

金莲花中药饮片质量研究

汪海宣¹, 叶红兵¹, 许倩¹, 刘静¹, 谢子立^{2*} (1.合肥市食品药品检验中心, 合肥 230051; 2.安徽省食品药品检验研究院, 合肥 230051)

摘要: 目的 研究金莲花中药饮片的质量考察方法。方法 采用表观检查、薄层色谱法、红外光谱法和高效液相色谱法系统考察金莲花饮片的质量。结果 对10批不同产地金莲花饮片的样品进行检查, 其表观检查描述特征性较强, 薄层色谱的斑点清晰、分离效果好, 建立的金莲花饮片 HPLC 标准指纹图谱方法精密度、重复性、稳定性均良好, IR 指纹图谱方法可进行快速分析。结论 采用多种方法对金莲花饮片进行了质量分析, 并建立了一套比较完整的检查方法体系, 对快速鉴别金莲花提供了一定的方法支撑, 可用于金莲花饮片的质量分析与综合评价。

关键词: 金莲花; 表观检查; 薄层色谱; 红外光谱; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.11 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)08-0963-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.08.013

引用本文: 汪海宣, 叶红兵, 许倩, 等. 金莲花中药饮片质量研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(8): 963-966.

Study on the Quality of Flower of *Trollius chinensis*

WANG Haixuan¹, YE Hongbing¹, XU Qian¹, LIU Jing¹, XIE Zili^{2*} (1.Hefei Center for Food and Drug Control, Hefei 230051, China; 2.Anhui Food and Drug Inspection Institute, Hefei 230051, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the quality inspection method of flower of *Trollius chinensis*. **METHODS** The quality of the flower of *Trollius chinensis* was systematically investigated by means of apparent inspection, TLC, IR and HPLC. **RESULTS** Examined samples of 10 batches of flower of *Trollius chinensis* from different producing areas. Its apparent inspection description was characterized by strong features, and the spots of TLC were clear and the separation effect was good. The established HPLC standard fingerprint method of flower of *Trollius chinensis* had good precision, repeatability and stability, and the IR fingerprint method could be quickly analysed. **CONCLUSION** A variety of methods were used to analyze the quality of the flower of *Trollius chinensis*, and established a relatively complete inspection method system, which provides a certain method support for the rapid identification of flower of *Trollius chinensis*, which can be used for quality analysis and comprehensive evaluation of flower of *Trollius chinensis*.

KEYWORDS: flower of *Trollius chinensis*; apparent inspection; TLC; IR; HPLC

我国最早记载“金莲花”的是晚清吴其(1848)的《植物实名图考》。据称: 金莲花, 直隶圃中有之。蔓生, 绿茎脆嫩, 圆叶如荷, 大如苕菜。开五瓣红花, 长须茸茸, 花足有短柄, 横翘如鸟尾, 京师俗呼大红鸟……山西五台尤多, 以为佛地灵葩……《山西通志》记载: 金莲花一名金芙蓉, 一名旱地莲, 出清凉山。金世宗尝幸金莲川, 周伯琦《纪行诗》跋: “金莲川草多异花, 有名金莲花者, 似荷而黄即此种也。”本品为毛茛科植物金莲花 *Trollius chinensis* Bge.干燥花的炮制加工品。味苦, 性微寒, 贵肺、胃经^[1]。现代医药文献表明, 金莲花具有抗菌消炎的作用, 主要用于上呼吸道感染, 咽炎, 扁桃体炎, 中耳炎, 急性结膜炎, 急性淋巴管炎^[2]。金莲花曾刊载于中国药典 1977

年版一部, 后收载于各地方中药饮片炮制规范, 本研究对金莲花饮片进行较为系统的研究, 为其质量的控制提供了更多的检查方法, 为有效控制金莲花的质量提供了一定的检查依据。

1 仪器与试剂

U3000 型高效液相色谱仪、IS50 型傅里叶变换红外光谱仪均来自美国 Thermo。金莲花对照药材(批号: 121089-201204)、槲皮素对照品(批号: 100081-201610; 纯度: 99.1%)均购自中国食品药品检定研究院; 金莲花饮片经鉴定为毛茛科金莲花干燥花的炮制加工品(收集于亳州市药材市场), 饮片来源见表 1。

