

· 论著 ·

巴戟天环烯醚萜苷类成分含量测定和提取方法的研究

张建花^{1,2}, 许月明^{1,2}, 何玉琼², 宋洪涛³, 杜娟¹, 张巧艳² (1. 佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 3. 福州总医院药学科, 福建 福州 350025)

[摘要] **目的** 建立测定巴戟天环烯醚萜苷类成分含量的方法, 并研究其最佳提取方法。**方法** 以巴戟天环烯醚萜苷类成分水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸和车叶草苷为对照品, 采用 HPLC 法进行含量测定。色谱柱为艾杰尔 Venusil MP C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 (A)-0.2% 磷酸+0.01 mol/L 磷酸氢二钠缓冲盐 (B) 梯度洗脱 (0~12 min, 1%~2% A; 12~30 min, 2%~25% A), 检测波长为 235 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 25 °C, 进样量为 20 μl。采用单因素考察和正交试验优化巴戟天环烯醚萜苷类成分的提取方法。**结果** 水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸和车叶草苷在 0.375~12.0、0.13~4.16、0.016~0.516 和 0.012~0.384 μg 范围内, 线性关系良好, 重复性、精密性、加样回收率和稳定性试验结果均符合要求。优化的巴戟天环烯醚萜苷类成分的最佳提取方法为: 巴戟天药材用 16 倍 10% 乙醇浸泡 9 h, 渗漉提取, 流速为 0.8 BV/h。**结论** 此法可准确、灵敏地测定巴戟天环烯醚萜苷类成分的含量, 并可使该类成分得到充分提取。

[关键词] 巴戟天; 环烯醚萜苷; 含量测定; 高效液相色谱法; 正交试验; 渗漉; 提取方法

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2017)04-0328-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.010

Studies on content determination and extraction method of iridoid glycosides in *Morinda officinalis* How.

ZHANG Jianhua^{1,2}, XU Yueying^{1,2}, HE Yuqiong², SONG Hongtao³, DU Juan¹, ZHANG Qiaoyan² (1. School of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital, Fuzhou 350025, China)

[Abstract] **Objective** To develop a method for determination of iridoid glycosides in *Morinda officinalis* How. and optimize the extraction methods for iridoid glycosides in *Morinda officinalis* How. **Methods** The iridoid glycosides, including monotropein, deacetyl asperulosidic acid, asperulosidic acid and asperuloside as standards, HPLC method was developed to determine the content of iridoid glycosides in *Morinda officinalis* How. The separation was performed on Venusil MP C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. The mobile phase was acetonitrile (A)-0.2% phosphoric acid and 0.01 disodium hydrogen phosphate buffer salt (B) with gradient elution (0-12 min, 1%-2% A; 12-30 min, 2%-25% A). The detection wavelength was 235 nm. The flow rate was set at 1.0 ml/min and the column temperature at 25 °C. The injection volume was 20 μl. Single factor analysis and orthogonal test were used to optimize extraction method of iridoid glycosides in *Morinda officinalis* How. **Results** Monotropein, deacetyl asperulosidic acid, asperulosidic acid and asperuloside showed good linearity ($r > 0.9995$) in the ranges of 0.375-12 μg, 0.13-4.16 μg, 0.016-0.516 μg and 0.012-0.384 μg, respectively. This validated method has good repeatability, precision, recovery and stability. It was conformed to meet the requirements and regulation. The optimal extraction method included soaking the raw materials with 16 times of 10% ethanol for 9 h, and then extraction by percolation with the flow rate of 0.8 BV/h. **Conclusion** The HPLC method sensitively and precisely determined the content of iridoid glycosides in *Morinda officinalis* How. The optimized extraction method extracted these constituents effectively.

