

横经席药材的生药学研究及有效成分测定

林雀跃¹, 张颖婷¹, 梁柳春¹, 姚力¹, 钟小清², 唐倩², 罗轶^{1*}

1. 广西壮族自治区食品药品检验所, 广西 南宁 530021

2. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004

摘要:目的 对广西民族药材横经席 *Calophylli Herba* 进行基原调查和生药学研究, 并对有效成分进行测定。方法 通过查阅文献厘清横经席的历史使用沿革及植物分布情况, 野外实地调研横经席的植物基原, 采集并制作腊叶标本, 通过药材性状、显微特征等方法进行生药学研究, 采用岛津液相色谱仪 Nexera LC-40, 岛津 Shim-pack GIST C₁₈-AQ HP 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm), 乙腈-0.4%甲酸水为流动相, 体积流量 0.3 mL/min, 梯度洗脱, 柱温 35 °C, PDA 检测器, 检测波长 275 nm, 建立横经席药材中穗花杉双黄酮和异棘苷的含量测定方法。**结果** 横经席的野外资源日益匮乏, 市场上常见东南亚进口的红厚壳属植物与横经席混用, 采用建立的方法能够有效地鉴别横经席药材。所建立的含量测定方法稳定性和重复性良好, 线性范围宽 (5.360~379.800 μg/mL)、线性较好 ($R^2>0.999$), 平均回收率在 98.3%~99.0%。**结论** 为完善横经席药材质量标准 and 药合理应用提供依据。

关键词: 横经席; 基原调查; 性状鉴别; 显微鉴别; 穗花杉双黄酮; 异棘苷; UPLC

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)12-4012-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.12.027

Pharmacognostic identification and determination of active ingredient of *Calophylli Herba*

LIN Que-yue¹, ZHANG Ying-ting¹, LIANG Liu-chun¹, YAO Li¹, ZHONG Xiao-qing², TANG Qian², LUO Yi¹

1. Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China

2. Gulin Sanjin Pharmaceutical Co., Ltd., Guilin 541004, China

Abstract: Objective To study present resource situation and establish methods for the pharmacognostic identification and determination of the active ingredient of Hengjingxi (*Calophylli Herba*). **Methods** To investigate the original plant sources and the folk use *Calophylli Herba* by referring to the herbal literature. The original plants of *Calophylli Herba* were surveyed and the original plant specimens were collected through field investigation. The pharmacognosy of *Calophylli Herba* was studied by morphologic characteristics, character identification, microscopic identifications and TLC identification. A UPLC-UV method for simultaneous determination amentoflavone and isoapetalic acid in *Calophylli Herba* was established by using Shimadzu Shim-pack GIST C₁₈-AQ HP column (100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), acetonitrile-0.4% formic acid water as mobile phase, gradient elution with the flow rate of 0.3 mL/min, the column temperature was 35 °C, and the detection wavelength of PDA detector was 275 nm. **Result** The wild resource of *Calophylli Herba* had reduced gradually. The other plants of genus *Calophyllum* which imported from Southeast Asia were mixed with *Calophylli Herba*. The established method can be used for the identification of *Calophylli Herba*. The two compounds have good separation, stability and repeatability, with wide linear range (5.360—379.8 μg/mL) and good linearity ($R^2>0.999$). The average recovery was 98.3%—99.0%. **Conclusion** The pharmacognostic identification can provide a theoretical basis for quality control and medical material supply of *Calophylli Herba* for pharmaceutical factory.

Key words: *Calophylli Herba*; original plant survey; character identification; microscopic identifications; amentoflavone; isoapetalic acid; UPLC

收稿日期: 2022-11-09

基金项目: 国家药监局药品注册司专项“特色民族药检验方法的示范性研究”(NIFDC-TCM2021-047-MZY009); 广西科技重大专项“80种桂产特色中药材配方颗粒制备工艺与质量标准及产品开发研究”(桂科 AA22096019)

