

芳香新塔花药材质量标准的研究

杨伟俊^{1,2*}, 何江¹, 满尔哈巴¹, 阿不都沙拉木¹, 毛燕¹, 于睿¹

(1. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004;

2. 新疆维吾尔药重点实验室, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的: 制定芳香新塔花药材的质量标准, 为该药用植物的资源开发和合理利用提供科学依据。方法: 生药学研究, 水分测定, 灰分测定, 薄层色谱法, 高效液相色谱法测定。结果: 对芳香新塔花的性状、显微特征、薄层特征进行了描述; 对总灰分、酸不溶性灰分和水分进行了测定; 高效液相色谱法测定金合欢素含量的线性范围为 1.168 ~ 12.848 mg · L⁻¹, 加样回收率为 100.87%, RSD 为 2.19%; 结论: 本质量控制方法可以用来评价芳香新塔花药材的质量。

[关键词] 芳香新塔花; 质量标准; 显微鉴别; 薄层色谱; 金合欢素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0065-04

Study on Quality Specification of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

YANG Wei-jun^{1,2*}, HE Jiang¹, Manerhaba¹, Abudushalamu¹, MAO Yan¹, YU Rui¹

(1. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China;

2. Key Laboratory of Xinjiang Uygur Medicine, Urumqi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** To provide scientific basis for the utilization and development of *Ziziphora clinopodioides* by setting up the quality control specification of *Z. clinopodioides*. **Method:** The pharmacognostical methods were applied, moisture and ash were determined. And the constituents were analyzed by TLC and HPLC. **Result:** The morphological, histological and TLC characters of *Z. clinopodioides* were observed. Content of total ash, acid-insoluble ash, and moisture were determined. The content of acacetin was determined by HPLC, with good linearity between 1.168-12.848 mg · L⁻¹. The average recovery of chrysophanol was 100.87%, and RSD was 2.19%, respectively. **Conclusion:** The method developed can be used for the quality control of *Z. clinopodioides*.

[Key words] *Ziziphora clinopodioides*; quality specification; microscopical identification; TLC; acacetin; HPLC

芳香新塔花 *Ziziphora clinopodioides* Lam. 为唇形科新塔花属植物, 系维吾尔医习用药材。生于砾石坡地及半荒漠草滩上。我国分布于新疆, 国外前苏联、蒙古亦有分布。味辛性寒, 具有疏散风热、清利头目、宁心安神、利水清热、壮骨强身、清胃消食之功能。主治感冒发热、目赤肿痛、头痛咽痛、心悸失眠等症^[1-2]。Suzan Ozturk 等^[3]的研究表明, 芳香新塔

花还具有抗菌活性。但是, 目前尚无芳香新塔花药材的质量标准研究, 限制了资源利用和开发。课题组长期致力于芳香新塔花资源及分类研究, 取得了积极成果。为更好的利用芳香新塔花资源, 建立了其质量标准。

1 材料

1.1 仪器 OLYMPUS CX31 型照相显微镜(日本奥林巴斯公司), LY-WN-HPCCD 型动态显微成像系统(成都励扬精密机电有限公司); BS110S 型电子天平(Sartorius); Millipore simplicity-185 超纯水器(美国密理博公司); KQ-100DE 型数控超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司); Shimadzu-LC 2010C 全自动液相色谱仪, Shimadzu CLASS-VP V6.14 SP1 数

[收稿日期] 2009-12-27

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技基础条件平台建设项目(PT0708); 新疆维吾尔药实验室课题(xjys0207-2008-03)

[通讯作者] * 杨伟俊, Tel: 0991-2320292, E-mail: wilfred3106@163.com

据工作站。

1.2 样品和试药 3 批芳香新塔花药材分别于 2008 年 8 月至 9 月采于新疆乌鲁木齐市南山天文台、乌鲁木齐市南山菊花台和新疆阿勒泰地区,由新疆药物研究所张彦福研究员鉴定为唇形科植物芳香新塔花 *Z. clinopodioides*,金合欢素对照品(实验室自制,纯度 >98%);高效液相用试剂均为色谱纯;其余试剂均为分析纯;水为纯蒸馏水。

