

蒙药材飞廉的定性及定量研究

温爱平, 杨来秀, 王玉华(内蒙古医学院药学院, 呼和浩特 010059)

摘要: 目的 建立飞廉药材的定性及定量方法。方法 分别采用化学法和薄层色谱法对飞廉药材中的黄酮类成分和绿原酸进行定性鉴别, 并采用高效液相色谱法测定绿原酸的含量。色谱柱为 Hypersil ODS2 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.5%醋酸(15:85); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 25 °C; 检测波长为 325 nm。结果 定性鉴别试验特征明显, 绿原酸在 0.088~1.76 μg 内呈良好的线性关系, 平均回收率为 100.3%(RSD 为 1.52%)。结论 该方法简便、快速, 重复性好, 准确度高, 可有效控制飞廉药材的质量。

关键词: 飞廉; 绿原酸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R282.71

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)08-0732-03

Qualitative and Quantitative Study of Mongolian Medicine *Carduus Crispus*

WEN Aiping, YANG Laixiu, WANG Yuhua(Department of Pharmacy, Inner Mongolia Medical College, Huhhot 010059, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the qualitative and quantitative determination of *Carduus crispus*. **METHODS** Flavonoids and chlorogenic acid were identified by chemical method and TLC respectively, and the chlorogenic acid was determined by HPLC. The analysis of chlorogenic acid was carried on a Hypersil ODS2 column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) using methanol-0.5% acetic acid(15:85) as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The column temperature was set at 25 °C, and detecting wavelength was 325 nm. **RESULTS** The obvious characteristics were observed in qualitative identification test. There was a good linear relationship over the range of 0.088~1.76 μg for chlorogenic acid. The average recovery was 100.3% with RSD of 1.52%. **CONCLUSION** The developed method is simple, rapid, reproducible and accurate. It can be used for the quality control of *Carduus crispus*.

KEY WORDS: *Carduus crispus*; chlorogenic acid; TLC; HPLC

飞廉为菊科植物飞廉 *Carduus crispus* L.的干燥地上部分, 全草入中药, 地上部分入蒙药, 蒙药名为哈日-侵瓦音-乌日格斯, 具有催吐巴达干、制伏痈疽、消肿的功能, 主治消化不良、剑突巴达干、痈疽等症^[1]。飞廉中的化学成分研究报道较少, 茎部含有降压生物碱飞廉碱(acanthoidine, ruscopine)和去氢飞廉碱(acanthoine, ruscopeine)^[2]; 文献[3]报道有香树脂醇棕榈酸酯、槲草素葡萄糖

苷等化学成分; 而藏药标准^[4]中对飞廉中的绿原酸和芦丁进行薄层鉴别, 本试验分别采用化学法和薄层色谱法对飞廉中的黄酮类成分和绿原酸进行定性鉴别, 并采用高效液相色谱法对绿原酸进行定量测定, 为控制蒙药材飞廉的质量提供科学依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); JL 型超声波清洗器(上海杰理科技有限公司)。

基金项目: 内蒙古自治区蒙药现代化研究项目-蒙药材质量标准研究(MX2005ZB019)

作者简介: 温爱平, 女, 教授 Tel: (0471)6653151 E-mail: aiping221@126.com

绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110753-200212, 供含量测定用); 飞廉药材(样品 1 采自大青山三岔口, 样品 2 采自锡盟赛罕乌拉, 样品 3 采自呼和浩特市土左旗, 样品 4 采自呼和浩特市武川县黑大门, 样品 5 采自大青山林场); 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为纯化水。

2 定性鉴别

2.1 盐酸-镁粉反应

取本品粉末 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 80%乙醇 25 mL, 超声处理 1 h, 滤过, 取滤液作为供试品溶液。

取供试液 1 mL 两份, 置两支试管中, 其中一支加入少量镁粉, 并滴加盐酸数滴, 同置于水浴上加热 1 min 后, 取出观察, 不加盐酸镁粉的溶液为橙黄色, 加盐酸镁粉变为红棕色。

