

基于 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定的不同颜色怀菊花成分差异分析

申曜菲^{1,3}, 张春亚^{1,3}, 直姝彤^{1,3}, 彭小珂^{1,3}, 杨春静^{1,2*}, 雷敬卫^{1,3*}

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

2. 河南中医药大学第三附属医院, 河南 郑州 450046

3. 河南省中药质量控制与评价工程技术研究中心, 河南 郑州 450046

摘要: **目的** 建立不同颜色怀菊花 HPLC 指纹图谱与多成分含量测定方法, 为其质量控制提供科学依据。**方法** 建立 30 批不同颜色怀菊花样品的 HPLC 指纹图谱, 并进行相似度评价, 结合化学计量学分析, 对多指标成分进行含量测定。**结果** 建立的指纹图谱共标定 21 个共有峰, 成功指认出 10 个色谱峰, 30 批样品的指纹图谱相似度为 0.955~0.997。聚类分析 (HCA) 与主成分分析 (PCA) 可将样品明确分为怀黄菊、怀白菊、怀紫菊 3 个类别, 实现基于化学成分特征的颜色分型。偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA) 进一步筛选出 9 号峰 (异绿原酸 B)、11 号峰 (异绿原酸 C)、10 号峰 (异绿原酸 A)、3 号峰、21 号峰 (金合欢素)、14 号峰、18 号峰、16 号峰和 15 号峰 (木犀草素) 所代表的成分是区分不同批次样品的差异性标志物。30 批样品中 5 种黄酮类成分与 7 种酚酸类成分的质量分数总值依次为怀白菊>怀黄菊>怀紫菊。**结论** 建立的 HPLC 指纹图谱结合多成分含量测定方法具有准确性高、稳定性好、可靠性强的特点, 可全面反映不同颜色怀菊花的化学成分差异与整体质量特征, 为其质量评价、标准制定及合理开发应用提供有力支撑。

关键词: 怀菊花; 颜色; 指纹图谱; 含量测定; 异绿原酸 B; 异绿原酸 C; 异绿原酸 A; 金合欢素; 木犀草素

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)11-3264-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.11.018

Analysis of component differences of different-colored Huai *Chrysanthemum morifolium* based on HPLC fingerprint pattern and determination of multiple component contents

SHEN Yaofei^{1,3}, ZHANG Chunya^{1,3}, ZHI Shutong^{1,3}, PENG Xiaoke^{1,3}, YANG Chunjing^{1,2}, LEI Jingwei^{1,3}

1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Third Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Henan Engineering Technology Research Center for TCM Quality Control and Evaluation, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To establish HPLC fingerprint chromatograms and multi-component content determination methods for different-colored Huai *Chrysanthemums morifolium*, providing a scientific basis for their quality control. **Methods** HPLC fingerprint chromatograms of 30 batches of different-colored Huai *C. morifolium* samples were established and similarity evaluation was conducted. Chemometrics analysis was combined, and the contents of multiple index components were determined. **Results** A total of 21 common peaks were calibrated in the established fingerprint chromatograms, 10 chromatographic peaks were successfully identified. The similarity of the fingerprint chromatograms of the 30 batches of samples was 0.955 to 0.997. Hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) could clearly classify the samples into three categories: Huai *C. morifolium* (yellow, white and purple) achieving color classification based on chemical component characteristics. Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) further screened out components represented by peak 9 (isochlorogenic acid B), peak 11 (isochlorogenic acid C), peak 10 (isochlorogenic acid A), peak 3, peak 21 (acacetin), peak 14, peak 18, peak 16, and peak 15 (luteolin) as the differential markers for distinguishing different batches of samples. The total mass fractions of five flavonoids and seven phenolic

收稿日期: 2025-08-06

基金项目: 河南省科技公关项目 (242102310552); 国家中医药管理局全国老药工传承工作室项目 (国中医药人教函[2025]181 号)

作者简介: 申曜菲, 硕士研究生, 研究方向为中药质量分析。E-mail: 2188181315@qq.com

*通信作者: 雷敬卫, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事中药质量分析研究。E-mail: 925390812@qq.com

杨春静, 主任药师, 主要从事临床药学研究。E-mail: ycj5961@163.com

acids in the 30 batches of samples were in the order of Huai white *C. morifolium* > Huai yellow *C. morifolium* > Huai purple *C. morifolium*. **Conclusion** The HPLC fingerprint chromatogram combined with multi-component content determination method established in this study has the characteristics of high accuracy, good stability, and strong reliability. It can comprehensively reflect the chemical component differences and overall quality characteristics of different-colored Huai *C. morifolium*, providing strong support for their quality evaluation, standard formulation, and rational development and application.

Key words: Huai *Chrysanthemum morifolium* Ramat.; color; content determination; isogulonic acid B; isogulonic acid C; isogulonic acid A; acacia acid; luteolin

菊花为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序，味甘、苦，性微寒，归肺、肝经，具有疏散风热、平肝明目、清热解毒的功效^[1]。怀菊花作为“四大怀药”之一，历史悠久，是药用菊花的始祖品种^[2]。现代研究表明，其活性成分黄酮、酚酸及挥发油等，与抗炎^[3]、抗菌^[4]、抗氧化^[5]、降血压^[6]等药理作用密切相关。怀菊花应用历史源远流长，目前市场上常见的茶用及药用怀菊花，颜色多为白色或黄色。当代中药著作《中药临床手册》提出：“白菊花味甘，清热力稍弱，长于平肝明目；黄菊花味苦，泄热力较强，常用于疏散风热。”白菊花味甘而性缓，偏于清养，最宜用于风热、肝火所致的轻症及肝经虚热证候；黄菊味苦而泄力较强，更适于风热重证及肺、肝实火证^[7]。相关研究表明，紫菊花瓣中含有丰富的天然色素花青素苷，该成分具有抗氧化、抗肿瘤和抑制心血管疾病的发生等多种保健功能^[8]。近年来，随着怀菊花市场需求的持续增长，其种植面积不断扩大；其中，怀紫菊不仅凭借独特的紫色外观与较强的抗逆性展现出广阔市场前景，更于 2020 年成功通过河南省中药材品种鉴定专业委员会的品种鉴定^[9]。

