

# 灰毡毛忍冬花蕾中绿原酸 和咖啡酸的含量测定\*

□童巧珍\*\* 周日宝 贺又舜 曲伟红 高 进 罗目和

(湖南中医学院药学院 长沙 410004)

**摘 要：**目的：从绿原酸和咖啡酸的含量方面科学评价灰毡毛忍冬的药用价值。方法：采用高效液相色谱法比较湖南产的灰毡毛忍冬与山东省和河南省产的正品金银花的绿原酸和咖啡酸的含量。结果：湖南隆回县、溆浦县、新宁县种植的灰毡毛忍冬，河南产的密银花、山东产的济银花中绿原酸百分含量分别为  $3.967 \pm 0.2724$ 、 $2.674 \pm 0.1408$ 、 $4.514 \pm 0.0182$ 、 $2.415 \pm 0.1913$ 、 $2.104 \pm 0.1684$ ；咖啡酸的百分含量分别为  $0.0536 \pm 0.0063$ 、 $0.0424 \pm 0.0086$ 、 $0.0477 \pm 0.0033$ 、 $0.0447 \pm 0.0023$ 、 $0.0647 \pm 0.0065$ 。结论：毡毛忍冬花蕾中的绿原酸的含量远高于或略高于正品金银花；咖啡酸的含量接近或略高于正品金银花。

**关键词：**灰毡毛忍冬 绿原酸 咖啡酸 HPLC

灰毡毛忍冬 (*Lonicera macrathoides* Hands-Mazz.) 俗称拟大花忍冬，为湖南、广东、广西等地方习用品种。该种植物株形优、易采摘、花蕾大<sup>[1]</sup>、产量高、种植效益好且适应性强，易繁殖，抗病虫害和抗逆性强，深得广大药农的青睐。近十几年来，金银花市场需求

量大，价格上涨，为了满足市场需要和发展药用经济植物，增加农民收入，湖南省种植面积已超过30万亩，占湖南省家种金银花面积的90%，以隆回、新邵、邵阳、临武等县市栽种较多。绝大部分外销于广东、广西、海南等省及港、澳和东南亚市场。

化学成分的研究报道零星可见<sup>[1-3]</sup>，但有效成分和药理作用研究未见报道。本实验采用高效液相色谱法测定灰毡毛冬花蕾和正品金银花中有效化学成分绿原酸和咖啡酸的含量，现将结果报道如下。

## 一、材料与方法

### 1. 药材来源

文献记载正品金银花的研究比较详细，对灰毡毛忍冬的栽培与

收稿日期：2003-05-19

修回日期：2003-07-14

\* 湖南省科技厅“十五”重大项目(01SSY1002-5)；湖南省大宗道地药材种质资源研究；湖南省教育厅资助项目(01C236)；灰毡毛忍冬与正品金银花有效化学成分、抑菌作用及安全性的比较，负责人：贺又舜。

\*\* 联系人：童巧珍，讲师，从事药用植物资源教学与科研，Tel: 0731-5539070，E-mail: tognqzh2060@tom.com。

[ World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica ] 61

采用忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的花蕾和灰毡毛忍冬 *L. macracanthoides* Hands-Mazz. 的花蕾为供试材料。忍冬花蕾分别购于山东临沂地区平邑县(商品名金银花或东银花)金银花种植基地和河南省密县(商品名密银花或南银花)金银花种植基地,灰毡毛忍冬花蕾分别购于湖南省隆回县小沙江(以下简称隆回银花)、湖南省新宁县(以下简称新宁银花)和湖南省溆浦县(以下简称溆浦银花)金银花种植基地,由湖南中医药大学周日宝教授核定。

## 2. 仪器与试剂

AB104-N 电子天平(梅特勒-托力多有限公司);高效液相色谱仪:美国 PE 公司生产的 HPLC 仪,LC-295 紫外检测器,200 系列二元泵,南京千谱公司 HW 色谱工作站;绿原酸、咖啡酸对照品由美国 Sigma-Aldrich chemie GmbH

