

# 藏药菥蓂子的定性、定量方法研究<sup>Δ</sup>

宋文静<sup>1\*</sup>, 张焯<sup>2</sup>, 骆桂法<sup>2#</sup>, 海平<sup>2</sup>, 郭全兴<sup>2</sup>(1.青海省心脑血管病专科医院药剂科, 西宁 810012; 2.青海省药品检验检测院藏药室, 西宁 810003)

中图分类号 R932;R917;R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)13-1816-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.13.18

**摘要** 目的:建立藏药菥蓂子的定性定量控制方法。方法:采用薄层色谱、高效液相色谱分别鉴定及测定15批菥蓂子中的黄酮类成分异牡荆素、当药黄素和硫代葡萄糖苷类成分黑芥子苷。两类成分薄层色谱鉴别的固定相分别为聚酰胺薄膜、高效硅胶GF<sub>254</sub>,展开剂分别为三氯甲烷-甲醇-冰醋酸(11:1:1, V/V/V)、乙酸乙酯-甲醇-三乙胺(4:5:0.5, V/V/V)。在异牡荆素、当药黄素含量测定的色谱条件中,色谱柱为CAPCELL PAK MG II C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.4%冰醋酸溶液,梯度洗脱,流速为1.0 mL/min,检测波长为336 nm;在黑芥子苷含量测定的色谱条件中,色谱柱为CAPCELL PAK MGII C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.02 mol/L四丁基硫酸氢铵水溶液(15:85, V/V, pH 6),流速为1.0 mL/min,检测波长为227 nm。结果:在薄层色谱鉴别图谱中,供试品分别检测出与异牡荆素、当药黄素及黑芥子苷对照品相应的斑点;异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷检测质量浓度线性范围分别为1.26~79.00、1.21~75.38、12.80~640.00 μg/mL(*r*均≥0.999 5),检测限分别为0.09、0.12、0.15 μg/mL,定量限分别为0.39、0.43、0.54 μg/mL;精密性、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均≤2.0%(*n*=6),加样回收率分别为99.1%、97.0%、98.1%,RSD分别为1.9%、1.8%、1.8%(*n*=6)。15批菥蓂子药材中异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷含量范围分别为0.013~0.090、0.020~0.130、18.92~40.75 mg/g。结论:建立的质量控制方法操作简便,重复性及稳定性良好,可用于藏药菥蓂子的质量控制。

**关键词** 藏药;菥蓂子;异牡荆素;当药黄素;黑芥子苷;含量测定;薄层色谱法;高效液相色谱法

## Qualitative and Quantitative Study of Tibetan Medicine *Thlaspi semen*

SONG Wenjing<sup>1</sup>, ZHANG Wei<sup>2</sup>, LUO Guifa<sup>2</sup>, HAI Ping<sup>2</sup>, GUO Quanxing<sup>2</sup> (1.Dept. of Pharmacy, Qinghai Cardiovascular Disease Special Hospital, Xining 810012, China; 2.Lab of Tibetan Medicine, Qinghai Institute for Drug Control, Xining 810003, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the qualitative and quantitative control method of Tibetan medicine *Thlaspi semen*. METHODS: TLC and HPLC method were used to identify and determine flavonoids isovitexin, swertisin and glucosinolates sinigrin from 15 batches of *T. semen*. The stationary phases identified by TLC of flavonoids and glucosinolates were polyamide film and high performance silica gel GF<sub>254</sub>. The developing agents were trichloromethane-methanol-glacial acetic acid (11:1:1, V/V/V) and ethyl acetate-methanol-triethylamine (4:5:0.5, V/V/V). In chromatogram condition of content determination of isovitexin and swertisin, the separation was performed on CAPCELL PAK MG II C<sub>18</sub> column with mobile phase composed of acetonitrile-0.4% glacial acetic acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 336 nm. In chromatogram condition of content determination of sinigrin, the separation was performed on CAPCELL PAK MG II C<sub>18</sub> column with mobile phase composed of acetonitrile-0.02 mol/L tetrabutylammonium hydrogen sulfate (15:85, V/V, pH 6) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 227 nm. RESULTS: In TLC identification chromatogram, spots corresponding to

[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(14):210-218.

[13] FU X, WANG Z, LI L, et al. Novel chemical ligands to ebola virus and marburg virus nucleoproteins identified by

Δ 基金项目:青海省科技计划项目(No.2017-ZJ-Y40、2017-ZJ-772、2018-ZJ-T06)

\* 主管药师。研究方向:临床药学、药物分析。电话:0971-6250659。E-mail:32682484@qq.com

# 通信作者:主任药师,硕士。研究方向:药物分析、中藏药质量标准。电话:0971-8232419。E-mail:luoguifa-zys@163.com

combining affinity mass spectrometry and metabolomics approaches[J]. *Sci Rep*, 2016. DOI:10.1038/srep29680.

