

蒙药小白蒿与炒白蒿的质量标准研究

其其日乐格 萨茹拉 那生桑

(内蒙古医科大学,呼和浩特,010110;内蒙古国际蒙医医院,呼和浩特,010020;内蒙古医科大学,呼和浩特,010110)

摘要 目的:制订蒙药小白蒿饮片的质量标准草案。方法:用薄层鉴别法对小白蒿、炒白蒿含有的主要止血有效成分绿原酸建立鉴别方法;照《中华人民共和国药典》(2010年版一部)与检查项相关规定,对该二品种进行逐项检查;用HPLC测定小白蒿、炒白蒿中绿原酸建立了定量分析方法。结果:质量标准鉴别中绿原酸薄层斑点清晰可辨;各检查项数据均符合《中华人民共和国药典》要求。含量测定的色谱条件中色谱柱:GraceSmart RP₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);波长:327 nm;流动相:乙腈-0.4%磷酸溶液(12:88);流速:1.0 mL/min;柱温25℃;色谱柱理论塔板数按绿原酸色谱峰面积计算不得超过3 000;与相邻峰的分离度(R>1.5),空白无干扰;线性范围为2~12 g(R²=0.9998);平均回收率为105.775%(RSD=2.8%)。结论:质控方法可靠,灵敏度高,专属,稳定,准确,重现性好。

关键词 蒙药;炒白蒿;薄层色谱鉴别;含量测定;高效液相色谱法

Study on Quality Standard of Xiaobaihao and Chaobaihao

Qiqirilege, Sarula, Nashengsang

(1 Inner Mongolia Medical University, Huhehaote 010110, China; 2 Inner Mongolia international Mongolian Medicine Hospital, Huhaote 010020, China; 3 Inner Mongolia Medical University, Huhehaote 010110, China)

Abstract Objective: To draft the quality specification of Xiaobaihao slices. **Methods:** Chlorogenic acid, the main hemostatic component in Xiaobaihao and Chaobiaohao was identified by TLC identification method. According to the inspection correlation stipulation provisioned in the Chinese Pharmacopoeia (2010 edition), the Xiaobaihao and Chaobiaohao were inspected item by item and quantitative analysis method was established with the highly effective liquid phase for chlorogenic acid. **Results:** In the quality specification, the chlorogenic acid spot in TLC was clear and easily distinguished and all test items conformed to the Chinese Pharmacopoeia (2010 edition). Chromatographic column in content determination was set as Grace Smart RP18 (250 mm × 4.6 mm 5 μm); Wave length was 327 nm; Flowing was at the second grade; nitrile was 0.4% phosphoric acid solution (12:88); flow speed was 1.0mL/min; and the column warm was set at 25℃. The theoretical plate number was less than 1000 according to the chlorogenic acid computation. Compared with the neighboring peak degree of dissociation (R>1.5), there was no obvious disturbance. The linear scope was 2~12 μg (R²=0.9998), and the average returns-ratio was 105.775% (RSD=2.8%). **Conclusion:** The indictment method is reliable, stable and accurate with high sensitivity, specificity and replicability.

Key Words Mongolian medicine; Chaobaihao; TLC; Quality standard; HPLC

中图分类号:R284.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.04.040

小白蒿是蒙医最常用药材之一。是菊科多年生植物冷蒿(*Artemisia frigida* Willd)的地上部分,秋季花盛开时采集,阴干^[1]。味苦,性凉。主要止血,消肿,消“奇哈”;用于各种出血,关节肿胀,肾热,月经不调,疮痍等。其植物资源丰富,北半球寒带、亚热带几乎有分布。蒙医用于消肿,消“奇哈”,或人工药浴时处方入用小白蒿;而止血或诊疗血液病证处方和制剂中主要用小白蒿炒制品—炒白蒿^[2]。蒙医临床一直以来用小白蒿、炒白蒿,但缺乏该二品质量标准,无法控制其内在质量^[3]。本文经实验研究采取TLC、HPLC等方法,为建立小白蒿和炒白蒿质量

标准提供了依据。

1 材料

1.1 仪器 P230型液相色谱仪(大连伊力特牌);EC2000型色谱站(大连伊力特牌);UV230+型紫外分光光度仪(大连伊力特牌);AB135-S型电子分析天平(德国);RE52CS-2旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试药 绿原酸对照品(批号:110753-200413);由中国食品药品检定研究院提供;小白蒿药材:采自呼和浩特大青山、赤峰市巴林右旗、赤峰市罕山、锡盟阿巴嘎旗和鄂尔多斯市等5个产地10批样品。

基金项目:内蒙古政府重大项目(编号:2013-006)

