

## 吡虫啉对金银花中木犀草苷量的影响

陈美艳<sup>1</sup>, 于晶<sup>1</sup>, 陈君<sup>1\*</sup>, 李昆同<sup>1</sup>, 张重义<sup>2</sup>

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 河南农业大学, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 目的 研究内吸性化学杀虫剂吡虫啉对金银花中木犀草苷量的影响。方法 采用高效液相色谱法, 十八烷基键合硅胶柱。流动相为乙腈(A)-0.5%磷酸(B), 梯度洗脱: 0~20 min, 流动相A由10%~30%, 流动相B由90%~70%, 20~25 min, 流动相A由30%~10%, 流动相B由70%~90%, 检测波长350 nm, 体积流量: 1.0 mL/min。结果 喷施吡虫啉的样品与空白样品之间木犀草苷的量没有显著性差异。结论 在推荐剂量和加倍剂量下, 吡虫啉对金银花木犀草苷的量没有显著影响。

**关键词:** 高效液相色谱法; 吡虫啉; 金银花; 木犀草苷

**中图分类号:** R282.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2008)03-0441-04

现阶段农药在中药材生产上应用十分普遍, 但对药材次生代谢影响的研究报道很少, 沈一行等<sup>[1]</sup>研究了内吸性杀菌剂敌克松对毛花曼陀罗 *Datura innoxia* Mill 及曼陀罗 *D. metel* L. 生物碱量的影响, 发现喷施敌克松后曼陀罗花和叶中的莨菪碱的量显著下降; 刘铁城等<sup>[2]</sup>研究了7种杀菌剂对西洋参 *Panax quinquefolium* L. 根腐病 (*Fusarium solani*) 的防治效果, 发现用不同药剂处理土壤西洋参根中总皂苷的量不同。

金银花为忍冬科忍冬属植物忍冬 *L. japonica* Thunb. 的干燥花蕾, 是常用的大宗中药材, 其第1茬花约占年产量的60%, 蚜虫是该时期的主要害虫<sup>[3]</sup>。吡虫啉(imidacloprid)作为一种高效、低毒、内吸性杀虫剂, 而被种植基地广泛应用。为此笔者选择在金银花生产中常用的内吸性杀虫剂吡虫啉进行了一系列的相关研究。随着金银花中有效成分的分析与研究, 木犀草苷的抗病毒作用亦逐渐明朗, 并且已载入2005年版《中国药典》“金银花”项下<sup>[4-6]</sup>。针对以上问题, 本实验主要对20%吡虫啉可溶性液剂在防治金银花蚜虫过程中对木犀草苷的影响做一研究。

## 1 田间试验

1.1 试验药剂: 20%吡虫啉可溶性液剂, 又名康福多(德国拜耳作物科学公司)。

1.2 试验地条件: 河南封丘潘店镇, 三年生金银花(河南农业大学张重义教授鉴定)。

1.3 防治对象: 中华忍冬圆尾蚜 *Amphicercidus sinilonicicola* Zhang, 胡萝卜微管蚜 *Sanjaphis her-*

*aclei* (Takahashi)。

1.4 小区设计: 20%吡虫啉可溶性液剂4 000倍(推荐剂量)、8 000倍(稀释剂量)2个质量浓度及清水空白对照3个处理, 每处理3个重复, 共9个小区, 每小区10株, 随机排列, 小区间设保护行。

1.5 施药方法: 鑫达3WBS-16背负式手动喷雾器(台州市路桥福达喷雾器厂), 喷雾施药, 5月14日上午9:00~10:00施药, 使其均匀着药。采用一次施药多次采样的方法。

1.6 采样: 分别于当天(施药后1~2 h)、1、3、5、7、9、11、13、15 d后取二白期花蕾, 每株按东西南北、上中下均匀采样, 每小区约300 g, 逐步升温法烘干后粉碎备用。

## 2 室内试验

2.1 实验仪器: Waters600—486高效液相色谱仪(紫外检测器), Empower色谱工作站, 超声仪, 电子天平(精确度0.0001 g), 0.45 μm微孔滤膜及其他玻璃仪器。

