

蒙药哈日-沙布嘎(铁杆蒿)的质量标准提升[△]

袁小红^{1*}, 庞克坚², 唐辉^{1#}, 张虹³, 魏洋¹, 刘乐乐¹, 姜国珍¹(1.石河子大学药学院/新疆植物药资源利用教育部重点实验室, 新疆石河子 832000; 2.和田维吾尔药业股份有限公司, 新疆和田 848200; 3.博尔塔拉蒙古自治州蒙医医院, 新疆博乐 833400)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)05-0536-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.05.05

摘要 目的:提升蒙药哈日-沙布嘎(铁杆蒿)的质量标准,为全面评价其质量提供科学依据。方法:对哈日-沙布嘎进行外观性状鉴别和显微鉴别;采用薄层色谱(TLC)法对药材中的东莨菪苷、绿原酸、咖啡酸、东莨菪内酯和3,5-二咖啡酰奎宁酸进行定性鉴别;建立高效液相色谱(HPLC)法测定药材中上述5种成分的含量;并对药材的水分、总灰分和浸出物进行检查。结果:哈日-沙布嘎药材茎呈类圆柱形,表面呈紫色或紫褐色或青褐色;叶呈卵形或矩圆状卵形,气香;花黄色,头状花序,近球形或半球形;粉末呈绿色或黄绿色,花粉粒具3个萌发孔,薄壁细胞簇晶棱尖锐,螺纹导管众多,偶见具缘纹孔导管,木纤维多成束存在。TLC结果显示,供试品在与5种对照品色谱相应位置上均显相同颜色的斑点。东莨菪苷、绿原酸、咖啡酸、东莨菪内酯、3,5-二咖啡酰奎宁酸的质量浓度分别在85.60~428.00、10.16~101.60、10.20~102.00、40.84~408.40、40.80~408.00 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与各自峰面积呈良好线性关系(r 均大于0.999 0);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于3.00% ($n=6$);平均加样回收率分别为103.07%、99.66%、98.37%、97.78%、98.40% (RSD均小于3.00%, $n=6$)。10批药材样品中上述5种成分含量范围分别为0.36%~1.23%、0.09%~0.51%、0.04%~0.13%、0.61%~1.13%、0.12%~1.11%;水分、总灰分、水溶性浸出物的平均含量分别为6.25%、5.86%、26.50%。结论:该研究在哈日-沙布嘎原质量标准的基础上增加了显微鉴别、TLC鉴别、含量测定以及水分、总灰分和浸出物等检查项,方法精密、准确、稳定性良好,能够为更加科学、规范地评价该药材质量提供依据。

关键词 蒙药;哈日-沙布嘎(铁杆蒿);质量标准;显微鉴别;薄层色谱法;高效液相色谱法;东莨菪苷;绿原酸;咖啡酸;东莨菪内酯;3,5-二咖啡酰奎宁酸

Improvement of Quality Standard for Mongolian Medicine *Artemisia sacrorum*

YUAN Xiaohong¹, PANG Kejian², TANG Hui¹, ZHANG Hong³, WEI Feng¹, LIU Lele¹, JIANG Guozhen¹ (1. Pharmacy School of Shihezi University/Key Laboratory of the Ministry of Education of Xinjiang Special Plant Medicinal Resources, Xinjiang Shihezi 832000, China; 2. Hetian Uygur Pharmaceutical Co., Ltd., Xinjiang Hetian 848200, China; 3. Mongolian Medical Hospital of Bortala Mongolian Autonomous Prefecture, Xinjiang Bole 833400, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To improve the quality standard of Mongolian medicine *Artemisia sacrorum*, and to provide scientific basis for comprehensive quality evaluation. METHODS: The appearance and microscopic characteristics of *A. sacrorum* were identified; scopoletin, chlorogenic acid, caffeic acid, scopolactone and 3, 5-dicaffeoylquinic acid were identified quantitatively by TLC; the contents of above 5 components were determined by HPLC. The water content, total ash and extract were examined. RESULTS: The stem of *A. sacrorum* was cylindrical, and its surface was purple or purple-brown or cyan-brown; the leaves were ovate or oblong-ovate, fragrant; the flowers were yellow, head-shaped, subglobose or hemispherical. The powder was green or yellow-green, its pollen grain had three germination; the parenchymal cell clusters with sharp edges and numerous threaded ducts, occasionally having marginal pitted ducts; its wood fibers were in bundles mostly. Results of TLC showed that the spots of the same color were found in the corresponding positions of chromatogram for 5 substance control and samples. The linear range of scopoletin, chlorogenic acid, caffeic acid, scopolactone and 3, 5-dicaffeoylquinic acid were 85.60-428.00, 10.16-101.60, 10.20-102.00, 40.84-408.40 and 40.80-408.00 $\mu\text{g/mL}$ (all $r > 0.999$ 0). RSDs of precision, stability, repeatability tests were all less than 3.00% ($n=6$). The average recoveries were 103.07%, 99.66%, 98.37%, 97.78%, 98.40% (all RSDs < 3.00%, $n=6$). The

