

# 正交试验优选巴戟天饮片的软化和切制工艺

黄玉秋, 贾天柱, 史辑\*

(辽宁中医药大学药学院, 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:优化巴戟天的软化和切制工艺,为该饮片的规范生产提供技术参数。方法:以甲基异茜草素-1-甲醚、水晶兰苷和耐斯糖的综合评分为指标,在单因素试验基础上,通过正交试验考察加水量、闷润时间、闷润温度、切段长度对巴戟天软化切制工艺的影响。采用 HPLC 测定甲基异茜草素-1-甲醚的含量,流动相乙腈-0.2% 磷酸水溶液梯度洗脱,检测波长 277 nm;水晶兰苷含量测定的流动相甲醇-0.1% 磷酸水溶液梯度洗脱,检测波长 235 nm。采用高效液相色谱电雾式检测器法(HPLC-CAD)测定耐斯糖含量,流动相甲醇-水(3:97)。结果:最佳软化切制工艺为加 1.0 倍量水于 50 ℃ 下闷润 9 h,切段长度 10~15 mm。甲基异茜草素-1-甲醚、水晶兰苷、耐斯糖及水浸出物平均质量分数分别为 0.045%、5.074%、63.202%、74.651%。结论:优选的巴戟天软化切制工艺合理可行,可作为该饮片的规范生产工艺。

**[关键词]** 巴戟天; 软化; 切制; 甲基异茜草素-1-甲醚; 水晶兰苷; 耐斯糖

**[中图分类号]** R283.3;R284.1;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)16-0005-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2015160005

## Optimization for Softening and Cutting Processes of Morindae Officinalis Radix by Orthogonal Design

HUANG Yu-qiu, JIA Tian-zhu, SHI Ji\* (Liaoning Research Center of Processing Engineering Technology for Traditional Chinese Medicine (TCM), Key Laboratory of Processing Principle Analysis, State Administration of TCM, School of Pharmacy, Liaoning University of TCM, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize softening cutting processes of Morindae Officinalis Radix, in order to provide technical parameters for standard production of the pieces. **Method:** On the basis of single-factor test, with comprehensive score of rubiadin-1-methyl ether, monotropein and nystose as indexes, orthogonal design was adopted to detect effects of water volume, moistening time, moistening temperature and cutting length on softening and cutting processes. HPLC was used to determine the content of rubiadin-1-methyl ether, which was eluted with mobile phase of acetonitrile-0.2% aqueous phosphoric acid in gradient mode, detection wavelength was 277 nm. The content of monotropein was eluted with mobile phase of acetonitrile-0.1% aqueous phosphoric acid in gradient mode, detection wavelength was 235 nm. HPLC-CAD was used to determine the content of nystose with mobile phase of methanol-water (3:97). **Result:** Optimal softening and cutting processes were as follows: water volume of 1.0 times, moistening temperature at 50 ℃, moistening time of 9 h and cutting length of 10-15 mm. Average fractions of rubiadin-1-methyl ether, monotropein, nystose and water extract were 0.045%, 5.074%, 63.202% and 74.651%, respectively. **Conclusion:** These optimized softening and cutting processes for Morindae Officinalis Radix are rational and feasible, it can be used as technical parameters for standard production of the pieces.

**[Key words]** Morindae Officinalis Radix; softening; cutting; rubiadin-1-methyl ether; monotropein; nystose

**[收稿日期]** 20141106(006)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81001635,81473350);国家发改委行业专项(201107007)

**[第一作者]** 黄玉秋, 硕士, 从事中药炮制原理研究, Tel:0411-85890157, E-mail:hyq198996@126.com

**[通讯作者]** \* 史辑, 副教授, 硕士生导师, 从事天然药物化学研究, Tel:0411-85890146, E-mail:lnshiji@163.com

巴戟天味甘、辛,性微温,具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效<sup>[1]</sup>。其主要含蒽醌类、环烯醚萜苷类、寡糖及多糖类成分。巴戟天为根茎类药材,质地坚硬,长短不一,需适当进行软化,以便于切制,从而利于有效成分的煎出,保证饮片质量。目前文献报道巴戟天的软化和切制工艺较少,只是单纯指出使用清蒸或润或先泡后蒸的方法<sup>[1-3]</sup>,尚无科学、合理的炮制工艺参数。为了确定巴戟天的最佳软化方法,本实验除了考察质地坚硬的根茎类药材常用的泡法和蒸法外,还采用了淋法、布包淋法及润法。在切制方面,本实验设定了长段、短段等水平,以确定药材的长短对水分吸收及干燥时长的影响。以巴戟天中的蒽醌类成分甲基异茜草素-1-甲醚、环烯醚萜苷类成分水晶兰苷、寡糖类成分耐斯糖为指标优选其软化和切制工艺,确定巴戟天软化切制的最佳技术参数,为该饮片的质量控制提供参考。

