

基于含量测定和指纹图谱的远志药效物质累积规律研究

李建丽¹,李 慧¹,李慧峰¹,
程艳刚¹,王佳敏¹,田洪岭²,王颖莉^{1*}

¹山西中医药大学中药与食品工程学院,晋中 030619;²山西省农业科学院经济作物研究所,汾阳 032200

摘要:收集不同产地、不同生长年份的远志 12 批,对其水分、醇浸出物含量进行测定;基于 HPLC 测定远志吡咯酮Ⅲ (polygalaxanthone Ⅲ, PX Ⅲ)、3,6'-二芥子酰基蔗糖(3,6'-disinapoylsucrose, DISS)和细叶远志皂苷(tenuifolin, TEN)含量并建立指纹图谱,研究其药效物质累积规律。结果表明:随着生长年份的增加,远志根长度和直径增加,直径增加趋势更加显著;不同产地远志水分含量有明显的区别,汾阳产远志药材水分含量约 4.0%,新绛产水分含量高于汾阳产约 8.2%,12 批药材水分检查均低于 12%;浸出物含量介于 38%~48%;PX Ⅲ 含量介于 0.11%~0.18%,DISS 的含量介于 0.50%~0.94%,TEN 的含量介于 1.37%~2.40%;PX Ⅲ、DISS 累积规律较为相似;TEN 在第二年和第四年的含量接近;新绛产药材指标成分总含量积累明显,在生长 3 年出现最大值;12 批样品指纹图谱相似度介于 0.823~0.962,共有 35 个共有峰,指出 2 个共有峰,汾阳产样品指纹图谱相似度与新绛产没有明显差异,春采相似度高于秋采。本研究结果为远志栽培种植、采收时间提供参考;三种有效成分的含量测定结合指纹图谱可为远志药材的质量控制和评价提供参考。

关键词:远志;远志吡咯酮Ⅲ;3,6'-二芥子酰基蔗糖;细叶远志皂苷;药效物质累积

中图分类号:R282.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)9-1472-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.9.003

Study on the accumulation law of effective substances of Polygalae Radix based on content determination and fingerprint

LI Jian-li¹, LI Hui¹, LI Hui-feng¹,
CHENG Yan-gang¹, WANG Jia-min¹, TIAN Hong-ling², WANG Ying-li^{1*}

¹College of Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China;

²The Industrial Crop Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Fenyang 032200, China

Abstract: To study the accumulation law of pharmacodynamic substances, 12 batches of Polygalae Radix from different producing areas and different growth years were collected, and the contents of water and extract were determined. The contents of polygalaxanthone Ⅲ (PX Ⅲ), 3,6'-disinapoylsucrose (DISS), and tenuifolin (TEN) were determined by HPLC, and the fingerprint was established. The results showed that the root length and diameter of Polygalae Radix increased with the increase of the growth year, and the increasing trend of diameter was more significant. There are obvious differences in the water content of Polygalae Radix from different producing areas. The water content of Polygalae Radix from Fenyang is about 4.0%, that of Xinjiang is about 8.2%, which is higher than that from Fenyang, and that of 12 batches of Polygalae Radix is less than 12%. The content of extract is between 38%~48%. The content of PX Ⅲ was 0.11%~0.18%, and the content of DISS was 0.50%~0.94%, The content of TEN ranged from 1.37%~2.40%. The accumulation law of PX Ⅲ and DISS was similar. The content of TEN in the second and fourth years was close; The total content of index components of Polygalae Radix produced in Xinjiang accumulated significantly, and the maximum value appeared in 3 years of growth. The fingerprint similarity of 12 batches of samples ranged from 0.823~0.962, with a total of 35 common peaks, and 2 of them were identified.

收稿日期:2022-01-24 接受日期:2022-06-15

基金项目:中央扶持地方项目(YDZX20201400001518);山西省回国留学人员科研资助项目(2021-143);山西省基础研究计划(自由探索类)面上项目(20210302124294)

* 通信作者 E-mail:wyl@sxtcm.edu.cn

There was no significant difference between the fingerprint similarity of Fenyang and Xinjiang, and the similarity of spring harvest was higher than that of the autumn harvest. In brief, the results of this study provide a reference for the cultivation and harvest time of *Polygala tenuifolia*. The content determination of three active components combined with fingerprint could provide a reference for the quality control and evaluation of Polygalae Radix.

