

# 畚药地稔及其易混淆品的鉴别

刘敏<sup>1</sup>, 陈桂云<sup>1</sup>, 余乐<sup>1</sup>, 范蕾<sup>1</sup>, 王发英<sup>1</sup>, 谢理意<sup>2\*</sup> (1.丽水市食品药品与质量技术监督检验检测院, 浙江 丽水 323000; 2.浙江中医药大学, 杭州 310053)

**摘要:** 目的 为防止因误用混淆品而降低临床疗效, 建立畚药地稔及其易混淆品的鉴别方法。方法 采用显微鉴别法进行地稔及其易混淆品秀丽野海棠、中华野海棠、方枝野海棠药材组织结构的鉴别; 基于 HPLC 指纹图谱, 建立地稔及其上述混淆品的液相色谱鉴别方法。结果 地稔根横切面皮层石细胞、栓内层簇晶均较多, 为其与易混淆品的主要显微区别; 基于 HPLC 指纹图谱, 地稔及其易混淆品的区别主要有 2 点: 一是相对于没食子酸峰相对保留时间约为 1.1 的色谱峰为不同的 2 种化学物质; 二是上述化学物质的色谱峰与没食子酸峰的峰面积比值相差较大, 地稔中该比值均 > 0.90, 平均值为 1.35, 而其易混淆品中该比值均 < 0.30。结论 建立的显微和液相鉴别方法能快速地将地稔及其易混淆品进行区别, 并且操作简单, 易于推广应用, 具有广阔的应用前景。

**关键词:** 地稔; 混淆品; 显微鉴别; 高效液相色谱法; 指纹图谱

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)22-2818-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.22.014

引用本文: 刘敏, 陈桂云, 余乐, 等. 畚药地稔及其易混淆品的鉴别[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(22): 2818-2822.

## Identification of the Medicine of *Melastoma Dodecandrum* Lour. and Its Adulterants

LIU Min<sup>1</sup>, CHEN Guiyun<sup>1</sup>, YU Le<sup>1</sup>, FAN Lei<sup>1</sup>, WANG Faying<sup>1</sup>, XIE Liyi<sup>2\*</sup> (1. Lishui Institute of Food and Drug & Quality and Technical Inspection, Lishui 323000, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To prevent the clinical effect from being reduced due to the misuse of adulterants, the method was established to identify the medicine of *Melastoma dodecandrum* Lour. and its adulterants. **METHODS** *M. dodecandrum* Lour. and its adulterants: *Bredia amoena* Diels., *Bredia sinensis* (Diels) H. L. Li, *Bredia quadrangularis* Cogn. were conducted by microscopic identification and a liquid phase identification method was established based on the fingerprint of HPLC. **RESULTS** The main microscopic differences between *M. dodecandrum* Lour. and its adulterants were summarized as follows: in root transverse section of the authentic materials contained the relatively large number of sclereid in phellem and clusters of calcium oxalate in phelloderm. There were two main differences to HPLC based on HPLC fingerprint: One was the chemicals with the relative retention time of gallic acid peaks which were about 1.1 were different in authentic and confusing products. Second was the ratio of chromatographic peak area to gallic acid peak area of the above chemical substances was quite different: The ratio in the authentic materials was > 0.90, the average value was 1.35, and the ratio in the easily confused products was < 0.30. **CONCLUSION** The methods established above distinguish the *M. dodecandrum* Lour. and its adulterants quickly, simple and convenient, and easy to generalize application, has a wide application prospects.

**KEYWORDS:** *Melastoma dodecandrum* Lour.; adulterants; microscopic identification; HPLC; fingerprint

畚药地稔为野牡丹科野牡丹属植物地稔 (*Melastoma dodecandrum* Lour.) 的干燥全草, 又名牛屎饭、崩迪、屎桶饭、地螺丝草、铺地锦、地茄、地葡萄、地红花和地石榴等, 含有黄酮类、三萜类、甾体、鞣质等化学成分<sup>[1]</sup>, 具有止血、抗氧化、镇痛抗炎、降糖、抑制糖基化终产物生成等生物活性, 是临床常用的一种畚药, 也是目前国内外研究的热点之一<sup>[2-3]</sup>。地稔药用价值广泛, 临床上用于治疗高热、咽喉肿痛、牙痛、赤白痢疾、黄疸、水肿、痛经、崩漏、带下、痔疮、

