

不同产地全蝎质量评价

毕保雪¹, 王利丽^{1*}, 陈随清¹, 孟庆攀², 孟宪军²

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 北京园禾方圆植物科技股份有限公司, 北京 石景山 100043)

摘要: 目的 评价不同产地全蝎质量。方法 按 2020 年版《中国药典》方法测定醇溶性浸出物含量, HPLC 法测定尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、鸟苷、腺苷含量, 建立 HPLC 指纹图谱, 进行聚类分析、主成分分析。结果 16 批药材中醇溶性浸出物含量符合药典要求, 5 种核苷类成分含量呈现一定差异。指纹图谱中有 14 个共有峰, 相似度 0.681~0.989。各批药材聚为 3 类, 生品、盐制品可区分开。结论 该方法准确简便, 重复性好, 可为全蝎质量控制和临床应用提供参考。

关键词: 全蝎; 质量评价; 核苷类成分; 含量测定; HPLC 指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析

中图分类号: R283

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)04-1270-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.04.033

全蝎见于《蜀本草》^[1], 为钳蝎科动物东亚钳蝎 *Buthus martensii* Karsch 的干燥体, 其味辛, 性平, 有毒, 归肝经, 具有息风镇痉、通络止痛、攻毒散结功效^[2], 主产于河南、山东、宁夏等地, 以野生为主, 炮制后药用。课题组前期对全蝎进行生产、产地加工技术规程的研究, 制定了中华中医药学会团体标准, 并且发现河南、宁夏等地药材体型与颜色有区别, 同时还发现了伪品细尾狼蝎。2020 年版《中国药典》在全蝎质量控制方面无明确的含量测定标准, 无法对市售品进行全面客观的评价^[2]。

研究表明, 核苷类成分具有免疫调节、抗病毒的活性^[3-6], 水蛭、地龙、蜈蚣等动物类药材活性与该类成分含量有密切的相关性^[7-9], 并且在全蝎中测定了其含量^[10-11], 但山东全蝎饮片及其冻干制剂未建立其 HPLC 指纹图谱和含量测定标准^[12-13]。因此, 本实验测定全蝎中尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、鸟苷、腺苷 5 种核苷类成分的含量, 建立 HPLC 指纹图谱, 并结合化学模式识别, 旨在为该药材质量控制提供可靠的参考依据, 保障其临床安全性和有效性。

1 材料

1.1 试剂、药物与药材 尿嘧啶(批号 DSTDN009201, 纯度 99.97%)、次黄嘌呤(批号 DSTDC010001, 纯度 99.82%)、黄嘌呤(批号 DSTDH019501, 纯度 99.08%)、鸟苷(批号 DSTDN002901, 纯度 99.40%)、腺苷(批号 DSTDX00470, 纯度 99.77%) 对照品均购自成都德思特生物技术有限公司。全蝎共 16 批, 经河南中医药大学王利丽教授鉴定为正品, 具体见表 1。乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)均购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 水为超纯水。

表 1 全蝎信息

类型	编号	产地	收集时间
生品	S1	宁夏银川	2022 年 8 月 20 日
	S2	宁夏贺兰山	2022 年 8 月 20 日
	S3	宁夏中卫	2022 年 8 月 20 日
	S4	宁夏固原	2022 年 8 月 20 日
	S5	陕西咸阳	2022 年 8 月 20 日
	S6	陕西商洛	2022 年 8 月 20 日
	S7	甘肃兰州	2022 年 8 月 20 日
	S8	甘肃庆阳	2022 年 8 月 20 日
	S9	河南济源	2022 年 8 月 5 日
	S10	山西榆林	2022 年 8 月 5 日
	S11	河北邢台	2022 年 8 月 5 日
盐制品	Y12	安徽亳州	2021 年 12 月 13 日
	Y13	河南洛阳	2021 年 12 月 13 日
	Y14	新疆和田	2021 年 12 月 13 日
	Y15	宁夏银川	2021 年 12 月 13 日
	Y16	河南三门峡	2021 年 12 月 13 日

1.2 仪器 Waters 2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); BSA124S-CW 型微量分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); IQ7000 型超纯水仪(美国 Millipore 公司); GFL-125 型电热鼓风干燥箱(天津市莱玻仪器设备有限公司)。

2 方法与结果

2.1 药材性状

2.1.1 河南济源产地 体长 4.5~5.5 cm, 全身呈黑褐色; 前腹部背甲 7 节, 呈扁平状, 深褐色; 后腹部 6 节, 末节由半圆形毒囊和尖锐状毒刺组成。

