

·色谱指纹图谱研究·

巴戟天环烯醚萜苷类及蒽醌类成分 HPLC 指纹图谱研究

高新开¹, 叶家宏², 曹子丰¹, 魏 刚², 林伟斌¹, 吴小莉¹ (1. 无限极(中国)有限公司, 广东 江门 529156; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 建立巴戟天环烯醚萜苷类和蒽醌类成分 HPLC 指纹图谱。**方法** 采用 ZOBAX SB Aq (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液(梯度洗脱); 检测波长分别为 235, 280 nm; 柱温为 30 ℃; 流速为 1.0 mL·min⁻¹。**结果** 标示出巴戟天环烯醚萜苷类和蒽醌类成分指纹图谱具有 8 个和 7 个共有峰。**结论** 市售巴戟天药材质量较稳定, 本研究为巴戟天的质量控制提供了方法依据。

关键词: 巴戟天; 环烯醚萜苷类; 蒽醌类; 指纹图谱; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)03-0315-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.03.019

Studies on HPLC Fingerprint of Iridoid and Anthraquinone Components of Radix Morindae Officinalis

GAO Xinkai¹, YE Jiahong², CAO Zifeng¹, WEI Gang², LIN Weibin¹, WU Xiaoli¹ (1. Infinitus(China)Co., Ltd, Jiangmen 529156 Guangdong, China; 2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To establish HPLC fingerprint of iridoid and anthraquinone components of Radix Morindae Officinalis. **Methods** Zorbax SB Aq (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used with acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution as the mobile phase by gradient elution, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the column temperature was 30 ℃. The detection wavelength was set at 235 nm and 280 nm respectively. **Results** Eight characteristic peaks of iridoid components and 7 characteristic peaks of anthraquinone components were separated from 11 batches of Radix Morindae Officinalis. **Conclusion** The quality of Radix Morindae Officinalis in the market is stable, and the results will provide a reference for the quality control of Radix Morindae Officinalis.

Keywords: Radix Morindae Officinalis; Iridoid; Anthraquinone; Fingerprint; HPLC

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, 用于阳痿遗精, 宫冷不孕, 月经不调, 少腹冷痛, 风湿痹痛, 筋骨痿软^[1]。巴戟天主要含有蒽醌类^[2-3]、环烯醚萜苷类^[4-5]、糖类^[6]、氨基酸^[7]等化学成分, 其中蒽醌类化合物具有抗菌、降压降脂、抗癌、抗病毒、凝血等生物活性^[8], 环烯醚萜苷类具有较强的抗炎镇痛作用, 与巴戟天祛风湿的传统功效密切

相关^[9]。近年来, 指纹图谱技术被用于巴戟天的质量研究, 但多集中于糖类成分的指纹图谱^[10-13]。本研究采用双波长分别建立巴戟天环烯醚萜苷类和蒽醌类成分的 HPLC 指纹图谱, 为更好地控制巴戟天的质量提供方法依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(四元泵、

收稿日期: 2014-01-20

作者简介: 高新开, 男, 高级经理, 研究方向: 质量检测管理及中药材检测研究。Email: Akay.Gao@infinitus-int.com。通讯作者: 魏刚, 研究员, 研究方向: 中药新药研究与指纹图谱分析。Email: weigang021@163.com。

柱温箱、DAD 检测器和 Agilent 1200 色谱工作站), 美国 Agilent 公司; Sartorius BP 211D 分析天平, 德国塞多利斯天平有限公司; KQ-400 KPE 超声波清洗仪 (功率 500 W, 频率 40 kHz), 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 试药 巴戟天饮片(来源见表 1), 经广州中医药大学魏刚研究员鉴定为茜草科植物巴戟天 *Morinda officinalis* How. 的干燥根。水晶兰苷对照品, 成都曼斯特生物科技有限公司, 批号: MUST-12062204; 乙腈、色谱纯, 德国 Merk 公司; 其他试剂均为分析纯, 水为纯化水。

表 1 巴戟天来源
Table 1 The sources of *Morinda officinalis*

编号	供货单位	编号	供货单位
S1	广东省药材公司中药饮片厂	S7	二天堂药店
S2	杏园春药店	S8	沁龙药行
S3	广州市药材公司	S9	宽正堂大药房
S4	同健医药连锁店	S10	育德药店
S5	华安医药药店	S11	广东省药材公司
S6	健琪医药药店		中药饮片厂

