

· 中药工业 ·

白薇饮片及女金丸的掺伪鉴别[△]穆向荣¹, 汪冰¹, 林林¹, 郭东晓¹, 于凤蕊¹, 唐真真², 孟德新³, 林永强^{1*}

1. 山东省食品药品检验研究院 国家药品监督管理局胶类产品质量评价重点实验室/山东省中药标准创新与质量评价工程实验室/中药配方颗粒共性技术山东省工程研究中心, 山东 济南 250101;

2. 漱玉平民大药房, 山东 济南 250000;

3. 章丘中医院, 山东 济南 250200

[摘要] 目的: 解决白薇饮片及含白薇的制剂女金丸中白薇掺伪的问题。方法: 采用性状鉴别、显微鉴别和化学分析方法研究白薇饮片及女金丸中白薇掺伪的问题。结果: 按照《中华人民共和国药典》2020年版白薇项下的性状和显微鉴别方法难以区分白薇及其伪品老瓜头, 但两者的薄层色谱和高效液相色谱存在明显差异, 进一步采用高效液相色谱-离子阱-飞行时间质谱联用仪确认特征色谱峰为 β -D-呋喃果糖基-(2 \rightarrow 1)- α -D-[6-O-芥子酰基]-吡喃葡萄糖苷。结论: 建立的检查方法操作简单、灵敏度高, 可为白薇饮片及含白薇制剂的质量提升提供参考。

[关键词] 白薇; 女金丸; 老瓜头; β -D-呋喃果糖基-(2 \rightarrow 1)- α -D-[6-O-芥子酰基]-吡喃葡萄糖苷

[中图分类号] R286 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)06-1319-07

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20221013004

Identification of Adulterated Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma Decoction Pieces and Nvjin Pill PreparationsMU Xiang-rong¹, WANG Bing¹, LIN Lin¹, GUO Dong-xiao¹, YU Feng-rui¹, TANG Zhen-zhen², MENG De-xin³, LIN Yong-qiang^{1*}

1. Shandong Provincial Institute for Food and Drug Control, National Medical Products Administration Key Laboratory for Quality Evaluation of Gelatin Products, Shandong Engineering Laboratory for Standard Innovation and Quality Evaluation of TCM, Shangdong Engineering Research Center of Generic Technologies for Traditional Chinese

Medicine Formula Granules, Jinan 250101, China;

2. Shuyu Civilian Pharmacy, Jinan 250000, China;

3. Zhangqiu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250200, China

[Abstract] **Objective:** To resolve the quality problem of adulterated Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma decoction pieces and Nvjin Pill Preparations. **Methods:** The morphological, microscopic, and chemical characteristics of Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma were taken as references for distinguishing between Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma and its adulterant. **Result:** According to the morphological and microscopic characteristics recorded in the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition), we found it difficult to distinguish Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma from its adulterant *Cynanchum komarovii*. However, the thin-layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC) revealed significant differences between Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma and its adulterant. HPLC-ion trap-time of flight mass spectrometry demonstrated that β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-[6-O-sinapoyl]-glucopyranoside was the characteristic component. **Conclusion:** The established identification method demonstrates simple operation and high sensitivity, providing technical support for the quality control of Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma decoction pieces and Nvjin Pill Preparations.

[Keywords] Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma; Nvjin Pills; *Cynanchum komarovii* Al. Iljinski; β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-[6-O-sinapoyl]-glucopyranoside

[△] [基金项目] 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2021CXGC010511); 山东省人文社会科学课题(2021-YYGL-44); 泉城产业领军人才支持计划创新团队项目(MRJT2105); “新高校20”项目(202228096)

