

远志 UPLC 多指标成分的测定及指纹图谱研究

刘筱筱^{1,2}, 夏忠庭², 何毅², 姚凤娟², 周水平², 李萍^{1*}

1. 中国药科大学, 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 江苏 南京 210009

2. 天士力控股集团有限公司, 天津 300410

摘要: **目的** 建立远志超高效液相色谱(UPLC)多成分测定方法及指纹图谱方法。**方法** 采用 UPLC 法, 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱, 体积流量 0.4 mL/min, 检测波长 320 nm, 测定 24 批远志药材中 sibiricose A₅、sibiricose A₆、sibiricaxanthone B、glomeratose A、polygalaxanthone III、3,6'-disinapoyl sucrose 6 种成分的量, 并建立远志药材指纹图谱, 采用超高效液相色谱-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS^E)指认共有峰。**结果** 不同产地远志中 3,6'-disinapoyl sucrose 与 sibiricose A₆ 量差异较大; 建立的药材 UPLC 指纹图谱共标定 37 个共有峰, 指出其中 33 个峰, 24 批样品相似度在 0.756~0.997。成分量及相似度综合分析结果表明不同地区远志药材质量存在一定差异。**结论** 建立的测定结合指纹图谱分析方法可有效、全面地用于远志药材的质量评价。

关键词: 远志; UPLC; 指纹图谱; UPLC-Q-TOF-MS^E; sibiricose A₅; sibiricose A₆; sibiricaxanthone B; glomeratose A; polygalaxanthone III; 3,6'-disinapoyl sucrose

中图分类号: R286.022

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)12-2167-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.12.026

Simultaneous analysis on index compounds and fingerprint analysis on *Polygalae Radix* by ultra performance liquid chromatography

LIU Xiao-xiao^{1,2}, XIA Zhong-ting², HE Yi², YAO Feng-juan², ZHOU Shui-ping², LI Ping¹

1. State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

2. Tianjin Tasly Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: Objective A rapid and specific ultra performance liquid chromatography (UPLC) method was established for simultaneous analysis on six compounds and fingerprint analysis on *Polygalae Radix* to evaluate the herb quality from different habitats in China. **Methods** The UPLC method was carried out by gradient elution with acetonitrile-formic acid water (0.1%). The flow rate was 0.4 mL/min. The detection wavelength was at 320 nm. The fingerprint chromatograms and the contents of six compounds including sibiricose A₅, sibiricose A₆, sibiricaxanthone B, glomeratose A, polygalaxanthone III, and 3,6'-disinapoyl sucrose in 24 batches of *Polygalae Radix* were analyzed. The common peaks were identified by ultra performance liquid chromatography tandem with time-of-flight mass spectrometry with MS^E data-acquisition mode (UPLC-Q-TOF-MS^E). **Results** There was a difference in contents of six compounds, especially for the content of 3,6'-disinapoyl sucrose and sibiricose A₆. Thirty-seven peaks were selected as the common peaks, of which 33 peaks were identified, and the similarities of 24 batches were between 0.756 and 0.997. Based on the results of quantification and fingerprint analysis, a certain difference between samples from different habitats was further proven. **Conclusion** The validated UPLC quantitative analysis and fingerprint methods are successfully used in the quality control of *Polygalae Radix*.

Key words: *Polygalae Radix*; UPLC; fingerprint; UPLC-Q-TOF-MS^E; sibiricose A₅; sibiricose A₆; sibiricaxanthone B; glomeratose A; polygalaxanthone III; 3,6'-disinapoyl sucrose

远志 *Polygalae Radix* 为远志科远志属植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 或卵叶远志 *Polygala sibirica* L. 的干燥根, 其味苦、辛、温, 归心、肾、脾经, 具

有安神益智、祛痰、消肿之功效, 用于心肾不交引起的失眠多梦、健忘惊悸、神志恍惚等^[1]。本课题组已有研究表明市售远志品质参差不齐, polygalaxanthone

收稿日期: 2015-11-26

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402202)

作者简介: 刘筱筱(1992—), 女, 硕士在读, 研究方向为药材资源的研究。Tel: 13218058556 E-mail: liuxiaocpu@gmail.com

*通信作者 李萍, 女, 教授。E-mail: liping2004@126.com

量难以控制。近年来,针对远志质量评价等方面的研究也多为个别成分为指标的测定分析^[2]。姜勇等^[3]开展了远志指纹图谱的研究,但所建立的 HPLC 指纹图谱检测时间为 80 min,耗时长,损耗试剂多,不利于高通量分析;同时存在共有峰数目较少、缺乏共有峰定性等问题。综上所述,建立一种全面、快速的远志药材质量评价方法很有必要。本研究选取了有神经保护、抗抑郁等活性报道的 6 种成分(sibiricoside A₅、sibiricoside A₆、sibiricaxanthone B、glomeratose A、polygalaxanthone III、3,6'-disinapoyl sucrose)进行同时测定,建立远志药材指纹图谱,采用 UPLC-Q-TOF-MS^E 指认共有峰。利用本研究“指纹图谱+多成分定量”方法对药材主产地山西、陕西等地的远志进行较全面的快速质量分析,为临床使用提供更多科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

