

# 小飞蓬药材薄层鉴别与含量测定

邵帅, 严铭铭\*, 毕胜男, 万志强, 黄耀玲  
(长春中医药大学, 吉林 长春 130117)

**[摘要]** 目的:探讨小飞蓬药材定性、定量检测方法。方法:采用 TLC 鉴别小飞蓬中的槲皮素, HPLC 测定小飞蓬中槲皮素的含量。结果: TLC 以正己烷-乙酸丁酯-甲酸(6:5:1)为展开系统, 可以清晰地检测槲皮素; HPLC 采用日本岛津 Shimadzu C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)色谱柱, 流动相-甲醇-0.4% 磷酸(47:53), 检测波长 257 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 槲皮素在 0.504 ~ 1.134 μg 呈良好线性关系, 平均回收率分别为 97.97%, RSD 分别为 1.2%。结论: 该法可作为小飞蓬药材的定性、定量检测方法。

**[关键词]** 小飞蓬; 槲皮素; TLC; HPLC

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)24-0101-03

## Identification and Determination of *Erigeron canadensis*

SHAO Shuai, YAN Ming-ming\*, BI Sheng-nan, WAN Zhi-qiang, HUANG Yao-ling  
(Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

**[Abstract]** **Objective:** To discuss detection method of the qualitative and quantitative of *Erigeron canadensis*. **Method:** TLC was used to determine quercetin of *E. canadensis*. The content of quercetin was determined by HPLC. **Result:** n-Hexane-butyl acetate-formic (6:5:1) is used as TLC deployment system. It may clearly detect quercetin; Shimadzu C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used in HPLC with mobile phase methanol-0.4% phosphoric acid (47:53). The detection wavelength was set at 257 nm and the flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>; the column temperature was at 30 °C. The linear range of quercetin were respectively 0.504-1.134 μg, and their average recovery were respectively 97.97%, RSD were respectively 1.2%. **Conclusion:** This method is used as detection method of the qualitative and quantitative of *E. canadensis*.

**[Key words]** *E. canadensis*; quercetin; TLC; HPLC

菊科植物小飞蓬又名祁州一枝蒿、白花蛇舌草、竹叶艾、鱼胆草、苦蒿、破布艾、臭艾、小山艾, 主产于东北地区及内蒙古、山西、陕西、山东、浙江、云南等地, 为民间药材。据《长白山植物药志》记载, 其性凉, 味辛, 苦, 具有清热利湿、散瘀消肿的功效, 主治肠炎, 痢疾, 传染性肝炎, 胆囊炎; 外用治牛皮癣, 跌打损伤, 疮疖肿毒, 风湿骨痛, 外伤出血; 鲜叶捣汁治

中耳炎, 眼结膜炎<sup>[1]</sup>。本课题组以小飞蓬为原料, 对其有效组分群及活性成分进行了系统地研究, 从中提取分离出具有重要药用前景的有效组分群<sup>[2]</sup>。为了更好的开发和利用这一民间药用资源, 本研究通过对小飞蓬药材薄层鉴别及含量测定等方面的研究, 建立了小飞蓬药材标准, 为更有效地控制小飞蓬这一民间药材的质量及开发新药提供参考。

### 1 仪器与试剂

日本岛津高效液相色谱仪, METTLER TOLEDO 电子天平, 硅胶 G 预制薄层板(青岛海洋化工厂), HPLC 级甲醇(美国 Fisher 公司), 其他试剂均为分析纯。对照品槲皮素(中国药品生物制品检定所); 5 个不同产地的小飞蓬药材(来源于吉林省长白县、蛟河、吉林农大、磐石、左家)经长春中医药大学邓明鲁教授鉴定为小飞蓬 *Erigeron canadensis* L. 的干

