

## · 基础研究 ·

野菊花药材与菊花药材特征图谱的比较<sup>△</sup>

史紫娟, 林碧珊, 曾杉, 陈锦霞\*

国药集团广东环球制药有限公司, 广东 佛山 528305

**[摘要]** 目的: 研究野菊花药材和菊花药材的超高效液相色谱(UPLC)特征图谱, 为区分野菊花药材和菊花药材提供参考。方法: 采用CORTECS T3色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.6 μm); 以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相梯度洗脱; 进样量1.0 μL; 检测波长326 nm; 体积流量0.3 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温25 ℃。结果: 在野菊花药材的特征图谱中, 绿原酸峰与蒙花苷峰的相对峰面积均小于1.0, 而在菊花药材的特征图谱中均大于1.0。结论: 该方法简单、高效, 可作为野菊花药材和菊花药材的快速鉴别方法。

**[关键词]** 野菊花; 菊花; 特征图谱; 相对峰面积; 绿原酸; 蒙花苷

**[中图分类号]** R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)09-1511-04

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20190327004

**Comparative Study on Characteristic Chromatogram of Chrysanthemi Indici Flos and Chrysanthemi Flos**

SHI Zi-juan, LIN Bi-shan, ZENG Shan, CHEN Jin-xia\*

Sionpharm Group Guangdong Medi-Word Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528305, China

**[Abstract]** **Objective:** Using UPLC characteristic chromatogram to study Chrysanthemi Indici Flos and Chrysanthemi Flos, and provide reference for distinguishing Chrysanthemi Indici Flos and Chrysanthemi Flos. **Methods:** The analytical approach was performed by CORTECS T3 column (100 mm×2.1 mm, 1.6 μm) and mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution with gradient elution. The injection volume was 1.0 μL and the detection wavelength was set at 326 nm. The flow rate was 0.3 mL·min<sup>-1</sup> and the column temperature was maintained at 25 ℃. **Results:** The peak area ratio of chlorogenic acid and linarin was less than 1.0 in the characteristic chromatogram of Chrysanthemi Indici Flos, while more than 1.0 in that of Chrysanthemi Flos. **Conclusion:** The method is simple and accurate, and it can be used to distinguish Chrysanthemi Indici Flos and Chrysanthemi Flos rapidly.

**[Keywords]** Chrysanthemi Indici Flos; Chrysanthemi Flos; characteristic chromatogram; peak area ratio; chlorogenic acid; linarin

野菊花为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序<sup>[1]314-315</sup>, 秋、冬两季花初开放时采摘, 晒干或蒸后晒干。其味苦, 性微寒, 归肝、心经, 具有清热解毒、泻火平肝之功效<sup>[2]</sup>, 用于治疗痈肿疮毒、湿疹、宫颈炎、前列腺炎、肛窦炎、高血压等<sup>[3]</sup>。菊花为菊科植物菊 *C. morifolium* Ramat. 的干燥头状花序, 具有散风清热、平肝明目、清热解毒的功效, 用于风热感冒、头痛眩晕、目赤肿痛、眼目昏花、疮痍肿毒等<sup>[1]310-311</sup>。

菊花为野菊花的易混淆品种, 目前有野菊花或菊花指纹图谱的研究报道<sup>[4-8]</sup>。但未见采用特征图谱对二者进行区别的研究。本研究从整体上对野菊花

药材和菊花药材进行鉴别研究, 为药材应用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 试药

对照品绿原酸(批号: 110753-201716, 纯度: 99.3%)、木犀草苷(批号: 111720-201408, 纯度: 94.9%)、蒙花苷(批号: 11528-201710, 纯度: 96.6%)均购自中国食品药品检定研究院; 对照品4-咖啡酰奎宁酸(批号: DST170210-035, 纯度: 99.79%)、3, 5-二咖啡酰奎宁酸(批号: DST180110-036, 纯度:

\* [通信作者] 陈锦霞, 女, 工程师, 研究方向: 中药配方颗粒与经典名方; E-mail: 43874588@qq.com

99.5%)、4,5-二咖啡酰奎宁酸(批号:DST170210-038,纯度:99.47%)均购自成都德思特生物技术有限公司;乙腈、磷酸为色谱纯;乙醇为分析纯;水为自制超纯水。

野菊花、菊花药材经广东一方制药有限公司质量中心鉴定,为菊科植物野菊 *C. indicum* L. 的干燥头状花序及菊科植物菊 *C. morifolium* Ramat. 的干燥头状花序,药材来源分别见表1~2。

