

基于国家药品评价性抽检的巴戟天饮片质量分析与研究

乔菲, 刘杰, 戴胜云, 连超杰, 郑健*, 马双成* (中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要 目的: 通过国家药品评价性抽检工作, 了解市场上的巴戟天饮片质量及存在的问题, 为巴戟天的质量标准提高和市场监管提供数据支持。方法: 从全国24个省级行政区抽取巴戟天饮片, 按照《中华人民共和国药典》2015年版(一部)巴戟天性状项和薄层鉴别项方法开展检验工作, 并进行DNA条形码技术、指纹图谱、环烯醚萜含量测定、真菌毒素残留量共4项探索性研究, 分析检验结果以评价巴戟天饮片的市场情况。结果: 本次抽检的88家企业的巴戟天饮片共计108批, 按照国家法定标准检验的合格率为100%。DNA条形码技术可以有效区分巴戟天及其混伪品。指纹图谱研究结果显示, 正品巴戟天指纹图谱相似度均超过95%, 混伪品相似度均低于70%。含量测定结果显示, 不同巴戟天炮制品中环烯醚萜从种类和含量上具有显著性差别。真菌毒素筛查试验结果显示, 有1批样品的黄曲霉毒素G₁超出药典限度。结论: 按标检验结果显示, 市场上巴戟天饮片质量基本合格。根据探索性研究结果, 建议标准增加环烯醚萜含量测定和黄曲霉毒素限量检查。

关键词: 巴戟天; 国家药品评价性抽检; 质量分析; 指纹图谱; 含量测定; 环烯醚萜; 水晶兰苷

中图分类号: R932 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2023)09-1022-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2023.09.006

Quality Analysis and Study on Morindae Officinalis Radix Decoction Pieces Based on National Drug Sampling and Testing

Qiao Fei, Liu Jie, Dai Shengyun, Lian Chaojie, Zheng Jian*, Ma Shuangcheng* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

Abstract Objective: To analyze the quality and the problems of Morindae Officinalis Radix decoction pieces in the market through national drug sampling and testing in order to put forward data support for the improvement of quality standards and market supervision on Morindae Officinalis Radix decoction pieces. **Methods:** Morindae Officinalis Radix decoction pieces were sampled from 24 provincial administrative regions in China. The test work was carried by using the method of character item and TLC identification item for Morindae Officinalis Radix decoction pieces in Volume I, *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition), and four exploratory studies on DNA barcoding technology, fingerprints, content detection of cycloid, and mycotoxin residues were carried out. The test results were analyzed to evaluate the market situation of Morindae Officinalis Radix decoction pieces. **Results:** A total of 108 batches of Morindae Officinalis Radix decoction pieces from 88 enterprises were tested and

作者简介: 乔菲 Tel: (010) 53852067; E-mail: qiaofei@nifdc.org.cn

通信作者: 马双成 Tel: (010) 53852076; E-mail: masc@nifdc.org.cn

郑健 Tel: (010) 53852080; E-mail: zhengjian@nifdc.org.cn

the qualified rate was 100% according to the national legal standards. *Morindae Officinalis Radix* decoction pieces and the fakes can be distinguished effectively based on the method of DNA barcoding technology. The results of fingerprint analysis showed that the similarity of *Morindae Officinalis Radix* was more than 95% and the similarity of adulterants was less than 70%. The results of content determination showed the iridoids in different processed products of *Morinda Officinalis* have significant difference in species and content. Mycotoxin screening test results showed that aflatoxin G₁ in 1 of 30 batches of samples exceeded the limit of pharmacopoeia. **Conclusion:** According to the standard test results, the quality of *Morinda Officinalis Radix* decoction pieces in the market was basically qualified. Based on the exploratory research results, it is suggested that standard determination of iridoid content and aflatoxins limit should be added.

