

两面针药材质量一致性评价

王 鑫¹, 邬国松^{2,3}, 牛 明², 王伽伯², 赵 昕¹, 韩 杰¹, 郝亚冬¹, 温瑞卿^{1*}, 李东辉^{1*}

(1. 北京市海淀区食品药品安全监控中心, 北京 100094; 2. 解放军总医院第五医学中心全军中医药研究所, 北京 100039; 3. 广州中医药大学中药资源科学与工程研究中心, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 评价不同产地两面针药材的综合质量。**方法** 依据 2020 年版《中国药典》一部对 20 批两面针药材进行常规检测, 并建立两面针 HPLC 指纹图谱评价其质量一致性。**结果** 共检出 2 批药材为伪品, 1 批药材浸出物低于药典规定, 4 批药材指标成分含量低于药典规定。建立了两面针 HPLC 指纹图谱, 18 批鉴定为正品的药材聚为 5 类。**结论** 不同来源的两面针质量存在一定的差异, HPLC 指纹图谱可反映其质量的一致性。
关键词: 两面针; 质量一致性; 薄层色谱; HPLC 指纹图谱; 相似度分析; 聚类分析
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)01-0268-05
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.01.053

两面针为芸香科植物两面针 *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. 的干燥根。具有祛风通络、胜湿止痛、消肿解毒的功效, 为传统常用中药, 主产于广西、广东、福建、云南等地^[1]。本实验对广西、广东 20 批不同产区的两面针药材结合 2020 年版《中国药典》^[2]一部的检验项目和 HPLC 指纹图谱进行综合评价。检验项目包括性状鉴别、薄层鉴别、薄层检查, 水分、灰分、浸出物、氯化两面针碱的含量测定。原药材的安全性、有效性及质量的一致性^[3]直接关系到药品的安全、有效, 中药材质量的一致性^[4-7]是评价中药材质量的一个重要方面。由于中药材成分复杂, 中药指纹图谱^[4-7]作为综合的、可量化的色谱鉴别手段, 可以较全面的反映中药材的药效学物质特征评价药材的质量, 因此选择 18 批鉴定为正品的两面针药材建立 HPLC 指纹图谱, 并进行相似度评价和聚类分析, 以期进一步探讨广西、广东不同产地的两面针的质量一致性, 为两面针道地药材优良品种质量生物评价研究提供数据支持。

1 材料

1.1 仪器 Waters2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); MSA125P 电子天平 (德国赛多利斯公司); FB15061 超声清洗仪 (美国 Fisher 公司); 硅胶 G 薄层板 (德国默克公司); ACY-1002-U 制水机 (艾科浦超纯水处理有限公司)。

1.2 试剂与药物 两面针对照药材 (批号 121014-201204,

鉴别/检查用)、氯化两面针碱 (批号 110848-201604, 纯度 91.0%)、乙氧基白屈菜红碱 (批号 110847-200601, 供鉴别用)、毛两面针素 (批号 111531-201603, 供检查用), 均购于中国食品药品检定研究院。乙腈、甲酸、三乙胺均为色谱纯 (美国 Fisher Scientific 公司); 甲醇、乙醇、三氯甲烷、浓氨试液、石油醚 (60~90 ℃)、硫酸均为分析纯。药材 20 批, 具体信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 性状特征 20 批样品中 18 批呈厚片或圆柱形短段, 长 2~20 cm, 厚 0.5~10 cm。表面淡棕黄色或淡黄色, 有鲜黄色或黄褐色类圆形皮孔样斑痕。切面较光滑, 皮部淡棕色, 木部淡黄色, 可见同心性环纹和密集的小孔。质坚硬。样品 2 中栓皮碎块较多。样品 3、9 表面呈灰棕色, 可见疣状突起。