## 1 材料

E2695-2998 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司,SPD-M20A 型检测器),AE240 型 1/10 万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),FA1004 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),DFT-100 型 100 克手提式高速万能粉碎机(浙江温岭市林大机械有限公司)。

巴戟天药材购于安徽亳州药材市场,经辽宁中医药大学中药鉴定教研室翟延君教授鉴定为茜草科植物巴戟天 *Morinda officinalis* 的干燥根;甲基异茜草素-1-甲醚(自制,纯度 > 95%),水晶兰苷对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-11062204,纯度 ≥ 98.0%),耐斯糖对照品(日本 Wako 公司,批号 292-64121,纯度 ≥ 99.0%),水为超纯水,乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

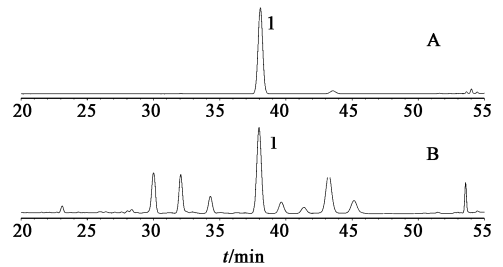
## 2 方法与结果

### 2.1 甲基异茜草素-1-甲醚的含量测定<sup>[4]</sup>

**2.1.1 对照品溶液的制备** 精密称取甲基异茜草素-1-甲醚对照品 2.93 mg 置于 5 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。

**2.1.2 色谱条件** Ecosil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.2% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min, 20% A, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 5 ~ 20 min, 20% ~ 42% A, 流速 1 ~ 0.8 mL · min<sup>-1</sup>; 20 ~ 45 min, 42% A, 流速 0.8 mL · min<sup>-1</sup>; 45 ~ 50 min, 42% ~ 60% A, 流速 0.8 ~ 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 50 ~ 55 min, 60% ~ 95% A, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>;

55 ~ 60 min, 95% A, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 60 ~ 65 min, 95% ~ 20% A, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 65 ~ 75 min, 20% A, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>),检测波长 277 nm,柱温 30 °C,进样量 20 μL。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 甲基异茜草素-1-甲醚

图 1 巴戟天中甲基异茜草素-1-甲醚 HPLC

Fig. 1 HPLC of rubiadin-1-methylether in *Morindae Officinalis Radix*

**2.1.3 供试品溶液的制备** 精密称取不同软化切制方法制备的巴戟天粉末(过 60 目筛) 2 g, 置 100 mL 圆底烧瓶中,加三氯甲烷 80 mL 回流提取 2 次,每次 2 h,合并滤液,回收三氯甲烷,加甲醇定容至 10 mL 量瓶中,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

**2.1.4 线性关系考察** 精密吸取甲基异茜草素-1-甲醚对照品溶液 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.062 5, 0.04 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,按 2.1.2 项下条件测定,以峰面积对进样量进行线性回归,得回归方程  $Y = 8.810 \times 10^6 X + 7.182 \times 10^4$  ( $r = 0.9999$ ),线性范围 0.046 88 ~ 1.172 μg。

**2.1.5 精密度试验** 取同一对照品溶液,按 2.1.2 项下条件连续进样 6 次,计算甲基异茜草素-1-甲醚峰面积积分值的 RSD 1.6%,表明仪器精密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 按 2.1.2 项下条件进样,结果甲基异茜草素-1-甲醚峰面积积分值的 RSD 1.3%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.1.7 重复性试验** 取 6 份巴戟天样品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.2 项下条件测定,计算甲基异茜草素-1-甲醚峰面积积分值的 RSD 1.5%,表明该方法重复性良好。

