

两面针商品药材的质量评价

张振山¹, 严萍^{1*}, 谭志滨², 林文华¹, 童家赞², 詹若挺¹

(1. 广州中医药大学 中药资源科学与工程研究中心, 岭南中药资源教育部重点实验室, 广州 510006;
2. 广州中医药大学 中药学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:** 对市售两面针商品药材进行质量调查和评价。**方法:** 参照2010年版《中国药典》两面针项下方法, 对18批两面针商品药材进行性状鉴别、薄层色谱及高效液相法检测氯化两面针碱含量, 并建立两面针 HPLC 指纹图谱方法, 结合相似度评价对样品药材进行鉴别分析。**结果:** 样品性状, 薄层鉴别和含量测定的结果显示, 9批药材有伪品掺杂现象; 样品总灰分的含量是2.4%~6.4%, 水分含量是7.0%~12.1%, 醇溶性浸出物含量是2.2%~8.6%; HPLC测定中有2批样品检测不到氯化两面针碱, 11批样品图谱与对照指纹图谱相似度低于0.8; 18批药材均不符合2010年版《中国药典》标准。**结论:** 目前市场上的两面针药材品质参差不齐, 伪品掺杂现象比较严重。

[关键词] 两面针; 商品药材; 质量评价; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0057-05

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2015060057

Quality Evaluation of Medicinal Material of Zanthoxyli Radix ZHANG Zhen-shan¹, YAN Ping^{1*}, TAN Zhi-bin², LIN Wen-hua¹, TONG Jia-yun², ZHAN Ruo-ting¹ (1. *Research Center of Chinese Medicinal Resource Science and Engineering, Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources from Lingnan, Ministry of Education, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guangzhou 510006, China*; 2. *Academy of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China*)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the quality of medicinal material of Zanthoxyli Radix in Chinese herbal medicine market. **Method:** The 18 batches of commercial medicinal material of Zanthoxyli Radix were identified and analysed by macroscopical identification, TLC, HPLC according to the *Chinese Pharmacopoeia* published in 2010. HPLC fingerprint was applied to evaluate the quality of Zanthoxyli Radix. **Result:** There were adulterants detected in 9 batches by the macroscopical identification, TLC and HPLC. The total ashes were between 2.4% and 6.4%, the moisture ranged from 7.0% to 12.1%, and the alcohol-soluble extract was in the range of 2.2% to 8.6%. Nitidine chloride was not be detected in 2 batches by HPLC. Compared to the HPLC fingerprint common mode of Zanthoxyli Radix, the similarity of 11 batches were less than 0.8. The 18 batches of samples were not complied with *Chinese Pharmacopoeia* in 2010. **Conclusion:** Currently, the quality of medicinal material of Zanthoxyli Radix in Chinese herbal medicine market varies greatly, and the phenomenon of adulterants doping is serious.

[Key words] Zanthoxyli Radix; Chinese medicinal material; quality evaluation; TLC; HPLC; fingerprint

随着中药在医疗、保健甚至日化行业应用的扩大,我国中药资源的需求量、蕴藏量及药材产区分布已经发生了巨大的变化,由于野生资源的过

度开发以及植物生态环境的破坏,许多药材已经面临着资源枯竭的问题^[1-2]。中药材的野生转家种工作已经开展多年,但其中尚存在着许多不规

[收稿日期] 20140702(019)

[基金项目] 中央财政支持地方高校发展专项资金项目-中药学(粤财教[2013]389号);广东省科技计划项目(2012A030100006)

[第一作者] 张振山,在读硕士,从事中药资源的可持续利用与综合开发利用研究, Tel:15013340074, E-mail:zhenshan_cham@163.com

[通讯作者] * 严萍,博士,副研究员,硕士生导师,从事中药质量评价研究, Tel:020-39358331, E-mail:yanping@gzucm.edu.cn

范现象,如种植地不合理,药材生长年限不够,采收期过早等,造成药材质量严重下降。中药市场药材质量参差不齐,更有甚者用近缘品种和混淆品替代,威胁着人民群众的用药安全,严重影响着中医药产业的健康发展。