[14] 狄艳琴,关晓清.中药黄芩药理的临床作用分析[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(103):238-240.

[15] 卞晴晴,李素云,马锦地,等.基于现代名老中医经验的感冒病因病机及证素规律研究[J].中国中医药现代远程教育,2018,16(9):45-47.

(收稿日期:2018-12-23 修回日期:2019-03-06)

(编辑:唐晓莲)

isovitexin, swertisin and sinigrin control were detected in test samples. The linear ranges of isovitexin, swertisin and sinigrin were 1.26-79.00, 1.21-75.38, 12.80-640.00  $\mu\text{g/mL}$ , respectively (all  $r \geq 0.999 5$ ). The limits of detection (LODs) were 0.09, 0.12, 0.15  $\mu\text{g/mL}$ , and limits of quantitation (LOQs) were 0.39, 0.43, 0.54  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and reproducibility tests were all lower than 2.0% ( $n=6$ ). The recoveries were 99.1%, 97.0% and 98.1%, and RSDs were 1.9%, 1.8%, 1.8% ( $n=6$ ), respectively. The contents of isovitexin, swertisin and sinigrin in 15 batches of *T. semen* were 0.013-0.090, 0.020-0.130 and 18.92-40.75 mg/g, respectively. CONCLUSIONS: Established quality control method is simple, reproducible and stable, and can be used for the quality control of Tibetan medicine *T. semen*.

**KEYWORDS** Tibetan medicine; *Thlaspi semen*; Isovitexin; Swertisin; Sinigrin; Content determination; TLC method; HPLC method

菥蓂子系常用藏药材,藏文名“寨卡”,为十字花科植物菥蓂的干燥成熟种子,一年生草本植物,藏医常用于清肺热、肾热及健胃,主治肺热、咳嗽、肾热<sup>[1]</sup>。在公元8~9世纪创作的藏医药名著《月王药诊》<sup>[2]</sup>和《医学四续》<sup>[3]</sup>中均有菥蓂子配方使用的记录。清代藏医药著作《晶珠本草》<sup>[4]</sup>、《蓝琉璃》<sup>[5]</sup>等称菥蓂(子)为“折嘎哇”,记录其:生长在松软的土地及田间;叶浓绿而厚,茎似竹而枝多,有光泽,花小,白色,果实似小手鼓,种子小,红紫色,表面有明显的斑点和花纹;味辛,性润,有蒜味;清肺热、肾热,治肺病、肾病;开胃,燥四肢黄水(即四肢关节肿胀、疼痛等<sup>[6]</sup>),治培根木布病、黄水病<sup>[7]</sup>。《神农本草经》中描述其味辛、微温,主明目、目痛泪出,除痹,补五脏,益精光<sup>[8]</sup>。

菥蓂广布于全国各省区,生于海拔4 000 m以下的山道路旁、沟边、田畔及山谷草地中,在亚洲、欧洲、非洲北部均有分布。从植物分类学角度看,还存在西藏菥蓂、新疆菥蓂、四川菥蓂、山菥蓂、云南菥蓂等同属近缘品种,但由于菥蓂分布较广,资源丰富,基原植物目前已收录了菥蓂这一个种<sup>[9]</sup>。

菥蓂子现收录于1995年版《卫生部药品标准》1995年版藏药第一册<sup>[1]</sup>,虽然作为数个复方制剂的组方药材,但其质量标准较不完善,标准中仅有基原、性状、理化鉴别项,缺乏质控指标,质量控制水平不佳。菥蓂子现已广泛用于临床,藏医常用组方有十三味菥蓂丸(胶囊)、二十八味槟榔丸和十九味草果散等。根据原国家药品监督管理局数据系统查询得知,十三味菥蓂丸(胶囊)、二十八味槟榔丸已批准上市生产,生产企业分别为14、3家。另据笔者的调查,十九味草果散在青海省海西州蒙藏医院、玉树州称多县藏医院等医疗机构中作为医院制剂使用。目前对该药材质量控制方法的研究少见报道,菥蓂子主要含有黄酮类化合物、硫代葡萄糖苷(如黑芥子苷)、芥子酶、挥发油、吲哚、有机酸、糖、微量元素等多类活性物质<sup>[10-11]</sup>。其中异牡荆苷、当药黄素为菥蓂子中目前已知的主要黄酮类化合物,另有荳蔻苷、木犀草素、新橙皮苷、芹菜素、香叶木素等,大部分具有较强的抗氧化活性,具有广谱抑菌消炎和抗毒素的作用<sup>[12]</sup>;黑芥子

