

HPLC 对不同品种菊花中绿原酸含量的测定

孙英英¹, 崔永霞², 刘伟^{2*}

(1. 河南中医学院第三附属医院, 郑州 450000; 2. 河南中医学院分析测试中心, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定菊花中绿原酸含量的方法。方法: HPLC, Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相甲醇-磷酸二氢钠缓冲液 [(15.6 ~ 1 000 mL), 加入磷酸使 pH 2.7] (20:80), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 328 nm。结果: 绿原酸的检测线性范围 0.2 ~ 1.0 mg·L⁻¹ (r=0.999 9), 平均加样回收率 98.78%, RSD 0.97% (n=6)。结论: 方法可作为控制菊花的质量。

[关键词] 高效液相; 菊花; 绿原酸; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0083-02

Determination of Chlorogenic Acid from Various Species of *Chrysanthemum morifolium* by HPLC

SUN Ying-ying¹, CUI Yong-xia², LIU Wei^{2*}

(1. Henan College of Traditional Chinese Medicine; 2. Center of Analysis and Measurement of Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** The method of HPLC was established for the quality control of *Chrysanthemum morifolium*. **Method:** The scopoletin was performed on a column C₁₈ with a mobile phase of MeOH-NaH₂PO₃ (15.6-1 000 mL, pH 2.7), flowrate was 1.0 mL·min⁻¹, detected at 328 nm. **Result:** The calibration curve was linear (r = 0.999 9) within the range of 0.2-1.0 mg·L⁻¹ for chlorogenic acid. The average recovery was 98.78% and RSD is 0.97% (n = 6) The method was simple and accurate. **Conclusion:** The method of high performance liquid chromatography can be used for the quality control of *C. morifolium*.

[Key words] HPLC; *Chrysanthemum morifolium*; chlorogenic; acid content determination

菊花为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat 的干燥头状花序, 按产地和加工方法不同, 分为“亳菊”、“滁菊”、“贡菊”、“杭菊”。菊花具有疏风清热、明目解毒、抗病原及增强毛细管抵抗力等功效^[1]。绿原酸为菊花中的主要成分之一^[2], 通过 HPLC 测定菊花中绿原酸的含量可控制其内在质量。

1 材料

DIONEX Summit 系统 HPLC 仪 (美国戴安公司), PDA-100 检测器, 绿原酸对照品 (批号 0753-200111, 中国药品生物制品检定所), 药材分别购自各地, 为各品种菊花道地药材; 甲醇为色谱纯, 水为双蒸水, 其他均为分析纯试剂。

2 方法与结果

2.1 色谱条件和系统适应性试验 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 检测波长 328 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 流动相甲醇-磷酸二氢钠缓冲液 [(15.6 ~ 1 000 mL), 加入磷酸使 pH 为 2.7] (20:80)。见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品 10.00 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至

[收稿日期] 2011-07-19

[基金项目] 河南省教育厅自然科学研究计划项目 (2003350178)

[第一作者] 孙英英, 副主任药师, 从事中药研究, Tel: 0371-65975606

[通讯作者] * 刘伟, 教授, Tel: 0371-6575838, E-mail: hnliuwei2088@sina.com

刻度,摇匀,再吸取 5 mL 置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得 0.1 g·L⁻¹的对照品溶液。(备用,4℃以下冰箱中存放)。

2.3 供试品溶液的制备 取干燥的菊花供试品,粉碎(过一号筛),精密称定 1 g,置于干燥烧瓶中,精密加入甲醇 50 mL,精密称定,加热回流 2 h,冷却,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,分别精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残渣加氯仿 5 mL,浸渍 3 min,弃去氯仿液,残渣挥去氯仿,加甲醇适量溶解,并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,备用。

2.4 线性关系考察 精密量取 2.2 项下绿原酸对照品溶液 2,4,6,8,10 mL,用甲醇定容至 10 mL,混匀即得质量浓度分别为 0.02,0.04,0.06,0.08,0.10 g·L⁻¹的绿原酸对照品溶液。按上述色谱条件各进样 10 μL,以进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为 $Y = 55.8341X - 0.9887$ ($r = 0.9999$)。结果绿原酸在 0.2 ~ 1.0 g·L⁻¹线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取 2.2 项下绿原酸对照品溶液 4 μL,连续进样 5 次,测定峰面积值,RSD 1.92%,仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取上述制备好的温县农科所小怀菊供试品溶液 6 μL,每隔 2 h 进样 1 次,考察样品的稳定性,结果 RSD 0.56%,表明供试品在 8 h 内具有良好的稳定性。

2.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品(小怀菊武陟北郭乡)5 份,精密加入绿原酸对照品,照 2.3 项下操作制成供试品溶液,测定绿原酸含量,计算回收率,结果平均回收率 98.78%,RSD 0.97%,详见表 1。

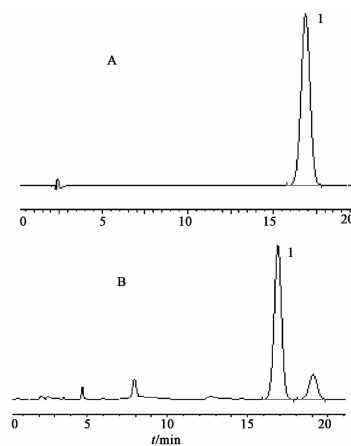
表 1 绿原酸加样回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
0.500 2	0.552 5	0.61	1.145 6	97.22
0.499 9	0.552 3	0.61	1.152 4	98.37
0.500 0	0.552 7	0.61	1.156 7	99.01
0.500 1	0.552 2	0.61	1.157 8	99.27
0.500 3	0.552 6	0.61	1.163 2	100.09
0.499 8	0.552 2	0.61	1.154 7	98.77

2.8 样品含量测定 按照 2.1 测定方法项下色谱条件对 6 份样品进行含量测定。每个样品的测定结果为 5 次测定平均值,结果见表 2。

表 2 菊花中绿原酸测定

样品名	绿原酸 mg·g ⁻¹
小怀菊武陟北郭乡	0.10
小怀菊温县农科所	0.14
杭大白菊	0.27
亳菊	0.25
滁菊	0.24
贡菊	0.28



A. 对照品;B. 样品;1. 绿原酸

图 1 贡菊的 HPLC

3 讨论

菊花甲醇提取物加氯仿浸渍可除掉脂溶性杂质,得到更好的分离效果。

曾采用甲醇-磷酸二氢钠缓冲液[(15.6 ~ 1 000 mL),加入磷酸使 pH 2.7]不同比例进行等度洗脱,菊花中成分不能得到最佳分离,采用 20:80 比例进行等度洗脱,结果分离效果较好。

根据不同产地菊花中绿原酸的含量和图谱特点可以明显反映出不同来源菊花样品在质量上的差异,综上所述对所测定菊花的质量评价为:杭大白菊、亳菊、滁菊、贡菊的质量优于怀菊,其中贡菊的质量最优。

怀菊中绿原酸的含量偏低(未达到药典规定),究其原因有以下两点:①怀菊花炮制方法的影响。怀菊花采收之后直接在地里晒干,经过风吹日晒,怀菊花中绿原酸含量有所损失。②样品存放不当。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海:上海人民出版社.
[2] 刘金旗,沈其权,刘劲松,等. 贡菊化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(8):547.

[责任编辑 蔡仲德]