

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.04.016

瑶药大猪屎豆质量标准研究*

唐炳兰,莫单丹,龚小妹,欧春丽,王 硕,周小雷,赵以民[△]

(广西壮族自治区药用植物园·广西药用资源保护与遗传改良重点实验室·广西壮族自治区中药资源智慧创制工程研究中心,广西南宁 530023)

摘要:目的 探讨瑶药大猪屎豆药材的质量标准。方法 取广西壮族自治区不同产地的大猪屎豆药材样品10批,观察其性状;并对其茎横切面及粉末分别进行显微鉴别;按2020年版《中国药典(四部)》通则中水分测定法、灰分测定法、冷浸法分别测定药材样品中水分、总灰分、醇浸出物含量;采用薄层色谱(TLC)法进行定性鉴别。结果 药材样品的性状和显微特征明显;药材样品中水分含量均小于13.00%,总灰分含量均小于10.00%,酸不溶性灰分含量均小于0.40%,醇浸出物含量均不低于6.00%;TLC斑点清晰,分离效果较好。结论 该方法操作简便,结果可靠,稳定性较好,可用于大猪屎豆药材的质量控制。

关键词:大猪屎豆;质量标准;性状;显微;薄层色谱法;水分;总灰分;酸不溶性灰分;醇浸出物

中图分类号:R917

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)04-0067-04

Quality Standard of Yao Medicine *Crotalaria Assamica*

TANG Binglan, MO Dandan, GONG Xiaomei, OU Chunli, WANG Shuo, ZHOU Xiaolei, ZHAO Yimin

(Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant · Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement · Guangxi Engineering Research Center of TCM Resource Intelligent Creation, Nanning, Guangxi, China 530023)

Abstract: Objective To investigate the quality standard of Yao medicine *Crotalaria assamica*. **Methods** Ten batches of *Crotalaria assamica* from different producing areas in Guangxi Zhuang Autonomous Region were taken and their characters were observed. The transverse section of stem and powder of *Crotalaria assamica* were identified by the microscope. The contents of moisture, total ash and alcohol extract were determined according to the moisture determination method, ash determination method and cold-soaking method in general rules of the *Chinese Pharmacopoeia* (Volume IV, 2020 Edition). The qualitative identification of *Crotalaria assamica* was carried out by the thin-layer chromatography (TLC) method. **Results** The characters and microscopic characteristics of *Crotalaria assamica* were obvious. The contents of moisture, total ash and acid insoluble ash in the *Crotalaria assamica* were less than 13.00%, 10.00% and 0.40%, respectively, while the content of ethanol extract in the *Crotalaria assamica* was not less than 6.00%. The TLC spots were clear and the separation effect was good. **Conclusion** The method is simple, reliable and stable, which can be used for the quality control of *Crotalaria assamica*.

Key words: *Crotalaria assamica*; quality standard; character; microscopic; TLC; moisture; total ash; acid insoluble ash; alcohol extract

大猪屎豆为豆科植物大猪屎豆 *Crotalaria assamica* Benth. 的全株,别名自消容、十字珍珠草等^[1],在广西主要分布于南宁、平乐、苍梧等地^[2]。大猪屎豆全株均可入药,味淡,性微凉,具有清热解暑、止血消肿、凉血降压、利尿功效,可用于治疗黄疸型肝炎、咳嗽吐血、牙痛、小儿头疮、高血压、跌打损伤、外伤出血等症^[3]。瑶族民间将该药材称为“定心榕”,主要用于治疗心慌、心悸等症。大猪屎豆主要含有生物碱、鞣质、有机酸等化学成分,其主要活性成分为野百合碱。现代药理学研究表明,野百合碱具有明显的抗肿瘤作用,对人体肝癌细胞株 BEL-7402、人口腔表皮样癌细胞等均有显著抑制作用^[4-5];对鳞状上皮癌、宫颈癌和白血病的近期疗效较好,但有一定肝毒性^[6-7];同时可引起肺动脉高压和

