

新疆一枝蒿的质量标准研究*

热依木古丽·阿布都拉,仲婕,佐艾热·艾孜江,阿吉艾克拜尔·艾萨

(中国科学院新疆理化技术研究所植物资源化学重点实验室,乌鲁木齐 830011)

摘要 目的 对新疆一枝蒿药材的水分、总灰分、药材鉴别和酮酸含量测定等方面进行研究,建立新疆一枝蒿药材的质量标准。方法 采用《中华人民共和国药典》2005年版一部附录 IX H 水分测定法中的烘干法和附录 IX K 灰分测定法中总灰分测定方法检查药材的水分和总灰分;采用附录 VI B 薄层色谱法建立定性鉴别一枝蒿药材的方法;采用高效液相色谱法(附录 VI D)测定新疆一枝蒿药材活性成分酮酸的含量。结果 新疆一枝蒿药材的含水量不得超过 8.0%,总灰分不得超过 16.0%;薄层色谱斑点清晰、专属性强;酮酸在 5.60~56.00 μg 范围内线性关系良好,回归方程 $Y=8.522\ 3X-6.150\ 7$, $r=0.997\ 2$,平均加样回收率为 99.7%, $\text{RSD}=0.25\%$ 。结论 该方法操作简便、准确快速、重复性好,有助于新疆一枝蒿药材的质量控制,可为药用植物资源的开发利用提供科学依据。

关键词 新疆一枝蒿;酮酸;色谱法,薄层;色谱法,高效液相

中图分类号 R29.08;R282.71;R284 **文献标识码** A **文章编号** 1004-0781(2011)09-1200-03

Quality Control of *Artemisia rupestris* L. from Xinjiang Province

Rahima ABDULLA, ZHONG Jie, Zulheyre EZIZ, Haji Ekber AISA (Xinjiang Key Laboratory of Plant Resources and Natural Products Chemistry, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT Objective To establish the quality standards for *Artemisia rupestris* L. from Xinjiang province by determining water content, total ash, crude material identification and rupestonic acid quantification. **Methods** Moisture and total ash were determined based on the procedures recorded in the Appendix IX H, IX K of pharmacopoeia, published in 2005. And the *Artemisia rupestris* L. was identified by using a thin layer chromatography (TLC) method (the Appendix VI B), and the bioactive component rupestonic acid was determined by HPLC (the Appendix VI D), respectively. **Results** The water contained in *Artemisia rupestris* L. was less than 8.0%, and the total ash was lower than 16.0%. The TLC spots were clear and specific; the rupestonic acid showed a good linear relationship at a range of 5.60–56.00 μg , with the regression equation as $Y=8.522\ 3X-6.150\ 7$, $r=0.997\ 2$ respectively. And the average recovery was 99.7% ($\text{RSD}=0.25\%$). **Conclusion** The method is easy, accurate, quick and reproducible, which is benefit for the quality control of *Artemisia rupestris* L., and providing scientific basis for development of *Artemisia rupestris* L.

KEY WORDS *Artemisia rupestris* L.; Rupestonic acid; TLC; HPLC

新疆一枝蒿(*Artemisia rupestris* L.)系菊科蒿属植物,主产于新疆维吾尔自治区,维吾尔语称“一孜乎艾曼尼”,是维吾尔医常用药材,民间用药历史悠久^[1],具有抗炎、解毒、抗癌、抗变态反应、健胃消食、活血化淤等作用;临床上常用于感冒、荨麻疹、咽炎、扁桃体炎、肝炎等疾病的治疗,对感冒和肝炎的疗效尤为显著^[2-3]。近年来,一枝蒿一直是新药开发研究的热点。

收稿日期 2010-11-12 修回日期 2011-04-29

基金项目 “中国科学院、国家外国专家局创新团队国际合作伙伴计划”资助;新疆维吾尔自治区科技计划项目(基金编号:200910105);“国家药品标准提高行动计划”专项资金(基金编号:773)

作者简介 热依木古丽·阿布都拉(1976-),女,维吾尔族,新疆人,助理研究员,硕士,研究方向:民族药学。电话:0991-3838635, E-mail: rahima@ms.xjb.ac.cn。

通讯作者 阿吉艾克拜尔·艾萨,维吾尔族,研究员,教授,博士生导师,研究方向:民族药学。电话:0991-3835679, E-mail: haji@ms.xjb.ac.cn。

随着对一枝蒿药材需求的不断增大,导致市场上野生一枝蒿供不应求,随之开始大面积栽培一枝蒿。目前,对新疆一枝蒿药材的化学成分、药理作用等方面研究较多。而药材质量标准方面,除了在《维吾尔药志》有性状和显微描述外,尚无比较全面的报道。因此,笔者对新疆一枝蒿药材进行了水分、总灰分及含量测定,规定其限度,并建立了新疆一枝蒿药材的薄层色谱鉴别方法,同时以新疆一枝蒿活性成分酮酸为对照品,采用高效液相色谱法(HPLC)对16批不同产地的药材进行含量测定,建立了一种稳定、可靠的药材质量标准。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Dionex Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(美国);TCC-3000 自动进样器;UVD-3100 紫外检测器;Chromeleon 色谱工作站,四元溶剂系统、在线脱气机、柱温箱;Phenomenex Synergi Fusion-RP (4.6 mm×250 mm,4 μm) 色谱柱;岛津 UV-2550 型紫外可见分光光度计(日本);Buchi R-210 型旋转蒸发器(瑞士);ESJ180-4 型万分之一电子天平(沈阳龙腾电子有限公

