

藏族药榜嘎质量标准分析

杨丽华^{1,2}, 林丽美³, 肖艳⁴, 冯伟红¹, 杨立新¹, 王智民¹, 李春^{1*}, 李钟^{2*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700;
2. 广东药科大学, 广州 510006; 3. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 4. 云南中医学院, 昆明 650500)

[摘要] 目的:建立榜嘎药材的质量控制方法和标准,为有效控制该药材的质量提供参考。方法:参照《中国药典》2015年版四部通则相关方法,对榜嘎药材的水分、总灰分、醇溶性浸出物进行测定;以盐酸阿替新为指标,采用紫外-可见分光光度法测定榜嘎中总生物碱的含量,检测波长 408 nm。以槲皮素和山柰酚为检测指标,利用 HPLC 测定榜嘎中总黄酮醇苷的含量,流动相甲醇-0.1% 甲酸水溶液(51:49),检测波长 366 nm。结果:17 批榜嘎药材测定结果显示榜嘎药材中水分、灰分、醇溶性浸出物、总生物碱和总黄酮醇苷质量分数分别为 7.23% ~ 10.20%, 5.94% ~ 18.60%, 11.30% ~ 29.40%, 0.39% ~ 1.99%, 0.42% ~ 3.09%。结论:建立的方法简便可行、重复性好,可用于榜嘎药材的质量控制。

[关键词] 藏族药; 榜嘎; 质量标准; 盐酸阿替新; 槲皮素; 山柰酚

[中图分类号] R284.1; R284.2; R282.5; R282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)10-0037-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016100037

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160331.1434.004.html>

[网络出版时间] 2016-03-31 14:34

Research on Quality Standard of Ponka

YANG Li-hua^{1,2}, LIN Li-mei³, XIAO Yan⁴, FENG Wei-hong¹,
YANG Li-xin¹, WANG Zhi-min¹, LI Chun^{1*}, LI Zhong^{2*}

(1. National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;
3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
4. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

[Abstract] **Objective:** In order to efficiently control quality of Ponka, its quality standard was established in this study. **Method:** Determination of moisture, total ash and ethanol-soluble extract in the crude drug were carried out based on methods recorded in appendix of the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. The content of total alkaloids was determined by ultraviolet spectrophotometry, using atisine hydrochloride as the reference substance. The content of total flavonol glycoside was assayed by HPLC on a Welch C₁₈ column, quercetin and kaempferol were used as the reference substances. **Result:** Contents of moisture, total ash, ethanol-soluble extract, total alkaloids and total flavonol glycoside in 17 batches samples were varied in ranges of 7.23% -10.20%, 5.94% -18.60%, 11.30% -29.40%, 0.39% -1.99% and 0.42% -3.09%. **Conclusion:** These established methods are simple, feasible and reproducible, they can be used for quality control of Ponka.

[Key words] Tibetan medicine; Ponka; quality standard; atisine hydrochloride; quercetin; kaempferol

[收稿日期] 20151223(012)

[基金项目] 北京市自然科学基金项目(7132152);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZZ070828)

[第一作者] 杨丽华,在读硕士,从事中药质量控制研究,Tel:010-64014411,E-mail:1154506334@qq.com

[通讯作者] *李春,研究员,从事中药化学及质量标准研究,Tel:010-64014411-2984,E-mail:cli@icmm.ac.cn;

*李钟,副教授,从事中药质量控制研究,Tel:020-39352176,E-mail:lizhongyxy@126.com

榜嘎为藏族医学的常用药材,性凉,味苦,有小毒,功效清热解毒,主治传染病发热,肝、胆热病,肺热,肠热,流行性感胃和食物中毒等^[1]。自 1977 年起,历版《中国药典》在附录中均收录了榜嘎,规定其药材来源为毛茛科乌头属植物甘青乌头或船盔乌头的干燥全草^[2]。临床上,榜嘎主要用于藏族成方制剂和医院制剂的生产。《中国药典》2015 年版收录了 4 个含榜嘎的藏族成方制剂,分别是十三味榜嘎散、十二味翼首散、九味石灰华散和二十五味松石丸^[3]。刘治民^[4]调查发现,榜嘎的年使用量 > 10 吨。第四次资源普查还发现,榜嘎基原植物主要为甘青乌头和船盔乌头,其药用部位为全草,但绝大多数为地上部位,其采收季节规定为开花期采收,而部分药材为开花前采收。已有的榜嘎药材质量标准非常薄弱,如《青海省药品标准》1976 年版^[5]及《卫生部药品标准·藏药(第一册)》1995 年版^[6]中仅规定了其来源、采收季节、性状、显微鉴别、炮制和性味等情况。而《中国药典》2015 年版仅收录了榜嘎的基原^[3]。因此,面对榜嘎庞大的使用量及其使用中的混乱现象,急需完善其质量标准以控制市场中该药材的质量,以保证含榜嘎药物临床疗效的均一性和稳定性。本实验在前期工作基础上,建立了榜嘎药