[Key words] *Morinda officinalis* How.; iridoid glycoside; content determination; HPLC; orthogonal test; percolate; extraction method

[基金项目] 国家自然科学基金(U1505226);上海市科技支撑计划(14401902700);佳木斯大学研究生科技创新项目(YM2016_098)

[作者简介] 张建花, 硕士研究生. 研究方向: 生药(中药)鉴定与品质评价. Tel: 18717938759; Email: 582622051@qq.com

[通讯作者] 杜娟, 硕士生导师, 副教授. 研究方向: 生药(中药)鉴定与品质评价. Tel: (0454) 8610828; Email: jmsdujuan@126.com; 张巧艳, 硕士生导师, 教授. 研究方向: 中药药理及质量控制. Tel: (021) 81871303; Email: zqy1965@163.com

中药巴戟天为茜草科(Rubiaceae)植物巴戟天 *Morinda officinalis* How. 的干燥根,具有补肾阳、强筋骨和祛风湿等作用,临床用于治疗阳痿遗精,宫冷不孕,月经不调,少腹冷痛,风湿痹痛,筋骨痿软等证^[1]。化学和药理学研究表明,巴戟天含有多糖、环烯醚萜苷、蒽醌及挥发性成分等^[2-7],具有抗抑郁、调节甲状腺功能、抗肿瘤、抗衰老、抗疲劳、增强记忆和免疫调节等多种生物活性^[8-12]。巴戟天环烯醚萜苷类成分含量较高,并具有抗炎镇痛、抗癌、降血压、抗骨质疏松和抗类风湿性关节炎等作用^[13-16]。但目前尚未明确巴戟天中环烯醚萜苷类成分的最佳提取方法。本研究以4种环烯醚萜苷类成分:水晶兰苷(monotropein)、去乙酰基车叶草苷酸(deacetyl asperulosidic acid)、车叶草苷酸(asperulosidic acid)和车叶草苷(asperuloside)为考察指标,采用正交试验优化巴戟天的提取方法,以期为巴戟天环烯醚萜苷类成分的开发利用提供科学依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Agilent 1100型高效液相色谱仪(配有四元泵、自动进样器、柱温箱、DAD检测器,美国Agilent公司),AG285型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

1.2 药材和试剂 中药巴戟天于2015年4月购于广西玉林和安徽亳州药材市场,由第二军医大学药学院生药学教研室张巧艳教授鉴定为茜草科植物巴戟天的干燥根。对照标准品水晶兰苷(化学物质登录号CAS:5945-50-6)、去乙酰基车叶草苷酸(CAS:14259-55-3)、车叶草苷(CAS:14259-45-1)、车叶草苷酸(CAS:25368-11-0)均购自上海历鼎生物科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$;浓磷酸和磷酸氢二钠(赛默飞世尔生物化学制品有限公司);色谱纯乙腈(国药集团化学试剂有限公司);纯净水(杭州娃哈哈公司),其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 环烯醚萜苷类成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 艾杰尔 Venusil MP C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),流动相:乙腈(A)-0.2%磷酸+0.01 mol/L磷酸氢二钠缓冲盐(B)梯度洗脱(0~12 min, 1%~2% A; 12~30 min, 2%~25% A),检测波长:235 nm,流速:1.0 ml/min,柱温:25 $^{\circ}$ C,进样量:20 μ l。对照品和样品色谱图见图1。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取水晶兰