2 方法和结果

2.1 性状鉴别 根粗壮,木质化。茎直立或斜向上,4 棱,紫红色,从基部分枝,密生向下弯曲的短柔毛。叶对生,腋间具数量不等的小叶;叶片宽椭圆形、卵圆形、长圆形、披针形或卵状披针形,长 0.6 ~ 2 cm,宽 3 ~ 10 mm,基部楔形延伸成柄,先端渐尖,全缘,两面具稀的柔毛,背面叶脉明显,具黄色腺点。花序轮伞状,着生在茎及枝条的顶端,集成球状,花梗长 2 ~ 3 mm;苞片小,叶状,边缘具稀疏的睫毛;花萼筒形,长 5 ~ 7 mm,外被白色的毛,里面喉部具白毛,萼齿 5 个,近相等,果期不靠合或稍开展;花冠紫红色,长约 10 mm,冠筒伸出萼外,内外被短柔毛,冠沿唇形,上唇直立,顶端微凹,下唇 3 裂,中裂片狭长,先端微刻,侧裂片圆形;雄蕊 4 个,仅前对发育,后对退化,伸出冠外;花柱先端 2 浅裂,裂片不相等。小坚果卵圆形。

2.2 显微结构

2.2.1 茎横切面 呈四棱形,表皮细胞 1 列,外被毛茸。皮层细胞 1 ~ 3 列,四角棱角角脊处有有厚角细胞,内皮层凯氏点明显。韧皮部较狭,形成层不明显,木质部较宽,导管单行径向排列。髓部薄壁细胞较大,中央常形成空隙。见图 1。

2.2.2 粉末显微鉴别 本品粉末黄绿色。多细胞非腺毛,2 ~ 6 个细胞,长 15 ~ 200 μm 。腺毛单头单柄,呈椭圆形,长 23 ~ 33 μm 。腺鳞直径 23 ~ 70 μm 。气孔直轴式,长轴约 30 μm ,短轴约 20 μm 。花粉粒圆形或椭圆形,直径 25 ~ 33 μm ,壁厚。叶肉细胞含草酸钙方晶。此外,有螺纹导管。见图 2。

2.3 薄层色谱鉴别 称取芳香新塔花药材粉末 2 g 置圆底烧瓶中,加甲醇 50 mL,回流提取 1 h,放冷,滤过,滤液浓缩至 5 mL,作为供试品溶液。再精密称取金合欢素对照品适量,加甲醇溶解,制成 0.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。分别吸取对照品溶液和供试品溶液各 5 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄

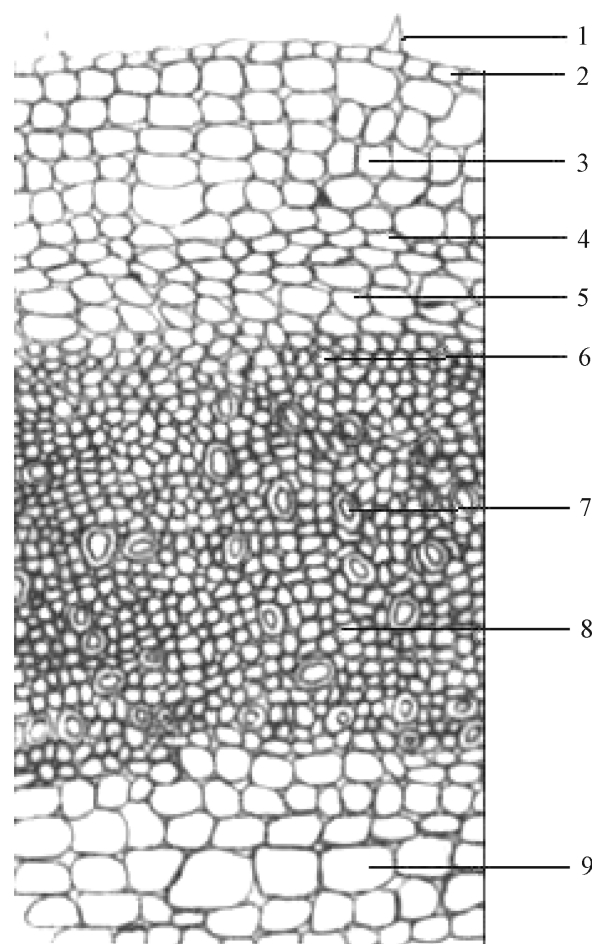


图 1 芳香新塔花茎横切面显微图

1. 毛茸;2. 表皮;3. 木栓层;4. 内皮;
5. 内皮层;6. 韧皮部;7. 导管;8. 木质部;9. 髓

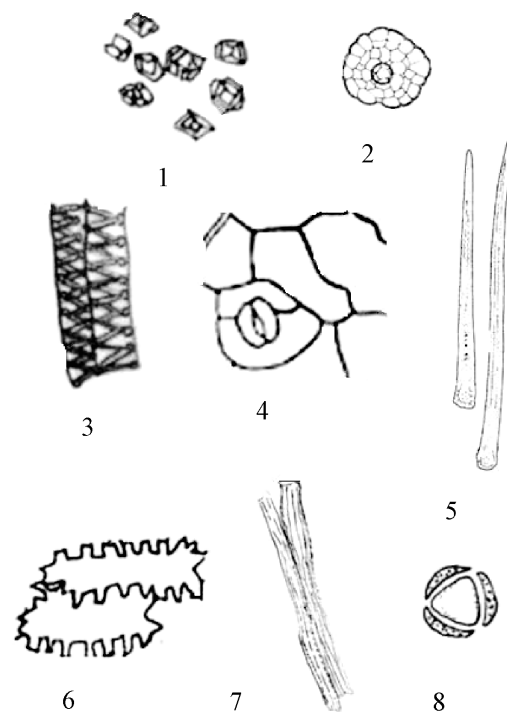


图 2 芳香新塔花全草粉末显微图

1. 草酸钙方晶;2. 腺鳞;3. 导管;4. 气孔;
5. 非腺毛;6. 花萼细胞;7. 纤维;8. 花粉粒

层板上,以三氯甲烷-甲醇(10:1)为展开剂,展开,展距为 10 cm,喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液,置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中与对照品在 R_f 值 0.65 处均有荧光斑点。

2.4 水分 按中国药典甲苯法^[4]测定水分。3 批样品水分测定结果见表 1。根据 3 批样品测定结果分析,测定结果最高值为 6.7%,平均值为 6.3%,故暂定水分检查限度不得超过 9.0%。

2.5 总灰分 按《中国药典》^[4]方法,对 3 批样品进行总灰分的测定,见表 1。3 批样品总灰分测定结果最高值为 11.7%,平均值为 10.5%,故暂定总灰分检查限度不得超过 14.0%。

2.6 酸不溶性灰分 按《中国药典》^[4]方法,对 3 批样品进行酸不溶性灰分的测定,见表 1。3 批样品酸不溶性灰分测定结果最高值为 3.5%,平均值为 3.3%,暂定酸不溶性灰分检查限度不得超过 6%。

表 1 芳香新塔花 3 批样品水分、总灰分、酸不溶性灰分测定结果 %

No.	水分	总灰分	酸不溶性灰分
1	6.4	11.7	3.5
2	6.7	9.4	3.4
3	6.0	10.4	3.1
平均值	6.3	10.5	3.3

2.7 含量测定^[5-6]

2.7.1 色谱条件 YMC-Pack ODS-A AA12S05-2546WT(4.6 mm × 250 mm, S-5 μm, 12 nm); 流动相 乙腈-1% 的冰醋酸水溶液(37:63); 检测波长 326 nm; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 柱温 35 °C; 进样量 10 μL。色谱分离结果见图 3。

