

不同基原土牛膝的性状显微比较研究*

方 岚¹, 丁 野^{2,3}, 王湘波^{2,3}, 方 磊^{2,3,△}, 戴 慧⁴, 彭东明⁴, 丁 盈⁵

(1. 云南省食品药品审核查验中心, 云南 昆明 650106;

2. 湖南省药品检验研究院/湖南药用辅料检验检测中心, 湖南 长沙 410001;

3. 湖南省药品质量评价工程技术研究中心, 湖南 长沙 410001; 4. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410036;

5. 湖南省食品药品职业学院, 湖南 长沙 410208)

摘要: **目的** 建立3种不同基原的土牛膝的性状及显微鉴别方法。**方法** 在植物分类学鉴定基础上,对不同基原的土牛膝进行鉴定,并使用性状和显微研究方法,对采集的土牛膝进行比较分析。**结果** 通过研究发现,3种土牛膝可以通过横切面显微特征区分,粉末显微特征区别不明显。**结论** 土牛膝不同基原可以通过性状、显微进行鉴别,通过对二者性状、显微的细致研究,为相关的标准修订与提高提供依据。

关键词: 土牛膝;野生牛膝;柳叶牛膝;性状鉴别;显微鉴别

中图分类号: R282.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2020)06-0085-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2020.06.014

Comparative Study on the Characters and Microstructure of *Achyranthes aspera* in Different Original

FANG Lan¹, DING Ye^{2,3}, WANG Xiangbo^{2,3}, FANG Lei^{2,3}, DAI Hui⁴, PENG Dongming⁴, DING Ying⁵

(1. Yunnan Food and Drug Audit and Inspection Center, Kunming 650106, China;

2. Hunan Institute for Drug Control/Hunan Center for Pharmaceutical Excipients Control, Changsha 410001, China;

3. Hunan Pharmaceutical Quality Evaluation Engineering Technology Research Center, Changsha 410001, China;

4. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410036, China;

5. Hunan Food and Drug Vocational College, Changsha 410208, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish the characters and microscopic identification of *Achyranthes aspera* from three different basal origins. **Methods** Based on the taxonomic identification of plants, the *Achyranthes aspera* from different basal origins was identified and the collected *Achyranthes aspera* was comparatively analyzed using characters and microscopic study methods. **Results** It was found that the three *Achyranthes aspera* species could be distinguished by cross-sectional microscopic features, and powder microscopic features were not clearly distinguished. **Conclusion** The different basal elements of *Achyranthes aspera* can be identified by characters and microscopy, and the careful study of both traits and microscopy will provide a basis for the revision and improvement of relevant standards.

KEY WORDS: *Achyranthes aspera*; *Achyranthes bidentata*; *Achyranthes longifolia*; character identification; microscopic identification

土牛膝始现于《本草纲目》,“牛膝处处有之,谓之土牛膝”,指各地野生的牛膝,其功效“活血散瘀祛风利尿,坠胎”^[1];《图经本草》记载“今福州人单用土牛

膝根…云治妇人血块极效”,而在肖步丹的《岭南采药录》^[2]中记载“土牛七别名牛舌大黄,牛舌头,鱼鳞草。取其须根用之…散血止痛”。《中国植物志》记载“又名

收稿日期: 2020-11-13

* 基金项目: 长沙市新型冠状病毒感染的肺炎疫情应急专题科技计划项目(kq2001027);湖南省中药饮片炮制规范修订研究项目;湖南省自然科学基金联合基金资助项(2019JJ60071);湖南省教育厅科学重点研究项目(18A211)。