2 性状

查阅相关资料^[2-5], 并对样品进行性状观察,

作者简介: 汪海宣, 男, 主管药师 Tel: (0551)62809226 E-mail: 114373238@qq.com
(0551)63358051 E-mail: 1536838165@qq.com

*通信作者: 谢子立, 男, 硕士, 主任药师 Tel:

本品呈不规则团状，皱缩，直径 1~2.5 cm，金黄色或棕黄色，萼片花瓣状，10~16 枚，椭圆状倒卵形或倒卵形，长 1.8~3 cm，宽 0.9~2 cm，脉纹明显。花瓣皱缩成狭条形，多数，与萼片近等长，宽 0.7~1.5 mm，先端渐尖。雄蕊多数，0.7~1.5 mm，淡黄色。雌蕊多数，具短喙，棕黑色。气芳香、味苦。由于样品皱缩，不易观察其详细表观性状，将金莲花饮片样品置于水中，使其完全舒展，对其萼片等进行仔细观察，见图 1。

表 1 金莲花饮片来源

Tab. 1 Source of flower of *Trollius chinensis*

样品编号	样品批号	产地
T1	YP-JLH-01-001	黑龙江
T2	YP-JLH-01-002	黑龙江
T3	YP-JLH-01-003	辽宁
T4	YP-JLH-01-004	辽宁
T5	YP-JLH-01-005	吉林
T6	YP-JLH-01-006	吉林
T7	YP-JLH-01-001	河北
T8	YP-JLH-01-008	河北
T9	YP-JLH-01-009	四川
T10	YP-JLH-01-010	新疆



图 1 金莲花饮片表观图

A-金莲花，摘自《中国植物志》；B-金莲花饮片；C-萼片；D-花蕊。

Fig. 1 Appearance of flower of *Trollius chinensis*

A-*Trollius chinensis*, extracted from Flora Reipublicae Popularis Sinicae; B-flower of *Trollius chinensis*; C-sepal; D-stamen.

3 方法和结果

3.1 薄层色谱

取金莲花饮片，粉碎，过 3 号筛，精密称取粉末 0.5 g，加甲醇 30 mL，浸渍 30 min，超声处理 20 min，滤过，滤液挥至近干，加甲醇定容至 2 mL 使溶解，作为供试品溶液。另精密移取金莲花对照药材 0.5 g，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法^[5]试验，吸取上述 2 种溶液各 5 μ L，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-甲醇-水-

甲酸(8:1:1:0.1)为展开剂，展开，晾干，喷以 5%三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中所显斑点的位置、颜色与对照药材色谱所显的斑点一致。见图 2。

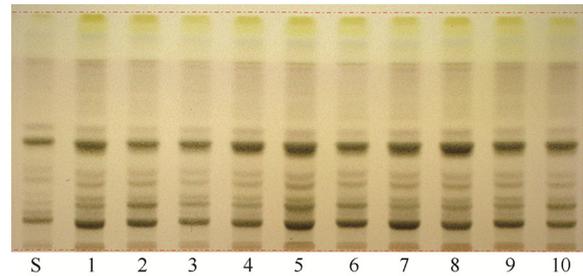


图 2 薄层色谱图

S-对照药材；1, 2-黑龙江；3, 4-辽宁；5, 6-吉林；7, 8-河北；9-四川；10-新疆。

Fig. 2 TLC chromatograms

S-reference of medicinal herbs; 1, 2-Heilongjiang; 3, 4-Liaoning; 5, 6-Jilin; 7, 8-Hebei; 9-Sichuan; 10-Xinjiang.