Keywords: *Morindae Officinalis Radix*; National drug sampling and testing; quality analysis; fingerprint spectrum; content detection; iridoid; monotropein

我国著名的“四大南药”之一巴戟天是茜草科植物巴戟天 *Morinda officinalis* How 的根，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]。巴戟天始载于《神农本草经》，列为上品，在历代本草著作中都有记载，但是品种和产地有所变迁。古代巴戟天分为归州巴戟天和滁州巴戟天，其基原较为混乱，涉及到6科10属12种^[2]。《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）1963年版将茜草科植物巴戟天 *Morinda officinalis* How 的干燥根作为巴戟天的正品^[3]。20世纪80年代，由于药源缺乏，市场上曾出现多种巴戟天的混淆品和地区习用品，例如茜草科植物羊角藤、假巴戟和四川虎刺以及木兰科植物铁箍散等^[4]。药典品种巴戟天主要分布在广东、广西、福建、海南，栽培主产区为广东，福建、广西亦有少量栽培^[5]。巴戟天全年均可采挖，洗净，除去须根，晒至六七成干，轻轻捶扁，晒干。其饮片包括巴戟天、巴戟肉、盐巴戟天和制巴戟天^[1]。

巴戟天及其炮制品自1963年版《中国药典》开始被历版药典收录，从2005年版开始，新增薄层色谱鉴别和高效液相色谱法耐斯糖的含量测定^[6]。为全面了解巴戟天饮片的整体质量情况，保障人民的用药安全，本课题组于2020年3月按照《中国药典》2015年版一部巴戟天项下规定，进行【性状】和【鉴别】项的按标检验，对全国范围内抽取的111批次（其中符合药典标准规格共计108批）巴戟天样品开展检验，并进行探索性研究，为科学、合理、全面地评价巴戟天饮片质量提供依据。

1 抽样情况

本次国家药品抽检涉及到除香港、澳门2个特别行政区及台湾省外的19个省、3个自治区、2个直辖市共24个省级行政区。抽到的巴戟天饮片包括巴戟天49批、巴戟肉24批、盐巴戟天31批和制巴戟天4批共4种饮片108批。被抽样单位中，涉及零售单位的批次为10批，生产单位为87批，医疗机构为11批。巴戟天按照生产单位所属省份，覆盖全国20个省、自治区、直辖市，共88家，其中以河北省最多，达18家，其次是安徽省，为16家。

2 法定标准检验项目和检验依据

《中国药典》对于巴戟天饮片的【炮制】【性状】【鉴别】【检查】【浸出物】【含量测定】等项目均作出规定。本次国家药品抽检对【性状】【鉴别】（薄层色谱鉴别）进行评价。

3 法定标准检验结果分析

本次抽检样品符合药典规格的共计108批，按《中国药典》2015年版一部检验【性状】和【鉴别】（薄层色谱鉴别）项，合格率为100%。

3.1 【性状】项

依据《中国药典》2015年版一部检验【性状】项，结果显示合格率为100%。

药典规定：巴戟天为扁圆柱形，略弯曲，长短不等，直径0.5~2 cm；表面灰黄色或暗灰色，具纵纹和横裂纹，有的皮部横向断裂露出木部；质韧，断面皮部厚，紫色或淡紫色，易与木部剥离；木部坚硬，黄棕色或黄白色，直径1~5 mm。巴戟肉、盐巴戟天和制巴戟天的外观描述一样，均为呈扁圆柱形短段或不规则块；表面灰黄色或暗灰色，

