

基于总黄酮含量、TLC-生物自显影评价不同基原绿绒蒿质量

储 瑞, 刘儒达, 谢雨林, 杨 杨*, 王云红*
(重庆中医药学院中药学院, 重庆 402760)

摘要: **目的** 评价多刺绿绒蒿、总状绿绒蒿、全缘叶绿绒蒿、五脉绿绒蒿、毛瓣绿绒蒿质量。**方法** 紫外-可见分光光度法测定总黄酮含量, 进行 TLC 定性鉴别, DPPH 喷雾法进行生物自显影, 评价抗氧化活性。**结果** 5 种基原绿绒蒿中总黄酮含量无显著差异 ($P>0.05$), 区分度有限, TLC 色谱图可将药材区分为“刺儿恩类”“欧贝类”, 五脉绿绒蒿、毛瓣绿绒蒿特定斑点的抗氧化活性最强。**结论** 本实验构建“含量-图谱-活性”三位一体的评价模式, 可有效揭示不同基原绿绒蒿质量差异, 为解决该藏药基原混用的问题、建立其新的质量标准提供了科学依据。
关键词: 绿绒蒿; 基原; 总黄酮; TLC-生物自显影; 抗氧化活性; 谱效关系
中图分类号: R282 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)09-2874-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.09.004

Quality evaluation of different origins of *Meconopsis* spp. based on total flavonoids content and TLC-bioautography

CHU Rui, LIU Ru-da, XIE Yu-lin, YANG Yang*, WANG Yun-hong*
(School of Chinese Materia Medica, Chongqing University of Chinese Medicine, Chongqing 402760, China)

KEY WORDS: *Meconopsis* spp.; origins; total flavonoids; TLC-bioautography; anti-oxidant activity; spectrum-effect relationship

绿绒蒿属植物是“欧贝”“刺儿恩”等传统藏药的重要基原, 主要分布于西藏、青海、云南等高海拔地区^[1-3], 具有显著的抗氧化、抗炎、镇痛、保肝等活性^[4-9]。但该属植物种类繁多, 临床长期存在多基原同名入药、品种界定不明的问题^[10-11]。

黄酮是绿绒蒿属植物的主要活性成分, 也是其发挥抗炎、抗氧化作用的关键物质基础^[12], 目前对该类成分的质量评价大多局限于 HPLC 测定单一成分或总提取物含量^[13-17], 但前者难以表征整体概况, 而后者无法指明物质基础。此外, 绿绒蒿现行质量标准中缺少经系统优化、全面方法学验证的总黄酮含量测定方法, 从而制约了其质量控制水平的提升。

TLC-生物自显影将化学分离与活性测定可视化相结合, 正成为构建谱效关系的有力工具^[18-21]。

因此, 本实验建立紫外-可见分光光度法测定多刺绿绒蒿、总状绿绒蒿、全缘叶绿绒蒿、五脉绿绒蒿、毛瓣绿绒蒿中总黄酮含量, 以期填补该类成分质量控制短板, 并首次应用 TLC-生物自显影, 构建“总黄酮含量-TLC 指纹图谱-抗氧化活性”三位一体综合评价模式, 以期为解决绿绒蒿基原混用问题、建立该藏药全面的质量评价体系提供依据。

1 材料

1.1 仪器 UV2600 型紫外-可见分光光度计, 购自岛津企业管理(中国)有限公司; ZF-7ND 型智能暗箱式三用紫外分析仪, 购自上海嘉鹏科技有限公司; BSA224S 电子天平(万分之一), 购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; VGT-2013QTD 型超声机, 购自昆山市超声仪器有限公司; YHS-GZX-01 型电热恒热鼓风干燥箱, 购自上海龙跃仪

收稿日期: 2025-12-25
基金项目: 中国药品监管科学行动计划第二批重点项目(NMPAJGKX-2023-082)
作者简介: 储 瑞(1989—), 女, 硕士, 副研究员, 从事中药材药效物质基础及其质量标准研究。E-mail: churui@cqctcm.edu.cn
* 通信作者: 杨 杨(1990—), 女, 硕士, 副研究员, 从事中药制剂分析及其质量标准研究。E-mail: suiyhyang@163.com
王云红(1985—), 女, 硕士, 研究员, 从事中药炮制、中药传统及现代制剂、中药新药及其质量标准研究。E-mail: wangyunhong@cqctcm.edu.cn

