

远志-石菖蒲药对配伍前后远志化学成分定性定量分析

吕广云^{1,2}, 王双双^{1,2}, 杭太俊^{1,2}, 宋 敏^{1,2*}(中国药科大学¹药物分析系;²药物质量与安全预警教育部重点实验室, 南京 210009)

摘 要 研究药对远志-石菖蒲配伍对远志药材化学成分的影响。采用 HPLC-Q-TOF-MS/MS 法对远志-石菖蒲配伍前后远志化学成分进行定性, 并用 HPLC-UV 法进行定量分析。采用 C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相梯度洗脱; 质谱使用电喷雾离子源, 在正离子模式下扫描; 通过对照品对照、质谱数据和对比文献对远志化学成分的特色谱峰进行归属, 并比较远志-石菖蒲配伍前后远志各化学成分的含量变化。从远志中鉴定出 8 个化学成分: 3,4,5-三甲氧基肉桂酸、对甲氧基肉桂酸、细叶远志皂苷、西伯利亚远志糖 A5、远志呋酮Ⅲ、细叶远志苷 B、3,6'-二芥子酰基蔗糖和细叶远志苷 A; 经石菖蒲配伍后, 远志的 8 个化学成分含量无明显变化。远志-石菖蒲配伍后的化学成分定性定量研究可为该药对的体内配伍作用探索提供方法依据。

关键词 HPLC-Q-TOF-MS/MS; HPLC-UV; 药对; 远志; 石菖蒲; 配伍; 化学成分

中图分类号 R917 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)03-0329-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160314

引用本文 吕广云, 王双双, 杭太俊, 等. 远志-石菖蒲药对配伍前后远志化学成分定性定量分析[J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(3): 329–336.

Cite this article as: LYU Guangyun, WANG Shuangshuang, HANG Taijun, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of components of Radix Polygalae in herbal pair of Radix Polygalae and Rhizoma Acori Tatarinowii[J]. *J China Pharm Univ*, 2016, 47(3): 329–336.

Qualitative and quantitative analysis of components of Radix Polygalae in herbal pair of Radix Polygalae and Rhizoma Acori Tatarinowii

LYU Guangyun^{1,2}, WANG Shuangshuang^{1,2}, HANG Taijun^{1,2}, SONG Min^{1,2*}

¹Department of Pharmaceutical Analysis; ²MOE Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract The purpose of this research was to explore the differences of the components of Radix Polygalae in herbal pair of Radix Polygalae and Rhizoma Acori Tatarinowii. An HPLC-Q-TOF-MS/MS method and an HPLC-UV method were established for the identification and determination of the components of Radix Polygalae, respectively. HPLC separation was carried out on a C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with linear gradient elution using a mobile phase consisting of acetonitrile and 0.1% formic acid aqueous solution. Mass spectrometry with ESI source was performed in the positive ion mode to scan MS data including total ion chromatograms and ion peaks of Radix Polygalae. Eight components including 3,4,5-trimethoxycinnamic acid, *p*-methoxycinnamic acid, tenuifolin, sibiricose A5, polygalaxanthone III, tenuifolioside B, 3,6'-disinapoly sucrose, and tenuifolioside A were identified according to the reference substance retention time, MS data and literatures. There was no significant variation found in the contents of eight chemical constituents of Radix Polygalae. The qualification and quantitation study of the components in herbal pair of Radix Polygalae and Rhizoma Acori Tatarinowii provide the methodological basis for compatibility mechanism exploration *in vivo*.

Key words HPLC-Q-TOF-MS/MS; HPLC-UV; herbal pair; Radix Polygalae; Rhizoma Acori Tatarinowii; compatibility; components

远志(*Radix Polygalae*)-石菖蒲(*Rhizoma Acori Tatarinowii*)是临床常用药对,多用于老年性痴呆症的防治。《圣济总录》中记载,远志通于肾、交于心,石菖蒲开窍、启闭、宁神,二药伍用,通心窍、交心肾,益肾、健脑、聪智,开窍、启闭、宁神之力增强^[1]。

远志化学成分复杂,主要包括皂苷类、呔酮类和糖酯类。远志中总皂苷为其益智、镇静、祛痰及抗痴呆的有效部位^[2-5],《中华人民共和国药典》(2015年版)^[6]和文献^[7]报道了以远志提取物碱水解产物细叶远志皂苷为指标性成分进行含量测定。近年来研究表明远志糖酯和呔酮类成分也具有很好的神经细胞保护以及抗抑郁等作用^[8-10]。

针对远志经石菖蒲配伍后的化学成分变化,仅有研究显示,远志配伍后经酸水解产生的远志皂苷元含量降低^[11],而远志-石菖蒲药对配伍前后,其化学成分的定性、定量对比研究未见报道。故本研究采用 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术定性和 HPLC-UV 法定量多指标相结合的综合分析方法,以细叶远志皂苷(*tenuifolin*)、远志呔酮(*polygalaxanthone III*)和 3,6'-二芥子酰基蔗糖(3,6'-*disinapoly sucrose*)分别作为远志皂苷类、呔酮和糖酯类的指标成分,并采用“替代对照品法”对远志中其他化学成分进行定量分析,为探讨远志-石菖蒲配伍前后的化学成分变化规律提供实验依据,为今后体内配伍作用研究奠定基础。

