

不同产地野菊花中黄酮类成分含量的 HPLC 分析

贺丹霞, 张伟, 秦民坚^①

(中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210038)

Content analysis of flavonoids in *Dendranthema indicum* flower from different locations by HPLC HE Dan-xia, ZHANG Wei, QIN Min-jian^① (College of Traditional Chinese Medicine, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2009, 18(3): 91-93

Abstract: The content of linatin, luteolin, quercetin and apigenin in *Dendranthema indicum* (L.) Des Moul. flower from eleven locations was analyzed by HPLC. The results show that linatin and luteolin contents in samples are higher with a range of 0.0-13.3 and 0.5-2.1 mg·g⁻¹, respectively, and suitable for quantitative determination, while apigenin and quercetin contents are trace and suitable for qualitative determination. The content of flavonoids is obviously affected by locations. No linatin is detected in samples from Jiangxi and Nanyang of He'nan. The content of linatin and luteolin is higher in samples from Chuzhou of Anhui, Nanjing of Jiangsu and Inner Mongolia. *D. indicum* flower from Chuzhou of Anhui is superior for having all four flavonoids and higher content of linatin and luteolin.

关键词: 野菊花; 产地; 黄酮类; HPLC

Key words: *Dendranthema indicum* (L.) Des Moul. flower; location; flavonoids; HPLC

中图分类号: R284.2; S567.23.024 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2009)03-0091-03

野菊花为菊科(Compositac)植物野菊 [*Dendranthema indicum* (L.) Des Moul.] 的头状花序, 具有清热解毒和疏风散热等功效。黄酮类化合物为野菊花最主要的有效成分之一, 最早从野菊花中分离出的黄酮类化合物为木犀黄酮苷, 此后相继得到刺槐素、木犀草素、芹菜素和蒙花苷等黄酮类化合物, 以蒙花苷和木犀草素含量最高, 其中蒙花苷含量是野菊花药材的主要质量检测指标^[1]。

目前, 有关野菊花黄酮类成分含量的研究多为方法体系建立和个别样本的成分分析等^[2-3], 尚未见有关不同产地野菊花黄酮类成分含量差异的研究报道。为此, 作者以 11 个产地的野菊花为样本, 采用 HPLC 方法对其中的主要黄酮类成分进行了定性和定量分析, 旨在比较不同产地野菊花药材的品质差异, 为筛选优质野菊种质资源提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

依据野菊花的形态特征^[4], 分别选择来源于安徽(同仁堂)、江西、福建、安徽滁州、陕西丹凤、广东梅州、河南南阳、广西贺州、江苏南京、内蒙古、安徽黄山和云南昆明的野菊花为样本, 除来源于广西贺州和河南南阳的野菊花样本为野外采摘外, 其余样本均购自当地市场, 且产自当地。

按《中华人民共和国药典(2005年版)》规定的质量鉴定

方法, 对野菊花样本的含水量、总灰分含量、酸不溶性灰分含量和酸可溶性灰分含量进行了测定, 12 个样本的含水量为 3.99%~7.69%、酸可溶性灰分含量为 2.96%~8.30%, 均没有超标, 而来自陕西丹凤的样本中总灰分含量(10.9%)和酸不溶性灰分含量(2.6%)均超标, 其余 11 份样本的总灰分含量为 4.42%~7.96%、酸不溶性灰分含量为 0.78%~1.31%, 均没有超标, 据此, 陕西丹凤的野菊花样本因不符合质量标准被剔除, 选用其余 11 份样本为供试材料。

实验用蒙花苷(111528-200605, 纯度 95.9%)、槲皮素(100081-200406, 纯度 97.3%)及木犀草素(111520-200221, 纯度 95.0%)标准品购自中国药品生物制品检定所, 芹菜素(纯度 95.0%)标准品由上海中药标准化研究中心提供; 甲醇为色谱级, 由淮阴汉邦科技有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 标准品溶液制备 蒙花苷、木犀草素、槲皮素及芹菜素标准品经 P₂O₅ 干燥过夜后, 以甲醇为溶剂配制成浓度分别为 355、180、90 和 50 mg·L⁻¹ 的标准品溶液。根据预实验结果, 样本中的槲皮素和芹菜素含量极低, 不适用于定量分析, 因此仅做定性观察。