材较全面的质量控制方法和标准,包括水分、总灰分、浸出物测定、总生物碱及总黄酮醇苷含量测定,并制定了合理的限度,研究结果将为榜嘎药材及其制剂的质量控制提供依据。

1 材料

ACQUITY UPLC/Xevo G2-S 型 QTOF 系统, Xevo G2-S 型 QTOF 质谱和 ACQUITY 型超高效液相系统(美国 Waters 公司);U-3000 型高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司),XS105 型 1/10 万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),T₆ 系列新世纪紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),FW135 型粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司)。

槲皮素、山柰酚(中国食品药品检定研究院,批号分别为 100081-200907,110861-201310,质量分数依次为 96.5%,93.2%),盐酸阿替新对照品(自制,经 MS 和 NMR 鉴定结构,HPLC-DAD 检测为单峰,峰面积归一化法计算纯度 > 99%),甲醇和乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

17 批榜嘎药材信息见表 1,经中国中医科学院中药研究所李春研究员鉴定为毛茛科植物甘青乌头 *Aconitum tanguticum* 或船盔乌头 *A. naviculare* 的干燥全草。

表 1 榜嘎药材收集信息及相关指标的测定 (n = 2)

No.	品种	采集地/购买地	采收/购买时间	水分	总灰分	浸出物	总生物碱	槲皮素	山柰酚	总黄酮醇苷
1	a	青海三江宝公司	2009-08 ¹⁾	10.20	12.20	14.9	0.40	0.331	0.137	1.96
2	a	青海三江宝公司	2010-09 ¹⁾	9.74	13.30	11.3	0.39	0.114	0.088	0.84
3	a	青海三江宝公司	2013-05 ¹⁾	9.81	13.30	14.2	0.39	0.353	0.159	2.14
4	a	青海三江宝公司	2013-07 ¹⁾	8.50	7.13	22.0	0.42	0.176	0.030	0.86
5	a	青海三江宝公司	2013-08 ¹⁾	7.77	6.03	19.7	0.40	0.075	0.026	0.42
6	a	青海三江宝公司	2013-09 ¹⁾	8.32	18.60	22.7	1.36	0.265	0.124	1.63
7	a	青海三江宝公司	2013-10 ¹⁾	8.38	9.37	21.4	0.43	0.224	0.079	1.27
8	a	青海三江宝公司	2014-03 ¹⁾	7.98	5.94	19.2	0.42	0.164	0.046	0.88
9	a	青海三江宝公司	2015-01 ¹⁾	8.12	10.20	22.8	0.92	0.292	0.083	1.57
10	a	甘肃甘南合作市	2013-08 ²⁾	7.88	8.30	22.5	1.06	0.357	0.080	1.83
11	a	青海果洛州玛沁县	2013-09 ²⁾	8.52	8.66	20.6	0.58	0.218	0.058	1.15
12	a	青海果洛州藏医院	2013-09 ¹⁾	8.01	8.20	20.4	0.71	0.187	0.120	1.28
13	a	甘肃甘南合作市	2013-08 ²⁾	7.66	14.80	27.4	1.49	0.556	0.030	2.45
14	b	西藏拉萨以东 150 km 山沟	2013-08 ²⁾	7.69	15.60	26.1	1.99	0.192	0.299	2.05
15	b	西藏墨竹工卡县门巴乡波浪村	2013-09 ²⁾	7.61	9.75	29.4	1.70	0.326	0.414	3.09
16	b	西藏墨竹工卡县玛热乡吉朗村	2013-08 ²⁾	7.90	9.56	29.1	1.58	0.335	0.374	2.96
17	b	青海三江宝公司	2013-08 ¹⁾	7.23	11.6	19.8	0.98	0.272	0.046	1.33

