

# 野菊不同部位绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量测定

何小珍<sup>1</sup>, 郭玉<sup>1</sup>, 徐小娜<sup>2</sup>, 彭翔<sup>1</sup>, 刘刚<sup>1</sup>, 喻翠云<sup>1\*</sup>

(1. 南华大学 药理学系, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学 卫生检验系, 湖南 衡阳 421001)

**[摘要]** 目的: 检测湖南衡阳产野菊不同部位(叶、花、花蕾、嫩茎及老茎)中绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量。方法: 以 80% 的乙醇为溶剂, 用超声法提取野菊不同部位中的绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸。采用高效液相色谱法检测绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量, 以 0.05% 磷酸水溶液-乙腈为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 327 nm。结果: 绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的质量浓度在 10~100 mg·L<sup>-1</sup> ( $r = 0.996, r = 0.992$ ) 与峰面积呈良好的线性关系 ( $n = 5$ ), 平均回收率 ( $n = 6$ ) 分别为 98.5%, 99.7%。野菊叶、花、花蕾、嫩茎及老茎中绿原酸的含量分别为 1.08%, 0.44%, 0.39%, 0.58% 及 0.52%; 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量分别为 1.66%, 1.01%, 0.82%, 0.93%, 0.64%, 其中野菊叶中绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量最高。结论: 野菊不同部位均含有绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸, 但它们的含量存在明显差异。

**[关键词]** 野菊; 绿原酸; 3,5-二咖啡酰奎尼酸; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0072-04

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20120327.2700.007 **[网络出版时间]** 2012-03-27 14:47

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120327.1447.007.html>

**[收稿日期]** 20120111(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81102409); 湖南省教育厅项目(10C1179)

**[第一作者]** 何小珍, 硕士, 实验师, 从事药物分析研究, Tel:0734-8281753, E-mail:hexiaozhen988@yahoo.cn

**[通讯作者]** \* 喻翠云, 博士, 副教授, 从事药剂学研究, Tel:0734-8281753, E-mail:zyzd\_111@yahoo.com.cn

降低(图 1), 究竟是何种成分变化, 值得进一步研究。由于产地不同, 化学成分的组成可能存在差异。因此, 对于其他产地黄精中糖的组成还需研究才能确定。

为研究各种小分子糖随炮制时间的变化, 制备了 2 个品种即多花黄精和黄精不同炮制时间的酒制饮片。结果显示(表 4), 蔗糖含量随炮制时间的延长呈现相同的升高趋势, 8 h 时达到最高, 然后逐渐下降; D-果糖的含量也随着炮制时间的延长增加, 16 h 时达到最高, 随后呈下降趋势; D-葡萄糖在黄精、多花黄精和滇黄精的 8, 16, 16 h 酒制品中分别检测到; 比较 2 种还原糖葡萄糖与果糖的总量以及 3 种小分子糖的总量, 在多花黄精和黄精不同炮制时间饮片上都是 16 h 最高, 是生品的 4 倍以上; 滇黄精炮制 16 h 后, 总还原糖与总小分子糖含量为生品的 24 倍以上, 差异非常显著。有报道黄精酒炖 25 h 还原糖含量最高<sup>[7]</sup>, 与本研究结果有一定差异。

## [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010;288.
- [2] 钟凌云, 周焯, 龚千锋. 炮制对黄精薯蓣皂苷元影响的研究[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(3):538.
- [3] 喻雄华, 张大舜. 不同方法炮制的黄精中多糖含量的比较[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(10):1306.
- [4] 杨云, 王爽, 冯云霞, 等. 黄精中小分子糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(18):3447.
- [5] 冯云霞. 炮制加工对黄精化学成分的影响及其饮片质量研究[D]. 郑州:河南中医学院, 2008.
- [6] 刘柳, 郑芸, 董群, 等. 黄精多糖的组分及其免疫活性[J]. 中草药, 2006, 37(8):1132.
- [7] 杨云, 万焱, 许小华, 等. 黄精中还原糖含量与饮片加工方法和时间的相关性研究[J]. 中药材, 2008, 31(11):1631.