作者简介: 林雀跃 (1983—), 女, 副主任药师, 硕士研究生, 从事中药质量研究。E-mail: linqueyue@163.com

*通信作者: 罗轶 (1972—), 女, 主任药师, 学士, 从事中药质量研究。E-mail: luoyi20010211@163.com

横经席为藤黄科红厚壳属植物薄叶红厚壳 *Calophyllum membranaceum* Gardn. et Champ. 的干燥全株, 具有祛风湿、壮筋骨、补肾强腰、活血止痛的功效, 常用于治疗风湿骨痛、跌打损伤、月经不调等症^[1-3]。横经席现行质量标准见《广西中药材标准》1990年版、《广西壮族自治区壮药质量标准》第一卷以及《广西壮族自治区瑶药材质量标准》第一卷, 不仅是广西民间常用草药^[4-18], 也是成方制剂“正骨水”“妇炎净胶囊”“妇炎净片”等的原料药, 年需求量较大。课题组在药材市场上发现, 除正品横经席药材外, 有部分从东南亚进口的红厚壳属植物也充当横经席售卖, 造成了品种混乱。目前, 关于横经席的研究多集中在化学成分分析^[19-22]上, 无任何有关其植物基原、生药学研究及含量测定方面的报道, 而药材的现行质量标准也仅有性状的描述, 需要增加显微等其他鉴别特征以更好地鉴别横经席正品与伪品, 增加指标性成分的含量测定以评价横经席药材质量的优劣。为解决上述问题, 课题组对横经席进行了野外调研、生药学及含量测定的研究, 厘清了横经席药材的植物基原, 建立了横经席专属性检验方法, 为完善横经席药材质量标准和药厂横经席药材收购提供理论依据。

1 材料与试剂

1.1 材料

横经席药材正品通过野外采集获得, 经广西中医药研究院黄云峰主任药师鉴定均为薄叶红厚壳 *C. membranaceum* Gardn. et Champ., 样品编号为 S1~S10, 均有对应的植物腊叶标本, 标本保存于广西壮族自治区食品药品检验所中药标本室。横经席伪品为玉林药材市场购买, 由于未收集到花、果等繁殖器官部位, 只能鉴定到属级, 经黄云峰主任药师鉴定为红厚壳属 *Calophyllum* sp. 植物, 样品编号为 S13~S16。

对照品穗花杉双黄酮 (批号 MUST-22111022) 购自成都曼斯特生物科技有限公司, 异棘萜 (批号 TS22C063-DT11) 购自上海诗丹德标准技术服务有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$ 。

1.2 试剂

岛津 Nexera LC-40 超高压液相色谱仪, 岛津 Shim-pack GST C₁₈-AQ HP 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μ m), CP224S 型电子分析天平 (德国赛多利斯公司), XS205 型电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司), KQ-600E 型数控超声波清洗器 (昆山市

超声仪器有限公司), Milli-Q 型超纯水机 (美国 Millipore 公司)。G12 型数码相机 (佳能公司), BM2000 型显微镜 (南京江南永新光学有限公司)。

乙腈 (色谱纯) 购自赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, 甲醇 (批号 20221026)、醋酸乙酯 (批号 20221227)、环己烷 (批号 20211102)、冰醋酸 (批号 20140422)、丙三醇 (批号 20220814) 均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司。

2 方法

2.1 横经席药材资源情况

红厚壳属植物在我国一共分布有 4 个种, 除了横经席的原植物为薄叶红厚壳外, 还有红厚壳、滇南红厚壳和兰屿红厚壳。4 种植物在我国的分布地域较为集中, 薄叶红厚壳仅分布在广西和广东的南部以及海南地区, 红厚壳仅分布在海南及台湾地区, 滇南红厚壳仅分布在云南南部地区, 兰屿红厚壳仅分布在台湾东部地区。课题组在广西全区范围进行了野外调研, 共采集了 10 个不同区域的植物腊叶标本及对应的 10 批横经席药材 (样品编号 S1~S10), 植物腊叶标本见图 1。



图 1 薄叶红厚壳植物标本图

Fig. 1 Specimen of *C. membranaceum*

野外调研发现, 横经席野生资源在广西境内分布呈片区状, 主要分布在桂东、桂东南及桂南地区, 东经 108°0'~110°55', 北纬 21°42'~24°7', 海拔 56~609 m), 包括梧州、贺州、钦州、桂平、贵港、玉林、防城港、东兴等多个市 (县) 行政区域, 但资源量较小, 种群呈零星分布。横经席多生长于八角林、竹林、马尾松林、杂木林等疏林或密林中, 位于林分中下层, 常伴有芒萁 *Dicranopteris pedata* (Houttuyn) Nakaike、九节 *Psychotria asiatica* Wall.、粗叶榕 *Ficus hirta* Vahl、半边旗 *Pteris semipinnata* L. sp.、南方紫金牛 *Ardisia thyrsoiflora* D. Don.、石柑子 *Pothos chinensis* (Raf.) Merr.、求米草

