

不同生长期菊茎叶中黄酮类成分动态变化

钱大玮¹, 朱玲英², 段金廛¹, 张健², 吴肖¹, 孙晓东^{3*}

(1. 南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室, 江苏 南京 210046; 2. 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028;

3. 江苏苏阳药材集团公司, 江苏 盐城 224300)

摘要:目的 探索不同栽培类型菊茎中黄酮类成分在不同生长期量的变化。方法 采用高效液相色谱法, 分别测定不同栽培类型不同生长期菊茎叶中木犀草素、金合欢素-7-O- β -葡萄糖苷、木犀草素-7-O- β -葡萄糖苷和金合欢素-7-O-(6"-O-鼠李糖)- β -D-葡萄糖苷的量。结果 不同栽培类型菊茎叶中黄酮类成分的量差别较大, 随着生长期的改变菊茎叶中黄酮类成分的量也有较大的变化。结论 采用高效液相色谱法测定菊茎叶中黄酮类成分的量, 方法简单、可靠。本研究结果为测定菊茎叶中黄酮类成分的量, 菊采花后茎叶的综合利用提供了一定的依据。

关键词:菊; 黄酮类成分; 高效液相色谱法; 不同生长期; 不同栽培类型

中图分类号: R286.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2009)08-1317-03

菊花系菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序, 为一种常用中药, 同时又被广泛用于保健茶饮, 具有疏风、清热、明目、解毒功效, 主要治疗头痛、眩晕、目赤、心胸烦热、疔疮、肿毒等症^[1]。菊花中主要含有挥发油、黄酮类、有机酸类等成分^[2~4], 《中国药典》(2005年版)以氯原酸为对照品对菊花进行质量控制。在采摘菊花的同时, 大量的茎、叶被丢弃, 但经初步研究, 发现菊采花后的茎叶中仍含有大量的黄酮类成分, 并对它们进行了药理筛选工作, 发现有一定的药理活性, 因此对菊进行综合开发利用是必要的。通过对菊茎叶中的黄酮类成分的分析比较, 了解其在生长期内的变化规律, 对于深入研究和综合开发利用菊资源具有十分重要的意义。

菊花的产地不同, 品种不同, 其化学成分及质量分数也有差异, 江苏省射阳县是我国药用白菊花的主产区之一, 在栽培群体中, 经多年的系统选育, 筛选出4个已基本稳定的白菊花分化栽培类^[5,6], 分别为红心菊、长瓣菊、大白菊、小白菊。笔者对射阳县产4种栽培类型菊茎、叶中木犀草素、金合欢素-7-O- β -葡萄糖苷、木犀草素-7-O- β -葡萄糖苷和金合欢素-7-O-(6"-O-鼠李糖)- β -D-葡萄糖苷不同生长期的量进行测定, 为充分利用菊花资源提供了依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器: Waters 高效液相色谱仪 (510 泵, 2487 检测器, 717 自动进样器, Empower 色谱工作站);

Millipore Milli-Q 纯水器; METTLER 万分之一及十万分之一电子天平。

1.2 试药: 木犀草素 (L)、金合欢素-7-O- β -葡萄糖苷 (AG)、木犀草素-7-O- β -葡萄糖苷 (LG)、金合欢素-7-O-(6"-O-鼠李糖)- β -D-葡萄糖苷 (ARG) 对照品均由江苏省中医药研究院中药化学研究室提供, 各对照品质量分数均大于98%, 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 菊茎叶样品: 于2004年8月26日至2004年11月5日采于江苏省射阳县洋马镇。实验样品均经江苏省中医药研究院线士辉研究员鉴定为菊科植物菊 *C. morifolium* 的以下几种栽培类型: 红心菊、长瓣菊、大白菊、小白菊。各批样品经统一处理: 置阴凉通风处, 晾至近干, 置鼓风干燥箱于50℃烘干, 粉碎过40目筛, 真空包装。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 L、AG、ARG 色谱条件: 色谱柱为 Alltima C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.4% 磷酸水 (25:75); 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: L: 347 nm, AG、ARG: 333 nm。色谱图见图1。

