

# 高效液相色谱法测定野菊花中绿原酸的含量

朱晓丽<sup>1\*</sup>, 宋亚芳<sup>2</sup>, 李学林<sup>1</sup>, 陈天朝<sup>1</sup>, 段晓颖<sup>1</sup>, 周波<sup>1</sup>

(1. 河南中医学院第一附属医院药学部, 河南 郑州 450000; 2. 首都医科大学燕京医学院, 北京 101300)

**[摘要]** 目的: 建立野菊花中酚酸类主要活性成分绿原酸的含量测定方法。方法: 采用 RP-HPLC 方法, 色谱柱为 Agilent XDB-C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相选用乙腈-0.4% 磷酸水 (13:87), 流速 0.8 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 327 nm, 柱温为 30 °C, 样品温度 20 °C。结果: 绿原酸在 0.088 ~ 1.76 μg 范围内线性关系良好; 平均回收率分别为 98.8%, RSD 小于 1.0%; 不同产地野菊花中绿原酸的含量均大于 1‰。结论: 本方法方便、准确、可以用于野菊花药材质量的进一步补充和完善。

**[关键词]** 反相高效液相色谱; 野菊花; 绿原酸

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)02-0032-02

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、疏风平肝之功效, 用于疔疮、痈肿、丹毒, 风热感冒, 咽喉肿痛, 高血压眩晕, 头痛等症<sup>[1]</sup>。野菊花中富含黄酮类、酚酸类、萜类、挥发油等化学成分。其中绿原酸是野菊花中酚酸类化合物中的主要活性成分, 蒙花苷是其黄酮类化合物的主要代表性成分, 二者均是野菊花抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒等的有效成分<sup>[2-3]</sup>, 但是 2005 版《中国药典》中仅对蒙花苷的含量进行了限定。因此, 本研究选择绿原酸作为指标性成分, 采用 RP-HPLC 法测定绿原酸在野菊花中的含量, 为野菊花药材的质量标准进一步完善提供参考。

## 1 仪器、试剂和样品

Waters Alliance 高效液相色谱系统, 2695 溶剂管理系统, 2996 二极管阵列检测器、Empower<sup>2</sup> 色谱工作站; BPZ11D 型电子分析天平 (Satorius 公司)

磷酸 (分析纯, 北京化工厂); 乙腈 (色谱纯, TE-DIA 公司); 水为娃哈哈纯净水。

野菊花购自各地药材公司或药店, 经中国中医科学院中药研究所何希荣主管技师鉴定为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序。对照品均由中国药品生物制品检定所提供, 绿原酸 (供含量测定用, 批号 110753-200413)。

## 2 方法与结果

**[收稿日期]** 2009-06-26

**[基金项目]** 中国博士后基金资助 (20070420062)

**[通讯作者]** \* 朱晓丽, Tel: 13526833539

**2.1 色谱条件** Agilent XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸水溶液 (13:87); 流速 0.8 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 327 nm, 进样量 10 μL, 柱温为室温。在该色谱条件下, 绿原酸可达到基线分离, 其它成分无干扰 (见图 1)。

### 2.2 样品的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取绿原酸对照品适量, 加甲醇制成浓度为 0.88 mg · mL<sup>-1</sup> 的溶液, 即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品粉末 (过四号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇溶液 50 mL, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 用 0.45 μm 滤过, 即得。

**2.3 标准曲线绘制** 分别精密吸取已经配制好的绿原酸对照品溶液适量, 稀释成 88 μg · mL<sup>-1</sup> 溶液, 摇匀。分别吸取标准品溶液 1, 2, 5, 10, 15 和 20 μL 进样, 按照上述色谱条件测定绿原酸的峰面积, 以峰面积为纵坐标, 进样量 (μg) 为横坐标进行线性回归, 结果各成分的线性关系良好。绿原酸回归方程为  $Y = 4.44 \times 10^5 X + 3.21 \times 10^3$ ,  $r = 0.9997$ , 线性范围为 0.088 ~ 1.76 μg。

