形基本一致,说明环远志皂苷元的产生与药材质量关系不密切。质谱分析表明,环远志皂苷元不是加辅料炮制后新产生的成分,但加辅料使其比例大增。环远志皂苷元是由远志皂苷元脱去氯原子形成的^[9],但综合图 3 和表 1,发现环远志皂苷元增加的同时远志皂苷元不一定降低。

3.3 本实验所选炮制方法,均来自远志历代的炮制实践。经过临床筛选,流传至今的炮制规格仅 4~ 5 种,常用 2~ 3 种。卫生部颁中药标准《中药成方制剂》(1~ 20 册)用到远志(生品)、制远志(甘草煮远志)、蜜远志(蜜炙远志)和姜远志(姜炙远志) 4 种饮片规格,1988 年版《全国中药炮制规范》收载了 4 种,即远志、制远志、蜜远志和朱远志。《中国药典》2005 年版收载了 2 种,即远志和制远志。关于制远志的炮制机理及质量控制目前仍在探索中。

3.4 本文将远志和辅料按炮制等比例配伍,制成远志-甘草(100: 6)、远志-炼蜜(100: 25)和远志-干姜(100: 3)配伍组,发现配伍组 HPLC 图中环远

志皂苷元色谱峰明显,相应辅料均显阴性,提示远志配伍辅料与远志加辅料炮制在促进环远志皂苷元生成上表现一致。炮制与配伍是中医用药的特色,以炮制与配伍的关系为切入点,进行甘草制远志和经典药对远志-石菖蒲等的比较分析,有利于获得远志安神益智作用的更多信息,为炮制机理及方剂配伍研究提供线索。

参考文献

1 WAN De-guang(万德光), CHEN Lin(陈林), LIU You-ping(刘友平), et al Studies on evolution of polygal processing(远志炮制沿革考). *J Chin Med Mater*(中药材), 2005, 28(3): 233

2 SUN Jun-jie(孙俊杰). Technology of Processing and Quality Standards of Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces and GMP Operation Handbook II (中药饮片炮制工艺与质量标准及 GMP 实施使用手册(二)). Beijing(北京): China Traditional Chinese Medicine Publishing House(中国中医药出版社), 2006 826

3 XIA Hou-lin(夏厚林), DONG Min(董敏), SHENG Yan(盛燕), et al. Comparative study on contents of Radix Polygalae and the prepared(远志蜜炙前后化学成分的对比较研究). *Li shi zhen Med Mal Res*(时珍国医国药), 2006 17(9): 1620

4 ZHANG Wen-juan(张文娟), FANG Min-feng(房敏峰), WANG Shi-xiang(王世祥), et al Studies on quality specification of processed Radix Polygalae(制远志饮片质量标准研究). *J Northwest Univ (Nat Sci Ed)*(西北大学学报自然科学版), 2008 38(1): 89

- 5 ZHANG Wen-juan(张文娟), FANG Min-feng(房敏峰), LI Yun-feng(李云峰), *et al*. Optimum stir-bake with Radix Glycythizae technology on Radix Polygalae by orthogonal test(正交试验法优选制远志炮制工艺). *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2008, 30(2): 232
- 6 ChP(中国药典). 2005 Vol I (一部): 107
- 7 The People's Republic of China Pharmacy Administration(中华人民共和国药政管理局). The Standards of Herbal Processing Practised in Different Localities in China(全国中药炮制规范)(1988年版). Beijing(北京): People's Health Publishing House(人民卫生出版社), 1988. 57
- 8 YANG Guo-hong(杨国红), SUN Xiao-fei(孙晓飞). Studies on quantitative determination of senegenin in Radix Polygalae by RP-HPLC(反相高效液相色谱法测定远志中远志皂苷元的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2001, 21(4): 260
- 9 YAO Xin-sheng(姚新生). Natural Medicine Chemistry(天然药物化学). Beijing(北京): People's Health Publishing House(人民卫生出版社), 2001. 271

(本文于 2009 年 1 月 21 日修改回)

热分析在药物及药用材料中的应用学术研讨会会议通知

随着现代科学仪器的发展,热分析在药物及药用材料领域中的应用越来越广泛,中国药典、日本药局方、美国药典、英国药典 2009 年版均收录了热分析方法。在化学药物、生化药物、抗生素、中药化学、药物包装材料、药物质量评价、新药研究中处方筛选及有关制剂的质量分析等方面,热分析法都起着非常重要的作用。为此,药物分析杂志编委会定于 2009 年第四季度在苏州召开全国药物分析及药用材料热分析法学术研讨会。此次会议由江苏省热分析专业委员会协办,会上拟请有关专家作专题报告,并开展有关专题讨论。现将会议征文及有关事宜通知如下:

一、征文内容

热分析法在药物研究中的应用;热分析法在药物检验中的应用;热分析法在化学药物、生化药物、抗生素、中药化学及对照品、标准品中的应用;在药物制剂、药用辅料及药物包装材料中的应用;热分析仪器最新进展。

二、论文撰稿要求

- 1 论文应是未公开发表的。综述文章一般不超过 5000 字;研究论文一般不超过 3000 字;每篇文章需附 800 字摘要。并登录 www.ywfxzz.cn 网上投稿(注:“期刊栏目”请选“2009 热分析会议征文”)。
- 2 论文格式请按药物分析杂志 2009 年第一期稿约要求书写;稿件可打印在 A4 上。
- 3 每篇稿件需附单位介绍信及 50 元稿件处理费。
- 4 征文截止日期 2009 年 8 月 30 日(以邮戳为准)。
- 5 论文将在 2009 年药物分析论坛上进行交流,经专家审定后在本刊发表,并酌收版面费。论文是否刊用,一律不退稿,请自留底稿。

三、投稿方式及联系人

- 1 邮寄:邮编 100050 地址:北京天坛西里 2 号中国药品生物制品检定所内药物分析杂志编辑部
- 2 网址: <http://www.ywfxzz.cn>
- 3 电话: (010) 67095201; 传真: (010) 67012819 联系人: 刘小帅
- 4 来稿应注明“会议征文”字样,以便与其他投稿区别,谢谢合作

药物分析杂志编辑部

2009 年 2 月 1 日