2.1.2 甘肃庆阳产地 体长 4.0~4.8 cm, 全身呈土黄色;

收稿日期: 2023-12-24

基金项目: 河南省中药材产业技术体系(豫财科[2023]7号)

作者简介: 毕保雪(1996—), 女, 硕士, 从事中药资源及其鉴定研究。E-mail: bibaoxue@163.com

* 通信作者: 王利丽(1979—), 女, 博士, 教授, 从事中药资源及其鉴定研究。E-mail: wlywly2004@163.com

前腹部背甲7节，呈扁平状，黄褐色；后腹部6节，由不规则肢节组成，末节由半圆形毒囊和弯钩形毒针组成。

2.1.3 宁夏银川产地 体长4.5~5.0 cm，全身呈棕黄色；前腹部背甲7节，呈扁平状，黄白色；后腹部6节，末节由半圆形毒囊和弯钩形毒针组成。

2.2 醇溶性浸出物含量测定 参照2020年版《中国药典》醇溶性浸出物测定法（通则2201）项下的热浸法，以稀乙醇为溶剂，结果见表2。由此可知，各批药材均符合药典标准（不低于18%），其中河南济源产者较高，其甲片黑亮，体型长，肉厚，符合传统鉴别特征；甘肃庆阳、宁夏银川产者颜色浅，个头小，可能导致该成分含量较低；盐制品中其含量明显高于生品中。

表2 醇溶性浸出物含量测定结果 (n=3)

编号	产地	含量/%	编号	产地	含量/%
S1	宁夏银川	19.57	S9	河南济源	25.82
S2	宁夏贺兰山	21.53	S10	山西榆林	22.42
S3	宁夏中卫	24.10	S11	河北邢台	22.24
S4	宁夏固原	23.18	Y12	安徽亳州	32.71
S5	陕西咸阳	25.31	Y13	河南洛阳	33.63
S6	陕西商洛	25.82	Y14	新疆和田	38.63
S7	甘肃兰州	18.97	Y15	宁夏银川	28.75
S8	甘肃庆阳	24.38	Y16	河南三门峡	20.84

2.3 含量测定 采用HPLC法。

2.3.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相甲醇（A）-水（B），梯度洗脱（0~3 min，3% A；3~5 min，3%~8% A；5~10 min，8%~10% A；10~15 min，10%~15% A；15~20 min，15%~35% A；20~25 min，35%~100% A；25~30 min，100% A；30~35 min，100%~3% A）；体积流量0.8 mL/min；柱温30℃；检测波长254 nm；进样量25 μL。

2.3.2 对照品溶液制备 精密称取尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、鸟苷、腺苷对照品适量，甲醇制成质量浓度分别为1.0、1.9、2.2、5.0、2.04 mg/mL的溶液，即得。

2.3.3 供试品溶液制备 精密称取药材粉末0.1 g，置于锥形瓶中，精密加入25 mL 80%乙醇，密塞，超声处理30 min，过滤，蒸干溶剂，甲醇定容至5 mL，0.22 μm微孔滤膜过滤，即得。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液适量，10%甲醇稀释成6个质量浓度，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表3，可知各核苷在各自范围内线性关系良好。

表3 各核苷线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
尿嘧啶	Y=1×10 ⁷ X-12 260	0.999 6	2.5~40.0
次黄嘌呤	Y=3×10 ⁷ X+30 076	0.999 2	4.8~190.0
黄嘌呤	Y=9×10 ⁶ X+102 118	0.999 1	2.9~147.0
鸟苷	Y=6×10 ⁷ X+333 063	0.999 3	5.0~500.0
腺苷	Y=8×10 ⁶ X-19 796	1.000 0	5.1~2 040.0

2.3.5 精密度试验 取药材适量，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定6次，测得尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、鸟苷、腺苷峰面积RSD分别为0.27%、0.73%、0.46%、0.63%、0.31%，表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液，于0、2、4、6、8、10 h在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，测得尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、鸟苷、腺苷峰面积RSD分别为0.41%、0.38%、1.61%、0.74%、0.18%，表明溶液在10 h内稳定性良好。

2.3.7 重复性试验 取6批药材，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，测得尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、鸟苷、腺苷峰面积RSD分别为1.04%、1.82%、0.88%、1.20%、0.74%，表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密称取各核苷含量已知的药材（S2）6份，每份0.05 g，加入适量对照品，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、鸟苷、腺苷平均加样回收率分别为93.52%、107.68%、98.79%、97.90%、90.81%，RSD分别为0.47%、0.08%、0.79%、0.19%、0.96%。