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 ZOBAX SB Aq (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为乙腈(A)-0.1 %磷酸(B), 梯度洗脱: 0~15 min, A 为 0.5 %→1 %, 15~30 min, A 为 1 %→2 %, 30~50 min, A 为 2 %→10 %, 50~70 min, A 为 10 %→28 %; 70~75 min, A 为 28 %→52 %; 75~85 min, A 为 52 %→100 %, 85~95 min, A 为 100 %→100 %, 95~105 min, A 为 100 %→0.5 %; 检测波长分别为 235, 280 nm; 流速为 1 mL·min⁻¹; 柱温为 30 ℃; 进样量为 5 μL。

2.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(过 4 号筛) 2.0 g, 精密称定, 精密加入 80 %甲醇 50 mL, 称质量, 超声处理 60 min, 取出, 放冷, 用 80 %甲醇补足减失的质量, 滤过, 精密吸取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 并转移至 2 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 对照品溶液的制备 取水晶兰苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含水晶兰苷 80 μg 溶液, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 5 μL, 连续进样 6 次, 结果两种检测波长条件所测的指纹图谱与所得的共有模式的相似度均大于 0.998, 表明

精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 5 μL, 分别在 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 进样, 结果两种检测波长条件所测的指纹图谱与所得的共有模式的相似度均大于 0.998, 表明 24 h 内供试品溶液稳定性较好。

2.4.3 重复性试验 取同一批样品, 依法制备 6 份供试品溶液并进样分析, 结果两种检测波长条件所测的指纹图谱与所得的共有模式的相似度均大于 0.997, 表明重复性良好。

2.5 指纹图谱的建立与分析

2.5.1 共有峰的确定、鉴定及分析 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项的色谱条件进样分析。采用国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004A 版), 以均值法分别生成 11 批样品指纹图谱共有模式。在 235 nm 检测波长条件下环烯醚萜苷类成分的图谱处理采用保留时间剪切为 0~75 min, 重叠图及共有模式见图 1、图 2。经对照品保留时间定位及色谱峰紫外光谱分析, 峰 1 为水晶

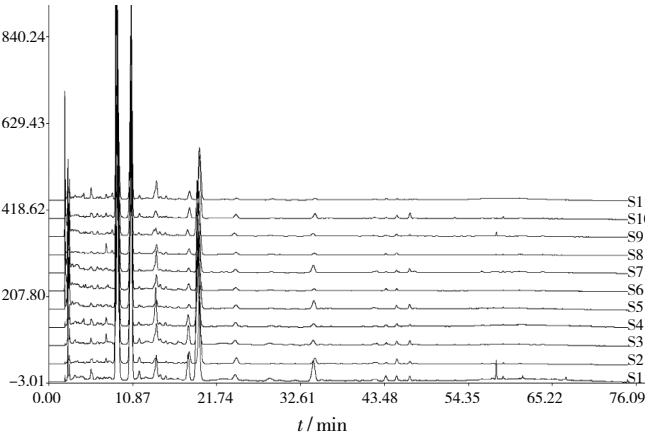


图 1 11 批巴戟天环烯醚萜苷类成分 HPLC 指纹图谱重叠图 (235 nm)
Figure 1 HPLC fingerprint overlapping of iridoid components from eleven batches of Radix Morindae Officinalis

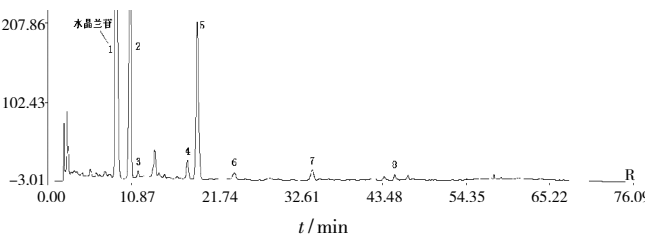


图 2 巴戟天环烯醚萜苷类成分 HPLC 指纹图谱共有模式 (235 nm)
Figure 2 Common pattern of HPLC fingerprint of iridoid components of Radix Morindae Officinalis

兰昔。在 280 nm 检测波长条件下蒽醌类成分的图谱处理采用保留时间剪切为 75~105 min，重叠图及共有模式见图 3、图 4。

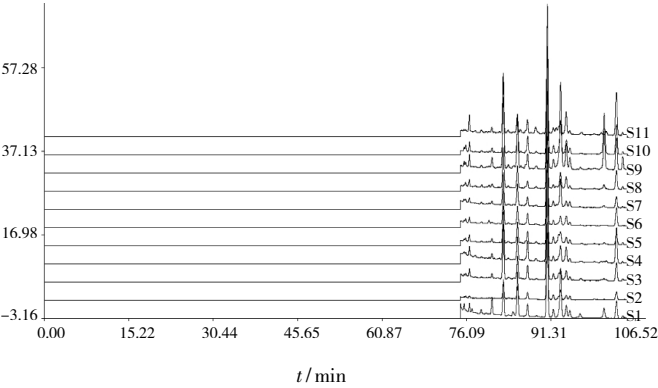


图 3 11 批巴戟天蒽醌类成分 HPLC 指纹图谱重叠图(280 nm)

