

不同影响因素下肉苁蓉中3种活性成分的定量分析

蔡鸿¹, 鲍忠¹, 姜勇¹, 孙永强², 徐新文², 屠鹏飞^{1*}

1. 北京大学药学院 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191

2. 中国科学院 新疆生态与地理研究所, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: **目的** 对不同来源的肉苁蓉药材进行分析, 为肉苁蓉药材的质量控制及采收加工提供依据。 **方法** 采用 HPLC-UV 方法, 对肉苁蓉药材中的松果菊苷和毛蕊花糖苷进行测定; 采用 HPLC-ELSD 法对肉苁蓉药材中半乳糖醇进行测定。基于 3 种活性成分质量分数的差异, 对来源于我国内蒙古、新疆以及宁夏地区的 68 批肉苁蓉药材进行了分析, 以期阐明不同产地、不同加工方法、不同生长期及空间搭载等因素对肉苁蓉药材中活性成分的影响。 **结果** 不同来源肉苁蓉药材活性成分量差异较大, 产地以内蒙古和新疆等道地药材产地药材活性成分量较高; 加工方法对肉苁蓉药材不同活性成分量影响不同, 松果菊苷和毛蕊花糖苷以切片杀酶的方法为佳, 半乳糖醇以直接干燥的方法为佳; 不同生长期的肉苁蓉药材活性成分量为花序未长出地面的样品 > 花序长出地面但尚未开花的样品 > 开花的样品 > 花期后的样品; 从对卫星搭载样品的分析结果看, 毛蕊花糖苷的质量分数具有提高的趋势, 而松果菊苷以及半乳糖醇的量变化很小。 **结论** 不同产地、不同加工方法、不同生长期对肉苁蓉活性成分具有影响, 为肉苁蓉药材质量控制和采收加工提供参考。

关键词: 肉苁蓉; 松果菊苷; 毛蕊花糖苷; 半乳糖醇; 高效液相色谱; 定量分析; 卫星搭载

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)22-3223-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.22.023

Quantitative analysis of three active constituents in crude drug of *Cistanche deserticola* influenced by different factors

CAI Hong¹, BAO Zhong¹, JIANG Yong¹, SUN Yong-qiang², XU Xin-wen², TU Peng-fei¹

1. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China

2. Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China

Abstract: Objective To analyze the crude drug of *Cistanche deserticola* from different sources and to supply some references for the quality control, collection, and processing of *C. deserticola*. **Methods** HPLC-UV method was used to determine the contents of echinacoside and verbascoside, while HPLC-ELSD method was used to determine the content of galactitol. According to the content differences of these compounds, the influences of habitat, processing method, growing period, and space flight on the quality of *C. deserticola* had been discussed. **Results** There were great differences among the samples from various sources. The quality of the crude drugs from the genuine producing areas, such as Inner Mongolia and Xinjiang was better than that from Ningxia. The influences of processing methods were different for the three constituents, the drying method for first killing the enzymes was better to echinacoside and verbascoside, the traditional drying method was better to galactitol. The contents of the active constituents in the crude drug underground > those growing above the ground before florescence > those in florescence > those after florescence. The content of verbascoside was higher in *C. deserticola* carried by space flight than that not carried by space flight, but the contents of echinacoside and galactitol were almost same. **Conclusion** This method supplies a comprehensive analysis of *C. deserticola*, which could be used for the quality control, collection and processing of *C. deserticola*.

Key words: *Cistanche deserticola* Y. C. Ma; echinacoside; verbascoside; galactitol; HPLC; quantitative analysis; carried by space flight

肉苁蓉为列当科植物肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 或管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight 干燥带鳞叶的肉质茎, 具有补肾阳、益精血、润肠通便等功效, 用于肾阳不足、精血亏虚、阳痿

不孕、腰膝酸软、筋骨无力、肠燥便秘^[1], 在补肾阳方剂中出现频率最高。化学成分研究表明, 肉苁蓉药材主要含苯乙醇苷类、环烯醚萜及其苷类、木脂素及其苷类以及酚苷、单萜苷、生物碱、糖类、糖

收稿日期: 2013-07-06

基金项目: 科技部十五攻关项目(2001BA701A41, 2001BA701A55-34); 中国科学院“西部之光”人才培养计划“联合学者”项目(1hxz200901); 中医药行业科技专项(200707009)

*通信作者 屠鹏飞, 男, 教授, 研究方向为天然药物活性成分与新药研究。Tel: (010)82802750 E-mail: pengfeitu@bjmu.edu.cn