Oplismenus undulatifolius (Arduino) Beauv.、莎草属 *Cyperus* sp.等植物。横经席植株生长缓慢，呈低矮小灌木状，根为直根系，主根发达，须根少，在土层肥厚，疏松肥沃的壤土、砂壤土中生长较好，涝洼地或土壤贫瘠生境中生长不良。

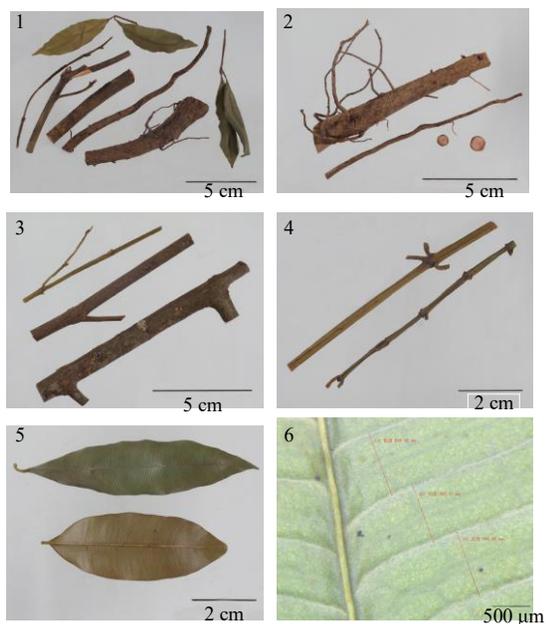
玉林药材市场调研发现，横经席为小宗药材，随机询问 50 家草药售卖商铺，共有 6 家售卖横经席药材，分别购买 6 批横经席药材，经本实验建立的方法进行检验，发现 2 批为正品（样品编号为 S11、S12），4 批为伪品（样品编号 S13~S16）。运用 DNA 条形码的方法，扩增了野外采集的 10 批正品（编号 S1~S10）的 *rbcL* 序列与 4 批伪品（样品编号 S13~S16）的进行对比^[23-24]，发现 4 批伪品的峰图呈现一定程度的底峰和一定数量的 SNP 位点，与正品序列不一致，提示其植物基原可能不是我国分布的品种，与商家提供的从国外进口的信息一致。

2.2 横经席药材生药学鉴定研究

2.2.1 性状鉴别 本品主根呈长圆锥形或圆柱形，粗细不等，表面棕色至淡棕色，有细纵皱纹，栓皮脱落处呈棕红色。茎圆柱形，表面灰绿色至灰褐色。幼枝四棱形，有翅，黄绿色。单叶对生，薄革质，长圆形长圆状或披针形，长 6~12 cm，宽 1.5~4 cm，黄绿色至灰绿色，两面有光泽，无毛，顶端渐尖，急尖或尾状渐尖，基部楔形，边缘全缘，微反卷，中脉两面凸起，侧脉多而细密，排列整齐，与中脉近垂直。有时可见核果生于叶腋，长圆形，直径约 8 mm。根、茎质坚硬，难折断，断面纤维性。气微，味苦、涩。见图 2。伪品与正品相比，区别在于部分小枝可见密被锈红色柔毛，叶革质，质地比正品厚，上表面主脉处的毛常脱落，下表面主脉被锈红色柔毛，相邻两条侧脉宽度相较于正品更小。见图 3。

2.2.2 显微鉴别 横经席药材根横切面为木栓层细胞数列，黄棕色。皮层有大型分泌道散在，直径可达 200 μm，薄壁细胞中含草酸钙方晶和簇晶。韧皮部纤维束壁薄，有分泌道分布，韧皮射线明显，有时可见韧皮射线延伸至皮层。木质部射线细胞多为 1 列，导管单个散在或数个相聚，断续排列成放射状。见图 4。

