

## 渝产不同品系药用菊花品质的研究

丁刚<sup>1,2,3,4</sup>, 努尔·艾力<sup>5</sup>, 李隆云<sup>1,2,3,4\*</sup>, 崔广林<sup>1,2,3,4</sup><sup>1</sup>重庆市中药研究院; <sup>2</sup>重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心; <sup>3</sup>重庆市中药资源学重点实验室;<sup>4</sup>中国中医科学院中药资源中心重庆分中心, 重庆 400065; <sup>5</sup>重庆医科大学中医药学院, 重庆 400016

**摘要:**为比较不同单株菊花的质量, 高效、科学地评价菊花品质, 便于后续开展菊花品种选育工作, 本研究以绿原酸、木犀草苷为内标物, 建立了一测多评方法。随后, 测定了渝产药用菊花 6 个品系 61 个不同单株菊花的有机酸类和黄酮类成分含量, 并依据药典方法测定了水分和总灰分。采用主成分分析和聚类分析确定了高有机酸和黄酮含量的 3 个优良单株, 即阳菊品系 (yj-2-4、yj-3-7、yj-6-15)。本研究为菊花单株质量评价提供了高效、便捷、准确和可行的方法, 为菊花选育研究提供了数据、理论支持。

**关键词:**菊花; 一测多评; 主成分分析; 综合评价

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)12-2061-12

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.12.005

## Study on the quality of *Chrysanthemum morifolium* for medicine of different strain produced in Chongqing

DING Gang<sup>1,2,3,4</sup>, NUER Aili<sup>5</sup>, LI Long-yun<sup>1,2,3,4\*</sup>, CUI Guang-lin<sup>1,2,3,4</sup><sup>1</sup>Chongqing Academy of Chinese Materia Medica; <sup>2</sup>Chongqing Engineering Research Center for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica;<sup>3</sup>Chongqing Key Laboratory of Chinese Medicine Resources;<sup>4</sup>Chongqing Sub-center of National Resources Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Chongqing 400065, China;<sup>5</sup>Integrated Department of Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

**Abstract:** In order to compare the quality of different *Chrysanthemum morifolium* strains, evaluate the quality of *C. morifolium* efficiently and scientifically, and facilitate the subsequent breeding of *C. morifolium* varieties, this study established a one-test and multi-evaluation method with chlorogenic acid and luteolin as internal standards. Subsequently, the contents of organic acids and flavonoids in 61 different *C. morifolium* plants from six strains from Chongqing were determined, and the water content and total ash content were determined according to the pharmacopoeia method. Principal component analysis and cluster analysis were used to identify three excellent individual plants with high organic acid and flavonoid content, namely Yang strain (yj-2-4, yj-3-7, yj-6-15). This study provides an efficient, convenient, accurate and feasible method for the quality evaluation of individual *C. morifolium* plants, and provides data and theoretical support for the research of *C. morifolium* breeding.

**Key words:** *Chrysanthemum morifolium*; quantitative analysis of multi-components by single-marker cluster analysis; principal component analysis; comprehensive evaluation

菊花为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序, 其味甘、苦, 微寒, 归肺、肝经, 具有疏散风热、清肝明目、清热解毒、平抑肝阳的

作用<sup>[1]</sup>。菊花中的黄酮类和苯丙素类成分是菊花的主要药效成分<sup>[2]</sup>, 其具有抗过敏、抑制肿瘤、抗心脑血管脂质过氧化、抗菌、抗病毒以及清除自由基等广泛药理活性<sup>[3]</sup>, 目前临床多用于风热感冒、眩晕、目赤昏花等病症的治疗<sup>[4,5]</sup>。

菊花作为一大宗药材其品种众多, 《中华人民共和国药典》(2020年版) 收录了“亳菊”“滁菊”“贡

收稿日期: 2023-03-10 接受日期: 2023-09-06

基金项目: 国家中药材产业技术体系 (CARS-21); 重庆市中药材产业技术体系 (2022-10); 重庆英才·创新创业领军人才项目 (2019-52)

\* 通信作者 Tel: 86-23-89029118; E-mail: lilongyun8@163.com

菊”“杭菊”“怀菊”五大品种<sup>[1]</sup>,此外市场上还有祁菊、川菊、济菊等品种<sup>[6]</sup>。现代研究表明不同品种菊花的生物学形态有所不同,其多种有机酸类、黄酮类等成分含量亦存在明显差异<sup>[7]</sup>。一般传统选育工作重点考虑菊花的花序大小、花盘直径、花瓣数目、香味、花色、分支、叶形和株高等植物学性状,同时注重培育和固定其显著的性状特点<sup>[8]</sup>,但有效成分考察较少。菊花品质不仅其生态特征有关,而且与微量元素、黄酮类、酚类、挥发油等指标息息相关<sup>[9]</sup>。

一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS)是指以质量稳定、对照品易获得、临床药效确切的组分作为内标物,计算其含量和其他组分与此组分之间的相对校正因子,利用药物各组分之间的内在函数关系,从而实现快速测定多种化学成分含量的一种定量测定方法。有研究表明一测多评法用于菊花中化学成分的含量测定,高效、便捷、准确可行,其结果与外标法无显著差异,可以同时测定菊花中多种化学成分的含量<sup>[10]</sup>。

本文以杭白菊、小洋菊、怀菊、小黄菊及阳菊品系和云阳当地品系多种不同形态特征的药用菊花为研究对象,测定不同形态特征菊花的黄酮和有机酸类成分的含量,同时测定水分、总灰分,较全面研究单株菊花不同形态特征和多种药效成分的内在联系。本研究采用聚类分析和主成分分析法,制定菊花品质综合评定方法,在重庆地区能够正常生产的品种基础上,比较菊花质量的优劣,最终选出品质优良的单株,为下一步扩繁及区域试验提供基础,旨在为渝产药用菊花品种选育及评价菊花品质提供实验数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪、DAD 检测器(美国 Agilent 公司);Milli-Q Integral 5 型纯水仪(美国 Millipore 公司);SGM. M8/13 人工智能箱式电阻炉(中国洛阳西格马炉业股份有限公司);BSA 124(S 型)电子天平(美国 Millipore 公司);XMTB 数显式电热恒温水浴锅(中国上海跃进医疗器械有限公司);KQ(250 DB 型)数控超声波清洗机(德国 Sartorius);G2X(9240 MBE 电热鼓风干燥箱(中国上海博讯实业有限公司医疗设备厂)。