醇、甾醇等成分^[2]。药理作用研究表明,肉苁蓉具有抗氧化、提高学习记忆能力、调节神经内分泌、增强体力、抗疲劳以及免疫调节等作用,其主要有效成分为苯乙醇苷类^[3-4];同时肉苁蓉还具有明显的通便作用,其主要有效成分为半乳糖醇和寡糖类^[5]。

目前对肉苁蓉的质量评价主要对其所含的松果菊苷和毛蕊花糖苷进行测定,《中国药典》2010 年版一部肉苁蓉项下也以这 2 个指标控制肉苁蓉药材的质量。由于肉苁蓉具有广泛的药理作用和临床应用,复杂的化学成分是其物质基础,而采用多指标的质量控制方法更能有效地控制肉苁蓉药材的质量。本课题组报道了采用 HPLC-ELSD 方法对肉苁蓉中润肠通便的有效成分半乳糖醇进行了测定^[6],并对不同产地管花肉苁蓉所含的松果菊苷、毛蕊花糖苷和半乳糖醇进行了系统分析^[7]。因此为了综合评价肉苁蓉药材的质量,本实验同时采用松果菊苷、毛蕊花糖

苷和半乳糖醇的量为指标,对不同来源的肉苁蓉,包括不同产地、不同加工方法、不同生长期及其空间诱变对肉苁蓉药材质量的影响作了分析。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 HPLC 色谱仪,二极管阵列检测器(DAD),四元低压梯度泵,真空脱气机,柱温箱,自动进样器,蒸发光散射检测器。乙腈为色谱纯,水为二次重蒸水。

松果菊苷、半乳糖醇对照品为自制,质量分数大于 98%。毛蕊花糖苷对照品购自中国药品生物制品检定所,质量分数大于 98%。药材分别采集或采购于我国内蒙古、新疆以及宁夏永宁县肉苁蓉种植基地,共 68 批样品,包括不同产地、不同加工方法、不同生长期及经卫星搭载的样品,具体见表 1。样品均由北京大学药学院屠鹏飞教授鉴定为列当科植物肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 的干燥带鳞叶的肉质茎。

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

编号	来源	干燥方式	生长期	搭载情况	编号	来源	干燥方式	生长期	搭载情况
1	内蒙古阿拉善吉兰泰	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载	35	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
2	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载	36	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	未知	未搭载
3	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载	37	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	未知	未搭载
4	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	38	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	未知	未搭载
5	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	39	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	未知	未搭载
6	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	40	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	未知	未搭载
7	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	41	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	未长出地面	未搭载
8	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	42	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	长出地面已开花	未搭载
9	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	43	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	长出地面已开花	未搭载
10	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	44	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	长出地面已开花	未搭载
11	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	45	内蒙古阿拉善额济纳	直接干燥	长出地面已开花	未搭载
12	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	46	内蒙古磴口王爷地	直接干燥	未知	未搭载
13	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	47	内蒙古磴口王爷地	杀酶干燥	未长出地面	未搭载
14	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	48	内蒙古磴口王爷地	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
15	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	49	内蒙古磴口王爷地	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
16	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	50	内蒙古磴口王爷地	杀酶干燥	长出地面已开花	未搭载
17	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	51	内蒙古磴口王爷地	直接干燥	花期后	未搭载
18	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	52	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
19	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	53	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
20	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	54	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
21	内蒙古阿拉善亚布赖	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	55	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
22	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	56	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
23	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	57	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
24	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	58	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
25	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	59	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
26	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	60	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
27	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	61	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
28	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	62	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
29	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	63	新疆塔中	杀酶干燥	长出地面未开花	未搭载
30	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	64	新疆塔中	直接干燥	未长出地面	未搭载
31	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	65	新疆塔中	直接干燥	未长出地面	未搭载
32	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	66	新疆塔中	直接干燥	未长出地面	未搭载
33	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	67	宁夏永宁	杀酶干燥	未知	未搭载
34	内蒙古阿拉善额济纳	杀酶干燥	长出地面未开花	搭载	68	宁夏永宁	杀酶干燥	未知	未搭载

2 方法和结果

2.1 松果菊苷、毛蕊花糖苷的定量分析

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取松果菊苷和毛蕊花糖苷对照品适量, 置棕色量瓶中, 加 60% 甲醇制成每 0.2 mg/mL 混合溶液, 摇匀, 即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(过四号筛)约 1 g, 精密称定, 置 100 mL 棕色量瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 密塞, 摇匀, 称定, 浸泡 30 min, 超声处理(功率: 250 W, 频率: 35 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 称定, 加 50% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 静置, 取上清液, 用 0.2 μ m 微孔滤膜滤过, 续滤液置棕色瓶中, 即得。

