

## 饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天主要化学成分的 含量差异分析

余意<sup>1</sup>, 康利平<sup>2</sup>, 郝庆秀<sup>2\*</sup>, 周利<sup>2</sup>, 杨健<sup>2</sup>, 朱龙波<sup>2,3</sup>, 胡明华<sup>1</sup>, 马方励<sup>1</sup>, 郭兰萍<sup>2\*</sup>

(1. 无限极(中国)有限公司, 广州 510663;

2. 中国中医科学院中药资源中心 道地药材国家重点实验室培育基地, 无限极中草药品质研究  
联合实验室, 北京 100700; 3. 北京中研百草检测认证有限公司, 北京 100700)

**[摘要]** 目的:考察目前市场上的饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天中主要化学成分的含量差异。方法:在主要产区 and 国内主流药材市场上,收集饮片巴戟天41批、巴戟肉32批、盐巴戟天10批;在前期对巴戟天药材中糖类成分研究的基础上,利用超高压液相色谱飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术鉴别饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天中的主要的差异成分,利用UPLC对主要成分含量进行测定,并结合热图对三者的主要化学成分的含量进行差异分析。结果:饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天三者的主要成分有显著差别,表现在果糖、葡萄糖、蔗糖以及低聚糖GF<sub>n</sub>的含量及种类两方面。巴戟肉和盐巴戟天中10种低聚糖GF<sub>n</sub>(n=2~11)的含量均分别低于饮片巴戟天中相应成分的含量( $P<0.01$ ),巴戟肉中果糖、葡萄糖、蔗糖的含量均高于巴戟天和盐巴戟天中相应成分的含量,差异极显著( $P<0.01$ )。饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天中水晶兰苷的质量分数分别为42.6, 39.8, 32.3 mg·g<sup>-1</sup>,其中巴戟天与盐巴戟天中的含量差异显著( $P=0.031$ );各批次的巴戟天和盐巴戟天中耐斯糖的质量分数均高于4.0%,高于2015年版《中国药典》(简称“药典”)标准的要求;而巴戟肉中耐斯糖的平均质量分数为14.7 mg·g<sup>-1</sup>,只有少数批次的巴戟肉符合药典要求。结论:蒸制使巴戟天中大部分的低聚糖转化成了果糖、葡萄糖、蔗糖;盐制使巴戟天中的各低聚糖和水晶兰苷的含量均显著降低,但是,各低聚糖含量降低的程度远小于巴戟肉。巴戟天和盐巴戟天的耐斯糖含量符合药典质量要求,巴戟肉中耐斯糖含量低于药典中限量要求。建议开展巴戟天药典标准的提升和修订,以保持药典的科学性、先进性和适用性,增强药典对巴戟天药材质量控制的导向作用。该研究结果为饮片巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天的质量标准修订及其功效物质基础研究提供了参考依据。

**[关键词]** 巴戟天; 巴戟肉; 盐巴戟天; 成分; 含量; 差异分析

**[中图分类号]** R284.2;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)02-0146-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20202063

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200728.1103.004.html>

**[网络出版日期]** 2020-7-28 15:52

### Analysis on Contents of Main Constituents in Prepared *Morindae Officinalis Radix*, *Morindae Officinalis Radix* Processed with Steaming and Salt

YU Yi<sup>1</sup>, KANG Li-ping<sup>2</sup>, HAO Qing-xiu<sup>2\*</sup>, ZHOU Li<sup>2</sup>, YANG Jian<sup>2</sup>, ZHU Long-bo<sup>2,3</sup>, HU Ming-hua<sup>1</sup>,  
MA Fang-li<sup>1</sup>, GUO Lan-ping<sup>2\*</sup>

(1. *Infinitus (China) Co. Ltd., Guangzhou 510663, China;*

2. *State Key Laboratory Breeding Base of Genuine Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica-Infinitus (China) Joint Laboratory Herbs Quality Research, National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;*

3. *Beijing CACMS-NRC Herbs Testing and Auth Entication Co. Ltd., Beijing 100700, China)*

**[收稿日期]** 20191206(004)

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2020YFC1712700,2017YFC1700701);国家自然科学基金重大项目(81891014)