注:a. 甘青乌头; b. 船盔乌头; ¹⁾ 购买时间, ²⁾ 采收时间。

2 方法与结果

2.1 检查

2.1.1 水分测定 精密称取榜嘎药材粉末(过 60 目筛)约 3 g,按水分测定法(《中国药典》2015 年版四部通则 0832 第二法)测定,每批平行 2 份,结果见表 1。

2.1.2 总灰分测定 精密称取榜嘎药材粉末(过 60 目筛)约 2 g,按灰分测定法(《中国药典》2015 年版四部通则 2302)测定,每批平行 2 份,结果见表 1。

2.1.3 浸出物测定 精密称取榜嘎药材粉末(过 60 目筛)约 3 g,以 50% 乙醇为溶剂,按照醇溶性浸出物测定法(《中国药典》2015 年版四部通则 2201)测定,每批平行 2 份,结果见表 1。

2.2 总生物碱的含量测定^[7]

2.2.1 显色剂的配制 取磷酸二氢钾 27.22 g,加水使溶解成 1 L,精密量取 100 mL,加 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 84.8 mL,加水稀释至 400 mL,得磷酸盐缓冲液(pH 7.6)。称取溴麝香草酚蓝 0.07 g,加入磷酸盐缓冲液(pH 7.6)300 mL 使溶解,得溴麝香草酚蓝溶液。

2.2.2 对照品和供试品溶液的制备 精密称取盐酸阿替新对照品 3 mg,加适量 70% 乙醇使溶解并定容至 50 mL 量瓶中,得 0.06 g·L⁻¹ 对照品溶液,低温保存,备用。精密称取榜嘎药材粉末(编号 17,过 80 目筛)约 1.0 g,置 100 mL 具塞锥形瓶中,加氨水 1 mL,浸润 30 min,加 70% 乙醇 50 mL,称定质量,水浴回流 1 h,取出,冷却至室温,用 70% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,得供试品溶液。

2.2.3 检测波长的确定 分别精密吸取 2.2.2 项下对照品溶液、供试品溶液和 70% 乙醇 1.5,0.5,0.5 mL,分别置 25 mL 锥形瓶中,减压回收溶剂至干,分别精密加入溴麝香草酚蓝溶液 4 mL 和三氯甲烷 6 mL,密塞,剧烈振摇 2 min,分别转移至 50 mL 分液漏斗中,静置 60 min,分取三氯甲烷层溶液,精密移取 1 mL,加入三氯甲烷 2 mL,作为待测液,分别于 200~900 nm 处进行全波长扫描。结果显示对照品溶液和供试品溶液在 408 nm 处附近均有最大吸收峰,且空白样品无干扰,故选择检测波长 408 nm。

2.2.4 线性关系考察 精密量取 2.2.2 项下对照品溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.2,1.4 mL,分别置于 25 mL 锥形瓶中,按 2.2.3 项下方法处理,于 408 nm 处测定吸光度 A。以质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $Y = 41.534X + 0.062$ ($r = 0.9998$),线性范围 0.67~4.67 g·L⁻¹。

2.2.5 精密度试验 精密量取 2.2.2 项下同一份榜嘎供试品溶液 0.5 mL,按 2.2.3 项下方法进行试验,于 408 nm 处测定 A,连续测定 6 次,计算 RSD 0.2%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密量取 2.2.2 项下同一份榜嘎供试品溶液 0.5 mL,按 2.2.3 项下方法进行试验,分别于制备后 0,10,25,60,90,190 min 于 408 nm 处测定 A,结果 RSD 0.4%,表明供试品溶液在显色后 190 min 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取榜嘎药材粉末(编号 17,过 80 目筛)约 1.0 g,平行 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液;精密量取该供试液 0.5 mL,按 2.2.3 项下方法显色,于 408 nm 处测定 A,计算各样品榜嘎中总生物碱平均质量分数 0.931%,RSD 2.8%,表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收试验 精密称取已知总生物碱含量的榜嘎药材粉末(编号 17,过 80 目筛)0.25 g,平行 6 份,置 50 mL 锥形瓶中;另取盐酸阿替新对照品适量,用 70% 乙醇制成 4.6 g·L⁻¹ 对照品溶液;样品中分别精密加入该对照品溶液 0.5 mL 和 70% 乙醇 25 mL,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液。精密吸取该供试品溶液 0.5 mL,按 2.2.3 项下方法进行试验,于 408 nm 处测定 A,计算平均加样回收率 98.47%,RSD 2.1%。