2.1.3 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以甲醇(A)-0.1% 甲酸溶液(B)为流动相, 梯度洗脱, 洗脱程序为 0~17 min, 26.5% A; 17~20 min, 26.5%~29.5% A; 20~27 min, 29.5% A; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长为 330 nm; 柱温为 35 $^{\circ}$ C。理论塔板数按松果菊苷峰计算应不低于 3 000, 按毛蕊花糖苷峰计算应不低于 3 000。

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 0.1、0.5、2.0、10.0、20.0、50.0 μ L, 注入液相色谱仪, 记录峰面积。分别以松果菊苷、毛蕊花糖苷各自的峰面积积分为纵坐标(Y)、进样量(μ g)为横坐标(X), 绘制标准曲线, 松果菊苷回归方程为 $Y=1\ 117.85 X-9.18$, $r=1.000\ 0$; 毛蕊花糖苷回归方程为 $Y=1\ 649.19 X+4.11$, $r=1.000\ 0$ 。结果表明, 松果菊苷在 0.023 8~11.900 0 μ g 呈良好线性, 毛蕊花糖苷在 0.023 6~11.800 0 μ g 呈良好线性。

2.1.5 精密度试验 取 63 号样品制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算峰面积的相对标准偏差, 松果菊苷和毛蕊花糖苷平均峰面积的 RSD 值分别为 0.5% 和 1.7%。

2.1.6 稳定性试验 取 63 号样品制备供试品溶液分别在 0、2、4、8、16、24 h 测定, 计算得松果菊苷和毛蕊花糖苷峰面积的 RSD 值分别为 1.4% 和 1.6%, 结果表明, 24 h 内检测, 供试品溶液稳定。

2.1.7 重复性试验 取 63 号样品平行制备 6 份供试品溶液, 分别测定峰面积, 计算得松果菊苷和毛蕊花糖苷质量分数的 RSD 值分别为 0.6% 和 1.3%。

2.1.8 加样回收试验 采取加样回收法(对照品按 0.5、1、1.5 倍量加入), 分别取 63 号样品 0.25 g 置 100 mL 量瓶中, 9 份, 精密称定, 3 份为一组, 每组分别精密加入 1.159 mg/mL 松果菊苷对照品溶液

2.5、5.0、7.5 mL, 再分别精密加入 0.600 mg/mL 毛蕊花糖苷对照品溶液 1.0、2.0、3.0 mL, 按“2.1.2”项方法进行制备, 测定, 计算回收率。松果菊苷和毛蕊花糖苷的加样回收率分别为 101.08% 和 99.44%, RSD 分别为 1.3% 和 0.97%。

2.1.9 样品测定 分别精密吸取对照品溶液各供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。色谱图见图 1。

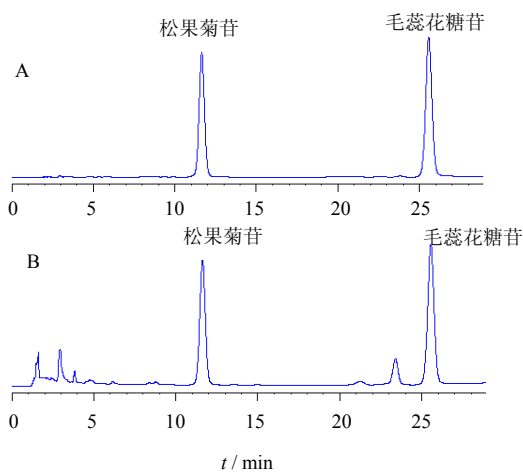


图 1 对照品溶液(A)及肉苁蓉药材(B)HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference solution (A) and crude drug of *C. deserticola* (B)

2.2 半乳糖醇的定量分析^[6]

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取半乳糖醇对照品适量, 加水制成 0.1 mg/L 的溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密吸取“2.1.2”项供试品溶液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 用 0.2 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.3 色谱条件 以聚合凝胶为填充相; 以乙腈-水(77:23)为流动相; 体积流量为 0.7 mL/min; 柱温为 25 $^{\circ}$ C; 蒸发光散射检测器: 漂移管温度为 40 $^{\circ}$ C, 气体压力为 2.5×10^5 Pa, 检测灵敏度设置为 8。理论塔板数按半乳糖醇峰计算应不低于 3 000。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取 1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0 μ L 半乳糖醇对照品溶液, 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以峰面积对数值为纵坐标(Y)、半乳糖醇进样量(μ g)的对数值为横坐标(X), 绘制标准曲线, 计算回归方程: $Y=1.50 X+2.96$, $r=0.999\ 1$ 。结果表明在 0.202~10.100 μ g 半乳糖醇峰面积对数与进样量的对数呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 取 63 号样品, 按“2.2.2”项制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 计

