苗药细风轮菜的质量标准研究Δ

杨转珍*，杨永泓，种叶敏，蒋孟莲，张　瑾，王珑静，龙　飞#a，李　敏#b（成都中医药大学药学院/现代中药产业学院/省部共建西南特色中药资源国家重点实验室，成都　611137）

中图分类号　R917；R282　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）06-0682-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.06.08

摘　要　目的　建立细风轮菜的质量标准。**方法**　收集10批细风轮菜药材样品，对其进行外观性状、显微鉴别和薄层鉴别，并对其水分、总灰分、酸不溶性灰分、稀乙醇浸出物进行检查；采用高效液相色谱法测定药材中迷迭香酸的含量。**结果**　细风轮菜药材茎纤细，呈方柱形，被白色绒毛，表面为灰绿色或绿褐色；茎横切面可见表皮细胞、非腺毛、皮层细胞等；粉末可见非腺毛、导管、木纤维、叶肉细胞等。薄层鉴别结果显示，供试品色谱中，在与醉鱼草皂苷Ⅳb对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。10批样品的水分、总灰分、酸不溶性灰分、稀乙醇浸出物、迷迭香酸含量分别为8.69%～12.33%、5.96%～13.33%、0.14%～3.29%、18.57%～32.61%、0.35%～0.82%，平均值分别为10.10%、9.73%、1.06%、23.54%、0.56%。**结论**　所建方法可用于细风轮菜药材的质量控制。初步拟定细风轮菜药材中水分不得过12.0%，总灰分不得过12.0%，酸不溶性灰分不得过1.5%，稀乙醇浸出物不得少于18.0%，迷迭香酸含量不得少于0.45%。

关键词　细风轮菜；质量标准；醉鱼草皂苷Ⅳb；迷迭香酸；含量测定

Study on quality standard for Miao medicine *Clinopodium gracile*

YANG Zhuanzhen, YANG Yonghong, CHONG Yemin, JIANG Menglian, ZHANG Jin, WANG Longjing, LONG Fei, LI Min (School of Pharmacy/School of Modern Chinese Medicine Industry/State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish the quality standard of *Clinopodium gracile*. **METHODS** Ten batches of *C. gracile* were collected to perform appearance and property identification, microscopic identification and thin layer chromatography (TLC) identification. Moisture, total ash, acid-insoluble ash and dilute ethanol extract were detected, and the content of rosmarinic acid was determined by HPLC. **RESULTS** The stem of *C. gracile* was slender, square columnar, covered by white fluff, the surface was grayish green or greenish brown; epidermal cells, non-glandular hairs, cortical cells and so on were seen in the cross section of the stem. Non-glandular hairs, ducts, wood fibers, mesophyll cells and so on could be seen in the powder. Results of TLC identification showed that there were spots of the same color in the chromatographic position corresponding to the chromatographic position of buddlejasaponin Ⅳb control. The contents of water, total ash, acid-insoluble ash, dilute ethanol extract and rosmarinic acid in 10 batches of samples were 8.69%-12.33%, 5.96%-13.33%, 0.14%-3.29%, 18.57%-32.61%, 0.35%-0.82%, respectively. The average values were 10.10%, 9.73%, 1.06%, 23.54% and 0.56%, respectively. **CONCLUSIONS** The established method can be used for quality control of *C. gracile*. It is preliminarily proposed that the ash content in the herb should not exceed 12.0%, the total ash content should not exceed 12.0%, the acid-insoluble ash content should not exceed 1.5%, the dilute ethanol extract should not be less than 18.0%, and the rosmarinic acid content should not be less than 0.45%.

KEYWORDS　*Clinopodium gracile*; quality standard; buddlejasaponin Ⅳb; rosmarinic acid; content determination

细风轮菜为唇形科风轮菜属植物细风轮菜*Clinopodium gracile*（Benth.）Matsum.的干燥全草，又名瘦风轮、剪刀草、箭头草等，分布于我国江苏、浙江、福建、四川、台湾、安徽、广东、云南、湖北和陕西等地，生于海拔低于2 400 m的路旁、沟边、空旷草地、灌丛中[1]。《饮片新参》曰其“色紫褐，梗紫细。味苦，性平。消疮肿丹毒，虫咬伤。分量为八分钱至一钱半。生用，或酒炒。风寒胃弱者忌用”[2]；《全国中草药汇编（卷二）》记载该药的基原为唇形科风轮菜属植物瘦风轮*C. gracile*（Benth.）Matsum.，言其味辛、苦，性凉，可清热解毒、消肿止痛，可治疗白喉、咽喉肿痛、肠炎、痢疾、乳腺炎、雷公藤中毒，可捣碎