超高效液相色谱系统(Waters 公司 ACQUITY UPLC, 包括真空脱气机、二元梯度泵、自动进样器、柱温箱、TUV 检测器), ACQUITY UPLC-Synapt G2 MS 色谱-质谱联用仪(Waters 公司), 电子天平(XS205, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司), 高速冷冻离心机(ST16R, 美国 Thermo 公司), Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司), 超声波清洗器(KQ-500DV, 昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

对照品 sibiricoside A₅ (批号 AP0590, 质量分数 98%)、sibiricoside A₆ (批号 AP148S, 质量分数 98%)、sibiricaxanthone B (批号 AP046S, 质量分数 98%)、glomeratose A (批号 20150701, 质量分数 98%) 均购自天津一方科技有限公司, polygalaxanthone III (批号 111850-201203, 质量分数 95.7%)、3,6'-disinapoyl sucrose (批号 111848-201303, 质量分数 96.0%) 均购自中国食品药品检定研究院。乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司), 甲酸(色谱纯, 上海润捷公司), 超纯水(Milli-Q 制备)。

1.3 药材样本采集

24 批远志药材分别来自药材各主产区, 经山西医科大学高建平教授鉴定为远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 的根, 且均通过 DNA 条形码技术(基于 *psbA-trnH* 序列)验证。药材来源见表 1。

表 1 24 批远志药材样品来源

Table 1 Sources of 24 batches of *Polygalae Radix*

编号	产地	编号	产地
S1	陕西榆林	S13	山西平遥
S2	陕西延安	S14	山西临汾
S3	陕西澄城	S15	山西介休
S4	陕西澄城	S16	山西绛县
S5	陕西澄城	S17	山西绛县
S6	山西新绛	S18	山西侯马
S7	山西新绛	S19	山西侯马
S8	山西闻喜	S20	内蒙古通辽
S9	山西闻喜	S21	内蒙古赤峰
S10	山西闻喜	S22	河北涿鹿
S11	山西闻喜	S23	河北安国
S12	山西闻喜	S24	河北安国

2 方法

2.1 色谱条件和质谱条件

2.1.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱。流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B): 梯度洗脱条件为 0~1 min, 10% B; 1~2.5 min, 10%~14% B; 2.5~4 min, 14%~16% B; 4~9 min, 16%~25% B; 9~12 min, 25% B; 12~14 min, 25%~27% B; 14~16 min, 27%~30% B; 16~18 min, 30%~39.8% B; 18~21 min, 39.8%~40% B; 21~23 min, 40%~60% B; 23~24 min, 60%~100% B; 24~26 min, 100%~10% B。体积流量 0.4 mL/min; 检测波长 320 nm; 柱温 30 °C; 进样量 1 μL。6 种成分的理论塔板数均不低于 6 000, 此色谱条件检测时间短, 信息量丰富, 亦用于指纹图谱的分析, 对照品及样品图谱见图 1。

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI), 负离子 MS^E 模式, 雾化气体为高纯度氮气(N₂), 碰撞气体为高纯度氩气(Ar)。质量扫描范围 *m/z* 100~2 000; 毛细管电压为 3 kV; 锥孔电压为 40 V; 离子源温度为 120 °C; 雾化温度为 300 °C; 载气体积流量为 800 L/h, 碰撞能量(CE) 60~80 V; 采用亮氨酸-脑啡肽进行精确质量校正([M-H]⁻ 为 554.261 5)。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别取 sibiricoside A₅、sibiricoside A₆、sibiricaxanthone B、glomeratose A、polygalaxanthone III、3,6'-disinapoyl sucrose 对照品适量, 精密称定, 甲醇定容, 制成质量浓度分别为

