

[饮片炮制]

远志炮制过程中6种寡糖酯类成分转化机制

徐保鑫¹, 刁家蔚¹, 张学兰^{1*}, 隆毅², 吴鹏¹, 莱茹乔¹, 奚亚亚¹, 曲丛丛¹

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 山东中医药大学第二附属医院, 山东 济南 250001)

摘要: 目的 探讨远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 炮制过程中6种寡糖酯类成分(3, 6'-二芥子酰基蔗糖、西伯利亚远志糖A5、西伯利亚远志糖A6、球腺糖A、远志蔗糖酯B、黄花远志素A)的转化机制。方法 采用已知对照品模拟炮制技术, 制备远志中6种寡糖酯类化合物的模拟炮制品; 采用HPLC-TOF/MS技术, 结合对照品定位、质谱数据、数据库匹配和文献参照, 分析各化合物模拟炮制品的化学成分。结果 6种寡糖酯化合物模拟炮制品中检测到了其次级苷和(或)苷元或其异构体; 西伯利亚远志糖A5模拟炮制品中检测出了阿魏酸; 西伯利亚远志糖A6模拟炮制品中检测出了芥子酸; 球腺糖A模拟炮制品中检测出了3, 4, 5-三甲氧基肉桂酸; 远志蔗糖酯B模拟炮制品中检出了芥子酸和对羟基苯甲酸; 3, 6'-二芥子酰基蔗糖模拟炮制品中检测出了西伯利亚远志糖A6、黄花远志素C、芥子酸; 黄花远志素A模拟炮制后检测出了黄花远志素B和阿魏酸。**结论** 远志中寡糖酯类成分性质不稳定, 在加水、加热的条件下, 其分子结构中的酯键发生水解, 生成其次级苷和(或)苷元。

关键词: 远志; 寡糖酯类成分; 转化机制; 模拟炮制; HPLC-TOF/MS

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)08-1790-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2018.08.024

Transformation mechanism of six oligosaccharides in simulated processing of *Polygala tenuifolia*

XU Bao-xin¹, DIAO Jia-wei¹, ZHANG Xue-lan^{1*}, LONG Yi², WU Peng¹, LUAN Ru-qiao¹, XI Ya-ya¹, QU Cong-cong¹

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the transformation mechanism of six oligosaccharide esters (3, 6'-disinapoyl sucrose, sibelicose A5, sibiricose A6, glomeratose A, tenuifolaside B, arillanin A) in processing of *Polygala tenuifolia*. **METHODS** Six kinds of oligosaccharide esters compounds in processing of *P. tenuifolia* were prepared by the reference substance simulation processing technology, then analyzed by HPLC-TOF/MS, substance location, mass spectrum data and references after the processing. **RESULTS** The second grade glycosides and (or) isomers were detected in six oligosaccharides. Ferulic acid was detected in the sibelicose A5; Sinapic acid was detected in the sibelicose A6; 3, 4, 5-trimethoxycinnamic acid was detected in the glomeratose A; Sinapic acid and *p*-hydroxybenzoic acid were detected in the tenuifolaside B; Sibiricose A6, arillanin C and sinapic acid were detected in the 3, 6'-disinapoyl sucrose; sinapic acid was detected in the sibelicose A6; Arillanin B and ferulic acid were detected in the arillanin B after processing. **CONCLUSION** The compounds of oligosaccharides in *P. tenuifolia* is unstable. The ester bonds in the molecular structure hydrolyze and generate the second level glycosides and (or) glycosides, under the conditions of adding water and heating.

KEY WORDS: *Polygala tenuifolia* Willd.; oligosaccharides; transformation mechanism; simulation processing; HPLC-TOF/MS

收稿日期: 2017-12-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(81573606); 国家公共卫生专项中药炮制技术传承基地建设项目(财社〔2015〕78)

作者简介: 徐保鑫(1993—), 男, 硕士生, 从事中药饮片制备技术与质量控制研究。E-mail: xubaoxin666@126.com

*通信作者: 张学兰(1963—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药饮片制备技术与质量控制研究。E-mail: zhang8832440@sina.com

远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 为临床常用的中药，具有安神益智、交通心肾、祛痰、消肿，等功效。该药始载于《神农本草经》，列为上品。远志生用有毒，戟人咽喉，甘草制远志可减缓其毒性，增强安神益智作用，故其历代入药均以炮制品为主，现代主要采用甘草制^[1-2]。但远志炮制减毒增效机理目前尚未阐明，致使其炮制工艺和质量标准缺乏专属性科学依据。

研究表明，远志中主要含有皂苷类、糖酯类、酮类成分，此外，尚含有机酸、生物碱、黄酮等成分^[3-5]。寡糖酯类成分是远志安神益智的主要活性成分，具有抗抑郁、脑保护、抗氧化，等作用^[6-9]。远志经甘草汁煮后胃肠毒性明显降低，燥性缓和，麻喉感减少^[10]。

本课题组前期研究表明，远志经甘草汁煮制后，其寡糖酯类成分的含有量发生显著变化，3，6'-二芥子酰基蔗糖、西伯利亚远志糖 A5、西伯利亚远志糖 A6、远志蔗糖酯 A、黄花远志素 A 的含有量明显降低，而球腺糖 A 含有量升高，但远志炮制过程中寡糖酯类成分的转化机制尚不明确^[11-12]。本研究采用已知对照品模拟炮制技术，制备远志中 6 种寡糖酯化合物的模拟炮制品，采用 HPLC-TOF/MS 技术测定 6 种化合物的图谱信息，通过已知对照品在图谱中流出时间定位以及各化合物在 Agilent MassHunter 数据库匹配及文献参照，分析各化合物模拟炮制品中的化学成分，探讨远志甘草汁煮制后寡糖酯类成分的转化机制，为揭示远志炮制减毒增效机理提供实验依据。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent 6230 TOF LC/MS 联用仪（美国 Agilent 公司）；日立 L-2000 高效液相色谱仪（日本日立公司）；KQ-250E 型医用超声波清洗器（江苏昆山市超声仪器有限公司）；FA1 604 N 型电子天平（1/10 万，上海精密科学仪器有限公司）。3，6'-二芥子酰基蔗糖、西伯利亚远志糖 A5、西伯利亚远志糖 A6、球腺糖 A、远志蔗糖酯 B、黄花远志素 A 对照品均为本实验室自制，含有量≥95%。对羟基苯甲酸、芥子酸、3，4，5-三甲氧基肉桂酸对照品（天津士兰科技有限公司，批号依次为 20140605、201406010、20140605，含有量均≥98%）；阿魏酸（中国药品生物制品检定研究院，批号为 0773-9910，含有量≥98%）。色谱纯乙腈、甲醇（德国默克公司）；色谱纯甲酸（美国 Tedia 公司）；水为 Milli-Q Ultra-

pure water（美国 Millipore 公司）；其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 甘草汁制备 取净甘草 15 g，加水 150 mL 煎煮 30 min，过滤，残渣继续加水 120 mL 煎煮 30 min，过滤，合并浓缩液至 150 mL。每 10 mL 甘草汁浓缩液相当于甘草 1 g。