具纵纹和横裂纹；切面皮部厚，紫色或淡紫色，中空。巴戟天、巴戟肉和制巴戟天的气味相同：

气微，味甘而微涩；盐巴戟天气微，味甘、咸而微涩^[1]。典型性状见图1~4。



图1 巴戟天性状图



图2 巴戟肉性状图



图3 盐巴戟天性状图

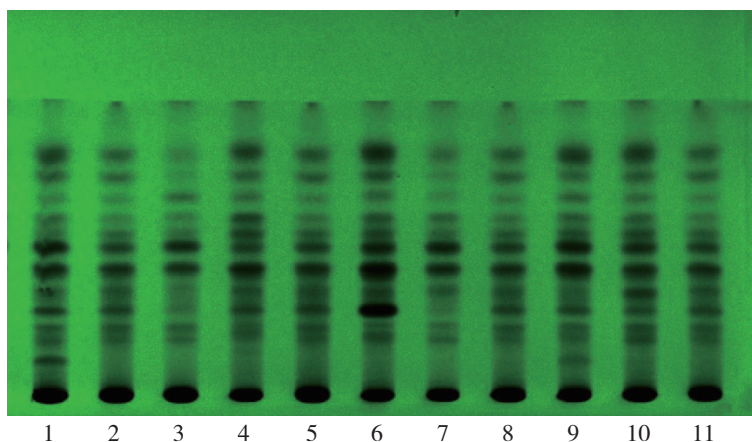


图4 制巴戟天性状图

3.2 【鉴别】（薄层色谱）项

依据《中国药典》2015年版一部检验【鉴别】（薄层色谱）项，结果显示合格率为100%。

标准规定供试品色谱在与巴戟天对照药材色谱相应的位置应显相同颜色的斑点。部分样品薄层鉴别色谱图如图5所示。



1. 巴戟天样品；2、5、8、11. 巴戟天对照药材；3、10. 巴戟肉样品；4. 制巴戟天样品；6、7. 巴戟肉样品；9. 盐巴戟天样品。

图5 巴戟天饮片的薄层鉴别结果（254 nm 紫外灯下检视）

4 探索性研究

根据按标检验的结果,目前从生产、零售到医疗机构使用的巴戟天饮片的质量基本符合规定。本次国家抽检探索性研究对饮片的安全性、有效性和可靠性展开研究。巴戟天正品均来自本次国抽样品,混伪品为自行采集和市场收集。

4.1 DNA条形码鉴别研究

通过聚合酶链式反应(PCR),对巴戟天的内部转录间隔区2(ITS2)序列进行扩增,经 BLAST/NCBI 数据库(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)比对,并通过邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建系统进化树,推断巴戟天饮片及其混伪品的基原。结果显示,巴戟天饮片与其混伪品分支明显,11批巴戟天混伪品被鉴定到7个种,分别为印度羊角藤(羊角藤)、蔓虎刺、硃砂根、木通、黑老虎、合蕊五味子(铁箍散)及南五味子。种内、种间变异分析结果显示,5批巴戟天饮片的种内遗传距离为0.000,巴戟天饮片与其他7个混伪品的最小种间遗传距离为0.037。由于巴戟天的药用部位为

根,炮制后仅通过性状鉴别不易与混伪品进行区分。采用薄层色谱鉴别方法,可以将部分与巴戟天不同科属的混伪品较好地区分,但是对于相同科属的混伪品则不易于区分。DNA条形码鉴别方法可以解决上述问题,为巴戟天的鉴别开辟一条新途径,使不能从性状和理化上进行准确鉴定的巴戟天样品依靠新的分子生物学手段或方法完成快速鉴定成为可能^[7-10]。

4.2 指纹图谱研究

本研究建立了巴戟天超高效液相色谱(Ultra-high Performance Liquid Chromatography, UPLC)指纹图谱,测定10批正品巴戟天和8批混伪品,找到其图谱特征,计算相似度。结果显示,正品巴戟天相似度均超过95%,混伪品相似度均低于70%,并进行了聚类分析和主成分分析。建立的指纹图谱采用聚类分析和主成分分析均能够将巴戟天及其伪品分成2组,从而达到鉴别的目的^[11]。详见图6~图8。

