

藏药奥色折布的质量标准研究[△]

陈华林*,徐俊,蔡晓洋,陈蓉,康晋梅,李敏[#](成都中医药大学药学院,成都 611137)

中图分类号 R282.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)21-2609-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.21.09

摘要 目的:建立藏药奥色折布(习称“俄色果”)的质量标准,为其质量控制和资源的有效利用提供科学依据。方法:采用性状观察、显微及薄层色谱(TLC)鉴别法对20批不同产地、不同基原的奥色折布药材进行定性分析;参照2015年版《中国药典》(四部)通则中相应方法,分别进行水分、总灰分、浸出物含量的测定;建立高效液相色谱法(HPLC)同时测定奥色折布中6种黄酮类成分(绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素)的含量。结果:该药材呈倒卵形、类球形或椭圆形,表面呈红棕色至暗红色,微皱缩;气微,味甘、酸、微涩。粉末显微特征清晰,石细胞单个散在或成群,果肉薄壁细胞中含草酸钙方晶、簇晶等。TLC结果显示,在供试品色谱图中,与对照品(熊果酸)色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点。其水分、总灰分、浸出物的含量分别为9.02%~11.39%、2.29%~3.35%、37.12%~58.41%。含量测定方法学考察显示,绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素分别在质量浓度为3.12~50、1.25~20、1.25~20、3.12~50、18.7~300、0.5~8 μg/mL范围内线性关系良好(r 均不低于0.999 7);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于3.0%($n=6$);平均加样回收率分别为97.56%、98.28%、106.14%、103.74%、98.37%、98.76%,RSD分别为1.57%、1.62%、1.38%、1.99%、2.15%、2.31%($n=6$)。20批奥色折布样品中上述6个成分含量范围分别为0.001 5%~0.028 8%、0.005 9%~0.022 0%、0.008 7%~0.030 4%、0.019 4%~0.048 5%、0.068 5%~0.199 8%、0.005 1%~0.081 4%。结论:本研究建立的方法准确稳定,可用于奥色折布的质量控制。初步拟定奥色折布水分不得超过12%,总灰分不得超过3.5%,浸出物不得少于40%(按干燥品计),根皮苷含量不得低于0.1%。

关键词 奥色折布;俄色果;质量标准;显微鉴别;薄层色谱;高效液相色谱法;黄酮类成分

Study on the Quality Standard of Tibetan Medicine Malus Fructus

CHEN Hualin, XU Jun, CAI Xiaoyang, CHEN Rong, KANG Jinmei, LI Min (School of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of the Tibetan medicine Malus Fructus (known as the fruit of Ese), and to provide scientific reference for quality control and utilization of resource. METHODS: The qualitative analysis of 20 batches of Malus Fructus with different producing areas and different origins was carried out by morphological observation, microscopic and TLC identification. According to the method stated in 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, water content, total ash content and extract content were determined. HPLC method was used to determine the contents of 6 kinds of flavones (chlorogenic acid, hyperin, isoquercitrin, quercitin, phloridzin, quercetin) in Malus Fructus. RESULTS: The properties of this medicinal material were obovate, spheroidal or oval, its surface was reddish brown to dark red, with slight shrinkage. Its taste was sweet, sour and slightly astringent. The microscopic characteristics of the powder were clear, the stone cells were scattered individually or clustered, and the pulp parenchyma cells contained calcium oxalate cube crystal and cluster crystal. The results of TLC showed that there were fluorescent spots of the same color in the chromatogram of the tested product and the corresponding position of the reference substance (ursolic acid). The content ranges of moisture, total ash and extracts were 9.02% -11.39%, 2.29% -3.35%, 37.12% -58.41% respectively. The linear ranges of chlorogenic acid, hyperin, isoquercitrin, quercetin phloridzin and quercetin were 3.12-50, 1.25-20, 1.25-20, 3.12-50, 18.7-300, 0.5-8 μg/mL (all r were not less than 0.999 7). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3.0% ($n=6$). The average recoveries were 97.56%, 98.28%, 106.14%, 103.74%, 98.37%, 98.76%; RSDs were 1.57%, 1.62%, 1.38%, 1.99%, 2.15%, 2.31% ($n=6$). The content ranges of the above six components in 20 batches of samples were 0.001 5%-0.028 8%, 0.005 9%-0.022 0%, 0.008 7%-0.030 4%, 0.019 4%-0.048 5%, 0.068 5%-0.199 8% and 0.005 1%-0.081 4%. CONCLUSIONS: Established method is accurate and stable, and can be

[△] 基金项目:四川省科技计划项目(No.2020YFS0495);“杏林学者”学科人才科研提升计划(No.CXTD2018016)

* 硕士研究生。研究方向:中药品种、质量与资源。E-mail: 1159020313@qq.com

[#] 通信作者:教授。研究方向:中药品种、质量与资源。E-mail: 028limin@163.com

used for quality control of Malus Fructus. It is preliminarily proposed that moisture and total ash content should not exceed 12% and 3.5%, and extract (by dry product) and phloridzin content should not be less than 40% and 0.1% respectively.

KEYWORDS Malus Fructus; Fruit of Ese; Quality standard; Microscopic identification; TLC; HPLC; Flavonoids

藏药奥色折布(藏文名:འོ་མེ་ལོ་མེ་ལོ་ལྷོ་ལྷོ)为蔷薇科苹果属植物变叶海棠 *Malus toringoides* (Rehd.) Hughes.或花叶海棠 *Malus transitoria* (Batal.) Schneid.的干燥成熟果实,在四川省甘孜州习称“俄色果”,始载于《如意宝树》^[1],在《晶珠本草》^[2]、《藏药晶镜本草》^[3]、《新修晶珠本草》^[4]、《中华藏本草》^[5]等本草著作中也均有记载,其具有养肝明目、清肺祛痰、健胃生津的功效,用于肝病、眼疾目昏、高脂血症、高血压、肺病咳痰、消化不良、腹泻、津伤口渴等的治疗^[1-5]。奥色折布主产于四川省甘孜州炉霍县、道孚县等,在西藏、青海、甘肃等地也有分布,资源蕴藏量大^[6]。现代研究表明,奥色折布主要含多种黄酮类成分、有机酸类成分^[7]以及多糖、维生素、氨基酸、蛋白质等营养成分^[8],具有良好的保肝、抗氧化等药理活性^[9]。奥色折布作为甘孜州的民间习用药材,具有悠久的药用及食用历史。与其相同来源、不同药用部位的“俄色洛玛”(即“俄色叶”)药材的质量标准已收载于《四川省藏药材标准》(2014年版)^[10]中,然而奥色折布尚无相应的法定标准。因此,本研究通过对其性状、显微及薄层色谱(TLC)鉴别,以及水分、总灰分、浸出物、黄酮类成分含量等定性、定量项目进行研究,旨在建立一个相对完善的奥色折布质量标准,为该药材的质量控制和资源的有效利用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

UltiMate3000型高效液相色谱(HPLC)仪(包括自动进样器、在线脱气机、四元梯度泵、柱温箱、二级管阵列检测器等,美国 Thermo Fisher Scientific 公司);BP121S型十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司);SHB-III S型循环式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);DUG-9070B智能型电热恒温鼓风干燥箱(上海琅轩实验设备有限公司);TM004型数显卡尺[勒塔实业(上海)有限公司];BX53MRF-S型显微镜(包括DP72数码成像系统,日本 Olympus 公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

绿原酸对照品(批号:wkq16052705,纯度:≥98%)、金丝桃苷对照品(批号:wkq16050305,纯度:≥98%)、异槲皮苷对照品(批号:wkq16050607,纯度:≥98%)、槲皮苷对照品(批号:wkq17113002,纯度:≥98%)、根皮苷对照品(批号:wkq17122002,纯度:≥98%)、槲皮素对照品(批号:wkq17072005,纯度:≥98%)、熊果酸对照品(批号:18012906,纯度:≥98%)均购自四川省维克奇生物科技有限公司;TLC硅胶G板(青岛海洋化工有限公司,批号:20180710);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为超纯水。

奥色折布药材样品采集自四川省甘孜州,经成都中医药大学中药标准化教育部重点实验室李敏教授鉴定为蔷薇科苹果属植物变叶海棠 *M. toringoide* (Rehd.) Hughes.或花叶海棠 *M. transitoria* (Batal.) Schneid.的干燥成熟果实。药材样品来源信息见表1。

表1 奥色折布药材样品来源信息

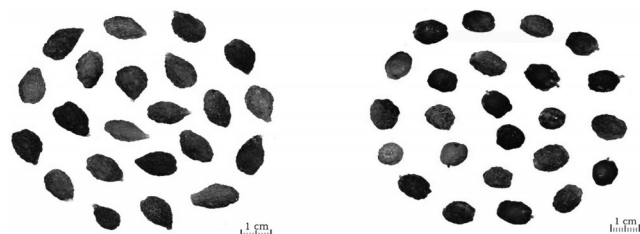
Tab 1 Sample source information of *Malus Fructus*