### 1.2 试剂与样品

试剂:色谱纯甲醇、磷酸、乙腈(美国 TEDIA 公司);分析纯甲醇(重庆川东化工有限公司);超纯水用 Milli-Q Integral 5 型纯水仪制备。

对照品:木犀草素(批号 LOT-C29N10Q104574,纯度 $\geq 98.92\%$ ,源叶生物科技有限公司);异绿原酸 C(批号 LOT-J23GB152513 纯度 $\geq 98.92\%$ ,源叶生物科技有限公司);木犀草苷(批号 LOT-O20GB164741,纯度 $\geq 99.8\%$ ,源叶生物科技有限公司);金合欢素(批号 MUST-19081008,纯度 $\geq 99.07\%$ ,成都曼思特生物科技有限公司);绿原酸(批号 MUST-19030620,纯度 $\geq 99.39\%$ ,成都曼思特生物科技有限公司);大波斯菊苷(批号 MUST-19081101,纯度 $\geq 99.87\%$ ,成都曼思特生物科技有限公司);新绿原酸(批号 MUST-19031001,纯度 $\geq 99.67\%$ ,成都曼思特生物科技有限公司);异绿原酸 B(批号 MUST-19031602,纯度 $\geq 99.05\%$ ,成都曼思特生物科技有限公司);隐绿原酸(批号 MUST-19032403,纯度 $\geq 99.07\%$ ,成都曼思特生物科技有限公司);异绿原酸 A(MUST-21102611,纯度 $\geq 98.46\%$ ,成都曼思特生物科技有限公司)。

样品:根据植株形态、花色、成熟度,采集重庆产杭白菊、小洋菊、阳菊、云阳品系,小黄菊和怀菊品系 6 大类品系,61 个具有明显特征的单株样品(见图 1)。其中,阳菊和云阳品系是从浙江桐乡引种培育的品种,亦属于杭菊;怀菊是从河南焦作引种的品种,其余品系是适合重庆当地种植的品种。以上菊花经李隆云研究员鉴定为菊科植物杭菊 *Chrysanthemum morifolium* (Ramat). Tzvel. ‘Hangju’ cv. nov. 和怀菊 *Chrysanthemum morifolium* (Ramat). Tzvel. ‘Huaiju’ cv. nov. 的干燥头状花序(见表 1)。表 1 中的单株编号中的第一个数字是品系的二级特征分类(见表 2),第二个数字是本品系单株的顺序标记号。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 水分、总灰分的检测

按照 2020 年版的《中国药典》第四部通则 0832 第二法检测菊花样品水分含量,不宜超过 15%;按照通则 2302 对菊花样品总灰分进行检测。

#### 1.3.2 含量测定

混合对照品的制备:精确称取木犀草苷、新绿原酸、异绿原酸 B、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 A、大波斯菊苷、异绿原酸 C、木犀草素等对照品,质量分



图 1 不同品系菊花植物图

Fig. 1 *C. morifolium* plants of different strains

注: A. 杭白菊品系; B. 怀菊品系; C. 小黄菊品系; D. 小洋菊品系; E. 阳菊品系; F. 云阳品系。Note: A. Hangzhou white chrysanthemum strain; B. Huai chrysanthemum strain; C. Xiaohuang chrysanthemum strain; D. Xiaoyang chrysanthemum strain; E. Yang chrysanthemum strain; F. Yunyang chrysanthemum strain.

表 1 不同类型菊花样品来源

Table 1 Sources of different Chrysanthemum samples

品系 Strain	编号 Number	品系 Strain	编号 Number	品系 Strain	编号 Number
杭白菊 Hangzhou white chrysanthemum	hb-1-1	阳菊 Yang chrysanthemum	yj-5-11	云阳 Yunyang chrysanthemum	yy-1-6
	hb-1-2		yj-5-12		yy-1-7
	hb-1-3		yj-5-13		yy-1-8
怀菊品系 Huai chrysanthemum	hj-1-1		yj-6-14		yy-1-9
小黄菊 Xiaohuang chrysanthemum	xh-1-1		yj-6-15		yy-1-10
	xh-1-2		yj-6-16		yy-2-11
	xh-1-3		yj-7-17		yy-2-12
小洋菊 Xiaoyang chrysanthemum	xy-1-1		yj-7-18		yy-2-13
	xy-1-2		yj-7-19		yy-2-14
	xy-1-3		yj-8-20		yy-2-15
阳菊 Yang chrysanthemum	yj-1-1		yj-8-21		yy-2-16
	yj-1-2		yj-8-22		yy-2-17
	yj-2-3		yj-8-23		yy-2-18
	yj-2-4		yj-8-24		yy-2-19
	yj-2-5		yj-8-25		yy-2-20
	yj-3-6		yj-8-26		yy-3-21
	yj-3-7	云阳 Yunyang chrysanthemum	yy-1-1		yy-3-22
	yj-3-8		yy-1-2		yy-3-23
	yj-3-9		yy-1-3		yy-3-24
	yj-4-10		yy-1-4		yy-3-25
			yy-1-5		

表2 品系的二级特征

Table 2 Secondary feature of strain

编号 Number	二级特征 Secondary feature
1	中熟
2	早熟
3	晚熟
4	直立
5	半直立
6	倒伏
7	高产量
8	高含量

别为 3.04、5.00、2.90、5.82、4.42、8.29、4.61、5.39、5.01 mg, 置于已编号 10 mL 的 9 个容量瓶, 金合欢素精确称取 2.24 mg 置于 25 mL 容量瓶, 加入 70% 甲醇水溶液, 震荡, 溶解, 再定容至刻度线, 既得单个对照品的储备母液。分别量取适量母液置 10 mL 容量瓶配制成本犀草苷 60.80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、绿原酸 19.89  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、异绿原酸 B 8.56  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、隐绿原酸 5.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、

mL、新绿原酸 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、异绿原 A 65.08  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、大波斯菊苷 20.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、金合欢素 2.69  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、木犀草素 5.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、异绿原酸 C 86.24  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合对照品溶液。

供试品溶液的制备: 精密称取已干燥粉碎的菊花样品粉末(过 30 目筛)0.125 g, 置于 50 mL 具塞锥形瓶, 加 70% 甲醇水溶液 25 mL, 密塞, 称定质量, 于 60  $^{\circ}\text{C}$  超声处理 45 min, 冷却至室温, 用溶剂补足失重并摇匀, 用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过既得供试品溶液。

色谱条件: 色谱柱: Symmetry<sup>®</sup> C<sub>18</sub> (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 检测波长: 有机酸类成分检测波长 327 nm, 黄酮类成分检测波长 348 nm, 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量 10  $\mu\text{L}$ , 流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 流动相为乙腈(A)-0.4% 磷酸水溶液(B), 进行梯度洗脱(0~15 min, 10% A $\rightarrow$ 15% A; 15~17 min, 15% A $\rightarrow$ 20% A; 17~35 min, 20% A; 35~40 min, 20% A $\rightarrow$ 30% A; 40~45 min, 30% A $\rightarrow$ 80% A; 45~52 min, 80% A), 色谱图见图 2。