**2.4 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 测定绿原酸峰面积, 结果绿原酸峰面积的 RSD 为 0.71%。

**2.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于样品制备后第 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 h 进样 10 μL, 测定绿

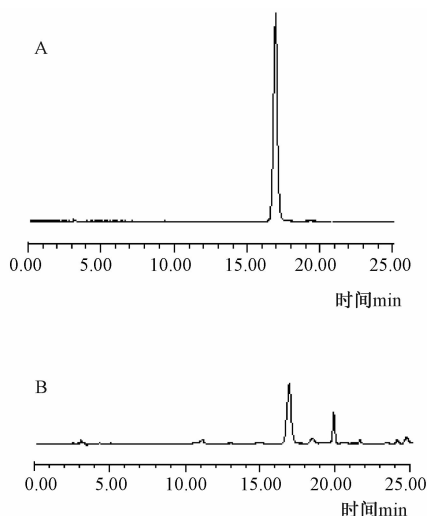


图 1 HPLC 色谱图

A. 对照品绿原酸; B. 供试品野菊花

原酸峰面积, 结果绿原酸峰面积的 RSD 为 1.95%。

**2.6 重复性试验** 对同一批的样品, 按 2.2.2 项平行处理 6 份, 并计算含量, 结果绿原酸含量的 RSD 为 1.83%。

**2.7 加样回收率试验** 取同一批已知含量的药材粉末约 0.25 g, 平行 6 份精密称定, 分别精密加入一定量绿原酸对照品, 按 2.2.2 项制成加样供试品溶液, 按上述色谱条件测定含量, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验 (n=6)

序号	称样量 (g)	样品中量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.2517	0.8810	0.8800	1.7496	98.7		
2	0.2500	0.8750	0.8800	1.7506	99.5		
3	0.2501	0.8754	0.8800	1.7431	98.6	98.8	0.36
4	0.2502	0.8757	0.8800	1.7434	98.6		
5	0.2504	0.8764	0.8800	1.7441	98.6		
6	0.2502	0.8757	0.8800	1.7443	98.7		

**2.8 样品测定** 将购买的野菊花药材按 2.2.2 项制成供试品溶液, 按照上述色谱条件进样, 随行标品, 测定结果请见表 2。

表 2 样品含量测定 (n=2)

购买地	绿原酸 (%)	购买地	绿原酸 (%)	购买地	绿原酸 (%)
浙江温州	0.33	湖南邵阳	0.39	湖北武汉	0.37
杭州	0.21	祁东	0.28	广西南宁	0.22
义乌	0.41	上海	0.33	重庆	0.37
江苏	0.13	青海西宁	0.26	广东广州	0.33

### 3 讨论

**3.1 提取条件的选择** 本实验考察了水、30% 甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇和甲醇的提取效率, 结果 50% 甲醇提取效率最高; 又以 50% 甲醇作为提取溶剂比较了回流提取与超声提取两种提取方法, 发现回流提取效率不如超声提取, 所以选择超声提取。

**3.2 RP-HPLC 条件的建立** 考察乙腈-水-磷酸系统和甲醇-水-冰醋酸系统为流动相, 结果以乙腈-水-磷酸系统分离效果好。

**3.3 质量评价** 野菊花是传统常用中药材, 应用广泛, 《中国药典》2005 年版中采用 HPLC 方法测定蒙花苷的量<sup>[1]</sup>。本实验建立了高效液相色谱测定野菊花中酚酸类主要活性成分绿原酸的分析方法, 且检测方法简便、快速、准确、重现性好, 可以为野菊花质量标准的进一步补充和完善提供参考。

### [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: 化学工业出版社, 2005: 219.
- [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] 陈耕夫, 郭晓玲, 孟青. 野菊花化学成分分析[J]. 中药材, 2002, 25(2): 103.