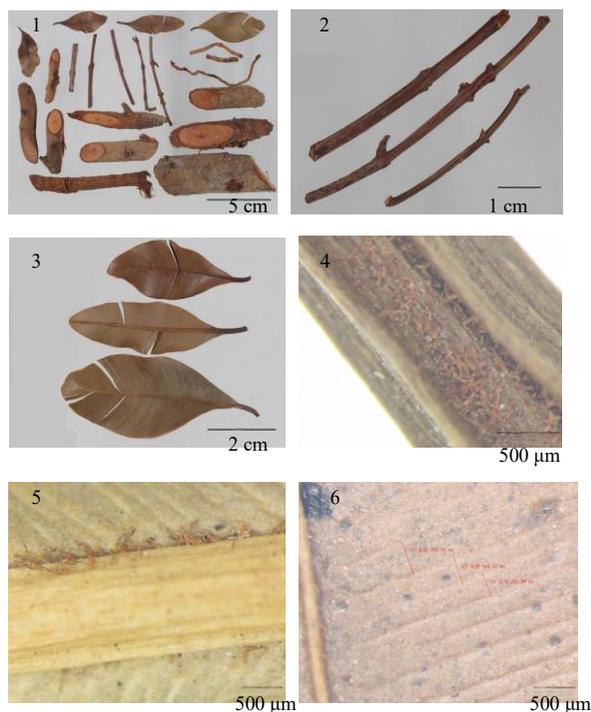
横经席药材茎横切面为表皮或残存，细胞一行，外壁角质增厚。木栓细胞数列。皮层窄，薄壁细胞含淀粉粒和草酸钙方晶，分泌道散在，椭圆形，直径可达 150 μm。韧皮部纤维束壁薄，有分泌道分布，韧皮



1-药材全貌 2-根 3-茎 4-小枝 5-叶 6-叶侧脉
1-medicinal material 2-root 3-stem 4-twig 5-leaf 6-lateral veins

图 2 横经席药材正品性状

Fig. 2 Morphological feature of *Calophylli Herba*



1-药材全貌 2-茎 3-叶 4-小枝 5-叶中脉 6-叶侧脉
1-medicinal material 2-stem 3-leaf 4-twig 5-midvein 6-lateral veins