[责任编辑 蔡仲德]

## Comparison Analysis of Chlorogenic Acid and 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic Acid in Different Parts of *Chrysanthemum indicum*

HE Xiao-zhen<sup>1</sup>, GUO Yu<sup>1</sup>, XU Xiao-na<sup>2</sup>, PENG Xiang<sup>1</sup>, LIU Gang<sup>1</sup>, YU Cui-yun<sup>1\*</sup>

(1. Department of Pharmacy, University of South China, Hengyang 421001, China;

2. Department of Sanitary Inspection, University of South China, Hengyang 421001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the contents of chlorogenic acid and 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid in the different parts of *Chrysanthemum indicum*, which sources from hengyang, Hunan province. **Method:** Chlorogenic acid and 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid in the different parts of *C. indicum* were extracted by the method of ultrasonic method with 80% ethanol and analyzed by RP-HPLC at the wavelength of 327 nm with the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. Meanwhile, 0.05% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> aqueous solution and acetonitrile were used as the mobile phase with gradient elution. **Result:** The linear range ( $n = 5$ ) of chlorogenic acid ( $r = 0.996$ ) and 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid ( $r = 0.992$ ) was 10-100 mg·L<sup>-1</sup>. The average recoveries ( $n = 6$ ) of chlorogenic acid and 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid were 98.5% and 99.7%, respectively. The contents of chlorogenic acid in the different parts of *C. indicum* including leaves, flowers, buds, tender stems and old stems was 1.08%, 0.44%, 0.39%, 0.58% and 0.52%, respectively, while the contents of 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid was 1.66%, 1.01%, 0.82%, 0.93% and 0.64%, respectively. The contents of chlorogenic acid and 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid in the leaves are the highest of the all tested samples. **Conclusion:** Different parts of *C. indicum* tested all have chlorogenic acid and 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid, but the contents of which was obvious difference.

**[Key words]** *Chrysanthemum indicum*; chlorogenic acid; 3, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid; RP-HPLC

野菊花为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序,具有清热解毒、疏风明目之功效,为常用中草药<sup>[1]</sup>,其清热解毒的药效组分主要是黄酮类和以绿原酸为代表的有机酸类化合物<sup>[2]</sup>。已有文献报道野菊不同部位总黄酮含量的测定<sup>[3]</sup>,但关于野菊不同部位中绿原酸等有机酸类成分含量测定的报道较少<sup>[4]</sup>。目前国内已有大量文献报道野菊花中绿原酸含量的测定<sup>[5-10]</sup>,而对野菊花中3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量测定报道则不多<sup>[2]</sup>。本文以高效色谱法同时测定野菊不同部位(叶、花、花蕾、嫩茎及老茎)中绿原酸和3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量,考察不同部位中绿原酸和3,5-二咖啡酰奎尼酸含量的差异,为野菊资源的综合开发利用提供参考。

### 1 仪器与试剂

LC-2010A型高效液相色谱仪(日本岛津), Sartorius BT25S型电子分析天平(德国赛多利斯), B5500S-DTH型超声波清洗仪(上海必能信超声有限公司)。

野菊秋季采自衡阳老山,将新鲜同株植物的全花、花蕾(野菊米)、嫩茎(花以下20 cm内)、老茎

(根以上20 cm内)、叶分别剪下,自然风干,60℃干燥1 h,粉碎待用。绿原酸(A0022-100 mg, CAS No 327-97-9)和3,5-二咖啡酰奎尼酸(批号 MUST-11061601, CAS No:2450-53-5)对照品购自成都曼思特科技有限公司,色谱纯甲醇由天津市协和昊鹏色谱科技有限公司提供,色谱纯乙腈为天津市大茂化学试剂厂的产品,其他试剂均为分析纯,实验用水为双蒸水(自制)。

### 2 方法

**2.1 标准品溶液的配制** 精密称取绿原酸和3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品各0.00250 mg,分别置于5 mL棕色量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得500 mg·L<sup>-1</sup>绿原酸及3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品储备溶液。分别用移液器精密移取绿原酸和3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品溶液各0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL置于5 mL棕色量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜过滤,收集滤液,待测。