Figure 3 HPLC fingerprint overlapping of anthraquinone components from eleven batches of Radix Morindae Officinalis

2.5.2 参照峰的选择 在 235、280 nm 检测波长条件下的指纹图谱分别选择峰 1(水晶兰昔)、峰 4 为参照峰(S)，分别计算各共有峰的相对保留时间与相对峰面积，结果见表 2、表 3。

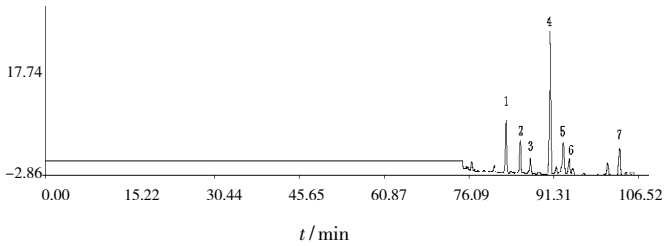


图 4 巴戟天蒽醌类成分成分 HPLC 指纹图谱共有模式(280 nm)

Figure 4 Common pattern of HPLC fingerprint of anthraquinone components of Radix Morindae Officinalis

表 2 巴戟天环烯醚萜苷类成分 HPLC 指纹图谱分析结果(235 nm)

Table 2 Results of HPLC fingerprint of iridoid components of Radix Morindae Officinalis

峰号	平均相对保留时间	相对峰面积											均值	SD
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11		
1(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2	1.201	0.621	0.398	0.832	1.043	0.506	1.093	0.419	1.290	0.773	0.539	1.298	0.801	0.336
3	1.330	0.017	0.010	0.017	0.014	0.006	0.011	0.005	0.014	0.008	0.008	0.018	0.012	0.005
4	2.058	0.067	0.028	0.070	0.077	0.012	0.055	0.012	0.080	0.030	0.029	0.074	0.048	0.027
5	2.203	0.651	0.183	0.547	0.924	0.251	0.543	0.245	0.990	0.326	0.221	0.431	0.483	0.280
6	2.749	0.021	0.019	0.023	0.039	0.016	0.033	0.015	0.042	0.021	0.016	0.017	0.024	0.010
7	3.902	0.077	0.018	0.027	0.033	0.034	0.021	0.035	0.028	0.021	0.018	0.019	0.030	0.017
8	5.119	0.012	0.011	0.014	0.019	0.009	0.015	0.006	0.024	0.009	0.008	0.009	0.012	0.005

表 3 巴戟天蒽醌类成分 HPLC 指纹图谱分析结果(280 nm)

Table 3 Results of HPLC fingerprint of anthraquinone components of Radix Morindae Officinalis

峰号	平均相对保留时间	相对峰面积											均值	SD
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11		
1	0.913	0.302	0.186	0.397	0.219	0.367	0.226	0.422	0.405	0.510	0.329	0.626	0.362	0.131
2	0.941	0.398	0.166	0.179	0.103	0.250	0.127	0.296	0.214	0.318	0.191	0.200	0.222	0.087
3	0.961	0.123	0.084	0.105	0.080	0.148	0.083	0.121	0.063	0.089	0.104	0.151	0.105	0.028
4(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
5	1.026	0.563	0.149	0.086	0.077	0.153	0.068	0.404	0.171	0.643	0.228	0.133	0.243	0.202
6	1.038	0.136	0.070	0.079	0.075	0.077	0.076	0.092	0.127	0.153	0.094	0.272	0.114	0.060
7	1.137	0.196	0.131	0.174	0.185	0.151	0.156	0.185	0.221	0.231	0.225	0.582	0.221	0.124

2.5.3 相似度分析 采用国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004A 版)，以均值法分别生成 11 批样品指纹图谱共有模式，分别以两种检测波长的共有模式为对照分别分析 11 批样品相似度，结果见表 4，提示市售巴戟天环烯醚萜苷类和蒽

醌类成分的质量相对较稳定。

3 讨论

通过初筛试验发现某些特征峰保留时间较短，筛选确定了 ZORBAX SB Aq(250 × 4.6mm，5 μm)色谱柱。比较乙腈 - 不同酸水(0.1 %甲酸，0.1 %磷

表 4 巴戟天两种检测波长 HPLC 指纹图谱相似度
Table 4 Similarities of HPLC dual-wavelength fingerprints of Radix Morindae Officinalis

编号	相似度	
	235 nm	280 nm
S1	0.983	0.954
S2	0.968	0.979
S3	0.992	0.985
S4	0.948	0.975
S5	0.988	0.987
S6	0.972	0.976
S7	0.978	0.984
S8	0.933	0.995
S9	0.995	0.944
S10	0.987	0.982
S11	0.948	0.935