图 3 横经席药材伪品性状

Fig. 3 Morphological feature of counterfeit species of *Calophylli Herba*

射线明显。木质部宽广，木射线多为 1 列。髓部类方形，髓薄壁细胞有的含淀粉粒、草酸钙方晶和簇晶，分泌道散在，直径约 50 μm。见图 5。

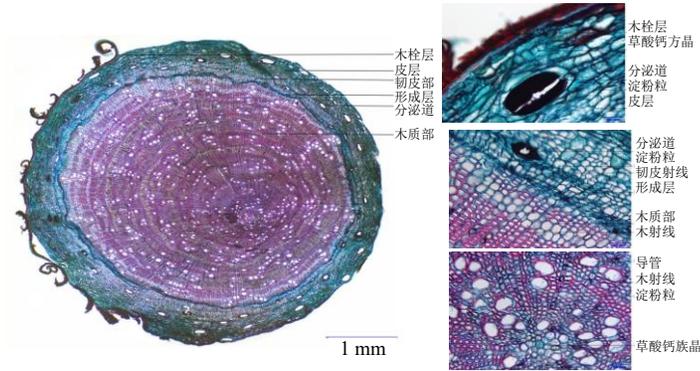


图4 横经席根横切面显微图

Fig. 4 Microscopic features of root transverse section of *Calophylli Herba*

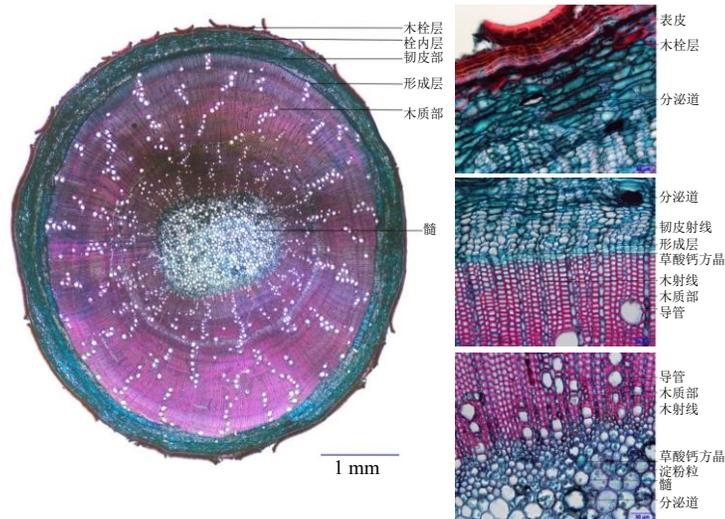


图5 横经席茎横切面显微图

Fig. 5 Microscopic features of stem transverse section of *Calophylli Herba*

横经席叶横切面为上下表皮细胞一列，外侧角质层增厚。栅栏组织不发达，细胞1列，类方形，排列紧密，占叶肉组织 1/6，不通过主脉；海绵组织发达，排列疏松。主脉维管束类半月形，木质部位于上部，导管扇形排列，下部韧皮部狭小，外侧纤维束壁薄；薄壁细胞含草酸钙方晶和簇晶，分泌道散在，直径约 50 μm。见图 6。

横经席粉末显微特征为茎表皮细胞黄棕色，长方形或类多角形。叶下表皮细胞垂周壁波浪状弯曲，气孔不定式。纤维成束或散在，直径约 8~20 μm，壁稍木化。淀粉粒甚多，类圆形，直径 4~15 μm；复粒由 2~3 分粒组成。见图 7。

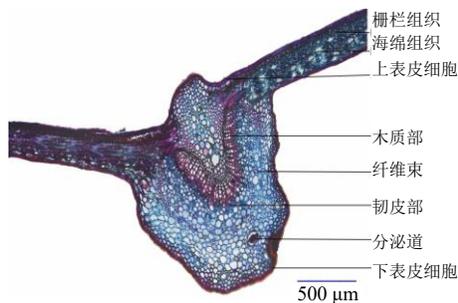
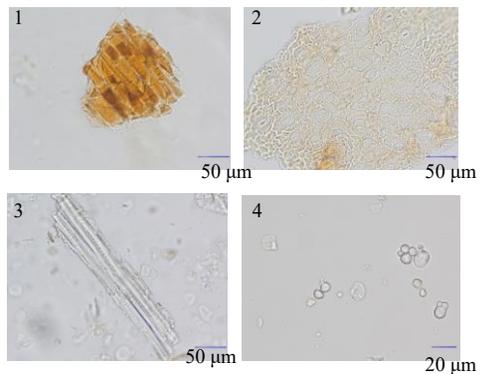


图6 横经席叶横切面显微图

Fig. 6 Microscopic features of leaf transverse section of *Calophylli Herba*



1-茎表皮细胞 2-叶表皮细胞 3-纤维束 4-淀粉粒

1-stem epidermal cells 2-epidermal cell 3-fiber bundle 4-starch granule

图7 横经席药材粉末特征图

Fig. 7 Microscopic feature of powder of *Calophylli Herba*

横经席药材伪品的根、茎、叶横切面显微特征与正品较为相似,区别仅在于伪品叶横切面有时可观察到非腺毛。伪品粉末显微特征与正品有一定差异,体现在伪品粉末可观察到较多石细胞及非腺毛(图8)。



图8 横经席药材伪品粉末图

Fig. 8 Microscopic feature of powder of counterfeit species

3 横经席的定量测定

3.1 色谱条件

UPLC-UV 分析,流动相为 0.4%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~2 min, 45% B, 2~15 min, 45%~90% B, 15~18 min, 90% B, 18~20 min, 90%~45% B; 岛津 Shim-packGST C₁₈-AQ HP 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm),检测波长 275 nm,柱温 35 °C,进样量 2 μL。色谱图见图9。

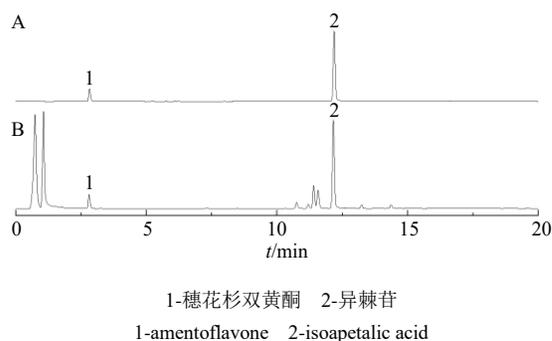


图9 混合对照品溶液(A)和横经席供试品溶液(B)的UPLC-UV色谱图(275 nm)

