分类号：

学　号：20222115035　　单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文

牛心、香墨、小白蒿3种新疆蒙药材的质量标准研究

学位申请人　马玲

指导教师　唐辉教授

申请学位门类级别　药学硕士

学科、专业名称　药学

研究方向　药物制备及质量控制

所在学院　药学院

中国·新疆·石河子

2025 年 5 月

分类号:

学　号：20222115035　　单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文

牛心、香墨、小白蒿 3 种新疆蒙药材的质量标准研究

学 位 申 请 人	马玲
指 导 教 师	唐辉教授
申请学位门类级别	药学硕士
学科、专业名称	药学
研 究 方 向	药物制备及质量控制
所 在 学 院	药学院

中国·新疆·石河子

2025 年 5 月

Study on the Quality Standards of 3 Mongolian Medicinal Materials from Xinjiang: *Bos taurus* Heart, Xiangmo, and *Artemisia frigida*

A Dissertation Submitted to
Shihezi University
In Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of
Master of Pharmacy

By

Ma Ling

（Pharmacy)

Dissertation Supervisor: Prof. Tang Hui

March, 2025

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名: 马玲 时间: 2025 年 5 月 22 日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名: 马玲 时间: 2025 年 5 月 22 日

导师签名: 时间: 2025 年 5 月 22 日

摘要

蒙医药作为我国传统医学的重要组成部分，其药材质量标准化研究对保障临床疗效和安全性具有重要意义。新疆地区特色蒙药材（如牛心、香墨、小白蒿）在经典方剂中应用广泛，但由于质量控制技术不完善，这些药材尚未纳入新疆地方标准体系。基于蒙医院临床用药需求与安全风险控制要求，本研究参考《中国药典》2020 年版四部，建立了系统的质量标准，旨在为蒙药材的规范化应用及资源开发提供科学依据。

目的：针对新疆蒙医院制剂中常用药材（动物药材牛心、矿物药材香墨、植物药材小白蒿）缺乏地方质量标准控制，通过完善其质量标准体系，提升院内制剂的质量可控性，从而保障临床用药的安全性与有效性。

方法：依据《中国药典》2020 年版相关原则和要求：（1）采用性状鉴别和显微鉴别确定牛心、香墨、小白蒿的基原；（2）通过薄层色谱（TLC）法对三味药材的主要有效成分进行定性鉴别；（3）测定三味药材的水分、总灰分、酸不溶度、浸出物及重金属含量进行检查并制定其含量限度；（4）采用 PCR 技术扩增牛心 *COI* 基因序列，设计特异性引物进行 DNA 分子鉴别；（5）通过凯氏定氮法测定牛心总蛋白质含量；（6）利用 GC-MS 技术测定香墨中 6 种芳香烃类成分含量并制定限度；（7）采用 HPLC 法建立小白蒿指纹图谱，测定绿原酸含量，并进行化学模式识别分析。

结果：（1）基原鉴定：牛心为牛科动物牛（*Bos taurus domesticus* Gmelin）的干燥心脏；香墨（*Artemisiae frigidae* herba）为松烟、明胶、冰片、香料等加工制成的炮制品；小白蒿为菊科植物冷蒿（*Artemisia frigida* Willd.）的干燥地上部分；

（2）TLC 鉴别：成功检出牛心中的 4 种氨基酸、香墨中的冰片及小白蒿中的绿原酸；

（3）检查项限度：水分（牛心≤16.0%、香墨≤3.0%、小白蒿≤9.0%）、总灰分（牛心≤7.0%、香墨≤50.0%、小白蒿≤11.0%）、酸不溶灰分（香墨≤2.0%、小白蒿≤3.0%）、浸出物（牛心≤18.0%、香墨≤16.0%、小白蒿≤8.0%）；重金属（小白蒿中 Pb≤5 mg/kg、As≤2 mg/kg、Cd≤1.0 mg/kg、Hg≤0.2 mg/kg、Cu≤20 mg/kg）；

（4）DNA 分子鉴别：设计牛心特异性引物，扩增出 125 bp 特征片段；

（5）含量测定：采用凯氏定氮法测定牛心中总蛋白质含量不得低于 25 g/100g，HPLC 法测定小白蒿绿原酸含量不得低于 0.2%；

（6）采用 GC-MS 检测出香墨挥发油成分中含有 6 种芳香烃类成分（苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘），并对其含量进行测定；

（7）小白蒿指纹图谱研究：建立小白蒿 HPLC 指纹图谱（17 个共有峰），指认出 5 个成分，24 批小白蒿样品与标准指纹图谱的 SA 结果为：0.755 ~ 0.997，初步确定优质小白蒿药材与标准指

纹图谱相似度不得低于 0.800；CA 分析将 24 批样品大致分为两类；CA 共提取出 4 个主成分；运用建立的小白蒿综合评价模型对 24 批小白蒿进行了综合得分计算和排序，筛选出两批优质小白蒿：云南小白蒿（S17）和（S18）。

结论：本研究在原有标准的基础上牛心增加了显微鉴别、TLC 鉴别、DNA 分子鉴别、含量测定；香墨增加了显微鉴别、TLC 鉴别、限量测定；小白蒿增加了水分、总灰分、酸不溶灰分、浸出物、HPLC 指纹图谱、重金属检测等检查项，方法学验证显示精密度、重复性、稳定性和准确度良好，可为蒙药材质量评价提供科学依据。

关键词：蒙药；动物药；矿物药；植物药；质量标准研究

Abstract

As an essential component of traditional Chinese medicine, the standardization research on the quality of Mongolian medicinal materials is of significant importance for ensuring clinical efficacy and safety. Mongolian medicinal materials characteristic to the Xinjiang region (such as *Bos taurus* heart , Xiangmo(*atramentum aromaticum*) and *Artemisia frigida*) are widely used in classical prescriptions. However, due to imperfect quality control technologies, these materials have not yet been incorporated into the local standard system of Xinjiang. Based on the clinical medication needs of Mongolian hospitals and the requirements for safety risk control, this study, referencing the appendix of the four parts of the "Chinese Pharmacopoeia" 2020 edition, has established a systematic quality standard, aiming to provide a scientific basis for the standardized application and resource development of Mongolian medicinal materials.

Object: This In response to the lack of local quality standards for commonly used medicinal materials (animal-derived medicinal material: *B. taurus* heart, mineral-derived medicinal material: Xiangmo, plant-derived medicinal material: *A. frigida*) in the preparations of Xinjiang Mongolian Hospital, this initiative aims to enhance the quality controllability of in-hospital preparations by improving their quality standard system, thereby ensuring the safety and efficacy of clinical medications.

Methods: According to the relevant principles and requirements of the 2020 edition of the Chinese Pharmacopoeia: (1) Identify the origins of *B. taurus* heart, Xiangmo, and *A. frigida* through morphological and microscopic identification; (2) Qualitatively identify the main active components of the three medicinal materials using thin-layer chromatography (TLC); (3) Determine the moisture content, total ash, acid-insoluble ash, extractives, and heavy metal content of the three medicinal materials and establish their content limits; (4) Amplify the COI gene sequence of *B. taurus* heart using PCR technology and design specific primers for DNA molecular identification; (5) Determine the total protein content of *B. taurus* heart using the Kjeldahl method; (6) Measure the content of six aromatic hydrocarbon components in incense Xiangmo using GC-MS technology and establish their limits; (7) Establish a fingerprint of *A. frigida* using HPLC, determine the chlorogenic acid content, and conduct chemical pattern recognition analysis.

Results: (1) Origin identification: The *B. taurus* heart is the dried heart of the bovine species *Bos taurus domesticus* Gmelin; Xiangmo (*Artemisiae frigidae* herba) is a processed product made from pine soot, gelatin, borneol, spices, etc.; *A. frigida* is the dried aerial part of the plant *Artemisia frigida* Willd;

(2)TLC Identification: Successfully detected four amino acids in *B. taurus* heart, borneol in Xiangmo, and chlorogenic acid in *Artemisia frigida;*

(3)Test Item Limits: Moisture (*B. taurus* heart ≤16.0%, Xiangmo ≤3.0%, *Artemisia frigida* ≤ 9.0%), Total Ash (*B. taurus* heart ≤7.0%, Xiangmo ≤50.0%, *Artemisia frigida* ≤11.0%), Acid-Insoluble Ash (Xiangmo ≤2.0%, *Artemisia frigida* ≤3.0%), Extractables (*B. taurus* heart ≥18.0%, Xiangmo ≥16.0%, *Artemisia frigida* ≥8.0%); Heavy Metals (Pb ≤5 mg/kg, As ≤2 mg/kg, Cd ≤1.0 mg/kg, Hg ≤0.2 mg/kg, Cu ≤20 mg/kg in *Artemisia frigida*);

(4)DNA Molecular Identification: Designed specific primers for *B. taurus* heart, amplifying a characteristic fragment of 125 bp;

(5) Content determination: The total protein content in ox heart, determined by the Kjeldahl method, should not be less than 25 g/100g, and the chlorogenic acid content in Xiaobaihao, determined by HPLC, should not be less than 0.2%;

(6) Using GC-MS, six aromatic hydrocarbon components (acenaphthylene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, and pyrene) were detected in the volatile oil of fragrant ink, and their contents were measured;

(7) Study on the Fingerprint of *Artemisia frigida*: An HPLC fingerprint of *Artemisia frigida* was established (with 17 common peaks), and five components were identified. The similarity analysis (SA) results of 24 batches of *Artemisia frigida* samples compared to the standard fingerprint ranged from 0.755 to 0.997. It was preliminarily determined that the similarity between high-quality *Artemisia frigida* medicinal materials and the standard fingerprint should not be less than 0.800. Cluster analysis (CA) roughly classified the 24 batches of samples into two categories. CA extracted four principal components. Using the established comprehensive evaluation model for *Artemisia frigida*, comprehensive scores were calculated and ranked for the 24 batches of *Artemisia frigida*, and two batches of high-quality *Artemisia frigida* were screened out: Yunnan *Artemisia frigida* (S17) and (S18).

Conclusion: Building upon the existing standards, this study has augmented the *B. taurus* heart with microscopic identification, TLC identification, DNA molecular identification, and content determination; the Xiangmo has been enhanced with microscopic identification, TLC identification, and limit testing; the *A. frigida* has been supplemented with moisture content, total ash, acid-insoluble ash, extracTab. content, HPLC fingerprinting, and heavy metal detection. The methods employed demonstrated good precision, repeatability, stability, and accuracy, yielding stab and reliable results that can provide a reference for more scientific and standardized evaluation of medicinal material quality.

Key words: Mongolian medicine; Animal-based medicine; Mineral-based medicine; Plant-based medicine; Quality standards research.

目录

摘要 I
Abstract III
目录 V
缩略词表 VIII
第 1 章 绪论 1
1.1 蒙药材研究现状 1
1.1.1 蒙药材资源及质量标准研究现状 1
1.1.2 质量评价与控制方法 2
1.1.3 存在的问题 2
1.2 牛心、香墨及小白蒿的研究现状 2
1.2.1 牛心 2
1.2.2 香墨 4
1.2.3 小白蒿 5
1.3 质量标准建立内容 6
1.3.1 来源 6
1.3.2 性状 6
1.3.3 鉴别 7
1.3.4 检查 7
1.3.5 浸出物 7
1.3.6 含量测定 7
1.3.7 指纹图谱和特征图谱 8
1.4 研究的目的及意义 8
1.5 本文研究技术路线 9
第 2 章 动物药材牛心质量标准的研究 10
2.1 实验仪器及材料 10
2.1.1 仪器 10
2.1.2 样品与试剂 11
2.2 鉴别 13
2.2.1 性状鉴别 13

2.2.2 显微鉴别 13
2.2.3 薄层鉴别 14
2.2.4 PCR 鉴别 15
2.3 含量测定 20
2.3.1 样品的处理 20
2.3.2 溶液配制 21
2.3.3 实验方法 21
2.3.4 方法学考察 22
2.3.5 牛心蛋白质含量结果 23
2.3.6 讨论 24
2.4 检查项 24
2.4.1 水分 24
2.4.2 总灰分与酸不溶灰分 25
2.4.3 浸出物 25
2.4.4 重金属检测 26
2.5 本章小结 28
第 3 章 矿物药材香墨质量标准的研究 29
3.1 实验仪器及材料 29
3.1.1 仪器 29
3.1.2 样品与试剂 29
3.2 鉴别 31
3.2.1 性状鉴别 31
3.2.2 微观形貌观察 32
3.2.3 薄层鉴别 34
3.3 限量测定 35
3.3.1 对照品溶液的配制 36
3.3.2 供试品溶液的制备 36
3.3.3 实验方法 36
3.3.4 方法学考察 38
3.3.5 结果 40
3.3.6 讨论 41
3.4 检查项 41
3.4.1 水分 41
3.4.2 总灰分与酸不溶灰分 41

3.4.3 浸出物 41
3.4.4 重金属检测 43
3.5 本章小结 44
第 4 章 植物药材小白蒿质量标准的研究 46
4.1 实验仪器及材料 46
4.1.1 仪器 46
4.1.2 样品与试剂 46
4.2 鉴别 48
4.2.1 基原鉴别 48
4.2.2 性状鉴别 48
4.2.3 显微鉴别 49
4.2.4 薄层鉴别 51
4.3 小白蒿含量测定 52
4.3.1 供试品溶液制备 53
4.3.2 对照品溶液制备 53
4.3.3 阴性对照品溶液的制备 53
4.3.4 色谱条件 53
4.3.5 系统适用性试验 53
4.3.6 方法学考察 54
4.4 小白蒿 HPLC 指纹图谱研究 56
4.4.1 供试品溶液制备 57
4.4.2 对照品溶液制备 57
4.4.3 色谱条件 57
4.4.4 方法学考察 58
4.4.5 HPLC 指纹图谱建立及其相似度评价（similarityassessment, SA） 62
4.4.6 化学模式识别 67
4.4.7 讨论 72
4.5 检查项 73
4.5.1 水分 73
4.5.2 总灰分与酸不溶灰分测定 73
4.5.3 浸出物 73
4.5.4 重金属检测 74
4.6 本章小结 76
第 5 章 全文总结 77

参考文献 79
附录 87
致谢 92
作者简介 93
石河子大学硕士研究生学位论文导师评阅表 94

缩略词表

(Abbreviation)

英文缩写	英文全名	中文译名
μL	microliter	微升
mL	milliliter	毫升
L	liter	升
mg	milligram	毫克
g	gram	克
min	minute	分钟
h	hour	小时
mL	milliliter	毫升
mm	millimeter	毫米
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高效液相色谱
TEM	Transmission Electron Microscope	透射电镜
SEM	Scanning Electron Microscope	扫描电镜
PCA	Principal component analysis	主成分分析
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
COI	cytochrome oxidase subunit I	细胞色素 C 氧化酶亚基 I
RSD	Relative Standard Deviation	相对标准偏差
SA	Similarity assessment	相似度评价
TLC	Thin Layer Chromatography	薄层色谱
PDA	Photo-diode Array	二极管阵列检测器
ACE Excel5 C18-Amide	ACE Excel5 C18-Amide	ACE Excel5 C18-酰胺
RP- C18	Reversed Phase-C18	C18 反相键和硅胶

第 1 章绪论

蒙医药作为中国四大民族医药宝库的重要组成部分，具备独特而完善的理论体系。蒙古族医药体系源自该民族与自然环境和疾病抗争的漫长历史进程，是其实践经验的智慧凝结。这一医学体系不仅融合了多民族医药文化的精髓，更彰显了独特的民族特征。在保障蒙古族及其他地区人民的健康方面发挥了重要作用。

蒙医药典籍作为蒙医药学的重要文献载体，系统记载了蒙药材的理论知识与实践经验，为蒙医药的传承与发展奠定了坚实基础。在众多典籍中，《蒙药正典》、《认药白晶鉴》、《四部医典》和《甘露四部》最具代表性，各具特色地展现了蒙医药学的精髓。《蒙药正典》由 19 世纪初蒙医药学家占布拉道尔吉编著，具有重要的学术价值。该书系统收录了 879 种药材，采用八部二十四篇的体例编排，详细记载了每种药材的蒙、汉、藏、满文名称，并科学描述了其产地、形态、性味、功能等关键信息，并通过 579 幅精美插图解决了蒙药名称混乱的问题，显著提升了蒙药材的辨识与应用准确性[1]。《认药白晶鉴》由 18 世纪蒙医学家伊希巴拉珠尔编撰，收载了 801 种药材，分为三部十篇，内容涵盖珍宝类、矿物类、土类、平原生长类、木本类、草本类等多种药物[2]。

1.1 蒙药材研究现状

1.1.1 蒙药材资源及质量标准研究现状

蒙药作为我国传统医药体系的重要组成部分，其资源分布具有鲜明的地域特色和生态特征。最新调查数据显示，我国蒙药资源主要集中分布在内蒙古、青海、甘肃等北方地区，目前已鉴定的蒙药材种类达 2200 余种，其中植物药占比最高（约 70%），动物药（15%）和矿物药（10%）次之。这些药材被收载于各类蒙医药研究书籍中，如《蒙古学百科全书（医学）》收载 579 种[3]，《内蒙古植物药志》收载了 511 种蒙药，《内蒙古药材标准》收录了 322 种蒙药，这些书籍和标准为蒙药材的分类、鉴定和应用提供了重要的参考依据。

目前，我国中药（包含民族药材）质量标准体系以《中华人民共和国药典》为核心，结合各地方标准、民族药材标准、《卫生部药品标准》、《国家药品监督管理局药品标准》以及相关生产规范（如良好农业规范、良好生产规范），形成了多层次、全方位的质量控制体系。对于民族药材，各地也在逐步完善相关标准，结合传统医药

理论和现代技术，确保药材的质量和安全性。本文将从蒙药材研究现状、现代研究进展以及现代分析技术的应用等方面展开详细论述，以全面呈现蒙药材质量标准研究的现状与前景。

1.1.2 质量评价与控制方法

在现代科学技术尚未广泛应用之前，蒙药材的质量评价主要依赖于传统方法，如通过观察药材的外观、形状、颜色、气味等特征来鉴别其真伪和优劣。同时，传统的炮制工艺也是保证蒙药材质量的重要环节，不同的炮制工艺可以改变药材的药性、降低毒性，提高疗效。然而，传统质量评价方法存在主观性强、准确性不足等局限性，难以满足现代医药行业对药材质量标准化、规范化的要求。

为了保证蒙药材质量符合标准要求，多种质量控制方法被应用于蒙药材的生产、加工和流通环节。在生产环节，通过建立良好农业规范（GAP）基地，从源头上控制药材质量。加工环节注重炮制工艺的标准化，利用现代分析技术对加工过程中的关键控制点进行监测。流通环节则通过严格的质量检验制度和追溯系统，确保蒙药材符合质量标准[4]。

1.1.3 存在的问题

尽管我国中药材与民族药材质量标准不断完善，但仍存在一些薄弱环节，例如，部分研究对质量标准中各项指标的设定依据及与临床疗效的内在联系阐述不够清晰；研究多侧重于蒙药材本身的质量标准制定，而对其在整个产业链中的协同作用关注不足；对传统方法的依赖仍较明显，现代分析技术的应用不够普及；缺乏系统的、长期的质量数据收集和分析；常用的地方习用药材和民族药材品种，只有部分进行了一定的真伪鉴定或质量分析研究，其质量标准过低，地方标准中收录的药材多数除了炮制、性味、功能与主治、用法与用量、贮藏等指标项外，仅有药材性状和显微鉴别等一些基础的质量分析。

此外，还有相当一部分民族习用药材没有收录到地方标准。例如，本课题所研究的三种药材（牛心、香墨、小白蒿）是新疆博尔塔拉蒙古自治州蒙医院常用蒙药材，但其并未被收录在新疆地方药材标准里。

1.2 牛心、香墨及小白蒿的研究现状

1.2.1 牛心

牛心，来源于牛科动物牛（*Bos taurus domesticus* Gmelin）的干燥心脏，蒙古语名

称为乌赫仁-吉如和[5]。具有甘涩味和温性，是蒙医药中用于清心“赫依”和补心的重要药材，常用干燥的牛心粉末入药。

（1）历史沿用

在古籍医药专著中，关于牛心入药记载几乎没有，而以牦牛心、野牛心入药的记载则较为明确[6]。目前，野牦牛是国家一类保护野生动物，属濒危灭绝品种，由于野生动物保护问题，牦牛心的使用被局限[7]。《内蒙古蒙药材炮制规范》（2017 年增补版）对牛心有收录[5]，而《内蒙古蒙药材标准》（2020 版）[8]中则以牛心干收录，两者在来源、功能与主治上一致，均具有清心“赫依”和补心的作用。李青峰[7]等采用德尔菲法，经临床应用专家共识发现将野牦牛心替换为牛心的安神补心六味丸依然有良好疗效。因此，在蒙医临床应用中，常用牛心替代牦牛心。

（2）化学成分

现代研究表明，牛心含有丰富的蛋白质和必需氨基酸，以及微量元素，对心脏健康有益[9-11]。周刚[12]等利用超高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛心浸粉中缬氨酸、苏氨酸、赖氨酸等 7 种氨基酸成分，其中甲硫氨酸的含量最低，在 3.28 ~ 3.66 g/kg 之间；赖氨酸含量最高，在 17.18 ~ 19.21 g/kg 之间；其他氨基酸含量均在 7.77 ~ 13.00 g/kg 之间。李甫泉等[13]对新鲜牛心进行质量标准研究，采用氨基酸含量测定、薄层鉴别、氮含量测定技术对新鲜牛心中的氨基酸和总蛋白质进行了分析。

（3）药理作用

动物心脏入药治疗“心赫依”病是蒙药特色之一。李文妍[14]采用多种实验模型评估了八味沉香散中不同动物心脏药材的药效差异，包括常压耐缺氧实验、盐酸异丙肾上腺素诱导的心肌缺氧模型、氯仿-肾上腺素诱发的心律失常模型，以及垂体后叶素导致的心肌急性缺血模型。实验数据显示，不同动物心脏药材均能显著延长日本大耳白兔心律失常的潜伏期并缩短其持续时间（$P<0.05$）。值得注意的是，牦牛心脏组在方剂疗效方面表现出更为显著的优势（$P<0.01$）。该研究证实，在八味沉香散中加入动物心脏是必要的。周琼[10]等通过建立急性心肌缺血小鼠模型，证实甘氨酸可以有效地对抗内毒素所致的心肌损害，保护心脏并改善心功能。安神补心六味丸作为蒙医传统复方制剂，其组方遵循“赫依”病治疗原则，由牛心（主要药引）、木香、枫香脂、丁香、肉豆蔻及广枣六味药材配伍而成。该方剂具有显著的镇静安神功效，临床主要用于改善心悸、胸闷等"赫依"病典型症状。[7, 15]。李振波[16]等通过建立自发性高血压大鼠病理性心血管肥模型，发现苯丙氨酸对心血管组织具有保护作用，可预防血压升高及其心血管组织病变的发生。

牛心的药理作用与其含有的氨基酸及其他活性成分有关，这些成分可能对心脏功能产生积极影响。据文献报道，氨基酸（尤其是 L-亮氨酸、L-精氨酸和 L-谷氨酰胺）与自噬在动脉粥样硬化发生和发展过程中具有显著的调控作用[17]。

（4）质量标准研究现状

牛心作为地方习用药材仅收载于《内蒙古蒙药材炮制规范-2017 年》[5]增补版中，对牛心【来源】、【采收加工】、【炮制】、【成品性状】、【检查】、【鉴别】、【性味】、【功效主治】、【用法用量】和【贮藏】等收录。但牛心作为新疆蒙医院临床常用药材，在新疆地方标准中并未收录。

1.2.2 香墨

香墨，拉丁名为 *Atramentum aromaticum*，蒙古语名称：铂和，由松烟、胶汁、冰片等加工制成的墨。

（1）历史沿革

香墨在古代医学文献中被广泛记载，《中国医学百科全书-蒙医学卷》[6]中记载，蒙古名伯赫、纳克萨、札纳克、哈日一阿拉塔。为松烟和入胶汁、香料等加工制成之墨。《本草纲目》[18]中记载乌金、陈玄、玄香、乌玉块有止诸血、点物芒入目、敛疮生肌、行瘀解毒消肿、利小便等功效。性温、辛。《医林纂要探源》[19]中记载墨味“辛、苦”，墨能泻心情肺、去妄热、止妄血、下气归肾。《本草拾遗》[20]中记载“墨的异名为乌金、陈玄、玄香、乌玉玦。墨辛苦，性平，归心、肝二经，具有显著的止血消肿功效。临床主要应用于多种出血症状（包括吐血、衄血、崩漏、血痢）以及痈肿疮毒（如发背痈）的治疗。”《本草衍义》[21]中记载“药用墨止血，生肌肤，治产后血运，崩中卒下血，醋磨服之。又止血痢，及小儿客忤，捣筛温水服之。主眯目物芒入目，点摩瞳子上，利小便，通月经，治痈肿。”

（2）化学成分

香墨是由松烟、胶汁、冰片等加工制成的墨。《中国医学百科全书-蒙医学卷》[6]、《蒙药正典》[1]和《中华本草》[22]均提到，香墨由松烟、胶汁、香料等加工制成，此外，《中华本草》还提到加入了冰片。松烟是一种传统的中药材料，是由松树的木材不完全燃烧产生的烟尘。胶汁一般由动物胶制成，常用的胶料包括鹿角胶、牛皮胶、鱼皮胶等。冰片一般由龙脑香制成，龙脑香又称为“龙香剂”，是中药“冰片”的别称。

（3）药理作用

经文献书籍考察[3, 18, 19, 21-32]，香墨用于①皮肤红肿，发疹，身热等黄水性病：与麝香木香配研，外敷。②鼻衄，外伤出血，经血淋漓：与熊胆、百草霜、红花等配伍，制成十三味熊胆散用，对鼻衄亦可单用。③胃热病，浸泡于童尿服用。④预防瘟疫：与黑云香、大蒜、水葛蒲、雄黄、多叶棘豆等配伍油调，制成涂剂或熏药用。⑤经血淋漓：配制十七味宝凤丸、八味黄板散用。⑥避孕：与紫草茸膏、皂矾等配用。⑦生发：与核桃皮、三子、铁衣、荪等配伍，制成水剂外用。

（4）药材质量标准研究现状

香墨作为地方特色药用材料，在我国 7 个省级药材标准中均有明确收载。该药材被收录于以下地方标准：《湖北省中药材质量标准》（2018 年修订版）、《北京市中药饮片切制工艺规范》（1974 年试行版）、《天津市中药饮片炮制工艺规范》（2018 年版）、《河北省中药饮片加工标准》（2003 年制定）、《江西省中药饮片炮制技术规范》（2008 年发布）、《福建省中药饮片炮制标准》（2012 年版）以及《内蒙古自治区蒙药饮片炮制规范》（2020 年修订版）。在质量控制指标方面，各地方标准普遍规定了【来源】、【炮制工艺】、【外观性状】、【药性归经】、【功效主治】、【使用剂量】和【储存条件】等基本项目。除此之外，河北、内蒙古标准中还含有【鉴别】，天津、内蒙古标准中还增加了【检查】项，通过比较分析发现，内蒙古自治区制定的蒙药饮片标准在质量控制指标设置上更为全面和完善。

1.2.3 小白蒿

小白蒿是菊科多年生植物冷蒿 *Artemisia frigida* Willd. 的干燥地上部分小白蒿的炮制净化品[23]。蒙古语名称：艾给又叫做“阿给”。小白蒿主要分布于内蒙古，在吉林、河北、辽宁、青海、陕西、新疆、甘肃、宁夏以及西南高山地区均有分布[33]。

（1）历史沿用

小白蒿作为蒙医药中的一种重要药材，在古籍医药专著中有记载，其中，《蒙医甘露四部》[34]提到坎巴嘎日布（小白蒿）具有止血抗炎、利尿消肿以及肾脏保护作用，兼有滋补强壮功效。《无误蒙药鉴》[35]提到阿给有灰、白、灰棕三种，灰阿给为上品，其茎纤细，颜色类似艾蒿，小叶有裂片，花朵呈黄色且芳香，具有止血和消关节肿胀的功效。此外，《晶珠本草》[36]、《识药学》[37]、《金光注释集》[38]以及《蒙药正典》[1]等多部权威文献对小白蒿（坎巴嘎日布）进行了系统考证：《中国医学百科全书·蒙医学》明确其基原为菊科冷蒿（Artemisia frigida Willd.）的干燥地上部分；《内蒙古蒙药材标准》详细记载了其鉴别特征（茎细、具缺刻叶、黄色头状花序及特殊芳香）；《内蒙古植物志》则从植物分类学角度佐证了其形态特征与古代蒙医典籍记载的高度一致性。现代研究证实，该药材的止血、消肿等传统功效具有科学依据。这些记载表明，小白蒿（阿给）在蒙医药中具有重要的历史地位，被广泛应用于治疗出血、关节肿胀、肾热、月经不调及疮痈等病症，其形态特征和功效在历代文献中均有详尽且一致的描述与记载。

（2）化学成分

通过查阅国内外文献，至今已有 50 多种化合物从小白蒿中提出，包括黄酮类[39-43]、倍半萜及其苷类[44-46]、香豆素类[47]、酚酸类[48, 49]、苯丙素类化合物[50]。其中，山柰酚、

芦丁、3′-甲氧基-木犀草素-4′-O-β-D-葡萄糖苷、5-羟基-3′, 4′-二甲氧基黄酮-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷为首次从该植物中分得[42]。智慧[51]等以绿原酸为指标性成分建立标准对蒙药小白蒿野生品与栽培品进行研究。关于小白蒿的质量标准研究，王青虎[52]等采用 TLC 和 HPLC 法对小白蒿中 7-羟基香豆素和 5, 3′-二羟基-6, 7, 4′-三甲氧基黄酮的进行了定性和含量测定。其其日乐格[51]等以绿原酸为主要止血有效成分对小白蒿、炒白蒿建立鉴别方法。

（3）药理作用

小白蒿的药理作用主要与其化学成分有关。研究表明[35, 53-58]，小白蒿具有止血、消肿、制伏痈疽等功能。具体药理作用包括：①止血作用[55, 59-62]：小白蒿可用于治疗多种出血症状，如鼻衄、胃溃疡出血、支气管扩张咯血等，且炭化后止血效果更为显著。②抗风湿作用[56, 58]：《四部医典》中提到，小白蒿能调理血液，兼燥“希日乌苏”而治疗关节肿胀，表明其具有抗风湿的潜在作用。③抗炎抗菌作用[63-66]：研究表明，小白蒿水提物中总黄酮成分对小鼠耳廓肿胀、足肿胀具有抗炎作用，其挥发油成分对治疗过敏性鼻炎、鼻窦炎、鼻衄等疾病有着显著的疗效。④抗氧化作用[67, 68]：苏雅乐其其格等研究证明，小白蒿总黄酮相较于芦丁和 Vc 具有更强的清除自由基能力。此外，通过 HPLC-DAD-ESI-QQ-MS 分析和 HPLC-DAD 定量研究发现，小白蒿中的咖啡酰奎宁酸还具有体外消化稳定性和抗氧化能力。⑤镇痛作用[69]：薛焱等研究表明，小白蒿水提取物在小鼠电热板实验中展现出显著的镇痛效果。