表1 野菊花药材来源

样品编号	产地	样品编号	产地
1	湖北黄冈	9	河南南阳
2	安徽金寨	10	安徽池州
3	安徽金寨	11	安徽池州
4	安徽金寨	12	安徽池州
5	湖北襄阳	13	湖北孝感
6	湖北襄阳	14	湖北孝感
7	湖北襄阳	15	湖北孝感
8	河南南阳		

表2 菊花药材来源

样品编号	产地	样品编号	产地
1	江苏盐城	7	江苏盐城
2	江苏盐城	8	江苏盐城
3	江苏盐城	9	浙江嘉欣
4	江苏盐城	10	浙江嘉欣
5	江苏盐城	11	浙江嘉欣
6	江苏盐城	12	湖北黄冈

## 1.2 仪器

Waters H-Class 型高效液相色谱仪(PDA 检测器,四元梯度泵,美国沃特世公司);AL104 型电子天平、PL203 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HH-4 型数显恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

CORTECS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.6 μm);以乙腈为流动相 A、0.1% 磷酸水溶液为流动相 B 进行梯度洗脱(0~5 min, 100%~85% B; 5~15 min, 85%~60% B; 15~18 min, 60%~10% B; 18.1~22 min, 100% B);体积流量 0.3 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长 326 nm;柱温 25℃;进样量 1.0 μL。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 分别称取绿原酸、4-咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸和蒙花苷 6 种对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度分别为 21.10、28.00、40.20、28.10、24.90、25.78 μg·mL<sup>-1</sup> 的混合溶液,即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取野菊花和菊花药材粉末(过三号筛)约 0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 60% 乙醇 50 mL,称定质量,加热回流 30 min,放冷,再称定质量,用 60% 乙醇补足缺失的质量,摇匀,离心,用 0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

### 2.3 方法学考察

**2.3.1 精密度试验** 精密称取野菊花和菊花药材各 0.25 g,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,精密吸取同 1 份供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,以共有峰的相对保留时间和相对峰面积为指标计算 RSD 值,结果均小于 2.0%,表明仪器精密度良好。

**2.3.2 重复性试验** 精密平行称取野菊花和菊花药材各 6 份,按 2.2.2 项下的方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行测定,以共有峰的相对保留时间和相对峰面积计算 RSD 值,结果均小于 3.0%;表明该方法重复性良好。

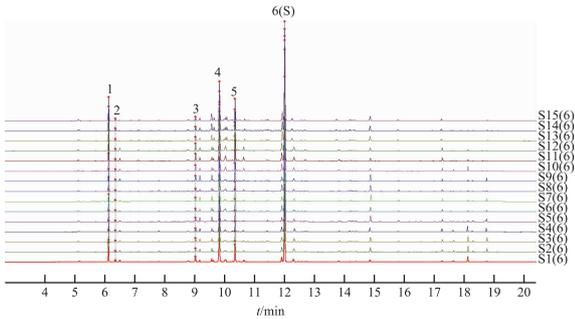
**2.3.3 稳定性试验** 精密吸取同 1 份野菊花和菊花药材供试品溶液,在相同的条件下分别在 0、2、4、6、19、20、24 h 测定,以共有峰的相对保留时间和相对峰面积为指标计算 RSD 值,结果均小于 2.0%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.4 样品测定与分析

分别取 15 批野菊花药材和 12 批菊花药材粉末各 0.25 g,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件依次进样测定,记录色谱图,采用国家药典委员会颁布的“中药指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”对色谱图进行匹配,得到了野菊花药材特征图谱和菊花药材特征图谱,15 批野菊花药材和 12 批菊花药材的 UPLC 特征图谱见图 1~2。同时进行了相似度分析,结果见表 3。

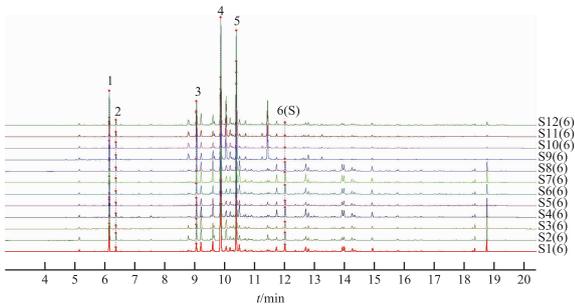
通过对比保留时间和紫外吸收的方法指认了 6 个共有峰,分别为绿原酸(1 号峰)、4-咖啡酰奎宁酸(2 号峰)、木犀草苷(3 号峰)、3,5-二咖啡酰奎宁