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81860614);新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(No.2017B03013-1)

* 硕士研究生。研究方向:药物分析。E-mail:1120448744@qq.com

通信作者:教授,硕士生导师,博士。研究方向:药物分析。电话:0993-2057878。E-mail:Tanghuishz@qq.com

contents of the above-mentioned 5 compounds in 10 batches of samples were 0.36%-1.23%, 0.09%-0.51%, 0.04%-0.13%, 0.61%-1.13%, 0.12%-1.11%, respectively; the average contents of water, total ash and water soluble extract were 6.25%, 5.86%, 26.50%, respectively. CONCLUSIONS: On the basis of the original quality standard of *A. sacrorum*,

microscopic identification, TLC identification, content determination and examination items of water, total ash and extract are added. The method shows good precision, accuracy and stability, which can provide reference for more scientific and standardized evaluation of the quality of this medicinal material.

KEYWORDS Mongolian medicine; *Artemisia sacrorum*; Quality standard; Microscopic identification; TLC; HPLC; Scopoletin; Chlorogenic acid; Caffeic acid; Scopoletin; 3,5-dicaffeoylquinic acid

蒙药哈日-沙布嘎,为菊科植物铁杆蒿 *Artemisia sacrorum* Ledeb. 的干燥全草,别名白莲蒿、万年蒿;其在新疆、宁夏、甘肃、西藏、内蒙古等地均有广泛分布^[1],且用药多为自采。哈日-沙布嘎全株均能入药,据蒙医药有关书籍记载,其性凉、味苦,具有杀虫止痛、消肿、燥“协日乌素”(注:“协日乌素”为蒙医对病症“黄水”的专有名词)等功能^[2]。研究发现,哈日-沙布嘎的主要成分有黄酮类、肉桂酸类、香豆素类、萜类、挥发油等^[3-5]。其提取物中含有的木脂素具有较好的保肝作用;香豆素类化合物具有抗炎、抗菌等作用;地上部分的甲醇提取物显示出强抗氧化作用^[6-8];此外,其含有的咖啡酰奎尼酸类化合物具有较强的抗氧化、抗炎活性^[9],这一作用与哈日-沙布嘎用药功效一致。

哈日-沙布嘎收载于1998年版的《卫生部药品标准·蒙药分册》中,但该标准仅收录了该药材的外观性状、性味和功能主治等,缺乏其他鉴别项,也没有基于药效的化学成分含量测定^[2]。现有对其质量控制的报道多是采用高效液相色谱(HPLC)法对药材中单一成分进行定量分析,如徐彝等^[10]对药材中东莨菪内酯进行了含量测定,佟皎薇等^[11]测定了药材中绿原酸的含量,这些方法均难以全面评价药材质量。鉴于此,本研究采集了10批哈日-沙布嘎药材,在原质量标准基础上增加了显微鉴别、薄层色谱(TLC)鉴别、含量测定以及水分、总灰分和浸出物等检查项,以期对该药材的质量进行全面控制。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所使用的主要仪器有:Primo Star型数码生物显微镜(德国Zeiss公司)、Eclipse E200型生物显微镜(日本Nikon公司)、YOKO-ZS型薄层数码成像仪(武汉药科新技术开发有限公司)、G型硅胶板(青岛海洋化工有限公司,规格50 mm×100 mm,批号20191109)、展开槽(北京杰瑞恒达科技有限公司,规格110 mm×120 mm)、e2695型HPLC仪(含2998型光电二极管矩阵检测器,美国Waters公司)、KH-300DE型台式数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)、BT125D型十万分之一电子分析天平(德国Sartorius公司)、UV-2600型紫外分光光度计(日本Shimadzu公司)。

1.2 主要试剂

本研究所使用的主要试剂有:东莨菪苷对照品、绿原酸对照品、咖啡酸对照品、东莨菪内酯对照品、3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为Z15J11S115885、Y24J7K16726、Y09J8C28349、Z17J10Y90380、Z05M10X87215,纯度均大于98%),乙