**[第一作者]** 余意,博士,工程师,从事中药材及保健食品研究,Tel:020-80734767,E-mail:Yi.Yu@infinitus-int.com

**[通信作者]** \* 郝庆秀,博士,副研究员,从事中药质量研究,Tel:010-64087964,E-mail:haoqingxiu@163.com;

\* 郭兰萍,博士,研究员,从事中药资源生态研究,Tel:010-64087856,E-mail:glp01@126.com

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the differences of main components of prepared *Morindae Officinalis Radix*, *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming and salt. **Method:** A total of 83 batches samples were collected in the market, including 41 batches of prepared *Morindae Officinalis Radix*, 32 batches of *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming and 10 batches of *Morindae Officinalis Radix* processed with salt. The contents of main components were determined with high performance liquid chromatography coupled with four-pole tandem time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS), and the differences were analyzed. **Result:** The main components of prepared *Morindae Officinalis Radix* and *Morindae Officinalis Radix* processed with salt were fructo-oligosaccharides (GF $n$ ), monotropein. The main components of *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming were fructose, glucose, sucrose, and monotropein. The main differences of prepared *Morindae Officinalis Radix* and *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming and salt were the contents of fructose, glucose, sucrose and GF2-GF11. The contents of GF2-GF11 in *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming and salt were all lower than those in prepared *Morindae Officinalis Radix*, with extremely significant differences ( $P < 0.01$ ). The contents of fructose, glucose and sucrose in *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming were significantly higher than those in prepared *Morindae Officinalis Radix*. The content of GF3 in each batch was higher than  $40.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  in prepared *Morindae Officinalis Radix* and *Morindae Officinalis Radix* processed with salt, and significantly higher than the limit in *Chinese Pharmacopoeia*. However, there were only a few batches of *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming in line with the requirements of *Chinese Pharmacopoeia*. The contents of monotropein in processing *Morindae Officinalis Radix* and *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming and salt were 42.6, 39.8, 32.3  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , respectively. The content of monotropein in prepared *Morindae Officinalis Radix* was higher than that in *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming. The content of monotropein in *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming was higher than that in *Morindae Officinalis Radix* processed with salt. Compared with the components of GF2-GF11, the effect of processing with steaming process and/or salt on monotropein content was relatively less. **Conclusion:** The contents of GF2-GF11 components in prepared *Morindae Officinalis Radix* were converted into fructose, glucose and sucrose after processing with steaming and/or salt. The results showed that the content limit of *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming needs to be revised in line with the requirements of *Chinese Pharmacopoeia* for the quality control of *Morindae Officinalis Radix*. The results provide a reference basis for revising the quality standards and studying the pharmacodynamic material basis of prepared *Morindae Officinalis Radix*, *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming and salt.

**[Key words]** prepared *Morindae Officinalis Radix*; *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming; *Morindae Officinalis Radix* processed with salt; component; content; differential analysis

中药巴戟天是我国著名的四大南药之一。巴戟天具有补肾阳,强筋骨,祛风湿的功效,主治阳痿遗精、宫冷不孕、月经不调、少腹冷痛、风湿痹痛、筋骨痿软。现代药理研究发现,巴戟天有显著地抗抑郁活性、具有促进免疫、抗应激、保护心血管、调节肠道微生物菌群的作用<sup>[1-3]</sup>。文献报道巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天均能不同程度改善肾阳虚大鼠症状,其中,盐巴戟天效果比巴戟肉、巴戟天显著<sup>[4]</sup>。巴戟肉和盐巴戟天都可以改善大鼠甲状腺功能低下的症状,盐巴戟天的治疗效果比相同剂量的巴戟肉好<sup>[5]</sup>。水晶兰苷等环烯醚萜苷类具有抗炎镇痛作用<sup>[6-7]</sup>;菊粉型低聚糖(fructo-oligosaccharide, GF $n$ )

具有促进免疫、抗抑郁的药理作用,提高免疫力和保护心血管系统,具有降低脂类和胆固醇水平、帮助肠道吸收离子、刺激人结肠双歧杆菌生长的作用<sup>[8-11]</sup>。GF $n$ 和水晶兰苷是巴戟天中重要药理活性成分<sup>[12-13]</sup>。文献报道<sup>[14-15]</sup>不同炮制方法对巴戟天寡糖含量和水晶兰苷含量影响,该方法需要用不同的方法分别提取寡糖和水晶兰苷,然后分别进行含量测定,方法繁琐耗时,并且容易造成目标成分的损失而导致结果准确性差。文献报道所用的实验炮制样品由实验室小批量制备,样品的制备量小,制备批次少,结果不能代表目前市场流通中由工厂化大批量生产的巴戟天饮片的质量<sup>[15-16]</sup>。本研究团队

前期鉴定了巴戟天中主要成分GF2~GF20的结构<sup>[12]</sup>,建立了GF2~GF11的含量测定方法<sup>[13]</sup>,并发现巴戟天和巴戟肉中果糖、葡萄糖、蔗糖和GF2~GF11含量差别较大。目前巴戟天被广泛应用于药品和保健品的原料。随着目前市场对巴戟天需求量的增加和对巴戟天机制作用研究的逐步深入,需要全面考察目前市场流通中的饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天的质量。本研究在巴戟天主产区 and 国内主流中药材市场上,收集饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天样品,在前期研究的基础上<sup>[12-13]</sup>,对饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天的主要成分的差异进行鉴别比较和含量测定,以期对饮片巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天的药理研究和综合开发利用提供参考依据。同时,为新一版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)标准的提升和修订提供参考依据。