公司提供。

## 二、方法和结果

### 1. 色谱条件

固定相:大连江申公司,ODS 柱:250×4.6mm, 5 $\mu$  填料;流动相:乙腈-0.1%磷酸(20:80);流速:0.8ml·min<sup>-1</sup>;检波长:326nm;进样量:10 $\mu$ l;柱温:室温。

### 2. 对照品溶液的配制

精密称取减压干燥至恒重的绿原酸、咖啡酸标准品,分别加入 95% EtOH 制成 0.218mg·ml<sup>-1</sup> 0.216mg·ml<sup>-1</sup> 对照品溶液。

### 3. 标准曲线的绘制

#### 绿原酸线性关系的考察

精密称取减压干燥至恒重的绿原酸对照品 1.59mg 于 10ml 容量瓶中,加入 95% EtOH 溶解定容,制成 0.159mg·ml<sup>-1</sup> 的绿原酸溶液。分别吸取上述储备液 2.0 $\mu$ l, 4.0 $\mu$ l, 10 $\mu$ l, 20 $\mu$ l, 40 $\mu$ l 进样,得出

色谱图和峰面积积分值。按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积对进样量绘标准曲线。回归方程为  $y = 3 \times 10^6 x + 204147$ ,  $r = 0.9972$ 。表明绿原酸在 0~6.36  $\mu$ g 具有良好的线性关系。

#### 咖啡酸线性关系的考察

精密称取减压干燥至恒重的咖啡酸对照品 2.16mg 于 100ml 容量瓶中,加入 95% EtOH 溶解定容,制成 0.0216mg·ml<sup>-1</sup> 的咖啡酸溶液。分别吸取上述储备液 2.5 $\mu$ l, 5.0 $\mu$ l, 10 $\mu$ l, 20 $\mu$ l 进样,得出色谱图和峰面积积分值。按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积对进样量绘制标准曲线。回归方程为  $y = 200492x + 23438$ ,  $r = 0.9933$ ,表明咖啡酸在 0~0.432 $\mu$ g 具有良好的线性关系。

### 4. 重复性试验

将同一样品进行 5 次平行实验,依法测定含量。其中绿原酸、咖啡酸的 RSD 值分别为 1.13% 和 1.29%,表明本法重复性较好。

### 5. 稳定性试验

取济银花样品溶液,在 0h, 2h, 4h, 6h, 8h 分别进样 10 $\mu$ l,记录峰面积积分值,绿原酸、咖啡酸的 RSD 值分别为 0.72% 和 0.66%,可见供试品液在 8h 内稳定。

表 1 金银花中绿原酸、咖啡酸回收率实验结果( $n=3$ )

加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		平均回收率(%)		RSD(%)	
绿原酸	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸
2.385	0.1512	5.780	0.2292	98.5	100.7				
3.180	0.1944	6.602	0.2645	99.0	97.7	98.8	99.3	1.07	1.49
3.975	0.2160	7.375	0.2913	98.9	99.6				

表 2 不同产地金银花中绿原酸、咖啡酸含量测定结果(%,  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

样 品	产 地	绿原酸含量	咖啡酸含量
密银花	河南省密县	2.415 $\pm$ 0.1913	0.0477 $\pm$ 0.0023
济银花	山东临沂地区平邑县	2.104 $\pm$ 0.1684	0.0647 $\pm$ 0.0065
隆回银花	湖南省隆回县小沙江	3.667 $\pm$ 0.2724	0.0536 $\pm$ 0.0063
溆浦银花	湖南省溆浦县	2.674 $\pm$ 0.1408	0.0424 $\pm$ 0.0086
新宁银花	湖南省新宁县	4.514 $\pm$ 0.0182	0.0447 $\pm$ 0.0033