睛(美国Fisher公司,色谱纯),磷酸、甲醇(天津市富宇精细化工有限公司,分析纯),超纯水。

1.3 药材

10批哈日-沙布嘎药材来源见表1。其中S1~S2号药材采购于新疆精河县蒙医诊所,S3~S5号药材采购于新疆博尔塔拉蒙古自治州蒙医医院,S6~S10号药材采自新疆新源、昭苏、乌鲁木齐等地,均经新疆博尔塔拉蒙古自治州蒙医医院巴特孟克主任医师鉴定为菊科植物铁杆蒿 *A. sacrorum* Ledeb. 的干燥全草。

表1 10批哈日-沙布嘎药材来源

Tab 1 Sources of 10 batches of *A. sacrorum* medicinal materials

样品编号	采收年份	产地
S1	2016	甘肃天水
S2	2017	西藏阿里
S3	2017	内蒙古呼和浩特
S4	2018	吉林长春
S5	2020	内蒙古通辽
S6	2020	新疆新源
S7	2020	新疆昭苏
S8	2020	新疆特克斯
S9	2018	新疆精河
S10	2018	新疆乌鲁木齐

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 分别取东莨菪苷、绿原酸、咖啡酸、东莨菪内酯、3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品适量,精密称定,加入甲醇制成上述5个成分质量浓度分别为1.070、1.016、1.020、2.042、2.040 mg/mL的单一成分对照品贮备液。分别取东莨菪苷对照品贮备液0.75 mL,绿原酸、咖啡酸对照品贮备液各0.20 mL,东莨菪内酯、3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品贮备液各0.40 mL,置于同一5 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,混匀,制成混合对照品溶液,备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 取哈日-沙布嘎药材粉末(过30目筛)0.5 g,精密称定,置于100 mL锥形瓶中,加甲醇20 mL,称质量,超声(功率300 W,频率40 kHz)处理1 h,取出,放冷至室温,再次称质量,用甲醇补足减失的质量,先后以滤纸、0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 取甲醇20 mL,置于100 mL锥形瓶中,按“2.1.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2 性状和显微鉴别

2.2.1 性状鉴别 药材茎呈类圆柱形,直径1~5 mm,表面呈紫色或紫褐色或青褐色;质韧易折断,断面呈绿

白色或黄褐色,部分茎中空。叶呈卵形或矩圆状卵形,二回羽状全裂;侧裂片2~5对,羽状全裂;小裂片条状披针形,宽1~3 mm,全缘;上表面呈绿色,下表面呈灰绿色,气香。花黄色,头状花序,近球形或半球形,直径2~3 mm,下垂,排列成复总状花序。哈日-沙布嘎药材的外观性状见图1。

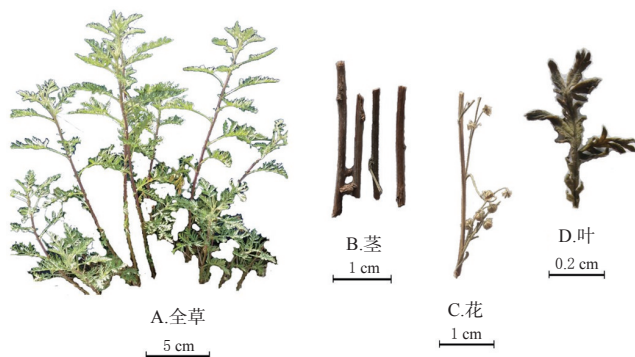


图1 哈日-沙布嘎药材的外观性状

Fig 1 Appearance property of *A. sacrorum*

2.2.2 茎横切面显微鉴别 药材的茎横切面有1列表皮细胞,呈类方形或圆形;皮层由多层薄壁细胞组成,呈类椭圆形或不规则形,在纵棱处有1~3层厚角组织;维管束为外韧型,由1~4列纤维构成帽状纤维束;韧皮部薄壁细胞呈圆形或椭圆形,形成层不明显,导管排列不规则;髓部较宽广,由圆形或椭圆形的薄壁细胞组成。哈日-沙布嘎药材的茎横切面图见图2。

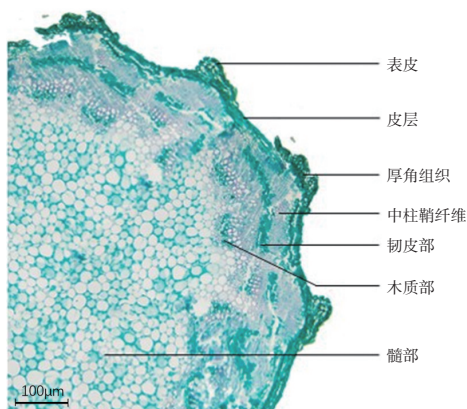


图2 哈日-沙布嘎药材的茎横切面图(×10)