1.2.2 样品溶液制备 野菊花经去杂清理后于 50℃ 减压干燥箱中干燥 5 h, 粉碎、过 60 目筛。精密称取安徽滁州、江苏南京和内蒙古的样本 0.200 g, 云南昆明样本 1.000 g, 福

收稿日期: 2009-01-04

基金项目: 中国药科大学人才引进项目(211068)

作者简介: 贺丹霞(1977-), 女, 陕西丹凤人, 博士, 讲师, 主要从事药用植物资源研究。

^①通信作者 E-mail: minjianqin@sina.com

建、安徽黄山、安徽(同仁堂)、江西、广东梅州、广西贺州和河南南阳的样本 2.000 g, 分别加入 40 mL 甲醇, 热回流 1 h 后过滤, 残渣经甲醇洗涤并过滤, 合并滤液并定容至 50 mL, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 供 HPLC 分析。

1.2.3 HPLC 色谱条件 使用 Agilent 1100 型高效液相色谱仪进行分析。色谱柱为 Agilent ZORBAXSB-C₁₈ 反相色谱柱 (4.6 mm \times 150 mm, 3.5 μm)。流动相 A 为甲醇、流动相 B 为体积分数 0.04% 的醋酸水溶液, 甲醇起始体积分数为 30%, 50 min 结束时线性增加至 49%, 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹; 柱温为室温 (25 $^{\circ}\text{C}$); 检测波长 355 nm, 进样量 20 μL 。

1.2.4 标准曲线绘制及样品的 HPLC 分析 精密吸取木犀草素和蒙花苷标准品溶液各 5 mL, 用甲醇分别稀释 2、4、8、16 和 32 倍, 各取 20 μL , 按上述色谱条件进样分析。以标准品浓度为自变量 x 、峰面积为因变量 y 绘制标准曲线。木犀草素标准品的线性回归方程为 $y_1 = 79\,264.000x_1 - 77.683$, $r = 0.999\,9$, 线性范围为 2.773 ~ 355.000 mg \cdot L⁻¹; 蒙花苷标准品的线性回归方程为 $y_2 = 36\,220.000x_2 + 43.878$, $r = 0.999\,8$, 线性范围为 5.625 ~ 180.000 mg \cdot L⁻¹。

取不同产地野菊花的提取液, 按上述色谱条件进行 HPLC 分析, 进样量 20 μL 。根据峰面积和相应的线性回归方程计算各样本中木犀草素和蒙花苷的含量。

1.2.5 方法学考察 取木犀草素标准品 8 倍稀释溶液, 按上述色谱条件重复进样 6 次, 对该方法的精密度的分析。RSD 为 2.6%, 表明仪器精密性良好。

取同一样本溶液, 分别于 0、2、4、6、8 和 10 h 按上述色谱条件进样分析, 对样品溶液的稳定性进行检测。木犀草素和蒙花苷峰面积的 RSD 分别为 1.21% 和 1.05%, 表明供试的样品溶液在 10 h 内稳定。

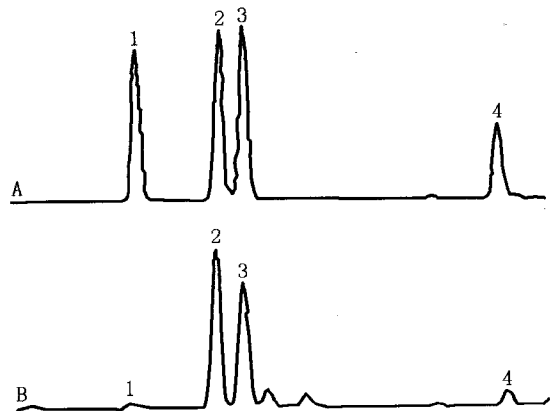
精密称取云南昆明的野菊花粉末 1 g, 共 6 份, 按上述提取方法制备样品溶液, 并按上述色谱条件进行测定, 检测该方法的重现性。木犀草素和蒙花苷峰面积的 RSD 分别为 3.6% 和 2.6%, 表明本方法重现性良好。