2.2 三氯化铝反应

取供试液 1 mL 两份, 置两支试管中, 其中一支加入少量 1%三氯化铝溶液, 不加三氯化铝溶液为黄色, 加三氯化铝溶液呈黄绿色荧光。

2.3 氨水反应

取供试液 1 mL 两份, 置两支试管中, 其中一支加少量氨水, 不加氨水溶液为橙黄色, 加氨水溶液为黄绿色荧光。

2.4 薄层色谱

取本品粉末 2 g, 加 50%甲醇 50 mL, 超声处理 60 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 2 mL 甲醇溶解, 作为供试品溶液。取绿原酸对照品, 用 50%甲醇制成 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液作为对照品溶液。分别吸取供试品溶液和对照品溶液各 5 μL , 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸丁酯-甲酸-水(2:1:1)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干。置紫外光灯(365 nm)下观察, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应位置上显相同的蓝色荧光斑点。结果见图 1。

3 绿原酸的含量测定

3.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Hypersil ODS2 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.5%醋酸(15:85); 检测波长: 325 nm; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

在上述色谱条件下, 绿原酸与其他成分色谱峰分离完全, 与相邻峰的分高度大于 1.5, 理论板数按绿原酸峰计算在 3 000 以上。色谱图见图 2。

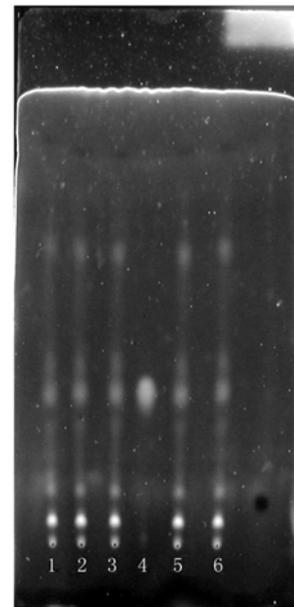


图 1 飞廉中绿原酸的 TLC 图

1, 2, 3, 5, 6-样品; 4-绿原酸对照品

Fig 1 TLC chromatogram of chlorogenic acid in *Carduus crispus*

1, 2, 3, 5, 6-sample; 4-control of chlorogenic acid

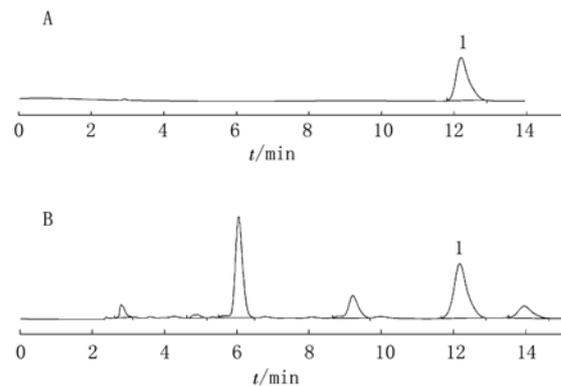


图 2 高效液相色谱图

A-绿原酸对照品; B-样品; 1-绿原酸

Fig 2 HPLC chromatograms

A-control of chlorogenic acid; B-sample; 1-chlorogenic acid

3.2 供试品溶液的制备

取本品 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50%甲醇 25 mL, 称重, 超声处理 60 min, 取出, 放冷, 再次称重, 用 50%甲醇补足减失的重量, 滤过, 即得。

3.3 标准曲线制备

精密称取绿原酸对照品适量, 加 50%甲醇制成 $0.088 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 作为对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以峰面积为纵坐标,

进样量(μg)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $Y=1546.02X+3.52$, $r=0.9998$ 。结果表明:绿原酸在 $0.088\sim 1.76\ \mu\text{g}$ 内,其峰面积与进样量呈良好的线性关系。

3.4 仪器精密度试验

精密吸取对照品溶液 $5\ \mu\text{L}$,在上述色谱条件下重复进样6次,测得绿原酸峰面积的RSD为 0.41% ,表明仪器精密度良好。

3.5 稳定性试验

取赛罕乌拉(编号2)样品,按“3.2”项下方法处理,分别在0, 2, 4, 6, 8 h进样测定。色谱峰面积RSD为 0.52% ,表明供试品溶液放置8 h稳定。