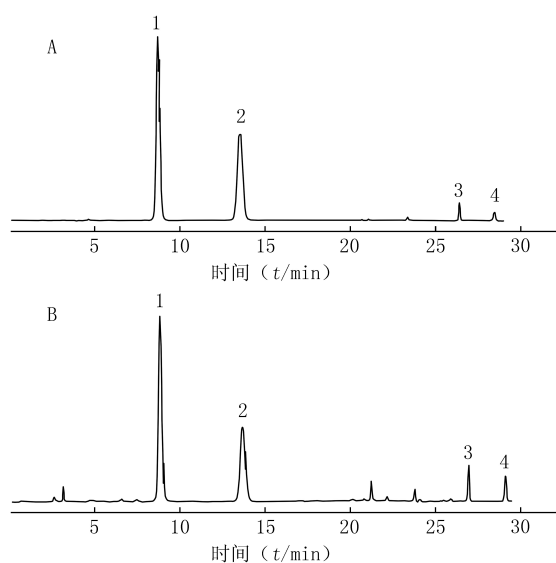


图1 混合对照品(A)和巴戟天提取物(B)的HPLC图

1.水晶兰苷;2.去乙酰基车叶草苷酸;
3.车叶草苷酸;4.车叶草苷

苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸、车叶草苷的标准品适量,用初始流动相定容至10 ml容量瓶中,摇匀,得浓度分别为0.600、0.208、0.026和0.008 mg/ml的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取巴戟天药材粉末0.5 g,置于150 ml锥形瓶中,加80%的甲醇100 ml,超声提取30 min,过滤,残渣再超声提取一次,合并提取液,水浴蒸干,用初始流动相定容至25 ml。样品溶液用0.45 μ m微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密吸取“2.1.2”项下的混合对照品溶液,分别稀释1、2、4、8、16、32倍,按照“2.1.1”项下的色谱条件,进样20 μ l,记录各对照品的峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标,浓度(X, μ g/ml)为横坐标,进行线性回归,得标准曲线方程如下:水晶兰苷: $Y=19\,799X-108.3$, $r=0.999\,9$,线性范围0.375~12 μ g;去乙酰基车叶草苷酸: $Y=31\,266X-4.258$, $r=0.999\,9$,线性范围0.13~4.16 μ g;车叶草苷酸: $Y=15\,883X+6.294$, $r=0.999\,7$,线性范围0.016~0.516 μ g;车叶草苷: $Y=14\,329X-2.533$, $r=0.999\,5$,线性范围0.012~0.384 μ g。以上结果表明,水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸、车叶草苷在相应的浓度范围内线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 精密吸取水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸、车叶草苷浓度分别为

600、208、25.8和8 μg/ml的混合对照品溶液,稀释2倍,按照上述色谱条件,于同一天重复进样6次,记录峰面积。结果显示水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸、车叶草苷峰面积的RSD分别为1.40%、1.40%、1.20%和1.30%。连续进样6d,上述各成分峰面积的RSD分别为1.30%、0.60%、0.20%和1.30%,表明本方法的日内精密度和日间精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取购于广西玉林的巴戟天药材制备的供试品溶液,于室温下分别放置0、4、8、12、16、20、24 h后进样分析,记录峰面积,结果显示,水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸和车叶草苷的峰面积RSD分别为0.89%、1.00%、0.71%和2.00%,表明供试品溶液在室温条件下24 h内稳定。

2.1.7 加样回收率试验 精密称取6份已知含量的巴戟天药材粉末0.5 g。按照“2.1.3”项下方法提取,定容至25 ml,再分别取1 ml加入到25 ml容量瓶中,加入“2.1.2”项下的混合对照标准品溶液0.4 ml,用初始流动相定容,测定水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸和车叶草苷酸的含量。精密称取6份已知含量的巴戟天药材粉末0.5 g,按照“2.1.3”项下方法提取,提取物用初始流动相溶解,加入5 ml容量瓶中,精密加入2.5 ml浓度8 μg/ml的车叶草苷标准品溶液,定容到5 ml,测定车叶草苷的含量。计算回收率结果如表1所示,水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸和车叶草苷的加样回收率分别为102.42%、102.89%、98.78%和99.74%,相应的RSD分别为1.82%、1.39%、1.67%和0.85%,表明各化合物的加样回收率良好。

表1 巴戟天环烯醚萜苷类成分的加样回收率

化学成分	样品中含量 (m/mg)	加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
水晶兰苷	0.250 8	0.240 0	0.502 1	102.32	102.42	1.82
	0.255 2	0.240 0	0.497 8	100.51		
	0.250 6	0.240 0	0.490 1	99.89		
	0.255 2	0.240 0	0.517 0	104.41		
	0.255 8	0.240 0	0.515 1	103.89		
	0.248 5	0.240 0	0.501 6	103.47		
去乙酰基车叶草苷酸	0.087 0	0.083 2	0.173 0	103.21	102.89	1.39
	0.087 0	0.083 2	0.174 5	102.53		
	0.087 0	0.083 2	0.169 9	100.41		
	0.087 0	0.083 2	0.177 5	104.07		
	0.087 0	0.083 2	0.179 4	104.46		
	0.087 0	0.083 2	0.174 6	102.64		
车叶草苷酸	0.005 6	0.010 5	0.015 7	97.79	98.78	1.67
	0.005 6	0.010 5	0.016 2	100.14		
	0.005 6	0.010 5	0.016 1	99.75		
	0.005 6	0.010 5	0.015 9	98.76		
	0.005 6	0.010 5	0.015 4	95.85		
	0.005 6	0.010 5	0.016 0	99.38		
车叶草苷	0.027 5	0.020 0	0.046 5	96.34	99.74	0.85
	0.027 5	0.020 0	0.046 5	96.34		
	0.027 5	0.020 0	0.048 1	103.14		
	0.027 5	0.020 0	0.049 9	108.60		
	0.027 5	0.020 0	0.046 4	96.10		
	0.027 5	0.020 0	0.047 1	97.93		