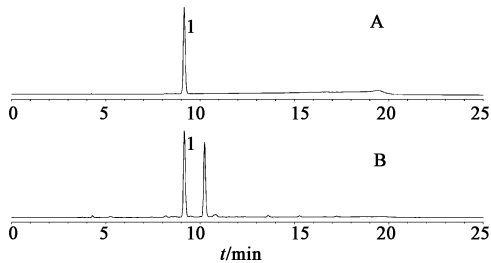
**2.1.8 加样回收率试验** 精密称取已知甲基异茜草素-1-甲醚含量的巴戟天样品 6 份,每份约 1.0 g,每份样品中甲基异茜草素-1-甲醚质量分别为 0.042 4, 0.044 1, 0.032 2, 0.040 3, 0.040 0, 0.045 1 mg,各精密加入甲基异茜草素-1-甲醚对照品溶液 69 μL,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.2 项下条件测定,计算平均加样回收率 102.2%,

RSD 1.4%。

## 2.2 水晶兰苷的含量测定<sup>[5-6]</sup>

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取水晶兰苷对照品 15.8 mg,加 80% 甲醇定容至 50 mL 量瓶中,摇匀,即得。

**2.2.2 色谱条件** Venusil MP C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 甲醇 (A)-0.1% 磷酸水溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 15 min, 5% ~ 28.8% A; 15 ~ 25 min, 5% A), 检测波长 235 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25 °C, 进样量 2 μL。见图 2。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 水晶兰苷

图2 巴戟天中水晶兰苷 HPLC

Fig.2 HPLC of monotropein in Morindae Officialis Radix

**2.2.3 供试品溶液的制备** 精密称取不同软化切制方法的巴戟天粉末 (过 60 目筛) 1.0 g, 置于 150 mL 具塞锥形瓶中, 加入 80% 甲醇 100 mL, 冷浸 1 h, 超声 (250 W, 40 kHz) 处理 1 h, 过滤, 回收甲醇, 加 80% 甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

**2.2.4 线性关系考察** 精密吸取水晶兰苷对照品溶液 0.2, 0.05 mL, 分别置于 1 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇定容, 分别精密吸取这 2 种溶液 2 μL 及 2.2.1 项下对照品溶液 2, 4, 6, 8 μL, 按 2.2.2 项下条件测定, 以峰面积对进样量进行线性回归, 得回归方程  $Y = 1.480 \times 10^6 X - 1.446 \times 10^4$ , 线性范围 0.031 6 ~ 2.528 μg。

**2.2.5 精密度试验** 精密吸取同一对照品溶液, 按 2.2.2 项下条件连续进样 6 次, 计算水晶兰苷峰面积积分值的 RSD 0.8%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.6 稳定性试验** 取巴戟天样品, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 按 2.2.2 项下条件进样, 结果水晶兰苷峰面积的 RSD 1.3%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

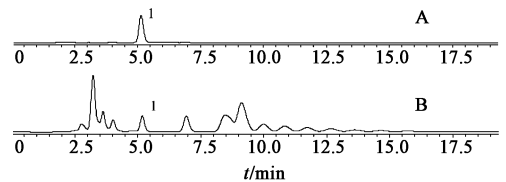
**2.2.7 重复性试验** 取 6 份巴戟天样品, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.2 项下条件测定, 计算水晶兰苷峰面积积分值的 RSD 1.4%, 表明该方法重复性良好。

**2.2.8 加样回收率试验** 精密称取已知水晶兰苷含量的巴戟天样品 6 份, 每份约 0.5 g, 各精密加入水晶兰苷对照品溶液 7 mL, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.2 项下条件测定, 计算平均加样回收率 102.3%, RSD 1.6%。

## 2.3 耐斯糖的含量测定

**2.3.1 对照品溶液的制备** 精密称取耐斯糖对照品 128 mg, 加 甲醇-水 (3:97) 混合液定容至 500 mL 量瓶中, 摇匀, 即得。

**2.3.2 色谱条件** Ecosil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-水 (3:97), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 进样量 5 μL。见图 3。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 耐斯糖

图3 巴戟天中耐斯糖 HPLC

Fig.3 HPLC of nystose in Morindae Officialis Radix

**2.3.3 供试品溶液的制备** 精密称取不同软化切制方法的巴戟天粉末 (过 60 目筛) 0.5 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 加入 乙酸乙酯 30 mL, 超声 (250 W, 40 kHz) 处理 30 min, 过滤, 弃去滤液, 待挥干, 滤渣加 70% 乙醇 50 mL 超声处理, 过滤, 滤液减压干燥, 用 甲醇-水 (3:97) 定容至 25 mL 量瓶中, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