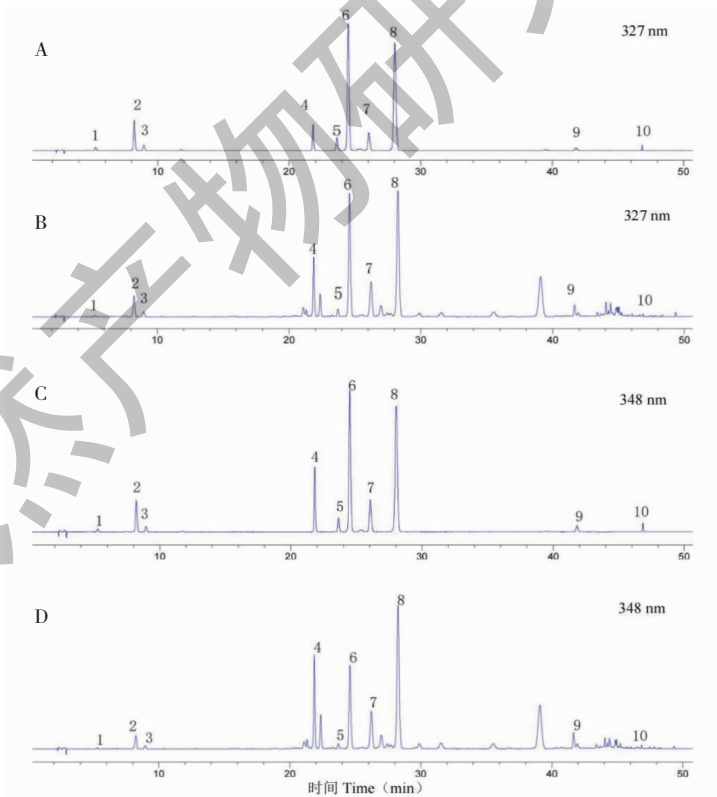


图2 混合对照品(A、C)及样品(B、D) HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of mixed reference substance (A, C) and sample (B, D)

注: 1. 新绿原酸; 2. 绿原酸; 3. 隐绿原酸; 4. 木犀草苷; 5. 异绿原酸 B; 6. 异绿原酸 A; 7. 大波斯菊苷; 8. 异绿原酸 C; 9. 木犀草素; 10. 金合欢素。  
Note: 1. Neochlorogenic acid; 2. Chlorogenic acid; 3. Cryptochlorogenic acid; 4. Luteolin; 5. Isochlorogenic acid B; 6. Isochlorogenic acid A; 7. Apigenin; 8. Isochlorogenic acid C; 9. Luteolin; 10. Acacetin.

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学考察

#### 2.1.1 线性关系考察

将按照“1.3.2”的方法配制的对照品溶液,分别进行稀释,精密吸取 10  $\mu\text{L}$  进样,记录色谱图进行

分析。以混合对照品的峰面积  $Y$  作为纵坐标,其对应的不同进样浓度  $X$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 作为横坐标,对检测结果进行回归处理,分析线性范围。结果线性良好(见表 3)。

表 3 菊花 10 种成分的线性关系和线性范围

Table 3 Linear relationship and linear range of ten chemical component in chrysanthemum

成分 Component	回归方程 Regression equation	$R^2$	线性范围 Linear range ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	$y = 25.04x - 0.7824$	0.999 0	0.157 ~ 7.831
绿原酸 Chlorogenic acid	$y = 290.55x - 15.504$	0.999 4	0.128 ~ 88.40
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	$y = 26.987x - 0.336$	0.999 0	0.162 ~ 8.101
木犀草苷 Cynaroside	$y = 25.239x + 0.1451$	1.000 0	6.080 ~ 60.800
异绿原酸 B Isochlorogenic acid B	$y = 25.568x - 2.6213$	0.999 4	0.470 ~ 21.147
异绿原酸 A Isochlorogenic acid A	$y = 34.415x - 35.607$	0.999 3	2.569 ~ 128.425
大波斯菊苷 Apigenin	$y = 26.03x + 3.7567$	0.999 8	1.872 ~ 93.586
异绿原酸 C Isochlorogenic acid C	$y = 31.948x - 2.2905$	0.999 3	4.148 ~ 207.379
木犀草素 Luteolin	$y = 61.953x - 0.9383$	0.999 1	0.250 ~ 10.02
金合欢素 Acacetin	$y = 25.42x + 0.5735$	0.999 8	0.269 ~ 22.40

#### 2.1.2 精密度考察

取混合对照品溶液,按照“1.3.2”色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图进行分析。结果异绿原酸 A、新绿原酸、异绿原酸 B、绿原酸、异绿原酸 C、隐绿原酸、金合欢素、大波斯菊苷、木犀草素、木犀草苷峰面积的 RSD 分别为 0.060%、0.64%、0.10%、0.13%、0.070%、0.46%、0.33%、0.20%、1.1% 和 0.080%,表明仪器精密度良好。

#### 2.1.3 稳定性考察

取同一供试品溶液,按照“1.3.2”色谱条件,分别 0、1、2、4、6、8、16、24 h 进样,记录色谱图进行分析。结果异绿原酸 A、新绿原酸、异绿原酸 B、绿原酸、异绿原酸 C、隐绿原酸、金合欢素、大波斯菊苷、木犀草素、木犀草苷峰面积的 RSD 分别为 0.70%、0.53%、0.63%、0.61%、0.67%、0.60%、0.90%、0.70%、0.97% 和 0.71%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

#### 2.1.4 加样回收率试验

精密称取已测定含量的菊花药材粉末,共 6 份,适量加入混合对照品溶液,按照供试品制备方法配制,按“2.2.3”色谱条件进行测定分析,计算回收率。结果异绿原酸 A、新绿原酸、异绿原酸 B、绿原酸、异绿原酸 C、隐绿原酸、金合欢素、大波斯菊苷、木犀草素、木犀草苷的平均回收率分别是 104.2%、

93.01%、111.6%、96.41%、99.40%、97.46%、115.9%、89.67%、99.40% 和 99.93%,其 RSD 分别是 1.5%、5.6%、3.5%、1.4%、2.5%、1.8%、2.6%、3.1%、3.6% 和 6.2%,表明该方法回收率良好。

#### 2.1.5 外标法重复性考察

取同一来源的样品,按照供试品溶液制备方法平行制备 6 份供试品溶液,进样测定分析。结果异绿原酸 A、新绿原酸、异绿原酸 B、绿原酸、异绿原酸 C、隐绿原酸、金合欢素、大波斯菊苷、木犀草素、木犀草苷的平均含量依次 1.318%、0.030%、0.180%、0.345%、2.092%、0.078%、0.023%、0.387%、0.058% 和 0.583%,RSD 分别为 0.52%、1.8%、1.4%、0.39%、1.4%、1.7%、2.7%、0.41%、2.3% 和 1.0%,表明该方法重现性良好。