目前，关于怀菊花的研究多集中于不同商品规格^[10]、不同加工方法^[11]及不同部位（如花瓣、花萼、茎、叶）^[12]等方面，而针对不同颜色怀菊花化学成分的整体分析，以及显著差异性化学成分的筛选研究仍较为薄弱。因此，本研究建立不同颜色怀菊花的指纹图谱，开展多成分含量测定，并结合化学计量学方法筛选其差异性成分，旨在为不同颜色怀菊花质量评价体系的建立及合理应用提供科学依据。

1 材料

1.1 试剂

对照品异绿原酸 B（批号 AZ22022810，质量分数≥98%）、新绿原酸（批号 AFBH2301，质量分数≥98%）、异绿原酸 A（批号 AFCE0656，质量分数≥98%）、香叶木素（批号 AZBH2919，质量分

数≥98%）、隐绿原酸（批号 AFCE3004，质量分数≥98%）、异绿原酸 C（批号 AFCEB0705，质量分数≥98%）、木犀草苷（批号 AFB0506，质量分数≥98%）和木犀草素（批号 AFCE0510，质量分数≥98%）均购自成都埃法生物科技有限公司。金合欢素（批号 MUST-22100813，质量分数≥99.99%）、绿原酸（批号 MUST-18030620，质量分数≥99.39%）、芹菜素（批号 MUST-10031801，质量分数≥98%）购自成都曼斯特生物科技有限公司。阿魏酸（批号 G27A11L112005，质量分数≥98%）购自上海源叶生物科技有限公司，甲醇（色谱纯，美国 Tedia 公司）。

1.2 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）。

1.3 药材

10 批怀黄菊分别采于武陟县北樊村及大樊村，10 批怀白菊分别采于武陟县小南张村及东刘村，10 批怀紫菊采于武陟县三阳村，样品经河南中医药大学药学院陈随清教授鉴定为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序。30 批怀菊花药材样品信息见表 1。

表 1 样品信息
Table 1 Sample Information

编号	样品名称	产地
S1~S5	怀黄菊	武陟县北樊村
S6~S10	怀黄菊	武陟县大樊村
S11~S15	怀白菊	武陟县小南张村
S16~S20	怀白菊	武陟县东刘村
S21~S30	怀紫菊 1 号	武陟县三阳村

2 方法与结果

2.1 HPLC 指纹图谱的建立

2.1.1 供试品溶液的制备 称取菊花样品粉末（过一号筛）约 1.00 g，加入 25 mL 70%甲醇，称质量，超声（300 W、40 kHz）40 min，放冷，用 70%甲醇补足减失的质量，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续

滤液, 即得供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液制备 取木犀草苷、木犀草素、芹菜素、香叶木素、金合欢素、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、绿原酸、隐绿原酸对照品适量, 精密称定, 加 70% 甲醇配制成质量浓度分别为 0.925 0、0.880 0、0.680 0、0.940 0、1.219 9、0.960 0、1.041 1、0.857 5、0.660 0、0.982 9 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 采用 Venusil XBP C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为乙腈-0.2% 醋酸水溶液, 梯度洗脱 0~10 min, 5%→18% 乙腈; 10~15 min, 18% 乙腈; 15~30 min, 18%→30% 乙腈; 30~45 min, 30%→55% 乙腈; 45~46 min, 55%→5% 乙腈; 46~50 min, 5% 乙腈; 柱温 35 °C; 体积流量 1 mL·min⁻¹; 检测波长 348 nm; 进样量 10 μL。

2.1.4 精密度考察 取“2.1.1”项下供试品溶液适量, 按“2.1.3”项下色谱条件连续进样 6 次。以木犀草苷色谱峰作为参照, 计算共有峰相对保留时间的 RSD 值在 0%~0.71%, 相对峰面积的 RSD 值在 0%~4.27%, 表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性考察 按“2.1.1”项下制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件进样分析。以木犀草苷色谱峰为参照, 计算共有峰相对保留时间的 RSD 值在 0%~0.79%, 相对峰面积的 RSD 值在 0%~4.39%, 表明该方法具有良好的重复性。

2.1.6 稳定性考察 按“2.1.1”项下制备供试品溶液, 在 0、2、4、8、12、24 h 按“2.1.3”项下色谱

条件进样分析。以木犀草苷色谱峰作为参照, 计算共有峰相对保留时间的 RSD 在 0%~0.69%, 相对峰面积的 RSD 值在 0%~4.59%, 表明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

2.1.7 HPLC 指纹图谱的建立及相似度评价 取 30 批怀菊花样品, 按“2.1.1”项下制备供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件进样分析。将怀菊花样品的 HPLC 指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱评价软件 (2012A)”, 以 S1 样品的色谱图作为参照图谱, 时间窗口设为 0.1 min, 采用中位数, 进行多点校准, 经 Mark 峰匹配处理后生成标准对照图谱, 共标定 21 个共有峰, 见图 1。通过与混合对照品溶液的色谱图进行对比, 共指认出 10 个色谱峰, 分别为绿原酸 (1 号峰)、隐绿原酸 (2 号峰)、木犀草苷 (8 号峰)、异绿原酸 B (9 号峰)、异绿原酸 A (10 号峰)、异绿原酸 C (11 号峰)、木犀草素 (15 号峰)、芹菜素 (19 号峰)、香叶木素 (20 号峰)、金合欢素 (21 号峰), 见图 2。相似度评价见表 2。其中怀黄菊和怀白菊具有较高相似度, 均大于 0.970, 而怀紫菊相似度差异明显, 表明怀紫菊与怀黄菊、怀白菊相比化学成分差异较大。

2.2 化学计量学分析

2.2.1 聚类分析 (HCA) 以 21 个共有峰的峰面积作为原始数据, 使用 SPSS 19.0 统计分析软件进行 HCA。采用 Ward 聚类算法, 以平方欧式距离作为分类依据, 生成聚类树状图, 见图 3。结果显示,

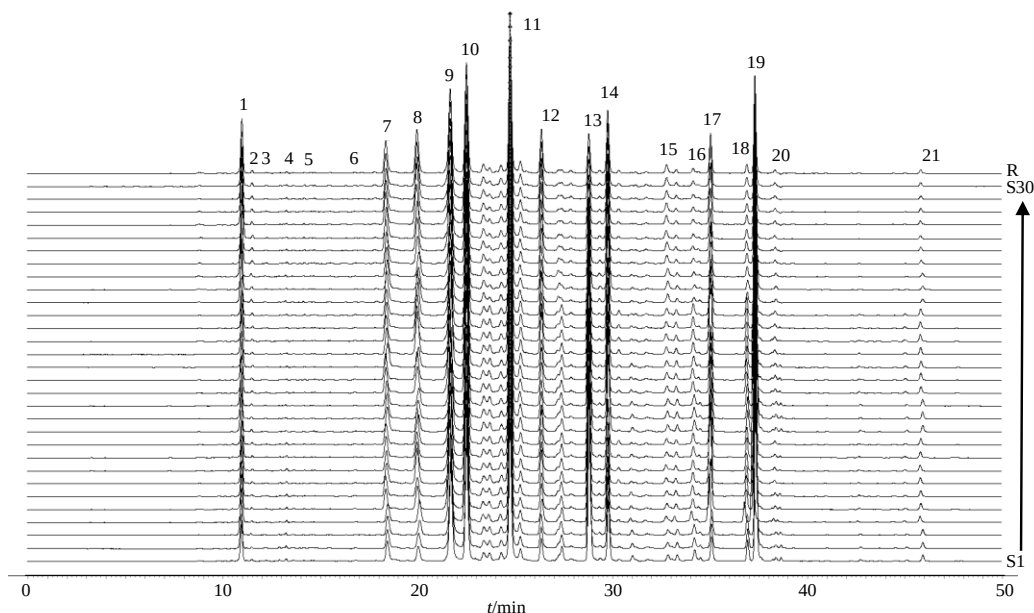


图 1 30 批怀菊花样品的 HPLC 图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC chromatograms of 30 batches of *C. morifolium* samples and reference fingerprint chromatogram (R)

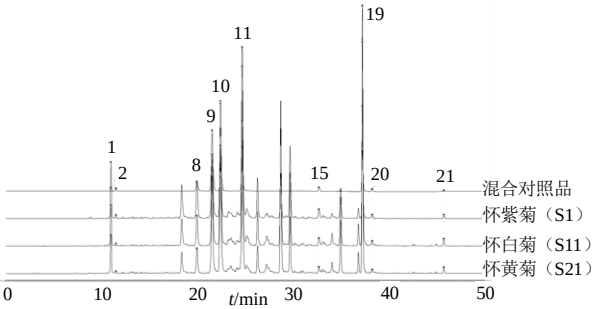


图 2 混合对照品和怀菊花样品溶液的 HPLC 图
Fig. 2 HPLC chromatogram of mixed reference substances and *C. morifolium* sample solution

表 2 相似度评价结果

Table 2 Evaluation results of similarity					
样品编号	相似度	样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.973	S11	0.985	S21	0.968
S2	0.977	S12	0.987	S22	0.968
S3	0.975	S13	0.985	S23	0.967
S4	0.987	S14	0.995	S24	0.968
S5	0.991	S15	0.996	S25	0.964
S6	0.984	S16	0.990	S26	0.962
S7	0.992	S17	0.992	S27	0.958
S8	0.993	S18	0.996	S28	0.945
S9	0.990	S19	0.997	S29	0.956
S10	0.989	S20	0.989	S30	0.955

当距离为 13 时,样品可划分为 3 类,其中 S1~S10 为一类,为怀黄菊; S11~S20 为一类,为怀白菊; S21~S30 为一类,为怀紫菊;表明不同颜色的怀菊花质量上存在差异。

2.2.2 主成分分析 (PCA) 为了进一步分析不同颜色的怀菊花之间的差异,将 21 个共有峰峰面积导入 SIMCA 14.1,进行 PCA。所建立模型的 3 个主成分对原始数据的方差解释率依次为 54.746%、19.105%、13.354%,累积方差贡献率达到 87.205%,表明模型预测性能良好。由 PCA 得分图 (图 4) 可知,怀黄菊 (S1~S10)、怀白菊 (S11~S20) 和怀紫菊 (S21~S30) 分别聚为 3 组,分类结果与 HCA 一致,这表明不同颜色的怀菊花化学成分上存在差异。

2.2.3 偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA) PLS-DA 是一种有监督的多元统计方法,能够有效寻找影响

