

江苏东海县金银花不同花期绿原酸和木犀草苷动态变化研究*

王永香, 吴云, 孟瑾, 沈娟, 毕宇安, 王振中, 萧伟**

(江苏康缘药业股份有限公司/中药制药过程新技术国家重点实验室 连云港 222001)

摘要:目的:研究江苏省东海县金银花药材基地不同采收期金银花中绿原酸和木犀草苷动态变化规律,确定金银花药材的最佳采收期。方法:采用2010年版《中国药典》金银花含量测定方法测定绿原酸、木犀草苷含量,结合液相指纹图谱技术和干花收率等指标考察金银花药材三青期、二白期、大白期、银花期及金花期的质量。结果:不同花期金银花中绿原酸、木犀草苷含量存在明显变化,干花质量与产量也存在明显变化。结论:江苏省东海县药材基地金银花最佳采收期为二白期与大白期,与地道产地一致。

关键词:江苏东海 金银花 不同花期 绿原酸 木犀草苷

doi: 10.11842/wst.2013.09.021 中图分类号:R284 文献标识码:A

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,主产于山东、河南等地区,其性寒味甘,归肺、心、胃经。主治痈肿疮疖、喉痹、丹毒、热毒血痢、风热感冒、温病发热等,具有清热解毒,凉散风热之功效^[1],现代研究表明有机酸及黄酮类成分为其主要药效成分^[2~4]。金银花的生长期主要分为:三青期(绿色花蕾,长2.2~3.4 cm)、二白期(淡白色花蕾,长3~3.9 cm)、大白期(白色花蕾,长3.5~4.6 cm)、银花期(大白期刚开放的白色花朵,长4.2~4.8 cm)、金花期(银花期开放后2~3小时颜色变黄成为金花期,长4.0~4.5 cm)^[5,6]。

江苏省东海县药材基地位于北纬34°11'~34°44',东经118°23'~119°10',金银花种植面积8500亩,为确定基地金银花药材最佳采收期,作者在基地中同一块区域,采用随机布点法采集三青期、二白期、大白期、银花期及金花期鲜花,采用基地密闭

烘房内烘干,考察金银花药材花期阶段绿原酸和木犀草苷含量动态变化,结合药材液相指纹图谱及干花得率考察不同花期药材质量。5个供试品经过鉴定为忍冬科植物忍冬 *L. japonica* Thunb. 的干燥花蕾及花。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪;MWD 多波长紫外-可见检测器;G1313A 全自动进样器;Agilent 1100 色谱工作站;LK-200A 手提式高速中药粉碎机(浙江温岭市创立药材仪器厂);电子天平(Sartorius 公司);数显恒温水浴锅 HH-4(国华电器有限公司)。

1.2 试药

绿原酸对照品(批号:110753-200413,中国药品生物制品检定所);木犀草苷对照品(批号:111720-200501,中国药品生物制品检定所);乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。金银花药材产于江苏康缘药业股份有限公司江苏东海药材

收稿日期:2013-09-11

修回日期:2013-09-18

* 科学技术部国家重大新药创制项目(2013ZX09402203) 现代中药创新集群与数字制药技术平台,负责人:王振中。

** 通讯作者:萧伟,本刊编委,研究员级高级工程师,博士,主要研究方向:中药制剂的研究与开发。

基地,经过康缘集团康济大药房执业药师吴舟经理鉴定为忍冬科植物忍冬 *L. japonica* Thunb. 的干燥花蕾及花。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

按照 2010 年版《中国药典》绿原酸、木犀草苷含量测定方法中规定的条件^[1]。

2.1.2 供试品溶液的制备

按照 2010 年版《中国药典》绿原酸、木犀草苷含量测定方法进行制备^[1]。

2.2 金银花药材指纹图谱高效液相色谱测定方法

2.2.1 参照物溶液的制备

金银花中主要有效成分为绿原酸,且药典中收录了金银花药材中绿原酸的含量测定方法。绿原酸标准品易得,且在金银花药材指纹图谱中,绿原酸峰面积最大且较稳定,所以选择绿原酸做为参照物。

2.2.2 供试品溶液的制备

取金银花药材,粉碎,取细粉约 0.2 g,精密称定,置 50 mL 锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,

超声提取 30 min,过滤,取续滤液,即得。

2.2.3 色谱条件

色谱柱 Phenomenex Luna C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸水溶液,线性梯度洗脱,检测波长 225 nm,柱温 30℃,流速 1 mL·min⁻¹。

根据供试品溶液紫外光谱,共选择在 270、225、245、300 及 327 nm 等 5 个波长下检测,根据紫外全波长扫描,绿原酸最大吸收波长为 327 nm,但在该波长下,其它指纹峰都较小,经过对比分析,在 225 nm 波长的色谱图中各指纹峰峰面积比较平均,绿原酸峰面积适当,且较稳定,故选定检测波长为 225 nm。检测时间为 2 h,未见滞后峰出现。

