doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2022.17.016

蒙药杠柳质量标准研究*

敖敦格日乐[1,2]，拉喜那木吉拉[1,2△]，吴香杰[1,2]

（1. 内蒙古民族大学蒙医药学院，内蒙古 通辽 028000；2. 国家药监局中药<蒙药>质量控制重点实验室，内蒙古 通辽 028000）

摘要：目的 建立蒙药杠柳的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法定性鉴别槲皮素和山柰素；采用高效液相色谱法测定4－甲氧基水杨醛和槲皮素的含量，色谱柱为Promosil C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为甲醇－0.1%磷酸溶液（45∶55，*V*/*V*），流速为1.0 mL/min，检测波长为360 nm，柱温为32 ℃，进样量为10 μL。**结果** 薄层色谱鉴别中，供试品溶液在3种展开系统[正己烷－乙酸乙酯－甲酸（9∶6∶1，*V*/*V*/*V*）、三氯甲烷－乙酸乙酯－甲酸（6∶4∶1，*V*/*V*/*V*）、环己烷－乙酸乙酯－甲酸（6∶5∶1，*V*/*V*/*V*）]下均检出槲皮素和山柰素特征斑点。4－甲氧基水杨醛和槲皮素的进样量分别在0.277 0～1.662 0 μg（*r*=0.999 8，*n*=6）和0.082 5～0.495 0 μg（*r*=0.999 7，*n*=6）范围内与峰面积线性关系良好；精密度、稳定性、重复性试验的*RSD*均小于2.0%（*n*=6）；平均加样回收率分别为96.78%和102.05%，*RSD*分别为5.38%和2.78%（*n*=18）。药材样品中4－甲氧基水杨醛和槲皮素的含量分别为2.35～6.68 mg/g和0.28～2.09 mg/g。**结论** 该方法操作简便、结果准确、稳定性和重复性均较好，可用于蒙药杠柳的质量控制。

关键词：蒙药；杠柳；薄层色谱法；高效液相色谱法；质量控制

中图分类号：R932；R284.1；R286.0　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1006－4931（2022）17－0061－04

Quality Standard of Mongolian Medicine *Periploca Sepium*

Aodungerile[1,2], *Laxinamujila*[1,2], *WU Xiangjie*[1,2]

(1. *Mongolian Medical College, Inner Mongolia Minzu University, Tongliao, Inner Mongolia, China 028000*; 2. *NMPA Key Laboratory for Quality Control of Traditional Chinese Medicine <Mongolian Medicine>, Tongliao, Inner Mongolia, China 028000*)

Abstract: Objective To establish the quality standard of Mongolian medicine *Periploca sepium*. **Methods** Quercetin and kaempferol were qualitatively identified by the thin－layer chromatography (TLC) method. The contents of 4－mthoxysalicylaldehyde and quercetin were determined by the high－performance liquid chromatography (HPLC) method. The chromatographic column was Promosil C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol－0.1% phosphoric acid solution (45∶55, *V*/*V*), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 360 nm, the column temperature was 32 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC chromatograms showed that the characteristic spots of quercetin and kaempferol were detected in the test solution with the three development systems including *n*－hexane－ethyl acetate－formic acid (9∶6∶1, *V*/*V*/*V*), chloroform－ethyl acetate－formic acid (6∶4∶1, *V*/*V*/*V*) and cyclohexane－ethyl acetate－formic acid (6∶5∶1, *V*/*V*/*V*). The linear ranges of 4－mthoxysalicylaldehyde and quercetin were 0.277 0－1.662 0 μg (*r*=0.999 8, *n*=6) and 0.082 5－0.495 0 μg (*r*=0.999 7, *n*=6), respectively. The *RSDs* of precision, stability and repeatability tests were lower than 2.0% (*n*=6). The average recoveries of 4－mthoxysalicylaldehyde and quercetin were 96.78% and 102.05% with *RSD*s of 5.38% and 2.78% (*n*=18), respectively. The contents of 4－mthoxysalicylaldehyde and quercetin in the samples were in the range of 2.35－6.68 mg/g and 0.28－2.09 mg/g, respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate, stable and repeatable, which can be used for the quality control of Mongolian medicine *Periploca sepium*.