### 6. 精密性试验

取对照品溶液,进样 10 $\mu$ l,重复进样 5 次,记录峰面积积分值。绿原酸、咖啡酸峰面积积分值的 RSD 值分别为 0.60% 和 1.54%。

### 7. 回收率试验

分别精密称取已知含量的金银花(绿原酸、咖啡酸含量分别为 3.4857%、0.0764%)药材 100mg,置 50ml 容量瓶中,分别精密加入绿原酸对照品液(0.159mg $\cdot$ ml $^{-1}$ ) 15ml, 20ml, 25ml, 咖啡酸对照品溶液(0.0432mg $\cdot$ ml $^{-1}$ ) 3.5ml, 4.5ml, 5.0ml, 再加 95% EtOH 适量,超声提取 1h,冷却定容,滤过,作为供试品液。

将供试品液和绿原酸、咖啡酸对照品液注入色谱仪,记录 Area,结果见表 1。

### 8. 样品测定及结果

分别精密吸取绿原酸和咖啡酸对照品、样品溶液各 10 $\mu$ l,注高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录色谱图和峰面积积分值,以外标法计算样品中绿原酸和咖啡酸的含量,结果见表 2。

### 三、讨 论

高效液相色谱法(HPLC)有精密度高,重现性好,分离效果好等优点。样品的分离取决于其在流动相和固定相中的分配。本实验采用 ODS 柱为固定相,乙腈-0.1H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(20:80)为流动相有效地分离出绿原酸和咖啡酸。从对其作的方法学考察即线性关系、重复性、精密度、稳定性、回收率的考察结果可知,该条件可行。在

实验过程中,我们采用外标法得出最后测量结果。

测量结果为:隆回、溆浦、新宁产的灰毡毛忍冬、河南产的密银花、山东产的济银花中绿原酸百分含量分别为 3.967 $\pm$ 0.2724、2.674 $\pm$ 0.1408、4.514 $\pm$ 0.0182、2.415 $\pm$ 0.1913、2.104 $\pm$ 0.1684;咖啡酸百分含量分别为 0.0536 $\pm$ 0.0063、0.0424 $\pm$ 0.0086、0.0447 $\pm$ 0.0033、0.0477 $\pm$ 0.0023、0.0647 $\pm$ 0.0065。

可以看出,灰毡毛忍冬花蕾中的绿原酸含量远高于或略高于正品金银花忍冬花蕾中的绿原酸的含量。湖南省隆回县产的灰毡毛忍冬花蕾中的绿原酸含量分别为济银花和密银花的 185.71% 和 162.5%,湖南省新宁县的灰毡毛忍冬花蕾中的绿原酸含量分别为正品金银花传统产地山东省平邑县的济银花和湖南省密县的密银花的 214.28% 和 186.5%,湖南省溆浦县产的灰毡毛忍冬花蕾中的绿原酸含量略高于济银花和密银花。就金银花中有效成分绿原酸含量的高低而言,灰毡毛忍冬优于正品金银花忍冬,更适宜于作为提取绿原酸的原料。对多种致病菌和病毒的抑制和杀灭作用也优于济银花和密银花,此结论与我们进行的药理比较实验的结果相一致。而咖啡酸的含量接近或略高于正品金银花忍冬花蕾中咖啡酸的含量。

### 参考文献

- 1 湖南省中药材普查办公室.湖南省中药资源普查报告集[M].长沙:湖南科学技术出版社,1989:126~133.
- 2 魏明,苏启表.HPLC法测定玉叶解毒颗粒中绿原酸含量[J].中草药,2000,31(6):433~434.
- 3 宋广运,蔡纛倩,刘清琪.忍冬不同器官绿原酸的含量及体外抑菌效果[J].中草药,1985,16(5):37~38.