Key words: Polygalae Radix; polygalaxanthone III; 3,6'-disinapoylsucrose; tenuifolin; accumulation of active substances

远志 *Polygalae Radix* 为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 或卵叶远志 *Polygala sibirica* L. 的干燥根,于春、秋二季采挖^[1]。远志的主要药效成分为三萜皂苷类、寡糖酯类、吡啶类^[2],另外也含有生物碱、苯丙素、有机酸等成分。远志吡啶类物质有抗氧化^[3]、抗菌^[4]功效;3,6'-二芥子酰基蔗糖有抗凝血作用^[5];远志皂苷具有神经保护功效^[6,7],对治疗阿尔茨海默病有一定作用^[8]。2020版《中华人民共和国药典》规定,远志药材及其饮片中含远志吡啶 III (polygalaxanthone III, PX III) 不得少于 0.15%,3,6'-二芥子酰基蔗糖 (3,6'-disinapoylsucrose, DISS) 不得少于 0.5%,细叶远志皂苷 (tenuifolin, TEN) 不得少于 2.0%。现有研究对药材的评价以所含化学成分的含量为指标,对不同产地、基源、栽培或野生、不同入药部位及生长年限等因素的区分研究较少,不能整体地评价药材的价值与药效,不能全面地评价远志不同种质资源、不同种植地区、不同种植采收时间的药材优劣。

药效物质累积规律与药材生长年份、采收时间有密切关系,二者对药材本身的质量、疗效有直接的影响,所以选择合适的采收时间是保证药材有效性的关键所在,对药材药效物质累积规律的研究可为其种植采收提供参考依据,可以保证药效物质的含量,进而保证药效。远志的生长种植年份,多以3年生为主^[9],一般在种植满两年后的10月或第二年3、4月采收^[10,11]。《中华人民共和国药典》规定远志在春、秋二季采挖,虽对采收期进行规定,但无生长年限要求。远志野生资源匮乏,是国家三级野生保护植物,当前流通多为远志栽培品。山西是远志

的道地产区,市面所售 80% 远志产自山西。栽培资源主要集中于山西新绛、闻喜、洪洞等地^[12]。

本研究利用定量和指纹图谱法对远志进行综合考察,探讨远志不同产地、生长年份、采收时间与其药材的长度、直径、含水量、浸出物及含量测定等多方面累积规律的关系,以期对远志药材选种、种植、采收提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪、Waters 2998 PDA 检测器(沃特世科技有限公司);Alltech ELSD 2000ES 检测器;Waters XSelect CSH C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);SMART-NE 纯水仪(力康生物医疗科技控股有限公司);KQ5200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);RE-5298 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 材料

从山西汾阳、新绛采集了 12 批不同远志药材(采收时间分别为 2021 年春 4 月、秋 10 月),经山西中医药大学裴香萍教授鉴定为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Wild.。原植物标本保存于山西中医药大学山西省现代中药工程实验室,其详细信息见表 1;PX III 对照品(批号:P27A11S122507,纯度 ≥ 98%;上海源叶生物科技有限公司);DISS 对照品(批号:YZM2-XPU0;含量 96.6%;中国食品药品检定研究院);TEN 对照品(批号:R23N8F49013;纯度 ≥ 98%;上海源叶生物科技有限公司);色谱级甲醇、乙腈(瑞典 Oceanpak 公司)。无水乙醇、正丁醇、甲醇、氢氧化钠等试剂均为分析纯。

表 1 远志信息表($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Information of Polygalae Radix($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号 No.	种植时间 Planting time	采集时间 Acquisition time	长度 Length (cm)	直径 Diameter (cm)	产地 Origin
S-1-1	2019	2021 年春 4 月	25.03 ± 7.63	2.69 ± 0.21	汾阳
S-1-2	2018	2021 年春 4 月	27.30 ± 3.64	4.88 ± 0.54	汾阳
S-1-3	2017	2021 年春 4 月	31.65 ± 0.97	6.25 ± 0.43	汾阳
S-1-4	2019	2021 年秋 10 月	23.30 ± 0.93	2.43 ± 0.42	汾阳

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	种植时间 Planting time	采集时间 Acquisition time	长度 Length (cm)	直径 Diameter (cm)	产地 Origin
S-1-5	2018	2021 年秋 10 月	26.53 ± 1.07	4.40 ± 0.54	汾阳
S-1-6	2017	2021 年秋 10 月	30.10 ± 1.12	5.83 ± 0.85	汾阳
S-2-1	2019	2021 年春 4 月	24.03 ± 1.84	3.83 ± 0.24	新绛
S-2-2	2018	2021 年春 4 月	26.63 ± 0.87	4.67 ± 0.24	新绛
S-2-3	2017	2021 年春 4 月	24.57 ± 1.32	4.50 ± 0.41	新绛
S-2-4	2019	2021 年秋 10 月	21.30 ± 0.54	2.37 ± 0.25	新绛
S-2-5	2018	2021 年秋 10 月	22.23 ± 0.33	3.33 ± 0.19	新绛
S-2-6	2017	2021 年秋 10 月	23.67 ± 0.33	3.67 ± 0.47	新绛