（4）药材质量标准研究现状

小白蒿作为地方标准仅收录于《内蒙古蒙药饮片炮制规范（2020 年版）》中，对其【来源】、【炮制】、【性状】、【性味与归经】、【功能与主治】、【用法与用量】、【贮藏】、【鉴别】、【检查】、【含量】均有规定，但其效力仅限于内蒙古地区。小白蒿作为新疆蒙医院常用药材，并未收录于新疆地方标准。

1.3 质量标准建立内容

1.3.1 来源

规定中药材（植物、动物或矿物药）的基原物种、药用部位、采收季节、产地及其炮制工艺。样品的采集途径是质量控制研究的关键因素。若初始步骤存在误差，则后续建立的质量标准将失去其科学有效性。

1.3.2 性状

内容包括中药材的性状特征主要涵盖其外观形态、组织结构及感官特性，具体表

现为药材的外观形态（如外形、尺寸）、断面或切面纹理，以及特有的气味特征等。同时，传统经验鉴别方法也是重要组成部分，即中医药从业者通过长期实践积累的对药材“形”与“气”的辨识经验。

1.3.3 鉴别

中药的真伪鉴别主要包含显微鉴定、薄层鉴别以及 DNA 分子鉴定等技术手段。面对当前中药材市场存在诸多问题，如品种混淆、加工后药材的再销售、人为掺假及染色造假等，这些问题使得传统的色谱技术在质量控制方面显得力不从心。在分子生物学和遗传原理的基础上，DNA 分子鉴定技术作为一种可靠的物种鉴定方法，尤其适用于那些缺乏有效鉴定手段的动物类药材，以及部分珍稀贵重、来源复杂且易出现伪品的植物类药材的鉴别工作[70, 71]。例如，真龙虱[72]、九香虫[73]、煅牡蛎[74]、牛鞭[75]、金龟子[76]、茯苓[77]、紫草[78]等中药材，均通过特定基因序列设计特异性引物来快速鉴别药材及其伪品。

1.3.4 检查

中药材质量控制的重要环节包括对其非药用组织、外来杂质、含水量，以及外源性和内源性有害物质的检测分析[79-82]。根据《中国药典》2020 年版四部通则 0212 中“药材和饮片检定通则”第六项的规定，需对药材的水分含量及灰分含量实施检测，同时对可溶性物质的限量进行核查，以此评估药材的纯净程度。[83]。

1.3.5 浸出物

浸出物测定是通过选用适当溶剂，依据中药材主要成分的理化特性进行提取，从而获得可溶性物质总量的检测方法。该方法能够在一定程度上反映药材有效成分的含量水平，与成分定量分析共同构成完整的质量控制体系。依据《中国药典》2020 年版四部通则 0212 药材和饮片检定通则项下“七”中对药材的可溶性物质进行测定[83]。

1.3.6 含量测定

含量测定是中药材质量控制的关键环节，主要聚焦于对药效成分或指标性成分进行定量分析。它不仅是评估药材有效性的核心指标，也是判断其质量优劣的重要标准。由于中药材的化学成分复杂且功效多样，完全阐明其活性成分具有相当难度。因此，质量标准的核心目标是确保不同批次药材的成分组成和含量保持相对稳定。

1.3.7 指纹图谱和特征图谱

指纹图谱技术已被世界卫生组织[84]、中国国家食品药品监督管理局（SFDA）[85]以及美国食品药品监督管理局（FDA）[86]引入并应用于草药的质量评价中。近二十年来，指纹图谱与特征图谱技术作为中药质量分析的重要突破，为中药整体成分及特征性成分的检测提供了新的解决方案。随着“中药整体作用”理论的深入发展，指纹图谱在全面质量控制中的应用价值日益凸显，已成为确保中药质量稳定性和疗效一致性的关键技术手段。通过采用不同的分析技术（如 HPLC、GC-MS 等）构建中药材的指纹图谱，可以将中药的整体化学成分以图谱的形式呈现出来[87-92]。不同产地、不同批次的中药指纹图谱存在差异，通过对比分析这些差异，可以判断中药的质量优劣、鉴别真伪以及监测其在生产、加工过程中的质量变化。指纹图谱技术的应用为蒙药材质量标准的完善和质量控制提供了一种全新的思路和方法。

特征图谱技术则主要应用于薄层色谱法难以区分的或复杂来源的药材及其中药饮片的真伪鉴别，属于鉴别方法的重要补充。

1.4 研究的目的及意义

本课题研究的三种药材（牛心、香墨、小白蒿）均为博尔塔拉蒙古自治州蒙医医院临床常用制剂中涉及到的蒙药材。但其均未在《中国药典》及新疆地方标准收录。基于蒙医院临床用药需求以及用药安全性的考虑，构建更加完善的质量标准体系显得尤为迫切。这不仅有助于保证蒙药制剂的质量安全、有效性和稳定性，还能为蒙药材的标准化和品质控制提供科学依据。此外，相关研究将推动蒙医药的发展，为其在现代医学体系中的应用奠定坚实基础。

本研究依据药典委员会对质量标准的要求以及中药质量标准提升的相关原则，围绕性状、鉴别、检查、浸出物和含量测定等方面展开系统性实验，全面提升了牛心、香墨、小白蒿三种蒙药材的质量标准。为药材的鉴别及质量控制提供数据支撑，为 3 种新疆地方习用药材质量标准的建立提供科学依据。

1.5 本文研究技术路线

本研究技术路线图如图 1-1 所示。

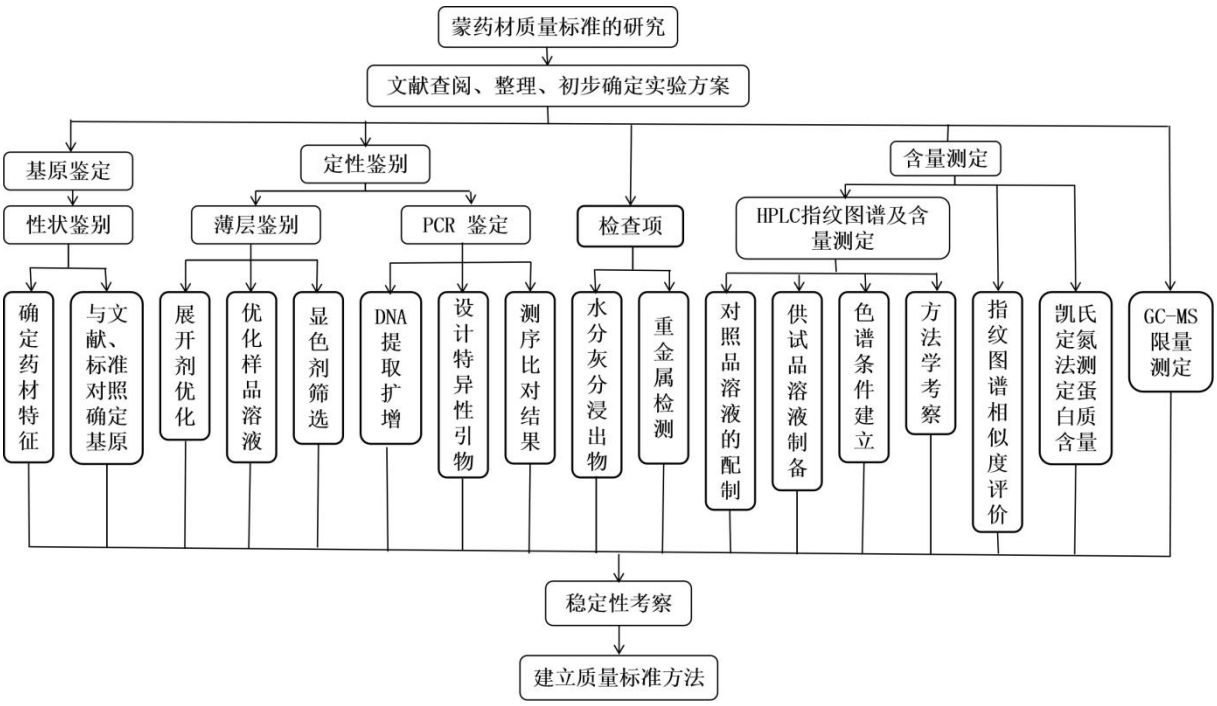

图 1-1 技术路线图

Fig. 1-1. Schematic of the experimental approach

第 2 章动物药材牛心质量标准的研究

2.1 实验仪器及材料

2.1.1 仪器

本章涉及实验仪器见表 2-1。

表 2-1 实验仪器

Tab. 2-1 Experimental instruments

仪器名称	型号	公司
凯氏定氮仪	Vapodest 45s	德国 Gerhardt 公司
微波消解仪	ETHOS UP	德国 Gerhardt 公司
测序仪	TM3730XL	Thermo Fisher Applied Biosystems
孵育箱	Thermo Mixerc	Eppendorf
超微量核酸蛋白测定仪 Q5000	Quawell Technology Inc.	Eppendorf
薄层色谱成像仪	YOKO-ZS	武汉药科新技术开发有限公司
电泳槽	JY-SPCT	北京君意东方电泳设备有限公司
电泳仪	PS300-B	北京君意东方电泳设备有限公司
ICP-MS	Agilent 7800	安捷伦
分析天平（0.0001g）	AR124CN	奥豪斯仪器（上海）有限公司
分析天平（0.00001g）	D11-09-010	Precisa Gravimetrics AG
微波炉	WK001	纳米科技股份有限公司
可调高速匀浆机	FSH-2A	江苏金怡仪器科技有限公司
超声波清洗器	KQ-500DE	北京市永光明医疗仪器厂
低温离心机	Centrifuge 5428 R	Eppendorf AG 22331 Hamburg
箱式电阻炉	5-13	洛阳麟航电炉工业有限公司
调温电热套	KDM 型	郑州特尔仪器设备有限公司
电热鼓风干燥箱	DHG-9145A	山东省鄄城永兴仪器厂
高速万能粉碎机	FW-100	北京市永光明医疗仪器厂
硅胶板	G/H/GF254	青岛海洋化工有限公司
硅胶 G 板	20240520	湖南比克曼控股有限责任公司
硅胶 G 板	20240826	南京全隆生物技术有限公司

2.1.2 样品与试剂

本研究收集的 21 批牛心药材信息见表 2-2。

表 2-2 牛心药材来源信息

Tab. 2-2 Source information for 21 batches of *Bos taurus* heart samples

编号	批号	来源	产地
S1	YL20230401	安徽嘉佑中药饮片有限公司	内蒙通辽
S2	YL20230402	安徽嘉佑中药饮片有限公司	青海西宁
S3	YL20230403	安徽嘉佑中药饮片有限公司	甘肃兰州
S4	YL20230404	安徽嘉佑中药饮片有限公司	新疆
S5	YL20230405	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽亳州
S6	YL20230406	安徽嘉佑中药饮片有限公司	山东枣庄
S7	YL20230407	安徽嘉佑中药饮片有限公司	云南大理
S8	YL20230408	安徽嘉佑中药饮片有限公司	吉林白城
S9	YL20220901	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S10	YL20220902	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S11	YL20220903	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S12	YL20220904	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S13	YL20220905	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S14	YL20220906	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S15	YL20220907	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S16	YL20220908	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S17	YL20220909	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S18	YL20220910	安徽嘉佑中药饮片有限公司	西藏
S19	NM20220911	采购自内蒙古赤峰市	西藏
S20	XJ20220912	博州蒙医院	博州
S21	XJ20220829	博州蒙医院	新疆

表 2-3 主要试剂信息

Tab. 2-3 Primary Reagent Information

试剂名称	批号	纯度	公司
硫酸铜	830824	分析纯	上海麦克林生化科技股份有限公司
硫酸钾	P8166432-500g	分析纯	
甲基红	810327	化学纯	
溴甲酚绿	1590630	分析纯	
硼酸	B802848-500g	分析纯	
硫酸铵	A864805-500g	分析纯	
氢氧化钠	S914923-500g	色谱纯	
冰醋酸	A801303	色谱纯	
正丁醇	B802837	分析纯	
盐酸	FL-10003	36%	天津市富裕化工
硫酸	FL-10003	分析纯	
2×EasyPure® Food and Fodder Security Genomic DNA Kit 提取试剂盒	EE101-1	50 rxns	
TransDNA Marker II 100-1500	BM101-01	500 UL	北京全式金生物技术有限公司
2×EasyTaq® PCR SuperMix 试剂盒	AS111-12	1 mL	
6×DNA Loading Buffer	GH101-1	5*1 mL	
GelRed 核酸凝胶染色剂	G3606-100UL	100 μL	
50×TAE 电泳缓冲液	G3001-500ML	500 mL	武汉塞维尔生物科技有限公司
RNA 溶解液(灭活 RNase 型)	G3030-10ML	10×1 mL	
SerRed 核酸染料	G3606-100UL	100 μL	
琼脂糖	GC205013-100g	100 g	
亮氨酸	140687-202206	99.9 %	中国食品药品检定研究所
缬氨酸	140681-202204	99.9%	
谷氨酸	140690-202305	99.9%	
赖氨酸	329C023	≥98%	北京索莱宝科技有限公司
铅、镉、砷、汞、铜溶液	GSB04-1725-2022	浓度为 1000 mg/L	采购于国家有色金属及电子材料分析测试中心

2.2 鉴别

2.2.1 性状鉴别

本品完整者呈心形，大小不等，长约 10～15 cm，宽约 6～10 cm，外表棕褐色至紫红褐色，表面皱缩不平，有空腔。体重质坚，断面棕褐色。多纵切成四片，呈椭圆形或圆锥形或切成条状。气腥，味甘，见图 2-1。

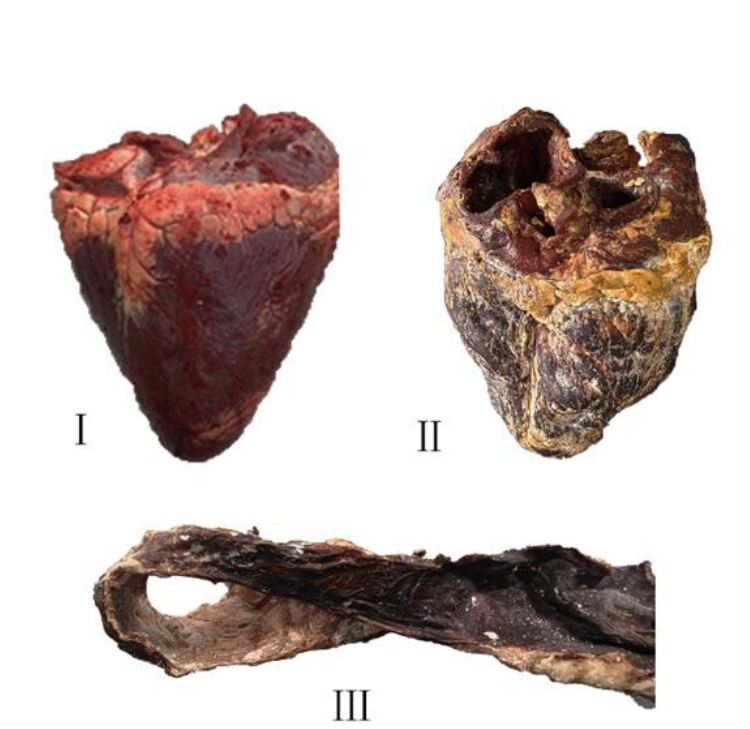

图 2-1 牛心样品性状

Figure2-1 The characteristics of *Bos taurus* heart

注：I 新鲜的牛心；II 干燥的牛心；III 切条状干燥的牛心

Note: I: Fresh *Bos taurus* Heart; II: Dried *Bos taurus* Heart; III: Strips of Dried *Bos taurus* Heart

2.2.2 显微鉴别

参照显微鉴别法《中国药典》2020 年版四部（通则 2001）[93]鉴别牛心粉末显微特征。结果见图 2-2。

将牛心粉碎，过 3 号筛，装入自封袋，备用。

牛心粉末呈棕褐色，本研究通过显微镜观察多个批次的牛心粉末特征，牛心粉末中包含众多黄色圆球状的脂肪粒；细长且末端尖锐的非腺毛细胞；含有大量肌原纤维，呈现明暗相间的横纹的横纹肌纤维细胞。

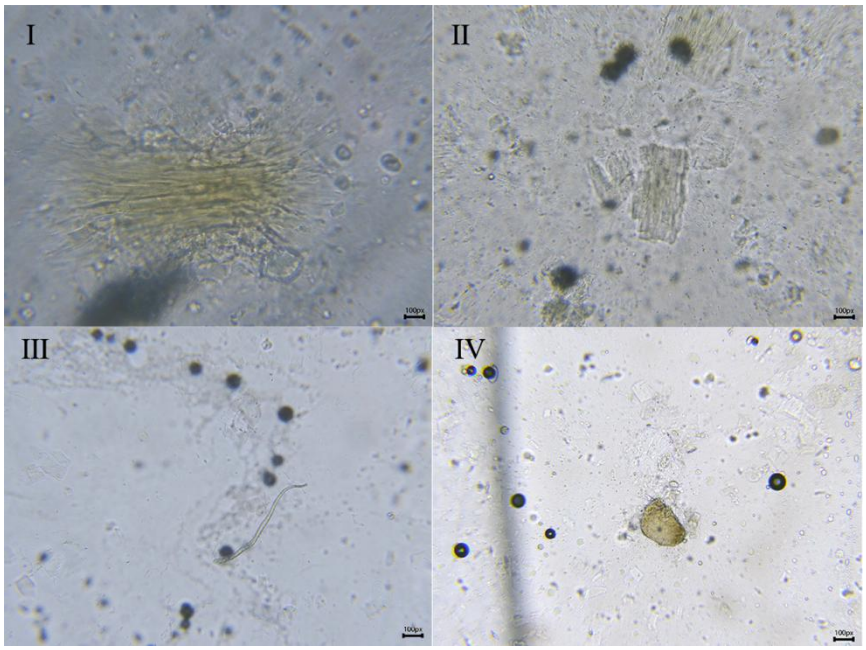

图 2-2 牛心粉末显微特征图（×40）

Figure2-2 Microscopic photographs of *Bos taurus* heart Ledeb.powder（×40）

注: I：肌纤维 II：横纹肌纤维 III：非腺毛 IV：脂肪粒

2.2.3 薄层鉴别

参照薄层色谱法《中国药典》2020 年版四部（通则 0502）实验操作要求[94]，以谷氨酸、赖氨酸、亮氨酸、缬氨酸为对照品建立薄层色谱鉴别方法。

2.2.3.1 供试品制备方法

准确称量牛心粉末 0.5 g，加 5 mL 70%乙醇溶液，超声提取（50W，30℃）15 min，过滤，取续滤液作为供试品。

2.2.3.2 对照品溶液的制备方法

取亮氨酸对照品、缬氨酸对照品、谷氨酸、赖氨酸，加水制成每 1 mL 各含 0.1 mg 的混合对照品溶液，作为对照品溶液。

2.2.3.3 方法与结果

吸取“2.2.3.1”和“2.2.3.2”项下的供试品及对照品溶液各 1.5 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上。展开剂为正丁醇：冰醋酸：水（4 : 2 : 1，*V/V/V*），展开取出，晾干，喷以 0.2%茚三酮溶液，105℃加热显色，日光灯下检视。结果如图 2-3 所示。

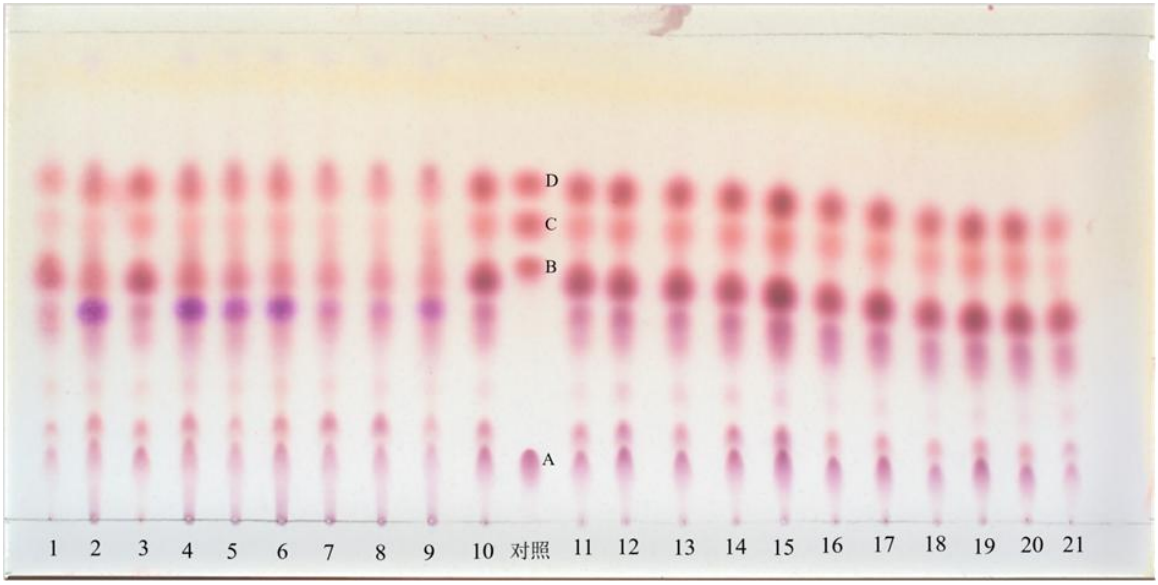

图 2-3 牛心薄层色谱图

Figure 2-3 TLC of *Bos taurus* Heart

注：1-21 为牛心样品 S1-S21、A 赖氨酸、B 谷氨酸、C 亮氨酸、D 缬氨酸

Note: 1-21 are *Bos taurus* heart samples S1-S21; A Lysine, B Glutamic acid, C Leucine, D Valine

2.2.3.4 讨论

对牛心药材 TLC 的提取溶剂、点样量、显色剂等进行了筛选。本研究分别考察了不同提取溶剂（70%乙醇、乙醇、70%甲醇、甲醇、二氯甲烷、水）制备供试品溶液、不同提取方式（超声、加热回流提取）不同薄层板（GF254 薄层板、硅胶 H 薄层板、硅胶 G 高效薄层板、聚酰胺薄层板）、不同展开剂（正丁醇-冰醋酸-水（3 : 2 : 1, *V/V/V*）、正丁醇-冰醋酸-水（4 : 2 : 1, *V/V/V*）、正丁醇-冰醋酸-乙醇-水（3 : 1 : 1 : 1, *V/V/V/V*）正丙醇-氨水（7 : 3, *V/V*））、不同显色剂（10%硫酸乙醇溶液、0.2%茚三酮正丁醇溶液、0.3%茚三酮正丁醇溶液）、不同点样量（0.5 μL、1 μL、1.5 μL、2 μL）、不同展开温度（4℃、25℃、35℃）、不同厂家 G 板。根据斑点的清晰情况、是否拖尾等因素，最终确定以 5 mL 70%乙醇为提取溶剂，超声 15 min，正丁醇-冰醋酸-水（4 : 2 : 1）为展开剂，硅胶 G 板作为展开板，点样量 1.5 μL，25℃，不限定湿度进行展开分离效果最好，且斑点清晰，Rf 值适中。

2.2.4 PCR 鉴别

动物类药材在蒙医临床用药中应用广泛，但由于动物类内脏药材形态相似，市场上混伪现象严重[95, 96]。分子生物学技术已成为当前生物鉴定的必备工具，能够快速准确的鉴别物种，不受药材本身性状完整与否的影响，从而客观有效地鉴别药材的真伪

[97, 98]。细胞色素 C 氧化酶亚基 I（cytochrome oxidase subunit I，*COI*）序列是动物源性药材鉴别的核心条形码[95, 99]。本研究基于牛科动物牛的 *COI* 序列，设计出基于扩增小片段基因的引物对，在同一 PCR 反应体系中能够快速、有效的鉴别牛心及其可能的混淆品（如猪心、羊心、兔心等）。

2.2.4.1 模板 DNA 提取

样品需进行紫外杀菌处理并充分研磨粉碎，按照 2×EasyPure® Food and Fodder Security Genomic DNA Kit 提取试剂盒提取样品总 DNA。使用琼脂糖凝胶电泳评估 DNA 提取质量，并用超微量紫外分光光度计定量检测 DNA 的浓度，然后将 DNA 样本存放于-20℃备用。

2.2.4.2 PCR 扩增及测序

采用 2×EasyTaq® PCR SuperMix 试剂盒进行扩增。PCR 反应体系（总体积 25 μL）包括：DNA 模板 2 μL，特异性引物（50 ng/μL）前引物和后引物各 0.5 μL，2×PCR Mix 12.5 μL，无菌双蒸水 9.5 μL。采用“图 2-4”的参数进行扩增。

COI	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	94℃ 5min
	LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	94℃ 30sec
			54℃ 30sec
			72℃ 30sec
			72℃ 5min

35 cycles

图 2-4 PCR *COI* 扩增通用引物及扩增程序

Figure 2-4 Universal primers and procedures for PCR *COI* amplification

扩增完成后进行 DNA 双向测序。测序结果使用 BioEdit 软件拼接正反向序列，去除引物及低质量区域，每个样品获得 696 bp 左右的测序序列，结果见图 2-5。将序列在 GenBank 进行同源序列搜索分析，结果见图 2-6。

```
TCCAAAGAAT CAGAATAAGT GTTGATATAG AATAGGGTCT CCTCCTCCTG CCGGGTCGAA GAAGGTTGTA    70
TTTAGGTTCC GGTCTGTTAA TAGCATTGTG ATGCCGGCTG CTAATACAGG GAGCGAGAGT AGTAGTAGTA   140
CGGCGGTAAT TATTACGGAT CATACGAACA GAGGGGTTTG GTATTGTGAC ATTGCGGGGG GCTTTATGTT   210
GATAATTGTT GTAATGAAGT TGATGGCTCC TAAAATTGAG GAAACTCCTG CTAAGTGTAA AGAGAAAATG   280
GTTAGATCTA CTGAAGCTCC TGCATGGGCT AGGTTGCCTG CTAAGGGAGG GTACACGGTT CAGCCTGTTC   350
CTGCCCCAGC TTCAACTATA GAGGATGCGA GGAGTAGTAG GAATGAGGGA GGGAGGAGTC AGAAGCTTAT   420
ATTATTTATT CGGGGAAATG CTATATCGGG AGCACCAATT ATTAGGGGAA CAAGTCAGTT ACCGAATCCT   490
CCAATTATGA TTGGTATTAC TATGAAGAAG ATTATTACAA ATGCGTGTGC GGTTACAACT ACGTTGTAGA   560
TTTGGTCGTC TCCGAGCAGA GTTCCGGGTT GGCCTAATTC AGCGCGAATT AGAAGGCTTA CAGCTGTTCC   630
TACTATACCG GCCCAAGCAC CAAATAGTAG ATAAAGGGTA CCAATATCTT TATGATTTGT TGAAAA      696
```

图 2-5 牛心 *COI* 基原序列

Figure 2-5 The Original *COI* Gene Sequence of Bos taurus Heart

Bos taurus cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial

Sequence ID: MF598734.1 Length: 696 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 696 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1286 bits(696)	0.0	696/696(100%)	0/696(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    TCCAAAGAATCAGAATAAGTGTTGATATAGAATAGGGTCTCCTCCTCCTGCCGGGTCGAA  60
Sbjct  1    TCCAAAGAATCAGAATAAGTGTTGATATAGAATAGGGTCTCCTCCTCCTGCCGGGTCGAA  60

Query  61   GAAGGTTGTATTTAGGTTCCGGTCTGTTAATAGCATTGTGATGCCGGCTGCTAATACAGG  120
Sbjct  61   GAAGGTTGTATTTAGGTTCCGGTCTGTTAATAGCATTGTGATGCCGGCTGCTAATACAGG  120

Query  121  GAGCGAGAGTAGTAGTAGTACGGCGGTAATTATTACGGATCATACGAACAGAGGGGTTTG  180
Sbjct  121  GAGCGAGAGTAGTAGTAGTACGGCGGTAATTATTACGGATCATACGAACAGAGGGGTTTG  180

Query  181  GTATTGTGACATTGCGGGGGGGCTTTATGTTGATAATTGTTGTAATGAAGTTGATGGCTCC  240
Sbjct  181  GTATTGTGACATTGCGGGGGGGCTTTATGTTGATAATTGTTGTAATGAAGTTGATGGCTCC  240

Query  241  TAAAATTGAGGAAACTCCTGCTAAGTGTAAAGAGAAAATGGTTAGATCTACTGAAGCTCC  300
Sbjct  241  TAAAATTGAGGAAACTCCTGCTAAGTGTAAAGAGAAAATGGTTAGATCTACTGAAGCTCC  300

Query  301  TGCATGGGCTAGGTTGCCTGCTAAGGGAGGGTACACGGTTCAGCCTGTTCCTGCCCCAGC  360
Sbjct  301  TGCATGGGCTAGGTTGCCTGCTAAGGGAGGGTACACGGTTCAGCCTGTTCCTGCCCCAGC  360

Query  361  TTCAACTATAGAGGATGCGAGGAGTAGTAGGAATGAGGGAGGGAGGAGTCAGAAGCTTAT  420
Sbjct  361  TTCAACTATAGAGGATGCGAGGAGTAGTAGGAATGAGGGAGGGAGGAGTCAGAAGCTTAT  420

Query  421  ATTATTTATTCGGGGAAATGCTATATCGGGAGCACCAATTATTAGGGGAACAAGTCAGTT  480
Sbjct  421  ATTATTTATTCGGGGAAATGCTATATCGGGAGCACCAATTATTAGGGGAACAAGTCAGTT  480

Query  481  ACCGAATCCTCCAATTATGATTGGTATTACTATGAAGAAGATTATTACAAATGCGTGTGC  540
Sbjct  481  ACCGAATCCTCCAATTATGATTGGTATTACTATGAAGAAGATTATTACAAATGCGTGTGC  540

Query  541  GGTTACAACTACGTTGTAGATTTGGTCGTCTCCGAGCAGAGTTCCGGGTTGGCCTAATTC  600
Sbjct  541  GGTTACAACTACGTTGTAGATTTGGTCGTCTCCGAGCAGAGTTCCGGGTTGGCCTAATTC  600

Query  601  AGCGCGAATTAGAAGGCTTACAGCTGTTCCTACTATACCGGCCCAAGCACCAAATAGTAG  660
Sbjct  601  AGCGCGAATTAGAAGGCTTACAGCTGTTCCTACTATACCGGCCCAAGCACCAAATAGTAG  660