2.7.2 线性关系考察 精密吸取金合欢素对照品(58.4 mg · L⁻¹)溶液 0.2, 0.6, 0.8, 1.2, 1.4, 2.2 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。分别精密吸取上述溶液各 10 μL 注入液相色谱仪。以对照品浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线。其回归方程为 $Y = 4.32 \times 10^4 X + 1.10 \times 10^4$, $r = 0.9999$ 。线性范围为 1.168 ~ 12.848 mg · L⁻¹。

2.7.3 供试品溶液制备 取本品粉末(过二号筛)1 g 精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 30 mL,浸泡 20 min,加热回流 1 h,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.7.4 精密度试验 精密称取芳香新塔花药材 1 g,依供试品溶液制备方法制备,同一供试品溶液,重复进样 6 次,每次进样 10 μL,注入液相色谱仪,测定色谱峰面积。测得金合欢素峰面积的 RSD 为 0.99%。

2.7.5 重复性试验 取同一批的芳香新塔花药材 6 份,每份 1 g,精密称定,依供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液,进样 10 μL,注入液相色谱仪,测得的 RSD 为 1.64%。

2.7.6 稳定性试验 同一批供试品,制成供试品溶液(按 2.7.3 项下制备),室温放置,于配置后 0, 2, 4, 8, 24, 36 h 测定峰面积,计算日内 RSD 为 1.13%,日间 RSD 为 0.11%。

2.7.7 回收率试验 精密称定已知含量的芳香新塔花药材约 0.5 g,共 10 份,1 份为空白样品,其余 3 份为 1 组,分别加入高、中、低 3 种浓度的对照品溶液(每 1 mL 含金合欢素 58.4 μg,加入量分别为 0.2, 0.4, 0.6 mL),按供试品溶液制备,测定。所得平均回收率为 100.87%,RSD 为 2.19%。见表 2。

表 2 金合欢素加样回收率试验

No.	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%
空白样品	0.023 86	0	0.023 86		
1-1	0.022 57	0.011 68	0.034 71	103.92	
1-2	0.022 35	0.011 68	0.034 25	101.88	102.97
1-3	0.022 26	0.011 68	0.034 30	103.10	
2-1	0.022 13	0.023 36	0.045 66	100.72	
2-2	0.021 95	0.023 36	0.044 88	98.14	98.73
2-3	0.021 86	0.023 36	0.044 60	97.33	
3-1	0.022 52	0.035 04	0.057 35	99.40	
3-2	0.022 53	0.035 04	0.058 27	102.01	100.92
3-3	0.022 22	0.035 04	0.057 73	101.35	