苷等硫代葡萄糖苷类成分具有调节内分泌、抗肿瘤、抗氧化的生物活性<sup>[13]</sup>。各活性成分的作用与菥蓂子具有抗氧化、抗毒素、抗菌、抗癌等作用的报道<sup>[14]</sup>相符。

在菥蓂子的质量控制方面,目前主要有陈玉等<sup>[15-16]</sup>建立了高效液相色谱法测定其中黑芥子苷的含量的方法,钱宇等<sup>[17-18]</sup>采用二硝基水杨酸(DNS)比色法测定了菥蓂子中还原糖、蔗糖及多糖的含量。在以上报道中,质控指标较单一,不能全面控制药材质量。故在本试验中,笔者采用薄层色谱法和高效液相色谱法对药材中的黄酮类成分<sup>[19]</sup>异牡荆素、当药黄素及硫代葡萄糖苷类成分<sup>[20]</sup>黑芥子苷建立定性和定量质控方法,以期更为科学、更全面地控制该药材质量提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Linomat 5 半自动薄层点样仪、TLC Visualizer 薄层色谱数码成像系统、winCATS 色谱工作站(瑞士卡玛公司);LC 20T 高效液相色谱仪,包括SPD-M 20A 光电二极管阵列检测器、LCsolution 色谱工作站(日本岛津公司);e 2695 高效液相色谱仪,包括2998 光电二极管阵列检测器、Empower 3 色谱工作站(美国沃特世公司);BSA 224 S-CW 型电子天平、XS 105DU 型电子天平(德国赛多利斯公司);Milli-Q 超纯水系统(德国默克密理博公司);Q250DE 超声波清洗器(昆山舒美超声仪器有限公司);DK-S16 恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司);聚酰胺薄膜(浙江台州四甲生化塑料厂,批号:20170122,规格:10 cm×20 cm);HPTLC Silica gel 60 型硅胶GF<sub>254</sub> 高效薄层色谱板(德国默克公司,规格:10 cm×20 cm)。

### 1.2 药品与试剂

15批菥蓂子药材,8批于2017年5-8月采集于青海省海北州门源县、海东市互助县等地区,7批为市售购买样品,所有样品均经青海省药品检验检测院骆桂法主任药师鉴定为十字花科菥蓂属植物菥蓂的干燥成熟种子,即为菥蓂子;黑芥子苷对照品(北京世纪奥科生物技术有限公司,批号:130201,纯度:≥98%);异牡荆素对照品(批号:2246,纯度:≥99%)、当药黄素对照品(批号:4039,纯度:≥99%)均购自上海诗丹德生物技术有限公

司;甲醇、乙腈均为色谱纯(德国默克公司);乙酸乙酯、冰醋酸等其余试剂均为分析纯(西陇科学股份有限公司);水为超纯水。药材来源信息详见表1。

表1 菥蓂子药材样品来源

Tab 1 Sample source of *T. semen*

编号	采集/购买时间	采集地/购买来源
S1	2017-05-10	海东市乐都县
S2	2017-05-20	西宁市大通县鹞子沟
S3	2017-05-22	西宁市湟中县多巴镇
S4	2017-05-24	海东市互助县南门峡
S5	2017-06-14	海北州门源县
S6	2017-06-15	海北州门源县浩门农场
S7	2017-06-18	西宁市湟源县城关镇
S8	2017-06-24	西宁市大通县
S9	2017-07-10	西藏自治区藏药厂
S10	2017-07-12	西藏自治区藏医学院
S11	2017-07-20	西宁市八一路药市
S12	2017-08-11	西宁市八一路药市
S13	2017-08-15	青海省通天河藏药制药有限公司
S14	2017-08-20	甘南佛阁藏药有限公司
S15	2017-08-22	青海普兰特制药有限公司

## 2 方法与结果

### 2.1 样品中异牡荆素、当药黄素的薄层色谱鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 称取菥蓂子药材 30 g,粉碎,过 50 目筛;精密称取药材粉末 2.0 g,置于锥形瓶中,加入 60% 乙醇溶液 50 mL,置于 90 °C 水浴中加热回流 1 h,过滤;滤液浓缩至无醇味(约剩 8~10 mL),再加水 10 mL,搅匀,用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20 mL,弃去水液,合并乙酸乙酯液,减压浓缩得到浸膏。然后取浸膏加甲醇 2 mL 使溶解,即得。

