

菏泽牡丹花 HPLC 特征图谱研究及 8 种成分的测定

闫慧娇¹, 王志伟¹, 赵恒强¹, 耿岩玲¹, 赵伟², 王晓^{1*}

1. 山东省中药质量控制重点实验室, 山东省分析测试中心, 山东 济南 250014

2. 山东师范大学生命科学学院, 山东 济南 250014

摘要: **目的** 建立菏泽地区丹凤牡丹花瓣的 HPLC 指纹图谱, 并将其应用于不同品种牡丹花的质量评价, 同时测定不同品种牡丹花中 8 种成分的量, 为科学评价牡丹花质量提供依据。 **方法** 采用纳微 Nano-Micro C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 270 nm, 柱温 25 ℃。运用中药色谱指纹图谱相似度评价系统进行分析。 **结果** 6 批次丹凤牡丹花瓣样品得到的指纹图谱相似度大于 0.993, 标定共有峰 14 个, 并对其中 8 个色谱峰进行了归属。同时对 6 批不同品种牡丹样品与丹凤牡丹进行相似度分析比较, 整体相似度较高。同时对牡丹花瓣中没食子酸、没食子酸甲酯、山柰酚-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (紫云英苷)、芹菜素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (大波斯菊苷)、野漆树苷、二氢山柰酚-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、芍药苷、氧化芍药苷 8 种主要代谢产物进行了定量测定, 其质量分数分别在 0.05~1.41、1.01~4.41、0.70~5.55、4.60~18.30、10.05~33.87、0.09~1.76、3.16~11.12、0.85~2.02 mg/g。 **结论** HPLC 指纹图谱结合定量测定能全面反映内在质量, 该方法简便可行、快速准确, 为牡丹花质量评价提供参考。

关键词: 牡丹花; HPLC; 指纹图谱; 没食子酸; 没食子酸甲酯; 山柰酚-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷; 芹菜素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷; 野漆树苷; 二氢山柰酚-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷; 芍药苷; 氧化芍药苷

中图分类号: R286.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)09-1866-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.09.026

Study on HPLC digital fingerprint of *Paeonia suffruticosa* and determination of eight components

YAN Hui-jiao¹, WANG Zhi-wei¹, ZHAO Heng-qiang¹, GENG Yan-ling¹, ZHAO Wei², WANG Xiao¹

1. Shandong Analysis and Test Center, Shandong Key Laboratory Breeding Base of TCM Quality Control Technology, Jinan 250014, China

2. School of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China

Abstract: **Objective** To establish an HPLC digital fingerprint for flower petals of Danfeng (*Paeonia ostii*), and apply it in the determination of other six varieties of *P. suffruticosa* produced in Heze areas, while determining the contents of eight components in the flower petals. **Methods** Nano-Micro C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column was adopted and the gradient mobile phase consisted of acetonitrile (A)-0.1% formic acid (B) with a flow rate of 1.0 mL/min, the detective wavelength was 270 nm, and the column temperature was 25 ℃. **Results** The chromatographic fingerprint similarity evaluation system for traditional Chinese medicines was used for analysis. The chromatographic fingerprint similarity of six batches of Danfeng samples was more than 0.993. There were altogether 14 common peaks, and eight of them were identified. A comparative analysis showed a similarity between samples of Danfeng and other six varieties produced in Heze. Meanwhile, the content of eight major chemical constituents, namely gallic acid, methyl gallate, kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucopyranoside, apigenin-7-*O*-β-*D*-glucopyranoside, apigenin-7-*O*-β-*D*-neospheroside, dihydrokaempferol-7-*O*-β-*D*-glucopyranoside, paeoniflorin, and oxypaeoniflorin were determined in the range of 0.05—1.41, 1.01—4.41, 0.70—5.55, 4.60—18.30, 10.05—33.87, 0.09—1.76, 3.16—11.12, 0.85—2.02 mg/g. **Conclusion** The combination of HPLC digital fingerprint and content determination could reflect its inherent quality in an all-round way, which provided scientific basis for the quality evaluation of *P. suffruticosa*.