2.1.8 样品含量测定 分别称取3个不同地区购买的巴戟天样品0.5 g,按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按照“2.1.1”的色谱条件测定,记录峰面积并计算样品中水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸、车叶草苷的含量,结果见表2。

2.2 提取方法的优化

2.2.1 提取溶剂的选择 水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸为巴戟天中主要的环烯醚萜苷类成分,在醇水系统中具有较高的溶解性,且乙醇是常用溶媒,具有安全性高、适于工业化生产、价格便宜等特点^[17]。

表2 巴戟天环烯醚萜苷类4种成分的含量测定结果(mg/g)

药材购买地	水晶兰苷	去乙酰基车叶草苷酸	车叶草苷酸	车叶草苷
广西玉林	12.760	4.320	0.136	0.055
安徽亳州1	12.791	4.490	0.141	0.046
安徽亳州2	11.832	4.102	0.142	0.051

本研究选用乙醇水系统,以水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸的含量为指标,对巴戟天环烯醚萜苷类成分的提取方法进行优化。

取巴戟天粉末10g,分别用100ml水以及100ml的10%、20%、30%、40%、50%乙醇,加热回流提取2次,每次1h,合并2次的提取液,减压干燥浓缩得到浸膏,用初始流动相定容至500ml,按照上述色谱条件进行含量测定,结果见表3。

表3 水和不同浓度乙醇对巴戟天环烯醚萜苷类2种成分提取效率的影响(mg/g)

溶剂	水晶兰苷	去乙酰基车叶草苷酸	总含量
水	11.225	3.541	14.766
10%乙醇	13.665	3.995	17.660
20%乙醇	13.630	4.052	17.682
30%乙醇	13.282	3.853	17.735
40%乙醇	13.745	3.981	17.126
50%乙醇	10.820	3.114	13.934

如表3所示,随着乙醇浓度的增加,水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸的提取效率均有所提高,当乙醇浓度达到40%时,这两种物质的提取效率最高,当乙醇浓度在10%~40%的范围时,两者的提取效果相近。从节省溶剂的角度考虑,选用10%的乙醇提取。

2.2.2 提取方法的选择 在确定了乙醇浓度后,比较渗漉、煎煮、超声、回流4种方法的提取效果^[17,18]。

煎煮、超声提取法:称取10g药材粉末置于250ml圆底烧瓶中,加100ml的10%乙醇提取2次,收集合并2次的提取液,减压干燥浓缩成浸膏,用初始流动相定容至50ml,然后按照上述色谱条件进行含量测定。

渗漉提取法:取巴戟天药材粉末10g,先用10%乙醇将药材浸泡12h,然后用10%乙醇200ml进行渗漉提取,得到渗漉液,减压干燥浓缩成浸膏后,用初始流动相分别定容至50ml,按照上述色谱条件进行含量测定。

加热回流提取法:取巴戟天药材粉末10g置于200ml圆底烧瓶中,加10%乙醇100ml加热回流1h,过滤收集得回流液1,将残渣重新装入圆底烧瓶,再次加入10%乙醇100ml加热回流1h,收集得回流液2,2次回流液分别减压干燥浓缩至浸膏,用初始流动相定容至50ml,按照上述色谱条件进行含量测定,结果见表4。

表4 不同提取方法对巴戟天环烯醚萜苷类2种成分提取效率的影响(mg/g)

提取方法	水晶兰苷	去乙酰基车叶草苷酸	总含量(mg/g)
煎煮	10.478	3.204	13.682
超声	12.379	3.577	15.956
渗漉	13.004	3.977	16.981
回流	14.033	4.281	17.013