(责任编辑:刘维杰 郭 静)

## 美国列出禁售 中草药名单

2003 年 12 月 30 日,FDA 公布了一项针对中草药的进口警告:除了麻黄外,含有马兜铃酸、铁线莲、木防己(cocculus)以及西诺美宁(sinomenine,汉防己素)等的草药类都被限制进口;其中含有马兜铃酸的中草药包括关木通、广防己、天仙藤、草木香,含铁线莲的有威灵仙。此外,除了美国加州卫生部门公布的受进口管制的中草药名单中明确禁止进口的蟾酥、麻子仁等,美国地方政府机构也列出其他上百种可能被限制或禁止进口的中草药。(文 摘)

## 八种癌症被确定为 我国癌症防治重点

《中国癌症预防与控制规划纲要》(2004~2010 年)已于 2003 年底制定完成。新规划纲要确定了肺癌、肝癌、胃癌、食管癌、结直肠癌、乳腺癌、宫颈癌及鼻咽癌八种癌症为我国癌症防治重点。未来,在农村高发地区及某些城镇社区将建立重点癌症的早期发现、早期诊断及早期治疗示范基地。编写“抗癌手册”,积极开展健康教育,最终使重点癌症的早诊率在现有基础上提高 50%。(文 摘)

content, accounting for 2.74% and a wild one growing in Guangdong Province of China, which is called red *Ganoderma Lucidum* Karst, is the lowest in content, representing 1.60%. **Conclusion:** Owing to different geographic environment and conditions of cultivation the content of polysaccharides of *Ganoderma Lucidum* Karst with different origins is greatly different, but one cannot assess the quality of this kind of medicinal plants simply according to their origins and the conditions of their cultivation. This experiment is aimed to offer a reference for the assessment of the intrinsic quality and the development of the resources of *Ganoderma Lucidum* Karst.

**Key Words:** *Ganoderma Lucidum* Karst, polysaccharide, determination of content

### A Study on Determination of Chlorogenic Acid and Caffeine Acid In Buds of

#### *Lonicera Macrathiods* Hands Maazz

Tong Qiaozhen, Zhou Ribao, He Youshun, Qu Weihong, Gao Jin and Luo Muhe

( Faculty of Materia Medica, Hunan Institute of Traditional Chinese Medicine,

Changsha 410004, Hunan Province, China)

**Objective:** To scientifically assess the medicinal value of *Lonicera Macrathiods* Hands – Mazz on the basis of the content of Chlorogenic acid and caffeine acid in it. **Method** To compare the content of Chlorogenic acid and caffeine acid extracted from *Lonicera Macrathiods* Hands – Mazz produced in Hunan Province with that extracted from A – class *Flos Lonicerae* cultivated in Shandong and Henan provinces by the method of high performance liquid chromatography. **Result** The percentage content of chlorogenic acid in *Lonicera Macrathiods* Hands – Mazz from the counties of Lonhui, Xupu and Xinning in Hunan Province and that in *Flos Lonicerae* from Hennan and Shandong provinces of China respectively are as follows:  $3.967 \pm 0.2724$ ,  $2.674 \pm 0.1408$ ,  $4.514 \pm 0.0182$ ,  $2.415 \pm 0.1913$  and  $2.104 \pm 0.1684$  and the percentage content of caffeine acid in them are:  $0.0536 \pm 0.0063$ ,  $0.0424 \pm 0.0086$ ,  $0.0447 \pm 0.0033$ ,  $0.0477 \pm 0.0023$  and  $0.0647 \pm 0.00645$  respectively. **Conclusion** The content of Chlorogenic acid in the buds of *Lonicera Macrathiods* Hands – mazz is far or slightly higher than that in A – class *Flos Lonicerae* and the content of caffeine acid in the former is close to or a little bit higher than that in the latter.

**Key Words:** high performance liquid Chromatography, *Lonicera Macrathiods* hands – mazz, Chlorogenic acid, caffeine acid

### A Tentative Discussion on Making Crude Sitices of Chinese Medicinal Plants Preparations – like

Liu Jing, Song Guangzhi and Xie Daogang

86 [ World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica ]