巴戟天中环烯醚萜苷含量分析及质量评估研究

梁静文　伍思强
肇庆市药品检验所，广东 肇庆 526020

摘要：目的：测定巴戟天中环烯醚萜苷类水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸的含量。方法：采用 HPLC 法。色谱条件:C_{18} 色谱柱（250mm×4.6mm，5μm），甲醇-0.1%磷酸（5:95）为流动相，流速为 1.0 mL/min，测定的波长为 235nm，柱温为 30℃。结果：水晶兰苷、去乙酰车叶草苷酸分别在 60.361-301.804 μg/mL 和 40.077-200.384 μg/mL 范围内呈良好的线性关系，线性范围宽，相关系数分别为 0.9997 和 0.9998。水晶兰苷的平均回收率为 97.9%(RSD=1.1%)(n=6)，去乙酰车叶草苷酸平均回收率为 97.6%(RSD=1.0%)(n=6)。结论：本研究方法简便，重现性好，可用于巴戟天环烯醚萜类主要成分的测定；含量测定结果表明炮制方法对巴戟天的质量也有影响。

关键词：巴戟天；水晶兰苷；去乙酰车叶草苷酸；含量测定

巴戟天为茜草科巴戟天属植物 *Morinda ojj:icinalis How* 的干燥根[1]。它的化学成分较为复杂，根据文献[2-3]报道，其中环烯醚萜类具有较强的抗炎镇痛作用。本文以环烯醚萜苷类[4]的主要成分：水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸为指标，建立 HPLC 含量测定方法，分析了炮制方法不同的巴戟天中二者的含量区别，为巴戟天药材的质量研究和开发利用提供参考依据[2]。

1 药材、试剂与仪器

1.1 材料

巴戟天药材以及其炮制品：巴戟天、巴戟肉和盐巴戟各 6 批，产地主要为广东，均经肇庆市药检所鉴定为茜草科巴戟天 *Morinda ojj:icinalis How* 的干燥根。水晶兰苷对照品（批号：111870-202305, 95.6%，中国食品药品质量检定研究院）；去乙酰车叶草苷酸对照品（批号：JB247609,99.2%，上海源叶生物科技有限公司）。

1.2 仪器

Agilengt 高效液相色谱仪 1200 型；Sartorius 光电天平 CPA225D 型；超声波清洗器 KQ-500DA 型；型恒温水浴锅 HWS-28 型。

1.3 试剂

甲醇（色谱纯）；磷酸（色谱纯，麦克林）；水溶液为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件[5]

色谱柱：Kromasil C_{18} 柱（250mm×4.6mm，5μm），流动相：甲醇-0.1%磷酸水溶液（5:95）；流速：1.0mL/min；进样量：5μL；检出波长：235nm。在此条件下，供试品溶液中水晶兰苷峰和去乙酰车叶草苷酸与其他峰分离良好，峰形对称，保留时间分别为 7.2 和 9.2。（图 1）

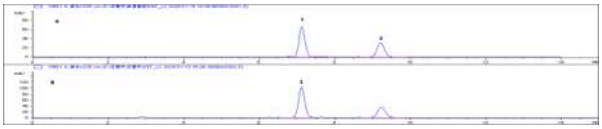

图 1　高效液相色谱图

水晶兰苷（1）、去乙酰车叶草苷酸（2） 对照品溶液；B-巴戟天溶液

2.2 对照品储备溶液的制备

精密称取水晶兰苷对照品 0.10425g 和去乙酰车叶草苷酸对照品 50.50mg，分别用 80%甲醇稀释至 50ml，制成水晶兰苷对照品储备液①(2.085 mg/mL)和去乙酰车叶草苷酸对照品储备液②(1.010 mg/mL)备用。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取巴戟天的样品粉末（过 2 号筛）0.5g，置锥形瓶中，加入 80%甲醇 100ml，冷浸 1 小时后，超声 30 分钟，滤过，残渣再超声 30 分钟提取 1 次；合并提取液，水浴蒸干，残渣用 80%甲醇溶解并转移定容至 10ml，即得[6]。

2.4 线性关系的考察

精密量取照品储备液①（2.085 mg/mL）1、2、3、4、5mL，分别置 25mL 容量瓶中；再精密量取对照品储备液②(1.010 mg/mL)0.75、1.5、2.25、2.5、3.75mL，分别置上述 25ml 容量瓶内，加 80%甲醇稀释至刻度，分别得 S1、S2、S3、S4 和 S5 五种标准浓度混合溶液，按“2.1 ”项下的色谱条件进行测定，得水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸

的回归方程（见表 1）。研究发现，两种成分在各自的浓度范围内具有很好的相关性。

表 1　线性关系考察

名称	线性回归方程	相关系数 r	线性范围 μg/ml
水晶兰苷	Y=6.0312x + 6.2459	r = 0.9997	226.12608
去乙酰车叶草苷酸	Y=5.6387x – 19.143	r = 0.9998	108.65243

2.5 精密度试验

取同一份供试品溶液，按“2.1 ”项下的色谱条件，重复进样 5 次，测定水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸峰面积。结果表明本实验精密度良好（见表 2）。

表 2　精密度试验结果

	1	2	3	4	5	平均	RSD%
水晶兰苷峰面积	228.45571	225.05680	226.12608	227.33276	226.39450	226.67317	0.6 %
去乙酰车叶草苷酸峰面积	109.48363	110.22840	108.65243	107.50324	108.95021	108.96358	1.0 %

2.6 重复性试验

取同一批次的巴戟天供试品，精密称取 6 份，按“1.2.1 ”项下的色谱条件连续测定。结果见表 3，表明本实验重复性良好。

表 3　重复性

序号	水晶兰苷含量 (mg/g)	去乙酰车叶草苷酸含量（mg/g）
1	11.460	5.272
2	11.164	5.221
3	11.201	5.226
4	11.121	5.233
5	11.367	5.237
6	11.197	5.250
平均	11.252mg/g	5.240mg/g
RSD%	1.2%	0.4%

2.7 稳定性试验

取同一份供试品溶液，按“1.2.1 ”项下的色谱条件，分别在 0，4，8，12，16，24 h 进行测定，记录峰面积。结果表明：在常温状态下，24 小时内稳定性良好。（见表 4）

2.8 加样回收试验

取已知含量的巴戟天样品(批号：230601)粉末 0.25g，精密称定，分别置具塞锥形瓶中，按供试品含量的 50%、100%、150%三种浓度，分别精密加入对照品储备液①（2.085 mg/mL）0.75mL、1.5ml、2.25ml；对照品储备液②(1.010 mg/mL)0.75mL、1.5ml、2ml，然后按“2.3”项下的方法制备样品溶液，测定。结果表明加标回收率良好（见表 5）。

2.9 样品含量测定[7]

取巴戟天药材以及其饮片炮制品：巴戟天、巴戟肉和盐巴戟各 6 批，按照“2.3 ”项下的方法制备样品溶液，按照“2.1 ”项下的色谱条件测定。结果见表 6。

3 讨论

（1）本研究实验中所用的样品均为广东主要药材市场上销售的巴戟天及其炮制品，具有一定的代表性，测定的结果基本能够反映目前市场商品巴戟天及其炮制品的质量。水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸均为环烯醚萜苷类化合物，是巴戟天根的其中主要成分。文献研究[8]表明，二者具有较强的抗炎镇痛作用，与巴戟天“祛风湿”的作用相符合，两个成分可作为巴戟天其中的质量标志物。因此，对水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸进行合理的研究和开发利用，具有非常重要的意义。

（2）本研究采用 HPLC 法测定不同炮制方法的巴戟天中环烯醚萜苷类主要成分的含量，共 18 批全部来自广东。从表 6 可看出，巴戟天的水晶兰苷含量在 10.977~13.786(mg/g)区间，去乙酰车叶草苷酸的含量在 5.201~8.533(mg/g) 区间；巴戟肉的水晶兰苷含量在 11.673~13.565(mg/g)区间，去乙酰车叶草苷酸的含量在 5.106~7.148(mg/g) 区间；盐巴戟水晶兰苷的含量在 4.664~13.22(mg/g) 区间，去乙酰车叶草苷酸的含量在 3.915~7.414(mg/g)区间。实验结果表明，巴戟天蒸煮炮制[9]后，样品中的水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸的含量有所下降，说明巴戟天不同炮制方法对环烯醚萜苷类主要成分含量有所影响，质量难以控制。本研究对于规范和研究巴戟天炮制方法具有一定的参考意义[10]。

（3）巴戟天中药材含有多糖、环烯醚萜苷和蒽醌等成分，《中华人民共和国国药典》（2020 年版）中以耐斯糖作为质量控制指标[1]，存在一定的局限性。有文献报道了巴戟天低聚糖和蒽醌类成分的 HPC 含量测定方法[11-12]，这对巴戟天药材质量控制具有积极的借鉴作用。本研究以巴戟天的两个有效组分–水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸为指标，对不同炮制方法的样品含量进行研究，为巴

表 4　稳定性试验结果

时间(h)	0	4	8	12	16	24	RSD%
水晶兰苷峰面积	228.45571	234.05426	235.39640	236.68821	237.85463	234.72662	1.4%
去乙酰车叶草苷酸峰面积	106.07455	108.98882	109.48363	109.71552	110.22842	109.79125	1.4%

