

UPLC法同时测定野菊花中8种活性成分的含量^Δ

范帅帅^{1*}, 田伟^{1,2,3}, 王相^{1,2,3}, 高乐^{1,2,3}, 田宇柔^{1,2,3}, 牛丽颖^{1,2,3#}(1.河北中医学院药学院, 石家庄 050091; 2.河北省中药配方颗粒工程技术研究中心, 石家庄 050091; 3.河北省高校中药配方颗粒应用技术研发中心, 石家庄 050091)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)15-2058-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.15.10

摘要 目的:建立同时测定野菊花中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素8种活性成分含量的方法。方法:采用超高效液相色谱法。色谱柱为Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈,流动相为0.1%磷酸溶液-乙腈(梯度洗脱),流速为0.3 mL/min,检测波长为335 nm,柱温为35 ℃,进样量为1 μL,样品室温为8 ℃。结果:新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷和芹菜素进样量检测线性范围分别为0.140~1.680、2.211~26.532、0.178~2.136、0.056~0.672、0.460~5.520、1.260~15.120、2.725~32.700、0.120~0.144 ng($r > 0.999 6$);检测限分别为0.02、0.02、0.02、0.01、0.01、0.01、0.04、0.01 ng,定量限分别为0.06、0.07、0.07、0.03、0.04、0.04、0.13、0.02 ng;精密度、稳定性(10 h)、重复性试验的RSD均<2%($n=6$),平均加样回收率为97.05%~102.04%(RSD为1.03%~1.65%, $n=9$)。结论:建立的方法分析速度快、灵敏度和分辨率较高、重复性好、结果准确,可用于野菊花中8种活性成分含量的同时测定。

关键词 野菊花;超高效液相色谱法;活性成分;含量测定

- ion channels: an emerging role as the pacemakers of pain [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33(8): 456-463.
- [3] EMERY EC, YOUNG GT, BERROCOSO EM, et al. HCN2 ion channels play a central role in inflammatory and neuropathic pain[J]. *Science*, 2011, 333(6048): 1462-1466.
- [4] 刘翠英. ZD7288对内脏痛大鼠痛觉敏感性的抑制作用及其机制[D]. 福州:福建医科大学, 2009.
- [5] 卢大力. 尼氟酸对大鼠慢性内脏高敏感形成的抑制作用[D]. 福州:福建医科大学, 2010.
- [6] 祝福存, 陈瑜, 林春, 等. 尼氟酸抑制慢性内脏痛大鼠海马CA1区突触长时程增强[J]. *神经解剖学杂志*, 2012, 28(2): 151-156.
- [7] 刘辉, 潘卫三. 口服结肠靶向给药系统研究进展[J]. *中国药师*, 2008, 11(2): 167-169.
- [8] SCHMIDT C, LAUTENSCHLAEGER C, COLLNOT EM, et al. Nano- and microscaled particles for drug targeting to inflamed intestinal mucosa: a first in vivo study in human patients[J]. *J Control Release*, 2013, 165(2): 139-145.
- [9] COLLNOT EM, ALI H, LEHR CM. Nano- and microparticulate drug carriers for targeting of the inflamed intestinal mucosa[J]. *J Control Release*, 2012, 161(2): 235-246.
- [10] BELOQUI A, COCO R, ALHOUAYEK M, et al. Budesonide-loaded nanostructured lipid carriers reduce inflammation in murine DSS-induced colitis[J]. *Int J Pharm*, 2013, 454(2): 775-783.
- [11] PICHAI MV, FERGUSON LR. Potential prospects of nanomedicine for targeted therapeutics in inflammatory bowel diseases[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(23): 2895-2901.
- [12] 黄仁杰, 林国威, 赖成敏, 等. 蝎毒结肠靶向小球的制备及体外评价[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(3): 205-208.
- [13] LEDA K, ATHANASIOS P, ANTONIA P, et al. Development and validation of a high-performance liquid chromatography method for the evaluation of niflumic acid cross-reactivity of two commercial immunoassays for cannabinoids in urine[J]. *J Anal Toxicol*, 2010, 34(5): 229-232.
- [14] 黄仁杰, 鄢雪梨, 狄万鹏, 等. 尼氟酸钠纳米胶束含量与包封率的测定[J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(2): 261-265.
- [15] 黄仁杰, 鄢雪梨, 陈虎彪. 蛇葡萄素混合纳米胶束的制备及体外评价[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(6): 1054-1058.
- [16] YIN Y, CHEN D, QIAO M, et al. Preparation and evaluation of lectin-conjugated PLGA nanoparticles for oral delivery of thymopentin[J]. *J Control Release*, 2006, 116(3): 337-345.
- [17] DAS S, NG KY. Colon-specific delivery of resveratrol: optimization of multi-particulate calcium-pectinate carrier[J]. *Int J Pharm*, 2010, 385(1/2): 20-28.
- [18] 赵淑敏, 陈文锋, 施晓莹, 等. 口服结肠靶向给药系统的体内释药性评价方法综述[J]. *中国药房*, 2017, 28(36): 5176-5180.
- (收稿日期: 2018-01-15 修回日期: 2018-06-07)
(编辑: 邹丽娟)
- Δ 基金项目:河北省高等学校科学技术研究项目(No.ZD2015001);河北省中医药管理局科研计划项目(No.2017015)
* 硕士研究生。研究方向:中药质量控制。电话:0311-89926890。E-mail:2293007851@qq.com
通信作者:教授,硕士生导师,硕士。研究方向:中药质量控制与中药药效物质基础。电话:0311-89926890。E-mail:niuliyiny@163.com