作者简介:其其日乐格(1991.09—),女,在读研究生,内蒙古医科大学蒙药学研究,研究方向:蒙药现代化研究,E-mail:601977642@qq.com

通信作者:那生桑(1956.01—),男,博士,教授,调研员,研究方向:蒙药现代化研究,E-mail:nasang56@sina.com

经内蒙古药检所鉴定为正品;炒白蒿:由本校炮制实验中心自行炮制成品;甲醇、乙腈等色谱试剂:市售;纯净水等。

2 方法

2.1 药材性状 小白蒿为不规则段,多破碎。茎圆柱形,长短不一,直径0.5~1 mm;表面灰绿色,具纵棱线,密被灰白色茸毛;质脆,易折断,断面中部有髓,白色或中空。叶互生,灰黄绿色,1~3回羽状全裂,小裂片条状披针形或矩圆形,密被灰白色茸毛。气香特异,味微苦;炒白蒿形如小白蒿,表面呈棕黄色,多破碎。气香,味苦。

2.2 薄层鉴别 取小白蒿和炒白蒿粉末各0.5 g,分别置具塞瓶中,各加稀盐酸0.05 mL,乙酸乙酯7.5 mL,超声(功率150,频率40 kHz)提取20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为2种供试品溶液。另取绿原酸对照品,加甲醇制成每1 mL含0.1 mg的溶液,作为对照品溶液。按照《中华人民共和国药典》(2010年版一部附录VIB)薄层色谱法试验,吸取上述3种溶液各6 L,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(1:15:1:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视^[4,5]。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。见下图1。

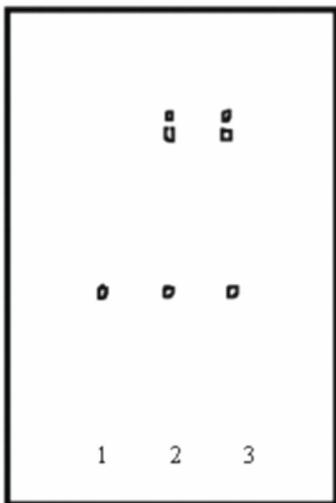


图1 小白蒿与炒白蒿薄层色谱

注:1 绿原酸;2 小白蒿;3 炒白蒿。

2.3 水分 按照《中华人民共和国药典》(2010年版一部附录IXH)法第一法(烘干法)测定样品中的水分^[4],结果5个产地10批样品水分含量均不超过5.0%,放凉后样品重量差别不超过5 mg,可以确定为该品水平含量不超过5.0%。见表1。

2.4 总灰分 按照《中华人民共和国药典》(2010年版一部附录IXK)总会分测定法测定样品中的总灰分^[4],结果5个产地10批样品总灰分含量,均不超过6.5%。见表2。

表1 小白蒿炮制样品中水分含量($\bar{x} \pm s, n=2$)

样品	样品量(g)	减少量(g)	重量差距(g)	水分含量(%)
呼和浩特	2.321	0.109	0.003	4.7
巴林右旗	2.457	0.093	0.004	4.0
赤峰罕山	2.270	0.093	0.003	4.0
阿巴嘎旗	2.426	0.095	0.004	4.1
鄂尔多斯	2.357	0.097	0.004	4.2

表2 小白蒿炮制样品总灰分含量

样品	样品重量(g)	减少量(g)	水分含量(%)
呼和浩特	3.025	0.165	5.5
巴林右旗	3.114	0.186	6.0
赤峰罕山	3.063	0.166	5.4
阿巴嘎旗	3.125	0.173	5.7
鄂尔多斯	3.058	0.181	5.9

2.5 含量测定 按照《中华人民共和国药典》(2010年版一部)高效液相色谱法(附录VID)测定样品中止血主要成分绿原酸的含量^[6-12]。

2.5.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: GraceSmart RP₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 波长: 327 nm; 流动相: 乙腈:0.4% 磷酸溶液(12:88); 流速:1.0 mL/min; 柱温:25 °C; 理论塔板数按绿原酸峰计算不得低于3 000; 与相邻峰的分离度($R > 1.5$),空白无干扰; 线性范围为2~12 μg ($R^2 = 0.9998$),平均回收率为105.775% ($RSD = 2.8\%$)。

2.5.2 对照品溶液的制备 取绿原酸对照品适量,精密称定,加50%色谱甲醇制成0.838 mg/mL的溶液,即得。

2.5.3 供试品溶液的制备 取本品粗粉0.5 g,精密称定,置具塞瓶中,加50%色谱甲醇50 mL,称重,加塞过夜,超声提取(功率150 W,40 kHz)40 min,放凉,补充溶液失重,摇匀,离心(3 000 r/min)15 min,倾取上清溶液,准确量取2 mL,置100 mL具塞锥形瓶中,加50%色谱甲醇稀释至刻度,摇匀即得。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取绿原酸对照品溶液1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL、6 mL分别置10 mL量瓶,加上述甲醇至刻度,摇匀。从中各取10 μL注入液相色谱仪,测定其峰面积积分值。以进样量(μg)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线并计算得回归方程为: $Y = 772.59X + 92.768$, $R^2 = 0.9998$ 。结果表明绿原酸对照品在0.838~

