

# 不同炮制方法对巴戟天中寡糖类成分和水晶兰苷含量的影响

景海漪<sup>1</sup>, 史辑<sup>1\*</sup>, 崔妮<sup>1</sup>, 贾天柱<sup>1,2</sup>

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 国家中医药管理局炮制原理解析重点实验室  
辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** 目的: 考察不同炮制工艺对巴戟天中寡糖类成分和水晶兰苷含量的影响。方法: 采用不同方法制备巴戟天炮制品, 比较不同炮制品中寡糖类成分和水晶兰苷的含量。利用 HPLC-CAD 测定寡糖类成分含量, Shodex Asahipak NH<sub>2</sub> 色谱柱, 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~15 min, 86%~81% A; 15~20 min, 81%~75% A; 20~35 min, 75%~70% A; 35~50 min, 70%~58% A; 50~60 min, 58%~40% A; 60~65 min, 40%~20% A); 运用 HPLC-DAD 测定水晶兰苷含量, Venusil MP C<sub>18</sub> 色谱柱, 检测波长 235 nm, 流动相甲醇-0.4% 磷酸溶液梯度洗脱(5:95~28.8:71.2, 15 min)。结果: 巴戟天不同炮制品中寡糖类成分总质量分数顺序为盐巴戟天>巴戟肉>制巴戟天>生巴戟天; 水晶兰苷含量排序为盐巴戟天>生巴戟天>制巴戟天>巴戟肉。结论: 巴戟天不同炮制品中寡糖类成分和水晶兰苷的含量差异较大, 为巴戟天的饮片质量控制及炮制机制解析提供参考。

**[关键词]** 炮制工艺; 巴戟天; 寡糖类成分; 水晶兰苷

**[中图分类号]** R283.3; R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0020-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170020

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140715.1327.007.html>

**[网络出版时间]** 2014-07-15 13:27

## Effects of Different Processing Methods on Contents of Oligosaccharides and Monotropein in *Morindae Officinalis Radix*

JING Hai-yi<sup>1</sup>, SHI Ji<sup>1\*</sup>, CUI Ni<sup>1</sup>, JIA Tian-zhu<sup>1,2</sup>

(1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Dalian 116600, China;  
2. Key Laboratory of Processing Principle Analysis, State Administration of TCM of the People's Republic of China, Liaoning Research Center of Processing Engineering Technology for TCM, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate effects of different processing methods on contents of oligosaccharides and monotropein in *Morindae Officinalis Radix*. **Method:** Processed products of *Morindae Officinalis Radix* were prepared by different methods, contents of oligosaccharides and monotropein in different processed products were compared. The content of oligosaccharides was determined by HPLC-CAD with Shodex Asahipak NH<sub>2</sub> column, mobile phase of acetonitrile (A) -water (B) for gradient elution (0-15 min, 86%-81% A; 15-20 min, 81%-75% A; 20-35 min, 75%-70% A; 35-50 min, 70%-58% A; 50-60 min, 58%-40% A; 60-65 min, 40%-20% A); the content of monotropein was determined by HPLC-DAD with Venusil MP C<sub>18</sub> column, mobile phase of methanol-0.4% phosphoric acid for gradient elution (5:95-28.8:71.2, 15 min) and detection wavelength at 235 nm. **Result:** The content of oligosaccharides was in the order of *Morindae Officinalis Radix* steamed by salt > *Morindae Officinalis Radix* without the wood > *Morindae Officinalis Radix* processed with *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* > crude *Morindae Officinalis Radix*; while according to the content of monotropein

**[收稿日期]** 20131230(014)

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81001635); 国家发改委行业专项(201107007)

**[第一作者]** 景海漪, 在读硕士, 从事中药炮制原理研究, Tel:0411-87586114, E-mail: jinghaiyi@sina.com

**[通讯作者]** \* 史辑, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事天然药物化学研究, Tel:0411-87586011, E-mail: lnshiji@163.com

was *Morindae Officinalis Radix* steamed by salt > crude *Morindae Officinalis Radix* > *Morindae Officinalis Radix* processed with *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* > *Morindae Officinalis Radix* without the wood. **Conclusion:** Processing could greatly change contents of oligosaccharides and monotropein in *Morindae Officinalis Radix*, which provided a reference for pieces quality control and processing mechanisms analysis of *Morindae Officinalis Radix*.