算半乳糖醇峰面积的 RSD 值为 0.77%。

2.2.6 稳定性试验 取 63 号样品, 按“2.2.2”项制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、16、24 h 测定, 计算半乳糖醇峰面积的 RSD 为 0.77%。

2.2.7 重复性试验 取 63 号样品按“2.2.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液, 分别测定峰面积, 计算半乳糖醇质量分数的 RSD 为 0.49%。

2.2.8 加样回收试验 采取加样回收法(对照品按 0.5、1、1.5 倍量加入), 分别取 63 号样品 0.25 g 置 100 mL 量瓶中, 9 份, 3 份为一组, 精密称定, 每组分别精密加入另配制的 3.85 mg/mL 半乳糖醇对照品溶液 2.0、4.0、6.0 mL, 再按“2.2.2”项方法进行制备, 计算平均加样回收率分别为 100.48%, RSD 值为 1.34%。

2.2.9 样品测定 精密吸取对照品溶液 5、25 μ L, 供试品溶液 15 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 以外标两点法对数方程计算, 即得, 色谱图见图 2。

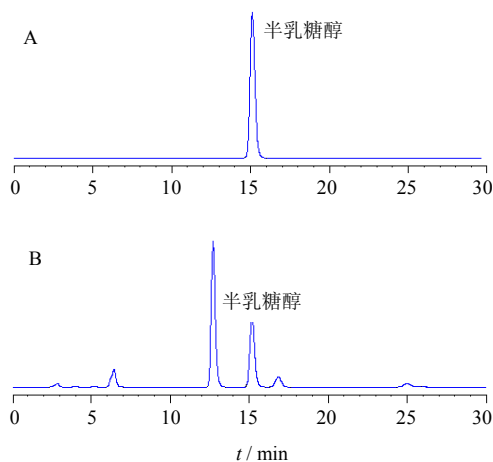


图 2 半乳糖醇对照品 (A) 及肉苁蓉药材 (B) HPLC 图
Fig. 2 HPLC chromatograms of galactitol reference substances (A) and crude drug of *C. deserticola* (B)

2.3 测定结果

对 68 批肉苁蓉样品比较不同产地、不同加工方法、不同生长期及经卫星搭载的样品的活性成分, 分别选取部分样品进行直接检测或加工后检测, 检测方法按照上法测定。

2.3.1 不同产地肉苁蓉的活性成分对比检测 为了尽可能排除干扰, 选取采用同一加工方式即热水杀酶后自然干燥的 53 个样品进行产地与活性成分的分析。不同产地的样品包括内蒙古阿拉善盟的 3 个产地、内蒙古磴口县、宁夏永宁县和新疆塔中地区, 检测结果见表 2。

对以上不同产地的肉苁蓉活性成分的测定结果分别进行单因子方差分析统计, 统计结果表明, 各产地肉苁蓉中松果菊苷和半乳糖醇质量分数没有显著性差异 ($P > 0.05$); 而不同来源的肉苁蓉中毛蕊花糖苷质量分数有显著性差异 ($P < 0.05$), 其中内蒙古阿拉善盟的肉苁蓉中毛蕊花糖苷质量分数较高, 达 2.19%。另外, 从整体平均值来看, 内蒙古产区和新疆产区的 3 种有效成分质量分数均远高于宁夏地区。

2.3.2 肉苁蓉经不同方法加工后的活性成分对比检测 为了尽可能消除干扰, 该平行试验的药材均选自产地为内蒙古的药材, 加工由同一个分析员在同一天内完成, 按当天加工的最大量随机抽取 12 个样品 (1~3、35~40、46、48、49), 分别采用自然干燥(取鲜肉苁蓉切成 4 mm 厚片, 不经热水杀酶直接自然干燥)和杀酶干燥(取鲜肉苁蓉切成 4 mm 厚片, 70 $^{\circ}$ C 热水杀酶 6 min 后自然干燥)方式进行加工, 结果见表 3。