Query  661  ATAAAGGGTACCAATATCTTTATGATTTGTTGAAAA  696
Sbjct  661  ATAAAGGGTACCAATATCTTTATGATTTGTTGAAAA  696
```

图 2-6 目的基因测序与 BLAST 比对结果

Fig 2-6 Sequencing results of target gene and BLAST alignment of target gene

2.2.4.3 特异性引物设计

测序成功的牛心 *COI* 基因序列，利用 NCBI Primer-BLAST 在线软件设计特异性引物（见表 2-4），并由上海生工合成。

表 2-4 设计的牛心 *COI* 特异性引物序列

Tab. 2-4 Designed porcine Sussanguine *COI* specific primer sequence

引物序列	Primer 名称	引物大小	碱基序列(5'to3')
1 号引物	*Bos taurus*-1F *Bos taurus*-1R	125 bp	5'-TTAAACTTTCCAGGTGACCAAAAA-3' 5'-AGCCGGCATCACAATGCTAT-3'
2 号引物	*Bos taurus*-2F *Bos taurus*-2R	215 bp	5'-TTAAACTTTCCAGGTGACCAAAAA-3' 5'-CCCCGCAATGTCACAATACC-3'
3 号引物	*Bos taurus*-3F *Bos taurus*-3R	134 bp	5'-TTTAAACTTTCCAGGTGACCAAAA-3' 5'-TGTATTAGCAGCCGGCATCA-3'

2.2.4.4 特异性引物的筛选

将“2.2.4.1”项下提取的牛心、牦牛心、兔心、羊心及猪心的模板 DNA 按“2.2.4.2”项下 PCR 反应体系进行目的基因扩增。经 1%琼脂糖电泳后，样品在凝胶成像系统中完成可视化检测与图像采集。结果见图 2-7。

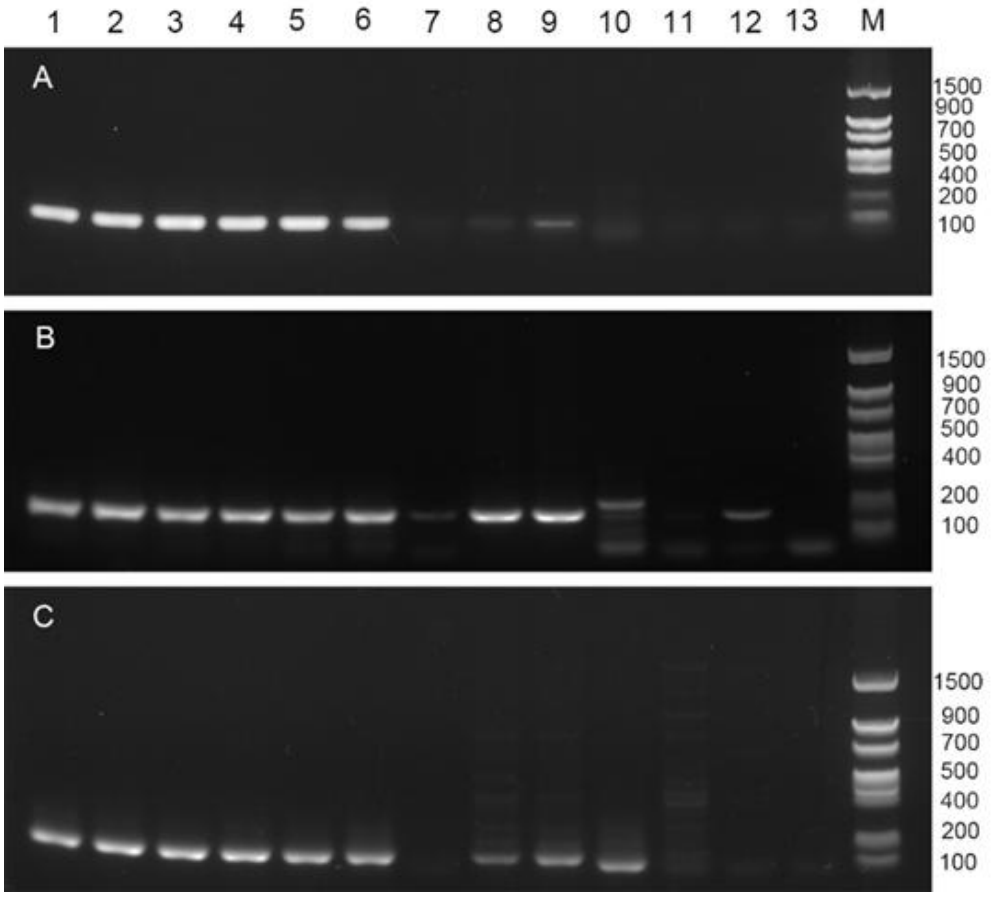

图 2-7 特异性引物凝胶电泳图

Figure2-7 Gel electrophoresis image of specific primer

注：A-特异性引物 1；B-特异性引物 2；C-特异性引物 3；1-7 分别为牛心 S1-S7、8-12 分别为牦牛心 1、牦牛心 2、兔心、羊心、猪心（浓度均为 50 ng/uL）、13 为空白、M 为 Trans DNA Maker II 100-1500

Note: A - Specific primer 1; B - Specific primer 2; C - Specific primer 3; 1-7 are *Bos taurus* hearts S1-S7, 8-12 are yak hearts 1, yak heart 2, rabbit heart, sheep heart, pig heart (all with a concentration of 50 ng/uL), 13 is blank, M is Trans DNA Maker II 100-1500

设计的引物 1 具有最佳的特异性扩展结果，条带明亮且单一，能够有效地区分牛心与牦牛心、兔心、羊心、猪心。相比之下，引物 2 和引物 3 无法区分牛心和牦牛心。因此，最终确定引物 1 作为牛心的特异性引物。

2.2.4.5 特异性引物准确性验证

采用特异性引物 1 对 21 份不同产地的牛心原药材及其混伪品进行特异性 PCR 扩增，结果见图 2-8，以检验上述结果的准确性（此方法重复 3 次结果一致）。结果表明，21 批牛心样品在 125 bp 处均扩增出特异性条带，准确性 100%。其他物种心脏以及空白对照在相同的位置均无条带出现，由此可见，该引物可以作为鉴别牛心及其混伪品的特异性引物。

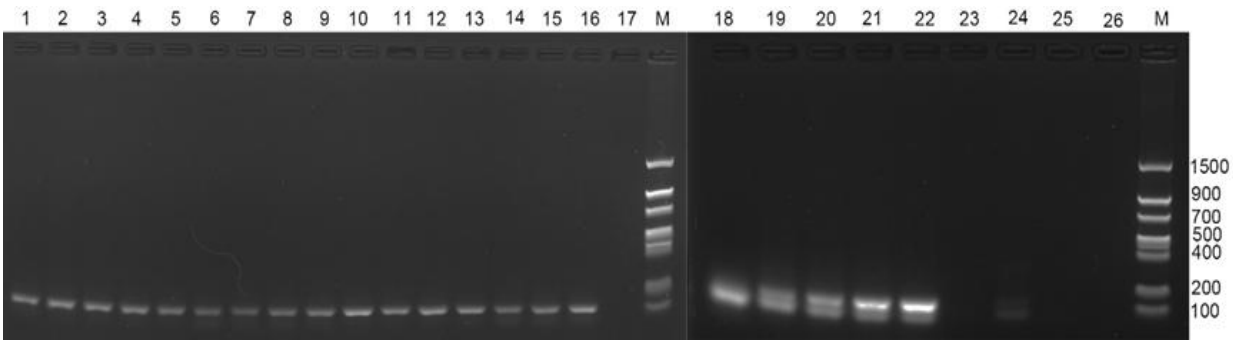

图 2-8 特异性引物 1 凝胶电泳图

Figure2-8 Gel electrophoresis image of specific primer 1

注: 1-16、18-22 分别为牛心 S1-S21、17、26 为空白、M 为 Trans DNA Maker II 100-1500

Note: 1-16, 18-22 are *Bos taurus* hearts S1-S21, 17 and 26 are blanks, M is Trans DNA Maker II 100-1500

2.2.4.6 讨论

影响 PCR 特异性鉴别准确性的关键因素包括退火温度、引物的量和模板 DNA 的量等[100]。本实验通过考察最佳退火温度（49、52、54、56、58℃）、引物的量（0.2、0.5、1 μL）、模板 DNA 的量（0.5、1、2、5、10 μL），确定最佳退火温度 49℃，引物量 0.5 μL，模板 DNA 量 2 μL 为最佳 PCR 扩增体系。

对扩增成功后产物进行测序，根据得到的序列，按照特异性引物设计原则[101]进行引物设计。（1）引物长度以 15~30 bp 为宜。（2）引物碱基尽可能随机分布，引物 G+C 含量宜 45%~55%左右。(3)引物内部不应该形成二级结构。（4）引物碱基的顺序不应与非扩增区域有同源性。最后设计出了一对鉴别准确率高的特异性引物 5' - TTAAACTTTCCAGGTGACCAAAAA - 3'和 5' - AGCCGGCATCACAATGCTAT - 3'。该 PCR 鉴别方法操作简单，灵敏度高，反应时间短，适用性广。

2.3 含量测定

蛋白质是牛心的主要成分，其含量对牛心在处方中的功效具有重要影响。依据《中国药典》2020 年版四部氮测定法（通则 0704）中第三法定氮仪法[102]，使用凯氏定氮仪对牛心样品进行蛋白质含量测定[103, 104]。

2.3.1 样品的处理

将干燥的牛心样品粉碎，过 80 目筛。

2.3.2 溶液配制

2%硼酸溶液；40%氢氧化钠溶液；甲基红乙醇溶液（1 g·L^{-1}）；溴甲酚绿乙醇溶液（1 g·L^{-1}）；指示液配制方法：使用时，按 1 : 5 的比例将溴甲酚绿的乙醇溶液与甲基红的乙醇溶液进行混合；0.05 mol·L^{-1} 硫酸标准滴定溶液。

2.3.3 实验方法

2.3.3.1 消化

精密称取 0.4 g 牛心样品，置于消化管中，加入硫酸钾 0.8 g、硫酸 7 mL、硫酸铜溶液 14 滴，使用石墨消解仪按“表 2-5”程序消解。完全消化后，冷却并用全自动凯氏定氮仪测定。同时设置 3 组空白样参与消化、蒸馏和滴定。

表 2-5 微波消解程序

Tab. 2-5 Digestion procedure of microwav

阶段	温度（℃）	保温时间（min）
1	150	5
2	350	5
3	400	30

2.3.3.2 蒸馏

将消化管冷却后，连接纯水、40%氢氧化钠溶液和 2%硼酸吸收液（滴加三滴混合指示剂）至蒸馏仪。设置参数为 12 mL 纯水、30 mL 硼酸吸收液和 30 mL 氢氧化钠溶液，运行前，进行 3 次洗涤程序。首先蒸馏空白组，并记录滴定结果。蒸馏后，启动洗涤程序清洗系统，然后进行下一组蒸馏。

2.3.3.3 牛心蛋白质的计算

蛋白质平均氮含量为 16%，根据凯氏定氮法测得的氮含量，乘以转换系数 6.25，计算得到粗蛋白质含量，并以百分含量表示。

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times c_{酸} \times 0.014 \times 6.25}{m} \times 100$$

式中：

X——试样中蛋白质的含量，单位 g/100g；

V_1——试液消耗的硫酸或盐酸标准滴定溶液的体积，单位 mL；

V_0——试剂空白消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，单位 mL；

C——硫酸或盐酸标准滴定溶液浓度，单位 moL/L；

m——试剂的质量，单位 g。

2.3.4 方法学考察

2.3.4.1 线性关系考察

精密称取本品粉末 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 g，按照上述方法测定。以样品量为横坐标（*X*），消耗滴定体积为纵坐标（*Y*）进行回归，得到方程 *Y*＝73.964*X*－3.4597（*r*＝0.9992），说明牛心样品在 0.1～0.7 g 与消耗滴定体积呈良好的线性关系。由于本实验控制滴定体积在 25 mL 以下，故确定取样量为 0.4 g。

2.3.4.2 重复性考察

精密称取牛心样品 0.4 g（S12），平行 6 份，按照上述方法进行测定。根据滴定酸溶液的体积计算蛋白质含量的相对标准偏差 RSD (%)，结果表明方法重现性良好，结果见表 2-6。

表 2-6 重复性结果（n= 6）

Tab. 2-6 Repeatability Results (n= 6)

	测得蛋白质含量（g/100g）	RSD（%）
重复性 1	29.7	0.84
重复性 2	29.7	
重复性 3	29.4	
重复性 4	29.1	
重复性 5	29.1	
重复性 6	29.4	

2.3.4.3 消解回收率考察

精密称取牛心样品 0.2 g（S12，蛋白质含量为 29.4 g/100g），平行 9 份，分别加入氯化铵标准物质 0.02 g、0.05 g、0.1 g（每个加样量平行 3 组），置于消化管中，按上述方法进行消化、蒸馏、滴定，计算蛋白质含量回收率，结果见表 2-7。结果氯化铵的平均加样回收率为 99.3%～101.2%，RSD 为 0.12%～0.90%（*n*＝3），表明本方法准确度良好。

表 2-7 消解回收率结果

Tab. 2-7 Results of digestion recovery rate

回收率	样品量（g）	氯化铵量（g）	回收率（%）	均值（%）	RSD（%）
回收率 1	0.2043	0.1035	99.2		
回收率 2	0.2022	0.1012	99.2	99.3	0.12
回收率 3	0.2033	0.1024	99.4		
回收率 4	0.2018	0.0518	99.7		
回收率 5	0.2042	0.0504	99.8	99.8	0.15
回收率 6	0.2035	0.0512	100.0		
回收率 7	0.2015	0.0254	101.6		
回收率 8	0.2034	0.0266	100.2	101.2	0.90
回收率 9	0.2028	0.0254	101.9		

2.3.4.4 蒸发回收率考察

精密称取牛心样品 0.2 g（S12，蛋白质含量为 29.4 g/100g），平行 6 份，按供试品溶液的制备方法处理样品，得到消化液。向消化液中加入氯化铵溶液 0.1 g，继续蒸馏操作并测定。计算蛋白质含量回收率为 99.6%～100.1%，RSD 为 0.29%，表明本方法准确度良好，结果见表 2-8。

表 2-8 蒸馏回收率结果

Tab. 2-8 Results of distillation recovery rate

回收率	样品量（g）	氯化铵量（g）	回收率（%）	均值（%）	RSD（%）
回收率 1	0.2017	0.1015	99.6		
回收率 2	0.2012	0.1006	100.1	99.9	0.29
回收率 3	0.2025	0.1011	100.1		

2.3.5 牛心蛋白质含量结果

按照上述方法对 21 批牛心药材进行蛋白质含量测定，各批样品蛋白质含量介于 29.2 g/100 g～34.1 g/100 g，平均值为 30.9 g/100 g。以平均值下浮约 20%，暂定药材蛋白质含量不得低于 25 g/100 g。结果见表 2-9。

表 2-9 蛋白质含量测定（*n*=3）

Tab. 2-9 Determination of protein content (*n* = 3)

编号	批号	蛋白质（g/100g）	编号	批号	蛋白质（g/100g）
S1	YL20230401	29.9	S12	YL20220904	30.2
S2	YL20230402	33.1	S13	YL20220905	29.4
S3	YL20230403	34.4	S14	YL20220906	29.4
S4	YL20230404	33.5	S15	YL20220907	29.7
S5	YL20230405	31.5	S16	YL20220908	29.2
S6	YL20230406	33.9	S17	YL20220909	29.4
S7	YL20230407	33.6	S18	YL20220910	29.7
S8	YL20230408	31.5	S19	YL20220911	28.6
S9	YL20220901	31.5	S20	YL20220912	29.4
S10	YL20220902	30.1	S21	XJ20220829	28.8
S11	YL20220903	29.8			

2.3.6 讨论

为确保牛心粉末完全消解，本研究考察了不同消解温度（360℃、400℃、440℃）、不同硫酸用量（5 mL、7 mL、9 mL）、不同消解时间（25 min、30 min、35 min）。在消解过程中，消化管中溶液完全变成蓝绿色时证明样品完全消解。通过观察消化管中溶液的颜色以及蛋白质的含量最终确定消化条件为消化温度 400℃，硫酸用量 7 mL，消化时间 30 min。

2.4 检查项

依据《中国药典》2020 年版四部通则 0212 药材和饮片检定通则项下“六”和“七”中对药材的水分、灰分、可溶性物质进行测定，检查药材的纯净程度和可溶性物质进行限量检查[105]。

2.4.1 水分

依照（《中国药典》2020 年版，四部通则 0832）[106]第二法进行水分测定。结果，各批样品水分含量为 9.8% ~ 16.1%，平均值为 13.1%，以平均值上浮约 20%，暂定药材水分含量不得超过 16.0%。测定结果见表 2-10。

2.4.2 总灰分与酸不溶灰分

依照（《中国药典》2020 年版，四部通则 2302）[107]进行灰分、酸不溶灰分测定。结果，各批样品灰分含量为 0.03%～8.6%，平均值为 5.7%；以平均值上浮约 30%，暂定药材总灰分含量不得超过 10%。各批样品酸不溶性灰分含量为 0.01%～0.15%，平均值为 0.05%，测定结果见表 2-10。因酸不溶性灰分含量微量不将此纳入标准考察。测定结果见表 2-10。

2.4.3 浸出物

依据 2020 年版（《中国药典》四部通则 2201）[108]，按热浸法，对牛心水溶性浸出物进行测定。结果为 14.7%～30.3%，平均值为 23.3%，以平均值下浮约 30%，暂定药材水溶性浸出物不得低于 16.0%。结果见表 2-10。

表 2-10 牛心样品水分、总灰分含量、酸不溶性灰分含量和浸出率测定结果(*n*=3, %)

Tab. 2-10 The determination results of moisture, total ash, acid-insoluble ash and extracts in Bos taurus heart (*n*=3, %)

序号	水分	总灰分	酸不溶灰分	浸出率
S1	13.4	3.3	0.1	18.3
S2	11.2	3.3	0.1	19.0
S3	9.8	3.6	0.2	18.1
S4	12.0	3.1	0.0	19.0
S5	14.4	3.58	0.0	25.4
S6	9.8	3.39	0.0	22.8
S7	10.2	2.9	0.1	15.2
S8	11.9	3.4	0.1	16.9
S9	15.2	6.2	0.0	26.6
S10	13.0	7.1	0.0	30.3
S11	16.1	6.8	0.1	26.5
S12	14.2	8.6	0.0	24.8
S13	14.2	7.0	0.0	27.4
S14	14.4	6.6	0.1	25.8
S15	15.4	6.5	0.0	24.7
S16	12.2	7.3	0.0	26.5
S17	15.8	6.2	0.0	27.9
S18	13.1	7.7	0.0	24.4
S19	14.8	4.1	0.1	26.9
S20	13.4	6.1	0.1	27.6
S21	11.2	7.6	0.0	14.7

2.4.3.1 讨论

为控制药材内在质量，以测定浸出物含量为考察指标，选择适宜的方式和溶剂做浸出物测定。考察了提取方式（热浸法、冷浸法），提取溶剂（纯水、20%乙醇、30%乙醇、40%乙醇、60%乙醇、100%乙醇）。根据考察结果，最终确定以热浸法提取水溶性浸出物，作为最佳测定方法。

2.4.4 重金属检测

按照 2020 年版《中国药典》（四部）通则 2321（第二法电感耦合等离子体质谱法）[107]测定牛心中重金属铅、砷、镉、汞、铜的含量[83]。

2.4.4.1 ICP-MS 工作条件

工作参数见表 2-11：

表 2-11 ICP-MS 工作条件参数表

Tab. 2-11 Working condition parameter Tab. of ICP-MS

项目	参数	项目	参数
射频功率	1550 W	雾室温度	2 ℃
等离子体流速	15 L/min	采样深度	10 mm
载气流量	0.99 L/min	截取锥孔径	0.45 mm
辅助气流速	0.90 L/min		

2.4.4.2 微波消解条件

经优化调整的微波消解程序见表 2-12。

表 2-12 微波消解程序

Tab. 2-12 Digestion procedure of microwav

阶段	温度（℃）	保温时间（min）
1	120	5
2	140	5
3	150	5
4	180	30

2.4.4.3 供试品溶液的制备

精密称取供试品粉末约 0.2 g，置于微波消解罐中，加入 10 mL 纯化硝酸，静置一段时间进行预消解，随后放入微波消解仪中按照表 2-12 所示程序进行消解。消解完成后，将消解液用水稀释至 25 mL，摇匀。采用相同方法制备试剂空白溶液。过滤后，

将滤液收集于玻璃管中，用于后续的 ICP-MS 元素测定。

2.4.4.4 线性关系考察

取标准系列混合溶液，依法测定，以各元素与内标计数值的比值（*Y*）为纵坐标，各元素质量浓度（*X*）为横坐标，绘制标准曲线，结果见表 2-13，各元素的线性关系良好。

表 2-13 线性关系考察结果

Tab. 2-13 Results of linear relation

成分	线性方程	r	线性范围（μg/mL）	检出限（μg/mL）	定量（μg/mL）
Pb	$Y = 11663.7863X - 4703.7329$	1.0000	0.00～500.00	1.33	4.03
As	$Y = 220.5056X - 316.9992$	0.9999	0.00～500.00	4.74	14.38
Cd	$Y = 511.5818X + 221.3403$	0.9999	0.00～500.00	1.43	4.33
Hg	$Y = 631.0302X - 77.2857$	0.9999	0.00～100.00	0.40	1.22
Cu	$Y = 2797.5072X - 2595.0891$	0.9998	0.00～500.00	3.06	9.28

2.4.4.5 实验结果

按照 2020 年版《中国药典》（四部）通则 2321，对牛心药材重金属含量进行测定，结果如下表 2-14：

表 2-14 牛心中铅、砷、镉、汞、铜的含量（mg/kg, *n*=3）

Tab. 2-14 The contents of lead, arsenic, cadmium, mercury and copper in Bos taurus heart (mg/kg, *n*=3)

序号	Pb	As	Cd	Cu	Hg
S1	0.291	0.036	0.001	16.237	0.114
S2	0.61	0.027	0.013	13.416	0.052
S3	1.174	0.026	0.011	12.383	0.06
S4	1.801	0.033	0.009	13.524	0.071
S5	0.315	0.072	0.015	12.976	0.032
S6	1.065	0.037	0.02	12.835	0.097
S7	0.583	0.021	0.009	11.248	0.041
S8	1.357	0.036	0.012	13.648	0.041
S9	0.352	0.046	0.009	11.681	0.32
S10	0.339	0.008	0.009	10.416	0.026
S11	0.345	0.008	0.006	9.609	0.017
S12	1.874	0.011	0.275	10.604	0.012
S13	0.775	0.01	0.007	9.487	0.011
S14	1.824	0.012	0.016	10.219	0.016
S15	0.314	0.006	0.188	10.075	0.011

续表 2-14 牛心中铅、砷、镉、汞、铜的含量（mg/kg, *n*=3）

Continue from 2-14 The contents of lead, arsenic, cadmium, mercury and copper in Bos taurus heart (mg/kg, *n*=3)

序号	Pb	As	Cd	Cu	Hg
S16	0.559	0.01	0.008	10.082	0.008
S17	0.624	0.075	0.01	10.088	0.011
S18	0.916	0.009	0.009	10.173	0.006
S19	0.517	0.023	0.008	10.165	0.007
S20	0.473	0.009	0.014	10.078	0.011
S21	0.346	0.007	0.009	9.866	0.01

2.4.4.6 讨论

参考《中国药典》2020 年版通则 9302 内容中“第五项”重金属及有害元素一致性限量指导值规定铅不得过铅(Pb)不得超过 5 mg/kg，砷(As)不得超过 2 mg/kg，镉(Cd)不得超过 1 mg/kg，铜(Cu)不得超过 20 mg/kg，汞(Hg)不得超过 0.2 mg/kg[109]，鉴于 21 批牛心药材的重金属含量均低于药典标准要求，故未将其纳入质量标准。

2.5 本章小结

（1）对牛心药材性状和粉末显微观察特征进行了描述。

（2）通过薄层鉴别对牛心中氨基酸成分谷氨酸、赖氨酸、亮氨酸、缬氨酸进行鉴别，确定其主要氨基酸成分。

（3）本实验设计出一对特异性引物对牛心物种进行特异性鉴别，前引 N-1F: 5'-TTAAACTTTCCAGGTGACCAAAAA-3'和后引 N-1R: 5'-AGCCGGCATCACAATGCTAT-3'。该引物具有显著的特异性，可以有效区地区分牛心与其他种类的伪品。

（4）本研究采用凯氏定氮法第三法对牛心蛋白质含量进行测定。在方法学考察中，该测定方法的重复性、稳定性良好，蒸发回收率和消化回收率达标。根据 21 批不同产地的干燥牛心样品蛋白质含量结果，以平均值下浮约 20%，暂定药材蛋白质含量不得低于 25 g/100g。

（5）通过测定各批次牛心药材的水分、醇浸出物以及总灰分含量，根据 21 批牛心原药材测定结果，按平均值上浮约 20%的标准，暂定药材水分含量的上限为 16.0%，按平均值上浮约 30%的标准，总灰分含量的上限为 7.0%，各批样品的酸不溶性灰分平均值为 0.05%。鉴于酸不溶性灰分含量较低，决定不将其纳入标准考察范围。基于浸出物含量平均值下浮约 30%的标准，暂定药材水溶性浸出物的下限为 18.0%。

第 3 章矿物药材香墨质量标准的研究

3.1 实验仪器及材料

3.1.1 仪器

本章涉及实验仪器见表 3-1。

表 3-1 主要仪器

Tab. 3-1 Experimental instruments

名称	型号	生产商
GC-MS	ISQD1806505	赛默飞
ICP-MS	Agilent 7800	安捷伦
透射电子显微镜（TEM）	FEI Tecnai F20, TF30	美国 FEI 公司
扫描电子显微镜（SEM）	Zeiss Gemini 300	德国蔡司
台式砂轮机	S1ST-150	温州市凯祥电机厂
分析天平（0.0001g）	AR124CN	奥豪斯仪器（上海）有限公司
分析天平（0.00001g）	D11-09-010	PrecisaGravimetricsAG
电热鼓风干燥箱	DHG-9145A	北京市永光明医疗仪器有限公司
电热恒温水浴锅	DZKW-0-2	上海一恒科学仪器有限公司
低温冷却液循环泵	DLSB-5/20	郑州长城科工贸有限公司
水浴恒温振荡器	SHA-B	金坛市医疗仪器厂
薄层数码成像仪	YOKO-ZS	武汉药科新技术开发有限公司
调节电热套	KDM 型	山东省鄄城振兴仪器厂
高速万能粉碎机	FW-100	北京市永光明医疗仪器厂

3.1.2 样品与试剂

本研究收集的 24 批香墨药材信息如下表 3-2。

表 3-2 香墨药材样品收集情况表

Tab. 3-2 Source information for 21 batches of Fragrant Xiangmo

	批号	来源	产地
S1	YL20220901	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S2	YL20220902	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S3	YL20220903	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S4	YL20220904	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S5	YL20220905	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S6	YL20220906	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S7	YL20220907	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S8	YL20220908	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S9	YL20220909	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S10	YL20220910	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S11	YL20220911	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S12	YL20220912	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S13	YL20230403	安徽嘉佑中药饮片有限公司	江苏苏州
S14	YL20230411	安徽嘉佑中药饮片有限公司	江苏南京
S15	YL20230404	安徽嘉佑中药饮片有限公司	湖北武汉
S16	YL20230408	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽安庆
S17	YL20230412	安徽嘉佑中药饮片有限公司	北京
S18	YL20230407	安徽嘉佑中药饮片有限公司	安徽宣城
S19	YL20230405	成都荷花池中药材商场	河南郑州
S20	YL20230409	康德瑞琪旗舰店	安徽黄山
S21	YL20230401	中药材批发零售 01 店	安徽亳州
S22	YL20230402	同仁原料精选中药材特级	安徽六安
S23	YL20230410	渝丰堂中药	安徽合肥
S24	YL20230406	渝丰堂中药	浙江杭州

表 3-3 主要试剂

Tab. 3-3 Primary Reagent Information

名称	级别/产品批号	生产商
冰片	110743-201706	中国食品药品检定研究所
苊	83-32-9	
芴	86-73-7	
菲	85-01-8	
蒽	120-12-7	上海麦克林生化科技有限公司
荧蒽	206-44-0	
芘	129-00-0	
石油醚（30-60℃）	F809540	
冰乙酸	色谱纯	赛默飞世尔科技有限公司

续表 3-3 主要试剂

Continue from 3-3 Primary Reagent Information

名称	级别/产品批号	生产商
正己烷	分析纯	天津市富宇精细化工有限公司
二氯甲烷	分析纯	
无水乙醇	分析纯	成都市科隆化学品有限公司
硅胶 G 板	20240302	烟台江友硅胶开发有限公司
硅胶 G 板	20240520	湖南比克曼控股有限责任公司
硅胶 G 板	20240306	南京全隆生物技术有限公司
硅胶板 GF254	20230603	青岛海洋化工有限公司制造
硅胶 H 板	20240302	
聚酰胺薄膜	20240613	青岛邦凯高新技术材料有限公司
铅、镉、砷、汞、铜溶液	GSB04-1725-2022	采购于国家有色金属

3.2 鉴别

3.2.1 性状鉴别

本品为方柱形或扁长方形块状。表面黑色，微显光泽；质硬而脆，不易折断，断面不平坦，乌黑色，颗粒状，有白色小斑点及孔隙；气特异，微香，味淡[110]。见图 3-1。

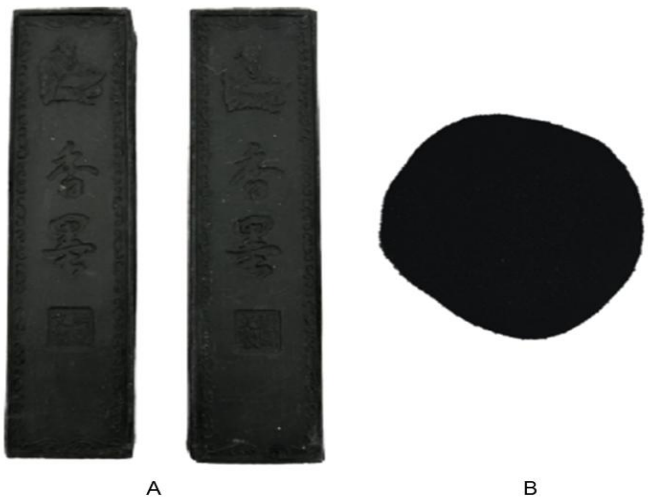

图 3-1 香墨样品性状

Figure 3-1 Characteristics of Xiangmo Samples

注：A 香墨、B 香墨粉末

Note: A - Xiangmo; B - Xiangmo Powder

3.2.2 微观形貌观察

由于香墨不同于普通中草药，无法在显微镜下观察到明显的特征，所以采用扫描电镜进行样品形貌观察[111]。通过扫描电镜和透射电镜对香墨粉末的观察，确定其石墨结构。

3.2.2.1 扫描电镜

采用 SEM 观察香墨粉末表面三维立体结构，结果详见图 3-2。

本研究采用两种不同的样品制备方法进行 SEM 表征：乙醇分散法和直接粘附法。乙醇分散法制备的样品（图 A、C）在低加速电压下，能够清晰呈现样品的本征结构特征。高倍率图像（图 A）显示，样品表面主要由石墨片层和矿物晶体组成。石墨片层呈现典型的层状堆叠结构。矿物相则显示出明确的晶体解理面，解理角符合六方晶系的特征。此外，样品表面还分布有亚微米级孔隙，这些孔隙可能是挥发物逸散的通道。

相比之下，直接粘附法制备的样品（图 B、D）在高加速电压下，其形貌特征显著不同。低倍率图像（图 B）显示样品由微米级颗粒团聚体组成，粒径范围为 5-20 μm。背散射电子成像模式下，样品呈现出明显的成分衬度差异：亮区对应于高原子序数的矿物相，而暗区则可能为石墨或有机组分。此外，颗粒边缘可见模糊晕圈，提示表面存在薄层包覆物。高倍率图像（图 D）进一步显示，样品表面被连续油膜完全包覆，油膜厚度不均匀，中心区域约为 1 μm，边缘区域则小于 100 nm。油膜的存在完全遮蔽了底层矿物和石墨的结构信息，同时其表面呈现出流动褶皱和亚微米气泡（直径 300-500 nm），表明油膜在样品制备过程中可能发生了部分挥发或重组。

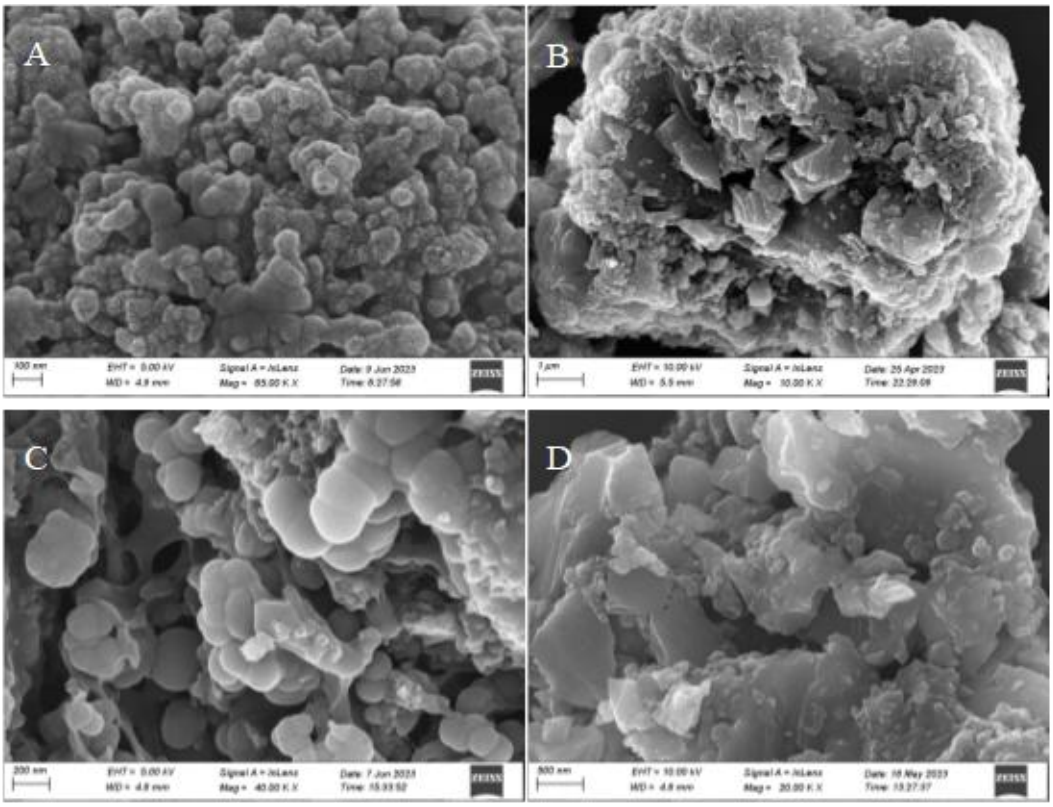

图 3-2 香墨扫描电镜图

Figure 3-2 Scanning Electron Micrograph of Xiangmo

注：图 A、C 为乙醇分散制样；图 B、D 为直接分散制样

Note: Fig A and B were prepared using ethanol dispersion; Fig C and D were prepared by direct dispersion.

3.2.2.2 透射电镜