## 2.2 含量测定

本研究运用一测多评 HPLC 法同时对菊花上述 10 种化学成分的含量进行检测。首先,将“1.3.2”制备的一系列梯度浓度的混合对照品容易进样进行检测,记录色谱图,再保证结果在线性范围内的前提下,按公式:

$$f_{km} = \frac{W_k * A_m}{W_m * A_k}$$

以绿原酸为内标物,计算其与其他 5 个有机酸

成分之间的相对校正因子(式中  $W_k$ 、 $A_m$ 、 $W_m$ 、 $A_k$  分别表示内参物的浓度、组分 m 的峰面积、组分 m 的浓度、内参物峰面积); 以木犀草苷为内标物, 计算其与其他 3 个黄酮类成分之间的相对校正因子, 结果见表 4。菊花样品的绿原酸, 木犀草苷含量百分比

用线性方程计算, 其余成分含量百分比用相对校正因子计算, 与外标法(external standard method, ESM) 含测结果比较(见表 5), 一测多评和外标法含量检测结果基本相同。

表 4 成分相对校正因子

Table 4 Relative correction factor of component

成分 Component	相对校正因子 Relative correction factor	RSD(%)
绿原酸/异绿原酸 C Chlorogenic acid/Isochlorogenic acid C	1.256	0.011
绿原酸/新绿原酸 Chlorogenic acid/Neochlorogenic acid	0.896	1.8
绿原酸/隐绿原酸 Chlorogenic acid/Cryptochlorogenic acid	0.978	0.20
绿原酸/异绿原酸 B Chlorogenic acid/Isochlorogenic acid B	0.942	2.0
绿原酸/异绿原酸 A Chlorogenic acid/Isochlorogenic acid A	1.187	2.7
木犀草苷/大波斯菊苷 Cynaroside/Apigenin	1.031	0.88
木犀草苷/木犀草素 Cynaroside/Luteolin	2.474	2.0
木犀草苷/金合欢素 Cynaroside/Apigenin	1.037	1.9

表 5 菊花 10 种化学成分外标法和一测多评含量测定结果比较

Table 5 Comparison of determination results of ten chemical components in chrysanthemum by QAMS and ESM(%)

编号 No.	新绿原酸 Neochlorogenic acid		绿原酸 Chlorogenic acid		隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid		木犀草苷 Cynaroside		异绿原酸 B Isochlorogenic acid B		异绿原酸 A Isochlorogenic acid A		大波斯菊苷 Apigenin		异绿原酸 C Isochlorogenic acid C		木犀草素 Luteolin		金合欢素 Acacetin	
	ESM	QAMS	ESM	ESM	QAMS	ESM	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS		
hb-1-1	0.005	0.007	0.028	0.005	0.008	0.058	0.012	0.015	0.129	0.133	0.122	0.124	0.110	0.123	0.014	0.014	0.016	0.016		
hb-1-2	0.012	0.012	0.150	0.021	0.021	0.267	0.089	0.092	1.125	1.155	0.379	0.382	0.572	0.585	0.022	0.021	0.018	0.018		
hb-1-3	0.010	0.011	0.119	0.012	0.013	0.306	0.037	0.038	0.817	0.851	0.449	0.452	0.425	0.444	0.058	0.058	0.028	0.028		
hj-1-1	0.005	0.006	0.037	0.007	0.010	0.023	0.014	0.017	0.274	0.351	0.051	0.053	0.095	0.092	0.011	0.011	0.373	0.362		
xh-1-1	0.012	0.012	0.112	0.019	0.021	0.308	0.051	0.053	0.452	0.463	0.552	0.555	0.433	0.455	0.030	0.029	0.014	0.014		
xh-1-2	0.012	0.012	0.125	0.021	0.022	0.343	0.054	0.055	0.679	0.700	0.510	0.513	0.530	0.551	0.069	0.068	0.074	0.072		
xh-1-3	0.020	0.020	0.304	0.035	0.035	0.751	0.130	0.131	1.613	1.601	1.044	1.047	1.009	0.993	0.077	0.076	0.014	0.014		
xy-1-1	0.005	0.006	0.034	0.006	0.008	0.062	0.017	0.021	0.145	0.177	0.090	0.093	0.111	0.154	0.012	0.012	0.015	0.015		
xy-1-2	0.006	0.007	0.052	0.007	0.008	0.129	0.013	0.014	0.300	0.344	0.262	0.265	0.193	0.231	0.016	0.015	0.025	0.024		
xy-1-3	0.025	0.024	0.432	0.077	0.076	0.477	0.142	0.141	1.472	1.443	0.524	0.526	1.180	1.149	0.015	0.014	0.018	0.018		
yj-1-1	0.039	0.039	0.379	0.085	0.086	0.770	0.174	0.174	1.622	1.598	0.558	0.560	1.876	1.835	0.013	0.012	0.018	0.018		
yj-1-2	0.061	0.061	0.582	0.123	0.122	0.915	0.311	0.309	1.954	1.909	0.560	0.562	2.354	2.278	0.025	0.025	0.016	0.016		
yj-2-3	0.027	0.027	0.416	0.072	0.072	0.622	0.092	0.090	1.574	1.546	0.328	0.331	1.864	1.818	0.011	0.011	0.018	0.018		
yj-2-4	0.066	0.066	0.624	0.129	0.128	1.051	0.386	0.383	2.045	1.996	0.579	0.582	2.477	2.394	0.006	0.006	0.015	0.015		
yj-2-5	0.055	0.055	0.574	0.123	0.122	0.585	0.216	0.214	1.823	1.780	0.385	0.388	2.154	2.085	0.006	0.005	0.014	0.014		
yj-3-6	0.034	0.034	0.425	0.094	0.094	0.723	0.120	0.119	1.466	1.437	0.375	0.377	1.994	1.943	0.016	0.015	0.018	0.018		
yj-3-7	0.059	0.059	0.664	0.140	0.139	0.866	0.272	0.269	2.142	2.090	0.424	0.427	2.584	2.496	0.008	0.007	0.016	0.016		
yj-3-8	0.046	0.046	0.620	0.114	0.113	1.107	0.223	0.220	2.360	2.308	0.507	0.510	2.486	2.403	0.010	0.009	0.016	0.016		
yj-3-9	0.023	0.023	0.265	0.048	0.048	0.881	0.191	0.193	1.127	1.118	0.515	0.518	1.635	1.620	0.081	0.080	0.027	0.027		
yj-4-10	0.025	0.024	0.392	0.062	0.062	0.769	0.188	0.188	1.625	1.599	0.438	0.440	2.197	2.146	0.061	0.060	0.022	0.022		
yj-5-11	0.019	0.019	0.279	0.045	0.045	0.634	0.126	0.126	1.380	1.371	0.556	0.558	1.367	1.350	0.030	0.029	0.018	0.018		
yj-5-12	0.030	0.030	0.343	0.080	0.080	0.623	0.180	0.181	1.354	1.334	0.417	0.420	2.139	2.099	0.060	0.059	0.024	0.024		
yj-5-13	0.019	0.019	0.239	0.045	0.046	0.911	0.146	0.148	1.186	1.183	0.605	0.608	1.519	1.512	0.060	0.059	0.025	0.025		
yj-6-14	0.056	0.056	0.544	0.114	0.113	0.610	0.252	0.250	2.000	1.957	0.376	0.379	2.246	2.177	0.006	0.005	0.015	0.015		
yj-6-15	0.061	0.061	0.656	0.124	0.122	1.079	0.359	0.356	2.490	2.433	0.533	0.536	2.704	2.612	0.008	0.007	0.016	0.016		
yj-6-16	0.045	0.045	0.566	0.094	0.093	0.564	0.128	0.126	1.851	1.808	0.325	0.328	1.290	1.248	0.052	0.051	0.018	0.018		