右心室肥大等毒副作用,在实验研究中可作为建立肺动脉高压和右心室心肌肥厚模型的诱导剂^[8-9]。大猪屎豆茎叶急性毒性弱,属无毒级食品,但其种子急性毒性作用较强^[10-11]。既往对大猪屎豆的研究主要集中在性状、显微鉴别^[12]及含量测定^[13]方面。本研究中对大猪屎豆进行性状、显微鉴别基础上增加了薄层色谱(TLC)鉴别,以及水分、总灰分、浸出物含量的测定,可为该药材的质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

HH-6型数显恒温水浴锅(上海力辰邦西仪器科技有限公司);FA2004型电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);CP2250D型电子分析天平(德国Sarto-

*基金项目:广西壮族自治区食品药品监督管理局《广西壮族自治区瑶药材质量标准(第二卷)》质量评价与标准研究项目[MZY2017003]。

第一作者:唐炳兰,女,硕士研究生,副主任药师,研究方向为中药(民族药)质量标准,(电子信箱)365473227@qq.com。

[△]通信作者:赵以民,男,博士研究生,副研究员,研究方向为中药品质评价与鉴定,(电子信箱)zh_ym2009@126.com。

rius公司); Milli-Q Academic型超纯水仪(美国Millipore公司); DZTW型调温电热套(北京市永光明医疗仪器有限公司); RM225型石蜡切片机、DM2000型生物医疗显微镜,均购自德国Leica公司。

1.2 试药

硅胶GF₂₅₄薄层板(青岛海洋化工有限公司,批号为20161102,规格为50 mm×100 mm);试剂均为分析纯,水为超纯水;大猪屎豆药材样品(经本药用植物园赵以民副研究员鉴定为正品),药用部位均为全株,样品信息见表1;以样品ZSD-3作为大猪屎豆对照药材(经广西中医药大学韦松基教授及广西中医药研究院赖茂祥教授和黄云峰副研究员鉴定为正品)。

表1 大猪屎豆药材样品信息

Tab. 1 Information of *Crotalaria assamica* samples

样品编号	采集地	样品编号	采集地
ZSD-1	广西恭城县平安乡	ZSD-6	广西梧州市长洲镇
ZSD-2	广西金秀县三江乡	ZSD-7	广西北流市平政镇
ZSD-3	广西恭城县三江乡	ZSD-8	广西德保县燕洞乡
ZSD-4	广西南宁市大明山	ZSD-9	广西凤山县江州乡
ZSD-5	广西防城港市大菰镇	ZSD-10	广西罗城县宝坛乡

2 方法与结果

2.1 性状鉴别

肉眼观察,可见药材样品茎枝直径4~8 mm,有稍凸起之纵棱。叶多破碎,上面呈灰褐色或灰绿色,背面呈灰色。枝上可见宿存的小托叶,色黄,贴于叶柄下两旁;种子呈肾形,两侧面饱满或呈凹窝状,长3~5 mm,宽约3 mm,表面黄绿色、黑绿色或黑色,光滑,有光泽;腹面深凹陷,为种脐着生处。质坚硬,不易破碎。气微,味淡。详见图1。