## 1 材料

Acquity UPLC-I-Class型超高压液相色谱串联Xevo-G2-S型Q-TOF/MS质谱仪,Masslynx 4.1质谱工作站,Acquity H-Class UPLC超高压液相色谱(包括四元溶剂管理器、自动进样器、蒸发光散射检测器,Empower 3工作站)(美国Waters公司);MS105DU型1/10万分析天平(瑞士梅特勒-托利多),5810R型离心机(德国Eppendorf公司),KQ-100DE型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司),0.20 μm注射器式滤器(美国Pall公司)。

2016年8月至2017年11月分别于在福建省永定、南靖、广东省郁南、德庆、高要、广西岑溪、广西苍梧等饮片巴戟天主产区市场以及国内主流中药材市场收集了83批样品,其中,饮片巴戟天(去木芯)41批次、巴戟肉32批次、盐巴戟天10批次,经中国中医科学院中药资源中心郝近大研究员鉴定为茜草科植物巴戟天*Morinda officinalis*的干燥根,药材标本现保存于中国中医科学院中药资源中心。

D-(+)-葡萄糖(批号W-F012-150730,纯度≥98%),蔗糖(批号Z-F038-160715,纯度≥98%),蔗果三糖(GF2,批号Z-F005-151203,纯度≥98%),GF3(批号N-F016-150617,纯度≥98%),1F-果呋喃糖基耐斯糖(GF4,批号11965-201501,纯度≥98%),水晶兰苷(批号S-J036-160429,纯度≥99%),去乙酰车叶草苷酸(批号Q-110-180517,纯度≥99%),以上对照品均由北京融城鑫德科技有限公司提供;蔗果六塘(GF5,批号BP4063,纯度≥98%),蔗果七糖(GF6,批号BP4064,纯度≥98%),蔗果八糖(GF7,批号BP4065,纯度≥98%),蔗果九糖(GF8,批号BP4066,

纯度≥98%),蔗果十糖(GF9,批号BP4067,纯度≥98%),以上对照品购于成都曼思特生物科技有限公司;蔗果11糖(GF10,批号E1110-07EC2,HPAEC:69.4% DP11,9.5% DP10,17.6% DP12,2.7% DP13),蔗果12糖(GF11,批号E1204-10EC27,HPAE:75.2% DP12,16.1% DP11,4.1% DP13),购于法国Elicityl-Oligotech公司。

乙腈、甲醇、氨水(色谱级,德国Merck公司);超纯水由Milli-Q纯水系统制备(电阻≥18.2 MΩ,美国Millipore公司)。

## 2 方法

**2.1 样品预处理** 所有样品经冷冻干燥、粉碎、过30目筛,精密称取0.100 0 g,加入50%甲醇水溶液10.0 mL,室温超声30 min,超声频率40 kHz,转速12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,转子半径10.0 cm,取上清液;重复提取1次,合并上清液,经0.22 μm微孔滤膜过滤,室温避光保存,备用<sup>[6]</sup>。

**2.2 对照品溶液制备** 分别精密称取适量对照品D-果糖,D-(+)-葡萄糖,蔗糖,GF2,GF3,GF4,GF5,GF6,GF7,GF8,GF9,GF10,GF11,水晶兰苷,加50%甲醇水溶液,超声溶解,配制成质量浓度分别2.300, 2.575, 2.475, 1.372, 1.425, 1.681, 1.656, 1.606, 1.412, 1.450, 1.638, 0.984, 0.998, 1.675 g·L<sup>-1</sup>的混合对照品储备液,取混合对照品储备液,用50%甲醇水溶液,依次按1,2,4,8,16,32,64,128倍稀释,配成8个质量浓度的标准溶液<sup>[13]</sup>。

## 2.3 主要化学成分定性鉴别

**2.3.1 色谱条件** ACQUITY UPLC BEH Amide C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm),流动相0.1%氨水乙腈(A)-0.1%氨水(B)洗脱梯度(0~1.0 min,98%~90%A;1.0~2.0 min,90%~70%A;2.0~5.5 min,70%~64%A;5.5~7.0 min,64%A;7.0~14.0 min,64%~55%A;14.0~15.0 min,55%A;15.0~16.0 min,55%~98%A;16.0~19.0 min,98%A);柱温30 °C,流速为200 μL·min<sup>-1</sup>,进样量0.6 μL。

**2.3.2 质谱条件** 离子化模式为电喷雾负离子(ESI<sup>-</sup>)模式数据采集,m/z 50~2 000 Da,毛细管电压2.0 kV;锥孔电压40 V,电离源温度120 °C,脱溶剂温度450 °C;脱溶剂气流速900 L·h<sup>-1</sup>。低能量通道碰撞能量为6 eV,高能量扫描碰撞能量20~50 eV。