续表 5 (Continued Tab. 5)

编号 No.	新绿原酸 Neochlorogenic acid		绿原酸 Chlorogenic acid		隐绿原酸 Cryptochlorogenic aci		木犀草苷 Cynaroside		异绿原酸 B Isochlorogenic acid B		异绿原酸 A Isochlorogenic acid A		大波斯菊苷 Apigenin		异绿原酸 C Clsochlorogenic acid C		木犀草素 Luteolin		金合欢素 Acacetin	
	ESM	QAMS	ESM	ESM	QAMS	ESM	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
yy-7-17	0.028	0.027	0.342	0.060	0.060	0.403	0.082	0.081	1.293	1.273	0.257	0.260	0.932	0.914	0.073	0.073	0.027	0.026		
yy-7-18	0.048	0.047	0.696	0.098	0.097	0.542	0.160	0.157	2.336	2.279	0.273	0.276	1.493	1.440	0.050	0.050	0.018	0.018		
yy-7-19	0.054	0.053	0.719	0.105	0.104	0.571	0.172	0.169	1.329	1.287	0.326	0.328	1.549	1.493	0.049	0.048	0.017	0.017		
yy-8-20	0.014	0.014	0.135	0.032	0.034	0.217	0.046	0.047	0.607	0.618	0.159	0.162	0.547	0.564	0.077	0.076	0.040	0.039		
yy-8-21	0.046	0.046	0.600	0.098	0.097	0.696	0.144	0.142	2.022	1.975	0.399	0.402	1.511	1.461	0.041	0.041	0.016	0.016		
yy-8-22	0.020	0.020	0.248	0.043	0.044	0.324	0.061	0.061	1.044	1.038	0.185	0.188	0.786	0.780	0.078	0.078	0.033	0.033		
yy-8-23	0.056	0.056	0.691	0.108	0.106	0.571	0.184	0.182	2.201	2.146	0.305	0.307	1.534	1.479	0.048	0.047	0.017	0.017		
yy-8-24	0.051	0.051	0.671	0.099	0.098	0.526	0.144	0.141	2.315	2.260	0.259	0.262	1.532	1.478	0.056	0.055	0.019	0.018		
yy-8-25	0.033	0.033	0.398	0.070	0.070	0.437	0.102	0.101	1.367	1.341	0.279	0.282	1.052	1.026	0.050	0.049	0.019	0.019		
yy-8-26	0.025	0.025	0.334	0.053	0.053	0.392	0.061	0.060	1.211	1.192	0.235	0.237	0.834	0.817	0.062	0.061	0.024	0.024		
yy-1-1	0.036	0.036	0.427	0.097	0.097	0.689	0.155	0.153	1.377	1.348	0.509	0.512	1.760	1.715	0.008	0.008	0.011	0.011		
yy-1-2	0.040	0.040	0.411	0.112	0.112	0.691	0.214	0.214	1.498	1.471	0.501	0.504	2.047	1.997	0.006	0.006	0.010	0.010		
yy-1-3	0.049	0.049	0.555	0.130	0.129	0.780	0.173	0.171	1.545	1.506	0.500	0.502	2.248	2.178	0.006	0.006	0.010	0.011		
yy-1-4	0.038	0.038	0.477	0.101	0.101	0.875	0.200	0.199	1.750	1.714	0.586	0.588	2.254	2.191	0.009	0.009	0.012	0.012		
yy-1-5	0.031	0.031	0.426	0.092	0.092	0.799	0.152	0.151	1.609	1.579	0.508	0.511	1.956	1.907	0.009	0.009	0.010	0.011		
yy-1-6	0.042	0.041	0.512	0.119	0.118	0.684	0.205	0.204	1.609	1.572	0.432	0.434	2.130	2.067	0.007	0.006	0.011	0.011		
yy-1-7	0.044	0.043	0.483	0.118	0.117	0.884	0.182	0.180	1.605	1.570	0.601	0.604	1.900	1.846	0.009	0.009	0.010	0.010		
yy-1-8	0.041	0.041	0.517	0.109	0.108	0.956	0.180	0.178	1.561	1.524	0.657	0.660	1.937	1.879	0.009	0.009	0.013	0.013		
yy-1-9	0.033	0.033	0.339	0.088	0.089	0.677	0.120	0.120	1.142	1.123	0.561	0.564	1.517	1.489	0.010	0.010	0.009	0.010		
yy-1-10	0.042	0.041	0.529	0.125	0.125	0.723	0.187	0.186	1.624	1.586	0.475	0.478	2.144	2.079	0.007	0.007	0.011	0.011		
yy-2-11	0.027	0.026	0.392	0.096	0.096	0.751	0.088	0.087	1.198	1.173	0.503	0.506	1.852	1.809	0.015	0.014	0.012	0.012		
yy-2-12	0.015	0.015	0.173	0.045	0.046	0.431	0.056	0.057	0.690	0.692	0.443	0.446	0.850	0.861	0.012	0.011	0.011	0.011		
yy-2-13	0.025	0.025	0.319	0.095	0.096	0.886	0.071	0.069	0.951	0.933	0.633	0.635	1.619	1.592	0.015	0.015	0.010	0.010		
yy-2-14	0.036	0.035	0.432	0.110	0.110	0.781	0.134	0.133	1.473	1.444	0.553	0.556	1.923	1.874	0.008	0.008	0.008	0.009		
yy-2-15	0.026	0.026	0.275	0.067	0.068	0.666	0.137	0.138	1.414	1.406	0.555	0.558	1.710	1.691	0.009	0.008	0.011	0.011		
yy-2-16	0.028	0.028	0.364	0.094	0.094	0.641	0.099	0.098	1.462	1.440	0.427	0.430	1.883	1.844	0.016	0.015	0.009	0.010		
yy-2-17	0.013	0.013	0.180	0.045	0.047	0.489	0.053	0.054	0.732	0.734	0.422	0.425	1.050	1.062	0.014	0.013	0.011	0.012		
yy-2-18	0.014	0.014	0.188	0.047	0.048	0.524	0.060	0.060	0.917	0.922	0.356	0.358	1.273	1.284	0.016	0.016	0.012	0.012		
yy-2-19	0.025	0.025	0.562	0.062	0.061	0.926	0.124	0.122	2.242	2.195	1.252	1.255	1.349	1.305	0.019	0.018	0.011	0.011		
yy-2-20	0.015	0.015	0.186	0.025	0.025	0.550	0.042	0.042	0.782	0.784	1.060	1.063	0.596	0.600	0.029	0.028	0.011	0.011		
yy-3-21	0.024	0.024	0.333	0.044	0.044	0.781	0.130	0.130	1.408	1.390	1.276	1.279	0.860	0.843	0.017	0.016	0.010	0.010		
yy-3-22	0.024	0.024	0.259	0.040	0.041	0.643	0.171	0.173	1.267	1.261	0.913	0.916	0.842	0.834	0.020	0.019	0.013	0.013		
yy-3-23	0.032	0.032	0.315	0.056	0.056	0.752	0.273	0.275	1.288	1.272	1.083	1.086	1.023	1.005	0.021	0.020	0.011	0.011		
yy-3-24	0.024	0.024	0.289	0.042	0.042	0.540	0.161	0.162	1.401	1.391	0.674	0.676	0.953	0.940	0.018	0.017	0.013	0.013		
yy-3-25	0.021	0.020	0.322	0.040	0.040	0.697	0.099	0.099	1.272	1.255	1.041	1.043	0.997	0.979	0.026	0.026	0.011	0.011		