1 材 料

1.1 试剂和试药

对照品细叶远志皂苷(批号 111849-201504,纯度 95.6%)、远志呔酮 III(批号 111850-201504,纯度 95.5%)(中国食品药品检定研究院);对照品 3,6'-二芥子酰基蔗糖(批号 P05F6S1,纯度 ≥ 98%,上海源叶生物科技有限公司);药材远志(批号 151020,产地山西)、石菖蒲(批号 151029,产地湖北)均购自南京先声再康药店,经鉴定分别为远志(*Radix Polygalae*)和石菖蒲(*Rhizoma Acori Tatarinowii*),均粉碎后过 3 号筛,备用;乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司);其他试剂均为市售分析纯。实验用水为自制去离子水。

1.2 仪 器

1260 Infinity 液相色谱-6520 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS 质谱仪(美国安捷伦科技公司);LC-

2010C_{HT} 高效液相色谱仪(日本岛津公司);BS21S 电子天平(德国赛多利斯公司)。

2 方 法

2.1 样品处理

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称取远志粉末约 1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,称定重量,超声处理 1 h,放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液 I;精密量取续滤液 25 mL,置圆底烧瓶中,蒸干,残渣加 10% 氢氧化钠溶液 50 mL,加热回流水解 2 h,放冷,用盐酸调节 pH 4~5,用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,每次 50 mL,合并正丁醇液,回收溶剂至干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液 II。

按上述方法制备石菖蒲供试品溶液和远志-石菖蒲(1:1)供试品溶液^[11]。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取远志呔酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品适量,加甲醇制成每毫升含远志呔酮 III 0.03 mg 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖 0.1 mg 的混合溶液,即得对照品溶液 I;精密称取细叶远志皂苷对照品适量,加甲醇制成每毫升含细叶远志皂苷 1 mg 的溶液,即得对照品溶液 II。

2.2 色谱条件

2.2.1 色谱条件 1(分析供试品溶液 I 和对照品溶液 I) C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相 A:0.1% 甲酸水溶液,流动相 B:乙腈,线性梯度洗脱(A:B):0 min(95:5)→5 min(95:5)→20 min(72:28)→40 min(72:28)→45 min(60:40)→70 min(60:40)→75 min(40:60)→90 min(40:60)→91 min(95:5)→101 min(95:5)。流速:1 mL/min;检测波长:320 nm;柱温:30 °C;进样量:20 μL。

2.2.2 色谱条件 2(分析供试品溶液 II 和对照品溶液 II) C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相 A:0.1% 甲酸水溶液,流动相 B:乙腈,线性梯度洗脱(A:B):0 min(70:30)→5 min(70:30)→20 min(65:35)→25 min(20:80)→48 min(12:88)→49 min(70:30)→59 min(70:30)。流速:1 mL/min;检测波长:210 nm;柱温:30 °C;进样量:20 μL。

2.3 质谱条件

电喷雾正离子化检测模式,TOF/MS 测定喷雾

电压 4 kV,雾化氮气压力 275 kPa、流量 8 L/min、温度 350 ℃,碎片电压 100 V,参比离子 m/z 121.050 8 和 922.009 8,质量数扫描范围 m/z 100 ~2 500。MS/MS 测定碰撞能量 35 eV。

3 结 果

3.1 远志中化学成分的鉴定

按照“2.2”和“2.3”项下液相色谱-质谱联用分析条件对远志供试品溶液 I 和供试品溶液 II 进行分析,获得液相色谱图和一、二级质谱数据。通过对照品定位、质谱数据并结合文献参照对其化学成分进行鉴定,质谱总离子流图如图 1 所示。

3.1.1 根据对照品定位和质谱数据鉴定的化合物
远志供试品 I 中鉴定出指标成分远志呔酮Ⅲ和 3,6'-二芥子酰基蔗糖(图 1-A),供试品 II 中鉴定出指标成分细叶远志皂苷(图 1-B),各指标成分的色谱、质谱信息见表 1。

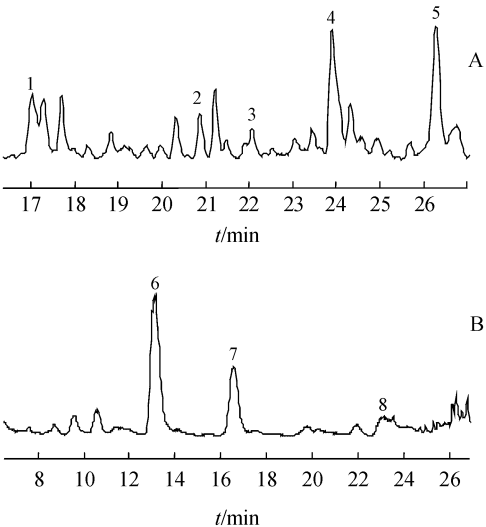


Figure 1 MS total ion chromatogram of test solution I (A) and test solution II (B) of Radix Ploygalae in the positive ion mode
1:Sibiricose A5;2:Polygalaxanthone Ⅲ;3:Tenuifolside B;4:3,6'-Disinapoly sucrose;5:Tenuifolside A;6:3,4,5-Trimethoxycinnamic acid;7:p-Methoxycinnamic acid;8:Tenuifolin