对表 3 中肉苁蓉样品不同加工方式的活性成分测定结果分别进行双样本 t 检验, 判断其是否具有显著性差异, 统计结果表明, 不同干燥方式的肉苁蓉中松果菊苷和毛蕊花糖苷的质量分数没有显著性差异 ($P > 0.05$); 不同干燥方式的肉苁蓉中半乳糖醇质量分数有显著性差异 ($P < 0.05$), 以直接干燥为佳。另外, 从整体平均值来看, 松果菊苷和毛蕊花糖苷的质量分数, 热水杀酶后自然干燥的方式远高于直接干燥; 半乳糖醇质量分数以直接干燥为佳。

2.3.3 不同生长期的肉苁蓉的活性成分对比 药材中共有 60 批标明具体的生长期, 其包括了花序未长出地面、花序长出地面未开花、花序长出地面已开花和花期后 4 个不同生长期, 对该 60 个样品分别采用同一种加工方法进行加工: 取鲜肉苁蓉切成 4 mm 厚片, 70 $^{\circ}$ C 热水杀酶 6 min 后自然干燥, 对活性成分的检测结果见表 4。

对不同生长期的肉苁蓉的活性成分测定结果分别进行单因子方差分析统计, 判断其是否具有显著性差异, 统计结果表明, 松果菊苷质量分数差异有显著性 ($P < 0.05$), 其中花序未长出地面的肉苁蓉的松果菊苷质量分数较高, 达 8.69%; 毛蕊花糖苷的质量分数差异也有显著性 ($P < 0.05$), 其中花序未长出地面的肉苁蓉中毛蕊花糖苷质量分数达 4.22%, 质量分数较高; 半乳糖醇质量分数差异有显著性 ($P < 0.05$), 其中未长出地

表 2 不同来源样品中活性成分的测定结果 (n = 3)

Table 2 Determination of active constituents in *C. deserticola* from various sources (n = 3)

编号	松果菊苷 / %	毛蕊花糖苷 / %	半乳糖醇 / %	编号	松果菊苷 / %	毛蕊花糖苷 / %	半乳糖醇 / %
1	0.71	1.89	8.37	28	1.07	0.98	9.47
2	1.12	0.34	4.25	29	0.82	3.98	6.46
3	6.90	2.26	9.68	30	0.98	1.75	15.41
4	1.37	0.91	7.41	31	0.78	1.68	7.84
5	1.11	1.67	10.94	32	0.62	2.70	7.78
6	1.33	4.48	9.88	33	0.62	1.09	10.05
7	0.60	3.46	4.27	34	1.61	2.40	6.06
8	6.41	1.32	5.50	35	0.44	0.30	4.81
9	2.54	1.59	5.33	47	5.46	0.45	14.00
10	0.40	0.99	11.29	48	1.54	0.97	5.16
11	5.02	5.25	2.58	49	1.18	0.31	6.61
12	2.25	2.21	4.53	50	0.66	0.31	4.21
13	3.00	2.62	5.18	52	1.10	0.76	4.66
14	0.61	3.00	8.18	53	1.61	1.39	7.50
15	0.60	4.70	6.75	54	2.17	0.63	10.39
16	2.02	3.09	8.33	55	4.40	0.67	5.04
17	2.13	3.41	2.01	56	8.15	0.72	12.83
18	2.47	1.02	2.93	57	2.59	0.80	11.25
19	1.55	1.49	15.31	58	3.30	1.80	14.41
20	2.32	2.60	8.43	59	7.12	1.16	3.05
21	4.57	1.04	3.86	60	0.97	0.50	14.32
22	15.81	5.27	10.21	61	0.88	1.05	12.69
23	5.16	3.02	11.31	62	4.78	0.79	4.38
24	4.71	0.49	9.28	63	2.75	0.70	5.60
25	5.37	1.38	10.21	67	0.56	0.35	3.09
26	11.54	1.46	7.09	68	0.43	0.32	3.19
27	1.61	0.78	8.11				

表 3 不同干燥方式下样品中活性成分测定结果 (n = 3)

Table 3 Determination of active constituents in *C. deserticola* by different drying methods (n = 3)

编号	松果菊苷 / %	毛蕊花糖苷 / %	半乳糖醇 / %
1	0.71	1.89	8.37
2	1.12	0.34	4.25
3	6.90	2.26	9.68
35	0.44	0.30	4.81
36	0.28	0.16	9.13
37	0.34	0.20	7.90
38	0.29	0.31	8.04
39	0.23	0.37	10.85
40	0.21	0.32	10.67
46	0.77	0.52	8.88
48	1.54	0.97	5.16
49	1.18	0.31	6.61