* [通信作者] 林永强, 研究方向: 药品质量评价及标准研究; Tel: 0531-81216521, E-mail: 13864067104@126.com

白薇始载于《神农本草经》，列为中品，具有清热凉血、利尿通淋、解毒疗疮的功效，用于温邪伤营发热、阴虚发热、热淋、血淋、痈疽肿毒。《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）2020年版规定白薇为萝藦科植物白薇 *Cynanchum atratum* Bge. 或蔓生白薇 *C. versicolor* Bge. 的干燥根和根茎^[1]。女金丸现行标准收载于《中国药典》2020年版（一部），由当归、白芍、熟地黄和白薇等23味中药组成，均为原粉入药。通过笔者近年研究和市场调研发现，白薇的主流商品为萝藦科植物白薇的干燥根和根茎，老瓜头 *Cynanchum atratum* Bge. 是白薇当前最为常见的伪品，白薇饮片和女金丸中存在老瓜头冒充白薇的现象^[2]。老瓜头曾被报道用于冒充白前，在我国主要分布于内蒙古、宁夏、陕西等地，民间用于镇痛、杀虫^[3-5]。老瓜头被视为一种毒草，曾引起骆驼中毒，中毒率为58.3%，死亡率为4.8%^[6]。据报道，老瓜头全草有毒，有毒成分生物碱对动物的心脏、肺脏和肾脏有不同程度的毒性作用^[7]。由此可见，老瓜头的安全性不容乐观，其冒充正品使用会给白薇饮片及含白薇制剂的安全性带来极大隐患。

目前报道的白薇混淆品还有白前、徐长卿、细辛、万寿竹、紫花合掌消^[8-11]。但对于白薇及其混淆品的鉴别方法仅涉及性状、显微鉴别、性味归经、功能主治方面，这些鉴别方法容易受主观因素影响。此外，在生产制剂时，中药多需进行粉碎或提取，传统的鉴别方法不能准确判断是否存在伪品投料生产的现象，因此需要结合理化分析的方法来比较正品及混淆品的化学成分差异，进而科学、快速地对白薇及其混淆品进行鉴别。

本研究从性状鉴别、显微鉴别、理化鉴别等方面开展白薇饮片及女金丸中老瓜头掺伪研究，可为白薇饮片质量控制及含白薇制剂的安全性和有效性提供参考，同时也可作为易混淆中药的掺伪鉴别研究提供思路。

1 材料

1.1 仪器

5D型相机（日本佳能株式会社）；M205FCA型体视荧光显微镜、DM2500型数码摄像显微镜（德国莱卡微系统有限公司）；LC-20A型高效液相色谱仪、LC-20XR型高效液相色谱-离子阱-飞行时间质谱仪[日本岛津株式会社岛津企业管理（中国）有限

公司]；2695型高效液相色谱仪（美国沃特世公司）；CP225D型电子天平（德国赛多利斯公司）。

1.2 试药

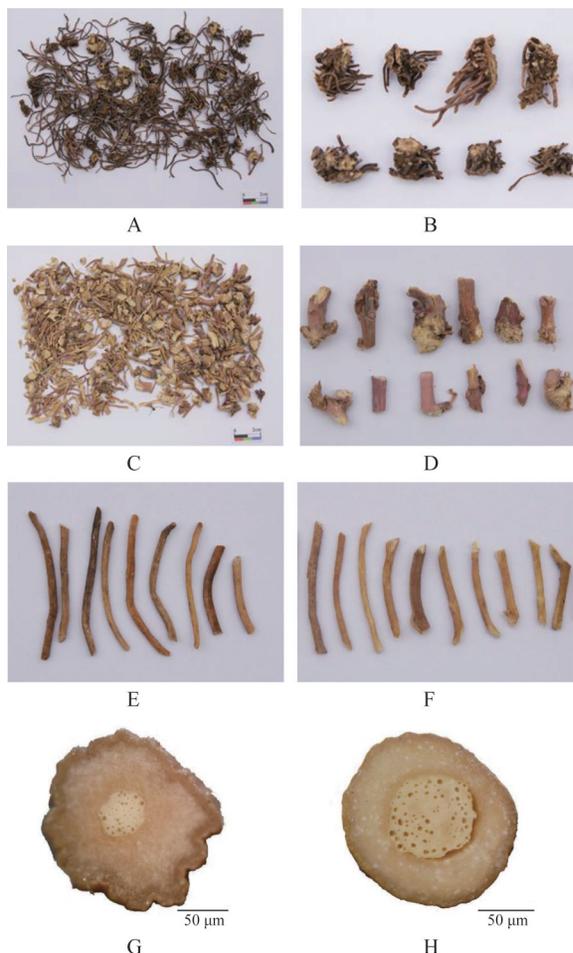
白薇对照药材（中国食品药品检定研究院，批号：121518-201604）；甲醇为色谱纯；其余试剂均为分析纯。