两面针药用价值广泛,具有抗炎、镇痛、抗菌以及抗肿瘤的作用^[3-4],是常用的大宗药材,著名中成药三九胃泰颗粒、正骨水、消肿止痛酊以及日化产品两面针牙膏就是以其为主要原料,两面针药材的市场需求量呈逐年增加的趋势。但近年来,由于两面针生境的破坏及其野生资源的过度采挖,两面针的药材储藏量逐年缩小,两面针资源短缺的状况已经十分严重^[5]。同时,两面针药材来源混杂,掺杂品如两面针茎、飞龙掌血和竹叶椒等,易造成两面针药材质量的不稳定,并影响临床用药的疗效和安全^[6-7]。本文收集了 18 批两面针商品药材,对市售商品进行质量调查,通过性状鉴别、薄层鉴别、氯化两面针碱的含量测定、HPLC 指纹图谱分析以及水分、浸出物、灰分测定的方法进行药材质量鉴定和分析,结果表明市场上的两面针药材品质参差不齐,伪品掺杂现象比较严重,药材合格率极低。

1 材料

1.1 仪器 Ultimate 3000 型高效液相色谱仪 (Thermo), BS224S 型 1/1 万天平 (Sartorius), XR205SM-DR 型 1/10 万天平 (Precisa), Orion 410A 型 + pH 计 (Thermo), TLC Visualizer 型薄层色谱成像仪 (瑞士 CAMAG), Synthesis 型纯水仪 (Merck-Millipore)。

1.2 试药 两面针对照药材 (批号 1201014-201003),氯化两面针碱 (批号 110848-200603)、乙氧基白屈菜红碱 (批号 110847-200601)、毛两面针素 (批号 1531-200001) 对照品,均购自中国食品药品检定研究院。乙腈为色谱纯,甲醇、乙醇、三氯甲烷、石油醚为分析纯。

两面针商品药材购买自广州市 4 家三级甲等医院,5 家药店,5 个药材市场,样品 15~18 直接购自药材公司 (见表 1)。两面针常见替代品两面针茎 (20120425,采自广西邕宁县大塘镇),竹叶椒 (2010061105,采自广州从化良口镇),飞龙掌血 (2010070301,采自广西邕宁县大塘镇) 由中药资源科学与工程研究中心提供。所有样品由广州中医药大学詹若挺研究员、童家赟老师鉴定为芸香科植物两面针 *Zanthoxylum nitidum* 的根,并存于广州中医药大学中药资源科学与工程研究中心样品储藏室。

表 1 两面针样品来源

Table 1 Sources of *Zanthoxyli Radix* samples

No.	来源	收集日期	No.	来源	收集日期
1	医院 1	20130901	10	广州清平药材市场	20130924
2	医院 2	20130328	11	河北安国药材市场	20130917
3	医院 3	20130501	12	安徽亳州药材市场	20130917
4	医院 4	20130705	13	四川荷花池药材市场	20130917
5	药店 1	20130921	14	广西玉林药材市场	20130920
6	药店 2	20130916	15	药材公司 1	20130818
7	药店 3	20130923	16	药材公司 2	20100407
8	药店 4	20130921	17	药材公司 3	20120410
9	药店 5	20130916	18	药材公司 4	20120410