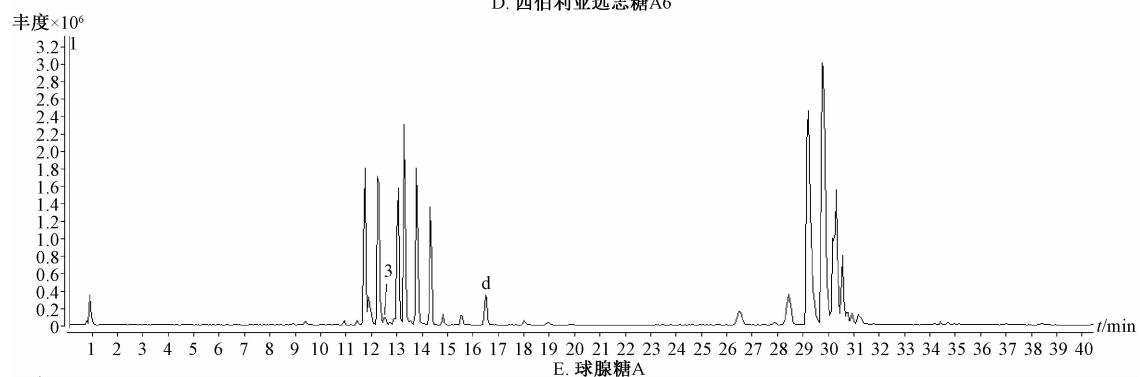
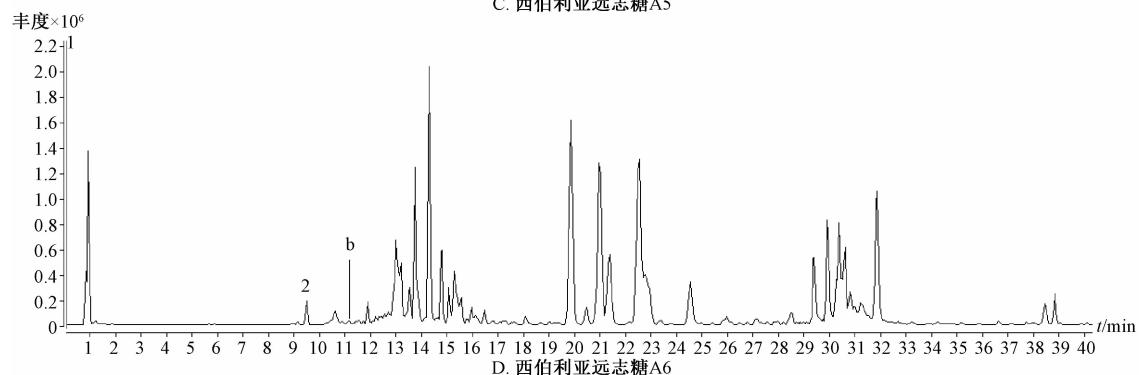
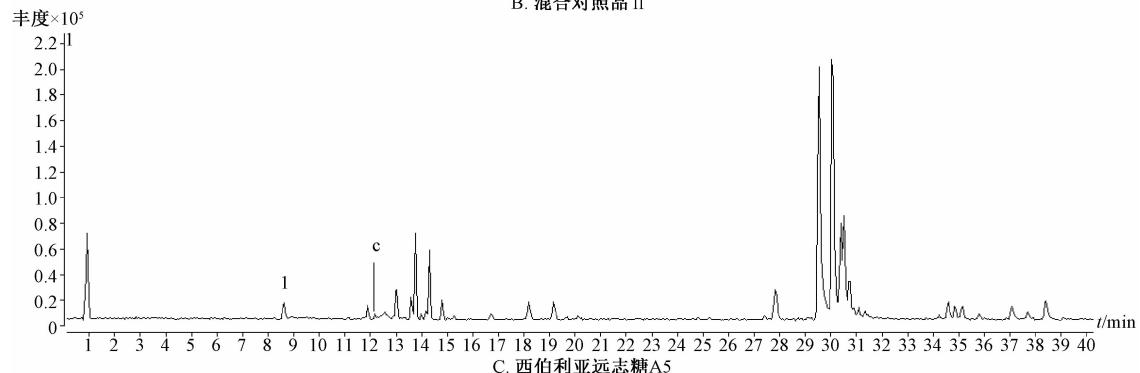
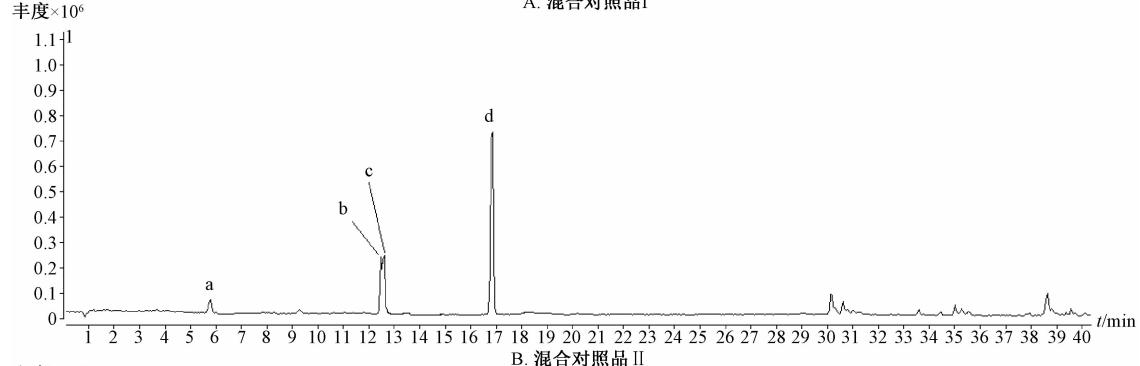
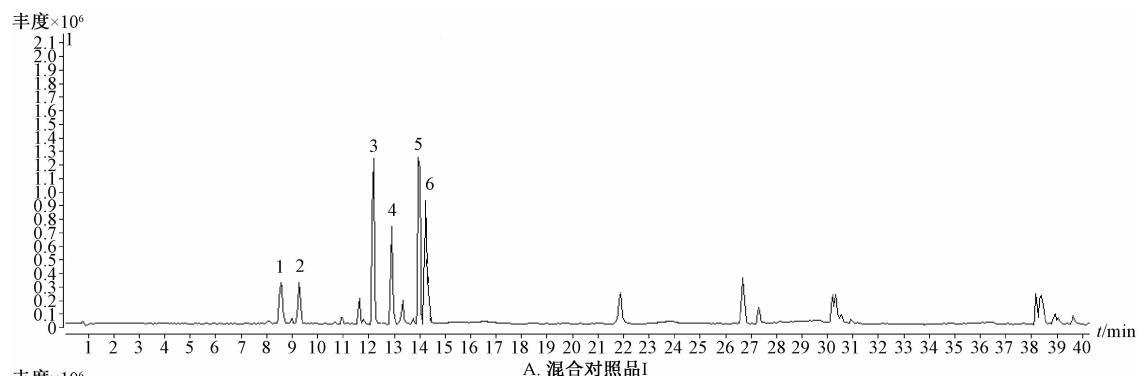
2.2 对照品溶液制备 称取西伯利亚远志糖 A5、远志糖 A6、球腺糖 A、3，6'-二芥子酰基蔗糖、远志蔗糖酯 B、黄花远志素 A 对照品各约 0.5 mg，分别置于 1 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，得各化合物对照品溶液贮备液。精密吸取对照品贮备液各 0.2 mL，置 5 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，得混合对照品溶液 I。称取对羟基苯甲酸、芥子酸、阿魏酸、3，4，5-三甲氧基肉桂酸对照品各约 0.5 mg，置 5 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，得混合对照品溶液 II。