Fig 2 Cross section of the stem of *A. sacrorum*(×10)

2.2.3 粉末显微鉴别 药材粉末呈绿色或黄绿色。粉末中可见大量花粉粒,具3个萌发孔,散在,直径16.5~21.1 μm;草酸钙簇晶聚集于薄壁细胞内,棱尖锐,直径70.8~117.0 μm;非腺毛多单细胞,细长,末端尖锐;螺纹导管众多,偶见具缘纹孔导管;木纤维多成束存在,壁不甚厚,断裂、破碎;茎表皮细胞呈绿色,类圆形,排列整齐;叶表皮细胞的细胞壁呈微波状,细长。哈日-沙布嘎粉末特征图见图3。

2.3 TLC鉴别

按照2020年版《中国药典》(四部)TLC法(通则

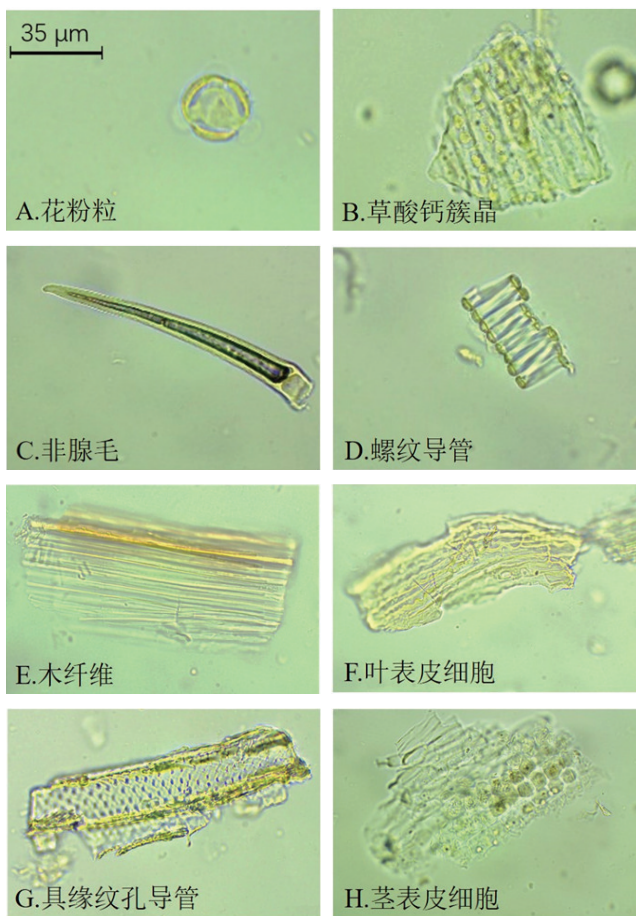


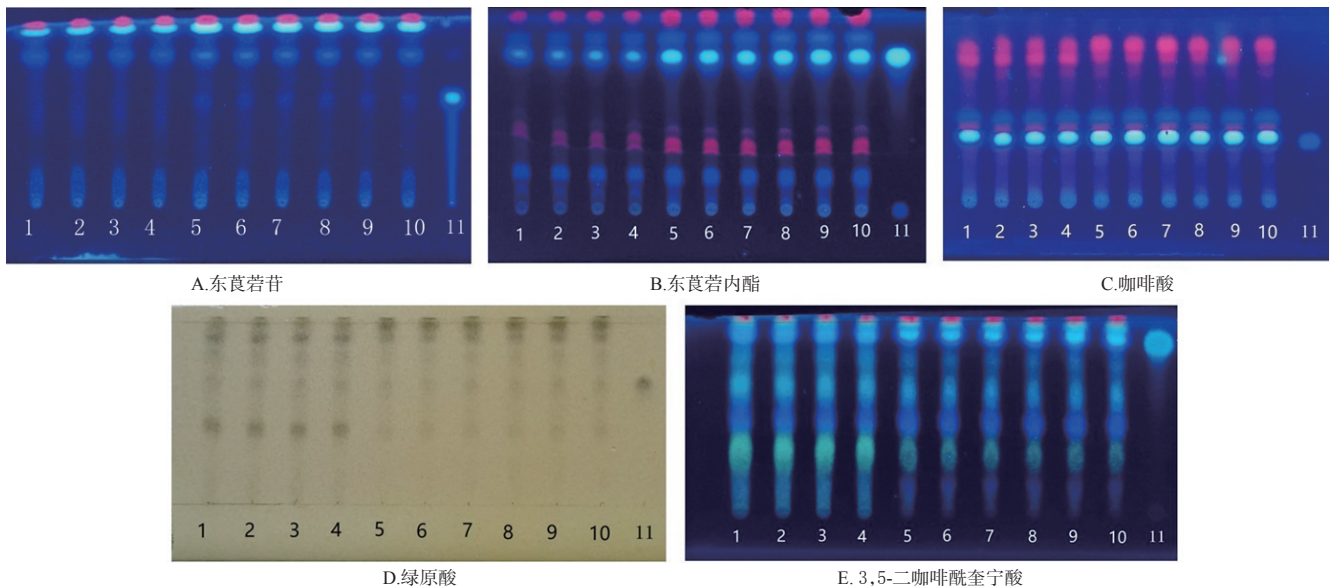
图3 哈日-沙布嘎的粉末特征图(×40)

