

藏自治区科学技术委员会, 1980.

[3] 罗达尚. 中华藏本草[M]. 北京: 民族出版社, 1997.

[4] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 2001.

[5] 中科院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991.

[6] 帝玛尔·丹增彭措. 晶珠本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社出版, 1840.

[7] 陕西省革命委员会卫生局、商业局. 陕西中草药[M]. 北京: 科学出版社, 1971.

[8] 郭晓思, 徐养鹏. 秦岭植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2013.

[9] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.

[10] 确 生, 陈卫东, 杨红澎, 等. 青海斑花黄堇藏药资源调查[J]. 中药材, 2017, 40(11): 2551-2556.

[11] 淮虎银, 杨生妹. 紫堇属藏药的药用民族植物学研究[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(1): 8-11.

[12] 陈士林, 郭宝林, 张贵君, 等. 中药鉴定学新技术新方法研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1043-1055.

[13] Sergio A P, Norma F H, Antonino P H. Computational molecular characterization of the flavonoid rutin[J]. *Chem Cent J*, 2010, 4(12): 2-8.

[14] 许文东, 林厚文, 邱 峰, 等. 蛇莓黄酮苷类化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(13): 981-9823.

[15] 周 清, 温金莲, 肖树雄, 等. 黄芩的红外指纹图谱鉴别研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 79-82.

[16] 黄冬兰, 陈小康, 徐永群, 等. 溪黄草不同部位的红外光谱分析与评价[J]. 中成药, 2013, 35(1): 113-117.

[17] 张亚亚, 顾志荣, 丁军霞, 等. 当归不同药用部位近红外漫反射光谱指纹图谱研究[J]. 中药材, 2015, 38(7): 1413-1416.

[18] 林俊英. 红外指纹图谱在藏药鉴别中的应用研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.

[19] 叶 菊, 孙立卿, 确 生, 等. 四种紫堇属藏药化学成分预实验及其生物碱含量测定[J]. 西北民族大学学报 (自然科学版), 2017, 38(3): 42-47.

[20] 确 生, 陈卫东, 吴 江, 等. 斑花黄堇化学成分的研究[J]. 中成药, 2016, 38(11): 2405-2408.

[21] 杜 清, 吴 江, 刘明地, 等. 响应面法优化斑花黄堇中总黄酮的提取工艺[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(5): 608-613.

[22] Xu R, Sun S Q, Zhu W C, *et al.* Multi-step infrared macro-fingerprint features of ethanol extracts from different Cistanche species in China combined with HPLC fingerprint[J]. *J Mol Struct*, 2014, 1069: 236-244.

[23] 孙素琴, 汤俊明, 袁子民, 等. 道地山药红外指纹图谱和聚类分析的鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(2): 258-261.

多裂乌头生药学探究

丁 荣¹, 赵明明², 汪中江², 黄旭峰¹, 王毓杰², 古 锐^{2*}, 天喜格勒³, 夸吉泽让⁴
(1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137; 2. 成都中医药大学民族医药学院, 四川 成都 611137; 3. 四川金瑞和集团有限公司, 四川 金川 624100; 4. 四川省阿坝州食品药品检验所, 四川 马尔康 624000)

摘要: **目的** 探究阿坝州广泛栽培的铁棒锤原植物-多裂乌头 *Aconitum polyschistum* Hand. -Mazz. 的生药学。**方法** 对多裂乌头的栽培品与野生品进行性状鉴别、显微鉴定、薄层鉴别、测定总灰分、酸不溶灰分及高效液相色谱分析。**结果** 栽培品子根呈不规则的长圆柱形且数量较多、细, 而野生品子根呈短圆柱形、圆锥形。两者显微特征无明显差异, 根横切面有后生皮层 2~3 层, 壁栓化稍增厚, 内皮层不见石细胞等特点; 药材粉末后生皮层细胞较大内含棕色物质, 易破碎, 淀粉粒多成类圆形, 导管多为网纹导管。HPLC 法同时测定乌头碱、苯甲酰乌头原碱的含量。**结论** 栽培品与野生品药材形状差异明显, 家种品的乌头碱与苯甲酰乌头原碱总量都大于野生品, 该方法可为多裂乌头质量标准的制定提供依据。
关键词: 多裂乌头; 性状鉴别; 显微鉴别; TLC; 生药学
中图分类号: R282.6 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)08-2245-04
doi: 10. 3969/j.issn.1001-1528. 2021. 08. 049