批号	基原	采集地	采集时间	批号	基原	采集地	采集时间
E1	变叶海棠	甘孜州炉霍县仁达乡	2016.09	E11	花叶海棠	甘孜州炉霍县仁达乡	2016.09
E2	变叶海棠	甘孜州炉霍县斯木乡	2016.10	E12	花叶海棠	甘孜州炉霍县斯木乡	2016.10
E3	变叶海棠	甘孜州炉霍县新都镇	2017.09	E13	花叶海棠	甘孜州炉霍县新都镇	2017.09
E4	变叶海棠	甘孜州炉霍县宜木乡	2017.10	E14	花叶海棠	甘孜州炉霍县宜木乡	2017.10
E5	变叶海棠	甘孜州炉霍县雅德乡	2017.10	E15	花叶海棠	甘孜州炉霍县雅德乡	2017.10
E6	变叶海棠	甘孜州道孚县油龙乡	2018.09	E16	花叶海棠	甘孜州道孚县油龙乡	2018.09
E7	变叶海棠	甘孜州道孚县油龙乡	2018.10	E17	花叶海棠	甘孜州道孚县油龙乡	2018.10
E8	变叶海棠	甘孜州炉霍县斯木乡	2018.09	E18	花叶海棠	甘孜州炉霍县斯木乡	2018.09
E9	变叶海棠	甘孜州炉霍县仁达乡	2018.10	E19	花叶海棠	甘孜州炉霍县仁达乡	2018.10
E10	变叶海棠	甘孜州炉霍县仁达乡	2018.11	E20	花叶海棠	甘孜州炉霍县仁达乡	2018.11

2 方法与结果

2.1 性状

对奥色折布药材的形状、大小、颜色、断面、气、味等进行观察。结果显示,不同基原的奥色折布性状略有不同。变叶海棠基原的奥色折布呈倒卵形或长椭圆形,长8.5~14.0 mm,直径5.5~8.0 mm;表面呈红棕色至暗红色,微皱缩,可见明显的果柄痕或花萼残迹,果柄处稍向外凸起;质坚硬,断面果肉呈淡红棕色,果核呈黄色,种子5,扁卵形,种皮棕色,种仁白色,有油性;气微清香,味甘、酸、微涩。花叶海棠基原的奥色折布呈类球形或椭圆形,长7.0~10.0 mm,直径6.0~8.0 mm;表面呈黄棕色、红棕色或暗红色,微皱缩,果柄处稍向内凹陷。奥色折布药材形状见图1。



A.变叶海棠基原奥色折布(批号:E10) B.花叶海棠基原奥色折布(批号:E18)

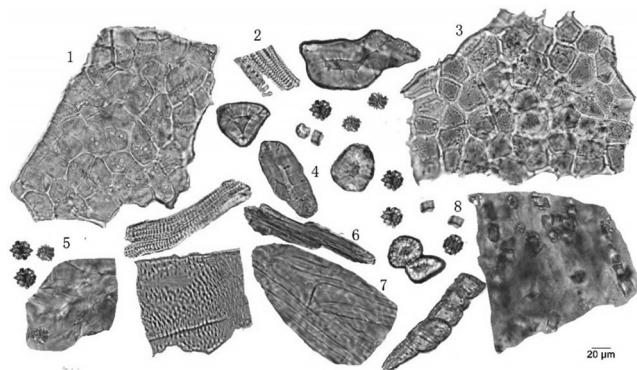
图1 不同基原奥色折布药材形状图

Fig 1 Morphological features of different origins of *Malus Fructus*

2.2 鉴别

2.2.1 显微鉴别 取奥色折布药材粉末在显微镜下进行观察。结果显示,奥色折布粉末呈淡黄棕色至红棕色。果皮表皮细胞表面观呈类多角形,直径14~55 μm,壁稍厚,胞腔内常含淡红棕色物。石细胞单个散在或成群,呈淡黄色,表面观呈类多角形、类圆形、长方形或不规则形,直径23~92 μm,长40~123 μm,壁厚,孔沟及

层纹明显,部分胞腔含深棕色物。内胚乳细胞表面观呈多角形或类多角形,直径17~41 μm,壁较厚,常含脂肪油滴。导管为螺纹导管或梯纹导管,直径6~16 μm。草酸钙方晶散在果肉薄壁细胞中,直径9~16 μm;草酸钙簇晶的直径为12~17 μm。果皮纤维呈淡黄色,上下层斜向交错或平行排列,多成束,壁厚,直径14~30 μm。奥色折布药材粉末显微图见图2。



注:1.内胚乳细胞;2.导管;3.果皮表皮细胞;4.种皮厚壁细胞;5.草酸钙簇晶;6.纤维束;7.果皮纤维;8.草酸钙方晶

Note: 1. endosperm cells; 2. catheter; 3. pericarp epidermal cells; 4. seed coat thick-walled cells; 5. calcium oxalate cluster crystals; 6. fiber bundle; 7. pericarp fiber; 8. calcium oxalate square crystal

