

不同产地野菊花中 3 种有机酸的含量测定

王丽果, 刘伟, 吴明侠*
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 建立不同产地野菊花中绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸、3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量测定。方法: 采用 HPLC 方法, 色谱柱为 Diamonsil (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇-0.1% 磷酸溶液做流动相进行梯度洗脱, 检测波长 326 nm, 柱温 25 °C, 流速 0.8 mL·min⁻¹。结果: 绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的线性范围分别为 1.00 ~ 20.00, 4.64 ~ 92.80, 2.233 ~ 44.66 mg·L⁻¹; 加样回收率分别为 98.97%, 99.14%, 99.39%, RSD 分别为 1.81%, 1.66%, 1.36% (n = 6)。结论: 方法操作简便, 分析速度快, 结果准确, 重复性好, 可用于野菊花中绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸、3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱法; 含量测定; 绿原酸; 3,4-二咖啡酰奎尼酸; 3,5-二咖啡酰奎尼酸
[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0075-04

Content Determination of Chlorogenic Acid, 3, 4-O-Dicaffeoylquinic Acid, 3, 5-O-Dicaffeoylquinic Acid in Chrysanthemi Indici Flos of Different Areas

WANG Li-guo, LIU Wei, WU Ming-xia*
(Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of chlorogenic acid, 3, 4-O-dicaffeoylquinic acid, 3, 5-O-dicaffeoylquinic acid in Chrysanthemi Indici Flos of different areas. **Method:** HPLC was used. The chromatographic separation was performed on a Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column eluted with gradient mobile phase of methanol-0.1% H₃PO₄, the detection wavelength was set at 326 nm and column temperature was set at 25 °C. **Result:** Nice linear relation between the area and content when the amount was within 1.00-20.00, 4.64-92.80, 2.233-44.66 mg · L⁻¹. The recoveries were 98.97%, 99.14% and 99.39% respectively, RSD was 1.81%, 1.66% and 1.36% (n = 6) respectively. **Conclusion:** The method is accurate, reproducible and suitable to determine these active components in Chrysanthemi Indici Flos. It can be used for quality control of Chrysanthemi Indici Flos.

[Key words] HPLC; content determination; chlorogenic acid; 3, 4-O-dicaffeoylquinic acid; 3, 5-O-dicaffeoylquinic acid.

野菊花为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum*

的干燥头状花序。秋、冬二季花初开放时采摘, 晒干, 或蒸后晒干, 具有清热解毒之功效, 用于疮痍肿痛、目赤肿痛、头痛眩晕等症^[1]。文献报道野菊花中有机酸类成分具有抗菌、抗炎的药理活性^[2-3]。目前, 大部分文献是对野菊花中黄酮类成分的研究^[4-5], 其中有机酸类成分多是对不同产地绿原酸含量进行测定, 同时测定多种有机酸的报道却很少, 本文采用高效液相法对不同产地野菊花中绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量

[收稿日期] 20111205(011)
[基金项目] 河南中医学院博士科研基金(BSJJ2009-11); 河南省高校青年骨干教师资助计划项目
[第一作者] 王丽果, 硕士研究生, 从事药物分析研究, E-mail: wangliguo198@126.com
[通讯作者] * 吴明侠, 博士/副教授, 从事中药质量分析研究, E-mail: mxwu711@163.com

进行测定,比较 3 种成分含量的差别,为野菊花的质量控制提供一定依据。

1 仪器与试药

戴安高效液相色谱仪。甲醇为色谱纯,水为纯水,其他试剂为分析纯。绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 0753-200111);3,4-二咖啡酰奎尼酸对照品(批号 MUST-09061602)及 3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品(批号 MUST-09061601)均购自成都曼思特生物科技有限公司,含量 $\geq 98\%$ 。购自不同产地的野菊花药材(经河南中医学院董诚明教授鉴定为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); A 为甲醇, B 为 0.1% 磷酸溶液做流动相, 梯度洗脱, 0 ~ 20 min, 17% ~ 34% A, 20 ~ 45 min, 34% ~ 35% A, 45 ~ 50 min, 35%; 检测波长 326 nm, 柱温 25 °C, 流速 0.8 mL · min⁻¹。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取 3 种对照品适量, 加 70% 乙醇溶解, 配制成绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸、3,5-二咖啡酰奎尼酸质量浓度分别为 20.00, 92.80, 44.66 mg · L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取野菊花粉末约 0.5 g, 精密称定, 加 70% 乙醇 70 mL, 称定质量, 80 °C 回流 2 h, 放冷, 补足减失质量, 滤过, 精密吸取续滤液 35 mL 置 50 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密量取 2.2 项下混合对照品溶液 0.5, 2, 4, 6, 8, 10 mL, 分别置 10 mL 量瓶, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取不同浓度对照品溶液 10 μL, 按上述色谱条件测定峰面积; 以峰面积积分