**2.2 供试品溶液的制备** 分别取野菊叶、花、花蕾、嫩茎及老茎各部位粉末(过40目筛)0.25 g(3份),精密称定,分别置于250 mL具塞锥形瓶中,精密加入80%乙醇溶液50 mL,称定质量,浸泡12 h,超声

(超声功率:高)处理 30 min,放冷;再称定质量,用 80% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,待测。

**2.3 色谱条件** 岛津 VP-ODS 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm, Serial No. 5042616, SHIMADZU);流动相 A 相为 0.05% 磷酸水溶液, B 相为乙腈,梯度洗脱见表 1。检测波长 327 nm,柱温室温,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。

表 1 梯度洗脱条件

t/min	磷酸水溶液/%	乙腈/%
0.01	91	9
3.00	85	15
5.00	81	19
17.00	79	21
35.00	66	34
45.00	58	42
53.00	20	80
60.00	0	100

### 3 结果与分析

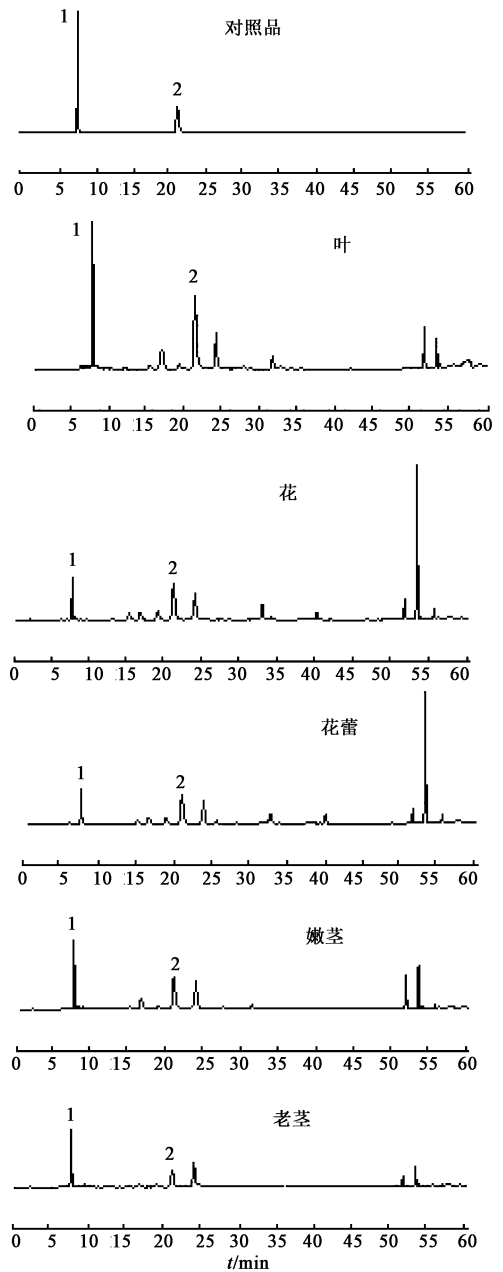
**3.1 线性关系考察** 在上述色谱条件下,将 2.2 项配制的对照品溶液进样分析。由峰面积(Y)和对照品溶液浓度(X)绘制标准曲线,得绿原酸回归方程  $Y = 3.55 \times 10^4 X - 3.50 \times 10^5$  ( $r = 0.996$ ); 3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品回归方程  $Y = 3.38 \times 10^4 X - 4.60 \times 10^5$  ( $r = 0.992$ )。绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸质量浓度分别在 10 ~ 100 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好的线性关系。对照品与样品色谱图见图 1。

**3.2 精密度试验** 取混合对照品溶液(60 mg·L<sup>-1</sup>),进样 10 μL,连续进样 6 次,记录峰面积积分值。测得绿原酸对照品浓度的 RSD 1.01%, 3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品浓度的 RSD 1.21%,说明方法具有较好的精密度。

**3.3 重复性试验** 取同一处野菊叶粉末 6 份,分别按 2.2 项下方法,重复制备样品后分别进样 10 μL 检测,测定峰面积,分别计算绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量。绿原酸的 RSD 1.98%, 3,5-二咖啡酰奎尼酸 RSD 1.81%。

**3.4 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液 10 μL,分别于配制后 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 测定绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸峰面积的 RSD 分别为 1.66% 和 1.97%,结果表明供试品溶液在 24 h 内保持稳定。