2.2 薄层鉴别及检查

2.2.1 两面针、氯化两面针碱 取样品粉末 1 g, 加乙醇 40 mL 超声处理 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为样品溶液。另取两面针对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。再取氯化两面针碱对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 2 μL, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液 (30:10:0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 ℃ 加热至斑点显色清晰, 置紫外灯 (365 nm) 下检视。见图 1。

收稿日期: 2020-01-09

基金项目: 国家公益性行业专项 (201507002); 国家科技重大专项 (2014ZX09301306)

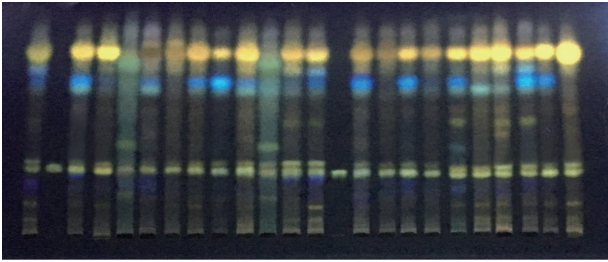
作者简介: 王 鑫 (1982—), 女, 副主任药师, 研究方向为药品质量控制及管理。Tel: (010) 58711967, E-mail: orange_517@126.com

* 通信作者: 温瑞卿 (1982—), 女, 博士, 副主任药师, 研究方向为药品质量控制及管理。Tel: (010) 58711967, E-mail: ruiqing_wen@163.com

李东辉 (1967—), 女, 硕士, 主任药师, 研究方向为药品质量控制及管理。Tel: (010) 58711990

表 1 样品信息

编号	产地	生长情况	采收时间	编号	产地	生长情况	采收时间
1	广西靖西	野生	2016. 06. 16	11	广东平远石镇	栽培 5.5 年	2016. 11. 15
2	广西河池	野生	2016. 06. 20	12	广西马山合群乡	栽培 3 年	2017. 01. 20
3	广西宾阳	野生	2016. 03. 15	13	广东平远黄花坡	栽培 6.5 年	2016. 11. 15
4	广西武鸣	野生	2017. 03. 14	14	广东电白裁	栽培 5 年	2017. 01. 20
5	广西江州	野生	2016. 12. 08	15	广西邕宁	野生	2017. 01. 20
6	广西平果	野生	2017. 05. 17	16	广西大新	野生	2017. 01. 20
7	广西凭祥	野生	2016. 04. 17	17	广西平南	野生	2016. 11. 30
8	广西大新	野生	2016. 12. 23	18	广西玉林	野生	2016. 11. 30
9	广西北流	野生	2016. 12. 27	19	越南	野生	2016. 11. 23
10	广东云浮	野生	2016. 04. 23	20	广东高州	野生	2017. 02. 15



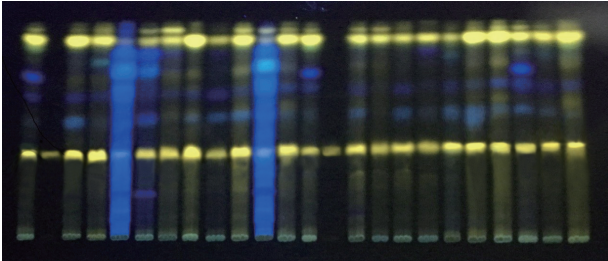
R. 对照药材 S. 氯化两面针碱对照品 1~20. 样品

图 1 两面针薄层色谱鉴别（一）

对比薄层图谱，20 份样品与氯化两面针碱对照品在相同的位置上均显相同颜色的荧光斑点，但是样品 3、9 可见绿色的荧光带。

2.2.2 乙氧基白屈菜红碱 取乙氧基白屈菜红碱对照品，加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。吸取“2.2.1”项下样品溶液、对照药材溶液、对照品溶液各 2 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇（25：1）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外灯（365 nm）下检视。见图 2。