酸(4号峰)、4,5-二咖啡酰奎宁酸(5号峰)、蒙花苷(6号峰),指认结果见图3。以蒙花苷参照物峰为S峰,计算绿原酸峰与蒙花苷峰的相对峰面积。结果见表4。



注: 1~6号峰分别为15批野菊花药材特征峰。

图1 15批野菊花药材UPLC特征图谱

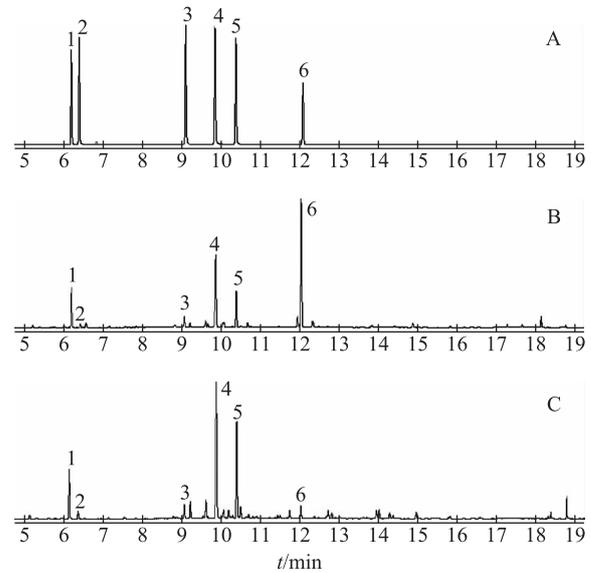


注: 1~6号峰分别为12批菊花药材特征峰。

图2 12批菊花药材UPLC特征图谱

表3 野菊花药材和菊花药材的相似度结果

药材	编号	相似度	药材	编号	相似度
野菊花	1	0.990	菊花	1	0.989
	2	0.993		2	0.996
	3	0.992		3	0.995
	4	0.996		4	0.997
	5	0.996		5	0.991
	6	0.997		6	0.993
	7	0.996		7	0.997
	8	0.996		8	0.995
	9	0.978		9	0.982
	10	0.998		10	0.951
	11	0.998		11	0.978
	12	0.998		12	0.998
	13	0.993			
	14	0.995			
	15	0.996			



注: 1~6号峰分别为绿原酸、4-咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、蒙花苷(S); A. 对照品; B. 野菊花药材; C. 菊花药材。

图3 对照品色谱图、野菊花药材特征图谱及菊花药材特征图谱

表4 多批野菊花药材和菊花药材特征图谱相对峰面积

药材	编号	绿原酸/蒙花苷	药材	编号	绿原酸/蒙花苷
野菊花	1	0.265	菊花	1	3.379
	2	0.225		2	4.599
	3	0.224		3	3.090
	4	0.198		4	1.748
	5	0.189		5	3.721
	6	0.173		6	1.696
	7	0.186		7	1.836
	8	0.167		8	2.259
	9	0.228		9	19.573
	10	0.163		10	45.341
	11	0.152		11	15.724
	12	0.155		12	10.860
	13	0.181			
	14	0.197			
	15	0.196			

### 3 讨论

预试验中对提取溶剂、提取方式和提取时间分别进行了考察,采用甲醇、70%甲醇、50%甲醇、乙醇、60%乙醇、水为提取溶剂,结果70%甲醇和60%乙醇对野菊花和菊花药材主要成分的分离效果均较好,由于60%乙醇比70%甲醇更加安全、经济,最终

(下转第1530页)