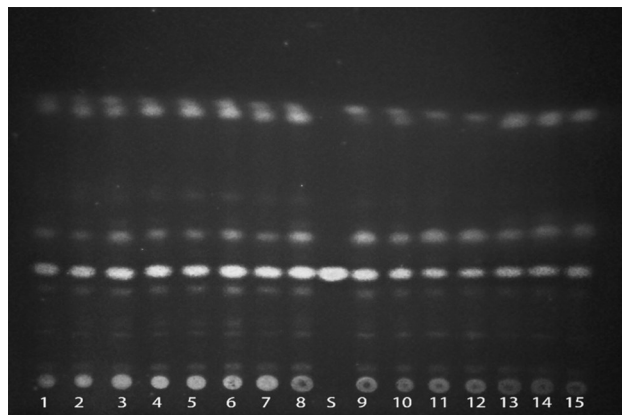
图2 奥色折布药材粉末显微图(×40)

Fig 2 Microscopic features of Malus Fructus powder (×40)

2.2.2 TLC鉴别 取奥色折布药材粉末1.0 g,加乙醇5 mL,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)处理15 min,滤过,取滤液作为供试品溶液。另取熊果酸对照品,加乙醇制成每1 mL含0.5 mg的溶液,作为对照品溶液。按照2015年版《中国药典》(四部)通则0502“薄层色谱法”^[1]进行试验。吸取上述溶液各10 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-丙酮-甲酸(6:0.5:1.3:0.1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液显色,于105 ℃下加热至斑点清晰,置于紫外光灯(波长为365 nm)下检视。结果表明,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。奥色折布的TLC图见图3。

2.3 检查

取奥色折布药材粉末(过二号筛)约2 g,精密称定,分别按照2015年版《中国药典》(四部)通则0832项下水分测定法(第二法“烘干法”)、通则2302项下“总灰分测定法”测定水分和总灰分^[1]。各批次药材均平行操作3次,取平均值。结果显示,20批奥色折布的水分含量为9.02%~11.39%,平均含量为9.78%;总灰分含量为2.29%~3.35%,平均含量为2.85%。奥色折布水分、总灰分含量测定结果见表2。



注:1~8.变叶海棠基原的奥色折布(批号:E3~E10);9~15.花叶海棠基原的奥色折布(批号:E13~E19);S.熊果酸对照品

Note: 1-8. *Malus toringoides* (batch number: E3-E10); 9-15. *Malus transitoria* (batch number: E13-E19); S. reference substance

图3 奥色折布的TLC图

Fig 3 TLC chromatograph of Malus Fructus

表2 奥色折布水分、总灰分、浸出物测定结果(n=3, %)

Tab 2 The contents of moisture, total ash and extract of Malus Fructus(n=3, %)

批号	水分	总灰分	浸出物	批号	水分	总灰分	浸出物
E1	10.57	2.64	48.58	E11	11.39	2.41	49.91
E2	10.14	2.67	54.39	E12	10.09	2.53	46.02
E3	10.32	3.04	41.90	E13	10.04	2.84	52.18
E4	9.96	3.27	47.40	E14	9.77	3.06	37.12
E5	9.78	3.15	52.06	E15	9.23	2.48	47.18
E6	9.19	2.47	56.12	E16	9.97	3.17	39.96
E7	9.62	2.29	54.14	E17	9.54	2.68	53.78
E8	9.37	3.25	52.75	E18	9.02	3.35	46.51
E9	9.45	3.21	55.71	E19	9.60	2.43	47.65
E10	9.34	3.20	58.41	E20	9.11	2.39	47.49

2.4 浸出物

取奥色折布药材粉末(过二号筛)2 g,精密称定,按照2015年版《中国药典》(四部)通则2201水溶性浸出物测定法项下的“热浸法”测定浸出物含量^[1]。结果表明,20批样品的浸出物含量为37.12%~58.41%,平均含量为49.46%。奥色折布浸出物含量测定结果见表2。

2.5 含量测定

采用HPLC法测定奥色折布药材中6种黄酮类成分的含量。

2.5.1 色谱条件 色谱柱:SunFire C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~5 min, 12% A→15% A; 5~15 min, 15% A→20% A; 15~28 min, 20% A; 28~48 min, 20% A→42% A; 48~50 min, 42% A→50% A; 50~55 min, 50% A→12% A);流速:0.7 mL/min;柱温:30 ℃;检测波长:350 nm;进样量:20 μL。

