

## 远志蜜炙前后 HPLC 指纹图谱对比研究

夏厚林, 董敏, 吴希, 盛燕, 王建

(成都中医药大学药学院, 四川 成都 610072)

**摘要:**目的 研究远志蜜炙前后 HPLC 指纹图谱的差异。方法 采用梯度洗脱法, 分别对生远志及相应的 10 批蜜远志进行 HPLC 测定, 流动相为乙腈-0.05% 磷酸线性梯度洗脱, 检测波长为 210 nm; 记录时间为 100 min。采用中南大学出版的指纹图谱相似度比较软件进行比较。结果 10 批蜜远志的指纹图谱相似度均大于 0.95; 生远志与蜜远志建立的共有模式的相似度均小于 0.9。结论 蜜炙对远志化学成分种类影响不大, 但改变了成分间的比例关系; 蜜炙方法具有较好的重现性和稳定性。

**关键词:** 远志; 蜜炙; 高效液相色谱

中图分类号: R286.01

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)11-1657-03

### Comparison on HPLC fingerprints of pre- and post processed *Radix Polygala* with honey-fried method

XIA HOU-lin, DONG-Min WU-Xi, SHENG-Yan, WANG Jian

(School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China)

**Key words:** *Radix Polygala*; honey-fried processing; 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。本品始载于《神农本草经》, 其味苦、辛, 性微温, 归心、肾、肺经, 具有安神益智、祛痰开窍、消肿散痈功效。其化学成分主要有远志皂苷 A、B、C、D、E、F、G 等三萜皂苷类; 远志酮 I、II, 1-羟基-3,6,7-三甲基咕吨酮类; 哈尔满、1-丁氧羰基-β-咪啉等生物碱类; 糖及糖苷类和脂肪油类等<sup>[1]</sup>。中药炮制理论认为蜜炙能增强远志的化痰止咳作用, 历来就有“蜜炙甘缓而润肺”之说。此外, 蜂蜜尚有解毒之功。生远志具有胃黏膜损伤、胃肠运动抑制等靶器官毒性, 而远志蜜炙品的不良反应则相对小<sup>[2,3]</sup>。

本实验对具有药理活性的远志甲醇提取部位进行了高效液相色谱指纹图谱比较研究, 以探求蜜炙远志与生远志之间的相关性, 拟从化学物质基础角度, 为揭示蜜炙远志的“解毒”作用机制提供科学依据。

#### 1 仪器与材料

岛津 LC-10AD VP 高效液相色谱仪, 岛津 SPD-10A VP 检测器; Class-VP 色谱工作站; 乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 自制重蒸水; 其他溶剂均为分析纯。

生远志药材购自成都荷花池药材市场, 经本校

卢先明鉴定为远志 *P. tenuifolia* Willd. 的干燥根; 蜜远志按《中国药典》2005 年版一部炮制通则项下进行炮制 (每 100 kg 远志用炼蜜 20 kg)。

#### 2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备: 精密称取样品粉末 2.0 g, 加甲醇 20 mL, 称质量, 超声提取 40 min, 放冷, 称质量, 以甲醇补足损失的质量, 滤过, 取续滤液适量, 以 0.45 μm 微孔膜滤过, 即得。

2.2 色谱条件: 色谱柱: Dikma 公司 Diamonsil C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸水溶液进行梯度洗脱, 见表 1; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 °C; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL。

表 1 梯度洗脱

Table 1 Gradient elution

| 时间/min | 乙腈/%   | 0.05% 磷酸水溶液/% |
|--------|--------|---------------|
| 0~45   | 16→33  | 84→67         |
| 45~50  | 33→34  | 67→66         |
| 50~55  | 34→44  | 66→56         |
| 55~70  | 44→48  | 56→52         |
| 70~90  | 48→100 | 52→0          |
| 90~100 | 100    | 0             |

2.3 内参比峰的选取: 由于缺少对照品, 且该方法得到的图谱峰较多, 难以插入适宜的内标物, 因此,

收稿日期: 2006-03-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371778)

作者简介: 夏厚林 (1964—), 男, 四川省大竹人, 副教授、硕士生导师, 主要从事中药及其复方制剂物质基础研究。

Tel: (028) 87778381 E-mail: xh164@163.com

采用保留时间在 22 min 左右的、对称性较好的峰作为内参比峰,见图 1。

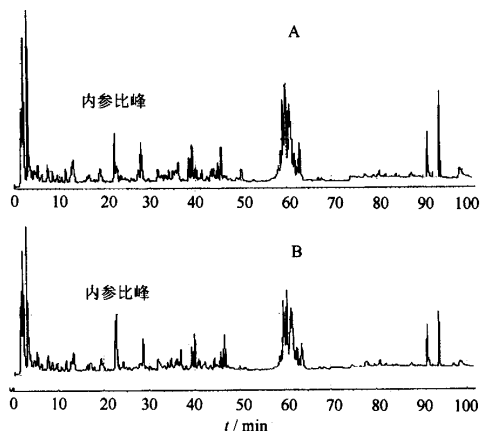


图 1 远志生品 (A) 和炮制品 (B) 的 HPLC 图谱  
Fig. 1 HPLC Chromatograms of raw *P. tenuifolia* (A) and its processed materia medica (B)