Table 1 Structures of target components in Radix Polygalae identified by HPLC-Q-TOF-MS/MS

No.	Molecular ion peak (m/z)	t_R /min	Component	Molecular formula	Fragments (m/z)
1 *	[M + Na] ⁺ 541.151 8	16.86	Sibiricose A5	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄	379,361,203,167
2	[M + H] ⁺ 569.149 3	20.71	Polygalaxanthone Ⅲ	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₅	401,383,365,353,341,327,317,299,287,275
3 *	[M + Na] ⁺ 691.189 0	21.92	Tenuifolside B	C ₃₀ H ₃₆ O ₁₇	409,391,323,167
4 *	[M + Na] ⁺ 777.224 1	23.76	3,6'-Disinapoly sucrose	C ₃₄ H ₄₂ O ₁₉	409,391,167
5 *	[M + Na] ⁺ 705.209 4	26.12	Tenuifolside A	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₇	423,405,323,167
6	[M + H] ⁺ 239.089 0	12.98	3,4,5-Trimethoxycinnamic acid	C ₁₂ H ₁₄ O ₅	191,175,163,147,135,119,107
7	[M + H] ⁺ 179.066 9	16.38	p-Methoxycinnamic acid	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	133,118,103
8 *	[M + NH ₄] ⁺ 698.411 3	23.25	Tenuifolin	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₂	501,455,443,437,409,397,391,261,201

* Possible fragmentation pathways were proposed according to [M + H]⁺

远志呔酮Ⅲ:色谱保留时间(t_R)20.710 min 的色谱峰获得 m/z 569.149 3 [M + H]⁺ 的分子离子峰,其 t_R 和质谱行为均与远志呔酮Ⅲ对照品一致,据此确定该化合物为远志呔酮Ⅲ(图 2)。

3,6'-二芥子酰基蔗糖:色谱保留时间(t_R)23.756 min 的色谱峰获得 m/z 777.224 1 [M + Na]⁺ 的分子离子峰,其 t_R 和质谱行为均与 3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品一致,据此确定该化合物为 3,6'-二芥子酰基蔗糖(图 3)。

细叶远志皂苷:色谱保留时间 23.251 min 的色谱峰获得 m/z 698.411 3 [M + NH₄]⁺ 的分子离子峰,其 t_R 和质谱行为均与细叶远志皂苷对照品一致,据此确定该化合物为细叶远志皂苷(图 4)。

3.1.2 根据质谱数据鉴定的化合物 首先,根据 ESI⁺-TOF/MS 上所得到的精确化合物分子量信息,通过 Agilent Masshunter Qualitative Analysis 软件计算其精确分子式,参考远志现有化学成分文献^[6,12-14],对远志指标成分进行初步鉴定。其次,选择合适的碰撞能量,通过二级质谱的裂解,获得相关的碎片离子,根据离子的裂解情况并结合化合物准确分子量来进一步推测其结构,最终初步推测并鉴定了远志供试品 I 中的 3 个化学成分:西伯利亚远志糖 A5、细叶远志苷 B 和细叶远志苷 A,供试品 II 中的 2 个化学成分-3,4,5-三甲氧基肉桂酸、对甲氧基肉桂酸,结果见表 1。

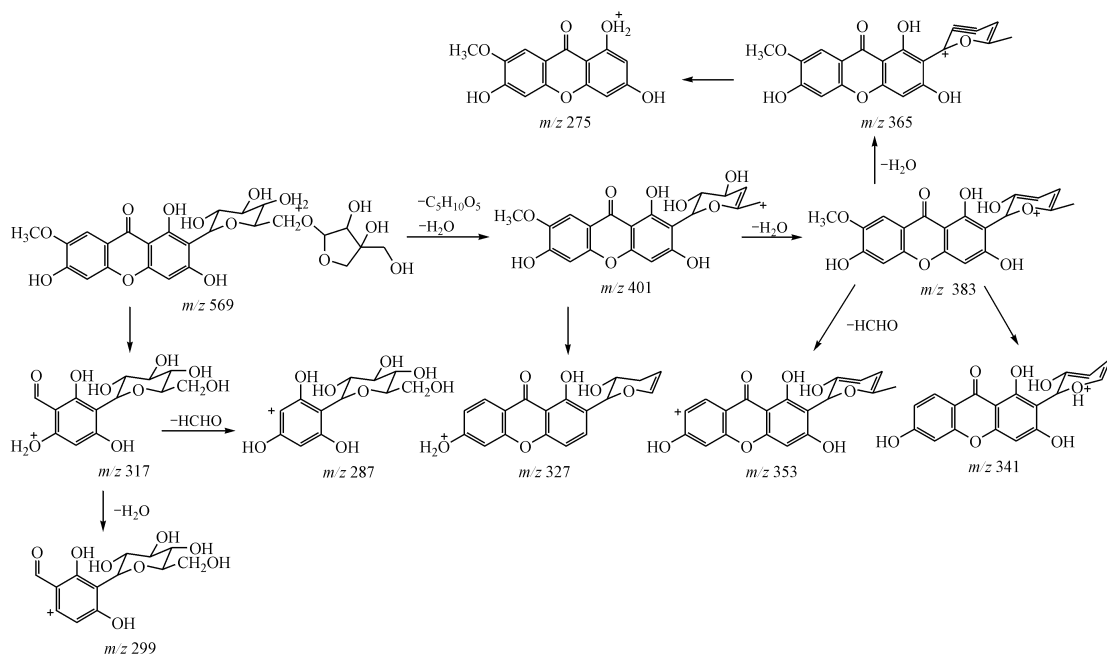


Figure 2 Proposed fragmentation pathways of the product mass spectra of polygalaxanthone III