Key words: flower of *Paeonia suffruticosa* Andr.; high performance liquid chromatography; fingerprint; gallic acid; methyl gallate; kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucopyranoside; apigenin-7-*O*-β-*D*-glucopyranoside; apigenin-7-*O*-β-*D*-neospheroside; dihydrokaempferol-7-*O*-β-*D*-glucopyranoside; paeoniflorin; oxypaeoniflorin

收稿日期: 2016-11-23

基金项目: 山东省科学院青年基金项目 (青基合字 2015 第 2 号); 山东省自然科学基金三院联合基金项目 (ZR2015YL012)

作者简介: 闫慧娇, 博士, 助理研究员, 主要从事中药学、天然产物化学研究。E-mail: yanhuijiao01@163.com

*通信作者 王晓, 研究员, 博士生导师, 研究方向为天然产物化学及中药资源。E-mail: wangx@sas.org

牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 为毛茛科 (Ranunculaceae) 芍药属 *Paeonia* L. 灌木, 为我国的传统名花, 又有“富贵花”和“花中之王”的美称, 成为中华民族传统文化的重要组成部分, 享有“国花”盛誉^[1]。牡丹除了具有重要的观赏与园艺功能之外, 其根部作为中药材“丹皮”入药, 古有记载, 《神农本草经》列其为中品, 具有清热凉血、活血化瘀的功效^[2]。而牡丹花作为特色的天然生物资源, 在我国有悠久的药用和食用历史, 《四川中药志》载: “牡丹花性平、苦、淡, 具有调经活血的功能, 主治月经不调, 痛经”^[3]。丹凤牡丹花 *Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang 更是在 2015 年被列入新资源食品名录。牡丹花富含黄酮及多酚类化合物, 化学成分复杂^[4-6], 目前, 牡丹花尚无高效、快速的整体表征和质量控制方法。本实验建立了牡丹花中多种成分的定量测定及其指纹图谱研究方法, 为从整体上科学评价其质量提供参考。

前期研究中对丹凤牡丹花进行了系统的化学成分分离研究, 共分离得到 18 个成分^[7-9]。本实验采用 HPLC 法, 选择了菏泽地区具代表性的 6 批次丹凤牡丹花样品进行了分析测定, 建立了菏泽地区丹凤牡丹花的特征图谱, 确定了 14 个共有峰, 其分离度和重现性均较好, 同时测定了 8 种成分的量。目前, 菏泽地区牡丹品种繁多, 本实验选择了 6 个常见品种牡丹将所建立的方法进行了应用, 结果表明, 肉芙蓉 *P. suffruticosa* cv. Rou Fu Rong、八千代椿 *P. suffruticosa* cv. Yachiyu tsubaki、紫二乔 *P.*

suffruticosa cv. Luoyang Red、脂红 *P. suffruticosa* cv. Zhi Hong、玉面桃花 *P. suffruticosa* cv. Yu Mian Tao Hua 与丹凤整体相似度较高, 墨玉 *P. suffruticosa* cv. Mo Yu 与丹凤相似度较低。各品种在化合物的量上存在较大差异。

1 仪器与材料

FA1104 型电子天平 (上海精天电子仪器厂); Agilent 1120 型高效液相色谱仪 (配有 DAD 检测器, 自动进样器, 美国 Agilent 公司); Nano-Micro C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); R201 型旋转蒸发仪 (上海申生科技有限公司); KQ3200 超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司, 工作频率 40 kHz, 超声功率 250 W)。