## 2.3 一测多评 $f_{km}$ 值重现性考察

### 2.3.1 不同仪器及色谱柱的影响

取“1.3.2”项下的混合对照品溶液,分别精密吸取 10  $\mu\text{L}$ ,分别使用三根 Symmetry<sup>®</sup> C<sub>18</sub>250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$  的色谱柱,在 Agilent 1260 高效液相色谱仪和 Agilent 1200 高效液相色谱仪上进样检测,求算以绿原酸和木犀草苷作为参照成分时,有机酸类和黄酮类 8 个成分的  $f_{km}$  值 1.23、0.88、0.97、0.93、1.17、1.07、2.45 和 1.05, RSD 平均值为 3.3%、2.8%、3.2%、3.1%、3.2%、2.5%、3.0% 和 2.5%。结果说明  $f_{km}$  值在使用同型号仪器和色谱柱时的耐用性良好。

### 2.3.2 不同流速的影响

用 Agilent 1260 高效液相色谱仪,分别在 0.95、1.00、1.05 mL/min 的体积流量下测定,求算以绿原酸和木犀草苷作为参照成分时,有机酸类和黄酮类 8 个成分的  $f_{km}$  值 1.24、0.86、0.96、0.95、1.18、1.08、2.46 和 1.03, RSD 平均值为 3.0%、2.9%、3.1%、2.0%、2.2%、2.8%、2.9% 和 2.4%。结果表明在同一台高效液相色谱仪上,体积流量变化  $f_{km}$  值的影响不显著。

### 2.3.3 不同柱温的影响

用 Agilent 1260 高效液相色谱仪,分别在柱温为 30、35、40  $^{\circ}\text{C}$  的条件下测定,求算以绿原酸和木犀

草苷作为参照成分时,有机酸类和黄酮类 8 个成分的  $f_{km}$  值 1.23、0.87、0.98、0.95、1.18、1.06、2.44 和 1.06, RSD 平均值为 2.6%、2.4%、3.4%、3.7%、2.8%、2.9%、3.1% 和 3.3%。结果表明在同一台高效液相色谱仪上,柱温的变化对  $f_{km}$  值的影响不显著。

## 2.4 水分和总灰分

按照 2020 年版中国药典的第四部通则 0832 第二法检测菊花样品水分含量。结果显示 6 大品系 61 个单株菊花样品的水分含量在 7.860% ~ 12.253% 之间,平均含水量 10.183%,均低于 15%,符合《中国药典》规定;按照通则 2302 测定菊花样品总

灰分含量,其结果在 5.793% ~ 12.780% 之间,平均总灰分含量 8.163%,《中国药典》未规定标准。

## 2.5 聚类分析

本文以菊花的异绿原酸 A、新绿原酸、异绿原酸 B、绿原酸、异绿原酸 C、隐绿原酸、金合欢素、大波斯菊苷、木犀草素、木犀草苷及总灰分含量数据为变量,通过 SPSS26.0 软件,在组间联接法基础上,以平方欧式距离为依据进行系统聚类分析,获得不同菊花样品的树状聚类图。由图 3 可知,当平方欧氏距离 5 时,被分为五类,其中怀菊品系为一类,亲缘相近其他杭菊品系根据各成分含量特点被分为四类。