2 方法与结果

2.1 检查

2.1.1 水分检查

远志采收后,除去附着泥沙,平铺于地面,室温通风阴干,2 天后再次除去干燥泥沙,抽取木芯,继续通风阴干远志筒,至药材干燥易折断,收集得到待测远志药材。秋采与春采干燥方法和时间相同。按照 2020 版《中华人民共和国药典》的通则 0832 热烘法进行水分测定,计算药材中含水量(%),数据记录见表 2。

12 批药材含水量均小于 12%,符合要求。新绛产 6 批药材含水量均高于汾阳,各相同生长年份的汾阳产与新绛产药材水分含量差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);两地产春采与秋采药材水分含量差异不明显。

2.1.2 浸出物检查

按照 2020 版《中华人民共和国药典》的通则 2201 项下的热浸法,用 70% 乙醇作溶剂,计算浸出物的含量(%),数据记录见表 2。

表 2 远志药材含水量、浸出物含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 Results of water, extract content of Polygalae Radix ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号 No.	含水量 Water content (%)	浸出物含量 Extract content (%)
S-1-1	4.06 ± 0.14	38.51 ± 1.17
S-1-2	3.80 ± 0.15	41.12 ± 0.41
S-1-3	4.09 ± 0.06	46.45 ± 0.17
S-1-4	3.91 ± 0.14	42.38 ± 1.19
S-1-5	4.03 ± 0.03	42.40 ± 0.22
S-1-6	4.36 ± 0.04	39.85 ± 0.73
S-2-1	8.30 ± 0.13	48.13 ± 0.40
S-2-2	8.02 ± 0.11	47.59 ± 0.34
S-2-3	8.14 ± 0.12	46.21 ± 0.23
S-2-4	8.16 ± 0.24	42.46 ± 0.35
S-2-5	8.42 ± 0.47	42.13 ± 1.04
S-2-6	8.20 ± 0.11	45.02 ± 1.06

12 批远志浸出物含量均大于 2020 版《中华人民共和国药典》规定的 30%。由图 1 可知,汾阳产春采药材浸出物含量随着生长年份的增加而升高,趋势明显,新绛产春采药材浸出物含量随着生长年份的增加而降低,与汾阳产趋势相反。两地秋采药材浸出物含量与生长年份均不具有明显的增加或减

少趋势。两地各生长年份、采收季节相同的药材相比,新绛产浸出物含量较高。新绛秋采药材浸出物含量低于春采。

2.2 远志指标性成分的含量测定

2.2.1 溶液的制备

取 PX III、DISS 对照品适量,精密称定,加甲醇

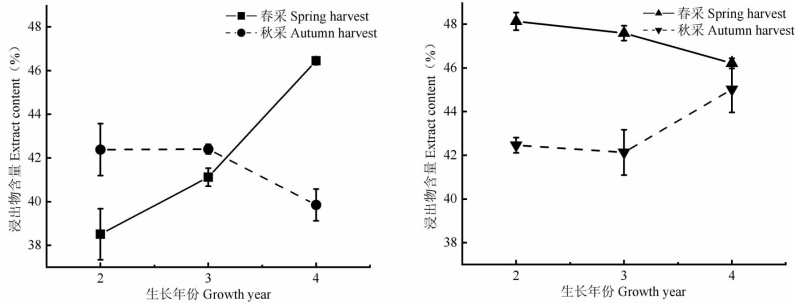


图1 远志药材浸出物含量变化

Fig. 1 Changes of extract content of Polygalae Radix

注:左图为汾阳产;右图为新疆产。Note: Left: Fenyang production; Right: Xinjiang production.

制成每1 mL含PX III 0.15 mg、DISS 0.2 mg的混合对照品溶液;取TEN对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含TEN 1 mg的溶液,得对照品溶液。

PX III、DISS和TEN供试品溶液均严格按照2020版《中华人民共和国药典》含量测定项下各方法步骤制备。

2.2.2 色谱条件

PX III、DISS含量测定的色谱条件:Waters XSelect CSH C18色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~19 min,15% A;19~19.5 min,15%→18% A;19~60 min,18% A);柱温30℃;检测波长320 nm;进样体积10 μL;体积流量1.0 mL/min。对照品、样品色谱图见图2。

TEN含量测定的色谱条件:Waters XSelect CSH C18色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈(A)-0.2%甲酸水溶液(B),等度洗脱(0~20 min,38% A);柱温30℃;进样体积10 μL;体积流量