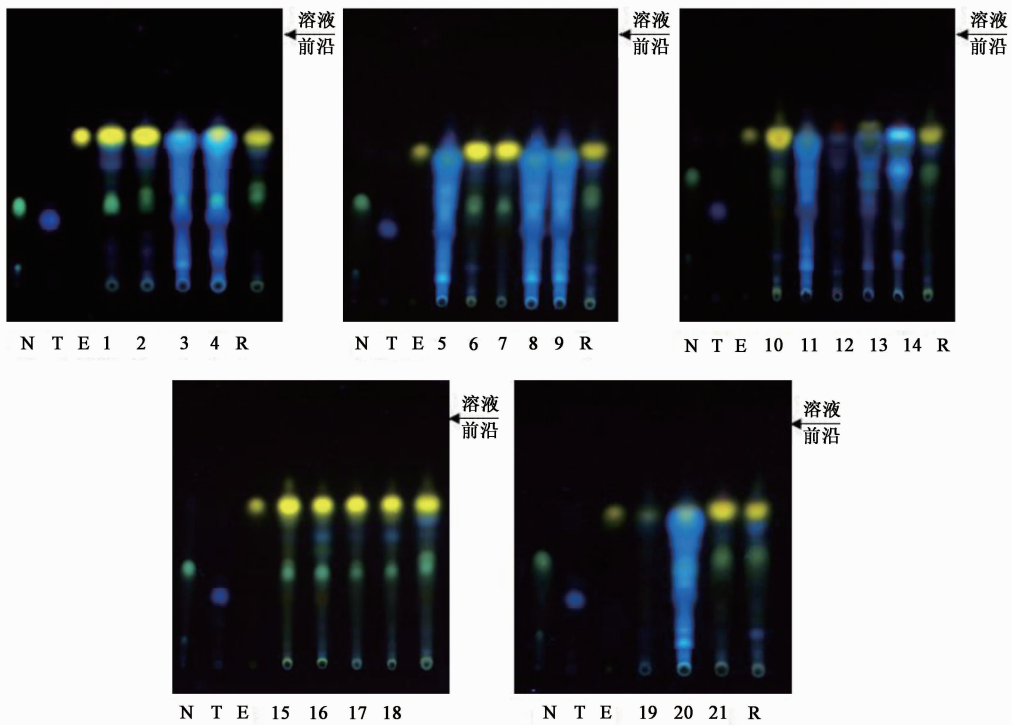
2 方法与结果

2.1 性状特征 对收集的两面针商品药材进行性状鉴别^[8],观察两面针的表面和切面特征。两面针商品药材多切成厚片或圆柱形短根,部分药材具细根,少数破碎成块状,药材表面黄色或棕黄色,有鲜黄色类圆形皮孔样斑痕。切面光滑,皮部淡棕色,木部淡黄色。观察到样品 5,8,9,11,12,13,14 存在髓部或空洞,部分含有绿色茎皮和茎刺,为药材中混有茎部位。

2.2 薄层鉴别 取样品粉碎,过二号筛,称取 1 g 粉末,加乙醇 40 mL 超声处理 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 溶解,作为供试品溶液。取两面针茎、飞龙掌血、竹叶椒样品,同法制备成伪品药材溶液。取两面针对照药材,同法制备成对照药材溶液。分别取氯化两面针碱、乙氧基白屈菜红碱、毛两面针素对照品适量,加甲醇制成 1 g·L⁻¹ 的 3 种对照品溶液。吸取上述溶液 5 μL,分别点于硅胶 G 薄层板上,以石油醚-三氯甲烷-甲醇-浓氨试液 (2:13:1:0.1) 为展开剂^[9],展开,取出,晾干,置紫外灯 (365 nm) 下检视。见图 1。

对比对照品、对照药材以及伪品药材溶液的薄层色谱图发现,样品 1,2,6,7,10,15,16,17,18 与氯化两面针碱对照品、对照药材在相应位置上显相同颜色的斑点。样品 3,4,5,8,9,11,13,14 与氯化两面针碱在相应位置上显相同颜色的斑点,但与对照药材图谱差异较大,具有较明显的蓝色荧光带,含有毛两面针素,并与飞龙掌血图谱相近;样品 5,8,9,11,12,13,14 无明显黄色荧光斑点,不含乙氧基白屈菜红碱;样品 12,14 无氯化两面针碱斑点,提示这 9 批样品 (3,4,5,8,9,11,12,13,14) 均为掺伪品。

2.3 含量测定 按照《中国药典》2010 年版两面针



1~18. 两面针商品药材;19. 竹叶椒;20. 飞龙掌血;21. 两面针茎;R. 两面针对照药材;N. 氯化两面针碱;T. 毛两面针素;E. 乙氧基白屈菜红碱
图 1 两面针商品药材的薄层色谱检查