值为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程分别为绿原酸 $Y = 6.0286X - 5.2119$ ($r = 0.9999$); 3,4-二咖啡酰奎尼酸 $Y = 0.6345X - 8.2437$ ($r = 1.0$); 3,5-二咖啡酰奎尼酸 $Y = 0.5499X - 1.099$ ($r = 0.9999$)。绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸、3,5-二咖啡酰奎尼酸分别在 1.00 ~ 20.00, 4.64 ~ 92.80 和 2.233 ~ 44.66 mg · L⁻¹ 线性关系良好。

2.4.2 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸、3,5-二咖啡酰奎尼酸的 RSD 分别为 0.25%, 0.58%, 0.30%, 结果表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 精密吸取同一个供试品溶液 10 μL, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 测定, 记录峰面积, 绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的 RSD 分别为 1.68%, 1.86%, 1.75%, 结果表明 3 种组分在 12 h 内稳定。

2.4.4 重复性试验 精密称取供试品样品适量共 6 份, 按 2.3 项下的方法制备供试品溶液, 平行进行测定, 每次进样 10 μL, 测定各组分的含量, 测得绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的 RSD 分别为 1.05%, 1.96%, 1.78%, 结果表明该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的野菊花(安徽亳州)6 份, 每份约 0.25g, 精密称定, 分别精密加入 3 种对照组分, 其余按照 2.3 项下操作, 作为加样回收试验供试品溶液, 进样量 10 μL, 按上述色谱条件测定, 绿原酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的平均回收率分别为 98.97%, 99.14%, 99.39%; RSD 分别为 1.81%, 1.66%, 1.36% ($n = 6$), 回收率试验结果表 1。

表 1 野菊花 3 种成分回收率试验 ($n = 6$)

成分	称样量 /g	样品中含 量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
绿原酸	0.2503	0.1129	0.126	0.2352	97.06	98.97	1.81
	0.2499	0.1127	0.126	0.2366	98.33		
	0.2501	0.1128	0.126	0.2407	101.51		
	0.2504	0.1129	0.126	0.2368	98.33		
	0.2500	0.1128	0.126	0.2359	97.70		
	0.2497	0.1126	0.126	0.2397	100.87		
3,4-二咖啡酰奎尼酸	0.2503	0.8498	1.030	1.8554	97.63	99.14	1.66
	0.2499	0.8484	1.030	1.8961	101.72		

续表 1

成分	称样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
3,5-二咖啡酰奎尼酸	0.250 1	0.849 1	1.030	1.864 3	98.56	99.39	1.36
	0.250 4	0.850 1	1.030	1.886 2	100.59		
	0.250 0	0.848 8	1.030	1.856 7	97.85		
	0.249 7	0.847 7	1.030	1.861 9	98.47		
	0.250 3	0.793 7	0.810	1.593 6	98.75		
	0.249 9	0.792 4	0.810	1.594 5	99.02		
	0.250 1	0.793 1	0.810	1.584 0	97.64		
	0.250 4	0.794 0	0.810	1.596 8	99.11		
	0.250 0	0.792 8	0.810	1.615 4	101.55		
	0.249 7	0.791 8	0.810	1.604 0	100.27		

2.4.6 样品含量测定 称取不同产地野菊花,每份约 0.5 g,精密称定,按上述 2.3 项下制备方法,制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,计算不同产地野菊花 3 种组分的含量。结果见表 2。对照品及样品色谱图见图 1。

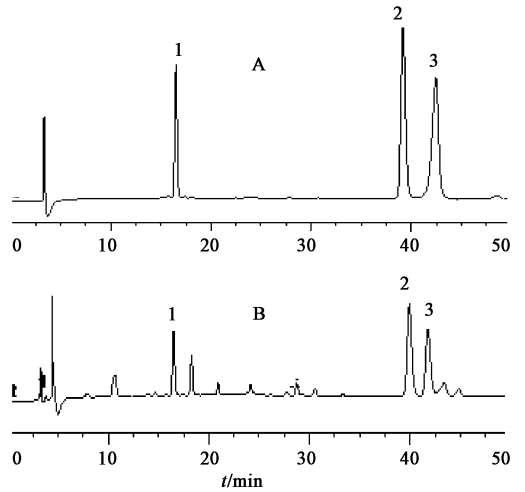
表 2 野菊花含量测定结果 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

产地来源	绿原酸	3,4-二咖啡酰奎尼酸	3,5-二咖啡酰奎尼酸
安徽黄山	0.363	2.967	4.620
佛山德众	0.384	2.923	1.049
江苏无锡	0.428	2.864	4.365
河南温县	0.474	3.099	5.802
河南灵宝	0.377	2.742	7.609
安徽亳州	0.451	3.395	3.171
河南临颍	0.221	2.691	2.437
华东大药房	0.366	3.157	0.908
杭州顾寿昌	0.319	3.006	3.838
杭州翰草堂	0.377	2.890	2.096