司);SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂);SK2200LH 型超声波清洗机;HSGF₂₅₄型薄层层析硅胶板(青岛海洋化工厂)。

1.2 试剂 甲醇、乙腈(色谱纯,Fisher 公司);其他试剂均为分析纯;水为二次重蒸水;酮酸标准样品为本实验室从新疆一枝蒿中制备的标准样品(批号:20081022),HPLC 法检测纯度为 99.66%;新疆一枝蒿药材 16 批次,收集于不同产地,由新疆西域药业有限公司提供,经中国科学院新疆生态地理研究所克里木教授鉴定为 *Artemisia rupestris* L.,符合卫生部药品标准中药材第 1 册(1991 年)有关各项规定。

2 方法与结果

2.1 水分测定 分别取 3 批供试品适量,按 2005 年版《中华人民共和国药典》附录 IX H 第一法规定测定^[4],水分含量结果为 5.87%~7.11%,平均值为 6.59% (n=3)。暂定水分应不得超过 8.0%。结果见表 1。

2.2 总灰分测定 分别取 3 批供试品适量,按《中华人民共和国药典》附录 IX K 规定测定总灰分含量^[4],结果为 7.65%~13.33%,平均值为 10.50% (n=3)。因药材总灰分各地差异比较大,暂定总灰分不得超过 16%。结果见表 1。

表 1 新疆一枝蒿水分、总灰分测定结果

Tab. 1 Determination of moisture and total ash in *Artemisia rupestris* L. % , n=3

编号	水分	总灰分
1	6.80	13.33
2	5.87	7.65
3	7.11	10.53
平均值	6.59	10.50

2.3 定性鉴别 取本品粉末 2.5 g,加甲醇 100 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 溶解,作为供试品溶液。另取酮酸对照品,加甲醇制成每毫升含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》附录 VI B)实验,吸取上述两种溶液 5 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄薄层板上,以石油醚-乙酸乙酯-冰醋酸(20:10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显示相同颜色的荧光斑点。结果见图 1。

2.4 含量测定

2.4.1 对照品溶液的制备 精密称取酮酸对照品 0.005 6 g,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,再精密量取此溶液 1 mL,置于 10 mL 量瓶

中,加甲醇至刻度,摇匀,即得(每毫升含酮酸 56 μ g)。

2.4.2 供试品溶液的制备 取新疆一枝蒿药材粉末(过孔径 0.85 mm 药筛)约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 100 mL,超声处理(功率 250 W,频率为 40 kHz) 10 min,放冷,过滤,置于 100 mL 量瓶中,甲醇定容,摇匀,即得。

2.4.3 测定波长的选择 经紫外扫描,化合物一枝蒿酮酸在 245 nm 处有最大吸收,所以选定 245 nm 作为检测波长。



图 1 不同采集地的新疆一枝蒿薄层色谱图

1. 昌吉;2. 新湖农场;3. 南山板房沟;4. 对照品

Fig. 1 TLC chromatogram of *Artemisia rupestris* L. from different habitats

1. Changji; 2. Xinhu farm ; 3. Nanshan Banfanggou; 4. reference

2.4.4 色谱条件 Phenomenex Synergi C₁₈(4.6 mm $\times$ 250 mm,4 μ m) 色谱柱;流动相为甲醇-0.2% 甲酸水溶液(67:33);柱温 35 $^{\circ}$ C;流速为 1 mL $\cdot$ min⁻¹;检测波长 245 nm;进样量 10 μ L;检测时间 20 min。理论板数按酮酸峰计算应不低于 2 000。在此条件下,分别吸取对照品、供试品溶液各 10 μ L,注入色谱仪,结果色谱图保留时间适中,分离度较好,见图 2。

2.4.5 线性关系考察 精密吸取“2.4.1”配制的酮酸对照品溶液 1.0,2.0,4.0,6.0,8.0,10.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,分别取稀释液 10 μ L,进样,按上述色谱条件测定,以峰面积对酮酸进样量做线性回归,回归方程为: $Y = 8.522\ 3X - 6.150\ 7$, $r = 0.997\ 2$ 。结果表明酮酸在 5.60~56.00 μ g 范围内与峰面积有良好的线性关系。

2.4.6 精密度实验 精密吸取按“2.4.2”项配制的供试品溶液,重复进样 6 次,每次 10 μ L,按上述色谱

条件,测峰面积,以峰面积计算 RSD 为 1.02% ($n = 6$),结果表明方法精密度良好。

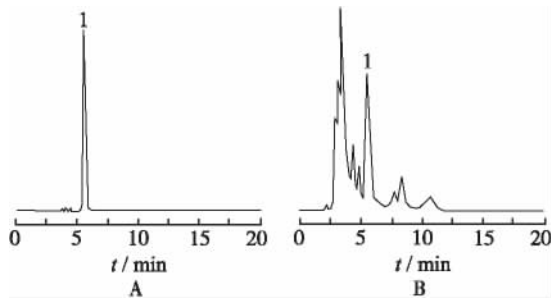


图2 新疆一枝蒿对照品与药材的 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 一枝蒿药材; 1. 酮酸

Fig.2 HPLC chromatograms of reference and *Artemisia rupestris* L.