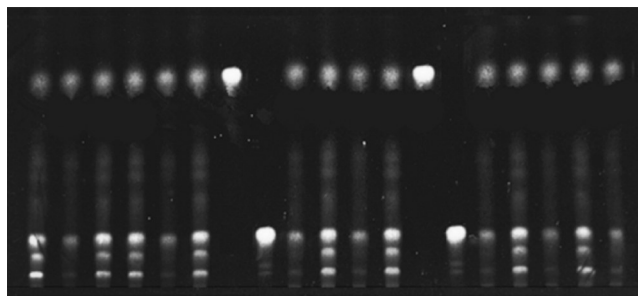
2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取当药黄素、异牡荆素对照品 5.08、5.12 mg,分别置于 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,即得。

2.1.3 色谱条件 薄层板:聚酰胺薄膜;展开剂:三氯甲烷-甲醇-冰醋酸(11:1:1, V/V/V);显色剂:20 g/L 的三氯化铝乙醇溶液;点样量:对照品溶液 2 μL,供试品溶液 4 μL。

2.1.4 鉴别结果 按照“2.1.1”项下方法分别制备 15 批次菥蓂子药材供试品溶液。分别吸取供试品溶液及“2.1.2”项下异牡荆素、当药黄素对照品溶液,注入半自动薄层点样仪,按照“2.1.3”项下色谱条件点样、展开,晾干,喷以质量浓度为 20 g/L 的三氯化铝乙醇溶液,晾干,置于 366 nm 波长紫外光灯下检视并拍照。结果,在 15 批次菥蓂子供试品薄层色谱中,在与当药黄素、异牡荆素对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝色荧光斑点,其平均比移值分别为 0.18、0.72( $n=15$ ),色谱图见图 1。

### 2.2 样品中黑芥子苷薄层色谱鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备 称取菥蓂子药材 30 g,粉碎,过 50 目筛;精密称取药材粉末 1.5 g,置于锥形瓶中,



S1 S2 S3 S4 S5 S6 1 2 S7 S8 S9 S10 1 2 S11 S12 S13 S14 S15

注:S1~S15.供试品;1.当药黄素对照品;2.异牡荆素对照品

Note: S1-S15. test samples; 1. swertisin control; 2. isovitexin control

图1 当药黄素、异牡荆素薄层色谱图

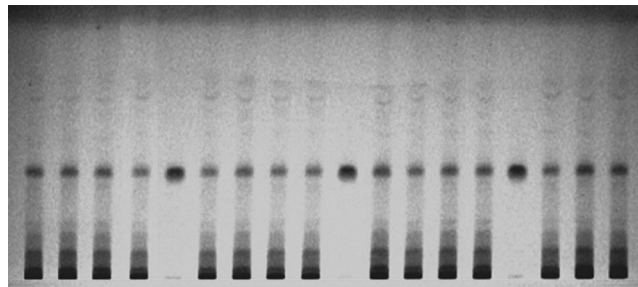
Fig 1 TLC chromatogram of swertisin and isovitexin

加入 25 mL 甲醇,超声处理(功率:250 W,频率:50 kHz) 30 min,静置至室温,滤过,滤液减压干燥至近干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 5 mL 棕色量瓶中,加甲醇至刻度,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取黑芥子苷对照品 20.38 mg,置于 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,即得。

2.2.3 色谱条件 薄层板:高效硅胶 GF<sub>254</sub>薄层板;展开剂:乙酸乙酯-甲醇-三乙胺(4:5:0.5, V/V/V);点样量:对照品溶液 10 μL,供试品溶液 10 μL。

2.2.4 鉴别结果 按照“2.2.1”项下方法分别制备 15 批次菥蓂子药材供试品溶液。分别吸取供试品溶液及“2.2.2”项下黑芥子苷对照品溶液,注入半自动薄层点样仪,按照“2.2.3”项下色谱条件点样、展开,晾干,置于 254 nm 紫外光灯下检视并拍照。结果,在 15 批次菥蓂子供试品薄层色谱中,在与黑芥子苷对照品色谱相应的位置上,显相同的黑色荧光猝灭斑点,其平均比移值分别为 0.42( $n=15$ ),色谱图见图 2。



S1 S2 S3 S4 1 S5 S6 S7 S8 1 S9 S10 S11 S12 1 S13 S14 S15

注:S1~S15.供试品;1.黑芥子苷对照品

Note: S1-S15. test samples; 1. sinigrin control

图2 黑芥子苷薄层色谱图

Fig 2 TLC chromatogram of sinigrin

### 2.3 含量测定

2.3.1 异牡荆素、当药黄素色谱条件 色谱柱:CAP-CELL PAK MG II C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:

乙腈(A)-0.4%冰醋酸溶液(B),梯度洗脱;流速:1.0 mL/min;检测波长:336 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。流动相梯度洗脱程序见表2。

表2 流动相梯度洗脱程序

Tab 2 Gradient elution program of mobile phase

时间, min	A(乙腈), %	B(0.4%冰醋酸溶液), %
0~10	5→15	95→85
10~30	15→25	85→75
30~60	25→50	75→50

2.3.2 黑芥子苷色谱条件 色谱柱:CAPCELL PAK MG II C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.02 mol/L四丁基硫酸氢铵水溶液(三乙胺调pH至6, 15:85, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:227 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。

2.3.3 溶液的制备 (1)对照品溶液。精密称取异牡荆素、当药黄素对照品 15.82、15.08 mg,置于25 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,制成异牡荆素、当药黄素质量浓度分别为0.632、0.603 mg/mL的混合溶液,作为1号对照品贮备溶液;精密吸取上述溶液加入甲醇稀释40倍,制成质量浓度分别为15.8、15.1 μg/mL的混合溶液,作为1号对照品溶液。

精密称取黑芥子苷对照品 16.02 mg,置于25 mL棕色量瓶中,加水溶解并定容至刻度,制成黑芥子苷质量浓度为0.640 mg/mL的溶液,作为2号对照品贮备溶液;精密吸取上述溶液加水稀释5倍,制成质量浓度为128.0 μg/mL的溶液,作为2号对照品溶液。

(2)供试品溶液。参照文献方法<sup>[15,21]</sup>。称取菥蓂子药材 30 g,粉碎,过50目筛;精密称取药材粉末约1.5 g,置于锥形瓶中,精密加入50 mL 60%乙醇溶液,称定质量;置于90 ℃水浴中加热回流2 h,静置至室温,再称定质量,用60%的乙醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过;滤液浓缩至无醇味(约剩8~10 mL),加水10 mL,搅匀,用乙酸乙酯振摇提取2次,每次20 mL;弃去水液,合并乙酸乙酯液,减压干燥至近干;残渣加甲醇适量使溶解,转移至5 mL棕色量瓶中,加甲醇定容至刻度,滤过,取续滤液,即得1号供试品溶液。

再精密称取药材粉末约0.5 g,置于锥形瓶中,精密加入40%乙醇溶液50 mL,称定质量,置于90 ℃水浴中加热回流45 min,静置至室温;再称定质量,用40%乙醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 mL置于10 mL量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得2号供试品溶液。

2.3.4 系统适用性试验 分别精密吸取“2.3.3”项下1号、2号对照品溶液及1号、2号供试品溶液各10 μL,分别按“2.3.1”和“2.3.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷在各相应检测

条件下均与其他成分完全分离,各成分色谱峰之间及与相邻色谱峰之间分离度均>1.5,其他成分对待测成分的测定未见干扰。理论板数以异牡荆素峰计不低于6 000,以黑芥子苷峰计不低于3 000,各溶液的色谱图见图3。