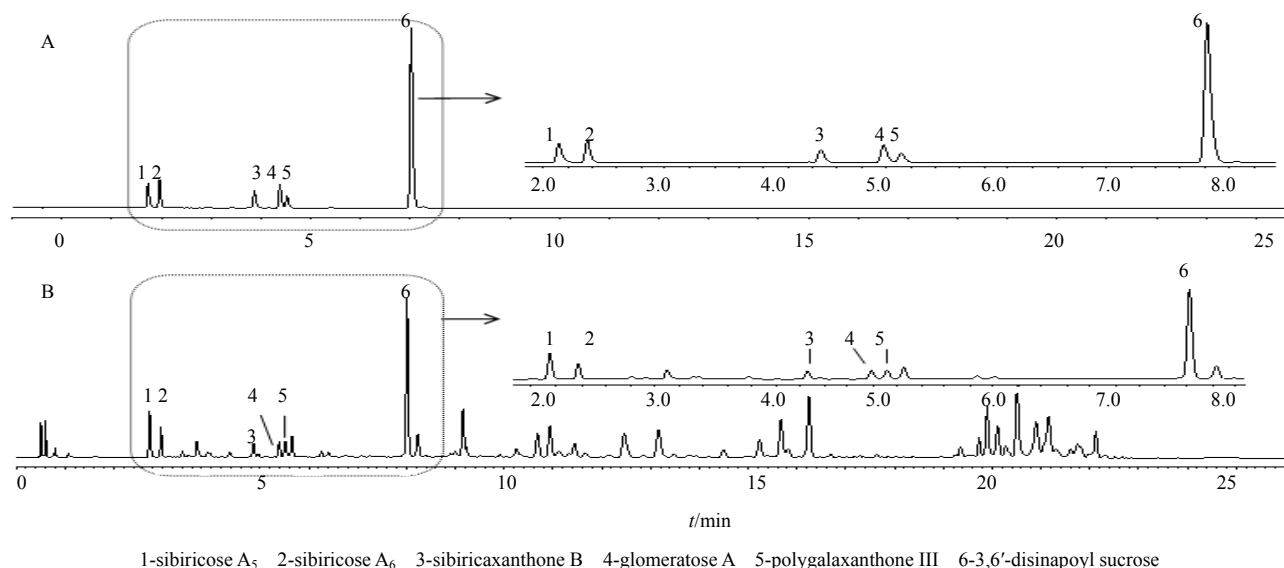


图1 对照品 (A) 和远志样品 (B) 的 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC of reference substance (A) and *Polygalae Radix* (B)

39.8、47.7、23.9、28.2、27.4、263.0 mg/L 的混合对照品贮备液，存贮于 4 °C 冰箱中备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 样品干燥后粉碎，精密称定粉末（过三号筛）0.5 g，置于 25 mL 量瓶中，加入 70% 甲醇溶液 20 mL，超声处理 30 min（功率 500 W，频率 40 kHz），放至室温，70% 甲醇溶液稀释至刻度，摇匀，转移至离心管，4 900 r/min 下高速离心 10 min，吸取上清液，0.22 μm 微孔滤膜滤过即得。

3 结果与分析

3.1 远志 6 种成分测定

3.1.1 线性关系考察 精密吸取混合对照品贮备液适量，以甲醇逐级稀释，稀释倍数分别为 1、2、4、8、16 和 32 倍，摇匀。分别按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，进样量均为 1 μL，测定峰面积。以峰面积为纵坐标（Y），质量浓度为横坐标

（X），绘制各标准曲线，得到线性回归方程和线性范围，结果见表 2，6 种化合物在各浓度范围内的线性关系良好。

3.1.2 定量限与检测限 将对照品溶液逐级稀释后，按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，信噪比（S/N）为 3 时的质量浓度（mg/L）为检测限（LOD），信噪比（S/N）为 10 时的质量浓度（mg/L）为定量限（LOQ），结果见表 2。

3.1.3 精密度试验 分别精密吸取混合对照品溶液 1 μL，在“2.1.1”项下色谱条件下重复进样 6 次，计算化合物 sibiricoside A₅、sibiricoside A₆、sibiricaxanthone B、glomeratose A、polygalaxanthone III、3,6'-disinapoyl sucrose 峰面积 RSD 值，分别为 0.3%、0.2%、0.3%、0.3%、0.1%、0.2%，表明仪器精密度良好。

3.1.4 重复性试验 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份 19 号样品的供试品溶液，“2.1.1”项下色谱条

表2 6种成分的标准曲线、定量限、检测限

Table 2 Calibration curves, LOQ, and LOD for six constituents

成分	线性回归方程	R^2	线性范围/(mg·L ⁻¹)	LOD/(mg·L ⁻¹)	LOQ/(mg·L ⁻¹)
sibiricoside A ₅	$Y=4.114 \times 10^6 X - 9.505 \times 10^3$	0.999 7	1.24~39.80	0.095 5	0.318 4
sibiricoside A ₆	$Y=4.505 \times 10^6 X - 2.652 \times 10^3$	0.999 6	1.49~47.70	0.085 9	0.286 2
sibiricaxanthone B	$Y=3.195 \times 10^6 X - 1.729 \times 10^3$	0.999 8	0.75~23.90	0.143 4	0.478 0
glomeratose A	$Y=3.855 \times 10^6 X - 2.801 \times 10^3$	0.999 8	0.88~28.20	0.135 4	0.451 2
polygalaxanthone III	$Y=4.299 \times 10^6 X + 950.5$	0.999 8	0.86~27.40	0.065 8	0.219 2
3,6'-disinapoyl sucrose	$Y=6.983 \times 10^6 X - 5.009 \times 10^3$	0.999 8	8.22~263.0	0.047 3	0.157 8