毒蛇咬伤等病症<sup>[4]</sup>。秀丽野海棠、中华野海棠、方枝野海棠均为野牡丹科野海棠属植物, 与地稔同科不同属, 饮片性状与地稔极为相似, 是地稔的易混淆品。野牡丹科药用植物普遍具有清热解毒、活血止血、补脾益肾、清热利湿及清肝明目等功效, 但每个品种的起效物质基础不同, 主要针对的病症也不同<sup>[5-6]</sup>, 不可混用。随着地稔市场需求量的不断增加, 为防止因误用混淆品而降低临床疗效, 本研究采用显微及 HPLC 建立地稔及其易混淆品的鉴别方法。

基金项目: 丽水市高层次人才培养项目(2017RC25)

作者简介: 刘敏, 女, 硕士, 副主任中药师 Tel: (0578)2155869  
15990081042 E-mail: 804792960@qq.com

E-mail: 981902313@qq.com \*通信作者: 谢理意, 女 Tel:

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1260 液相色谱仪(美国 Agilent, 光二极管阵列检测器); DK-S24 电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); XS105DU 电子天平(瑞士海特勒公司); DM2500 正置显微镜(德国徕卡)。

### 1.2 试剂

鞣花酸对照品(批号: 111959-201602; 含量为 89.3%) 和没食子酸对照品(批号: 110831-201204; 含量为 89.9%) 均购自中国食品药品检定研究院; 盐酸为分析纯; 磷酸、四氢呋喃、甲醇为色谱纯; 水为娃哈哈纯净水。

所有采集的样品由丽水市食品药品与质量技术监督检验检测院的李水福主任中药师鉴定, 其中地稔样品共 15 批, 秀丽野海棠样品 10 批, 中华野海棠样品 5 批, 方枝野海棠样品 5 批, 见表 1~4。

表 1 地稔样品信息

Tab. 1 Sample information of *Melastoma dodecandrum* Lour.

样品编号	采集地	采集日期	样品编号	采集地	采集日期
1	丽水市莲都区	2014.5.19	9	丽水市莲都区	2014.10.24
2	龙泉市	2014.5.24	10	丽水市莲都区官岩村	2018.6.20
3	丽水市莲都区	2014.9.23	11	丽水市莲都区大山峰	2018.7.2
4	丽水市莲都区	2014.12.3	12	丽水市莲都区黄村	2018.7.4
5	丽水市莲都区	2014.6.18	13	丽水市青田县章村	2018.7.7
6	龙泉市	2014.6.21	14	丽水市云和县朱村	2018.7.9
7	丽水市云和县	2014.6.21	15	丽水市景宁县外舍村	2018.7.14
8	丽水市莲都区	2014.7.18			

## 2 方法

### 2.1 显微鉴别<sup>[7]</sup>

**2.1.1 根横切片制片** 取地稔、秀丽野海棠、方枝野海棠、中华野海棠药材的根, 经软化处理后, 采用徒手切片法, 切成薄片, 滴加甘油醋酸试液, 制成根横切片。

表 5 地稔及其易混淆品根横切面区别

Tab. 5 Differences between *M. dodecandrum* Lour. and its adulterants in root transverse section

品种	皮层石细胞	栓内层草酸钙簇晶	皮层薄壁细胞	薄壁细胞内含物
地稔	多见, 呈类方形、梭形, 直径约 9~32 μm	多见, 单个散在或数个排列成行, 直径约 7~34 μm	细胞壁薄	棕红色块状物少见
秀丽野海棠	无石细胞	偶见, 单个散在, 直径约 17~37 μm	细胞壁增厚	棕红色块状物少见
中华野海棠	多见, 呈长圆形, 直径约 10~20 μm	无簇晶	细胞壁薄	棕红色块状物少见
方枝野海棠	少见, 呈长圆形, 直径约 10~20 μm	无簇晶	细胞壁薄	棕红色块状物多见

表 2 秀丽野海棠样品信息

Tab. 2 Sample information of *Bredia amoena* Diels.