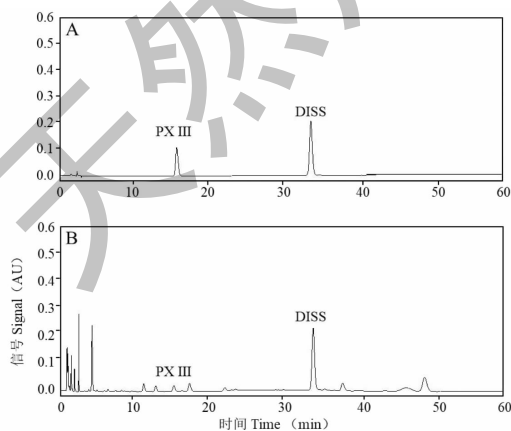


图2 PX III、DISS对照品(A)及样品(B)色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of PX III, DISS reference substances (A) and sample (B)

1.0 mL/min, ELSD 漂移管温度110℃;气体流速:2.1 L/min,对照品、样品色谱图见图3。

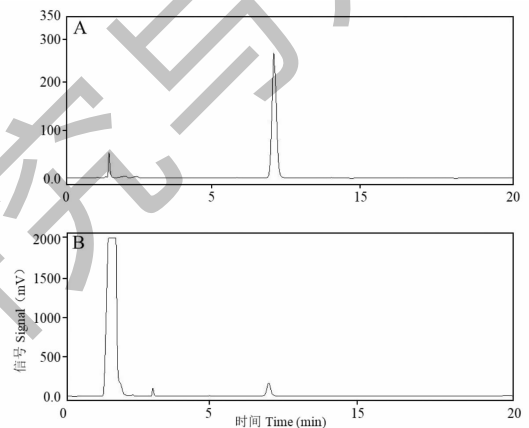


图3 TEN对照品(A)及供试品(B)色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of TEN reference substance (A) and sample (B)

2.2.3 方法学验证

线性关系考察:取“2.2.1”项下的对照品溶液的不同体积,按“2.2.2”项色谱条件测定,记录色谱峰峰面积,以峰面积Y为纵坐标,进样量X(μg)为横坐标,得到标准曲线。PX III、DISS、TEN标准曲线的线性方程分别为 $Y = 1\,577\,068.928 X - 370\,244.988$, $R^2 = 0.995$; $Y = 2\,506\,214.075 X - 749\,554.703$, $R^2 = 0.994$; $Y = 339\,807.092 X + 63\,135.823$, $R^2 = 0.999$ 。表明PX III、DISS、TEN进样量分别在0.72~2.70、0.96~3.60、4.86~24.30 μg内有良好的线性。

精密性、稳定性、重复性实验取“2.2.1”项下溶液,按“2.2.2”项色谱条件测定,精密性以对照品溶液重复进样6次;重复性以S-1-3制备6份供试品溶液分别进样,稳定性以S-1-1供试品溶液考察24 h

内稳定性。考察结果表明仪器精密度高;重复性实验显示,PX III、DISS 和 TEN 平均含量分别为 1.10、8.48 和 24.60 mg/g,三者含量的 RSD 分别为和

0.84%、0.85% 和 2.56%,重复性好;样品 24 h 内稳定。其保留时间和峰面积 RSD 结果见表 3。

表 3 精密度、重复性、稳定性实验结果 ($n=6$)

Table 3 Experimental results of precision, repeatability and stability ($n=6$)

项目 Project	样品 Sample	保留时间 RSD RSD of retention time			峰面积 RSD RSD of peak area		
		PX III	DISS	TEN	PX III	DISS	TEN
精密度 Precision	对照品溶液	0.38%	0.22%	0.06%	0.59%	0.38%	2.21%
重复性 Repeatability	S-1-3	0.46%	0.66%	0.35%	1.79%	0.93%	2.51%
稳定性 Stability	S-1-1	0.58%	0.39%	0.41%	2.39%	3.00%	2.81%

加样回收率:精密称取已知 PX III、DISS 含量的 S-1-2 样品干燥粉末约 1 g,共 6 份,精密加入 PX III、DISS 浓度分别为 0.120 5、0.112 7 mg/mL 的混合对照品溶液 1 mL,按“2.2.1”项下方法平行制备供试品溶液,分别进样,测定峰面积,计算 PX III、DISS 平均回收率分别为 99.13%、99.71%,RSD 分别为

1.50%、1.58%。精密称取已知 TEN 含量的 S-1-2 干燥粉末约 1 g,共 6 份,精密加入浓度为 1.030 5 mg/mL 的 TEN 对照品溶液 1 mL,按“2.2.1”项下方法平行制备供试品溶液,分别进样,测定峰面积,计算 TEN 的平均回收率为 99.86%,RSD 为 1.46%,表明方法准确度良好,结果见表 4。