采用 TEM 进行测定，观察香墨粉末的形貌及结构。以水为分散剂，选择铜网进行制样，样品超声 10 min，结果如图 3-3。在低倍率下观察发现，样品呈现良好的分散状态，无明显团聚现象（图 A）。样品主要呈现不规则片状结构，横向尺寸分布在 80-120 nm 范围内，厚度较为均一。中倍率图像（图 B）更清晰地展示了样品的微观结构特征。可以观察到片层表面存在纳米级孔洞，孔径约 5-10 nm，分布密度约为 15 个 /100 nm^2；边缘区域可见明显的卷曲结构，曲率半径约 2-5 nm；部分区域显示厚度差异，暗示可能存在多层堆叠结构。高分辨图像（图 C）进一步揭示了样品的原子级结构特征：清晰的晶格条纹显示样品具有良好的结晶性，测量得到晶面间距为 0.34 nm，与石墨晶面标准值吻合；边缘区域观察到 2-3 层的堆叠结构，层间距约 0.35 nm；局部区域存在晶格缺陷，表现为位错和层错等结构特征。

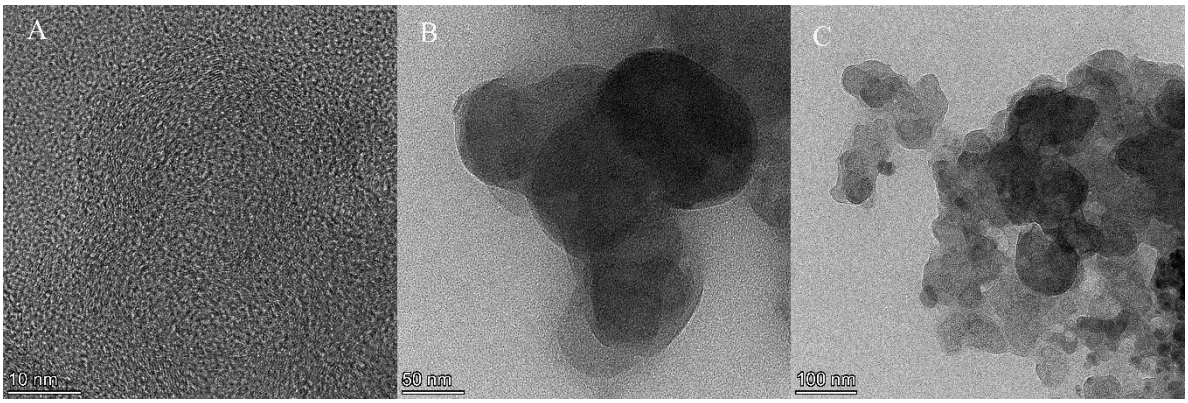

图 3-3 香墨透射电镜图

Figure 3-3 Transmission Electron Micrograph of Xiangmo

3.2.3 薄层鉴别

3.2.3.1 供试品溶液的制备

称取香墨药材粉末 20.0 g（过 3 号筛），置烧瓶中，加水 250 mL，照挥发油测定法《中国药典》2020 年版四部通则 2204 试验[112]，自挥发油测定器上端加入石油醚（60~90℃）2 mL，加热至沸并保持微沸 3 小时，冷却至室温，分取石油醚液，作为供试品溶液。

3.2.3.2 对照品溶液的制备

称取冰片对照品，加乙酸乙酯配制成浓度为 3 mg/mL 的溶液。

3.2.3.3 方法和结果

依据 2020 年版《中国药典》薄层色谱法（通则 0502）[94]，取 6 μL 对照品溶液和 7 μL 供试品溶液点样于硅胶 G 薄层板上。以正己烷：乙酸乙酯（17 : 3，*V/V*）为展开剂，取出，晾干，喷洒 1%香草醛硫酸溶液，置 105℃加热 2 min，日光下检视。

结果见图 3-4，香墨样品在 Rf 值 0.45 和 0.57 处呈现特征性斑点，且与对照品在相同位置显示一致的颜色特征。该分析结果验证了方法的可行性，可作为质量标准制定的依据。

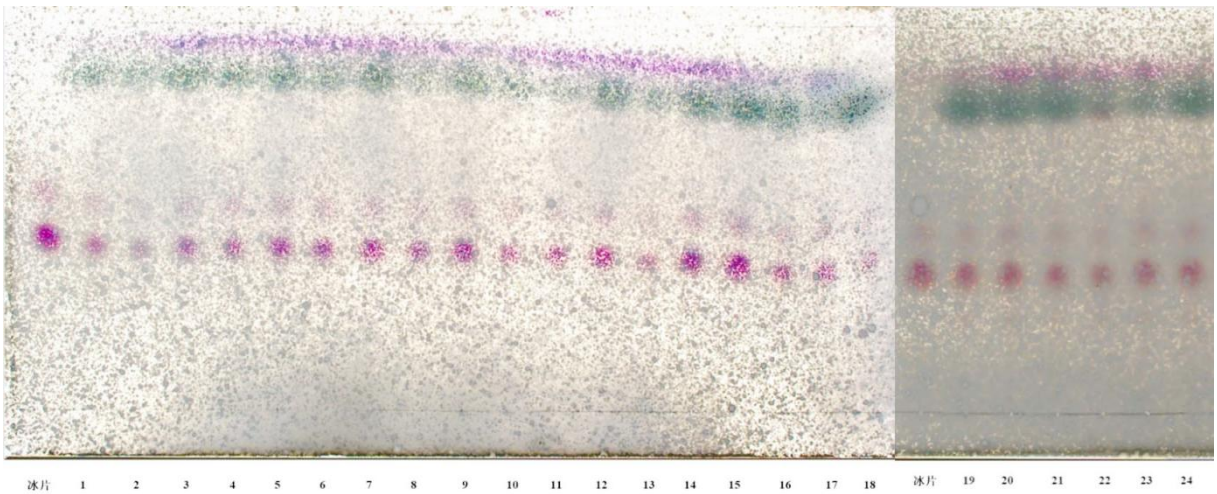

图 3-4 香墨药材薄层色谱结果

Figure 3-4 TLC Results of Xiangmo Medicinal Material

注：冰片对照品、1-24 为香墨样品 S1-S24

Note: Borneol reference standard; 1-24 - Xiangmo samples S1-S24

3.2.3.4 讨论

对香墨药材 TLC 的薄层板选择、展开剂、点样量、显色剂等进行了筛选。本研究分别考察了不同薄层板（G 板、H 板、GF254 板、聚酰胺薄层板）、不同展开剂（正己烷：乙酸乙酯（17 : 3, *V/V*）、环己烷：乙酸乙酯（17 : 3, *V/V*）、甲苯：乙酸乙酯（19 : 1, *V/V*）、石油醚（30-60℃）：乙酸乙酯（17 : 3, *V/V*）、不同显色剂（10%硫酸乙醇溶液、2%香草醛硫酸溶液、5%磷钼酸溶液）、不同点样量（4 μL、6 μL、7 μL）、不同展开湿度（18%、32%、58%、88%）、不同展开温度（4℃、25℃、35℃）、不同厂家 G 板（湖南比克曼控股有限责任公司，批号 20240520、南京全隆生物技术有限公司，批号 20240826、青岛海洋化工有限公司，批号 20240310）。根据斑点的清晰情况、是否拖尾等因素，最终确定以硅胶 G 板作为展开板，正己烷：乙酸乙酯（17 : 3, *V/V*）为展开剂，点样量 7 μL，展开温度 25℃，斑点清晰，Rf 值适中。

3.3 限量测定

香墨作为蒙医特色矿物药，其挥发油中多环芳烃（polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs）的毒理学风险尚未被充分认知。多环芳烃是一类具有致癌、致突变、生殖毒性危害的物质[113-116]。主要是因为有机物的热裂解或不完全燃烧形成的。因此对其进行控制具有重要的现实意义。采用气相色谱质谱法对香墨中的挥发油的成分进行分析。

参照 2020 年版《中国药典》含量测定方法，香墨采用气相色谱-质谱联用法在色谱条件下建立定量测定方法。所建方法方法学考察良好，方法稳定。

3.3.1 对照品溶液的配制

精密称取苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘对照品 0.12 mg，0.63 mg，12.12 mg，1.33 mg，8.08 mg，8.08 mg 分别置于 50 mL 容量瓶中，加石油醚溶解，制成浓度分别为 0.024mg·mL^{-1}、0.0126 mg·mL^{-1}、0.2424 mg·mL^{-1}、0.2656 mg·mL^{-1}、0.1616 mg·mL^{-1} 和 0.1616 mg·mL^{-1} 的对照品溶液。

3.3.2 供试品溶液的制备

称取香墨药材粉末 6.0 g（过 3 号筛），置于 250 mL 烧瓶中，加入 100 mL 超纯水，振摇混合，静置 1 h。振摇混合均匀后静置 1 h。按照 2020 年版《中国药典》（通则 2204）挥发油测定法的甲法[112]，进行水蒸气蒸馏 4 h，至收集器中油量不再增加，停止加热并放置 1 h，冷却至室温。用石油醚将挥发油从测定装置中转移至容器中，得到具有特殊香味的油状物。加入无水硫酸钠除去残余水分后过滤，转移至 10 mL 容量瓶中，用石油醚至刻度，制得供试品溶液。

3.3.3 实验方法

3.3.3.1 顶空进样

精密称取 2.0 mL 对照品或供试品溶液，置于 20 mL 顶空瓶中并密封，随后将其置于顶空进样器中，按照设定的顶空进样条件进行操作。顶空进样条件：样品平衡温度 70℃，平衡时间 20 min；定量环温度 80℃，传输线温度 90℃；载气为高纯氦气，加压时间 0.1 min，进样时间 1 min。

3.3.3.2 GC-MS 分析条件

GC 条件：进样口温度 280 ℃，载气为高纯氦气，柱体积流量为 1.0 mL/min。升温程序：70 ~ 210℃，70℃保持 1 min，以 10℃/min 升温至 170℃保持 5 min；以 3℃/min 升温至 175℃保持 1 min；以 10℃/min 升温至 210℃保持 5 min。进样方式：分流进样，分流比为 5∶1；进样量：1 μL；进样口温度：250℃；总分离时间 27.167 min。

MS 条件：接口温度 280℃，离子源温度 230℃，四级杆温度 150℃。电离方式为 EI；电子能量 70 eV。MS 采集模式为扫描。质量扫描范围在 33 ~ 500 amu 间。溶剂延迟 4 min。

化合物定量方法：按峰面积归一化方法计算化合物的相对质量分数。

混合对照品的色谱图，样品的色谱图，见 3-5。

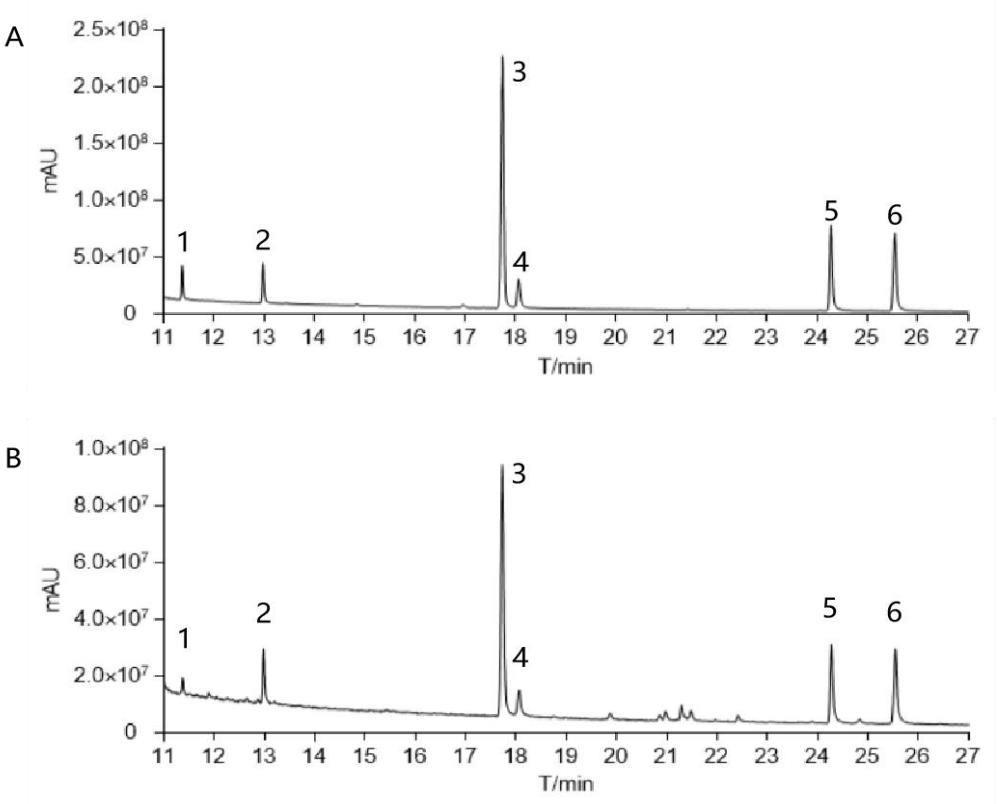

图 3-5 GC-MS 图

Figure 3-5 GC-MS Chromatogram

注：A. 对照品、B. 样品、1-6 号分别为苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘

Note: A. Reference Standard, B. Sample; Peaks 1-6 correspond to acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, and pyrene, respectively.

表 3-4 香墨挥发油中多环芳烃成分 GC/MS 化学分析

Tab. 3-4 GC/MS Chemical Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Volatile Oils of Xiangmo

序号	保留时间（min）	名称	分子式	分子量
1	11.43	苊	$C_{12}H_8$	152.2
2	13.01	芴	$C_{13}H_{10}$	166.218
3	16.93	菲	$C_{14}H_{10}$	178.23
4	17.14	蒽	$C_{14}H_{10}$	178.229
5	22.74	荧蒽	$C_{16}H_{10}$	202.251
6	24.00	芘	$C_{16}H_{10}$	202.251

3.3.4 方法学考察

3.3.4.1 线性关系考察

将“3.3.1”项下的对照品储备液逐级稀释，制备出 6 个不同浓度梯度的混合对照品溶液。按“3.3.3”项下的 GC-MS 条件进样测定，记录峰面积。以对照品溶液的浓度（*X*）作为横坐标，色谱峰面积（*Y*）作为纵坐标，绘制标准曲线并计算回归方程，对所得结果计算回归线方程，进而对线性关系进行验证。相关计算结果详见表 3-5。

表 3-5 6 种成分线性关系考察结果

Tab. 3-5 Results of the Linearity Investigation for Six Components

成分	线性方程	r	线性范围（μg/mL）	检出限（μg/mL）	定量限（μg/mL）
苊	$Y = 241138584.22X + 97845.81$	0.9997	0.060 ~ 2.400	1.34	4.06
芴	$Y = 125618204.87X + 95764.67$	0.9999	0.126 ~ 12.600	2.52	7.62
菲	$Y = 63491381.53X + 426814.50$	0.9998	2.424 ~ 242.400	22.18	67.22
蒽	$Y = 57795202.51X + 80143.14$	0.9998	0.996 ~ 26.560	4.58	13.87
荧蒽	$Y = 39268160.73X - 189376.25$	0.9997	6.060 ~ 161.600	15.91	48.23
芘	$Y = 41255399.34X - 243748.84$	0.9999	8.080 ~ 161.600	19.50	59.08

3.3.4.2 精密度试验

取同一份混合对照品溶液，在“3.3.3”项的 GC-MS 条件下，连续平行进样 6 次，分别记录苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘六种成分色谱峰面积，并计算其 RSD 值，计算的结果显示，苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘的峰面积 RSD 分别为 0.51%、0.43%、0.35%、0.42%、0.53%和 0.16%，表明仪器精密度良好。

3.3.4.3 重复性试验

取香墨药材（编号 S12）6 份，每份 6.0 g，按照“3.3.2”项下制备供试品溶液，按“3.3.3”项下 GC-MS 条件进样测定，依据峰面积，计算 RSD 值，其结果显示苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘峰面积 RSD 分别为 1.65%、0.94%、0.47%、0.55%、0.61%和 0.25%，结果表明方法重复性良好。

3.3.4.4 稳定性试验

取供试品溶液（编号 S12），分别于 0、8、16 和 24 h 按“3.3.3”项下 GC-MS 条件进样测定，记录 6 个成分的峰面积。结果显示苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘峰面积 RSD 分别为 0.75%、0.79%、0.85%、0.42%、0.71%和 0.32%，该结果表明供试品溶液在 24 h 内较稳定性良好。

3.3.4.5 加样回收率

精密称取已知含量的样品（编号 S12）6 份，准确加入“3.3.1”项所述系列浓度的混合对照品溶液适量。按照“3.3.2”项的方法制备供试品溶液，并依据“3.3.3”项的条件进行测定，记录各成分的色谱峰面积，进而计算加样回收率及 RSD 值。相关结果见表 3-6。结果计算，苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘的峰面积 RSD 值分别为 0.94%、0.39%、1.07%、0.75%、0.98%和 0.63%（n=6），表明本方法的准确度较高。

表 3-6 香墨加样回收率实验结果（n = 6）

Tab. 3-6 Experimental Results of Sample Recovery Rate for Xiangmo *(n* = 6)

化合物	样品量/mg	对照品量/mg	测的量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
苊	0.006041	0.006048	0.01222	102.21	103.40	0.94
	0.006039	0.006048	0.01233	104.09		
	0.006037	0.006048	0.01232	103.81		
	0.006072	0.006048	0.01236	103.94		
	0.006055	0.006048	0.01236	104.25		
	0.006046	0.006048	0.01222	102.12		
芴	0.06440	0.06048	0.1253	101.65	100.85	0.39
	0.06425	0.06048	0.1254	101.14		
	0.06449	0.06048	0.1252	100.35		
	0.06419	0.06048	0.1255	101.32		
	0.06433	0.06048	0.1251	100.52		
	0.06436	0.06048	0.1255	101.11		
菲	0.7922	0.7902	1.5998	102.20	102.88	1.07
	0.7902	0.7902	1.6095	103.69		
	0.7894	0.7902	1.5957	102.04		
	0.7908	0.7902	1.6115	103.86		
	0.7912	0.7902	1.5932	101.48		
	0.7905	0.7902	1.6127	104.04		
蒽	0.09271	0.09269	0.1866	101.27	101.93	0.75
	0.09265	0.09269	0.1873	102.07		
	0.09282	0.09269	0.1868	101.40		
	0.09248	0.09269	0.1875	102.48		
	0.09254	0.09269	0.1881	103.12		
	0.09260	0.09269	0.1864	101.23		
荧蒽	0.3759	0.3749	0.7609	102.71	102.05	0.98
	0.3753	0.3749	0.7584	102.18		
	0.3742	0.3749	0.7533	101.13		
	0.3758	0.3749	0.7643	103.60		

续表 3-6 香墨加样回收率实验结果（n = 6）

Continue from 3-6 Experimental Results of Sample Recovery Rate for Xiangmo (n = 6)

化合物	样品量/mg	对照品量/mg	测的量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
芘	0.3738	0.3749	0.7524	100.98	102.75	0.63
	0.3738	0.3749	0.7551	101.70		
	0.3707	0.3701	0.7498	102.45		
	0.3692	0.3701	0.7506	103.04		
	0.3692	0.3701	0.7457	101.73		
	0.3706	0.3701	0.7541	103.62		
	0.3697	0.3701	0.7511	103.07		
	0.3700	0.3701	0.7496	102.56		

3.3.5 结果

将 24 批药材粉末分别按“3.3.2”项下方法制备供试品溶液，按“3.3.3”项下 GC-MS 条件进样测定，记录 6 个成分的峰面积，计算药材中芘、芴、菲、蒽、荧蒽、芘的含量，结果见表 3-7。

表 3-7 24 批样品含量测定结果（mg·g^{-1}, n=3）

Tab. 3-7 24 Content Determination Results of Batch Samples (mg·g^{-1}, n=3)

批号	芘	芴	菲	蒽	荧蒽	芘
S1	0.0005840	0.01138	0.1718	0.01971	0.1001	0.1053
S2	0.001371	0.01251	0.1740	0.02452	0.1190	0.1248
S3	0.001646	0.01037	0.1295	0.01747	0.07672	0.08283
S4	0.0003460	0.005266	0.05232	0.01713	0.1135	0.1038
S5	0.001990	0.01527	0.1948	0.02435	0.1376	0.1212
S6	0.001906	0.01637	0.1936	0.03093	0.1500	0.1553
S7	0.001148	0.01476	0.1876	0.02492	0.07662	0.08581
S8	0.002089	0.01964	0.3186	0.03696	0.2095	0.1981
S9	0.0006325	0.007884	0.1368	0.01378	0.08698	0.09643
S10	0.001607	0.009196	0.1286	0.01702	0.1331	0.1411
S11	0.001432	0.01068	0.1471	0.01802	0.08315	0.08432
S12	0.001008	0.01072	0.1317	0.01544	0.06247	0.06165
S13	0.0004644	0.008243	0.08018	0.008175	0.02743	0.02758
S14	0.001080	0.005718	0.06856	0.005506	0.02596	0.02882
S15	0.0004385	0.005587	0.05979	0.005199	0.01758	-
S16	0.0007328	0.005823	0.08940	0.004963	0.02092	0.02327

续表 3-7 24 批样品含量测定结果（$mg \cdot g^{-1}$, n=3）

Continue from 3-7 24 Content Determination Results of Batch Samples ($mg \cdot g^{-1}$, n=3)

批号	苊	芴	菲	蒽	荧蒽	芘
S17	0.0007212	0.004372	0.02931	0.003667	0.02230	0.01702
S18	0.0004271	0.005558	0.06582	0.003629	0.01862	0.01779
S19	0.0001923	0.003297	0.02926	-	0.01754	0.02045
S20	-	0.005958	0.1168	0.008951	0.02579	0.03307
S21	0.0005345	0.005580	0.05771	0.006257	0.01799	0.02023
S22	0.0006558	0.006556	0.04978	0.005880	0.02062	0.01669
S23	-	0.003012	0.03546	0.002071	0.01511	0.01602
S24	-	0.0001240	0.001579	-	0.01296	-
平均值	0.0009547	0.008450	0.1104	0.01368	0.06632	0.06877

3.3.6 讨论

香墨作为蒙医特色矿物药，其挥发油中 PAHs 的毒理学风险尚未被充分认知。根据文献考察，香墨挥发油中含有多环芳香烃化学成分，可能因为其原料松烟燃烧工艺差异导致多环芳香烃成分的产生。本节采用气相色谱质谱法对香墨中的挥发油的成分进行分析，发现香墨挥发油中含有 6 个主要化学成分均为多环芳烃并对香墨中的多环芳香烃类成分（苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘）进行含量测定，为其毒性研究提供科学依据。

3.4 检查项

依据《中国药典》2020 年版四部通则 0212 药材和饮片检定通则项下“六”和“七”中对药材的水分、灰分、可溶性物质进行测定，检查药材的纯净程度和可溶性物质进行限量检查[105]。

3.4.1 水分

同“2.4.1”项。结果见表 3-7。

3.4.2 总灰分与酸不溶灰分

同“2.4.2”项。结果见表 3-7。

3.4.3 浸出物

依照 2020 年版《中国药典》（四部）通则 2201[108]，以 20%乙醇作为溶剂，通过热浸法提取药材中的醇溶性浸出物。各批次样品浸出物含量在 12.5%～17.9%，平均值为 15.7%，以平均值下浮约 20%，暂定药材醇溶性浸出物不得低于 12.0%。测定结果见表 3-8。

表 3-8 香墨中水分、总灰分、酸不溶灰分和浸出物含量测定结果(n=3, %)

Tab. 3-8 Analytical results of moisture, total ash, acid-insoluble ash and extractives in Xiangmo (n=3, %)

样品编号	水分	总灰分	酸不溶灰分	浸出物
S1	2.1	50.1	1.3	12.9
S2	1.6	50.4	1.2	14.6
S3	2.3	40.3	1.4	17.5
S4	2.4	49.9	1.5	13.2
S5	1.5	49.4	1.5	15.0
S6	2.4	45.0	1.1	16.2
S7	2.1	50.1	1.4	16.2
S8	2.1	51.0	1.5	14.5
S9	2.2	47.3	1.4	16.7
S10	2.2	45.3	1.1	14.9
S11	2.1	50.4	1.4	16.7
S12	2.5	46.8	1.0	14.8
S13	2.6	42.8	1.4	17.4
S14	2.2	41.8	1.2	17.9
S15	1.9	36.8	1.1	16.1
S16	1.8	33.0	1.1	16.3
S17	2.0	31.8	1.4	16.4
S18	2.2	38.3	0.9	16.0
S19	2.5	33.0	0.7	16.7
S20	2.0	34.6	1.1	12.5
S21	2.2	35.4	1.2	12.8
S22	2.6	40.5	1.4	15.7
S23	2.3	44.6	1.3	12.7
S24	2.4	37.9	0.8	15.7

3.4.3.1 讨论

为了筛选出冷浸法和热浸法中不同浓度乙醇和纯水下药材浸出物的高低，分别对

冷浸法和热浸法进行实验，并设置了十种不同浓度的含乙醇量梯度，分别为无水乙醇、95%乙醇、90%乙醇、80%乙醇、70%乙醇、60%乙醇、50%乙醇、40%乙醇、30%乙醇、20%乙醇、10%乙醇和纯水，以不同浓度乙醇的溶剂做冷浸法和热浸法筛选出香墨药材的最佳浸出方式。

3.4.4 重金属检测

本研究重金属检测，按照 2020 年版《中国药典》（四部）通则 2321（第二法电感耦合等离子体质谱法）[107]测定香墨中重金属铅、砷、镉、汞、铜的含量。

3.4.4.1 ICP-MS 工作条件

同“2.4.4.1”。

3.4.4.2 微波消解条件

同“2.4.4.2”。

3.4.4.3 供试品溶液的制备

同“2.4.4.3”。

3.4.4.4 线性关系考察

同“2.4.4.4”。

3.4.4.5 结果

对香墨药材重金属含量测定结果见表 3-9：

表 3-9 香墨中铅、砷、镉、汞、铜的含量（mg/kg, *n*=3）

Tab. 3-9 Content of Lead, Arsenic, Cadmium, Mercury, and Copper in Xiangmo (mg/kg, *n*=3)

序号	Pb	As	Cd	Hg	Cu
S1	12.020	1.065	0.483	0.048	30.064
S2	13.819	1.053	0.482	0.034	28.368
S3	13.261	0.973	0.465	0.031	27.143
S4	16.909	1.133	0.519	0.028	31.899
S5	13.613	1.050	0.353	0.025	26.790
S6	14.557	0.999	0.479	0.024	33.180
S7	12.389	1.092	0.439	0.022	25.272

续表 3-9 香墨中铅、砷、镉、汞、铜的含量（mg/kg, *n*=3）

Continue from 3-9 Content of Lead, Arsenic, Cadmium, Mercury, and Copper in Xiangmo (mg/kg, *n*=3)

序号	Pb	As	Cd	Hg	Cu
S8	13.126	0.896	0.409	0.037	29.077
S9	12.866	1.053	0.442	0.031	30.862
S10	12.303	1.122	0.360	0.020	25.657
S11	13.298	1.023	0.427	0.996	28.787
S12	15.149	0.856	0.466	0.038	34.502
S13	42.097	8.194	0.945	0.050	67.411
S14	32.347	8.507	0.983	0.009	79.286
S15	33.200	8.394	0.918	0.027	70.634
S16	31.590	6.564	3.248	0.039	61.249
S17	31.076	7.660	0.917	0.034	73.377
S18	29.916	6.251	3.850	0.008	75.427
S119	31.883	7.724	0.837	0.016	86.604
S20	29.726	7.988	0.819	0.015	74.359
S21	30.530	7.968	0.797	0.014	68.808
S22	32.433	8.443	1.084	0.019	73.398
S23	29.428	6.496	4.125	0.027	70.872
S24	30.977	6.281	4.021	0.033	68.546

3.4.4.6 讨论

测定铅、砷、镉、汞、铜的含量，结果发现，24 批次香墨药材中铅(Pb)与铜(Cu)含量普遍远超植物药材限量标准，50%批次砷(As)含量超过 2 mg/kg，有 5 批样品镉(Cd)含量超过 1 mg/kg，汞(Hg)含量均低于 0.2 mg/kg。由于香墨为矿物来源药材，其重金属本底值显著高于植物药材，现行植物药标准不适用。因此先不对香墨建立专属限量标准。

3.5 本章小结

（1）经过外观性状与电镜鉴别，对于香墨的基原进行了确定，香墨是由松烟和入胶汁、香料等加工制成之墨，含有少量挥发油。

（2）本实验部分主要是对药材进行定性鉴别，采用了薄层色谱鉴别，通过选取相关的提取方法和检测方法对香墨药材进行了薄层色谱鉴别，通过以上研究，既可以了解药材中化学成分类别，也为药材的真伪鉴别提供了方法。24 批香墨药材在薄层色谱图上与对照品冰片在相应位置均出现两个斑点。说明该方法适合鉴别香墨中的冰片。

（3）本节主要对香墨中多环芳烃类成分进行含量测定，依据 2020 年版《中国药典》和参考相关文献，对苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘成份进行含量测定，并对样品的提取方法及 GC-MS 条件进行优化，最终确定了快速、准确的含量测定方法。

（4）通过测定各批次香墨药材的水分、醇浸出物以及总灰分含量，根据 24 批香墨药材测定结果，各批样品水分含量为 1.5%～3.3%，平均值为 2.3%，以平均值上浮约 20%，暂定药材水分含量不得超过 3.0%。各批样品灰分含量为 20.6%～50.4%，平均值为 41.2%，以平均值上浮约 20%，暂定药材灰分含量不得超过 50.0%；各批样品酸不溶灰分含量为 0.7%～4.2%，平均值为 1.7%。以平均值上浮约 20%，暂定药材酸不溶性灰分含量不得超过 2.0%。最终确定采用以 20%乙醇作为溶剂，通过热浸法提取药材中的醇溶性浸出物。各批次样品浸出物含量在 12.5%～17.9%，平均值为 15.7%，以平均值下浮约 20%，暂定药材醇溶性浸出物不得低于 12.0%。

（5）对香墨中重金属元素铅、砷、镉、汞、铜进行含量测定。

第 4 章植物药材小白蒿质量标准的研究

4.1 实验仪器及材料

4.1.1 仪器

本章涉及实验仪器见表 4-1。

表 4-1 实验仪器

Tab. 4-1 Experimental instruments

仪器名称	型号	公司
高效液相色谱仪	1260	安捷伦
实验室超纯水机	WP-UPS-40	四川沃特尔水处理设备有限公司
ICP-MS	Agilent 7800	安捷伦
分析天平（0.0001g）	AR124CN	奥豪斯仪器（上海）有限公司
分析天平（0.00001g）	D11-09-010	PrecisaGravimetricsAG
高速万能粉碎机	FW-100	北京市永光明医疗仪器厂
电热鼓风干燥箱	DHG-9145A	上海一恒科学仪器有限公司
循环水式多用真空泵	SHB-III	昆山市超声仪器有限公司
超声波清洗器	KQ-500DE	郑州长城科工贸有限公司
电热恒温水浴锅	DQKW-0-2	北京市永光明医疗仪器有限公司
调温电热套	KYM	山东鄄城永兴仪器厂
低温冷却液循环泵	DLSB-5/20	郑州长城科工贸有限公司
低温离心机	Centrifuge5418R	EppendorfAG22331Hamburg
硅胶板	G/H/GF254	青岛海洋化工有限公司

4.1.2 样品与试剂

24 批小白蒿样品（编号 S1-S24）收集于中国 13 个不同省、市和自治区，样品对应编号及产地见表 4-2，试剂信息见表 4-3。

表 4-2 小白蒿药材来源

Tab. 4-2 Source of Medicinal Material of *Artemisia frigida*

编号	批号	产地
S1	YL20231008	辽宁沈阳
S2	YL20231012	辽宁沈阳
S3	YL20231003	西藏
S4	YL20231010	西藏

续表 4-2 小白蒿药材来源

Continue from 4-2 Source of Medicinal Material of *Artemisia frigida*

编号	批号	产地
S5	YL20231011	青海
S6	YL20231005	青海
S7	YL20231006	甘肃
S8	YL20231009	甘肃
S9	YL20231007	内蒙
S10	YL20231004	内蒙
S11	HB20231026	河北
S12	HB20231122	河北
S13	HN20230818	河南
S14	HN20230828	河南
S15	GX20230720	广西
S16	HB20230812	湖北
S17	YN20230928	云南
S18	YN20231011	云南
S19	SX20231001	陕西
S20	SX20231027	陕西
S21	SD20220814	山东
S22	SD20230724	山东
S23	SC20231001	四川
S24	SC20231027	四川

表 4-3 主要试剂信息

Tab.4-3 Primary Reagent Information

名称	批号	规格	效价	来源
绿原酸	110753-202119	20 mg/支	96.3%	中国食品药品检定研究院
新绿原酸	P27A10L87091	20 mg/支	>98%	中国食品药品检定研究院
咖啡酸	Y09J8C28349	20 mg/支	>98%	中国食品药品检定研究院
木犀草素	C24M8Q36543	20 mg/支	>98%	中国食品药品检定研究院