**2.3.3 数据处理** 利用MassLynx 4.1工作站和UNIFI 1.7软件,对主要代谢组分进行峰提取和鉴定,并与对照品的色谱和质谱信息进行比对,确证所匹配化合物的结构以及其相应碎片信息,鉴定主

要化学成分。

### 2.4 主要化学成分含量测定

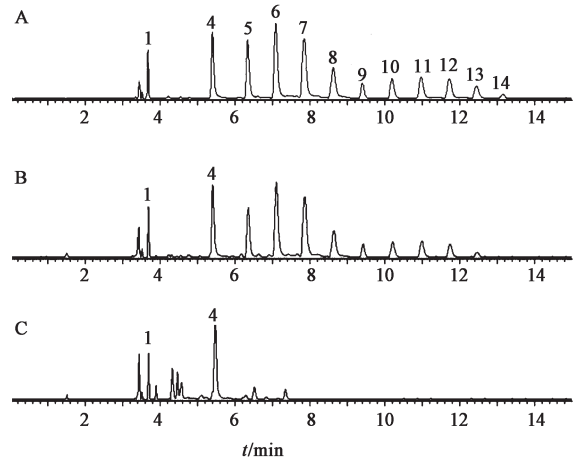
**2.4.1 色谱条件**<sup>[13]</sup> ACQUITY UPLC BEH Amide C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相 0.1% 氨水乙腈(A)-0.1% 氨水(B)洗脱梯度(0~1.0 min, 98%~70%A; 1.0~3.0 min, 70%A; 3.0~6.5 min, 70%~55%A; 6.5~10.0 min, 55%A; 10.0~10.5 min, 55%~98%A; 10.5~15 min, 98%A), 柱温为 30 °C, 流速为 400 μL·min<sup>-1</sup>; 进样量 0.6 μL; ELSD 漂移管温度 50 °C, 载气(N<sub>2</sub>)压力 275 kPa。

**2.4.2 数据处理** 利用 Empower 3 工作站, 对 UPLC-ELSD 色谱峰数据进行处理, 采用外标法, 以峰面积积分的自然对数值为纵坐标, 含量的自然对数值为横坐标, 绘制工作曲线, 测定样品中主要成分的含量; 利用 OriginPro 8.5 软件进行数据分析, 统计结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 数据进行 *t* 检验, *P*<0.05 表示具有显著性差异; 利用 MeV (Multiple Experiment Viewer) 4.9.0 软件对饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天的主要成分的含量绘制热图。

## 3 结果与讨论

**3.1 主要化学成分定性鉴别** 按 2.3 项色谱条件和质谱条件, 参考前期巴戟天低聚糖鉴定研究<sup>[12]</sup>, 对饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天主要成分进行分析, 其基峰离子流色谱见图 1。由图 1 可见, 整体上, 饮片巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天之间的差异主要是在 GF2~GF11 的种类及其含量上的差异。巴戟肉中 GF2~GF11 的离子流色谱峰的信号强度远低于饮片巴戟天和盐巴戟天, 并且, 在 4.0~4.8 min 的离子流色谱峰的信号强度大于饮片巴戟天和盐巴戟天, 水晶兰苷与去乙酰车叶草苷酸不能分离, 但是它们与糖类成分分离完全, 蔗糖与 GF2~GF11 也分离完全。

通过比较不同巴戟天 LC-MS 的色谱信息可知, 在巴戟肉的基峰离子流色谱(图 1C)中, 4.0~4.8 min 明显较巴戟天中多出 3 个色谱峰。通过质谱图(图 2)可知, 3 个化合物均显示 [M-H]<sup>-</sup> 的准分子离子峰 *m/z* 323.098 8, 323.097 0, 323.098 0; [2M-H]<sup>-</sup> 的离子峰 *m/z* 647.204 3, 647.201 8, 647.202 5; [M-2H+Na]<sup>-</sup> 的加合离子峰 *m/z* 345.080 9, 345.079 0, 345.080 9; [2M-2H+Na]<sup>-</sup> 加合离子峰 *m/z* 669.185 1, 669.185 2, 669.184 4; 提示 3 个化合物的分子式均为 C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>。另外, 3 个化合物均有特征碎片离子 *m/z* 161.045 6, 113.024 0, 101.024 5, 71.102 6, 这些特征碎片离子与果糖和葡萄糖的特征碎片离子相似。由此推测 3 个化合物均为二糖脱一分子水的产物, 他们互为同



A. 巴戟天; B. 盐巴戟天; C. 巴戟肉; 1. 水晶兰苷; 2. 果糖; 3. 葡萄糖; 4. 蔗糖; 5. GF2; 6. GF3; 7. GF4; 8. GF5; 9. GF6; 10. GF7; 11. GF8; 12. GF9; 13. GF10; 14. GF11(图 3 同)

图 1 饮片巴戟天(A), 盐巴戟天(B), 巴戟肉(C)的 LC-MS 基峰离子流

Fig. 1 Base peak ion chromatograms of the extracts of processing *M. officinalis radix* (A), *M. officinalis radix* with salt process (B), and *M. officinalis radix* with steaming process (C) by LC-MS