Simultaneous Determination of 8 Active Components in *Dendranthema indicum* by UPLC

FAN Shuaishuai¹, TIAN Wei^{1,2,3}, WANG Xiang^{1,2,3}, GAO Le^{1,2,3}, TIAN Yurou^{1,2,3}, NIU Liying^{1,2,3} (1.College of Pharmacy, Hebei University of TCM, Shijiazhuang 050091, China; 2.Hebei TCM Formula Granule Engineering & Technology Research Center, Shijiazhuang 050091, China; 3.TCM Formula Granule Research Center of Hebei Province University, Shijiazhuang 050091, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of 8 active components in *Dendranthema indicum*, such as neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid C, luteolin, monoside and apigenin. METHODS: UPLC method was adopted. The determination was performed on Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column with mobile phase consisted of 0.1% phosphoric acid solution-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 0.3 mL/min. The detection wavelength was set at 335 nm and column temperature was maintained at 35 °C. The sample size was 1 μL and sample room temperature was 8 °C. RESULTS: The linear range of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid C, luteolin, monoside and apigenin were 0.140-1.680, 2.211-26.532, 0.178-2.136, 0.056-0.672, 0.460-5.520, 1.260-15.120, 2.725-32.700, 0.120-0.144 ng ($r > 0.999$), respectively. The limits of detection were 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01, 0.01, 0.04, 0.01 ng, and the limits of quantitation were 0.06, 0.07, 0.07, 0.03, 0.04, 0.04, 0.13, 0.02 ng, respectively. RSDs of precision, stability (10 h) and reproducibility tests were all lower than 2% ($n=6$). Average recoveries were 97.05% -102.04% (RSD=1.03% -1.65%, $n=9$). CONCLUSIONS: The established method has high analysis speed, high sensitivity, high resolution, good repeatability and accurate results. It can be used for simultaneous determination of 8 active components in *D. indicum*.