收稿日期: 2020-01-01
基金项目: 四川省科技扶贫计划专项 (2016NZYZF0005); 四川省科技厅扶贫专项 (2016NFP0038)
作者简介: 丁 荣 (1995—), 男, 硕士生, 从事中药及民族药的品种、质量及资源开发研究。Tel: 18482108957, E-mail: 857294520@qq.com
*** 通信作者:** 古 锐 (1979—), 男, 教授, 研究方向为民族药可持续开发与利用。Tel: 15108237310, E-mail: 664893924@qq.com

铁棒锤是多民族习用大宗药材，具有祛风湿、止痛、消肿散瘀的功效^[1-3]，为云南白药等成药的原料药材。多裂乌头 *Aconitum polyschistum* Hand. -Mazz. 为毛茛科乌头属植物，是四川省阿坝、甘孜两州习用铁棒锤的原植物^[4]，该品种目前被驯化为栽培品种，在阿坝州高半山农区广泛栽培，是本地精准扶贫的重要品种，其药材大量供给省外药厂。但是，由于缺乏基础研究，该品种在产地被误认为铁棒锤 *Aconitum pendulum* Busch 和伏毛铁棒锤 *Aconitum flavum* Hand. -Mazz.，缺乏质量评价研究，缺乏栽培驯化前后药材品质比较，影响了本品的合理使用。鉴于此，本实验开展多裂乌头生药学与质量标准研究，以期为本品的深入开发提供科学依据，并为建立本品的质量标准提供研究基础。

1 材料

美国 AgiLent 1260 高效液相色谱仪（检测器 1260 DAD VL，美国 AgiLent 公司）；SB-5200D 超声波清洗机（宁波新艺超声设备有限公司）；OLYMPUS（CX41）光学显微镜（日本 OLYMPUS 公司）；FA1004 型分析电子天平（万分之一，上海良平仪器仪表有限公司）。

样品为自采，共 9 批，1 批为野生品，8 批为栽培品，2 号样品采样地金川县勒乌乡前锋村是 3~9 号栽培品种源地。经成都中医药大学民族医药学院古锐教授鉴定为多裂乌头 *Aconitum polyschistum* Hand. -Mazz. 的干燥子根。乌头碱、苯甲酰乌头原碱对照品购于上海远慕生物科技有限公司（纯度≥98%）。见表 1。

表 1 样品信息

批号	产地	采摘时间	备注
1	四川省马尔康市卅卢圣窟	2016. 09	野生
2	四川省金川县勒乌乡前锋村	2016. 10	栽培
3	四川省黑水县瓦布乡瓦布村	2016. 11	栽培
4	四川省黑水县瓦布乡瓦布村	2017. 04	栽培
5	四川省茂县渭门乡	2017. 03	栽培
6	四川省马尔康市草登乡	2017. 03	栽培
7	四川省若尔盖县巴西乡	2017. 04	栽培
8	四川省小金县	2017. 04	栽培
9	四川省金川县勒乌乡种植基地	2017. 04	栽培

2 方法与结果

2.1 原植物形态鉴别 本品野生品子根近纺锤形，长约 3~10 cm，栽培品子根多，子根呈长圆柱形，长约为 5~20 cm。茎稍粗，疏被反曲而紧贴的短柔毛，等距离着生叶，常有分枝。茎下部叶有稍长柄，茎中部叶有短柄；叶片宽卵形，分裂极细，长 6~8 cm，宽 5~8 cm，中央全裂片卵形，近羽状细裂，末回裂片极狭条形，两面无毛；下部叶柄长约 2 cm，中上部叶柄长约 0.5 cm。顶生总状花序狭长，长 15~28 cm，有多数密集的花，有时在花序轴下部有侧生花序；轴和花梗密被反曲的短柔毛；下部苞片叶状，其他的线形；顶生花序花梗较短，长约 1 cm，通常侧生花序的花梗较长，长 2~3 cm；小苞片生花梗中部之上，线形；萼片蓝紫色，外面密被短柔毛，上萼片盔状船形，高 0.8~1.2 cm，自基部至喙长 1.5~1.7 cm，下缘向上斜伸，凹；花瓣无毛，距短，稍向后弯；花丝被短柔毛，全缘；

