

## 研究报告

## 巴戟天中环烯醚萜苷类成分的测定及提取工艺研究

揭小玲, 周阿容, 詹清, 林梦丹, 郑孝贤, 王海龙, 陈秀明, 方东升\*

(福建省微生物研究所, 福建 福州 350007)

**摘要:**建立测定巴戟天中环烯醚萜苷类成分(水晶兰苷和去乙酰基车叶草苷酸)含量的HPLC法,并优化其超声辅助提取工艺。HPLC法色谱条件:检测波长为235 nm,色谱柱为月旭Ultimate AQ-C18柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%甲酸溶液(5:95),流速为0.8 mL/min,柱温为30℃。方法学验证表明,水晶兰苷和去乙酰基车叶草苷酸分别在8.485~271.504 μg/mL和2.279~72.943 μg/mL范围内线性关系良好( $R^2 \geq 0.999$ ),精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于2%,加样回收率符合规定要求。在提取工艺优化中,以水晶兰苷和去乙酰基车叶草苷酸两者总提取量为评价指标,通过单因素试验考察溶剂量、超声温度、超声时间对总提取量的影响,并采用三因素三水平正交试验进行优化。确定最佳工艺为:加入6倍量纯化水,10 000 r/min匀浆2 min后,再于70℃超声提取50 min。在此条件下,总提取量达8.943 mg/g(以湿基计)。该优化工艺稳定可靠、操作简便且环境友好,为巴戟天中环烯醚萜苷类成分的提取及相关产品的深度开发提供技术支撑。

**关键词:**巴戟天;环烯醚萜苷类;水晶兰苷;去乙酰基车叶草苷酸;HPLC;超声辅助提取

**中图分类号:**0657.72 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-8143(2026)01-0001-06

**Doi:**10.3969/j.issn.1009-8143.2026.01.01

### Studies on the Determination and Extraction Process of Iridoid Glycosides in *Morinda officinalis* How.

Jie Xiao-ling, Zhou A-rong, Zhan Qing, Lin Meng-dan, Zheng Xiao-xian, Wang Hai-long, Chen Xiu-ming, Fang Dong-sheng\*

(Fujian Institute of Microbiology, Fuzhou, Fujian 350007, China)

**Abstract:** To develop an HPLC method for determining the content of iridoid glycosides, monotropein and deacetyl asperulosidic acid in *Morinda officinalis* How., coupled with the optimization of their ultrasonic-assisted extraction. The chromatographic conditions were: the detection wavelength was 235 nm, the column was Yuexu Ultimate AQ-C18 column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid solution (5:95), the flow rate was 0.8 mL/min, the column temperature was 30℃. The methodology verification showed that, the calibration curves for monotropein and deacetyl asperulosidic acid exhibited excellent linearity ( $R^2 \geq 0.999$ ) over the ranges of 8.485-271.504 μg/mL and 2.279-72.943 μg/mL, respectively. The relative standard deviations (RSD) for precision, stability, and repeatability were all below 2%, and the recovery rates met the required standards. During the optimization of the extraction process, the total yield of monotropein and deacetyl asperulosidic acid was used as the response. Single-factor experiments identified solvent dosage, ultrasonic temperature, and ultrasonic time as critical parameters. These factors were further optimized via a three-factor, three-level orthogonal test. The optimal extraction conditions were determined as follows: add 6 times purified water to material ratio, homogenization at 10 000 r/min for 2 min, ultrasonic extraction at 70℃ for 50 min. Under these conditions, the total extraction yield reached 8.943 mg/g (on a wet weight basis). The established method is reliable, simple, efficient,

收稿日期:2025-10-15

基金项目:福建省属公益类科研院所基本科研专项(2023R1005009)

第一作者简介:揭小玲(1987—),女,助理工程师,研究方向:分析检测。E-mail:594554723@qq.com

通讯作者简介:方东升(1968—),男,高级工程师,研究方向:微生物药物开发。E-mail:fds609@126.com

and environmentally friendly, providing technical support for the extraction of iridoid glycosides from *Morinda officinalis* How. and the further development of related products.