样品编号	采集地	采集日期	样品编号	采集地	采集日期
1	丽水市景宁县梅景线	2017.12.17	6	丽水市青田县黄肚村	2018.7.7
2	丽水市景宁县东山村	2017.12.26	7	丽水市云和县朱村	2018.7.9
3	金华市武义县牛头山	2018.3.23	8	丽水市景宁县草鱼塘	2018.7.14
4	丽水市莲都区大山峰	2018.7.2	9	丽水市缙云大洋山	2018.8.22
5	丽水市缙云县方溪乡	2018.7.4	10	丽水市松阳县	2018.9.2

表 3 中华野海棠样品信息

Tab. 3 Sample information of *Bredia sinensis* (Diels) H. L. Li

样品编号	采集地	采集日期
1	丽水市青田县黄肚村	2017.9.23
2	丽水市景宁县梅景线	2017.12.17
3	丽水市莲都区大山峰	2018.7.2
4	丽水市景宁县外舍乡	2018.7.14
5	丽水市缙云县大洋山	2018.8.22

表 4 方枝野海棠样品信息

Tab. 4 Sample information of *Bredia quadrangularis* Cogn.

样品编号	采集地	采集日期
1	丽水市青田县祯埠村	2017.11.15
2	金华市武义县牛头山	2018.3.23
3	浙江省杭州市临安	2018.5.15
4	金华市武义县牛头山	2018.5.23
5	浙江省衢州市开化县	2018.6.18

**2.1.2 结果** 将“2.1.1”项下制成的根横切片置显微镜下观察, 其主要区别见表 5, 图 1~2。

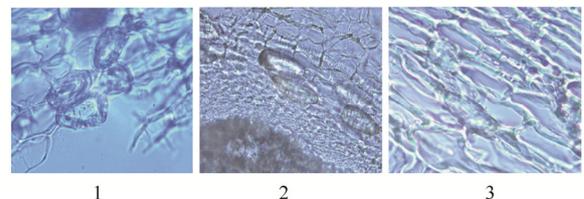


图 1 样品皮层石细胞汇总图

1-地稔; 2-中华野海棠; 3-方枝野海棠。

Fig. 1 Sample summary chart of sclereid in phloem

1-*Melastoma dodecandrum* Lour.; 2-*Bredia sinensis* (Diels) H. L. Li; 3-*Bredia quadrangularis* Cogn..

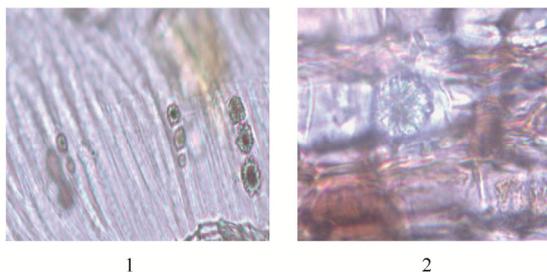


图2 样品栓内层簇晶汇总图

1-地稔; 2-秀丽野海棠。

Fig. 2 Sample summary chart of clusters of calcium oxalate in phelloderm

1-*Melastoma dodecandrum* Lour.; 2-*Bredia amoena* Diels..

## 2.2 HPLC 鉴别<sup>[8]</sup>

### 2.2.1 指纹图谱的建立

**2.2.1.1 色谱条件** 色谱柱为 Waters Xbridge C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇(A)-混合水溶液(含磷酸为0.3%和四氢呋喃0.06%)(B), 梯度洗脱: 0~12 min, 1%A; 12~25min, 1%→20% A; 25~45min, 20%→30% A; 45~65 min, 30%→55%A。检测波长为 254 nm, 柱温 30 °C, 体积流量为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 分析时间为 70 min, 进样量为 5 μL。

**2.2.1.2 供试品溶液的制备** 取干燥并过 3 号筛样品粉末约 0.2 克, 精密加入 10%盐酸 100 mL, 水浴加热回流提取 4 h, 冷却至室温, 用提取溶剂补足减失质量, 过滤, 即得。

**2.2.1.3 对照品溶液的制备** 精密称取鞣花酸对照品 14.57 mg 置于 25 mL 量瓶中, 用二甲亚砜适量溶解并稀释至刻度, 作为鞣花酸对照品储备液; 精密称取没食子酸对照品溶液 6.46 mg 置于 25 mL 量瓶中, 用甲醇适量溶解, 并精密加入鞣花酸对照品储备液 5 mL, 用甲醇稀释至刻度, 作为混合对照品储备液。再精密移取上述混合对照品储备液 3 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度作为混合对照品溶液。