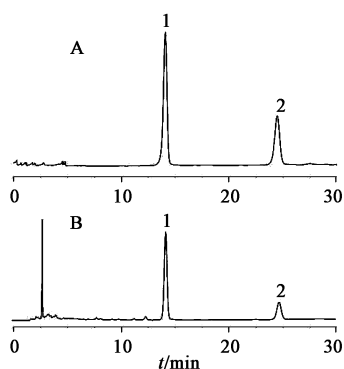
2.2.9 样品测定 精密称取不同批次榜嘎样品,按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按照 2.2.3 项下方法进行试验,于 408 nm 处测定各待测液的 A,计算各批榜嘎药材中总生物碱含量,结果见表 1。

2.3 总黄酮醇苷的含量测定^[8]

2.3.1 色谱条件 Welch C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-0.1% 甲酸水溶液(51:49),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,检测波长 366 nm,进样量 10 μL。见图 1。

2.3.2 对照品溶液的制备 分别精密称取槲皮素和山柰酚对照品 13.80,7.26 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,制成质量浓度分别为 0.2663,0.1353 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取榜嘎药材粉末(编号 9,过 80 目筛)约 1.0 g,置具塞 100 mL 锥形瓶中,精密加入甲醇-25% 盐酸溶液(5:1)混合液 50 mL,称定质量,置沸水浴中加热回流 1 h,取出,放冷,加甲醇-25% 盐酸溶液(5:1)混合液补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。



A. 混合对照品; B. 供试品; 1. 槲皮素; 2. 山柰酚

图 1 榜嘎 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of Ponka

2.3.4 线性关系考察 精密量取 2.3.2 项下混合对照品溶液 0.5, 2, 4, 7, 10 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀, 吸取各质量浓度的混合对照品溶液适量, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得槲皮素和山柰酚的回归方程分别为 $Y = 45.48X + 0.426 (r = 0.9999)$, $Y = 46.04X - 0.60 (r = 1.000)$, 线性范围依次为 0.133 ~ 2.663, 0.068 ~ 1.353 μg 。

2.3.5 精密度试验 取 2.3.3 项下一份供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果槲皮素和山柰酚峰面积的 RSD 均为 1.5%, 表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取 2.3.3 项下一份供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 18, 24 h 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 结果槲皮素和山柰酚峰面积的 RSD 分别为 2.1% 和 2.2%, 表明供试品溶液在制备后 24 h 内基本稳定。

2.3.7 重复性试验 取榜嘎药材 (编号 9), 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 平行 6 份, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算药材中槲皮素和山柰酚的平均质量分数分别为 0.279% 和 0.088%, RSD 分别为 1.0% 和 2.7%, 表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收试验 精密称取已知含量的榜嘎药材 (编号 9) 粉末约 0.5 g, 平行 6 份, 置 100 mL 具塞锥形瓶中; 另取槲皮素和山柰酚对照品适量, 用甲醇制成质量浓度分别为 0.711 8, 0.236 7 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液。向样品粉末中精密加入该混合对照品溶液 2 mL 和甲醇-25% 盐酸溶液 (5:1) 50 mL, 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算平均加样回收率分别为 98.5%, 101.0%, RSD 依次为 1.8%, 2.5%。

2.3.9 耐用性试验^[8] 对同一根 Welch C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 分别在不同柱温 (25, 30, 35 $^{\circ}\text{C}$) 和不同流速 (0.8, 1.0, 1.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 条件下进行试验, 考察供试品溶液中槲皮素和山柰酚的分离情况。结果显示上述各种条件下 2 种成分均能得到基线分离, 表明本方法在同一台仪器上的耐用性良好。

2.3.10 样品测定 取 17 批榜嘎药材, 平行 2 份, 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算榜嘎药材中槲皮素和山柰酚的含量, 结果见表 1。