## 2.4 方法学考察

2.4.1 重现性试验:取同一批生远志 5 份,依法制备、测定,得到相应色谱图数据。利用计算机辅助相似度评价系统中相系数法评价整体相似度,其相似度分别为 0.969 4、0.983 2、0.985 8、0.989 8、0.988 5, RSD 为 0.833 6%。内参比峰的保留时间平均为 22.483 min, RSD 为 1.200% ( $n=5$ ),单位峰面积 (峰面积与取样量的比值) 平均为 2 298 159.28, RSD 为 2.186% ( $n=5$ )。

2.4.2 精密度试验:取生远志药材 1 份,依法制备供试品溶液并平行测定,其相似度分别为 0.982 7、0.990 1、0.983 9、0.992 7、0.983 6, RSD 为 0.456% ( $n=5$ )。内参比峰的保留时间平均为 22.452 min, RSD 为 1.27% ( $n=5$ ),单位峰面积平均为 2 287 454.904, RSD 为 2.78% ( $n=5$ )。

2.4.3 稳定性试验:取生远志药材 1 份,依法制备供试品溶液,分别在 0、2、4、6、12、24 h 进样测定。其相似度分别为 0.975 6、0.959 7、0.985 3、0.981 4、0.970 5, RSD 为 1.03% ( $n=5$ )。内参比峰的保留时间平均为 22.517 min, RSD 为 1.19% ( $n=5$ );单位峰面积平均为 2 233 690.42, RSD 为 2.68% ( $n=5$ )。

2.5 蜜远志指纹图谱共有模式的建立:取蜜远志 10 批,依法制备供试品溶液并测定。其相似度分别为 0.972 6、0.955 5、0.985 1、0.982 8、0.975 8、0.984 7、0.977 8、0.977 7、0.970 2、0.973 4, RSD

为 0.91% ( $n=10$ )。内参比峰的保留时间平均为 22.542 min, RSD 为 1.05% ( $n=10$ );单位峰面积平均为 1 841 097.07, RSD 为 2.82% ( $n=10$ ),10 批蜜远志的 HPLC 的共有模式见图 2。

2.6 生远志与蜜远志的比较:取同一批生远志药材 5 份,依法制备供试品溶液并测定。其相似度为 0.969 4~0.989 8,共有模式见图 3。

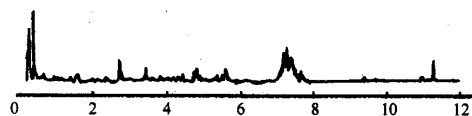


图 2 10 批蜜远志共有模式

Fig. 2 Mutual mode of ten batches of processed materia medica

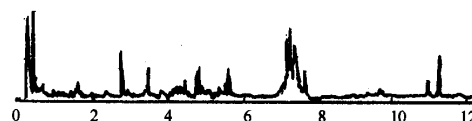


图 3 5 批远志生品的共有模式

Fig. 3 Mutual mode of five batches of raw *P. tenuifolia*

5 份生远志与蜜远志建立的共有模式的相关系数为 0.780 6、0.757 6、0.781 3、0.843 7、0.853 3, 平均为 0.803 3, RSD 为 4.24% ( $n=5$ );相系数为 0.875 6、0.850 2、0.858 8、0.897 3、0.894 6, 平均为 0.875 3, RSD 为 2.10% ( $n=5$ )。

取生远志与炼蜜的简单混合物 (按蜜制比例) 2.0 g, 依法制备、测定,结果见图 4。与生远志建立的共有模式的相关系数为 0.872 6;与蜜远志建立的共有模式的相关系数为 0.876 5。

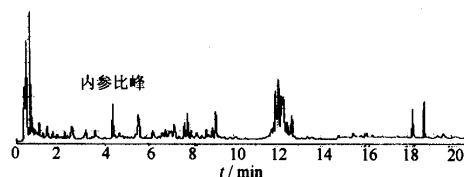


图 4 药材与蜜混合物的 HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC Chromatogram of mixture of crude and honey-fried materia medica

## 3 讨论

10 批蜜远志之间的相似度均大于 0.95,说明远志的蜜炙方法具有较好重现性和稳定性。

生远志与蜜远志建立的共有模式相比,相似度不论以相关系数还是以相系数计均小于 0.90,但是从生远志共有模式和蜜远志共有模式的图谱直观分析可见,两者的出峰位置基本相同,仅峰形高低略有不同,说明其醇溶性成分的种类差别不大,只是量