2.3.9 样品含量测定 取16批药材，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，计算含量，结果见表4。由此可知，盐制品中各核苷含量明显低于生品中，可能是在炮制过程中破坏了其结构；生品中次黄嘌呤含量最高，其次是黄嘌呤和腺苷；次黄嘌呤、腺苷含量在宁夏银川产药材中含量较高，而在河南、河北产者中核苷总含量较低，与表2差异较大，可能与稀乙醇、甲醇溶出物质的极性有关。

2.4 图谱生成及相似度评价 取16批药材，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012版），以S2为对照，采用平均数法进行多点校正和全谱峰匹配，见图1，可知有14个共有峰，与对照品（图2）、药材（图3）比对后指出其中5个。再选择保留时间适中、对称性较好的9号峰作为参照峰，计算相似度，结果见表5，可知在0.681~0.989之间，并且生品、盐制品其差异较大，推测炮制可能会影响药材中核苷含量。

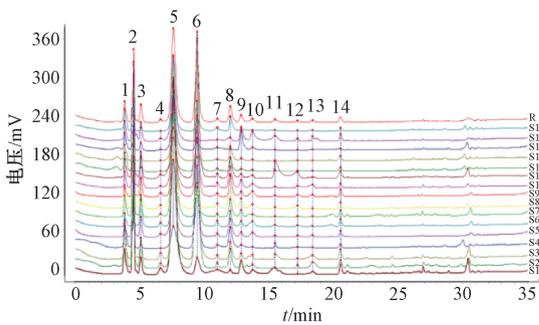
2.5 化学计量学研究

2.5.1 聚类分析 将14个共有峰峰面积导入Origin 2021软件，绘制热图，结果见图4。由此可知，16批药材聚为3类，S1~S3为一类，S12~S16为一类，其他批次药材为一类，其中S1~S3来自同一省份，可能是聚为一类的原因；盐制品聚为一类，推测炮制可能会影响药材中核苷含量。

2.5.2 主成分分析 将14个共有峰峰面积导入Origin 2021软件，结果见图5。由此可知，16批药材大致分为3个主成分，其中盐制品分布空间位置较集中，与聚类分析

表4 各核苷含量测定结果 (mg/g)

编号	产地	尿嘧啶	次黄嘌呤	黄嘌呤	鸟苷	腺苷	总含量
S1	宁夏银川	0.004	0.416	0.162	0.002	0.048	0.632
S2	宁夏贺兰山	0.005	0.304	0.148	0.014	0.039	0.510
S3	宁夏中卫	0.005	0.291	0.143	0.003	0.053	0.495
S4	宁夏固原	0.005	0.155	0.110	0.002	0.035	0.307
S5	陕西咸阳	0.004	0.167	0.036	0.003	0.030	0.240
S6	陕西商洛	0.008	0.238	0.071	0.003	0.039	0.359
S7	甘肃兰州	0.004	0.325	0.019	0.013	0.033	0.394
S8	甘肃庆阳	0.007	0.172	0.017	0.007	0.033	0.236
S9	河南济源	0.004	0.215	0.047	0.003	0.035	0.304
S10	山西榆林	0.008	0.181	0.050	0.006	0.024	0.269
S11	河北邢台	0.004	0.176	0.001	0.007	0.036	0.224
Y12	安徽亳州	0.001	0.072	0.023	0.001	0.015	0.112
Y13	河南洛阳	0.001	0.112	0.002	0.001	0.019	0.135
Y14	新疆和田	0.004	0.007	0.0003	0.001	0.006	0.0183
Y15	宁夏银川	0.001	0.050	0.062	0.002	0.015	0.130
Y16	河南三门峡	0.001	0.086	0.008	0.001	0.010	0.106



注: S12~S16为编号Y12~Y16的药材。

图1 16批全蝎HPLC指纹图谱

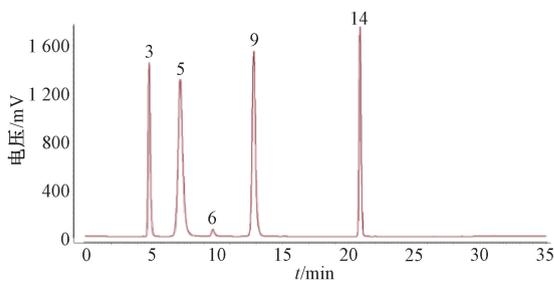
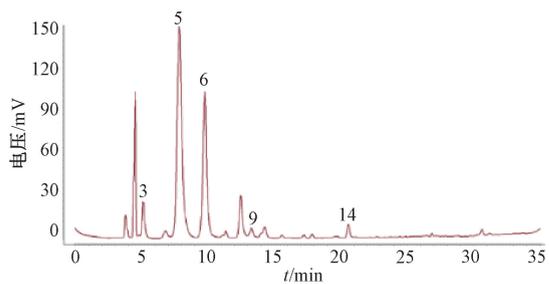