器设备有限公司；HH-ZK6 型恒温水浴锅，购自巩义市予华仪器有限公司；UPR-II-20L 型超纯水机，购自四川优普超纯科技有限公司。

1.2 试剂 木犀草素（批号 7SP8-28ME）、芦丁（批号 P3MS-ZS02）对照品，均购自中国食品药品检定研究院；芹菜素对照品（批号 FY15090618），购自南通飞宇生物科技有限公司；槲皮素对照品

（批号 EK01A053），购自成都普思生物科技股份有限公司；2，2-联苯基-1-苦基肼基（DPPH）对照品（批号 C10505863），购自上海麦克林生化科技有限公司。其余试剂均为分析纯。

1.3 药材 绿绒蒿共 22 批（编号 1~22），均经重庆市中药研究院刘翔副研究员鉴定为正品，具体见表 1。

表 1 绿绒蒿信息

Tab. 1 Information of *Meconopsis* spp.

编号	基原	拉丁名	来源
1	多刺绿绒蒿	<i>Meconopsis horridula</i> Hook. f. et Thoms.	西藏江孜地区
2	多刺绿绒蒿	<i>Meconopsis horridula</i> Hook. f. et Thoms.	青海省西宁药材市场
3	多刺绿绒蒿	<i>Meconopsis horridula</i> Hook. f. et Thoms.	青海省西宁药材市场
4	多刺绿绒蒿	<i>Meconopsis horridula</i> Hook. f. et Thoms.	青海省西宁药材市场
5	多刺绿绒蒿	<i>Meconopsis horridula</i> Hook. f. et Thoms.	西藏江孜地区
6	总状绿绒蒿	<i>Meconopsis racemosa</i> Maxim.	青海省西宁药材市场
7	总状绿绒蒿	<i>Meconopsis racemosa</i> Maxim.	青海省西宁药材市场
8	总状绿绒蒿	<i>Meconopsis racemosa</i> Maxim.	青海省西宁药材市场
9	总状绿绒蒿	<i>Meconopsis racemosa</i> Maxim.	青海省西宁药材市场
10	总状绿绒蒿	<i>Meconopsis racemosa</i> Maxim.	青海省西宁药材市场
11	全缘叶绿绒蒿	<i>Meconopsis integrifolia</i> (Maxim). Franch.	青海省玛沁县大武镇
12	全缘叶绿绒蒿	<i>Meconopsis integrifolia</i> (Maxim). Franch.	青海省玛沁县大武镇
13	全缘叶绿绒蒿	<i>Meconopsis integrifolia</i> (Maxim). Franch.	青海省玛沁县大武镇
14	全缘叶绿绒蒿	<i>Meconopsis integrifolia</i> (Maxim). Franch.	青海省西宁药材市场
15	全缘叶绿绒蒿	<i>Meconopsis integrifolia</i> (Maxim). Franch.	青海省玛沁县大武镇
16	五脉绿绒蒿	<i>Meconopsis quintuplinervia</i> Regel	青海省西宁药材市场
17	五脉绿绒蒿	<i>Meconopsis quintuplinervia</i> Regel	青海省西宁药材市场
18	五脉绿绒蒿	<i>Meconopsis quintuplinervia</i> Regel	青海省西宁药材市场
19	五脉绿绒蒿	<i>Meconopsis quintuplinervia</i> Regel	青海省西宁药材市场
20	五脉绿绒蒿	<i>Meconopsis quintuplinervia</i> Regel	青海省西宁药材市场
21	毛瓣绿绒蒿	<i>Meconopsis torquata</i> Prain	西藏江孜地区
22	毛瓣绿绒蒿	<i>Meconopsis torquata</i> Prain	西藏江孜地区

2 方法

2.1 总黄酮含量测定 采用紫外-可见分光光度法。

2.1.1 溶液制备

2.1.1.1 对照品溶液 精密称取木犀草素、芦丁、芹菜素、槲皮素对照品适量，70% 乙醇制成每 1 mL 含 0.25 mg 各成分的溶液，即得。

2.1.1.2 供试品溶液 精密称取药材粉末（过 3 号筛）1 g，置于圆底烧瓶中，精密加入 100 mL 70% 乙醇，称定质量，加热回流 1 h，放冷，70% 乙醇补足减失的质量，摇匀，过滤，取续滤液，即得。