[**Key words**] processing technology; *Morindae Officinalis Radix*; oligosaccharides; monotropein

巴戟天作为我国著名的“四大南药”之一,味甘、辛,性微温,功效补肾阳、强筋骨、祛风湿<sup>[1]</sup>,含有糖类、环烯醚萜苷类、蒽醌类和有机酸类等化学成分<sup>[2-3]</sup>。其中寡糖类成分具有促进免疫、抗抑郁的药理作用<sup>[4-5]</sup>;环烯醚萜苷类成分具有抗炎镇痛作用,可能是巴戟天祛风湿作用的有效成分<sup>[6-7]</sup>。2010年版《中国药典》收录了巴戟天的4个炮制品,即巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天和制巴戟天。本实验拟采用HPLC考察巴戟天及其炮制品中寡糖类成分和水晶兰苷的变化规律,为巴戟天的炮制工艺指导、饮片质量控制及炮制机制解析提供参考。

## 1 材料

LC-20A型高效液相色谱仪( SPD-M20A型检测器, LC-20AB型泵, SIL-20A型自动进样器, CTO-20A型柱温箱, CBM-20A型系统控制器, 日本岛津仪器公司), Corona CAD型电雾式检测器(美国ESA公司), AE240型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

生巴戟天药材分别购于广东德庆、广西、福建永定, 甘草药材购自大连开发区阳光大药房, 经辽宁中医药大学中药鉴定教研室翟延君教授鉴定依次为茜草科植物巴戟天 *Morinda officinalis* How 的干燥根和豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎; 果糖、蔗糖及 D-无水葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究院, 纯度均 $\geq 99.0\%$ , 批号分别为 100231, 292-64121, 110833), 蔗果三糖、耐斯糖对照品(日本 Wako 公司, 纯度均 $\geq 99.0\%$ , 批号分别为 DCG6626, 292-64121), 蔗果五糖对照品(爱尔兰 Megazyme 公司, 纯度 $\geq 95.0\%$ , 批号 120605), 水晶兰苷对照品(成都曼思特生物科技有限公司, 纯度 $\geq 98.0\%$ , 批号 MUST-11062204), 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 样品制备** 在前期研究基础上, 巴戟天、巴戟肉、盐巴戟、制巴戟均按 2010 年版《中国药典》一部“巴戟天”项下方法制备, 各 3 批, 见表 1。

表 1 巴戟天生品及不同炮制品的制备

品种	处理方法	饮片得率/%
生巴戟天	取原药材 100 g, 除去杂质及木心, 洗净, 晒干	65.2
巴戟肉	取净巴戟天药材 100 g 置蒸器内蒸透(武火, 2 h), 趁热除去木心, 切段干燥	67.5
盐巴戟天	取净巴戟天药材 100 g, 用 2% 食盐水拌匀, 闷润 5 h, 待盐水被吸尽后蒸透(武火, 2 h), 趁热除去木心, 切段干燥	63.7
制巴戟天	取净巴戟天药材 100 g, 加入 6% 甘草汁(取甘草 6 g 加 12 倍量水煎煮 2 h, 药渣加 12 倍量水重复煎煮 2 次, 合并 3 次煎煮液), 拌匀, 闷润 3 h, 煮至甘草汁被吸尽(文火, 20 min), 趁热除去木心, 切段干燥	66.1