Fig. 9 UPLC of mixed reference solution (A) and sample solution (B) (275 nm)

表1 2种化学成分的线性方程、相关系数、线性范围、定量限和检测限

Table 1 Calibration curves, correlation coefficients, linear ranges, limit of quantitation and detection of two constituents

化合物	线性方程	R ²	线性范围/(μg·mL ⁻¹)	定量限/(μg·mL ⁻¹)	检测限/(μg·mL ⁻¹)
穗花杉双黄酮	Y=24 451 X+19 111	0.999 9	5.360~107.200	0.31	0.092
异棘苜	Y=40 119 X+218 258	0.999 8	18.990~379.800	0.30	0.091

照 1:1 的质量比例分别加入单一对照品,按“3.3”项下条件制备,按“3.1”项下条件进样分析,计算加样回收率,穗花杉双黄酮、异棘苜的加样回收率分别为 98.3%、99.0%,RSD 分别为

3.2 对照品溶液的制备

分别取穗花杉双黄酮、异棘苜对照品适量,精密称定,加甲醇制成混合对照品母液,并逐级稀释成 5 个质量浓度,待用。

3.3 供试品溶液的制备

取本品约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入甲醇 20 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 360 W,频率 45 kHz) 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

3.4 线性关系考察

取稀释好的混合对照品溶液,每个浓度进样 2 μL,按上述“3.1”项下的条件进样分析,以峰面积为纵坐标,以各对照品的质量浓度为横坐标建立标准曲线。计算 2 个对照品的线性回归方程、相关系数、线性范围、定量限和检测限见表 1。结果表明穗花杉双黄酮和异棘苜 2 个成分均具有良好的线性范围和线性关系,且检测灵敏度较高。

3.5 精密度试验

取供试品溶液(S3),按“3.1”项下条件连续进样 6 次,穗花杉双黄酮和异棘苜色谱峰峰面积的 RSD 分别为 1.26%、1.59%。

3.6 稳定性试验

取供试品溶液(S3),按“3.1”项下条件分别于 0、2、4、8、16、24 h 进样 2 μL 分析,计算穗花杉双黄酮和异棘苜色谱峰峰面积的 RSD 分别为 1.85%、1.67%。

3.7 重复性试验

精密平行称取 6 份 S3 样品 1 g,按“3.3”项下制备供试品溶液,按“3.1”项下条件进样分析,计算穗花杉双黄酮和异棘苜含量的 RSD 值分别为 1.67%、1.95%。

3.8 加样回收率试验

精密称定已测定的 S3 样品 6 份,各 0.5 g,按

1.70%、2.33%。

3.9 样品含量测定

对 12 批横经席正品及 4 批横经席伪品进行含量测定分析,结果见表 2。

表 2 12 批横经席正品及 4 批横经席伪品中 2 种化学成分含量测定结果

Table 2 Contents of two compounds in 12 batches of *Calophylli Herba* and four batches of counterfeit species

批号	质量分数/%	
	穗花杉双黄酮	异棘苷
S1	0.078	0.968
S2	0.085	0.834
S3	0.154	0.307
S4	0.194	0.803
S5	0.180	0.674
S6	0.040	0.699
S7	0.089	1.070
S8	0.089	1.090
S9	0.077	0.445
S10	0.040	0.699
S11	0.343	0.616
S12	0.363	0.422
S13	0.002	0.003
S14	0.004	0.017
S15	0.457	0.010
S16	0.181	未检出

4 讨论

从植物基原上看,横经席药材的来源只有薄叶红厚壳一个种,该植物在我国地理分布区域较窄,仅见于广西、广东及海南部分地区,其野生资源已呈匮乏态势。薄叶红厚壳为灌木或小乔木,与其同属另外 3 种植物在原植物形态(均为乔木)上差别较大,特别是在叶子的大小及形状上有明显的区别,因此,仅我国分布的其他 3 种红厚壳植物基原与横经席药材基原发生混用的机率不高。但随着横经席药材国内资源的匮乏及国际贸易频次的增加,越来越多来自东南亚国家的红厚壳属其他种植物也以横经席药材的名义出现在市场中,且从性状上看,与横经席药材较为相似,不易于区别,造成了目前横经席药材使用品种的混乱。

