



初均速法预测金银花的有效期

薛志平¹, 王金梅¹, 刘杰², 康文艺^{1*}

(1. 河南大学 中药研究所, 河南 开封 475004; 2. 河南省中医研究院, 河南 郑州 450004)

[摘要] 目的:研究不同温度下金银花的稳定性,预测其室温下(25 ℃)的有效期。方法:采用 HPLC 测定金银花中绿原酸的含量,以初均速法得到其活化能 E_a 和分解速率常数 K ,预测有效期。结果:金银花在 25 ℃ 下有效期为 1.29 年。结论:用初均速法预测金银花的稳定性,以测定绿原酸含量为指标,其操作简便,结果可靠,所以金银花在储存时应避高温,用室温保存,以保证其质量。

[关键词] 初均速法;金银花;有效期;高效液相色谱法

金银花,忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花,有清热解毒、凉散风热之功效^[1],主要有效成分为绿原酸和挥发油。临床上多用于治疗风热感冒、湿病发热、咽喉肿痛、丹毒、肺炎、痢疾和蜂窝状组织炎等,有“中药之中的青霉素”之称^[2]。近年来,国内外学者从科学的角度证实了金银花具有广谱抗病毒、抗菌、抗肿瘤、抗生育、增强免疫及解热抗炎、利胆、保肝、降脂、止血、抗溃疡等多种药理作用^[3]。目前对金银花药理作用的研究比较广泛和深入,但其稳定性的研究报道未见。

为考察金银花的有效期,本文以绿原酸为指标,通过初均速法结合高效液相技术,测定各温度下绿原酸的含量,推算出常温下的速率常数,从而计算出金银花的有效期,为评价其质量提供实验依据。

1 材料

岛津 LC-2010AHT 高效液相色谱仪,自动进样器,CLASS-VP 工作站,SPD-10AVP 紫外-可见检测器,KQ3200 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),101 型电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司),电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

乙腈为色谱纯,水为纯净水,甲醇、磷酸为分析纯。绿原酸对照品由四川省维克奇生物科技有限公司提供,纯度 $\geq 98\%$,批号 110315。金银花药材采

集于河南省封丘金银花种植基地。

2 方法

2.1 绿原酸含量测定^[1]

2.1.1 色谱条件 Purospher star RP-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 mL · min⁻¹,柱温 25 ℃,检测波长 327 nm,进样量 5 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品 2.0 mg,置于 50 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇(色谱纯)溶解,定容,制成质量浓度为 40 mg · L⁻¹ 的溶液(10 ℃ 以下保存)。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过 40 目筛)约 0.5 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加 50% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 5 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,过滤,即得。

2.1.4 线性关系的考察 精密吸取绿原酸对照品溶液,按 2.1.1 项色谱条件,依次进样 1, 2, 4, 6, 8, 10, 20 μL,分别记录峰面积。以进样量(X)为横坐标,以峰面积(Y)为纵坐标作回归。回归方程为 $Y = 3.5 \times 10^6 X - 6\ 384.8$, $r = 1.000\ 0$,绿原酸在 0.04 ~ 0.8 μg 呈良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验 精密吸取绿原酸对照品溶液 6 μL 注入液相色谱仪,连续进样 6 次,测峰面积, RSD 0.16%,即精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 精密称取金银花样品,按 2.1.3 方法制成供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 依法测定,结果绿原酸的 RSD 0.65%,表明

[稿件编号] 20120720003

[基金项目] 河南省科技厅重点项目(122102310272)

[通信作者] * 康文艺, Tel: (0378) 3880680, E-mail: kangweny@hotmail.com



供试液中绿原酸在 24 h 内基本稳定。

2.1.7 重复性试验 精密称取金银花样品 6 份,按

2.1.3 项制成供试品溶液,按 **2.1.1** 项进样 5 μL ,结果绿原酸的 RSD 2.0%,本实验方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率的测定 精密称取已知绿原酸

含量的金银花粉(过 40 目筛)6 份,按供试品溶液制备项下方法制备溶液,精密量取续滤液 10 mL 于 25 mL 量瓶中,分别加入等体积不同质量浓度(40, 40, 38, 38, 36, 36 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的对照品,按上述色谱条件进样 5 μL ,进行分析,计算回收率,结果见表 1。

表 1 金银花中绿原酸加样回收率试验

Table 1 The recycle rate measurement form of honeysuckle

称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得总量/mg	检出量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.305 0	0.395 7	0.40	0.792 0	0.396 3	99.08	97.74	1.2
0.305 0	0.395 7	0.40	0.779 3	0.383 6	95.90		
0.305 0	0.395 7	0.38	0.765 8	0.370 1	97.39		
0.305 0	0.395 7	0.38	0.764 9	0.369 2	97.16		
0.305 0	0.395 7	0.36	0.749 0	0.353 3	98.14		
0.305 0	0.395 7	0.36	0.751 3	0.355 6	98.78		