**2.3.4 线性关系考察** 取耐斯糖对照品溶液 10, 30 μL, 按 2.3.2 项下条件测定, 运用外标两点法对数方程计算, 以进样量的常用对数为横坐标, 峰面积积分值的常用对数为纵坐标, 得回归方程  $Y = 0.854 4X + 4.995 2$ , 线性范围 2.56 ~ 7.68 μg。

**2.3.5 精密度试验** 精密吸取同一对照品溶液, 按 2.3.2 项下条件连续进样 6 次, 结果耐斯糖峰面积积分值的 RSD 1.3%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.6 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 按 2.3.2 项下条件进样, 结果耐斯糖峰面积积分值的 RSD 1.5%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.3.7 重复性试验** 取 6 份巴戟天生品, 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.2 项下条件测定, 计算耐斯糖峰面积积分值的 RSD 0.6%, 表明本方法重复性良好。

**2.3.8 加样回收率试验** 精密称取已知耐斯糖含

量的巴戟天样品 6 份,每份约 0.25 g,各精密加入耐斯糖对照品溶液 56 mL,按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.3.2 项下条件测定,计算平均加样回收率 101.85%,RSD 1.4%。

### 2.4 单因素试验考察

**2.4.1 软化方法** 取巴戟天药材 50 g,分别用水蒸制 30 min,闷润 5 h,间歇性喷淋 5 h,包裹潮湿纱布间歇性喷淋 5 h 处理。采用综合评分法评价,综合评分 = 0.3X/X<sub>max</sub> + 0.3Y/Y<sub>max</sub> + 0.4Z/Z<sub>max</sub>, X, Y, Z 分别为甲基异茜草素-1-甲醚、水晶兰苷、耐斯糖测定值, X<sub>max</sub>, Y<sub>max</sub>, Z<sub>max</sub> 分别为各自对应的最大测定值,满分为 1.0 分。结果生品、蒸品、润品、淋品、布包淋品的综合评分分别为 0.835, 0.750, 0.881, 0.714, 0.834 分。故选择润法作为巴戟天的软化方法。

**2.4.2 加水量** 取巴戟天药材 50 g,在软化过程中,发现当加水量低于药材 0.8 倍量时,不能达到完

全软化的效果,致使药材内外不均匀,不能起到辅料的作用。故正交试验中最小水平设定为 0.8 倍量。

**2.4.3 干燥方法** 取巴戟天药材 50 g,分别采用微波干燥、烘干法和自然干燥 3 种干燥方式,结果综合评分分别为 0.655, 0.892, 0.902 分。微波干燥法易致样品焦糊,且不易控制参数;而采用自然干燥和烘干方式,测定结果无显著差异,但自然干燥需要时间较长,故选择烘干法作为巴戟天软化切制后的干燥方式。

**2.5 正交试验优选** 依据软化切制的生产实际,在单因素试验基础上,选择加水量、闷润时间、闷润温度、切段长度为考察因素,每个因素选取 3 个水平。称取巴戟天药材 18 份,每份约 30 g,以甲基异茜草素-1-甲醚、水晶兰苷及耐斯糖质量分数的综合评分为指标,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验。试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。

表 1 巴戟天软化和切制工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of softening and cutting process of Moridae Officialis Radix

No.	A 加水量 /倍	B 闷润时间 /h	C 闷润温度 /℃	D 切段长度 /mm	甲基异茜草素-1- 甲醚/%	水晶兰苷 /%	耐斯糖 /%	综合评分 /分	浸出物 /%
1	0.8	5	30	5~10	0.046 8	4.031 3	28.289 7	0.713	73.588
2	0.8	7	40	10~15	0.042 7	3.010 0	46.511 6	0.739	74.613
3	0.8	9	50	15~20	0.033 4	3.842 3	57.6279	0.797	74.797
4	1.0	5	40	15~20	0.039 7	5.073 8	50.486 1	0.866	73.661
5	1.0	7	50	5~10	0.039 2	3.958 7	56.048 1	0.831	73.103
6	1.0	9	30	10~15	0.045 6	4.161 5	64.767 7	0.938	73.965
7	1.2	5	50	10~15	0.039 3	5.073 8	43.991 9	0.823	71.954
8	1.2	7	30	15~20	0.036 6	3.964 3	41.501 6	0.725	74.840
9	1.2	9	40	5~10	0.038 5	3.958 7	56.040 6	0.827	75.111