2.2.4 稳定性试验

取同一批金银花药材供试品溶液,隔 3 h 测一次,共测 6 次,测定结果计算相似度,相似度结果均不小于 0.98,表明供试品溶液 15 h 内成分稳定。符合指纹图谱的技术要求(不小于 0.95)。

2.2.5 精密度试验

同一批金银花药材供试品溶液连续进样 6 次进行测定。结果表明,供试品溶液中各共有峰的保

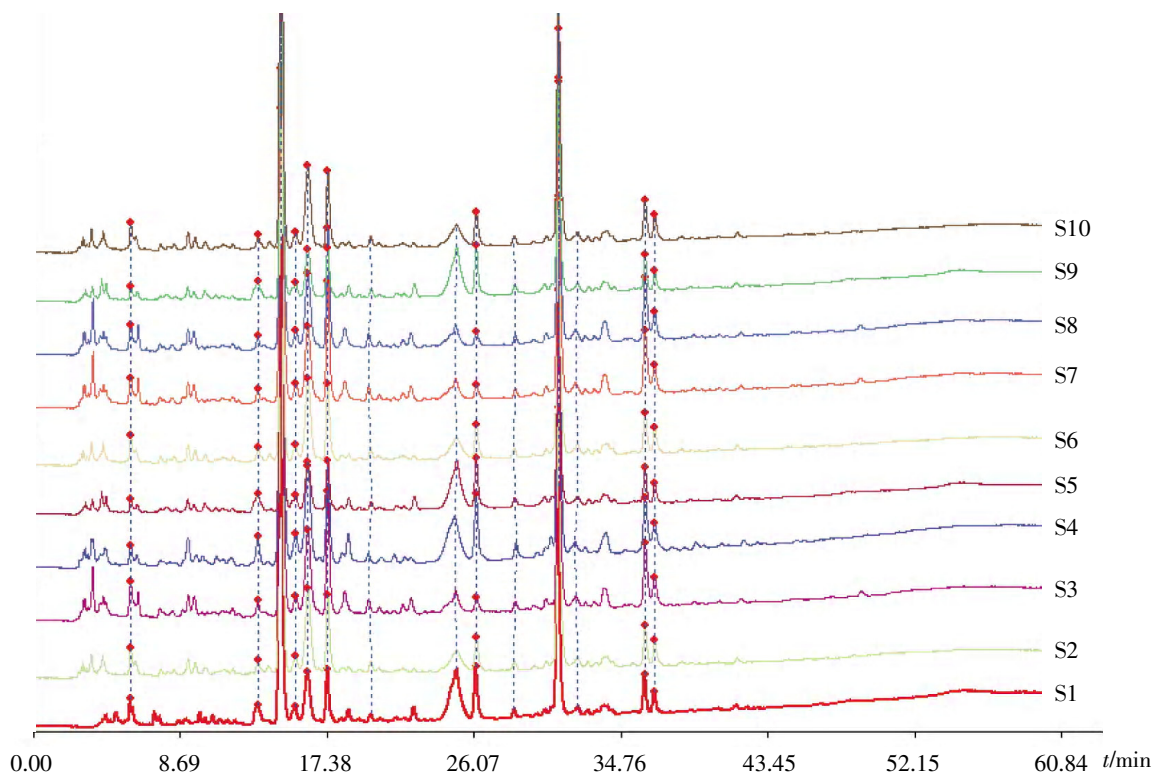


图1 金银花药材液相指纹匹配后图谱

留时间及主要峰(占总峰面积 3%以上)的峰面积基本一致(RSD<3%),以第 1 次进样所得指纹图谱作为对照计算后 5 次进样所得指纹图谱的相似度,结果相似度结果均不小于 0.99,均符合指纹图谱的技术要求。表明该方法精密度良好。

2.2.6 重复性试验

取金银花药材,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,同法制备供试品溶液 6 份,依法测定,结果计算相似度,相似度结果均不小于 0.95,符合指纹图谱的技术要求(不小于 0.950)。结果表明该方法能较准确的测定金银花药材水溶性成分的指纹图谱。

2.2.7 金银花药材标准指纹图谱形成

采购道地产地山东平邑、河南封丘金银花药材各 5 批,用于构建金银花药材标准指纹图谱。根据《中药指纹图谱研究的技术要求》,采用国家药典委员会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价软件,将

10 批次金银花图谱数据导入《中药指纹图谱相似度计算软件 B 版》,匹配后图谱如图 4 所示。在相似度软件中以这 10 批供试品指纹图谱为基础获得含有 10 个共有峰的“共有模式指纹图谱”作为标准指纹图谱,如图 5 所示。