由表4可知,渗漉与煎煮、超声相比,提取效果更好。渗漉和加热回流在200ml溶剂中提取效率相近,但考虑到在工业生产中,加热回流受实验条件的限制较多,因此采取渗漉提取。

2.2.3 渗漉提取工艺的优化 在初步选定了提取的溶剂与浓度以及提取方法后,主要考察渗漉速度、溶剂用量和浸泡时间对提取效率的影响。以提取样品中水晶兰苷、去乙酰车叶草苷酸的含量为考察指标,采用三因素三水平 $L_9(3^3)$ 表,进行正交试验优化。实验方案见表5,正交试验设计与结果见表6,方差分析结果见表7。

表5 正交试验因素水平表

水平	A因素 渗漉速度 (BV/h)	B因素 溶剂用量 (BV)	C因素 浸泡时间 (t/h)
1	0.4	8	3
2	0.8	12	6
3	1.2	16	9

BV:柱体积 (bed volume)

由表6所示的总环烯醚萜苷的含量测定结果,3个因素对含量影响的大小为 $B>C>A$,即溶剂用量>浸泡时间>流速。表7的方差分析结果表明,溶剂用量对巴戟天总环烯醚萜苷类成分提取效率的影响较大,渗漉速度和浸泡时间则没有显著影响。根据极差分析(表6)的结果,以 $A_2B_3C_3$ 组合为优,即将药材浸泡9h,用16倍溶剂用量,每小时0.8倍柱体积(0.8BV/h)进行渗漉提取。

表6 正交试验中总环烯醚萜苷的含量测定结果

试验序号	A	B	C	总含量 (mg/g)
1	1	1	1	11.952
2	1	2	2	14.561
3	1	3	3	16.902
4	2	1	3	12.453
5	2	2	1	14.967
6	2	3	2	16.307
7	3	1	2	12.141
8	3	2	3	14.915
9	3	3	1	16.321
K_1	14.47	12.18	14.39	
K_2	14.58	14.81	14.45	
K_3	14.46	16.51	14.67	
R	0.12	4.33	0.28	

表7 方差分析结果

误差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	0.02	2	0.01	0.08	>0.05
B	28.54	2	14.27	94.97	<0.05
C	0.13	2	0.07	0.44	>0.05
误差	0.30	2	0.15		

2.2.4 工艺验证试验 用优选出的提取方法对巴戟天环烯醚萜苷的提取进行验证试验,平行进行3次。计算得出巴戟天环烯醚萜苷的含量分别为15.967、16.007、15.946 mg/g,平均含量为15.980 mg/g, RSD为0.33% ($n=3$)。验证试验结果表明,优化后的方法提取效果较好,工艺可行。

3 讨论

巴戟天环烯醚萜苷是一类极性较大的成分,易溶于水和含水乙醇,水晶兰苷和去乙酰基车叶草苷酸属于同分异构体,结构和理化性质比较相似^[7],两者母核上都有-COOH,具有一定的酸性,使用高水相在普通的HPLC色谱柱上保留时间较短,一般的HPLC条件难以将其分离。本实验选用 Venusil MP C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以乙腈-0.2% 磷酸水缓冲溶液作为流动相,使水晶兰苷和去乙酰基车叶草苷酸得到了较好的保留和分离。

在色谱柱的选择方面,参照文献试用了 Kromasil C₁₈ 色谱柱^[4],但仅能使水晶兰苷和去乙酰基车叶草苷酸得到分离。考虑到水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸、车叶草苷酸和车叶草苷的极性很大,试用了水性改性柱 Diamonsil C₁₈,但分离效果仍不理想。最终选择更强极性的水性柱艾杰尔 Venusil

MP C₁₈,使待分离的成分得到良好的分离。流动相对分离效果也有显著影响,经过摸索,将水相改为磷酸水的缓冲溶液,以减小酸性;同时将有机相由甲醇改为乙腈,使用梯度洗脱的方式得到了良好的分离效果。另外,选择用初始流动相溶解样品和标准品,消除了水晶兰苷旁的杂峰,最终达到了满意的分离效果,并且可以在30 min内完成一次测定。

