

不同产地的市售野菊花中绿原酸的含量测定

符玲, 潘成学, 蒋莹, 马刚, 邵雪, 毕跃峰*
(郑州大学药学院, 郑州大学新药研发中心, 郑州 450001)

[摘要] 目的: 建立野菊花中绿原酸的 HPLC 分析方法, 并对 10 个产地的市售野菊花药材进行分析, 考察野菊花药材的质量。方法: 采用 Agilent XDE-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-冰醋酸-水 (18:1:81), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 327 nm, 柱温为 20℃。结果: 不同产地的市售野菊花药材的绿原酸含量差别很大。结论: 所建立的野菊花中绿原酸的定量分析方法重复性好, 专属性强, 简便迅速; 对 10 批药材的分析结果表明野菊花药材质量差别很大, 有必要进一步加强质量控制。

[关键词] 野菊花; 绿原酸; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0068-02

野菊花为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花, 秋、冬二季初开放时采摘, 晒干或蒸后晒干^[1]。野菊花中的主要有效成分有蒙花苷、木犀草素、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸等, 是许多生药和中成药的质量控制指标^[2]。05 版《中国药典》一部中野菊花药材项下仅收录了蒙花苷的分析方法。因此, 笔者建立了野菊花中绿原酸的定量分析方法, 并对 10 批不同产地的市售野菊花进行了分析考察, 为市面上该药材的质量控制和相关制剂生产提供科学的依据和参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 G1314AVWD 紫外检测器; G1311A 四元泵; Agilent Chemstation 色谱工作站; BP211D 分析天平 (德国赛多利斯); KQ5200E 超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); FW177 中药粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); PA6-GF30 闪式提取器 (北京金鼎科技发展有限公司); BXHW 电热套 (北京科伟永兴有限公司); RE-52AA 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); 滤纸; 微孔滤膜 (0.45 μm)。

1.2 试剂 甲酸、冰醋酸、丙酮、甲醇 (以上均为分析纯); 甲醇、乙腈 (均为色谱纯); 水为超纯水。

1.3 试剂 绿原酸对照品 (批号 10753-200413), 购自中国药品生物制品检定所, 10 批野菊花药材经郑州大学药学院中药教研室潘成学副教授鉴定均为菊

科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花, 具体来源及性状见表 2。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent XDE-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 20℃; 进样量: 20 μL; 流动相: 甲醇-冰醋酸-水 (18:1:81); 检测波长: 327 nm; 理论塔板数按绿原酸峰计算, 不低于 5 000, 分离度大于 1.5, 见图 1。

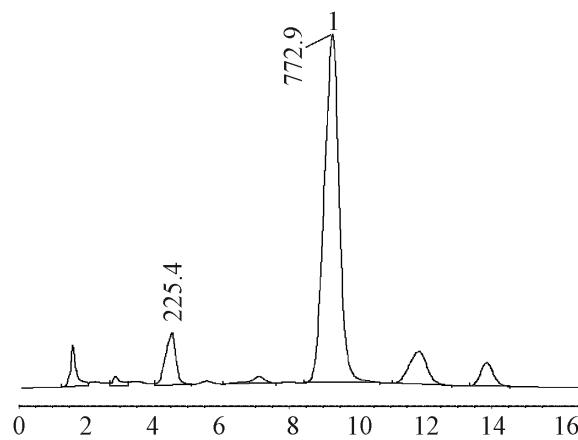


图 1 野菊花样品液 HPLC 色谱图

1. 绿原酸

2.2 线性关系考察 精密称取绿原酸对照品 0.012 65 g, 置 25 mL 棕色容量瓶中, 加 50% 甲醇溶液至刻度, 摇匀, 从其中精密吸取 15 mL 置 50 mL 棕色容量瓶中, 加 50% 甲醇溶液至刻度, 摇匀, 即得母液 (浓度为 0.151 8 mg·mL⁻¹)。从母液中分别取 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL 至 10 mL 棕色容量瓶中, 加 50% 甲醇溶液至刻度。以绿原酸的峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 进行回归, 得回归方程: $Y = 4.49 \times 10^4 X - 5.90 \times 10$, $r = 0.999 9$, 绿原酸浓度在 0.015 18 ~ 0.151 8 mg·mL⁻¹ 范围内, 线性关系良好。