白薇饮片为2018年山东省中药材及饮片专项抽检样品（批号分别为130501、141020、150605、150701、160801、161012、161101、161202、170101、170201、170202、170425、170528、170630、170701、180301、1605001、1606001、1607028、1609158、1610181、1701001、1701109、1703001、1801001、1802001、16032501、17031201、17031205、20150101、20151002、20151204、20160101、20170217、20170319、20170411、20170501、20180101、20180125、20180129、141101351、161040155、201603131、501003071、8180109202、B408291、C17083031）。女金丸为2017年国家药品抽检样品（批号分别为141231、150101、150603、150604、150901、151005、151106、160101、160102、160603、160701、160702、160703、160901、160904、161101、161105、170101、170101、270484、270485、270627、510161、521000、521254、620142、620394、620753、620756、620904、620906、621036、621037、621320、621414、621416、621626、720081、1503105、3013360、4013161、4013694、11140515、11150615、11161217、15013087、15013499、15035131、16013074、16013075、16013448、16035059、16035425、17013142、20130204、20140814、20141006、20141008、20141009、20141010、20150301、20150302、20150304、20150305、20150306、20150401、20150403、20150404、20150601、20150701、20150704、20150705、20150816、20160101、20160301、20160403、20160404、20160405、20160501、20160502、20160601、20160602、20160603、20160702、20160703、20160704、20161001、20170101、20170102、20170104、20170201、20170202、20170401、A15117、A15280、A16191）。

2 白薇饮片与老瓜头的性状鉴别

参考《中国药典》2020年版^[1]和《山东省中药

饮片炮制规范》2012年版^[12]发现,标准规定的性状鉴别特征不能有效地区分白薇和老瓜头^[1,12]。通过对多批样品的比较分析,总结出白薇和老瓜头主要的性状差别:1)白薇根茎呈结节状,具圆形茎痕及簇生根痕,表面棕黄色;老瓜头根茎具地上茎残基,外表带紫色。2)白薇的根粗细均匀,断面木心小;老瓜头的根粗细不均匀,有的根外表带紫色,断面木心大。两者性状对比见图1。



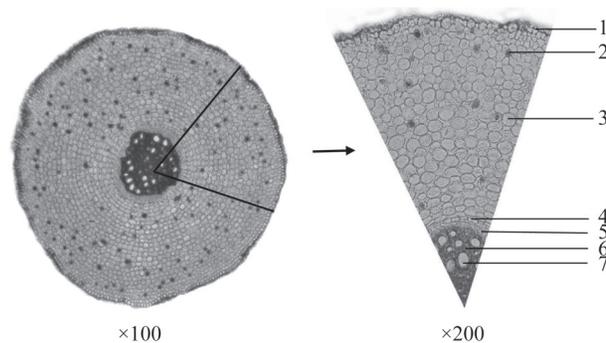
注: A. 白薇饮片; B. 白薇饮片根茎; C. 老瓜头; D. 老瓜头根茎; E. 白薇饮片根; F. 老瓜头根; G. 白薇根断面(示木部较小); H. 老瓜头根断面(示木部较大)。

图1 白薇饮片与老瓜头性状对比

3 白薇饮片与老瓜头的显微鉴别

取白薇根中部,润透,徒手切片,用水合氯醛试液装片,加热透化后置显微镜下观察。

白薇根横切面:表皮细胞1列,通常仅部分残留,皮层宽广,内皮层明显。木质部细胞均木化,导管大多位于两侧,木纤维位于中央。薄壁细胞含草酸钙簇晶^[11]。显微特征见图2。