第一作者简介: 方岚(1971-),女,副主任药师,研究方向:中药质量分析及质量管理。

△通信作者: 方磊, E-mail: 22349405@qq.com

倒钩草,倒梗草”;《全国中草药汇编》记载土牛膝的来源为粗毛牛膝 *Achyranthes aspera* L. 的根或全草;《中药大辞典》和《中国药材学》记载的土牛膝来源与其一致,药用全草,又名“牛舌大黄,牛舌头,鱼鳞草,倒扣草等”^[3-6]。在两广及西南地区为民间习用药,如瑶药“五虎九牛十八钻七十二风”中的牛膝风^[7],傣药中的“怀哦因”^[8],苗药中的“酒噪咯咯额牛”^[9]等。《广西中药志》记载为根部或其全草入药^[10];《广西壮族自治区瑶药材质量标准》记载干燥全草入药^[11];《广西特色中草药资源选编》记载全草入药^[12]。2020 版《中国药典》四部通则规定土牛膝来自苋科植物的粗毛牛膝 *Achyranthes aspera* L. 的干燥根及根茎^[13],具有活血散瘀,祛湿利尿等功效^[14-15],含齐墩果酸、牛膝多糖、蜕皮甾酮等成分^[16-18],用于治疗淋病、经闭、白喉肿痛、扁桃体炎、咽喉炎、急慢性咽炎、风湿关节疼痛、尿血等^[19-20]。现代药理研究实验结果表明,土牛膝水提物可以抑制炎症早期的毛细血管扩张,减少血小板凝集,抗氧化和利尿等方面作用^[21-23]。由于它在民间特别是少数民族中的应用非常广泛,因此在湖南、贵州、浙江、上海、安徽等 13 省的药材标准和炮制规范中,也收录了土牛膝的质量标准,但其植物基原却各不相同。总结起来,湖南、贵州的中药材标准和湖南的中药饮片炮制规范其基原是与中国药典的四部通则所载土牛膝基原一致;江苏省中药饮片炮制规范 1980 年版收录的粗毛牛膝 *Achyranthes aspera* L.、野生牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl.、柳叶牛膝 *Achyranthes longifolia* (Makino) 3 种基原^[24],其余标准收录基原均为野生牛膝。经查阅文献及对湖南省内长沙、永州及周边道县、双牌、江华等地调研,3 种基原湖南省内均有分布,但略有不同,其中牛膝(野生种) *Achyranthes bidentata* Bl. 在全省各地均广泛分布;粗毛牛膝 *Achyranthes aspera* L. 主要分布于道县、江华等地

区;柳叶牛膝 *Achyranthes longifolia* (Makino) 主要分布于道县、双牌和江华等地区。通过当地药农、药材收购站及瑶医交流了解,3 种基原生长环境一致,经常可见同地混生,且各地均存在混用的情况。而现行标准中并无 3 种不同基原的区分方法。本文对土牛膝 3 种不同基原的形态组织学进行了全面细致的比较研究,现报道如下。

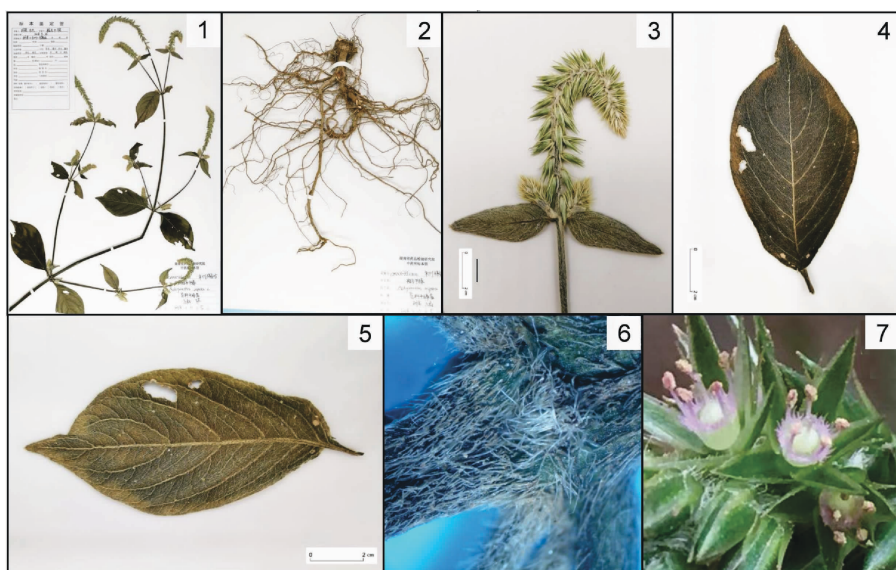
1 实验材料和仪器

Canon EOS 5D Mark III 相机,OLYMPUS CX41 体视显微镜,LeicaDM2500 显微镜及成像系统。

土牛膝的实验样品均为湖南省药品检验研究院中药检验所在湖南省永州市零陵区、双牌县、道县及江华瑶族自治县采集原植物经基原鉴定后确定分别为粗毛牛膝、野生牛膝及柳叶牛膝。性状鉴别分别参考《中国药典》及《湖南省中药材标准》2009 年版,横切片显微方法取新鲜土牛膝,经 FAA 固定液固定,进行常规石蜡切片,并用番红—固绿染色装片^[25];粉末显微方法参照《中国药典》2020 年版四部附录药材(饮片)显微制片方法制备。