取已知含量的安徽黄山野菊花粉末样品 6 份, 每份约 1 g, 精密称定后, 分别定量加入蒙花苷和木犀草素标准品 1.87 和 0.94 mg, 按上述提取方法制备样品溶液, 并按上述色谱条件进行测定, 检测该方法的加样回收率。蒙花苷和木犀草素的加样回收率分别为 97.9% 和 100.8%, RSD 分别为 3.54% 和 3.90%。

2 结果和分析

蒙花苷、木犀草素、槲皮素及芹菜素标准品及野菊花提取液的 HPLC 图谱见图 1。11 个野菊花样本中蒙花苷和木犀草素的含量及槲皮素和芹菜素的定性分析结果见表 1。

由图 1 可见, 采用 HPLC 方法分析野菊花中的黄酮类成分, 分离效果较好, 但样品中槲皮素和芹菜素的峰面积极



A: 标准品 Standard; B: 野菊花 *Dendranthema indicum* flower.

1: 槲皮素 Quercetin; 2: 蒙花苷 Linatin; 3: 木犀草素 Luteolin; 4: 芹菜素 Apigenin.

图 1 标准品及野菊花的 HPLC 分离图

Fig. 1 Chromatography of HPLC of standard and *Dendranthema indicum* (L.) Des Moul. flower

表 1 不同产地野菊花中黄酮类成分的含量¹⁾

Table 1 Content of flavonoids in *Dendranthema indicum* (L.) Des Moul. flower from different locations¹⁾

产地 Location	含量/mg \cdot g ⁻¹ Content			
	LIN	LUT	QUE	API
安徽(同仁堂) Anhui (Tongrentang)	2.1	0.5	+	+
江西 Jiangxi	-	1.9	+	-
福建 Fujian	0.3	1.3	+	+
安徽滁州 Chuzhou of Anhui	10.3	2.1	+	+
广东梅州 Meizhou of Guangdong	1.8	0.9	+	+
河南南阳 Nanyang of He'nan	-	0.8	+	+
广西贺州 Hezhou of Guangxi	0.4	0.5	+	+
江苏南京 Nanjing of Jiangsu	13.3	1.1	-	+
内蒙古 Inner Mongolia	12.5	1.3	-	+
安徽黄山 Huangshan of Anhui	1.8	0.8	+	+
云南昆明 Kunming of Yunnan	6.0	1.0	+	-
均值 Average	4.9	1.0		

¹⁾ LIN: 蒙花苷 Linatin; LUT: 木犀草素 Luteolin; QUE: 槲皮素 Quercetin; API: 芹菜素 Apigenin. +: 痕量 Trace; -: 未检出 Un-detected.

小, 表明这 2 种成分的含量极低, 无法精确定量, 只能做定性分析。

从表 1 可以看出, 在不同来源的野菊花样本中 4 种成分含量有明显的差异, 其中蒙花苷含量变异范围较大。在含有蒙花苷的 9 份样本中, 蒙花苷的平均含量为 4.9 mg \cdot g⁻¹, 其中来源于江苏南京、内蒙古和安徽滁州的野菊花样本中蒙花苷含量都大于 10 mg \cdot g⁻¹。江苏南京产野菊花中蒙花苷含量最高, 达 13.3 mg \cdot g⁻¹; 福建产野菊花中蒙花苷含量最低, 为 0.3 mg \cdot g⁻¹, 仅为前者的 2.2%; 在产自河南南阳和江西

的野菊花中均未检出蒙花苷。按野菊花中蒙花苷含量由高到低对产地进行排序,依次为江苏南京、内蒙古、安徽滁州、云南昆明、安徽(同仁堂)、广东梅州和安徽黄山、广西贺州、福建、江西和河南南阳。来源于安徽的3个野菊花样本中蒙花苷含量差异较大,安徽滁州产野菊花样本中蒙花苷含量达 $10.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而安徽黄山产野菊花样本中蒙花苷含量仅为 $1.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

在11个野菊花样本中均检出了木犀草素,但含量普遍较低,平均含量仅为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,最高含量是最低含量的4倍。来源于安徽的3个样本中木犀草素含量差异较大,其中,安徽滁州产样本的含量最高($2.1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),而来源于安徽(同仁堂)的样本含量仅为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。按木犀草素含量由高到低对产地进行排序,依次为安徽滁州、江西、福建和内蒙古、江苏南京、云南昆明、广东梅州、安徽黄山、河南南阳、安徽(同仁堂)和广西贺州。