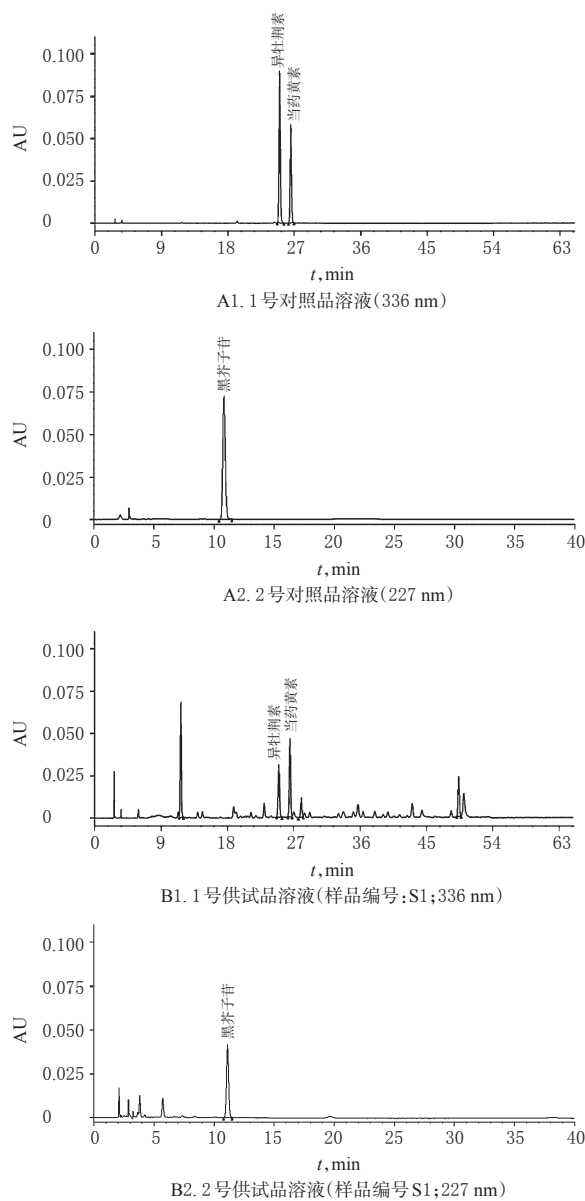


图3 高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms

2.3.5 线性关系考察 精密吸取“2.3.3”项下1号对照品贮备溶液0.2、0.5、1.2、2.5、5.0、12.5 mL,分别置于100 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀;精密吸取“2.3.3”项下2号对照品贮备溶液0.2、0.4、1.0、3.0、6.0、10.0 mL,分别置于10 mL量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,制成异牡荆素、当药黄素和黑芥子苷的系列质量浓度溶液。分别按“2.3.1”和“2.3.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,得到3种成分的线性关系结果。结果表明,3种成分在各检测质量浓度范围内与其峰面积

均呈良好的线性关系,详见表3。

表3 3种成分的线性关系及检测限、定量限

Tab 3 Linear ranges, LODs and LOQs of 3 components

待测成分	回归方程	线性范围, $\mu\text{g/mL}$	$r$	检测限, $\mu\text{g/mL}$	定量限, $\mu\text{g/mL}$
异牡荆素	$y=3.527x-3.535$	1.26~79.00	0.999 8	0.09	0.39
当药黄素	$y=2.819x-8.043$	1.21~75.38	0.999 7	0.12	0.43
黑芥子苷	$y=885.412x-2.970$	12.80~640.00	1.000 0	0.15	0.54

2.3.6 检测限与定量限考察 分别量取“2.3.3”项下1、2号对照品溶液适量,倍比稀释,分别按“2.3.1”和“2.3.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。当信噪比为3:1时,得检测限;当信噪比为10:1时,得定量限,结果详见表3。

2.3.7 精密度试验 分别取“2.3.3”项下1、2号对照品溶液适量,分别按“2.3.1”和“2.3.2”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷峰面积的RSD分别为0.3%、0.4%、0.2% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

2.3.8 稳定性试验 取S8号菥蓂子药材,按“2.3.3(2)”项下方法制备供试品溶液,于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时,按“2.3.1”和“2.3.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷峰面积的RSD分别为0.4%、1.1%、0.2% ( $n=6$ ),表明供试品溶液室温下放置24 h内稳定性良好。

2.3.9 重复性试验 取S8号菥蓂子药材,按“2.3.3”项下方法分别制备供试品溶液,平行6份,按“2.3.1”和“2.3.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷平均含量的RSD分别为0.4%、0.7%、1.9% ( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

2.3.10 加样回收率试验 称取已知含量的S8号菥蓂子药材(异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷含量分别为0.064、0.024、30.15 mg/g)粉末约0.75、0.25 g,各6份,粉碎,过50目筛,分别加入约与样品中3种成分含量相同的对照品,按“2.3.3(2)”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”和“2.3.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果,异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷的平均加样回收率分别为99.1%、97.0%、98.1%,RSD分别为1.9%、1.8%、1.8% ( $n=6$ ),详见表4。

2.3.11 样品含量测定 称取编号S1~S15的菥蓂子药材,按“2.3.3(2)”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”和“2.3.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,15批菥蓂子药材中异牡荆素、当药黄素、黑芥子苷含量范围分别为0.013~0.090、0.020~0.130、18.92~40.75 mg/g,详见表5。

表4 回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 4 Results of recovery tests( $n=6$ )