**Key words:** *Morinda officinalis* How.; Iridoid glycosides; Monotropein; Deacetyl asperulosidic acid; HPLC; ultrasonic-assisted extraction

## 引言

巴戟天(*Morinda officinalis* How.)为茜草科巴戟天属多年生藤本药用植物,其肉质根常被制作成四大南药之一的中药巴戟天<sup>[1]</sup>。环烯醚萜苷类是巴戟天肉质根中一类主要化学成分,目前已分离得到25种组分,其中水晶兰苷(Monotropein, MON)含量最高,去乙酰基车叶草苷酸(Deacetyl asperulosidic acid, DAA)次之<sup>[2]</sup>。环烯醚萜苷类具有多种药理活性,如抗炎镇痛、骨保护、抗氧化衰老和抗抑郁等,有望开发成治疗类风湿关节炎、骨质疏松的新型药物<sup>[3-5]</sup>。采用巴戟天环烯醚萜苷类(MON和DAA总含量为62.19%)给药类风湿关节炎模型大鼠后,其炎症因子分泌减少、足肿胀减轻、关节炎指数降低,显示抗关节炎作用<sup>[6]</sup>。MON被认为是发挥抗炎镇痛作用的主要活性成分,能有效抑制肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、环氧合酶和一氧化氮合酶的表达<sup>[4,7]</sup>。MON还表现出抗骨质疏松的活性,能促进成骨MC3T3-E1细胞分化和矿化,并抑制破骨细胞生成<sup>[8-9]</sup>。DAA为MON的同分异构体,在一定条件下可以相互转换。

目前,巴戟天环烯醚萜苷类的常见提取工艺有热回流提取、酶法提取、渗漉提取及超声波提取等,详见表1。然而,现有报道中的提取工艺大多采用易燃易爆的有机溶剂作为提取溶剂,不仅存在工业安全隐患和成本较高的问题,部分溶剂还对人体健康构成潜在风险,其排放亦可能对环境造成污染。同时,现有报道中的提取工艺大多需要较长的处理时间,提取效率较低,因此,探究绿色、安全、高效的提取工艺具有一定的现实意义。

目前,巴戟天环烯醚萜苷类的提取多以炮制药

材粉末为原料,文献研究表明,炮制对巴戟天中环烯醚萜苷类含量影响不大,杨楠等<sup>[12]</sup>发现与净巴戟肉相比,4种炮制巴戟天中的环烯醚萜苷类含量略有下降,MON、DAA含量均略有下降;李正磊等<sup>[14]</sup>对4种炮制巴戟天和去心后净巴戟肉的MON含量进行测定,发现MON含量差异不大。因此,本研究拟采用生鲜净巴戟天肉为原料,首先建立同时测定MON和DAA的HPLC分析方法,为巴戟天环烯醚萜苷类成分提取工艺优化提供依据,再经单因素和正交试验获得最佳提取工艺。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪:1260型,美国Agilent。

匀浆机:HTY-761型,杭州泰林生物技术设备有限公司。

超声波清洗机:KQ5200DE型,昆山市超声仪器有限公司。

电子天平:XSE105DU型,瑞士Mettler Toledo。

电热恒温水槽:DK-8D型,上海一恒科技有限公司。

MON对照品:含量95.6%,中国食品药品检定研究院。

DAA对照品:HPLC纯度 $\geq 98\%$ ,江西佰草源生物科技有限公司。

巴戟天肉质根:净巴戟天肉含水率67.2%,肇庆市融通国际贸易有限公司。

纤维素酶:酶活力15 000 U/g,国药集团化学试剂有限公司。

表1 现有报道中不同提取工艺提取效果比较

文献	提取工艺	提取溶剂	处理方法	环烯醚萜苷类提取量
段金辉 <sup>[10]</sup>	热回流	60%乙醇	药材粉浸泡过夜后热回流1 h	MON 1.872%
张建华等 <sup>[11]</sup>	渗漉提取	10%乙醇	药材粉浸泡9 h后渗漉提取	15.98 mg/g
杨楠等 <sup>[12]</sup>	超声辅助	70%乙醇	药材粉浸泡30 min后超声1 h	15.559 mg/g
宋开蓉等 <sup>[13]</sup>	酶解辅助	磷酸盐缓冲液	药材粉酶解2.1 h、重复3次	MON 13.61 mg/g

乙腈:色谱纯,德国 Merck 公司。

甲酸:色谱纯,德国 CNW 公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 HPLC 分析方法的建立

#### (1) 对照品贮备液的制备

精密称取 17.75 mg MON 对照品,用纯化水定容至 10 mL,摇匀,得浓度为 1 696.9  $\mu\text{g/mL}$  MON 对照品贮备液。精密称取 11.63 mg DAA 对照品,用纯化水定容至 25 mL,摇匀,得浓度为 455.896  $\mu\text{g/mL}$  DAA 对照品贮备液。

