

不同产地金银花质量评价

解世全, 王帅, 孟宪生*, 包永睿

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁省组分中药工程技术研究中心,
辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁大连 116600)

[摘要] 目的:通过对 14 个不同产地金银花药材中指标成分绿原酸、木犀草苷、总酚酸、总黄酮的含量进行测定,找出 4 个成分之间的相关性,为合理评价金银花药材质量提供参考。方法:采用 HPLC 和 UV 法测定金银花中绿原酸、木犀草苷、总酚酸和总黄酮的含量;采用相关程度分析方法对 4 种成分进行相关性分析。结果:以 4 种成分为综合考察指标,其中山东临沂产金银花药材中绿原酸、木犀草苷、总酚酸、总黄酮含量较高;通过相关性评价,判定金银花中绿原酸与总酚酸呈高度相关性,木犀草苷与总黄酮呈中度相关,绿原酸与木犀草苷呈中度相关,总酚酸与总黄酮呈中度相关。结论:通过对 14 个不同产地金银花药材指标成分评价及相关分析,为金银花药材质量的评价及合理利用提供实验数据。

[关键词] 金银花; 绿原酸; 木犀草苷; 总酚酸; 总黄酮

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)05-0080-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016050080

Quality Evaluation of *Loniceroe Japonicae* Flos From Different Regions

XIE Shi-quan, WANG Shuai, MENG Xian-sheng*, BAO Yong-ru

(School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,

Component Medicine Engineering Research Center of Liaoning Province,

Liaoning Province Modern Chinese Medicine Research and Engineering Laboratory, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** Through the content determination of chlorogenic acid, mignonette glycosides, total phenolic acid, and total flavonoid in flos *Lonicerae* from 14 different regions, to find out the correlation between the four components, and provide a reference for reasonable assessment of the quality of *Loniceroe Japonicae* Flos. **Method:** HPLC and UV method were used to determine the content of chlorogenic acid, mignonette glycosides, total phenolic acid and total flavonoid in *Loniceroe Japonicae* Flos, and correlation analysis method was used to measure their relationships. **Result:** With the content of four components as the comprehensive indicators, *Loniceroe Japonicae* Flos from Linyi in Shandong had the highest content in chlorogenic acid, mignonette glycosides, total phenolic acid, and total flavonoid. Through correlation evaluation, chlorogenic acid and total phenolic acid in *Loniceroe Japonicae* Flos were highly correlated; mignonette glycosides and total flavonoid were moderately correlated; chlorogenic acid and mignonette glycosides were moderately co-related; total phenolic acid and flavonoids were moderately correlated. **Conclusion:** The evaluation of index components and related analysis of *Loniceroe Japonicae* Flos from 14 different origins provide experimental data for quality evaluation and rational utilization of *Loniceroe Japonicae* Flos.

[Key words] *Loniceroe Japonicae* Flos; chlorogenic acid; mignonette glycosides; total phenolic acids; total flavonoids

[收稿日期] 20150914(014)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09507005-004)

[第一作者] 解世全, 实验师, 从事药物分析研究, Tel:0411-85890176, E-mail:476610364@qq.com

[通讯作者] * 孟宪生, 教授, 博士, 从事中药药效物质和作用机制研究, Tel:0411-85890185, E-mail:mxsvvv@126.com

金银花^[1]商品的植物来源十分复杂。《中国植物志》所记载的忍冬科植物在我国有 98 种,广泛分布于我国各省区,其中以西南部最多,习用品种多达 47 种,以花蕾作为金银花药材商品的大约有 18 种^[2-4]。金银花广泛的物种资源分布,全国各地习用品种不尽相同,致使金银花的使用混乱^[5],不同产地的金银花质量均有差异。

本文在前期药理实验及文献报道的基础上^[6-8],采用 HPLC 和 UV 法,对药效成分有机酸和黄酮类,指标成分绿原酸和木犀草苷分别进行测定,并开展其指标成分相关性分析,建立金银花质量评价标准,为全面、客观评价金银花质量提供试验依据。

1 材料

14 个不同产地的金银花样品来源为山东平邑 1,山东平邑 2,山东平邑 3,山东泰安,山东沂蒙,山东临沂,江西玉山,江西上饶,河南辉县,四川神农架,浙江磐安,浙江丽水,湖北随州大洪山 1,湖北随州大洪山 2。经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* 的干燥花蕾或带初开的花。木犀草苷、绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 120913,110753-200413)。1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦),UV-1750 型紫外-可见分光光度计(日本岛津),PCWJ-10 型超纯水机(成都品成科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 绿原酸、木犀草苷的 HPLC 含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent CT-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.5% 乙酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 60 min, 3% ~ 35% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 327, 350 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 5 μL。