2.1.2 测定条件考察

2.1.2.1 参照物、检测波长 以五脉绿绒蒿（编号 17）为对象，与芦丁、芹菜素、槲皮素、木犀草素对照品进行全波长扫描。结果，供试品溶液光谱图与木犀草素的最相似，均在 499.0 nm 附近有最大吸收峰，综合考虑光谱匹配度及木犀草素抗炎

活性，最终确定木犀草素作为参照，检测波长为 499.0 nm。

2.1.2.2 供试品溶液制备方法 以总黄酮提取率为指标，五脉绿绒蒿（编号 17）为对象，分别考察了不同提取溶剂（甲醇、乙醇）、提取方法（回流、超声、冷浸）、提取时间（30、60、90、120 min）、料液比（1：25、1：50、1：100、1：200）、药材粉碎粒度（20、50、65 目）。结果，药材粉末过 3 号筛（50 目），以 70% 乙醇为提取溶剂，在料液比 1：100 下回流提取 1 h 时提取效率最高，并且稳定可行，即为最优供试品溶液制备方法。

2.1.2.3 显色条件 参照 2025 年版《中国药典》^[22]，以吸光度为指标，分别考察了 NaNO₂ 溶液（体积分数 5%、10%、15%，用量 1.0、1.5、2.0、2.5 mL，显色时间 3、6、10、15、20、30、60 min）、Al（NO₃）₃ 溶液（体积分数 5%、7%、

10%，用量0、0.3、1.0、1.5、2.0 mL，显色时间6、10、20、30、60 min）、NaOH 溶液（体积分数4%、8%、10%，用量4、6、8、10、12、15 mL，显色时间10、15、20、30、60 min）^[23-24]，结果见图1。由此可知，5% NaNO₂ 溶液用量为2 mL，10% Al（NO₃）₃ 溶液用量为1 mL，8% NaOH 溶液用量为12 mL时，吸光度最大，并且较稳定，综合考虑时间与成本，选择三者显色时间分别为6、10、10 min。

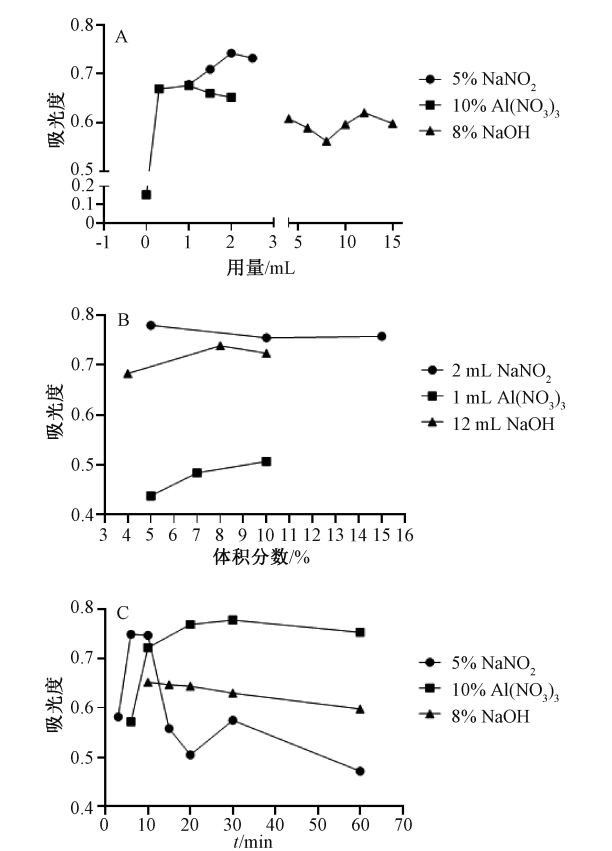


图1 3种溶液用量（A）、体积分数（B）、显色时间（C）优化结果

Fig. 1 Results for consumption (A), concentration (B) and coloration time (C) optimization of three solutions

2.1.2.4 最终显色方法 取供试品溶液1.0 mL，置于25 mL 量瓶中，精密加入2 mL 5% NaNO₂ 溶液，摇匀，放置6 min，再精密加入1 mL 10% Al（NO₃）₃ 溶液，摇匀，放置10 min，最后精密加入12 mL 8% NaOH 溶液，70% 乙醇稀释至刻度，摇匀，放置10 min，在30 min 内完成测定。