5.028 μg 范围内峰面积与进样量呈良好的线性关系,结果见下图 2 和表 3。

表 3 绿原酸线性关系考察

样品	浓度(mg/mL)	峰面积(A)
1	0.922	789.51
2	1.844	1513.93
3	2.766	2231.63
4	3.688	2949.41
5	4.610	3681.06
6	5.532	4340.98

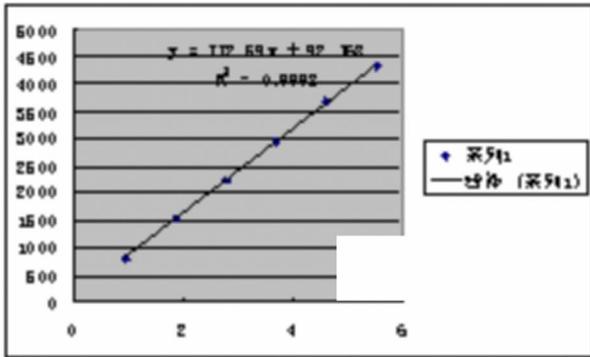


图 2 绿原酸溶液线性关系

2.5.5 精密度试验 精密吸取绿原酸对照品溶液 10 μL,重复进样 5 次,测定吸收峰结果精密度良好,峰面积 RSD 为 0.88%,结果见表 4。

表 4 精密度试验结果

序号	保留时间 tr	峰面积 A	平均(A)	s	RSD (%)
1	9.10	1053.77			
2	9.09	1057.28			
3	9.11	1060.33	1056.762	9.395	0.88
4	9.07	1043.36			
5	9.00	1069.07			

2.5.6 重复性试验 取同一批炒白蒿,同上方法平行制备供试品溶液 5 份,按上述色谱条件进行测定,样品中绿原酸的平均含量为 0.0753%,峰面积 RSD 为 2.5%,证明本法重复性良好,结果见表 5。

表 5 重复性试验结果

序号	峰面积 A	保留时间 tr	含量(mg/g)	均值($\bar{x} \pm s$)	RSD (%)
1	1179.89	9.00	0.07894		
2	1222.19	9.05	0.06987		
3	1396.03	9.09	0.08063	0.075257 ± 0.0019	2.5
4	1352.85	9.01	0.07751		
5	1333.29	8.94	0.06932		

2.5.7 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL,每隔 2 h 进样 1 次,测得 5 次的峰面积 RSD 为 2.30%,表明绿原酸在 8 h 内稳定,结果见表 6。

2.5.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的炒

白蒿粗粉约 0.5 g(6 份),分别加入绿原酸对照品适量,同上制备供试品溶液并依法测定,平均回收率为 105.78%,峰面积 RSD 为 2.8%,结果见表 7。

表 6 稳定性试验结果

时间	峰面积 A	保留时间 tr	含量 (mg/g)	平均	s	RSD (%)
0	1276.24	9.67	0.075444			
2	1288.41	9.12	0.076203			
4	1291.55	9.10	0.073398	0.074031	0.001734	2.3
6	1280.83	9.14	0.073087			
8	1204.65	9.09	0.072022			

表 7 加样回收率试验结果

序号	样品量 (g)	供试品含量 (mg/g)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg/g)	回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
1	1.023	0.07698	4.456021	4.47329	98.66	105.78	2.80
2	1.008	0.07585	4.359011	4.46363	100.66		
3	1.008	0.07585	4.503344	4.39906	96.00		
4	1.026	0.07721	4.275727	4.78051	110.00		
5	1.017	0.07653	4.174261	4.97419	117.33		
6	1.009	0.07593	4.228973	4.81238	112.00		