酸, 0.5 %醋酸)流动相系统的洗脱效果, 结果乙腈 - 磷酸洗脱基线相对较平稳, 因此确定采用乙腈 - 磷酸系统。比较了不同浓度磷酸 (0.05 %、0.1 %、0.2 %), 结果分离效果差别不大, 本试验采用乙腈 - 0.1 %磷酸系统。环烯醚萜苷类成分紫外光谱基本一致, 在 235 nm 附近有最大吸收; 而蒽醌类成分紫外光谱差异较大, 在 235 nm 波长条件下吸收很小, 难以检测出, 在 280 nm 波长条件下吸收较大, 因此, 采用双波长检测方法进行分析。

本试验比较了巴戟天回流与超声处理的提取效果, 结果超声处理提取效率高、方便, 故采用超声处理方法。考察了 60 %甲醇、80 %甲醇、甲醇等提取溶媒, 结果 80 %甲醇的提取效果较优; 比较了不同超声次数和超声时间的提取效果, 结果超声提取 1 次 60 min 即基本提取完全。

11 批样品环烯醚萜苷类指纹图谱均具有 8 个共有峰, 基本以峰 1、峰 2、峰 5 较明显为特征; 以共有模式为对照, 11 批样品相似度大于 0.93。不同样品蒽醌类成分具有 10-13 个特征峰, 标示了 7 个共

有峰, 相似度亦大于 0.93。本研究提示市售巴戟天环烯醚萜苷类及蒽醌类成分质量相对较稳定, 为巴戟天药材的质量控制提供了方法依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 75-76.

[2] 杨燕军, 舒惠一, 闵知大. 巴戟天和恩施巴戟的蒽醌化合物[J]. 药学报, 1992, 27(5): 358-364.

[3] 张海龙, 张庆文, 张晓琦, 等. 南药巴戟天的化学成分[J]. 中国天然药物, 2010, 8(3): 192-195.

[4] 陈玉武, 薛智. 巴戟天化学成分研究[J]. 中药通报, 1987, 12(10): 39-40.

[5] Yoshikawa M, Yamaguchi S, Nishisaka H, et al. Chemical constituents of chinese natural medicine, morindae Radix, the dried roots of *Morinda officinalis* how: structures of morindolide and morofficinaloside [J]. Chemical & pharmaceutical bulletin, 1995, 43 (9): 1462-1465.

[6] 冯峰, 王玲娜, 赖小平, 等. 巴戟天寡糖研究[J]. 中药材, 2012, 35(8): 1259-1262.

[7] 吴祎, 陈地灵, 林励, 等. 常用炮制方法对巴戟天中游离氨基酸成分的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 105-108.

[8] 段淑娥, 李敏. 中草药中蒽醌化合物的研究进展[J]. 西安文理学院学报, 2005, 8(1): 24-28.

[9] Choi JW, Lee KT, Choi MY. Antinociceptive anti-inflammatory effect of monotropein isolated from the root of *morinda officinalis* [J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(10): 1915-1918.

[10] 刘晓涵, 陈永刚, 林励, 等. 不同产地巴戟天中糖类成分 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2009, 40(10): 1641-1643.

[11] 仰铁锤. 巴戟天寡糖指纹图谱研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.

[12] 刘硕, 马方励, 李养学, 等. 巴戟天及不同盐分炮制品中糖类成分 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19 (4): 106-110.

[13] 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]. 中国药理学杂志, 2011, 46(18): 1385-1388.

(编辑: 修春)

国家药品不良反应监测年度报告 (2013 年) ——中药注射剂监测情况

来源: 国家食品药品监督管理总局 <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0051/99774.html>

2013 年全国药品不良反应监测网络共收到中药注射剂报告 12.1 万例次, 其中严重报告占 5.6 %。与 2012 年相比, 中药注射剂报告数量增长 17.0 %, 高于总体报告增长率; 严重报告数量增长 22.3 %, 与总体严重报告增长率基本持平。

2013 年中药注射剂严重不良反应 / 事件报告前 10 位的药品为: 清开灵注射剂、参麦注射剂、丹参注射剂、双黄连注射剂、香丹注射剂、血塞通注射剂、脉络宁注射剂、舒血宁注射剂、生脉注射剂和黄芪注射液。总体上看, 2013 年中药注射剂安全状况平稳。中药注射剂与其他药品联合使用现象依然存在, 可能增加安全风险, 临床应谨慎使用。部分中药注射剂涉及的基层医疗卫生机构报告数量比例较大, 提示基层使用此类药品可能存在较高风险。

(编辑部辑录)