Fig 3 Powder characteristic of *A. sacrorum*(×40)

0502)实验操作要求^[12],分别吸取“2.1”项下各单一成分对照品贮备液5 μL和供试品溶液10 μL,点于同一硅胶G薄层板上,在常温下饱和和后展开,取出,晾干,检视。其中,东莨菪苷的展开剂为三氯甲烷-甲醇(7:3, V/V),置于紫外灯365 nm波长下检视;绿原酸的展开剂为乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(8:3:1:1, V/V/V/V),喷以三氯化铁乙醇溶液显色后加热,在日光灯下检视;咖啡酸的展开剂为甲苯-乙酸乙酯-甲酸(7:3:0.5, V/V/V),喷以三氯化铝乙醇溶液显色后置于紫外灯365 nm波长下检视;东莨菪内酯的展开剂为乙酸乙酯-甲醇(15:1, V/V),置于紫外灯365 nm波长下检视;3,5-二咖啡酰奎宁酸的展开剂为乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(8:3:1:0.4, V/V/V/V),喷以三氯化铝乙醇溶液显色后置于紫外灯365 nm波长下检视。结果,供试品与各对照品在相应的位置上,显相同颜色的斑点,详见图4。

2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件 以ACE C₁₈ PFP(250 mm×4.6 mm, 5 μm)为本试验色谱柱,以乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~5 min, 13% A→15% A; 5~8 min, 15% A→18% A; 8~20 min, 18% A→25% A; 20~25 min, 25% A→55% A),流速为1 mL/min,检测波长为328 nm,柱温为30 ℃,进样量为5 μL。



注:1~10.供试品;11.对照品

Note: 1-10. test samples; 11. substance control

图4 哈日-沙布嘎药材和各对照品的TLC图

Fig 4 TLC chromatogram of *A. sacrorum* and substance control

2.4.2 系统适用性试验 取“2.1”项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各5 μ L,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(见图5)。结果表明,在该色谱条件下,理论板数按东莨菪内酯峰计算不低于20 000,各色谱峰与相邻峰的分度均大于1.2,阴性对照对各成分的测定无干扰。

2.4.3 线性关系考察 分别取东莨菪苷对照品贮备液0.40、0.50、0.75、1.00、1.50、2.00 mL,绿原酸、咖啡酸对照品贮备液各0.05、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mL,东莨菪内酯、3,5-二咖啡酰奎宁酸对照品贮备液各0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL,分别置于6个5 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,混匀,配制成系列浓度的混合对照品溶液。按“2.4.1”项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积。以质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,绘制标准曲线,计算得5种成分的线性回归方程、线性范围、相关系数,结果见表2。

2.4.4 检出限与定量限考察 取“2.1.1”项下各对照品贮备液适量,用甲醇逐步稀释,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,分别以信噪比3:1、10:1测定检出限、定量限,结果见表2。

2.4.5 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按“2.4.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录5个成分的峰面积。结果,东莨菪苷、绿原酸、咖啡酸、东莨菪内酯、3,5-二咖啡酰奎宁酸峰面积的RSD分别为0.59%、0.43%、0.38%、0.27%、0.35% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.4.6 重复性试验 分别称取同一批样品(编号S3)共6份,每份0.5 g,精密称定,置于100 mL锥形瓶中,按

“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录5个成分的峰面积,代入标准曲线计算样品含量。结果,样品中东莨菪苷、绿原酸、咖啡酸、东莨菪内酯、3,5-二咖啡酰奎宁酸的平均含量分别为0.54%、0.15%、0.08%、0.61%、0.53%,RSD分别为2.05%、2.74%、2.23%、2.44%、2.80% ($n=6$),表明方法重复性良好。