图2 对照品HPLC色谱图



3. 尿嘧啶 5. 次黄嘌呤 6. 黄嘌呤 9. 鸟苷 14. 腺苷

图3 全蝎HPLC色谱图

表5 相似度测定结果

编号	产地	相似度	编号	产地	相似度
S1	宁夏银川	0.960	S9	河南济源	0.989
S2	宁夏贺兰山	0.915	S10	山西榆林	0.954
S3	宁夏中卫	0.832	S11	河北邢台	0.883
S4	宁夏固原	0.947	S12	安徽亳州	0.761
S5	陕西咸阳	0.971	S13	河南洛阳	0.656
S6	陕西商洛	0.970	S14	新疆和田	0.811
S7	甘肃兰州	0.822	S15	宁夏银川	0.681
S8	甘肃庆阳	0.910	S16	河南三门峡	0.692

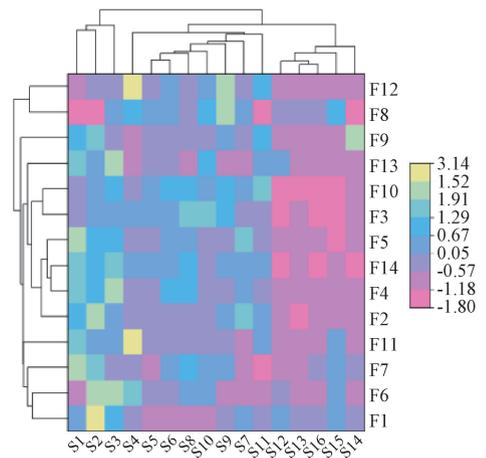
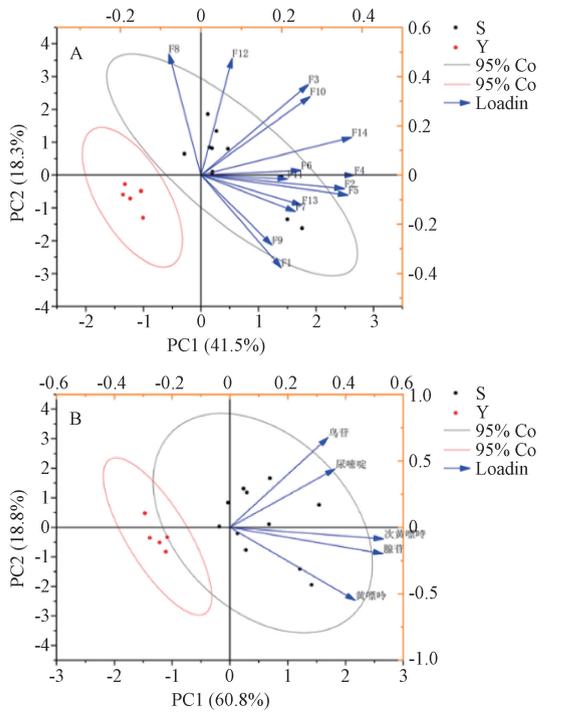


图4 16批全蝎聚类分析热图

3 讨论

3.1 药材标准提升及优化 核苷类成分功效广泛, 2020年版《中国药典》中冬虫夏草以腺苷为指标进行含量测定, 并且冯旭等^[14]以核苷类成分为指标对市售品进行含量测定, 发现正品中尿苷、鸟苷含量明显高于伪品和替代品。陈启洪等^[15]发现, 不同产地斑蝥中核苷类成分含量差异较大。国内学者对山药、半夏、贝母、铁皮石斛等植物类药材也进行了核苷类成分研究, 发现不同产地、炮制方法下其含量均存在差异, 验证了该类成分用于质量评价的可行

一致(图5A); 盐制品分布比生品远, 推测炮制可能会影响药材中核苷含量(图5B)。



注：F 为峰面积，S 为生品，Y 为盐制品。

图 5 16 批全蝎主成分分析图

性，可为指标性成分、有效成分含量不明确药材的质量控制提供参考^[16-20]。

3.2 色谱条件优化 本实验分别考察了不同进样量、体积流量、流动相体系对全蝎中各核苷类成分色谱峰的影响，发现三者分别为 25 μ L、0.8 mL/min、甲醇-水时色谱峰数量较多，峰形、分离度较好，基线平稳。