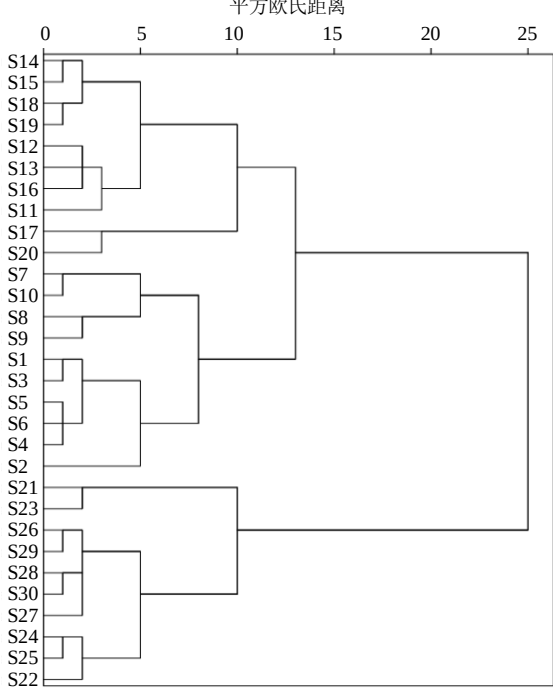


图 3 30 批怀菊花样品 HCA 树状图
Fig. 3 HCA dendrogram of 30 batches of *C. morifolium*

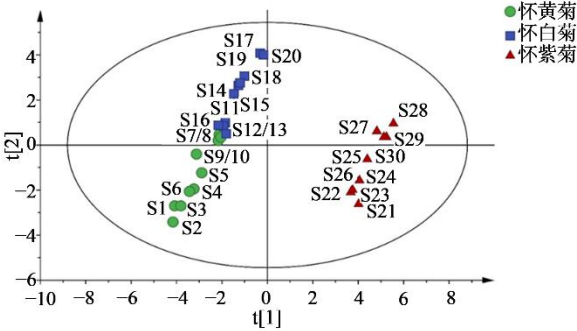


图 4 30 批怀菊花样品的 PCA 得分图
Fig. 4 PCA score plot of 30 batches of *C. morifolium*

模型稳定性的特征变量,更能突出组间差异^[13]。为深入探究造成怀黄菊、怀白菊、怀紫菊差异的主要化学成分,对 30 批样品的 21 个共有峰峰面积进行了 PLS-DA,获得相应的得分图,如图 5 所示。怀黄菊、怀白菊、怀紫菊能较好地被区分为 3 类,与 HCA 和 PCA 结果一致。变量投影重要性 (VIP) 值是评估 PLS-DA 模型中各变量贡献度的重要指标。在分析图中,柱状图的高度与变量对模型的贡献度呈正相关,柱状图越高表明该变量在区分不同组别时的显著性越强^[14],根据 VIP 值 > 1 的筛选标准,筛选出 9 号峰 (异绿原酸 B)、11 号峰 (异绿原酸 C)、10 号峰 (异绿原酸 A)、3 号峰、21 号峰 (金合欢素)、14 号峰、18 号峰、16 号峰和 15 号峰 (木

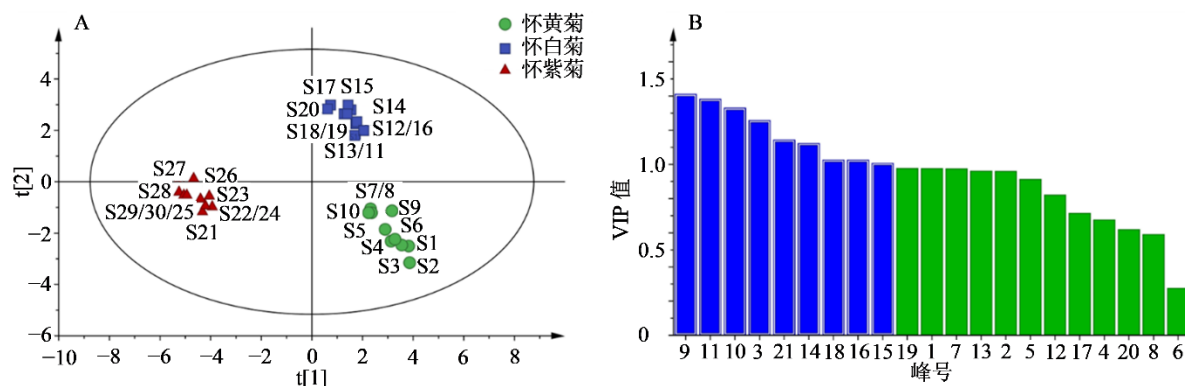


图 5 30 批怀菊花样品 PLS-DA (A) 和 VIP 得分 (B) 图
Fig. 5 PLS-DA (A) and VIP (B) score plots of 30 batches of *C. morifolium* samples

犀草素)对区分不同颜色怀菊花的贡献较大,表明这 9 个共有峰可能对样品分类具有显著的影响,是引起不同颜色怀菊花质量差异主要潜在的标志性成分。

2.3 黄酮类成分含量测定

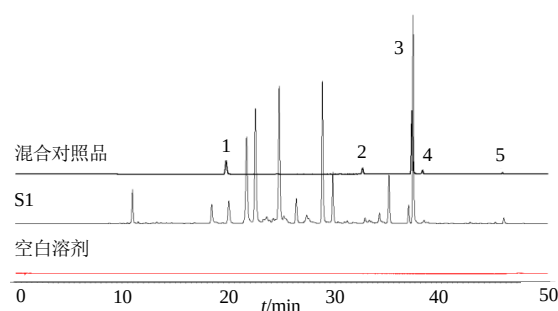
2.3.1 供试品溶液的制备 同“2.1.1”项下方法。

2.3.2 对照品溶液的制备 取木犀草苷、木犀草素、芹菜素、香叶木素、金合欢素适量按“2.1.2”项下方法配制成质量浓度分别为 0.925 0、0.880 0、0.680 0、0.940 0、1.219 9 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.3.3 色谱条件 同“2.1.3”项。