**2.2.1.4 方法学考察** 色谱图中单峰面积占总峰面积>3%的共有指纹峰共有 8 个, 以分离度较好、各批次含量均较高的没食子酸为参照, 进行精密度、重复性、稳定性考察。

仪器精密度试验: 取 4 号地稔样品按“2.2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 相对保留时间的 RSD 为 0.36%~2.54%, 相对峰面积的 RSD 为 0.45%~4.19%, 结果表明各

共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积基本一致, 仪器精密度较好。

重复性试验: 取 4 号地稔样品按“2.2.1.2”项下的方法同时制备 6 份供试品溶液, 分别进样, 记录色谱图, 相对保留时间的 RSD 范围为 0.30%~4.35%, 相对峰面积的 RSD 范围为 1.06%~4.80%, 结果表明重复性较好。

稳定性试验: 取 4 号地稔样品按“2.2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 分别在 0, 2, 6, 12, 24 h 进样, 记录色谱图, 相对保留时间的 RSD 范围为 0.37%~2.10%, 相对峰面积的 RSD 范围为 1.38%~4.58%, 结果表明样品在 24 h 内基本稳定。

**2.2.1.5 指纹图谱的建立及相关分析** 指纹图谱的建立和相似度分析: 取 15 批地稔样品按“2.2.1.2”项下制备供试品溶液, 按“2.2.1.1”项下色谱条件测定, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版)进行评价, 以 S1 为参照图谱, 选择时间宽度 0.5, 生成色谱的方法为平均值, 生成对照图 R, 确定了 21 个共有峰, 各批样品与对照指纹图谱比较相似度值范围为 0.902~0.984。15 批样品图谱、典型样品图及混合对照品图详见图 3~5。

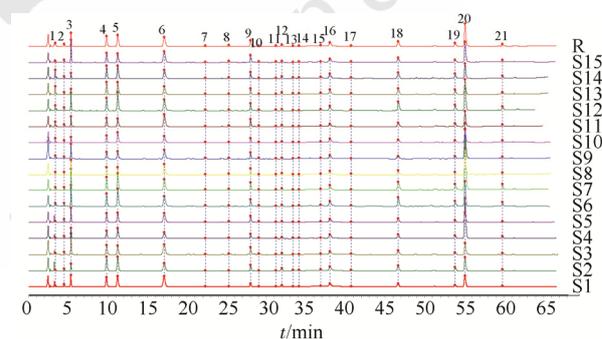


图3 15批地稔样品指纹图谱

Fig. 3 Fingerprint of 15 batches of *Melastoma dodecandrum* Lour.

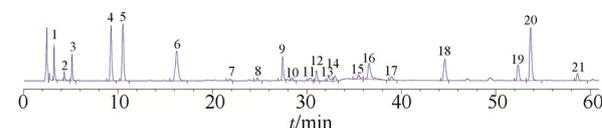


图4 地稔典型样品图谱

Fig. 4 Typical sample fingerprint of *Melastoma dodecandrum* Lour.

共有指纹峰的相对保留时间: 以没食子酸为参照物, 计算各色谱峰的相对保留时间, 结果其相对保留时间范围为 0.329~6.339, RSD 范围为 0.51%~3.23%。

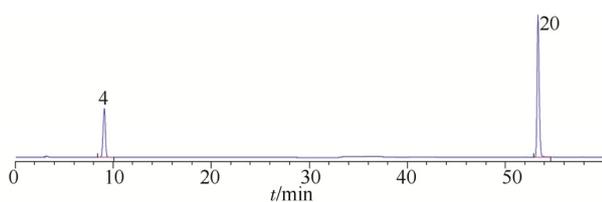


图5 混合对照品图谱

4-没食子酸; 20-鞣花酸。

Fig. 5 Fingerprint of mixed references

4-gallic acid; 20-ellagic acid.