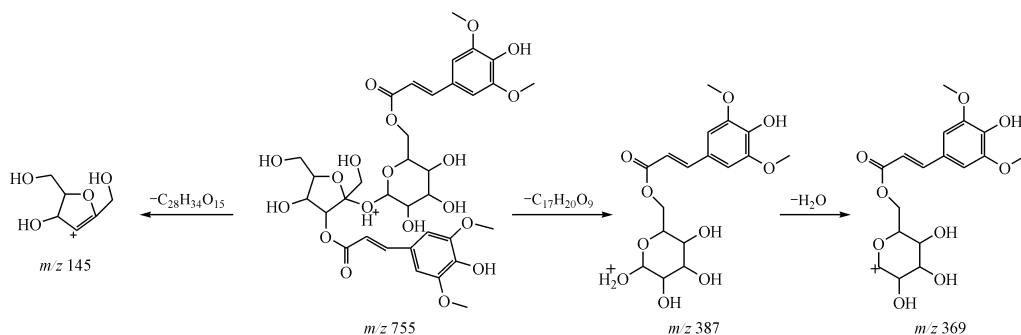


Figure 3 Proposed fragmentation pathways of the product mass spectra of 3,6'-disinapoly sucrose

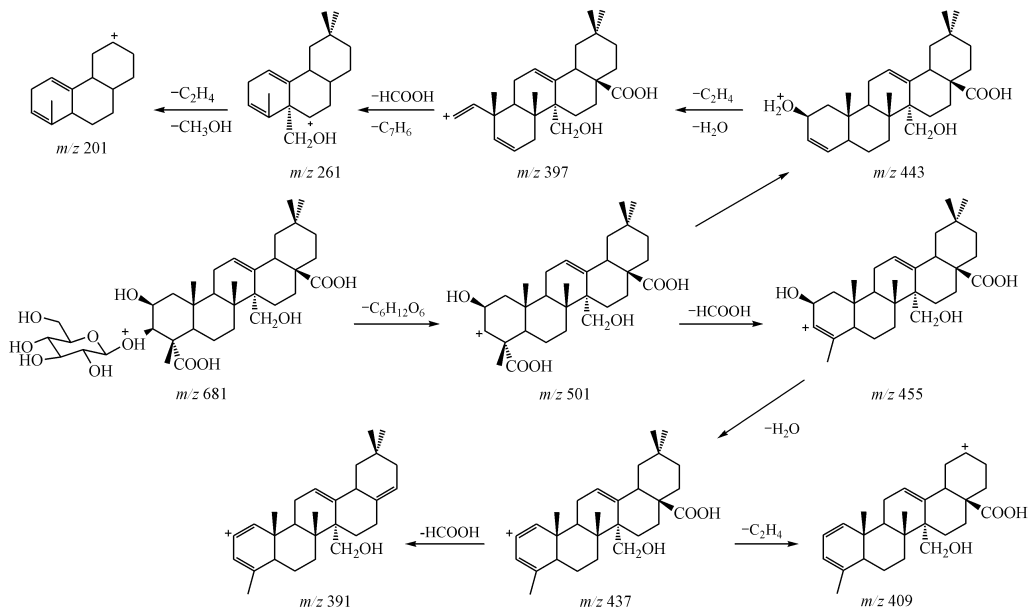


Figure 4 Proposed fragmentation pathways of the product mass spectra of tenuifolin

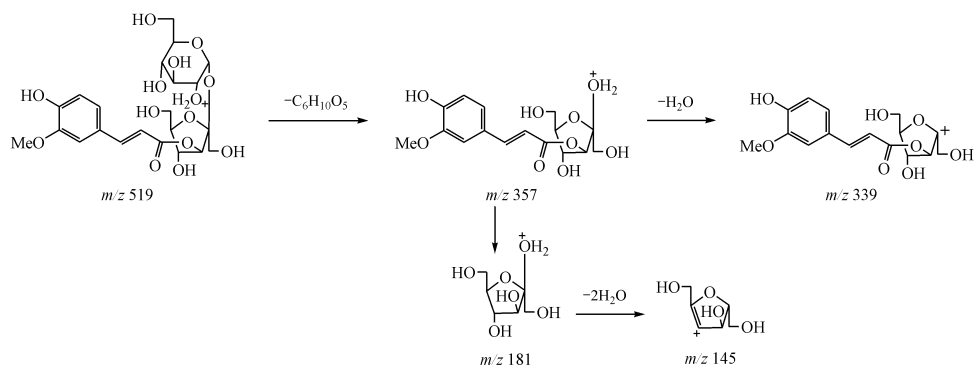


Figure 5 Proposed fragmentation pathways of the product mass spectra of sibiricose A5