## 2.2 寡糖类成分的含量测定

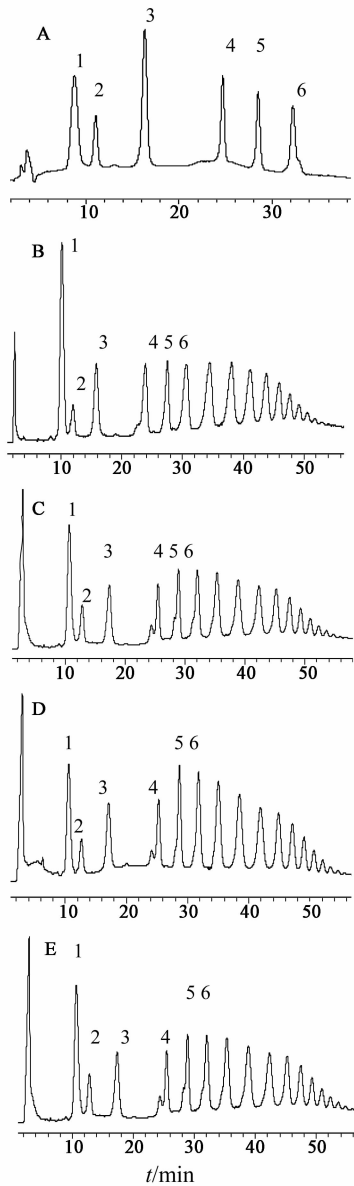
**2.2.1 色谱条件** Shodex Asahipak NH<sub>2</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测器为 Corona CAD 电雾式检测器, 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~15 min, 86%~81% A; 15~20 min, 81%~75% A; 20~35 min, 75%~70% A; 35~50 min, 70%~58% A; 50~60 min, 58%~40% A; 60~65 min, 40%~20% A), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温室温, 见图 1。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取果糖、D-无水葡萄糖、蔗糖、蔗果三糖、耐斯糖和蔗果五糖对照品

适量, 加水配成质量浓度依次为 1.00, 1.03, 1.02, 1.15, 1.06, 1.12 g·L<sup>-1</sup> 混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 精密称取生巴戟天及不同炮制品粉末(过 40 目筛)各 0.5 g, 分别加乙酸乙酯 30 mL 超声提取 30 min, 过滤, 弃去滤液, 残渣挥干后加 70% 乙醇 50 mL 超声提取 30 min, 滤液于 80 °C 水浴蒸干, 残渣用水溶解并定容至 25 mL 量瓶中, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.2.4 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 按 2.2.1 项下方法测定, 见表 2。结果发现巴戟天盐蒸品中 6 种寡糖含量均较生品增



A. 对照品; B. 生品; C. 巴戟肉; D. 盐巴戟天; E. 制巴戟天;  
1. 果糖; 2. 葡萄糖; 3. 蔗糖; 4. 蔗果三糖;  
5. 耐斯糖; 6. 蔗果五糖

图 1 巴戟天不同炮制品中寡糖类成分 HPLC

加,而生品中含量均为最低,6种寡糖总量顺序为盐巴戟天>巴戟肉>制巴戟天>生巴戟天。

### 2.3 水晶兰苷的含量测定

**2.3.1 色谱条件** Venusil MP C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测器为 SPD-M20A 型二极管阵列 DAD 检测器, 检测波长 235 nm, 流动相 甲醇-0.4% 磷酸溶液梯度洗脱 (5:95 ~ 28.8:71.2, 15 min), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温室温, 见图 2。

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取水晶兰苷对照品适量, 加甲醇制成 0.354 g·L<sup>-1</sup> 对照品溶液。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 分别称取巴戟天样品