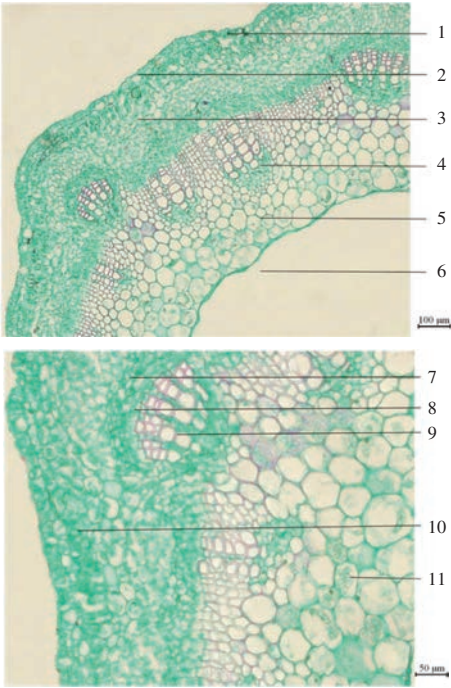
图1 药材外观

Fig. 1 Pictures of *Crotalaria assamica*

2.2 显微鉴别

茎横切面:置显微镜下观察,可见表皮为单列细胞,呈近圆形或矩形的不规则多边形,排列紧密,外被角质层,气孔可见。皮层细胞多列,有淀粉鞘,细胞直径15~24 μm。维管束断续成环,木质部较韧皮部厚,形成层明显,维管束内导管细胞单个或多个聚集,呈放射

状排列。髓部细胞较大,常见有草酸钙晶体。详见图2。



1. 气孔 2. 表皮 3. 皮层 4. 维管束 5. 髓部 6. 髓腔
7. 韧皮部 8. 形成层 9. 木质部 10. 淀粉鞘 11. 草酸钙簇晶

图2 茎横切面显微图

1. Stoma 2. Epidermis 3. Cortex 4. Vascular bundle 5. Pith
6. Medullary cavity 7. Phloem 8. Cambium 9. Xylem 10. Starch sheath
11. Calcium oxalate cluster crystal

Fig. 2 Micrograph of transverse section of stem of *Crotalaria assamica*

2.3 粉末特征

取药材样品粉末适量,置显微镜下观察,可见纤维多成束或单个散在,有的纤维壁薄;多见单细胞非腺毛,壁薄,部分壁厚,上有疣状突起,直径5~20 μm,长100~150 μm,少见2个细胞的非腺毛;导管以螺纹导管和具缘纹孔多见,直径25~50 μm;花粉粒呈圆球状;木栓细胞呈多边形,气孔为椭圆形,呈平轴式;草酸钙簇晶呈团块状存在。详见图3。

2.4 水分、总灰分、酸不溶性灰分及浸出物含量测定

按2020年版《中国药典(四部)》通则0832水分测定法中烘干法进行水分测定,按通则2302灰分测定法进行总灰分、酸不溶性灰分含量测定,按通则2201浸出物测定法中冷浸法进行浸出物含量测定。结果见表2。故拟订该药材水分为不得过13.00%,总灰分不得过10.00%,酸不溶性灰分不得过0.40%,醇浸出物不得低于6.00%。

2.5 TLC鉴别^[14-15]

取药材样品粉末2 g,加95%乙醇50 mL,超声(功率为200 W,频率为40 kHz)处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水10 mL使溶解,用醋酸乙酯提取2次,各10 mL,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,即得供试



1. 纤维束 2. 草酸钙簇晶 3. 非腺毛 4. 气孔 5. 花粉粒
6. 导管 7. 木栓细胞

图3 粉末显微图

1. Fiber bundle 2. Calcium oxalate cluster crystal 3. Non - glandular hair 4. Stoma 5. Pollen grain germination 6. Vessel 7. Cork cell

Fig.3 Micrograph of the powder of *Crotalaria assamica*

表2 药材样品水分、总灰分、酸不溶性灰分及浸出物测定结果(%)

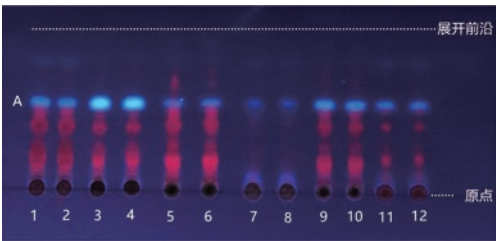
Tab.2 Determination results of moisture, total ash, acid insoluble ash and extract of *Crotalaria assamica* samples(%)