2.5.2 混合对照品溶液的制备 取绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素各对照品适量,精密称定,分别置于不同25 mL量瓶中,用75%甲醇溶解并定容,制备各单一对照品母液。分别取一定量的各对照品母液,置于同一10 mL量瓶中,用75%甲醇稀释制成绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素质量浓度分别为0.5、0.2、0.2、0.5、3.0、0.08 mg/mL的混合对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备 取奥色折布药材细粉约2.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入75%甲醇25 mL,密塞,称定质量,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)处理45 min,放冷,再次称定质量,然后用75%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

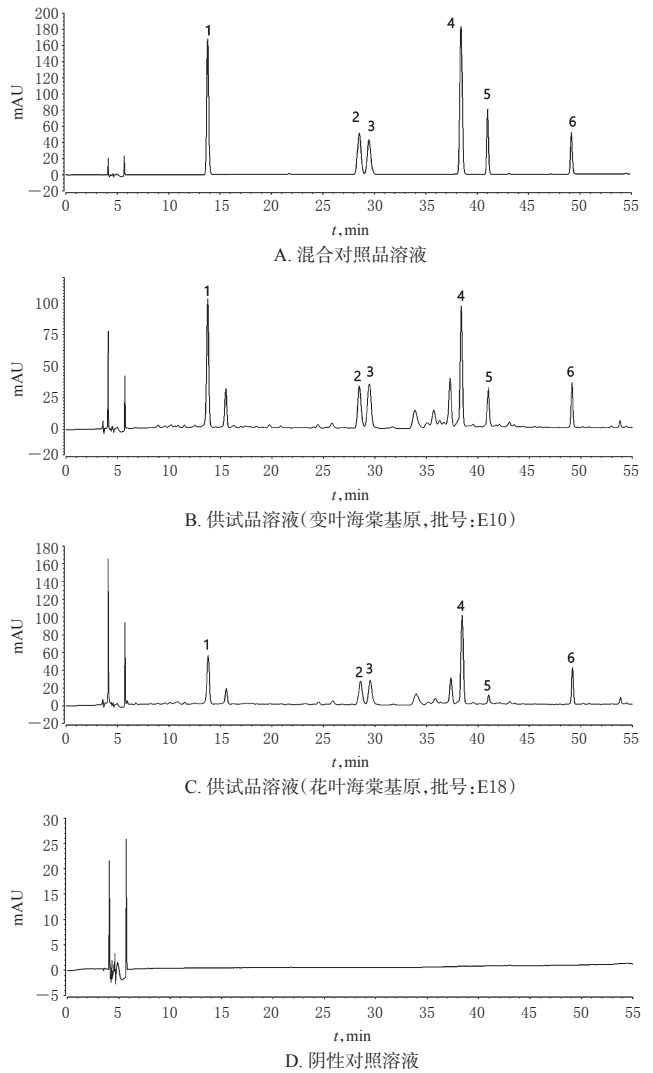
2.5.4 系统适用性试验 取混合对照品溶液、供试品溶液(批号:E10、E18)、阴性对照溶液(即75%甲醇溶液),分别按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,各待测成分与各自相邻峰间的分离度均大于1.5,理论板数按根皮苷峰计不低于4 000,色谱峰对称因子在0.93~1.08之间,且阴性对照无干扰。色谱图见图4。

2.5.5 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液1 000、500、250、125、62.5 μ L,置于不同10 mL量瓶中,用75%甲醇分别定容至刻度制备成系列标准溶液,然后按“2.5.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。以色谱峰峰面积为纵坐标(y)、各对照品质量浓度为横坐标(x , μ g/mL)绘制标准曲线并进行线性回归分析。结果表明,各待测成分在各自质量浓度范围内与其峰面积均呈良好的线性关系(r 均不低于0.999 7)。回归方程与线性范围见表3。

2.5.6 定量限与检测限考察 精密量取“2.5.2”项下混合对照品溶液适量,以75%甲醇倍比稀释后,按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算6种待测成分的定量限、检测限。结果显示,绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素的定量限分别为0.040 7、0.017 6、0.018 1、0.041 4、0.023 9、0.011 9 μ g/mL,检测限分别为0.011 6、0.005 9、0.006 0、0.011 8、0.008 0、0.004 5 μ g/mL。

2.5.7 精密度试验 取供试品溶液(批号:E10)适量,按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,连续测定6次,记录色谱图。结果显示,绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素峰面积的RSD分别为0.11%、0.19%、0.18%、1.06%、1.82%、0.82% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5.8 重复性试验 称取奥色折布药材细粉(批号:E10)2 g,平行6份,按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并根