隐绿原酸	P16A10U95423	20 mg/支	>98%	中国食品药品检定研究院
磷酸	2020101102	500 mL	分析纯	天津市富宇精细化工有限公司
乙腈	S875736	4 L	色谱纯	上海麦克林生化科技股份有限公司
NaOH	1310-73-2	500 mg/瓶	分析纯	上海麦克林生化科技股份有限公司
甲醇	C15874452	500 mL	99.5%	上海泰坦科技股份有限公司
乙醇	100092683	500 mL	分析纯	上海泰坦科技股份有限公司
乙酸乙酯	20220104	500 mL	分析纯	上海泰坦科技股份有限公司
三氯化铝	20230312	500 mL	分析纯	天津市盛奥化学试剂有限公司
G/GF254 型硅胶板	20240615	50×100 mm	-	青岛海洋化工厂分厂

4.2 鉴别

4.2.1 基原鉴别

通过观察原植物性状，参照《中国高等植物图鉴》[117]和《东北植物检索表》[118]，对小白蒿原植物进行基原鉴定。

小白蒿为多年生草本，高 40～70 厘米；茎基部木质，丛生，基部以上少分枝，被短茸毛。叶 2～3 次羽状全裂，长 1 厘米，稀达 2 厘米，宽达 1 厘米，下部裂片常 2～3 裂，顶部裂片又常羽状或掌状全裂，小裂片又常 3～5 裂，裂片多少条形，顶端稍尖，基部的裂片抱茎成托叶状；上部叶小，3～5 裂。头状花序较少数，排列成狭长的总状或复总状花序，有短梗及数个条形苞叶，下垂；总苞球形，直径 2.5～3 毫米而花黄色，或有时直径 3～3.5 毫米而花深紫色(黑紫变种 var. Atropurpurea Pamp.)或黄色；总苞片约 3 层，卵形，被茸毛，有绿色中脉，边缘膜质；花序托有白色托毛；花简状，内层两性，外层雌性。瘦果矩圆形，长近 1 毫米，无毛。小白蒿药材图见图 4-1。



图 4-1 小白蒿原植物图

Figure 4-1 Photograph of the original plant of *Artemisia frigida*

4.2.2 性状鉴别

本品茎呈圆柱形，少数分支，直径 1～3 mm。表面灰绿色，密被灰白色毛茸，具纵枝线；断面中部有髓，白色或中空。叶互生，灰黄绿色，2～3 回羽状全裂，小裂片条形或条状披针形，长约 2～5 mm，宽 0.5～1 mm，两面均被白色毛茸，全缘。头状花序小，直径约 2 mm，灰黄色，总苞密生银白色长柔毛。质脆，易折断。气芳香，味

辛苦[119]。

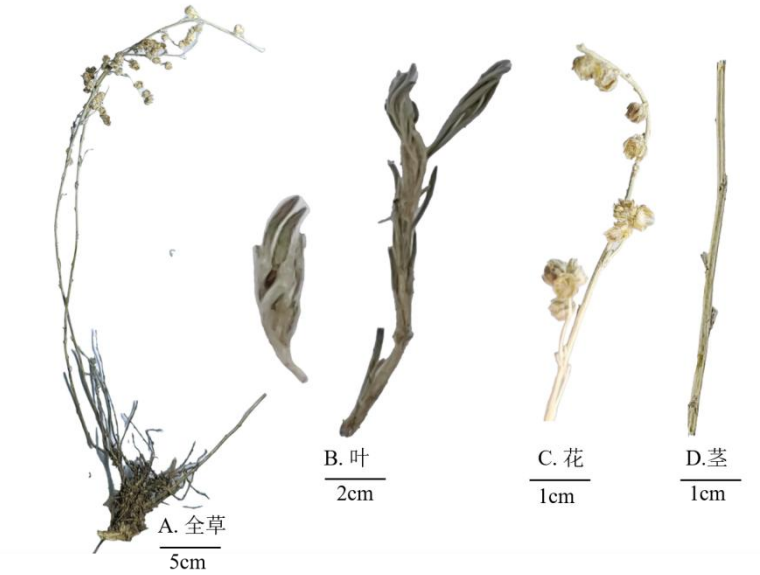

图 4-2 小白蒿样品性状

Figure 4-2 Characteristics of *Artemisia frigida* Samples

4.2.3 显微鉴别

4.2.3.1 粉末显微鉴别

采用显微鉴别法 2020 年版《中国药典》（四部）通则 2001[108]鉴别小白蒿粉末显微特征。

小白蒿粉末呈黄绿色。

木栅细胞，呈长柱形，排列紧密如栅栏。非腺毛较多，长为 1 ~ 2 mm，单细胞，无色，有的已裂断。花粉粒易见，近球形，直径 70 ~ 80 mm，具三空沟，外壁厚，黄绿色，表面有较稀疏小刺状突起。菊糖，淡黄色块状物。方晶，透明立方晶体；薄壁细胞较多，多长梭形或多边形。木纤维，成束排列，纹孔少见。花粉囊细胞壁似网纹[119]。

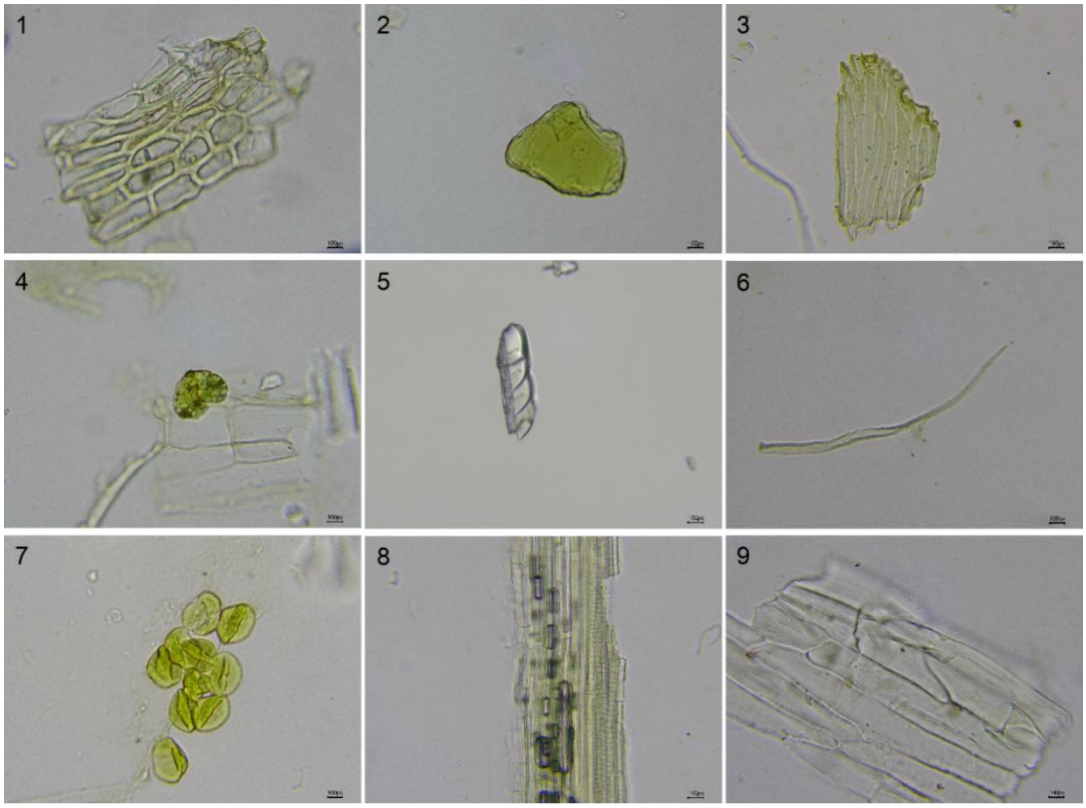

图 4-3 小白蒿粉末显微特征图

Figure 4-3 Microscopic Characteristics of *Artemisia frigida* Powder

注：1.木栅细胞 2.菊糖 3.木纤维 4.花粉 5.方晶 6.非腺毛 7.花粉粒具 8.木纤维 9.木薄壁细胞

Note: 1. Palisade mesophyll cells 2. Inulin 3. Fiber 4. Pollen 5. Crystalline 6. Non-glandular hair 7. Pollen grain with 8. Fiber 9. Wood parenchyma cells

4.2.3.2 茎横切面鉴别

表皮外被角质层，并且多数丁字毛残基。皮层窄，仅 3～4 层薄壁细胞，内皮层明显，韧皮部新月形，薄壁细胞切向延长，多压缩，间断排列成环，木质部连接成连续的环，髓部薄壁细胞类圆形，髓部中央多为空腔[119]。见图 4-4。

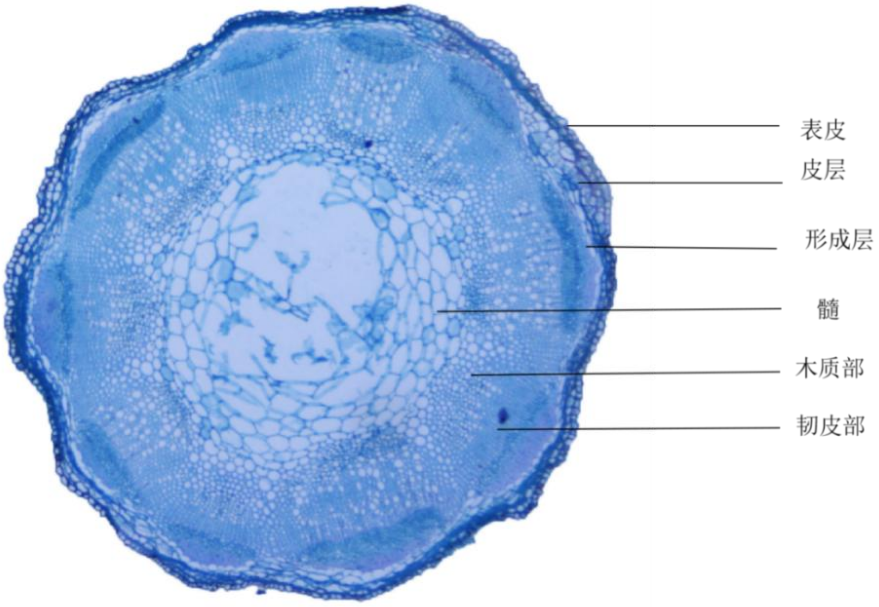

图 4-4 小白蒿茎横切面显微特征图

Figure 4-4 Microscopic cross-section of the root of *Artemisia frigida*

4.2.4 薄层鉴别

采用薄层色谱法《中国药典》2020 年版四部（通则 0502）[94]，以绿原酸为对照品建立薄层色谱鉴别方法。

4.2.4.1 供试品制备方法

将小白蒿粉碎，过 80 目筛，称取小白蒿样品 1 g，加 10 mL70%乙醇溶液超声处理 20 min，过滤，取续滤液为供试品。

4.2.4.2 对照品溶液的制备方法

取绿原酸对照品适量，精密称定，加入 70%乙醇制成每 1 mL 各绿原酸含 0.1 mg 的溶液，即得。

4.2.4.3 方法与结果

按照《中国药典》2020 年版四部 TLC 法（通则 0502）实验操作要求，分别吸取对照品溶液 1 μL 和供试品溶液 6 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸丁酯：甲酸：水（14:5:5, *V/V/V*）为展开剂，常温下饱和后展开，取出晾干，置于紫外灯 365 nm 波长下检视[120]。结果，供试品与各对照品在相应的位置上，显相同颜色的斑点，薄层展开斑点清晰，结果良好，结果见图 4-5。

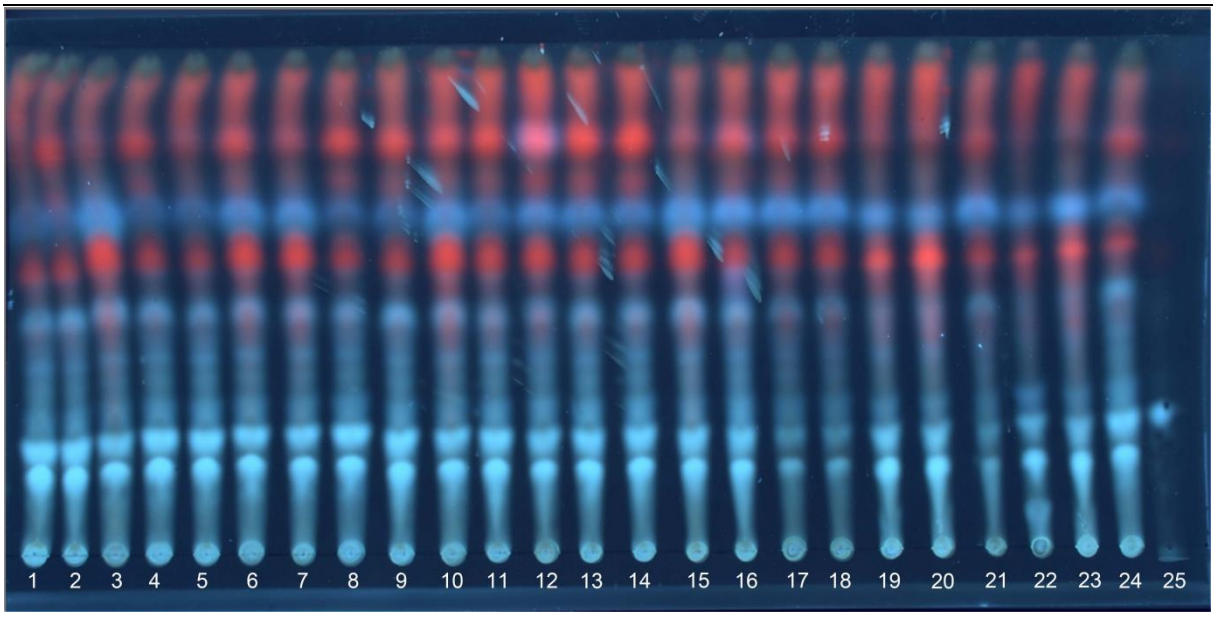

图 4-5 小白蒿薄层色谱图

Figure 4-5 TLC of *Artemisia frigida*

注：1-24. 样品 S1-S24、25. 绿原酸

Note: 1-24. Samples S1-S24、25. Chlorogenic acid

4.2.4.4 讨论

对小白蒿药材 TLC 的提取溶剂、点样量、显色剂等进行了筛选。本研究分别考察了不同提取溶剂（70%乙醇、70%甲醇、乙酸乙酯、氯仿、水）根据结果选择乙醇作为制备供试品溶液，又筛选不同比例乙醇（30%乙醇、70%乙醇、80%乙醇、100%乙醇）、不同提取方式（冷浸 4 h、超声、冷凝回流提取）不同薄层板（GF254 薄层板、硅胶 H 薄层板、硅胶 G 高效薄层板、聚酰胺薄层板）、不同展开剂（乙酸丁酯-丁酮-甲酸（10 : 7 : 1）、甲苯-乙酸乙酯-冰醋酸-甲酸-水（1 : 15 : 1 : 1 : 1）、乙酸丁酯-甲酸-水（14 : 5 : 5）、乙酸乙酯-甲醇-甲酸（8 : 1 : 1））、不同点样量（3 μL、4 μL、5 μL、6 μL、7 μL）、不同展开温度（4℃、25℃、35℃）、不同厂家 G 板。根据斑点的清晰情况、是否拖尾等因素，最终确定以 5 mL 70%乙醇为提取溶剂，超声 20 min，乙酸丁酯-甲酸-水（14 : 5 : 5）为展开剂，硅胶 G 板作为展开板，点样量 6 μL，25℃，进行展开分离效果最好，且斑点清晰，Rf 值适中。

4.3 小白蒿含量测定

经文献调研，绿原酸为小白蒿中主要有效成分，具有抗氧化、抗癌、抑菌、清除自由基等多种生物活性，因此选择绿原酸作为小白蒿的主要有效成分，采用高效液相色谱法对小白蒿进行含量测定。

4.3.1 供试品溶液制备

将样品粉碎，过 70 目筛。精密称取小白蒿粉末 0.5 g，置于锥形瓶中，加入 50 mL 50%甲醇溶液，室温浸泡 3 h 后，超声提取 30 min（150W，70 kHz），冷却后补足重量，随后以 3000 r/min 离心 15 min，精密吸取上清液 2 mL，置 100 mL 容量瓶中，加 50%甲醇稀释至刻度，摇匀，即得。取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

4.3.2 对照品溶液制备

取适量绿原酸对照品，精密称定，置于 10 mL 容量瓶中，加 50%甲醇制成每 1 mL 含绿原酸 0.12 mg 的溶液，即得对照品溶液。

4.3.3 阴性对照品溶液的制备

不加样品，按“4.3.1”项下方法制备阴性对照品溶液。

4.3.4 色谱条件

以 XBridge® Shield RP18（4.6 mm×250 mm，5 μm）为色谱柱；以乙腈（A）-0.4%磷酸水溶液（B）（12 : 88）为流动相；检测波长为 327 nm。理论塔板数按绿原酸峰计算应不低于 3000。

4.3.5 系统适用性试验

取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL，按“4.3.4”项下色谱条件进样测定，记录色谱图（见图 4-6）。结果表明，在该色谱条件下，理论板数按绿原酸峰计算不低于 3000，各色谱峰与相邻峰的分离度均大于 1.2，阴性对照对各成分的测定无干扰。

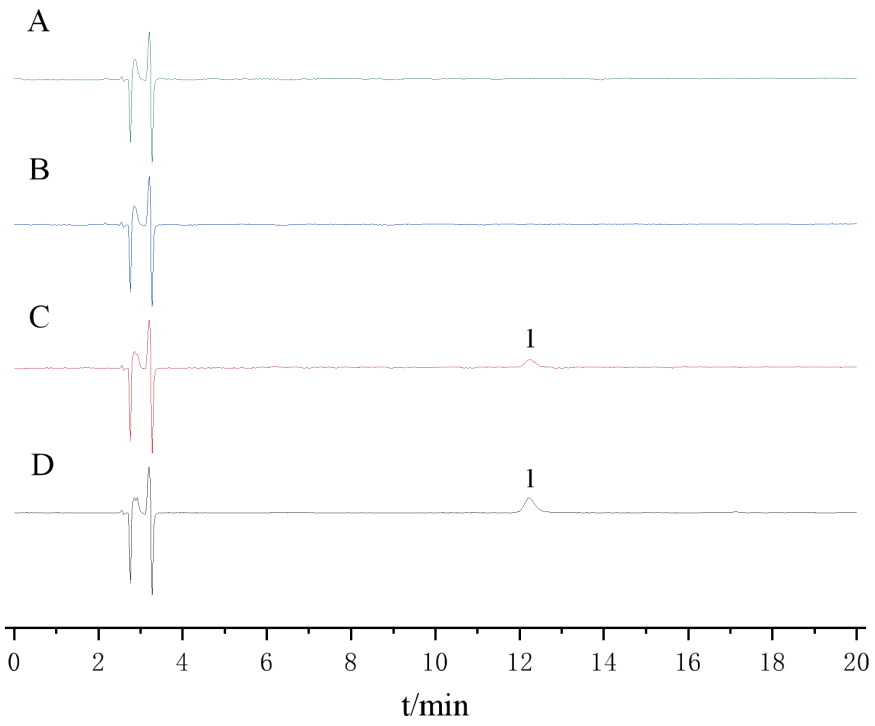

图 4-6 小白蒿样品阴性对照（A）、空白（B）、供试品（C）、绿原酸（D）的 HPLC 图

Figure 4-6 HPLC fingerprint profiles of 24 batches of Artemisia frigida samples (S1~S24) and the reference fingerprint (R)

注：1.绿原酸（Chlorogenic acid ）

4.3.6 方法学考察

4.3.6.1 线性关系考察

取“4.3.2”项下对照品溶液 10 μL、20 μL、40 μL、80 μL、100 μL，分别置于 6 个 10 mL 容量瓶中，用 70%甲醇溶液定容至刻度线。混匀，配制成系列浓度的对照品溶液依照“4.3.4”项下的色谱条件分别进样 10 μL，测定峰面积。浓度（*X*）为横坐标，峰面积（*Y*）为纵坐标，绘制标准曲线。计算绿原酸的线性回归方程、线性范围、相关系数；结果见表 4-4。

表 4-4 小白蒿中绿原酸对照品线性关系考察结果

Tab. 4-4 Results of linear relation from *Artemisia Frigida*

成分	回归方程	r	线性范围，μg/mL	检测限，μg/mL	定量限，μg/mL
绿原酸	Y=24.525X-0.4959	0.9981	0.120 ~ 28.926	0.0824	0.24

4.3.6.2 精密度考察

取“4.3.2”项下对照品溶液，按“4.3.4”项下条件进样 10 μL 进行测定，连续进样 6 次，测定绿原酸的峰面积。结果绿原酸峰面积的 RSD（n = 6）为 0.18%，表明仪器精密度良好。

4.3.6.3 重复性考察

分别称取同一批样品（编号 S6）6 份，每份 0.5 g，精密称定，置 100 mL 锥形瓶中，按照“4.3.1”项下方法制备 6 份供试品溶液，按“4.3.4”项下条件进样 10 μL 进行测定，记录绿原酸的峰面积，计算平均含量及 RSD。结果样品中绿原酸的含量为 0.20%，RSD（n=6）为 1.89%。表明本方法重复性良好。

4.3.6.4 稳定性考察

取同一份供试品溶液（编号 S6），分别在 0 h、2 h、4 h、8 h、12、24 h 按“4.3.4”项下条件进样 10 μL 进行测定，记录绿原酸的峰面积，计算绿原酸峰面积的 RSD（n=6）分别为 1.02%，表明供试品溶液室温下放置 24 h 内稳定。

4.3.6.5 加样回收率

称取已知含量的样品（编号 S6）9 份，精密称定，按“4.3.2”项下方法，精密加入对照品溶液适量，制备 9 份供试品溶液，再按“4.3.4”项下条件进样 10 μL 进行测定，计算加样回收率和 RSD，结果见表 4-5，表明本方法准确度良好。

表 4-5 小白蒿中绿原酸加样回收率试验（n = 6）

Table 4-5 Recovery Test of Chlorogenic Acid in *Artemisia frigida* (n = 6)

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（%）	平均回收率（%）	总平均回收率（%）	RSD（%）
绿原酸	0.3002	0.6304	0.3864	0.9811	90.76	92.04	92.56	2.42
	0.3268	0.6863		1.0518	94.62			
	0.3008	0.6317		0.9823	90.75			
	0.3067	0.6441	0.5795	1.1756	91.72	91.94		0.51
	0.3202	0.6724		1.2084	92.48			
	0.3119	0.6550		1.1859	91.61			
	0.3396	0.7132	0.6761	1.3645	96.34	93.72		2.44
	0.3135	0.6584		1.2850	92.69			
	0.3026	0.6355		1.2583	92.12			

4.3.6.6 样品含量测定

取 24 批小白蒿样品（S1～S24）各 1 g，按“4.3.1”项下方法分别制备供试品溶液，按“4.3.4”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算样品中绿原酸的平均含量，结果见表 4-6，24 批小白蒿的绿原酸含量为 0.12%～0.47%，含量平均值为 0.27%，初步确定小白蒿中绿原酸成分含量分别不得低于 0.20%。

表 4-6 小白蒿样品含量测定结果（*n*=3, %）

Tab. 4-6 The results of sample determination from *Artemisia Frigida*（*n*=3, %）

序号	绿原酸	序号	绿原酸
S1	0.47	S13	0.30
S2	0.37	S14	0.35
S3	0.46	S15	0.31
S4	0.20	S16	0.26
S5	0.47	S17	0.07
S6	0.30	S18	0.06
S7	0.30	S19	0.16
S8	0.45	S20	0.13
S9	0.30	S21	0.06
S10	0.34	S22	0.32
S11	0.31	S23	0.12
S12	0.22	S24	0.09

4.4 小白蒿 HPLC 指纹图谱研究

高效液相色谱指纹图谱作为一种能从整体上反映药材化学成分的有效方法，被世界卫生组织（WHO）所提倡。HPLC 指纹图谱技术已被国际公认为是一种有效、简便、实用的保证中药原料和产品质量的方法。HPLC 技术以其卓越的分离能力、快速的分析速度和较低的溶剂消耗，成为构建指纹图谱的关键工具。指纹图谱蕴含的丰富数据，需要通过化学计量学（即化学模式识别）的方法进行深入挖掘，以实现对药材质量的准确评估[121-124]。通过模式识别技术，可以从指纹图谱中提取和分析多维信息，构建识别模型，从而对中药材进行鉴定和质量控制。

在众多分析方法中，中药指纹图谱与相似度分析（SA）相结合，能够对中药的复杂化学成分进行全面评价；聚类分析（CA）则依据相似性对数据进行分类；主成分分析（PCA）则能够从分类结果中识别出影响分类的关键因素[125, 126]，并基于这些因素建立药材质量的综合评价模型。

当前针对小白蒿药材的指纹图谱研究较少，仍存在明显不足：一方面，尚未系统考察不同产地样品的化学成分差异；另一方面，现有研究多局限于定性分析，缺乏定

量评价体系。为完善蒙药材小白蒿的质量控制标准，本研究拟建立其指纹图谱分析方法，并在此基础上开展多指标成分含量测定，实现定性鉴别与定量分析的有机结合，从而显著提升该药材的质量检验效率与可靠性。

在本节中，我们采用 HPLC 技术获取小白蒿的指纹图谱，并构建其标准指纹图谱。并对小白蒿的混淆品色图谱进行比对分析，观察小白蒿及其混淆品（白蒿、黄花蒿、大籽蒿）在化学成分组成及含量水平上的差异性。为进一步探讨环境因素对药材质量的影响，运用相似度分析（SA）和聚类分析（CA）方法，系统研究了不同产地小白蒿的有效成分含量与其生长环境（如气候条件、海拔高度等）之间的相关性，从而为小白蒿的质量控制体系构建提供了更为科学、完善的评价依据。

4.4.1 供试品溶液制备

将样品粉碎，过 70 目筛。精密称取 24 批次小白蒿 1.0 g，分别置于锥形瓶中。加入 20 mL 50%甲醇溶液，室温浸泡 3 h 后，超声提取 30 min，冷却后补足重量，随后以 3000 r/min 离心 15 min，取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

4.4.2 对照品溶液制备

取适量新绿原酸、绿原酸、咖啡酸和木犀草素对照品，精密称定，置于 10 mL 容量瓶中，加入 50%甲醇溶液充分溶解后定容，作为混合对照品储备液（见表 4-7）。

表 4-7 混标中各对照品浓度

Tab. 4-7 Concentrations of reference standards in the mixed standard solution

编号	对照品	分子量	分子式	浓度μg/mL
1	新绿原酸	354.32	$C_{16}H_{18}O_9$	26
2	异绿原酸	516.45	$C_{25}H_{24}O_{12}$	23
3	绿原酸	354.31	$C_{16}H_{18}O_9$	69
4	咖啡酸	180.16	$C_6H_9N_3O_2$	63
5	木犀草素	286.24	$C_6H_{14}N_4O_2$	25

4.4.3 色谱条件

本实验选择 0.5%磷酸溶液-乙腈为流动相，通过对比不同比例的梯度系统，综合考量色谱分离效果、主要色谱峰特征及重现性，最终选用 ACE Excel5 C18-Amide 色谱柱（规格：250 mm×4.6 mm，粒径 1.7 μm）。流动相 A 为乙腈（经 0.45 μm 有机滤膜过滤），流动相 B 为 0.5%磷酸水溶液（以氢氧化钠调节 pH 至 2.0，并经 0.45 μm 水相滤膜过滤）。检测波长为 327 nm，流速 1 mL/min，柱温 35℃，进样量 10 μL，洗脱方式为梯度洗脱，具体梯度条件见表 4-8。

表 4-8 梯度洗脱程序

Tab. 4-8 Gradient elution procedure

时间	A%	B%
0	6	94
10	12	88
30	18	82
50	22	78
52	28	72
65	45	55
80	75	25
90	85	15

4.4.4 方法学考察

4.4.4.1 精密度考察

取小白蒿（S16）样品 1 份，精密称定后，依据“4.4.1”项的方法制备供试品溶液，并按照“4.4.3”项的色谱条件进行连续 6 次测定。相关结果见表 4-9 和表 4-10。以 3 号峰绿原酸作为参照峰（S），计算得到各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.16%，相对峰面积 RSD 值均小于 1.34%。这些数据表明，仪器的精密度表现良好。

表 4-9 精密度试验相对保留时间

Tab. 4-9 Precision test relative retention times

名称	平均保留时间	序号						均值	RSD/%
		1	2	3	4	5	6		
峰 1	11.52	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.06
峰 2	16.97	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.02
峰 3（S）	17.95	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
峰 4	20.94	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	0.03
峰 5	23.32	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	0.04
峰 6	28.23	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	0.05
峰 7	28.89	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	0.05
峰 8	42.94	2.40	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	0.10
峰 9	44.93	2.51	2.51	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	0.11
峰 10	46.07	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	0.10
峰 11	48.49	2.71	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	0.10
峰 12	49.34	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	0.11
峰 13	65.30	3.65	3.64	3.64	3.64	3.64	3.50	3.62	0.14
峰 14	66.26	3.70	3.70	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	0.15
峰 15	68.81	3.84	3.84	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	0.15
峰 16	188.00	3.93	3.93	3.92	3.92	3.92	3.92	3.92	0.16
峰 17	328.38	4.37	4.36	4.35	4.35	4.35	4.35	4.36	0.16

表 4-10 精密度试验相对峰面积

Tab. 4-10 Precision test relative peak areas

名称	平均峰面积	序号						均值	RSD/%
		1	2	3	4	5	6		
峰 1	125.22	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.42
峰 2	72.00	0.04	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	1.11
峰 3（S）	1591.57	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
峰 4	181.15	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.32
峰 5	199.06	0.12	0.13	0.13	0.13	0.12	0.13	0.13	0.30
峰 6	116.23	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.94
峰 7	95.85	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	1.19
峰 8	548.59	0.35	0.34	0.35	0.35	0.34	0.34	0.34	0.30
峰 9	635.22	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.19
峰 10	4021.01	2.55	2.52	2.53	2.52	2.52	2.52	2.53	0.46
峰 11	510.13	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.13
峰 12	740.76	0.46	0.47	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.88
峰 13	112.04	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.60
峰 14	170.75	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	1.34
峰 15	607.91	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.35
峰 16	401.57	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.33
峰 17	174.81	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.47

4.4.4.2 重复性考察

取同一批小白蒿（S16），共 6 份，每份 1.0 mg，精密称定，按照“4.4.1”项下方法平行制备供试品溶液，按“4.4.3”项下色谱条件分别进样测定，结果见表 4-11、表 4-12，以 3 号峰绿原酸为参照峰（S），计算得到各共有峰相对保留时间 RSD<0.19%，相对峰面积 RSD<1.16%，表明该方法重复性良好。

表 4-11 重复性试验相对保留时间

Tab. 4-11 Relativere tention times for repeaTab.ility tests

名称	平均保留时间	序号						均值	RSD/%
		1	2	3	4	5	6		
峰 1	11.53	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.05
峰 2	16.97	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.02
峰 3（S）	17.96	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
峰 4	20.95	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	0.03
峰 5	23.32	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	0.03
峰 6	28.24	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	0.03
峰 7	28.91	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	0.03
峰 8	42.95	2.40	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	0.12

续表 4-11 重复性试验相对保留时间

Continued from 4-11 Relativere tention times for repeaTab.ility tests

名称	平均保留时间	序号						均值	RSD/%
		1	2	3	4	5	6		
峰 9	44.94	2.51	2.50	2.50	2.50	2.50	2.51	2.50	0.13
峰 10	46.08	2.57	2.57	2.56	2.56	2.56	2.57	2.57	0.12
峰 11	48.50	2.71	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	0.12
峰 12	49.35	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	0.13
峰 13	65.31	3.65	3.64	3.63	3.63	3.63	3.64	3.64	0.16
峰 14	66.27	3.70	3.69	3.69	3.69	3.69	3.70	3.69	0.17
峰 15	68.82	3.84	3.83	3.83	3.83	3.83	3.84	3.83	0.17
峰 16	70.39	3.93	3.92	3.92	3.92	3.91	3.93	3.92	0.18
峰 17	78.18	4.37	4.35	4.35	4.35	4.35	4.36	4.35	0.19

表 4-12 重复性试验相对峰面积

Tab. 4-12 Relative peak areas of repeaTab.ility tests

名称	平均峰面积	序号						均值	RSD/%
		1	2	3	4	5	6		
峰 1	125.22	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.52
峰 2	72.02	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	1.01
峰 3（S）	1588.21	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
峰 4	180.21	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.81
峰 5	199.13	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.29
峰 6	116.28	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.96
峰 7	95.78	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.85
峰 8	545.42	0.35	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.40
峰 9	634.32	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.33
峰 10	4012.63	2.55	2.53	2.51	2.53	2.53	2.52	2.53	0.49
峰 11	509.90	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.47
峰 12	742.64	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	1.03
峰 13	179.84	0.12	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	1.16
峰 14	604.17	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.49
峰 15	401.89	0.25	0.26	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.54
峰 16	227.89	0.14	0.15	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.75
峰 17	331.55	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	1.10

4.4.4.3 稳定性考察

取小白蒿（S16）样品 1 份，精密称定后，按“4.4.1”项下方法制备供试品溶液。按“4.4.3”项下色谱条件，分别在 0、2、4、8、12、24 小时进样测定，结果见表 4-13、表 4-14，以 3 号峰绿原酸为参照峰（S），计算得各共有峰相对保留时间 RSD<0.07%，

相对峰面积 RSD<1.28%。这些数据表明，供试品溶液在 24 小时内具有良好的稳定性。

表 4-13 稳定性试验相对保留时间

Tab. 4-13 Relative retention times for stability tests

名称	平均保留时间	序号						均值	RSD/%