对比薄层图谱，20 份样品与乙氧基白屈菜红碱对照品在相同的位置上均显相同颜色的荧光斑点，但是样品 3、9 可见蓝色的荧光带。



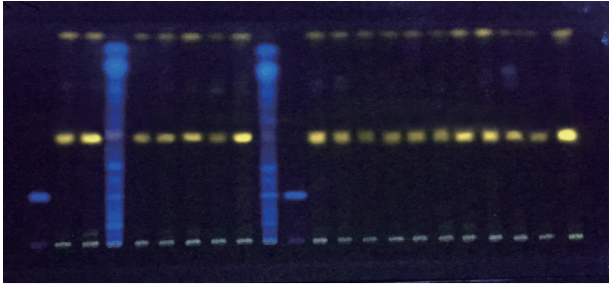
R. 对照药材 T. 氯化两面针碱对照品 1~20. 样品

图 2 两面针薄层色谱鉴别（二）

2.2.3 毛两面针素 取毛两面针素对照品，加乙醇制成每

1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。另取样品粉末（过 3 号筛）约 1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加 70% 甲醇 20 mL，超声处理（功率 200 W，频率 59 kHz）30 min，放冷，滤过，滤液置 50 mL 量瓶中，滤渣和滤纸再加 70% 甲醇 20 mL，同法超声处理 30 min，放冷，滤过，滤液置同一量瓶中，加适量 70% 甲醇洗涤 2 次，洗液并入同一量瓶中，加 70% 甲醇至刻度，摇匀，取溶液 4 mL，浓缩至 2 mL，作为样品溶液。吸取上述 2 种溶液各 2 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚（60~90℃）-三氯甲烷-甲醇（2：13：1）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外灯（365 nm）下检视。见图 3。

对比薄层图谱，样品 3、9 的薄层色谱呈蓝色的荧光条带，且与毛两面针素对照品在相同的位置上显相同颜色的荧光斑点。



N. 氯化两面针碱对照品 1~20. 样品

图 3 两面针薄层色谱检查

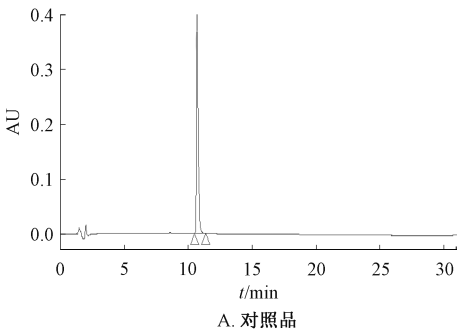
2.3 水分、总灰分、浸出物测定 根据 2015 年版《中国药典》四部 0832 水分测定法、2201 浸出物测定法、2302 灰分测定法，检测 20 批样品，结果见表 2。药典规定，水分不得超过 10.0%，所有样品均符合规定；总灰分不得超过 7.0%，所有样品均符合规定；浸出物不得少于 5.5%，样品 2 小于标准，其他样品均符合规定。

2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件及系统适应性试验 DIONEX Acclaim C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-

表 2 样品水分、总灰分、浸出物及含量测定结果 (%)				
编号	水分	灰分	浸出物	氯化两面针碱含量
1	6.0	3.7	6.6	0.25
2	8.4	7.0	5.1	0.16
3	7.6	2.6	15.2	0.10
4	7.6	4.1	10.5	0.24
5	5.6	2.9	6.5	0.14
6	6.2	4.4	6.4	0.20
7	5.9	3.0	6.3	0.14
8	6.1	4.7	6.6	0.17
9	6.9	3.5	5.7	0.10
10	6.3	3.7	7.3	0.09
11	5.2	1.5	6.2	0.09
12	4.1	2.7	5.8	0.07
13	5.6	3.1	6.3	0.14
14	6.4	1.2	8.6	0.10
15	5.7	2.2	5.7	0.15
16	6.0	3.2	7.2	0.17
17	5.1	4.1	7.7	0.16
18	6.4	2.8	9.7	0.14
19	6.5	3.4	6.3	0.21
20	6.5	3.4	5.9	0.20