注: 1. 表皮; 2. 草酸钙簇晶; 3. 皮层; 4. 内皮层; 5. 韧皮部; 6. 木质部; 7. 导管; 图3同。

图2 白薇根横切面

老瓜头根横切面:表皮由1列长方形细胞组成,壁较厚,略带棕色,常脱落或残留部分。皮层由多角形薄壁细胞组成,有散在的草酸钙簇晶。内皮层由1层薄壁细胞组成,韧皮部细胞不规则多角形,木质部具导管^[11]。显微特征见图3。

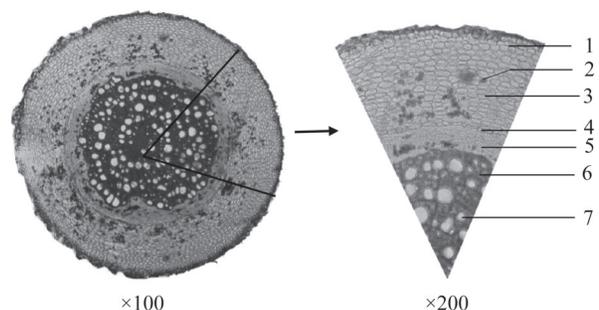


图3 老瓜头根横切面

对白薇和老瓜头的横切面进行观察发现,两者木质部在切面中所占的比例相差较大,其可以作为区分两者的鉴别要点。在显微镜下观察两者粉末的显微特征基本一致,很难区分。因此,要解决老瓜头冒充白薇饮片投料生产女金丸的问题,需要结合理化分析的方法进一步研究。

4 白薇饮片及女金丸中掺伪老瓜头的薄层色谱鉴别

4.1 白薇饮片及伪品老瓜头供试品溶液的制备

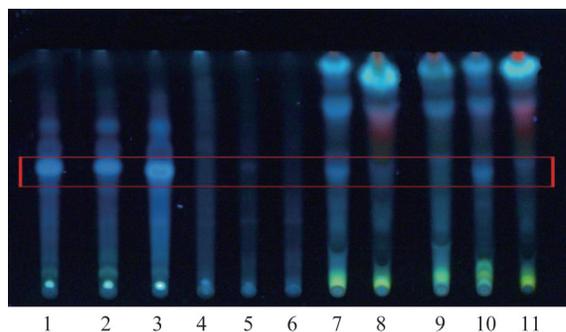
取白薇或老瓜头粉末1g,加甲醇30mL,超声处理20min(500W,40kHz),放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1mL使溶解,作为供试品溶液^[1]。

4.2 女金丸供试品溶液的制备

取女金丸适量,水蜜丸粉碎,取15g;大蜜丸40g,加硅藻土20g,研细,取20g,加甲醇100mL(蜜丸)或150mL(水蜜丸),超声30min,滤过,蒸至

近干,残渣加水10 mL使溶解,用脱脂棉滤过,滤液通过D101型大孔树脂柱(16~60目,内径为1.5 cm,柱高为15 cm),以水50 mL洗脱,弃去洗脱液,继用甲醇80 mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,滤过,取续滤液,即得^[13]。

以白薇对照药材为对照,按4.1项下方法制成对照药材溶液。分别吸取上述溶液各5 μ L,点于同一硅胶G薄层板上,以正丁醇-乙酸乙酯-水(4:1:5)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置365 nm下检视(图4)。



注:1~3.老瓜头;4.白薇对照药材;5~6.白薇饮片(批号分别为150701、161012);7~11.女金丸(批号分别为510161、20160201、160101、17013142、20141010)。

图4 白薇、老瓜头及女金丸薄层色谱图

由图4可知,部分批次样品目标斑点隐约可见,不易于观察及结果的判断。考虑建立检测灵敏度更高的高效液相色谱法(HPLC)对白薇饮片及含白薇制剂女金丸中老瓜头的掺伪情况进行检查。

