

doi:10.11937/bfyy.20170390

忍冬不同器官有效成分分析

崔旭盛^{1,2}, 马召^{1,2}, 田清存¹, 高秀强¹, 郭玉海²

(1. 石家庄以岭药业股份有限公司, 河北 石家庄 050035; 2. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193)

摘要:以忍冬为试验材料,采用高效液相色谱法测定了有效成分含量、积累量及所占比例,分析了不同器官有效成分。结果表明:忍冬花绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和总异绿原酸含量最高,分别可达 41.65、0.21、0.27、9.11、1.42、10.80 mg·g⁻¹;忍冬叶木犀草苷含量最高,为 1.23 mg·g⁻¹;忍冬花绿原酸、异绿原酸 B、总异绿原酸积累量最高,分别高达 309.88、67.78、80.35 mg·株⁻¹;忍冬叶咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 积累量最高,分别可达 2.92、27.63、3.82、21.56 mg·株⁻¹;忍冬不同器官间有效成分比例不同。综合以上结果可知,忍冬各器官间有效成分存在差异,忍冬叶富含的多种有效成分值得开发利用。

关键词:忍冬;器官;有效成分

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)21-0150-05

忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬属(*Lonicera*)植物忍冬(*Lonicera japonica* Thunb)是著名的清热

解毒类药材,并且忍冬花和忍冬藤均已被写入中国药典^[1]。忍冬体内含有挥发油、黄酮类、有机酸、萜类、多酚类、氨基酸以及维生素等多种成分^[2-6]。并在食品、药品和化妆品等领域有广泛的用途^[7-9]。

近年来,有关忍冬的研究已经建立了分光光度法、GC-MS、HPLC 等多种成分的测定方法^[10-12],并探明忍冬品种、种植地区、忍冬部位及加工方式均会对忍冬体内药用成分产生影响^[8,13-20]。但是相关研究绝大多数都把忍冬花(金银花)作为研究重点,而有关忍冬藤以及忍冬其它器官的药用成分和药理药效的研究甚少。

第一作者简介:崔旭盛(1986-),男,博士,农艺师,现主要从事药材资源和基地建设等研究工作。E-mail:cuixushengangel@163.com.

责任作者:郭玉海(1956-),男,博士,教授,博士生导师,现主要从事药用作物栽培等研究工作。E-mail:yhguo@cau.edu.cn.

基金项目:国家中药标准化资助项目(ZYBZH-C-HEB-12);国家科技富民强县资助项目。

收稿日期:2017-04-17

method and culturation *in vitro*. The results showed that, the pollen vitality of *D. styracifolium* could be determined quickly by staining method, which was lower than that of culturation method *in vitro*. The optimal medium was 15% sucrose+0.01% H₃BO₃+0.09% Ca(NO₃)₂·4H₂O+0.01% MgSO₄·7H₂O, in which the rate of germination was 96.16%, length of pollen tube was 541.72 μm; 72-168 hours storage under 4 °C dry condition, it was good for the vitality maintenance of *D. styracifolium* pollens. The vitality of pollens dried by silicone was higher than the moist pollens. Culturation method *in vitro* was the most suitable method for *D. styracifolium* pollen viability determination, 4 °C dry condition contributes was suitable for maintaining the pollen vitality of *D. styracifolium*.

Keywords: *Desmodium styracifolium*; pollen vitality; storage method

该研究以忍冬全株为研究对象,采用高效液相色谱法同时研究了忍冬花、叶、藤蔓、茎杆和根等各器官的 7 种药用有效成分含量,并分析了忍冬各器官有效成分累积量及比例,以期发现忍冬潜在药用器官及价值、全面利用忍冬药材,并为建立忍冬药材系统的质量评价体系提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 2 年生忍冬,于 2011 年 6 月 30 日采自河北省巨鹿县堤村乡纪家寨村忍冬种植基地。将忍冬按器官分为根、茎杆、藤蔓、叶、花 5 个部分。各样品均用蒸馏水冲洗干净,于 50 ℃ 烘箱中烘干至恒重,并称质量,样品粉碎过 60 目筛备用。

Agilent 1200 LC 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司提供,包括四元泵及 VWD 紫外检测器);Agilent Eclipse plus-C18 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm, 美国安捷伦公司);SB-25-12DT 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);AR2130 型电子天平(奥豪斯公司)。