2 基原鉴定及生药鉴别

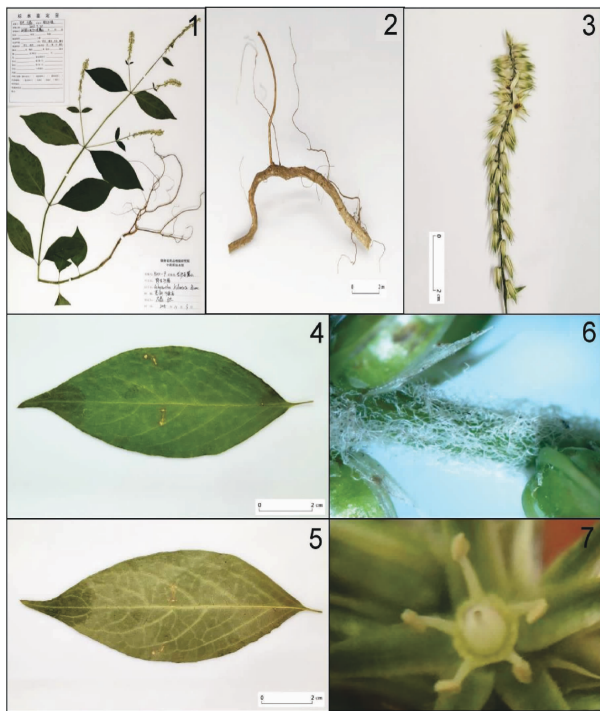
2.1 粗毛牛膝 标本(1)为栽培品,采于湖南永州市马鞍岭种植基地,标本长约 50 cm。经湖南中医药大学王智副教授鉴定为苋科植物土牛膝 *Achyranthes aspera* L.。见图 1。



注:1. 地上部分;2. 根及根茎;3. 花序;4. 叶上表面;5. 叶下表面;6. 嫩茎;7. 花。

图 1 粗毛牛膝标本图

2.2 野生牛膝 标本(2)于2018年9月18日采于湖南长沙市岳麓山,标本长约30cm。经湖南中医药大学王智副教授鉴定为苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl. 见图2。



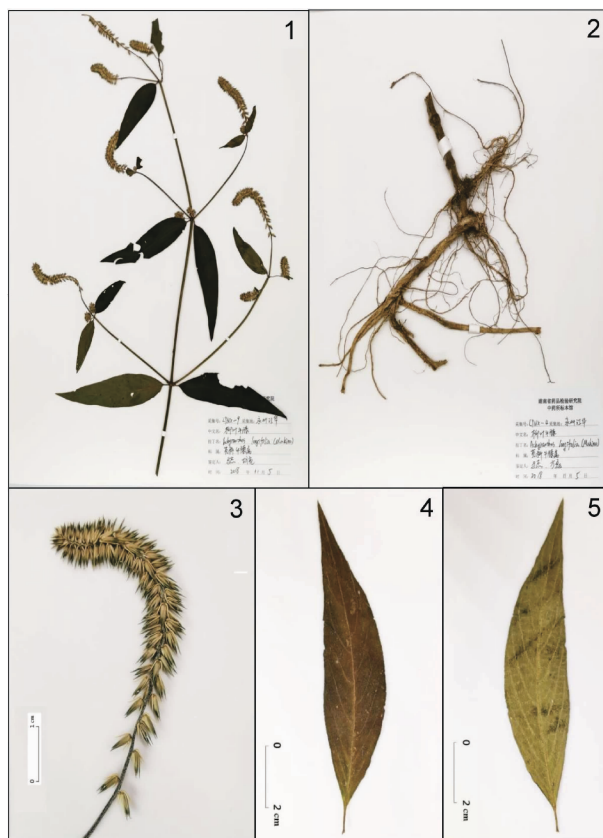
注:1.野生牛膝;2.根及根茎;3.花序;4.叶上表面;5.叶下表面;6.嫩茎;7.花。