待测成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
异牡荆素	0.750 2	0.048 0	0.049 2	0.098 1	101.83	99.1	1.9
	0.751 4	0.048 1	0.049 2	0.096 5	98.37		
	0.756 2	0.048 4	0.049 2	0.096 9	98.58		
	0.750 9	0.048 1	0.049 2	0.097 6	100.61		
	0.752 2	0.048 1	0.049 2	0.095 5	96.34		
	0.756 3	0.048 4	0.049 2	0.097 1	98.98		
当药黄素	0.750 2	0.018 0	0.020 2	0.037 9	98.51	97.0	1.8
	0.751 4	0.018 0	0.020 2	0.037 3	95.54		
	0.756 2	0.018 1	0.020 2	0.038 2	99.50		
	0.750 9	0.018 0	0.020 2	0.037 5	96.53		
	0.752 2	0.018 1	0.020 2	0.037 3	95.05		
	0.756 3	0.018 2	0.020 2	0.037 8	97.03		
黑芥子苷	0.253 2	7.634 0	7.700 0	15.294 1	99.48	98.1	1.8
	0.251 2	7.573 7	7.700 0	15.203 8	99.09		
	0.253 1	7.631 0	7.700 0	15.241 2	98.83		
	0.252 7	7.628 9	7.700 0	15.268 8	99.35		
	0.249 2	7.513 4	7.700 0	14.942 9	96.49		
	0.250 2	7.543 5	7.700 0	14.864 2	95.07		

表5 15批菥蓂子中3种成分的含量测定结果( $n=3$ , mg/g)

Tab 5 Results of content determination of 3 components in 15 batches of *T. semen* ( $n=3$ , mg/g)

编号	异牡荆素	当药黄素	黑芥子苷
S1	0.022	0.025	36.72
S2	0.061	0.023	19.12
S3	0.071	0.023	25.73
S4	0.024	0.034	25.43
S5	0.024	0.022	21.41
S6	0.031	0.031	40.23
S7	0.014	0.023	27.24
S8	0.064	0.024	30.15
S9	0.030	0.044	23.53
S10	0.031	0.043	18.92
S11	0.082	0.120	20.53
S12	0.063	0.130	39.02
S13	0.013	0.020	32.52
S14	0.090	0.122	26.43
S15	0.071	0.061	40.75

### 3 讨论

薄层色谱法能够快速、灵敏、高效地同时分离多种样品,且固定相和展开剂的选择范围较大,具有操作方便、设备简单、分离效率高、专属性好、分析速度快等特点,能同时分离多种样品且斑点明晰鲜艳、直观,便于鉴别,弥补了因含有无紫外吸收、无挥发性等成分无法采用高效液相色谱法和气相色谱法进行鉴别分析的困境,近年来在中药与民族药研究领域得到了广泛的应用<sup>[22]</sup>。高效液相色谱法在药材的定性定量分析、质量控制方面使用也十分广泛,采用该法对药材进行多组分含量测定更有利于控制该药材的整体质量<sup>[23]</sup>。因此,本文采取以上2种成熟、简便的方法建立了菥蓂子的质量控制方法。

针对菥蓂子中所含的黄酮类、硫代葡萄糖苷类成分,在前期研究中笔者开展了固定相和展开剂的交叉筛选试验。在异牡荆素、当药黄素的鉴别试验中,固定相分别使用了硅胶G薄层板、高效硅胶G薄层板、硅胶GF<sub>254</sub>薄层板、聚酰胺薄膜等进行试验,展开剂尝试分别以36%乙酸、正丁醇-冰醋酸-水(4:1:5, V/V/V)、三氯甲烷-甲醇-冰醋酸(16:1:1, V/V/V)、(11:1:1, V/V/V)、(8:1:1, V/V/V)为展开剂进行试验;结果以聚酰胺薄膜为固定相,以三氯甲烷-甲醇-冰醋酸(11:1:1, V/V/V)为展开剂时分离效果最佳。在黑芥子苷的鉴别试验中,固定相分别使用了硅胶G薄层板、高效硅胶G薄层板、硅胶GF<sub>254</sub>薄层板、聚酰胺薄膜等进行试验,尝试分别以乙酸乙酯-甲醇-甲酸(10:10:1, V/V/V)、乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(3.5:5:1:0.5, V/V/V/V)、乙酸乙酯-甲醇-三乙胺(4:5:0.5, V/V/V)为展开剂进行试验,结果以高效硅胶GF<sub>254</sub>为固定相,以乙酸乙酯-甲醇-三乙胺(4:5:0.5, V/V/V)为展开剂时分离效果最佳。最终试验结果表明,在以上条件下目标物分离度较好、斑点清晰、重复性良好,可作为菥蓂子药材的定性鉴别依据。

本文选用异牡荆素、当药黄素和黑芥子苷3种成分作为菥蓂子药材的含量测定指标成分,已有临床研究表明这3种成分具有抗菌消炎、镇咳平喘、抗肿瘤、抗抑郁<sup>[24-26]</sup>的作用,这与菥蓂子治疗肾炎、肺炎、止咳等功效相吻合。但由于黑芥子苷的电离能力较强,样品在色谱柱上的保留时间很短或者根本不保留,无法做到3种成分同时测定,因此最终选用了离子对试剂四丁基硫酸氢铵与乙腈作为流动相测定黑芥子苷,0.4%冰醋酸溶液与乙腈为流动相测定异牡荆素和当药黄素,分别建立了2个含量测定方法。根据15批次菥蓂子药材的测定结果,上述方法具有较好的精密度和准确度,方法学考察结果良好,可以为藏药材菥蓂子的质量评价及标准制订提供参考。

## 参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准:藏药:第一册[S].北京:化学工业出版社,1995:90.

[2] 佚名. 月王药诊[M].毛继祖,马世林,译.上海:上海科学技术出版社,2012:78.