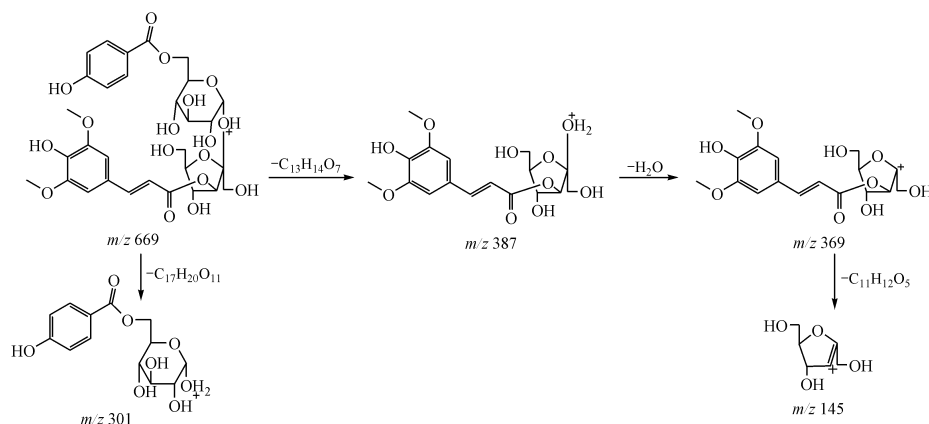


Figure 6 Proposed fragmentation pathways of the product mass spectra of tenuifoliside B

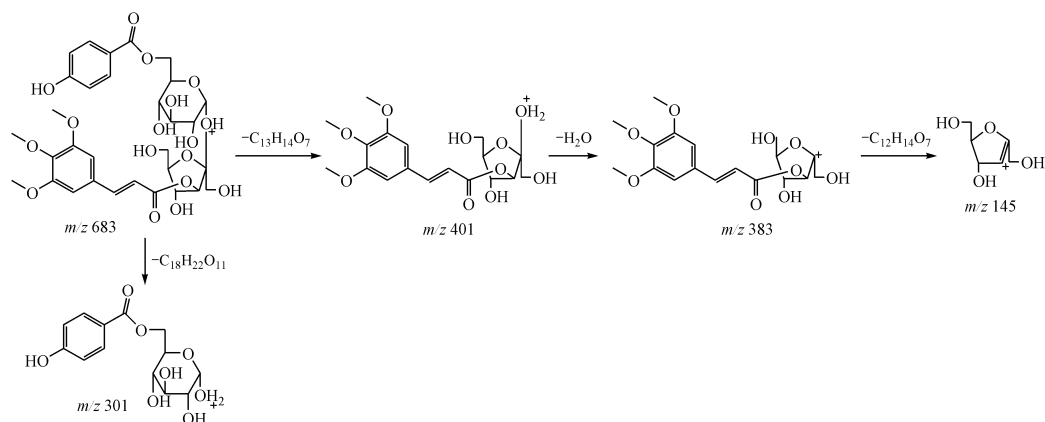


Figure 7 Proposed fragmentation pathways of the product mass spectra of tenuifoliside A

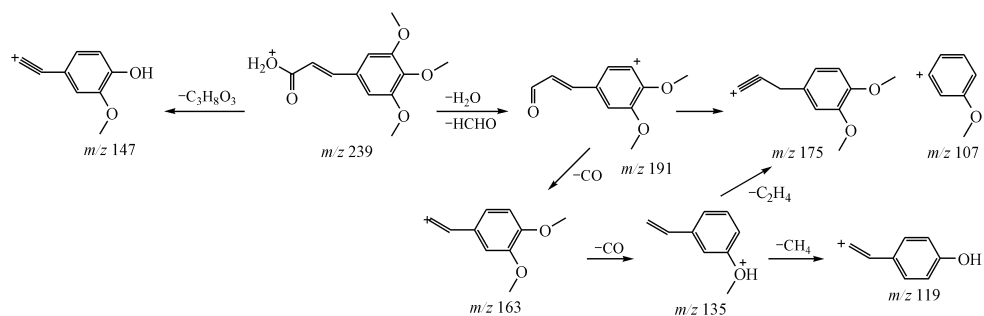


Figure 8 Proposed fragmentation pathways of the product mass spectra of 3,4,5-trimethoxycinnamic acid

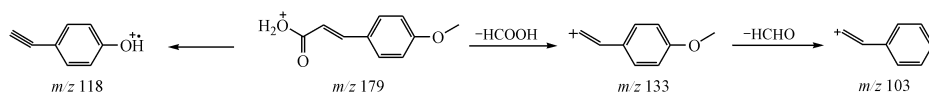


Figure 9 Proposed fragmentation pathways of the product mass spectra of *p*-methoxycinnamic acid