2.1.3 方法学考察

2.1.3.1 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 mL，置

于25 mL 量瓶中，按“2.1.2.4”项下方法显色，在499.0 nm 波长处测定吸光度。以对照品质量浓度为横坐标（X），吸光度为纵坐标（A）进行回归，得方程为 $A = 16.35X + 0.0224$ （ $r = 0.9997$ ），在0.015~0.045 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.1.3.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液适量，按“2.1.2.4”项下方法显色，在499.0 nm 波长处测定6次吸光度，测得其RSD为0.39%，表明仪器精密度良好。

2.1.3.3 重复性试验 精密称取五脉绿绒蒿（编号17）粉末0.5 g，共6份，按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.2.4”项下方法显色，在499.0 nm 波长处测定吸光度，测得其RSD为1.21%，表明该方法重复性良好。

2.1.3.4 加样回收率试验 精密称取五脉绿绒蒿（编号17）粉末0.1 g，共6份，加入适量含2.7 mg 木犀草素的对照品溶液，按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.2.4”项下方法显色，在499.0 nm 波长处测定吸光度，计算回收率。结果，平均加样回收率为99.63%，RSD为2.16%。

2.1.4 样品含量测定 取22批药材，按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液，分别取2.0 mL，置于25 mL 量瓶中，以相应试剂为空白，按“2.1.2.4”项下方法显色，在499.0 nm 波长处测定吸光度，计算含量。

2.2 TLC-生物自显影

2.2.1 TLC 色谱图建立 按照2025年版《中国药典》四部通则0502中的薄层色谱法，吸取10 μL “2.1.1”项下供试品溶液，点样于同一硅胶G 薄层板上，以环己烷-乙酸乙酯-甲酸（6：4：0.1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以10% 硫酸乙醇溶液，在105℃下加热至斑点清晰，在紫外光（254、365 nm）下检视。

2.2.2 抗氧化活性评价 TLC 板展开晾干，于日光下检视，喷以0.1% DPPH 乙醇溶液，晾干，在37℃下孵化20 min，再于日光下检视。

3 结果

3.1 总黄酮含量 5种绿绒蒿中总黄酮含量范围为1.20%~3.86%，见表2、图2，单因素方差分析、Tukey HSD 多重比较分析显示它们之间无显著差异（ $P > 0.05$ ），并且标准差为0.407~0.814，表明其组内个体变异较大，故仅依靠该指标难以对不同基原药材质量进行科学区分，并且五脉绿绒蒿、毛瓣绿绒蒿中其平均值较高。

表 2 总黄酮含量测定结果 (n=2)

Tab. 2 Results for content determination of total flavonoids (n=2)

编号	种类	平均含量/%	RSD/%
1	多刺绿绒蒿	1.53	1.31
2	多刺绿绒蒿	2.18	0.69
3	多刺绿绒蒿	1.55	2.25
4	多刺绿绒蒿	2.06	0.97
5	多刺绿绒蒿	1.68	1.79
6	总状绿绒蒿	1.75	0.86
7	总状绿绒蒿	1.88	2.13
8	总状绿绒蒿	1.38	1.09
9	总状绿绒蒿	1.52	3.29
10	总状绿绒蒿	1.81	0.55
11	全缘叶绿绒蒿	1.20	2.5
12	全缘叶绿绒蒿	1.47	0
13	全缘叶绿绒蒿	2.22	2.25
14	全缘叶绿绒蒿	3.16	0.79
15	全缘叶绿绒蒿	2.61	1.15
16	五脉绿绒蒿	1.50	0
17	五脉绿绒蒿	2.77	4.52
18	五脉绿绒蒿	1.50	1.66
19	五脉绿绒蒿	3.86	3.36
20	五脉绿绒蒿	2.59	1.35
21	毛瓣绿绒蒿	1.72	2.62
22	毛瓣绿绒蒿	2.79	1.43