Δ **基金项目**　四川省药品监督管理局中药（民族药）标准提升项目（No.510201202102305）

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药品种、质量与资源应用开发。E-mail：3147173727@qq.com

#a **通信作者**　副教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药资源、品种及质量评价。E-mail：longfei@cdutcm.edu.cn

#b **通信作者**　教授，博士生导师。研究方向：中药资源、品种及质量评价和GAP研究。E-mail：028limin@163.com

后敷于患处以治疗过敏性皮炎（用量15～60 g），并附方例[3]。另《浙江民间常用草药（第三集）》和《浙江药用植物资源志要》记载的瘦风轮以及《浙南本草新编》记载的剪刀草均来源于细风轮菜，其性味归经、功效主治、用法用量等极为相似[4—6]。

现代研究发现，细风轮菜主要含有三萜皂苷类、黄酮类、苯丙素类、芳香类、挥发油、甾体类等成分[7—8]。其中，三萜皂苷类主要包括齐墩果烷型和柴胡皂苷型，以醉鱼草皂苷Ⅳb为代表化合物；黄酮类化合物以黄酮和二氢黄酮为主要骨架，多以7-*O*-糖苷的形式存在；苯丙素类化合物主要为迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸B、丹酚酸A等[9—10]。

本课题组前期于四川苗族主要聚居地泸州、宜宾2市3县15镇25个村进行了相关调研，得知细风轮菜与同属的风轮菜生境相同，常相伴而生，故常被当作同一品种（苗药Reib yab qed，音译“锐呀车”）应用；同时，经中苗医专家论证确定，两者均为苗药“锐呀车”的基原，且化学成分、性味归经、功效主治等极为相似[3—7]。目前，风轮菜（药材名断血流）已被2020年版《中国药典》（一部）收载[11]；细风轮菜虽已被《上海市中药材标准》和《上海市中药饮片炮制规范（1980）》收载，但仅有性状、显微鉴别项，无法有效控制药材质量[12—13]。考虑到细风轮菜分布广、资源多，且与风轮菜同为苗药“锐呀车”基原，可作为风轮菜的替代品种，故对细风轮菜的质量标准进行研究非常必要。基于此，本研究拟对细风轮菜原植物性状、鉴别、检查、浸出物及指标性成分（迷迭香酸[14—15]）含量等进行研究，以期为扩大药材资源、建立相关省级民族药质量标准提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括BX61型光学显微镜（日本Olympus公司）、ATS4型薄层自动点样仪（瑞士CAMAG公司）、Thermo Ultimate 3000型高效液相色谱仪[赛默飞世尔科技（中国）有限公司]、Milli-Q Advantage A10型超纯水仪（美国Millipore公司）、SQP型电子天平（赛多利斯科学仪器有限公司）、KQ-500DE型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

醉鱼草皂苷Ⅳb对照品（批号wkq21072906，纯度≥98%）、迷迭香酸对照品（批号wkq22011105，纯度≥98%）均购自四川省维克奇生物科技有限公司；硅胶G薄层板（青岛海洋化工有限公司）；乙腈、磷酸、甲醇均为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为超纯水。

10批细风轮菜药材均采自四川省境内，经洗净后晾干。所有药材经成都中医药大学药学院李敏教授鉴定，均为唇形科风轮菜属细风轮菜*C. gracile*（Benth.）Matsum.的干燥全草。具体来源信息见表1。