西伯利亚远志糖 A5: 首先根据 TOF-MS 给出的分子离子峰 m/z 541. 1518, 软件给出其最高得分分子式为 $C_{22}H_{30}O_{14}$, 查阅文献, 与西伯利亚远志糖 A5 的加钠峰一致, 故初步推测其为西伯利亚远志糖 A5, 分子式为 $C_{22}H_{30}O_{14}$ 。TOF-MS/MS 二级碎片离子有 m/z 379、361、203、167, m/z 379 为其分子离子峰 $[M + Na]^+$ 失去 1 分子葡萄糖而成, 继而进一步脱去 1 分子水形成 m/z 361 的离子峰, 失去阿魏酰基形成 m/z 203 的离子峰, 与呋喃型果糖基相应, m/z 167 是由呋喃果糖基的离子峰脱去 2 分子水而成, 综合推测化合物是以蔗糖酯为基本单元, 呋喃果糖上连有阿魏酰基, 二级质谱图如图 5 所示, 故鉴定该化合物为西伯利亚远志糖 A5。

细叶远志苷 B: 首先根据 TOF-MS 给出的分子离子峰 m/z 691. 189 0, 软件给出其最高得分分子式为 $C_{30}H_{36}O_{17}$, 查阅文献, 与细叶远志苷 B 的加钠峰一致, 故初步推测其为细叶远志苷 B, 分子式为 $C_{30}H_{36}O_{17}$ 。TOF-MS/MS 二级碎片离子有 m/z 409、391、323、167, m/z 409 为其分子离子峰 $[M + Na]^+$ 失去对羟基苯甲酸葡萄糖酯而成, 继而脱去 1 分子水形成 m/z 391 的离子峰, 进一步脱去 1 分子水和芥子酰基形成 m/z 167 的离子峰, m/z 323 是由分子离子峰 $[M + Na]^+$ 失去芥子酸呋喃型果糖酯而成, 综合推测化合物是以蔗糖酯为基本单元, 葡萄糖上连有对羟基苯甲酰基, 呋喃果糖上连有芥子酰基, 二级质谱图如图 6 所示, 故鉴定该化合物为细叶远志苷 B。

细叶远志苷 A: 首先根据 TOF-MS 给出的分子离子峰 m/z 705. 209 4, 软件给出其最高得分分子式为 $C_{31}H_{38}O_{17}$, 查阅文献, 与细叶远志苷 A 的加钠峰一致, 故初步推测其为细叶远志苷 A, 分子式为 $C_{31}H_{38}O_{17}$ 。TOF-MS/MS 二级碎片离子有 m/z 423、405、323、167, m/z 423 为其分子离子峰 $[M + Na]^+$ 失去对羟基苯甲酸葡萄糖酯而成, 继而脱去 1 分子水形成 m/z 405 的离子峰, 进一步脱去 1 分子水和 3,4,5-三甲氧基肉桂酰基形成 m/z 167 的离子峰, m/z 323 是由分子离子峰 $[M + Na]^+$ 失去 3,4,5-三

甲氧基肉桂酸呋喃型果糖酯而成, 综合推测化合物是以蔗糖酯为基本单元, 葡萄糖上连有对羟基苯甲酰基, 呋喃果糖上连有 3,4,5-三甲氧基肉桂酰基, 二级质谱图如图 7 所示, 故鉴定该化合物为细叶远志苷 A。

3,4,5-三甲氧基肉桂酸: 首先根据 TOF-MS 给出的分子离子峰 m/z 239. 089 0, 软件给出其最高得分分子式为 $C_{12}H_{14}O_5$, 查阅文献, 与 3,4,5-三甲氧基肉桂酸的加氢峰一致, 故初步推测其为 3,4,5-三甲氧基肉桂酸, 分子式为 $C_{12}H_{14}O_5$ 。TOF-MS/MS 二级碎片离子有 m/z 191、175、163、147、135、119、107, 均由此化合物结构经合理裂解产生, 二级质谱图如图 8 所示, 故鉴定该化合物为 3,4,5-三甲氧基肉桂酸。

对甲氧基肉桂酸: 首先根据 TOF-MS 给出的分子离子峰 m/z 179. 066 9, 软件给出其最高得分分子式为 $C_{10}H_{10}O_3$, 查阅文献, 与对甲氧基肉桂酸的加氢峰一致, 故初步推测其为对甲氧基肉桂酸, 分子式为 $C_{10}H_{10}O_3$ 。TOF-MS/MS 二级碎片离子有 m/z 133、118、103, 均由此化合物结构经合理裂解产生, 二级质谱图如图 9 所示, 故鉴定该化合物为对甲氧基肉桂酸。

3.2 远志-石菖蒲配伍前后指标成分的含量变化

按照“2. 1. 1”项下的两种供试品溶液的制备方法, 取远志、石菖蒲和远志-石菖蒲三组药材各平行制备 2 份, 在“2. 2”项色谱条件下进行测定, 测定配伍前后远志中化学成分的含量。供试品溶液 I 中指标成分远志呋喃酮 III 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖均有对照品, 另外 3 个化学成分西伯利亚远志糖 A5、细叶远志苷 B 和细叶远志苷 A 以远志呋喃酮 III 对照品计; 供试品溶液 II 中指标成分细叶远志皂苷采用对照品对照, 另外 2 个化学成分 3,4,5-三甲氧基肉桂酸和对甲氧基肉桂酸以细叶远志皂苷对照品计, 结果如图 10~11 和表 2~3。