心皮 3，子房密被紧贴的短柔毛。种子倒卵状三棱形，沿棱具狭翅。花期 8~10 月。

2.2 性状鉴别

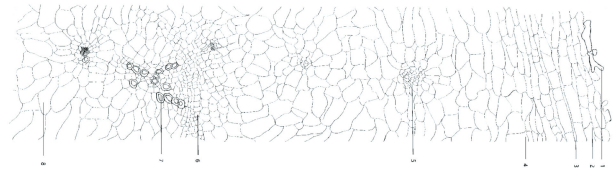
2.2.1 栽培品 子根呈不规则的长圆柱形，长 5~20 cm，直径 0.5~1.5 cm；表面灰棕色，有纵皱纹及侧根痕。质脆，易折断，断面白色，粉性，有黑棕色环。气微，味苦、麻。

2.2.2 野生品 子根呈短圆柱形、圆锥形，表面呈黄棕色，有浅纵皱纹，长 3~10 cm，直径 0.5~1 cm。

由此可见，两者的区别主要是栽培品子根较野生品数量增多，变长，变细，部分弯曲，且颜色有一定差异。

2.3 显微鉴别

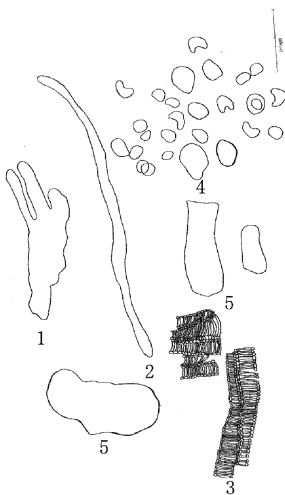
2.3.1 子根横切面 后生皮层为 2~3 层，壁栓化稍增厚；皮层紧密排列，类长方形，方形或长圆形；内生皮层明显且不见石细胞；韧皮部宽广，随处可见筛管群；形成层呈不规则的多角形或类圆形；木质部内导管 1~4 个相聚或者成列，位于形成层内侧；髓部较大。见图 1。



注：1~8 分别为后生皮层、皮层、内皮层、韧皮部、筛管群、形成层、木质部、髓部。

图 1 多裂乌头根横切面构造图（×100）

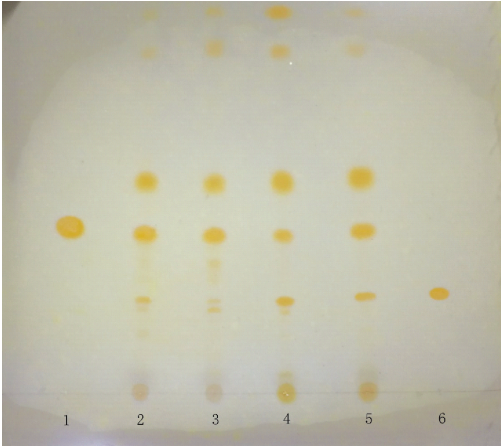
2.3.2 粉末 本品粉末呈白色。后生皮层细胞较大，细胞成类方形、长方形，壁增厚，内含棕色物质，易破碎。淀粉粒多成类圆形，水滴状，单粒多，复粒由 2~3 粒组成，层纹不明显，脐点人字状，一字状，点状，缝隙状，直径 2.5~48 μm。纤维单个散在，长梭形，多破碎，壁不甚厚，胞腔小，纹孔明显，直径 10~24 μm。导管多为网纹导管，还有环纹导管，直径为 18~32 μm。见图 2。野生品与家种品粉末特征无差异。