图2 野生牛膝标本图

2.3 柳叶牛膝 标本(3)为野生品。本品种与牛膝类似,其区别在于:野生牛膝的叶片呈现的是披针形或者为宽披针形,长度在10~20 cm,宽为2~5 cm,叶片的顶端尾部呈尖形;小苞片为针状,长度一般为3.5 mm,基部有2耳状薄片,只有些许缘毛;退化的雄蕊呈现的是方形,叶片的顶端具有不明显的齿痕。见图3。

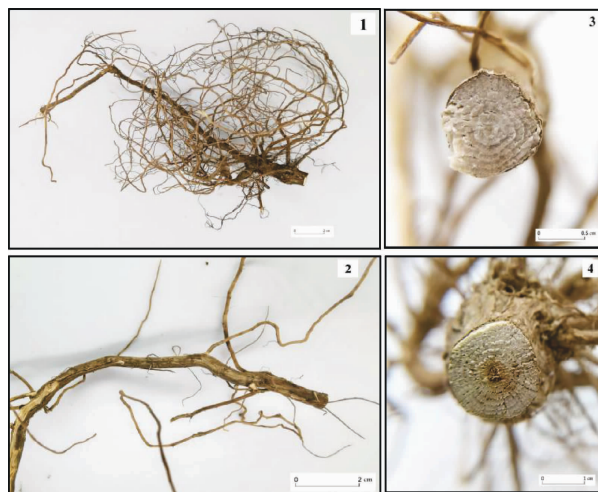
3 性状鉴别

3.1 粗毛牛膝 根茎呈圆柱形,直径在5~10 mm。根茎的表面大多是灰褐色,根茎上端有数个残存的茎基,具节,节上着生多数细根。主根为长圆柱形,略有弯曲,直径3~5 mm,长10~15 cm,表面土黄色或浅棕色,能够看见细长的纵皱纹以及侧根痕。根茎质地偏硬,不容易被折断,其断面具有纤维性;根较柔韧,不易折断,断面有排列成数个轮环的点状维管束。气微,味微甘,而后微苦涩。见图4。



注:1.地上部分;2.根及根茎;3.花;4.叶上表面;5.叶下表面。

图3 柳叶牛膝标本图

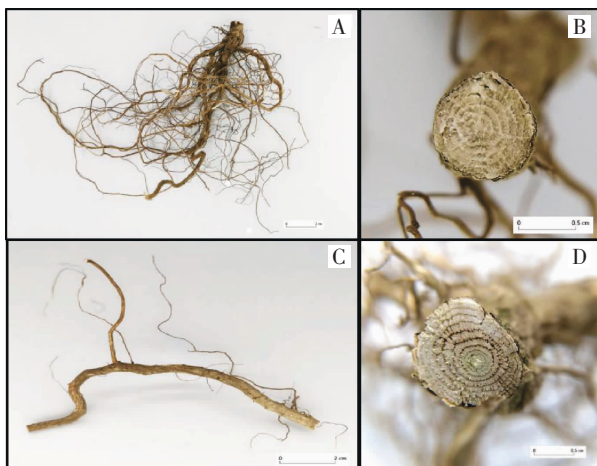


注:1.药材;2.根;3.根横切面;4.根茎横切面。

图4 粗毛牛膝性状图

3.2 野生牛膝 根呈细长圆柱形,长16~65 cm,直径0.3~1.2 cm。表面灰黄色或淡棕色,有细纵皱纹、稀疏的侧根痕及横长皮孔样的突起。质脆硬,断面较平坦,油润而略呈角质样,多数黄白色点状维管束散布

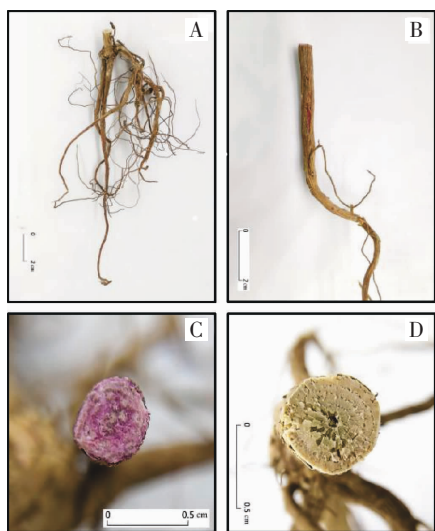
在较大的中心维管束木质部周围,断续排成 2~4 轮。气微,味微甜而稍苦涩。见图 5。