2.4 黄酮苷元含量和总黄酮醇苷含量换算系数的确定

2.4.1 色谱条件和质谱条件 Water C₁₈ 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), 流动相乙腈 (A)-0.1% 甲酸溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 2 min, 4% ~ 5% A; 2 ~ 10 min, 5% ~ 12% A; 10 ~ 16 min, 12% ~ 18% A; 16 ~ 21 min, 18% ~ 23% A; 21 ~ 26 min, 23% ~ 38% A; 26 ~ 30 min, 38% ~ 100% A; 30 ~ 35 min, 100% A; 35 ~ 36 min, 100% ~ 4% A; 36 ~ 48 min, 4% A), 流速 0.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 0.5 μL , 检测波长分别为 254, 270, 300, 350 nm; 电喷雾离子源 (ESI), 负离子扫描模式, 质谱扫描范围 m/z 50 ~ 1 500, 毛细管电压 2.45 kV, 源偏移电压 80 V, 离子源温度 120 $^{\circ}\text{C}$, 去溶剂温度 500 $^{\circ}\text{C}$, 载气为氮气, 流速 50 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, 去溶剂气体流速 594 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

2.4.2 供试品溶液的制备 取榜嘎药材 (编号 9), 粉碎过 80 目筛, 精密称取 1.0 g 置具塞锥形瓶中, 加入甲醇 50 mL, 加热回流 1 h, 取出, 放冷, 滤过, 回收溶剂后加甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4.3 UPLC-QTOF-MS 推测榜嘎中的黄酮醇苷 以 9 号榜嘎样品为例, 通过色谱峰的质谱信息并结合文献 [9] 的方法, 推测榜嘎药材中存在的黄酮醇苷成分, 结果见表 2 和图 2。

2.4.4 转换系数考察 根据文献 [9] 的方法, 计算黄酮苷元含量和总黄酮醇苷含量的转换系数。由图 2 可知, 峰 6 为甘青乌头中黄酮醇苷的特征性成分, 在药材中相对含量最高, 化合物的极性适中。因此, 转换系数通过峰 6 (相对分子质量 1 226.35), 山柰酚 (相对分子质量 286.05) 和槲皮素 (相对分子质量 302.23) 确定, 即槲皮素、山柰酚的转换系数分别为 4.06, 4.29, 平均值 4.18。按总黄酮醇苷含量 = (槲皮素含量 + 山柰酚含量) × 4.18 计算各批次榜嘎药

表 2 UPLC-QTOF-MS 推测榜嘎中原型存在的黄酮醇苷类成分

Table 2 Naturally occurring flavonol glycosides identified from Ponka by UPLC-QTOF-MS