KEYWORDS *Dendranthema indicum*; UPLC; Active components; Content determination

野菊花是常用的中药,为菊科植物野菊(*Chrysanthemum indicum* L.)的干燥头状花序,具有清热解毒、泻火平肝的功效,常用于疮痍肿痛、目赤肿痛、头痛眩晕等症^[1]。野菊花主治范围广泛,而且两千多年临床应用已证实其清热解毒、泻火平肝之功甚佳,是野菊花栓、野菊花复方降压颗粒以及感冒灵颗粒等清热解毒类中成药和多种凉茶的主要原料药材。野菊花主要含有有机酸类、黄酮类、萜类等化合物^[2-5]。实验研究发现,其清热解毒的活性成分主要是黄酮和有机酸类化合物^[6-7]。黄酮类化合物主要包括蒙花苷、芹菜素、槲皮素、木犀草素等^[8],具有抗炎免疫、保肝、抗肿瘤、保护心血管系统、抗菌等多种药理作用^[9-13];有机酸类化合物主要包括新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C等,具有较好的抗炎、抗氧化、抗菌等作用^[14]。

目前,对野菊花的质量控制主要集中在总黄酮及黄酮类成分的测定^[15-16],而有机酸类成分则只测定了其中绿原酸的含量,2015年版《中国药典》(一部)^[1]中野菊花项下是以蒙花苷作为其质量控制指标,指标成分比较单一,不能充分体现野菊花的药效物质基础,不利于野菊花的质量控制。此外,野菊花的入药方式为水煎液,因此水煎液中所含有的活性成分才是其临床有效成分。而转移率作为药材饮片中活性成分在水提工艺中能否实现预期疗效的定量指标,可以反映从药材饮片入药到水煎液中活性成分的溶解、解吸和转移的程度,所以活性成分转移率的高低就会直接影响其临床药效。本试验采用超高效液相色谱(UPLC)法,以野菊花药材以及相应的水煎液为分析对象,系统比较了野菊花药材和水

煎液中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素8种活性成分的含量差异和转移率,通过对比研究,明确野菊花药材和水煎液活性成分之间的量值传递关系,为野菊花质量标准的完善和临床应用提供可借鉴的方法和思路。

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC H-Class 系统,包括四元溶剂管理器、自动进样样本管理器、二极管阵列检测器、高温柱温箱、Empower 3 色谱工作站(美国 Waters 公司);BSA224S-CW 电子天平(北京赛多利斯有限公司);JY10001 电子天平(上海精密科学仪器有限公司);KQ-250 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BJH-W200F 陶瓷自动中药煲(广东天际电器股份有限公司)。

1.2 药品与试剂

新绿原酸对照品(批号:PY20170220,纯度:99.78%)、绿原酸对照品(批号:PY20170216,纯度:99.96%)、隐绿原酸对照品(批号:PY20170224,纯度:99.79%)、异绿原酸C对照品(批号:PY20170303,纯度:91.88%)均购自南京普怡生物科技有限公司;蒙花苷对照品(批号:111528-201509,纯度:97.50%)、咖啡酸对照品(批号:110885-200102,纯度:100.00%)、木犀草苷对照品(批号:11720-201106,纯度:99.30%)、芹菜素对照品(批号:111901-201102,纯度:99.60%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈、磷酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 药材

10批野菊花药材均由神威药业集团有限公司提供,经河北省药品检验院的孙宝惠主任中药师鉴定为菊科植物野菊的干燥头状花序,药材信息见表1。

表1 10批野菊花药材来源

Tab 1 Source of 10 batches of *D. indicum*

编号	批号	产地	编号	批号	产地
S1	1609151	湖北襄阳1	S6	1706142	安徽大别山2
S2	1609153	河南邓州1	S7	1706143	湖北黄冈1
S3	1609159	安徽大别山1	S8	1706201	湖北襄阳2
S4	1706041	江苏无锡	S9	1706202	湖北黄冈2
S5	1706141	湖北襄阳1	S10	1706203	河南邓州2