#### (2) 供试品溶液的制备

巴戟天肉质根洗净晾干,去除木心,切 2~3 mm 小段,得净巴戟天肉。精密称取 10 g 净巴戟天肉,加入 10 倍纯化水,10 000 r/min 转速下匀浆 2 min 后,再于 70 $^{\circ}\text{C}$  超声提取 30 min(功率 200 W),冷却,移入 200 mL 容量瓶中,用纯化水定容至刻度,混匀,稀释,用 0.45  $\mu\text{m}$  水系滤膜过滤。

#### (3) 色谱条件

色谱柱为月旭 Ultimate AQ-C18 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ );检测波长为 235 nm;流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液(5:95);体积流量为 0.8 mL/min;柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ ,进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

(4) 依据《中国药典》2025 版“9101 分析方法验证指导原则”进行方法学验证<sup>[15]</sup>。

### 1.2.2 巴戟天中环烯醚萜苷类成分提取工艺的优化

#### (1) 提取工艺的考察

对比热回流提取、酶解辅助提取及超声辅助提取 3 种工艺的提取效果。

热回流工艺:精密称取 10 g 净巴戟天肉,加入 10 倍纯化水,10 000 r/min 转速下匀浆 2 min,移入圆底烧瓶中,连接冷凝管,加热至沸腾后保持微沸 1 h,迅速冷却,纯化水定容至 200 mL。

酶解辅助工艺:精密称取 10 g 净巴戟天肉,加入 10 倍纯化水,10 000 r/min 转速下匀浆 2 min,移入锥形瓶中加热至 50 $^{\circ}\text{C}$ ,加入 0.2%(按原料净巴戟天肉计,300 U)的纤维素酶,于 50 $^{\circ}\text{C}$  水浴锅中酶解 2 h 后,沸水浴 15 min 灭酶活,迅速冷却,纯化水定容至 200 mL。

超声辅助工艺:精密称取 10 g 净巴戟天肉,加入 10 倍纯化水,10 000 r/min 转速下匀浆 2 min 后,于 70 $^{\circ}\text{C}$  超声提取 30 min(功率 200 W),冷却,纯化水定容至 200 mL。

分别取上述溶液适量稀释 10 倍,经 0.45  $\mu\text{m}$  水系滤膜过滤,按色谱条件测定。

#### (2) 单因素试验

溶剂量:在提取温度为 70 $^{\circ}\text{C}$ 、提取时间为 30 min 条件下,考察纯化水的用量(3、6、10、15、20 倍)对 MON 和 DAA 总提取量的影响。

提取温度:在溶剂量为 10 倍、提取时间为 30 min 条件下,考察提取温度(40、50、60、70、80 $^{\circ}\text{C}$ )对 MON 和 DAA 总提取量的影响。

提取时间:在溶剂量为 10 倍、提取温度为 70 $^{\circ}\text{C}$  条件下,考察提取时间(20、30、40、50、60 min)对 MON 和 DAA 总提取量的影响。

分别取适量上述溶液稀释 10 倍,0.45  $\mu\text{m}$  水系滤膜过滤,按色谱条件进样测定。

#### (3) 正交优化试验设计

依据单因素试验结果,以溶剂量、超声温度、超声时间 3 个因素,进行  $L_9(3^3)$  正交试验,因素水平设计表见表 2。

表 2 正交试验因素水平设计表

水平	因素		
	A 溶剂量/倍	B 超声温度/ $^{\circ}\text{C}$	C 超声时间/min
1	3	60	30
2	6	70	40
3	10	80	50

## 2 结果与讨论

### 2.1 HPLC 分析方法的建立

#### 2.1.1 专属性考察

取空白溶液、混合对照品溶液(MON 浓度 33.938  $\mu\text{g/mL}$ , DAA 浓度 9.118  $\mu\text{g/mL}$ )和供试品溶液(MON 浓度 41.102  $\mu\text{g/mL}$ , DAA 浓度 11.629  $\mu\text{g/mL}$ )按“1.2.1”项下色谱条件测定,色谱图见图 1, MON 和 DAA 峰形尖锐对称、无明显拖尾及杂质峰干扰现象,分离度良好,该方法具有较好专属性。