3.2 高效液相色谱

3.2.1 色谱条件 参照相关文献^[6]，经过实验摸索，确定采用 Waters C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m)；流动相 A 为乙腈，流动相 B 为 0.1%磷酸溶液，进行梯度洗脱：0~10 min，10%(A)，10~45 min，10%→25%(A)，45~50 min，25%→80%(A)，50~55 min，80%(A)，55~60 min，80%→10%(A)，60~70 min，10%(A)；柱温 40 $^{\circ}$ C；流速 1.0 mL·min⁻¹，检测波长为 340 nm，进样量 10 μ L。

3.2.2 溶液的制备 金莲花中含黄酮类成分主要有槲皮素、荜草苷和牡荆苷等^[7]，本实验用槲皮素作为参照物对照品^[8]，加甲醇制成 20 μ g·mL⁻¹ 的溶液，作为对照品溶液，见图 3。取金莲花饮片(T1)，粉碎，过 3 号筛，精密称取粉末 0.5 g，置圆底烧瓶中，加甲醇 20 mL，精密称定，超声处理 20 min，用甲醇补足减失的重量，再加甲醇 10 mL 和 25%盐酸 5 mL，精密称定，置水浴中加热回流 30 min，迅速冷却至室温，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液，见图 3。

3.2.3 系统适用性试验 取金莲花样品一批(T1)，按“3.2.2”项下方法制备样品，分别进行精密度、重复性和稳定性试验，依法测定记录色谱图，用第一次进样所得色谱图中槲皮素峰及其他 14 个成分峰作为校正峰，生成对照指纹图谱 R，精密度和重复性试验色谱图的相似度，其结果均 \geq 0.995，RSD 分别为 0.1%和 0.3%。样品在放置 0, 2, 4, 8, 12 h 后进样记录色谱图，用 0 h 进样所得色谱图中槲皮素峰及其他 14 个成分峰作为校正峰，色

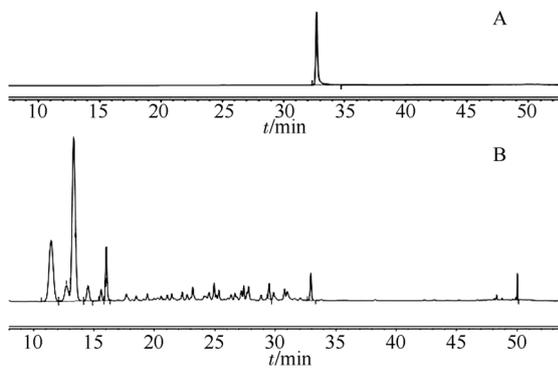


图3 高效液相色谱图

A-槲皮素对照品; B-供试品。

Fig. 3 HPLC chromatograms

A-quercetin standard solution; B-sample solution.

谱图的相似度结果均 ≥ 0.995 , RSD为0.2%。表明本方法精密性、重复性和稳定性均良好。

3.2.4 金莲花饮片主要成分对照指纹图谱的获得及测定 按“3.2.2”项下方法制备样品溶液,用槲皮素对照品溶液作为参照物溶液,对不同产地的10批金莲花饮片进行测定,记录色谱图,使用中药色谱指纹图谱相似度软件评价系统(2012.130723版),10批色谱图经多点校正,以一批样品色谱图作为参照图谱模板,时间窗为0.1 min,以槲皮素和9个主成分峰作为校正峰生成对照指纹图谱R,得到的相似度结果显示均 > 0.990 。结果见图4。

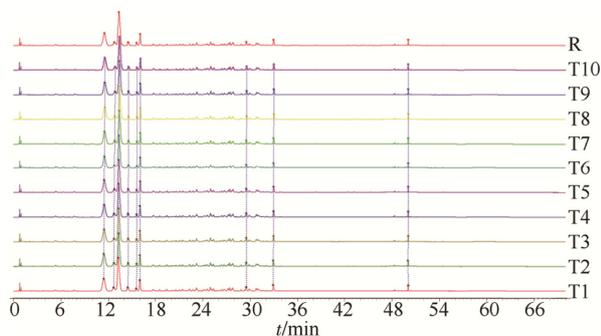


图4 10批样品多点校正图及对照指纹图谱

Fig. 4 Ten batches of sample multi-point calibration and control fingerprint chromatograms