Key words: Mongolian medicine; *Periploca sepium*; TLC; HPLC; quality control

杠柳为萝藦科植物杠柳*Periploca sepium* Bunge的带叶嫩枝[1－3]，蒙药名为亚曼－额布热[4]或苏图－毛都[1－2]，性辛、温，味甜，有毒[3,5－6]。个别地区将杠柳作为蒙药材水柏枝的代用品，其功能主治与水柏枝相同，具有清热、清协日乌素、透疹、敛毒作用[7]，主要分布于我国吉林、辽宁、内蒙古、河北、山西、山东、河南、四川、江苏、甘肃、宁夏、陕西等省（直辖市、自治区）[1－3,8－9]。目前，该药材的药用部位为根，而传统蒙药药用部位为带叶嫩枝，但在带叶嫩枝方面的研究甚少。本研究中对杠柳的根与嫩枝叶有效成分的差异及药理作用进行研究，以建立杠柳的质量标准。现报道如下。

1　仪器与试药

1.1　仪器

JY02S型紫外分析仪（北京君意东方电泳设备有限

*基金项目：内蒙古自治区科技计划项目[2021GG0002]；内蒙古蒙医药工程技术研究院科研课题[GCY201508013]；2021年“草原英才”人才项目[CYYC21003]；内蒙古民族大学自然科学一般项目[NMDYB19073]。

第一作者：敖敦格日乐，女，蒙古族，在读博士研究生，实验师，研究方向为蒙药学理论及蒙药资源学，（电子信箱）15144969069@163.com。

△通信作者：拉喜那木吉拉，男，蒙古族，博士，教授，研究方向为蒙药学理论及蒙药资源学，（电子信箱）namujila@126.com。

公司);HH－W600型恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司);Shimadzu SPD－M20A LC－20AT型高效液相色谱仪(配有SPD－10AVP型检测器、N3000色谱工作站),AUW220D型电子分析天平(精度为0.01/1.00 mg),均购自日本岛津公司;KQ－100型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,超声功率为100 W,加热功率为400 W);98－1－B型电热套(天津泰斯特仪器有限公司);BCD－246GNSE型冰柜(苏州三星电子有限公司)。

1.2 试药

槲皮素对照品(批号为100081－201509,含量大于98.6%),山柰素对照品(批号为110861－201310,含量大于98%),4－甲氧基水杨醛对照品(批号为110790－201404,含量大于99%),均购自中国食品药品检定研究院;蒸馏水;硅胶GF_{254}(青岛海洋化工有限公司);甲醇(分析纯,批号为2014308),正己烷(分析纯,批号为20150108),乙酸乙酯(分析纯,批号为2014218),甲醇(色谱纯,供薄层色谱鉴别用),均购自天津市大茂化学试剂厂。蒙药杠柳(采集于2014年至2015年,采集部位为嫩枝叶)样品来源信息见表1,其干燥带叶嫩枝由辽宁省食品药品检定研究院王维宁教授及内蒙古民族大学吴香杰教授鉴定为正品,保存于国家民委－教育部蒙医药研发工程重点实验室。

表1 样品来源信息

Tab. 1 Source information of samples

批号	采集(采购)地点	批号	采集(采购)地点
NA1	内蒙古自治区赤峰市阿旗	JS5	吉林省双辽市那木林场
NK2	内蒙古自治区通辽市库伦旗	JS6	吉林省四平市郊区
NK3	内蒙古自治区通辽市科尔沁区	NW7	内蒙古自治区赤峰市翁牛特旗
LZ4	辽宁省阜新市彰武县		

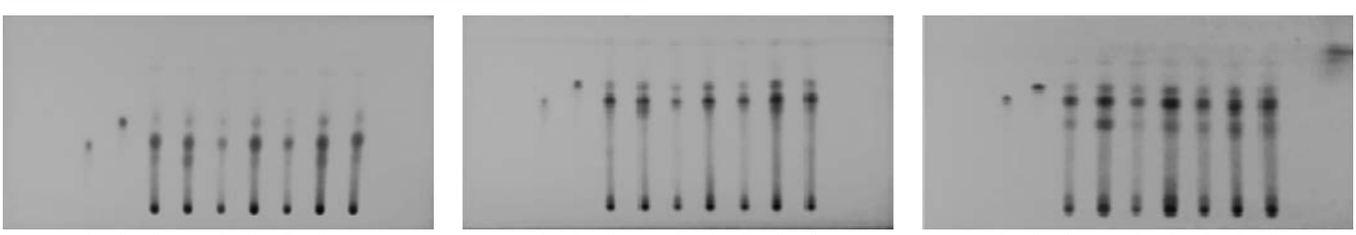
2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