No.	[M - H] ⁻	计算值	分子式	碎片离子 m/z	可能结构
1	1 079. 307 9	1 079. 309 1	C ₄₅ H ₅₉ O ₃₀	917. 254 0, 771. 197 1, 609. 144 5, 301. 033 9	槲皮素-3-O-[β-D-葡萄糖-(1→3)]-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-半乳糖-7-O-β-D-葡萄糖-(1→6)-α-L-鼠李糖苷
2	917. 254 6	917. 256 3	C ₃₉ H ₄₉ O ₂₅	771. 196 4, 609. 144 6, 301. 033 6	槲皮素-3-O-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-半乳糖-7-O-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-葡萄糖
3	755. 203 3	755. 203 5	C ₃₃ H ₃₉ O ₂₀	609. 145 6, 301. 034 1	槲皮素-3-O-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-半乳糖-7-O-α-L-鼠李糖苷
4	1 241. 340 8	1 241. 340 8	C ₅₄ H ₆₅ O ₃₃	1 079. 307 1, 933. 228 5, 771. 197 4, 609. 145 3, 301. 032 8	槲皮素-3-O-[β-D-葡萄糖-(1→3)]-(4-O-反式-对香豆酰基)-α-L-鼠李糖-(1→6)-[β-D-葡萄糖-(1→2)]-β-D-半乳糖-7-O-β-D-葡萄糖苷
5	1 225. 345 7	1 225. 345 9	C ₅₄ H ₆₅ O ₃₂	1 079. 300 9, 917. 234 5, 771. 196 2, 609. 144 9, 301. 033 7	槲皮素-3-O-[4-O-反式-对香豆酰基]-α-L-鼠李糖-(1→6)-[β-D-葡萄糖-(1→2)]-β-D-半乳糖-7-O-α-L-鼠李糖(1→6)-β-D-葡萄糖苷
6	1 225. 346 8	1 225. 345 9	C ₅₄ H ₆₅ O ₃₂	1 079. 306 4, 917. 234 5, 771. 197 5, 609. 145 0, 301. 034 0	槲皮素-3-O-[β-D-葡萄糖-(1→3)]-(4-O-反式-对香豆酰基)-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-半乳糖-7-O-α-L-鼠李糖(1→6)-O-β-D-葡萄糖苷
7	1 209. 351 9	1 209. 351 0	C ₅₄ O ₆₅ O ₃₁	1 063. 292 8, 901. 240 0, 755. 203 2, 593. 150 7, 285. 039 4	山柰酚-3-O-[β-D-葡萄糖-(1→3)]-(4-O-反式-对香豆酰基)-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-半乳糖-7-O-α-L-鼠李糖(1→6)-O-β-D-葡萄糖苷
8	1 283. 352 2	1 283. 351 4	C ₅₆ H ₆₇ O ₃₄	1 121. 317 6, 975. 239 8, 813. 208 5, 609. 148 5, 301. 031 7	槲皮素-3-O-[3-羟基-4-乙酰氧基-反式-肉桂酰基]-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-半乳糖/葡萄糖-7-O-[β-D-葡萄糖/半乳糖-(1→3)]-α-L-鼠李糖(1→6)-β-D-葡萄糖/半乳糖苷
9	1 267. 356 7	1 267. 356 5	C ₅₆ H ₆₇ O ₃₃	1 121. 317 6, 959. 243 8, 813. 207 8, 609. 144 6, 301. 032 6	槲皮素-3-O-[3-羟基-4-乙酰氧基-反式-肉桂酰基]-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-半乳糖/葡萄糖-7-O-[α-L-鼠李糖(1→6)]-β-D-葡萄糖/半乳糖-(1→3)-α-L-鼠李糖苷

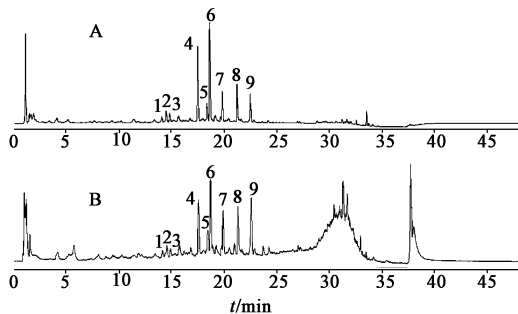


图 2 榜嘎 (A) 和负离子模式下原始基峰离子 (B) 的 UPLC
Fig. 2 UPLC chromatogram and negative ion mode spectrum of Ponka

材中总黄酮醇苷的含量,结果见表 1。

3 讨论

3.1 检查 由表 1 可知,17 批榜嘎药材水分含量 7.23% ~ 10.20%,但考虑到本实验是在北方地区的秋季测定,气候干燥,故拟定榜嘎药材的水分宜 ≤ 12.0%。17 批样品总灰分质量分数 5.94% ~ 18.60%,但因 4,5,8 号样品的总灰分含量偏低,综合考虑,拟定榜嘎药材的总灰分质量分数宜 ≤ 15.0%。

本文考察了不同测定方法,即热浸和冷浸,结果表明热浸法优于冷浸法。取榜嘎药材粉末(17 号) 3 g,分别考察 95% 乙醇,70% 乙醇,50% 乙醇和 30% 乙醇 4 种溶剂,结果表明 95% 乙醇和 70% 乙醇浸出物的含量明显偏低,其余 2 种溶剂浸出物含量相差不大,但因以 50% 乙醇作溶剂时,提取、过滤和蒸干操作都较 30% 乙醇容易,因此,选择 50% 乙醇为提取溶剂。经测定,17 批榜嘎药材的醇溶性浸出物质量分数 11.3% ~ 29.4%,故拟定榜嘎药材醇溶性浸出物质量分数宜 ≥ 17.0%。