**[收稿日期]** 20120511(008)

**[基金项目]** 国家重大新药创制专项(2009ZX09103-323)

**[第一作者]** 邵帅, 博士研究生, 讲师, 从事药物化学、中药化学及新药研究开发, Tel: 13689822307, E-mail: ss36038612@163.com

**[通讯作者]** \* 严铭铭, 博士研究生, 教授, 从事中药化学及新药研究开发

燥全草。

## 2 方法与结果

### 2.1 定性鉴别

**2.1.1 对照品溶液制备** 取槲皮素对照品适量,分别加乙醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液制备** 取 5 批小飞蓬药材粗粉各 10 g,加 95% 乙醇 150 mL,回流提取 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇拌样上聚酰胺,分别用水,50% 乙醇,95% 乙醇洗涤,弃去水与 50% 乙醇洗脱液,收集 95% 乙醇洗脱液浓缩至 5 mL,作为供试品溶液。

**2.1.3 按照薄层色谱法<sup>[3]</sup> 试验**,分别吸取上述供试品和对照品液各 15  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用正己烷-醋酸丁酯-甲酸(6:5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 3% 三氯化铝乙醇溶液,加热至 105  $^{\circ}$ C,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,分别显相同颜色的荧光斑点。见图 1。

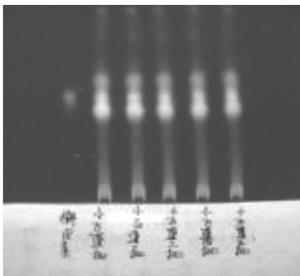


图 1 五产地小飞蓬药材薄层色谱鉴别

### 2.2 定量测定

**2.2.1 色谱条件** Shimadzu C<sub>18</sub> (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m) 柱,流动相甲醇-0.4% 磷酸(47:53),检测波长 257 nm,流速 1 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>,柱温 30  $^{\circ}$ C<sup>[4]</sup>。

**2.2.2 对照品溶液制备** 分别精密称取槲皮素 2.02 mg 置 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀制成对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液制备** 取小飞蓬药材粗粉 10 g,加 95% 乙醇 200 mL,回流提取 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇拌样上聚酰胺,分别用水,50% 乙醇,95% 乙醇洗涤,弃去水与 50% 乙醇洗脱液,收集 95% 乙醇洗脱液浓缩至 50 mL,作为供试品溶液。

**2.2.4 线性关系考察** 精密吸取所配制对照品溶液 8.0,10.0,12.0,14.0,16.0,18.0  $\mu$ L 注入高效液相色谱仪中。按照上述色谱条件测定峰面积,以峰面积为纵坐标,对照品的进样量为横坐标,绘制标准曲线。计算得槲皮素的回归方程为  $Y = 1.070X + 23.685$  ( $r = 0.9999$ )。结果表明,槲皮素在 0.504 ~

1.134  $\mu$ g 线性关系良好。

**2.2.5 精密度试验** 精密吸取对照品液 10  $\mu$ L,按上述色谱条件测定,重复进样 5 次,记录所得峰面积的积分值,测得槲皮素的 RSD 为 0.44%,试验结果表明精密度良好。

**2.2.6 稳定性试验** 精密吸取新制备的供试品溶液分别于配制后室温放置 0,2,4,6,8,10,12 h,精密吸取 10  $\mu$ L,按照上述色谱条件测定峰面积积分值,槲皮素的 RSD 1.34%,结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

**2.2.7 重复性试验** 分别称取同批小飞蓬药材粗粉 5 份,按上述供试品溶液制备,精密吸取 10  $\mu$ L,按上述色谱条件测定峰面积积分值,槲皮素的 RSD 1.41%,重复性良好。

**2.2.8 回收率试验** 精密称取已测定含量的小飞蓬药材粗粉(长白山)6 份,每份 5 g,分别加槲皮素 1 mg,按供试品溶液制备方法制备,测定。槲皮素平均回收率为 97.97%,RSD 1.20%。见表 1。

表 1 槲皮素加样回收率试验

样品中量/mg	加入量/mg	实测值	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1.39	1.02	2.39	97.95	97.97	1.203
1.31	1.06	2.36	99.22		
1.35	1.01	2.34	98.49		
1.29	1.04	2.31	98.15		
1.30	1.03	2.32	98.24		
1.32	1.02	2.30	96.05		