2.1.2 对照品溶液制备^[9-10] 精密称取绿原酸对照品适量,加 50% 甲醇制成每 1 mL 含绿原酸 0.412 mg 的溶液;另精密称取木犀草苷对照品适量,加 70% 的甲醇制成每 1 mL 含 0.043 5 mg 的溶液,摇匀,即得。

2.1.3 供试品溶液制备 精密称取不同产地金银花粉末(过四号筛)约 0.1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声提取(功率 200 W,频率 40 kHz)40 min,放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足缺失的质量,过滤,取续滤液,即得。

2.1.4 线性关系考察 分别精密量取混合对照品

溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 5.0 mL 至 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,制得系列对照品溶液。以进样量为横坐标 X,峰面积为纵坐标 Y,绘制标准曲线并进行回归计算,结果绿原酸、木犀草苷的回归方程分别为 $Y = 1.658 \times 10^4 X + 7.174 \times 10^3$ ($r = 0.9998$), $Y = 1.711 \times 10^4 X + 7.148 \times 10^3$ ($r = 0.9999$),表明绿原酸、木犀草苷分别在 0.103 ~ 1.030, 0.010 9 ~ 0.109 μg 呈良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验 精密量取绿原酸、木犀草苷混合对照品溶液,连续进样 6 次,分别测定峰面积,结果绿原酸、木犀草苷峰面积 RSD 分别为 1.5%, 1.7%,表明仪器精密度良好,符合有关规定。

2.1.6 稳定性试验 精密称取同一供试品溶液(06 号山东临沂),室温下放置,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 时测定,结果绿原酸、木犀草苷峰面积的 RSD 分别为 1.8%, 1.9%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.1.7 重复性试验 取同一批次(06 号山东临沂)金银花药材 6 份,每份约 0.1 g,精密称定,按 2.1.3 供试品溶液制备项下方法操作,分别测定,计算绿原酸、木犀草苷质量分数分别为 3.81% 和 0.10%, RSD 分别为 1.1%, 1.9%,表明该方法重复性良好。

2.1.8 回收率试验 取已知含量的金银花药材(06 号山东临沂)6 份,每份约 0.05 g,精密称定,分别精密加入绿原酸、木犀草苷对照品溶液适量,按 2.1.3 供试品溶液制备项下方法操作,分析测定,计算绿原酸、木犀草苷回收率分别为 99.2%, 98.9%, RSD 分别为 1.4%, 1.5%,结果表明该方法的回收率良好,符合有关规定。

2.1.9 样品测定 分别取 14 批不同产地的金银花样品约 0.1 g,精密称定,按 2.1.3 供试品溶液制备项下方法操作,在上述色谱条件下进行分析。测定结果见表 1,对照品及样品色谱图见图 1。

2.2 总酚酸、总黄酮的紫外分光光度法含量测定

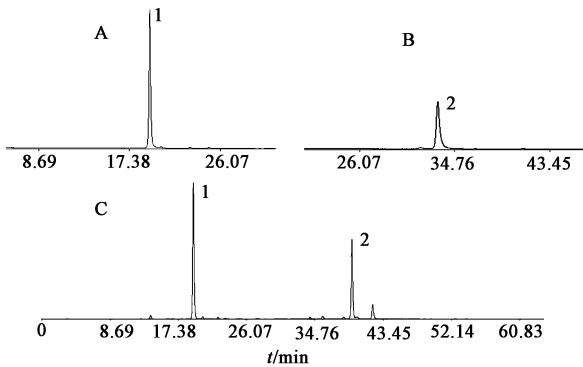
2.2.1 对照品溶液制备 精密称取绿原酸对照品适量,用 50% 的甲醇制成每 1 mL 含 0.093 6 mg 的对照品溶液;另精密称取木犀草苷对照品适量,加 70% 甲醇制成每 1 mL 含 0.158 4 mg 的木犀草苷对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取不同产地金银花药材粉末(过四号筛)约 0.1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声提取(功率 200 W,频率 40 kHz)40 min,放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足缺失的质量,过滤,取续滤

表 1 不同产地金银花药材中绿原酸、木犀草苷的含量测定

Table 1 Content of chlorogenic acid and mignonette glucoside from different regions in *Loniceroe Japonicae Flos* %