提取方法考察的结果表明,10%~40%的乙醇对巴戟天环烯醚萜苷类成分的提取效率类似,从节省溶剂的角度考虑,选择10%的乙醇作为提取溶剂。提取方法的研究结果表明,加热回流和渗漉对巴戟天环烯醚萜苷类成分的提取效率均较高。渗漉提取可在室温下进行,并且操作简便,故选择渗漉法提取巴戟天环烯醚萜苷类成分。通过正交试验确定巴戟天环烯醚萜苷类成分的提取方法为:采用渗漉法提取,巴戟天药材用10%乙醇浸泡9 h,溶剂用量为16倍10%乙醇,流速为0.8 BV/h。

中药巴戟天含有多糖、环烯醚萜苷和蒽醌等成分,《中华人民共和国药典》(2015年版)中以耐斯糖作为质量控制指标^[1],存在一定的局限性。有文献报道了巴戟天低聚糖、多糖类和蒽醌类成分的HPLC含量测定方法^[2-7],这对巴戟天药材的质量控制具有积极的借鉴作用。巴戟天含有多个环烯醚萜苷类成分,目前文献报道了巴戟天中的1个或2个环烯醚萜苷成分(如水晶兰苷、去乙酰基车叶草苷酸)的HPLC含量测定方法,而缺乏以多个环烯醚萜苷类成分评价巴戟天药材质量的方法。本研究首次建立了稳定、可靠的用HPLC同时测定巴戟天中4种环烯醚萜苷含量的方法,并采用正交试验确定了巴戟天中环烯醚萜苷的最佳提取工艺,可为巴戟天药材的质量评价和资源开发利用提供科学依据。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 75-76.
- [2] 林美珍, 郑松, 田惠桥. 巴戟天研究现状与展望(综述)[J]. 亚热带植物科学, 2010, 39(4): 74-78.
- [3] 史辑, 刘梓晗, 王玲, 等. HPLC测定不同产地巴戟天中5种茜草素型蒽醌的含量[J]. 中药材, 2015, 38(2): 245-248.
- [4] 陈娥, 周灿, 廖莎, 等. 不同炮制去心法对巴戟天耐斯糖含量的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36(4): 31-33.
- [5] 鲍蕾蕾, 吴岩斌, 秦路平, 等. RP-HPLC法同时测定巴戟天中4种蒽醌类化合物的含量[J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1415-1417.
- [6] 章润菁, 李倩, 屈敏红, 等. 不同产地、生长年限和种质的巴戟天药材寡糖含量分析[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(4): 315-320.
- [7] 李咏华, 黄裕, 杨中锋, 等. 高效液相色谱法测定巴戟天中低

- 聚糖含量[J].药物分析杂志,2007,27(11):1797-1799.
- [8] Song B, Wang JF, Wang W, et al. Effect of aqueous extract from *Morinda officinalis* How. on microwave-induced hypothalamic-pituitary-testis axis impairment in male sprague-dawley rats[J]. Evid-Bas Complem Altern Med, 2015, 2015: 1-10.
- [9] Anitha T, Mohandass S. Aniti-oxidant activity of *Morinda citrifolia* on lymphoma bearing mice[J]. Anc Sci Life, 2006, 26(1-2): 85-88.
- [10] Liu G, Bode A, Ma WY, et al. Two novel glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) inhibit AP-1 transactivation and cell transformation in the mouse epidermal JB6 cell line [J]. Cancer Res, 2001, 61(15): 5749-5756.
- [11] Shin JS, Yun KJ, Chung KS, et al. Monotropein isolated from the roots of *Morinda officinalis* ameliorates proinflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages and dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis via NF- κ B inactivation [J]. FoodChem Toxicol, 2013, 53: 263-271.
- [12] Kamiya K, Hamabe W, Harada S, et al. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* roots exhibit hypoglycemic effects in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(5): 935-938.
- [13] 王玉磊,崔翰明,黄世敬,等.HPLC测定不同产地和批次巴戟天中主要环烯醚萜苷含量[J].中药材,2011,34(8):1187-1190.
- [14] 范建伟,李艳芳,闫光军,等.HPLC同时测定茵栀黄颗粒中4个环烯醚萜苷类成分[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(20):46-49.
- [15] 马养民,汪洋.植物环烯醚萜类化合物生物活性研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(17):234-238.
- [16] 刘瑾,徐吉银,罗进辉,等.不同产地巴戟天中水晶兰苷的含量测定[J].中成药,2010,32(3):517-519.
- [17] 孟玲玉.中草药巴戟天有效成分提取方法的研究[J].中国科技博览,2015,12(1):327-327.
- [18] 周波,赵臻.中草药巴戟天有效成分提取方法的研究进展[J].辽宁化工,2013,42(2):171-173.
- [收稿日期] 2017-04-16 [修回日期] 2017-06-05
[本文编辑] 李睿旻

