

河北产不同等级金银花药材脂溶性成分的 GC-MS 分析

张芳, 张永清*, 马燕, 王斌
(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

[摘要] 目的: 比较河北产不同等级金银花脂溶性成分组成。方法: 采用超临界萃取法提取金银花脂溶性成分, 并用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术分析脂溶性成分组成。结果: 河北产金银花脂溶性成分种类丰富, 一等品分离出 57 个成分, 二等品分离出 48 个成分, 三等品分离出 47 个成分。所含成分种类包括烃类、醇类、酯类、不饱和脂肪酸类、烯类、酮类、醛类等成分; 其中, 3 批样品共有组分 12 种, 均以正二十九烷相对百分含量最高, 含量分别为 31.345%, 30.642%, 37.647%。结论: 河北产不同等级金银花脂溶性成分存在一定差异。

[关键词] 金银花; 脂溶性成分; GC-MS; 不同等级

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0057-04

[doi] 10.11653/syfy2013110057

GC-MS Analysis of Liposoluble Content of Different Levels Lonicerae Japonica Flos in Hebei

ZHANG Fang, ZHANG Yong-qing*, MA Yan, WANG Bin

(College of Pharmacology of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[收稿日期] 20121101(014)

[基金项目] 国家“十二五”科技支撑项目(2011BAI06B01)

[第一作者] 张芳, 讲师, 博士, 从事中药质量控制及资源研究, E-mail: zfang_819@163.com

[通讯作者] * 张永清, 教授, 博士生导师, 从事中药资源及其质量控制研究, E-mail: zyxq622003@126.com

按《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求》^[6]采用 HPLC 对银翘解毒软胶囊中非挥发性成分指纹图谱及技术参数进行研究, 取得了较满意的结果, 标定了 14 个共有峰。同时方法学考察其精密度、稳定性、重复性均良好, 表明所建立的 HPLC 指纹图谱方法可行。运用指纹图谱相似度软件对银翘解毒软胶囊 HPLC 指纹图谱进行了相似度计算, 结果 10 批不同批次软胶囊的指纹图谱具有较好相似度, 表明各批次样品的成分无明显差异, 为客观评价软胶囊质量提供一定依据。

3 讨论

中药复方是多味药、多组分、多因素构成的复杂体系, 其化学成分的复杂性和多样性是其疗效的物质基础。目前对银翘解毒软胶囊的质量标准的研究多集中在绿原酸的含量测定上, 为了更全面地控制银翘解毒软胶囊的质量, 本研究选择了以绿原酸等几个共有峰为代表, 建立了银翘解毒软胶囊的指纹图谱, 经初步验证能够用来控制本品的质量, 确保产

品批次间的稳定性、均一性, 从而为银翘解毒软胶囊制备工艺稳定性提供重要依据。

[参考文献]

- [1] 陈坚. HPLC 法测定银翘解毒软胶囊中绿原酸含量[J]. 首都医药, 1999, 6(4): 23.
- [2] 谢培山. 中药色谱指纹图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 10.
- [3] 颜月园, 萧伟, 吴云, 等. 散结镇痛胶囊中黄酮类成分的指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 58.
- [4] 屠鹏飞. 中药指纹图谱指定的方法学探讨[C]. 广州: 现代化中药产业关键技术系列研讨会—国际色谱指纹评价中药质量研讨会, 2001.
- [5] 蔡宝昌. 中药制剂分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007: 10.
- [6] 国家药品监督管理局. 中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)[J]. 中成药, 2000, 22(10): 671.

[责任编辑 仝燕]

[Abstract] Objective: To compare the chemical constituents of the liposoluble content among different levels *Lonicerae Japonica Flos* in Hebei. **Method:** The liposoluble constituents were extracted by CO₂ supercritical extraction and the chemical constituents were analyzed by GC-MS. **Result:** The *Lonicerae japonica flos* in Hebei was rich in liposoluble content that first-class has 57 varieties, second-class has 48 varieties and the third has 47 varieties. The essential components were hydrocarbons, alcohols, esters, unsaturated fatty acid, alkenes, ketones, aldehydes. The 12 kinds of constituents were same in three samples and of them the content of nonacosane was the highest with 31.345%, 30.642%, 37.64%. **Conclusion:** There are many differences in liposoluble content among different levels of *Lonicerae Japonica Flos*.