3.3 红外光谱

经研究发现,金莲花中所含的化学成分复杂,主要有黄酮类、有机酸和脂肪酸等成分^[7-9],现有的检验方法只测定其中一种或几种指标成分,不能完全反映该中药或饮片的质量,所以需要一种快速、有效且可行的分析方法对金莲花提取物进行整体系统的分析。由于红外光谱兼具指纹性和

特征性,用于中药提取的检查分析,能够从整体上分析研究图谱特征,来获取其主要成分和信息。本方法用4种提取溶剂,对金莲花饮片的提取物进行红外光谱分析。

将金莲花饮片(T1)粉碎,过3号筛,分别用石油醚、甲醇、无水乙醇和50%乙醇,超声处理30 min,滤过,滤液60℃氮吹至近干,直接测试各提取物红外光谱图,发现用甲醇做溶剂的吸收峰包含无水乙醇和50%乙醇中的所有吸收峰,故使用石油醚和甲醇作为溶剂对样品进行提取考察其红外图谱,见图5,并进一步进行一阶导数处理^[10],见图6,通过对2种溶解提取的光谱图进行解析^[11],见表2,辅助谱库(HR Nicolet Sampler Library和Aldrich Condensed Phase Sample Library)检索其主要化学成分可能含有氢化单甘油酯、聚硬脂酸乙酯、单反油酸甘油酯、单硬脂酸、脱水山梨醇单月桂酸酯、山梨醇单油酸酯、乙烯-丙烯-二烯三元共聚物、十五醇、酯羧物混构异己和体、棕榈酸、醛类化合物,与现有相关文献^[12]中的成分基本相对应。

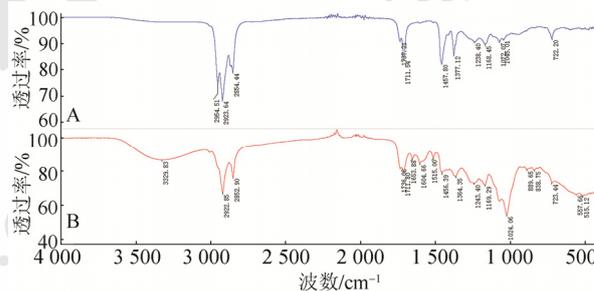


图5 2种溶剂提取红外光谱图(4 000~400 cm⁻¹)

A-石油醚提取; B-甲醇提取。

Fig. 5 IR chromatograms of two solvent extraction(4 000~400 cm⁻¹)

A-petroleum ether extraction; B-methanol extraction.

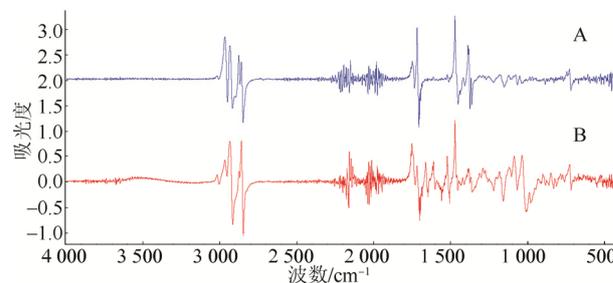


图6 红外一阶倒数光谱图(4 000~400 cm⁻¹)

A-石油醚提取; B-甲醇提取。

Fig. 6 IR first derivative spectrum(4 000~400 cm⁻¹)

A-petroleum ether extraction; B-methanol extraction.