表 5　水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸加样回收试验结果

名称	序号	取样量/g	已知量/mg	加入量/g	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
水晶兰苷	1	0.2580	2.9435	1.4950	4.4128	98.28%	97.9%	1.1%
	2	0.2638	3.0004	1.4950	4.4451	96.64%		
	3	0.2623	2.9833	1.4950	4.4440	97.71%		
	4	0.2570	2.9236	2.9899	5.8579	98.14%		
	5	0.2595	2.9520	2.9899	5.8620	97.33%		
	6	0.2650	3.0146	2.9899	5.8964	96.38%		
	7	0.2575	2.9293	4.4848	7.3959	99.59%		
	8	0.2600	2.9577	4.4848	7.3638	98.24%		
	9	0.2563	2.9151	4.4848	7.3379	98.62%		
去乙酰车叶草苷酸	1	0.2580	1.3869	0.7514	2.1206	97.64%	97.6%	1.0%
	2	0.2638	1.4178	0.7514	2.1440	96.65%		
	3	0.2623	1.4097	0.7514	2.1398	97.17%		
	4	0.2570	1.3815	1.5029	2.8450	97.38%		
	5	0.2595	1.3949	1.5029	2.8573	97.31%		
	6	0.2650	1.4245	1.5029	2.8765	96.62%		
	7	0.2575	1.3842	2.0038	3.3766	99.43%		
	8	0.2600	1.3976	2.0038	3.3711	98.49%		
	9	0.2563	1.3774	2.0038	3.3305	97.47%		

表 6 巴戟天环烯醚萜苷类主要成分的含量测定结果

样品名称	序号	产地及批号	水晶兰苷含量(mg/g)	平均含量(mg/g)	去乙酰车叶草苷酸含量（mg/g）	平均含量(mg/g)
巴戟天	1	广东 230601	11.376	12.02	5.375	6.49
	2	广东 202307158	12.229		5.808	
	3	广东 230801	10.673		6.997	
	4	广东 20220701	13.786		8.533	
	5	广东 230501	13.102		6.920	
	6	广东 23091104	10.977		5.319	
巴戟肉	1	广东 20231001	13.132	12.58	7.148	6.04
	2	广东 231001	12.122		5.211	
	3	广东 221101	12.718		5.918	
	4	广东 220301	13.565		6.933	
	5	广东 2212003	12.289		5.106	
	6	广东 201015	11.673		5.936	
盐巴戟	1	广东 20220701	12.042	9.80	5.178	5.72
	2	广东 230401	7.126		3.915	
	3	广东 220902	13.722		6.275	
	4	广东 23070101	8.406		7.182	
	5	广东 230901	4.664		4.378	
	6	广东 230501	12.811		7.414	

戟天药材标准的进一步研究和质量控制，提供科学参考依据。

参考文献：

[1]国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:83.

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

[3]王玉磊;崔翰明;黄世敬;李强;雷海民.HPLC 测定不同产地和批次巴戟天中主要环烯醚萜苷含量[J]. 中药材,2011,(08):1187-1190.

[4]沈燚;孙艺琦;张奇;李鹤鸣;赵子慧;刘沙;张泉龙;秦路平;赵瑛;张巧艳.不同产地和生长年限对巴戟天中环烯醚萜苷类成分形成和积累的影响[J].中草药,2022,(17):5484-5490.

[5]仰铁锤;徐吉银;梁英娇;刘瑾;丁平. HPLC 测定巴戟天中的水晶兰苷[J].华西药学杂志,2008,(06):695-696.

[6]徐吉银;丁平.巴戟天中水晶兰苷的提取方法研究[J].中成药,2007,(06):893-895.

[7]彭朵花;周芳;欧阳文;杜方麓.巴戟天中水晶兰苷的提取分离及其含量测定[J].中南药学,2008,(06):705-707.

[8]黄清霞;覃川娴;何泽源;冯旭;韦建华.巴戟天化学成分、药理作用及质量标志物预测分析[J].中华中医药学刊,2022,(07):251-258.

[9]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,(01):20-22.
[10]乔菲;刘杰;戴胜云;连超杰;郑健;马双成.基于国家药品评价性抽检的巴戟天饮片质量分析与研究[J].中国药事,2023,(09):1022-1027.
[11]史辑;刘梓晗;王玲;贾天柱.HPLC 测定不同产地巴戟天中 5 种茜草素型蒽醌的含量[J].中药材,2015,(02):245-248.
[12]李咏华;黄裕;杨中铎;刘菊妍.高效液相色谱法测定巴戟天中低聚糖含量[J].药物分析杂志,2007,(11):1797-1799.

作者简介：梁静文（1980-），女，籍贯广东郁南，汉族，大学本科，广东省肇庆市药品检验所工作，主管药师，药品检验分析及药品标准提高，药材分析开发。

基金项目：肇庆市科技创新指导类项目（2022040303001）。