

# 五种不同产地药用菊花的质量对比分析

井德林<sup>1</sup>,刘伟<sup>2\*</sup>,邢志霞<sup>2</sup>,徐英<sup>3</sup>(1.河南舞钢市人民医院,河南 舞钢 462500;2.河南中医学院分析测试中心,郑州 450008;3.河南省直第二医院,郑州 450008)

**摘要:**目的 通过采用高效液相法测定菊花中木犀草素和绿原酸的含量来比较菊花质量的优劣,为菊花的质量控制方法提供一定的依据。方法 ①测定绿原酸色谱条件为 Dikma DiamonsilC<sub>18</sub> (200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:磷酸二氢钠缓冲液[取磷酸二氢钠 15.6 g加水至 1 000 mL,加入磷酸适量,用磷酸调 pH值为 2.7]-甲醇(80:20);流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:30℃;检测波长:328 nm。②测定木犀草素色谱条件为:采用 Dikma DiamonsilC<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱,流动相为甲醇-水(55:45);流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:25℃;检测波长:350 nm。结果 ①绿原酸在 0.2~1.0 μg内线性关系良好;r=0.9999;平均回收率为 98.25%,RSD为 0.71%。②木犀草素在 0.1~1.0 μg内线性关系良好;平均回收率为 98.99%,RSD%为 1.03%。结论 该方法简单、准确并且专属性强。

**关键词:**菊花;木犀草素;绿原酸;质量分析

中图分类号:R931.6;R917.101 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2007)06-0467-03

## A Comparative Quality Analysis of *Chrysanthemum Morifolium* from Five Defferent Production Areas

JING De-lin<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>2\*</sup>, XING Zhixia<sup>2</sup>, XU Ying<sup>3</sup>(1. Henan Province Wugang City People's Hospital, Wugang 462500, China; 2. Center of Analysis and Measurement of Henan College of TCM, Zhengzhou 450008, China; 3. Henan Province Government Directly under 2nd People's Hospital, Zhengzhou 450008, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a HPLC method for determination of luteolin and Chlorogenic Acid in chrysanthemum flower from different areas. **METHODS** ① The Chlorogenic Acid was separated on a column: Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) column; mobile phase: methanol-0.1 mol·L<sup>-1</sup> sodium dihydrogen phosphate solution (15.6 g → 1 000 mL, pH = 2.7) (20:80); the flow rate 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; the column temperature 30℃; the detective wavelength was 328 nm. ② The Luteolin was sparated on a Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) column, the mobile phase: methanol-water (55:45), flow rate 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, UV wavelength 353 nm, column temperature 30℃. **RESULTS** ① The Chlorogenic Acid calibration curve showed good linearity in the range of 0.2~1.0 μg (r=0.9999), the average recovery was 98.25% (RSD=0.71%). ② The Luteolin calibration curve showed good linearity in the range of 0.1~1.0 μg (r=0.9999), the average recovery was 98.99% (RSD=1.03%). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and specific.

**KEY WORDS:** *Chrysanthemum morifolium* Romat; luteolin; chlorogenic acid; quality analysis

菊花为菊科植物菊花(*Chrysanthemum morifolium* Romat)的干燥的头状花序<sup>[1]</sup>,是一种常用中药。其味甘微苦微寒,无毒,入肝肺经,质轻气清,甘凉益阴,苦凉泄热<sup>[2]</sup>。具有清肝明目、清热解毒、疏风降压等功效。可治头痛、眩晕、目

赤、心胸烦热、冠心病、高血压等病,还能预防感冒、菌痢、便秘等多种疾病<sup>[3]</sup>,木犀草素、绿原酸为菊花中有效成分。笔者采用高效液相法测定五种不同产地菊花中木犀草素和绿原酸的含量,为比较不同产地菊花质量提供科学依据。

作者简介:井德林,男,副主任药师 Tel: (0375)8139616 E-mail: jingdelin@163.com

## 1 材料与试剂

木犀草素对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号:111520-200201);绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号:110753-200212);试验中所用甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

怀菊采自河南焦作武陟,亳菊采自安徽亳州,滁菊采自安徽滁州,贡菊采自安徽黄山歙县,杭菊采自杭州桐乡。本试验所用药材经河南中医学院药学院陈随清教授鉴定分别为怀菊、亳菊、滁菊、贡菊和杭菊正品(以上菊花样品均采集于2005年11~12月)。

## 2 仪器与方法

### 2.1 仪器

DIONEX Summit系统高效液相色谱仪, DIONEX PDA-100检测器; DIONEX ASI-100自动进样器; DIONEX P680 pump; DIONEX Chromeleon色谱工作站。METTLER AE240十万分之一天平(瑞士); FA2004A万分之一天平。