A reference; B. *Artemisia rupestris* L.; 1. rupestonic acid

2.4.7 稳定性实验 取供试品溶液,放置室温,分别在 0,2,4,6,8,10,12 h 进样测定酮酸峰面积,以峰面积计算,RSD 为 0.72% ($n = 7$),结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.4.8 重复性实验 取一枝蒿药材粉末 6 份,每份约 1g,按“2.4.2”项配制,测定酮酸含量,结果酮酸平均含量为 5.234 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 为 0.57%,结果表明方法重复性良好。

2.4.9 加样回收率实验 精密称取药材粉末 9 份,每份 0.5 g,置于 25 mL 量瓶中,分 3 组,每组分别加入 1.4,1.7,2.0 mL 酮酸对照品溶液(每毫升含酮酸 560 μg),照“2.4.2”项制备供试品溶液,测定含量并计算回收率,酮酸的加样回收率 99.8%,RSD 为 0.25%,结果见表 2。

表2 酮酸加样回收率测定结果

Tab.2 Determination results of recovery of rupestonic acid

编号	取样量/ g	样品含量 μg	加入量 μg	实测量 μg	回收率/ %	平均回收 率/%
1	0.518 7	1 001	784	1 782	99.6	
2	0.533 9	1 030	784	1 816	100.2	100.0
3	0.501 6	968	784	1 752	99.9	
4	0.529 4	1 022	952	1 965	99.1	
5	0.516 8	997	952	1 956	100.6	99.3
6	0.514 1	992	952	1 942	99.7	
7	0.519 6	1 003	1 120	2 110	98.8	
8	0.509 4	983	1 120	2 098	99.6	99.4
9	0.514 3	993	1 120	2 111	99.8	

2.4.10 含量测定 取 16 批药材,按“2.4.2”项制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,以外标法计算含量,取其平均值,结果酮酸平均含量 3.41 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。见表 3。

表3 样品来源与含量测定结果

Tab.3 Sources and content determination of samples

编号	产地	取样量/ g	峰面积	酮酸含量/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	昌吉	1.000 2	15.847 0	1.97
2	新湖农场	1.000 8	6.360 6	0.79
3	南山板房沟	1.001 0	50.029 6	6.24
4	昌吉	1.000 2	27.861 9	3.48
5	昌吉	1.001 1	35.387 6	4.55
6	昌吉	1.002 0	43.137 6	5.55
7	昌吉	1.000 8	29.482 5	3.68
8	昌吉	1.000 2	29.818 8	3.72
9	新湖	1.001 3	27.902 8	3.48
10	新湖	1.001 1	27.277 4	3.40
11	新湖	1.001 1	32.303 8	4.03
12	新湖	1.001 2	22.078 6	2.75
13	富蕴	1.002 2	42.342 7	5.28
14	板房沟	1.001 5	21.139 7	2.65
15	富蕴(野生)	1.000 7	15.601 4	1.95
16	木垒(野生)	1.003 4	8.390 9	1.11

根据 16 批不同采购地的新疆一枝蒿药材测定结果,新疆一枝蒿药材中酮酸的含量为 0.079% ~ 0.624%。通过实验发现,药材采收地不同,酮酸含量差别也比较大,因此暂定药材含酮酸应不得少于 0.06%。

3 讨论

药材中所含水分和总灰分的高低,直接影响药材在储存过程中的质量,故笔者对新疆一枝蒿的水分作了限度检查。为了控制药材的纯度,因而对其进行了总灰分限度的检查。

酮酸是新疆一枝蒿中活性最强的一种倍半萜类成分,因此,建立了新疆一枝蒿中酮酸的 HPLC 法含量测定方法和薄层色谱鉴别方法。并对 16 种不同采购地的新疆一枝蒿进行了检测,结果含量差异比较大。该方法专属性强、操作简便,结果可靠,重复性好,可有效控制新疆一枝蒿药材及其成药的质量。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.09.030

参考文献

- [1] 刘勇民,刘伟新,沙吾提·伊克木,等.维吾尔药志 [M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:9.
- [2] 刘勇民.中草药丛书一枝蒿 [M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,1986:100-101.
- [3] 斯拉甫,阿不都热依木,古力娜,等.新疆一枝蒿提取物保肝作用的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志,2002,22 (2):126-128.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京:化学工业出版社,2005:12.