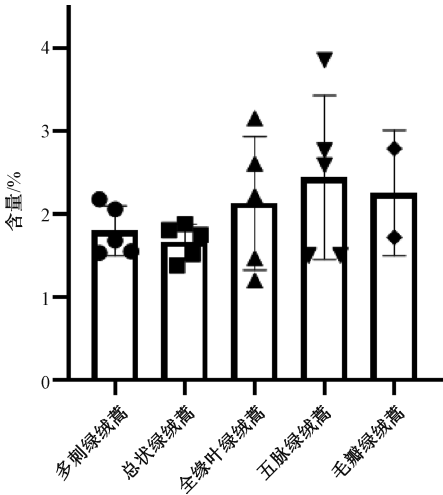
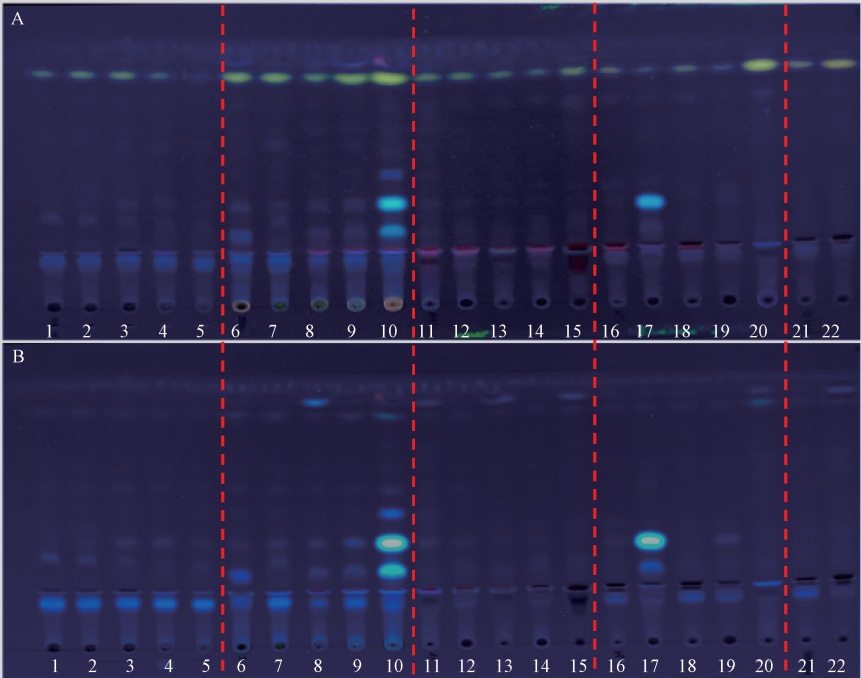


图 2 不同基原绿绒蒿中总黄酮含量比较
Fig. 2 Comparison of contents of total flavonoids in different origins of *Meconopsis* spp.

3.2 TLC-生物自显影

3.2.1 TLC 色谱图 图 3 显示，同一基原、不同批次绿绒蒿 TLC 斑点差异较小，其中多刺绿绒蒿、总状绿绒蒿色谱图相似，五脉绿绒蒿、全缘叶绿绒蒿的亦然，但这两大类之间存在显著差异。由此表明，TLC 法可有效区分不同基原绿绒蒿，也与藏药中“刺儿恩”（多刺绿绒蒿、总状绿绒蒿）“欧贝”（五脉绿绒蒿、全缘叶绿绒蒿、毛