#### 2.1.2 线性与范围

用纯化水稀释 MON 和 DAA 对照品贮备液制备系列混合对照品溶液。其中 MON 浓度分别为 8.485、16.969、33.938、67.876、135.752、203.628、271.504  $\mu\text{g/mL}$ , DAA 浓度分别为 2.279、4.559、9.118、18.236、36.472、54.708、72.943  $\mu\text{g/mL}$ 。上述

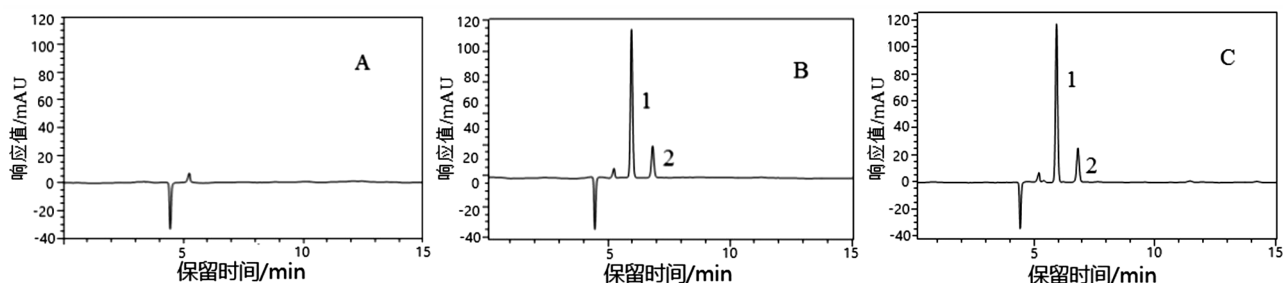


图1 空白溶液、混合对照品和供试品色谱图

注:A—空白溶液;B—混合对照品溶液;C—供试品溶液;1—MON;2—DAA。

溶液按“1.2.1”项下色谱条件测定。以各成分浓度( $X$ ,  $\mu\text{g/mL}$ )为横坐标,峰面积( $S$ , mAU)为纵坐标,绘得线性回归方程:MON为 $S_1=17.713X_1+12.352$  ( $R^2=0.9999$ ),线性范围 $8.485\sim 271.504\ \mu\text{g/mL}$ ;DAA为 $S_2=16.165X_2+6.3226$  ( $R^2=0.9990$ ),线性范围 $2.279\sim 72.943\ \mu\text{g/mL}$ 。

### 2.1.3 精密度考察

取混合对照品溶液(MON浓度 $33.938\ \mu\text{g/mL}$ , DAA浓度 $9.118\ \mu\text{g/mL}$ ),按“1.2.1”项下色谱条件连续进样6次,MON和DAA 6次进样的峰面积RSD分别为 $0.96\%$ 和 $1.59\%$ ,表明方法精密度好。

### 2.1.4 稳定性试验

取供试品溶液(MON浓度 $33.499\ \mu\text{g/mL}$ , DAA浓度 $9.582\ \mu\text{g/mL}$ ),常温放置 $0、2、4、8、12、18$ 和 $24\ \text{h}$ 后分别按“1.2.1”项下色谱条件测定,测得的MON和DAA峰面积的RSD分别为 $1.84\%$ 和 $1.79\%$ ,表明供试品溶液在室温放置 $24\ \text{h}$ 内稳定性良好。

### 2.1.5 重复性试验

精密称取 $10\ \text{g}$ 净巴戟天肉6份,按“1.2.1”项下供试品溶液制备方法制备供试液6份进行测定(MON浓度 $32.685\ \mu\text{g/mL}$ , DAA浓度 $9.303\ \mu\text{g/mL}$ ),测得的MON和DAA峰面积的RSD分别为 $1.67\%$ 和 $1.69\%$ ,表明该方法重现性良好。

### 2.1.6 回收率试验

精密吸取已知MON和DAA含量的供试品溶液6份各 $4\ \text{mL}$ ,分别加入适量对照品溶液,用纯水定容至 $10\ \text{mL}$ 。将上述样品分别按“1.2.1”项下色谱条件进样测定,计算MON和DAA峰面积的回收率和RSD,结果见表3。样品加标溶液的回收率和RSD均符合要求,表明方法准确度良好。

## 2.2 巴戟天中环烯醚萜苷类成分提取工艺的优化

### 2.2.1 提取工艺考察结果

热回流提取、酶解辅助提取及超声辅助提取3种工艺的提取效果见表4。超声辅助提取工艺对

表3 MON和DAA峰面积的回收率和RSD

成分	加入浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	加入量/mg	供试品含量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
MON	82.823	0.828	0.665	1.487	99.27	99.63	0.56
			0.672	1.504	100.51		
			0.626	1.453	99.87		
			0.631	1.452	99.18		
			0.631	1.458	99.87		
			0.673	1.493	99.07		
DAA	22.807	0.228	0.182	0.408	99.30	99.47	1.61
			0.186	0.414	99.73		
			0.175	0.398	97.78		
			0.174	0.407	102.45		
			0.177	0.401	98.43		
			0.187	0.414	99.14		

MON与DAA的提取量均优于热回流与酶辅助工艺,超声波的空化作用能够促进细胞内容的释放和扩散,从而提高提取率、缩短提取时间,因此,本试验后续采用单因素和正交试验对超声辅助提取工艺进行进一步优化。

表4 不同提取工艺提取效果

提取工艺	MON/(mg/g)	DAA/(mg/g)	总提取量/(mg/g)
热回流	6.071	1.718	7.789
酶解辅助	5.614	1.571	7.185
超声辅助	6.587	1.854	8.441

### 2.2.2 单因素试验结果

不同溶剂用量、提取温度、提取时间条件下MON和DAA总提取量结果见图2。

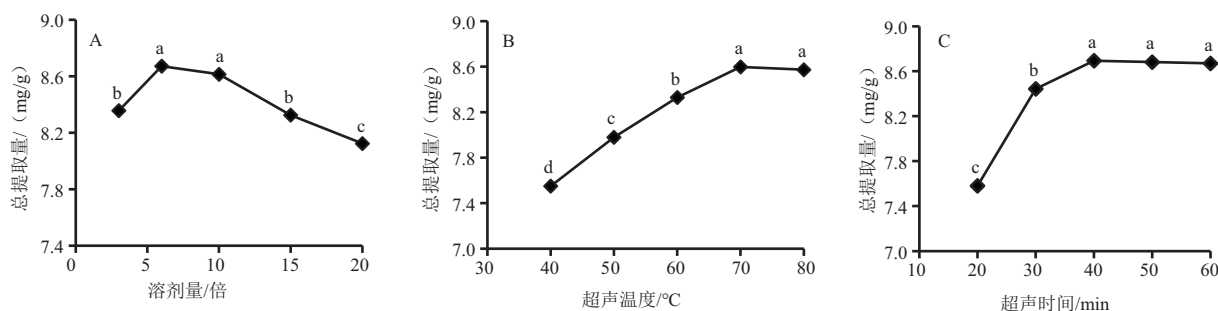


图2 单因素试验结果

注:A—溶剂用量对总提取量的影响;B—提取温度对总提取量的影响;C—提取时间对总提取量的影响;不同小写字母表示差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表5 正交试验结果与分析

试验号	A	B	C	MON/(mg/g)	DAA/(mg/g)	总提取量/(mg/g)
1	1	1	1	6.313	1.863	8.176
2	1	2	2	6.641	1.960	8.601
3	1	3	3	6.633	1.977	8.610
4	2	1	2	6.589	1.979	8.568
5	2	2	3	6.916	2.027	8.943
6	2	3	1	6.790	1.972	8.762
7	3	1	3	6.537	1.855	8.392
8	3	2	1	6.615	1.909	8.524
9	3	3	2	6.758	1.922	8.680
$k_1$	8.462	8.379	8.487	/	/	
$k_2$	8.758	8.689	8.616	/	/	
$k_3$	8.532	8.684	8.648	/	/	/
R	0.295	0.310	0.161	/	/	

注:“/”表示空白。

由图2A可看出,当溶剂纯化水用量为6倍时,MON和DAA总提取量最高,随着溶剂量的继续增加,总提取量反而逐渐下降。因此,溶剂量为6倍较为适宜。由图2B可看出,随着提取温度的升高,MON和DAA总提取量逐渐升高并趋于平缓,当提取温度为70°C时,总提取量最高。因此,提取温度为70°C较为适宜。由图2C可看出,随着提取时间的增长,MON和DAA总提取量逐渐升高并趋于平缓,当提取时间为40 min时,总提取量最高。因此,提取时间为40 min较为适宜。

### 2.2.3 正交优化试验结果

依据单因素试验结果,以溶剂用量、超声温度、超声时间3个因素,进行 $L_9(3^3)$ 正交试验,对试验数据综合分析,结果见表5。

由表5可知,各因素对环烯醚萜苷类成分提取量的影响程度依次为:B(超声温度)>A(溶剂量)>C(超声时间)。均值分析结果显示,因素A、B、C的 $k$ 值最大水平分别为 $A_2$ 、 $B_2$ 、 $C_3$ ,表明最优提取工艺组合为 $A_2B_2C_3$ 。据此确定环烯醚萜苷类成分超声辅助提取的最佳工艺为:加入6倍量纯化水,10 000 r/min匀浆2 min,再于70℃超声提取50 min。在此条件下,MON和DAA的总提取量达8.943 mg/g(以湿基计)。

### 3 结论

本研究建立了同时测定巴戟天中水晶兰苷和去乙酰基车叶草苷酸含量的HPLC法,并经正交试验获得巴戟天中环烯醚萜苷类成分的最佳提取工艺:加入6倍量纯化水,10 000 r/min匀浆2 min后,再于70℃超声提取50 min。目前文献报道中环烯醚萜苷类成分的提取多采用易燃有机溶剂,存在工业安全性低、成本高等问题。巴戟天环烯醚萜苷类是一类极性较大的成分,在水中溶解性良好,结合超声辅助技术能显著缩短提取时间并提高提取效率。随着巴戟天在药品和保健品领域的应用日益受到国内外关注,其开发潜力广阔。本研究优化的提取工艺绿色、安全、高效,可为相关产品的深度开发提供技术支撑。

### 参考文献

- [1] 周妍妍,周晓洁,闫博文,等. 巴戟天化学成分及药理作用研究进展[J]. 中成药辽宁中医药大学学报,2021,23(10): 1-5.
- [2] 王超. 桦褐孔菌和巴戟天的化学成分及活性研究[D]. 济南大学,2022.
- [3] 陈秋铃. 中药巴戟天的化学成分研究[D]. 暨南大学, 2022.
- [4] 郭思凡,王志博,解丹丹,等. 基于UPLC-Orbitrap-MS/MS和网络药理学的巴戟天化学成分及其治疗类风湿性关节炎作用机制研究[J]. 药物评价研究,2025,48(7): 1840-1852.
- [5] 梁晓霞,谢保城,罗世英. 环烯醚萜类化合物防治骨质疏松症作用机制的研究进展[J]. 现代药物与临床,2024,39(1):251-256.
- [6] 沈焱,孙艺琦,李鹤鸣,等. UPLC-Q-TOF-MS代谢组学探讨巴戟天环烯醚萜苷抗类风湿关节炎及并发骨丢失的机制[J]. 中国中药杂志,2024,49(2):453-460.
- [7] 赵祥升,弓宝,周亚奎,等. UPLC-MS/MS同时测定巴戟天中4个环烯醚萜苷的含量[J]. 药物分析杂志,2018,38(9): 1490-1495.
- [8] He Y Q, Yang H, Shen Y, et al. Monotropein attenuates ovariectomy anLPS-induced bone loss in mice and decreases inflammatory impairment on osteoblast through blocking activation of NF- $\kappa$ B pathway [J]. Chem Biol Interact, 2018,291:128-136.
- [9] Zhang Q, Hu S, He Y, et al. Monotropein protects against inflammatory bone loss and suppresses osteoclast formation and bone resorption by inhibiting NFATc1 via NF- $\kappa$ B and Akt/GSK-3 $\beta$  pathway [J]. Nutrients, 2022, 14(19): 3978.
- [10] 段金辉. 恩施巴戟环烯醚萜苷质量标准及提取工艺研究[D]. 武汉工程大学,2020.
- [11] 张建花,许月明,何玉琼,等. 巴戟天环烯醚萜苷类成分含量测定和提取方法的研究[J]. 药学实践杂志,2017,35(4):328-333.
- [12] 杨楠,李正磊,孙志猛,等. 不同炮制品及不同产地巴戟天中4种环烯醚萜类成分的含量测定[J]. 中药材,2018,41(7):1668-1671.
- [13] 宋开蓉,许月明,刘雄,等. 巴戟天中水晶兰苷酶辅助提取工艺的研究[J]. 解放军药科学学报,2018,34(1):6-10.
- [14] 李正磊,杨楠,蒋思怡,等. 不同产地巴戟天及不同炮制品中总环烯醚萜的含量测定[J]. 湖北中医药大学学报, 2019,21(5):38-41.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 四部. 北京: 中国医药科技出版社,2025:678-682.