		0h	2h	4h	8h	12h	24h		
峰 1	11.52	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.06
峰 2	16.96	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.94	0.95	0.02
峰 3（S）	17.95	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
峰 4	20.95	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	0.13
峰 5	23.32	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	0.10
峰 6	28.23	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	0.10
峰 7	28.90	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	0.09
峰 8	42.94	2.40	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	0.10
峰 9	44.93	2.51	2.50	2.50	2.50	2.50	2.51	2.50	0.09
峰 10	711.84	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	0.11
峰 11	48.49	2.71	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	0.10
峰 12	49.34	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	0.10
峰 13	64.90	3.65	3.64	3.64	3.63	3.64	3.64	3.62	1.47
峰 14	66.26	3.70	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	0.15
峰 15	68.81	3.84	3.83	3.83	3.83	3.83	3.84	3.83	0.15
峰 16	70.39	3.93	3.92	3.92	3.92	3.92	3.92	3.92	0.16
峰 17	78.18	4.37	4.35	4.35	4.35	4.35	4.36	4.36	0.16

表 4-14 稳定性试验相对峰面积

Tab. 4-14 Relative peak areas of stability tests

名称	平均峰面积	序号						均值	RSD/%
		0h	2h	4h	8h	12h	24h		
峰 1	125.47	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.42
峰 2	72.09	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	1.03
峰 3（S）	1594.28	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
峰 4	181.72	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.27
峰 5	199.84	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.30
峰 6	116.82	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	1.06
峰 7	96.41	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	1.26
峰 8	550.55	0.35	0.35	0.35	0.34	0.35	0.35	0.35	0.15
峰 9	636.84	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.27
峰 10	4023.52	2.55	2.53	2.52	2.52	2.51	2.51	2.52	0.48
峰 11	510.70	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.19
峰 12	744.52	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	1.21
峰 13	171.40	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	1.28

续表 4-14 稳定性试验相对峰面积

Continued from 4-14 Relative peak areas of stability tests

名称	平均峰面积	序号						均值	RSD/%
		0h	2h	4h	8h	12h	24h		
峰 14	608.42	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.47
峰 15	402.64	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.28
峰 16	188.00	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.66
峰 17	328.38	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.32

4.4.5 HPLC 指纹图谱建立及其相似度评价（similarityassessment, SA）

取 24 批小白蒿样品，依据“4.4.1”项的方法制备供试品溶液，并按照“4.4.3”项的色谱条件进行进样测定，记录色谱图。利用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012A 版）对 24 批样品的色谱图进行处理，以 S1 样品的色谱图作为参照图谱，设置时间窗宽度为 0.1，采用平均数法生成标准对照指纹图谱 R。

小白蒿 HPLC 指纹图谱叠加图及对照指纹图谱 R 如图 4-7 所示，供试品、混合对照品色谱图、阴性对照、空白试剂色谱图以及共有峰指认见图 4-8。经分析，共确定了 17 个特征性共有峰，其中 5 个峰通过对照品对比得以明确鉴定：新绿原酸（1 号峰）、异绿原酸（2 号峰）、绿原酸（3 号峰）、咖啡酸（4 号峰）、木犀草素（5 号峰）。

基于标准指纹图谱 R 的对比分析，本研究对 24 批次小白蒿样本的相似性进行了系统评估，各批次样本的相似度为 0.755 ~ 0.996 之间，具体数值见表 4-15。分析结果表明，不同地区在所含化学组分上相似但在含量上存在差异，这可能是由于种质和产地的海拔高度、经纬位置、土壤成分、水源水质、气候环境及采收季节等方面的差别，其具体相关性有待进一步研究。通过建立标准指纹图谱作为参照体系，本研究为小白蒿的质量一致性评价提供了科学依据。

表 4-15 24 批小白蒿样品相似度评价结果

Tab. 4-15 Similarity evaluation results of 24 batches of *Artemisia frigida* samples

样品编号	相似度
S1	0.996
S2	0.994
S3	0.988
S4	0.996
S5	0.995
S6	0.995
S7	0.994
S8	0.996
S9	0.995
S10	0.985

续表 4-15 24 批小白蒿样品相似度评价结果

Continued from 4-15 Similarity evaluation results of 24 batches of *Artemisia frigida* samples

样品编号	相似度
S11	0.995
S12	0.996
S13	0.993
S14	0.997
S15	0.995
S16	0.996
S17	0.821
S18	0.806
S19	0.834
S20	0.755
S21	0.826
S22	0.990
S23	0.786
S24	0.774
R	1

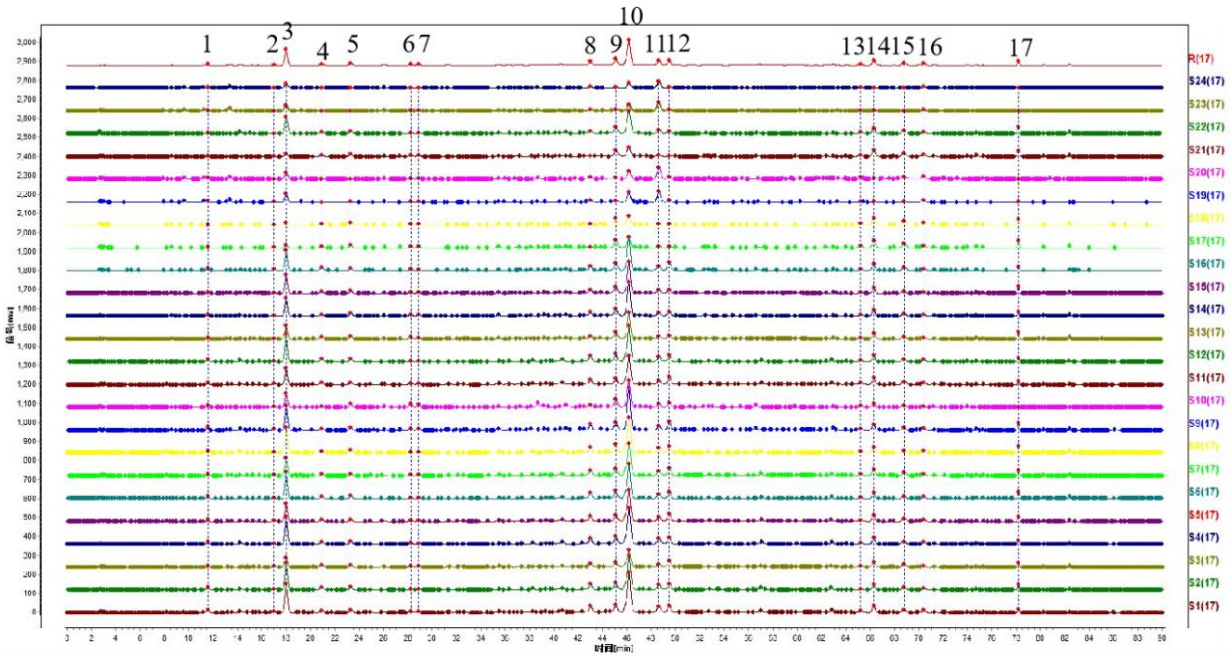

图 4-7 24 批小白蒿样品（S1~S24）的 HPLC 指纹图谱和对照指纹图谱（R）

Figure 4-7 HPLC fingerprint profiles of 24 batches of *Artemisia frigida* samples (S1~S24) and the reference fingerprint (R)

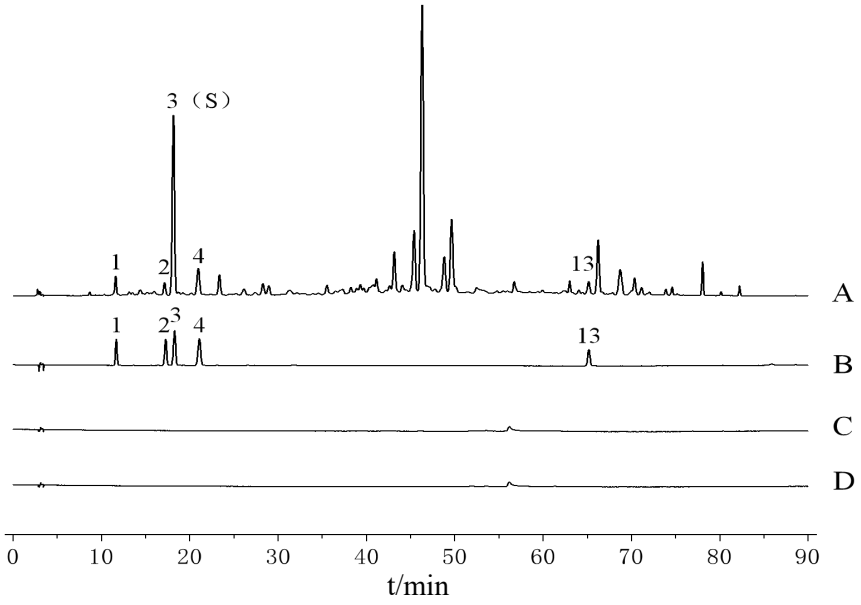

图 4-8 24 批小白蒿 HPLC 指纹图谱共有峰指认

Figure 4-8 HPLC fingerprint of Artemisia frigida with 24 batches of common peaks

注：A.小白蒿样品；B.混合对照；C.空白溶剂；D.阴性对照；1.新绿原酸 2.异绿原酸 3.绿原酸 4.咖啡酸 13.木犀草素

Note: A. *Artemisia frigida* sample B. Mixed reference standards C. Blank solvent D. Negative control sample 1. Neochlorogenic acid 2. Isochlorogenic acid 3. Chlorogenic acid 4.Caffeic acid 13. Luteolin

24 批小白蒿图谱数据见表 4-16、表 4-17。以 3 号峰绿原酸峰为参照峰（S），计算 24 批小白蒿样品共有峰相对保留时间 RSD<1.42%、相对峰面积 RSD 为 34.88%～123.24%，说明不同产地小白蒿药材化学组成相似，但样品间共有化学成分的质量分数存在一定差异。

表 4-16 24 批小白蒿指纹图谱共有峰相对保留时间

Tab. 4-16 Relative retention times of peaks common to 24 batches of *Artemisia frigida* fingerprints

样品号	峰编号																
	1	2	3S	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
S1	0.64	0.95	1.00	1.17	1.30	1.58	1.61	2.39	2.50	2.57	2.70	2.75	3.64	3.70	3.84	3.93	4.36
S2	0.64	0.95	1.00	1.17	1.30	1.58	1.61	2.39	2.50	2.57	2.70	2.75	3.64	3.70	3.84	3.93	4.36
S3	0.64	0.95	1.00	1.17	1.30	1.58	1.61	2.39	2.50	2.57	2.70	2.75	3.64	3.70	3.84	3.93	4.37
S4	0.65	0.96	1.00	1.18	1.32	1.60	1.63	2.43	2.54	2.57	2.74	2.79	3.69	3.75	3.90	3.99	4.43
S5	0.64	0.94	1.00	1.17	1.30	1.58	1.61	2.40	2.51	2.57	2.71	2.75	3.65	3.71	3.85	3.94	4.37
S6	0.64	0.95	1.00	1.17	1.30	1.58	1.61	2.39	2.50	2.57	2.70	2.75	3.64	3.70	3.84	3.93	4.37
S7	0.64	0.95	1.00	1.17	1.30	1.58	1.61	2.40	2.51	2.57	2.70	2.75	3.65	3.70	3.85	3.93	4.37
S8	0.64	0.95	1.00	1.17	1.30	1.57	1.61	2.39	2.50	2.57	2.70	2.75	3.59	3.69	3.83	3.92	4.36

续表 4-16 24 批小白蒿指纹图谱共有峰相对保留时间

Continued from 4-16 Relative retention times of peaks common to 24 batches of *Artemisia frigida* fingerprints

样品号	峰编号																
	1	2	3S	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
S9	0.64	0.95	1.00	1.17	1.30	1.58	1.61	2.40	2.51	2.57	2.70	2.75	3.65	3.70	3.85	3.93	4.37
S10	0.64	0.95	1.00	1.17	1.30	1.57	1.61	2.39	2.51	2.57	2.70	2.75	3.64	3.69	3.83	3.92	4.36
S11	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.50	2.56	2.69	2.74	3.60	3.66	3.80	3.89	4.31
S12	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.51	2.56	2.70	2.74	3.61	3.66	3.80	3.89	4.32
S13	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.50	2.56	2.70	2.74	3.61	3.66	3.80	3.89	4.32
S14	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.51	2.56	2.70	2.74	3.61	3.66	3.80	3.89	4.32
S15	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.39	2.51	2.56	2.70	2.75	3.61	3.67	3.81	3.90	4.32
S16	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.39	2.51	2.56	2.70	2.74	3.61	3.67	3.80	3.89	4.32
S17	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.51	2.56	2.70	2.74	3.61	3.66	3.80	3.89	4.32
S18	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.39	2.51	2.56	2.70	2.75	3.61	3.67	3.81	3.90	4.33
S19	0.62	0.94	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.50	2.56	2.70	2.75	3.59	3.67	3.81	3.90	4.33
S20	0.62	0.94	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.49	2.56	2.70	2.74	3.59	3.67	3.82	3.89	4.33
S21	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.51	2.56	2.70	2.74	3.61	3.66	3.80	3.89	4.32
S22	0.64	0.95	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.50	2.56	2.69	2.74	3.60	3.66	3.80	3.89	4.32
S23	0.62	0.94	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.50	2.56	2.70	2.75	3.59	3.67	3.80	3.89	4.33
S24	0.64	0.94	1.00	1.16	1.29	1.56	1.60	2.38	2.49	2.56	2.70	2.74	3.59	3.66	3.80	3.89	4.32
均值	0.64	0.95	1.00	1.16	1.30	1.57	1.61	2.39	2.51	2.56	2.70	3.62	3.68	3.82	3.91	4.34	3.62
RSD（%）	1.03	0.25	0.00	0.61	0.58	0.56	0.55	0.42	0.32	0.25	0.34	0.73	0.64	0.67	0.65	0.65	0.73

表 4-17 24 批小白蒿指纹图谱共有峰相对峰面积

Tab. 4-17 Relative peak areas of the total peaks of 24 batches of *Artemisia frigida* fingerprints

样品号	峰编号																
	1	2	3S	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
S1	0.06	0.03	1.0	0.07	0.10	0.04	0.03	0.25	0.26	1.90	0.27	0.28	0.07	0.23	0.15	0.08	0.08
S2	0.06	0.03	1.00	0.12	0.10	0.04	0.03	0.23	0.25	1.74	0.22	0.26	0.05	0.19	0.12	0.06	0.13
S3	0.10	0.09	1.00	0.27	0.20	0.13	0.10	0.36	2.00	2.51	0.32	0.70	0.14	0.55	0.34	0.10	0.31
S4	0.06	0.03	1.00	0.10	0.11	0.04	0.03	0.25	0.28	1.84	0.26	0.28	0.24	0.15	0.08	0.10	0.10
S5	0.07	0.03	1.00	0.07	0.12	0.05	0.03	0.27	0.33	1.91	0.24	0.29	0.06	0.23	0.14	0.09	0.18
S6	0.08	0.05	1.00	0.11	0.13	0.07	0.06	0.34	0.40	2.53	0.32	0.46	0.10	0.39	0.25	0.11	0.21
S7	0.09	0.05	1.00	0.14	0.13	0.08	0.06	0.35	0.37	2.39	0.31	0.49	0.10	0.34	0.22	0.10	0.18
S8	0.08	0.03	1.00	0.09	0.11	0.05	0.04	0.25	0.31	1.76	0.22	0.27	0.05	0.22	0.13	0.08	0.18
S9	0.07	0.03	1.00	0.13	0.11	0.04	0.03	0.25	0.28	1.81	0.24	0.27	0.06	0.22	0.14	0.08	0.10
S10	0.09	0.06	1.00	0.14	0.13	0.08	0.06	0.30	0.41	2.42	0.32	0.51	0.12	0.44	0.31	0.11	0.14
S11	0.09	0.05	1.00	0.05	0.12	0.06	0.05	0.25	0.33	2.00	0.21	0.37	0.04	0.24	0.14	0.08	0.19
S12	0.10	0.05	1.00	0.05	0.23	0.30	0.23	0.13	0.56	8.68	0.31	0.32	0.11	0.28	0.22	0.04	0.02
S13	0.06	0.03	1.00	0.10	0.06	0.09	0.07	0.21	0.40	2.09	0.24	0.24	0.10	0.35	0.18	0.09	0.18
S14	0.06	0.03	1.00	0.11	0.01	0.09	0.07	0.16	0.36	1.97	0.21	0.22	0.07	0.31	0.15	0.08	0.28
S15	0.07	0.04	1.00	0.14	0.17	0.13	0.10	0.18	0.53	2.19	0.23	0.25	0.10	0.43	0.21	0.10	0.35
S16	0.08	0.07	1.00	0.18	0.12	0.07	0.05	0.22	0.39	1.85	0.25	0.43	0.08	0.31	0.21	0.10	0.12
S17	0.15	0.11	1.00	0.55	1.05	0.54	0.43	0.15	2.94	4.22	0.61	0.30	0.72	2.80	2.04	0.72	1.88
S18	0.14	0.11	1.00	0.53	1.09	0.55	0.45	0.14	3.06	4.29	0.61	0.30	0.74	2.93	2.13	0.86	1.85
S19	0.11	0.03	1.00	0.03	0.03	0.05	0.04	0.21	0.18	1.39	1.52	0.24	0.06	0.10	0.06	0.22	0.05
S20	0.13	0.03	1.00	0.04	0.03	0.06	0.05	0.34	0.30	1.38	2.06	0.30	0.24	0.11	0.12	0.42	0.02
S21	0.14	0.09	1.00	0.53	0.98	0.56	0.46	0.17	2.66	4.14	0.66	0.33	0.67	2.60	1.89	0.87	1.68
S22	0.04	0.03	1.00	0.11	0.15	0.09	0.07	0.15	0.43	1.59	0.27	0.13	0.08	0.36	0.22	0.11	0.29
S23	0.15	0.03	1.00	0.03	0.02	0.05	0.04	0.27	0.28	1.36	1.76	0.27	0.10	0.04	0.01	0.23	0.03
S24	0.13	0.04	1.00	0.04	0.03	0.09	0.08	0.33	0.28	1.29	1.82	0.27	0.19	0.10	0.04	0.40	0.04
均值	0.09	0.05	1.00	0.15	0.22	0.14	0.11	0.24	0.73	2.47	0.56	0.32	0.18	0.58	0.40	0.22	0.36
RSD (%)	35.7	52.0	0.0	100.7	144.0	119.9	121.8	29.7	123.1	63.8	103.4	36.4	52.5	119.3	148.0	159.2	115.7

4.4.6 化学模式识别

化学计量学是以计算机和近代计算技术为基础的一门新兴交叉学科，可将多变量的分析方法引入化学研究，而化学模式识别作为化学计量学的重要组成部分，已成为中药物质基础研究的重要手段[127]。化学模式识别主要包括聚类分析（CA）、主成分分析（PCA）、偏最小二乘-判别分析（PLS-DA）等，在中药鉴别、定性表征、质量控制、组效关系等研究中均有广泛应用，尤其在中药的质量控制与评价研究中具有重要意义[128]。

4.4.6.1 聚类分析（clusteranalysis, CA）

本实验将 24 批小白蒿样品 17 个共有峰的相对峰面积作为评价指标，采用 SPSS 26.0 统计软件进行聚类分析，采用离差平方和法，以欧氏距离为分类依据，运用系统聚类法进行模式识别分析，分析结果见图 4-9。

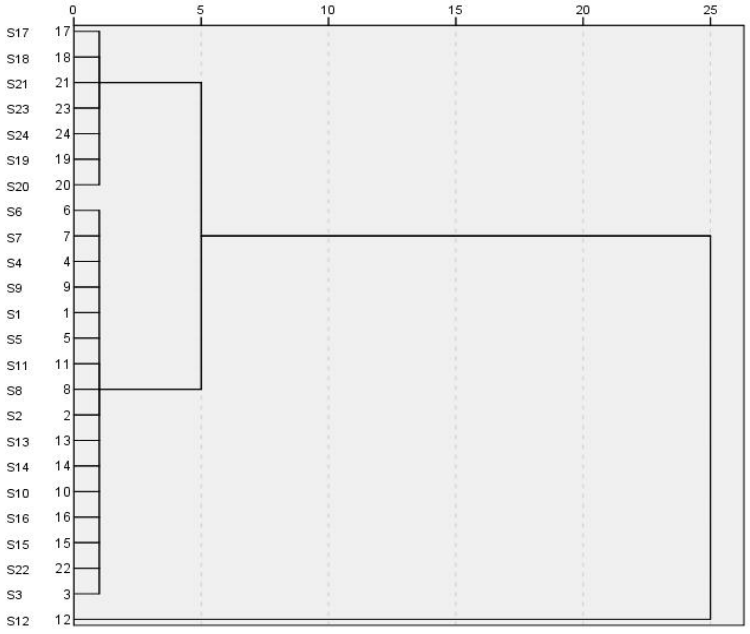

图 4-9 24 批小白蒿指纹图谱聚类分析结果

Figure 4-9 Cluster analysis results of 24 batches of *Artemisia frigida* fingerprints

注：辽宁沈阳（S1）、辽宁沈阳（S2）、西藏（S3）、西藏（S4）、青海（S5）、青海（S6）、甘肃（S7）、甘肃（S8）、内蒙（S9）、内蒙（S10）、河北（S11）、河北（S12）、河南（S13）、河南（S14）、广西（S15）、湖北（S16）、云南（S17）、云南（S18）、陕西（S19）、陕西（S20）、山东（S21）、山东（S22）、四川（S23）、四川（S24）

Note: Liaoning Shenyang (S1), Liaoning Shenyang (S2), Tibet (S3), Tibet (S4), Qinghai (S5), Qinghai (S6), Gansu (S7), Gansu (S8), Inner Mongolia (S9), Inner Mongolia (S10), Hebei (S11), Hebei (S12), Henan (S13), Henan (S14), Guangxi (S15), Hubei (S16), Yunnan (S17), Yunnan (S18), Shaanxi (S19), Shaanxi (S20), Shandong (S21), Shandong (S22), Sichuan (S23), Sichuan (S24)

根据聚类分析树状图，24 批小白蒿在欧式平方距离为 10 的范围内可以分为两类，由聚类分析结果可看出，除 S12 单独为一类外，其余均为一类。结果表明，不同产地的小白蒿样品不存在明显差异。

当平方欧式距离为 5 时，S17、18、19、20、21、23、24 聚为第一类，S12 为第二类，其余为第三类。结果表明，云南、陕西、山东、四川四个产地的小白蒿在成分和含量上差异均较小，不同产地的小白蒿样品之间存在一定差异，可以通过 CA 与其他产地的小白蒿进行区分分类。

4.4.6.2 主成分分析（principal component analysis, PCA）

将 24 批小白蒿指纹图谱中 17 个共有峰的峰面积数据导入 SPSS 26.0 软件，以峰面积作为变量，设定特征值大于 1.0 作为主成分因子的筛选标准进行降维分析。计算得到主成分特征值、方差贡献率、成分得分系数矩阵及主成分碎石图，结果见表 4-18、表 4-19、图 4-10。结果显示，PCA 共提取四个特征值大于 1 的主成分，累计方差贡献率达 90.609%，大于 80%表明提取的前 4 个主成分能较全面的反映小白蒿指纹图谱的基本信息。其中，主成分因子 1 主要反映了 5 号峰、9 号峰及 14 号峰的信息；主成分因子 2 主要反映了绿原酸、1 号峰及 8 号峰的信息；主成分因子 3 主要反映了 15 号峰、16 号峰及 17 号峰的信息；主成分因子 4 主要反映了木犀草素、11 号峰及 16 号峰的信息。

进一步地，将 24 批小白蒿指纹图谱中 17 个共有峰的峰面积数据导入 SIMCA 14.1 软件，以峰面积作为变量进行 PCA 分析，结果见图 4-11，结果与 CA 一致。

表 4-18 小白蒿主成分特征根及方差贡献率

Tab. 4-18 Characteristic roots and variance contribution of *Artemisia frigida* principal components

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	特征根	方差（%）	累计（%）	合计	方差（%）	累积（%）
1	7.856	46.209	46.209	7.856	46.209	46.209
2	3.854	22.671	68.881	3.854	22.671	68.881
3	2.628	15.459	84.340	2.628	15.459	84.340
4	1.066	6.269	90.609	1.066	6.269	90.609
5	0.646	3.801	94.409			
6	0.324	1.906	96.315			
7	0.231	1.361	97.676			
8	0.184	1.082	98.758			
9	0.079	0.465	99.223			
10	0.050	0.293	99.516			
11	0.033	0.195	99.711			
12	0.026	0.156	99.867			
13	0.010	0.058	99.924			

续表 4-18 小白蒿主成分特征根及方差贡献率

Continued from 4-18 Characteristic roots and variance contribution of *Artemisia frigida* principal components

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	特征根	方差（%）	累计（%）	合计	方差（%）	累积（%）
14	0.009	0.051	99.975			
15	0.003	0.016	99.991			
16	0.001	0.005	99.996			
17	0.001	0.004	100			

表 4-19 小白蒿成分得分系数矩阵

Tab. 4-19 Score coefficient matrix of *Artemisia frigida* components

峰号	成分 1	成分 2	成分 3	成分 4
峰 9	0.928	-0.268	0.08	0.04
峰 14	0.843	-0.381	0.332	-0.063
峰 5	0.836	-0.179	0.028	0.129
峰 15	0.786	-0.447	0.338	0.108
峰 2	0.784	0.48	-0.045	-0.148
峰 4	0.762	0.19	0.322	-0.257
峰 12	0.706	0.64	0.025	-0.007
峰 11	-0.672	0.626	-0.029	0.339
峰 3	0.67	0.653	0.008	-0.016
峰 17	0.588	-0.394	0.433	-0.333
峰 1	0.562	0.784	-0.133	0.059
峰 8	0.597	0.752	0.174	0.049
峰 16	-0.211	0.126	0.744	0.537
峰 6	0.576	-0.405	-0.68	0.16
峰 7	0.543	-0.447	-0.679	0.151
峰 10	0.654	0.19	-0.671	0.263
峰 13	0.504	-0.397	0.354	0.552

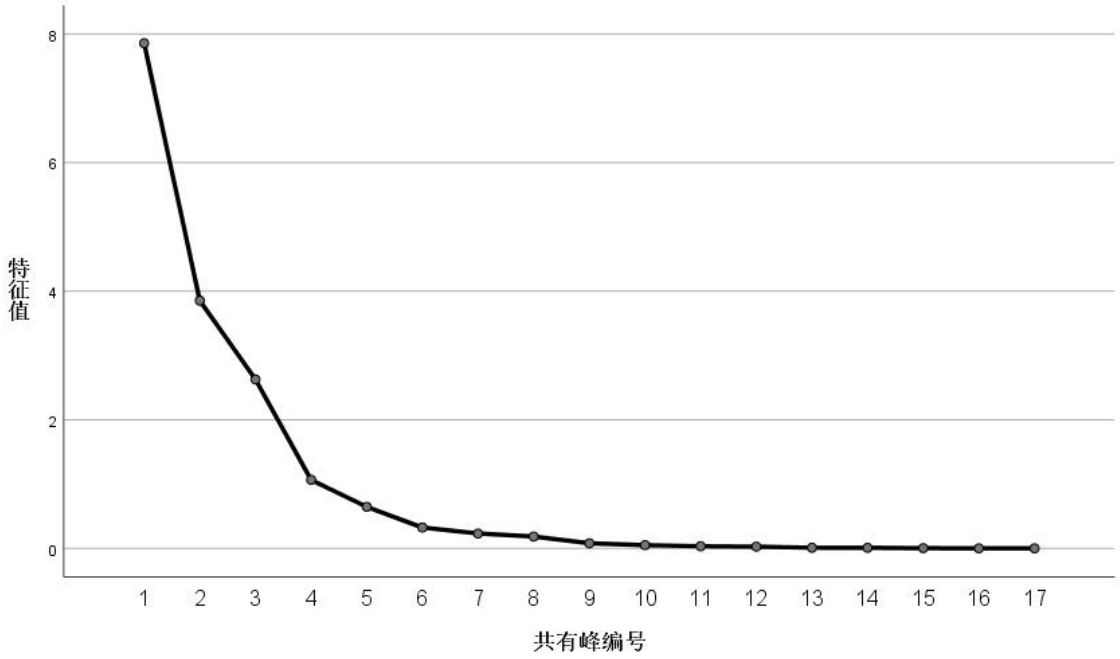

图 4-10 24 批小白蒿主成分碎石图

Figure 4-10 24 batches of *Artemisia frigida* main ingredient crushed stone charts

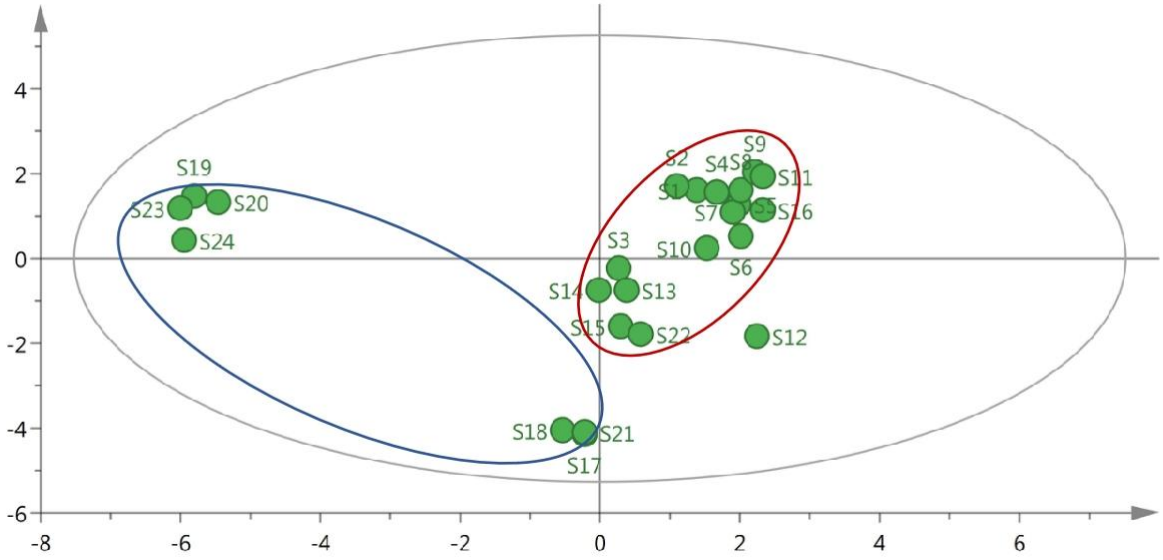

图 4-11 小白蒿样品 PCA 得分图

Figure 4-11 Plot of PCA scores of *Artemisia frigida* samples

注：第一类：S1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、22；第二类：G17、18、19、20、21、23、24

Note: Category I: S1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 22; Category II: G17, 18, 19, 20, 21, 23, 24

4.4.6.3 基于 PCA 建立小白蒿的质量综合评价模型

由表 4-18、表 4-19 可知，选择 C_1、C_2、C_3、C_4 代表 4 种主成分作为 24 批小白蒿所表达的成分信息，建立优质小白蒿品质的评价模型，得出 4 种成分的关系表达式分别为：

由表 4-18、表 4-19 可知，选择 C_1、C_2、C_3、C_4 代表 4 种主成分作为 24 批小白蒿所表达的成分信息，建立小白蒿品质的评价模型，得出 4 种成分的关系表达式分别为：

