# 基于质量标志物和抗氧化药效的盐巴戟天蒸制时间及特色质量标准研究Δ

刘梦云[1,2*]，车晓颖[2]，刘秋怡[2]，秦祎苒[2]，丁　平[2#]（1.河南中医药大学药学院，郑州　450046；2.广州中医药大学中药学院，广州　510006）

**中图分类号**　R943.1；R283.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）09-1048-05
**DOI**　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.09.05

**摘　要　目的**　基于质量标志物（Q-marker）成分和抗氧化药效综合优选盐巴戟天的最佳蒸制时间，并建立该炮制饮片的特色质量标准。**方法**　采用高效液相色谱-蒸发光散色检测器（HPLC-ELSD）法同时测定不同蒸制时间盐巴戟天中6种Q-marker成分（1-蔗果三糖、耐斯糖、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖、果果三糖、果果四糖、果果五糖）的含量，采用紫外-可见分光光度法测定样品提取液清除4种氧化自由基的活性及其铁还原能力，采用灰色关联度与熵权逼近理想解排序-融合模型法筛选盐巴戟天的最佳蒸制时间；测定10批按最佳蒸制时间制备的盐巴戟天中6种Q-marker成分的含量，并建立盐巴戟天饮片的HPLC-ELSD指纹图谱。**结果**　盐巴戟天在蒸制3～5 h时，6种Q-marker成分含量较高；当蒸制5 h时，其清除1，1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基、2，2-联氮-二（3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸）二铵盐自由基、2-苯基-4，4，5，5-四甲基咪唑啉-3-氧代-1-氧自由基、羟基自由基和铁还原能力均最好。10批自制盐巴戟天样品的指纹图谱中共有20个共有峰，相似度均大于0.990；共指认出9个色谱峰，分别为D-果糖（峰1）、D（+）-无水葡萄糖（峰2）、蔗糖（峰3）、1-蔗果三糖（峰4）、耐斯糖（峰5）、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖（峰6）、果果三糖（峰X2）、果果四糖（峰X3）和果果五糖（峰X4）。6种Q-marker成分的平均含量分别为4.17%、5.54%、6.60%、2.89%、2.62%、2.13%。**结论**　盐巴戟天的最佳蒸制时间为5 h；初步拟定6种Q-marker成分的含量以干燥品计算，分别不得少于3.03%、4.11%、4.87%、2.15%、1.96%、1.58%，菊淀粉型总寡糖/全果型总寡糖含量比值不得大于2.5。

**关键词**　盐巴戟天；质量标志物；抗氧化；蒸制时间；质量标准

## Study on steaming time and characteristic quality standard of salt-steaming *Morinda officinalis* based on Q-marker and anti-oxidative activities

LIU Mengyun[1,2], CHE Xiaoying[2], LIU Qiuyi[2], QIN Yiran[2], DING Ping[2] (1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. College of TCM, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**ABSTRACT　OBJECTIVE** To comprehensively screen the optimal steaming time of salt-steaming *Morinda officinalis* (SSMO) based on Q-markers and anti-oxidative activities, and to establish characteristic quality standard of the decoction pieces. **METHODS** The contents of six Q-markers (1-kestose, nystose, $1^F$-fructofuranosylnystose, inulotriose, inulotetraose and inulopentaose) in SSMO at different steaming time were determined by HPLC-ELSD method simultaneously. The activity of sample extracts to scavenge 4 kinds of oxidative free radical and their iron reduction abilities were determined by visible UV spectrophotometer. The optimal steaming time of SSMO was screened by gray relevance degree and entropy weight technique for order preference by similarity to an ideal solution (TOPSIS)-fusion model method. The contents of six Q-markers in 10 batches of SSMO prepared at the optimal steaming time were determined. HPLC-ELSD fingerprints of SSMO decoction pieces were established. **RESULTS** The results showed that the contents of six Q-markers were the highest when SSMO was steamed for 3-5 h; and the ability of scavenging DPPH·, ABTS·, PTIO·, ·OH and iron reduction ability was the best at 5 h. There were 20 common peaks in the fingerprints for 10 batches of samples, and the similarities were higher than 0.990. A total of 9 chromatographic peaks were identified, which were D-fructose (peak 1), D(+)-glucose (peak 2), sucrose (peak 3), 1-kestose (peak 4), nystose (peak 5), $1^F$-fructofuranosylnystose (peak 6), inulotriose (peak X2), inulotetraose (peak X3) and inulopentaose (peak X4). Average contents of six Q-markers were 4.17%, 5.54%, 6.60%, 2.89%, 2.62% and 2.13%, respectively. **CONCLUSIONS** The optimal steaming time of SSMO is 5 h; the contents of six Q-markers are primarily determined on the basis of dry product, which are no less than 3.03%, 4.11%, 4.87%, 2.15%, 1.96% and 1.58%, respectively. The ratio of Inulin-/Inulo oligosaccharides content is no more than 2.5.