3.3 供试品溶液制备方法优化 本实验分别考察了不同提取、复溶浓度对全蝎中各核苷类成分色谱峰的影响，发现两者分别为 80%、10% 时色谱峰数量较多，分离度良好。

3.4 HPLC 指纹图谱、含量测定分析 本实验建立了 16 批全蝎 HPLC 指纹图谱，发现有 14 个共有峰，并指出其中 5 个，相似度均大于 0.656，推测产地、炮制方式对该药材质量可能有影响。含量测定结果显示，盐制品中各核苷类成分含量均明显低于生品，以宁夏产最高。

4 结论

本实验在调研过程中发现颜色形态差异较大的全蝎，通过性状、显微鉴别及醇溶性浸出物含量测定发现它们均符合 2020 年版《中国药典》标准，可为临床提供更多的药用资源，再建立 HPLC 指纹图谱及 5 种核苷类成分含量测定方法，其准确简便，重复性好，能为该药材质量控制提供参考。

参考文献：

[1] 日华子, 韩保昇. 蜀本草 (辑释本) [M]. 尚志钧, 辑

释. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2005.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[3] 张 阔. 核苷类抗病毒药物共晶的研究[D]. 北京: 北京石油化工学院, 2022.

[4] 张雪梅, 杨丰庆, 夏之宁. 食品中核苷类成分的药理作用研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(9): 277-282.

[5] Xu Y Q, Groaz E, Rihon J, et al. Synthesis, antiviral activity, and computational study of β -D-xylofuranosyl nucleoside phosphonates[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, 255: 115379.

[6] Karikó K, Weissman D. Naturally occurring nucleoside modifications suppress the immunostimulatory activity of RNA: implication for therapeutic RNA development[J]. *Curr Opin Drug Disc Devel*, 2007, 10(5): 523-532.

[7] 商 焯. 地龙活血化瘀功效相关的活性质量标志物筛选研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2022.

[8] 周绪云. 一测多评法测定水蛭中尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤和尿苷的含量[J]. 中国药品标准, 2019, 20(4): 339-345.

[9] 刘 嘉, 严宝飞, 刘圣金, 等. 不同来源蜈蚣核苷类成分的UHPLC-QQQ MS 分析与评价[J]. 中药材, 2021, 44(12): 2863-2870.

[10] 田晓然, 付廷明, 郭立玮. HPLC 同时测定全蝎不同工艺提取物中 5 种核苷类化合物含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 13-16.

[11] 刘丽芳, 金蓉鸾, 徐国钧. HPLC 法测定 10 种动物药中尿嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、腺苷的含量[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(2): 9-12; 60.

[12] 史 磊, 孙志艺, 王涵琪. 山东道地药材全蝎 HPLC 指纹图谱研究[J]. 山东化工, 2019, 48(2): 80-81; 84.

[13] 王聪聪. 山东道地药材全蝎质量评价及其制剂的 HPLC 指纹图谱研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.

[14] 冯 旭, 汪家春, 邹赢铎, 等. 不同产地冬虫夏草及其伪品中核苷类成分的含量测定[J]. 药学服务与研究, 2018, 18(4): 304-307.

[15] 陈启洪, 段灿灿, 李晓飞, 等. HPLC 法同时测定斑蝥中 3 种核苷类成分[J]. 中成药, 2019, 41(4): 939-943.

[16] 魏 来, 周 强, 朱邻遐, 等. 基于一测多评法的半夏碱基和核苷含量测定[J]. 湖南中医杂志, 2022, 38(9): 188-192.

[17] 夏成凯, 杨葛俊, 刘耀武. HPLC 法测定不同产地半夏及其伪品中 4 种核苷[J]. 中成药, 2020, 42(6): 1532-1536.

[18] 舒胜男, 李焕茹, 胡雁萍, 等. 不同产地山药中 7 种核苷类成分的含量测定及质量评价研究[J]. 中药材, 2021, 44(1): 140-145.

[19] 林佳惠. 高效液相色谱法测定铁皮石斛中的 5 种核苷类物质含量[J]. 海峡药学, 2023, 35(7): 41-43.

[20] 艾则孜·莫合买提, 沙丽娜, 单莲莲, 等. HPLC 法同时测定新疆贝母中 3 种核苷类成分[J]. 中成药, 2017, 39(5): 1097-1099.