表1 10批细风轮菜药材的来源信息

编号	采收日期	采集地点	生境海拔/m	采集量/g
XFLC-1	2021-07-02	宜宾市兴文县鲜禾益农业开发有限公司路边	324.5	120
XFLC-2	2021-07-03	宜宾市兴文县麒麟苗族乡海辣村	596.4	249
XFLC-3	2021-10-26	宜宾市兴文县仙峰苗族乡	1 239.0	138
XFLC-4	2021-11-25	广元市苍溪县傲盘山	677.0	60
XFLC-5	2022-06-18	宜宾市兴文县僰王山镇北街52号路边	412	96
XFLC-6	2022-06-18	宜宾市仙峰苗族乡兴隆村丙乙村	1 230	407
XFLC-7	2022-06-19	宜宾市大坝苗族乡路边	1 272	284
XFLC-8	2022-06-19	宜宾市麒麟苗族乡假谷田路边	349	366
XFLC-9	2022-06-19	泸州市白蜡苗族乡下营坝山坡	388	202
XFLC-10	2022-06-19	泸州市合乐苗族乡红店子村	1 068	183

2 方法与结果

2.1 外观性状鉴别

细风轮菜药材茎纤细，呈方柱形，四面凹下呈槽状，被白色柔毛，表面显灰绿色或绿褐色，有的茎表面显紫红色；质脆，易折断，断面不平整，中央有髓或中空。叶对生；叶片多皱缩、破碎，易脱落。轮伞花序分离，易脱落。花萼管状，显灰绿色或带紫红色，被微柔毛。花冠皱缩成团，呈黄褐色，易脱落。小坚果呈卵球形，显黄褐色，易脱落。气微香，味涩、微苦。其外观性状见图1。



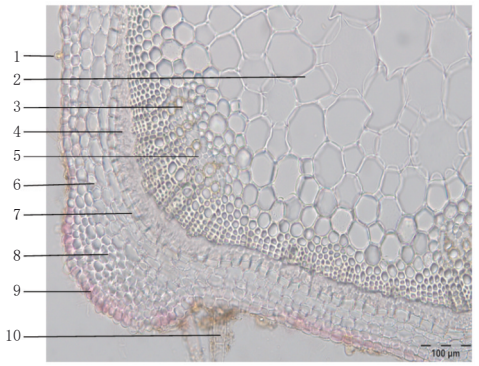
图1 细风轮菜药材的外观性状

2.2 显微鉴别

2.2.1 茎横切面 茎呈方形；表皮细胞类方形或长方形，外被非腺毛和小腺毛；非腺毛细胞呈扁圆柱形，部分呈倒钩状弯曲，疣点明显。厚角组织发达，位于角隅处；皮层细胞3～5列，为类圆形至长圆形薄壁细胞，偶见油滴；内皮层细胞1列，为长圆形或长方形；中柱鞘纤维稀少，常于棱角处1～2个散在；维管束外韧型，紧密排列，于棱角处较发达；木质部导管1～2列放射状排列，形成层成环；韧皮部较窄；髓部薄壁细胞较大；鲜品近表皮部分皮层薄壁细胞含叶绿体，或显紫红色。其茎横切面的显微特征见图2。

2.2.2 粉末 粉末呈绿褐色或灰绿色。非腺毛由1～7个细胞组成，长45～560 μm，直径36～55 μm，疣点明显，部分呈倒钩状弯曲。小腺毛头与柄均为单细胞，头部直径约20 μm；腺鳞直径为30～54 μm。导管大多为螺纹、网纹和环纹导管。木纤维成束或单个散在。茎中柱鞘纤维细胞壁木化。叶下表皮细胞垂周壁呈波状弯曲，气孔为直轴式。叶肉细胞含有大量草酸钙方晶。花

粉粒呈卵球形，直径30～40 μm，具3个萌发孔，外壁具雕纹及6条沟槽。其粉末的显微特征见图3。



1：小腺毛；2：髓；3：木质部；4：韧皮部；5：维管束；6：皮层；7：内皮层；8：厚角组织；9：表皮；10：非腺毛

图2　细风轮菜药材的茎横切显微图



1：花粉粒（×1 000）；2：导管（×400）；3：非腺毛（×400）；4：小腺毛（×400）；5：腺鳞（×400）；6：中柱鞘纤维（×400）；7：木纤维（×400）；8：叶下表皮碎片（×400）；9：草酸钙方晶（×400）