2.2 初均速法预测室温下金银花的有效期

2.2.1 样品在室温下峰面积的测定 精密金银花适量 3 份,按供试品溶液制备项下方法制备溶液,分别进样 5 μL ,测绿原酸的峰面积。

2.2.2 恒温加速试验 将已分装好的 9 份金银花置恒温干燥箱(恒温 $\pm 0.2\text{ }^\circ\text{C}$)中,分别于 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 $^\circ\text{C}$ 进行加速实验。每

个温度放 1 组,各组测定时间依次为 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 h,在规定时间内取出金银花(取出后立即冷却至室温)。每组精密称取 3 份样品,按 **2.1.3** 项下方法制成供试品溶液,注入高效液相色谱仪,测定。以室温下含量为 100%,计算各温度下的含量变化,以初均速法预测金银花有效期,结果见表 2。

表 2 金银花恒温加速试验

Table 2 The Honeysuckle constant temperature accelerated test's results

$T/^\circ\text{C}$	$1/(T+273.15) \times 10^3$	t/h	绿原酸/%	初均速 $V/\times 10^{-3}$	$\ln V$
115	2.576 3	1	94.91	20.765 2	3.033 3
110	2.609 9	2	93.00	12.831 1	2.551 9
105	2.644 5	4	92.43	18.919 6	2.940 2
100	2.679 9	8	97.56	8.085 8	2.090 1
95	2.716 3	16	98.71	0.803 7	-0.218 5
90	2.753 7	32	89.62	3.244 0	1.176 8
85	2.792 1	64	97.55	0.917 3	-0.086 3
80	2.831 7	128	93.94	0.473 1	-0.748 5
75	2.872 3	256	84.00	0.624 9	-0.470 2

2.3 数据处理

通过实验,可求的绿原酸在不同温度下的分解速率 V 和 $\ln V$,见表 2。

根据 Arrhenius 定律,以表 2 中的 $1/(T+273.15)$ 为横坐标、 $\ln V$ 为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $\ln V = -13\ 884/(T+273.15) + 38.900$,标准偏差为 1.550 5, $|r| > r_{0.01,7} = 0.797 7$,线性关系显著。当 $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$ 时, $\ln V_{25\text{ }^\circ\text{C}} = -7.667 2$;

$V_{25\text{ }^\circ\text{C}} = 0.000 5 \times 10^{-3}$ 。当 $\alpha = 0.1, f = 7$ 时, $t_{1-\alpha/2,7} = 1.894 6$,则 $\ln V_{25\text{ }^\circ\text{C}} = -7.667 2 \pm 2.937 0$ 。根据公式 $t_{0.9,25\text{ }^\circ\text{C}} = (100\% - 90\%)/V_{25\text{ }^\circ\text{C}}$,得上限为 460.09 年,下限为 1.29 年。

综上所述,暂定金银花的有效期为 1.29 年。

3 讨论

本文选绿原酸含量变化作为金银花有效期的指标,是基于 2010 年版《中国药典》。药典中金银花

以绿原酸和木犀草苷作为含量测定的指标成分,但木犀草苷含量很低,因此本文仅选绿原酸为金银花有效期的研究指标。

初均速法只须对每个试验温度取样 3 次,工作量大,数据处理简单。一次实验就可求出反应活化能及某一温度下的速率常数,简单方便,不需要特殊设备,并可节省时间与样品^[4]。

试验数据显示金银花中有效成分绿原酸降解速率的对数与时间的倒数线性关系显著,因此用初均速法预测其有效期是可行的。结果表明金银花在室

温(25 ℃)条件下放置稳定性良好。但为稳妥起见,此结果可供暂定有效期参考,实际有效期尚待室温留样观察进一步证实。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:147.
- [2] 白丽红, 邹宇. 金银花的药理分析与应用[J]. 中国现代药物应用, 2011, 5(4):159.
- [3] 何显忠, 兰荣德. 金银花的药理作用与临床应用[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(12):865.
- [4] 苏德森, 王思玲. 物理药剂学[M]. 北京:化学工业出版社, 2004:163.

Stable life prediction for honeysuckle by initial average rate stability test

XUE Zhi-ping¹, WANG Jin-mei¹, LIU Jie², KANG Wen-yi^{1*}

- (1. Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China;
2. Henan Academy of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the content change of chlorogenic acid in honeysuckle under different temperature, and predict its term of validity at room temperature. **Method:** The content of chlorogenic acid was assayed by HPLC. The activation energy E_a and the decomposition rate constant K were calculated by initial average rate stability tests and the prediction was carried out. **Result:** The stable life of honeysuckle has been determined as 1.29 years. **Conclusion:** The initial average rate stability test was used to predict stable life of honeysuckle, and the results are credible. Higher temperature should be avoided for honeysuckle store, and room temperature should guarantee its quality during storage.

[Key words] initial average rate stability tests; honeysuckle; stable life; HPLC

doi:10.4268/cjcmm20122103

[责任编辑 马超一]