2.2 色谱条件: Puropher C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.5%磷酸梯度洗脱: 0~20 min, 流动相A由10%~30%, 流动相B由90%~70%, 20~25 min, 流动相A由30%~10%, 流动相B由70%~90%, 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 350 nm; 进样量: 10 μL; 柱温: 室温。在此条件下的液相色谱图, 见图1。

2.3 试剂及试药: 木犀草苷对照品(中国药品生物制品检定所); 乙醇(分析纯); 磷酸(分析纯); 冰醋酸

\* 收稿日期: 2007-05-15

基金项目: 国家中医药管理局项目(02-03ZP03); 国家科技攻关计划项目(2001BA701A58)

作者简介: 陈美艳(1980—), 女, 山东沂南人, 中国协和医科大学药用植物研究所读硕士研究生, 研究方向为药用植物栽培与保护。

Tel: (010)62820904 E-mail: chenmeiyan\_57@126.com

\* 通讯作者 陈君 Tel: (010)62899731 E-mail: junzichen@263.com

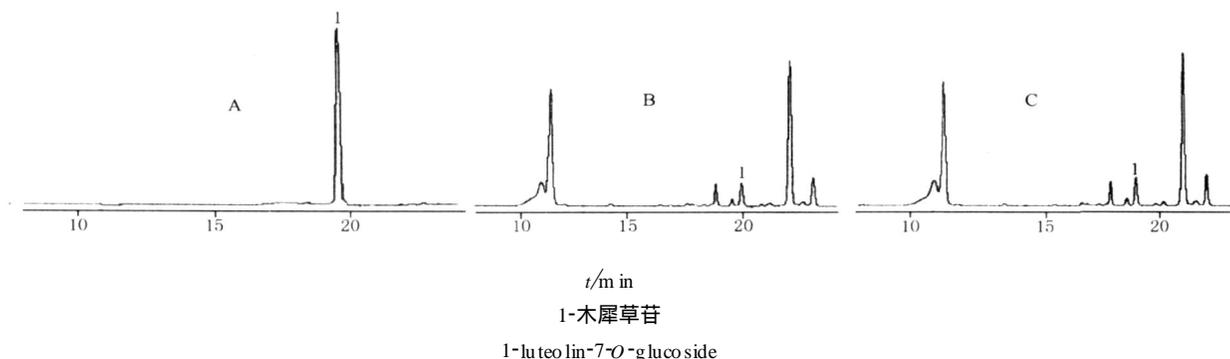


图1 木犀草苷(A)、金银花对照样品(B)及施药样品(C)液相色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of luteolin-7-O-glucoside (A), Flos Loniceræ reference solution (B), and Flos Loniceræ sample (C)

(分析纯), 乙腈(色谱纯); 双蒸水(自制)。

#### 2.4 方法与结果

2.4.1 对照品溶液的制备: 精密称取木犀草苷对照品1.6 mg, 置25 mL 棕色量瓶中, 加70% 乙醇溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4.2 供试品溶液的制备: 样品过4号筛, 精密称取细粉3 g, 置100 mL 具塞三角瓶中, 精密加入70% 乙醇溶液50 mL, 称定质量, 超声(250 W, 35 kHz) 30 min, 放冷, 称定质量, 用乙醇溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液过0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.4.3 标准曲线的绘制: 精密吸取对照品溶液(64 μg/mL) 2, 6, 10, 15, 20 μL 分别注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以峰面积(Y)与质量浓度(X)进行回归, 得到线性回归方程  $Y = 137\,450.15X - 23\,831.03$ ;  $r = 0.9998$ ; 结果表明, 木犀草苷在0.13~1.3 μg 线性关系良好。

2.4.4 精密度试验: 在上述色谱条件下, 精密吸取对照品溶液(64 μg/mL) 10 μL, 连续进样6次, 木犀草苷峰面积的RSD = 0.78%。

2.4.5 重现性试验: 精密称取5月21日施药8 000倍的样品6份, 按供试品溶液的制备方法制备, 依法进样测定木犀草苷的量, 结果样品中木犀草苷为0.122 6%, RSD = 0.87%, 表明方法重现性良好。