Fig. 1 TLC of medicinal material of Zanthoxyli Radix

项下含量测定法测定氯化两面针碱含量。

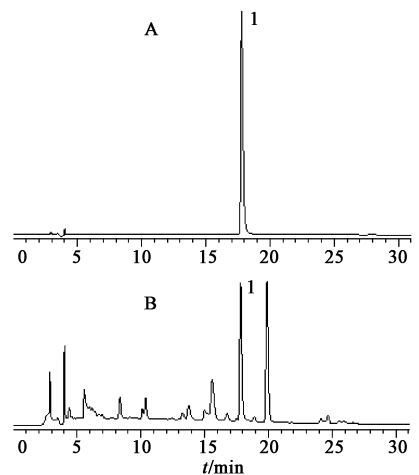
2.3.1 色谱条件 Ecosil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈(A)-0.1% 甲酸的三乙胺溶液(B, pH 4.5)为流动相进行梯度洗脱(0~30 min, 20%~50% A, 30~35 min, 50%~100% A), 检测波长 273 nm, 进样量 10 μL, 流速 1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数按氯化两面针碱峰计算不低于 2 500。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取氯化两面针碱对照品适量, 用 70% 甲醇溶解制成 0.32 mg·L⁻¹ 的氯化两面针碱对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取样品粉碎, 过三号筛, 取粉末约 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, 滤液置于同一量瓶中, 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, 即得供试品溶液。

2.3.4 含量测定 精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪进行含量测定, 氯化两面针碱对照品溶液与供试品溶液(样品 7)的色谱图见图 2, 以干燥品计算样品中氯化两面针碱的含量。结果见表 2, 其中样品 12, 14 未检测到氯化两

面针碱色谱峰, 其他样品均符合 2010 年版《中国药典》氯化两面针碱含量不低于 0.13% 的要求。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 氯化两面针碱

图 2 两面针药材 HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of nitidine chloride and sample

2.4 HPLC 指纹图谱

2.4.1 色谱条件 Ecosil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈(A)-0.1% 甲酸的三乙胺溶液(B, pH 4.5)为流动相进行梯度洗脱(0~30 min, 20%~50% A; 30~35 min, 50%~100% A; 35~46 min, 100% A), 检测波长 273 nm, 进样量 10 μL。

表 2 两面针商品药材氯化两面针碱含量、水分、灰分和浸出物测定

Table 2 Contents of nitidine chloride, moisture, ashes and extracts in samples %

No.	氯化两面针碱	灰分	水分	浸出物	No.	氯化两面针碱	灰分	水分	浸出物
1	0.90	3.7	8.6	2.2	10	0.52	4.4	12.1	3.8
2	0.60	4.6	9.2	4.6	11	0.44	3.8	9.9	5.2
3	0.46	5.1	11.4	6.2	12	-	2.4	10.8	3.7
4	0.84	4.7	9.5	6.7	13	0.24	4.2	11.5	7.3
5	0.37	4.2	10.2	6.5	14	-	3.6	10.4	5.0
6	0.50	4.3	10.6	3.6	15	0.79	4.4	7.2	3.6
7	0.91	3.9	9.9	3.2	16	0.42	3.6	7.5	4.0
8	0.40	5.4	9.9	8.6	17	0.26	6.4	7.0	3.7
9	0.61	4.0	10.4	7.3	18	0.38	3.1	7.0	3.0