注:A.药材;B.根;C.根横切面;D.根茎横切面。

图 5 牛膝(野生种)性状图

3.3 柳叶牛膝 根较短粗,长 1.8~5.8 cm,直径 1.0~1.6 cm。根扭曲,长 8~21 cm,直径 0.3~1.3 cm。表面浅黄褐色,具细密的纵皱纹及须根痕。质硬而稍韧,断面皮部浅灰褐色,维管束多数,呈点状散布成环。气微,味微甜。见图 6。



注:A.药材;B.根;C.根横切面;D.根茎横切面。

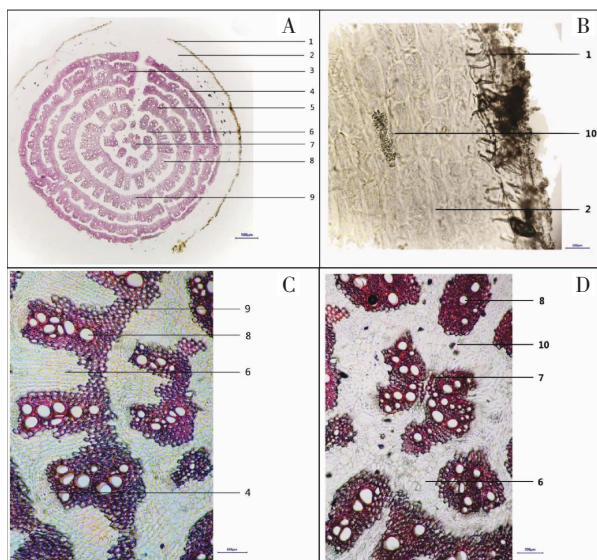
图 6 柳叶牛膝性状图

4 显微鉴别

4.1 根横切面

4.1.1 粗毛牛膝 木栓层由多列呈扁平状的细胞组成,栓内层较窄;维管束外韧型,断续排列成 4~8 轮,由结合组织将其彼此分开^[26-27],维管束由内向外依次变小,维管束之间以厚壁细胞辅助相连形成环状;向

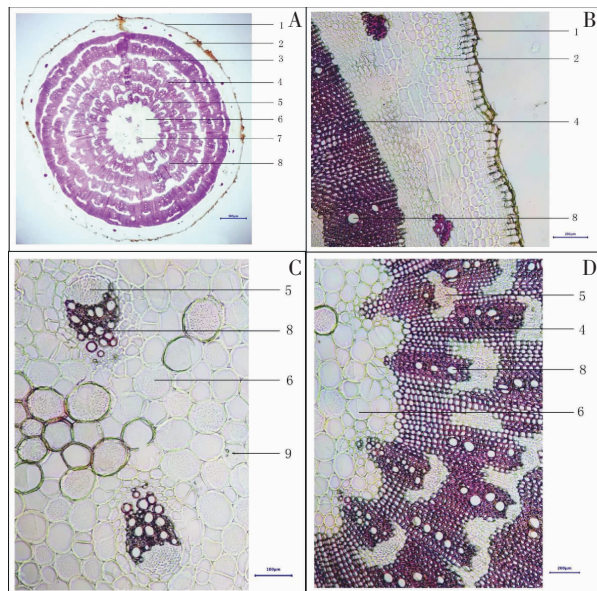
内维管束较大,束间结合组织为薄壁细胞;木质部主要由导管及小的木纤维组成,木质部射线较窄,中心次生维管束外韧形,呈 2~4 角状排列。薄壁细胞含有草酸钙砂晶。见图 7、图 8。