表 4 加样回收率结果

Table 4 Results of recovery test

成分 Component	原有量 Original amount (mg)	加入量 Added amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收率 Recovery	平均回收率 Average recovery	RSD
远志呋喃 III Polygalaxanthone III	1.435 6	0.120 5	1.554 0	98.27%	99.13%	1.50%
	1.582 6	0.120 5	1.699 9	97.37%		
	1.465 5	0.120 5	1.587 6	101.31%		
	1.475 0	0.120 5	1.595 1	99.65%		
	1.397 6	0.120 5	1.515 7	98.03%		
3,6'-二芥子酰基蔗糖 3,6'-Disinapoylsucrose	1.403 5	0.120 5	1.524 2	100.13%	99.71%	1.58%
	8.408 3	0.112 7	8.518 4	97.67%		
	9.269 3	0.112 7	9.381 3	95.39%		
	8.583 8	0.112 7	8.698 5	101.77%		
	8.639 5	0.112 7	8.750 9	98.83%		
	8.186 1	0.112 7	8.297 9	99.21%		
细叶远志皂苷 Tenuifolin	8.220 5	0.112 7	8.334 8	101.41%	99.86%	1.46%
	20.744 9	1.030 5	20.724 0	97.98%		
	18.892 9	1.030 5	18.895 4	100.25%		
	17.952 5	1.030 5	17.959 8	100.71%		
	18.340 5	1.030 5	18.326 0	98.59%		
19.721 4	1.030 5	19.741 8	101.98%			
19.446 9	1.030 5	19.443 3	99.65%			

2.2.4 样品含量测定

取 12 批药材,各平行取 3 份,按照“2.2.1”项

制备供试品溶液,按照“2.2.2”项色谱条件进样,测定峰面积,分别计算 PX III、DISS、TEN 在样品中的

含量,结果见表5。

表5 远志三种指标性成分的含量测定 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 5 Determination of three compounds in Polygalae Radix ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号 No.	含量 Content (%)		
	远志呋酮 III Polygalaxanthone III	3,6'-二芥子酰基蔗糖 3,6'-Disinapoylsucrose	细叶远志皂苷 Tenuifolin
S-1-1	0.127 9 ± 0.002 4	0.629 4 ± 0.008 5	2.005 8 ± 0.138 8
S-1-2	0.139 7 ± 0.000 8	0.819 9 ± 0.011 4	1.694 4 ± 0.066 6
S-1-3	0.109 3 ± 0.000 4	0.797 0 ± 0.005 4	1.993 9 ± 0.416 4
S-1-4	0.179 6 ± 0.001 1	0.528 5 ± 0.002 5	1.844 6 ± 0.070 7
S-1-5	0.178 8 ± 0.001 5	0.656 9 ± 0.004 8	1.394 7 ± 0.064 0
S-1-6	0.112 3 ± 0.001 1	0.500 7 ± 0.010 4	1.525 1 ± 0.165 6
S-2-1	0.117 5 ± 0.000 6	0.784 7 ± 0.015 2	1.763 2 ± 0.311 4
S-2-2	0.144 2 ± 0.002 8	0.935 2 ± 0.005 9	2.404 2 ± 0.214 2
S-2-3	0.111 7 ± 0.000 8	0.876 0 ± 0.011 5	1.821 6 ± 0.087 6
S-2-4	0.139 3 ± 0.001 7	0.500 2 ± 0.004 0	1.586 1 ± 0.051 2
S-2-5	0.125 2 ± 0.001 9	0.545 2 ± 0.003 3	2.430 2 ± 0.071 7
S-2-6	0.133 0 ± 0.001 5	0.667 2 ± 0.010 0	1.375 7 ± 0.025 4

结果表明,12批药材中 DISS 含量均大于《中华人民共和国药典》规定的 0.5%。汾阳产春采 DISS 含量高于秋采,但不具有统计学意义,在种植 3 年后含量累积达到最大。新绛产春采 DISS 含量高于秋采,春采药材与汾阳产有类似的累积规律,在 3 年后达到最大累积含量;秋采中 DISS 随着生长年限的增加,含量逐渐增加。

汾阳、新绛产 PX III 含量与生长年份的关系不太明显,两地相同生长年份秋采 PX III 含量较高,且均在种植 3 年后到峰值;与 DISS 累积规律类似。

汾阳产 TEN 生长 2 年达到含量最大值,3 年达到最低值,且春采 TEN 含量高于秋采。新绛产在生

长 3 年含量达到最高值,规律同汾阳一致春采高于秋采;TEN2 年生含量高于 4 年生。

综上,两地春采样品 PX III、DISS 有类似的累积规律,均在生长 3 年出现累积最大值,与传统的种植采收时间相符。TEN 春采含量较高,且 2 年生高于 4 年生。

以上三种指标性成分的含量相加得到总含量并对其进行分析,发现汾阳产远志相同生长年份春采总含量高于秋采,秋采药材随着生长年份的增加总含量逐年减少。不同采收时间的新绛产远志均在生长第三年达到总含量的最大值,有相同的累积规律,且相同生长年份春采总含量高于秋采(见图 4)。