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: 0.1% 磷酸溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~3 min, 10%→13% B; 3~8 min, 13% B; 8~12 min, 13%→15% B; 12~15 min, 15%→30% B; 15~17 min, 30% B; 17~19.5 min, 30%→70% B; 19.5~21 min, 70% B; 21~21.1 min, 70%→10% B; 21.1~25 min, 10% B); 流速: 0.3 mL/min; 检测波长: 335 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 1 μL; 样品室温: 8 °C。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素对照品 1.86、2.01、1.11、2.25、1.40、1.84、5.45、1.35 mg, 分别置于 2、2、1、2、2、2、50、10 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇使溶解并定容, 摇匀, 制成新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素质量浓度分别为 0.93、1.01、1.11、1.13、0.70、0.92、0.11、0.14 mg/mL 的单一对照品溶液。再分别取上述单一对照品溶液各 15、220、16、5、180、50、2 500、9 μL, 置于同一 10 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇使溶解并定容, 摇匀, 即得。

2.2.2 野菊花水煎液 称取野菊花饮片 100 g, 煎煮 2 次, 一煎加水 12 倍, 浸泡 30 min, 武火煮沸, 文火保持微沸 20 min, 120 目筛网趁热过滤; 二煎加水 10 倍, 武火煮沸, 文火保持微沸 15 min, 120 目筛网趁热过滤并适当压榨药渣。合并 2 次煎液, 迅速冷却, 50 °C 真空减压浓缩定容至 500 mL, 即得质量浓度为 0.2 g/mL 的野菊花原药材溶液。

2.2.3 供试品溶液 ①取野菊花原药材溶液 1 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 用 75% 甲醇稀释至刻度, 静置 20 min, 分出上清液, 即得野菊花水煎液供试品溶液。②取野菊花原药材粉末(过三号筛)约 0.1 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加入 75% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率: 250 W, 频率: 40 kHz) 30 min, 放冷, 称质量, 加 75% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。取续滤液, 即得野菊花药材供试品溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液和供试品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, 在该色谱条件下, 待测指标成分新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素色谱峰与相邻峰均都能达到基线分离且分离度良好, 峰形对称, 理论板数按蒙花苷峰及绿原酸峰计分别不低于 12 000、10 000。对照品和供试品色谱图见图 1。

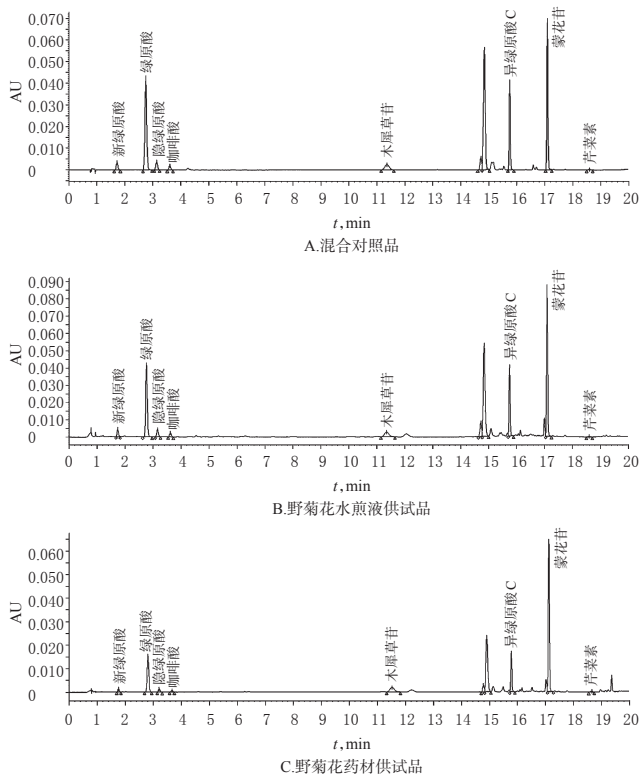


图1 超高效液相色谱图

Fig 1 UPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液 0.1、0.2、0.5、0.8、1.0、1.2 μL, 按“2.1”项下色谱条件测定。以进样量为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线。结果, 8 个被测化合物在各自标准曲线范围内线性关系良好, 见表 2。