$$C_1=0.201X_1+0.280X_2+0.239X_3+0.301X_4+0.298X_5+0.206X_6+0.194X_7+0.213X_8+0.331X_9+0.233X_{10}-0.240X_{11}+0.252X_{12}+0.180X_{13}+0.301X_{14}+0.280X_{15}-0.075X_{16}+0.210X_{17}$$

$$C_2=0.399X_1+0.245X_2+0.333X_3+0.097X_4-0.091X_5-0.206X_6-0.228X_7+0.383X_8-0.137X_9+0.097X_{10}+0.319X_{11}+0.326X_{12}-0.202X_{13}-0.194X_{14}-0.228X_{15}+0.064X_{16}-0.201X_{17}$$

$$C_3=-0.082X_1-0.028X_2+0.005X_3+0.199X_4+0.017X_5-0.419X_6-0.419X_7+0.107X_8+0.049X_9-0.414X_{10}-0.018X_{11}+0.015X_{12}+0.218X_{13}+0.205X_{14}+0.208X_{15}+0.459X_{16}+0.267X_1$$

$$C_4=0.057X_1-0.143X_2-0.015X_3-0.249X_4+0.125X_5+0.155X_6+0.146X_7+0.047X_8+0.039X_9+0.255X_{10}+0.328X_{11}-0.007X_{12}+0.535X_{13}-0.061X_{14}+0.105X_{15}+0.520X_{16}-0.323X_{17}$$

将 C_1、C_2、C_3、C_4 与所对应的方差贡献率做内积，得到小白蒿质量综合评价函数综合得分（C）的表达式为 $C=46.209\ C_1+22.671\ C_2+15.459\ C_3+6.260\ C_4$。不同产地 24 批小白蒿得分值及排序见表 4-20。

综合得分越高，表示该小白蒿综合品质越好。计算结果表明，24 批小白蒿的综合得分都大于 0。其中有 5 批大于 1，其中 S18（云南）样品综合得分最高 2.40，2～5 名依次为 S17（云南）2.33、S21（山东）2.22，S12（河北）1.32、S3（西藏）1.31。可以初步筛选出

表 4-20 小白蒿主成分综合得分及排序

Tab. 4-20 Composite score and ranking of *Artemisia frigida* principal components

样品批号	C1	C2	C3	C4	综合得分	排序
S18	4.89	-1.03	0.17	1.84	2.40	1
S17	4.77	-0.96	0.11	1.71	2.33	2
S21	4.48	-0.78	0.03	1.81	2.22	3
S12	2.87	1.14	-3.62	2.50	1.31	4
S3	1.74	0.73	-0.67	0.78	1.01	5
S10	1.46	0.71	-0.71	0.82	0.86	6
S8	1.44	0.73	-0.76	0.82	0.85	7
S7	1.39	0.76	-0.73	0.77	0.83	8
S15	1.41	0.47	-0.64	0.65	0.77	9
S16	1.23	0.64	-0.53	0.60	0.74	10
S11	1.18	0.66	-0.65	0.60	0.70	11
S13	1.21	0.56	-0.65	0.66	0.69	12

续表 4-20 小白蒿主成分综合得分及排序

Continued from 4-20 Composite score and ranking of *Artemisia frigida* principal components

样品批号	C1	C2	C3	C4	综合得分	排序
S5	1.12	0.64	-0.58	0.60	0.67	13
S14	1.15	0.52	-0.60	0.56	0.65	14
S9	1.06	0.65	-0.57	0.58	0.65	15
S4	1.06	0.65	-0.58	0.60	0.65	16
S6	1.07	0.62	-0.54	0.55	0.64	17
S22	1.12	0.41	-0.40	0.52	0.64	18
S1	1.05	0.67	-0.61	0.64	0.64	19
S2	1.02	0.64	-0.55	0.53	0.62	20
S20	0.46	1.28	-0.30	1.40	0.60	21
S24	0.48	1.19	-0.32	1.25	0.57	22
S23	0.45	1.21	-0.44	1.11	0.53	23
S19	0.48	1.08	-0.44	1.00	0.51	24

4.4.7 讨论

4.4.7.1 样品提取条件的优化

本实验对小白蒿进行了超声提取、索氏提取，冷凝回流提取，根据结果发现，索氏提取和蒸发回流提取率虽高于超声提取，但其方法学考察不稳定，不适合制定质量标准，最终确定采用超声提取方式。对提取条件进行考察优化，浸泡时间（2 h、3 h、4 h、5 h）、超声时间（30 min、40 min、50 min、60 min）、甲醇比例（40%、50%、60%、70%）、物液比例（1 : 20、1 : 30、1 : 40、1 : 50），当提取条件为浸泡 3 h、超声提取 30 min、物液比 1 : 20 时，50%甲醇溶液时，各色谱峰峰面积较大、分离度及峰形较好、各化学成分的提取率较佳且该制备方法快捷简便。

4.4.7.2 色谱条件优化

本研究结合 HPLC 图和预试验结果，综合考虑各成分出峰时间及吸收强度再结合文献中的报道，确定最优最合适的检测波长。小白蒿供试液经二极管阵列检测器在 190 ~ 400 nm 范围内扫描，发现在 327 nm 和 360 nm 下色谱峰最丰富，且在 327 nm 下各色谱峰吸收强度均匀，基线平稳，峰形好且分离度较好，最终确定以 327 nm 为检测波长。

考察 3 种色谱柱包括 ACE Excel5 C18-Amide（250 mm×4.6 mm，粒径 1.7 μm）、ACE Excel5 Super C18（250 mm×4.6 mm，粒径 1.7 μm）、Waters-C18（250 mm×4.6 mm，粒径 1.7 μm），其中 ACE Excel5 Super C18 色谱柱有几处峰分离度不够，Waters-C18 色谱峰数少且色谱峰分离度价较差。ACE Excel5 C18-Amide 色谱柱整体基线平稳，

峰形好、分离度、峰数最佳。

考察了流动相体系水-甲醇、水-乙腈、0.5%磷酸水-乙腈，前两种流动相体系分离度均较差，在 0.5%磷酸水-乙腈体系下峰形及分离度均较好，因此，最终选择 0.5%磷酸水-乙腈体系进行下一步研究。

另外，还考察了柱温、流速、进样量，结果显示柱温在 25℃、30℃、35℃和 40℃时，对色谱峰分离度无影响，只起到调节其保留时间的作用，故柱温选定为 30℃；不同流速影响峰保留时间，流速在 1.1 mL/min 时，有个别峰分离度不够，在 0.9 mL/min 时，整个出发时间延迟，因此最终选择 1.0 mL/min 的流速；进样量 5 μL 时，个别峰含量过低，而进样量为 10 μL 时，色谱峰峰形及分离效果最佳。

4.5 检查项

4.5.1 水分

同“2.4.1”项。结果见表 4-21。

4.5.2 总灰分与酸不溶灰分测定

同“2.4.2”项。结果见表 4-21。

4.5.3 浸出物

依照 2020 年版《中国药典》（四部）通则 2201[108]，采用纯水为溶剂以热浸法进行提取，测定水溶性浸出物的含量。详见表 4-21。

表 4-21 小白蒿样品水分、总灰分含量、酸不溶性灰分含量和浸出率测定结果(*n*=3, %)

Tab. 4-21 Determination Results of Moisture, Total Ash Content, Acid-Insoluble Ash Content, and Extraction Rate of *Artemisia frigida* Samples (*n*=3, %)

序号	水分	总灰分	酸不溶灰分	浸出率
S1	4.4	11.8	4.5	12.5
S2	5.6	9.9	3.6	11.2
S3	5.7	8	2.2	8.2
S4	5.7	10.6	3	11.1
S5	4.4	8.8	3	11.2
S6	4.8	9.7	3.5	9.9
S7	5.5	9.4	3.2	10.8
S8	5.5	9.9	2.6	11.2
S9	5.5	9	7.1	11.5
S10	6.2	11.2	4.7	9.9

续表 4-21 小白蒿样品水分、总灰分含量、酸不溶性灰分含量和浸出率测定结果(n=3, %)

Continued from 4-21 Determination Results of Moisture, Total Ash Content, Acid-Insoluble Ash Content, and Extraction Rate of *Artemisia frigida* Samples (n=3, %)

序号	水分	总灰分	酸不溶灰分	浸出率
S11	9.1	7.5	1.6	11.3
S12	5.0	5.5	0.5	12.5
S13	8.0	7.5	1.6	10.6
S14	8.3	5.5	0.6	10.4
S15	7.7	7.9	1.7	10.1
S16	8.1	7.5	1.5	10.1
S17	6.6	9.7	3.7	9.9
S18	7.3	9.5	2.7	10.1
S19	7.3	6.7	0.5	10.3
S20	5.3	8	0.6	11.7
S21	7.9	9.9	3.7	10.2
S22	7.7	10.1	3.9	10.0
S23	5.1	5.5	0.2	9.3
S24	4.9	6.6	0.3	10.3
平均值	6.3	8.6	2.5	10.6

4.5.3.1 讨论

为了筛选出冷浸法和热浸法中不同浓度乙醇和纯水下药材浸出物的高低，分别对冷浸法和热浸法进行实验，并设置了六种不同浓度的含乙醇量梯度，分别为无水乙醇、60%乙醇、40%乙醇、30%乙醇、20%乙醇和纯水，以不同浓度乙醇的溶剂做冷浸法和热浸法筛选出小白蒿药材的最佳浸出方式。最终确定以纯水为溶剂，热浸法提取小白蒿浸出物。

4.5.4 重金属检测

4.5.4.1 ICP-MS 工作条件

同“2.4.4.1”。

4.5.4.2 微波消解条件

同“2.4.4.2”。

4.5.4.3 供试品溶液的制备

同“2.4.4.3”。

4.5.4.4 线性关系考察

同“2.4.4.4”。

4.5.4.5 实验结果

对小白蒿药材重金属含量测定结果如下表 4-22：

表 4-22 小白蒿中铜、砷、镉、汞、铅的含量（mg/kg, *n*=3）

Tab. 4-22 The contents of lead, arsenic, cadmium, mercury and copper in *Artemisia frigida* (mg/kg, *n*=3)

序号	Cu	As	Cd	Hg	Pb
S1	17.53	1.81	0.24	0.03	2.92
S2	19.62	1.69	0.28	0.04	3.03
S3	16.31	1.09	0.35	0.34	1.83
S4	16.41	1.64	0.25	0.04	2.41
S5	14.17	1.4	0.27	0.06	1.91
S6	16.94	1.86	0.27	0.13	2.48
S7	17.4	1.51	0.27	0.39	1.94
S8	15.19	1.53	0.27	0.04	2.12
S9	19.91	1.83	0.3	0.24	3.22
S10	19.24	1.64	0.28	0.19	3.44
S11	16.09	0.99	0.25	0.02	1.19
S12	15.09	0.46	0.29	0.02	0.54
S13	18.26	1.28	0.24	0.03	1.52
S14	16.38	1.25	0.26	0.03	1.47
S15	15.4	1.2	0.26	0.03	1.47
S16	16.61	0.87	0.41	0.02	1.27
S17	16.13	1.84	0.26	0.03	1.96
S18	15.45	1.77	0.26	0.03	1.93
S19	9.35	0.46	0.28	0.02	0.6
S20	12.27	0.36	0.27	0.03	0.59
S21	14.19	1.81	0.24	0.04	2.01
S22	13.89	1.74	0.21	0.02	1.98
S23	6.79	0.15	0.23	0.02	0.27
S24	6.93	0.09	0.22	0.03	0.19
平均值	15.23	1.26	0.27	0.08	1.76

4.5.4.6 讨论

通过对 24 批小白蒿测定铅、砷、镉、铜、汞的含量，发现有 2 批药材汞含量超标。参考《中国药典》2020 年版通则 9302 内容中“第五项”重金属及有害元素一致性限量

指导值规定，暂定小白蒿中铅不得过铅(Pb)不得超过 5 mg/kg，砷(As)不得超过 2 mg/kg，镉(Cd)不得超过 1 mg/kg，铜(Cu)不得超过 20 mg/kg，汞(Hg)不得超过 0.2 mg/kg[109]。

4.6 本章小结

（1）对小白蒿药材性状和粉末显微观察特征进行了描述。

（2）通过薄层鉴别确定小白蒿中绿原酸成分。

（3）以绿原酸为指标成分建立小白蒿 HPLC 含量测定，暂定小白蒿绿原酸含量不得低于 0.2%。

（4）本研究通过建立小白蒿 HPLC 指纹图谱对不同产地的小白蒿进行质量分析，所建立的指纹图谱能够较全面的反映小白蒿中成分情况，分析了 24 批次 13 个不同产地的小白蒿的整体性及差异性，选择了 17 组分离度较好，峰面积较大的共有峰进行研究。

通过测定各批次小白蒿药材的水分、水溶性浸出物以及总灰分含量，根据 24 批小白蒿药材测定结果，按平均值上浮约 20%的标准，暂定药材水分含量的上限为 9.0%，总灰分含量的上限为 11.0%，酸不溶性灰分含量的上限为 4.0%。基于浸出物含量平均值下浮约 20%的标准，暂定药材水溶性浸出物的下限为 8.0%。

（5）暂定小白蒿铅(Pb)不得超过 5 mg/kg，砷(As)不得超过 2 mg/kg，镉(Cd)不得超过 1 mg/kg，铜(Cu)不得超过 20 mg/kg，汞(Hg)不得超过 0.2 mg/kg。

第 5 章全文总结

本课题参照药典委员会对质量标准的要求，对新疆蒙医院临床上常用的 3 种蒙药材从性状、鉴别、检查、浸出物、含量测定等项进行实验，对药材的质量标准进行研究，从而提升了 3 种地方习用药材的质量标准，并对其拟定质量标准草案。为蒙药材质量标准的制定提供实验依据，具体的研究内容如下：

（1）经过外观性状与显微鉴别，确定了牛心、香墨、小白蒿 3 种蒙药材的基原。

（2）在薄层定性鉴别项中，通过对溶液的制备过程、色谱展开系统进行改善优化，尽量减少易制毒类试剂的使用。分别完成了对牛心、香墨、小白蒿 3 味药材的定性鉴别，建立了简便、稳定性好、斑点清晰的薄层定性鉴别方法。

（3）对牛心、香墨、小白蒿进行水分、灰分（总灰分和酸不溶性灰分）、浸出物和重金属等一般项的检查。通过参考 2020 年版《中国药典》（四部）通则 0832、通则 2302 和通则 2201 和相关文献根据药材的性质，针对每一项选择合适的方法，在一定程度上保证了药材的洁净度和质量。

（4）采用 DNA 分子鉴别方法对牛心设计特异性引物，鉴别牛心物种，该方法特异性强、准确度高。

（5）对牛心蛋白质成分建立含量测定方法标准。

（6）对小白蒿中有效成分绿原酸进行含量测定，建立了重复性、稳定性和分离度良好的含量测定方法。

（7）建立小白蒿指纹图谱稳定可靠，可为小白蒿的药材的鉴别及质量评价提供有效的方法。

（8）对香墨药材中多环芳香烃类化合物进行了定性与定量研究，为其毒性研究提供科学依据。

（9）制定质量标准草案。

表 5-1 本文研究药材现有标准以及增加的检查项

Tab. 5-1 Amendments and additions to quality standards of medicinal materials

药材名称	基原记载	收载项目	增加项目
牛心	有	性状、检查项	显微、薄层、PCR 鉴别、含量测定
香墨	有	性状、检查项	薄层、限量测定
小白蒿	有	性状、含量测定	指纹图谱、检查项、浸出物、重金属检测

综上，根据现有资料对牛心、香墨、小白蒿 3 种蒙药材进行基原鉴定，定性定量研究，并对其一般项进行检查，为 3 种药材制定了质量控制标准。本课题的研究，将大幅提升新疆蒙药药品质量和检验技术标准，确保临床用药安全，提高新疆民族药药品的安全性和有效性，提升了蒙医院的市场竞争力。

参考文献

[1] 柳白乙拉. 蒙药正典[M]. 北京: 民族出版社, 2006.

[2] 屈晓梅, 宋宏春. 蒙药质量标准研究现状[J]. 疾病监测与控制, 2014, 8(09): 556-557+555.

[3] 《蒙古学百科全书》编辑委员会. 蒙古学百科全书·医学卷[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2012.

[4] 王丹丹, 昝珂, 魏锋, 等. 动物类中药材使用情况及常见质量问题探讨[J]. 中国药事, 2020, 34(11): 1281-1298.

[5] 内蒙古自治区食品药品监督管理局. 内蒙古蒙药材炮制规范-2017 年增补版[S]. 呼和浩特: 内蒙古自治区食品药品监督管理局, 2017.

[6] 黄量主编. 中国医学百科全书-蒙医学卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988.

[7] 李青峰, 李晓轩, 胡汉琼, 等. 基于德尔菲法的蒙药安神补心六味丸临床应用专家共识条目分析[J]. 世界中医药, 2024, 19(17): 2647-2652+2662.

[8] 内蒙古自治区药品监督管理局. 内蒙古蒙药饮片炮制规范 (2020 年版)[S]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2020.

[9] 高文军. 不同动物心脏配伍蒙药方剂的药代动力学研究及牦牛心氨基酸含量分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古医科大学, 2016.

[10] 周琼, 付咏梅, 王华东. 甘氨酸对小鼠心肌缺血性损伤的防治作用研究[J]. 中国病理生理杂志, 2002, (04): 25-27.

[11] Böger R. Dual role of the L-arginine-ADMA-NO pathway in systemic hypoxic vasodilation and pulmonary hypoxic vasoconstriction[J]. Pulmonary circulation, 2020, 10(2): 2045894020918850.

[12] 周刚, 候海玲, 李鹏飞, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定牛心浸粉中 7 种氨基酸的含量[J]. 北方药学, 2021, 18(05): 5-8.

[13] 李甫泉, 党小菊, 冯国庆, 等. 蒙药材牛心的炮制与质量标准研究[J]. 中国民族医药杂志, 2017, 23(07): 55-56.

[14] 李文妍, 王玉华, 刘小雷, 等. 动物心脏在蒙药八味沉香散中对组方药效学作用的影响[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(04): 1331-1336.

[15] 中华人民共和国卫生部药典委. 中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 1998: 94.

[16] 李振波, 赵光胜. 苯丙氨酸对高血压大鼠心血管组织的影响[J]. 上海第二医科大学学报, 2000, (02): 115-117+128.

[17] Anand S K, Governale T-A, Zhang X, et al. Amino Acid Metabolism and Atherosclerotic Cardiovascular Disease[J]. The American journal of pathology, 024, 194(4): 510-524.

[18] 李时珍(明), 著; 朱斐, 译注. 本草纲目[M]. 南昌: 二十一世纪出版社, 2017.

[19] 汪绂清. 医林纂要探源[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 181.

[20] 陈藏器(唐), 原著; 尚志钧, 辑校. 本草拾遗[M]. 芜湖: 皖南医学院科研处, 1983: 72.

[21] 寇宗奭著(宋). 本草衍义[M]. 北京: 商务印书馆, 1957: 85.

[22] 国家中医药管理局《中华本草》编委会编著. 中华本草·蒙药卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 268.

[23] 内蒙古自治区药品监督管理局. 内蒙古蒙药饮片炮制规范[S]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2020: 337.

[24] 柴瑞霁. 十灰散用京墨止血小考[J]. 四川中医, 1988, (02): 51.

[25] 柴瑞霁. 京墨止血小考[J]. 黑龙江中医药, 1988, (01): 44.

[26] 刘强. 京墨治疗带状疱疹[J]. 安徽中医临床杂志, 1997, (02): 112.

[27] 周新华. 金香墨联合中药灌肠治疗慢性肾功能衰竭 60 例[J]. 中国医药指南, 2012, 10(12): 253-254.

[28] 周新华, 韩世军. 降浊汤治疗慢性肾衰竭 80 例[J]. 中国卫生产业, 2012, 9(06): 155.

[29] 濮姗姗, 杨奕望, 李赣. 药墨的起源、盛行及其药用价值[J]. 中医文献杂志, 2022, 40(03): 81-83+93.

[30] 侯新立. 石灰地丁京墨膏治疗带状疱疹 28 例[J]. 中国民间疗法, 2004, (01): 18.

[31] 杨锡仓. 陇东蛇丹墨[J]. 甘肃中医学院学报, 1988, (01): 47.

[32] 高娜娜. “墨”药止血运用的文献研究[J]. 环球中医药, 2020, 13(10): 1744-1747.

[33] 刘越, 包白音通拉嘎, 潘丽霞, 等. 蒙药材阿给(小白蒿)基因组 DNA 的提取[J]. 植物遗传资源学报, 2008, (03): 346-349.

[34] 依希巴拉珠尔. 四部甘露[M]. 赤峰: 内蒙古科学技术出版 社, 2015:404-405.

[35] 占布拉道尔吉著. 无误蒙药鉴[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1988: 200.

[36] 丹增, 彭措帝. 晶珠本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988: 67.

[37] 宇妥·元丹贡布, 李永年. 识药学[M]. 北京: 民族出版社, 1998: 67.

[38] 达日茂玛仁巴. 金光注释集[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1984: 889-890.

[39] Wang Q-H, Sha Y, Ao W-L-J, et al. Two new sesquiterpene lactone glycosides from Artemisia frigida Willd[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2011: 645-651.

[40] Wang Q-H, Ao W-L-J, Wang X-L, et al. Two new flavonoid glycosides from Artemisia frigida Willd[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2010: 950-4.

[41] Wang Q-H, Ao W-L-J, Dai N-Y-T. Structural elucidation and HPLC analysis of six flavone glycosides from Artemisia frigida Willd[J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2013: 439-444.

[42] 王青虎, 武晓兰, 王金辉. 蒙药小白蒿化学成分的研究(II)[J]. 中草药, 2011, 42(06): 1075-1078.

[43] 王青虎, 王金辉, 额尔登巴格那, 等. 蒙药小白蒿化学成分的研究[C]. 2010 年中国药学大会暨第十届中国药师周论文集, 中国天津: 中国药学会, 2010: 2847-2849.

[44] Borchuluun S, Wang Q, Xu Y, et al. Structure elucidation and NMR assignments of a new sesquiterpene of volatile oil from Artemisia frigida Willd[J]. Natural Product Research, 2019:PP 1-5.

[45] D.N. Olennikov. New Flavonoids from Artemisia frigida[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2020: 623-627.

[46] 陈进军, 王思明, 李存芳, 等. 冷蒿中五种倍半萜内酯化合物抑制人肿瘤细胞增殖活性及构效关系研究[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(02): 24-26.

[47] 李存芳. 冷蒿地上部分化学成分的研究[D]. 河北 : 河北医科大学, 2009.

[48] 刘丹, 师宁宁, 吴叶红, 等. 冷蒿的化学成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(24): 5090-5098.

[49] 刘盟盟, 贾丽, 程路芸, 等. 冷蒿酚酸及其抗氧化防御酶活性对机械损伤的响应[J]. 植物生态学报, 2017, 41(02): 219-230.

[50] 龙梅, 娜布其, 王青虎, 等. 蒙药小白蒿及其混淆品化学轮廓比较研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(10): 58-62.

[51] 智慧, 艾丹, 杨秀华, 等. 蒙药小白蒿野生品与栽培品中绿原酸的含量比较研究[J]. 中国民族医药杂志, 2020, 26(05): 40-43.

[52] 王青虎, 特格喜巴雅尔, 斯日棍其其格, 等. 蒙药小白蒿的质量标准研究[J]. 中成药, 2010, 32(04): 616-619.

[53] 王青虎. 蒙药小白蒿澡“希日乌苏”功效与抗氧化作用机制研究[R]. 内蒙古自治区: 内蒙古民族大学, 2019: 03-28.

[54] 王青虎, 乌仁苏布德, 布和巴特尔, 等. 蒙药小白蒿的历史沿革与现代研究概述[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(10): 897-900+915.

[55] 张婉. 蒙药阿给（小白蒿）炮制前后化学成分变化及止血作用机制研究[D]. 北京: 中央民族大学, 2009.

[56] 陈常莲. 浅谈蒙医药浴疗法特色[J]. 时珍国医国药, 2006, (11): 2344.

[57] 包音胡. 探讨蒙医五味甘露药浴的临床应用[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(12): 152+159.

[58] 特木热校注. 四部医典[M]. 赤峰: 内蒙古科技出版社, 1987: 139.

[59] 崔箭, 唐丽, 蓝蓉, 等. 蒙药阿给炭治疗支气管扩张咯血临床观察[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2006, (02): 149-151+155.

[60] 刘伟志, 裴玲燕, 张纯芳, 等. 蒙药阿给炭对急性胃溃疡合并出血模型大鼠凝血、纤溶系统影响的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(12): 2817-2819.

[61] 刘伟志, 张纯芳, 裴玲燕, 等. 蒙古族药阿给炭对胃溃疡大鼠溃疡组织 VEGF, bFGF 及其受体 mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(01): 108-112.

[62] 刘伟志, 张婉, 钟伯雄, 等. 蒙药阿给(小白蒿)炒炭前后止血作用的实验研究[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(12): 2282-2284.

[63] 图布兴, 王青虎, 白音木其尔, 等. 小白蒿总黄酮抗炎作用及其 HPLC 分离与 NMR 鉴定[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(16): 40-43.

[64] Wang Q, Wu J, Wu X, et al. Anti-inflammatory effects and structure elucidation of flavonoid and biflavonoid glycosides from Artemisia frigida Willd[J]. Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly, 2014:345-349.

[65] 萨仁其木格, 王青虎, 毕力格图, 等. 蒙药阿给鼻炎喷雾剂的质量标准研究[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(06): 1069-1075.

[66] 薛焱, 刘欣媛, 高洪波, 等. 蒙药阿给水提物的抗炎作用及其机制研究[J]. 中国药房, 2020, 31(12): 1425-1429.

[67] 海平, 苏雅乐其其格. 蒙药小白蒿中总黄酮的提取及其抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(03): 59-63.

[68] Olennikov D N, Kashchenko N I, Chirikova N K, et al. Caffeoylquinic Acids and Flavonoids of Fringed Sagewort (Artemisia frigida Willd.): HPLC-DAD-ESI-QQQ-MS Profile, HPLC-DAD Quantification, in Vitro Digestion Stability, and Antioxidant Capacity[J]. Antioxidants, 2019, 8(8): 307-307.

[69] 薛焱, 王同智. 蒙药阿给镇痛作用的研究[J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(07): 20-22.