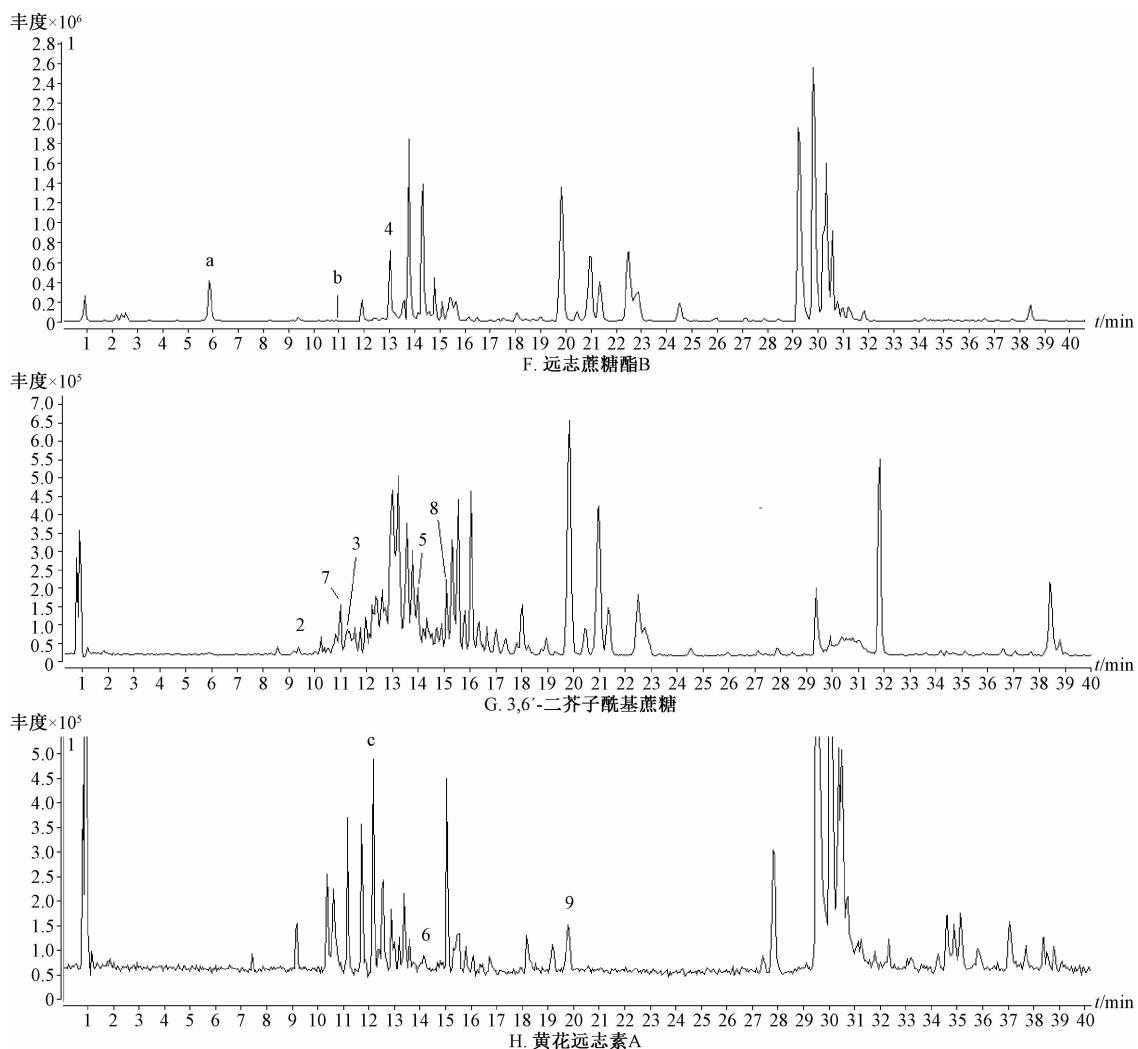
2.3 寡糖酯类化合物模拟炮制品制备 精密移取“2.2”项下对照品溶液各 0.2 mL，分别置带盖 EP 管中，加甘草汁 1 mL，密闭，将 EP 管置 100 ℃ 水浴中加热水解 5 h，取出，放凉，备用。