3 讨论

药典中收载绿原酸的提取溶剂常使用 50% 的甲醇^[6-7],在进行提取溶剂筛选时选用了 50% 甲醇、50% 乙醇、70% 甲醇、70% 乙醇、水作为提取溶剂进行比较,发现用 70% 乙醇作为溶剂所得的 3 种成分含量明显高于其他几种溶剂,故最终提取溶剂确定为 70% 乙醇。

考察了超声和加热回流两种提取方法,结果发现加热回流所提取的有机酸含量高于超声提取有机酸含量^[8],通过正交实验对回流提取进行考察^[9-10],最后选择 70 mL,70% 乙醇加热回流 2 h 最适宜。



A. 对照品; B. 供试品

1. 绿原酸; 2. 3,4-二咖啡酰奎尼酸; 3. 3,5-二咖啡酰奎尼酸

图 1 野菊花 HPLC

本试验所测定成分为有机酸,且 3,4-二咖啡酰奎尼酸、3,5-二咖啡酰奎尼酸为同分异构体,难以分离,因此采用多步梯度洗脱^[11],结果达到满意的分离度。

由测定结果可以看出,不同产地 3 种有机酸含量相差较大,以安徽亳州产地含量相对较高,而河南临颍的含量比较低,为临床合理用药提供依据。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:295.
- [2] 吴钉红,杨立伟,苏薇薇.野菊花化学成分及药理研究进展[J].中药材,2002,27(2):142.
- [3] 王志东,梁容瑞,李宗芳.中药野菊花的药理作用研究进展[J].医学综述,2009,15(6):906.

主成分分析法对贵州石吊兰药材的综合评价研究

潘雯婷, 张丽艳*, 李燕, 杨玉琴, 张丽丽, 李健
(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

【摘要】 目的:综合比较、评价贵州石吊兰质量。方法:采用高效液相色谱法、紫外分光光度法对贵州境内不同产地、不同采收期、不同产地加工方法的石吊兰药材中石吊兰素、总黄酮含量进行测定,并运用主成分分析进行综合质量评价对比研究。结果:石吊兰7月采收、烘干、纳雍冷冲村石吊兰综合质量最好。结论:不同产地、不同采收期、不同产地加工方法对石吊兰的质量影响较大,该研究结果可为石吊兰质量综合评价及品种选育、GAP基地建设、药材合理开发利用提供一定科学依据。

【关键词】 贵州; 石吊兰; 主成分分析; 质量评价

【中图分类号】 R283.6 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2012)20-0078-03

Principal Component Analysis of the Guizhou *Lysionotus pauciflorus* Research on Comprehensive Evaluation

PAN Wen-ting, ZHANG Li-yan*, LI Yan, YANG Yu-qing, ZHANG Li-li, LI Jian
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

【Abstract】 **Objective:** Comprehensively compare and evaluate quality of Guizhou *Lysionotus pauciflorus*. **Method:** HPLC method and UV method were used on different origin of Guizhou, different harvest time, different processing method for determination of the origin of *L. pauciflorus*, for two kinds of chemical composition method, by using principal component analysis and comprehensive quality evaluation comparative study. **Result:** When the *L. pauciflorus* products in the Yongzheng, cold blunt village and reaps in July and is dried, its comprehensive quality was best. **Conclusion:** Different origin, different harvest time, different processing method of the origin of *L. pauciflorus* affect the quality deeply. The study results provide certain scientific basis for the comprehensive quality of *L. pauciflorus* and variety breeding, base construction of GAP, the rational development and utilization of

【收稿日期】 20111114(014)

【基金项目】 贵阳市科学技术计划项目([2008]筑科农合同字第7-3号)

【第一作者】 潘雯婷,在读硕士研究生,从事中药质量控制与新药研究, Tel:13639073195, E-mail:panwenting126@126.com

【通讯作者】 *张丽艳,教授,硕士生导师, Tel:13984870641, E-mail:zly1964@163.com

- [4] 涂兴明,刘滢华,刘承萍,等. 不同来源野菊花的质量研究[J]. 中药新药与临床药理,2010,21(4):425. [9] 张明,程文明,李俊,等. 正交设计法优化野菊花中蒙花苷的提取工艺[J]. 时珍国医国药,2010,21(8):1882.
- [5] 彭朋,程雪梅,郭英,等. 野菊花栓剂质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):81. [10] 黄家利,张红梅,徐秀泉. 正交设计法优化野菊花多糖的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(18):30.
- [6] 林丽美,王永炎,许招懂,等. 反相高效液相色谱法同步测定野菊花中绿原酸、木犀草素-7-O-β-D葡萄糖苷和蒙花苷含量[J]. 中南药学,2009,7(8):574. [11] 吴明侠,王晶娟,张贵君. 野菊花水煎剂中7种药效组分的含量测定[J]. 中成药,2011,33(2):300.
- [7] 谭晓杰,景丹,陈晓辉,等. HPLC测定野菊花中绿原酸的含量[J]. 中药材,2004,27(4):256.
- [8] 符玲,潘成学,蒋莹,等. 不同产地市售野菊花中绿原酸的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16

[责任编辑 顾雪竹]