**KEYWORDS**　salt-steaming *Morinda officinalis*; Q-markers; anti-oxidation; steaming time; quality standard

Δ**基金项目** 国家自然科学基金面上项目（No.82074007）；广东省省级乡村振兴战略专项——农业科技创新推广及农业资源与生态环境保护建设项目（No.2021KJ268）

＊**第一作者** 讲师，博士。研究方向：中药质量评价与中药炮制。E-mail：liumengyun218@163.com

＃**通信作者** 研究员。研究方向：中药资源与中药质量评价。电话：020-39358080。E-mail：dingpinggz@126.com

巴戟天为茜草科植物巴戟天*Morinda officinalis* How的干燥根，具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效。现代研究发现，巴戟天中主要含寡糖类、多糖类、蒽醌类、

环烯醚萜类等化学成分[1]。其中，寡糖类成分结构新颖独特、口服无毒，是一种天然植物寡糖，且与“补肾阳”密切相关，是巴戟天药材的主要有效成分之一[2]。巴戟天在临床多经炮制后入药，如巴戟天经盐水闷润、蒸制成为盐巴戟天后，引药入肾，壮阳作用增强[3]。2020年版《中国药典》（一部）收载的巴戟天炮制品种有盐巴戟天、巴戟肉和制巴戟天，但临床多以盐巴戟天入药。目前国内外对巴戟天的研究多集中在炮制前后化学成分的“量”变上[4]，未见对其“质”的变化进行研究；现行的标准中存在炮制工艺参数不统一、蒸制时间不确定、质控指标单一且与药效相关性不大等问题。而中药质量标志物（Q-marker）概念的提出为解决以上问题指明了方向[5]。如有研究者对酸枣仁炒制前后的化学成分变化进行研究，筛选出3种成分作为酸枣仁“生熟异治”的Q-marker[6]。这种将中药Q-marker的研究思路与中药炮制加工结合，形成可以体现中药炮制特色的质量评价新思路，将有利于完善和提升中药炮制饮片的质量标准。

本课题组前期对巴戟天炮制品化学成分进行研究时发现，巴戟天经盐炙后寡糖类成分生成了一系列新的“未知成分”——X1、X2、X3…[7－9]。经现代化学技术分离鉴定得出，X2（果果三糖）、X3（果果四糖）和X4（果果五糖）成分的结构类型为全果寡糖（简称“Inulo型寡糖”），其在与巴戟天药材中原有的1-蔗果三糖、耐斯糖、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖等菊淀粉型寡糖（简称“Inulin型寡糖”）的糖链数目相同时互为同分异构体[10]。后又通过谱-效关联发现，1-蔗果三糖、耐斯糖、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖、果果三糖、果果四糖、果果五糖与抗氧化应激药效密切相关，可作为盐巴戟天的Q-marker[10]。本研究在前期研究的基础上，拟基于6种Q-marker成分含量和抗氧化自由基活性的结果，综合筛选出盐巴戟天的最佳蒸制时间；同时对不同批次盐巴戟天中6种Q-marker成分的含量进行测定，建立盐巴戟天饮片的高效液相色谱-蒸发光散色检测器（HPLC-ELSD）指纹图谱，以期为盐巴戟天饮片专属质量标准的制定提供科学参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

Hitachi Primaide型HPLC仪（包括1110四元梯度泵、1210自动进样器、1310柱温箱）购自日本日立高新技术公司；UM5800型ELSD购自上海通微分析技术有限公司；Sartorius型电子分析天平、XR205 SM-DR型电子分析天平（精度分别为0.01、0.1 mg）购自瑞士Precisa公司；DFT-200型高速万能粉碎机（转速25 000 r/min）购自温岭市林大机械有限公司；CQ-200型超声波清洗器购自上海音波声电科技有限公司；756CRT型紫外-可见分光光度计购自上海菁华科技仪器有限公司；DK-S26型电热恒温水浴锅购自上海禾汽玻璃仪器有限公司。

### 1.2 药材

11批不同批次的生巴戟天药材采集自广东省不同巴戟天种植基地，样品信息见表1。样品经广州中医药大学药学院丁平研究员鉴定，均为茜草科巴戟天属植物巴戟天*M. officinalis* How的根。样品存放于广州中医药大学中药资源教研室。