2.3 样品溶液的制备 精密称取野菊花粉末 1 g

[收稿日期] 2009-09-15

[通讯作者] * 毕跃峰, Tel: (0371) 67781890; E-mail: 2000byf@sina.com

置于圆底烧瓶中,精密加入 85% 乙醇溶液 50 mL,称重,水浴回流 1 h,放冷,补足回流中减失的质量,滤过,即得野菊花样品溶液。

2.4 精密度试验 取上述方法提取的野菊花样品溶液连续测定 6 次,测得绿原酸峰面积的 RSD 为 0.35%;取绿原酸对照品溶液(浓度为 0.090 18 mg·mL⁻¹)连续测定 6 次,绿原酸峰面积的 RSD 为 0.73%。

2.5 重复性试验 取 5 份野菊花药材粉末按照 2.3 项下方法,提取,测定,绿原酸峰面积的 RSD 为 0.38%。

2.6 稳定性试验 将同一批野菊花样品溶液每隔 2 h 测定一次,连续测定 12 h,绿原酸峰面积的 RSD 为 2.61%,表明样品在 12 h 内稳定。

2.7 回收率试验 取野菊花粉末 0.5 g,共 6 份,精密称定,分别精密加入 0.506 0 mg·mL⁻¹ 绿原酸对照品溶液 2 mL,照 2.3 项下方法,提取,测定,绿原酸的平均回收率为 101.81%,RSD 为 2.61%,具体结果见表 1。

表 1 野菊花药材加样回收率(n=2)

No.	样品量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.5	0.96	1.01	1.96	99.01		
2	0.5	0.95	1.01	1.94	98.02		
3	0.5	0.93	1.01	1.97	102.97		
4	0.5	1.05	1.01	2.10	103.96	101.81	2.61
5	0.5	0.97	1.01	2.02	103.96		
6	0.5	1.02	1.01	2.06	102.97		

2.8 不同来源野菊花中绿原酸的测定结果 精密称取不同产地野菊花药材粉末各 1 g 置于圆底烧瓶中,按照 2.3 项下方法,提取,并按照以上方法进行测定,其结果见表 2。

表 2 10 批野菊花药材的性状和绿原酸含量(n=2)

No.	来源	性状	绿原酸/%
1	贵州省遵义市	半开花、棕黄色、芳香味较浓	0.47
2	河南省信阳商城县	半开花、棕黄色、芳香味较浓	0.21
3	河南省济源市	已开花、黄色、芳香味较浓	0.20
4	安徽省亳州市	未开花、棕黄色、芳香味较淡	0.19
5	云南省昆明市	半开花、棕黄色、芳香味较淡	0.19
6	广西省柳州市	已开花、亮黄色、芳香味较淡	0.16
7	山东省德州市	半开花、棕黄色、芳香味较浓	0.13
8	江西省樟树市	半开花、棕黄色、芳香味较浓	0.12
9	山东省莱阳市	未开花、棕色、几乎无芳香味	0.07
10	河南省郑州市	半开花、棕色、几乎无芳香味	0.02

3 讨论

从实验结果来看,10 批野菊花药材外部性状、绿原酸差别都很大,考虑可能与药材的采收、加工和贮藏方法不一有很大关系,其中 9 号和 10 号两批样品颜色晦暗,几乎没有芳香味,绿原酸含量非常低;此外,笔者又按照药典方法将 10 批药材中蒙花苷的含量进行测量,并且结合性状分析发现,花未开或半开时,蒙花苷含量较高,花开后,蒙花苷含量也随之降低;因此,建议下一步固定野菊花药材产区,对采收和后期加工贮藏进行深入研究。

实验中优选了以下几种样品提取溶剂:50% 乙醇、85% 乙醇、95% 乙醇和 50% 甲醇溶液,其中 85% 乙醇和 50% 甲醇溶液提取效果最好,因乙醇较甲醇低毒经济,故选择 85% 乙醇为提取溶剂;其次,对流动相、柱温、检测波长也进行了优选,最终确定以甲醇-冰醋酸-水(18 1 81)为流动相,柱温 25℃,检测波长 320 nm 做为最佳分析条件^[3]。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:北京化学工业出版社,2005:219.
- [2] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编:内科肺系(一)分册[S]. 2002:429.
- [3] 罗国平,孟会宁. HPLC 法测定野菊花注射液中绿原酸的含量[J]. 药品评价,2006,3(3):204.