0.1% 甲酸-三乙胺 (pH 4.5) (B), 梯度洗脱 (0~30 min,



20% ~ 50% A; 30 ~ 35 min, 50% ~ 100% A); 检测波长 273 nm。理论板数按氯化两面针碱计算, 应不低于 2 500。

2.4.2 对照品溶液制备 精密称取氯化两面针碱对照品 10.37 mg 至 20 mL 量瓶中, 70% 甲醇溶解至刻度, 精密量取 2 mL 至 20 mL 量瓶中, 摇匀, 制成 47.18 μg/mL 溶液。

2.4.3 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 1、2、4、8、10、12、16、18、20 μL 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以进样量为横坐标 (X), 以峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得方程为 $Y=593.57X+5.622$ ($r=0.999\ 9$), 在 0.047~0.944 μg 范围内线性关系良好。

2.4.4 供试品溶液制备 取样品粉末 (过 3 号筛) 约 1 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加 70% 甲醇 20 mL, 超声处理 (功率 200 W、频率 59 kHz) 30 min, 放冷, 滤过, 滤液置于 50 mL 量瓶中, 滤渣和滤纸再加 70% 甲醇 20 mL, 同法超声处理 30 min, 放冷, 滤过, 滤液置于同一量瓶中, 70% 甲醇洗涤 2 次, 洗液并入同一量瓶中, 70% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.4.5 测定法 精密吸取对照品、供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 色谱图见图 4, 外标法计算氯化两面针碱含量, 结果见表 2。

药典规定, 按照干燥品计算, 氯化两面针碱含量不得少于 0.13%, 而样品 3、9、10、11、12、14 均低于 0.13%。

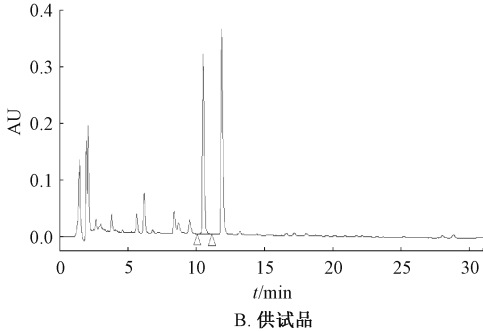


图 4 氯化两面针碱 HPLC 色谱图

2.5 两面针 HPLC 指纹图谱建立

2.5.1 色谱条件 DIONEX Acclaim C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 甲酸-三乙胺 (pH 4.5) (B), 梯度洗脱 (0~30 min, 20% ~50% A; 30~35 min, 50% ~100% A, 36~45 min, 80% ~20% A); 检测波长 273 nm。

2.5.2 对照品、供试品溶液制备 分别按 “2.4.2” “2.4.3” 项下方法制备。

2.5.3 精密度试验 取供试品溶液 (样品 18), 在 “2.5.1” 项条件下连续进样测定 6 次, 采用国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012.1 版本) 软件进行相似度评价, 结果均 ≥0.999 (RSD<0.05%), 表明仪器精密度良好。

2.5.4 稳定性试验 取供试品溶液 (样品 18), 在 “2.5.1” 项条件下进样, 24 h 内每间隔 4 h 测定 1 次, 记录

色谱图, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012.1 版本) 软件进行相似度评价, 结果均 ≥0.997 (RSD<0.15%), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 重复性试验 取 6 份药材粉末 (样品 18) 各 1 g, 按 “2.5.2” 项下方法制备供试品溶液, 在 “2.5.1” 项条件下进样测定, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012.1 版本) 软件进行相似度评价, 结果均 ≥0.989 (RSD<0.5%), 表明该方法重复性良好。

2.5.6 图谱生成 取 18 批经鉴定为正品的药材, 按 “2.5.2” 项下方法制备供试品溶液, 在 “2.5.1” 项色谱条件下进样测定, 记录色谱图。将所有数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012.1 版本) 软件进行处理, 选择 S18 号样品色谱为参照指纹图谱。为减小极端数据的影响, 选择中位数法作为对照指纹图谱的生产方法, 运用手动多点校正方法对色谱峰进行谱图匹配, 见图 5, 建立共有