注：1~5 分别为后生皮层细胞、纤维、导管、淀粉粒、棕色块。

图 2 多裂乌头粉末特征（×400）

2.4 薄层鉴别 称取批号 1~4 号的干燥的多裂乌头粉末（过 2 号筛）约 2 g，置 250 mL 具塞锥形瓶中，加入 40 mL 甲醇溶液，超声处理 30 min（250 W，40 kHz），滤过，用 5 mL 甲醇溶液洗涤滤渣 2 次，合并滤液，低温蒸干，加入 3 mL 甲醇溶液溶解，得供试品溶液，备用。取乌头碱、苯甲酰乌头原碱对照品，加甲醇溶液制成每 1 mL 含有 1 mg 的对照品溶液。照薄层色谱法（2015 年版《中国药典》附录 VIB）试验，分别吸取上述溶液各 10 μ L，分别点于同一硅胶 G 薄层板上。以正己烷-乙酸乙酯-甲醇（6.4：5：1）为展开剂^[5]，展开，取出晾干后喷以稀碘化铋钾试液。结果各样品与对照品在相同位置显相同颜色斑点，见图 3。



注：1 为乌头碱、2 为野生品样品、3~5 为栽培品样品、6 为苯甲酰乌头原碱。

图 3 多裂乌头薄层色谱图

2.5 检查总灰分、酸不溶性灰分 按照 2015 年版《中国药典》四部方法（通则 2302）测定^[6]。不同产地的多裂乌头总灰分含量为 2.65%~5.09%；酸不溶性灰分含量为 0.08%~1.25%。

2.6 含量测定

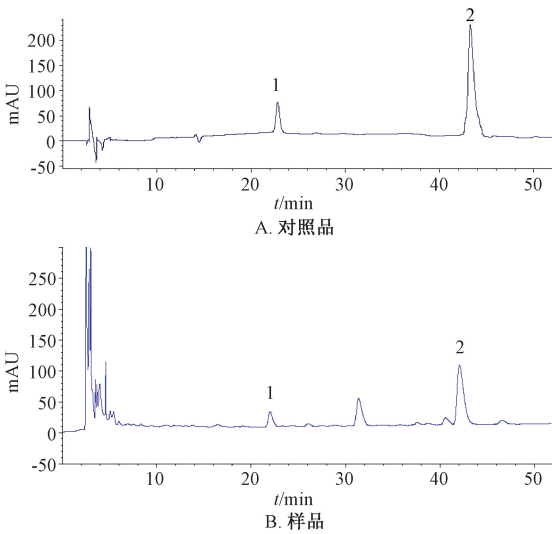
2.6.1 对照品溶液制备 精密称取乌头碱、苯甲酰乌头原碱对照品适量，分别置于 10 mL 量瓶中，加入甲醇制备成质量浓度 0.417 2 mg/mL 乌头碱、0.108 8 mg/mL 苯甲酰乌头原碱的溶液，摇匀，作为对照品贮备液。

2.6.2 供试品溶液制备 称取干燥的多裂乌头粉末（过 2 号筛）约 2 g，置 250 mL 具塞锥形瓶中，加入 40 mL 甲醇溶液，超声处理 30 min（250 W，40 kHz），滤过，用 5 mL 甲醇溶液洗涤滤渣 2 次，合并滤液，低温蒸干，加入 5 mL 甲醇溶液溶解，即得^[7-8]。

2.6.3 色谱条件 Welchrom C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μ m）；流动相 0.1 mol/L 醋酸铵（A）-乙腈-四氢呋喃（5：3）（B），梯度洗脱，洗脱程序见表 2；检测波长 235 nm^[9-12]。色谱图见图 4。

表 2 梯度洗脱条件

时间/min	A 0.1 mol/L 醋酸铵/%	B 乙腈-四氢呋喃(5：3)/%
0~50	85~74	15~26
50~51	74~65	26~35
51~52	65~65	35~35



1. 苯甲酰乌头原碱 2. 乌头碱

图 4 各成分 HPLC 色谱图

2.6.4 线性关系考察 依次精密量取乌头碱（0.417 2 mg/mL）、苯甲酰乌头原碱（0.108 8 mg/mL）的对照品贮备溶液。在“2.6.3”项色谱条件下，分别进样 1、2、6、10、12、14 μ L，测定峰面积。以进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程为乌头碱 $Y=1\,199.1X$ （ $r=0.999\,9$ ）和苯甲酰乌头原碱 $Y=1\,073.9X$ （ $r=0.999\,9$ ）。表明乌头碱和苯甲酰乌头分别在 0.417 2~5.840 8、0.108 8~1.523 2 μ g 范围内线性关系良好。