2.3 银花干花得率计算方法

分别取三青期、二白期、大白期、银花期及金花期鲜花 5 kg,采用相同的干燥方法,得干花,称重,通过计算得出各个花期干花得率。

2.4 结果

2.4.1 指纹图谱

按照“2.1”、“2.2”项下绿原酸、木犀草苷含量及液相指纹图谱方法,检测 5 个干花样品,从图 3 可以看出金花期金银花药材的液相指纹图谱与标准指纹图谱有明显差异,峰的个数明显减少且峰面积与其他花期比较明显减少,其它 4 个花期金银花中

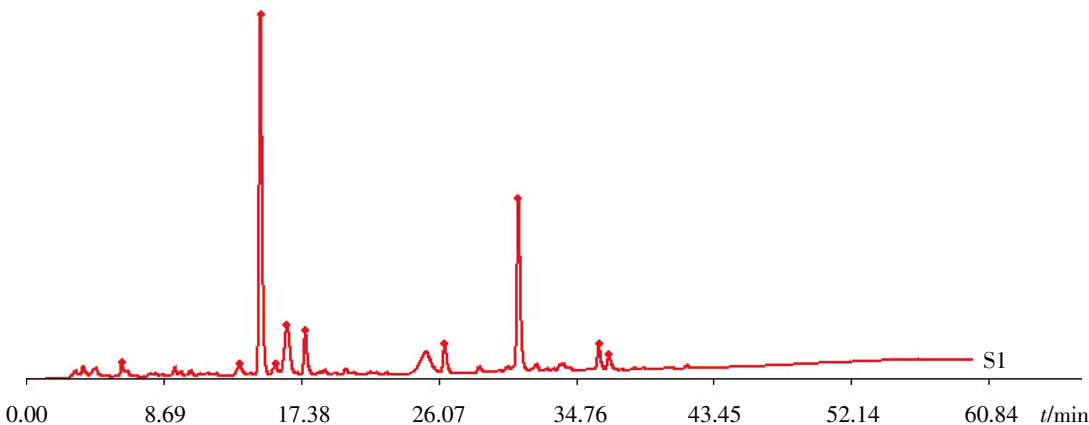


图 2 金银花药材 225 nm 处对照指纹图谱

表 1 不同生长期金银花检测结果

检测项目 样品	绿原酸含量/%	木犀草苷含量/%	指纹图谱相似度	干花得率/%
三青期	2.9	0.10	0.917	17
二白期	3.0	0.11	0.951	22
大白期	2.8	0.13	0.930	23
银花期	1.8	0.09	0.931	18
金花期	0.3	0.05	0.455	12