3.6 重复性试验

取同一样品(编号2)6份,按“3.2”项下方法处理,进样测定,绿原酸含量的RSD为 0.71% ,表明该方法重复性良好。

3.7 回收率试验

采用加样回收法,取已知绿原酸含量($0.769\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)的2号样品6份,每份各 $1\ \text{g}$,精密称定,分别精密加入绿原酸对照品溶液适量,置水浴上蒸干后,按“3.2”项下方法处理,进样测定,记录峰面积,计算回收率。结果见表1,其平均回收率为 100.3% ,RSD为 1.52% 。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test($n=6$)

取样量/ g	含有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
1.0117	0.778	0.825	1.611	101.0		
1.0442	0.803	0.825	1.635	100.8		
1.0663	0.802	0.825	1.648	102.5	100.3	1.52
1.0104	0.777	0.825	1.585	97.9		
1.0143	0.780	0.825	1.602	99.6		
1.0108	0.785	0.825	1.612	100.2		

3.8 样品测定

精密称取绿原酸对照品适量,加 50% 甲醇制成 $40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 $10\ \mu\text{L}$,分别注入液相色谱仪,记录峰面积,按外标法计算含量。5批药材中绿原酸含量(按干燥品计算)测定结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=4$)

Tab 2 Content determination results of sample($n=4$)

样品编号	含量/%	RSD/%
1	0.0221	0.59
2	0.0834	0.32
3	0.0223	1.03
4	0.0281	0.87
5	0.0134	1.12

4 讨论

在供试品溶液的制备时,曾对不同的提取溶剂(甲醇和 50% 甲醇)和不同提取时间(30, 60, 90 min)分别进行了考察。结果表明:以 50% 的甲醇作溶剂、超声处理60 min时,供试品溶液中绿原酸的含量最高。

据文献[5-6]报道,采用高效液相色谱法测定绿原酸的含量时,常用甲醇和弱酸(醋酸或磷酸)为流动相,可较好地绿原酸与其他成分分开,笔者试验了3种不同配比的系统:甲醇- 0.1% 磷酸(25:75)、甲醇- 0.4% 磷酸(30:70)、甲醇- 0.5% 醋酸(15:85)。结果表明:甲醇- 0.5% 醋酸(15:85)系统分离效果较其他系统好,且保留时间适宜(约12 min)。

定性试验中的化学反应表明:飞廉药材中含有黄酮类成分,但薄层色谱和高效液相色谱经反复试验均未检出芦丁成分。

样品测定结果表明:不同产地的飞廉药材中绿原酸含量差异较大,其中样2中绿原酸的含量最高,故本法可有效控制飞廉药材药材的质量。

REFERENCES

- [1] State Administration of Traditional Chinese Materia Medica Editorial Board. Chinese Materia Medica(中华本草)[M]. Mongolian Volume. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2004: 80.
- [2] Inner Mongolia Autonomous Region Health Department. Flora of Inner Mongolia(内蒙古植物志)[M]. Hohhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 1986: 220.
- [3] ZHANG Q Y, WANG X Y, YING H P. Studies on the chemical constituents of *Carduus crispus* L. [J] China J Chin Meter Med(中国中药杂志), 2001, 26(12): 837-839.
- [4] Tibetan Medicine Standards(藏药标准) [S]. WS3-BC-0008-95: C1-8.
- [5] YU J P, WANG X Y, MA Z Y. Extraction of chlorogenic acid in *Lonicera chrysantha* fruit and its determination [J]. J Anhui Agri Sci(安徽农业科学), 2008, 36(6): 2199-2200.
- [6] QI X Y, CHEN W J, ZHANG S H. A RP-HPLC method for the determination of geniposide, geniposidic acid and chlorogenic acid in *Eucommia ulmoides* Oliv [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2000, 20(1): 45-48.

收稿日期: 2010-08-19