[Key words] *Lonicerae Japonica Flos*; liposoluble content; GC-MS analysis; different levels

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花^[1], 具有清热解毒, 疏散风热的功效, 是中医临床最常应用的药物之一。金银花道地产区为山东平邑和河南封丘^[2], 此外, 河北巨鹿也有近 40 年的栽培历史, 且栽培面积大, 已发展成为金银花主产区之一。

金银花化学成分复杂, 含挥发油类、酚酸类、黄酮类、皂苷类等多种成分^[3-4], 其中绿原酸与木犀草苷是《中国药典》(2010 年版) 规定的金银花质量控制的指标成分。查阅近几年国内外文献, 对金银花的现有质量研究中, 对其有效成分含量及指纹图谱研究较多^[5-9], 而对其脂溶性成分的研究涉及较少。但研究认为金银花的脂溶性成分也具有一定的药理活性, 如郭承军等^[10]在体外抗病毒实验中发现用石油醚提取的金银花脂溶性成分抗病毒活性最为显著, 因此脂溶性成分应该是金银花成分研究中不可忽视的一部分。本研究以河北巨鹿产的 3 批不同等级的金银花药材为材料, 对其脂溶性成分采用超临界 CO₂ 萃取技术进行萃取, 并采用 GC-MS 技术对成分进行分析, 旨在对河北产不同等级金银花商品脂溶性成分组成差异与否及差异大小进行评价, 并为不同等级金银花质量评价提供参考依据。

1 材料

Speed-SFE 超临界萃取仪(美国应用分离公司), GC6890N/59751 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司), 正己烷(AR 级, 天津市广成化学试剂广成化学试剂有限公司)

不同等级金银花商品购自河北吉乐农业科技有限公司, 样品均经山东中医药大学张永清教授鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾。样品编号及信息见表 1。

表 1 样品编号及信息

No.	加工方法	等级	样品性状
11061802	机械烘干	一级	呈棒状, 淡绿色, 密生短茸毛, 气清香, 味淡, 微苦
11061803	机械烘干	二级	呈棒状, 淡绿色至黄白色, 偶见开放花, 其余同上
11061804	机械烘干	三级	呈棒状, 黄白色, 偶见开放花, 其余同上

2 方法

2.1 超临界萃取 将各金银花样品粉碎, 过 40 目筛, 称取 30.0 g, 置于萃取釜中, 萃取温度 45 °C, CO₂ 流量 2 L·min⁻¹, 压力 25 MPa, 动态萃取 30 min。3 批样品萃取率(萃取物质量/药材质量 × 100%) 分别为 1.48%, 1.47%, 2.02%。

2.2 GC-MS 条件
2.2.1 色谱条件 Agilent 19091S-433 毛细管柱 5% Phenyl Methyl Siloxane (250.0 μm × 30.0 m, 0.25 μm), 额定内径; 载气氦气, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为程序升温(初始温度为 80 °C, 以 10 °C·min⁻¹ 升温至 150 °C, 以 4 °C·min⁻¹ 升温至 210 °C, 保持 3 min, 以 3 °C·min⁻¹ 升温至 230 °C, 保持 3 min, 以 3 °C·min⁻¹ 升温至 280 °C, 保持 15 min)。进样量 1.0 mL, 分流比 10:1。

2.2.2 质谱条件 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 °C, 四级杆温度 150 °C, 检测电压 350 V, 扫描范围 *m/z* 50 ~ 550。以峰面积归一化法计算各种成分的相对百分含量。

3 结果

按照上述 GC-MS 条件对样品进行分析, 获得金银花脂溶性成分的 GC-MS 图谱, 见图 1。各色谱峰经碎片解析以及查阅 NIST2.0 质谱库进行定性分析, 采用校正的峰面积归一化法分析得出各样品各组分的相对百分含量, 结果见表 2。

表 2 河北产不同等级金银花脂溶性成分比较

No.	名称	相对分子质量	批号		
			11061802	11061803	11061804
1	顺式 7,10-十六烯醛	236.214	0.19		
2	苯甲酸苄酯	212.084	0.134		
3	6,10-二甲基-2-十一烷酮	198.198	0.191		
4	邻苯二甲酸,2-环己乙基丁酯	332.199	0.23		
5	十七烷酮	254.261	0.427	0.654	0.868
6	棕榈酸甲酯	270.256	0.922	0.757	0.957
7	邻苯二甲酸二丁酯	278.152	0.555	0.521	0.501
8	(Z)-9,17-十八碳二烯醛				0.216
9	亚油酸甲酯	294.256	1.314	0.772	1.12
10	亚麻酸甲酯	292.24	1.262	1.101	1.349
11	反油酸	282.256	0.181	0.157	0.5
12	油酸、十八烯酸	282.256	0.710	0.137	
13	亚油酸	280.24	0.281	0.412	0.154
14	正二十一烷	296.344			0.841
15	2-辛基环丙基辛醛	280.277			0.479
16	(E)-9,17-十八碳二烯醛	264.245	0.219		
17	3-甲基正十七烷	254.297	1.215		
18	正二十四烷	338.391	0.443	0.36	0.348
19	二十五烷				2.034
20	二十二酸甲酯	354.35			0.19
21	十八碳 6-烯酸	282.256			0.251
22	1,9-十四烷二烯	194.203	0.268		
23	正十七烷	240.282	2.542	1.024	
24	正二十烷	282.329	0.27	4.577	0.205
25	正十八烷			0.257	
26	1-十九碳烯	266.297		1.092	
27	环二十四烷	336.376	1.372		1.51
28	正二十七烷	380.438	6.917	6.324	6.994
29	二十四酸甲酯/木蜡酸甲酯	382.381	1.698	1.795	2.786
30	二十二烷	310.36			1.645
31	1-环己基壬烯	208.219			0.289
32	顺/反-10-二十一碳烯	294.329	0.342		
33	正三十五烷	492.563	1.102		
34	反式角鲨烯	410.391	0.457	0.358	
35	Z,Z-3,13-十八碳二烯醇	266.261	0.327		
36	正二十九烷	408.47	31.345	30.642	37.647
37	二十五烷酸甲酯	396.397			1.198
38	棕榈酸十四烷醇酯	452.459		1.761	
39	壬基环丙基十一醛	336.339		1.834	
40	正二十六烷	366.423		9.524	
41	正二十三烷	324.376	0.61		0.749
42	碘十六烷	352.163			10.295
43	二十八烷	394.454	9.844		
44	菜油甾醇	400.371	2.309		
45	豆甾醇	412.371	1.42		
46	22,23-二氢豆甾醇	414.386	7.003	6.188	