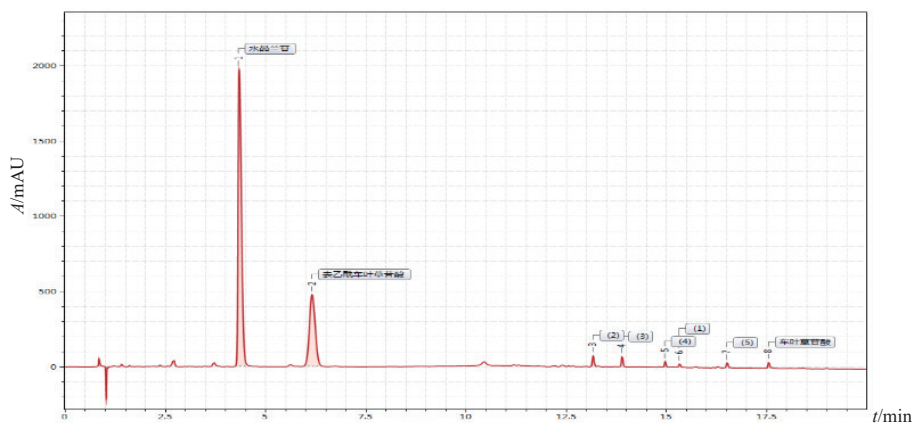


图6 巴戟天 HPLC 指纹图谱

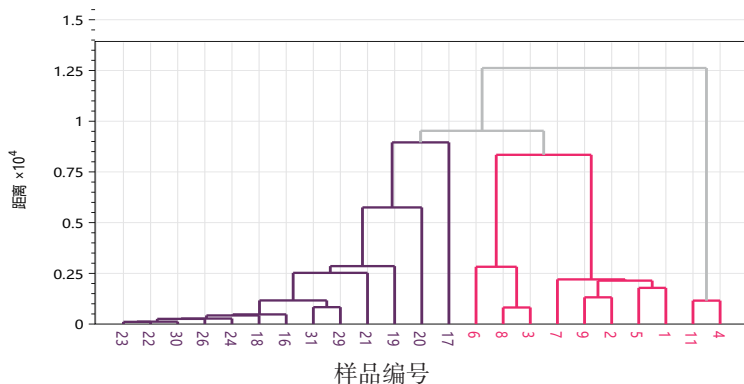


图7 巴戟天及其混伪品聚类分析结果

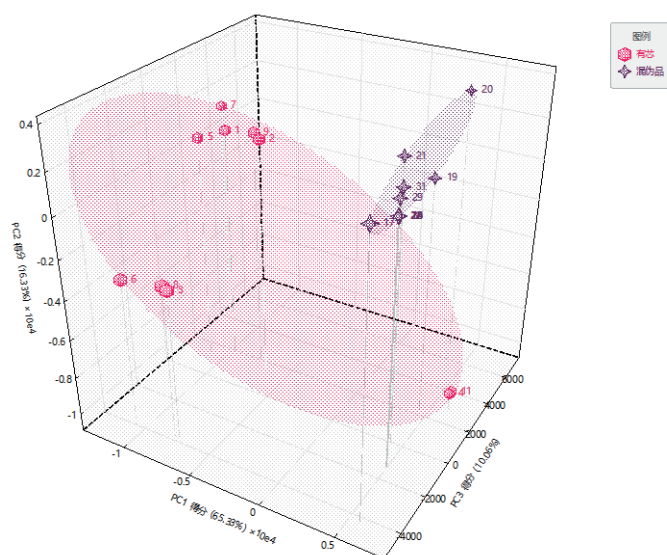


图8 巴戟天及其伪品主成分分析结果

4.3 巴戟天中环烯醚萜类成分含量测定方法的研究

研究建立了超高效液相色谱(UPLC)法测定巴戟天不同炮制规格中环烯醚萜类成分的含量,包括10批巴戟天、5批盐巴戟天、5批巴戟肉和4批制巴戟天共计24批饮片的环烯醚萜类成分的含量。结果显示,不同炮制品中环烯醚萜的含量从种类和含量上具有显著性差别,巴戟天、盐巴戟天、巴戟肉和制巴戟天中环烯醚萜的含量范围为0.501%~1.862%,平均为1.436%;4个炮制规格中,巴戟天、巴戟肉和制巴戟天的环烯醚萜含量相差不多,含量范围在1.518%~1.575%,而盐巴戟天含量相对最少,在0.501%~1.498%,平均为1.055%;4种环烯醚萜中含量最高的是水晶兰苷,含量在0.270%~1.418%,平均为1.058%;去乙酰车叶草苷酸含量范围为0.039%~0.434%,平均为0.367%;车叶草苷酸含量范围为0.002%~0.023%,平均为0.011%;车叶草苷在24批巴戟天中均未检出。本方法的建立对于规范和研究炮制方法具有一定的指导意义^[12-13]。

4.4 真菌毒素研究

采用超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱(UPLC-QQQ-MS)法对黄曲霉毒素B₁、黄曲霉毒素B₂、黄曲霉毒素G₁、黄曲霉毒素G₂、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(呕吐毒素)、3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇、15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇、伏马毒素B₁、伏马毒素B₂、伏马毒素B₃、HT-2毒素、赭

曲霉毒素A、T-2毒素、玉米赤霉烯酮等14种真菌毒素进行初步筛查,以考察巴戟天饮片的不同炮制方法对饮片安全性的影响。在108批抽检样品中随机挑选巴戟天18批、巴戟肉4批、盐巴戟天4批、制巴戟天4批共30批样品进行真菌毒素筛查试验,结果显示,有8批检出黄曲霉毒素G₁。2015年版《中国药典》巴戟天项下没有黄曲霉毒素检测项,参照其他22种药材限量标准,巴戟天有1批超出药典的规定,建议增加黄曲霉毒素限量检查^[14-15]。