2.4 分析条件 Halo[®] C₁₈ 色谱柱（2.1 mm×100 mm，2.7 μm）；流动相乙腈（A）-0.1% 甲酸溶液（B），梯度洗脱（0~5 min，5%~12% A；5~10 min，12%~25% A；10~18 min，25%~25% A；18~23 min，25%~30% A；23~33 min，30%~45% A；33~40 min，45%~70% A）；检测波长 280 nm、302 nm；体积流量 0.25 mL/min；柱温 30 ℃；进样量 2 μL。在 ESI/MS 正离子模式下采集数据；离子源电喷雾离子源（ESI）；雾化器压力 241.3 kPa；干燥器体积流量 11 L/min；干燥气温度 350 ℃；质谱扫描范围 m/z 50~2 000。

2.5 远志甘草汁煮制前后质变化合物模拟水煮品成分分析 分别吸取供试品和混合对照品溶液，按“2.4.1”和“2.4.2”项下条件进样，6 种寡糖酯类化合物模拟炮品质谱总离子流图见图 1。通过查阅文献、比较各对照品在谱图上的保留时间、分析各化合物结构特点和质谱数据及各化合物在 Agilent MassHunter 数据库匹配，鉴定 6 种寡糖酯化合物模拟炮制品中的化学成分。

西伯利亚远志糖 A5 模拟炮制品总离子流图中，获得保留时间 t_R=8.643 min，分子离子峰 m/z 541.536 2 [M+Na]⁺ 的 1 号峰，其 t_R 和相对分子质量（Mr）与西伯利亚远志糖 A5 对照品相符，故





1. 西伯利亚远志糖 A5 2. 西伯利亚远志糖 A6 3. 球腺糖 A 4. 远志蔗糖酯 B 5. 3, 6'-二芥子酰基蔗糖 6. 黄花远志素 A 7. 黄花远志素 C 8. 黄花远志素 B a. 对羟基苯甲酸 b. 芥子酸 c. 阿魏酸 d. 3, 4, 5-三甲氧基肉桂酸

1. sibelicose A5 2. sibiricose A6 3. glomeratose A 4. tenuifolaside B 5. 3, 6'-disinapoyl sucrose 6. arillanin A
7. arillanin C 8. arillanin B a. p-hydroxybenzoic acid b. sinapic acid c. ferulic acid d. 3, 4, 5-trimethoxycinnamic

图1 各样品总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of various samples

确定1号峰为西伯利亚远志糖A5。 $t_R = 12.176 \text{ min}$ 获得 $m/z 195.0634 [M + H]^+$ 的c峰，其 t_R 和Mr与阿魏酸对照品相符，故确定c峰为阿魏酸。其余化合物模拟炮制品化学成分的质谱数据和鉴定结果见表1~2。

3 讨论

本实验采用已知对照品模拟炮制和HPLC-TOF/MS方法结合，分析远志炮制过程中寡糖酯类化合物的转化机制。结果表明，该方法快速、灵敏度高，可较为全面、准确地分析各化合物在炮制过程中的变化规律与转化机制。

研究发现，在6种寡糖酯化合物模拟炮制品中

检测到了其次级苷和（或）苷元。结果表明远志中寡糖酯类成分性质不稳定，在加水、加热条件下，其分子结构中的酯键发生水解，生成其次级苷和（或）苷元。课题组前期曾采用HPLC-TOF/MS技术对寡糖酯类化合物模拟水煮品成分分析，结果表明，该类成分模拟水煮的转化机制与模拟甘草汁煮制是一致的，确证远志在甘草汁煮制过程中，由于水的存在，寡糖酯类成分发生了水解和构型改变，但甘草的具体作用尚不能解释，需进一步开展药理相关实验探究甘草在远志炮制过程中发挥的作用。

表1 6种寡糖酯类化合物模拟炮品质谱分析鉴定结果

Tab. 1 Results of MS analysis and identification for six oligosaccharide esters after simulated processing