2.4.6 稳定性试验: 将样品供试液置室温下, 每2 h 测定一次, 每次10 μL, 木犀草苷质量分数的RSD = 0.92%, 表明供试样品溶液在10 h 内保持稳定。

2.4.7 加样回收率试验: 采用加样回收法, 精密称取已知量的供试品1.5 g, 精密加入木犀草苷对照品溶液适量, 按样品提取测定方法测定, 结果平均回收率98.07%, RSD 为1.36(n = 6)。

2.4.8 样品测定结果: 用本品测定方法对不同施药

浓度的金银花样品进行测定, 结果见表1。对喷施吡虫啉的样品与对照样品进行比较, 结果发现P 值均大于0.05, 没有显著性差异, 说明吡虫啉对木犀草苷的量没有显著影响。

表1 不同质量浓度吡虫啉对金银花中木犀草苷的量的影响(n = 3)

Table 1 Effects of imidacloprid at different concentration on luteolin-7-O-glucoside in Flos Loniceræ (n = 3)

采样时间	对照组	木犀草苷/%	
		8 000 倍浓度	4 000 倍浓度
05-14	0.135 6	0.132 2	0.127 5
05-15	0.118 1	0.112 1	0.112 6
05-17	0.068 5	0.072 0	0.080 4
05-19	0.104 3	0.119 9	0.110 5
05-21	0.120 1	0.123 4	0.120 9
05-23	0.157 7	0.152 9	0.144 4
05-25	0.146 5	0.154 0	0.154 3
05-27	0.157 9	0.158 2	0.167 2
05-29	0.144 9	0.143 5	0.144 2

### 3 讨论

3.1 在本实验条件下, 按照《中国药典》测定方法木犀草苷色谱峰分离效果不理想, 所以在原有条件基础上笔者进行了改进, 将“0~30 min 流动相A 由10%~30%, 流动相B 由90%~70%”改为“0~20 min, 流动相A 由10%~30%, 流动相B 由90%~70%, 20~25 min, 流动相A 由30%~10%, 流动相B 由70%~90%”; 分离效果理想, 保留时间提前到19.7 min。

3.2 由表1可以看出, 第3天采收样品中木犀草苷的量明显低于其他时间采集样品的量, 且低于《中国药典》标准, 这可能与该天样品烘制过度而使样品变黑, 导致木犀草苷的量降低, 所以在金银花药材加工过程中, 调控好温度也是保证药材质量的关键步骤。

3.3 通过以上研究表明, 吡虫啉对木犀草苷的量没

有显著影响;而笔者在研究吡虫啉对金银花中绿原酸的量是否有影响时发现,施药后绿原酸的量有所升高,而且施药浓度越高,影响越明显<sup>[7]</sup>。导致以上不同的原因可能是两者代谢途径不同,在植物体内所起的作用也不同<sup>[8,9]</sup>;而且通常认为,绿原酸是植物保护素之一,内吸性杀虫剂吡虫啉喷施到金银花上以后,可能对植株产生一定刺激,而使其次生代谢发生一些改变,使绿原酸的量升高,这是其抗御伤害进行自我保护的机制之一,但其具体机制还需进一步研究。

3.4 苏文华等<sup>[10]</sup>对植物药材次生代谢产物的积累与环境的诱导机制等进行了综述,提出以国内外次生代谢研究基本知识和理论为基础,探讨药用植物种植有效成分积累变化的内在规律,探索和建立符合栽培药用植物次生代谢物质积累规律的机制和理论,使植物药材种植中质量控制研究建立在科学的理论基础之上,所以,农药对药材成分影响的研究还有大量工作要做。

