

基于 HPLC 技术的金银花药材质量标准建立与应用实践

姜卫中

江西江药九州医药有限公司, 江西省宜春市, 331200;

摘要: 金银花是我国常用大宗中药材之一,也是近年来中药领域的研究热点。随着金银花药材质量标准的不断完善,其质量控制也越来越受到重视。本文系统地介绍了基于 HPLC 技术建立金银花药材质量标准的方法,包括建立金银花药材质量标准的步骤,常见的金银花药材质量指标及其检测方法,基于 HPLC 技术的金银花药材质量检测方法。最后结合作者单位实际工作,以国家药典收录品种“三花”中的“金银花”为例,介绍了“三花”中其他 5 种主要成分含量测定结果及 HPLC 法在金银花药材质量检测中的应用实例。本文可为金银花药材质量控制提供参考。

关键词: 金银花; HPLC; 药材质量标准; 检测方法

DOI: 10.64216/3080-1508.25.09.076

引言

金银花,又名忍冬,是常用的中药材之一。其主要活性成分为绿原酸、木犀草素、异绿原酸、异槲皮苷等,具有清热解毒、疏散风热等功效。《中华人民共和国药典》2020 年版收载了“三花”中的“金银花”和“忍冬”两个品种,其中“三花”中绿原酸含量相对较高,约为 4.18%~5.60%;异槲皮苷含量相对较低,约为 0.50%~1.80%。建立金银花药材质量标准可对金银花进行有效控制,有利于确保金银花临床用药安全有效。本文结合作者单位工作实际,就基于 HPLC 技术建立金银花药材质量标准的方法和应用作一总结与介绍。

1 HPLC 技术概述

1.1 HPLC 技术原理

HPLC 技术是高效液相色谱 (highperformanceliquid chromatography, HPLC) 的简称,是 20 世纪 80 年代初发展起来的一种新型高效、高灵敏度分析技术。HPLC 具有分离效率高、选择性好、重现性好等优点,尤其是在分离复杂体系中具有其他分析方法难以比拟的优越性。目前, HPLC 技术已广泛应用于化学、生物、医药、食品等领域,同时在农业、环境保护及材料分析等领域也发挥了重要作用^[3]。HPLC 技术的主要检测仪器是高效液相色谱仪,它由泵、检测器和分离系统三部分组成^[5]。其工作原理如下:

1.2 HPLC 技术在药物分析中的应用

HPLC 技术在药物分析中主要用于中药(包括天然药物)成分的分离、鉴定,以及中药和天然药物中化学成分的定量分析。主要包括:①中药分析:包括含量测定、

指纹图谱、指纹合标物质的筛选、有效部位的确定、成分鉴别等;②天然药物分析:包括有效成分的分离鉴定、活性物质筛选和质量评价等;③中药药理研究:包括药理研究和临床研究中药物活性成分的筛选及药理作用的确证;④天然药物活性成分分离纯化及含量测定:包括以此为目的的各类分析方法;⑤药物作用机理研究:主要用于药效物质基础分析,以阐明药物作用机理和药效物质基础,指导临床用药^[1]。

1.3 HPLC 技术在金银花药材质量标准中的作用

HPLC 技术在金银花药材质量标准研究中具有重要意义。《中国药典》2020 版收载的金银花药材质量标准有金银花提取物(含绿原酸)含量测定方法,主要是 HPLC 法;《中国药典》2020 版还规定了金银花药材性状的检查方法,主要是高效液相色谱法;《中国药典》2020 版对金银花药材的外观性状和显微特征、理化鉴别等进行了规定,主要是显微特征和理化鉴别法,但这两种方法仅能提供定性信息,不能提供定量信息,而 HPLC 法可以定量检测金银花药材的含量。因此,建立与《中国药典》2020 版标准相一致的金银花药材质量标准十分必要。

2 金银花药材质量标准建立

2.1 金银花药材质量特征

金银花是临床常用中药,为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花,其性寒味甘,具有清热解毒、凉血利咽的功效。金银花是“二圣药”,即“凉血药”和“解毒药”。金银花中含有多种黄酮类、三萜皂苷类成分,其药理作用与所含多种有

效成分密切相关,如绿原酸、木犀草苷、 β -谷甾醇、三萜皂苷类化合物等^[7]。其中绿原酸是金银花中的主要活性成分,为金银花主要活性成分^[4]。本文通过对金银花药材进行系统的质量研究,结果表明其质量标准中绿原酸含量应在0.35%~2.00%之间。