称取羧甲基纤维素钠3 g,置1 000 mL容量瓶中,加蒸馏水定容,振摇使完全溶解,即得0.3%羧甲基纤维素钠水溶液。取硅胶GF_{254}及0.3%羧甲基纤维素钠水溶液,按1∶3(*m*/*V*)比例混匀,铺匀在10 cm×20 cm的薄层板上,厚度为0.4～0.5 mm,105 ℃活化40 min,置干燥器内,即得硅胶GF_{254}薄层板。

取样品粉末1.0 g,加80%甲醇50 mL,加热回流1 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加10 mL水使溶解,乙醚振摇提取2次,每次10 mL,去掉乙醚液,水液加10 mL稀盐酸,水浴加热1 h,取出,迅速冷却,乙酸乙酯振摇提取2次,每次20 mL,合并乙酸乙酯液,用30 mL水洗涤,去掉水,蒸干乙酸乙酯液,残渣加1 mL甲醇使溶解,作为供试品溶液。取槲皮素对照品、山柰素对照品各适量,加甲醇制成每1 mL分别含槲皮素0.501 mg、山柰素0.504 mg的对照品溶液。

按2015年版《中国药典(四部)》通则0502试验,吸取上述供试品溶液与对照品溶液各3 μL,分别点于同一硅胶GF_{254}薄层板上,分别以正己烷－乙酸乙酯－甲酸(9∶6∶1,*V*/*V*/*V*),三氯甲烷－乙酸乙酯－甲酸(6∶4∶1,*V*/*V*/*V*),环己烷－乙酸乙酯－甲酸(6∶5∶1,*V*/*V*/*V*)为展开系统,展开,取出,晾干,热风吹干,置紫外光灯(254 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点。色谱图见图1。从3个展开系统中选出斑点最清晰的进行耐用性试验,以正己烷－乙酸乙酯－甲酸(9∶6∶1,*V*/*V*/*V*)为展开系统,考察上述溶液在不同温湿度[室温、低温(5 ℃)、低湿度(室温、相对湿度为20%)、高湿度(室温、相对湿度为70%]的显色情况。色谱图见图2。结果表明,方法耐用性良好。



1. 槲皮素对照品溶液 2. 山柰素对照品溶液 3－9. 供试品溶液

A. 正己烷－乙酸乙酯－甲酸(9∶6∶1,*V*/*V*/*V*) B. 三氯甲烷－乙酸乙酯－甲酸(6∶4∶1,*V*/*V*/*V*)

C. 环己烷－乙酸乙酯－甲酸(6∶5∶1,*V*/*V*/*V*)

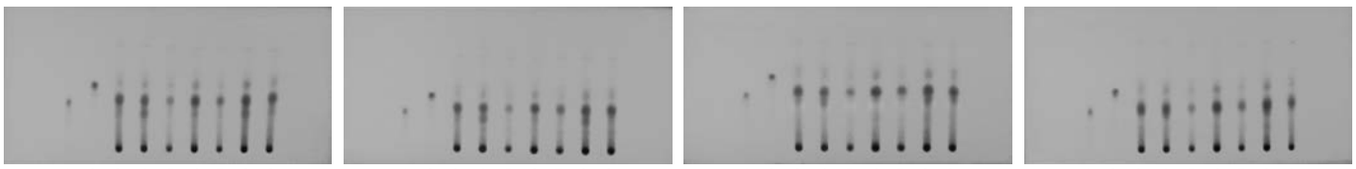
图1 不同展开系统下蒙药杠柳薄层色谱图(254 nm)