药对远志-石菖蒲的色谱图与远志、石菖蒲单味药色谱图相比, 两者具有加和性, 远志-石菖蒲配伍后远志中 8 个化学成分均有小幅度的增加, 无显著性差异。

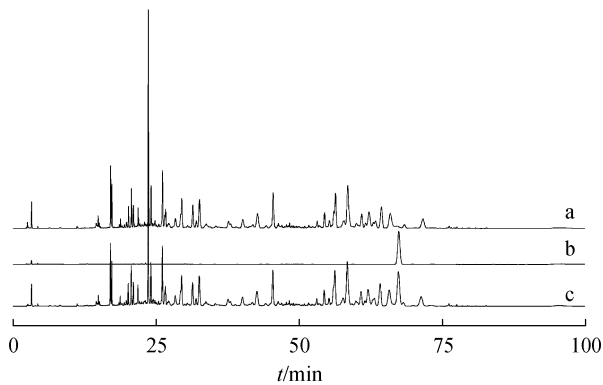


Figure 10 HPLC-UV chromatograms of test solution I with HPLC method 1
a; Radix Polygalae; b; Rhizoma Acori Tatarinowii; c; Radix Polygalae-Rhizoma Acori Tatarinowii

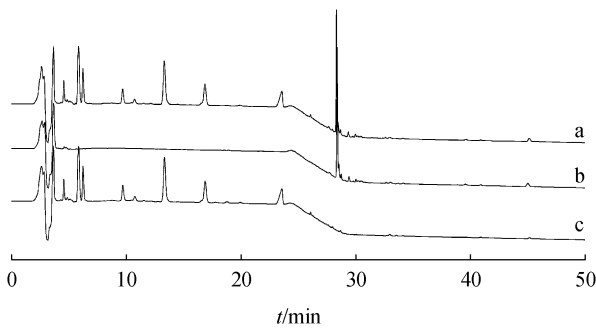


Figure 11 HPLC-UV chromatograms of test solution II with HPLC method 2
a; Radix Polygalae-Rhizoma Acori Tatarinowii; b; Rhizoma Acori Tatarinowii; c; Radix Polygalae

Table 2 Quantitative analytical results of test solution I of Radix Polygalae and herbal pair of Radix Polygalae and Rhizoma Acori Tatarinowii ($n=4$)

Analyte	Content / ($\mu\text{g/g}$)	
	Radix Polygalae	Radix Polygalae-Rhizoma Acori Tatarinowii
Sibiricoside A5	1.946	2.013
Polygalaxanthone III	1.596	1.645
Tenuifolside B	0.632 6	0.644 4
3,6'-Disinapoly sucrose	5.562	5.673
Tenuifolside A	52.55	55.03

Table 3 Quantitative analytical results of test solution II of Radix Polygalae and herbal pair of Radix Polygalae and Rhizoma Acori Tatarinowii ($n=4$)

Analyte	Content / ($\mu\text{g/g}$)	
	Radix Polygalae	Radix Polygalae-Rhizoma Acori Tatarinowii
3, 4, 5-Trimethoxycinnamic acid	74.85	76.83
p-Methoxycinnamic acid	31.82	32.28
Tenuifolin	35.26	36.11

4 讨论

4.1 供试品溶液制备方法的确定

供试品溶液制备过程中,分别比较了 70% 甲醇和 70% 乙醇的提取效果,发现经 70% 甲醇提取的供试品主要成分含量较高,所以选定 70% 甲醇为提取溶剂;比较超声 1 h 和加热回流 1.5 h 的提取效果,发现两者效果相当,所以选定时间较短且操作方便的超声为提取方法。通过以上提取条件的优化,确定了本研究供试品溶液的制备方法。

4.2 质谱检测模式的选择

分别采用正、负离子两种扫描模式进行了质谱检测,结果表明供试品 I 负离子模式下的质谱响应与正离子模式相当;而供试品 II 在正离子模式下响应更好,负离子模式下 3,4,5-三甲氧基肉桂酸、对甲氧基肉桂酸、细叶远志皂苷的响应较弱,但结果与正离子模式一致,故选择正离子模式进行解析。

5 小结

中药药对虽组成相对简单,却具备了复方的基本主治功能,是中药方剂的核心和中医临床遣药组方的关键;药对是介于单味药与方剂之间的配伍单元,是连接二者之间的桥梁。因此,研究药对并以此为突破口,可以更准确地分析中药方剂的配伍规律。任何配伍效应都可以用特征的化学表述来描述,中药作用的物质基础是化学成分,故探讨药对配伍规律的一个重要的研究思路就是研究药对配伍前后化学成分的变化规律。远志中的吡啶类、皂苷类和糖酯类既是远志的主要化学成分,也是其活性成分。本研究对远志与石菖蒲配伍前后的化学成分定性定量进行分析,结果表明远志-石菖蒲配伍后远志中 8 个化学成分均有小幅度的增加,无显著性差异,为今后体内配伍作用研究提供方法依据。

参考文献

[1] Lyu JS. Study of SHI Jin-mo's Pair Drugs(施今墨对药)[M]. 3rd ed. Beijing: People's Military Medical Press, 2007: 265-266.

[2] Lyu HM, Zhu C, Liao YJ, et al. Tenuigenin ameliorates acute lung injury by inhibiting NF- κ B and MAPK signalling pathways[J]. Resp Physiol Neurobi, 2015, 216: 43-51.