表 2 不同产地巴戟天生品及其炮制品中

寡糖类成分和水晶兰苷的含量测定 (n=3) mg·g<sup>-1</sup>

产地	品种	果糖	葡萄糖	蔗糖	蔗果三糖	耐斯糖	蔗果五糖	水晶兰苷
广东德庆	生品	64.70	9.81	41.43	28.82	40.54	44.72	10.10
	巴戟肉	77.44	22.60	58.60	32.98	45.74	52.24	8.49
	盐巴戟天	105.62	42.42	69.02	37.24	45.86	50.17	13.34
广西百色	制巴戟天	75.30	17.09	52.10	30.78	41.88	46.11	9.83
	生品	67.22	10.03	41.59	29.13	42.07	45.58	10.96
	巴戟肉	78.59	22.64	59.14	33.92	47.10	52.89	9.82
福建永定	盐巴戟天	106.84	43.55	70.55	38.27	46.88	51.58	14.68
	制巴戟天	76.22	18.15	53.11	31.55	42.66	47.55	10.03
	生品	63.33	8.83	38.33	27.66	40.29	43.25	9.77
	巴戟肉	76.82	19.52	56.32	30.88	44.61	50.33	6.88
	盐巴戟天	103.46	40.48	67.32	36.45	44.78	49.45	12.54
	制巴戟天	74.10	15.40	50.20	29.12	40.52	45.72	8.22

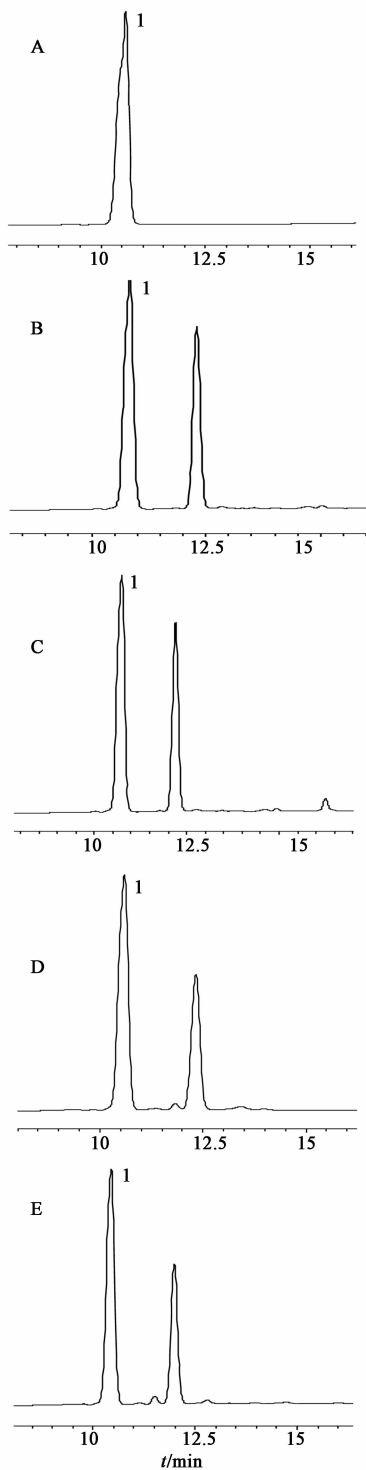
粉末 (过 40 目筛) 各 0.5 g, 精密称定, 分别置于 150 mL 具塞锥形瓶中, 加入 80% 甲醇 100 mL 冷浸 1 h, 超声处理 30 min, 滤过, 残渣再超声 1 次, 合并滤液, 水浴蒸干, 残渣加 80% 甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.3.4 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 按 2.3.1 项下方法测定, 见表 2。结果表明与生品相比, 盐蒸巴戟天中水晶兰苷含量明显增加, 制巴戟天中稍有下降, 巴戟肉中则降低较多, 含量顺序为盐蒸品 > 生品 > 制巴戟天 > 巴戟肉。

### 3 讨论

混合寡糖的含量测定常通过 UV 测定还原糖的总量获得或利用 GC 测定其中某一种单糖的含量, 但二者均不能测定寡糖单体的含量。运用 HPLC 可测定混合寡糖中寡糖单体的含量, 单目前多使用示差折光检测器 (RID) 或蒸发光散射检测器 (ELSD) 检测, 采用 HPLC-CAD 同时测定巴戟天混合寡糖中 6 个寡糖单体含量的报道尚属首次。电雾式检测器 (CAD) 不依赖化合物的分子结构, 能检测分析大范围的化学结构和种类, 灵敏度较 RID 和 ELSD 高<sup>[8]</sup>。