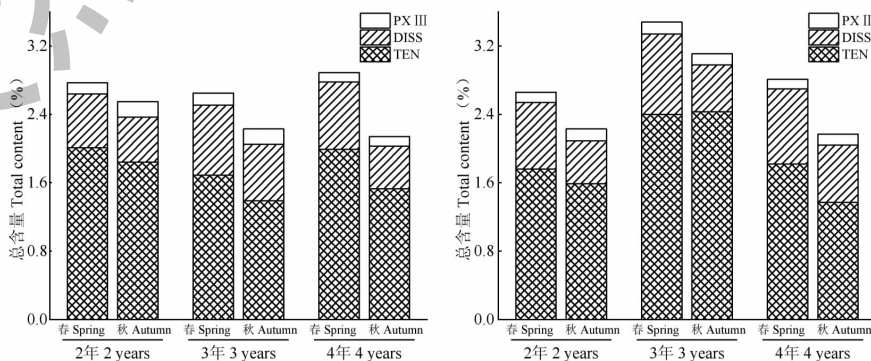


图4 远志药材三种成分总含量

Fig. 4 Total content of three components of Polygalae Radix

注:左图为汾阳产;右图为新绛产。Note: Left: Fenyang production; Right: Xinjiang production.

2.3 远志药材指纹图谱的建立

2.3.1 溶液的制备

取 0.5 g 药材,精密称定,加 20 mL 70% 甲醇摇匀,室温超声提取 30 min(200 W,40 kHz),用 70% 甲醇补足失重。过滤,即得供试品溶液。

精密称取 PX III、DISS 对照品适量,制成 0.1 mg/mL 的单独对照品溶液和 0.1 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.2 色谱条件

Waters XSelect CSH C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈(A)-0.05% 磷酸水(B),梯度洗脱系统(0~10 min,10%→20% A;10~15

min,20%→21% A;15~20 min,21%→23% A;20~30 min,23%→26% A;30~40 min,26%→38% A;40~50 min,38%→40% A;50~70 min,40%→42% A;70~73 min,42%→10% A),体积流量 1.0 mL/min;检测波长 316 nm;柱温 30 ℃;进样体积 10 μL。

2.3.3 色谱峰的指认与方法学考察

将对照品溶液按“2.3.2”项下色谱条件进样,记录色谱图与结果,经对照品指认,最终确认共有峰 5 为 PX III,峰 8 为 DISS。峰 5、8 均在 12 批样品中出现并完全分离。对照品色谱图见图 5。

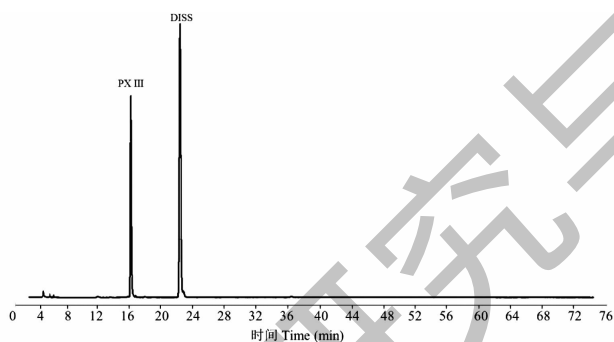


图 5 PX III、DISS 指纹图谱

Fig. 5 HPLC fingerprint of PX III and DISS

稳定性试验:取 S-2-1 供试品溶液,与“2.2.3”项方法相同,按“2.3.2”项下色谱条件检测指纹图谱,获得峰 5 PX III 和峰 8 DISS 的保留时间 RSD 分别为 0.48%、0.62%,峰面积 RSD 分别为 1.34%、1.03%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验:取 S-2-1 药材,与“2.2.3”项方法相同,按照“2.3.1”制备供试品溶液,按“2.3.2”项下色谱条件检测指纹图谱,获得峰 5 PX III 和峰 8 DISS 的保留时间 RSD 分别为 0.68%、1.06%,峰面

积 RSD 分别为 2.34%、2.63%,重复性好。

2.3.4 指纹图谱的建立与结果分析

取汾阳、新绛产共 12 批远志供试品溶液,以“2.3.2”色谱条件分析记录色谱图与结果,将色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012)”,以中位数法生成远志共有图谱,并作为参照图谱,采用多点校正、全峰匹配建立 12 批样品指纹图谱,样品指纹图谱见图 6,系统生成的对照指纹图谱见图 7。