**表1 巴戟天药材来源信息**

| 编号 | 采集时间 | 产地 |
|---|---|---|
| S0 | 2021-04-22 | 广东省肇庆市河台镇新田村 |
| S1 | 2021-05-01 | 广东省肇庆市德庆县高良镇鸡母村 |
| S2 | 2021-05-02 | 广东省肇庆市德庆县高良镇大榄村 |
| S3 | 2021-06-21 | 广东省云浮市郁南县石大村 |
| S4 | 2021-04-23 | 广东省肇庆市乐城镇领村 |
| S5 | 2021-05-03 | 广东省肇庆市德庆县高良镇蓢玉村 |
| S6 | 2021-06-12 | 广东省云浮市郁南县思敬村 |
| S7 | 2021-05-12 | 广东省肇庆市德庆县高良镇大榄村 |
| S8 | 2021-05-13 | 广东省肇庆市德庆县高良镇大寨村 |
| S9 | 2021-04-20 | 广东省肇庆市乐城镇领村 |
| S10 | 2021-04-19 | 广东省肇庆市河台镇罗仁村 |

### 1.3 对照品与试剂

D-果糖对照品（批号SS0905GA14）、D（+）-无水葡萄糖对照品（批号SA0418GA14）、蔗糖对照品（批号S02S6G1）、1-蔗果三糖对照品（批号AWG0714）、耐斯糖对照品（批号Z17A9H59088）、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖对照品（批号S09A8D41431）、1，1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）、2，2-联氮-二（3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸）二铵盐（ABTS）、2-苯基-4，4，5，5-四甲基咪唑啉-3-氧代-1-氧（PTIO）、2，4，6-三吡啶基三嗪（TPTZ）、水杨酸均购自上海源叶生物科技有限公司，其中对照品纯度均为98.0%；果果三糖对照品（批号20210719，纯度97.35%）、果果四糖对照品（批号20210804，纯度99.20%）和果果五糖对照品（批号20210721，纯度98.53%）均为本实验室自制[10]；其余试剂均为分析纯或常用规格，水为去离子水。

## 2 方法与结果

### 2.1 不同蒸制时间盐巴戟天样品的制备

取生巴戟天（编号S0）共9份，每份100 g，加入3%食盐水70 mL，闷润4 h，至食盐水被吸尽[9]。待药材透心后，分别于不锈钢锅中蒸制0、0.5、1、2、3、4、5、6、7 h，取出，晾凉，50 ℃干燥，粉碎，过50目筛，即得。

### 2.2 不同蒸制时间盐巴戟天中6种Q-marker成分的含量测定

2.2.1 检测方法 采用HPLC-ELSD法进行测定，色谱条件参考文献[10]。按照2020年版《中国药典》（四部）通则9101分析方法验证指导原则和文献[10]进行方法学考察，所得结果均满足相关要求。

2.2.2 溶液的制备 （1）混合对照品溶液的制备：分别精密称取D-果糖、D（+）-无水葡萄糖、蔗糖、1-蔗果三糖、耐斯糖、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖、果果三糖、果果四糖和果果五糖对照品适量，置于同一10 mL棕色容量瓶中，缓缓滴加60%乙腈溶解至刻度，配制成质量浓度分别为1.486 mg/mL、0.750 mg/mL、1.220 mg/mL、0.610 mg/mL、1.508 mg/mL、1.599 mg/mL、595.78 μg/mL、702.34 μg/mL、653.25 μg/mL的混合对照品溶液。（2）供试品溶液的制

备：分别取不同蒸制时间的盐巴戟天样品，参考文献[10]方法制备供试品溶液。

2.2.3　不同蒸制时间盐巴戟天中6种Q-marker成分的含量测定结果　不同蒸制时间盐巴戟天样品中6种Q-marker成分的含量变化如图1所示。盐巴戟天在蒸制0.5 h左右开始检测到果果三糖、果果四糖和果果五糖（即Inulo型寡糖），其含量呈先升高后下降趋势，在蒸制5～6 h时最高；1-蔗果三糖、耐斯糖、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖（即Inulin型寡糖）的含量则呈先升高后下降、然后近似平稳的趋势。这表明在一定的高温条件下，随着蒸制时间的延长，盐巴戟天中高糖链的Inulin型寡糖可能先逐渐降解为短糖链的Inulin型寡糖或Inulo型寡糖，然后2种类型的寡糖可能均降解为单糖或二糖等小分子糖类成分。