### 2.2 绿原酸测定色谱条件

Dikma Diamonsil  $C_{18}$  (200 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:磷酸二氢钠缓冲液[取磷酸二氢钠 15.6 g加水至 1000 mL,加入磷酸适量,用磷酸调 pH值为 2.7];甲醇(80:20);流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:30℃;检测波长:328 nm。

### 2.3 木犀草素测定色谱条件

Dikma Diamonsil  $C_{18}$  (200 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:甲醇-水(55:45);流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:25℃;检测波长:350 nm。

### 2.4 对照品溶液的制备

精密称取绿原酸对照品 1.00 mg,置于 10 mL的量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得每 1 mL含绿原酸 0.10 mg的对照品溶液。

精密称取木犀草素对照品 0.50 mg,置于 5 mL的量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得每 1 mL含木犀草素 0.10 mg的对照品溶液。

### 2.5 供试品溶液

分别称取样品粉末各 1 g,精密称定,精密加入甲醇各 50 mL,称定重量,加热回流 2 h,冷却,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残渣加三氯甲烷 5 mL,浸渍 3 min,弃去三氯甲烷液,残渣挥去三氯甲烷,加水适量使溶解,并转移至 5 mL量瓶中,加水至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45  $\mu$ m)滤过,滤液作为绿原酸测定供试品溶液。

分别称取样品粉末各 1 g,精密称定,精密加入石油醚(30~60℃)各 100 mL,称定重量,加热回流 3 h,弃去石油醚液,挥干残留的石油醚,再加入乙酸乙酯 130 mL,索氏回流提取 6 h,挥干乙酸乙酯溶液,残渣加甲醇溶解并定容至 25 mL的量瓶中,摇匀,用微孔滤膜(0.45  $\mu$ m)滤过,滤液作为木犀草素测定供试品溶液。