乙醇 (分析纯, 德州恒业化工有限公司); 甲醇, 分析纯 (天津市化学试剂厂); 甲醇、乙腈 (色谱纯, 山东禹王试剂有限公司)。甲酸、乙酸 (色谱纯) 购于德国 Riedel 公司, 其余试剂均为分析纯, 实验用水为超纯水。对照品芍药苷、山柰酚-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (紫云英苷)、野漆树苷均购自中国食品药品检定研究院; 没食子酸、没食子酸甲酯、芹菜素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (大波斯菊苷)、二氢山柰酚-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、氧化芍药苷由笔者分离、纯化制备, 并经红外、紫外、核磁、质谱鉴定, 质量分数均达 99% 以上。

牡丹花由作者采集自山东菏泽, 经山东省科学院刘伟副研究员鉴定, 见表 1。采收的新鲜牡丹花瓣, 50 ℃ 烘干粉碎过 40 目筛备用。

表 1 牡丹花样品

Table 1 Samples of *P. suffruticosa*

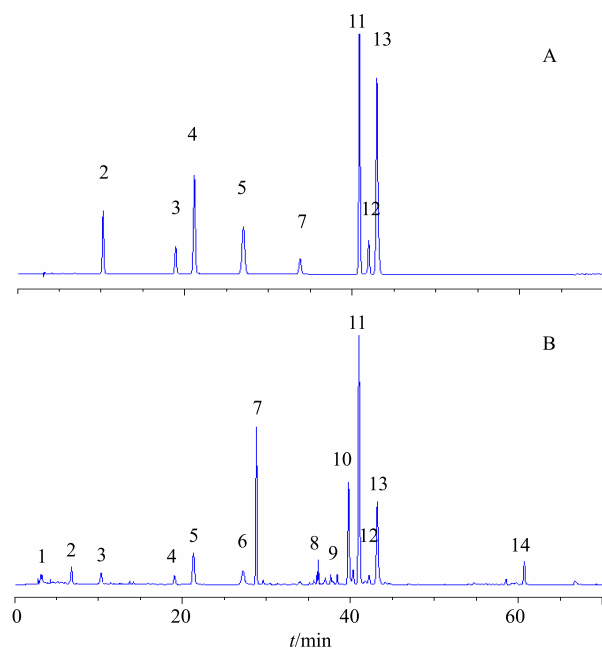
编号	品种	采集地点	编号	品种	采集地点
D1	丹凤	曹州牡丹园	R	肉芙蓉	曹州牡丹园
D2	丹凤	菏泽古今园	B	八千代椿	曹州牡丹园
D3	丹凤	中国牡丹园	Z	紫二乔	曹州牡丹园
D4	丹凤	天香公园	ZH	脂红	曹州牡丹园
D5	丹凤	曹州百花园	Y	玉面桃花	曹州牡丹园
D6	丹凤	盛华牡丹园	M	墨玉	曹州牡丹园

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 HPLC 法, 色谱柱为纳微 Nano-Micro C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱: 0~5 min, 5% 乙腈; 5~8 min, 5%~12% 乙腈; 8~23 min, 12% 乙腈; 23~24 min, 12%~15% 乙腈; 24~30 min, 15% 乙腈;

30~31 min, 15%~21% 乙腈; 31~38 min, 21% 乙腈; 38~39 min, 21%~22% 乙腈; 39~48 min, 22% 乙腈; 48~53 min, 22%~34% 乙腈; 53~63 min, 34% 乙腈; 63~64 min, 34%~90% 乙腈; 64~69 min, 90% 乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL; 检测波长 270 nm (定量测定与指纹图谱用)。色谱图见图 1。



2-没食子酸 3-氧化芍药苷 4-没食子酸甲酯 5-二氢山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 7-芍药苷 11-野漆树苷 12-紫云英苷 13-大波斯菊苷

2-gallic acid 3-oxypaeoniflorin 4-methyl gallate 5-dihydrokaempferol-7-*O*- β -D-glucopyranoside 7-paeoniflorin 11-apigenin-7-*O*- β -D-neosphaeroside 12-kaempferol-3-*O*- β -D-glucopyranoside 13-apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside

图 1 混合对照品 (A) 与丹凤牡丹样品 (B) 的 HPLC
Fig. 1 HPLC of mix references (A) and *P. ostii* sample (B)

2.2 对照品溶液的制备

分别取没食子酸、没食子酸甲酯、紫云英苷、大波斯菊苷、野漆树苷、二氢山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、芍药苷、氧化芍药苷对照品适量，精密称定，置 25 mL 量瓶中，加甲醇配成混合对照品母液，备用。精密量取混合对照品母液 2.5 mL 至 25 mL 量瓶中，加甲醇定容，得质量浓度为没食子酸 133.30 $\mu\text{g/mL}$ 、没食子酸甲酯 66.70 $\mu\text{g/mL}$ 、紫云英苷 66.70 $\mu\text{g/mL}$ 、大波斯菊苷 200.00 $\mu\text{g/mL}$ 、野漆树苷 333.30 $\mu\text{g/mL}$ 、二氢山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 66.70 $\mu\text{g/mL}$ 、芍药苷 733.00 $\mu\text{g/mL}$ 、氧化芍药苷 66.70 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.3 样品溶液的制备

称取牡丹花瓣粉末（过 40 目筛，干燥至恒定质量）约 0.5 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入 65%乙醇 50 mL，称质量，超声提取 20 min (250 W, 40 kHz)，冷却至室温，称定补足减失质量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜滤过，作为供试品溶液。

2.4 牡丹花指纹图谱研究

2.4.1 精密度试验 取丹凤牡丹样品 (D1)，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，精密吸取同一供试品溶液，连续进样 6 次，记录色谱图，以野漆树苷色谱峰为参照峰，计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积，结果各共有峰的相对保留时间的 RSD 在 0.33%~0.86%，各共有峰的相对峰面积的 RSD 在 0.93%~2.54%，表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 (D1) 10 μL ，分别在 0、1、2、4、6、8、12 h 进行测定，记录色谱图，以野漆树苷色谱峰为参照峰，计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积，结果各共有峰的相对保留时间的 RSD 在 0.54%~0.91%，各共有峰的相对峰面积的 RSD 在 0.75%~2.60%，表明该供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 取同一供试品 (D1) 6 份，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，精密吸取供试品溶液 10 μL ，注入 HPLC，记录色谱图，以野漆树苷色谱峰为参照峰，计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积，结果各共有峰的相对保留时间的 RSD 在 0.17%~0.73%，各共有峰的相对峰面积的 RSD 在 0.87%~2.77%，表明该方法重复性良好。

2.4.4 菏泽凤牡丹花指纹图谱及相似度评价 按“2.2”项下方法制备对照品溶液，按选定色谱条件进行测定。所得混合对照品色谱图见图 1。按“2.3”项下方法制备供试品溶液，分别取 6 批次菏泽地区丹凤牡丹花瓣制备供试品溶液，按选定色谱条件进行测定。所得色谱图见图 2。将 6 批样品测定数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版》，经过色谱峰自动匹配，进行色谱峰整体相似性评价。通过比较，确定共有峰为 14 个。根据已知对照品的保留时间和 UV 光谱，与样品色谱峰进行比对，归属 8 个色谱峰。由于第 11 号色谱峰野漆树苷量较高且比较稳定，将其指定为参照峰。其余 7 个色谱峰中 2 号峰色谱峰为没食子酸，3 号峰为氧化芍药苷，4 号为没食子酸甲酯，5 号峰为二氢山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷，7 号峰为芍药苷，12 号峰为紫云英苷，13 号峰为大波斯菊苷。以均值法生成对照指纹图谱（图 2），6 批次丹凤牡丹花瓣样品色谱图与对照指纹图谱相似度大于 0.993。

通过《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版》的分析处理，生成丹凤牡丹花指纹图谱共有模式图，