分异构体, 按保留时间的先后顺序初步判断<sup>[13]</sup>, 可能分别为果糖双糖脱一分子水的产物、蔗糖脱一分子水的产物和葡萄糖双糖脱一分子水的产物。蔗糖及 GF2~GF11 的鉴定结果同前期研究报道<sup>[12]</sup>。

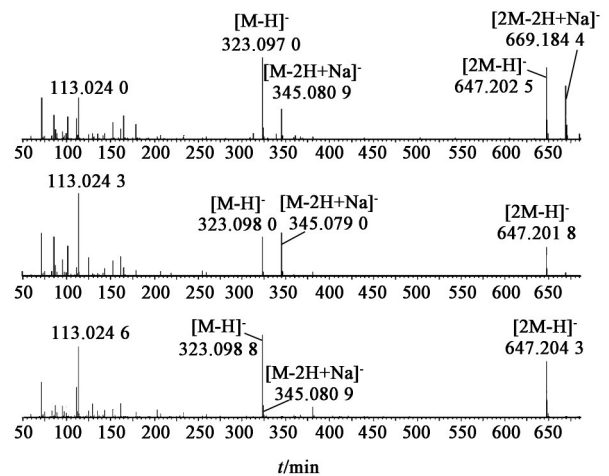


图 2 巴戟肉中二糖脱水产物的质谱

Fig. 2 MS fragment of disaccharide dehydration product in negative ion mode

**3.2 主要化学成分含量测定** UPLC 色谱图见图 3。实验研究发现, 水晶兰苷与去乙酰车叶草苷酸以及二者 1:1 混合溶液, 具有相同色谱行为和信号响应, 即相同的浓度有相同的响应值和保留时间。因此, 本实验中对水晶兰苷及去乙酰车叶草苷酸成

分的含量进行整体测定,结果以水晶兰苷计。通过系统适宜性研究,发现水晶兰苷的质量分数在3.27~837.00 mg·L<sup>-1</sup>具有良好的线性关系( $R^2=0.9993$ ),检测下限(LOD)和定量下限(LOQ)分别为1.25,3.27 mg·L<sup>-1</sup>;重复性RSD为3.1%,稳定性RSD为4.6%,回收率在98.50%~105.71%,平均回收率为101.67%。果糖、葡萄糖、蔗糖以及低聚糖GF<sub>n</sub>( $n=2\sim11$ )等13种成分的系统适宜性实验结果同前期报道<sup>[13]</sup>,14种成分的线性范围和检测限实验结果见表1。饮片巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天中水晶兰苷、果糖、葡萄糖、蔗糖、以及GF2~GF11的含量测定结果见表2。

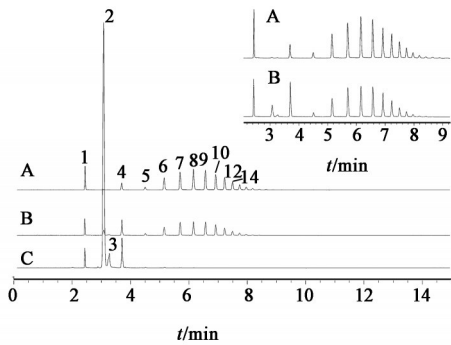


图3 饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟的UPLC-ELSD  
Fig. 3 UHPLC-ELSD chromatographs of extracts from processing Morindae Officinalis Radix

由表2和图3可知,饮片巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天之间主要差异是果糖、葡萄糖、蔗糖含量上的差异,以及GF2~GF11的种类及其含量上的差异。巴戟肉中果糖、葡萄糖、蔗糖的含量极显著地高于饮片巴戟天和盐巴戟天( $P<0.01$ );巴戟肉中GF2~GF11的含量分别极显著低于饮片巴戟天及盐巴戟天中相应成分的含量( $P<0.01$ );巴戟肉中果糖,葡萄糖,蔗糖,GF2~GF11等13种糖的总质量分数

表2 饮片巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天中14种成分含量测定( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Results of 14 components in prepared Morindae Officinalis Radix, Morindae Officinalis Radix processed with steaming and salt ( $\bar{x}\pm s$ )  
mg·g<sup>-1</sup>