峰号	t_R /min	分子离子峰	m/z	化合物	相对分子质量	分子式
1	8.643	[M + Na] ⁺	541.536 2	西伯利亚远志糖 A5 ^[13]	518.163 6	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄
2	9.294	[M + Na] ⁺	571.164 9	西伯利亚远志糖 A6 ^[13]	548.174 1	C ₂₃ H ₃₂ O ₁₅
3	12.498	[M + Na] ⁺	585.179 5	球腺糖 A ^[14]	562.189 8	C ₂₄ H ₃₄ O ₁₅
4	12.916	[M + Na] ⁺	691.183 1	远志蔗糖酯 B ^[15]	668.195 2	C ₃₀ H ₃₆ O ₁₇
5	14.119	[M + Na] ⁺	777.221 9	3,6'-二芥子酰基蔗糖 ^[13]	754.232 0	C ₃₄ H ₄₂ O ₁₉
6	14.224	[M + Na] ⁺	747.207 2	黄花远志素 A ^[11]	724.221 5	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₈
7	10.990	[M + Na] ⁺	571.164 2	黄花远志素 C	548.174 1	C ₂₃ H ₃₂ O ₁₅
8	19.833	[M + Na] ⁺	541.125 4	黄花远志素 B	518.163 6	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄
a	5.851	[M + H] ⁺	139.040 1	对羟基苯甲酸	138.031 7	C ₇ H ₆ O ₃
b	11.080	[M + H] ⁺	225.076 6	芥子酸	224.068 5	C ₁₁ H ₁₂ O ₅
c	12.176	[M + H] ⁺	195.063 4	阿魏酸	194.057 9	C ₁₀ H ₁₀ O ₄
d	16.536	[M + H] ⁺	239.092 7	3,4,5-三甲氧基肉桂酸	238.084 1	C ₁₂ H ₁₄ O ₅

表2 6种寡糖酯类化合物模拟炮制品 HPLC-TOF/MS 分析结果

Tab. 2 Results of HPLC-TOF/MS analysis for six oligosaccharide esters after simulated processing

化合物	模拟炮制后产物
西伯利亚远志糖 A5	阿魏酸
西伯利亚远志糖 A6	芥子酸
球腺糖 A	3,4,5-三甲氧基肉桂酸
远志蔗糖酯 B	芥子酸、对羟基苯甲酸
3,6'-二芥子酰基蔗糖	西伯利亚远志糖 A6、黄花远志素 C、芥子酸
黄花远志素 A	黄花远志素 B、阿魏酸

远志中寡糖酯类成分为远志安神益智的主要活性成分，其水解产物小分子有机酸也有很强的生物活性。据报道，芥子酸可改善大鼠的记忆缺陷。阿魏酸可提高血管性痴呆大鼠的学习记忆能力。3,4,5-三甲氧基肉桂酸具有抗健忘作用。远志炮制后安神益智药效增强分析与寡糖酯类成分在炮制过程中水解为小分子活性有机酸化合物有关，有待深入研究。

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] 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] 姜勇, 刘蕾, 屠鹏飞. 远志的化学成分研究Ⅲ[J]. 中国天然药物, 2003, 36(3): 142-145.
- [4] 李创军. 远志和华南远志的化学成分及其生物活性研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2008.

- [5] 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.
- [6] 施振国, 尹红, 胡园. 3,6'-二芥子酰基蔗糖抗抑郁作用及对新生大鼠海马神经前体细胞增殖的影响[J]. 中国药业, 2009, 18(21): 11-12.
- [7] 黄志雄, 穆丽华, 赵海霞, 等. 远志寡糖酯化合物的神经保护作用及初步构效关系研究[J]. 解放军药学学报, 2012, 28(5): 377-380, 384.
- [8] 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.
- [9] Liu P, Hu Y, Guo D H, et al. Antioxidant activity of oligosaccharide ester extracted from *Polygala tenuifolia* roots in senescence-accelerated mice [J]. *Pharm Biol*, 2010, 48 (7): 828-833.
- [10] 郭娟. 远志炮制品减毒增效的对比实验研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2004.
- [11] 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.
- [12] 栾茹乔, 张学兰, 吴鹏, 等. HPLC法测定远志及其3种炮制品中3种寡糖酯[J]. 中成药, 2017, 39 (8): 1666-1669.
- [13] Miyase T, Ueno A. Sucrose derivatives from the roots of *Polygala tenuifolia* [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1993, 47(3): 267-278.
- [14] Tiyase T, Iwata Y, Ueno A. Tenuifolioses A-F oligosaccharide multi-esters from the roots of *Polygala tenuifolia* Willd [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1991, 39(11): 3082-3084.
- [15] 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.