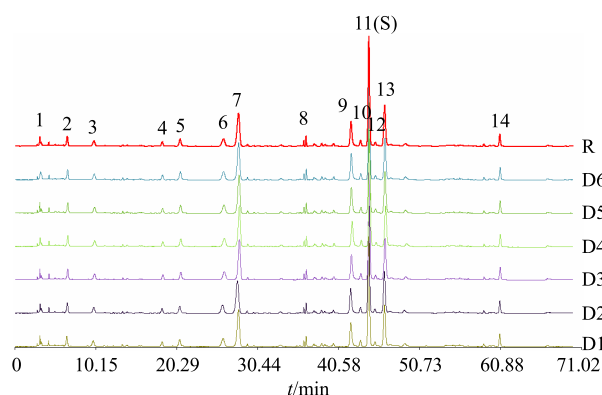


图 2 6 批次菏泽丹凤牡丹样品色谱图

Fig. 2 HPLC of six Danfeng samples from Heze

得到相似度评价结果。相似度可以体现不同批次样品间各成分在种类及其相对含量上的相似程度；由于相似度不能反映不同批次样品间成分绝对量的差异，所以同时采用总峰面积比（总峰面积比=样品总峰面积/6 批次样品平均总峰面积）和相似度 2 个指标共同来对样品的相似度进行评价，结果表明，D1、D2、D3、D4、D5、D6 的相似度分别为 0.999、0.998、0.994、0.993、0.995、0.998；总峰面积比分别为 0.930、0.950、0.910、1.060、0.940、1.020。

2.4.5 不同牡丹品种花瓣相似度评价 以丹凤牡丹图谱为对照谱图，其余不同品种的每个样本与代表丹凤牡丹的 D1 号样品相比较，计算相似度与总峰

面积比。相似度评价结果表明，D1、R、B、Z、ZH、Y、M 相似度分别为 1.000、0.973、0.866、0.867、0.903、0.913、0.599；总峰面积比分别为 1.000、1.300、1.340、1.350、1.100、1.120、1.420。色谱图见图 3。

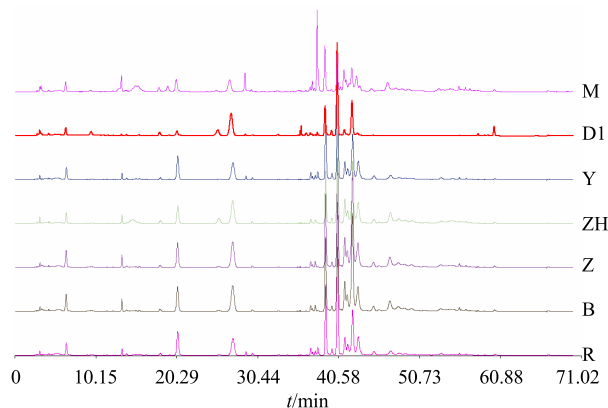


图 3 不同牡丹品种样品色谱图

Fig. 3 HPLC of different varieties of *P. suffruticosa*

2.5 牡丹花多成分定量测定

2.5.1 线性范围考察 取混合对照品母液，用甲醇逐级稀释，制成系列对照品溶液。分别精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪，测定峰面积，以峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归。混合对照品逐级稀释，分别以信噪比 3 和 10 考察检测限和定量限，结果见表 2。

2.5.2 精密度试验 取混合对照品溶液，按“2.1”

表 2 各对照品回归方程、线性范围及检测限、定量限

Table 2 Regression equations, linear ranges, detectabilities, and limits of quantitation of eight maker components