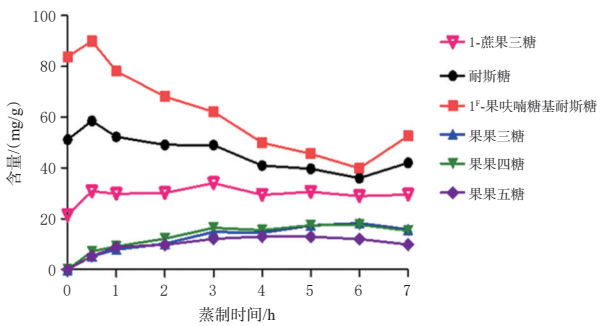



**图1　盐巴戟天中6种Q-marker成分含量随蒸制时间的变化趋势（$n$=3）**

### 2.3　不同蒸制时间盐巴戟天的体外抗氧化活性测定

2.3.1　DPPH自由基清除率测定　按照“2.2.2”项下方法分别制备不同蒸制时间盐巴戟天的样品溶液（根据预实验结果，设置每个样品的质量浓度均分别为2.5、5、10、12、20、40 mg/mL），参考文献[11]方法测定样品吸光度（$A_i$）和对照溶液吸光度（$A_0$），按照公式计算DPPH自由基清除率：DPPH自由基清除率（%）=（$A_0-A_i$）/$A_0$×100%。采用GraphPad Prism软件预测样品的半数清除浓度（$IC_{50}$），详见表2。结果显示，巴戟天在蒸制1 h时，其清除DPPH自由基的能力最强。

**表2　盐巴戟天清除各氧化自由基的$IC_{50}$和铁还原能力的当量值测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n$=3）**

| 蒸制时间/h | $IC_{50}$/(mg/mL) | | | | FRAP当量值/(μmoL/g) |
|---|---|---|---|---|---|
| | DPPH自由基 | PTIO自由基 | ABTS自由基 | 羟基自由基 | |
| 0 | 11.439±0.006 | 210.304±7.301 | 9.533±0.015 | 16.591±0.020 | 6.353±0.382 |
| 0.5 | 2.962±0.027 | 216.597±29.329 | 4.634±0.026 | 17.762±0.099 | 5.692±0.125 |
| 1 | 2.503±0.019 | 639.903±0.577 | 3.353±0.021 | 19.053±0.092 | 14.266±0.072 |
| 2 | 10.952±0.055 | 46.932±0.966 | 3.450±0.006 | 17.889±0.075 | 14.518±0.072 |
| 3 | 12.740±0.090 | 34.144±0.347 | 2.829±0.007 | 17.564±0.107 | 14.403±0.072 |
| 4 | 10.039±0.071 | 23.630±0.130 | 4.822±0.040 | 17.762±0.085 | 18.311±0.000 |
| 5 | 8.024±0.057 | 15.878±0.047 | 4.033±0.020 | 16.973±0.067 | 20.228±0.072 |
| 6 | 6.528±0.050 | 31.971±0.191 | 3.330±0.011 | 18.597±0.105 | 19.352±0.072 |
| 7 | 5.958±0.049 | 24.214±0.132 | 2.742±0.008 | 19.291±0.130 | 21.770±0.072 |

2.3.2　PTIO自由基清除率测定　按照“2.2.2”项下方法分别制备不同蒸制时间盐巴戟天的样品溶液（根据预实验结果，设置每个样品的质量浓度均分别为5、10、15、20、25、30、40 mg/mL），参考文献[11]方法测定样品吸光度（$A$）和对照溶液吸光度（$A_0$），按照以下公式计算PTIO自由基清除率：PTIO自由基清除率（%）=（$A_0-A$）/$A_0$×100%。采用GraphPad Prism软件预测样品的$IC_{50}$，详见表2。结果显示，巴戟天在蒸制2 h后，其清除PTIO自由基的能力较强。

2.3.3　ABTS自由基清除率测定　按照“2.2.2”项方法分别制备不同蒸制时间盐巴戟天的样品溶液（根据预实验结果，设置每个样品的质量浓度均分别为1、2、4、6、8、10、15、20 mg/mL），参考文献[11]方法测定样品的吸光度（$A$）和对照溶液吸光度（$A_0$），按照以下公式计算ABTS自由基清除率：ABTS自由基清除率（%）=（$A_0-A$）/$A_0$×100%。采用GraphPad Prism软件预测样品的$IC_{50}$，详见表2。结果显示，巴戟天在蒸制0.5 h后，其清除ABTS自由基的能力强于生品，且在蒸制7 h时其清除ABTS自由基的能力最强。