模式。再用相对保留时间标定共有指纹峰，结果确定了 15 个共有峰，见图 6。

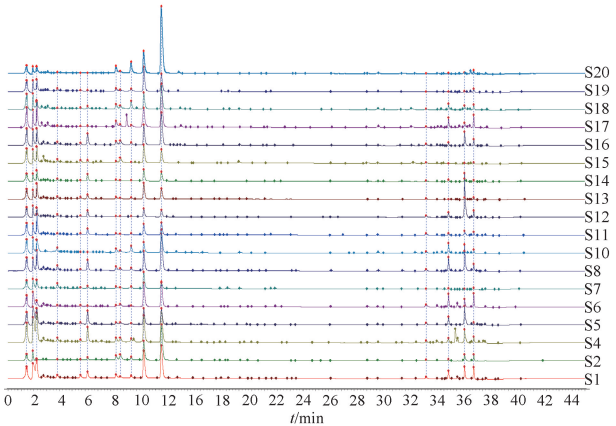
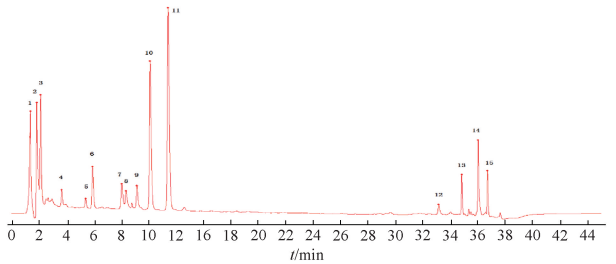


图 5 18 批两面针药材 HPLC 指纹图谱



4. 木兰花碱 5. 香叶木苷 6. 橙皮苷 7. 别隐品碱 8. 鹅掌楸碱 9. 血根碱 10. 氯化两面针碱 11. 白屈菜红碱 13. *L*-芝麻素 14. 氧化白屈菜红碱 15. 新棒状花椒酰胺

图 6 两面针药材共有模式图谱

2.5.7 两面针指纹图谱评价

2.5.7.1 相似度评价 对 18 批已处理的指纹色谱图进行相似度评价，结果见表 3，可知相似度范围为 0.647 ~ 0.993，表明药材质量存在一定的差异；除 S12、S20 相似度低于 0.85 外，其他样品均大于 0.85。

表 3 18 批样品相似度（编号和含量测定等的编号保持一致，除去非正品样品 3 和 9）

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.989	S8	0.970	S15	0.920
S2	0.933	S10	0.949	S16	0.993
S4	0.989	S11	0.916	S17	0.970
S5	0.918	S12	0.647	S18	0.981
S6	0.955	S13	0.925	S19	0.942
S7	0.855	S14	0.934	S20	0.847

2.5.7.2 聚类分析 通过称样量量化，将 18 批样品的指纹图谱的共有峰面积进行标准化处理，组成 18 阶×15 阶原始数据矩阵，运用 iTOL 在线分析软件，选用平均组间连接聚类方法，利用平方欧式距离法作为样品间距计算方法进行系统聚类分析，聚类结果见图 7。