2.3.4 专属性考察 取“2.3.2”项下配制的混合对照品溶液、“2.3.1”项下制备的供试品溶液。按“2.1.3”项下色谱条件进样分析。空白溶剂在各对照品成分的出峰位置上无吸收,溶剂对色谱峰无影响,混合对照品溶液及供试品溶液中各对照品成分色谱峰的分度良好(图 6),该方法专属性良好。

2.3.5 线性关系考察 称取各对照品溶液适量,分别配制成不同质量浓度的对照品溶液。按“2.1.3”项下的色谱条件进样分析,以各对照品的质量浓度为自变量,对应峰面积为因变量,绘制标准曲线。结果见表 3。



1-木犀草苷; 2-木犀草素; 3-芹菜素; 4-香叶木素; 5-金合欢素。
1- luteolide; 2- luteolin; 3- apigenin; 4- chrysoeriol; 5- acacetin.

图 6 供试品溶液 (S1)、混合对照品溶液、空白溶剂的 HPLC 图

Fig. 6 HPLC chromatograms of test solution (S1), mixed reference solution and blank solvent

2.3.6 精密度考察 称取样品(S1)适量,按“2.1.1”项下制备供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件连续进样 6 次。测得 5 种目标成分的峰面积 RSD 值均低于 2.89%,表明仪器具有良好的精密度。

2.3.7 重复性考察 称取样品(S1)适量,按“2.1.1”项下平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进样分析。测得 5 种目标成分含量的 RSD 值均低于 2.91%,表明该方法具有良好的重复性。

表 3 线性关系考察结果

Table 3 Results of linear relationship examination

对照品	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
木犀草苷	$Y=6\,720\,X-16.519$	0.999 5	37.0~277.5
木犀草素	$Y=3\,285\,X-3.420\,9$	0.999 4	17.6~105.6
芹菜素	$Y=3\,562\,X-43.05$	0.999 6	136.0~1\,224.0
香叶木素	$Y=3\,681.9\,X-10.183$	0.999 7	9.4~94.0
金合欢素	$Y=1\,559.6\,X-5.527$	0.999 9	36.6~244.0

2.3.8 稳定性考察 称取样品(S1)适量,按“2.1.1”项下制备供试品溶液。在溶液配制后的 0、2、4、8、12、24 h 进样分析,测得 5 种目标成分峰面积的 RSD 值均低于 2.93%,表明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

2.3.9 加样回收率考察 取 6 份 S1 样品适量,分别按照样品中木犀草苷、木犀草素、芹菜素、香叶木素、金合欢素含量的 100%加入对应对照品。按“2.1.1”项下配制供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进样分析,结果表明,5 种目标成分的平均加样回收率为 97.24%~99.69%,RSD 为 0.41%~2.49%,均小于 3%。表明该方法准确度良好。

2.4 酚酸类成分含量测定

2.4.1 供试品溶液的制备 同“2.1.1”项下方法

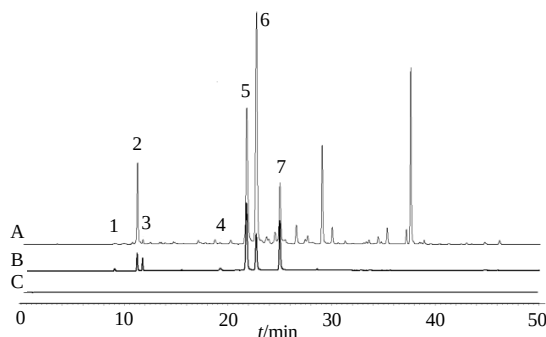
2.4.2 对照品溶液的制备 取异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、阿魏酸适量,按“2.1.2”项下方法配制成质量浓度分别为 0.960 0、1.041 1、0.857 5、0.660 0、0.982 9、1.075 0、1.025 0 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.4.3 色谱条件 检测波长 327 nm,其余色谱条件同“2.1.3”项。

2.4.4 专属性考察 取“2.4.2”项下配制的混合对照品溶液、“2.4.1”项下制备的供试品溶液。按“2.4.3”项下色谱条件进样分析。空白溶剂在各对照品成分的出峰位置上无吸收,溶剂对色谱峰无影响,混合对照品溶液及供试品溶液中各对照品成分色谱峰的分离度良好(图 7),该方法专属性良好。

2.4.5 线性关系考察 称取各对照品溶液适量,分别配制成不同质量浓度的对照品溶液。按“2.4.3”项下的色谱条件进样分析,以各对照品的质量浓度为自变量,对应峰面积为因变量,绘制标准曲线,结果见表 4。

2.4.6 精密度考察 称取样品(S1)适量,按“2.1.1”



1-新绿原酸; 2-绿原酸; 3-隐绿原酸; 4-阿魏酸; 5-异绿原酸 B; 6-异绿原酸 A; 7-异绿原酸 C。

1-neochlorogenic; 2-chlorogenic acid; 3-cryptochlorogenic acid; 4-ferulic acid; 5-isochlorogenic acid B; 6-isochlorogenic acid A; 7-isochlorogenic acid C.