### 2.6 系统适用性试验

分别取“2.5”项下两种供试品溶液 4  $\mu$ L,注入高效液相

色谱仪测试,理论塔板数以绿原酸、木犀草素峰计分别不低于 3 000,绿原酸、木犀草素色谱峰与相邻色谱峰的分离度不小于 1.5。

对照品及样品色谱图分别见图 1, 2, 3, 4。

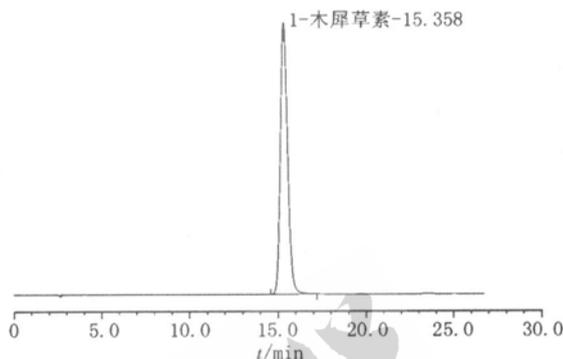


图1 木犀草素对照品色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of Luteolin

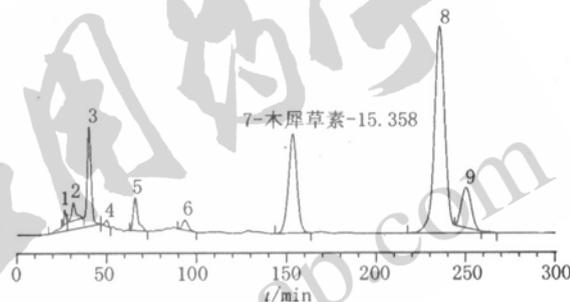


图2 木犀草素测定样品色谱图

Fig 2 HPLC chromatogram of Luteolin in the sample

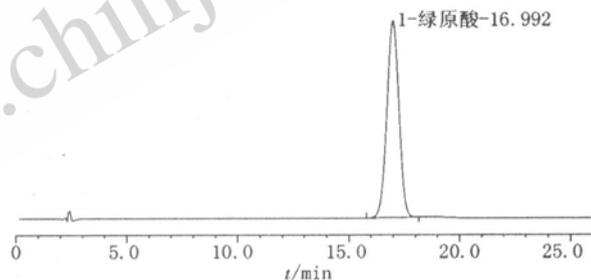


图3 绿原酸对照品色谱图

Fig 3 HPLC chromatogram of Chlorogenic acid

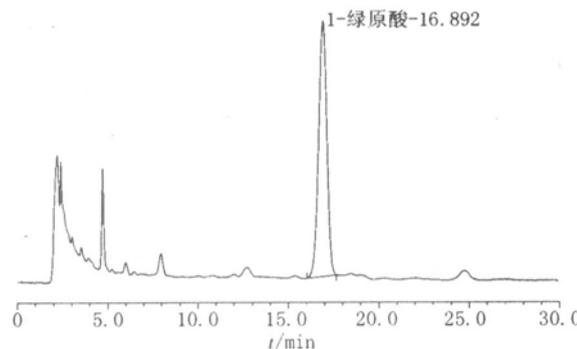


图4 绿原酸测定样品色谱图

Fig 4 HPLC chromatogram of Chlorogenic acid in the sample

### 3 方法学考察

#### 3.1 标准曲线及线性范围试验

分别精密吸取上述配制好的绿原酸 (2, 4, 6, 8, 10  $\mu\text{L}$ ) 和木犀草素 (1, 2, 4, 6, 8, 10  $\mu\text{L}$ ) 对照品溶液注入高效液相色谱仪, 在上述色谱条件下测定峰面积 (A), 以峰面积为纵坐标, 以对照品的量为横坐标, 分别绘制标准曲线, 得出回归方程分别为: 绿原酸  $Y=55.8341X-0.9887$ ,  $r=0.9999$ ; 木犀草素  $Y=70.0660X-2.9355$ ,  $r=0.9999$ 。绿原酸、木犀草素分别在 0.2~1.0, 0.1~1.0  $\mu\text{g}$  内呈良好线性关系。

#### 3.2 精密度试验

分别精密吸取同一绿原酸和木犀草素对照品溶液各 4  $\mu\text{L}$ , 分别重复进样 5 次, 测定峰面积, 其 RSD 分别为 1.65% 和 1.68%。

#### 3.3 稳定性试验

分别精密吸取同一绿原酸测定供试品溶液和木犀草素测定 6  $\mu\text{L}$ , 分别于 0, 3, 6, 9, 12 h 注入高效液相色谱仪, 分别测定绿原酸和木犀草素峰面积, 其 RSD 分别为 0.47% 和 0.56%, 表明样品中绿原酸和木犀草素均在 12 h 内稳定。

#### 3.4 重复性试验

分别取同一样品, 按上述供试品溶液制备项下, 分别制备 5 份供试品溶液, 按上述含量测定项下方法分别测定绿原酸和木犀草素的含量, 其 RSD 分别为 0.65% 和 2.08%。

#### 3.5 加样回收率试验

分别取已知含量的样品各 6 份, 精密称定, 分别加入一定量的绿原酸和木犀草素, 按上述含量测定项下方法进行提取测定绿原酸和木犀草素的含量, 计算加样回收率, 绿原酸平均回收率为 98.25%, RSD 为 0.71%, 木犀草素平均回收率为 98.99%, RSD 为 1.03%。

### 4 样品测定

分别精密吸取上述制备好的绿原酸供试品溶液 6  $\mu\text{L}$  和木犀草素供试品溶液 10  $\mu\text{L}$  注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 计算各样品中绿原酸、木犀草素的含量, 结果见表 1。

表 1 菊花中绿原酸、木犀草素的含量 ( $n=3$ )

Table 1 Content comparison of Chlorogenic acid and Luteolin in the *Chrysanthemum morifolium* Romat ( $n=3$ )

样品名称	绿原酸含量 /%	木犀草素含量 /%
怀菊	0.230	0.043
亳菊	0.267	0.117
贡菊	0.273	0.044
杭菊	0.275	0.022
滁菊	0.243	0.030

### 5 讨论

本试验采用高效液相法对不同产地菊花中绿原酸和木犀草素的含量进行了测定, 结果表明, 亳菊中木犀草素含量最高为 0.117%, 怀菊和贡菊次之, 为 0.044%, 滁菊为 0.030%, 杭菊最低为 0.022%; 杭菊中绿原酸含量最高为 0.275%, 其次为贡菊、亳菊、滁菊、怀菊最低, 但是差别并不是太大。绿原酸和木犀草素均为菊花中有效成分, 由以上试验可以看出各不同产地菊花中所含绿原酸和木犀草素并不一致, 杭菊中绿原酸含量最高, 而其中木犀草素含量却最低。因此, 判断菊花质量的优劣并不能根据某一种化学成分来判断, 而是要根据多种成分指标来判断菊花质量, 只有多种成分的综合指标好的才能判断其质量为优。

### REFERENCES

- [1] Ch. P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版, 一部) [S]. 2005: 218.
- [2] LIU D Q, LIU S J, LIANG Y M. A Study on Producing Areas of Chinese Flos Dendranth-ematis [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1999, 24(9): 522.
- [3] Chinese Materia Medica (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1988: 1931.

收稿日期: 2006-04-14