2.3.4　羟基自由基清除率测定　按照“2.2.2”项下方法分别制备不同蒸制时间盐巴戟天的样品溶液（根据预实验结果，设置每个样品的质量浓度均分别为3.33、6.67、13.33、20.00、26.67、33.33 mg/mL）各2.4 mL，参考文献[12]方法依次加入相应的试剂并测定样品吸光度（$A$）和对照溶液吸光度（$A_0$），按照以下公式计算羟基自由基清除率：羟基自由基清除率（%）=（$A_0-A$）/$A_0$×100%。采用GraphPad Prism软件预测样品的$IC_{50}$，详见表2。结果显示，巴戟天蒸制后清除羟基自由基的能力减弱，这说明蒸制后药材中存在供氢能力的化合物较少。

2.3.5　铁还原/抗氧化能力测定实验　按照“2.2.2”项下方法分别制备不同蒸制时间盐巴戟天样品溶液，精密量取0.6 mL于5 mL离心管中，加入0.6 mL的铁还原/抗氧化能力（FRAP）工作液和1.8 mL水，充分混合。于37 ℃恒温水浴30 min后，用紫外-可见分光光度计在593 nm波长处测定样品吸光度（$A$）。每份样品重复实验3次，取平均值。以$FeSO_4·7H_2O$为标准物质绘制标准曲线（根据预实验结果，设置每个样品的质量浓度均分别为100、200、300、400、500、600、800 μmol/L），以吸光度为纵坐标（$Y$）、摩尔浓度为横坐标（$X$）得到标准曲线方程为$Y$=0.000 4$X$+0.124 5（$R^2$=0.999 5）。样品的铁还原能力以FRAP当量值表示：FRAP当量值以每克干样品中含$FeSO_4$的微摩尔数表示（μmoL/g），详见表2。结果显示，巴戟天蒸制1 h后，其对$Fe^{3+}$的还原能力逐渐增强。

### 2.4　盐巴戟天的最佳蒸制时间

2.4.1　以6种Q-marker成分含量为指标筛选盐巴戟天的最佳蒸制时间　以6种Q-marker成分含量为指标，利用灰色关联度与熵权逼近理想解排序（technique for order preference by similarity to an ideal solution，TOPSIS）-融合模型法对盐巴戟天的最佳蒸制时间进行初筛[13]。结果显示，经熵权法计算得出[13]，盐巴戟天中1-蔗果三糖、耐斯糖、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖、果果三糖、果果四糖和果果五糖的权重分别为0.059、0.080、0.126、0.063、0.077、

0.133。贴近度排名前3位的分别为蒸制3 h、蒸制4 h、蒸制5 h，详见表3。上述结果表明，盐巴戟天在蒸制3～5 h时，6种Q-marker成分的含量最高。

**表3　基于6种Q-markers成分含量和体外抗氧化实验结果筛选的盐巴戟天最佳蒸制时间**

| 蒸制时间/h | 基于6种Q-markers成分含量 | | | | 基于体外抗氧化实验结果 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $E^+$ | $E^-$ | γ | 排序 | $E^+$ | $E^-$ | γ | 排序 |
| 0 | 0.798 | 0.891 | 0.472 | 9 | 0.630 | 0.891 | 0.414 | 9 |
| 0.5 | 0.905 | 0.634 | 0.588 | 8 | 0.738 | 0.611 | 0.547 | 7 |
| 1 | 0.861 | 0.544 | 0.613 | 5 | 0.663 | 0.919 | 0.419 | 8 |
| 2 | 0.855 | 0.529 | 0.618 | 4 | 0.854 | 0.503 | 0.630 | 5 |
| 3 | 0.978 | 0.548 | 0.641 | 1 | 0.897 | 0.547 | 0.621 | 6 |
| 4 | 0.946 | 0.566 | 0.626 | 2 | 0.860 | 0.483 | 0.640 | 4 |
| 5 | 0.989 | 0.599 | 0.623 | 3 | 0.950 | 0.392 | 0.708 | 1 |
| 6 | 0.963 | 0.657 | 0.594 | 7 | 0.923 | 0.420 | 0.687 | 2 |
| 7 | 0.865 | 0.567 | 0.604 | 6 | 1.000 | 0.464 | 0.683 | 3 |

$E^+$：各评价指标与正理想解的欧氏距离；$E^-$：各评价指标与负理想解的欧氏距离；γ：$E^+$与$E^-$及各指标对最优解的欧氏贴近度

2.4.2　以体外抗氧化实验结果为指标筛选盐巴戟天的最佳蒸制时间　以盐巴戟天对4种氧化自由基的$IC_{50}$和FRAP为指标，采用灰色关联度与熵权TOPSIS-融合模型法筛选盐巴戟天的最佳蒸制时间。经熵权法计算得出[13]，DPPH自由基、ABTS自由基、PTIO自由基、羟基自由基、FRAP的权重分别为0.240、0.100、0.093、0.171、0.198。结果显示，贴近度排名第1位的是蒸制5 h的样品，详见表3。