表2 野菊花中 8 种活性成分线性关系考察结果

Tab 2 Results of linear ranges investigation of 8 active components in *D. indicum*

待测成分	回归方程	r	线性范围, ng
新绿原酸	$y=1.06 \times 10^5 x - 643.20$	0.999 9	0.140~1.680
绿原酸	$y=9.06 \times 10^4 x - 9 785.37$	0.999 9	2.211~26.532
隐绿原酸	$y=9.82 \times 10^4 x - 831.25$	0.999 8	0.178~2.136
咖啡酸	$y=1.63 \times 10^5 x - 433.12$	0.999 8	0.056~0.672
异绿原酸C	$y=2.01 \times 10^5 x - 12 873.51$	0.999 9	1.260~15.120
木犀草苷	$y=2.42 \times 10^5 x - 5 583.24$	0.999 6	0.460~5.520
蒙花苷	$y=7.32 \times 10^4 x - 9 091.19$	0.999 9	2.725~32.700
芹菜素	$y=1.15 \times 10^5 x - 158.93$	0.999 9	0.120~0.144

2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录各峰面积。当信噪比为3:1时,得检测限;当信噪比为10:1时,得定量限。结果,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素的检测限分别为0.02、0.02、0.02、0.01、0.01、0.01、0.04、0.01 ng,定量限分别为0.06、0.07、0.07、0.03、0.04、0.04、0.13、0.02 ng。

2.6 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液1 μL,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素峰面积的RSD,结果分别为1.41%、1.19%、1.21%、1.55%、1.21%、1.20%、1.13、1.35%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取野菊花水煎液(批号:1609151)适量,6份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分析,记录峰面积,计算含量。结果,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素平均含量的RSD分别为1.63%、1.39%、1.49%、1.05%、1.19%、0.84%、1.21%、1.56%(n=6),表明该方法的重复性良好。

2.8 稳定性试验

精密吸取同一份野菊花水煎液(批号:1609151),按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别于制备后0、1、2、3、4、10 h,按“2.1”项下色谱条件进样分析,计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素峰面积的RSD,结果分别为1.45%、0.65%、0.82%、1.22%、1.07%、1.60%、0.56%、1.56%(n=6),表明供试品溶液在10 h内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验

取已知含量的野菊花水煎液(批号:1609151)9份,每份0.5 mL,分别按样品中目标成分含量的80%、100%、120%加入各对照品贮备液,每个水平平行测定3份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定。分别计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素的平均回收率,各成分的平均加样回收率依次为101.51、97.05、98.60、101.45、97.84、100.67、99.86、102.04,RSD依次为1.48%、1.65%、1.32%、1.09%、1.22%、1.57%、1.25%、1.03%(n=9),表明本方法的准确度良好。

2.10 含量测定及转移率

取不同批号野菊花药材0.1 g和相应野菊花水煎液1 mL,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分析,测定各待测成分的含量和转移率,结果见表3、表4、表5。表5中的转移率(%)= $W/M \times 100\%$,

其中W表示煎液中成分的量(mg),M表示饮片成分的量(mg)。

表3 10批野菊花药材含量测定结果(mg/100 g)

Tab 3 Content determination of 10 batches of *D. indicum* (mg/100 g)

编号	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	异绿原酸C	木犀草苷	蒙花苷	芹菜素
S1	25.98	398.32	35.30	10.72	149.00	55.20	1 348.40	10.77
S2	22.75	346.41	32.17	11.30	123.67	52.35	962.41	8.78
S3	24.08	396.33	25.66	7.25	135.04	31.86	2 139.93	12.83
S4	15.43	221.67	17.38	22.82	107.30	26.48	1 954.33	11.88
S5	11.68	202.71	13.18	4.43	70.14	24.45	1 014.90	5.47
S6	11.98	212.80	14.38	3.69	75.51	26.73	1 170.34	7.06
S7	14.62	203.37	16.71	28.24	103.81	28.91	1 366.67	8.64
S8	17.20	282.46	22.29	7.22	97.28	37.01	1 173.16	6.44
S9	20.11	289.42	26.40	20.20	144.67	53.64	1 035.37	8.79
S10	26.86	435.85	30.31	8.01	158.12	36.90	2 152.55	11.41