件进样分析, 计算 sibiricose A₅、sibiricose A₆、sibiricaxanthone B、glomeratose A、polygalaxanthone III、3,6'-disinapoyl sucrose 质量分数 RSD 值, 分别为 0.9%、2.2%、0.7%、0.9%、1.9%、0.5%, 实验重复性良好。

3.1.5 稳定性试验 按“2.2.2”项下方法制备 8 号样品的供试品溶液, 室温下放置, 按“2.1.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、12、18、24 h 时进样分析, 计算 6 个化合物峰面积的 RSD 值, 分别为 1.0%、0.6%、0.7%、0.7%、1.5%、0.6%, 样品在 24 h 内稳定性良好。

3.1.6 加样回收率试验 取已测定的 S19 号样品 6 份, 每份为 0.25 g, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中,

分别精密加入相当于样品成分量 100% 的各对照品溶液, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, “2.1.1”项下色谱条件进样分析, 计算 6 种成分的加样回收率。平均回收率分别为 97.74%、99.31%、97.20%、99.53%、96.97%、100.57%; RSD 分别为 1.57%、0.60%、0.88%、0.73%、0.97%、0.19%。

3.1.7 样品测定 按“2.2.2”项下方法制备 24 批供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件分别测定 24 批远志样品的 6 种成分量, 并计算每批样品 6 种成分总量, 结果见表 3。不同产地的远志样品中 6 个成分均有不同程度的差异, 其中 3,6'-disinapoyl sucrose 与 sibiricose A₆ 的差异较明显。

表 3 24 批远志中 6 种成分的量及指纹图谱相似度

Table 3 Contents of six constituents and similarity of UPLC fingerprint for 24 batches of *Polygalae Radix*

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)						总量	相似度
	sibiricose A ₅	sibiricose A ₆	sibiricaxanthone B	glomeratose A	polygalaxanthone III	3,6'-disinapoyl sucrose		
S1	1.110	0.939	0.968	0.537	0.695	4.293	8.542	0.971
S2	1.128	0.979	0.970	0.554	0.518	4.462	8.611	0.992
S3	1.520	1.412	0.678	0.407	0.521	6.830	11.368	0.964
S4	1.567	1.506	0.958	0.422	0.731	5.844	11.028	0.984
S5	1.678	1.413	1.197	0.576	0.866	6.163	11.893	0.988
S6	1.130	0.922	0.971	0.546	0.451	4.280	8.300	0.997
S7	0.557	0.584	0.653	0.348	0.486	2.453	5.081	0.867
S8	1.092	1.181	0.982	0.651	0.522	5.713	10.141	0.994
S9	1.293	0.894	1.010	0.644	0.564	4.198	8.603	0.991
S10	1.394	1.038	1.173	0.745	0.626	4.706	9.682	0.991
S11	0.822	0.771	0.974	0.553	0.491	3.228	6.839	0.977
S12	0.458	0.438	1.120	0.704	0.559	1.934	5.213	0.839
S13	1.277	1.277	1.031	0.529	0.655	5.257	10.026	0.996
S14	1.508	1.301	1.420	0.533	0.903	4.613	10.278	0.951
S15	0.877	0.688	1.162	0.554	0.671	3.005	6.957	0.920
S16	1.138	0.926	0.991	0.470	0.590	3.983	8.098	0.990
S17	0.518	0.588	0.817	0.479	0.557	2.241	5.200	0.858
S18	1.038	1.133	0.789	0.415	0.458	5.966	9.799	0.981
S19	1.263	1.315	0.937	0.555	0.528	6.472	11.070	0.984
S20	1.580	1.342	1.307	0.347	0.500	2.718	7.794	0.756
S21	0.787	0.555	0.833	0.424	0.422	3.086	6.107	0.974
S22	1.232	1.375	0.903	0.562	0.522	5.137	9.731	0.989
S23	0.810	0.690	0.570	0.274	0.357	5.068	7.769	0.957
S24	1.170	1.074	0.904	0.464	0.553	4.846	9.011	0.993
平均值	1.123	1.014	0.972	0.512	0.573	4.437	8.631	0.954
RSD/%	30.40	31.20	20.41	22.16	22.60	31.26	23.031	6.512

