

不同药用菊花品种绿原酸含量的 RP-HPLC 分析

顾瑶华, 秦民坚^①

(中国药科大学中药资源学研究室, 江苏 南京 210038)

RP-HPLC analysis of chlorogenic acid contents in different medicinal cultivars of *Dendranthema morifolium* GU Yao-hua, QIN Min-jian^① (Department of Sciences of Chinese Medicines Resources, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2005, 14(2): 56-57

Abstract: The chlorogenic acid contents in 13 cultivars of *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel. from 4 provinces in China were determined by RP-HPLC. The results showed that the contents of chlorogenic acid in different medicinal cultivars of *D. morifolium* were Hangju 'Xiao huangju' 0.243%, Hangju 'Xiao yangju' 0.457%, Hangju 'Da yangju' 0.309%, Hangju 'Yizhong Dayangju' 0.306%, Hangju 'Da yangju' (processed by microwaves) 0.511%, Huaiju 'Xiao baiju' 0.554%, Huaiju 'Da baiju' 0.224%, Huaiju 'Da huangju' 0.655%, Jiju 0.434%, Boju 0.161%, Gongju 0.719%, Chuju 0.397% and Zhonghuagongju 0.590%. The content of chlorogenic acid in Gongju from Huangshan, Anhui Province is higher than those from other cultivars significantly.

关键词: 菊花; 高效液相色谱; 绿原酸

Key words: *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel.; RP-HPLC; chlorogenic acid

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2005)02-0056-02

药用菊花系菊科植物菊 [*Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel.] 的干燥头状花序, 具有清心、明目、疏散风热的功效, 临床用于治疗冠心病和高血压等^[1]。菊花为常用中药, 使用量大, 产地多, 加工方法各异。中国菊花的药用类群通过人工长期栽培选育已形成一些相对稳定的栽培变种^[2], 由于受产地、气候和生态环境等因素的影响, 不同菊花药材品种所含主要成分差异较大。中华人民共和国药典 2000 年版采用绿原酸作为菊花含量测定的指标^[3], 据此, 本实验采用 RP-HPLC 法测定了来源于 4 省 13 个菊花品种的绿原酸含量, 以期对药材菊花种质资源评价及利用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

惠普 HP-1100 系列高效液相色谱仪 (包括 G1311A 四元泵、G1315 二极管阵列检测器、G1328A 手动进样器和 HS 色谱数据工作站)。色谱柱 Kromasil C₁₈ 柱。绿原酸对照品由中国药品生物制品检定所提供。

滁菊和贡菊样品由安徽滁菊研究所提供; 亳菊为亳州市场品。其他样品由作者采集 (采集时间为 2003 年 10 月至 11 月), 包括杭白菊 4 种: 异种大洋菊、小黄菊、小洋菊和大洋菊; 怀菊 3 种: 大白菊、大黄菊和小黄菊; 济菊; 中华贡菊。样品经秦民坚博士鉴定为菊科植物菊的头状花序。

1.2 实验方法

1.2.1 液相色谱条件 流动相以 V(甲醇): V(水): V(磷酸) = 30: 70: 0.4 等度洗脱。检测波长 328 nm; 流速 0.8

mL · min⁻¹; 柱温为室温; 进样量 20 μL。

1.2.2 线性关系考察 精密称取对照品绿原酸 2.000 mg, 加甲醇溶解配制成 0.200 mg · mL⁻¹ 对照品溶液, 精密吸取 0.5 mL 分别置于 10、5、2 和 1 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 分别进样 20 μL, 按色谱条件进行分析测定, 以对照品的进样量 (X) 为横坐标, 峰面积值 (Y) 为纵坐标进行回归分析, 回归方程为: $Y = 4.5479 \times 10^4 X - 7.1559 \times 10^3$, $r = 0.9997$, 绿原酸浓度在 0.400 0 ~ 4.000 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

1.2.3 样品测定 精密称取菊花粉末 1 g, 置索氏提取器中, 加甲醇 50 mL, 提取至无色。提取液蒸干, 残渣用适量甲醇溶解, 过滤, 残渣用甲醇洗涤, 合并洗液和滤液, 用 30% 甲醇定容至 50 mL, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 作为供试品溶液。精确吸取供试品溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪, 按前述色谱条件测定峰面积, 利用回归方程计算绿原酸含量。

1.2.4 精密度试验 精密吸取绿原酸对照品溶液 20 μL 进样分析, 重复 5 次, RSD 为 0.753% (n=5)。

1.2.5 稳定性试验 精密称取 1 份样品粉末, 按样品测定方法进行分析, 分别于 0、2、4、8 和 16 h 进样 5 次, RSD 为 0.708% (n=5)。