2.7.8 含量测定 分别取芳香新塔花药材,同前制

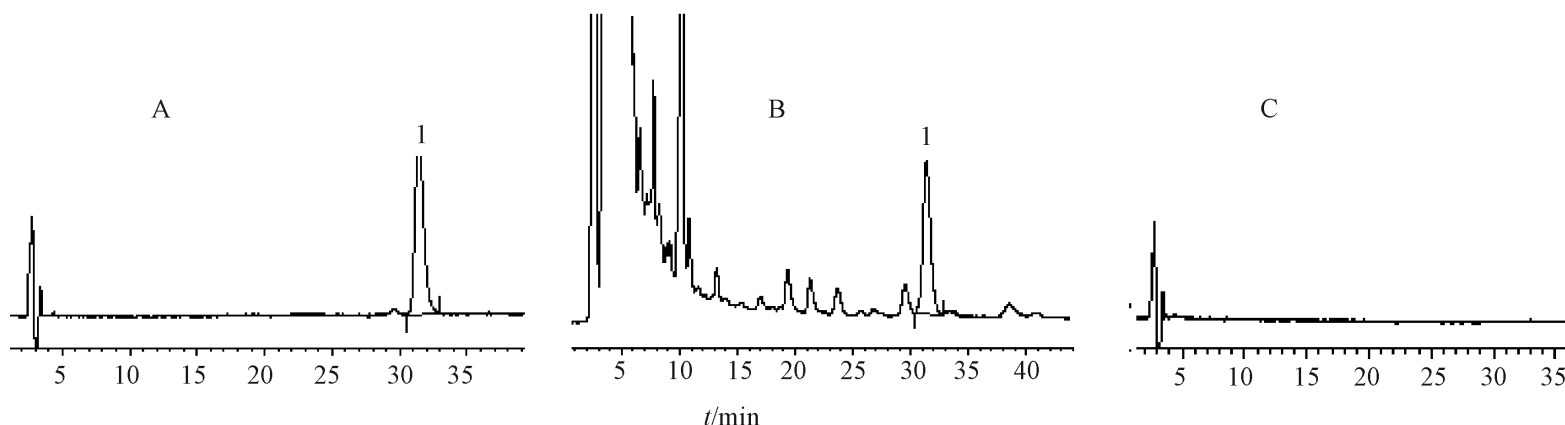


图 3 芳香新塔花中金合欢素的 HPLC 图
A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 金合欢素

备供试品溶液,分别精密吸取 10 μL ,注入高效液相色谱仪测定,根据测定结果,暂定芳香新塔花药材中金合欢素含量不低于 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结果见表 3。

表 3 不同批次药材中金合欢素含量测定 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

样品来源	产地	金合欢素
芳香新塔花(新疆)	乌鲁木齐南山天文台	0.0456
芳香新塔花(新疆)	乌鲁木齐南山菊花台	0.0455
芳香新塔花(新疆)	新疆阿勒泰地区	0.0474

3 讨论

叶肉细胞中含有草酸钙方晶及内皮层凯氏点明显,可作为芳香新塔花显微鉴别的重要依据。

新塔花属植物含挥发性成分的报道较多^[7],芳香新塔花全草含挥发油 0.8%~2%,主要为薄荷酮、胡薄荷酮和 2,2-二甲基乙酸环己醇酯^[8],故水分测定采用甲苯法。该药材含较多水分,采收时如不能充分晒干,导致含水量偏高,在贮存期时易发生霉变,影响质量,因此建立水分检查项。

文献记载,芳香新塔花生长于阿尔泰山、天山、准格尔西部山地、帕米尔高原及昆仑山一带^[9],课题组野外调查发现,其生长在 1 100 米以上,阳光充足的砾石坡地、半荒漠草地及沙滩上,故建立其总灰分及酸不溶性灰分检测指标,可以有效控制药材中泥沙和灰尘等杂质。

课题组前期研究了芳香新塔花的化学成分,从中分离得到金合欢素(5,7-二羟基-4-甲氧基黄酮),药理实验表明对心血管有较好的生物活性,因此以

金合欢素为对照品进行薄层检测以及含量测定,此方法简便易行,重复性好,为芳香新塔花药材质量标准的提高提供了定量依据。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局编委会. 中华本草[M]. 第十八卷. 上海:上海科学技术出版社,2005:209.
- [2] 徐新,巴哈尔古丽. 哈萨克药志[M]. 第一卷. 乌鲁木齐:民族出版社,2009:119.
- [3] Suzan Ozturk, Sezai Ercisli. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides* [J]. Food Control, 2007, 18 :535.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005: H,附录 K.
- [5] 李荣华,夏薇,吴坤,等. 蔬菜中芹菜素高效液相色谱测定[J]. 中国公共卫生,2007,23(7):894.
- [6] 来奕刚,徐娟华,蒋惠娣,等. HPLC法同时测定鸡肝散药材中3种黄酮苷元的含量[J]. 药物分析杂志,2006,26(10):1404.
- [7] Suzan Ozturk, Sezai Ercisli. The chemical composition of essential oil and in vitro antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Ziziphora persica* Bunge [J]. Ethnopharmacology, 2006(106):372.
- [8] 石峰,杨伟俊,顾政一,等. 芳香新塔花挥发油的化学成分分析[J]. 新疆中医药,2009,27(1):23.
- [9] 新疆植物志编辑委员会. 新疆植物志[M]. 第四卷. 乌鲁木齐:新疆科学技术出版社,2004:326.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国实验方剂学杂志》入编中文核心期刊信息

依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《中国实验方剂学杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2008年版(即第五版)之中国医学类的核心期刊。该核心期刊按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报部门对中文期刊的评估与订购、为读者导读提供参考。