饮片	n	水晶兰苷	果糖	葡萄糖	蔗糖	GF2	GF3	GF4
巴戟天	41	42.6±2.1	14.0±2.1	7.3±1.0	39.0±1.7	48.4±7.9	74.8±3.5	75.1±2.9
巴戟肉	32	39.8±0.8	431.3±14.5 <sup>1)</sup>	127.9±6.7 <sup>1)</sup>	79.4±8.7 <sup>1)</sup>	10.4±4.1 <sup>1)</sup>	14.7±2.1 <sup>1)</sup>	10.3±1.8 <sup>1)</sup>
盐巴戟	10	32.3±1.6 <sup>2)</sup>	85.7±11.2 <sup>1)</sup>	30.4±2.9 <sup>1)</sup>	40.3±2.5	27.5±1.2 <sup>1)</sup>	55.5±1.6 <sup>1)</sup>	54.8±1.8 <sup>1)</sup>
饮片	n	GF5	GF6	GF7	GF8	GF9	GF10	GF11
巴戟天	41	87.7±2.9	76.0±2.7	69.5±2.6	61.4±2.7	50.5±2.3	42.7±2.6	51.4±3.9
巴戟肉	32	10.9±1.9 <sup>1)</sup>	7.6±1.5 <sup>1)</sup>	8.1±2.3 <sup>1)</sup>	4.8±1.4 <sup>1)</sup>	2.5±1.9 <sup>1)</sup>	2.0±0.7 <sup>1)</sup>	1.5±1.1 <sup>1)</sup>
盐巴戟	10	63.4±2.0 <sup>1)</sup>	58.1±2.3 <sup>1)</sup>	52.8±2.5 <sup>1)</sup>	46.2±2.7 <sup>1)</sup>	40.5±2.2 <sup>1)</sup>	31.9±2.6 <sup>1)</sup>	37.8±3.1 <sup>1)</sup>

注:与巴戟天相比较<sup>1)</sup> $P<0.01$ ,<sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

表1 巴戟天中14种成分的线性范围和检测限

Table 1 Linear range and LOD of 14 constituents in Morindae Officinalis Radix

化合物	线性方程	线性范围 /mg·L <sup>-1</sup>	LOD /mg·L <sup>-1</sup>	LOQ /mg·L <sup>-1</sup>
水晶兰苷	$Y=1.4662X+1.4022$	3.27~837.00	1.25	3.27
果糖	$Y=1.9389X-0.3977$	35.76~759.31	9.88	34.84
葡萄糖	$Y=1.7816X+0.0591$	41.07~860.28	10.92	41.37
蔗糖	$Y=1.7921X+0.2933$	40.11~821.07	12.15	39.49
GF2	$Y=1.7581X+0.0348$	40.94~920.24	13.28	43.34
GF3	$Y=1.8185X-0.0891$	45.76~948.49	14.01	45.49
GF4	$Y=1.8517X+0.0412$	55.61~1122.96	17.13	54.01
GF5	$Y=1.9134X-0.2088$	53.71~1107.26	16.35	52.88
GF6	$Y=1.9703X-0.3579$	53.06~1076.38	17.01	53.98
GF7	$Y=2.0107X-0.5247$	87.94~1431.58	28.19	88.71
GF8	$Y=2.0016X-0.4377$	95.21~1461.08	29.45	96.10
GF9	$Y=2.0179X-0.9976$	105.72~1647.11	31.49	101.48
GF10	$Y=2.1300X-0.9627$	129.00~1980.07	40.15	126.14
GF11	$Y=2.3701X-2.1007$	130.61~2000.49	41.55	125.99

注: $R^2$ 均 $\geq 0.9992$ 。

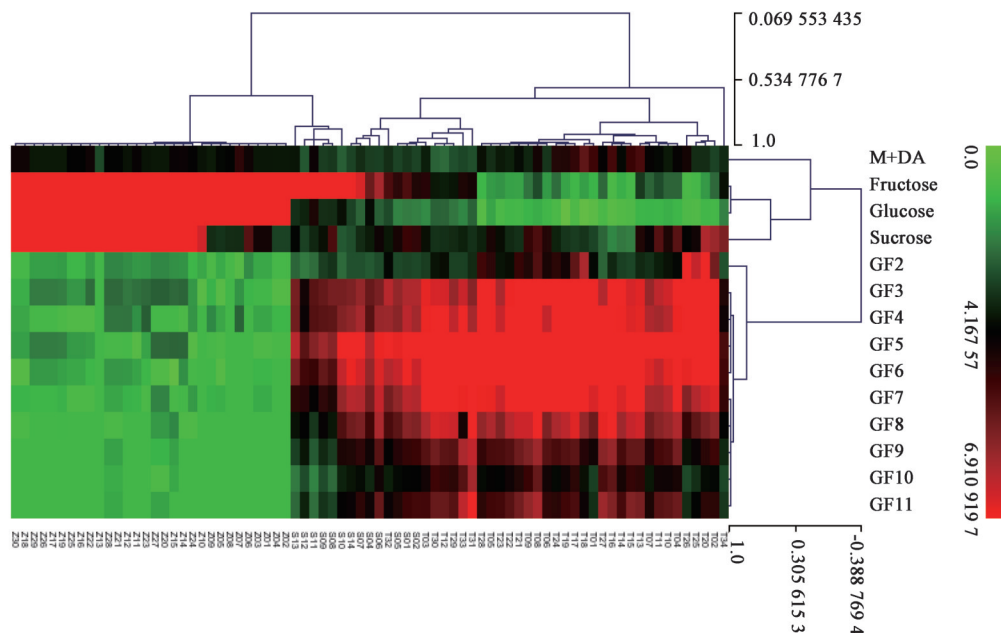
(718.3 mg·g<sup>-1</sup>),高于饮片巴戟天中的13种糖的总质量分数(694.9 mg·g<sup>-1</sup>),具有显著性差异( $P<0.05$ )。这一现象揭示了巴戟天药材中其他更高聚合度的低聚糖或多糖(GF<sub>n</sub>, $n\geq 12$ ),在蒸制过程中转变成了果糖、葡萄糖、蔗糖。各批次的饮片巴戟天和盐巴戟天中GF3的质量分数均高于40 mg·g<sup>-1</sup>,显著高于2020年版《中国药典》标准的要求。但巴戟肉中GF3的平均质量分数只有14.7 mg·g<sup>-1</sup>,只有少数批次的巴戟肉样品符合2020年版《中国药典》标准。饮片巴戟天和巴戟肉中果糖,葡萄糖,蔗糖,GF2~GF11测定结果与前期单独对巴戟天中糖类成分的测定结果一致<sup>[13]</sup>。各批次的饮片巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天中水晶兰苷