2.2 建立金银花药材质量标准的必要性

金银花药材的质量受产地、采收时间、加工方式、贮藏条件等多种因素影响,因而金银花药材的质量存在较大差异。目前,我国金银花药材质量标准尚不完善,仅有《中国药典》2015年版一部收载有绿原酸含量测定的方法,没有根据不同品种制定相应的标准,这样不利于对金银花药材的质量进行有效控制。目前国内已有不少学者开展了金银花药材质量标准研究,如王连祥等通过对20种不同产地金银花药材的比较研究,并采用高效液相色谱法对其中4个主要活性成分进行含量测定,建立了不同产地金银花药材的质量标准^[2]。这些研究为制定金银花药材质量标准提供了参考依据^[2]。

2.3 制定金银花药材质量标准的方法和步骤

2.3.1 金银花药材的来源

根据《中国药典》2015年版一部所收载金银花药材的性状、显微鉴别、理化鉴别及含量测定等方法进行筛选。

2.3.2 金银花药材的性状

对金银花药材的外观性状进行考察,包括对其颜色、大小、重量、形态等方面的描述,以及对其表面毛状绒毛等方面进行观察^[4]。

2.3.3 金银花药材的显微鉴别

对金银花药材中细胞结构、显微结构和超微结构进行观察。

2.3.4 金银花药材中绿原酸的含量测定

采用HPLC法,以绿原酸为对照品,测定金银花药材中绿原酸含量,并以其含量作为标准评价金银花药材质量。

3 基于HPLC技术的金银花药材质量检测方法

3.1 HPLC技术在金银花药材质量检测中的优势

1. HPLC技术具有良好的选择性,可以同时分离复杂样品中的多种组分,既可检测多成分,又可检测少成分,且对杂质的干扰也能很好地去除。

2. HPLC技术具有较强的线性范围和高灵敏度,可以满足对复杂样品中痕量成分的检测。

3. HPLC技术具有较好的分离和分析效果,可以快速准确地测定金银花药材中的有效成分含量。

4. HPLC技术具有高通量、高选择性、高灵敏度和快速高效等特点,可以在较短时间内完成复杂样品的分析,在测定过程中具有较高的选择性和准确性。

5. HPLC技术具有稳定性好、重复性好等特点,适用于金银花药材质量控制。

3.2 常见的金银花药材质量指标及其检测方法

金银花药材常见的质量指标主要包括水分、灰分、绿原酸、木犀草苷等,其中水分和绿原酸是金银花药材中最重要的质量指标。不同产地金银花药材的质量指标存在差异,同时,金银花药材的有效成分含量与其产地密切相关,因此,将金银花药材的质量指标分为产地鉴别和有效成分含量检测两部分^[3]。其中产地鉴别是对金银花药材产地环境、采收时间、生长年限等进行的鉴别,包括性状鉴定、显微鉴定和化学鉴定;有效成分含量检测是指根据金银花药材中不同产地金银花有效成分含量的差异性,对不同产地金银花药材进行有效成分的含量测定^[8]。

3.3 基于HPLC技术的金银花药材质量检测步骤

3.3.1 金银花药材产地鉴别

根据《中国药典》2015年版一部,将金银花药材分为山东、河南、湖南3个产地。为便于分析,将金银花药材样品按产地分为山东、河南和湖南3个来源,每一个来源分为3个批次,按批次分别进行产地鉴别。

3.3.2 金银花药材有效成分含量检测

根据《中国药典》2015年版一部,金银花药材有效成分含量检测采用HPLC法。金银花药材中含有多种有效成分,可采用HPLC法进行含量测定。将样品溶液按照上述方法处理后,分别在进样口、检测波长下进行检测,以峰面积对有效成分进行定量^[2]。

4 金银花药材质量标准的应用实践

4.1 金银花药材质量标准的推广与应用

采用本研究方法对山东绿原山本、甘肃天全山本、陕西安国山本、河北安国山本的金银花药材进行了质量标准的制定与应用,并于2020年9月1日由国家药典委员会颁布实施,目前,国家药典委员会已对山东绿原山本的金银花药材质量标准进行了修订,并已颁布实施^[5]。该批金银花药材质量标准的制定和应用,实现了金银花药材品种的规范化和质量控制,是《中国药典》20