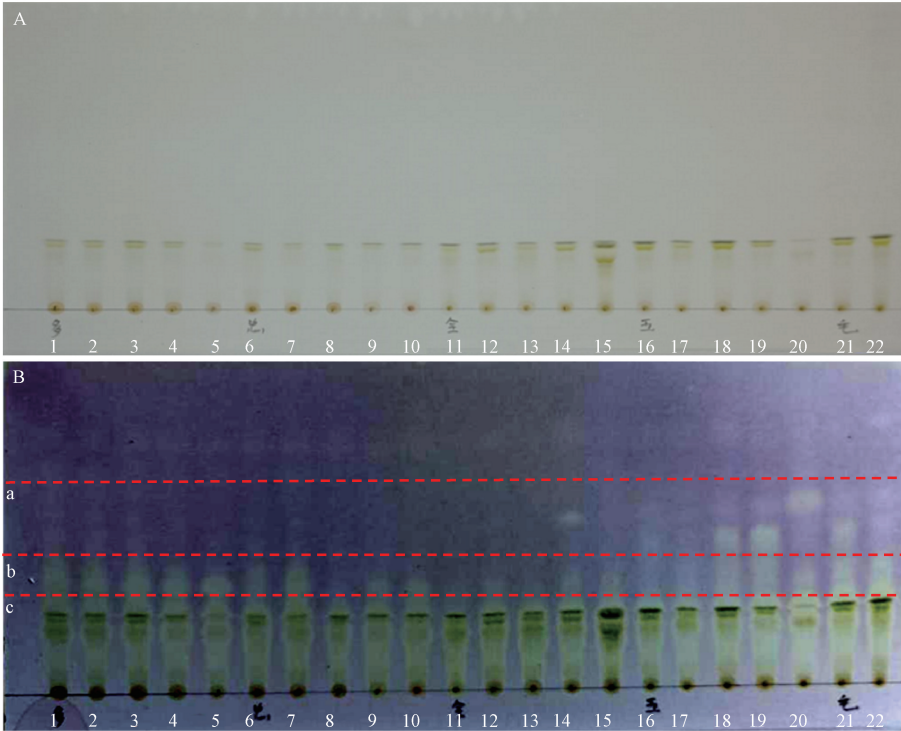


注：A 为 254 nm 波长，B 为 365 nm 波长。1~5 为多刺绿绒蒿，6~10 为总状绿绒蒿，11~15 为全缘叶绿绒蒿，16~20 为五脉绿绒蒿，21~22 为毛瓣绿绒蒿供试品

图 3 不同基原绿绒蒿 TLC 色谱图
Fig. 3 TLC chromatogram of different origins of *Meconopsis* spp

3.2.2 抗氧化活性 图 4A 显示，不同基原绿绒蒿斑点未明显区分；图 4B 显示，不同基原绿绒蒿在紫色背景上呈现黄白色斑点，表明它们均具有抗氧化活性。其中，五脉绿绒蒿、毛瓣绿绒蒿在 a 处的黄白色斑点颜色更深，面积更大，表明

两者所含的抗氧化活性成分含量可能更高；多刺绿绒蒿、五脉绿绒蒿、毛瓣绿绒蒿在 b 处存在抗氧化活性斑点，而总状绿绒蒿、全缘叶绿绒蒿未发现，进一步证实它们在活性物质基础上的差异性。



注：1~5 为多刺绿绒蒿，6~10 为总状绿绒蒿，11~15 为全缘叶绿绒蒿，16~20 为五脉绿绒蒿，21~22 为毛瓣绿绒蒿供试品

图 4 不同基原绿绒蒿 TLC 化学图谱 (A)、生物自显影图谱 (B)

Fig. 4 TLC chemical chromatogram (A) and bioautography chromatogram (B) of different origins of *Meconopsis* spp

3.2.3 小结 尽管不同基原绿绒蒿中总黄酮含量无明显差异，但 TLC-生物自显影能直观显示五脉绿绒蒿和毛瓣绿绒蒿具有更强的抗氧化活性。另外，总黄酮含量趋势（五脉绿绒蒿、毛瓣绿绒蒿中最高）与抗氧化活性强弱一致，而生物自显影进一步印证黄酮类化合物（特别是 a 区中）是主要活性物质基础。

4 讨论

4.1 总黄酮含量测定方法建立 针对绿绒蒿质量控制方法的缺失，本实验建立一套经完整方法学验证的紫外-可见分光光度法来测定总黄酮含量，其操作简便，成本低廉，稳定性好，为该药材质量评价提供了可靠的手段。

4.2 单一指标评价局限性 5 种基原绿绒蒿中总黄酮含量均无明显差异，表明其较大的组内变异掩盖了组间差异，故仅依靠该类成分难以有效区分药材优劣。同时，含量高不等于质量好，揭示了多基原药材质量评价的复杂性。

4.3 “谱效合一”模式优势 为了弥补单一指标的缺陷，本实验引入 TLC-生物自显影。结果，TLC 化学图谱成功将绿绒蒿聚类为“刺儿恩”“欧贝”，验证了传统分类的科学性。更关键的是，生物自显影实现了药效可视化，直观揭示五脉绿绒蒿和毛瓣绿绒蒿在特定区域中具有更强的自由基清除能力，表明该藏药抗氧化活性并非简单取决于黄酮含量的叠加，而是更依赖于特定种类、活性较强的成分。

5 结论

本实验所构建的“含量-图谱-活性”三位一体模式直接关联了化学成分与药理活性，比单纯的含量测定更能精准反映绿绒蒿内在品质，为制定该藏药更科学、更能体现临床价值的质量标准提供了新思路。今后，将结合 HPLC-MS/MS 法鉴定绿绒蒿中活性较强的成分，以期进一步明确该藏药药效物质基础。

参考文献:

[1] 赵 凤, 张和新歌, 白睿峰, 等. 藏药多刺绿绒蒿的化学和药理学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42 (19): 3676-3683.