图3　细风轮菜药材的粉末显微图

2.3　薄层鉴别

参考2020年版《中国药典》（一部）断血流“鉴别”项并略作改进[11]。

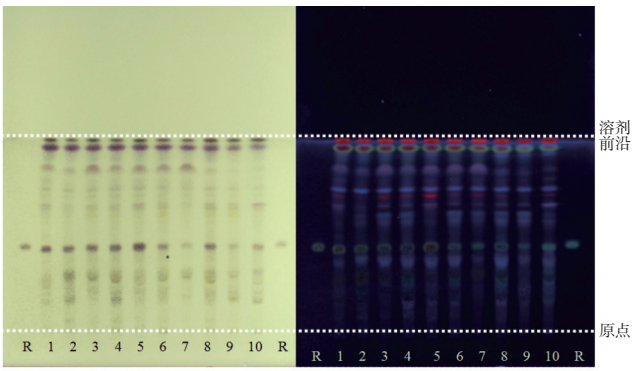
2.3.1　供试品溶液的制备　取本品粉末1.0 g，加甲醇10 mL，超声处理15 min，滤过，取滤液作为供试品溶液。

2.3.2　对照品溶液的制备　取醉鱼草皂苷Ⅳb对照品适量，加甲醇制成质量浓度为2 mg/mL的溶液，作为对照品溶液。

2.3.3　薄层色谱条件及结果　按照2020年版《中国药典》（四部）通则“0502薄层色谱法”[16]，吸取上述2种溶液各6 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上。将三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水（5∶20∶11∶5，*V*/*V*/*V*/*V*）于5 ℃下静置至分层，取下层溶液作为展开剂。将上述薄层板置于该展开剂中展开，取出，晾干，喷以10%硫酸乙醇溶液，于105 ℃加热至斑点显色清晰，分别置日光和紫外光（365 nm）下检视。结果显示，供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色斑点。结果见图4。

2.4　检查

2.4.1　水分　取各批次细风轮菜药材粉末，按照2020年版《中国药典》（四部）通则“0832水分测定法”项下“第二法（烘干法）”进行检测[16]。10批样品水分检测结果为8.69%～12.33%，平均值为10.10%。以平均值上浮20%为标准[17]，拟定水分限度不得过12.0%。结果见表2。



A.日光　　B.紫外光（365 nm）

R：醉鱼草皂苷Ⅳb对照品；1～10：细风轮菜药材（XFLC-1～XFLC-10）供试品

图4　细风轮菜药材的薄层色谱鉴别图

表2　水分、总灰分、酸不溶性灰分及浸出物检测结果

编号	水分/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	稀乙醇浸出物/%
XFLC-1	9.21	9.24	0.60	19.04
XFLC-2	9.57	9.21	0.81	25.85
XFLC-3	9.81	10.22	1.17	22.60
XFLC-4	8.69	7.36	0.14	22.13
XFLC-5	9.72	10.63	0.79	23.82
XFLC-6	9.61	9.84	1.38	25.20
XFLC-7	9.69	10.43	1.06	22.62
XFLC-8	11.69	11.08	0.97	22.98
XFLC-9	10.65	5.96	0.40	18.57
XFLC-10	12.33	13.33	3.29	32.61
平均值	10.10	9.73	1.06	23.54

2.4.2　总灰分和酸不溶性灰分　取各批次细风轮菜药材粉末，按照2020年版《中国药典》（四部）通则“2302灰分测定法”项下“总灰分测定法”和“酸不溶性灰分测定法”进行检测[16]。10批样品总灰分检测结果为5.96%～13.33%，平均值为9.73%；酸不溶性灰分检测结果为0.14%～3.29%，平均值为1.06%。以平均值上浮20%为标准并结合药材实际[17]，拟定总灰分限度不得过12.0%，酸不溶性灰分不得过1.5%。结果见表2。

2.4.3　浸出物　取各批次细风轮菜药材粉末，按照2020年版《中国药典》（四部）通则“2201浸出物测定法”项下“醇溶性浸出物测定法（热浸法）”，以稀乙醇为溶剂进行检测[16]。10批样品稀乙醇浸出物检测结果为18.57%～32.61%，平均值为23.54%。以平均值下调20%为标准[17]，拟定稀乙醇浸出物不得少于18.0%。结果见表2。

2.5　含量测定

采用高效液相色谱法检测细风轮菜药材中指标性成分迷迭香酸的含量。

2.5.1　色谱条件　色谱柱为Ultimate LP-C_{18}（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.2%磷酸溶液（20∶80，*V*/*V*）；流速为1.0 mL/min；柱温为30 ℃；检测波长为330 nm；进样量为10 μL。