对照品	回归方程	R^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	定量限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	检测限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
没食子酸	$Y=23.237 X+11.034$	0.999 9	0.33~100.05	0.03	0.09
没食子酸甲酯	$Y=11.368 X+17.988$	0.997 4	0.67~199.95	0.04	0.12
紫云英苷	$Y=13.780 X+4.389$	0.999 9	0.33~100.05	0.05	0.18
大波斯菊苷	$Y=31.723 X+18.826$	0.999 9	1.00~300.00	0.03	0.09
野漆树苷	$Y=17.295 X+36.033$	0.999 9	1.67~499.95	0.04	0.12
二氢山柰酚-7- <i>O</i> - β -D-吡喃葡萄糖苷	$Y=34.108 X+16.546$	0.999 9	0.33~100.05	0.04	0.12
芍药苷	$Y=0.863 X+3.974$	0.999 5	3.67~1 099.50	0.81	2.78
氧化芍药苷	$Y=11.368 X+17.988$	0.997 4	0.33~100.05	0.06	0.21

项下色谱条件连续进样 6 次，测定，结果没食子酸、没食子酸甲酯、紫云英苷、大波斯菊苷、野漆树苷、二氢山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、芍药苷、氧化芍药苷峰面积的 RSD 值分别为 0.33%、0.21%、0.91%、0.21%、0.28%、0.26%、0.76%、0.86%，表明仪器精密度良好。

2.5.3 稳定性试验 取丹凤牡丹样品(D1)，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别于 0、1、2、4、6、8、12 h 进样测定，计算各指标成分峰面积的 RSD 值，结果没食子酸、没食子酸甲酯、紫云英苷、大波斯菊苷、野漆树苷、二氢山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、芍药苷、氧化芍药

苷的峰面积 RSD 值分别为 2.60%、1.62%、1.33%、1.87%、1.93%、1.71%、0.75%、1.26%，表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.5.4 重复性试验 取丹凤牡丹样品(D1)，按“2.3”项下方法制备 6 份供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，测定各指标成分的峰面积，结果没食子酸、没食子酸甲酯、紫云英苷、大波斯菊苷、野漆树苷、二氢山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、芍药苷、氧化芍药苷的平均质量分数分别为 1.28、1.06、1.34、6.91、24.72、1.52、9.61、1.76 mg/g，RSD 值分别为 0.87%、2.77%、0.94%、1.53%、1.23%、1.88%、0.98%、1.01%。

2.5.5 耐用性试验 对拟定色谱条件分别进行柱温(3 ℃)、体积流量(0.1 mL/min)测试，精密量取供试品溶液(D1) 10 μ L，按拟定色谱条件进样测定。结果色谱条件发生微小改变时，各条件下所测各成分量的 RSD 均<3%。

2.5.6 加样回收率试验 取药材细粉(D1)，过 40 目筛，干燥至恒定质量) 0.25 g，3 份，精密称定，置于 50 mL 量瓶中，分别加入混合对照品溶液(没食子酸 333.25 μ g/mL、没食子酸甲酯 266.80 μ g/mL、紫云英苷 333.50 μ g/mL、大波斯菊苷 1800.00 μ g/mL、野漆树苷 666.60 μ g/mL、二氢山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 333.50 μ g/mL、芍药苷 244.33 μ g/mL、氧化芍药苷 444.67 μ g/mL) 1.2、1.0、0.8 mL 3 组，各平行制备 3 份，加甲醇定容，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，进样，测定，计算得平均回收率依次为 99.23%、99.69%、101.46%、100.14%、102.41%、101.02%、102.14%、99.80%，RSD 值分别为 0.51%、0.66%、0.75%、0.21%、0.61%、0.67%、0.76%、0.67%。结果表明本方法符合分析方法学要求。