No.	绿原酸	木犀草苷	No.	绿原酸	木犀草苷
1	2.47	0.102	8	1.68	0.095
2	1.51	0.092	9	2.31	0.089
3	2.06	0.102	10	2.70	0.095
4	2.58	0.085	11	2.16	0.076
5	1.12	0.092	12	1.83	0.084
6	3.81	0.106	13	0.71	0.082
7	1.55	0.101	14	1.73	0.090



A, B. 对照品; C. 山东临沂样品 1. 绿原酸; 2. 木犀草苷

图 1 金银花 HPLC

Fig. 1 HPLC of *Loniceroe Japonicae Flos*

液, 即得。

2.2.3 检测波长的选择 将绿原酸对照品溶液和供试品溶液于 200 ~ 400 nm 进行扫描, 对照品溶液和供试品溶液在 330 nm 处均有最大吸收, 故总酚酸检测波长选择为 330 nm; 将木犀草苷对照品溶液和供试品溶液于 400 ~ 600 nm 进行扫描, 对照品溶液和供试品溶液在 510 nm 处均有最大吸收, 故总黄酮检测波长选择为 510 nm。

2.2.4 线性关系的考察 精密吸取绿原酸对照品溶液 0, 0.6, 1.2, 1.8, 2.2, 2.6 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 70% 乙醇定容, 在 330 nm 处测定; 以对照品质量浓度为横坐标 X , 吸光度为纵坐标 Y , 绘制标准曲线, 得线性回归方程为 $Y = 6.283 2X - 0.015 1$ ($r = 0.999 8$), 绿原酸在 56.16 ~ 243.36 μg 呈良好的线性关系; 精密吸取木犀草苷对照品溶液 0, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0 mL, 分别置于 10 mL 的量瓶中, 加 5% 亚硝酸钠 0.4 mL, 放置 6 min; 加入 10% 硝酸铝 0.4 mL, 放置 6 min; 再加 10% 氢氧化钠 2 mL, 加 70% 乙醇至刻度, 放置 15 min; 以对照品质量浓度为横坐标 X , 吸光度为纵坐标 Y , 绘制标准曲线, 得线性

回归方程为 $Y = 1.389 6X + 0.004 2$ ($r = 0.999 8$), 木犀草苷在 158.4 ~ 633.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取绿原酸和木犀草苷对照品溶液分别于 330, 510 nm 处测定吸光度, 连续测定 6 次, 结果 RSD 分别为 1.0%, 1.2%。

2.2.6 稳定性试验 精密称取同一供试品溶液 (06 号山东临沂), 室温下放置, 分别于 0, 10, 20, 30, 40, 50 min 测定, 结果表明, 金银花药材中总酚酸、总黄酮吸光度 RSD 分别为 0.9%, 1.0%, 表明供试品溶液在 50 min 内稳定。

2.2.7 重复性试验 精密称取金银花 (06 号山东临沂) 样品粉末 6 份, 每份约 0.1 g, 按 2.2.2 供试品溶液制备项下方法操作, 于 330, 510 nm 处测定吸光度, 计算总酚酸、总黄酮含量分别为 10.89%, 6.89%, 结果 RSD 分别为 1.0%, 0.8%, 说明该方法重复性良好。

2.2.8 样品含量测定 取不同产地金银花药材, 按 2.2.2 供试品溶液制备项下方法操作, 按 2.2.4 项下显色, 分别在 330, 510 nm 处测定吸光度, 根据标准曲线计算出金银花中总酚酸和总黄酮的含量, 结果见表 2。

表 2 不同产地金银花中总酚酸、总黄酮的含量

Table 2 Content of total phenolic acid and flavonoids from different regions in *Loniceroe Japonicae Flos* %

No.	总酚酸	总黄酮	No.	总酚酸	总黄酮
1	6.47	3.33	8	9.45	6.42
2	4.53	2.77	9	6.46	2.81
3	5.24	3.12	10	9.74	3.54
4	7.87	1.65	11	8.68	1.47
5	5.75	0.23	12	5.81	2.43
6	11.01	6.80	13	2.99	1.36
7	7.80	0.57	14	5.50	2.88

2.3 数据相关性分析 HPLC 法和 UV 法测定不同产地金银花中绿原酸、总酚酸、木犀草苷、总黄酮含量, 4 组数据的相关程度用相关系数 r 来判断, 结果见表 3。