对照品:绿原酸(质检编号:PS08072303)、咖啡酸(质检编号:PS08092501)、木犀草苷(质检编号:PS10052501)、异绿原酸 A(质检编号:PS100623-01)、异绿原酸 B(质检编号:PS100623-02)、异绿原酸 C(质检编号:PS100623-03),纯度均大于 98%,由成都普思生物科技有限公司提供。

甲醇(分析纯,国药集团化学试剂公司)、甲酸(分析纯,国药集团化学试剂公司)、超纯水(中国农业大学华控中心自制)、乙腈(色谱纯, Fisher Scientific 公司)。

1.2 试验方法

试验采用完全随机设计,每处理重复 3 次。

1.2.1 金银花样品的制备

精确称取金银花各器官粉末 0.500 g 置于 50 mL 离心管中,加 50% 甲醇 10 mL,超声处理 60 min,冷却,过滤,取续滤液过 0.45 μm 的有机滤膜,待用。

1.2.2 标准液的制备

精密称取绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 对照品 10 mg,用 50% 的甲醇 10 mL 溶解,过 0.45 μm 滤膜即得。

1.2.3 标准曲线的绘制

称取绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 标准品适量,用甲醇配制成一定浓度的标准品溶液,并将各标准液做不同倍数稀释,以色谱峰峰面积为纵坐标,进样浓度为横坐标绘制标准曲线,得到回归方程如表 1 所示。

表 1 回归方程

Table 1 Regression equation

分析物 Analyte	回归方程 Regression equation	相关系数 <i>r</i>	线性范围 Linear range /(mg·L ⁻¹)
绿原酸	$Y=224.98X-1098.200$	0.999 0	50.0~6 000.0
咖啡酸	$Y=699.43X-69.148$	0.999 6	1.0~65.0
木犀草苷	$Y=303.63X-17.187$	0.999 6	0.5~40.0
异绿原酸 A	$Y=546.18X-76.829$	0.999 0	10.0~400.0
异绿原酸 B	$Y=514.92X-286.820$	0.999 0	3.0~135.0
异绿原酸 C	$Y=529.94X-146.770$	0.999 0	0.5~90.0

1.2.4 液相色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse plus-C18 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相 A:0.3% 甲酸-水,流动相 B:乙腈;样品进样量:10 μL;柱温:25 ℃;流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:326 nm;检测时间:60 min。梯度洗脱参数见表 2。

表 2 梯度洗脱参数

Table 2 Gradient elution table

时间 Time/min	A/%	B/%
0~25	92	8
25~30	92~81	8~19
30~60	81	19

1.3 数据分析

采用 Excel 2003 和 DPS 7.05 软件进行数据处理及统计分析。

2 结果与分析

2.1 忍冬不同器官生物量及所占比例

由表 3 可知,忍冬各器官生物量不同,大小顺序为叶>藤蔓>根>茎杆>花。其中忍冬叶生物

量最高,为 $22.46 \text{ g} \cdot \text{株}^{-1}$,占忍冬植株的 33.05%,花生物量最低,仅为 $7.44 \text{ g} \cdot \text{株}^{-1}$,仅占忍冬全株的 10.95%。藤蔓、茎杆、根生物量依次为 14.13 、 10.58 、 $13.35 \text{ g} \cdot \text{株}^{-1}$,分别占忍冬全株生物量的 20.79%、15.57%、19.64%。

表 3 忍冬不同器官生物量及所占比例

Table 3 Biomass and percentage in different organs of *L. japonica*

指标 Index	花 Flower	叶 Leaf	藤蔓 Vine	茎杆 Stem	根 Root	总计 Total
生物量 Biomass ($\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$)	7.44d	22.46a	14.13b	10.58c	13.35b	67.96
所占比例 Proportion/%	10.95	33.05	20.79	15.57	19.64	100.00

注:相同小写字母间代表 LSD 检验差异不显著($P>0.05$),下同。

Note: The same lowercase letters show the difference is not significant ($P>0.05$) by LSD test, the same below.

2.2 忍冬不同器官有效成分含量

由表 4 可知,忍冬同一器官不同有效成分含量悬殊,其中忍冬花绿原酸、咖啡酸、异绿原酸

A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和总异绿原酸含量最高,分别可达 41.65 、 0.21 、 0.27 、 9.11 、 1.42 、 $10.80 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;忍冬叶木犀草苷含量最高,为 $1.23 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。而忍冬茎杆中绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和总异绿原酸含量最低,分别仅为 2.47 、 0.07 、 0.24 、 0.22 、 $0.46 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

由表 4 还可知,忍冬不同器官同一有效成分含量差异明显。忍冬花、叶、藤蔓、茎杆、根各器官绿原酸含量均最高,分别高达 41.65 、 8.60 、 6.58 、 2.47 、 $3.79 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;总异绿原酸含量次之,分别为 10.80 、 3.07 、 1.63 、 0.46 、 $0.60 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。相比之下,忍冬花、叶、茎杆和根中咖啡酸含量较低,分别仅为 0.21 、 0.13 、 0.07 、 $0.12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,忍冬藤蔓中异绿原酸 A 含量最低为 $0.07 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。此外,忍冬茎杆和根中不含木犀草苷和异绿原酸 A。此外,同一有效成分在不同器官间含量顺序不同,绿原酸、异绿原酸 B、总异绿原酸含量大小顺序为花>叶>藤蔓>根>茎杆;咖啡酸和异绿原酸 C 含量大小顺序为花>叶>根>藤蔓>茎杆;木犀草苷含量大小顺序为叶>花>藤蔓;异绿原酸 A 为花>叶>藤蔓。

表 4

忍冬不同器官有效成分含量

Table 4

Content of active ingredients in different organs of *L. japonica*

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

指标 Index	绿原酸 Chlorogenic acid	咖啡酸 Caffeic acid	木犀草苷 Luteoloside	异绿原酸 A Isochlorogenic acid A	异绿原酸 B Isochlorogenic acid B	异绿原酸 C Isochlorogenic acid C	总异绿原酸 Total isochlorogenic acid
花 Flower	41.65a	0.21a	0.64b	0.27a	9.11a	1.42a	10.80a
叶 Leaf	8.60b	0.13b	1.23a	0.17b	1.94b	0.96b	3.07b
藤蔓 Vine	6.58c	0.08c	0.49b	0.07c	1.27bc	0.29c	1.63c
茎杆 Stem	2.47d	0.07c	0.00c	0.00d	0.24c	0.22c	0.46c
根 Root	3.79d	0.12b	0.00c	0.00d	0.27c	0.33c	0.60c

2.3 忍冬不同器官有效成分累积量

由表 5 可知,忍冬不同器官有效成分累积量不同,其中绿原酸、异绿原酸 B、总异绿原酸在忍冬花中累积量最高,分别高达 309.88 、 67.78 、 $80.35 \text{ mg} \cdot \text{株}^{-1}$;咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 在忍冬叶中累积量最高,分别可达 2.92 、 27.63 、 3.82 、 $21.56 \text{ mg} \cdot \text{株}^{-1}$ 。相比之下,忍冬茎杆中绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和总异绿原酸累积量均最低,分别仅为 26.13 、 0.74 、 2.54 、 2.33 、 $4.87 \text{ mg} \cdot \text{株}^{-1}$ 。此外,

忍冬同一有效成分在不同器官间累积量顺序各异,绿原酸、异绿原酸 B、总异绿原酸含量大小顺序为花>叶>藤蔓>根>茎杆;咖啡酸表现为叶>根>花>藤蔓>茎杆;异绿原酸 C 为叶>花>根>藤蔓>茎杆;木犀草苷为叶>藤蔓>花;异绿原酸 A 呈现叶>花>藤蔓。

2.4 金银花不同器官有效成分比例

由表 6 可知,忍冬各器官间有效成分含量差异较大,绿原酸与木犀草苷比例在忍冬花中最高,为 $55.1:1$,忍冬叶中最低,为 $6.99:1$ 。绿原酸

表 5

忍冬不同器官有效成分累积量

Table 5

Accumulation of active ingredients in different organs of *L. japonica*

mg · 株⁻¹

指标 Index	绿原酸 Chlorogenic acid	咖啡酸 Caffeic acid	木犀草苷 Luteoloside	异绿原酸 A Isochlorogenic acid A	异绿原酸 B Isochlorogenic acid B	异绿原酸 C Isochlorogenic acid C	总异绿原酸 Total isochlorogenic acid
花 Flower	309.88	1.56	4.76	2.01	67.78	10.56	80.35
叶 Leaf	193.16	2.92	27.63	3.82	43.57	21.56	68.95
藤蔓 Vine	92.98	1.13	6.92	0.99	17.95	4.10	23.03
茎秆 Stem	26.13	0.74	0.00	0.00	2.54	2.33	4.87
根 Root	50.60	1.60	0.00	0.00	3.60	4.41	8.01

表 6

忍冬不同器官有效成分比例

Table 6

Proportion of active ingredients in different organs of *L. japonica*

	花 Flower	叶 Leaf	藤蔓 Vine	茎秆 Stem	根 Root
绿原酸：木犀草苷 Chlorogenic acid/Luteoloside	55.1：1	6.99：1	13.44：1		
绿原酸：咖啡酸 Chlorogenic acid/Caffeic acid	198.6：1	66.2：1	82.3：1	35.3：1	31.6：1
异绿原酸 A：B：C Isochlorogenic acid A：B：C	1：33.7：6.4	1：11.4：2.0	1：18.1：4.4		

与咖啡酸比例也呈现出花中最高(198.6：1),藤蔓次之(82.3：1),然后依次为叶(66.2：1)、茎秆(35.3：1),忍冬根中绿原酸与咖啡酸比例最低,仅为 31.6：1。异绿原酸 A、B、C 的比例在花中为 1：33.7：6.4,叶中为 1：11.4：2.0,藤蔓为 1：18.1：4.4。

3 讨论与结论

3.1 忍冬入药器官

忍冬多个器官及器官均含有药效成分,并且化学成分种类丰富^[21-23],但是目前《中国药典》仅把忍冬花(金银花)和忍冬藤作为药材,而忍冬其它器官的药用价值被忽略,这极大地限制了忍冬药用价值的发挥,并造成了忍冬有效成分的浪费。因此,探讨忍冬不同器官有效成分含量情况,对更好的利用忍冬药材具有重要的意义。

3.2 忍冬有效成分

该研究结果显示忍冬体内含有绿原酸、木犀草苷、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 等多种有效成分,但是《中国药典》仅将绿原酸和木犀草苷作为药效成分,忍冬体内其它成分以及黄酮类、挥发油类成分有何药效,其利用前景如何也是未来值得探讨的重要问题。

3.3 忍冬不同器官有效成分情况

忍冬不同器官有效成分含量、累积量、比例存

在较大差异。忍冬花绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和总异绿原酸含量最高,分别可达 41.65、0.21、0.27、9.11、1.42、10.80 mg · g⁻¹;忍冬叶木犀草苷含量最高,为 1.23 mg · g⁻¹。忍冬花绿原酸、异绿原酸 B、总异绿原酸累积量最高,分别高达 309.88、67.78、80.35 mg · 株⁻¹;忍冬叶咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 累积量最高,分别可达 2.92、27.63、3.82、21.56 mg · 株⁻¹。

3.4 忍冬利用前景及建议

忍冬叶咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 在忍冬全株累积量最高,因此除了药典中规定的忍冬藤和忍冬花(金银花)外,忍冬叶也有较高的药用价值。忍冬各器官的有效成分除了与自身因素有关外,还与环境因素和人为措施息息相关,关于环境条件和农艺措施对忍冬各器官有效成分的影响还需作专题进行进一步研究。

参考文献

[1] 国家药典委员. 中国药典 2015 年版(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:221.

[2] 霍文杰,李卫民,高英. 干燥方法对金银花中绿原酸、木犀草苷及总黄酮含量的影响[J]. 广州中医药大学学报,2013,30(5): 737-741.

[3] 向增旭,高山林,郭巧生. 不同产地金银花种质资源化学成分含量比较[J]. 中国中药杂志,2007,32(23):2554-2556.

[4] 毕跃峰,田野,裴姗姗,等. 金银花化学成分分析[J]. 郑州大

学学报(理学版),2007,39(2):184-186.

[5] 胡秋芬,杨光宇,黄章杰,等.微柱高效液相色谱法测定金银花中的多酚类物质[J].分析化学,2005,33(1):69-72.

[6] 刘伟,茹凡书,崔永霞,等.硫熏和烘干金银花中绿原酸、木犀草苷含量对比分析[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(1):91-94.

[7] 李荣乔,贾东升,谢晓亮,等.金银花复合饮品的制备工艺研究[J].食品研究与开发,2016,37(11):104-108.

[8] KUMAR N, SINGH B, BHANDARI P, et al. Biflavonoids from *Lonicera japonica* [J]. Phytochemistry, 2005, 66(23): 2740-2744.

[9] 方继辉,朱新州,吴震.反相高效液相色谱法测定化妆品中绿原酸的含量[J].香料香精化妆品,2013(1):25-27.

[10] 彭素琴,刘郁林.不同品种金银花不同花期绿原酸含量比较[J].安徽农业科学,2010,38(14):7296,7298.

[11] 刘敏彦,高淑丽,刘丽华,等. HPLC 法同时测定不同产地金银花和山银花中 6 种有机酸成分[J]. 中药材, 2013, 36(12): 196-198.

[12] 李丽,田义杰,毛崇武. RP-HPLC 测定金银花 3 种成分的含量[J]. 中成药, 2008, 30(1): 134-135.

[13] 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):81-82,86.

[14] 张燕,王文全,郭兰萍,等.不同采收期金银花的产量和质量

研究[J].中草药,2013,44(18):2611-2614.

[15] 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.

[16] DU C Z, FENG X, WANG H, et al. Analysis of volatile constituents in *Lonicera japonica* Thunb. from different origins by GC-MS[J]. Agricultural Science & Technology, 2015, 16(5): 1081-1083, 1087.

[17] 高建邦,宋平顺.不同加工方法对金银花中绿原酸和木犀草苷含量的影响[J].中华中医药杂志,2010(11):1796-1798.

[18] 时军波,徐娜,刘长安,等.金银花不同器官中绿原酸和木犀草苷含量的测定[J].化学分析计量,2010,19(6):45-47.

[19] 齐红,盛华刚,张超.不同干燥技术对金银花质量的影响[J].中国药业,2010,19(14):36-37.

[20] 高红宁,金万勤,郭立伟.不同精制工艺对金银花水提液中绿原酸含量的影响[J].世界科学技术-中医药现代化,2010,12(2):241-244.

[21] 钱正明,李会军,李萍.高效液相色谱法测定忍冬藤和叶中 8 种活性成分[J].分析化学,2007,35(8):1159-1163.

[22] 赵媛媛,杨倩茹,郝江波,等.金银花与忍冬藤及叶药理作用差异的研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(13):2422-2427.

[23] 刘婵娟,陈四平.忍冬叶的化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(17):90-92.

Analysis of Effective Composition in Different Organs of *Lonicera japonica*

CUI Xusheng^{1,2}, MA Zhao^{1,2}, TIAN Qingcun¹, GAO Xiuqiang¹, GUO Yuhai²

(1. Shijiazhuang Yiling Pharmaceutical Co. Ltd., Shijiazhuang, Hebei 050035; 2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193)

Abstract: *Lonicera japonica* was used as experimental material, and content, accumulation and proportion of effective composition in different organs were studied by HPLC. The results showed that the contents of chlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid C and total isochlorogenic acid from flower were the highest, respectively reaching up $41.65 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.27 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $9.11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $1.42 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $10.80 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. The highest content of luteoloside in the leaves of *Lonicera japonica* was $1.23 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. The accumulation contents of chlorogenic acid, isochlorogenic acid B and total isochlorogenic acid from flower were the highest, which were as high as 309.88 mg, 67.78 mg and 80.35 mg in per plant, respectively. The accumulation contents of caffeic acid, luteoloside, isochlorogenic acid A and chlorogenic acid C in the leaves of *Lonicera japonica* were 2.92 mg, 27.63 mg, 3.82 mg and 21.56 mg in per plant, respectively. Proportions of effective composition was different in different organs of *Lonicera japonica*. Comprehensive analysis concluded that the effective composition of *Lonicera japonica* in kinds of organs are different, and rich constituents in leaves of *Lonicera japonica* were worthy to be exploited.

Keywords: *Lonicera japonica*; organ; effective composition