2.4.3　盐巴戟天最佳蒸制时间的确定　综合以6种Q-marker成分含量和体外抗氧化实验结果为指标得到的最佳蒸制时间结果，建议盐巴戟天的炮制方法为：取生巴戟天100 g，加入3%食盐水70 mL，闷润4 h，至食盐水被吸尽、透心，分别于不锈钢锅中蒸制5 h，取出，晾凉，50 ℃干燥。

### 2.5　最佳蒸制时间下盐巴戟天样品的质量标准初步研究

2.5.1　盐巴戟天HPLC-ELSD指纹图谱的建立与分析　（1）色谱条件及方法学验证同参考文献[10]。（2）指纹图谱的建立及共有峰的指认。取10批按确定的炮制工艺参数自制的盐巴戟天（批号Y1～Y10）的供试品溶液及混合对照品溶液适量，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定，将10批自制盐巴戟天的饮片色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2004 A版）中进行分析。将样品Y1的图谱设为参照图谱，设置时间窗宽度为0.5 min，经多点校正后进行全谱峰匹配生成10批样品色谱图的叠加指纹图谱，采用中位数法生成对照指纹图谱R。通过对比供试品溶液（Y1）与混合对照品溶液的色谱图进行色谱峰的指认。结果显示，共标定出20个共有峰，并指认了其中的9个共有峰，即D-果糖（峰1）、D（+）-无水葡萄糖（峰2）、蔗糖（峰3）、1-蔗果三糖（峰4）、耐斯糖（峰5）、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖（峰6）、果果三糖（峰X2）、果果四糖（峰X3）、果果五糖（峰X4），结果见图2和图3。（3）相似度评价。以对照指纹图谱R为参照，采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2004 A版）进行相似度评价。结果显示，10批自制盐巴戟天饮片样品与对照指纹图谱R的相似度分别为0.998、1.000、1.000、0.993、0.998、1.000、0.999、0.992、0.998、0.999，均大于0.990，表明自制的10批盐巴戟天炮制工艺和饮片的质量均较稳定。

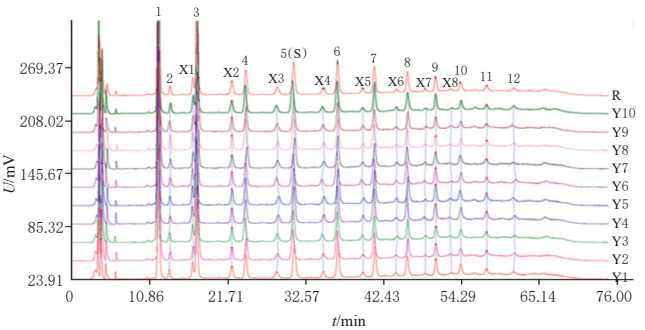
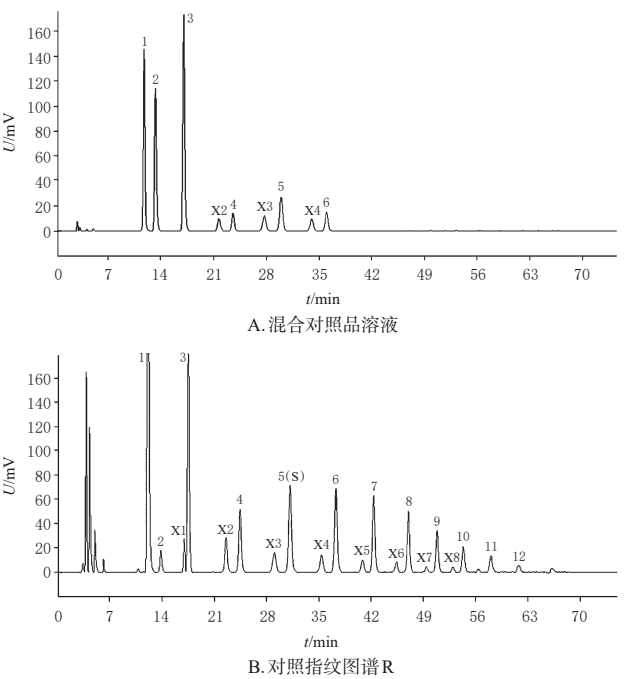