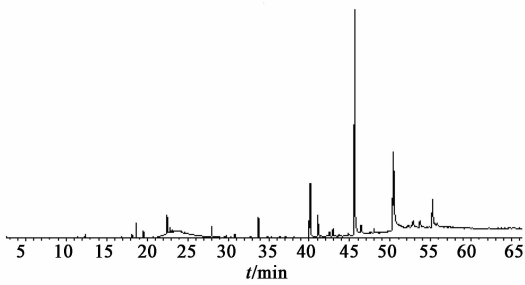


图 1 河北产金银花脂溶性成分 GC-MS 分析总离子流色谱

样品 11061802 分离出 59 种成分, 鉴定出 32 种成分, 占总组分的 76.101%。其中, 10 种烃类化合物, 占脂溶性成分的 55.661%, 4 种醇类化合物(包括甾醇), 占脂溶性成分的 11.059%; 7 种酯类化合物, 占脂溶性成分的 6.115%; 其次为不饱和和脂肪酸类(1.172%), 分别为油酸、反油酸、亚油酸, 烯类成分占 1.067%, 酮类成分(0.618%) 2 种, 分别为十七烷酮和 6, 10-二甲基-2-十一烷酮, 醛类成分占 0.409%。

样品 11061803 共分离出 48 种成分, 鉴定出 21 种成分, 占总组分的 70.247%。其中, 7 种烃类化合物, 占脂溶性成分的 52.708%; 6 种酯类化合物, 占脂溶性成分的 6.707%; 2 种烯类化合物(占 1.450%), 分别为 1-十九碳烯和反式角鲨烯; 3 种不饱和和脂肪酸类化合物, 占脂溶性成分的 0.706%, 分别为油酸、反油酸、亚油酸; 其次, 含 1 种醇类化合物, 1 种醛类化合物, 1 种酮类化合物, 各约占 6.188%, 1.834%, 0.654%。

样品 11061804 共分离出 47 种成分, 鉴定出 24 种成分, 占总组分的 73.126%。其中, 10 种烃类化合物, 占脂溶性成分的 62.268%, 7 种酯类化合物, 占脂溶性成分的 8.101%; 3 种脂肪酸类化合物, 分别为反油酸、亚油酸、十八碳 6-烯酸, 占脂溶性成分的 0.905%; 2 种醛类化合物, 占脂溶性成分的 0.695%; 1 种酮类化合物, 1 种烯类化合物, 各占 0.868%, 0.289%。

4 讨论

河北产金银花脂溶性成分种类丰富, 其中, 一等品分离出 59 种成分, 二等品分离出 48 种成分, 三等品分离出 47 种成分。所含成分种类包括了烃类、醇类、酯类、不饱和脂肪酸类、烯类、酮类、醛类等成分; 其中, 3 批样品共有组分 12 种, 均以正二十九烷相对百分含量最高, 样品 11061802 中的含量为 31.345%, 样品 11061803 的含量为 30.642%, 样品 11061804 的含量为 37.647%。

[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] 庞瑞. 金银花有效成分的药理学研究进展[J]. 陕西中医学院学报, 2011, 34(3):77.
- [3] 石钺, 石任兵, 陆蕴如, 等. 我国药用金银花资源、化学成分及药理研究进展[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(11):724.
- [4] 李亚荣, 杨沛霖. 金银花有效成分检测方法研究进展[J]. 西部中医药, 2012, 25(6):109.
- [5] 邵林, 郭庆梅, 冉蓉, 等. 山东不同栽培品种金银花 HPLC 指纹图谱的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19):117.
- [6] 秦双双, 袁媛, 胡国强, 等. 金银花及其变种有效成分含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15):81.
- [7] 辛华, 丰洁, 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.
- [8] 杨晓芸, 肖潇, 熊吟, 等. 金银花颜色与有效成分含量的相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17):92.
- [9] 蔡清宇, 郝特, 李曼玲, 等. 7 份不同产地金银花质量调查[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5):246.
- [10] 石俊英, 郭承军. 金银花体外抗流感病毒有效部位研究[J]. 山东中医药大学学报, 2010, 34(2):178.

[责任编辑 顾雪竹]