[70] Yang F, Ding F, Chen H, et al. DNA Barcoding for the Identification and Authentication of Animal Species in Traditional Medicine[J].Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018, 2018: 5160254.

[71] 崔俊丽, 侯林. DNA 条形码技术在中药领域的应用研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2024, 38(01): 89-94.

[72] 蔡庆群, 谢纯珠, 冯时茵, 等. 中国真龙虱药材及其混伪品的分子鉴定研究[J]. 中药材, 2023, 46(12): 2964-2968.

[73] 高开铭, 向玉林, 李莎, 等. 九香虫药材及其混伪品的 PCR 鉴别[J]. 中药材, 2022, 45(07): 1571-1576.

[74] 肖智扬, 胡力, 白云俊, 等. 煅牡蛎(长牡蛎)及其加工产品分子鉴定方法研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(23): 6264-6271.

[75] 徐岩, 段思琪, 翟英南, 等. 基于 Cyt b 基因的 PCR 技术对牛鞭药材的鉴定方法研究[J]. 中国药房, 2019, 30(24): 3408-3412.

[76] 孙娜, 郭晓华, 刘广纯. 金龟子部分种类 COI 基因序列比较分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2009, 40(06): 688-692.

[77] 兰春阳, 李翔, 李佩瑶, 等. 中药材茯苓 PCR 鉴定与特征[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(03): 414-421.

[78] 刘杰, 谷海媛, 戴胜云, 等. 基于巢式 PCR 的紫草鉴别引物筛选[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(05): 756-765.

[79] 黄享云, 张云, 唐庆强, 等. 牛肉产品重金属限量标准国内外比对研究[J]. 浙江农业科学, 2022, 63(12): 2904-2908.

[80] 马晓莉, 王虎, 梁翠云, 等. 中药重金属富集规律研究进展[J]. 医学研究与教育, 2022, 39(05): 31-38.

[81] 徐美玲, 孙婉萍, 曲扬, 等. 植物药材重金属残留药典标准研究[J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(02): 136-140.

[82] 孔繁越. 中药材重金属限量标准和农残限量标准研究及标准制定相关建议[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.

[83] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 361.

[84] Organization W H. Guidelines for the assessment of herbal medicines[J]. Fitoterapia, (1991).

[85] S.F.A.D.A.O. China. Technical Requirements for the Development of Fingerprints of TCM Injections[J]. BioDrugs, (2000).

[86] Administration U S F a D. FDA Guidance for Industry-Botanical Drug Products (Draft Guidance)[J]. Journal of biopharmaceutical statistics, (2000).

[87] 杨婉, 邹海英, 邱智东, 等. 基于物理指纹图谱与多指标成分定量测定构建升陷汤标准煎液质量评价方法[J]. 中草药, 2023, 54(06): 1804-1813.

[88] 徐小琼, 晋玲, 李熙灿, 等. 岷归红外光谱指纹图谱的建立及其鉴别模型构建[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(09): 1632-1637.

[89] 伍红年, 谭诗涵, 王元清, 等. 白三七及近源种药材指纹图谱与识别模式的构建及其应用研究[J]. 中草药, 2019, 50(01): 217-224.

[90] 刘天亮, 董诚明, 齐大明. 基于中药质量标志物（Q-marker）的金银花指纹图谱体系的构建思路[J]. 中草药, 2020, 51(01): 229-235.

[91] 李霞, 何志鹏, 王仕宝, 等. 基于 HPLC 的秦艽药材特征指纹图谱构建及主成分分析[J]. 甘肃农业大学学报, 2023, 58(03): 115-124+132.

[92] 李天娇, 包永睿, 王帅, 等. 中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6319-6327.

[93] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S].2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 230.

[94] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S].2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 59.

[95] 程樱, 费毅琴, 肖凌. 动物类中药材质量评价研究概况及分析[J]. 中国药事, 2017, 31(04): 381-388.

[96] 崔馨元, 王艳双, 李盈诺, 等. 貂心质量标准的研究[J]. 中成药, 2019, 41(12): 2858-2862.

[97] 徐嘉璠, 韩子璇, 陶晓倩, 等. 蒙药材质量标准及质量控制方法的研究进展[J]. 中南药学, 2024, 22(02): 279-285.

[98] 张茂强，丁孝坤，魏加印. 完善动物药质量标准中性状项的思路与方法[J]. 中国药房, 1999, (01): 46.

[99] Lutz Í, Martins T, Araújo F, et al. Molecular characterization of juvenile fish from the Amazon estuary using DNA barcoding approach[J]. PloS one, 2023, 18(9): e0292232.

[100] Ishii R, Poti T, Akimitsu K, et al. Species-specific detection of environmental DNA by endpoint PCR using mismatch base introducing primer design and nested PCR[J]. Limnology, 2025, (prepublish): 1-9.

[101] Zheng L, Gibbs M J, Rodoni B C. Quantitative PCR measurements of the effects of introducing inosines into primers provides guidelines for improved degenerate primer design[J]. Journal of Virological Methods, 2008, 153(2): 97-103.

[102] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 95.

[103] Mæhre H K, Dalheim L, Edvinsen G K, et al. Protein Determination-Method Matters[J]. Food, 2018, 7(1).

[104] 杜蒙, 孙允超, 李雯雯, 等. 凯氏定氮法测定花生中蛋白质方法的优化[J]. 食品安全导刊, 2023, (18): 125-127+131.

[105] 中华人民共和国药典:四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 29.

[106] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部:[S]. 2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 114.

[107] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 234.

[108] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部:[S]. 2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 232.

[109] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部:[S]. 2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 520.

[110] 内蒙古自治区药品监督管理局. 内蒙古蒙药饮片炮制规范 (2020 年版):[S]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2020: 337.

[111] 姚娜, 陈子繁, 赵雄, 等. 湖北江陵九店战国墓出土墨的科学分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(11): 3418-3423.

[112] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部:[S]. 2020 年版, 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 233.

[113] 旺杰次仁, 尕藏卓玛, 次卓玛, 等. 京墨中有害元素的含量测定及挥发油成分分析[J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(03): 34-37.

[114] 颜婷, 葛天嗣, 黄才欢, 等. 多环芳烃的形成、危害及其减控技术研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(14): 257-266.

[115] Choochuay C, Deelaman W, Pongpiachan S. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Thai and Myanmar Rice: Concentrations, Distribution and Health Concerns[J]. Nature Environment and Pollution Technology, 2023, 22(3): 1097-1110.

[116] Touranlou F A, Hashemi M, Ghavami V, et al. Concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bread and health risk assessment across the globe: A systematic review and meta-analysis.[J]. Comprehensive reviews in food science and food safety, 2024, 23(5): e13411.

[117] 中国科学院植物研究所主编. 中国高等.植物图鉴. 第 4 册[M]. 北京: 科学出版社, 2016: 523.

[118] 傅沛云. 东北植物检索表[M]. 北京: 科学出版社 第二版, 1995: 665.

[119] 布日额 阿, 包金泉,李景武. 蒙药材阿给的生药学研究[J]. 中国民族医药杂志, 1998, (S1): 53.

[120] 其其日乐格, 萨茹拉, 那生桑. 蒙药小白蒿与炒白蒿的质量标准研究[J]. 世界中医药, 2016, 11(04): 718-721.

[121] Ruibin B, Yanping W, Yangyang C, et al. Discrimination of three varieties of Codonopsis Radix based on fingerprint profiles of oligosaccharides by high performance liquid chromatography- evaporative light scattering detector combined with multivariate analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2022, 1685: 463642-463642.

[122] Jiajia F, Lu C, Qian Z, et al. Dual research on the quality and efficacy of antiviral oral liquid based on fingerprint techniques and chemometric analysis combined with network pharmacology[J]. Microchemical Journal, 2023, 194.

[123] Liang Y. Liquid chromatographic fingerprinting technique for quality control of Angelica sinensis and its preparation[J]. Applied Mathematics and Nonlinear Sciences, 2024, 9(1).

[124] Mingshu H, Shuai L, Cun L, et al. Quality evaluation of Syringae Folium using the five-wavelength fusion fingerprint technique combined with chemometric analysis and quantitative analysis of active constituents[J]. Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences, 2022, 1213: 123520-123520.

[125]Hasandeep S, Rohit A, Saroj A, et al. Ameliorative potential of Alstonia scholaris (Linn.) R. Br. against chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats[J]. BMC complementary and alternative medicine, 2017, 17(1): 63.

[126]Harnly J, Upton R. Variation in Botanical Reference Materials: Similarity of Actaea Racemosa Analyzed by Flow Injection Mass Spectrometry[J]. Journal of AOAC International, 2024, 107(2): 332-344.

[127]向欢, 涂慕鑫, 李玉, 等. 基于指纹图谱与化学计量学的淡竹叶质量控制研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2025, 48(02): 216-225.

[128]冯玉, 胡婧楠, 郗仲玟, 等. 不同产地大枣的 UPLC-MS/MS 多指标含量测定及化学模式识别研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(13): 1709-1715.

附录

质量标准草案

牛心 Niuxin

BOVIS COR

本品为牛科动物牛 *Bos taurus domesticus* Gmelin 的干燥心脏。宰杀后取心脏，除去脂肪，完整心脏低温烘干或切成数瓣，置通风处阴干或完整心脏低温烘干。

【性状】本品完整者呈心形，大小不等，长约 10~15 cm，宽约 6~10 cm，外表棕褐色至紫红褐色，表面皱缩不平，有空腔。体重质坚，断面棕褐色。多纵切成四片，呈椭圆形或圆锥形或切成条状。气腥，味甘。

【鉴别】（1）薄层鉴别

取牛心粉末 0.5 g，加 70%乙醇 5 mL，超声处理 15 分钟，滤过，滤液作为供试品溶液。另取亮氨酸对照品、缬氨酸对照品、赖氨酸对照品、谷氨酸对照品，加水制成每 1 mL 各含 0.1 mg 的混合溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2020 年版四部通则 0502）试验，吸取上述四种溶液 1.5 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以正丁醇-冰醋酸-水(4 : 2 : 1)为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 0.2%茚三酮正丁醇溶液，在 105℃下加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

（2）聚合酶链式反应法

模板 DNA 提取

取样品研成粉末，过 80 目筛。用试剂盒提取基因组操作如下：取约 200 mg 粉末置的无菌离心管中，先后加入 500 μL 细胞裂解缓冲液和 20 μL 消化液和蛋白酶 k，祸旋混匀，55℃下孵育 1 h。再加入 200 μL 沉淀缓冲液 13，涡旋混匀，冰浴 10 min。15000 r/min 离心 5 min，小心吸取上清液 600 μL 至 2 mL 离心管中。加入 300 μL 沉淀缓冲液 14，混匀，静置 5 min。加入 630 μL 异丙醇，混匀。15000 r/min 离心 5 min，弃上清液，保留沉淀。加入 100 μL 溶解缓冲液，反复吹打使沉淀完全溶解。加入 400 μL 结合缓冲液，混匀，将全部液体转移至离心管柱中，12000 r/min 离心 30 s，弃流出液。向离心柱中加入 500 μL 清洗缓冲液，12000 r/min 离心 30 s，弃流出液。再重复上一步骤。向离心柱中加入 500 μL 洗涤缓冲液，12000 r/min 离心 30 s，弃流出液。再重复上一步骤。12000 r/min 离心 2 min。弃流出液。将离心管置于新的离心管中，向膜中央加入 50 μL 洗脱缓冲液，室温静置 2 min，12000 r/min 离心 1 min，即可得到高质

量的基因组 DNA。

PCR 反应

引物：5'-TTAAACTTTCCAGGTGACCAAAAA-3'和 5'-AGCCGGCATCACAATGCTAT-3'。PCR 反应体系：在 200 μL 离心管中进行，反应总体积为 25 μL，反应体系包括通用引物（50 μmol/L)前后各 0.5 μL，PCRmix 12.5 μL，模板 DNA 2μL，无菌双蒸水 9.5 μL。将离心管置 PCR 仪中，用下面的参数进行 PCR 反应，得到扩增产物。将离心管置 PCR 仪，PCR 反应参数：94℃，5 min；(94℃30 s；54℃ 30 s；72℃ 30 s)循环反应 35 次，72℃延伸 5 min。

电泳检测

照琼脂糖凝胶电泳法(通则 0541)，配制胶浓度为 1%，胶中加入核酸染色剂 GelRed，供试品扩增产物与对照药材 PCR 反应溶液的上样量分别为 6 μL，DNA 分子量标记上样量为 5 μL。电泳结束后，取凝胶片在凝胶成像仪上或紫外透射仪上检视。供试品凝胶电泳图谱与对照药材凝胶电泳图谱在相同的位置上，在 125 bp 处应有单一 DNA 条带。

【检查】水分 不得过 16.0%依照（《中国药典》2020 年版，四部 通则 0832 第二法）。

总灰分 不得过 10.0%（《中国药典》2020 年版，四部 通则 2302）。

【浸出物】照水溶性浸出物测定法（《中国药典》2020 年版，四部通则 2201）项下的热浸法测定，用纯水作溶剂，不得少于 16.0%。

【含量测定】取本品粉末约 0.4 g，精密称定，照（《中国药典》2020 年版 四部 通则 0704 氮测定法 第三法）测定蛋白质含量。

本品按干燥品计算，蛋白质含量不得低于 25 g/100 g

【采收加工】全年均可采集，捕杀后取出心脏除去脂肪，切成数瓣，置通风处阴干或完整心脏低温烘干。

【炮制】牛心干取原药材，除去杂质；用时粉碎。

【性味与归经】甘、涩、重、腻、温。归心经。

【功能与主治】镇“赫依”，镇刺痛，补心。用于心“赫依”，心刺痛，心悸。

【用法用量】1～3 g，研粉，多入散、丸剂。

【贮藏】低温、密封保存，防潮、防蛀。

香墨

XiangMo

ATRAMENTUM AROMATICUM

本品为松烟、明胶、冰片、香料等加工制成的墨的炮制加工品。

【性状】本品呈方柱形、扁长方柱形或不规则长条形。表面黑色，微显光泽，质硬而脆，不易折断，断面不平坦，乌黑色，颗粒状，有白色小斑点及孔隙。气特异，微香，味淡。

【鉴别】称取香墨药材粉末 20 g（过 3 号筛），置烧瓶中，加水 250 mL，照挥发油测定法（《中国药典》2020 年版四部通则 2204 甲法）实验，自挥发油测定器上端加水使充满刻度部分，并溢流入烧瓶时为止，再加入石油醚（60~90℃ ）2 mL，加热至沸并保持微沸 3 小时，冷却至室温，分取石油醚液，作为供试品溶液。称取冰片对照品，加乙酸乙酯配制成浓度为 3 mg/mL 的溶液。按照 2020 年版《中国药典》薄层色谱法（通则 0502）实验操作要求，分别吸取上述对照品溶液 6 μL 和药材供试品溶液 7 μL，点于同一硅胶 G 薄层硅胶板上，以正己烷: 乙酸乙酯（17 ： 3）为展开剂展开，取出，晾干，喷以 1%香草醛硫酸溶液，在 105℃加热至斑点显色清晰，置日光下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

【检查】水分 不得超过 3.0%《中国药典》2020 年版，四部 通则 0832 第二法）。

总灰分 不得超过 50.0%（《中国药典》2020 年版，四部 通则 2302）。

酸不溶性灰分 不得超过 2.0%（通则 2302 ）

浸出物 照醇溶性浸出物测定法（《中国药典》2020 年版，四部 通则 2201）项下的热浸法测定，用 20%乙醇作溶剂，不得少于 12.0%。

【性味与归经】涩，平。归心、肝、肾经。

【功能与主治】清热，止血，消肿，杀“粘”，明目。用于胃热，鼻衄，月经过多，创伤出血，脱发，粘“热”。

【用法用量】1 ~ 3 g，多入汤、散、丸剂；香墨粉 0.25 ~ 0.5 g，加入处方，服用。

【贮藏】置干燥处，防潮。香墨粉密封。

小白蒿

XiaoBaiHao



ARTEMISIAE FRIGIDAE HERBA

本品为菊科多年生植物冷蒿 *Artemisia frigida* Willd.的干燥地上部分小白蒿的炮制净化品。

【性状】本品茎圆柱形，长短不一，直径 0.5 ~ 1 mm。表面灰绿色，具纵按线，密被灰白色茸毛。断面中部有髓，白色或中空。叶互生，灰黄绿色，1 ~ 3 回羽状全裂，小裂片条状披针形或矩圆形，密被灰白色茸毛。气香特异，味苦。

【鉴别】（1）取小白蒿粉末 1.0 g，加 70%乙醇 10 mL，超声处理 20 分钟，滤过，滤液作为供试品溶液。另取绿原酸对照品适量，精密称定，加入 70%乙醇制成每 1 mL 含绿原酸 0.1 mg，作为对照品溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2020 年版四部通则 0502）试验，分别吸取照品溶液 1 μL、供试品溶液 6 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸丁酯-甲酸-水（14 : 5 : 5）为展开剂，常温下饱和后展开，取出晾干，置于紫外灯 365 nm 波长下检视。结果，供试品与各对照品在相应的位置上，显相同颜色的斑点。

【检查】水分　不得超过 8.0%（通则 0832 第一法）。

总灰分　不得超过 12.0%（通则 2302）。

浸出物　照水溶性浸出物测定法（通则 2201）项下的热浸法测定，不得少于 8.0%。

重金属检测及有害元素　照铅、镉、砷、汞、铜测定法（通则 2321 原子吸收分光光度法或电感耦合等离子体质谱法）测定，铅不得过 5 mg/kg；镉不得过 1 mg/kg；砷不得过 2 mg/kg；汞不得过 0.2 mg/kg；铜不得过 20 mg/kg。

【含量测定】照高效液相色谱法（通则 0521）测定。

色谱条件与系统适用性试验　以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈－0.4%磷酸水溶液（12 : 88）为流动相；检测波长为 327 nm；柱温为 30 ℃。理论塔板数按绿原酸计应不低于 3000。

对照品溶液制备　取适量绿原酸对照品，精密称定，置于 10 mL 容量瓶中，加 50%甲醇制成每 1 mL 含绿原酸 0.12 mg 的溶液，即得对照品溶液。

供试品溶液制备　将样品粉碎，过 70 目筛。精密称取小白蒿粉末 0.5 g，置于锥形瓶中，加入 50 mL 50%甲醇溶液，室温浸泡 3 h 后，超声提取 30 min（150W，70 kHz），冷却后补足重量，随后以 3000 r/min 离心 15 min，精密吸取上清液 2 mL，置 100 mL 容量瓶中，加 50%甲醇稀释至刻度，摇匀，即得。取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

测定法　分别精密吸取参照物溶液与供试品溶液各 10 μL，注入液相色谱仪，测定，

即得。

本品按干燥品计算，绿原酸含量不得少于 0.2%。

【炮制】取小白蒿，除去杂质，洗净切小段，晾干。

【性味与归经】苦，凉、淡、糙、钝、燥。

【功能与主治】止血，消肿，消“奇哈”；用于各种出血，“亚玛”病，鼻痒，关节肿胀，肾热，月经不调。

【用法用量】3～6g，多人汤、散、丸剂；小白蒿粉 0.5～1 g，加入处方，服用；外用人散，调敦患处或适盘研末湿敷；药浴，与配伍药同放，取药汁，添入药浴。

【贮藏】置阴凉干燥处；小白蒿粉密封。

致谢

六月初夏，阳光洒落，一切美好如期而至。论文至此，心中涌现的不是想象已久的欢欣，却是难以言喻的失落。随着论文的终结，意味着我生命中最美好的学生时代即将结束，纵有百般不舍，这一天终究会在熙熙攘攘的喧嚣中决绝的来临。

三年寒窗，所收获的不仅仅是愈加丰厚的知识，更是开拓了我的视野，培养了我对科研工作的热爱。很庆幸这些年来我遇到了许多恩师益友，无论在学习上、生活上还是工作上都给予了我无私的帮助和热心的照顾，让我在诸多方面都有所成长。感恩之情难以用语言量度，谨以最朴实的话语致以最崇高的敬意。

首先，感谢我的恩师唐辉教授。唐老师学识渊博，修业严谨，对我所学精心指导，学不分巨细皆用心栽培，事无论大小悉严格要求。三年来我从恩师身上我体味到了丰富的学养、严谨的作风、求实的态度，勤奋的精神，这都是我不断前行的灯塔与动力。另外，感谢药物分析大课题组的刘敏老师、朱芸老师、李乐老师、刘雯霞老师、王翔飞老师、李慧芳老师、孙亚坤老师、孙成哲老师、廖兵武老师、王立萍老师、赵娜老师、刘江老师对我的帮助和指导。

感谢课题组的师哥李振玮、管辉、蒋正涛、张晨晨，师姐刘娜、袁小红、孙妍、张春丽，同级刘乐乐、刘营飞、雷泽瑞、宗慧，师弟杜俊龙、唐艳猛、宋子麟、杨满，师妹曹悦、侯仕敏、弋浩静、刘丽婷、刘子怡，同学苏肖、姜超、任立才、张亮，舍友张珍珍、郭丽、岳亚娟、(以上排名均不分先后)，在实验和生活上给予我的每一分帮助。感谢相遇，愿我们此去皆前程似锦，再相逢依旧如故。愿岁并谢，与友长兮。感谢我的朋友王珍琪、杨玲，很幸运自己一路走来，有你们的陪伴和安慰。

在漫漫求学路上，感谢我的父母对我的支持和鼓励。感谢我的姐姐马聪辉，是姊妹，亦是朋友！是我人生路上最坚强的后盾，感谢一路以来对我的鼓励与开导，在我迷惑时，为我拨开云雾。

学生时代的结束，亦是人生新的起点，来日定当继续奋进，不辜负你们的期望。感谢我在考研以及读研期间的朋友们，与你们相处的日子十分美妙，你们的鼓励我一直铭记于心，无时或忘。

最后用鲁迅先生的一段话为我的学生时代画上句号。愿中国青年都摆脱冷气，只是向上走，不必听自暴自弃者流的话，能做事的做事，能发声的发声，有一分热，发一分光，就令萤火一般，也可以在黑暗里发一点光，不必等候炬火，此后如竟没有炬火，我便是唯一的光。

作者简介

马玲，女，生于 1998 年 10 月，籍贯新疆伊犁霍城县。2021 年毕业于石河子大学药学院药学专业，获得理学学士学位。2022 年 9 月进入石河子大学药学院药学专业攻读理学硕士学位，主要从民族药及质量控制研究。

在校期间主要参与的研究项目

1. 参与横向课题：《牛心等药材质量标准制定》

在校期间发表的文章

1. 《蒙药材牛心的 PCR 鉴别及质量标准提升》，第一作者，《中南药学》，科技核刊。

2. 参与专利: 唐辉, 王珍琪, 张晨晨, 马玲等.利用超高效液相色谱指纹图谱评价药用大蒜品质的方法[P].

在校获奖情况

1. 2022 年 10 月，获得石河子大学硕士研究生三等学业奖学金

石河子大学硕士研究生学位论文导师评阅表

研究生姓名	马玲	学制	3 年
专业	药学	研究方向	药物制备及质量控制

蒙药复方制剂在蒙医药中应用最多，具有很好的临床疗效，蒙医药大多用生药，且成分复杂，质量标准很难把握。所以，在蒙医药事业发展中要更加重视蒙药的基础研究，应从基础理论研究入手，以传统的蒙医理论为指导，以临床疗效为客观指标，努力形成完整的、系统的、规范的基础研究体系。

药材和饮片的质量标准建立对质量检验、保证制剂在临床使用中的安全性和有效性等均有重要意义，该论文根据现有资料对动物药材牛心、矿物药材香墨、植物药材小白蒿 3 种蒙药材进行了基原鉴定和定性定量等研究，针对不同种类药材采用相应的较为科学的方法如显微鉴定，薄层色谱以及 PCR 鉴别等对研究的药材进行了定性研究，采用了化学分析法对研究的药材进行了定量的测定，并进行了方法学验证，结论可靠，参照中国药典的方法对药材进行了各种检查项目的研究，为蒙药材的质量控制提供了多方面的依据，具有有一定的实用性意义。拟定了各药材的质量标准草案，对提升新疆蒙药药品质量、技术标准、确保临床用药安全和提高新疆民族药地位等有重要作用。

论文选题符合专业培养目标，并且具有一定的实际意义。该同学参阅了大量的参考文献，具有较强的文献综述能力和坚实的理论基础，能熟练的掌握科研仪器和工具，论文条理清楚，语言流畅，图表规范。将较为先进科学的方法应用到了民族药的质量标准研究中，具有一定的创新性，说明该生具有较好的专业基础知识以及初步的独立科研工作能力。整个研究设计合理，研究方法科学，数据详实，达到了硕士学位论文的水平。

指导教师签字:

2025 年 5 月 25 日