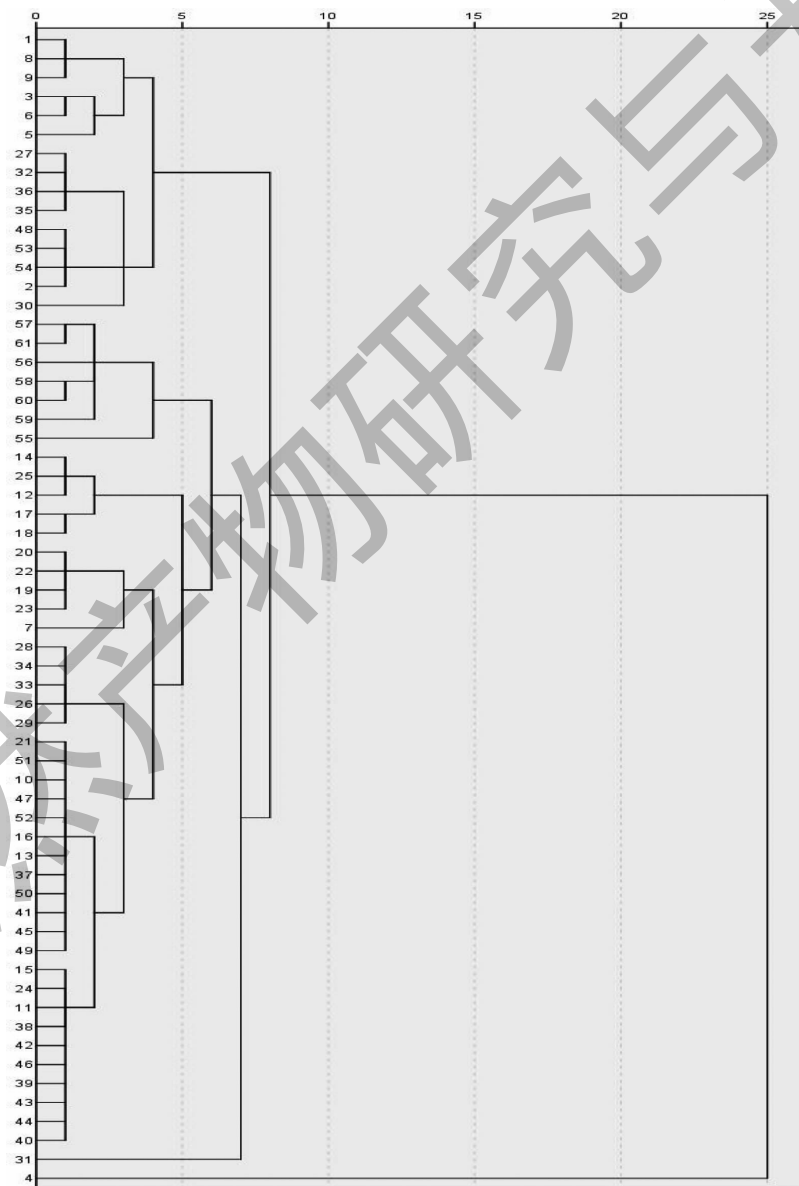


图 3 菊花样品聚类分析图

Fig. 3 Cluster analysis of chrysanthemum samples



聚类结果与实际分类相符。

聚类分析结果可将 61 个单株分为 5 大类,怀菊(hj-1-1)被分为一类,其有机酸类含量都很低,综合得分也最低,品质最差,这可能由于怀菊花是重庆引种品种,不适合在重庆种植生产;阳菊品系(yj-8-21)被分为一类,其总灰分含量最高。总灰分是体现金属微量元素对品种质量的影响。微量元素与中药药效物质基础和归经有着紧密的联系,其含量小,但功能作用大,影响菊花品质的重要因素之一。因此,可能此单株有些微量金属元素含量或盐类含量普遍高于其他单株;大多数云阳品系和阳菊品系种被分为一类;综合得分排在后 25% 的大概分为一类,其中大多数单株的绿原酸、木犀草苷含量低于药典规定的标准;云阳品系(yy-2-19、yy-2-20、yy-3-21~yy-3-25)被分为一类,其大多是有机酸类成分含量非常接近。

## 2.6 主成分分析

主成分分析(principal component analysis,PCA)是通过改变数据集的特征数量,简化数据,同时尽可

能地保留信息,快速实现数据的可视化识别的一种多元统计分析方法。首先,对原始数据用 SPSS26.0 进行标准化,再进行巴特利特球形度检验和 KMO 检验,发现  $P < 0.01$ ,表明该批菊花数据可进行主成分分析。以 10 种化学成分及总灰分含量作为变量,以特征值大于 1 及累计贡献率作为判断依据,选出三个主成分,详细结果见表 6、表 7。由表可见,前三个主成分累计贡献率达到 79.066%,具有较强的代表性,既可以用于菊花内在质量的评价,又可以作为菊花选优品种的重要指标。其中,第一个主成分特征值 6.117 和方差贡献率 55.608%,主要反映该主成分信息的载荷较高成分有异绿原酸 A、绿原酸、异绿原酸 B、新绿原酸、异绿原酸 C 木犀草苷、隐绿原酸等;第二个主成分的特征值 1.461 和方差贡献率 13.281%,载荷较高的只有大波斯菊苷;第三个主成分的特征值 1.119 和方差贡献率 10.177%,载荷较高的主要反映该主成分信息的成分有木犀草素和总灰分。

表 6 主成分分析

Table 6 Principal component analysis

成分 Component	总计 Total	方差百分比 Variance percentage(%)	累计 Accumulation(%)
1	6.117	55.608	55.608
2	1.461	13.281	68.889
3	1.119	10.177	79.066
4	0.894	8.127	87.193
5	0.702	6.381	93.574
6	0.304	2.764	96.337
7	0.184	1.672	98.009
8	0.134	1.222	99.231
9	0.046	0.415	99.646
10	0.023	0.212	99.858
11	0.016	0.142	100.000

根据主成分矩阵和特征值可计算获得 3 个主成分 PC1、PC2、PC3 和被测指标间的回归方程(公式 1~3)。以所选主成分对应的贡献率与 3 个主成分累计贡献率的比值作为权重,再用该权重值与之相应的主成分数值相乘,从而得出不同菊花样品的综合评价得分值  $F$ (公式 4),结果见表 8,以此来综合评价不同类型菊花的品质。

$$PC1 = 0.374X_1 + 0.370X_2 + 0.379X_3 + 0.342X_4$$

$$+ 0.353X_5 + 0.363X_6 + 0.083X_7 + 0.378X_8 - 0.123X_9 - 0.156X_{10} - 0.133X_{11} \quad (1)$$

$$PC2 = -0.139X_1 - 0.097X_2 - 0.199X_3 + 0.280X_4 + 0.077X_5 + 0.031X_6 + 0.737X_7 - 0.110X_8 - 0.036X_9 - 0.363X_{10} + 0.397X_{11} \quad (2)$$

$$PC3 = 0.207X_1 + 0.246X_2 - 0.047X_3 - 0.152X_4 + 0.086X_5 + 0.252X_6 - 0.173X_7 - 0.142X_8 + 0.699X_9 - 0.014X_{10} + 0.512X_{11} \quad (3)$$

表 7 主成分因子载荷矩阵

Table 7 Loading matrix of principal component factor

成分 Component	主成分 Principal component		
	1	2	3
新绿原酸 Neochlorogenic acid	0.924	-0.168	0.219
绿原酸 Chlorogenic acid	0.915	-0.117	0.260
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	0.937	-0.240	-0.050
木犀草苷 Cynaroside	0.845	0.338	-0.161
异绿原酸 B Isochlorogenic acid B	0.873	0.093	0.091
异绿原酸 A Isochlorogenic acid A	0.897	0.038	0.267
大波斯菊苷 Apigenin	0.206	0.891	-0.183
异绿原酸 C Isochlorogenic acid C	0.934	-0.133	-0.150
木犀草素 Luteolin	-0.305	-0.044	0.739
金合欢素 Acacetin	-0.387	-0.439	-0.015
总灰分 Total ash content	-0.329	0.480	0.542

$$F = 0.703PC1 + 0.168PC2 + 0.129PC3 \quad (4)$$

上式中  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、…… $X_{11}$  分别表示新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、大波斯菊苷、异绿原酸 C、木犀草素、金合欢素、总灰分。由表 8 可知,综合得分越高,排名越靠前,品质越好;综合得分排名前三菊花单株分别是阳菊品系(yj-2-4、yj-3-7、yj-6-15),品质最好。此三个

单株含有有机酸量普遍高于其他单株,黄酮类含量分散较广,总灰分含量无显著差别,这说明此三个单株适宜重庆的生长环境;综合得分排名后三单株分别是小洋菊(xy-1-1)、杭白菊(hb-1-1)、怀菊(hj-1-1),品质最差,此三个单株有机酸、木犀草苷、大波斯菊苷含量较低,这说明此三个单株不适宜在重庆生长。