5 白薇饮片及含白薇制剂女金丸中掺伪老瓜头的HPLC研究

5.1 色谱条件

Kromasil 100-5- C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);柱温:35 $^{\circ}$ C;以甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液(B)为流动相梯度洗脱(0~10 min, 20%~30%A; 10~25 min, 30%A);流速为1.0 mL \cdot min⁻¹;检测波长为325 nm^[14]。

5.2 白薇饮片及老瓜头供试品溶液的制备

取供试品粉末0.4 g,加甲醇30 mL,超声处理20 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,作为供试品溶液。

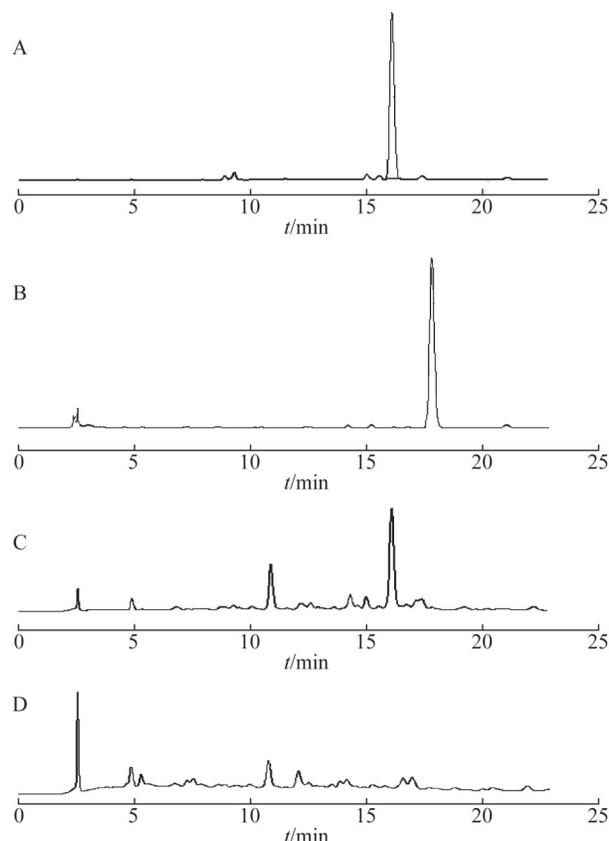
5.3 女金丸供试品溶液的制备

本实验室按照规定的处方量及工艺自制缺白薇

的女金丸,作为阴性样品使用,按4.2项下方法制备女金丸阴性供试品溶液。

5.4 样品测定

分别精密吸取白薇饮片、老瓜头和女金丸的供试品溶液各10 μ L,注入高效液相色谱仪,按5.1项下色谱条件进行检测并记录色谱图(图5)。



注:A.老瓜头供试品;B.白薇饮片供试品;C.女金丸供试品;D.女金丸阴性样品。

图5 老瓜头、白薇饮片及女金丸的HPLC图

由图5可知,老瓜头在保留时间15.9 min处存在1个色谱峰主峰,且正品白薇和用白薇投料生产的女金丸中均未检出该色谱峰。以该色谱峰为老瓜头的特征色谱峰,检出该色谱峰说明白薇饮片和女金丸中掺有伪品老瓜头。

5.5 方法学考察

5.5.1 耐用性考察 使用3种色谱柱,色谱柱1:Agilent Eclipse Plus C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);色谱柱2:岛津 ODS-3 C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);色谱柱3:Kromasil Eternity-5- C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);按5.1项下色谱条件进行测试,结果表明耐用性良好。