共有指纹峰的相对峰面积: 以没食子酸为参照物, 计算各色谱峰的相对峰面积, 结果其相对峰面积范围为 0.057 7~6.968, RSD 范围为 18.46%~61.25%。

2.2.2 基于液相指纹图谱地稔及其易混淆品液相色谱区别 根据建立的地稔 HPLC 图谱方法, 对其易混淆品进行了相应考察, 结果见图 6~11。从指纹图谱可以看出混淆品除了色谱峰个数和地稔不同外, 最大的区别点有 2 点: 一是相对于没食子酸峰相对保留时间约为 1.1 的色谱峰紫外吸收不一致, 表示其为不同的化学物质, 地稔中该峰标注为 5 号峰, 混淆品中该峰标注为 22 号峰, 5 号峰在 255 nm 处有最大吸收; 22 号峰在 222 nm 处有最大吸收; 二是两者峰面积之比相差较大(5 号或 22 号峰与 4 号峰比值), 见表 6~7。

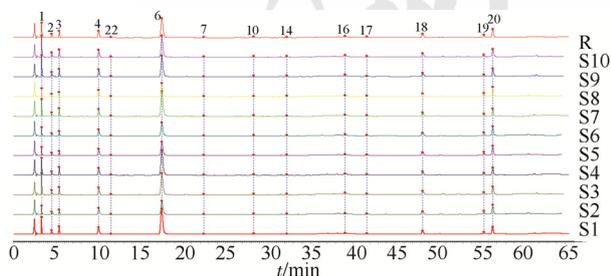


图6 10批秀丽野海棠样品指纹图谱

Fig. 6 Fingerprint of 10 batches of *Bredia amoena* Diels.

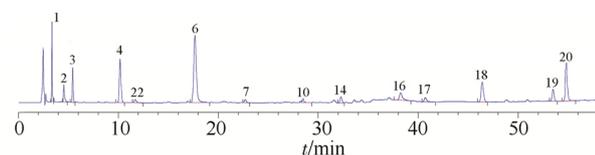


图7 典型秀丽野海棠样品图

Fig. 7 Typical sample fingerprint of *Bredia amoena* Diels.

### 3 讨论

对地稔及其易混淆品的叶横切面、根横切面、粉末制片进行了比较, 其主要区别主要集中在根

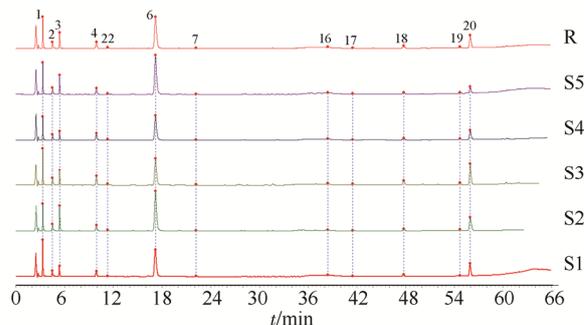


图8 5批中华野海棠样品指纹图谱

Fig. 8 Fingerprint of 5 batches of *Bredia sinensis* (Diels) H. L. Li

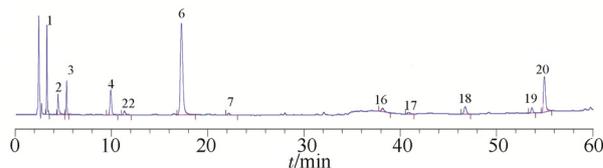


图9 典型中华野海棠样品图

Fig. 9 Typical sample fingerprint of *Bredia sinensis* (Diels) H. L. Li

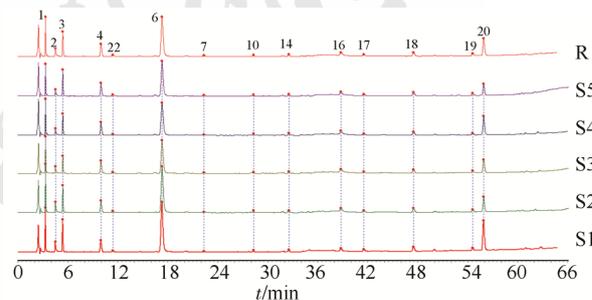


图10 5批方枝野海棠样品的指纹图谱

Fig. 10 Fingerprint of 5 batches of *Bredia quadrangularis* Cogn.

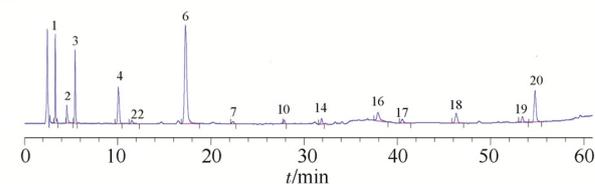


图11 典型方枝野海棠样品图

Fig. 11 Typical sample fingerprint of *Bredia quadrangularis* Cogn.