注:1.木栓层;2.皮层;3.异形维管束;4.韧皮部;5.木质部;6.薄壁组织;7.次生维管束;8.导管;9.厚壁组织;10.砂晶。

A.根横切面;B.根表皮放大图;C.异形维管束放大图;D.中柱放大图。

图 7 粗毛牛膝根横切面



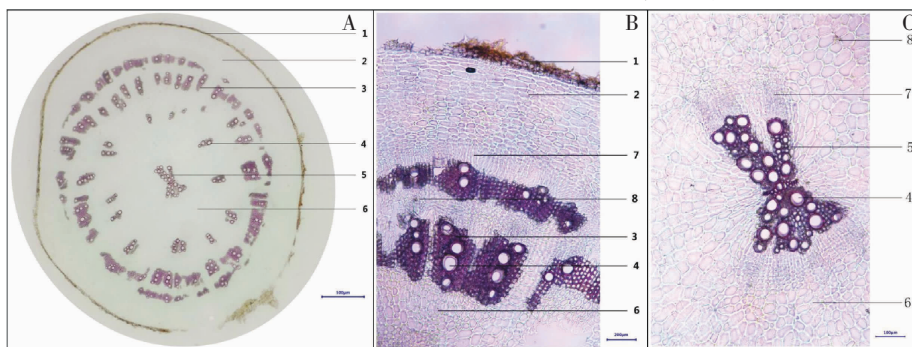
注:1.木栓层;2.皮层;3.厚壁组织;4.异形维管束;5.韧皮部;6.薄壁组织;7.次生维管束;8.导管;9.砂晶

A.根茎横切面;B.根茎表皮放大图;C.中柱放大图;D.木质部放大图。

图 8 粗毛牛膝根茎横切面

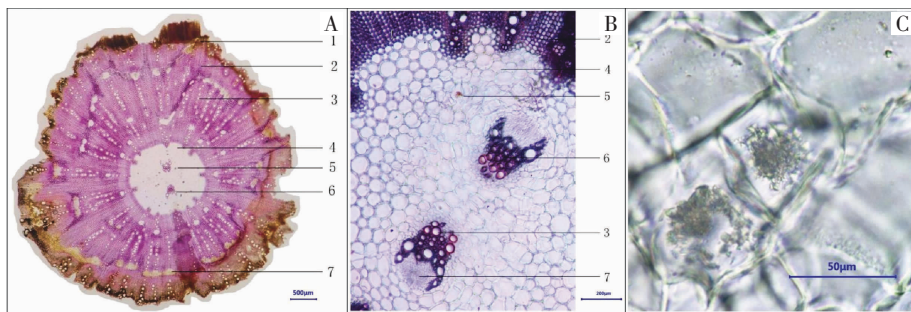
4.1.2 野生牛膝 与粗毛牛膝的主要区别为维管束断续排列成 2~4 轮。见图 9、图 10。

4.1.3 柳叶牛膝 与粗毛牛膝的主要区别为维管束断续排列成 2~3 轮,维管束之间间隔较宽。见图 11、图 12。



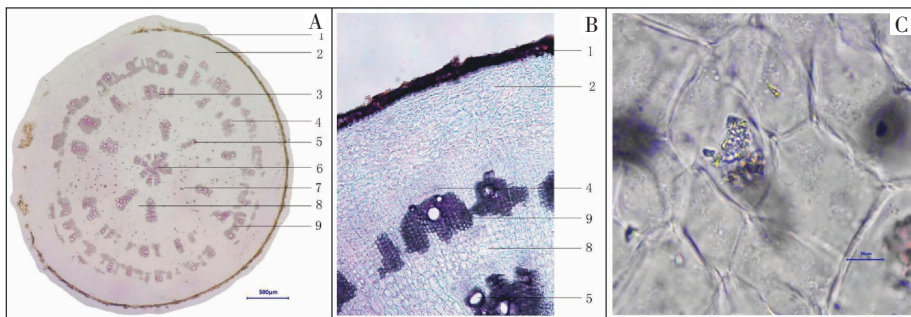
注:1.木栓层;2.皮层;3.异形维管束;4.导管;5.次生维管束;6.薄壁组织;7.韧皮部;8.砂晶。
A.根横切面;B.根表皮放大图;C.中柱放大图。

图 9 野生牛膝根横切面



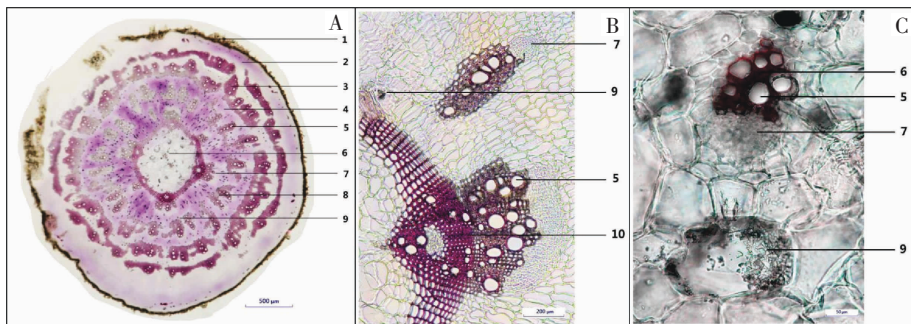
注:1.木栓层;2.异形维管束;3.导管;4.薄壁组织;5.砂晶;6.次生维管束;7.韧皮部。
A.根茎横切面;B.根茎中柱放大图;C.砂晶放大图。