**2.2.9 样品的含量测定** 精密称取采自不同地区的 5 份小飞蓬药材粗粉各 10 g,按 2.2.3 项下供试品溶液制备,分别精密吸取对照品溶液及各供试品溶液各 10  $\mu$ L,按上述色谱条件依次进样,以外标法计算其中槲皮素质量分数为 0.025 3%。见表 2,图 2,3。

## 3 讨论

小飞蓬中黄酮为其有效组分群,槲皮素为黄酮类化合物,易溶于乙醇、甲醇、乙酸乙酯等有机溶剂,常采用回流、超声等提取方法<sup>[5]</sup>。本实验曾比较了不同溶剂(乙醇、甲醇、乙酸乙酯)提取;不同提取方法(回流、超声);不同提取时间,结果表明以乙醇回流提取 1 h 最佳。

鉴别实验中比较了多种展开系统,并用不同薄层板进行展开,结果采用硅胶 G 薄层板,以正己烷-醋酸丁酯-甲酸(6:5:1)为展开剂,Rf 值适中,斑点

表2 不同产地小飞蓬中槲皮素含量测定

样品	取样量 /g	含量/%	平均含量 /%
长白县	5.05	0.028 6	0.028 6
	5.02	0.028 7	
	5.06	0.022 8	
蛟河	5.04	505.9	0.022 8 0.022 7
	5.01	0.023 5	
吉林农大	5.03	0.023 6	0.023 5
	5.08	0.026 3	
磐石	5.09	0.026 5	0.026 4
	5.06	0.025 5	
左家	5.08	0.025 6	0.025 5

分离较好,经喷3%三氯化铝乙醇溶液显色后,斑点清晰,重复性好。含量测定实验中曾比较了不同种类的流动相,经反复实验以甲醇-0.4%磷酸(47:53)为流动相,分离效果最好<sup>[6]</sup>。

槲皮素为黄酮类化合物,所以在实验中我们选择几种适合分离黄酮类成分的树脂,以树脂的吸附量、洗脱量和在洗脱物中槲皮素的含量为指标,对树脂类型进行筛选。综合考虑多种因素,最终筛选出聚酰胺树脂,其对小飞蓬中槲皮素的吸附量大,解吸容易,吸附后浸膏中有效成分的含量高,是一种性能良好吸附剂。

### [参考文献]

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第74卷[M]. 北京:科学出版社,1985:327.
- [2] 邵帅,严铭铭,毕胜男,等. 小飞蓬化学成分研究[J]. 中国药学杂志,2009,44(14):1053.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录VIB.
- [4] 孟宪生,沙明,曹爱民,等. HPLC法测定莲须中槲皮素和山奈酚的含量[J]. 中成药,2003,25(12):1004.
- [5] 危华玲,杨青,韦红音. 高效液相色谱法测定山楂叶提取物中槲皮素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,10(8):10.
- [6] 鞠成国,王巍,赵焕军,等. HPLC测定急性子中总黄酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(1):77.

[责任编辑 顾雪竹]

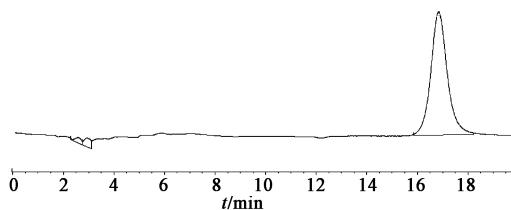


图2 对照品 HPLC 图谱

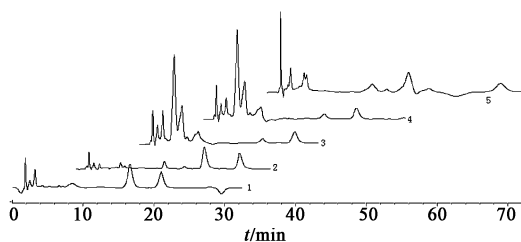


图3 5个产地小飞蓬 HPLC 图谱