在江苏南京和内蒙古产野菊花中未检出槲皮素,在江西和云南昆明产野菊花中未检出芹菜素,在其他野菊花样本中,槲皮素和芹菜素均为痕量水平。

总体上看,野菊花中的4种黄酮类成分受产地的影响极大,同样为来自安徽的3个样本,蒙花苷和木犀草素的含量都存在较大差异。在11个样本中,来源于安徽滁州的野菊花样本不仅检出4种黄酮类成分,且蒙花苷和木犀草素含量也较高,其药用价值最高。

3 讨 论

蒙花苷、木犀草素、芹菜素和槲皮素为野菊花中常见的黄酮类化合物,是野菊花的主要药理活性成分^[5-7],因此作者选择这4种成分对野菊花中的黄酮类成分进行测定。在不同来源的野菊花样本中,蒙花苷和木犀草素相对含量较高

(江西和河南南阳产野菊花样本除外),而槲皮素和芹菜素含量极少,因此对蒙花苷和木犀草素进行定量分析,对槲皮素和芹菜素做定性分析。

研究结果表明,产地对野菊花中4种黄酮类成分含量的影响较大,尤其对蒙花苷含量影响最大,这种现象可能与样本本身的种质特性和产地特殊的生态条件有关。在产自安徽滁州、江苏南京和内蒙古的野菊花中,蒙花苷和木犀草素的含量均较高。

利用薄层扫描方法在部分产地的野菊花中没有检出蒙花苷^[7],作者利用灵敏度更高的 HPLC 分析方法获得同样结论,而且不同产地野菊花中的蒙花苷含量差别极大,并与木犀草素、槲皮素和芹菜素的含量没有明显相关性,因此,蒙花苷是否能作为野菊花药材的质量标准仍有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2005年版(一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 219.
- [2] 崔兰冲, 李小芹, 韩莹, 等. HPLC 测定野菊花中蒙花苷与木犀草素的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 31(1): 33-35.
- [3] 谭晓杰, 贾英, 陈晓辉, 等. RP-HPLC 法测定野菊花中蒙花苷含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(6): 434-435.
- [4] 邓雪华, 朱海涛. 野菊花的鉴定及应用[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(2): 241-242.
- [5] 石兰萍, 田琳琳, 袁劲松, 等. 野菊花的研究概况[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2005, 3(5): 434-436.
- [6] 李贵荣. 野菊花多糖的提取及其对活性氧自由基的清除作用[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(3): 269-270.
- [7] 徐国钧, 徐珺珊, 王峥涛. 常用中药材品种整理和质量研究: 南方协作组(第四册) [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 2001: 867-931.

《林产化学与工业》2010年征订启事

《林产化学与工业》由中国林业科学研究院林产化学工业研究所和中国林学会林产化学化工分会主办,为全国林产化工行业的学术类期刊。报道范围是可再生的木质和非木质生物质资源的化学加工与利用,包括生物质能源、生物质化学品和生物质材料等,主要包括植物资源的热转化、热化学转化和活性炭,木材化学和制浆造纸,生物质原料水解,松脂及松香、松节油,植物多酚,林产香料、油脂、药物和生物活性物质,木工胶黏剂,树木寄生产物以及其他森林天然产物等方面的最新研究成果。

本刊为双月刊,逢双月月末出版,大16开。定价:国内每期15.00元,全年价90.00元;国外每期15.00美元。国际标准连续出版物号:ISSN 0253-2417,国内统一连续出版物号:CN 32-1149/S。国内外公开发行,国内邮发代号:28-59;国外发行代号:Q5941。地址:江苏省南京市锁金五村16号林产化工研究所内(邮编210042);电话:025-85482493;信汇户名:中国林业科学研究院林产化学工业研究所,帐号:4301012509001028549,开户行:工商银行南京板仓分理处;传真:025-85482493;E-mail: cifp@vip.163.com;网址: http://www.cifp.ac.cn。