5.5.2 专属性考察 以老瓜头药材的主峰为待测成分对女金丸处方中的其他22味中药按5.1项下检测方法进行检测,结果均未检出该色谱峰。

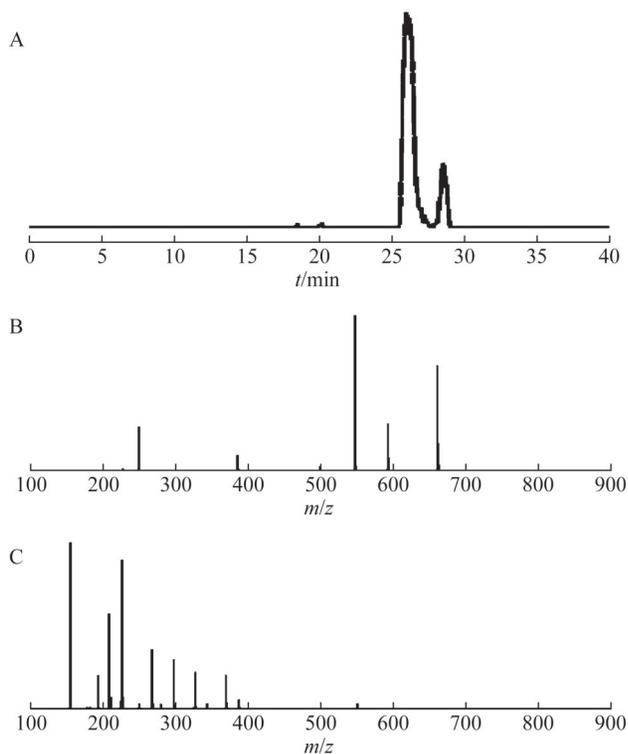
6 特征成分的确证

6.1 质谱条件

电喷雾离子源 (ESI); 正负离子同时扫描; 扫描范围: m/z 100~1000; 离子源电压: -3.5 kV; 加热模块温度: 200 °C; 曲形脱溶剂管 (CDL) 温度: 200 °C; 雾化气流速: 1.5 mL·min⁻¹, 检测器电压: 1.57 kV。经过优化, 确定扫描方式: ESI; 选择母离子 m/z 547.17, 子离子 m/z 223.06、265.07 进行定性。以甲醇 (A) -0.1% 磷酸水溶液 (B) 为流动相梯度洗脱, 洗脱程序同5.1。

6.2 测定法

精密吸取老瓜头供试品溶液 5 μ L, 注高效液相色谱-离子阱-飞行时间质谱联用仪, 记录选择质谱图 (图6)。



注: A. 老瓜头特征成分的提取离子图 (m/z 547.17); B. 老瓜头特征成分的一级质谱; C. 老瓜头特征成分的二级质谱。

图6 老瓜头特征成分质谱图

6.3 特征成分的结构解析

根据该成分一级质谱准分子离子峰高分辨质谱-ESI-质

谱法 (HR-ESI-MS) m/z 547.168 7[M - H]⁻ (图6B), 推导出其分子式为 C₂₃H₃₂O₁₅ (547.166 8)。通过查阅文献, 结合其 HR-ESI-MS 二级质谱 (图6C) 结构片段 m/z 223.061 3[M - Fru - Glc]⁻ (去掉1分子蔗糖) 和 m/z 367.104 1[M - Fru]⁻ (去掉1分子果糖) 及其紫外光谱最大吸收波长 (λ_{max}): 237、327 nm (图7), 推断该成分为 β -D-呋喃果糖基-(2 \rightarrow 1)- α -D-[6-O-芥子酰基]-吡喃葡萄糖苷^[15] (图8)。