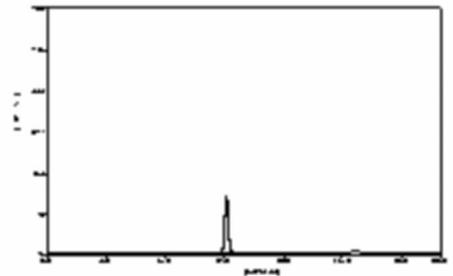


图 3 绿原酸 HPLC

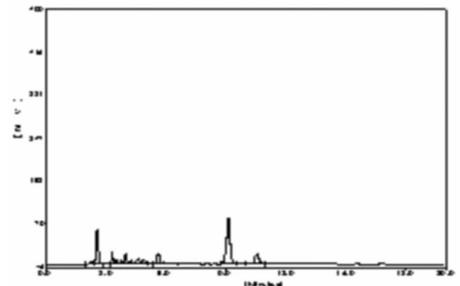


图 4 炒白蒿样品 HPLC

表 8 含量测定结果

样品	样品重量 (g)	绿原酸含量 (mg/g)	平均含量 (mg/g)	s	RSD (%)
呼和浩特样品	1.036	0.07718	0.0637	0.00098	1.5
	1.030	0.07430			
巴林右旗样品	1.027	0.05740	0.0637	0.00098	1.5
	1.025	0.05678			
汉山样品	1.031	0.05880	0.0637	0.00098	1.5
	1.032	0.05749			
阿巴嘎旗样品	1.028	0.07475	0.0637	0.00098	1.5
	1.026	0.07272			
鄂尔多斯样品	1.033	0.05145	0.0637	0.00098	1.5
	1.036	0.05589			

2.5.9 样品含量测定 取5个产地小白蒿炮制品(炒白蒿)各2份,同上制备供试品溶液,精密吸取10 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。结果样品中绿原酸的平均含量为0.064 mg/g(0.0064%),RSD为1.5%,结果见表8和图3、4。

3 讨论

小白蒿虽是常用蒙药材,但一直没有质量标准。借此小白蒿饮片标准的建立的机会,可完善了其药材质量标准。以止血有效物质绿原酸为目标成分,建立了小白蒿、炒白蒿的薄层鉴别方法和高效液相色谱法含量测定方法。该法简单易行,分离效果理想,灵敏度高,专属。经精密度等方法学考察证明稳定可靠,重现性好。可作为小白蒿药材、小白蒿饮片和炒白蒿的质量标准。绿原酸作为炒白蒿的含量测定指标具有较强的专属性。

参考文献

- [1] 奇玲, 罗达尚. 中国少数民族传统医学大系[M]. 赤峰: 内蒙古科学技术出版社, 2000: 313-317.
- [2] 罗布桑. 蒙药学[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2006: 138-139.

- [3] 毕力夫. 蒙药炮制文献研究[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2007: 35-37.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 版一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 52.
- [5] 颜虹, 徐勇勇. 医药统计学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 219-220.
- [6] 毕力夫. 蒙药质量标准化研究(下)[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2007: 567-570.
- [7] 罗岳北. 紫外分光光度法测定蒲公英中总有机酸的含量[J]. 科协论坛, 2008(6): 63-64.
- [8] 马莹莹, 李英杰, 刘雅静, 等. 分光光度法测定蒙药材多叶棘豆中槲皮素的含量[J]. 内蒙古民族大学学报, 2010, 25(1): 26-27.
- [9] 张婉, 谢坤, 楼彩霞, 等. 蒙药阿给(冷蒿)炒炭前后无机元素含量及溶出率的变化[J]. 中国药物与临床, 2008, 8(11): 852.
- [10] 廖琦, 杨继家, 张艺, 等. 民族药铁棒锤砂炒炮制品的质量标准研究[J]. 中国药房, 2013, 24(11): 1007-1009.
- [11] 聂翠琴. HPLC 在绿原酸和黄芩苷制剂中含量测定的应用[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2012.
- [12] 周莲. 金银花叶中绿原酸的提取、纯化及抑菌性质研究[D]. 重庆: 重庆工商大学, 2014.

(2015-05-11 收稿 责任编辑: 张文婷)

(上接第 717 页)

- [8] 赵慧男, 陈梅, 范春林, 等. 淡竹叶中一个新的黄酮碳苷[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(2): 247-249.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [10] 初阳, 杨倩. 淡竹叶中竹叶黄酮的纯化工艺研究[J]. 医药导报, 2012, 31(5): 648-650.
- [11] 王东方, 王庆忠, 曹慧. 淡竹叶有效成分提取及生物活性研究[J]. 南方农业学报, 2015, 46(6): 1034-1037.

- [12] 张海容, 白娟, 魏增云, 等. 超声萃取-响应面法优化淡竹叶多糖提取方法研究[J]. 化学研究与应用, 2013, 25(3): 303-310.
- [13] 周洪伟, 郝丽静, 杨勇, 等. 星点设计-效应面法优化玄参提取工艺[J]. 世界中医药, 2012, 7(5): 455-457.
- [14] 赵永恒, 周毅生, 王嵩, 等. 星点设计-效应面法优化龙须藤的大孔树脂纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 36-40.
- [15] 吴伟, 崔光华, 陆彬. 实验设计中多指标的优化: 星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(8): 530.

(2015-10-15 收稿 责任编辑: 张文婷)