注：“-”代表供试品未检测到氯化两面针碱。

2.4.2 对照品和供试品溶液的制备 同 2.3.2, 2.3.3 项下制备方法。

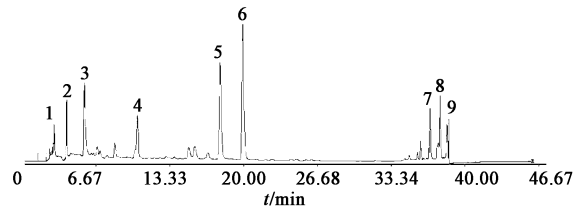
2.4.3 精密密度试验 取样品 7 的供试品溶液, 连续进样 6 次, 依法测定, 记录色谱图, 并将色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)进行相似度评价。结果显示, 6 次试验的色谱图相似度为 0.999 ~ 1.000 (RSD 0.05%), 表明该方法的精密密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取样品 7 的供试品溶液, 在室温下放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 后分别进样, 记录色谱图。结果显示, 样品在 24 h 内稳定性的相似度为 0.996 ~ 1.000 (RSD 0.2%), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 重复性试验 取样品 7 药材粉末各 1 g, 同法制备供试品溶液后进样检测, 记录色谱图。结果显示, 6 份供试液的色谱图相似度为 0.988 ~ 1.000 (RSD 0.4%), 表明本实验方法重复性良好。

2.4.6 HPLC 指纹图谱评价 取 15 批经鉴定为正品的两面针药材(采自广西邕宁县、马山县以及广东平远县、电白县的两面针种植基地), 按 2.3.3 项下方法制得药材溶液, 依法测定, 记录色谱图。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004A 版)进行谱图匹配, 建立共有模式。用相对保留时间标定共有指纹峰, 结果确定了 9 个共有指纹峰, 见图 3, 其中第 5, 6 号峰分别为氯化两面针碱和乙氧基白屈菜红碱, 相对保留时间稳定, RSD 小于 1.0%。

将 18 批收集样品的测定谱图与共有模式进行比对, 见图 4, 计算相似度见表 3。其中仅以样品 1,



5. 氯化两面针碱; 6. 乙氧基白屈菜红碱

图 3 两面针药材 HPLC 指纹图谱共有模式

Fig. 3 The HPLC fingerprint common mode of Zanthoxyli Radix

6, 7, 15, 16, 17, 18 相似度在 0.8 以上, 这与性状鉴别、薄层色谱结果基本一致, 但样品 2, 10 相似度较低, 两面针商品药材存在较严重的的伪品掺杂现象。

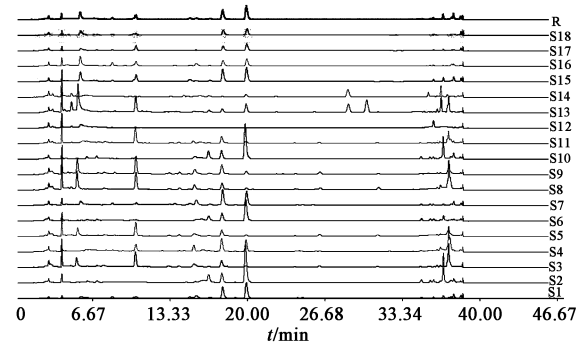


图 4 两面针样品与共有模式 HPLC

Fig. 4 HPLC chromatograms of samples and common mode

表 3 18 批样品与共有模式的相似度

Table 3 Similarity between 18 batches of samples and common mode

No.	相似度	No.	相似度	No.	相似度
1	0.943	7	0.907	13	0.290
2	0.464	8	0.204	14	0.329
3	0.302	9	0.396	15	0.987
4	0.574	10	0.464	16	0.910
5	0.346	11	0.464	17	0.931
6	0.871	12	0.384	18	0.964

2.5 水分、总灰分、醇溶性浸出物测定 取 18 批两面针商品药材, 按照《中国药典》2010 年版附录 IX H, IX K, X A 方法进行水分、总灰分和醇溶性浸出物(热浸法)的测定, 测定结果见表 2。样品总灰分含量在 2.4% ~ 6.4%, 均符合药典规定的“少于 7.0% 的要求”; 样品水分在 7.0% ~ 12.1%, 样品 3, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 14 的水分含量超过药典规定的“少于 10.0%”的要求; 样品醇溶性浸出物范围为 2.2% ~ 8.6%, 样品 1, 2, 6, 7, 10, 12, 15, 16, 17, 18 的浸出物含量未能达到药典规定的“不得少于 5.5%”的要求。