注:1.绿原酸;2.金丝桃苷;3.异槲皮苷;4.槲皮苷;5.根皮苷;6.槲皮素

Note: 1. chlorogenic acid; 2. hyperin; 3. isoquercitrin; 4. quercetin; 5. phlorizin; 6. quercetin

图4 高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms

表3 6种黄酮类成分的回归方程与线性范围

Tab 3 Regression equation and linear range of 6 kinds of flavonoids

待测成分	质量浓度, μ g/mL	回归方程	r
绿原酸	3.12~50	$y=721.48x-0.119 4$	0.999 9
金丝桃苷	1.25~20	$y=1 011.4x-0.122 5$	0.999 9
异槲皮苷	1.25~20	$y=887.82x-0.114 6$	0.999 9
槲皮苷	3.12~50	$y=940.8x-0.287 6$	0.999 9
根皮苷	18.7~300	$y=54.451x-0.062 2$	1.000 0
槲皮素	0.5~8	$y=1 390x-0.100 9$	0.999 7

据标准曲线计算各待测成分含量。结果显示,绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素含量的RSD分别为1.69%、1.26%、1.09%、2.56%、2.32%、2.47% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.5.9 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号:E10)适

量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时,按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素峰面积的RSD分别为1.76%、2.02%、2.60%、1.14%、2.80%、2.65%($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定。

2.5.10 加样回收率试验 精密称取已知含量的奥色折布药材细粉(批号:E19)1 g,平行6份,按与已知成分含量比例1:1(m/m)精密加入相应的对照品,按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并根据标准曲线计算各待测成分含量。结果显示,奥色折布中绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素的平均加样回收率为97.56%~106.14%,RSD为1.38%~2.31%($n=6$),表明本方法准确度良好。加样回收率试验结果见表4。

表4 加样回收率试验结果($n=6$)

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

待测成分	样品量, g	样品中含 量,mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收 率,%	平均加样回 收率,%	RSD, %
绿原酸	1.000 5	0.043 5	0.045 0	0.088 6	100.22	97.56	1.57
	1.000 7	0.043 5	0.045 0	0.086 6	95.78		
	1.000 8	0.043 5	0.045 0	0.087 7	98.22		
	1.000 4	0.043 5	0.045 0	0.087 2	97.11		
	1.000 7	0.043 5	0.045 0	0.087 3	97.33		
	1.000 5	0.043 5	0.045 0	0.087 0	96.67		
金丝桃苷	1.000 5	0.153 1	0.156 3	0.308 3	99.30	98.28	1.62
	1.000 7	0.153 1	0.156 3	0.310 5	100.70		
	1.000 8	0.153 1	0.156 3	0.304 7	96.99		
	1.000 4	0.153 1	0.156 3	0.305 9	97.76		
	1.000 7	0.153 1	0.156 3	0.307 2	98.59		
	1.000 5	0.153 1	0.156 3	0.303 7	96.35		
异槲皮苷	1.000 5	0.078 0	0.074 1	0.158 0	107.96	106.14	1.38
	1.000 7	0.078 1	0.074 1	0.157 9	107.69		
	1.000 8	0.078 1	0.074 1	0.155 8	104.86		
	1.000 4	0.078 0	0.074 1	0.155 5	104.59		
	1.000 7	0.078 1	0.074 1	0.156 1	105.26		
	1.000 5	0.078 0	0.074 1	0.156 9	106.48		
槲皮苷	1.000 5	0.203 1	0.199 2	0.413 7	105.72	103.74	1.99
	1.000 7	0.203 1	0.199 2	0.415 9	106.83		
	1.000 8	0.203 2	0.199 2	0.406 0	101.81		
	1.000 4	0.203 1	0.199 2	0.406 6	102.16		
	1.000 7	0.203 1	0.199 2	0.409 2	103.46		
	1.000 5	0.203 1	0.199 2	0.407 2	102.46		
根皮苷	1.000 5	0.685 3	0.626 2	1.307 2	99.31	98.37	2.15
	1.000 7	0.685 5	0.626 2	1.315 5	100.61		
	1.000 8	0.685 5	0.626 2	1.292 3	96.90		
	1.000 4	0.685 3	0.626 2	1.308 0	99.44		
	1.000 7	0.685 5	0.626 2	1.306 1	99.11		
	1.000 5	0.685 3	0.626 2	1.279 1	94.83		
槲皮素	1.000 5	0.056 0	0.055 3	0.111 9	101.08	98.76	2.31
	1.000 7	0.056 0	0.055 3	0.109 7	97.11		
	1.000 8	0.056 0	0.055 3	0.109 7	97.11		
	1.000 4	0.056 0	0.055 3	0.110 8	99.10		
	1.000 7	0.056 0	0.055 3	0.112 3	101.81		
	1.000 5	0.056 0	0.055 3	0.109 3	96.38		