18 批两面针药材可分为 5 类，S1、S4、S8、S16~S17 为 I 类，S2、S6、S10、S18 为 II 类，S5、S7、S11、S13~

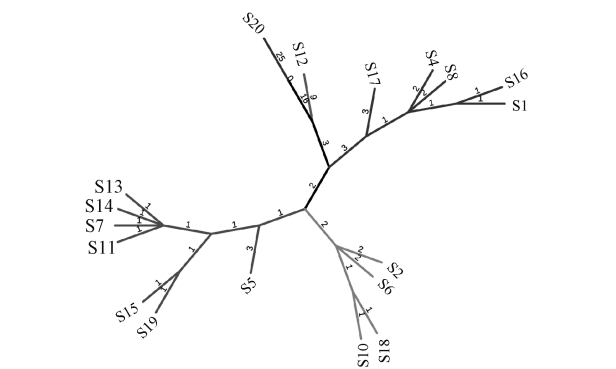


图 7 18 批样品系统聚类树

S15、S19 为 III 类，S12 为 IV 类，S20 为 V 类。

3 讨论

性状和薄层色谱鉴别是鉴定中药材真伪的重要手段。对 20 批不同产地的两面针样品进行检验和分析。薄层色谱鉴别出样品 3、9 均含有毛两面针素，且表皮灰棕色具有疣状突起，性状与飞龙掌血药材一致^[8]，推断两者可能为飞龙掌血^[8-10]。

中药材的有效成分为植物的次生代谢产物，次生代谢产物的产生与生长环境有密切关系。生态环境条件的不同，可能导致相同品种药用植物次生代谢过程的变化，影响同一品种药材的内在质量^[11-12]。本文对不同产区的两面针药材，分别测定了水分、灰分、浸出物及氯化两面针碱的含量。1 批样品的浸出物含量未达到药典标准，4 批样品的含量未达到药典标准，不同产地的两面针药材质量有差异。

由于中药材成分复杂，单一成分的含量不能全面的评价中药材的质量。因此对其他 18 批鉴定为两面针的样品建立 HPLC 指纹图谱，通过相似度评价和聚类分析进一步探讨比较样品间的整体化学成分的一致程度。相似度评价和聚类分析结果基本一致，因此，以上样品可以分为五类，S12 为一类，S20 为一类，S1、S4、S8、S16~S17 为一类，S2、S6、S10、S18 为一类，S5、S7、S11、S13~S15、S19 为一类。由此可见，广东、广西两省之间及产自越南的野生两面针药材均无明显的地域性差异。

S8、S16 为产自广西大新的野生样品，仅采集时间不同，薄层色谱、液相图谱、相似度评价和聚类分析结果显示两种样品的质量具有较高的一致性；S11 和 S13 及 S14 皆产自广东且聚为一类，其中 S11 和 S13 同为广东平远县的栽培品种，分析结果显示两种样品的质量也具有较高的一致性；对于整体而言，虽然广东、广西作为两面针药材的道地产地，大部分地区药材的化学成分基本一致，栽培品种和野生品种也无明显差异，但是以上数据显示，来源（栽培/野生和产地）的统一更有利于保证两面针药材的质量一致性。

S11、S12、S13、S14 为不同地区的栽培品种，栽培年限分别为 5.5、3、6.5、5 年，其中只有栽培 6.5 年的样品其氯化两面针碱的含量高于药典标准。有文献报道氯化两面针的含量与不同的生长期有密切关系^[13-14]，提示由于生

长年限不足导致了 S11、S12、S14 中氯化两面针碱的含量偏低，栽培年限是影响栽培品种质量的重要因素。

综上所述，不同产地来源的两面针存在一定的差异，S1、S4~S8、S13、S15~19，按药典检验符合规定，通过指纹图谱和聚类分析表明这 12 批两面针药材质量具有较高的一致性。建立的两面针的 HPLC 指纹图谱可有效反映出两面针药材质量的一致性。

参考文献：

[1] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京：化学工业出版社，2002.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020.

[3] 何 毅，肖传学，朱永宏，等. 从源头探讨中药国际化之路[J]. 中草药，2012，43(4)：630-635.

[4] 邹纯才，鄢海燕. 我国中药色谱指纹图谱相似度评价方法 30 年（1988—2017 年）研究进展与展望[J]. 中国中药杂志，2018，43(10)：1969-1977.

[5] 刘华钢，雷欣潮，冯 看，等. 两面针 HPLC 特征指纹图谱的研究[J]. 中国中药杂志，2011，36(23)：3293-3297.

[6] 刘昌孝，陈士林，肖小河，等. 中药质量标志物（Q-Marker）：中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药，2016，47(9)：1443-1457.