3 讨论

综合上述各项实验,在测定的18批样品中,样品1,6,7,15,16,17,18与共有模式图谱相似度高,氯化两面针碱含量符合《中国药典》要求,但醇溶性浸出物检测均低于5.5%,不符合药典标准;样品2,3,4,5,8,9,10,11,12,13,14与共有模式图谱相似度低,其中样品3,4,5,8,9,11,13,14薄层色谱检测有伪品成分毛两面针素荧光斑点,样品12,14未检测到氯化两面针碱,为掺伪药材。同时,多批药材还存在茎部位混入(样品5,8,9,11,12,13,14),水分超标(样品3,5,9,10,12,13,14)的现象。说明两面针商品药材的合格率极低,以次品,伪品居多。

两面针浸出物含量与产地、采集部位、种植年限和采集时间等因素有关^[10-11],样品1,6,7,15,16,17,18与共有模式图谱相似度高,但浸出物含量检查发现并未达到药典规定标准,推测其原因,可能为两面针药材的生长年限不够,根部的醇溶性成分的积累不足导致,这就对两面针药材的生长年限和采集部位提出了要求,这也是药材采集工作中常常被忽略的。

样品3,4,5,8,9,11,12,13,14通过薄层色谱、指纹图谱法鉴别为伪品掺杂药材,同期进行的水分测定试验也表明这些样品水分超标现象较严重。这些药材多为药材市场所售饮片及医院、药店的散装药材,自药材的采集、加工,到进入终端市场,途经较多的市场链条,受人为因素、环境因素影响较大,药材储藏、运输方式不规范,易发生霉变、虫蛀、受潮^[12],甚至人为掺伪的现象,因而药材品质较差。

目前,在中药材的市场中,两面针不仅面临着较严重的药材混伪现象,还存在着药材采收年限、部位不合理,储藏、运输方式不规范等情况。在对两面针商品药材进行质量评估时,需要结合药材水分、灰分、浸出物、薄层和含量测定等多项结果进行综合分析,才能较准确、全面地了解两面针商品的品质情

况。针对两面针药材的品质问题,需要从药材的源头至商品销售终端对两面针进行质量监控,以确保两面针药材的质量,为两面针的临床合理应用提供保障,这也是两面针资源的可持续利用研究的一个重要方向。

[参考文献]

- [1] 段金廛,周荣汉,宿树兰,等. 我国中药资源科学发展现状和观望[J]. 自然资源学报,2009(3):378-386.
- [2] 陈宇,陈焕亮. 论我国中药资源现状与可持续开发利用[J]. 辽宁中医药大学学报,2014,16(4):218-219.
- [3] 温尚开. 两面针的研究概况[J]. 中草药,1995,26(4):215-217.
- [4] 刘丽敏,刘华钢,罗丹. 氯化两面针碱体外和体内的抗肿瘤作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2009,23(3):214-218.
- [5] 余丽莹,黄宝优,谭小明,等. 广西两面针野生种质资源调查研究[J]. 广西植物,2009,29(2):231-235.
- [6] 赖茂祥,饶伟源,严克俭,等. 两面针茎及其伪品的生药鉴别[J]. 中药材,1994,17(3):18-21.
- [7] 陈贝贝,宋经元,姚辉,等. 基于ITS2条形码的两面针药材极其混伪品的鉴别[J]. 中草药,2013,43(15):2150-2154.
- [8] 国家中医药管理局. 中华本草. 第12卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,2008:965,971,994.
- [9] 秦泽慧. 基于化学成分及药理活性的两面针根茎部位药用价值评价[D]. 广州:广州中医药大学,2013.
- [10] 杨水清,江霞,刘纪青. 不同产地两面针浸出物的研究[J]. 中国医药指南,2012,10(5):75-76.
- [11] 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积累[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(13):165-168.
- [12] 吴启南,钱大玮,段金廛. 中药材储藏过程中的变化机制探讨[J]. 中国中药杂志,2010,35(14):1904-1908.

[责任编辑 顾雪竹]