3.2 总生物碱的含量测定 采用酸性染料比色法测定总生物碱含量时,缓冲液的 pH 对测定结果影响很大。实验发现磷酸盐缓冲液的最佳 pH 7.6。剧烈振荡后,应静置使其充分分层,即三氯甲烷层澄清透明后才可测定 A。17 批药材的测定结果显示榜嘎药材中总生物碱质量分数 0.39% ~ 1.99%。船盔乌头中总生物碱含量大多数明显高于甘青乌头,故拟定榜嘎药材中总生物碱质量分数宜 ≥ 0.4%。

3.3 总黄酮醇苷的含量测定 实验中分别考察了不同提取方式(超声法和回流法),不同提取溶媒

(甲醇-25%盐酸溶液和乙醇-25%盐酸溶液),不同体积分数甲醇(50%甲醇,70%甲醇和甲醇)-25%盐酸溶液,以及不同溶媒(甲醇-25%盐酸溶液)比例(3:1,4:1,5:1,6:1)对榜嘎药材中黄酮醇苷的提取效果,最终确定以50倍量甲醇-25%盐酸(5:1)混合液于沸水浴中加热回流1h为提取方法。

UPLC-QTOF-MS测定结果显示,榜嘎UPLC指纹图谱中主要的6个色谱峰(4~9号峰)均为黄酮醇苷类成分,而且前期研究也从甘青乌头中分离得到了大量黄酮类化合物,故可以确定黄酮类成分是榜嘎药材的主要成分。因此,本文以槲皮素和山柰酚为对照物质,样品经水解后进行测定,建立了榜嘎药材中总黄酮醇苷的含量测定方法。17批药材的测定结果显示榜嘎药材总黄酮醇苷质量分数0.42%~3.09%,但因有2个批次(编号15和16)的船盔乌头中总黄酮醇苷含量明显偏高,综合考虑,拟定榜嘎药材总黄酮醇苷质量分数宜 $\geq 0.80\%$ 。

[参考文献]

[1] 罗达尚. 中华藏本草[M]. 北京:民族出版社,1997:

65-66.

- [2] 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:附录27.
- [3] 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,2015:433,442-443,476.
- [4] 刘治民. 藏药榜嘎、榜那的资源调查和药用合理性评价[D]. 北京:北京中医药大学,2013.
- [5] 青海省卫生局. 青海省药品标准[S]. 西宁:青海省卫生局,1976:181.
- [6] 国家药典委员会. 卫生部药品标准·藏药[S]. 北京:中国医药科技出版社,1995:C1-243.
- [7] 刘斌,石任兵,周素蓉. 苦参汤有效部位总生物碱含量测定方法研究[J]. 北京中医药大学学报,2004,27(2):76-79.
- [8] 闫利华,金艳,冯学峰,等. 扶芳藤药材质量标准研究[J]. 中国中药杂志,2015,40(10):1877-1886.
- [9] Hasler A, Sticher O, Meier B. Identification and determination of the flavonoids from *Ginkgo biloba* by high-performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr A,1992,605(1):41-48.

[责任编辑 邹晓翠]

藏族药榜嘎研究专题

藏族医药是中国医学宝库中一颗璀璨的明珠,位居我国四大民族医药之首,其理论独特、历史悠久、内容丰富、影响广泛、典籍浩瀚。藏族药尤其是植物药主要分布在青藏高原地区,其生长环境的独特性赋予了藏族药不可替代的疗效和医用价值。近年来,随着人们崇尚自然回归自然疗法,藏族药受到越来越多的关注和使用。但是,藏族药目前存在下列突出问题:藏族药材质量参差不齐、藏族药材资源的可持续利用难以保证、传统藏成药的评价和改造裹足不前,藏族药产业规模化程度不高。这些都源于藏族药普遍存在基础研究薄弱,药效物质基础不明确,质量控制水平低下,制剂工艺落后,作用机制不清楚等问题。因此,要促进藏医药的发展就必须开展其基础研究。自2010年起课题组选择藏医习用药材榜嘎为研究对象,在抗炎、抗病毒、抗氧化等活性追踪下对其化学成分进行了系统研究,阐明了其清热解毒的药效物质,并选择与其功效密切相关的成分为检测指标,制定了其质量控制标准。以后还将在此基础上对其体内过程、作用机制等开展研究。期望榜嘎的研究能为其他藏族药的研究起到一定的示范作用。