3 讨论

采用 HPLC 法和 UV 法测定 14 个不同产地金银花中绿原酸、木犀草苷、总酚酸和总黄酮含量, 从表 1, 2 可以看出, 绿原酸和木犀草含量、总酚酸和总黄酮含量均为山东临沂产地最高, 综合评价以山东临沂产地金银花的质量最佳。

表 3 4 种指标性成分相关系数 r

Table 3 Correlation coefficient r values of four indexes components

	绿原酸(HPLC)	总酚酸(UV)	木犀草苷(HPLC)	总黄酮(UV)
绿原酸(HPLC)	1.000 0	0.744 7 ³⁾	0.401 3 ²⁾	0.594 2 ²⁾
总酚酸(UV)	0.744 7 ³⁾	1.000 0	0.307 7 ¹⁾	0.552 1 ²⁾
木犀草苷(HPLC)	0.401 3 ²⁾	0.307 7 ¹⁾	1.000 0	0.485 7 ²⁾
总黄酮(UV)	0.594 2 ²⁾	0.552 1 ²⁾	0.485 7 ²⁾	1.000 0

注:按照 r 相关程度判定¹⁾ $|r| < 0.4$, 低度相关;²⁾ $0.4 \leq |r| < 0.7$, 中度相关;³⁾ $0.7 \leq |r| < 1$, 高度相关。

从相关性分析表 3 中可知,金银花中绿原酸与总酚酸的相关系数为 0.744 7,呈显著高度相关;绿原酸与木犀草苷的相关系数为 0.401 3,呈中度相关;绿原酸与总黄酮的相关系数为 0.594 2,呈中度相关;木犀草苷与总黄酮的相关系数为 0.485 7,呈中度相关;总酚酸与总黄酮的相关系数为 0.552 1,呈中度相关。从 4 种指标成分相关性分析来看,绿原酸与总酚酸在同一药材中呈正相关性,绿原酸能够在一定程度上代表总酚酸的含量,其被选为《中国药典》总酚酸的评价指标成分,具有一定科学性;木犀草苷与总黄酮呈中度相关性,其可以作为总黄酮的评价指标成分,其代表作用不明显;总酚酸与总黄酮呈中度相关性,表明其内在化学成分相互依存,可能存在相关转化的特性。

由结果可知 6 份山东产地的金银花样品中的绿原酸、木犀草苷、总酚酸和总黄酮含量各不相同,可能药材是金银花的同属变种,也可能是金银花药材生长环境、加工技术、干燥方法、施肥方式等影响^[11-15]。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:205.
 [2] 王家葵. 中药材品种沿革及道地性[M]. 北京:中国医药科技出版社,2007:254.
 [3] 康廷国. 中药鉴定学[M]. 北京:中国中医药出版社,2011:295.

[4] 张贵君. 中药商品学[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:195.
 [5] 李萍,邢俊波. 中药道地性的系统研究[C]. 大连:全国第四届天然药物资源学术研讨会,2000.
 [6] 崔春雨,刘志平,周敏,等. 金银花成分的研究[J]. 广西大学学报:自然科学版,2012,37(3):530-533.
 [7] 黄西峰. 金银花的研究概况及展望[J]. 中国中药杂志,1997,22(4):247-249.
 [8] 赵金娟,管仁伟,路俊仙,等. HPLC 测定不同品种金银花及叶中木犀草苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(6):103-106.
 [9] 辛华,丰杰,程若敏,等. HPLC 测定不同产地金银花中绿原酸和木犀草苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):60-63.
 [10] 冯煜. 对不同产地金银花原药材质量的研究[J]. 现代中药研究与实践,2010,24(6):34-35.
 [11] 石俊英,张会敏. 金银花不同品种产地与采收期样品绿原酸和木犀草苷的含量测定[J]. 山东中医药大学学报,2007,31(3):247-249.
 [12] 郑欣荣. 浅谈金银花的鉴别与质量控制[J]. 山西中医,2004,20(4):50.
 [13] 李娟,杨俊杰. 金银花产地加工方法初探[J]. 信阳农业高等专科学校学报,2011,21(3):114-116.
 [14] 赵君峰,张彬,张红梅,等. 不同产地金银花中绿原酸及木犀草苷的快速检测[J]. 安徽农业科学,2015,43(15):61-62,65.
 [15] 刘琪. 金银花化学成分及药理作用分析[J]. 科技创新与应用,2012(4):45.

[责任编辑 顾雪竹]