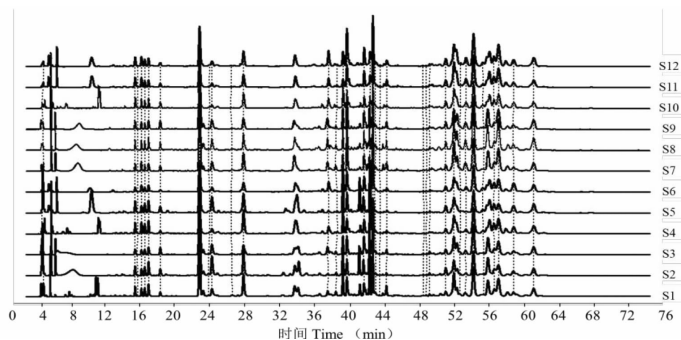


图 6 12 批样品 HPLC 指纹图谱

Fig. 6 HPLC fingerprint of 12 batches of samples

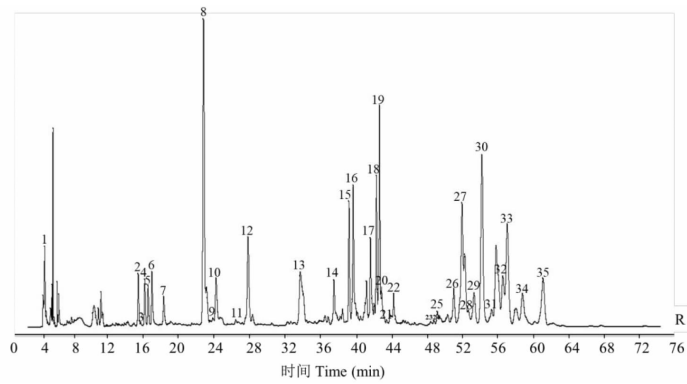


图7 12批样品 HPLC 共有峰

Fig. 7 Common peaks of 12 batches of samples

样品指纹图谱相似度评价:远志 12 批样品共有 35 个共有峰,相似度介于 0.823 ~ 0.962 之间,见表 6。两地产远志药材相似度高,其化学成分种类相似,在含量上略有差异。12 批样品相同生长年份春

采相似度高于秋采,汾阳产生 3 年样品春采和秋采的相似度均为最低。汾阳产和新绛产样品相似度没有统计学差异,同一基源、不同产地、不同生长年份样品指纹图谱相似度高。

表 6 12 批样品指纹图谱相似度评价

Table 6 Similarity evaluation of fingerprints of 12 batches of samples

编号 No.	S-1-1	S-1-2	S-1-3	S-1-4	S-1-5	S-1-6	S-2-1	S-2-2	S-2-3	S-2-4	S-2-5	S-2-6	参照 Reference	对照 Control
S-1-1	1.000													
S-1-2	0.846	1.000												
S-1-3	0.935	0.873	1.000											
S-1-4	0.859	0.764	0.802	1.000										
S-1-5	0.771	0.756	0.752	0.765	1.000									
S-1-6	0.864	0.768	0.842	0.949	0.779	1.000								
S-2-1	0.913	0.778	0.923	0.790	0.681	0.826	1.000							
S-2-2	0.936	0.807	0.949	0.818	0.707	0.855	0.949	1.000						
S-2-3	0.927	0.832	0.974	0.796	0.705	0.842	0.971	0.961	1.000					
S-2-4	0.849	0.725	0.800	0.970	0.745	0.943	0.803	0.830	0.801	1.000				
S-2-5	0.791	0.653	0.764	0.910	0.747	0.925	0.790	0.808	0.775	0.927	1.000			
S-2-6	0.855	0.727	0.844	0.919	0.766	0.955	0.855	0.881	0.860	0.932	0.965	1.000		
参照 Reference	1.000	0.846	0.935	0.859	0.771	0.864	0.913	0.936	0.927	0.849	0.791	0.855	1.000	
对照 Control	0.962	0.867	0.954	0.920	0.823	0.940	0.938	0.957	0.953	0.918	0.892	0.943	0.962	1.000

3 讨论与结论

药用植物中有效成分的含量及累积规律会受到基源、种植、采收及环境等多种因素的影响,药材生长时间的延长除对药材性状如长度、直径等造成直观影响外,对有效成分的含量影响很大,进而会影响其药效。中药材的最佳采收期应是包含采收时间和采收年限的双重概念,在其有效成分含量高、外观性状佳的时期进行采收,才能得到优质的药材,从而达

到更好药效。本研究除对药材性状进行测量外,利用热浸法、HPLC,从浸出物、PX III、DISS 和 TEN 的含量及指纹图谱相似度等多方面对 12 批同一基源、不同年份、产地和采收时间的远志药材进行药效物质累积规律的研究。

12 批药材醇浸出物含量均大于 30%, DISS 含量均大于 0.50%; 以 PX III 为指标, 仅有 S-1-4、S-1-5 的含量达到 0.15%; 以 TEN 为指标, 仅 S-1-1、S-2-2、