1.2.6 重现性试验 精密称取 5 份同一样品粉末 (过 1 号筛), 按样品测定方法进行分析, RSD 为 0.742% (n=5)。

1.2.7 加样回收率试验 精密称取 5 份已知含量的同一样

收稿日期: 2004-10-18

作者简介: 顾瑶华 (1979-), 女, 江苏苏州人, 硕士研究生, 主要从事药用植物种质资源与质量关系研究。

^① 通讯作者

品粉末(过1号筛)适量,分别精密加入绿原酸对照品适量,按样品测定方法测定。绿原酸平均回收率101.812%,RSD为1.82%($n=5$)。

2 结果和分析

不同品种菊花中绿原酸含量的测定结果见表1。从表1可以看出,不同品种和产地的药用菊花,其绿原酸含量差异较大,从高至低依次为:贡菊、怀菊(大黄菊)、中华贡菊、怀菊

(小白菊)、杭菊(微波干燥大洋菊)、杭菊(小洋菊)、济菊、滁菊、杭菊(大洋菊)、杭菊(异种大洋菊)、杭菊(小黄菊)、怀菊(大白菊)、亳菊。其中产自安徽黄山的贡菊绿原酸含量最高,产自安徽亳州的亳菊绿原酸含量最低。不同品种的药用菊花绿原酸含量的差异可能与生长环境、采收季节以及采集、加工和贮存方法等有关。来自同一产地的大洋菊,加工方法不同,含量差异明显,蒸透法加工的大洋菊绿原酸含量为0.309%,而微波干燥大洋菊为0.511%,提示加工方法对绿原酸含量有一定的影响,微波干燥可能为较好的方法。

表1 不同品种菊花的绿原酸含量测定结果

Table 1 Contents of chlorogenic acid in different cultivars of *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel.

商品名 Commercial name	产地 Locality	绿原酸含量/% Chlorogenic acid content
杭菊(小黄菊) Hangju 'Xiao huangju'	浙江桐乡 Tongxiang, Zhejiang	0.243
杭菊(小洋菊) Hangju 'Xiao yangju'	浙江桐乡 Tongxiang, Zhejiang	0.457
杭菊(大洋菊) Hangju 'Da yangju'	浙江桐乡 Tongxiang, Zhejiang	0.309
杭菊(异种大洋菊) Hangju 'Yizhong Dayangju'	浙江桐乡 Tongxiang, Zhejiang	0.306
杭菊(微波干燥大洋菊) Hangju 'Da yangju'	浙江桐乡 Tongxiang, Zhejiang	0.511
怀菊(小白菊) Huaiju 'Xiao baiju'	河南武陟 Wuzhi, He'nan	0.554
怀菊(大白菊) Huaiju 'Da baiju'	河南武陟 Wuzhi, He'nan	0.224
怀菊(大黄菊) Huaiju 'Da huangju'	河南武陟 Wuzhi, He'nan	0.655
济菊 Jiju	山东嘉祥 Jiaxiang, Shandong	0.434
亳菊 Boju	安徽亳州 Bozhou, Anhui	0.161
贡菊 Gongju	安徽黄山 Huangshan, Anhui	0.719
滁菊 Chuju	安徽滁州 Chuzhou, Anhui	0.397
中华贡菊 Zhonghuagongju	山东汶上 Wenshang, Shandong	0.590

李宗等曾对菊花中绿原酸的含量测定进行过报道^[4],但其所测定的品种有限,本文对中国主流的药用菊花品种进行了收集和测定,可以较为全面地对该类药材的品质评价提供依据。除绿原酸外,药用菊花还含有较多的挥发油成分,主要有菊油环酮(chrysanthenon)、菊醇(chrysanthenol)、龙脑(borneol)、单龙脑酞酸酯(monobornyl phthalate)、乙酸龙脑酯(bornyl acetate)等^[5]。药用菊花在应用过程中大多需要煎煮或提取,挥发性成分大多散失,因此挥发性成分只能作为评价其药材质量的参考,但由于不同菊花品种的挥发油特征性的主成分不同,因此,可用于鉴别药用菊花品种。药用菊花中还含有一些黄酮类化合物,主要是芹菜素(apigenin)、金合欢素-7-O- β -D-吡喃半乳糖苷(acacetin-7-O- β -D-galactopyranoside)、芹菜素-7-O- β -D-吡喃半乳糖苷(apigenin-7-O- β -D-galactopyranoside)、木犀草素(luteolin)、槲皮素(quercetin)、黄芩苷(baicalin)、芹菜素-7-葡萄糖苷(apigenin-7-glucoside)和大波斯菊苷(cosmosiin)等^[6]。栾小军等从杭白菊中分得棉花皮素五甲醚(grossypetin petamethylether)、5-羟基-3,4,6,7-四甲氧基黄酮(5-hydroxy-3,4,6,7-tetramethoxy flavone)等^[7]。因此,通过绿原酸、黄酮类和挥发油等多种指标成分的测定,结合药理药效实验,可以系统地评价不同药用菊花品种的品质。

本文比较了多种流动相对绿原酸的分离效果,结果表明用甲醇-水-磷酸(V:V:V=30:70:0.4)为流动相等度洗脱,能抑制色谱峰的拖尾现象,排除杂质峰的干扰,绿原酸的分离情况良好。

总之,运用RP-HPLC法能快速准确测定菊花中绿原酸含量,为寻找科学评价药用菊花质量方法提供了依据。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第7册第21卷)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999. 805-810.
- [2] 王德群,刘守金,梁益敏. 中国菊花药用类群研究[J]. 安徽中医学院学报,2001,20(1):45-48.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2000年版(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [4] 李宗,陈在敏,廖雷生,等. 菊花中绿原酸的含量测定[J]. 中国中药杂志,1999,24(6):329-330.
- [5] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977. 2008-2011.
- [6] 顾瑗华,秦民坚. 我国药用菊花的化学及药理学研究进展[J]. 中国野生植物资源,2004,23(6):7-9.
- [7] 栾小军. 杭白菊化学成分研究(一)[J]. 现代应用药学,1992,9(4):160.

(责任编辑:惠红)