2.5.7 定量测定结果 在选定的色谱条件下，取各供试品溶液 10 μ L 注入 HPLC。计算各化合物的量，结果见表 3。

表 3 牡丹花中 8 种化合物定量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Quantitative determination of eight maker components of *P. suffruticosa* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
	没食子酸	没食子酸甲酯	紫云英苷	大波斯菊苷	野漆树苷	二氢山柰酚-7- <i>O</i> - β -D-吡喃葡萄糖苷	芍药苷	氧化芍药苷
D1	1.29	1.03	1.37	6.97	25.01	1.55	9.68	1.78
D2	1.32	1.05	1.40	7.12	25.55	1.58	9.89	1.82
D3	1.27	1.01	1.32	6.82	24.45	1.51	9.46	1.74
D4	1.41	1.15	1.57	7.88	28.12	1.76	11.12	2.02
D5	1.29	1.04	1.38	7.04	25.28	1.57	9.78	1.80
D6	1.40	1.13	1.50	7.56	27.43	1.71	10.91	1.95
R	0.27	2.60	4.42	13.70	33.87	1.36	7.04	1.72
B	0.26	4.17	5.55	18.30	28.42	0.23	3.89	1.09
Z	0.08	4.40	0.70	8.09	25.83	0.85	4.63	1.01
ZH	0.05	3.10	3.15	13.26	25.01	1.54	3.49	1.62
Y	0.09	4.41	1.23	10.13	28.28	0.09	3.16	0.85
M	0.89	1.91	3.53	4.60	10.05	1.20	7.01	1.01

3 讨论

在流动相选择方面，本实验考察了甲醇-水、甲醇-0.1%乙酸溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水溶液等几种不同流动相在不同比例等度、梯度洗脱程序下的色谱行为，结果表明，在乙腈-0.1%甲酸水溶液梯度洗脱程序下，各色谱峰分离度较好；同时考察了不同柱温、不同体积流量对色谱行为的影响，发现该检测方法适用性良好。本实验采用 DAD 对样品进行全波段扫描，为兼顾样品中所有成分，本实验对比了多个波长(203、230、

254、270、306 nm) 下的色谱峰，发现在 270 nm 条件下反映的色谱峰信息较全面，8 种指标成分均有吸收且分离度较好，故选择 270 nm 作为检测波长。

本实验选取了菏泽牡丹具有代表性的 6 个牡丹园丹凤牡丹花样品，采用 HPLC 进行测定，建立了丹凤牡丹花的指纹图谱，其分离度和重复性良好。通过比较确立了 14 个共有峰；采用与对照品比较的方法，确定了其中 8 个峰的归属。通过对牡丹花指纹图谱的研究，6 批次丹凤牡丹样品的共有峰占总峰面积均大于 98%，整体相似度均

大于 0.99。本图谱的应用范围扩大到牡丹其余常见品种,结果表明,肉芙蓉、八千代椿、紫二乔、脂红、玉面桃花与丹凤整体相似度较高,墨玉与丹凤相似度较低。各品种在化合物的量上存在差异。

本实验建立了牡丹花特征指纹图谱研究方法,实验方法简便、重复性好,能够较好地反映牡丹花中化学成分的特征,监测指标性成分量的同时,又对样品整体进行了表征,对评价牡丹花的质量具有参考意义。

参考文献

- [1] 任崇勇,程德海. 菏泽牡丹资源开发利用现状及发展对策 [J]. 现代农业科技, 2013, 2013(22): 316-322.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
- [4] 袁亚光,王成忠,饶鸿雁. 牡丹花中黄酮类化合物的研究进展 [J]. 山东轻工业学院学报, 2013, 27(4): 31-34.
- [5] 徐小博,贾文庆,刘会超. 牡丹品种间花瓣营养成分差异 [J]. 浙江农林大学学报, 2012, 29(5): 729-733.
- [6] 史国安,郭香凤,包满珠. 不同类型牡丹花的营养成分及体外抗氧化活性分析 [J]. 农业机械学报, 2006, 37(8): 111-114.
- [7] Wang X, Cheng C, Sun Q, *et al.* Isolation and identification of four flavonoid constituents from the flowers of *Paeonia Suffruticosa* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1075(1): 127-131.
- [8] 闫慧娇,赵伟,耿岩玲,等. 牡丹花化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(12): 2056-2059.
- [9] 赵伟,耿岩玲,崔莉,等. 牡丹花黄酮类化学成分研究 [J]. 中国现代中药, 2016, 18(3): 303-306.