注:综合评分计算同单因素试验,浸出物质量分数只作为参考指标,未加入数据分析中。

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

方差来源	SS	MS	F	P
A	0.026	0.013	26.00	<0.05
B	0.012	0.006	12.00	>0.05
C(误差)	0.001	0.000 5	1.00	
D	0.003	0.001 5	3.00	>0.05

注: F<sub>0.05</sub>(2, 2) = 19。

由表 1 可知,各因素对综合评分的影响顺序为 A > B > D > C。以极差最小的 C 因素为误差项进行方差分析,结果发现 A 因素具有显著性影响,因素 B, D 均无显著性差异。结合生产实际,确定最佳软

化切制工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>,即加水量 1.0 倍,闷润时间 9 h,闷润温度 50 ℃,切段长度 10~15 mm。取巴戟天药材约 30 g,共 3 份,按最佳软化切制工艺制备 3 份样品,结果甲基异茜草素-1-甲醚、水晶兰苷、耐斯糖平均质量分数分别为 0.045%, 5.074%, 63.202%, RSD 依次为 0.6%, 0.04%, 0.3%。按 2010 年版《中国药典》要求测定水浸出物质量分数分别为 75.014%, 74.732%, 74.206%。说明优选的软化切制工艺稳定可行。

### 3 讨论

2010 年版《中国药典》规定巴戟天为切段入药,附录中规定长段的长度 10~15 mm,短段的长度 5~10 mm,考虑到巴戟天的质地,切段过长可能会

造成后续炮制处理(如盐炙和甘草水制的过程)中辅料吸收不完全;切段过短则耗费人力、物力,还可能造成伤水。本文对加水量进行考察,在单因素试验基础上,在正交试验中加入浸出物含量测定,结果表明加水量为1.0倍时合理可行,不仅能达到闷润的目的,也不会致使水过量剩余,使有效成分流失。

巴戟天中主要活性成分有蒽醌类、环烯醚萜苷类、寡糖类成分,其中游离蒽醌类成分具有补益作用<sup>[7]</sup>;环烯醚萜苷类成分具有较强的抗炎镇痛作用,是巴戟天祛风湿的主要有效成分<sup>[8-9]</sup>;寡糖类成分具有促进血管生成、促进精子形成、抗抑郁等药理作用<sup>[10-13]</sup>,2010年版《中国药典》中收录的巴戟天指标性成分为寡糖类成分耐斯糖。本文以此三类成分为指标进行综合加权评分,能够合理有效地优选巴戟天的软化切制工艺,为该药材饮片的制备提供参考。

#### [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,2010:75-76.  
[2] 丁安伟,孙秀梅. 中药炮制学[M]. 北京:科学出版社,2005:159.  
[3] 苏德民,沈烈行,王爱武. 现代中药炮制设备及制法[M]. 济南:山东科学技术出版社,2002:218.

[4] 景海漪,崔妮,史辑,等. 巴戟天及不同炮制品蒽醌含量比较研究[J]. 亚太传统医药,2014,10(1):21-23.  
[5] 梁英娇,徐吉银,丁平. 巴戟天不同部位及混伪品中水晶兰苷的含量测定[J]. 中药新药与临床药理,2008,19(1):48-50.  
[6] 景海漪,史辑,崔妮,等. 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[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(17):20-23.  
[7] 陈敏,陈红,杨成梓. 不同炮制方法对巴戟天中总蒽醌含量的影响[J]. 亚太传统医药,2013,9(1):38-39.  
[8] 徐吉银,梁英娇,丁平. 炮制方法对巴戟天有效成分水晶兰苷含量的影响[J]. 中药材,2007,30(1):20-22.  
[9] 王玉磊,黄世敬,迟德军,等. 巴戟天中主要环烯醚萜苷的稳定性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(21):65-68.  
[10] 陈地灵,帅欧,林励,等. 炮制方法对巴戟天寡糖类成分影响的研究[J]. 中国药房,2012,23(3):217-220.  
[11] 吴向维,李洪,邵艳华,等. 巴戟天寡糖在提取过程中化学稳定性的研究[J]. 中国药学杂志,2014,49(2):102-105.  
[12] 刘硕,马方励,李养学,等. 巴戟天及不同盐与炮制品中糖类成分 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(4):106-110.  
[13] 邓少东,张鹏,林励,等. 单向灌注法研究巴戟天低聚糖的大鼠肠吸收特性[J]. 中国中药杂志,2015,40(1):134-140.

[责任编辑 刘德文]