S-2-5 有的含量达到 2.0%。文献表明, HPLC 测定远志药材中 PX III 的合格率在 50% ~ 80% 左右^[13]; TEN 含量范围为 1.4% ~ 4.4%^[14-16], 与本研究的结果相近。含量测定变化区间大的原因可能有 PX III 存在两种分子构型^[17] 和 ELSD 检测器灵敏度低等。远志药材中所含化学成分的多样, 故以此三种化学成分的含量为指标评价远志质量的合理性与准确性仍需考量。

本研究发现新绛产远志含水量、浸出物含量和三种指标性成分总含量均高于汾阳产; 两地春采药材浸出物、成分总含量均高于秋采。山西为远志的道地产区, 产区多分布于山西南部, 相较于汾阳, 新绛地理位置偏南, 本研究表明新绛更适合远志的种植与栽培。两地远志浸出物、总成分含量与采收季节有关, 均表现为春季含量较高, 本研究认为相同生长年份, 春季采收的远志更为合适。

药材的药效物质累积规律与其品种、产地和采收时间有密切的关系, 药材采收时间的确定也要考虑到品种、产地及其不同药用部位的影响, 且因治疗目的的不同可能导致不同的生长期和采收时间。可进一步探究是否能够根据治疗疾病的药效物质基础的不同, 灵活、合理、选择性地安排其采收时间。因本研究远志样品批次选取的限制性、不同批次内样本数量的有限性、所选取测定成分的合理性, 本实验研究结果是否具有代表性、全面性还需进一步研究。另外, 在全国范围内的其他远志种植区、不同基源远志是否具有相同的累积规律也需要深入研究, 为远志的种植采收提供更有利可信的参考。

参考文献

- Chinese Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2020.
- Zhang TZ, Rong WW, Li Q, et al. Research progress of *Polygala tenuifolia* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 2381-2389.
- Tan DC, Xiao KM, Kong DX, et al. Study on the bioactivity of ketones in southwest *Polygala tenuifolia* [J]. J Southwest For Univ: Nat Sci (西南林业大学学报: 自科版), 2021, 41: 166-171.
- Zhou LY, Yu XH, Geng YY, et al. Study on the chemical constituents and bioactivity of ketones in *Polygala tenuifolia* [J]. Chem Ind For Prod (林产化学与工业), 2017, 37(2): 121-128.
- Li J, Zhang X, Chen TY, et al. Study on material basis of anticoagulant effect of *Polygala tenuifolia* [J]. J Tradit Chin Med (山西中医药大学学报), 2020, 21(4): 260-263.
- Yuan HL, Gong XL, Fan Z, et al. Effect and mechanism of *Polygala* saponins on lipopolysaccharide induced Parkinson's disease model rats [J]. J Cap Univ Med Sci (首都医科大学学报), 2020, 41: 914-922.
- Wang L, Jin GF, Yu HH, et al. Effects of tenuifolin against oxidative damage induced by $A\beta_{25-35}$ in SH-SY5Y cells and underlying mechanisms [J]. Nat Prod Res (天然产物研究与开发), 2019, 31: 1537-1542.
- Liu Y, Liu L, Guan HB. Effects of *Polygala* saponins on behavior and life span of tau transgenic *Drosophila* Alzheimer's disease model [J]. Jilin J Tradit Chin Med (吉林中医药), 2021, 41: 234-237.
- Wan DH, Liang ZS, Han RL. Standardized cultivation techniques and standards of *Polygala tenuifolia* [J]. Heilongjiang Agr Sci (黑龙江农业科学), 2020(10): 93-100.
- Gao JP, Liu CS, Qin XM, et al. Overview of research on genuine medicinal materials resources and their planting, origin processing and quality standards in Shanxi [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2018, 24(24): 1-6.
- Guo SH, Tian HL, Xu TY, et al. *Polygala* species: Jinyuan No. 1 [J]. China Seed Ind (中国种业), 2012(11): 79.
- Tian HL, Xu TY, Guo SH, et al. Current situation and analysis of *Polygala tenuifolia* resources in Shanxi Province [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2018, 24(24): 26-30.
- Wang DD, Yan Y, Zhang FS, et al. Establishment of UPLC fingerprint and multi index component determination method of *Polygala tenuifolia* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 1150-1159.
- Zhang L, Yang BY, Wang J, et al. Content determination and quality analysis of five main components in wild *Polygala tenuifolia* from different habitats [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2020, 51: 1609-1616.
- Liu L, Feng WH, Liu XQ, et al. Research progress on *Polygala Radix* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2021, 46: 5744-5759.
- Jiang YT, Gao Z, Le ZY, et al. Quality analysis of different grades of *Polygala tenuifolia* decoction pieces [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2019, 54: 1082-1087.
- Tsujimoto T, Nishihara M, Osumi Y, et al. Structural analysis of polygalaxanthones, C-glucosyl xanthones of *Polygala tenuifolia* roots [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2019, 67(11): 1242-1247.