3.2 远志的指纹图谱研究

3.2.1 共有峰的确定及方法学验证 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”软件对 24 批远志药材 UPLC 指纹图谱进行数据处理, 确定共有峰 37 个, 由于 3,6'-disinapoyl sucrose 在各批次远志中均有出现, 分离度良好且峰面积较大, 故选择 3,6'-disinapoyl sucrose (10 号峰) 作为参照峰 (S), 以该参照峰计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积, 进行指纹图谱方法学考察, 测定方法与“3.1”项相同。结果显示, 同一样品溶液连续进样 6 次, 各共有峰相对保留时间 RSD<0.1%, 相对峰面积 RSD<2.2%, 精密度良好。重复性考察各共有峰相对保留时间 RSD<0.1%, 相对峰面积 RSD<3.6%; 稳定性考察各共有峰相对保留时间 RSD<0.3%, 相

对峰面积 RSD<3.8%。

3.2.2 相似度计算及对照指纹图谱的生成 24 批远志样品的 UPLC 指纹图谱见图 2, 生成对照指纹图谱见图 3。各产地远志药材指纹图谱与对照指纹图谱比对, 24 批样品相似度在 0.756~0.997, 结果见表 3。

3.2.3 共有峰的归属 依据对照品、文献质谱数据^[4-16]和色谱保留行为, 对 37 个共有峰中的 33 个进行了鉴定, 其中 1、2、4、5、6、10、15、32 号峰采用对照品对照确定为 sibiricose A₅、sibiricose A₆、sibiricaxanthone B、glomeratose A、polygalaxanthone III、3,6'-disinapoyl sucrose、tenuifoliside C、onjisaponin B。归属的 33 个共有峰包括 18 个糖酯类成分, 12 个皂苷类成分, 以及 3 个双苯吡酮类成分, 结果见表 4。