(上接第303页)

成败建立新的靶标,但是仅仅根据已确立的靶标有限的知识可能会比较困难。另一个挑战是如果抗体治疗的成功率不断上升,用已经建立的哺乳动物表达系统可能难以满足抗体的生产需要,这就促进了新的制备抗体技术的发展,同时也可降低抗体治疗的费用。但是新制备技术的成熟涉及到采纳和实施,需要耗费较长时间。

【参考文献】

- [1] Dixit R, Herz J, Dalton R, et al. Benefits of using heterologous polyclonal antibodies and potential applications to new and undertreated infectious pathogens[J]. Vaccine, 2016, 34(9):1152-1161.
- [2] Gaughan CL. The present state of the art in expression, production and characterization of monoclonal antibodies [J]. Mol Divers, 2016, 20(1):255-270.
- [3] Lonberg N. Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms[J]. Curr Opin Immunol, 2008, 20(4):450-459.
- [4] Bruggemann M, Osborn MJ, Ma B, et al. Human antibody production in transgenic animals [J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2015, 63(2):101-108.
- [5] de Goeij BE, Lambert JM. New developments for antibody-drug conjugate-based therapeutic approaches [J]. Curr Opin Immunol, 2016, 40:14-23.
- [6] Yamada T. Therapeutic monoclonal antibodies [J]. Keio J Med, 2011, 60(2):37-46.
- [7] Eigentler TK, Hassel JC, Berking C, et al. Diagnosis, monitoring and management of immune-related adverse drug reactions of anti-PD-1 antibody therapy [J]. Cancer Treat Rev, 2016, 45:7-18.
- [8] Fala L. Cosentyx (Secukinumab): First IL-17A antagonist receives FDA approval for moderate-to-severe plaque psoriasis [J]. Am Health Drug Benefits, 2016, 9(Spec Feature):60-63.
- [9] Maselli DJ, Velez MI, Rogers L. Reslizumab in the management of poorly controlled asthma: the data so far [J]. J Asthma Allergy, 2016, 9:155-162.
- [10] Lim BN, Tye GJ, Choong YS, et al. Principles and application of antibody libraries for infectious diseases [J]. Biotechnol Lett, 2014, 36(12):2381-2392.
- [11] Uchtenhagen H, Schiffner T, Bowles E, et al. Boosting of HIV-1 neutralizing antibody responses by a distally related retroviral envelope protein [J]. J Immunol, 2014, 192(12):5802-5812.
- [12] Pleass RJ, Holder AA. Opinion: antibody-based therapies for malaria [J]. Nat Rev Microbiol, 2005, 3(11):893-899.
- [13] Balu S, Reljic R, Lewis MJ, et al. A novel human IgA monoclonal antibody protects against tuberculosis [J]. J Immunol, 2011, 186(5):3113-3119.
- [14] Chapman MJ, Stock JK, Ginsberg HN. PCSK9 inhibitors and cardiovascular disease: heralding a new therapeutic era [J]. Curr Opin Lipidol, 2015, 26(6):511-520.
- [15] Freskgard PO, Urich E. Antibody therapies in CNS diseases [J]. Neuropharmacology, 2016, DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.03.014.
- [16] Cohan S. Therapeutic efficacy of monthly subcutaneous injection of daclizumab in relapsing multiple sclerosis [J]. Biologics, 2016, 10:119-138.
- [收稿日期] 2016-10-27 [修回日期] 2017-02-20
[本文编辑] 李睿旻