2.5.2　对照品溶液的制备　取迷迭香酸对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度为0.203 6 mg/mL的对照品溶液。

2.5.3　供试品溶液的制备　取细风轮菜药材粉末（过二号筛，下同）约0.25 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入70%甲醇20 mL，称定质量，超声处理30 min，放冷，再次称定质量，用70%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.5.4　方法学考察　（1）专属性考察：取细风轮菜药材（编号XFLC-9）供试品溶液、迷迭香酸对照品溶液和空白对照溶液（70%甲醇），按“2.5.1”项下色谱条件进样测定。结果表明，细风轮菜供试品和迷迭香酸对照品在相同保留时间出峰，且峰形对称，分离度大于1.5；同时，空白对照溶液对该成分的定量分析没有干扰。结果见图5（空白对照溶液图略）。

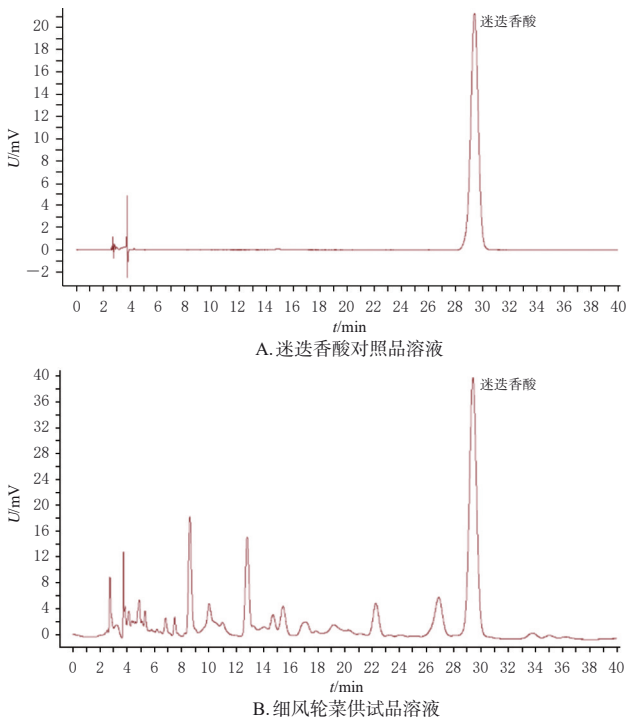


图5　迷迭香酸定量分析专属性考察的色谱图

（2）线性关系考察：取迷迭香酸对照品适量，配制成质量浓度分别为5.12、10.25、20.50、41.00、82.00、164.00 μg/mL的对照品溶液，按“2.5.1”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，得迷迭香酸的线性回归方程为y=379.18x−1.025 3（R^2=0.999 8），该成分检测质量浓度的线性范围为5.12～164.00 μg/mL。

（3）定量限和检测限考察：精密量取“2.5.2”项下对照品溶液，以甲醇稀释数倍，按“2.5.1”项下色谱条件进样测定，分别以信噪比10∶1、3∶1计算迷迭香酸的定量限和检测限。结果显示，迷迭香酸的定量限为0.826 3 μg，检测限为0.027 5 μg。

（4）重复性试验：精密称取同一批样品（编号XFLC-9）约0.25 g，共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，记录峰面积并以标准曲线法计算迷迭香酸的含量。结果显示，该成分含量的RSD为1.59%（n=6），表明方法重复性良好。

（5）精密度试验：取“2.5.3”项下供试品溶液（编号XFLC-9），按“2.5.1”项下色谱条件连续进样测定6次，记录峰面积。结果显示，该成分峰面积的RSD为0.38%（n=6），表明方法精密度良好。

（6）稳定性试验：精密称取同一批样品（编号XFLC-9）约0.25 g，共6份，按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液，分别于室温下在不同时间点（0、2、4、8、12、24 h）按“2.5.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，该成分峰面积的RSD为0.88%（n=6），表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定。