2.6.5 精密度试验 精密量取混合对照品溶液 10 μ L，在“2.6.3”项色谱条件下，重复进样 6 次，结果乌头碱、苯甲酰乌头原碱峰面积 RSD 分别为 0.52%、0.40%，表明仪器精密度良好。

2.6.6 重复性试验 精密称取同一批干燥的多裂乌头样品 6 份，按“2.6.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.6.3”项色谱条件下分别进样，测定乌头碱、苯甲酰乌头原碱的峰面积，结果乌头碱、苯甲酰乌头原碱含量 RSD 分别为 1.99%、1.91%，表明该方法重复性良好。

2.6.7 稳定性试验 取同一多裂乌头供试品溶液，在“2.6.3”项色谱条件下，分别于制备后 0、2、4、8、12、24 h 进样 10 μ L，测定乌头碱、苯甲酰乌头原碱的峰面积，结果乌头碱、苯甲酰乌头原碱 RSD 分别为 0.45%、1.98%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6.8 加样回收率试验 取已知含量的样品共 6 份，每份约 0.5 g，分别加入适量的混合对照品溶液，按“2.6.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.6.3”项色谱条件下进样，结果见表 3。

2.6.9 样品含量测定 取 9 批不同产地不同时间采集的多裂乌头样品，每批样品平行制样 2 份，按“2.6.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.6.3”项色谱条件下进样，结果见表 4。

表 3 各成分加样回收率试验结果 (n=6)						
成分	称样量/ g	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
乌头碱	0.495 5	0.417	0.92	0.96	0.98	1.02
	0.504 8	0.417	0.93	0.98		
	0.504 5	0.417	0.94	0.99		
	0.507 2	0.417	0.93	0.98		
	0.495 7	0.417	0.92	0.98		
	0.509 7	0.417	0.94	0.99		
苯甲酰乌 头原碱	0.495 5	0.124	0.25	0.96	0.96	1.58
	0.504 8	0.124	0.25	0.94		
	0.504 5	0.124	0.25	0.95		
	0.507 2	0.124	0.25	0.96		
	0.495 7	0.124	0.25	0.97		
	0.509 7	0.124	0.26	0.98		

表 4 样品灰分与含量测定结果 (n=2)				
编号	总灰分/ %	酸不溶性灰分/ %	乌头碱/ (mg·g ⁻¹)	苯甲酰乌头 原碱/(mg·g ⁻¹)
1	3.03	0.66	0.46	0.12
2	3.26	0.67	0.64	0.09
3	3.43	0.23	1.08	0.12
4	3.63	0.30	1.52	0.10
5	2.80	0.30	0.52	0.74
6	5.09	1.25	1.08	0.63
7	2.65	0.08	1.08	0.19
8	3.51	0.74	1.05	0.22
9	4.42	0.93	1.04	0.20

3 讨论

本研究参考《中国植物志》^[13]与罗艳等^[14]对乌头属的形态描述进行鉴定,多裂乌头 *A. polyschistum* 与伏毛铁棒锤 *A. flavum* 形态特征极为相似。本研究主要以心皮数为 3 作为鉴定本品为多裂乌头 *A. polyschistum* 的主要依据,但本品叶并不符合文献中多裂乌头叶片似茴香叶描述^[7],而更符合《中国植物志》对多裂乌头叶形态的描述。

本研究通过对多裂乌头 *A. polyschistum* 系统的生药学研究,找出了药材性状的主要鉴别特征为野生品子根呈短圆柱形、圆锥形,表面呈黄棕色,有浅纵皱纹,长 3~10 cm,直径 0.5~1 cm,栽培品子根呈不规则的长圆柱形,长 5~20 cm,直径 0.5~1.5 cm;表面灰棕色,有纵皱纹及侧根痕。质脆,易折断,断面白色,粉性,有黑棕色环。气微,味苦、麻。

子根横切面后生皮层为 2~3 层,壁栓化稍增厚;皮层紧密排列,内生皮层明显且不见石细胞;韧皮部宽广,随处可见筛管群,木质部内导管 1~4 个相聚或者成列;粉末上后生皮层细胞较大,壁增厚,内含棕色物质;纤维单个散在,长梭形,壁不甚厚,胞腔小;导管多为网纹导管、环纹导管。