2.5.11 耐用性试验 取奥色折布药材细粉(批号:E10)适量,按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,在固定其他色谱条件不变的情况下,分别考察不同型号色谱柱[Symmetry C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、SunFire C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Inertsil ODS-3 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)]和不同型号高效液相色谱仪[Agilent 1200型、Thermo Ultimate3000型]对6种成分含量测定的影响,记录色谱图,并根据标准曲线计算各成分含量。平行测定3次,取平均值。结果显示,采用不同色谱柱测得的绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素含量的RSD分别为1.03%、0.77%、0.68%、1.21%、2.14%、0.92%($n=3$),采用不同型号色谱仪测得的上述6种成分含量的RSD分别为2.01%、1.15%、1.29%、2.41%、3.18%、1.46%($n=3$),表明本方法的耐用性良好。

2.5.12 样品含量测定 分别取各批次药材细粉适量,按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,然后按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并根据标准曲线计算6种成分含量。平行测定3次,取平均值。结果显示,20批样品的绿原酸含量在0.001 5%~0.028 8%之间,平均值为0.006 5%;金丝桃苷含量在0.005 9%~0.022 0%之间,平均值为0.013 2%;异槲皮苷含量在0.007 8%~0.030 4%之间,平均值为0.018 4%;槲皮苷含量在0.019 4%~0.048 5%之间,平均值为0.031 6%;根皮苷含量在0.068 5%~0.199 8%之间,平均值为0.133 5%;槲皮素含量在0.005 1%~0.081 4%之间,平均值为0.031 8%;6种成分的总含量在0.121 9%~0.301 6%之间,平均值为0.234 9%。6种黄酮类成分的含量测定结果见表5。

3 讨论

藏药基原混乱、质量控制水平低甚至缺乏质量标准以及药效成分不明确等问题十分严重,因此品种鉴定、质量标准提升及质量评价等方面是藏药现代化研究的重要内容^[12]。奥色折布作为四川省甘孜州的药食两用品种,使用历史悠久,且自然资源充沛,但目前该药材基础研究薄弱、缺乏质量标准,限制了其合理的开发利用^[13]。本研究建立的奥色折布质量标准,不仅可用于其药材质量控制,也对促进该藏药资源的有效利用及其现代化、产业化具有重要意义。

本课题组前期研究发现,奥色折布中不仅含有多种黄酮类成分,还含有三萜酸类成分(如熊果酸、齐墩果酸),且在历版《中国药典》中,以熊果酸为对照品进行薄层鉴别的蔷薇科药材较多。因此,本研究开展了黄酮类成分和三萜酸类成分的TLC鉴别研究,结果得到的黄酮类成分TLC斑点不清晰,在加大点样量后,斑点的分离度又达不到标准;而三萜酸类成分TLC斑点清晰、分离

表5 各批次样品中6种黄酮类成分的含量测定结果
($n=3, \%$)

Tab 5 Results of content determination of six flavonoids in different batches of samples($n=3, \%$)

编号	绿原酸	金丝桃苷	异槲皮苷	槲皮苷	根皮苷	槲皮素	总含量
E1	0.001 8	0.006 3	0.019 9	0.032 7	0.105 3	0.005 2	0.171 2
E2	0.001 5	0.009 5	0.010 7	0.022 1	0.177 0	0.018 9	0.239 7
E3	0.005 9	0.017 9	0.024 6	0.046 4	0.129 5	0.022 8	0.247 1
E4	0.005 5	0.017 4	0.025 8	0.022 7	0.144 7	0.010 4	0.226 5
E5	0.008 4	0.013 1	0.013 7	0.025 3	0.074 4	0.050 1	0.185 0
E6	0.002 4	0.015 3	0.028 1	0.048 5	0.197 4	0.005 8	0.297 5
E7	0.001 6	0.010 5	0.011 2	0.020 4	0.199 8	0.005 8	0.249 3
E8	0.004 3	0.022 0	0.022 5	0.027 1	0.161 7	0.037 4	0.275 0
E9	0.004 2	0.005 9	0.009 7	0.033 7	0.110 0	0.031 6	0.195 1
E10	0.005 5	0.016 3	0.021 2	0.046 6	0.178 4	0.009 7	0.277 7
E11	0.002 4	0.009 2	0.010 1	0.021 1	0.118 8	0.032 5	0.194 1
E12	0.003 9	0.006 1	0.008 7	0.019 4	0.083 8	0.038 2	0.160 1
E13	0.012 8	0.013 1	0.018 7	0.023 4	0.170 5	0.032 4	0.270 9
E14	0.025 2	0.014 2	0.017 2	0.035 4	0.075 8	0.081 4	0.249 2
E15	0.028 8	0.016 6	0.019 1	0.036 5	0.081 0	0.077 2	0.259 2
E16	0.001 6	0.016 0	0.030 4	0.028 0	0.191 2	0.009 5	0.276 7
E17	0.002 7	0.014 3	0.024 1	0.036 9	0.160 5	0.063 1	0.301 6
E18	0.004 7	0.008 9	0.018 0	0.047 5	0.073 7	0.064 8	0.217 6
E19	0.004 4	0.015 3	0.007 8	0.020 3	0.068 5	0.005 6	0.121 9
E20	0.002 6	0.015 8	0.025 6	0.037 5	0.168 0	0.033 5	0.283 0
平均值	0.006 5	0.013 2	0.018 4	0.031 6	0.133 5	0.031 8	0.234 9