（7）加样回收率试验：精密称取本品粉末（编号XFLC-9）约0.125 0 g，共6份，分别加入0.105 6 mg/mL的迷迭香酸对照品溶液（按“2.5.2”项下方法配制）7.5 mL，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，记录峰面积。结果显示，加样回收率为99.89%～102.29%，平均加样回收率为100.96%，RSD为1.05%（n=6），说明方法准确度良好。

（8）耐用性考察：精密称取同一批样品（编号XFLC-9），按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液，在其他色谱条件不变的情况下，分别考察不同型号色谱柱[Ultimate LP-C_{18}（4.6 mm×250 mm，5 μm）、Kromasil C_{18}（4.6 mm×250 mm，5 μm）、Bridge C_{18}（4.6 mm×250 mm，5 μm）]和不同型号色谱仪（Shimadzu 1200型、Thermo Ultimate 3000型、Agilent 1200型高效液相色谱仪）的测定结果。结果显示，在不同型号色谱柱、色谱仪条件下，样品含量的RSD分别为1.25%（n=3）、1.97%（n=3），表明方法耐用性良好。

2.5.5　样品含量测定　精密称取10批细风轮菜药材样品约0.25 g，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，记录峰面积并以标准曲线法计算样品中迷迭香酸的含量。每样品平行3份测定，取平均值。结果显示，10批样品中迷迭香酸的含量为0.35%～0.82%，平均值为0.56%。以平均值下调20%为标准[17]，拟定本品按干燥品计算，含迷迭香酸（$C_{18}H_{16}O_8$）不得少于0.45%。结果见表3。

表3　10批药材迷迭香酸含量测定结果（n=3）

编号	称样量/g	迷迭香酸含量/%
XFLC-1	0.250 3	0.58
XFLC-2	0.250 4	0.63
XFLC-3	0.250 3	0.46
XFLC-4	0.250 1	0.35
XFLC-5	0.250 2	0.56
XFLC-6	0.250 5	0.82
XFLC-7	0.250 3	0.70
XFLC-8	0.250 4	0.41
XFLC-9	0.250 8	0.62
XFLC-10	0.250 7	0.50
平均值	0.250 4	0.56

3 讨论

3.1 显微鉴别条件的优化

细风轮菜叶主脉较纤细，易受机械损伤，制片难度大。本课题组前期将其叶下表皮分别以水、水合氯醛装片，或者先用石油醚透化后再以水合氯醛装片，于光学显微镜下观察发现，上述3种方法都不能清晰地呈现药材叶下表皮细胞，故本研究并未选择叶主脉横切面及叶表面作显微鉴别项。细风轮菜药材茎横切面显微特征明显，且容易制片，故本研究选择茎横切面来作为该药材的显微鉴别项。

3.2 定性和定量指标性成分的选择

经中苗医专家论证，细风轮菜具清热、解毒、除湿的功效，主治口舌生疮（口疮）、咽喉肿痛（豆喉症、乳蛾症）、疔疮肿毒（毒疔、毒疮、脓包）、胃肠湿热（湿热毒泻肚症）。现代研究表明，三萜皂苷类提取物为细风轮菜主要活性部位，具抑菌、抗炎、抗肿瘤等活性[18]，其中醉鱼草皂苷Ⅳb是其代表成分[19]；迷迭香酸为酚酸类化合物，具有抗炎、抑菌、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤、调节免疫和保护神经细胞等药理作用[14－15]。这两种成分的药理作用能较好地体现细风轮菜清热解毒的功效，因此本研究参考2020年版《中国药典》（一部）断血流“鉴别”项以醉鱼草皂苷Ⅳb为指标性成分，建立了薄层色谱鉴别方法；考虑到定性、定量指标性成分不宜相同，本研究选择了含量相对较高的另一成分迷迭香酸作为细风轮菜药材定量分析的指标性成分。后期，本课题组将对细风轮菜药材的化学成分进行深入研究，以期进一步完善其质量标准。