图 7 供试品溶液(S1, A)、混合对照品溶液(B)、空白溶剂(C)的 HPLC 图

Fig. 7 HPLC chromatograms of test solution (S1, A), mixed reference solution (B) and blank solvent (C)

项下制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件连续进样 6 次。测得 7 种目标成分的峰面积 RSD 值均低于 2.67%,表明仪器具有良好的精密度。

2.4.7 重复性考察 称取样品(S1)适量,按“2.1.1”项下平行制备 6 份供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进样分析。测得 7 种目标成分含量的 RSD 值均低于 2.86%,表明该方法具有良好的重复性。

2.4.8 稳定性考察 称取样品(S1)适量,按“2.1.1”项下制备供试品溶液。在溶液配制后的 0、2、4、8、12、24 h 进样分析,测得 7 种目标成分的峰面积 RSD 值均低于 2.66%,表明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

2.4.9 加样回收率考察 取 6 份 S1 样品适量,分别按照样品中异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、阿魏酸含

表 4 线性关系考察结果

Table 4 Results of linear relationship examination

对照品	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
新绿原酸	$Y=19\,674\,X+0.231\,1$	0.999 6	1.7~8.5
绿原酸	$Y=21\,771\,X-70.857$	0.999 6	66.0~264.0
隐绿原酸	$Y=4\,753.7\,X-7.135\,9$	0.999 7	19.7~197.0
阿魏酸	$Y=15\,085\,X+1.591\,3$	0.999 7	1.6~8.2
异绿原酸 B	$Y=5\,994.4\,X-25.801$	0.999 9	208.2~1\,874.0
异绿原酸 A	$Y=9\,870.8\,X+211.62$	0.999 3	480.0~1\,920.0
异绿原酸 C	$Y=4\,317.4\,X-60.875$	0.999 7	428.8~2\,572.8

量的 100%加入对应对照品。按“2.1.1”项下配制供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进样分析,结果表明,7 种目标成分的平均加样回收率为 98.34%~100.12%,RSD 为 0.66%~2.62%,均小于 3%。表明该方法具有良好的准确度。

2.5 化学成分含量测定结果

按“2.1.1”项下配制供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进样分析,计算样品中 5 种黄酮类成分和 7 种酚酸类成分的质量分数,结果见图 8。

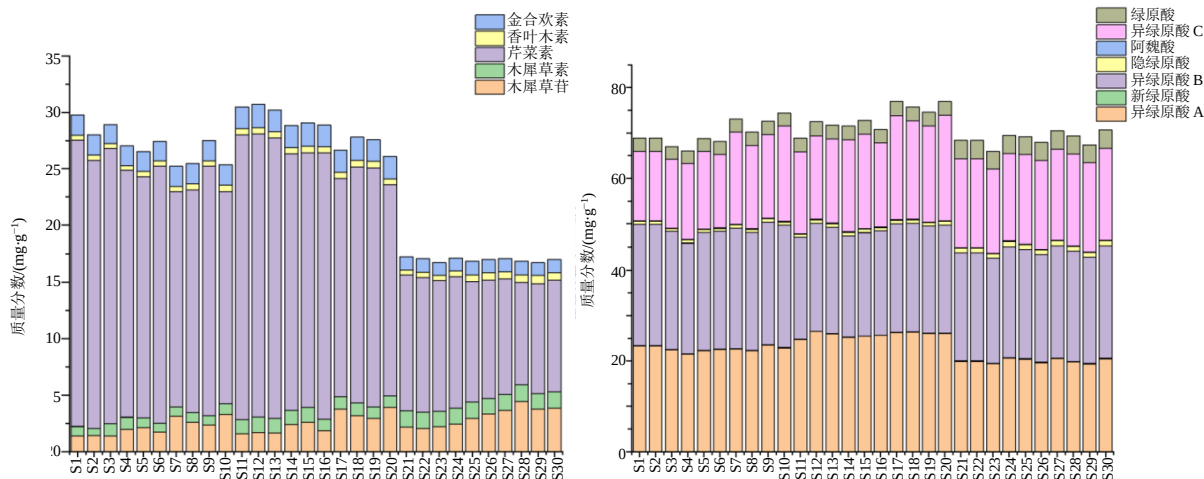


图 8 30 批怀菊花样品化学成分含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 8 Chemical composition content determination results of 30 batches of *C. morifolium* samples ($\bar{x} \pm s, n=10$)

表 5 7 种酚酸类成分含量差异性分析 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 5 Analysis of variability in content of 7 phenolic acid components ($\bar{x} \pm s, n=10$)

样品	质量分数(mg·g ⁻¹)						
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	阿魏酸	异绿原酸 B	异绿原酸 A	异绿原酸 C
怀黄菊	0.088±0.006 ^b	2.860±0.069 ^c	0.669±0.019 ^c	0.107±0.014 ^b	26.008±0.725 ^a	22.652±0.570 ^b	17.395±1.993 ^b
怀白菊	0.087±0.005 ^b	3.048±0.036 ^b	0.761±0.013 ^b	0.147±0.018 ^a	23.044±0.575 ^c	25.802±0.540 ^a	20.353±1.832 ^a
怀紫菊	0.152±0.004 ^a	3.995±0.058 ^a	1.007±0.017 ^a	0.130±0.034 ^{ab}	23.903±0.503 ^b	19.980±0.454 ^c	19.549±0.511 ^a

纵向比较具有相同字母的两组差异无统计学意义 ($P<0.05$)。

There was no statistically significant difference between the two groups with the same letters in the longitudinal comparison ($P<0.05$).

表 6 5 种黄酮类成分含量差异性分析 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 6 Analysis of variability in content of 5 flavonoid components ($\bar{x} \pm s, n=10$)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)				
	木犀草苷	木犀草素	芹菜素	香叶木素	金合欢素
怀黄菊	2.133±0.669 ^b	0.872±0.128 ^c	21.870±2.128 ^a	0.469±0.054 ^b	1.778±0.036 ^b
怀白菊	2.553±0.829 ^{ab}	1.181±0.131 ^b	22.357±2.236 ^a	0.554±0.023 ^a	1.974±0.061 ^a
怀紫菊	3.081±0.794 ^a	1.420±0.037 ^a	10.726±0.969 ^b	0.582±0.104 ^a	1.174±0.035 ^c

纵向比较具有相同字母的两组差异无统计学意义 ($P<0.05$)。

There was no statistically significant difference between the two groups with the same letters in the longitudinal comparison ($P<0.05$).

2.6 含量统计学分析

采用 GraphPad Prism 软件对怀黄菊、怀白菊和怀紫菊中 7 种酚酸类成分和 5 种黄酮类成分含量进行统计学分析,结果见表 5、6。由表 5、6 可知,怀菊花中 5 种黄酮类、7 种酚酸类成分总质量分数依次为怀白菊>怀黄菊>怀紫菊。

3 讨论

本研究前期对不同颜色怀菊花的 HPLC 指纹图谱的色谱条件中流动相(乙腈-水、乙腈-0.1%醋酸、

乙腈-0.2%醋酸)、柱温(25、30、35℃)、进样量(5、8、10 μL)、体积流量(0.5、0.8、1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)及检测波长(280、348 nm)均进行了考察。结果表明,以乙腈-0.2%醋酸水溶液为流动相;柱温 35℃;进样量 10 μL ;体积流量 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长 348 nm 时指纹图谱分离效果最佳。

基于优化后的色谱条件,对 30 批不同颜色怀菊花建立指纹图谱,共标定 21 个共有峰,并指出 10 个色谱峰,分别为绿原酸(1 号峰)、隐绿原酸(2 号峰)、木犀草苷(8 号峰)、异绿原酸 B(9 号峰)、异绿原酸 A(10 号峰)、异绿原酸 C(11 号峰)、木犀草素(15 号峰)、芹菜素(19 号峰)、香叶木素(20 号峰)、金合欢素(21 号峰)。指纹图谱相似度为 0.955~0.997,表明不同颜色怀菊花之间成分上存在一定差异。在化学计量学分析中,HCA 与 PCA、PLS-DA 结果一致,怀黄菊(S1~S10)、怀白菊(S11~S20)和怀紫菊(S21~S30)分别聚为 3 类,结果与怀菊花颜色密切相关,表明不同颜色怀菊花的成分含量存在差异。PLS-DA 进一步识别出不同颜色怀菊花之间的差异,以 $\text{VIP}>1$ 为标准筛选出 9 号峰(异绿原酸 B)、11 号峰(异绿原酸 C)、10 号峰(异绿原酸 A)、3 号峰、21 号峰(金合欢素)、14 号峰、18 号峰、16 号峰和 15 号峰(木犀草素)为引起不同颜色怀菊花质量差异的标志物。

王姚等^[15]采用液相色谱-串联质谱法对不同花色的菊花中绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、木犀草素、芹菜素、蒙花苷、芹菜素-7-葡萄糖苷和木犀草苷 7 种主要成分进行定量分析,发现黄菊和白菊更适合选作茶用和药用菊花品种,其次为紫色菊花。本研究通过多成分含量测定进一步表明,不同颜色怀菊花黄酮及酚酸类成分含量有差异。其中,5 种黄酮类、7 种酚酸类成分质量分数总值顺序为怀白菊>怀黄菊>怀紫菊。

从单一化学成分来看,怀紫菊中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草素含量显著高于怀黄菊和怀白菊;怀白菊中异绿原酸 A、金合欢素含量显著高于怀黄菊和怀紫菊;怀黄菊中异绿原酸 B 含量显著高于怀白菊和怀紫菊。怀白菊和怀黄菊相比,绿原酸、隐绿原酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、木犀草素、香叶木素和金合欢素含量均存在显著性差异。其中,怀白菊中绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、木犀草素、香叶木素和金合欢素含量显著高于怀黄菊,而怀黄菊

中异绿原酸 B 含量显著高于怀白菊。

在药理作用方面,木犀草素具有抑制角膜新生血管生成、缓解糖尿病性白内障以及治疗老年性黄斑变性(AMD)等视网膜疾病的药理作用^[16]。香叶木素具有保护视网膜的作用^[17]。金合欢素通过其抗氧化和抗细胞凋亡特性,能够有效保护 ARPE-19 细胞免受 H_2O_2 诱导的氧化损伤,同时作为抗氧化剂能够抑制血管生长因子的释放,对急性视网膜损伤后的形态学改变具有明显的保护作用^[18]。本研究中怀白菊中木犀草素、香叶木素和金合欢素含量显著高于怀黄菊,因此,将以上成分作为后续研究不同颜色菊花药理药效差异的候选成分。