1. Quercetin reference solution 2. Kaempferol reference solution 3－9. Test solution

A. *N*－hexane－ethyl acetate－formic acid (9∶6∶1,*V*/*V*/*V*) B. Chloroform－ethyl acetate－formic acid (6∶4∶1,*V*/*V*/*V*)

C. Cyclohexane－ethyl acetate－formic acid (6∶5∶1,*V*/*V*/*V*)

Fig. 1 TLC chromatograms of Mongolian medicine *Periploca sepium* with different development systems (254 nm)



1. 槲皮素对照品溶液　2. 山柰素对照品溶液　3－9. 供试品溶液

A. 室温　B. 低温(5 ℃)　C. 低湿度(室温、相对湿度为 20%)　D. 高湿度(室温、相对湿度为 70%)

图 2　不同温湿度条件下蒙药杠柳薄层色谱图[展开系统为正己烷－乙酸乙酯－甲酸(9∶6∶1,*V*/*V*/*V*)]

1. Quercetin reference solution　2. Kaempferol reference solution　3－9. Test solution

A. Room temperature　B. Low temperature (5 ℃)　C. Low humidity (room temperature, relative humidity of 20%)

D. High humidity (room temperature, relative humidity of 70%)

Fig. 2　TLC chromatograms of Mongolian medicine *Periploca sepium* under different temperature and humidity [the development system is *n*－hexane－ethyl acetate－formic acid (9∶6∶1, *V*/*V*/*V*)]

2.2　含量测定

2.2.1　色谱条件

色谱柱：Promosil C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm，5 μm)；流动相：甲醇－0.1% 磷酸溶液(45∶55，*V*/*V*)；流速：1.0 mL/min；检测波长：360 nm；柱温：32 ℃；进样量：10 μL。

2.2.2　溶液制备

取 4－甲氧基水杨醛对照品 2.77 mg，精密称定，加甲醇溶解并定容至 5 mL 容量瓶中，振摇使完全溶解，取 1 mL，加甲醇溶解并定容至 5 mL 容量瓶中，即得 4－甲氧基水杨醛对照品溶液。取槲皮素对照品 3.30 mg，精密称定，加甲醇溶解并定容至 10 mL 容量瓶中，振摇使完全溶解，取 1 mL，加甲醇溶解并定容至 10 mL 容量瓶中，即得槲皮素对照品溶液。

取样品粉末 1 g，过 40 目筛，精密称定，置 150 mL 圆底烧瓶中，精密加入 50 mL 甲醇－25% 盐酸(4∶1，*V*/*V*)溶液，密塞，称定质量，水浴回流 1 h，冷却，再称定质量，用甲醇－25% 盐酸(4∶1，*V*/*V*)溶液补足减失的质量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

2.2.3　方法学考察

线性关系考察：取 2.2.2 项下 4－甲氧基水杨醛对照品溶液(质量浓度为 0.110 8 mg/mL)和槲皮素对照品溶液(质量浓度为 0.033 0 mg/mL)，按 2.2.1 项下色谱条件分别进样 2.5，5.0，7.5，10.0，12.5，15.0 μL 测定，以对照品溶液进样量(*X*，μg)为横坐标、峰面积(*Y*)为纵坐标进行线性回归，得回归方程分别为 $Y_{甲}$ = 62 606 $X_{甲}$ － 572.73 和 $Y_{槲}$ = 3 130 900.433 0 $X_{槲}$ － 5 881.00(*r* = 0.999 8，0.999 7，*n* = 6)。结果表明，4－甲氧基水杨醛和槲皮素的进样量分别在 0.277 0～1.662 0 μg 和 0.082 5～0.495 0 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验：取同一批(批号为 NK3)样品，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件依次进样 6 次，记录峰面积。结果 4－甲氧基水杨醛和槲皮素峰面积的 *RSD* 分别为 0.99% 和 1.97%(*n* = 6)，表明仪器精密度良好。

稳定性试验：取同一批(批号为 NK3)样品，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，分别于配制后 0，2，4，6，8，12 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果 4－甲氧基水杨醛和槲皮素峰面积的 *RSD* 分别为 1.50% 和 1.15%(*n* = 6)，表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

重复性试验：取同一批(批号为 NK3)样品，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件下进样测定，记录峰面积。结果 4－甲氧基水杨醛和槲皮素峰面积的 *RSD* 分别为 1.47% 和 1.55%(*n* = 6)，表明方法重复性良好。