[3] 宇妥·元丹衮波. 医学四续[M].毛继祖,马世林,罗尚达,译.上海:上海科学技术出版社,2012:160.

[4] 帝玛尔·丹增彭措. 晶珠本草[M].毛继祖,译.上海:上海科学技术出版社,2012:164.

[5] 第司·桑杰嘉措. 蓝琉璃[M].毛继祖,卡洛,毛韶玲,译校.上海:上海科学技术出版社,2012:358.

[6] 徐僮,杜欢,李琪,等. 基于中医传承辅助平台的藏医治疗“黄水病”用药规律分析[J]. 中国民族民间医药,2018,27(17):1-5.

[7] 青海省药品检验所,青海省藏医药研究所. 中国藏药:第

一卷[M].上海:上海科学技术出版社,1996:337-341.

[8] 南京中医药大学. 中药大辞典:第二版;下册[S].上海:上海科学技术出版社,2006:2802.

[9] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第33卷[M].北京:科学出版社,1987:78-84.

[10] 丁建海,张俊芳. 菥蓂的化学成分及药理作用研究进展[J]. 宁夏师范学院学报,2014,35(3):78-81.

[11] 潘正,高运玲,刘毅. 菥蓂的化学成分研究[J]. 中成药,2013,35(5):995-997.

[12] 曹纬国,刘志勤,邵云,等. 黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. 西北植物学报,2003,23(12):2241-2247.

[13] 林海鸣,郑晓鹤,周军,等. 硫代葡萄糖苷及异硫氰酸酯的抗癌和抗氧化作用进展[J]. 中国现代应用药学,2015,32(4):513-520.

[14] PEDRAS MS, CHUMALA PB, SUCHY M. Phytoalexins from *Thlaspi arvense*, a wild crucifer resistant to virulent *Leptosphaeria maculans*: structures, syntheses and antifungal activity[J]. *Phytochemistry*, 2003, 64(5):949-956.

[15] 陈玉,周旻,伍丽萍,等. HPLC测定菥蓂子中的黑芥子苷[J]. 华西药理学杂志,2012,27(1):94-95.

[16] 王磊磊,陈聪,周旻,等. 近红外漫反射光谱法测定川藏道地药材菥蓂子中黑芥子苷含量[J]. 光谱学与光谱分析,2009,29(10):2673-2676.

[17] 钱宇,郭慧卿,王来兵,等. 菥蓂子中还原糖、蔗糖及多糖含量的测定[J]. 中国中医药科技,2014,21(3):274-275.

[18] 包志华,高建萍,徐天宇. DNS比色法测定菥蓂子中多糖的含量[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版),2013,34(5):23-25.

[19] 于金英,王云红,刘国强,等. HPLC-ESI-MS/MS分析鉴定菥蓂中黄酮类成分[J]. 中成药,2015,37(3):556-561.

[20] 于金英,王云红,刘国强,等. LC-ESI-MS/MS鉴定菥蓂中芥子油苷及有机酸类成分[J]. 天然产物研究与开发,2015,27(1):67-72.

[21] 肖燕,周鹏军,李小琴,等. 水蓼地上部分的乙酸乙酯部位化学成分研究[J]. 中药材,2018,41(7):1630-1633.

[22] 吕长淮. 薄层色谱法在药物分析中的应用进展[J]. 中国药房,2006,17(22):1748-1749.

[23] 迪里木拉提·毛里明,郭玉娟,程煜凤,等. 新疆哈药金雀花药材质量控制方法研究[J]. 西北药学杂志,2018,33(3):312-318.

[24] 李艳,江南,罗霞,等. 藏药寨卡有效部位的分离鉴定及其抗肿瘤活性研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(5):1118-1120.

[25] 单毓娟,吴坤. 十字花科蔬菜的癌症预防作用[J]. 国外医学卫生学分册,2005,32(5):269-273.

[26] 刘高阳. 菥蓂子抗抑郁的物质基础与作用机理研究[D]. 成都:四川大学,2007.

(收稿日期:2018-12-21 修回日期:2019-01-23)

(编辑:刘萍)