表 8 菊花 11 个指标综合得分及排名

Table 8 Comprehensive score and ranking of 11 indicators of chrysanthemum

编号 No.	综合得分 Comprehensive score	排名 Ranking	编号 No.	综合得分 Comprehensive score	排名 Ranking
hb-1-1	-3.67	60	yj-8-22	-1.77	51
hb-1-2	-2	53	yj-8-23	1.55	8
hb-1-3	-2.48	56	yj-8-24	1.21	18
hj-1-1	-5.01	61	yj-8-25	-0.54	45
xh-1-1	-2.35	54	yj-8-26	-1.22	47
xh-1-2	-2.41	55	yy-1-1	0.51	26
xh-1-3	-0.08	37	yy-1-2	1.06	19
xy-1-1	-3.62	59	yy-1-3	1.54	9
xy-1-2	-3.38	58	yy-1-4	1.43	10
xy-1-3	-0.16	39	yy-1-5	0.72	23
yj-1-1	0.8	21	yy-1-6	1.24	17
yj-1-2	2.65	4	yy-1-7	1.39	12
yj-2-3	-0.03	34	yy-1-8	1.42	11
yj-2-4	3.34	2	yy-1-9	-0.01	33
yj-2-5	1.61	7	yy-1-10	1.34	13

续表 8 (Continued Tab. 8)

编号 No.	综合得分 Comprehensive score	排名 Ranking	编号 No.	综合得分 Comprehensive score	排名 Ranking
yj-3-6	0.44	28	yy-2-11	0.1	31
yj-3-7	2.71	3	yy-2-12	-1.8	52
yj-3-8	2.51	5	yy-2-13	-0.07	35
yj-3-9	-0.1	38	yy-2-14	0.78	22
yj-4-10	0.49	27	yy-2-15	-0.07	36
yj-5-11	-0.53	44	yy-2-16	0.1	32
yj-5-12	0.23	29	yy-2-17	-1.71	50
yj-5-13	-0.28	41	yy-2-18	-1.49	49
yj-6-14	1.83	6	yy-2-19	1.31	14
yj-6-15	3.47	1	yy-2-20	-1.42	48
yj-6-16	0.64	25	yy-3-21	0.16	30
yj-7-17	-1.01	46	yy-3-22	-0.25	40
yj-7-18	1.26	16	yy-3-23	0.68	24
yj-7-19	1.04	20	yy-3-24	-0.38	43
yj-8-20	-2.7	57	yy-3-25	-0.32	42
yj-8-21	1.29	15			

通过主成分分析拟合出 3 个主成分,第一主成分主要反映有机酸类对菊花质量的影响;第二主成分反映大波斯菊苷对菊花质量的影响;第三主成分反应总灰分、黄酮类含量对菊花质量的影响。此基础上结合综合评价法选出了品质最佳的三个单株,分别是阳菊品系(yj-2-4、yj-3-7、yj-6-15),其特点是茎秆直立,花小,白色,有机酸类成分含量均高于其他单株,木犀草苷含量比要规定的标准高于 10~13 倍,总灰分和水分含量无明显特征。

### 3 讨论与结论

本实验以不同浓度比例的磷酸水和乙腈作为流动相,对菊花 10 种化学成分色谱峰的峰形、保留时间、分离度及基线平稳等因素进行对比分析,最终选择峰对称性更好,基线更平稳,分离效果更佳的流动相系统即乙腈-0.4% 磷酸水溶,其效果优于药典规定的乙腈-0.1% 磷酸水溶流动相系统。通过扫描 200~400 nm 波段,发现有机酸类在 320~335 nm 之间紫外吸收较强且集中,黄酮类在 330~360 nm 之间紫外吸收较强且集中;绿原酸、新绿原酸、异绿原酸 A 等最强紫外吸收波长接近 328 nm,木犀草苷、大波斯菊苷、木犀草素等最强紫外吸收波长都接近 348 nm,且在两个波长两类物质峰面积差距较大。因此,为了含量结果的准确性,本实验选择了

328 nm,348 nm 波长分别检测有机酸类和黄酮类成分,避免了两类物质因同一个波长检测而出现的误差。

实验选用加热回流和超声辅助提取方法对样品进行提取,选用 50% 甲醇、75% 甲醇及纯甲醇对样品进行不同时长的提取,最终综合对比不同提取方法的提取效果、操作难易程度、时间效率,确定最优的前期处理方法即用 70% 甲醇水溶液在 60℃ 下超声波处理 45 min,该方法既显著改善了提取的效果及准确度,又减少了繁琐的实验流程。

综上,本文研究建立以 HPLC 运用一测多评同时测定菊花 10 种化学成分含量的方法。研究以绿原酸,木犀草苷为内标参照物,依据相对校正因子对 61 个菊花单株 10 个成分含量进行测定,与外标法结果无显著差异。结果表明:该方法高效、便捷、准确可行,其结果与传统含量测定结果基本相同;同时采用聚类分析和主成分分析法,制定菊花品质综合评定方法,初步筛选出了品质最佳并适宜在重庆生长的三个优良单株,分别为阳菊品系(yj-2-4、yj-3-7、yj-6-15)。为下一步新品种选育提供了实验数据,同时为渝产药用菊花内在质量的全面控制和综合评价提供了新的方法。为菊花的品种选育及质量评价提供科学依据。

## 参考文献

- 1 Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 323-324.
- 2 Zhou HP, Ren MX, Guan JQ, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Chrysanthemum morifolium* and predictive analysis on quality markers[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50: 4785-4795.
- 3 Tian XH. Pharmacological analysis of different chrysanthemum[J]. Chin J Mod Drug Appl(中国现代药物应用), 2015, 9: 212-213.
- 4 Zhang LJ, Zhang HB, Tu WQ, et al. Experimental study on antihypertensive effects and mechanisms of total flavonoids of Flos Chrysanthemi on spontaneous hypertension rats[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2015, 27: 592-597.
- 5 Gong J, Chu B, Gong L, et al. Comparison of phenolic compounds and the antioxidant activities of fifteen *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. 'Hangbaiju' in China[J]. Antioxidants, 2019, 8: 325.
- 6 Li JM, Li HQ, Hu SX. Investigation on types of *Chrysanthemum morifolium* [J]. Chin Mod Med(中国当代医药), 2016, 23: 93-96.
- 7 Wang T, Zhu ZB, Guo QS, et al. Variation in major flavonoids glycosides and caffeoylquinic acids during florescence of three *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. "Hangju" genotypes[J]. Biochem Syst Ecol, 2013, 47: 74-79.
- 8 Guo QS, He XY, Liu L, et al. Study on selective breeding of medicinal *Chrysanthemum morifolium* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2003, 28: 28-31.
- 9 Li JF, Jiao GS. Determination of microelements in seven kinds of traditional Chinese medicines and the analysis of relations between the microelement content and medicinal effect[J]. Chin J Spectrosc Lab(光谱实验室), 2010, 27: 1583-1585.
- 10 Wu MX, Hou SS, Zhang DX, et al. Simultaneous determination of five organic acids in *Chrysanthemum indicum* by quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2016, 38: 2423-2427.