度较好,且样品在熊果酸对照品相同位置显相同颜色的荧光斑点。综上,本研究最终选择熊果酸作为对照品对奥色折布进行TLC鉴别。

本研究建立的含量测定方法能同时测定奥色折布中绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、根皮苷、槲皮素等6种黄酮类化学成分的含量。其中,变叶海棠与花叶海棠基原药材中金丝桃苷(分别为0.013 4%、0.013 0%)、异槲皮苷(分别为0.018 7%、0.017 9%)、槲皮苷(分别为0.032 6%、0.030 6%)的平均含量无明显差异,而变叶海棠基原药材中根皮苷含量较花叶海棠基原药材高(分别为0.147 8%、0.119 2%),花叶海棠基原药材中绿原酸(0.008 9%)、槲皮素(0.043 8%)含量显著高于变叶海棠基原药材(0.004 1%、0.019 7%),表明不同基原的奥色折布在不同化学成分方面有各自的品种优势,可为后续化学成分的深入研究提供数据支撑。本研究通过含量测定结果发现,奥色折布药材中根皮苷含量最高,占测定的6个成分总含量的60%左右;绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷的含量均较低,仅占6个成分总含量的16%左右。据文献报道,根皮苷具有降血脂、抗氧化、保肝、抗肿瘤等多种药理活性^[14],与奥色折布传统功效具有一致

性,且根皮苷也是苹果属植物的代表性成分。因此,选择奥色折布中的功效性成分,同时也是其中含量较高的根皮苷,作为该药材含量限定的指标成分。

本研究收集的样品均来自于奥色折布药材的主产区,包括不同采集地点和不同采集时间的样品,具有代表性。根据检测结果,上/下限标准按平均量上浮/下浮20%制订,初步拟定奥色折布水分不得超过12%,总灰分不得超过3.5%,浸出物不得少于40%(按干燥品计),根皮苷含量不得低于0.1%。本研究对奥色折布的质量标准进行了科学、系统的研究,建立的方法准确、稳定,可用于该药材的质量控制,为其质量标准的制定奠定了基础。

参考文献

- [1] 松巴益西班觉.松巴宗教史:如意宝树[M].咸阳:西藏民族学院,1748:587.
- [2] 帝玛尔·丹增彭措.晶珠本草[M].北京:民族出版社,1986:222.
- [3] 嘎务.藏药晶镜本草[M].北京:民族出版社,1995:153.
- [4] 罗达尚.新修晶珠本草[M].成都:四川科学技术出版社,2004:369.
- [5] 罗达尚.中华藏本草[M].北京:民族出版社,1997:120.
- [6] 王道清.藏药“俄色”的生药学研究[D].成都:成都中医药大学,2012.
- [7] 夏冬梅.藏药“俄色叶”的质量标准研究[D].成都:成都中医药大学,2014.
- [8] 王海英,徐庆,柴成忠,等.川西2种高山海棠果实和叶片的营养成分[J].林业科学,2010,46(8):157-161.
- [9] 周海玉,李敏,蔡晓洋,等.藏药俄色果对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及其机制初探[J].中药材,2016,39(1):193-196.
- [10] 伍丕娥.四川省藏药材标准:2014年版[S].成都:四川科学技术出版社,2014:123-124.
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社:2015:59、114、232、234.
- [12] 范刚,贾敏如,刘悦,等.藏药鉴定及质量控制研究现状[J].中国中药杂志,2016,41(4):559-561.
- [13] 杨洋,张艺,黄宇,等.民族药质量标准研究现状及思考[J].中国中药杂志,2013,38(17):2878-2881.
- [14] 马琮鉴,高健美,孔浩,等.根皮苷药理作用研究进展[J].医药导报,2020,39(3):360-364.

(收稿日期:2020-08-03 修回日期:2020-09-17)

(编辑:林 静)