5 讨论

近年来,国家药品监督管理部门加大对中药饮片的监督检查和抽查力度,依法曝光和查处违法违规企业和不合格产品,中药材及饮片的质量已有较大的提高。本次巴戟天的国家药品抽检工作中,108批次的按标检验合格率为100%,探索性研究工作主要针对标准的进一步完善、饮片炮制规范问题以及药材、饮片的质量安全性以及中药质控的新方法新思路等方面展开研究。

5.1 优化薄层色谱条件

由于巴戟天饮片及其混伪品的薄层色谱行为不完全一致,存在一定差异,可以将巴戟天与不同科属的混伪品较好地进行了区分,但是对于相同科属的混伪品就不易区分。采用硅胶G薄层板,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(8:2:0.1)作为展开剂,同科属的四川虎刺的薄层色谱斑点与巴戟天基本一致,而其他不同科属混伪品的薄层色谱中未显现与

巴戟天相同的薄层斑点。另外,巴戟天的薄层鉴别前处理方法使用了有毒试剂甲苯,对检验人员的健康危害较大,因此,巴戟天标准应优化薄层色谱条件,替换甲苯。

5.2 关于巴戟天是否应去木心

巴戟天的木心强韧,历代的炮制方法多为去除木心。本次国抽样品的性状检定结果显示,49批巴戟天中38批有木心,11批没有木心。通过对比薄层色谱和UPLC特征图谱,发现巴戟天无论“去心”还是“不去心”,在薄层色谱和UPLC特征图谱中均无明显差别。但是含量测定结果显示,去心的巴戟天其环烯醚萜类成分的含量均高于未去心的,提示木心中含有的环烯醚萜类成分少于根皮部分,而质谱成像试验的结果也再次证实了木心中含有的有效成分明显少于根皮部分^[16],为巴戟天去木心提供了理论依据。

5.3 监管建议

通过本次专项抽检工作,发现抽取的全部巴戟天饮片样品均合格,说明市场上的巴戟天饮片质量整体较好,均符合规定。巴戟天标准相对完善,建议进一步优化薄层色谱方法,替代使用有毒试剂甲苯;针对以巴戟天入药的中成药质量标准专属性问题,建议增加环烯醚萜测定方法;建议增加黄曲霉毒素限量检查,以保证人民用药安全。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015.
- [2] 刘洋洋,冯剑,陈德力,等. 南药巴戟天本草考证[J]. 生物资源, 2017, 39(1): 1-9.
- [3] 中华人民共和国药典:一部[S]. 1963.
- [4] 徐国钧. 常用中药材品种整理和质量研究(第1册)[M]. 福州:福建科学技术出版社, 1994: 298.
- [5] 中国科学院 中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社, 1999: 199-201.
- [6] 中华人民共和国药典:一部[S]. 2005.
- [7] 乔菲,刘杰,房文亮,等. 巴戟天饮片及其混伪品的鉴别研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 42(4): 668-673.
- [8] 郭慧,王谦博,贾力维,等. 中药材DNA条形码技术研究进展[J]. 中国药师, 2016, 19(3): 566.
- [9] 陈士林,庞晓慧,姚辉,等. 中药DNA条形码鉴定体系及研究方向[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2011, 13(5): 747.
- [10] 陈士林,姚辉,宋经元,等. 基于DNA barcoding(条形码)技术的中药材鉴定[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9(3): 7.
- [11] 张志鹏,梁丽金,徐杰巴,等. 巴戟天及根皮与木心UPLC特征指纹图谱与化学模式识别方法研究[J]. 中草药, 2020, 51(13): 3554.
- [12] 王玉磊. 巴戟天中主要环烯醚萜苷的研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2011.
- [13] 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, 30(1): 20.
- [14] 刘蕊,赵新悦,毛雯雯,等. 中药材中黄曲霉毒素及赭曲霉毒素A污染的研究进展[J]. 中国药物警戒, 2020, 17(2): 117.
- [15] 李硕,李莉. 超高效液相色谱-串联质谱法检测咖啡中黄曲霉毒素和杂色曲霉毒素[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(6): 136.
- [16] 张志鹏,梁丽金,徐杰巴,等. 巴戟天及根皮与木心UPLC特征指纹图谱与化学模式识别方法研究[J]. 中草药, 2020(13): 3554.

(收稿日期 2022年11月11日 编辑 郑丽娥)