**图2　10批自制盐巴戟天的HPLC-ELSD叠加指纹图谱及对照指纹图谱R**




1：D-果糖；2：D（+）-无水葡萄糖；3：蔗糖；4：1-蔗果三糖；5：耐斯糖；6：$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖；X2：果果三糖；X3：果果四糖；X4：果果五糖

**图3　混合对照品溶液和对照指纹图谱R**

2.5.2　盐巴戟天中6种Q-marker成分的含量测定　取10批盐巴戟天饮片粉末适量，分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并代入回归方程计算6种Q-marker成分的含量。每份样品测定3次，取平均值。结果显示，1-蔗果三糖、耐斯糖、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖、果果三糖、果果四糖、果果五糖含量以干燥品计算，平均值分别为4.17%、5.54%、6.60%、2.89%、2.62%、2.13%。本研究以10批样品中各成分含量最低值的80%为下限，暂定上述6种Q-marker成分的含量分别不得少于3.03%、4.11%、4.87%、2.15%、1.96%、1.58%。由于1-蔗果三糖、耐斯糖和$1^F$-果

呋喃糖基耐斯糖为Inulin型寡糖，果果三糖、果果四糖和果果五糖为Inulo型寡糖，故本研究对盐巴戟天中2种类型总寡糖含量的比值进行规定，即Inulin型总寡糖/Inulo型总寡糖含量比值应不得大于2.5。结果见表4。

**表4　10批自制盐巴戟天饮片中6种寡糖类成分含量计算结果（以干燥品计算，$n$=3）**

| 批号 | 1-蔗果三糖/% | 耐斯糖/% | $1^F$-果呋喃糖基耐斯糖/% | 果果三糖/% | 果果四糖/% | 果果五糖/% | Inulin型总寡糖/% | Inulo型总寡糖/% | Inulin型总寡糖/Inulo型总寡糖含量比值 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Y1 | 4.21 | 5.87 | 7.05 | 2.82 | 2.60 | 2.06 | 17.13 | 7.48 | 2.29 |
| Y2 | 3.83 | 5.24 | 6.24 | 2.69 | 2.45 | 1.99 | 15.31 | 7.13 | 2.15 |
| Y3 | 4.10 | 5.51 | 6.51 | 2.89 | 2.63 | 2.12 | 16.12 | 7.64 | 2.11 |
| Y4 | 4.13 | 5.78 | 7.12 | 2.90 | 2.67 | 2.26 | 17.03 | 7.83 | 2.18 |
| Y5 | 4.34 | 5.89 | 7.18 | 3.11 | 2.83 | 2.42 | 17.41 | 8.36 | 2.08 |
| Y6 | 4.15 | 5.55 | 6.64 | 2.92 | 2.66 | 2.13 | 16.34 | 7.71 | 2.12 |
| Y7 | 3.79 | 5.14 | 6.18 | 2.85 | 2.56 | 2.14 | 15.11 | 7.55 | 2.00 |
| Y8 | 4.74 | 5.53 | 6.32 | 2.85 | 2.54 | 2.08 | 16.59 | 7.47 | 2.22 |
| Y9 | 4.05 | 5.27 | 6.09 | 2.91 | 2.58 | 1.97 | 15.41 | 7.46 | 2.07 |
| Y10 | 4.38 | 5.62 | 6.67 | 2.93 | 2.64 | 2.17 | 16.67 | 7.74 | 2.15 |

## 3　讨论

笔者课题组前期已对样品HPLC-ELSD的色谱条件、色谱柱、流动相体系等因素及方法学进行了反复考察与验证[10]，均表明方法稳定、可行。据文献报道，巴戟天中的蒽醌类（含量为0.03%～0.10%）和环烯醚萜类（含量为0.5%～1.6%）成分经炮制加工后含量变化并不明显[14]。而巴戟天寡糖类成分（含量为10%～30%）经炮制后发生了“质”的变化，新产生的Inulo型寡糖含量随着蒸制时间的增加而增加。在研究中笔者发现，盐巴戟天中的蔗糖与相邻的X1成分未完全实现基线分离，且单糖、二糖等小分子糖类成分在炮制加工过程中易发生美拉德反应，从而降低药效。故本实验选取1-蔗果三糖、耐斯糖、$1^F$-果呋喃糖基耐斯糖的总含量（Inulin型总寡糖含量）与果果三糖、果果四糖、果果五糖的总含量（Inulo型总寡糖含量）进行比较分析。