综上所述,本研究建立不同颜色怀菊花 HPLC 指纹图谱,结合化学计量学分析并对多成分进行含量测定,比较了其黄酮和酚酸类成分含量差异,对菊花品种的改良提供理论依据,为不同颜色怀菊花质量评价及标准的建立提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 叶梦倩,邓静,彭杰,等.菊花本草考证[J].中成药,2022,44(6):1912-1917.
Ye M Q, Deng J, Peng J, et al. Textual research on *Chrysanthemum* herbal medicine[J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(6): 1912-1917.
- [2] 代震,利顺欣,陈随清,等.怀菊花种质资源品质评价[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(6):48-54.
Dai Z, Li S X, Chen S Q, et al. Quality evaluation on germplasm resources of *Huai chrysanthemi Flos* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2017, 23(6): 48-54.
- [3] 李孟,张靖柯,邓晓颜,等.怀菊花中化学成分的分离与鉴定[J].沈阳药科大学学报,2023,40(7):858-864,898.
Li M, Zhang J K, Deng X Y, et al. Isolation and identification of chemical constituents from the flowers of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2023, 40(7): 858-864, 898.
- [4] 卢仁睿,张莉,徐瑞豪,等.怀菊花提取物对皮质酮诱导的抑郁模型的保护作用及机制研究[J].中草药,2022,53(18):5750-5758.
Lu R R, Zhang L, Xu R H, et al. Protective effect and mechanism of *Huai Chrysanthemi Flos* extract on corticosterone-induced depression model [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(18): 5750-5758.
- [5] 严敏,旷华兵,王文君.怀菊中黄酮/酚类化合物与其

- 抗氧化性相关性研究 [J]. 食品工业, 2025, 46(2): 122-127.
- Yan M, Kuang H B, Wang W J. Study on the correlation between flavonoids/phenolic compounds and their antioxidant activity in *Chrysanthemum morifolium* Ramat. [J]. Food Ind, 2025, 46(2): 122-127.
- [6] 周丽. 怀菊花降压有效部位提取纯化及质量评价研究 [D]. 郑州: 河南中医学院, 2014.
- Zhou L. Studies on the extraction, purification and quality standard of antihypertensive effective parts in Huai *Chrysanthemum morifolium* in Henan Province [D]. Zhengzhou: Henan College of Chinese Medicine, 2014.
- [7] 高学敏, 李兴广, 王淳. 药性赋白话解 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 16.
- Gao X M, Li X G, Wang C. *Yaoxing Fu Baihua Jie* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013: 16.
- [8] 刘海英, 邢晨涛, 李凤阳, 等. 响应面法优化紫色菊花花瓣中花青素苷的提取工艺 [J]. 河南师范大学学报 (自然科学版), 2017, 45(6): 58-64.
- Liu H Y, Xing C T, Li F Y, et al. Optimizing extraction technology of anthocyanin from purple *Chrysanthemum* petals based on response surface methodology [J]. J Henan Norm Univ Nat Sci Ed, 2017, 45(6): 58-64.
- [9] 王海华, 刘兢文, 路翠红. 菊花新品种怀紫菊 1 号的选育 [J]. 农业科技通讯, 2022(5): 309-311.
- Wang H H, Liu J W, Lu C H. Breeding of a new *Chrysanthemum* variety huaiziju No.1 [J]. Bull Agric Sci Technol, 2022(5): 309-311.
- [10] 刘晓薇. 怀菊花商品规格等级及其质量特征研究 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2018.
- Liu X W. Research on the commercial specification grades and quality of Huai *Chrysanthemum Flos* [D]. Zhengzhou: Henan University of Chinese Medicine, 2018.
- [11] 覃珊. 产后加工、采收期和花序不同部位对菊花质量影响的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2011.
- Qin S. The effects of postharvest processing, collecting time and different inflorescence parts on the quality of *Chrysanthemum* [D]. Jinan: Shandong University, 2011.
- [12] 郭梦真, 李孟, 邓晓颜, 等. 基于 GC-MS 和化学计量的怀菊不同部位挥发性成分差异分析 [J]. 中国药师, 2024, 27(2): 209-219.
- Guo M Z, Li M, Deng X Y, et al. Analysis of volatile constituents in different parts of Huai *Chrysanthemum* by GC-MS combined with stoichiometry [J]. China Pharm, 2024, 27(2): 209-219.
- [13] Wang Q L, Wu X, Yang X D, et al. Comprehensive quality evaluation of *Lignum Caraganae* and rapid discrimination of *Caragana jubata* and *Caragana changduensis* based on characteristic compound fingerprints by HPLC-UV and HPLC-MS/MS coupled with chemometrics analysis [J]. Phytochem Anal, 2020, 31(6): 846-860.
- [14] Li H H, Mao Y Y, Liu Y N, et al. Comparative investigation of raw and processed products of *Gardeniae Fructus* and *Gardenia jasminoides* var. *radicans* using HPLC coupled with chemometric methods [J]. Biomed Chromatogr, 2021, 35(5): e5051.
- [15] 王姚, 郑昊东, 程曦, 等. 液相色谱-串联质谱定量分析不同花色菊花中黄酮和有机酸的含量 [J]. 食品科技, 2023, 48(8): 264-269, 277.
- Wang Y, Zheng H D, Cheng X, et al. Quantitative analysis of chemical constituents of flavonoids and organic acids of *Chrysanthemum morifolium* with different flower colors by LC-MS/MS [J]. Food Sci Technol, 2023, 48(8): 264-269, 277.
- [16] Hytti M, Piippo N, Korhonen E, et al. Fisetin and luteolin protect human retinal pigment epithelial cells from oxidative stress-induced cell death and regulate inflammation [J]. Sci Rep, 2015, 5: 17645.
- [17] 陶泉玮. 香叶木素保护视网膜损伤的作用研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- Tao Q W. Mechanisms of the protection against retinal injury by diosmetin [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016.
- [18] 马纳. 金合欢素对视网膜氧化损伤保护作用的机制研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2019.
- Ma N. Study on the protective mechanism of acacia against retinal oxidative injury [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2019.

[责任编辑 孙英杰]