图 10 野生牛膝根茎横切面



注:1.木栓层;2.皮层;3.异形维管束;4.韧皮部;5.导管;6.次生维管束;7.砂晶;8.薄壁组织;9.厚壁组织。
A.根横切面;B.根表皮放大图;C.砂晶放大图。

图 11 柳叶牛膝根横切面



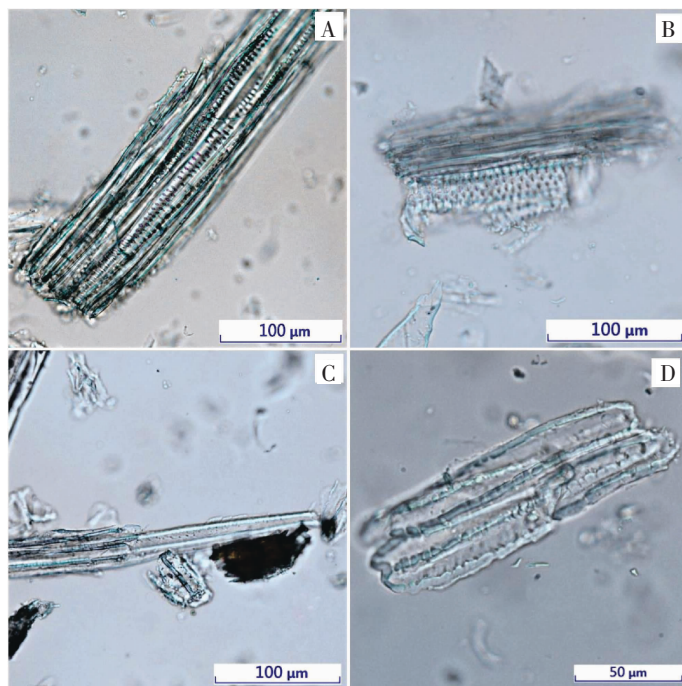
注:1.木栓层;2.皮层;3.厚壁组织;4.薄壁组织;5.导管;6.次生维管;7.韧皮部;8.异形维管束;9.砂晶;10.木质部。
A.根横切面;B.木质部放大图;C.中柱放大图。

图 12 柳叶牛膝根茎横切面

4.2 粉末鉴别 粗毛牛膝的粉末呈现出灰棕色。木纤维形成束状,有些和导管相交,细长,木纤维一端呈斜尖形,直径在 11~23 μm ,壁薄,纹孔呈细缝状或人字形等,较稀疏,孔沟不明显;薄壁细胞中含较多草酸

钙砂晶;具缘纹孔导管或网纹导管可见,直径约至 80 μm ,壁非木化。

野生牛膝与柳叶牛膝的粉末鉴别与粗毛牛膝一致。见图 13。



注:A.导管;B.具缘纹孔;C.木纤维;D.木纤维。

图 13 土牛膝粉末显微

5 结论与讨论

由于土牛膝 3 种不同基原在各省民间尤其是少数民族地区均广泛使用,功能主治基本一致,但各省市地方中药材标准及炮制规范中土牛膝基原却各不相同,质量标准内容也仅有性状、显微鉴别及齐墩果酸的薄层色谱鉴别,且性状与显微鉴别描述均较简单,并不能对不同基原近似种进行有效区分。本文通过对 3 种不同基原土牛膝的原植物与药材性状;横切面及粉末显微的全面观察比较,认为 3 种不同基原从性状上可以对原植物进行较好的区分。但在药材及饮片加工后,柳叶牛膝根及根茎断面略显红色,可以与另外两个基原较好的区分;而粗毛牛膝与牛膝在药材及饮片性状上特征较接近,从性状上不易区分。通过对根及根茎的横切面与粉末显微观察,3 种基原粉末显微组成基本一致,无差别;而通过对横切面显微观察发现,3 种不同基原土牛膝维管束排列方式有区别:其中粗毛牛膝维管束断续排列成 4~8 轮,维管束

由内向外依次变小,维管束之间以厚壁细胞辅助相连形成环状;野生牛膝断续排列成 2~4 轮,维管束之间间隔相对较密;而柳叶牛膝断续排列成 2~3 轮,维管束之间间隔相对较宽,可以用来对 3 种不同基原进行区分。

本文通过对 3 种不同基原土牛膝药材的生药鉴别形态特征进行比较分析与研究,为土牛膝药材及饮片地方标准上升国家标准奠定了基础。建议后续对市场进一步调查,并对其化学成分、药理作用进行进一步深入研究,以考察是否可以统一基原,扩大中药材来源。

参考文献:

- [1] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:华夏出版社,2002:543~546.
- [2] 萧步丹. 岭南采药录[M]. 广州:广东科技出版社,2009:91.
- [3] 中国科学院植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京:科学出版社,1979:227.

- [4] 王国强. 全国中草药汇编(卷二)[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2014:46-47.
- [5] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:1881-1882.
- [6] 徐国钧,何红贤,徐璐珊,等. 中国药材学[M]. 北京:中国医药科技出版社,1996:1380-1382.
- [7] 戴斌. 中国现代瑶药 [M]. 南宁:广西科学技术出版社,2009:157-160.
- [8] 潘立文,杨先振,李光富,等. 傣医外治法治疗慢性风湿类疾病的特色探析 [J]. 浙江中医药大学学报,2017,41(2):146-149.
- [9] 国家中医药管理局. 中华本草苗药卷[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2005:42-44.
- [10] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药志(第一辑)[M]. 南宁:广西壮族自治区人民出版社,1959:90.
- [11] 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 [M]. 南宁:广西科学技术出版社,2014:157.
- [12] 邹节明. 广西特色中草药资源选编 [M]. 北京:科学出版社,2011:194-196.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:552.
- [14] 湖南省食品药品监督管理局. 湖南省中药材标准 [M]. 长沙:湖南科学技术出版社,2010:292.
- [15] 罗懿钊,欧阳文,唐代凤,等. 中药牛膝中皂苷和甾酮类物质基础及药理活性研究进展 [J]. 中国现代中药,2020,22(12):2122-2136.
- [16] 黄志芳,黄志红,胡吉林,等. 土牛膝中齐墩果酸、牛膝多糖的提取与鉴定[J]. 中国实用医药,2010,5(17):6-7.
- [17] 欧阳文,罗懿钊,李震,等. 土牛膝抗炎成分分离、鉴定与含量测定研究 [J]. 天然产物研究与开发,2020,32(7):1171-1181.
- [18] 柳立新,张毅. 不同提取方法对土牛膝总皂苷含量测定的影响[J]. 安徽医药,2013,17(8):1296-1297.
- [19] 欧阳文,罗懿钊,程思佳,等. 湘产土牛膝中蜕皮甾酮类化合物分离与鉴定[J]. 湖南中医药大学学报,2018,38(10):1129-1132.
- [20] 饶芳,李荣群,傅华洲,等. 土牛膝治疗急性咽喉炎的实验研究 [J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(33):4073-4074.
- [21] 周志勇,袁丁. 齐墩果酸药理作用研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(23):2031-2033.
- [22] 欧丽兰,余昕,朱烨,等. 土牛膝在急性炎症动物模型中的抗炎作用[J]. 华西药学杂志,2012,27(6):644-646.
- [23] 张翠英,梁生旺,张广强. 不同产地牛膝中蜕皮甾酮的含量测定[J]. 中国药学杂志,2001,36(10):699-700.
- [24] 江苏省卫生局. 江苏省中药饮片炮制规范[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1980:18-19.
- [25] 欧丽兰,余昕,张椿,等. 土牛膝的生药学鉴定[J]. 安徽农业科学,2012,40(9):5204-5206.
- [26] 余坤子,张继,魏锋,等. 土牛膝及广东土牛膝的性状、显微比较研究[J]. 药物分析杂志,2013,33(11):1995-2000.
- [27] 胡正海,张泓. 植物异常结构解剖学[M]. 北京:高等教育出版社,1993:62.