表 2 红外光谱特征峰基团分析

Tab. 2 Group analysis of characteristic peaks of IR

波数/cm ⁻¹	峰形	特征峰基团分析
3 320~3 370	宽强峰	聚合物的 V _{OH} 3 600~3 200 cm ⁻¹ (s)、酰胺类的 V _{NH3} 500~3 100 cm ⁻¹ (s)
2 922~2 926	中强峰	脂肪烃类化合物-CH ₂ -的 V _{as} (2 926±10) cm ⁻¹ (s)
2 852~2 854	中强峰	脂肪烃类化合物-CH=的 V _{as} (2 850±10) cm ⁻¹ (s)
1 709~1 735	中强峰	饱和脂肪酸(甲酸酯除外)的 V _{C=O} 1 750~1 725 cm ⁻¹ (s)、芳香烃类化合物泛频峰(2 000~1 667 cm ⁻¹ vw)、酯类化合物 v _{C=O} 1 735 cm ⁻¹ (s)
1 600~1 660	弱峰	脂肪族及芳香族(V _{C=C} , V _{C=N})
1 377~1 457	中强峰	酰胺类的 V _{C-H} 1 400~1 250 cm ⁻¹ (vs)、脂肪烃类化合物-CH ₃ -的 δ ^s 1 380~1 370 cm ⁻¹ (s)、硝基化合物 V _{NO2} δ ^s 1 390~1 300 cm ⁻¹ (vs)
1 238~1 260	宽峰	胺的 V _{C-N} 1 360~1 020 cm ⁻¹ (m)、酚类化合物 V _{C-O} 1 260~1 170 cm ⁻¹ (s)、芳香烃类化合物芳氢面内弯曲振动=C-H 1 250~1 000 cm ⁻¹ w、酯类化合物 V _{C-O-C} 1 300~1 000 cm ⁻¹ (s)
1 035~1 075	中强峰	胺的 V _{C-N} 1 360~1 020 cm ⁻¹ (m)、芳香烃类化合物芳氢面内弯曲振动=C-H 1 250~1 000 cm ⁻¹ w

4 讨论

表观性状对于中药材饮片是一个非常重要的指标, 由于本品为金莲花的干燥品, 外形皱缩, 不易观察, 本方法对样品处理, 使样品完全展开, 便于对其性状的观察。

薄层色谱检查发现各产地的样品各斑点成分的含量略有差别, 但个数、颜色与对照药材的斑点基本相同, 对照药材作为对照, 能够较全面地反映所测样品中各成分的真实情况。

常压高效液相色谱仪使用广泛, 容易获得, 所以本方法采用常压的高效液相色谱法, 但采集时间较长。使用高效液相法对金莲花中的一种或几种成分进行检查不能完全反映其质量, 本研究通过建立高效液相色谱指纹图谱, 通过统计分析获得统一的评价数据, 数据处理过程简捷, 能够较全面地反映出金莲花饮片中各成分的真实情况。

红外光谱在中药鉴定中的应用越来越广泛, 本研究采用多种溶剂提取, 分别对金莲花中的黄酮成分和挥发油成分进行了考察, 利用红外光谱的“指纹特性”, 可以快速有效地鉴别金莲花的真伪。

本研究采用了表观检查、薄层色谱、高效液相色谱和红外光谱对金莲花饮片进行了质量分析, 并建立了一套比较完整的方法体系, 对快速鉴别金莲花提供了一定的方法支撑, 可用于金莲花饮片的质量分析与综合评价。

REFERENCES

- [1] 上海市中药饮片炮制规范[S]. 2008: 334.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 1977: 359-360.
- [3] 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 86.
- [4] 北京市中药饮片炮制规范[S]. 2008: 128.
- [5] 黑龙江省中药饮片炮制规范[S]. 2012: 212.
- [6] 中国药典. 四部[S]. 2015: 57-59.
- [7] LEI R, LIU Y L, DUAN J P, et al. UPLC fingerprints and chemical pattern recognition of *Trollius chinensis* Bunge [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2015, 32(6): 429-434.
- [8] CHEN J Q, WANG B Y, ZHAO J H, et al. Establishment of HPLC fingerprint for Populi Flos [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(4): 510-513.
- [9] LI G L, LIU J Q, YANG W Z, et al. Determination of total flavonoids and three flavone glycosides in *Tropeaeolum majus* L. of Shanxi [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2016, 31(1): 275-278.
- [10] YU X H, XIA P F, LI T, et al. Spectrum-effect relationship between mid-infrared spectrum fingerprint of Hedysari Radix and antioxidant capacity *in vitro* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(8): 1016-1020.
- [11] 姚新生. 有机化合物波谱解析[M]. 北京: 中国医药出版社, 2004: 40-102.
- [12] 郝彩琴, 李军, 冷晓红. 金莲花化学成分研究进展及前景展望[J]. 北方药学, 2015, 11(12): 87-88.

收稿日期: 2019-04-01

(本文责编: 沈倩)