巴戟天及巴戟天炮制品的补肾阳功效与其抗氧化作用有着密不可分的关系，由中药炮制理论中的“盐炙入肾”可知，巴戟天经过盐制后可以缓性、增强补肾阳的作用；而肾阳虚症的形成与自由基导致的脂质过氧化作用造成的生物膜损伤有关[15]。故本研究采用清除氧化自由基的能力来评估盐巴戟天的抗氧化活性。据文献报道，巴戟天醇提取物对超氧阴离子自由基、ABTS自由基、DPPH自由基的清除，以及还原$Fe^{3+}$为$Fe^{2+}$的能力均具有一定的作用[16]。但中药化学成分不同，其作用与氧化剂的机制也不同，用1种方法很难全面评估样品的抗氧化能力。因此，本研究考察了盐巴戟天对4种氧化自由基的清除率及铁还原能力，并采用灰色关联度与熵权TOPSIS-融合模型法较为全面、客观、准确地筛选出盐巴戟天的最佳蒸制时间为5 h。笔者还发现，巴戟天生品与盐制品随着蒸制时间的增加，其抗氧化自由基的能力也不同程度地发生了改变，其活性与样品质量浓度呈一定的浓度依赖趋势，但盐制品对羟基自由基的清除能力弱于生品。笔者认为，其原因可能与炮制加工过程中盐巴戟天中的Inulin型寡糖减少、Inulo型寡糖增多，从而导致供氢能力减弱有关，其炮制前后的清除机制尚需进一步深入研究。

综上所述，本研究基于6种Q-marker成分含量和抗氧化活性实验结果，筛选出了盐巴戟天饮片的最佳蒸制时间为5 h，可为盐巴戟天炮制工艺提供科学参考；所建立的盐巴戟天饮片HPLC-ELSD指纹图谱和限定的Inulin型总寡糖/Inulo型总寡糖含量比值，可为盐巴戟天饮片特色质量标准的制定提供实验依据。

## 参考文献


[1] 倪建成，卢柱华，莫舒云，等. 巴戟天化学成分的研究[J]. 中成药，2021，43(5)：1212-1216.

[2] 杨丽. 基于SNP标记技术的巴戟天种质资源遗传多样性研究[D]. 广州：广州中医药大学，2020.

[3] 王晓奇，刘立维. 巴戟天的炮制历史沿革[J]. 中成药，1994，16(4)：26.

[4] 戴胜云，蒋双慧，刘杰，等. 2010—2020年巴戟天研究进展[J]. 中国药事，2021，35(1)：91-98.

[5] 刘昌孝，陈士林，肖小河，等. 中药质量标志物（Q-Marker）：中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药，2016，47(9)：1443-1457.

[6] 范兰兰. 基于“生熟异治”质量标志物的生、炒酸枣仁质量控制研究[D]. 合肥：安徽中医药大学，2021.

[7] 廖慧君，赖正权，仰铁锤，等. 巴戟天寡糖的高效薄层色谱指纹图谱研究[J]. 中国药学杂志，2011，46(18)：1385-1388.

[8] 丁平，邵艳华，廖慧君，等. 巴戟天药材寡糖化学成分的HPAEC-PAD指纹图谱研究 [J]. 中国药学杂志，2011，46(22)：1707-1711.

[9] 李倩. 巴戟天炮制过程中化学成分变化规律的研究[D]. 广州：广州中医药大学，2015.

[10] LIU M Y，LUO Z H，CHEN Z E，et al. Quality markers for processed products of *Morinda officinalis* how based on the “oligosaccharides-spectrum-effect” [J]. J Pharm Biomed Anal，2022，208：114403.

[11] 程鹏，邬洁，何先元，等. 木芙蓉叶黄酮成分抗氧化及月周期规律研究[J]. 天然产物研究与开发，2020，32(4)：576-581，651.

[12] 陈智玲，马剑，文博，等. 超高压提取蓝莓渣花色苷的工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技，2022，43(21)：185-194.

[13] 张娜，翁伟锋，魏坤盛，等. 基于灰色关联度与TOPSIS融合模型对不同产地广西郁金的质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志，2020，26(3)：137-145.

[14] 姜永粮，杨丹，张凡，等. 巴戟天炮制前后蒽醌类成分含量变化[J]. 中国实验方剂学杂志，2011，17(1)：64-66，69.

[15] 吕爱平，李德新，崔家鹏，等. 脾肾相关的分子生物学基础：脾肾阳虚证模型大鼠自由基损伤的比较研究[J]. 辽宁中医杂志，2001，28(3)：189-191.

[16] 林立，王建荣，郑燕梅. 巴戟天醇提物的提取优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国民族民间医药，2020，29(12)：42-46.



（收稿日期：2022-10-28　修回日期：2023-03-27）

（编辑：林　静）