3.3 薄层色谱条件的选择

本研究以醉鱼草皂苷Ⅳb为对照，建立了细风轮菜药材的薄层鉴别项。本课题组前期参考相关文献[10－11,15]，比较了三氯甲烷-甲醇-冰醋酸-水（7∶2.5∶1∶0.5，*V*/*V*/*V*/*V*）、三氯甲烷-甲醇-水（13∶7∶2，*V*/*V*/*V*）、三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水（5∶20∶11∶5，*V*/*V*/*V*/*V*）的下层溶液和乙酸乙酯-乙醇-水（8∶2∶1，*V*/*V*/*V*）4种不同的展开系统，筛选得到最优展开系统为三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水（5∶20∶11∶5，*V*/*V*/*V*/*V*）的下层溶液。同时，本课题组对供试品溶液的提取方式、提取时间、点样量进行了考察。结果显示，提取方式和提取时间对薄层斑点的影响不大，故选择超声处理15 min；当对照品溶液和供试品溶液的点样量均为6 μL时，所得薄层斑点清晰且分离效果较好。为保证鉴别的可靠性，本课题组前期进行了假阳性实验，发现对照品和供试品的混合溶液在对照品斑点位置并未分离。此外，本课题组还考察了薄层板的耐用性和温湿度条件，结果显示，“2.3.3”项下薄层条件对细风轮菜药材中醉鱼草皂苷Ⅳb的鉴别具有良好的适用性，且分离度与重现性均较好。

3.4 浸出物检测条件的选择

本课题组前期取细风轮菜药材粉末（编号XFLC-9），按照2020年版《中国药典》（四部）通则“2201浸出物测定法”项下“水溶性浸出物（冷浸法）”和“醇溶性浸出物测定法（热浸法）”分别考察了冷浸、热浸法和不同溶剂（水，稀乙醇，30%、50%、70%、95%乙醇和无水乙醇）对浸出物含量的影响[16]。结果显示，当采用热浸法并以稀乙醇为溶剂时，所测浸出物含量最高。

3.5 高效液相色谱条件和供试品溶液制备方法的选择

本课题组前期发现，当以甲醇-水和乙腈-水为流动相时，分离效果不佳，迷迭香酸色谱峰峰形拖尾，且基线不稳定；随后，本课题组参考相关文献[20]，对流动相进行了优化，当以乙腈-0.2%磷酸溶液（20∶80，*V*/*V*）进行等度洗脱时，所得迷迭香酸色谱峰峰形对称，分离度大于1.5。本课题组前期使用紫外检测器对供试品溶液（编号XFLC-9）和迷迭香酸对照品溶液进行了全波长（190～800 nm）扫描，结果显示，二者均在330 nm波长处有最大吸收，故以此为检测波长。同时，本课题组对供试品溶液的提取溶剂（乙醇、甲醇、50%甲醇、70%甲醇）和料液比（1∶20、1∶50、1∶80、1∶100，g/mL）进行了考察。结果显示，称取药材粉末0.25 g，精密加入70%甲醇20 mL，超声处理30 min可充分提取其中的迷迭香酸，且所得色谱峰峰形、分离度均较好。经方法学考察证实，所建高效液相色谱法重复性、精密度、准确度、耐用性均良好，可用于细风轮菜中迷迭香酸含量的测定。

3.6 限度的拟定

按照10批细风轮菜药材水分、总灰分、酸不溶性灰分、稀乙醇浸出物、迷迭香酸含量的测定结果，本研究最终拟定水分、总灰分、酸不溶性灰分分别不得过12.0%、12.0%、1.5%，稀乙醇浸出物不得少于18.0%；按干燥品计算，本品含迷迭香酸（$C_{18}H_{16}O_8$）不得少于0.45%。

综上所述，本研究较全面地考察了细风轮菜药材的各项质量指标，确定了专属性强、稳定可靠且能有效反映其质量的评价方法，初步建立了该药材的质量标准，为其品质鉴定、质量控制提供了评价指标和方法，有利于其后期资源利用与产品开发。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志：第三十六卷[M]. 北京：科学出版社，1974：453.

[2] 王一仁. 饮片新参[M]. 上海千顷堂书局，1936：42-43.

[3] 王国强. 全国中草药汇编：卷二[M]. 3版. 北京：人民卫生出版社，2014：3144-3145.

[4] 浙江省卫生局. 浙江民间常用草药：第三集[M]. 杭州：浙江人民出版社，1972：291-294.

[5] 姚振生，熊耀康. 浙江药用植物资源志要[M]. 上海：上海科学技术出版社，2016：321-322.

[6] 甘慈尧. 浙南本草新编[M]. 北京：中国中医药出版社，2016：297.

（下转第692页）