**3.5 回收率试验** 精密称定已知含量的野菊叶粉



1. 绿原酸; 2. 3,5-二咖啡酰奎尼酸

图 1 对照品和野菊不同部位的 HPLC 图谱

末约 0.125 g,共 6 份,分别加入绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸对照品适量,照 2.2 项下方法制备供试品溶液,进样分析,测得绿原酸的平均加样回收率为 98.5%, RSD 1.38%, 3,5-二咖啡酰奎尼酸的平均加标回收率为 99.7%, RSD 为 2.85%。结果见表 2。表明该方法准确度较好。

**3.6 样品测定** 对野菊样品制备的供试品溶液按 2.3 色谱条件进样测定,外标法计算绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的质量分数,结果见表 3。

表2 野菊中2种成分加样回收试验

成分	样品中量 /mg	添加量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
绿原酸	1.35	1.30	2.60	98.1	98.5	1.38
	1.34	1.31	2.59	97.7		
	1.35	1.33	2.61	97.4		
	1.35	1.29	2.58	97.7		
	1.35	1.32	2.70	101.1		
	1.33	1.35	2.65	98.9		
3,5-二咖啡酰奎尼酸	2.08	2.00	4.01	98.3	99.7	2.85
	2.06	1.91	4.10	103.3		
	2.08	2.01	4.12	100.7		
	2.08	2.10	3.98	95.2		
	2.08	2.02	4.06	99.0		
	2.04	1.98	4.09	101.7		

表3 野菊不同部位中绿原酸及3,5-二咖啡酰奎尼酸含量测定(n=3) %

野菊部位	绿原酸	3,5-二咖啡酰奎尼酸
叶	1.08	1.66
花	0.44	1.01
花蕾	0.39	0.82
嫩茎	0.58	0.93
老茎	0.52	0.64

#### 4 讨论

本研究采用高效液相色谱法,利用梯度洗脱同时测定野菊不同部位中绿原酸和3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量,结果色谱图中两个目标峰峰形较好,与杂质峰都能达到基线分离,表明此方法能较好应用于野菊不同部位绿原酸和3,5-二咖啡酰奎尼酸含量的测定。

应用本法测定湖南衡阳产野菊不同部位中绿原酸和3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量,结果显示,野菊叶、花、花蕾、嫩茎及老茎均含有绿原酸和3,5-二咖

啡酰奎尼酸,但它们的含量差异较为明显,各部位所含绿原酸的量叶>嫩茎>老茎>花>花蕾,其中以叶中含量最高。各部位所含3,5-二咖啡酰奎尼酸的量叶>花>嫩茎>花蕾>老茎。叶中所含的绿原酸与3,5-二咖啡酰奎尼酸的量均为最高。已有文献报导野菊各部位均含有黄酮类成分,其中以叶中总黄酮含量最高,这表明野菊叶是开发野菊花药用价值的较好资源,可以充分利用。

#### [参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海:上海科技出版社,1977:2008.
- [2] 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.
- [3] 白少岩,蓝静. 野菊花不同部位总黄酮含量的比较[J]. 齐鲁药事,2005,24(6):355.
- [4] 何小珍,贺冬秀,喻翠云,等. 野菊叶中绿原酸及木犀草素-7-O-葡萄糖苷测定[J]. 南华大学学报:自然科学版,2010,24(4):95.
- [5] 袁学勤,迟静波,胥云. HPLC测定野菊花中绿原酸的含量[J]. 中成药,2005,27(4):493.
- [6] 徐韧柳,李丽华,康怀萍. 反相高效液相色谱法测定野菊花中绿原酸的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,2005,22(4):333.
- [7] 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(5):68.
- [8] 朱晓丽,宋亚芳,李学林,等. 高效液相色谱法测定野菊花中绿原酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2):32.
- [9] 郭巧生,房海灵,申海进. 不同产地野菊花中绿原酸、咖啡酸和蒙花苷含量[J]. 中国中药杂志,2010,35(9):1160.
- [10] 符玲,毕跃峰,田新慧,等. 野菊花中绿原酸不同提取工艺比较[J]. 郑州大学学报:医学版,2010,45(3):499.

[责任编辑 蔡仲德]