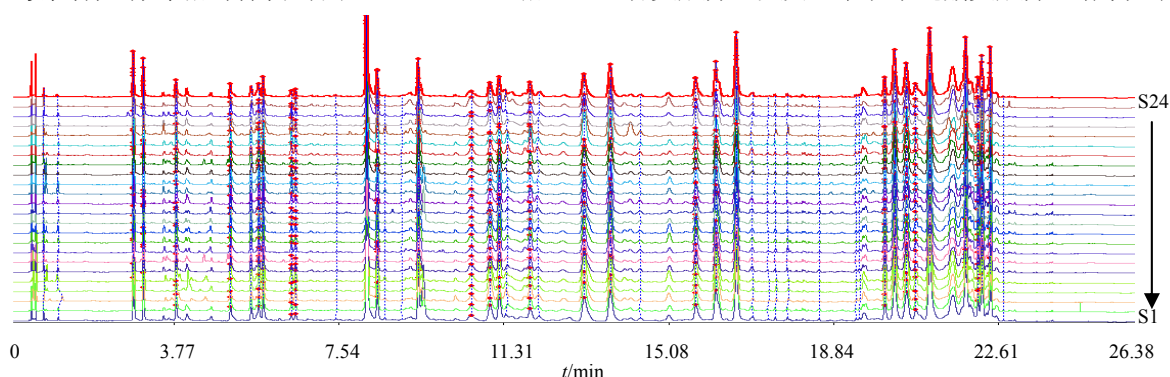


图 2 24 批远志的 UPLC 指纹图谱

Fig. 2 UPLC fingerprints of 24 batches of *Polygalae Radix*

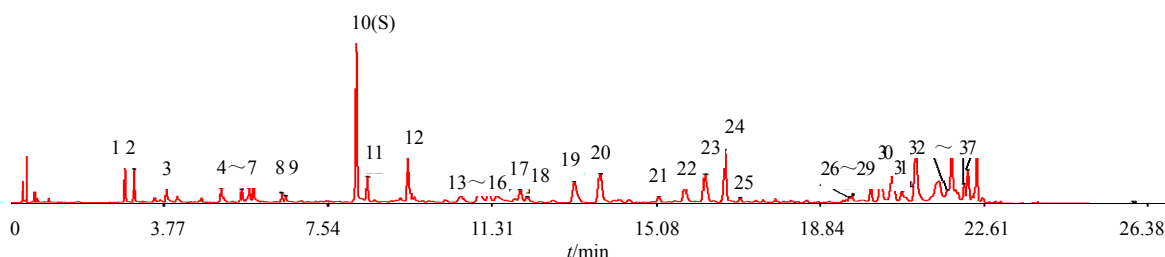


图 3 远志的对照指纹图谱

Fig. 3 Reference fingerprint of *Polygalae Radix*

表 4 基于 UPLC-Q-TOF-MS^E 的远志指纹图谱共有峰的归属

Table 4 Common peaks inferred in *Polygalae Radix* by UPLC-Q-TOF-MS^E

峰号	t_R/min	$[M-H]^- (m/z)$		分子式	化合物	类型	主要碎片离子 (m/z)
		测定值	理论值				
1	2.86	517.155 8	517.155 7	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄	sibiricose A ₅	寡糖酯	193.049 1, 175.038 8, 160.016 6, 132.025 5
2	3.08	547.167 6	547.166 3	C ₂₃ H ₃₂ O ₁₅	sibiricose A ₆	寡糖酯	341.107 3, 205.049 6, 190.026 5, 175.003 0, 119.012 9
4	5.08	537.125 6	537.124 4	C ₂₄ H ₂₆ O ₁₄	sibiricaxanthone B	双苯吡酮	387.071 3, 315.050 0, 285.035 1, 255.029 6, 227.033 7
5	5.54	561.183 3	561.182 0	C ₂₄ H ₃₄ O ₁₅	glomeratose A	寡糖酯	341.108 6, 237.077 0, 171.945 8, 116.927 3

续表 4

峰号	t_R/min	$[M-H]^- (m/z)$		分子式	化合物	类型	主要碎片离子(m/z)
		测定值	理论值				
6	5.72	567.136 4	567.135 0	$C_{25}H_{28}O_{15}$	polygalaxanthone III	双苯吡酮	345.060 4, 315.052 5, 282.016 2, 272.031 6, 215.033 8
7	5.82	567.137 2	567.135 0	$C_{25}H_{28}O_{15}$	polygalaxanthone VIII/ polygalaxanthone XI	双苯吡酮	345.061 6, 315.051 1, 272.032 2, 243.029 6, 215.035 0
8	6.47	667.188 3	667.187 4	$C_{30}H_{36}O_{17}$	tenuifolioside B	寡糖酯	461.129 8, 443.116 2, 323.074 1, 205.048 8, 190.026 5
10	8.19	753.225 5	753.224 2	$C_{34}H_{42}O_{19}$	3, 6'-disinapoyl sucrose	寡糖酯	547.168 5, 529.158 3, 223.061 2, 205.051 0, 190.027 4
11	8.43	723.214 2	723.213 6	$C_{33}H_{40}O_{18}$	arillanin A	寡糖酯	547.166 9, 529.154 5, 265.070 6, 223.060 4, 205.049 5, 190.026 1
12	9.37	681.203 4	681.203 1	$C_{31}H_{38}O_{17}$	tenuifolioside A	寡糖酯	443.118 3, 281.066 5, 239.055 3, 179.033 8, 137.023 4
13	10.59	1 253.381 1	1 253.377 2	$C_{56}H_{70}O_{32}$	tenuifolioside T	寡糖酯	1 077.328 7, 955.294 3, 647.211 2, 631.185 3, 451.330 0, 307.082 3
14	11.01	1 525.472 4	1 525.466 8	$C_{68}H_{86}O_{39}$	Tenuifolioside F	寡糖酯	1 379.408 0, 1 204.370 1, 1 161.352 1, 1 039.314 6, 673.198 9, 347.096 7
15	11.22	767.240 8	767.239 9	$C_{35}H_{44}O_{19}$	tenuifolioside C	寡糖酯	529.156 9, 237.076 0, 2 205.049 9, 190.026 5
17	11.95	1 295.391 4	1 295.387 8	$C_{58}H_{72}O_{33}$	tenuifolioside C/ tenuifolioside E	寡糖酯	1 119.340 2, 997.305 5, 689.212 8, 631.186 8, 425.306 1, 307.081 9
19	13.19	1 307.392 1	1 307.387 8	$C_{59}H_{72}O_{33}$	tenuifolioside J	寡糖酯	1 119.341 6, 997.306 8, 689.215 3, 631.188 8, 339.085 9, 307.081 5