的质量分数在  $25.1\sim 63.5\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 饮片巴戟天 ( $42.6\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )与巴戟肉 ( $39.8\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )的差异不显著, 巴戟天与盐巴戟天 ( $32.3\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )相比具有显著性差异 ( $P<0.05$ )。结果提示, 在巴戟天蒸制成巴戟肉的过程中, 大部分 GF3~GF11 转化成了果糖、葡萄糖、蔗糖。盐制也降低了 GF3~GF11 的含量, 但是, 降低的程度远小于巴戟肉; 同时, 盐制使水晶兰苷成分的含量显著降低, 降低的程度比巴戟肉中降低的程度高。本研究结果水晶兰苷含量与文献[14-15]报道巴戟天经炮制后水晶兰苷的含量下降的结果一致, 但是, 本研究结果比该文献报道的含量结果高, 这可能与该文献中样品提取液的制备方法过于繁琐造成目标成分的损失有关。本研究方法实现了同时测定水晶兰苷和糖类的含量。

在图3(C)中并没有检出二糖脱一分子水产物的信号, 与图1(C)质谱信息存在差异, 产生这一现象的原因可能有2个方面: 一方面, 因为果糖和葡萄糖的质谱信号弱(图1中看不到这两个单糖的信号), 二糖脱一分子水的产物的质谱信号可能较强, 所以在质谱图中二糖脱一分子水产物的信号明显; 另一方面, 巴戟肉中果糖、葡萄糖的含量很高, 信号很强, 掩盖了二糖脱一分子水产物的信号; 或者部分二糖脱一分子水产物由果糖、葡萄糖的碎片离子在质谱离子源中生成, 所以在UPLC定量分析中没有检测到。因此, 准确鉴定巴戟肉中二糖脱一分子

水产物的结构, 需要用对照品进一步实验研究。

**3.3 主要成分含量的差异分析** 以不同批次的饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天对果糖、葡萄糖、蔗糖以及 GF2~GF11 的含量构建的热图, 结果见图4。图4右侧色带的颜色由绿及黑到红, 表示含量由低到高。在饮片巴戟天中, 果糖、葡萄糖呈绿色, GF3~GF7呈红色, 其他成分呈红或黑色; 提示各批次的饮片巴戟天中 GF3~GF7 的含量较高。巴戟肉中果糖、葡萄糖和蔗糖呈红色, 各 GF2~GF11 呈绿色。提示各批次的巴戟肉中果糖、葡萄糖和蔗糖含量较高, 而 GF2~GF11 的含量急剧降低。各批次的盐巴戟天中, 14 中成分的颜色介于饮片巴戟天和巴戟肉之间。从各批次样品聚类结果(热图上侧的树形结构)看, 所有样品聚为两类, 饮片巴戟天与部分盐巴戟天聚为一类, 巴戟肉与另一部分盐巴戟天聚为一类。分析可能的影响因素有2个方面, 一方面, 不同批次的盐巴戟天来源于多个厂家, 不同厂家的盐制条件控制可能不同, 从而导致了糖类成分含量的差异显著; 另一方面, 可能与不同厂家的盐巴戟天原料来源不同有关。在饮片巴戟天中, 不同批次之间的差别可能与原料的产地来源有关<sup>[13]</sup>。从各成分含量的聚类结果(热图右侧的树形结构)看, 各批次样品的水晶兰苷含量聚为一类, GF2~GF11 聚为一类。由热图结果提示, 水晶兰苷在蒸制或盐制的过程中含量的变化程度远小于果糖、葡萄糖、蔗