- 与建议[J]. 中国现代中药, 2013, 15(9): 727-737.
- [7] 伍贤进, 刘选明, 张俭, 等. 药用植物谱效育种理论及其应用[J]. 中草药, 2010, 41(4): 667-669.
- [8] 沈晓霞, 王志安. 浙江省中药材新品种选育研究现状与展望[J]. 中国现代中药, 2017, 19(3): 311-314.
- [9] 董林林, 陈中坚, 王勇, 等. 药用植物 DNA 标记辅助育种(一): 三七抗病品种选育研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 56-62.
- [10] VENKATESWARLU M, URS S, NATH B, et al. A first genetic linkage map of mulberry (*Morus* spp.) using RAPD, ISSR, and SSR markers and pseudotestcross mapping strategy [J]. *Tree Genet Genomes*, 2006, 3(1): 15-24.
- [11] GRAHAM I A, BESSER K, BLUMER S, et al. The genetic map of *Artemisia annua* L. identifies loci affecting yield of the antimalarial drug artemisinin [J]. *Science*, 2010, 327(5963): 328-331.
- [12] LIU L H, MA X J, WEI J H, et al. The first genetic linkage map of Luohanguo (*Siraitia grosvenorii*) based on ISSR and SRAP markers [J]. *Genome*, 2010, 54(1): 19-25.
- [13] 战晴晴, 隋春, 魏建和, 等. 利用 ISSR 和 SSR 分子标记构建北柴胡遗传图谱[J]. 药学报, 2010, 45(4): 517-523.
- [14] SHOKEEN B, CHOUDHARY S, SETHY N K, et al. Development of SSR and gene-targeted markers for construction of a framework linkage map of *Catharanthus roseus* [J]. *Ann Bot*, 2011, 108(2): 321-336.
- [15] LIU T, GUO L L, PAN Y L, et al. Construction of the first high-density genetic linkage map of *Salvia miltiorrhiza* using specific length amplified fragment (SLAF) sequencing [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 24070.
- [16] LI J, XU Y C, WANG Z H. Construction of a high-density genetic map by RNA sequencing and eQTL analysis for stem length and diameter in *Dendrobium* (*Dendrobium nobile* × *Dendrobium wardianum*) [J]. *Ind Crops Prod*, 2019, 128: 48-54.
- [17] SU J S, JIANG J F, ZHANG F, et al. Current achievements and future prospects in the genetic breeding of chrysanthemum: a review [J]. *Hortic Res*, 2019, 6(1): 109.
- [18] 潘玉玲. 基于 SSR, SRAP 和 ISSR 丹参遗传连锁图谱构建及其农艺性状的 QTL 定位[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [19] 刘玉洋. 石斛高密度遗传图谱构建及茎总多糖含量 QTL 定位[D]. 杭州: 杭州师范大学, 2018.
- [20] 沈奇, 张栋, 孙伟, 等. 药用植物 DNA 标记辅助育种(II) 丰产紫苏新品种 SNP 辅助鉴定及育种研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(9): 1668-1672.
- [21] 穆金虎, 陈玉泽, 冯慧, 等. 作物育种学领域新的革命: 高通量的表型组学时代[J]. 植物科学学报, 2016, 34(6): 962-971.

(收稿日期: 2019-10-27 编辑: 戴玮)

(上接第 1513 页)

选择 60% 乙醇为提取溶剂。通过考察超声和回流 2 种提取溶剂, 结果回流提取的效率优于超声提取, 因此选用回流作为提取方式。对提取时间进行考察, 发现提取时间对色谱峰影响不大, 为节省时间, 选择回流提取 30 min 作为样品的提取方法。

本研究以蒙花苷为参照峰确定了野菊花药材和菊花药材的 6 个共有峰, 计算绿原酸峰与蒙花苷峰的相对峰面积, 发现 15 批野菊花药材的相对峰面积在 0.152~0.265, 均小于 1.0, 而 12 批菊花药材的相对峰面积均大于 1.0, 根据特征图谱中绿原酸峰与蒙花苷峰的相对峰面积可快速鉴别野菊花药材和菊花药材。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 801.
- [3] 戴敏, 刘青云, 刘道中, 等. 菊花解热、降压作用的物质基础研究[J]. 中药材, 2001, 24(7): 505-506.
- [4] 毕跃峰, 符玲, 王蒲菊, 等. 不同市售野菊花药材的 RP-HPLC 指纹图谱[J]. 郑州大学学报: 理学版, 2010, 42(4): 92-94.
- [5] 陈宁, 韩永成, 刘伟, 等. 野菊花的 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 83-85.
- [6] 胥爱丽, 毕晓黎, 罗文汇, 等. 菊花配方颗粒的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 80-82.
- [7] 林丽美, 李春, 刘塔斯, 等. 野菊花药材 HPLC 指纹图谱. 中国实验方剂学杂志[J]. 2012, 18(22): 120-123.
- [8] 刘婷娜, 朱恩圆, 俞桂新, 等. 野菊花高效液相色谱指纹图谱及质量评价方法的建立[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(4): 823-825.

(收稿日期: 2019-03-27 编辑: 田苗)