表4 10批野菊花水煎液含量测定结果(mg/100 g)

Tab 4 Content determination of 10 batches of water decoction of *D. indicum* (mg/100 g)

编号	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	异绿原酸C	木犀草苷	蒙花苷	芹菜素
S1	20.59	264.00	25.79	9.33	82.57	19.00	465.32	2.27
S2	20.51	253.47	26.69	10.53	73.69	26.09	337.52	1.74
S3	24.62	313.56	31.23	7.41	70.93	30.86	623.90	2.46
S4	18.31	139.25	24.33	28.64	83.20	13.63	590.29	2.64
S5	13.35	132.47	17.92	6.19	57.94	15.69	387.36	1.67
S6	13.99	141.13	18.88	5.88	60.04	16.10	392.51	1.62
S7	18.93	119.84	23.41	31.17	81.43	15.00	410.40	2.23
S8	19.05	211.66	26.83	8.64	82.20	21.67	435.00	2.17
S9	23.55	193.09	32.24	24.10	109.56	29.02	349.05	2.61
S10	28.82	333.37	39.13	10.65	140.53	21.11	666.34	3.76

表5 10批野菊花药材和水煎液中8种活性成分转移率(%)

Tab 5 Transfer rate of 8 active components in 10 batches of *D. indicum* and its water decoction (%)

编号	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	异绿原酸C	木犀草苷	蒙花苷	芹菜素
S1	79.27	66.28	73.06	87.01	55.41	34.42	34.51	21.12
S2	90.17	73.17	82.98	93.20	59.59	49.84	35.07	19.85
S3	102.24	79.12	121.72	102.27	52.53	96.85	29.16	19.18
S4	118.68	62.82	139.98	125.49	77.54	51.46	30.20	22.22
S5	114.28	65.35	135.96	139.68	82.61	64.19	38.17	30.62
S6	129.47	58.93	140.12	110.37	78.44	51.89	30.03	25.80
S7	110.75	74.93	120.38	119.61	84.50	58.55	37.08	33.69
S8	117.13	66.72	122.12	119.33	75.73	54.09	33.71	29.64
S9	107.29	76.49	129.10	133.00	88.87	57.20	30.96	32.95
S10	79.27	66.28	73.06	87.01	55.41	34.42	34.51	21.12

3 讨论

3.1 分析对象的选择

目前对野菊花的质量研究比较单一,都是对其药材进行含量测定,但实际的应用过程中主要是野菊花水煎液,因此本研究以水煎液与药材为分析对象,通过含量测定和转移率来作对比研究,探究临床应用的煎煮方法对野菊花活性成分的提取效果,发现野菊花中有机酸类

成分在水煎液中的转移率较高,黄酮类成分次之,说明从药材到水煎液的过程中,多种活性成分可以被有效提取出来,揭示了传统用药的科学性,为评价野菊花水煎液物质基础提供参考依据。

3.2 指标成分的选择

野菊花中不仅含有以蒙花苷为代表的黄酮类化合物,而且含有以绿原酸为代表的有机酸类成分^[17-21],药材和水煎液中有机酸的总量高于黄酮类,而且研究表明有机酸类活性成分有很强的药理活性,是野菊花中不可或缺的成分,但在含量测定中有机酸类都没有质量控制。野菊花本身含有的活性成分比较多,仅仅测定其中黄酮类成分作为其质量优劣评价的好坏,显然是不适合的,难以完整地反映野菊花化学组分特征,也不符合野菊花的临床疗效。因此本试验采用UPLC法,快速、准确地对野菊花药材和水煎液中绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素8种活性成分进行同时测定,克服了单一成分信息量不全的缺点,可以更加全面可靠地来控制野菊花药材的质量,为野菊花的质量标准和临床用药提供科学的数据和多角度的研究思路。