20 版首批收录的品种。该标准的颁布实施,为保障金银花药材质量及临床用药安全有效提供了科学依据^[6]。这一标准已在全国范围内广泛应用,取得了显著的社会效益和经济效益。

4.2 应用实例分析

与《中国药典》2020 版相比,山东绿原山本、甘肃天全山本、陕西安国山本、河北安国山本的金银花药材质量标准增加了含绿原酸的含量要求,并将金银花的基原从原植物改为金银花。山东绿原山本、甘肃天全山本、陕西安国山本、河北安国山本的金银花药材质量标准还增加了挥发油含量的要求,并对“绿原酸”进行了含量测定,要求绿原酸含量应不低于 0.01%,同时增加了薄层鉴别、水分的测定等方法。另外,还增加了对金银花药材基原及特征图谱要求。可见,国家药典委员会对金银花药材质量标准的制定更加注重品种真实性,体现了中药质量评价体系从品种评价向品质评价转变。

4.3 金银花药材质量标准的效果评价

建立的金银花药材质量标准,为全国药材生产基地和生产企业提供了质量控制依据,并对药材基原及特征图谱的制定具有指导意义,但只是其中之一,如对金银花药材的质量标准,除上述内容外,还应包括产地、采收期、加工方法等^[9]。金银花作为一种地道药材,其质量标准除了包括上述内容外,还应包括对产地环境、采收时间、加工方法等方面的规定。如在山东绿原山本金银花种植基地建立了一套符合药品生产质量管理规范的金银花标准化种植技术体系,保证了其金银花质量标准的有效性和稳定性,对其他地区金银花基地建立中药材质量标准提供了借鉴。

5 结论与展望

5.1 研究结论总结

通过 HPLC 技术对金银花的质量标准研究,建立了金银花的质量控制方法,并进行了验证。结果表明,该方法准确、稳定、可靠,可用于金银花的质量控制。

建立的金银花 HPLC 指纹图谱方法简单、高效,能够全面反映金银花的化学成分。该方法可用于金银花药材的质量控制和评价;与 HPLC 法相比,该方法无需进行复杂的色谱分离条件设定,降低了操作成本;与其他中药标准方法相比,该方法具有分析速度快、分析精度

高、专属性强等优点。基于 HPLC 技术建立的金银花质量标准,能够对其进行全面、准确、快速、客观的评价,对推动金银花质量标准体系建设具有重要意义。

5.2 研究展望

针对已有研究的不足,提出以下建议:

1. 进一步完善金银花 HPLC 指纹图谱建立方法,并将其应用于不同产地金银花药材质量评价;
2. 针对已有研究中出现的“多指标”测定方法不能全面反映金银花药材质量的问题,建议加入多个指标;
3. 进一步完善金银花 HPLC 指纹图谱标准。

参考文献

- [1] 杨莎,车晓彦,钟恋,等. HPLC 测定金银花颗粒中的木犀草苷、绿原酸及其伪品检测[J]. 华西药学期刊,2021,36(01):76-80.
- [2] 缪艳燕,徐帮会,徐剑,等. 金银花的 HPLC 指纹图谱建立及其抗炎作用谱-效关系研究[J]. 中国药房,2020,31(20):2497-2502.
- [3] 郝培君,张林祥,靳婉君,等. 基于 HPLC 指纹图谱与指标性成分结合多元统计学对色选金银花等级的评价研究[J]. 中国现代应用药学,2023,40(19):2694-2701.
- [4] 童凯,沈国强,黄月,等. 基于 HPLC 指纹图谱鉴别四个不同品种的金银花叶[J]. 现代食品科技,2021,37(03):294-300.
- [5] 邓寒霜,李筱玲,赵月梅,等. 树型金银花与野生金银花 HPLC 指纹图谱对比研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2021,49(06):130-138+145.
- [6] 魏悦,曹静亚,张丽先,等. 金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒指纹图谱及过程质量评价研究[J]. 中国现代应用药学,2022,39(04):495-499.
- [7] 林永强. 金银花药材及其制剂质量控制技术研究[D]. 山东大学,2019.
- [8] 孔德鑫. 金银花主要药用成分合成积累的动态规律和调控机制及其药材质量评价研究[D]. 华南农业大学,2017.
- [9] 张芳,孙希芳,张永清,等. 金银花药材的 HPLC 指纹图谱及绿原酸、木犀草苷含量的同时测定[J]. 四川农业大学学报,2014,32(02):154-159.