横切面, 故主要对根横切面的显微特征进行重点描述。

功效的差别体现了起效物质基础的差别, 可通过指纹图谱将其进行区别。野牡丹科植物普遍具有抗菌消炎的生物活性, 但是临床应用中侧重点不同。本实验通过建立地稔酚酸类成分的指纹图谱, 一方面可探究地稔及其混淆品的化学成分差别, 科学解释药用价值的不同; 另一方面, 可

表 6 地稔中 2 种化合物的峰面积之比

Tab. 6 Area ratio of two components in *Melastoma dodecandrum* Lour.

品种	样品编号	峰面积比值(5号峰峰面积/4号峰峰面积)	平均值
	1	1.22	
	2	1.14	
	3	0.99	
	4	1.24	
	5	1.53	
	6	1.20	
	7	1.63	
地稔	8	1.13	1.35
	9	1.17	
	10	1.59	
	11	1.63	
	12	1.63	
	13	1.13	
	14	1.62	
	15	1.04	

表 7 2 种化合物的峰面积之比

Tab. 7 Area ratio of two components

品种	样品编号	峰面积比值(22号峰峰面积/4号峰峰面积)	平均值
	1	0.10	
	2	0.12	
	3	0.09	
秀丽	4	0.14	
野海	5	0.09	0.11
棠	6	0.09	
	7	0.10	
	8	0.09	
	9	0.13	
	10	0.12	
中华	1	0.20	
	2	0.16	
野海	3	0.19	0.17
棠	4	0.14	
	5	0.16	
方枝	1	0.12	
	2	0.13	
野海	3	0.11	0.12
棠	4	0.12	
	5	0.10	

根据指纹图谱中的地稔 5 号峰, 易混淆品中都含有的 22 号峰的差别进行品种的快速鉴别: 两者相对没食子酸的保留时间一致, 但是紫外吸收不一致, 并且 5 号或 22 号峰峰面积与没食子酸峰面积比值差别较大, 地稔中该比值均>0.90, 平均值为

1.35, 而其易混淆品中该比值均<0.30。根据上述差别可将地稔及其混淆品进行液相色谱的快速、准确鉴别。

因不同的色谱柱分离效能不同, 5 号峰、22 号峰所代表的化学成分极性和没食子酸极性非常接近, 只有加入适量四氢呋喃, 才能将该成分与没食子酸分离。比较了多个品牌的酸性色谱柱, 结果以 Waters 的酸性色谱柱分离效果最佳, 并且通过比较 Waters Xbridge 和 Waters Sunfire C<sub>18</sub> 色谱柱发现, 虽然使用相同品牌的 2 根色谱柱分离度都符合要求, 但是出峰顺序有所改变, 因此, 本研究建立的方法需采用含 DAD 检测器的液相色谱仪结合紫外特征吸收图进行判断。

## REFERENCES

- [1] WANG J F, JIA Z Y, ZHANG Z H, et al. Analysis of chemical constituents of *Melastoma dodecandrum* Lour. by UPLC-ESI-Q-exactive focus-MS/MS [J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 476-480.
- [2] 张超. 中药地稔化学成分与药理活性的研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2003.
- [3] WANG J F, ZHANG P H, WANG Y T, et al. Research progress on *Melastoma dodecandrum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2018, 49(5): 1211-1219.
- [4] 雷后兴, 李建良. 中国兽药学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2014: 169.
- [5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 第五十三卷第一分册. 北京: 科学出版社, 1984: 135-293.
- [6] TAO Q, ZHANG F Y, WANG J H, et al. Investigation on medicinal plant resources of melastomataceae in Zhejiang province [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2017, 34(2): 166-170.
- [7] FAN L, HU J Y, WANG J W, et al. Study on the quality specification of traditional She medicine *Melastoma dodecandrum* Lour. [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志)*, 2013, 28(12): 3739-3741.
- [8] LIU M, YU L, FAN L, et al. Discussion of quality control of She medicine-*Melastoma dodecandrum* [J]. *China Pharm(中国药师)*, 2015, 18(10): 1798-1802.

收稿日期: 2019-02-12

(本文责编: 李艳芳)