[3] Tian F, Jiang Y, Zhang K, et al. The effect and mechanism of Polygala tenuifolia glycoside on SAM-P/8[J]. Geriatr Health Care(老年医学与保健), 2004, 10(3): 137-139.

[4] Chen Q, Cao YG, Zhang CH. Effect of tenuigenin on cholinergic decline induced by β -amyloid peptide and ibotenic acid in rats [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, **37**(12): 913-917.

[5] Nikaido T, Ohmoto T, Saitoh H, et al. Inhibitors of cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase in *Polygala tenuifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, **30**(30): 2020-2024.

[6] Chinese Pharmacopoeia Commission. *Chinese Pharmacopoeia*: part 1 (中华人民共和国药典: 一部) [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 156-157.

[7] Li J, Dong XB, Jiang Y, et al. HPLC determination of total saponins in *Radix Polygalae* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2007, **27**(9): 1329-1332.

[8] Yang XD, Xu LZ, Yang SL. Advances in the research of chemistry and pharmacology of xanthenes extracted from *Polygala L.* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, **12**(5): 88-94.

[9] Liu P, Wang DX, Guo DH, et al. Antidepressant effect of 3,6'-disinapoyl sucrose from *Polygala tenuifolia* Willd. in pharmacological depression model [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2008, **43**(18): 1391-1394.

[10] Tu HH, Liu P, Mu L, et al. Study on antidepressant components of sucrose ester from *Polygala tenuifolia* [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2008, **33**(11): 1278-1280.

[11] Zhang WJ, Zheng XH, Fang MF, et al. Analysis of diversify in matched pair of *Polygala tenuifolia* Willd. and *Acorus Tatarinowii* Schott by HPLC [J]. *China Pharm* (中国药业), 2009, **18**(15): 6-7.

[12] Wang J, Liu XM, Chang Q, et al. Chemical constituents from alkaline hydrolysis products of total saponins in *Radix Polygalae* [J]. *Cent South Pharm* (中南药学), 2010, **8**(11): 811-814.

[13] Ikeya Y, Sugama K, Okada M, et al. Four new phenolic glycosides from *Polygala tenuifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, **39**(10): 2600-2605.

[14] Jiang Y, Tu PF. Studies on the chemical constituents in root bark of *Polygala tenuifolia* (II) [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, **29**(8): 751-753.

· 新 动 态 ·

2016 全球制药公司研发规模 Top25

据 Citeline 公司 2016 年度报告,全球制药公司按在研项目数量进行排名前 25 位(Top25)如表 1 所示。

从自研产品情况来看,诺华是拥有自研产品数量最多的公司,而礼来则是自研产品占比最高的公司。今年,首次进入 Top25 的企业是新基(Celgene)和吉利德(Gilead Sciences),吉利德以其优势丙肝治疗产品横扫全球,但其高价治疗费用也会成为未来持续关注的焦点。德国默克和日本协和发酵麒麟制药今年退出 Top25 行列。有趣的是,通过收购的公司均能保住 Top25 的位置。

表 1 全球制药公司研发规模 Top25

2016 年排名 (2015)	企业名称	2016 年在研 项目数量(2015)	2016 年原 研药数量	2016 年排名 (2015)	企业名称	2016 年在研 项目数量(2015)	2016 年原 研药数量
1(1)	葛兰素史克	242(258)	144	14(12)	第一三共	102(104)	67
2(2)	诺华	240(245)	161	15(18)	阿斯泰来	95(83)	51
3(4)	阿斯利康	231(234)	130	16(21)	大冢制药	94(81)	53
4(5)	强生	227(204)	116	17(15)	梯瓦	92(92)	47
5(6)	默沙东	223(199)	137	18(14)	安进	91(94)	66
6(7)	辉瑞	217(199)	143	19(16)	艾伯维	90(85)	29
7(3)	罗氏	211(234)	135	20(20)	勃林格殷格翰	88(82)	62
8(8)	赛诺菲	199(184)	87	21(19)	卫材	88(82)	51
9(9)	武田	137(130)	74	22(-)	新基	67(-)	27
10(11)	百时美施贵宝	136(118)	99	23(-)	吉利德	60(-)	49
11(10)	礼来	124(119)	91	24(23)	三菱田边	59(57)	36
12(17*)	艾尔建	119(84)	59	25(24)	住友	59(56)	38
13(13)	拜耳	111(99)	76				

* 阿特维斯在 2015 年排名第 17 位,后与艾尔建合并新的艾尔建公司。数据来源:Pharmaprojects®,2016 年 1 月

目前,全球具有自主在研项目的制药公司数量已达 3 687 家,与 2015 年的 3 286 家相比,增加了 401 家,同比增长了 12.2%,成为有史以来增长量最大的一年。然而,有些仅具有 1~2 种在研品种的企业数量有约 2 084 家,占比 56.6%,2015 年这类微型制药研发公司的数量为 1 844 家,今年的增长量为 240 家,涨幅 0.5%。这也意味着,在目前 3 687 家研发公司中,56.56%的企业为微小企业,大量公司存在被大型制药公司吞并的可能,当然,也不乏会产生令人惊艳的重磅产品,成为未来的明日之星。

(创药网)