## 参考文献

- [1] 沈一行,朱玉香,宋洪涛,等. 敌克松对两种曼陀罗生物碱含量的影响 [J]. 中药材, 1993, 16 (3): 7-9.
- [2] 刘铁城,刘惠卿,王丽华,等. 西洋参根部腐烂病药剂防治研究 [J]. 中药材, 1987(2): 1-4.
- [3] 王广军,杨建丽,高国华. 金银花病虫害综合防治技术 [J]. 河南农业科学, 2003, 9: 69-70.
- [4] (中国药典) [S]. 一部. 2005.
- [5] 金晓玲,王宇峰,闫申. HPLC法测定金银花中木犀草苷的含量 [J]. 数理医药学杂志, 2006, 19 (6): 637.
- [6] 马双成,刘燕,毕培曦,等. 金银花药材中抗呼吸道感染黄酮类成分的定量研究 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26 (4): 426-430.
- [7] 陈美艳,陈君,李昆同,等. 吡虫啉对金银花绿原酸含量影响的初步研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, 8 (6): 54-57.
- [8] 王建伟,周凌云,柯用春. 土壤水分对金银花中硝酸盐和绿原酸含量的影响 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34 (4): 721, 731.
- [9] 柯玉琴,潘廷国. NaCl胁迫对甘薯苗期生长、IAA代谢的影响及其与耐盐性的关系 [J]. 应用生态学报, 2002, 13 (10): 1303-1306.
- [10] 苏文华,张光飞,李秀华,等. 植物药材次生代谢产物的积累与环境的诱导机制 [J]. 中草药, 2005, 36 (9): 1415-1418.

## 岗松的定性定量分析方法研究

刘布鸣,梁凯妮,卢文杰,蔡全玲,林霄,陈明生\*

(广西中医药研究院,广西南宁 530022)

**摘要:**目的 对岗松进行分析研究,建立定性定量分析方法,为岗松的质量标准制定提供方法和依据。方法 采用薄层色谱进行定性鉴别;定量方法采用气相色谱测定岗松中芳樟醇的量:以聚乙二醇(PEG)-20M和硅酮(OV-17)为固定液的混合柱,柱温150℃,外标法定量。结果 芳樟醇在0.109 4~0.656 3 μg呈线性关系;分别对岗松的枝叶和根茎进行了测定,平均回收率分别为99.04% (RSD=2.48%, n=6)和98.03% (RSD=2.79%, n=6)。结论 该方法简便、准确,专属性强,重现性、回收率好,可作为岗松药材的质量控制方法。

**关键词:** 岗松;薄层色谱;气相色谱;芳樟醇

中图分类号: 282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)03-0443-03

岗松为桃金娘科岗松属植物岗松 *Baeckea frutescens* L., 主要分布于广西、广东、江西、福建等地,具有化痰止痛、清热解毒、利尿通淋、杀虫止痒之功效,用于跌打瘀肿、肝硬化、热泻、热淋、小便不利、阴痒、脚气、皮肤瘙痒、疥癣、水火烫伤、虫蛇咬伤<sup>[1]</sup>。目前对岗松的研究多为挥发油化学成分<sup>[2,3]</sup>,分析方法的研究报道较少。笔者采用薄层色谱法和气相色谱法,以主要成分之一的芳樟醇为对照,对岗松进行了定性定量分析方法研究,并对枝叶和根茎分别进

行了分析比较,为药材的进一步开发利用提供基础数据,为岗松药材及其制剂的质量标准研究奠定基础 and 依据。

## 1 材料

1.1 仪器、试剂:日本岛津GC-14B气相色谱仪,威玛龙色谱工作站;硅胶G,青岛海洋化工厂;芳樟醇对照品(1503-200001),由中国药品生物制品检定所提供;岗松对照药材(1223-0301),由中国药品生

\* 收稿日期: 2007-05-09

基金项目: 广西自然科学基金项目(桂科自0542021); 广西大型仪器协作共用专项资金资助项目(292-2005-85)

作者简介: 刘布鸣(1956—),男,湖南人,研究员,主要从事药物化学成分、质量标准与质量控制方法研究。

Tel: (0771) 5883405 E-mail: liubum.ing@yahoo.com.cn