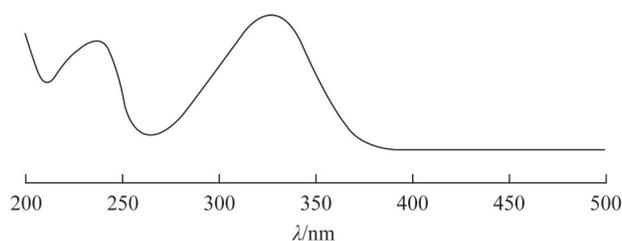


图7 β -D-呋喃果糖基-(2 \rightarrow 1)- α -D-[6-O-芥子酰基]-吡喃葡萄糖苷的紫外光谱图

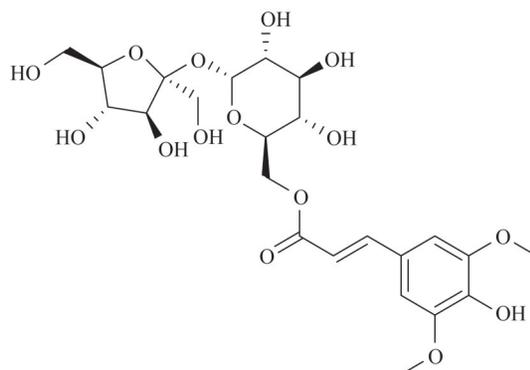


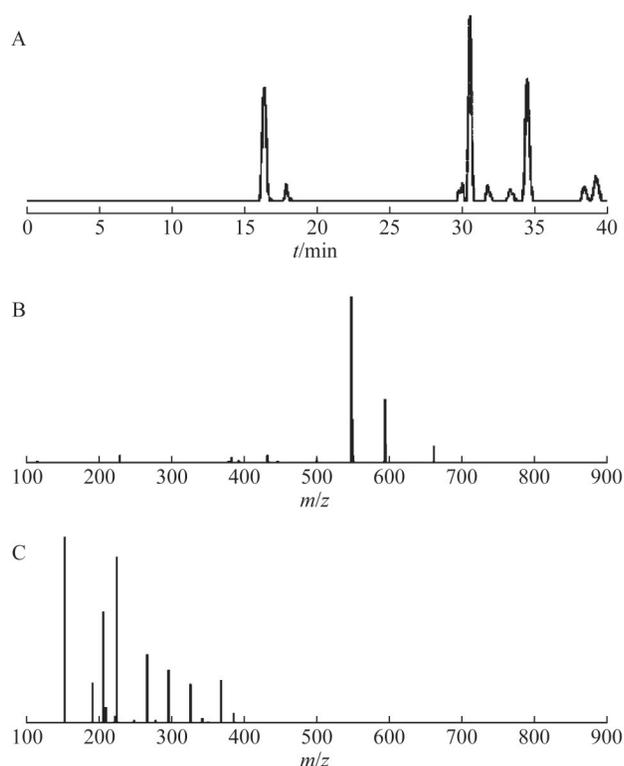
图8 β -D-呋喃果糖基-(2 \rightarrow 1)- α -D-[6-O-芥子酰基]-吡喃葡萄糖苷的化学结构

6.4 女金丸样品测定结果的确证

为保证结果的准确性, 采用高效液相色谱-离子阱-飞行时间质谱法 (LC-MS-IT-TOF) 对检出老瓜头的女金丸阳性制剂进行验证。结果 LC-MS-IT-TOF 与 HPLC 结果一致, 见图9。

7 测定结果

检验47批白薇饮片是否存在老瓜头掺伪使用的情况, 发现21批白薇饮片检出老瓜头, 检出率为44.68%。对96个生产批次的女金丸进行筛查, 发现52个批次样品检出老瓜头, 老瓜头代替白薇投料生产的现象占比54.2%。



注: A. 提取离子图 (m/z 547.17); B. 一级质谱; C. 二级质谱。

图9 检出老瓜头女金丸供试品中特征成分的液相色谱质谱图

8 讨论

8.1 老瓜头冒充白薇现状及监管建议

本研究的样品白薇饮片和女金丸均为全国抽检样品,发现掺伪老瓜头的质量问题具有代表性。老瓜头目前常作为民间草药在使用,其全草有毒性。掺伪问题给白薇饮片及女金丸的安全性和有效性造成很大的隐患。老瓜头与白薇属于近缘植物,同科同属,特别是切制为饮片后,外观性状非常相近,极易混淆。同时,部分中药生产企业由于中药鉴定水平较低,存在很大的误买误用的可能。此外,由于老瓜头分布广泛、资源丰富,价廉、易得,不排除部分中药生产企业为节约成本以老瓜头代替白薇投料的可能。针对发现的质量问题,建议中药监管部门和生产部门高度重视白薇饮片及女金丸存在的质量问题,开展白薇饮片及含白薇的其他制剂老瓜头掺伪的全面筛查,切实保障白薇饮片及含白薇制剂的安全性和有效性。