3.3 色谱条件的选择

大多数对野菊花的分析研究依然是选择传统的HPLC,本法采用UPLC,较普通HPLC方法节约了时间,溶剂的消耗更少;应用PDA全波长扫描的方式,考察了不同波长下的色谱情况,结果在335 nm下得到的色谱图谱峰信息最多,多种化合物可以同时定量测量;同时,利用其较低的样品温度来检测有机酸中不太稳定的活性成分,使对野菊花的质量控制更加精准科学。

3.4 测定结果分析

含量测定结果表明,不同产地的野菊花药材和水煎液中各成分含量差异较大,即使是同一产地的质量也参差不齐。因此,在选择野菊花的时候,应最大限度地控制产地,固定道地产区,这样才能从源头控制其质量。大多数产地中新绿原酸、隐绿原酸和咖啡酸的转移率超过100%,相比冷浸醇提工艺,可能是在水煎煮的过程中,有机酸互相转化或者受热分解而得到。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社,2015:314-315.
[2] 吴雪松,许浚,张铁军,等.野菊花的化学成分及质量评价研究进展[J].中草药,2015,46(3):443-452.
[3] 胡小莉.河南野菊花质量分析研究[D].郑州:河南中医药

大学,2016.

[4] 戴胜,张明,程文明,等. HPLC测定野菊花药材中8种黄酮和有机酸的含量[J]. 中国中药杂志,2013,38(12):1961-1965.
[5] 王锦越,陈东,梁丽娟,等.野菊花的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(24):718-721.
[6] 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):300-304.
[7] 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,2004,27(2):142-144.
[8] 张金杰,陈宇峰,颜鸣,等.野菊花中的黄酮类化学成分[J]. 医药导报,2013,32(1):15-18.
[9] 刘丹丹,苗明三.野菊花现代研究及作用特点分析[J]. 中医学报,2014,29(4):551-553.
[10] 李国栋,陈园园,王盼,等.野菊花中萜类和黄酮类化合物保肝作用研究[J]. 中草药,2013,44(24):3510-3514.
[11] 陈传千,沈艳平,屈跃丹,等.野菊花提取物药理作用的研究进展[J]. 吉林医药学院学报,2010,31(3):175-178.
[12] 王志东,梁容瑞,李宗芳.中药野菊花的药理作用研究进展[J]. 医学综述,2009,15(6):906-909.
[13] 蔡华芳.野菊花的化学成分及药用研究进展[J]. 中国医疗前沿,2007,2(18):118-119.
[14] 赵昱,赵军,李湘萍,等.咖啡酰奎尼酸类化合物研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(11):869-874.
[15] 孟庆玉,符玲,高振,等.野菊花总黄酮提取方法比较及其抗氧化活性研究[J]. 中草药,2015,46(21):3194-3197.
[16] 钱频非,葛滨,王殿广.高效液相色谱法测定野菊花中木犀草素的含量[J]. 中国药房,2005,16(22):1741-1742.
[17] 郭晓民,瞿晶田,柴士伟. HPLC-DAD法测定野菊花栓中绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷、芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷和蒙花苷[J]. 现代药物与临床,2017,32(3):382-385.
[18] 吴明侠,侯珊珊,张东霞,等.一测多评法同时测定野菊花中5种有机酸[J]. 中成药,2016,38(11):2423-2427.
[19] 焦志海. HPLC法同时测定野菊花栓中绿原酸和蒙花苷的含量[J]. 中医药导报,2015,21(14):49-51.
[20] 于红艳,韩永成,刘伟,等. UHPLC法测定不同产地野菊花中4种有机酸和蒙花苷含量[J]. 天然产物研究与开发,2014,26(6):890-894.
[21] 王丽果,刘伟,吴明侠.不同产地野菊花中3种有机酸的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(20):75-78.

(收稿日期:2018-03-28 修回日期:2018-06-05)

(编辑:余庆华)