面的肉苁蓉半乳糖醇质量分数较高, 达 11.65%。根据以上统计学分析, 不同生长期的肉苁蓉中 3 种活性成分均有显著性差异, 以花序未长出地面为佳; 从整体平均值来看, 花序未长出地面的样品活性成分质量分数 > 花序长出地面但尚未开花的样品 > 开花的样品 > 花期后的样品。

2.3.4 空间搭载对肉苁蓉的活性成分对比检测
 为了尽量消除干扰, 在 68 批样品中选取同一个采收季节的样品进行考察, 基于采收季节为“长出地面但尚未开花”的样品批次最多, 选用该 49 批样品为考察样本。对该 49 批样品中经过我国神舟 4 号卫星搭载过的种子栽培的药材, 和未经空间搭载的正常种子栽培的药材, 分别采用同一种加工方式进行加工: 取鲜肉苁蓉切成 4 mm 厚片, 70 °C 热水杀酶 6 min 后自然干燥, 活性成分的检测结果见

表4 不同生长期的样品中活性成分测定结果 ($n=3$)Table 4 Determination of active constituents in *C. deserticola* during different growing periods ($n=3$)

编号	松果菊苷 / %	毛蕊花糖苷 / %	半乳糖醇 / %	编号	松果菊苷 / %	毛蕊花糖苷 / %	半乳糖醇 / %
1	0.71	1.89	8.37	31	0.78	1.68	7.84
2	1.12	0.34	4.25	32	0.62	2.70	7.78
3	6.90	2.26	9.68	33	0.62	1.09	10.05
4	1.37	0.91	7.41	34	1.61	2.40	6.06
5	1.11	1.67	10.94	35	0.44	0.30	4.81
6	1.33	4.48	9.88	41	3.31	2.51	5.92
7	0.60	3.46	4.27	42	0.28	1.40	8.22
8	6.41	1.32	5.50	43	1.00	1.77	5.67
9	2.54	1.59	5.33	44	0.09	0.28	7.81
10	0.40	0.99	11.29	45	0.41	0.26	4.58
11	5.02	5.25	2.58	47	5.46	0.45	14.00
12	2.25	2.21	4.53	48	1.54	0.97	5.16
13	3.00	2.62	5.18	49	1.18	0.31	6.61
14	0.61	3.00	8.18	50	0.66	0.31	4.21
15	0.60	4.70	6.75	51	0.01	0.01	0.12
16	2.02	3.09	8.33	52	1.10	0.76	4.66
17	2.13	3.41	2.01	53	1.61	1.39	7.50
18	2.47	1.02	2.93	54	2.17	0.63	10.39
19	1.55	1.49	15.31	55	4.40	0.67	5.04
20	2.32	2.60	8.43	56	8.15	0.72	12.83
21	4.57	1.04	3.86	57	2.59	0.80	11.25
22	15.81	5.27	10.21	58	3.30	1.80	14.41
23	5.16	3.02	11.31	59	7.12	1.16	3.05
24	4.71	0.49	9.28	60	0.97	0.50	14.32
25	5.37	1.38	10.21	61	0.88	1.05	12.69
26	11.54	1.46	7.09	62	4.78	0.79	4.38
27	1.61	0.78	8.11	63	2.75	0.70	5.60
28	1.07	0.98	9.47	64	5.06	5.54	17.53
29	0.82	3.98	6.46	65	13.07	5.73	10.86
30	0.98	1.75	15.41	66	16.54	6.85	9.94

表5. 对空间搭载或未空间搭载的肉苁蓉样品活性成分测定结果分别进行双样本 t 检验, 判断其是否具有显著性差异, 统计结果表明, 空间搭载对肉苁蓉中松果菊苷和半乳糖醇质量分数没有显著性影响 ($P>0.05$); 空间搭载对肉苁蓉中毛蕊花糖苷质量分数有显著性影响, 以空间搭载的肉苁蓉为佳。根据以上统计学分析, 经空间搭载的肉苁蓉中, 毛蕊花糖苷质量分数具有显著性差异 ($P<0.05$), 以空间搭载的肉苁蓉为佳; 从整体平均值来看, 松果菊苷和半乳糖醇质量分数无明显

差异, 毛蕊花糖苷的质量分数, 空间搭载具有提高的趋势。

3 讨论

3.1 不同产地肉苁蓉药材松果菊苷、毛蕊花糖苷和半乳糖醇质量分数比较

本研究共收集了4个地区的药材, 包括内蒙古阿拉善盟、内蒙古磴口县、宁夏永宁肉苁蓉种植基地和新疆塔中地区, 从其松果菊苷、毛蕊花糖苷和半乳糖醇的质量分数可以看出, 不同产地、不同个体的肉苁蓉药材有效成分质量分数差异还是比较大