M+DA. 水晶兰苷

图4 以14种成分含量为变量的饮片巴戟天(T), 巴戟肉(Z)和盐巴戟天(S)的热图分析

Fig. 4 Analysis of some batches of processing *Morindae Officinalis Radix* (T) and *Morindae Officinalis Radix* with steaming process (Z) and *Morindae Officinalis Radix* with salt process (S) with contents of 14 components as variables

糖和GF2~GF11。以2015年版《中国药典》标准中GF3的含量计,目前市场流通中多数批次的巴戟肉样品不符合要求。在药典标准的提升或修订中,可以考虑以水晶兰苷的含量做为质量参考指标。

#### 4 讨论

本实验系统研究了饮片巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天的主要成分及其含量差异,样品收集于广东、广西、福建等巴戟天主产地及国内主流药材市场,结果能反映目前市场上饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天的质量情况。巴戟天和盐巴戟天中的主要化学成分是水晶兰苷和GF2~GF11;巴戟肉中主要成分为水晶兰苷、果糖、葡萄糖和蔗糖。蒸制、盐制均使巴戟天中GF2~GF11含量降低,以蒸制降低的程度极其显著;盐制使巴戟天中水晶兰苷的含量显著降低。巴戟天和盐巴戟天中GF3的含量均不少于2015年版《中国药典》规定。但巴戟肉中GF3的含量只有个别批次符合规定。因此,建议开展巴戟天的标准提升和修订研究,制定更为合理的巴戟天标准,以保证药典的科学性、先进性和适用性,增强药典标准对巴戟天药材质量控制的导向作用和有效性控制。同时,建议加强巴戟天炮制过程的条件控制研究,为制定更加科学合理的巴戟天炮制工艺提供指导。建议深入开展巴戟天药理活性成分的研究,明确巴戟天药材补肾阳的功效物质基础。巴戟天中GF<sub>n</sub>的含量较高,具有较大的开发利用价值,在果糖、葡萄糖、蔗糖等物质的获取更为方便今天,通过蒸制使其特征性GF2-GF11转化为果糖、葡萄糖和蔗糖的方法是否合适,需要广泛深入研究。

#### [参考文献]

[1] AN L, YANG J C, YIN H, et al. Inulin-type oligosaccharides extracted from yacon produce antidepressant-like effects in behavioral models of depression [J]. *Phytother Res*, 2016, 30 (12): 1937-1942.

[2] 饶鸿宇,陈滔彬,何彦,等. 南药巴戟天化学成分与药理研究进展[J]. *中南药学*, 2018, 16(11):1567-1574.

[3] 黄世敬,张颖,王彦云. 巴戟天抗抑郁研究进展[J]. *世界中西医结合杂志*, 2013, 8(7):744-746.

[4] 娄勇军,王佳,黄玉秋,等. 巴戟天及其炮制品对肾阳虚大鼠HPA轴功能的改善作用[J]. *中成药*, 2018, 40(11):2535-2539.

[5] 翟旭峰,黄玉秋,史辑,等. 盐巴戟对肾阳虚大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴的调节作用[J]. *中成药*, 2017, 39(2):233-237.

[6] 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):1915-1918.

[7] ZHANG J H, XIN H L, XU Y M, et al. *Morinda officinalis* How-A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 213: 230-255.

[8] VARKI A. Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct[J]. *Glycobiology*, 1993, 3(2): 97-130.

[9] QIU Z L, LIU C L, GAO Z L, et al. The inulin-type oligosaccharides extract from *Morinda officinalis*, a traditional Chinese herb, ameliorated behavioral deficits in an animal model of post-traumatic stress disorder[J]. *Metabolic Brain Dis*, 2016, 31(5): 1143-1149.

[10] MENSINK M A, FRIJLINK H W, VAN DER V M K, et al. Inulin, a flexible oligosaccharide II: Review of its pharmaceutical applications [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 134:418-428.

[11] JOHNSON H K C, PINNELL L J, WASKOW A M, et al. Short-chain fructo-oligosaccharide and inulin modulate inflammatory responses and microbial communities in Caco2-bbe cells and in a mouse model of intestinal injury [J]. *J Nutr*, 2014, 144(11): 1725-1733.

[12] 郝庆秀,康利平,朱寿东,等. 基于UPLC-QTOF/MS<sup>E</sup>技术的巴戟天低聚糖成分的快速鉴别研究[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(6):1201-1208.

[13] HAO Q X, NAN T G, ZHOU L, et al. Rapid simultaneous quantification of fructooligosaccharides in *Morinda officinalis* by ultra - high performance liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(13): 2222-2230.

[14] 陈红裴,占柱,程再兴,等. 巴戟天与生巴戟天中水晶兰苷含量对比研究[J]. *中医学报*, 2013, 28(10): 1504-1505.

[15] 刘瑾,徐吉银,罗进辉,等. 不同产地巴戟天中水晶兰苷的含量测定[J]. *中成药*, 2010, 32(3):517-519.

[责任编辑 顾雪竹]