20	13.78	1 337.403 6	1 337.398 3	$C_{60}H_{74}O_{34}$	tenuifolioside B	寡糖酯	1 161.354 2, 1 119.341 8, 997.305 4, 631.188 2, 339.087 2, 307.081 1
21	15.13	1 307.388 4	1 307.387 8	$C_{59}H_{72}O_{33}$	tenuifolioside I	寡糖酯	1 119.349 9, 1 039.316 8, 673.196 7, 423.289 4, 307.079 7
22	15.73	1 337.402 2	1 337.398 3	$C_{60}H_{74}O_{34}$	tenuifolioside D	寡糖酯	1 161.354 6, 1 039.315 8, 731.225 4, 673.200 3, 455.316 9, 425.305 9
23	16.19	1 349.399 9	1 349.398 3	$C_{61}H_{74}O_{34}$	tenuifolioside H	寡糖酯	1 249.589 4, 1 161.350 1, 1 039.313 4, 673.197 4, 455.315 5, 425.304 7
24	16.65	1 379.412 5	1 379.408 9	$C_{62}H_{76}O_{35}$	tenuifolioside A	寡糖酯	1 161.352 5, 1 039.313 8, 731.224 5, 673.198 2, 339.086 3, 307.081 4
25	17.00	1 409.422 2	1 409.419 5	$C_{63}H_{78}O_{36}$	tenuifolioside N	寡糖酯	1 191.358 9, 1 069.340 0, 703.203 4, 337.090 5, 193.049 6
26	19.51	1 877.787 5	1 877.785 7	$C_{87}H_{130}O_{44}$	onjisaponin Sg	皂苷	1 733.734 5, 669.220 9, 425.304 3, 207.065 0
27	19.57	1 791.752 6	1 791.748 9	$C_{83}H_{124}O_{42}$	onjisaponin T	皂苷	669.223 4, 455.315 2, 425.303 7, 237.075 5
28	20.01	1 703.736 7	1 703.732 9	$C_{80}H_{120}O_{39}$	senegin IV	皂苷	1 601.706 3, 699.233 0, 455.314 9, 425.305 0, 177.054 4
29	20.24	1 847.772 7	1 847.775 1	$C_{86}H_{128}O_{43}$	onjisaponin L	皂苷	1 703.737 4, 1 587.690 2, 567.192 6, 425.305 5, 405.139 7, 177.054 7
30	20.51	1 631.719 2	1 631.711 7	$C_{77}H_{116}O_{37}$	onjisaponin O	皂苷	670.226 9, 567.193 7, 425.305 6, 237.076 3
31	20.72	1 893.790 1	1 893.780 6	$C_{87}H_{130}O_{45}$	onjisaponin X onjisaponin Ug	皂苷	1 749.722 6, 669.223 4, 537.182 9, 425.305 6, 237.075 6, 113.023 6
32	21.04	1 571.695 2	1 571.690 6	$C_{75}H_{112}O_{35}$	E-senegin III/ onjisaponin B	皂苷	613.197 0, 567.192 5, 425.305 5, 177.054 8
33	21.76	1 685.731 0	1 685.722 3	$C_{80}H_{118}O_{38}$	onjisaponin Ng	皂苷	1 541.662 7, 1 317.632 2, 537.181 2, 455.315 5, 425.304 7, 405.139 3
34	21.86	1 817.774 5	1 817.764 6	$C_{85}H_{126}O_{42}$	onjisaponin J	皂苷	1 673.694 6, 1 542.684 2, 456.317 9, 455.314 9, 425.304 6, 405.138 7
35	22.14	1 791.757 9	1 791.748 9	$C_{83}H_{124}O_{42}$	onjisaponin T	皂苷	1 485.658 8, 669.223 0, 455.316 4, 425.306 2, 237.076 2
36	22.23	1 587.694 1	1 587.685 5	$C_{75}H_{112}O_{36}$	onjisaponin F/ polygalasaponin XXXI	皂苷	1 455.648 4, 669.224 7, 455.317 1, 425.306 4, 237.076 6
37	22.43	1 731.736 6	1 731.727 8	$C_{81}H_{120}O_{40}$	onjisaponin Fg/ onjisaponin W	皂苷	1 587.692 6, 1 425.6395, 537.182 6, 455.317 2, 425.306 4, 237.076 7