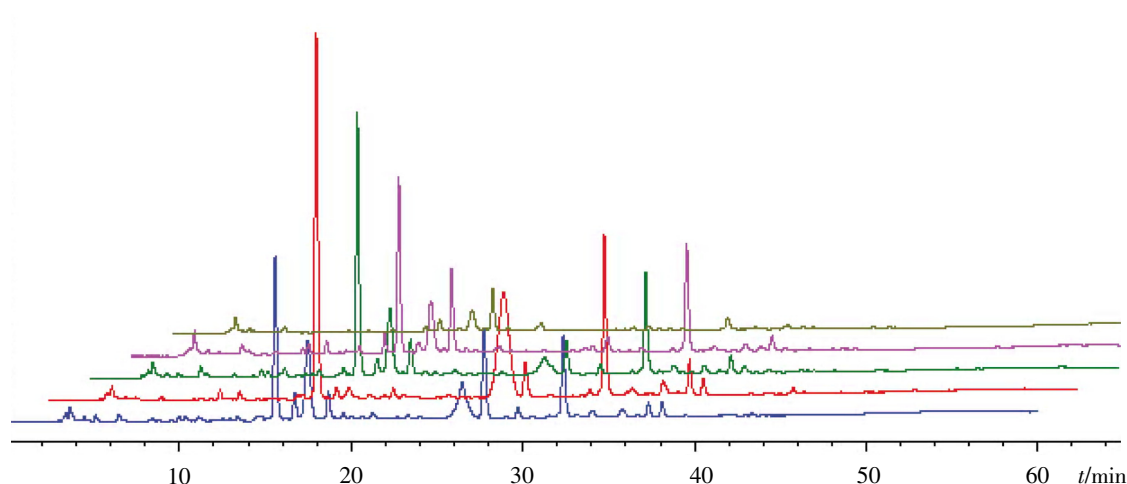


图3 不同生长期金银花液相指纹图谱

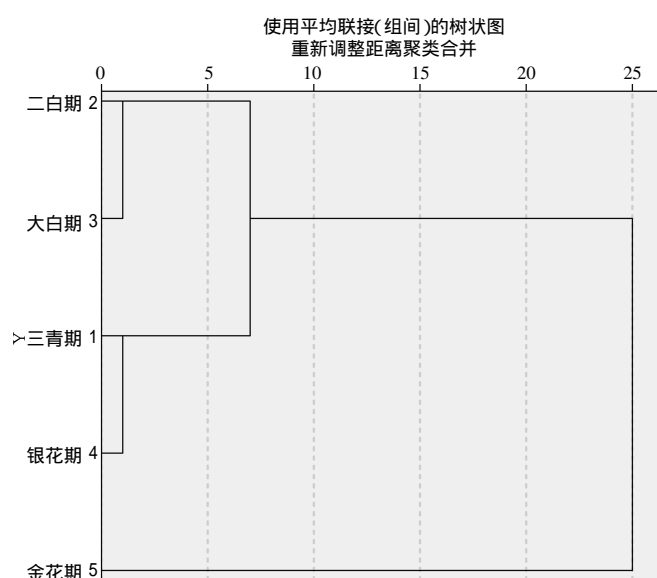


图4 不同生长期金银花药材质量聚类分析图

含有峰的个数基本一致,但各个峰的大小不同,通过图3能明显看出金银花药材不同生长期间指标成分的变化情况,结合表1中数据分析,确定江苏省东海金银花基地药材在二白期、大白期采收药材质量最好。

2.4.2 聚类分析

将不同花期绿原酸含量、木犀草苷含量、液相指纹图谱相似度、产量建立矩阵,采用SPSS 19.0软件对所选5个样品进行聚类分析,由图4可以看出

二白期与大白期药材被分类成一类,三青期与银花期药材分为一类,金花期药材由于指标成分含量、液相指纹图谱相似度及产量各个指标均较低,单独分为一类,聚类分析进一步显示江苏省东海县金银花基地二白期及大白期采收的金银花药材质量相似,支持了金银花药材最佳采收期为二白期及大白期的结论。

3 讨论

金银花从孕蕾到开放约5~8天^[5],花期短促而集中,故采收必须适时,本文通过研究确定江苏省东海县金银花药材最佳采收时期为二白期、大白期,与山东、河南道地产地基本一致,确保该地金银花药材采收质量。

参考文献

- 1 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部).北京:中国医药科技出版社,2010:205.
- 2 黄璐璐,宋必卫,朱祥英,等.加热对金银花挥发油成分及抗炎症效果的影响.浙江工业大学学报,2009,37(2):126~129.
- 3 杨鹏.中药金银花要用成分和药理作用.中国社区医师,2013,5:24.
- 4 庄丽,张超,阿里穆斯.金银花的药理作用与临床应用研究进展.辽宁中医杂志,2013,40(2):378~380.
- 5 张永清,程炳嵩,华作旺,等.不同采收期金银花的质量比较.特产研究,1990(1):46~47.
- 6 刘晶,张燕丽,付起凤,等.金银花最佳采收期的研究.中医药信息,2011,28(3):49~50.
- 4 孙延波,王云,关显智,等.金银花对口腔病原性微生物体外抑菌试验的研究.中国中药杂志,1996,21(4):242~243.

- 5 关炳峰,谭军,周志娣,等.金银花提取物的抗氧化作用与其绿原酸含量的相关性研.食品工业科技,2007,28(10):127~129
- 6 屈景年,莫运春,刘梦琴,等.金银花中绿原酸一步提取法及绿原酸抗菌活性.化学世界,2005,3:167~169

Dynamic Changes of Chlorogenic Acid and Luteoloside from *Donghai* County of Honeysuckle at Different Blossoming Stages

Wang Yongxiang, Wu Yun, Meng Jin, Shen Juan, Bi Yu'an, Wang Zhengzhong, Xiao Wei
(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd./ State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine
Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China)

Abstract: This study was aimed to acquire the dynamic changes of chlorogenic acid and luteoloside of honeysuckle at different collecting periods in order to decide the best harvesting time of honeysuckle in *Donghai* County, *Jiangsu* Province. The content determination method used in the detection of chlorogenic acid and luteoloside of honeysuckle was from the 2010 edition of the *Chinese Pharmacopoeia*. The skills of HPLC fingerprint characteristic features, and the yield of pressed flowers were combined in the evaluation of honeysuckle at the three-green period, two-white period, great-white period, silver-flower period and the golden-flower period. The results showed that the content of honeysuckle at different blossoming stages had obvious changes in content of chlorogenic acid and luteoloside, as well as the pressed flower quality and yield of the flower. It was concluded that the optimal harvest time of honeysuckle was for the two-white period and the great-white period, which was consistent with the real origin.

Keywords: *Donghai* County of *Jiangsu* Province, honeysuckle, different blossoming stages, chlorogenic acid, luteoloside

(责任编辑 叶丽萍 张志华,责任译审 王 晶)