2.1.2 LG 色谱条件: 色谱柱为 Alltima C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.4% 磷酸水 (15:85); 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 347 nm。色谱图见图2。

* 收稿日期: 2008-12-10

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BK2001219); 江苏省公益研究项目 (BM2004525)

作者简介: 钱大玮 (1962—), 男, 江苏人, 研究员, 主要从事中药质量控制研究工作。

Tel: (025) 85811916 E-mail: QianDW05@yahoo.com.cn

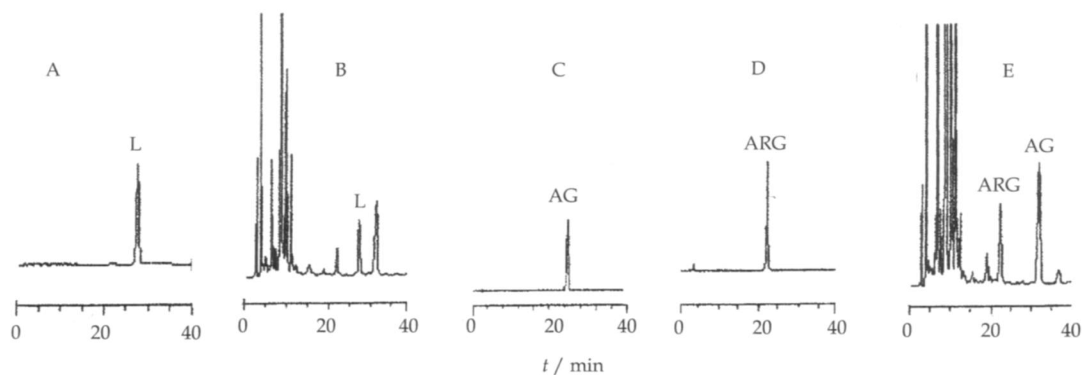


图1 L、AG、ARG对照品(A, C, D)及样品(B, E)色谱图

Fig. 1 Chromatogram of L, AG, and ARG reference substance (A, C, and D) and samples (B and E)

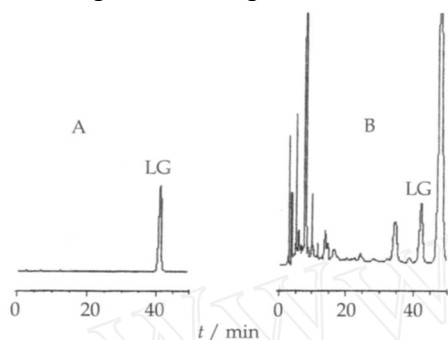


图2 LG对照品(A)及样品(B)色谱图

Fig. 2 Chromatograms of LG reference substance (A) and sample (B)

2.2 供试品溶液的制备:取菊茎、叶粗粉约1g,精密称定,置圆底烧瓶中,加80%甲醇25mL,称质量,加热回流1h,放冷,以80%甲醇补质量,摇匀,静置,取上清液微孔滤膜(0.45 μm),滤过,即得。

2.3 对照品溶液的制备:取各对照品适量,加甲醇分别制成含L:44.4 μg/mL、AG:27.2 μg/mL、LG:42.4 μg/mL、ARG:121 μg/mL的对照品溶液。

2.4 标准曲线制备:分别精密吸取各对照品溶液2.0、5.0、10.0、20.0、30.0、40.0 μL,按确定的色谱条件测定其峰面积。以进样量(μg)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,分别求得回归方程,L: $Y = 5.28 \times 10^6 X - 1.42 \times 10^5$, $r = 0.9993$,线性范围0.089~1.78 μg; AG: $Y = 2.81 \times 10^6 X - 1.24 \times 10^5$, $r = 0.9999$,线性范围0.212~4.24 μg; LG: $Y = 2.78 \times 10^6 X - 6.48 \times 10^5$, $r = 0.9996$,线性范围0.424~8.48 μg; ARG: $Y = 1.47 \times 10^6 X - 6.88 \times 10^4$, $r = 0.9999$,线性范围0.242~4.84 μg。

