

硫熏和烘干金银花中绿原酸、
木犀草苷含量对比分析

刘伟^{*},茹凡书,崔永霞,陈宁
(河南中医学院分析测试中心,郑州 450008)

〔摘要〕 目的:比较不同产地硫熏和烘干金银花中绿原酸、木犀草苷含量变化,考察硫熏工艺对金银花内在化学成分的影响。方法:采用 HPLC 测定不同产地、不同炮制方法金银花中绿原酸及木犀草苷含量。结果:硫熏后金银花中绿原酸含量明显升高,而木犀草苷含量变化不大。结论:硫熏对金银花中绿原酸含量影响较大,但对木犀草苷含量基本无影响,不同产地两种成分含量相差较大。

〔关键词〕 高效液相法; 硫熏; 烘干; 金银花; 绿原酸; 木犀草苷; 对比分析

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2013)01-0091-04

Comparison of Content of Chlorogenic Acid
and Luteolin in Sulfur Fumigation and Drying *Lonicera japonica*

LIU Wei^{*}, RU Fan-shu, CUI Yong-xia, CHEN Ning
(Center of Analysis and Measurement, Henan College of Traditional Chinese Medicine,
Zhengzhou 450008, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To compare the changes of chlorogenic acid and luteolin content in sulfur fumigation and drying *Lonicera japonica*, in order to study the chemical components of *L. japonica*. **Method:** The content of chlorogenic acid and luteolin from different origin and different processing methods was determined with HPLC. **Result:** Chlorogenic acid was significantly increased, while the content of luteolin changed very little after sulfur smoked. **Conclusion:** The content of chlorogenic acid has increased significantly after sulfur smoked, but the

〔收稿日期〕 20120627(006)
〔基金项目〕 河南省教育厅自然科学研究计划项目(2010A360016)
〔通讯作者〕 ^{*} 刘伟,本科,教授,从事中药质量标准和仪器分析方法的研究,Tel:0371-65575838,E-mail:hnliuwei2088@sina.com

〔2〕 张永杰,李忠业,曹延柏. 藏药红景天复方治疗冠心病 42 例疗效观察〔J〕. 实用中西医结合杂志,1993,6(1):8.

〔3〕 李青,宋志前,王超,等. 青海产红景天中红景天苷及酪醇含量分析〔J〕. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):110.

〔4〕 文萍,余良忠,李晶. HPLC 测定景天祛斑胶囊中红景天苷的含量〔J〕. 中成药,2008,30(2):299.

〔5〕 何建雄,赖小平,魏刚,等. HPLC 测定银翘柴桂汤中绿原酸、芍药苷、黄芩苷〔J〕. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):48.

〔6〕 王甫成,时维静,汪翠妮. 不同加工方法对亳白芍中芍药苷及水溶性浸出物含量的影响〔J〕. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):75.

〔7〕 李雪晴,文爱东. 高效液相色谱法测定舒肤胶囊中芍药苷的含量〔J〕. 西安交通大学学报,2011,32(2):256.

〔8〕 吕立华,曾泽民,李雪艳,等. 活血止痛合剂中芍药苷的含量〔J〕. 湖南中医药导报,2004,10(6):86.

〔9〕 袁勇,刘恒戈,陈卫军,等. RP-HPLC 法同时测定复方黄芪片中芍药苷及红景天苷的含量〔J〕. 农垦医学,2011,33(4):304.

〔10〕 张瑞堂,石晓峰. 张红梅. 复方红景天口含片提取工艺优选〔J〕. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):42.

〔责任编辑 顾雪竹〕

content of luteolin almost had no effect. The content of two components from different areas was changed very widely.

[**Key words**] HPLC; sulfur; drying; *Lonicera japonica*; chlorogenic acid; luteolin; comparison

金银花味甘、性寒,为临床常用药^[2]。关于金银花的产地加工,多数本草著作均在采后阴干^[3]后入药。现代研究报道有硫磺熏晒法^[4]、蒸晒、烘干、强制通风装置干燥^[5]、微波干燥等炮制方法。硫磺熏蒸法^[6]作为一个传统的加工养护方法,仍在一些医院、生产企业及民间沿用。硫熏法可使中药材或中药饮片干燥快,不变质,不发霉,不虫蚀。该方法不仅改变药材外观,而且影响药材化学成分的变化,使药材的质量发生变化。目前,关于金银花硫磺熏蒸以后有效成分定量分析报道不多,本次试验测定了硫磺熏蒸和烘干后金银花中绿原酸^[7]及其木犀草苷^[8]的含量,并对两种炮制品中两种成分做了比较分析,为产地加工后金银花药材的质量评价提供参考依据。

1 仪器与试剂

DIONEX Summit 系统高效液相色谱仪, METTLER AE240 型 1/10 万天平, FA2004A 型 1/万天平;所用乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯;绿原酸对照品(批号 110753-200212)和木犀草苷(批号 111520-200201)均购自中国药品生物制品检定所;试验所用金银花样品分别采自于:封丘杜庄、封丘鸭固集、封丘小石桥、封丘贾庄、封丘牛所村、河南新乡、河南禹州、山东平邑、河南郑州、郑州密县,以上 10 批鲜花样品均由河南中医学院董诚明教授鉴定为金银花 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花。

2 方法和结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 绿原酸: AichromBond-AQ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.4% 磷酸溶液(13:87),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,检测波长 327 nm,进样量 10 μL,理论塔板数不低于 1 000。

木犀草苷: Agilent ZORBAX SB-Phenyl 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(B),0.5% 冰醋酸溶液(A),0 ~ 40min 10% ~ 30%,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,检测波长 350 nm,进样量 10 μL。理论塔板数不低于 2 万。

2.2 对照品溶液的制备 绿原酸:取绿原酸对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加 50% 的甲醇制成 1 mL 含 40 μg 的溶液,即得(10 ℃以下保存)。

木犀草苷:取木犀草苷对照品适量,精密称定,加 70% 的乙醇制成 1 mL 含 40 μg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 烘干金银花药材的制备 将采收或购买回的金银花置烘箱中烘干,采用“四段升温法”,初时温度一般 35 ℃左右,烘 2 h 后,温度升至 40 ℃,鲜花排出水气,经 5 ~ 10 h 后室内保持 45 ~ 50 ℃,待烘 10 h 后鲜花水分大部分排出,再把温度升至 55 ℃,使花迅速干燥。

2.3.2 硫熏金银花药材的制备 将采收或购买回的金银花进行硫磺熏蒸,硫熏方法为:在密封的石砌炉中,使用药材总量 1% 的硫磺量,硫熏 1 次,每次 60 min,抽风 1 h,阴干。

2.3.3 测绿原酸供试品 取金银花粉末(过四号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇溶液 50 mL,称定质量,超声处理功率(250 W,频率 35 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 5 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇溶液至刻度,摇匀,即得。

2.3.4 测木犀草苷供试品 取金银花粉末(过四号筛)约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇溶液 50 mL,称定质量,超声处理功率(250 W,频率 35 kHz)60 min,放冷,再称定质量,用 70% 乙醇补足减失质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,回收溶剂至干,残渣用 70% 乙醇溶解,移至 5 mL 量瓶中,加 70% 乙醇溶液至刻度,摇匀,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系的考察 分别精密量取 2.2 项下绿原酸及木犀草苷对照品溶液各 2,4,6,8,10 mL,分别用 50% 甲醇和 70% 甲醇定容至 10 mL,摇匀,分别得到 5 个浓度的绿原酸和木犀草苷对照品溶液。按上述色谱条件各进样 10 μL,以峰面积(Y)为纵坐标,对照品的量(X)为横坐标,绘制标准曲线,回归方程绿原酸: $Y = 6.028\ 6X - 5.211\ 9 (r = 0.999\ 9)$; 木犀草苷: $Y = 1.623\ 3X - 0.374\ 2 (r = 1)$,结果表明绿原酸在 0.083 6 ~ 0.418 mg·L⁻¹、木犀草苷在 0.04 ~ 0.8 mg·L⁻¹呈良好线性关系。

2.4.2 精密度试验 分别精密吸取同一绿原酸对

照品溶液 5 μL,木犀草苷对照品溶液 10 μL,连续进样 6 次,记录峰面积,绿原酸 RSD 0. 10% ;木犀草苷 RSD 0. 59%。表明仪器精密度良好。

2. 4. 3 重复性试验 绿原酸:取同一批金银花样品 0. 5 g 共 6 份,精密称定,照 2. 3 项下的方法制备供试品溶液,测定绿原酸含量,其 RSD 2. 34%。

木犀草苷:取同一批金银花样品 2. 0 g 共 6 份,精密称定,照 2. 3 项下的方法制备供试品溶液,测定木犀草苷含量,其 RSD 1. 02%。

2. 4. 4 稳定性试验 分别精密吸取供试品溶液各 10 μL,分别于 0,2,4,8,10,12,24 h 注入高效液相色谱仪,记录绿原酸峰及木犀草苷面积,绿原酸 RSD 0. 87%,木犀草苷 RSD 0. 85%,表明样品中绿原酸、木犀草苷在 24 h 内稳定。

2. 4. 5 加样回收率试验 取已知含量的金银花样品 6 份,每份约 0. 25 g,精密称定,分别加入定量绿原酸对照品;取已知含量的金银花样品 6 份,每份约 1. 0 g,精密称定,分别加入定量木犀草苷量对照品,按 2. 3 项下方法分别制备绿原酸及木犀草苷的供试品溶液,测定绿原酸及木犀草苷回收率,结果见表 1。

2. 4. 6 样品含量测定 精密吸取各批次供试品溶液 10 μL 按 2. 1 项下色谱条件进样,以外标法计算各样品溶液中的绿原酸和木犀草苷的含量,结果见图 1 和表 2。

3 讨论

硫熏作为一种传统的中药材养护方法,不仅能够保持金银花的外观形状,使色泽更为鲜亮,并能使中药材干燥快,不变质、不发霉、不虫蚀。对硫熏后

表 2 不同处理方法对金银花含量的影响

来源	硫熏样品含量/mg·g ⁻¹		烘干样品含量/mg·g ⁻¹	
	绿原酸	木犀草苷	绿原酸	木犀草苷
封丘杜庄	36. 42	0. 549 2	27. 87	0. 558 7
封丘鸭固集	35. 77	0. 584 8	28. 81	0. 603 1
河南新乡	30. 61	0. 509 8	19. 76	0. 511 5
河南禹州	33. 46	0. 503 3	20. 53	0. 509 0
山东平邑	35. 89	0. 485 2	27. 89	0. 500 0
河南郑州	27. 26	0. 398 0	19. 68	0. 353 6
郑州密县	32. 87	0. 525 4	29. 54	0. 537 6
封丘小石桥	28. 41	0. 505 1	23. 49	0. 531 1
封丘贾庄	25. 87	0. 465 0	19. 71	0. 500 1
封丘牛所村	23. 60	0. 487 8	19. 60	0. 496 7

金银花中二氧化硫残留量进行测定,未超出国家食品药品监督管理局制订中药材及其饮片二氧化硫残留限量标准(150 × 10⁻⁶),这表明硫熏作为新鲜金银花的加工养护有一定的应用价值。

木犀草苷是金银花中活性成分之一,其含量测定报道比较少,且一些文献报道 HPLC 测定木犀草苷分离度低、峰形难看。本试验在 2010 年版《中国药典》金银花中木犀草苷测定条件(0 ~ 15 min, 90% ~ 80% A, 15 ~ 30 min, 80% A; 30 ~ 40 min, 80% ~ 70% A)的基础上稍做改变,使得木犀草苷分离度好,且柱效高,适合金银花中木犀草苷的含量测定。

从含量测定结果可见,硫磺熏蒸后金银花中绿原酸^[9-10]的含量普遍比烘干品高,而木犀草苷的含

表 1 2 种成分加样回收率试验

成分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
绿原酸	0. 250 3	7. 211	10. 000	17. 08	98. 69	99. 39	0. 49
	0. 250 0	7. 203	10. 000	17. 11	99. 08		
	0. 250 1	7. 205	10. 000	17. 21	100. 05		
	0. 250 4	7. 214	10. 000	17. 13	99. 21		
	0. 250 5	7. 217	10. 000	17. 19	99. 69		
	0. 250 7	7. 222	10. 000	17. 18	99. 62		
木犀草苷	1. 000 3	0. 603 3	1. 000 0	1. 596 8	99. 35	98. 26	1. 05
	1. 000 0	0. 603 1	1. 000 0	1. 578 3	97. 52		
	1. 000 5	0. 603 4	1. 000 0	1. 583 2	97. 98		
	1. 000 2	0. 603 2	1. 000 0	1. 585 8	98. 26		
	1. 000 0	0. 603 1	1. 000 0	1. 572 2	96. 91		
	1. 000 4	0. 603 3	1. 000 0	1. 598 9	99. 56		

量却变化不大,这说明硫熏工艺对金银花中绿原酸的影响较大,而对木犀草苷几乎无影响。但出现此种现象的具体机理还有待进一步研究。

同一炮制方法中不同产地之间两种成分差异较大,其中郑州产地金银花中两种成分含量相对较低,封丘产区两种成分含量较高,这可能与当地的土壤、气候等环境因素有关。各个产地金银花经两种方法炮制后,两种成分含量均符合药典规定。

[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] 杨欣,李洪波,陈诚,等. 金银花药性与功效的文献考证[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(18): 220.

[3] 吴彩霞,王金梅,康文艺. 金银花在阴干、55 ℃烘干时挥发油成分 HS-SPME-GC-MS 分析[J]. 中成药,2009,31(8): 1246.

[4] 肖宏儒,王立富,吴家兵. 微波干燥技术在金银花烘干中的应用研究[J]. 食品科学, 2001, 22(5): 41.

[5] 陈昌氏,杜国兴. 金银花中药材干燥技术研究[J]. 南京林业大学学报,1997,21(3): 48.

[6] 张村,肖永庆,李丽,等. 离子色谱法测定大黄药材中二氧化硫残留量的不确定度评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(22): 32.

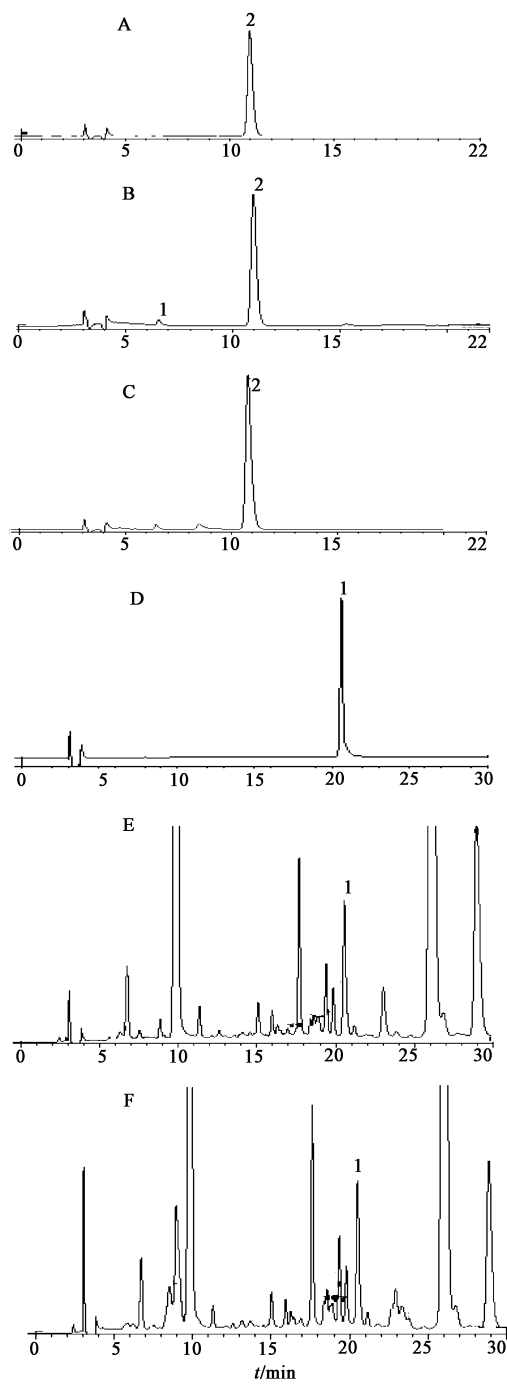
[7] 朱晓丽,宋亚芳,李学林,等. 高效液相色谱法测定野菊花中绿原酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2): 32.

[8] 冉容,孔庆悦,周凤琴,等. 山东 10 个不同种质金银花中木犀草苷的含量测定[J]. 中华中医药学刊,2008,26(4):7.

[9] 汤喜兰,刘建勋,李磊. 中药有机酸类成分的药理作用及在心血管疾病的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5): 243.

[10] 高茹,林以宁,梁鸽,等. 绿原酸的吸收与代谢研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(10): 316.

[责任编辑 顾雪竹]



1. 木犀草苷; 2. 绿原酸

A, D. 对照品; B, E. 烘干样品; C, F. 硫熏样品;

图 1 金银花 HPLC