表5 空间搭载或未空间搭载样品中活性成分测定结果 (n=3)

Table 5 Determination of active constituents in *C. deserticola* carried by space flight (n=3)

编号	松果菊苷 / %	毛蕊花糖苷 / %	半乳糖醇 / %	编号	松果菊苷 / %	毛蕊花糖苷 / %	半乳糖醇 / %
1	0.71	1.89	8.37	26	11.54	1.46	7.09
2	1.12	0.34	4.25	27	1.61	0.78	8.11
3	6.90	2.26	9.68	28	1.07	0.98	9.47
4	1.37	0.91	7.41	29	0.82	3.98	6.46
5	1.11	1.67	10.94	30	0.98	1.75	15.41
6	1.33	4.48	9.88	31	0.78	1.68	7.84
7	0.60	3.46	4.27	32	0.62	2.70	7.78
8	6.41	1.32	5.50	33	0.62	1.09	10.05
9	2.54	1.59	5.33	34	1.61	2.40	6.06
10	0.40	0.99	11.29	35	0.44	0.30	4.81
11	5.02	5.25	2.58	48	1.54	0.97	5.16
12	2.25	2.21	4.53	49	1.18	0.31	6.61
13	3.00	2.62	5.18	52	1.10	0.76	4.66
14	0.61	3.00	8.18	53	1.61	1.39	7.50
15	0.60	4.70	6.75	54	2.17	0.63	10.39
16	2.02	3.09	8.33	55	4.40	0.67	5.04
17	2.13	3.41	2.01	56	8.15	0.72	12.83
18	2.47	1.02	2.93	57	2.59	0.80	11.25
19	1.55	1.49	15.31	58	3.30	1.80	14.41
20	2.32	2.60	8.43	59	7.12	1.16	3.05
21	4.57	1.04	3.86	60	0.97	0.50	14.32
22	15.81	5.27	10.21	61	0.88	1.05	12.69
23	5.16	3.02	11.31	62	4.78	0.79	4.38
24	4.71	0.49	9.28	63	2.75	0.70	5.60
25	5.37	1.38	10.21				

的。以产地区分可以得出, 内蒙古阿拉善盟的 35 个样品有效成分的平均质量分数: 松果菊苷为 2.86%, 毛蕊花糖苷为 2.19%, 半乳糖醇为 7.69%; 内蒙古磴口县 4 个样品的平均质量分数: 松果菊苷为 1.92%, 毛蕊花糖苷为 0.51%, 半乳糖醇为 7.77%; 新疆塔中地区 12 个样品的平均质量分数: 松果菊苷为 3.32%, 毛蕊花糖苷为 0.91%, 半乳糖醇为 8.84%; 银川永宁肉苁蓉种植基地 2 个样品的平均质量分数: 松果菊苷为 0.50%, 毛蕊花糖苷为 0.34%, 半乳糖醇为 3.14%。

上述几个肉苁蓉药材的主产地中, 依据统计学分析, 不同产地的肉苁蓉药材中对毛蕊花糖苷质量分数有显著性差异, 其中以内蒙古阿拉善盟为佳; 综合 3 种活性成分的平均值, 以内蒙古和新疆所产药材的松果菊苷和半乳糖醇的质量分数最高, 内蒙古阿拉善盟所产药材的毛蕊花糖苷的质量分数最高, 而银川永宁种植的肉苁蓉药材的

3 种有效成分质量分数均相对较低。这进一步验证了肉苁蓉药材还是以传统产地新疆、内蒙古所产质量为佳。

3.2 肉苁蓉药材经不同方法加工后松果菊苷、毛蕊花糖苷和半乳糖醇质量分数比较

传统的肉苁蓉药材干燥方法为自然干燥, 但由于肉苁蓉体积大、含糖量高, 自然干燥所需时间长达 2~4 个月, 致使有效成分苯乙醇苷类成分大大降低^[3]。本课题组前期研究表明, 将新鲜的管花肉苁蓉切片, 采用热水杀酶然后干燥的方法, 能使其有效成分提高十余倍^[8]。本研究也采用该方法对鲜肉苁蓉药材进行切片、杀酶、干燥的方法加工成饮片, 然后与切片不经杀酶的干燥方式所得饮片进行对比。通过对 2 种不同干燥方式肉苁蓉药材的比较, 发现当以松果菊苷、毛蕊花糖苷的质量分数为指标时, 采用杀酶干燥方式药材的松果菊苷质量分数为 1.98%, 毛蕊花糖苷质量分数为 1.01%, 高于