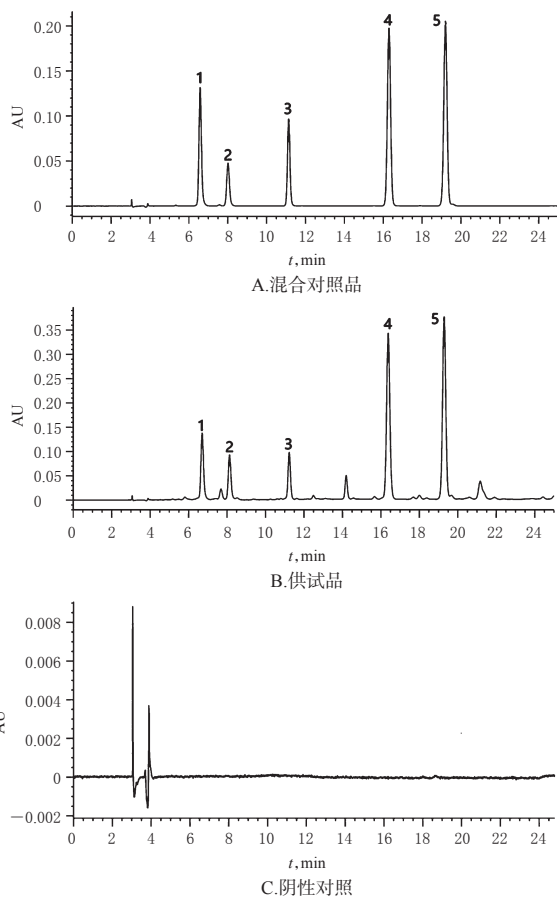
2.4.7 稳定性试验 取同一份供试品溶液(编号S1),分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录5个成分的峰面积。结果,东莨菪苷、绿原酸、咖啡酸、东莨菪内酯、3,5-二咖啡酰奎宁酸峰面积的RSD分别为2.32%、2.67%、1.19%、1.86%、1.48% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.4.8 加样回收率试验 称取已知含量的样品(编号S4)共6份,每份0.5 g,精密称定,精密加入“2.4.3”项下最后一个系列浓度的混合对照品溶液适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果见表3。由表3可知,东莨菪苷、绿原酸、咖啡酸、东莨菪内酯、3,5-二咖啡酰奎宁酸加样回收率的RSD分别为1.24%、1.32%、2.04%、2.64%、1.95% ($n=6$),表明方法准确度良好。

2.4.9 样品含量测定 取10批药材样品各适量,分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,代入标准曲线计算5种成分含量。每批样品平行测定3次,取平均值,结果见表4。

2.5 检查

2.5.1 水分、总灰分测定 分别按照2020年版《中国药



注: 1. 东莨菪苷; 2. 绿原酸; 3. 咖啡酸; 4. 东莨菪内酯; 5. 3,5-二咖啡酰奎宁酸
 Note: 1. scopolin; 2. chlorogenic acid; 3. caffeic acid; 4. scopoletin; 5. 3,5-dicaffeoylquinic acid

图5 哈日-沙布嘎药材、混合对照品和阴性对照的HPLC图

Fig 5 HPLC chromatograms of *A. sacrorum*, mixed control and negative control

表2 哈日-沙布嘎药材中5种成分的线性关系和检出限、定量限考察结果

Tab 2 Results of linear relationship, detection limit and quantitation limit tests of 5 components *A. sacrorum*

成分	回归方程	r	线性范围, $\mu\text{g/mL}$	检出限, $\mu\text{g/mL}$	定量限, $\mu\text{g/mL}$
东莨菪苷	$y=5.595x-15.682$	0.999 6	85.60~428.00	0.92	3.00
绿原酸	$y=15.390x-39.871$	0.999 6	10.16~101.60	0.53	1.42
咖啡酸	$y=26.867x-26.123$	0.999 4	10.20~102.00	0.31	0.75
东莨菪内酯	$y=17.760x-99.123$	0.999 8	40.84~408.40	0.61	1.52
3,5-二咖啡酰奎宁酸	$y=20.626x-249.979$	0.999 6	40.80~408.00	0.61	2.01

典》(四部)通则 0832(烘干法)和通则 2302 进行水分和总灰分测定^[12]。每批样品平行测定 3 次,取平均值。结果,各批样品水分含量为 5.85%~6.58%,平均值为 6.25%;各批样品总灰分含量为 4.87%~6.57%,平均值为 5.86%,详见表 5。以平均值上浮约 20%,暂定药材水分含量不得超过 7.50%、总灰分含量不得超过 7.03%。

表3 哈日-沙布嘎药材中5种成分的加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery tests of 5 components in *A. sacrorum*(n=6)

成分	样品含量, mg	对照品加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
东莨菪苷	3.215	3.228	6.558	103.56	103.07	1.24
	3.205	3.228	6.496	101.95		
	3.221	3.228	6.498	101.52		
	3.225	3.228	6.587	104.15		
	3.227	3.228	6.608	104.74		
绿原酸	0.856 1	0.862 0	1.712	99.29	99.66	1.32
	0.862 2	0.862 0	1.733	101.02		
	0.861 2	0.862 0	1.713	98.82		
	0.863 2	0.862 0	1.710	98.24		
	0.860 2	0.862 0	1.709	98.47		
咖啡酸	0.859 1	0.862 0	1.732	101.26	98.37	2.04
	0.385 0	0.384 0	0.771 0	100.50		
	0.383 9	0.384 0	0.753 1	96.15		
	0.383 8	0.384 0	0.769 1	100.34		
	0.384 6	0.384 0	0.764 2	98.85		
东莨菪内酯	0.380 9	0.384 0	0.748 9	95.83	97.78	2.64
	0.382 4	0.384 0	0.760 8	98.54		
	3.090	3.098	6.037	95.13		
	3.092	3.098	6.213	100.74		
	3.089	3.098	6.032	95.00		
3,5-二咖啡酰奎宁酸	3.082	3.098	6.093	97.19	98.40	1.95
	3.095	3.098	6.124	97.77		
	3.090	3.098	6.215	100.87		
	2.970	2.970	5.820	95.96		
	2.972	2.970	5.927	99.49		
2.971	2.970	5.822	95.99			
2.968	2.970	5.916	99.26			
2.995	2.970	5.944	99.29			
2.975	2.970	5.957	100.40			

表4 哈日-沙布嘎药材中5种成分的含量测定结果(n=3, %)

Tab 4 Results of content determination of 5 components in *A. sacrorum*(n=3, %)

样品编号	东莨菪苷	绿原酸	咖啡酸	东莨菪内酯	3,5-二咖啡酰奎宁酸
S1	0.61	0.18	0.09	0.67	0.65
S2	0.85	0.35	0.11	0.81	1.11
S3	0.54	0.15	0.08	0.61	0.53
S4	0.65	0.17	0.08	0.62	0.60
S5	1.11	0.49	0.13	1.09	0.32
S6	0.36	0.10	0.04	0.75	0.16
S7	0.71	0.18	0.07	0.97	0.35
S8	0.48	0.11	0.07	0.98	0.33
S9	1.23	0.51	0.12	1.13	0.25
S10	0.36	0.09	0.04	0.81	0.12

2.5.2 浸出物测定 按照 2020 年版《中国药典》(四部)通则 2201^[12],采用水为溶剂以热浸法提取药材,测定水溶性浸出物的含量。每批样品平行测定 3 次,取平均值。结果,各批样品水溶性浸出物含量为 21.26%~33.53%,平均值为 26.50%,详见表 5。以平均值下浮约 20%,暂定药材水溶性浸出物含量不得低于 21.20%。

表5 哈日-沙布嘎药材中水分、总灰分和浸出物含量测定结果($n=3, \%$)

Tab 5 Results of content determination of moisture, total ash and extract in *A. sacrorum* ($n=3, \%$)

样品编号	水分	总灰分	浸出物
S1	6.50	5.75	29.26
S2	6.49	6.00	33.53
S3	6.58	5.46	31.50
S4	6.58	5.92	30.99
S5	6.27	6.32	20.42
S6	5.85	5.33	23.77
S7	5.93	4.87	21.26
S8	5.94	6.14	21.85
S9	6.17	6.57	24.90
S10	6.21	6.23	27.54

3 讨论

3.1 样品提取条件的选择

在样品的提取中,笔者对提取溶剂(甲醇、50%甲醇、乙醇、50%乙醇)、料液比(1:40、1:20、1:10、1:5, g/mL)、提取时间(0.5、1、2、3 h)进行了筛选,综合考虑所得色谱峰的峰面积、分离度、峰形及制备方法的简便、快捷,最终确定本研究提取条件为提取溶剂甲醇、料液比1:40(g/mL)、提取时间1 h。

3.2 TLC法展开剂的选择

笔者在预试验中,选用不同展开系统对不同批次药材进行了TLC鉴别。绿原酸的展开剂考察了乙酸乙酯-甲酸-水(7:2.5:2.5, V/V/V)、乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:6:1:2, V/V/V/V)、乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(8:3:1:1, V/V/V/V);咖啡酸的展开剂考察了甲苯-乙酸乙酯-甲酸(7:3:0.5, V/V/V)、甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:3:1, V/V/V)、甲苯-乙酸乙酯-甲酸(15:3.5:0.5, V/V/V);东莨菪苷的展开剂考察了三氯甲烷-甲醇(6:4, V/V)、三氯甲烷-甲醇(8:2, V/V)、三氯甲烷-甲醇(7:3, V/V);东莨菪内酯的展开剂考察了乙酸乙酯-甲醇(15:1, V/V)、乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(17:2:1, V/V/V);3,5-二咖啡酰奎宁酸的展开剂考察了乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(7:3:1:1.2, V/V/V/V)、乙酸乙酯-甲酸-水(7:2.5:2.5, V/V/V)、乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(8:3:1:0.4, V/V/V/V)。结果显示,采用文中展开剂能较好地将主斑点与其他斑点分离。

3.3 HPLC法检测波长的选择

结合HPLC图和预试验结果,可知5种成分中东莨菪内酯含量较高,当东莨菪内酯有最大吸收时,其他成分均有较强吸收,且变换检测波长对东莨菪内酯影响较大,对其他成分影响相对较小,故选用东莨菪内酯来筛选检测波长。

取东莨菪内酯对照品贮备液适量,以甲醇稀释成质量浓度为0.016 mg/mL的溶液,用紫外可见分光光度计在200~600 nm波长范围内扫描,结果可见其在334 nm波长处有最大吸收。再结合文献中东莨菪内酯的检测波长^[10,13],比较供试品溶液在328、334 nm波长下的色谱图数据,结果表明在328 nm波长下,5种成分的色谱峰基线

均平稳,且均有较强吸收,故选择328 nm为检测波长。

3.4 HPLC法流动相的选择

在选择HPLC法流动相时,笔者以各色谱峰分离度、出峰时间、峰形等为评价指标,比较了甲醇-0.1%甲酸溶液、甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%甲酸溶液4种流动相系统。结果表明,以甲醇-水溶液系统为流动相梯度洗脱时,柱压较高、峰形较差;以乙腈-0.1%甲酸溶液梯度洗脱时,东莨菪苷与绿原酸分离度较差;以乙腈-0.1%磷酸溶液梯度洗脱时,柱压较低,各色谱峰分离良好且基线平稳,故选定乙腈-0.1%磷酸溶液作为梯度洗脱流动相。

综上所述,本研究在哈日-沙布嘎原质量标准的基础上增加了显微鉴别、TLC鉴别、含量测定以及水分、总灰分和浸出物等检查项,首次对哈日-沙布嘎中东莨菪苷、咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸进行了含量测定,方法精密、准确、稳定性良好,能够为更加科学、规范地评价蒙药哈日-沙布嘎的质量提供依据。

参考文献

- [1] 曾育麟,李星炜.中国民族药志:第4卷[M].成都:四川民族出版社,2007:514.
- [2] 卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:蒙药分册[S].北京:人民卫生出版社,1998:38.
- [3] 王青虎,吴荣君,齐格奇,等.蒙药铁杆蒿化学成分研究[J].中国药学杂志,2015,50(16):1380-1383.
- [4] 刘丹.万年蒿花序化学成分的研究[D].吉林:延边大学,2015.
- [5] 玉华,王青虎,韩那仁朝克图,等.蒙药铁杆蒿石油醚提取物中6个萜类化合物的分离与鉴定[J].中国药物化学杂志,2016,26(2):142-145.
- [6] 孙艳涛,蒋黄卉,赵磊,等.朝鲜族药材万年蒿地上部分化学成分研究[J].中国药学杂志,2020,55(10):806-810.
- [7] 张明晓,黄国英,白羽琦,等.南、北五味子的化学成分及其保肝作用的研究进展[J/OL].中国中药杂志,2020[2021-02-01].<https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20201127.601>. DOI:org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20201127.601.
- [8] 王陈萍,许波,蔡向明,等.不同五味子类木脂素成分对损伤肝细胞的保护作用比较[J].中国医药导报,2017,14(19):35-38.
- [9] 吴琪珍.咖啡酰奎宁酸类化合物研究进展[J].中国野生植物资源,2020,39(4):48-53,60.
- [10] 徐彝,李纳,刘吉爽,等.吉林省不同产地万年蒿中东莨菪内酯HPLC含量测定[J].长春中医药大学学报,2018,34(5):880-883.
- [11] 佟皎薇,李佳林. HPLC法测定蒙药材铁杆蒿不同部位中绿原酸的含量[J].中国民族医药杂志,2015,21(6):39.
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:59,114,232,234.
- [13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:147.

(收稿日期:2020-10-15 修回日期:2021-02-08)

(编辑:胡晓霖)