2.5 精密度试验:精密吸取L 44.4 μg/mL、AG 27.2 μg/mL、LG 42.4 μg/mL、ARG 121 μg/mL的对照品溶液20 μL,连续进样6次,L峰面积的RSD

为1.8%,AG峰面积的RSD为1.3%,LG峰面积的RSD为1.8%,ARG峰面积的RSD为0.7%,以上结果表明,精密度良好。

2.6 重现性试验:取同一样品6份按样品测定方法测定,测得L质量分数的RSD为1.3%,AG质量分数的RSD为0.9%,LG质量分数的RSD为1.4%,ARG质量分数的RSD为0.6%。结果表明本方法有较好的重现性。

2.7 稳定性试验:对同一供试品溶液每隔2h进样1次,依法测定,计算各峰面积积分值RSD(%)。测得L的RSD为1.8%,AG的RSD为1.6%,LG的RSD为1.9%,ARG的RSD为1.5%,以上结果表明,供试液在12h内稳定。

2.8 回收率试验:采用加样回收法,取已测定的样品粗粉,精密称定,定量加入L、AG、LG、ARG对照品,按供试品液制备法制备供试液,按确定的HPLC条件测定,计算回收率。各黄酮的加样回收率分别为:L 96.6%,RSD为1.8%;AG 97.7%,RSD为1.8%;LG 99.8%,RSD为1.5%;ARG 97.4%,RSD为1.9%。

2.9 样品测定:将不同生长期采集的样品,分别按2.2项制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,采用外标一点法计算各生长期菊花茎、叶中L、AG、ARG、LG的量,结果见表1、2。

3 分析与讨论

3.1 4种栽培类型菊茎、叶中在不同生长期均含有所测的4种黄酮成分,叶中的量远高于茎,菊在采花后的茎叶中仍含有大量的黄酮类成分,有进一步开发利用的价值。

3.2 大白菊、小白菊、长瓣菊茎、叶中所含单黄酮成分规律基本相似,金合欢素-7-O-(6"-O-鼠李糖)-β-D-葡萄糖苷(ARG)的量远高于其他黄酮,木犀草

表1 不同生长期不同栽培类型菊叶中黄酮的量

Table 1 Flavonoids in chrysanthemum leaves from different growth period and various cultivated types

采收 日期	大白菊叶黄酮/(mg·g ⁻¹)				小白菊叶黄酮/(mg·g ⁻¹)				长瓣菊叶黄酮/(mg·g ⁻¹)				红心菊叶黄酮/(mg·g ⁻¹)			
	L	AG	LG	ARG	L	AG	LG	ARG	L	AG	LG	ARG	L	AG	LG	ARG
08-26	0.364	0.184	0.581	2.528	0.382	0.700	0.338	7.324	0.783	0.440	1.188	7.519	0.038	3.477	0.524	4.480
09-06	0.465	0.441	1.365	4.495	0.800	0.745	0.505	8.744	0.507	1.259	1.108	10.359	0.044	4.948	0.739	5.481
09-16	0.551	0.171	1.166	4.669	1.132	0.459	0.414	6.379	1.118	0.314	0.982	5.727	0.119	4.778	0.478	4.557
09-27	0.054	1.061	0.493	0.449	0.165	1.489	0.749	7.954	1.596	0.319	0.983	4.014	0.070	6.508	0.707	5.742
10-09	0.487	1.177	1.707	4.310	0.548	0.863	1.076	7.435	0.290	1.553	1.337	5.468	0.442	4.627	0.946	4.528
10-18	0.094	0.053	2.275	4.022	0.190	0.317	1.379	7.235	0.134	0.043	2.170	3.587	0.087	3.383	1.436	4.332
10-26	0.124	0.030	2.266	3.401	0.145	0.493	1.372	6.315	0.063	0.075	2.660	3.246	0.030	3.108	1.722	3.089
10-05	0.239	0.042	3.036	3.632	0.406	0.282	0.960	6.282	0.279	0.088	2.873	5.736	0.098	2.958	1.086	2.939

表2 不同生长期不同栽培类型菊茎叶中黄酮的量

Table 2 Flavonoids of chrysanthemum stems from various growth period and different cultivated types

采收 日期	大白菊茎黄酮/(mg·g ⁻¹)				小白菊茎黄酮/(mg·g ⁻¹)				长瓣菊茎黄酮/(mg·g ⁻¹)				红心菊茎黄酮/(mg·g ⁻¹)			
	L	AG	LG	ARG	L	AG	LG	ARG	L	AG	LG	ARG	L	AG	LG	ARG
08-26	0.034	0.212	0.124	1.394	0.010	0.124	-	1.741	0.072	0.178	0.131	1.673	0.004	0.827	0.061	1.485
09-06	0.011	0.236	0.271	1.152	0.006	0.151	0.029	1.901	0.074	0.254	0.079	2.317	-	0.724	-	1.004
09-16	0.036	0.151	0.085	1.208	0.031	0.143	-	1.846	0.091	0.119	0.062	1.883	0.007	0.575	-	0.902
09-27	0.005	0.303	-	0.273	0.022	0.225	-	1.619	0.051	0.081	0.074	1.674	0.009	0.564	-	0.838
10-09	0.037	0.449	0.117	1.075	0.018	0.181	0.051	1.510	0.028	0.251	0.088	1.375	0.015	0.534	0.025	0.660
10-18	0.021	0.078	0.183	1.168	0.046	0.086	0.083	1.864	0.036	0.027	0.300	1.525	0.015	0.477	0.033	0.738
10-26	0.028	0.134	0.196	0.877	0.022	0.090	0.044	1.314	0.037	0.027	0.374	1.052	0.010	0.439	-	0.571
11-05	0.061	0.090	0.511	1.173	0.057	0.081	0.133	1.831	0.098	0.023	0.170	1.418	0.019	0.886	0.163	0.915

“-” 低于检测限

“-” below testing limit

素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (LG) 的量随着生长期的延长逐渐增加,木犀草素 (L) 和金合欢素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (AG) 的量在整个生长期中由小变大又变小。

3.3 红心菊中金合欢素-7-O-β-D-葡萄糖苷的量明显高于其他几种栽培类型,几乎和金合欢素-7-O-(6"-O-鼠李糖)-β-D-葡萄糖苷的量相同,这一点与其他几种菊花明显不同,其成因有待进一步研究,各黄酮随着采花期邻近有所下降。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 张健,钱大玮,李友宾,等. 菊花的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1): 71-73, 91.
- [3] 吕琳,秦民坚,吴刚,等. 不同种源野菊及菊花脑花的挥发油成分分析[J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16(1): 53-57.
- [4] 刘金旗,吴德林,王兰,等. 菊花中黄酮苷的含量分析[J]. 中草药, 2001, 32(4): 308-310.
- [5] 贾凌云,孙启时,黄顺旺. 八大品种菊花中不同成分的含量比较[J]. 中草药, 2004, 35(10): 1180-1183.
- [6] 郭巧生,钱大玮,何先元,等. 药用白菊花4个栽培类型内在质量的比较研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(12): 896-898.

山西大学—荷兰莱顿大学 代谢组学国际合作交流研讨班通知

时间:2009年10月19~21日

地点:山西省太原市 山西大学

上课内容:代谢组学仪器分析技术、多元数据统计及在中医药研究中的应用。

收费标准:注册费1000元/人(含资料费、学费),食宿统一安排,费用自理。中国药学会、中国药理学会、中国植物学会会员(凭会员证)800元/人,学生(凭学生证)500/人。

研讨班组织者:秦雪梅 教授,山西大学,中国太原

Robert Verpoorte 教授,莱顿大学,荷兰

报名方法:将报名表回执通过 E-mail 发送到 qinxm@sxu.edu.cn 或传真至(0351)7011202。

联系人:张丽增

电话(传真):(0351)7011202