加样回收试验：取同一批(批号为 NK3)样品 0.5 g，精密称定，共 6 份，均按 1∶0.8，1∶1，1∶1.2 比例精密加入 4－甲氧基水杨醛、槲皮素对照品，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算加样回收率。结果见表 2。

耐用性试验：取同一批(批号为 NK3)样品 0.5 g，精密称定，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，改变色谱柱[Promosil C_{18} 柱、NertSustain® C_{18} 柱、Instrullc Plus C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm，5 μm)]和柱温(32，35，40 ℃)，其余色谱条件同 2.2.1 项下，进样测定，记录峰面积。结果 4－甲氧基水杨醛和槲皮素峰面积的 *RSD* 均小于 2.0%(*n* = 3)，表明方法耐用性良好。

2.2.4　样品含量测定[11－12]

取 7 批样品各适量，精密称定，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，按外标法计算含量。结果见表 3。

3　讨论

萝藦科植物杠柳是传统蒙药，药用部位为干燥嫩

表2 加样回收试验结果（$n=18$）

Tab. 2 Results of the recovery test ($n=18$)

取样量	样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$(%)		RSD(%)	
(g)	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.5001	3.1146	0.4563	2.4200	0.3600	5.4725	0.8158	97.43	99.86				
0.5001	3.1146	0.4563	2.4200	0.3600	5.5020	0.8160	98.65	99.92				
0.5000	3.1146	0.4563	2.3900	0.3400	5.2710	0.8164	90.23	105.91				
0.5000	3.1146	0.4563	2.3900	0.3400	5.3361	0.8153	92.95	105.59				
0.5000	3.1146	0.4563	2.3800	0.3500	5.2557	0.8131	89.96	101.94				
0.5000	3.1146	0.4563	2.3800	0.3500	5.2601	0.8106	90.15	101.23				
0.5001	3.1146	0.4563	3.1100	0.4600	5.9660	0.9355	91.68	104.17				
0.5001	3.1146	0.4563	3.1100	0.4600	6.0545	0.9100	94.53	98.63				
0.5000	3.1146	0.4563	3.0000	0.4500	5.9391	0.9040	94.15	99.49	96.78	102.05	5.38	2.78
0.5000	3.1146	0.4563	3.0000	0.4500	5.8172	0.8905	90.09	96.49				
0.5002	3.1146	0.4563	3.0100	0.4800	6.1056	0.9429	99.37	101.38				
0.5002	3.1146	0.4563	3.0100	0.4800	6.1251	0.9422	100.02	101.23				
0.5001	3.1146	0.4563	4.2100	0.5600	7.4282	1.0175	102.46	100.21				
0.5001	3.1146	0.4563	4.2100	0.5600	7.5466	1.0284	105.27	102.16				
0.5001	3.1146	0.4563	4.5100	0.5900	7.5784	1.0646	98.98	103.10				
0.5001	3.1146	0.4563	4.5100	0.5900	7.5704	1.0612	98.80	102.53				
0.5000	3.1146	0.4563	4.0400	0.5500	7.3397	1.0426	104.58	106.60				
0.5000	3.1146	0.4563	4.0400	0.5500	7.2634	1.0418	102.69	106.45				

注：A为4－甲氧基水杨醛，B为槲皮素。表3同。

Note: A refers to 4－mthoxysalicylaldehyde, and B refers to quercetin (for Tab. 2－3).

表3 样品含量测定结果

Tab. 3 Results of content determination of 4－mthoxysalicylaldehyde and quercetin in samples

批号	含量(mg/g)		$\bar{X}$(mg/g)		RSD(%)	
	A	B	A	B	A	B
NA1	6.00/6.00/6.21	0.91/0.89/0.90	6.07	0.90	2.00	1.11
NK2	5.72/5.88/5.86	1.14/1.15/1.13	5.82	1.14	1.50	0.88
NK3	3.98/4.05/4.09	1.07/1.06/1.06	4.04	1.06	1.38	0.54
LZ4	3.20/3.20/3.23	0.76/0.76/0.75	3.21	0.76	0.54	0.76
JS5	6.71/6.64/6.68	0.29/0.28/0.28	6.68	0.28	0.53	2.04
JS6	3.26/3.20/3.26	2.04/2.03/2.09	3.24	2.05	1.07	1.57
NW7	2.35/2.35/2.41	0.47/0.46/0.46	2.37	0.46	1.46	1.25