[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (藏药卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 101; 169; 173; 180.

[3] 罗达尚. 新修晶珠本草[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2004: 318-324.

[4] He J S, Huang B, Ban X Q, *et al.* *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of the ethanolic extract from *Meconopsis quintuplinervia*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(1): 104-110.

[5] 于瑞雪, 张玉佩, 吴 楠, 等. 藏药五脉绿绒蒿总生物碱的抗炎作用研究[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32 (4): 461-466.

[6] 李玉凰, 阳 勇, 张成江, 等. 基于镇痛、抗炎和抗氧化活性的绿绒蒿品种分类[J]. 中成药, 2022, 44(12): 4068-4071.

[7] 王志旺, 王瑞琼, 郭 玫, 等. 甘肃产藏药五脉绿绒蒿总黄酮对小鼠实验性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 206-209.

[8] 马 静, 郭 阳, 张国英, 等. 响应面法优化超声辅助提取多刺绿绒蒿总黄酮工艺及抗氧化研究[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(6): 31-38.

[9] Guo Q, Bai R F, Zhao B S, *et al.* An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review of the genus *Meconopsis*[J]. *Am J Chin Med*, 2016, 44(3): 439-462.

[10] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准 (藏药第一册) [S]. 1995: 39; 98.

[11] 卫生部药品生物制品检定所, 云南省药品检验所. 中国民族药志 (第一卷) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 462.

[12] 龚 宇, 周惠祯, 陈胡兰. 近十年绿绒蒿属药用植物的研究进展[J]. 中药材, 2020, 43(3): 758-763.

[13] 邵 晶, 郭 玫, 樊 秦, 等. 甘肃产不同品种藏药绿绒蒿的质量评价方法研究[J]. 中药材, 2011, 34(11): 1678-1681.

[14] 余成龙, 宋良科, 吴蜀星, 等. 藏药红花绿绒蒿中木犀草素的定性定量分析[J]. 现代中药研究与实践, 2014, 28(5): 26-29.

[15] 向海燕, 黄艳菲, 金 乾, 等. UPLC 测定全缘叶绿绒蒿花中 3 种黄酮类成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 51-55.

[16] 谢晓梅, 田冰梅, 沈盼盼, 等. 基于薄层色谱-生物自显影法的宣木瓜不同极性部位抗氧化活性物质基础研究[C]// 中华中医药学会第十六次医史文献分会学术年会论文汇编. 黄山: 中华中医药学会, 2014: 344-346.

[17] 王志旺, 张 扬, 程 芳, 等. 五脉绿绒蒿总黄酮及其中苜蓿素的体外抗氧化活性[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(22): 4381-4383.

[18] 郭金凤, 张俊妹, 张 芳, 等. TLC-生物自显影法筛选榆叶合叶子的抗氧化活性[J]. 中国民族民间医药, 2013, 22(24): 9-10.

[19] 周艳林, 闵建国, 王力生, 等. TLC-生物自显影法导向分离菝葜中抗氧化活性成分[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(4): 799-802.

[20] 谷丽华, 吴 弢, 张紫佳, 等. 应用薄层色谱-生物自显影技术评价乌药等三种中药的抗氧化活性[J]. 药科学报, 2006, 41(10): 956-962.

[21] 单体江, 张伟豪, 王 松, 等. TLC-生物自显影检测 26 种植物中的抗细菌和抗氧化活性物质[J]. 植物保护, 2018, 44(6): 66-72.

[22] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2025 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2025: 380.

[23] 郑杭生, 李计萍, 韩 炜, 等. 紫外-可见分光光度法测定总黄酮含量的方法学考察要点[J]. 中成药, 2008, 30(9): 1364-1365.

[24] 张文莉, 高 敏, 石森林. 分光光度法测定山楂叶提取物中总黄酮的含量[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(5): 1148-1151.