8.2 检测方法实用性

本研究建立的HPLC既能快速准确地进行白薇与老瓜头的鉴别,又能筛查是否存在老瓜头冒充白

薇投料生产女金丸的问题,目前已获得2项发明专利的授权^[14-15]。以 β -D-呋喃果糖基-(2 \rightarrow 1)- α -D-[6-O-芥子酰基]-吡喃葡萄糖苷为鉴别特征成分,鉴别小儿退热合剂(小儿退热口服液)中是否存在老瓜头冒充白薇投料使用的情况,结果表明本研究建立的鉴别方法实用性强。

8.3 针对发现的问题拟开展的后续研究

梳理中药及其混淆品的鉴别文献报道,发现当前多数研究方法为传统的性状鉴别和显微鉴别,少数文献报道将HPLC指纹图谱、气相色谱-质谱法、聚合酶链式反应等方法用于中药真伪鉴别领域。笔者认为,对于中药材及饮片的鉴别可以发挥性状鉴别和显微鉴别快速简便的技术优势,辅以理化分析方法来确保结果的准确性,对于制剂原料的鉴别则应该以化学分析方法为主。后期笔者将采用网络药理学方法继续开展白薇及其混淆品的对比研究,以确定合理的白薇质量标识物,更科学地对白薇及含白薇制剂的质量进行控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:115-116.
- [2] 林永强,林林,焦阳,等. 基于Q-Marker理论的化学标识物研究及应用[J]. 中国药学杂志,2020,55(2):161-166.
- [3] 宋玉成,刘涵芳,宋平顺. 白前混淆品老瓜头的生药鉴别[J]. 中药材,1994,17(9):16-19.
- [4] 宋玉成,张伯崇,宋平顺,等. 白前及其混淆品老瓜头的理化鉴别[J]. 中药材,1996,19(5):236-237.
- [5] 张永康,赵德惠,李勇. 牛心朴子的研究进展[J]. 农业科学研究,2007,28(1):52-55.
- [6] 陈善科,萨仁. 阿拉善盟荒漠草场毒草分布及其危害现状的调查[J]. 中国草地,1992,14(3):60-62.
- [7] 史志诚,赵宝玉,达能太. 有毒植物史(摘要)[C]//西北大学生态毒理研究所. 全国第四届毒理学史与毒物管理研讨会论文集. 西安:西北大学生态毒理研究所,2012.
- [8] 陈玉梅,叶晓滨,江昌铭. 几组易混淆根茎类中药的鉴别[J]. 光明中医,2021,36(8):1209-1212.
- [9] 朱玉淋,马冬红. 常见的4组易混淆中药的快速鉴别方法[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(12):179-180.
- [10] 常安,许亮,杨燕云,等. 白薇及其伪品潮风草的鉴别[J]. 中药材,2015,38(12):2527-2530.
- [11] 洪稳稳,杨青山,周建理. 白薇及其混伪品的鉴别[J]. 安徽中医药大学学报,2019,38(6):73-76.

- [12] 山东省药品监督管理局. 山东省中药饮片炮制规范[M]. 济南:山东科技出版社,2012:216.
- [13] 穆向荣,林林,郭东晓,等. 一种女金丹是否含有白薇伪品老瓜头的鉴别方法:CN108845040B[P]. 2021-01-22.
- [14] 穆向荣,郭东晓,林林,等. 一种鉴别白薇中是否混有老瓜头的方法:CN108872411B[P]. 2021-04-02.
- [15] 王利勤,许兴,沈月毛,等. 牛心朴子须根的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2002,14(5):1-5.

(收稿日期: 2022-10-13 编辑: 王笑辉)