本研究采用正己烷-乙酸乙酯-甲醇(6.4:5.0:1)与样品提取方法建立的薄层色谱鉴别方法斑点清晰,可以采用此方法鉴别出多裂乌头药材;采用 HPLC,同时测定了乌头碱、苯甲酰乌头原碱 2 种成分的含量,考察了供试品超声提取与回流提取方法;考察了提取溶剂,包括甲醇、乙醇、75% 甲醇、50% 甲醇;考察了提取溶剂用量;考察了提取时间;溶解溶剂考察,最终确定 40 mL 甲醇超声处理 30 min 后过滤,低温蒸干,5 mL 甲醇溶解为最佳提取条件^[15-17]。

前期对乌头属类植物的苯甲酰乌头原碱开展的研究较少,而且多裂乌头 *Aconitum polyschistum* 植物成分差异较大,因此在本实验中所测药材中均含有乌头碱和苯甲酰乌头原碱,可以作为多裂乌头含量测定的指标,其中苯甲酰乌头原碱具有抗炎镇痛、治疗类风湿性关节炎等多种生物活性^[18-19]。

本研究表明多裂乌头家种药材形态与野生品区别较大,从根的特点上能够直观区分野生与家种。在含量测定中,家种品种的乌头碱与苯甲酰乌头原碱总量都大于野生品,能够替代野生品。

参考文献:

[1] 王毓杰,张 静,田会萍,等. 民族药铁棒锤炮制减毒原理初步研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(5): 588-592.

[2] 王毓杰,曾陈娟,姚 喆,等. 民族药铁棒锤不同药用部位中生物碱含量测定[J]. 中成药, 2010, 32(8): 1390-1393.

[3] 张 帆,武 琳,哈木拉提·吾甫尔,等. 民族药铁棒锤不同炮制品中各元素的光谱分析[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(4): 728-731.

[4] 张大骏,蓝蓉祥,包雪声,等. 川藏地区产雪上一枝蒿类药材的原植物鉴定[J]. 中草药, 1982, 13(3): 35-37.

[5] 彭乃焕,聂黎行,张聿梅,等. 川乌薄层鉴别条件的优化[J]. 中国当代医药, 2013, 20(29): 65-66.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[7] 杨建忠,刘建峰,党秋萍. 铁棒锤中总生物碱的含量测定[J]. 陕西中医, 2007, 28(2): 220-222.

[8] 马明英,张晓峰,沈建伟,等. 那保胶囊质量标准研究[J]. 中成药, 2007, 29(12): 1783-1786.

[9] 李晓海,周同惠. HPLC 法在生物碱分析中的研究进展[J]. 中草药, 2002, 33(4): 368-372.

[10] 谷 军,王燕萍,马 潇. HPLC 法同时测定藏药铁棒锤中 3 种双酯型生物碱的含量[J]. 中国药事, 2014, 28(6): 618-621.

[11] 欧丽娜,阳 勇,李星颖,等. HPLC 法测定藏药榜那中乌头碱的含量[J]. 中国药房, 2014, 25(19): 1769-1771.

[12] 董 琳,马学琴,马春燕,等. 宁夏固原四种地貌铁棒锤根中总生物碱含量分析比较[J]. 宁夏医学杂志, 2010, 32(5): 426-427.

[13] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1980: 1-80.

[14] 罗 艳,杨亲二. 四川乌头属的修订[J]. 植物分类学报, 2005, 43(4): 289-386.

[15] 胡君茹,姜 华. 藏药铁棒锤的化学成分及药理作用研究进展[J]. 甘肃中医, 2006, 19(11): 18-19.

[16] 杨世英,马伟林,董开忠. 藏药铁棒锤的研究进展[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2014, 35(3): 46-50.

[17] 李 谦,过立农,郑 健,等. 乌头属药用植物的研究进展[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(7): 1129-1149.

[18] 陈 燕,易进海,刘云华,等. HPLC 法测定藏药材铁棒锤、榜嘎中酯型生物碱的含量[J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15(6): 47-49.

[19] 顾 平. 苯甲酰乌头原碱配伍芍药苷治疗类风湿关节炎的药效学及作用机制研究[D]. 泸州: 西南医科大学, 2017.