枝[7]，《蒙药学家罗布桑学术著作大成(3)蒙药志》[3]中记载，其药用部位为茎枝。杠柳茎枝中主要含有C21甾体类、萜类、强心苷类、醛类等化学成分，具有清热、抗炎作用及燥协日乌素、敛毒、消肿等功效，其安全范围小，个体差异大，易发生药品不良反应[13]，茎叶中含有黄酮类成分，但对茎枝的研究报道甚少。前期研究发现，蒙药水柏枝中主要含有黄酮类槲皮素和山柰素，通过薄层谱鉴别与含量测定发现，蒙药杠柳嫩枝中也含有山柰素和槲皮素成分。但在中药中其药用部位为干燥根皮，主要含杠柳毒苷和4－甲氧基水杨醛[10]。

本研究中以槲皮素和山柰素为对照品，选用不同展开系统对不同产地的杠柳进行薄层色谱鉴别。由图1可知，以正己烷－乙酸乙酯－甲酸(9∶6∶1，$V/V/V$)为展开系统时，薄层色谱斑点清晰，重复性好，易于鉴别。故选用该展开系统做耐用性试验，室温、低温(5 ℃)、低湿度(室温、相对湿度为20%)、高湿度(室温、相对湿度为70%)条件下耐用性均良好，薄层色谱斑点清晰，分离度良好，比移值适中。

同时，采用高效液相色谱法检测蒙药对杠柳中主要成分4－甲氧基水杨醛和槲皮素的含量，方法学考察结果均符合规定。

综上所述，该方法操作简便、结果准确、专属性强、重复性好[14－15]，可用于蒙药杠柳的质量控制，有助于促进中(蒙)药材的产业化，并带动药材种植业、中蒙医药知识经济等相关产业发展。

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(第六十三卷)[M]. 北京：科学出版社，1977：259－275.
[2] 贺士元，邢其华，尹祖棠，等. 北京植物志(下册)[M]. 北京：北京出版社，1987：761－762.
[3] 罗布桑. 蒙药学家罗布桑学术著作大成(3)蒙药志[M]. 赤峰：内蒙古科学技术出版社，2011：1529－1530.
[4] 内蒙古自治区食品药品监督管理局. 中国蒙药名词规范[M]. 呼和浩特：内蒙古人民出版社，2016：310.
[5] 内蒙古植物药志编辑委员会. 内蒙古植物药志(第二卷)[M]. 呼和浩特：内蒙古人民出版社，1989：406－408.
[6] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(上册)[M]. 北京：人民卫生出版社，1975：617－618.
[7] 布和巴特尔，额尔敦宝力高. 蒙药手册[M]. 沈阳：辽宁民族出版社，1995：399.
[8] 内蒙古植物志编辑委员会. 内蒙古植物志(第5卷)[M]. 呼和浩特：内蒙古人民出版社，1980：100.
[9] 中国科学院兰州沙漠研究所. 中国沙漠植物志(第三卷)[M]. 北京：科学出版社，1992：40－41.
[10] 杨羽君，高琼琼，鄂秀辉. HPLC法同时测定不同产地香加皮中4－甲氧基水杨醛和杠柳毒苷的含量[J]. 天津药学，2019，31(6)：4－8.
[11] 马 雪，刘春花，王爱民，等. 水黄花质量标准研究[J]. 中国药业，2020，29(17)：47－51.
[12] 杨宇慧，段超慧，王 皓，等. 铁丝威灵仙质量标准研究[J]. 中国药业，2020，29(9)：109－113.
[13] 敖敦格日乐，吴香杰. 蒙药材杠柳的研究进展[J]. 中国民族医药杂志，2016，22(4)：60－62.
[14] 曹岚岚，程雪梅，杨立国，等. 蒙药砂蓝刺头定性与定量质量控制方法研究[J]. 中草药，2021，52(6)：1759－1764.
[15] 樊高洁，李淑敏，张 珊，等. 野菊花的质量标准研究[J]. 中草药，2017，48(19)：4073－4076.

（收稿日期：2022－01－25；修回日期：2022－03－17）