4 讨论

本研究建立了综合评价远志药材质量方法,在同一色谱条件下,完成了运用一张 UPLC 色谱图同时对远志药材的 6 种成分测定和指纹图谱分析。在 26 min 内即可完成分离和测定,极大地缩短了分析时间,对于样品的高通量分析具有显著优势。

本研究在分析条件筛选研究中对提取条件(提取方式、溶剂及比例、时间等)及色谱条件(色谱柱、流动相、梯度洗脱程序等)均进行了优化,利用质谱信息验证了各峰纯度,最终建立的分析方法可见峰数量明显增加,改善峰形和拖尾,分离度好,信息丰富且简单易行。本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS^E 对指纹图谱共有峰进行归属,通过对离子模式、脱溶剂气温度、离子源温度及毛细管电压等质谱条件进行筛选,确定了准分子离子峰及碎片离子峰响应值均较高的条件,在该条件下,研究 8 个对照品及样品多级质谱信息,鉴定了 37 个共有峰中的 33 个峰,包括 18 个糖酯类成分,12 个皂苷类成分以及 3 个双苯吡酮类成分,表明该分析条件从整体上可以涵盖远志具有活性的 3 大类成分,具有代表性。

远志产地较多,但目前市场上流通的远志大货多产于山西陕西一带,故本研究收集了产量较高的山西、陕西、河北、内蒙等地产远志药材,本实验所用 24 批药材均扩增其 *psbA-trnH* 序列,鉴定为远志 *Polygala tenuifolia* Willd.^[17-18],样品种属来源可靠,保证了本实验建立的分析模式的准确性及样本测定结果的可靠性。在多样本量的基础上,远志药材的 6 种成分量通过 SPSS 主成分分析,结果发现在不同产地的药材中有差异,其中 3,6'-disinapoyl sucrose 与 sibiricose A₆ 较为明显。24 批样品的 UPLC 指纹图谱,除 7、12、17、20 号以外,相似度均在 0.9 以上,说明从指纹图谱角度看,不同产地的远志药材质量有差异也有共性。综合定量与指纹图谱相似度数据,利用 SPSS 对不同产地样品进行聚类分析,结果显示有差异也有重叠现象,说明产地在远志药材质量方面有影响但可能不是主因素,可能与药材生长年限,采收季节等相关性较大,今后可以在本研究建立的分析条件下对远志药材质量影响因素进行进一步探讨。

远志药材的化学成分复杂,因对照品等因素限制,对 6 种成分进行了测定。但是仅以几种成分来控制药材质量较为片面,远志药材中其他成

分同样有可能对药材质量产生不同程度的影响。因此本实验采用指纹图谱进一步对远志质量进行表征和研究。

UPLC “指纹图谱+多成分定量”评价方法综合多方面信息,系统探讨远志药材质量的差异,可在一定程度上表征药材在化学成分方面的差别,综合二者的信息,可以为远志的产地选择、质量快速评价及临床应用提供参考。在此基础上,如果将药效、毒性与物质基础等结合起来,深入开展谱效学研究,则更有利于阐明中药作用机制,完善远志的质量评价体系,为用药提供科学的依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 姜秋,李慧芬,梁晓,等. HPLC 同时测定不同产地远志饮片中 6 种寡糖酯类成分 [J]. 中成药, 2015, 37(2): 360-364.
- [3] 姜勇,张娜,崔振等. 远志药材的 HPLC 指纹图谱 [J]. 药学学报, 2006, 45(2): 179-183.
- [4] Miyase T, Noguchi H, Chen X M. Sucrose esters and xanthone C-glycosides from the roots of *Polygala sibirica* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(7): 993-996.
- [5] Kobayashi W, Miyase T, Suzuki S, et al. Oligosaccharide esters from the roots of *Polygala arillata* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(8): 1066-1069.
- [6] Jiang Y, Zhang W, Tu P, et al. Xanthone glycosides from *Polygala tenuifolia* and their conformational analyses [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(6): 875-879.
- [7] Lkeya Y, Sugama K, Okada M, et al. Four new phenolicglycosides from *Polygala tenuifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(10): 2600-2605.
- [8] Miyase T, Ueno A. Surose derivative from *Polygala tenuifolia* [J]. *Jpn J Pharm*, 1993, 47(3): 267-278.
- [9] Ling Y, Li Z, Chen M, et al. Analysis and detection of the chemical constituents of *Radix Polygalae* and their metabolites in rats after oral administration by ultra high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 85: 1-13.
- [10] Iwata Y, Ueno A. Tenuifolioses G-P, oligosaccharide multi-esters from the roots of *Polygala tenuifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(10): 2741-2748.
- [11] Miyase T, Iwata Y, Ueno A. Tenuifolioses A-F, oligosaccharide multi-esters from the roots of *Polygala tenuifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(11): 3082-3084.
- [12] Liu J, Yang X, He J, 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.
- [13] Sakuma S, Shoji J. Studies on the constituents of the root of *Polygala tenuifolia* Willdenow. I. Isolation of saponins and the structures of onjisaponins G and F [J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, 29(9): 2431-2441.
- [14] Zhang D, Miyase T, Kuroyanagi M, *et al.* Five new triterpene saponins, polygalasaponins XXVIII-XXXII from the root of *Polygala japonica* Houtt [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44(4): 810-815.
- [15] Li C, Yang J, Yu S, *et al.* Triterpenoid saponins with neuroprotective effects from the roots of *Polygala tenuifolia* [J]. *Planta Med*, 2008, 74(2): 133-141.
- [16] Sakuma S, Shoji J. Studies on the constituents of the root of *Polygala tenuifolia* Willdenow. II. On the structures of onjisaponins A, B and E [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30(3): 810-821.
- [17] 樊杰, 白妍, 束明月. 远志属 7 种药用植物 ITS1 和 ITS2 序列分析 [J]. *中草药*, 2015, 46(4): 562-565.
- [18] 马孝熙, 任伟超, 孙伟, 等. 远志药材及其混伪品的 DNA 条形码鉴定 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2014, 16(8): 1719-1724.