样品编号	水分	总灰分	酸不溶性灰分	浸出物
ZSD - 1	10.15	5.94	0.09	6.79
ZSD - 2	9.73	5.35	0.06	12.42
ZSD - 3	10.45	9.55	0.29	10.09
ZSD - 4	9.36	7.75	0.28	13.78
ZSD - 5	11.53	5.56	0.18	12.87
ZSD - 6	9.92	2.92	0.05	17.73
ZSD - 7	11.25	7.19	0.34	8.34
ZSD - 8	10.71	8.28	0.18	19.90
ZSD - 9	10.68	5.83	0.23	10.32
ZSD - 10	12.23	6.15	0.12	10.18
$\bar{X}$	10.60	6.45	0.18	12.24

品溶液。取对照药材粉末2 g,同供试品溶液制备方法制成对照品溶液。精密吸取上述2种溶液各3 μL,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以石油醚(60~90℃)-三氯甲烷-醋酸乙酯-甲醇(20:2:1:0.2, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光(365 nm)灯下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点。详见图4。

3 讨论

预试验中,分别比较了TLC鉴别的石油醚-醋酸乙酯-甲醇(10:1:0.5, V/V/V)、石油醚-三氯甲烷-甲醇(10:1:1, V/V/V)、石油醚-三氯甲烷-醋



1,6,10. ZSD - 3 2. ZSD - 1 3. ZSD - 2 4. ZSD - 4
5. ZSD - 5 7. ZSD - 6 8. ZSD - 7 9. ZSD - 8 11. ZSD - 9
12. ZSD - 10

图4 薄层色谱图

1,6,10. ZSD - 3 2. ZSD - 1 3. ZSD - 2 4. ZSD - 4
5. ZSD - 5 7. ZSD - 6 8. ZSD - 7 9. ZSD - 8 11. ZSD - 9
12. ZSD - 10

Fig.4 TLC chromatograms

酸乙酯-甲醇(20:1:1:0.5, V/V/V/V)、石油醚-三氯甲烷-醋酸乙酯-甲醇(20:2:1:0.2, V/V/V/V)等展开系统,结果以最后一种为展开剂时得到的薄层色谱斑点清晰,分离效果较好;并同时考察了不同厂家的硅胶板,不同展开温度和湿度对展开结果的影响。结果不同的薄层板、温度和湿度对展开结果影响不大,说明该薄层鉴别方法耐用性较好。本研究中还分别考察了60%,70%,80%,90%乙醇和水5种提取溶剂对药材样品浸出物提取量的影响,结果使用不同体积分数乙醇溶液提取,其浸出物含量不同(水溶性大于醇溶性),低体积分数的乙醇浸出物含量较多,为降低药材无效成分的溶出度,重点兼顾富集大猪屎豆生物碱、酚类、香豆素类、甾体类、三萜类脂溶性和水溶性等主要活性成分,故本研究中浸出物测定选择70%乙醇作为提取溶剂。

综上所述,本研究中所建立的方法操作简便,结果可靠,稳定性好,可用于大猪屎豆药材的质量控制。

参考文献

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.《中华本草》第四册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:421-423.
[2] 覃海宁,刘 演. 广西植物名录[M]. 北京:科学出版社,2010:196.
[3] 江纪武. 药用植物辞典[M]. 天津:天津科学技术出版社,2005:223.
[4] 潘东来,陆海琳,银胜高,等. 大猪屎豆化学成分系统预试及TLC测定研究[J]. 医学信息,2014,27(6):139-140.
[5] 李林珍,朱海燕,石京山,等. 猪屎豆属植物化学成分及药理活性研究概况[J]. 天然产物研究与开发,2007,19(4):724-730.
[6] 连文琰. 猪屎豆属药用植物的调查[J]. 中药材,1986,9(6):19-22.
[7] 王蔚倩,叶铨玲,陈 岩,等. 野百合碱对人肝窦内皮细胞的毒性机制研究[J]. 中国药理学通报,2020,36(6):833-838.
[8] 杨永超,杨东鹏,杨 博,等. 野百合碱诱导的肺动脉高压