从生药学研究结果来看,横经席正品与伪品具有差异,性状特征主要体现在叶子的形状、质地及侧脉间距上,显微特征体现在伪品的粉末中可观察到石细胞及非腺毛(正品均无)。

从含量测定的结果来看,横经席正品异棘苷含量较高,异棘苷为横经席药材主要化学成分之一,

但横经席伪品几乎不含异棘苷,可通过测定异棘苷的含量来评价横经席药材质量的优劣。

横经席野生资源已经不能满足目前医药产业的需求,开展横经席药材仿野生驯化和良种选育迫在眉睫,同时,建立横经席种质资源库对于横经席药材资源的保护和可持续开发利用具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 广西壮族自治区中药材标准(1990 版) [S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1990: 92-93.
- [2] 广西壮族自治区壮药质量标准 (第一卷) [S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008: 204.
- [3] 广西壮族自治区瑶药质量标准 (第一卷) [S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2014: 220.
- [4] 梧州市革命委员会生产指挥部卫生组. 梧州草药及常见病多发处方选 [M]. 梧州: 梧州市革命委员会生产指挥部卫生组, 1969: 958-959.
- [5] 梧州专区各县革委会卫生组. 梧州地区中草药 [M]. 梧州: 梧州专区革委会卫生服务站, 1970: 469-470.
- [6] 广西壮族自治区革命委员会卫生管理服务站. 广西中草药 (第 2 册) [M]. 南宁: 广西人民出版社, 1970: 204-205.
- [7] 广西壮族自治区医药研究所革委会. 广西壮族自治区医药研究所标本园药用植物名录征求意见稿 (第 1 册) [M]. 南宁: 广西医药研究所药用植物园, 1973: 50.
- [8] 广西医药研究所药用植物园. 广西医药研究所药用植物园药用植物名录 [M]. 南宁: 广西医药研究所药用植物园, 1974: 113.
- [9] 广西壮族自治区革命委员会卫生局. 广西本草选编 [M]. 南宁: 广西人民出版社, 1974: 1554-1555.
- [10] 方鼎. 广西药用植物名录 [M]. 南宁: 广西人民出版社, 1986: 172.
- [11] 黄燮才. 实用中草药原色图谱-二 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1996: 144-145.
- [12] 梁启成, 钟鸣. 中国壮药学 [M]. 南宁: 广西民族出版社, 2005: 235.
- [13] 庞声航. 实用瑶药学 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008: 72.
- [14] 唐弟光. 广西特色中草药 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2009: 98.
- [15] 滕红丽, 梅之南. 中国壮药资源名录 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2014: 84.
- [16] 韦浩明, 蓝日春, 滕红丽. 中国壮药材 [M]. 第 2 版. 南宁: 广西民族出版社, 2016: 85.

- [17] 林春蕊, 许为斌, 黄俞淞, 等. 广西恭城瑶族端午药市药用植物资源 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2016: 76.
- [18] 覃迅云, 李彤. 中国瑶医学 [M]. 北京: 民族出版社, 2001: 26-29.
- [19] 陈光英, 吴晓鹏, 戴春燕, 等. 薄叶红厚壳根的化学成分研究(I) [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2009, 48(4): 52-56.
- [20] 陈光英, 韩长日, 宋小平, 等. 薄叶红厚壳叶化学成分研究(I) [J]. 林产化学与工业, 2003, 23(2): 73-76.
- [21] 赵军, 陈光英, 蒋宗林, 等. 薄叶红厚壳根中的酮类成分研究 [A] // 第七届全国天然有机化学学术研讨会论文集 [C]. 成都: 中国化学会, 2008: 60.
- [22] 虞俊, 宋鑫明, 陈光英, 等. 薄叶红厚壳根的咕吨酮成分[J]. 中国天然药物, 2010, 8(6): 433-435.
- [23] 陈士林. 中国药典中药材 DNA 条形码标准序列 [M]. 北京: 科学出版社, 2015: 63.
- [24] 谭丽盈, 郑婕. 基于 rbc L 序列鉴别十大功劳叶及其伪品 [J]. 北方药学, 2012, 9(4): 1-2.

[责任编辑 时圣明]