水晶兰苷为环烯醚萜苷类化合物, 具有一定酸性, 使用高水相在普通色谱柱上保留时间很短。本文考察了 Agilent, Dismond 和 Thermo 等不同色谱柱, 更换了 甲醇-水、甲醇-0.1% 磷酸溶液、甲醇-0.4% 磷酸溶液等洗脱系统, 保留时间均不能达到要求。最终优选出了 Venusil MP C<sub>18</sub> 色谱柱, 其属于半封端的 C<sub>18</sub> 柱, 尚有未被 C<sub>18</sub> 链占据的 Si-OH, 对极性大的苷类化合物有较好的保留。使用 Venusil MP C<sub>18</sub> 色谱柱和 甲醇-0.4% 磷酸溶液梯度洗脱系统可使水晶兰苷保留时间约 10 min, 分离度较好。



A. 对照品; B. 生品; C. 巴戟肉; D. 盐巴戟天;  
E. 制巴戟天; 1. 水晶兰苷

图2 巴戟天不同炮制品中水晶兰苷 HPLC

通过对巴戟天生品及其炮制品中寡糖类成分和水晶兰苷含量的测定,发现与生品相比,炮制品中寡糖类成分和水晶兰苷均发生了量的变化。各炮制品中寡糖类成分质量分数明显增加,其中盐巴戟天中寡糖类成分含量增加幅度最大,说明盐炙巴戟天有

利于寡糖类成分的溶出;制巴戟天中寡糖类成分含量较生巴戟明显增加,可能是因为甘草中糖含量较高,起到了叠加的作用;巴戟肉中寡糖类成分含量亦明显高于生品,说明炮制时除去木心具备实验依据。巴戟肉和制巴戟天中水晶兰苷的含量均较生品降低,巴戟肉中水晶兰苷的含量最低,盐巴戟天中水晶兰苷含量最高,说明不同炮制方法对巴戟天中水晶兰苷含量具有不同程度的影响。

多数药材经蒸、煮等方法炮制后,其化学成分和药理作用与生品相比均发生了较大变化<sup>[9-10]</sup>,临床适应症亦会发生相应变化。巴戟天化学成分种类复杂,本文在考察不同炮制方法对巴戟天蒽醌类成分影响的基础上,探索不同炮制方法对巴戟天中寡糖类和环烯醚萜苷类成分的影响,从多角度分析炮制工艺对巴戟天化学成分的影响,为该药味的饮片质量控制及炮制机制解析提供实验依据。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:75.

[2] Yoshikawa M, Yamaguchi S, Nishisaka H, et al. Chemical constituents of Chinese natural medicine, *Morinda Radix*, the dried roots of *Morinda officinalis* How.; Structures of morindolide and morofficaloside [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43(9):1462.

[3] 史辑,姜永粮,贾天柱. 巴戟天属植物化学成分研究进展[J]. *广州化工*, 2009, 37(9):46.

[4] 徐超斗,张永祥,杨明,等. 巴戟天寡糖的促免疫活性作用[J]. *解放军药学学报*, 2003, 19(6):466.

[5] 崔承彬,杨明,姚志伟,等. 中药巴戟天中抗抑郁活性成分的研究[J]. *中国中药杂志*, 1995, 20(1):36.

[6] 徐吉银,楚桐丽,丁平. 巴戟天属植物环烯醚萜类化学成分和药理活性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2006, 23(3):268.

[7] Choi J, Lee K T, Choi M Y, et al. Antinociceptive anti-inflammatory effect of monotropein isolated from the root of *Morinda officinalis* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(10):1915.

[8] Christensen J, Asa D, Acworth I, et al. HPLC with charged aerosol detection for the measurement of different lipid classes[A]. 29th International Symposium on High Performance Liquid-Phase Separations and Related Techniques, Stockholm, Sweden, 2005:38.

[9] 段启,王少军,龚千锋,等. 不同炮制方法对泽泻中泽泻醇 B23-乙酸酯的影响[J]. *中草药*, 2005, 36(1):46.

[10] 王身艳,秦明珠,李飞,等. 箭叶淫羊藿炮制前后对小鼠副性器官的影响[J]. *中成药*, 2005, 27(2):179.

[责任编辑 刘德文]