[7] 李 强，杜思邈，张忠亮，等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J]. 中草药，2013，44（22）：3095-3104.

[8] 赵美雪，张晓燕，刘绍欢，等. 飞龙掌血根皮的生药学鉴别与止血活性考察[J]. 中国实验方剂学杂志，2016，22（24）：32-36

[9] 胡 亮，王银红，潘震宇，等. 金鸡片中毛两面针素检测方法考察[J]. 中国药师，2017，20(11)：2077-2079.

[10] 温玲玲，郑润生，许雅萍，等. 飞龙掌血根的质量研究[J]. 广州中医药大学学报，2015，32(1)：136-140.

[11] 黄璐琦，陈美兰，肖培根. 中药材道地性研究的现代生物学基础及模式假说[J]. 中国中药杂志，2004，29（6）：494-496.

[12] 鲁守平，隋新霞，孙 群，等. 药用植物次生代谢的生物学作用及生态环境因子的影响[J]. 天然产物研究与开发，2006，18(6)：1027-1032.

[13] 刘华钢，黄秋洁，赖茂祥. HPLC 法测定不同生长期两面针药材中氯化两面针碱[J]. 中草药，2007，38（10）：1576-1577.

[14] 何丽丽，林钻煌，胡永志，等. UPLC-DAD 法研究栽培两面针不同生长期不同部位有效成分的动态累积[J]. 中国实验方剂学杂志，2013，19(13)：165-168.

水蓼及其近缘植物本草考证

罗露香， 岳 玲， 黄嘉欢， 程轩轩*， 杨 全
(广东药科大学中药学院，国家中医药管理局岭南药材生产与开发重点研究室，国家中药材产业技术体系广州综合试验站，广东省南药规范化种植与综合开发工程技术研究中心，广东 广州 510006)

摘要：古人所用之蓼有水蓼、青蓼、紫蓼、香蓼、马蓼等多种植物，既作药用也作菜食。本文通过查阅历代本草古籍，对水蓼及其近缘植物的名称、植物形态、图例、性味归经、功能主治及用法进行考证。结果证实，古籍中所载的水蓼、荭草、马蓼、毛蓼、紫蓼、香蓼分别为今之水蓼 *Polygonum hydropiper* L.、红蓼 *Polygonum orientale* L.、桃叶蓼（春蓼）*Polygonum persicaria* L.、毛蓼 *Polygonum barbatum* L.、紫脉蓼 *Polygonum purpureonervosum* 和香蓼 *Polygonum viscosum*。通过对上述植物的本草考证，旨在认清其用药历史，正本清源，以期为临床用药提供依据。

关键词：水蓼；近缘植物；名称；植物形态；功效；本草考证

中图分类号：R282.7 文献标志码：B 文章编号：1001-1528(2021)01-0272-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.01.054

水蓼为蓼科植物水蓼 *Polygonum hydropiper* L. 的全草，亦称辣蓼，分布于全国南北各地。具有消肿解毒、利尿、止痢等功效，古代也作为常用调味剂^[1]。历代本草典籍中“蓼”项下所载大多为水蓼及其近缘植物荭草、马蓼、毛

蓼等。我国有蓼属植物 113 种 26 变种，地域分布广泛，其中与水蓼形态相似的植物有数十种。关于水蓼植物形态和功效的本草考证已有报道^[2]，但是针对水蓼近缘植物的本草考证资料缺乏。为探明自古以来有关水蓼及其近缘植物

收稿日期：2019-08-30

基金项目：名贵中药资源可持续利用能力建设项目（2060302）

作者简介：罗露香（1995—），女，硕士生，从事中药化学成分与药理活性研究。Tel：13435663608，E-mail：173490422@qq.com

* 通信作者：程轩轩，女，博士，副教授，从事中药化学成分与药理活性研究。Tel：(020) 39352176，E-mail：gdyxcxx@126.com