多少有所不同。结合笔者以前测定的远志蜜炙后总皂苷的量大于蜜炙前(该实验另作报道),表明蜜炙对远志中化学成分的影响可能在于改变了成分间的比例关系且增加其溶出率。这也可从远志皂苷的稳定性较差得到佐证。

远志和炼蜜的简单混合物(比例为 5:1)与蜜远志的共有模式比较,相关系数为 0.876 5,说明简单混合物与经炮制加工的蜜远志有差异,确证炮制对远志化学成分有一定的影响。

流动相的选择:远志甲醇提取物的成分较多,在等梯度条件下,难以达到理想的分离效果,故选用梯度洗脱,在实验过程中反复调整流动相梯度,由于仪器自身的性能无法采用非线性梯度,在 70~80 min 出的一簇峰始终分不开,但对于使用软件评价的相似度结果影响不大。

远志皂苷稳定性较差且提纯较难,目前尚无法定对照品(仅有供薄层扫描用的远志皂苷元)。本实验采用远志的一个特征峰作为内参比峰,借助现在使用较为方便的相似度评价软件,得到的结果较为

可信。考虑到取样量的影响,采用单位峰面积进行计算,结果更为可靠。

远志发挥药效的主要物质是皂苷类成分,课题组的前期研究证明远志的胃肠毒性物质亦可能是皂苷成分<sup>[3]</sup>。远志皂苷母核为五环三萜类,连接的糖基种类、位置及母核中双键位置不同而形成不同的皂苷。蜜炙远志后毒性降低的原因,是否因蜜炙使不同类型之间的皂苷相互转化,造成毒性较大的某些皂苷转化成毒性相对较小的皂苷,从而使总皂苷的整体毒性降低,这些问题有待于下一步深入研究。

#### References:

- [1] Jiang Y, Tu P F. Progress in studies on *Polygala tenuifolia* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(8): 759-761.
- [2] Wang J, Guo J, Wu Y, et al. Acute toxicity and influence damaged to the stomach mucous membrane of *Polygala tenuifolia* and the kinds of prepared [J]. *Chin Med Res Clin* (中国医学研究与临床), 2005, 3(2): 5-6.
- [3] Wang J, Wu H H, Wu Y, et al. Compare studies on acute toxicity between *Polygala tenuifolia* and onjisapoinins and the prepared [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2004, 20(6): 21-23.

## 天麻的超微粉碎及其性能研究

马晶晶,傅正义,苏艳丽,马培燕

(武汉理工大学 材料复合新技术国家重点实验室,湖北 武汉 430070)

现代研究表明,生物机体对药物的吸收、代谢、排泄是一个极其复杂的过程,中药产生的药理效应不能唯一地归功于该药物的化学组成,还应与药物的物理状态等密切相关。当颗粒尺寸达到纳米级时,由于量子尺寸效应和表面效应,纳米粒子呈现出新的物理、化学和生物学特性。这就是应用中药纳米技术可能使药物活性和生物利用度提高乃至产生新的特性依据所在<sup>[1]</sup>。

国内外学者在中药纳米化方面做了大量的研究<sup>[2~4]</sup>。徐辉碧等将矿物中药雄黄<sup>[5]</sup>和石决明<sup>[6]</sup>粉碎到纳米级,理化性质和疗效均发生了显著变化。天麻为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* BL. 的干燥块茎,具平肝息风止痛之功效,含天麻素、天麻苷元等酚类化合物及甾醇、有机酸、多种氨基酸、多糖、核

苷、淀粉等成分,其中天麻素为天麻的主要有效成分<sup>[7]</sup>。本实验采用超细粉碎机对天麻进行了超微粉碎,用 Zeta PALS 粒度分布仪、SEM、TEM、FTIR 对其进行了表征,并对粉碎前后的天麻的主要成分天麻素进行了测定。

#### 1 仪器和试剂

高速离心剪切式超细粉碎机(HSCS),日本奈良机械制作所;Zeta PALS 光散射粒度分布仪(美国 Brookhaven 公司);JSM-5610LV 型扫描电子显微镜;莱茨 Orthoplan 偏光显微镜;60SXB 型傅里叶变化红外光谱仪;美国 Agilent 1100 Series 液相色谱仪;KQ-50B 超声波清洗器。天麻购于湖北省中药材公司,经湖北中医研究院鉴定为兰科植物天麻的干燥根茎。天麻素对照品购于中国药品生物

收稿日期:2006-01-23

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50272047, 50220106657)

作者简介:马晶晶(1981—),女,湖北省随州市人,硕士,研究方向:纳米技术在中药研究中的应用。

Tel: (027) 87867824 E-mail: mjjmbb@sohu.com