不杀酶直接自然干燥样品中的松果菊苷和毛蕊花糖苷的质量分数(松果菊苷为0.35%,毛蕊花糖苷为0.31%),但由于个体差异性较大,经统计学分析,2种加工方式下松果菊苷和毛蕊花糖苷的质量分数没有显著性差异;而当以半乳糖醇质量分数为指标时,不杀酶直接自然干燥样品的平均质量分数(9.25%)略高于经过热水杀酶干燥的样品(6.48%)。这可能是半乳糖醇为水溶性成分,在用热水杀酶的过程中,有少量溶解于水中造成了一定量的损失。

综上,不同加工方式的肉苁蓉中半乳糖醇质量分数有显著性差异,以直接干燥为佳;以松果菊苷、毛蕊花糖苷的质量分数为指标时,不同加工方式无显著性差异,从均值看热水杀酶后的干燥方式高于直接干燥。所以,依据实验设计中有关有效成分的不同实验目的,可以选择不同的干燥方式。

3.3 肉苁蓉药材不同生长期松果菊苷、毛蕊花糖苷和半乳糖醇质量分数比较

对花序未长出地面、花序长出地面未开花、花序长出地面已开花和花期后4个不同生长期的肉苁蓉药材中有效成分质量分数进行了比较,结果发现,无花序的肉苁蓉药材有效成分的质量分数(松果菊苷为8.69%、毛蕊花糖苷为4.22%、半乳糖醇为11.66%),均明显高于花序长出地面未开花的样品(松果菊苷为2.91%、毛蕊花糖苷为1.81%、半乳糖醇为7.90%)以及花序长出地面且已开花的样品(松果菊苷为0.49%、毛蕊花糖苷为0.80%、半乳糖醇为6.10%);而开花后期的样品其质量分数(松果菊苷0.01%、毛蕊花糖苷0.01%和半乳糖醇0.12%)已经远远低于《中国药典》2010年版的标准,这说明肉苁蓉开花时消耗了大量的营养成分,使其有效成分大大降低,因此传统的采收时期为春季苗未出土或刚出土时采挖,或秋季冻土之前采挖,还是具有一定的科学依据。

3.4 空间搭载对肉苁蓉药材中松果菊苷、毛蕊花糖苷和半乳糖醇质量分数的影响

为选育肉苁蓉的优良品种及观察空间诱变对肉苁蓉品质的影响,本研究对经“神舟4号”飞船搭载的肉苁蓉种子种植后采收的药材与未经飞船搭载的肉苁蓉药材有效成分质量分数进行了对比,所有药材为同一个采收时间采收,相同的干燥方式进行加工。31批卫星搭载样品的质量分数(松果菊苷为2.94%、毛蕊花糖苷为2.32%、半乳糖醇为7.81%)与18批未搭载的样品的质量分数(松果菊苷为2.87%、毛蕊花糖苷为0.95%、半乳糖醇为8.06%)进行比较,松果菊苷和半乳糖醇的质量分数差异很小,而毛蕊花糖苷的质量分数有显著性差异,未搭载样品的毛蕊花糖苷质量分数相对较低。说明飞船搭载对肉苁蓉药材中毛蕊花糖苷的质量分数具有一定影响。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 屠鹏飞, 王出山武, 张正高, 等. 肉苁蓉类生药中苯乙醇甙类成分的 RP-HPLC 分析 [J]. 药学学报, 1997, 32(4): 294-300.
- [3] 宋志宏, 雷 丽, 屠鹏飞. 肉苁蓉属植物的药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2003, 34(9): 附 16-附 18.
- [4] 蒋晓燕, 王晓雯, 王雪飞, 等. 肉苁蓉总苷对大鼠局灶性脑缺血损伤的影响 [J]. 中草药, 2004, 35(6): 660-662.
- [5] 张百舜, 赵学文, 陈双厚, 等. 肉苁蓉分离部位通便作用的实验研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(11): 31-32.
- [6] 鲍 忠, 蔡 鸿, 姜 勇, 等. HPLC-ELSD法测定肉苁蓉药材中半乳糖醇含量 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(7): 1004-1006.
- [7] 蔡 鸿, 鲍 忠, 姜 勇, 等. 不同产地管花肉苁蓉中有效成分的定量分析 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 452-455.
- [8] 蔡 鸿, 鲍 忠, 姜 勇, 等. 鲜管花肉苁蓉加工工艺 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(13): 1289-1291.