

金银花功效成分的分析与鉴定

张上上 付欣然 王英 倪阳 (通讯作者)

秦皇岛市食品药品检验中心, 河北秦皇岛, 066000;

摘要: 金银花作为一味重要的传统中药材, 以其清热解毒、抗炎抗病毒等功效广泛应用于临床, 其复杂的化学成分是其多样药理活性的物质基础。本文系统阐述了金银花的药理作用及其核心功效成分的提取分离方法, 进而详细介绍了从经典化学分析到现代仪器分析在金银花成分定性、定量分析中的应用与进展, 重点阐述了现代色谱-质谱联用技术, 特别是超高效液相色谱-高分辨质谱在金银花成分定性、定量分析中的应用与优势。最后, 针对当前研究的局限性, 提出并探讨了整合植物代谢组学与网络药理学的新策略, 旨在系统、全面地揭示金银花的药效物质基础及其“多成分-多靶点-多通路”的作用机制, 为金银花的质控提升、资源开发及现代化研究提供新的思路与理论依据。

关键词: 金银花; 功效成分; 分析与鉴定; 植物代谢组学; 网络药理学

DOI: 10.69979/3029-2808.26.02.086

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花, 夏初花开前采摘, 干燥。金银花味甘、性寒, 归肺、心、胃经, 具有清热解毒、疏散风热的功效, 用于痈肿疔疮、喉痹、丹毒、热毒血痢、风热感冒、温病发热^[1]。金银花始载于《神农本草经》, 称忍冬, 列为上品, 为常用的药食同源植物^[2]。李时珍谓“初开者, 蕊瓣具色白, 经二、三日, 则色变黄, 新旧相参, 黄白相映, 故呼金银花”。金银花主要含有挥发油类、黄酮类、有机酸类、环烯醚萜类和三萜类等化学成分^[3]。金银花具有解热抗炎、抑菌抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、利胆保肝、降血糖、降血脂、抗早孕、杀虫、止血和增强免疫力等多种药理作用^[4]。针对中药多成分、多靶点的整体调节作用特点, 仅对少数几个已知指标成分的定量分析及单一活性的考察, 不能全面解析金银花的药效物质基础。因此, 采用现代先进的分析技术, 对金银花中的化学成分进行系统、全面的表征与鉴定, 并进一步将这些化学成分群与其整体药效相关联, 成为当前金银花研究领域的关键科学问题。

1 金银花主要功效成分的提取分离

1.1 提取方法

对功效成分进行高效、全面的提取与分离, 是后续分析与鉴定的前提。

溶剂提取法是最经典和应用最广的方法。通常采用不同浓度的有机溶剂-水溶液作为溶剂, 利用相似相溶原理, 通过回流、浸渍或超声辅助等方式进行提取。该

方法操作简便, 成本较低, 但选择性相对较差, 提取物成分复杂。主要包括水提法、超临界流体萃取法、微波辅助萃取法与超声辅助萃取法等。在基于中医传统用药习惯, 水是最常用的溶剂。此法对极性较大的成分(如有机酸、黄酮苷)提取效率高, 但易提取出淀粉、蛋白质等杂质, 给后续分离带来困难, 且可能引起某些酯类成分的水解。超临界流体萃取法常使用超临界二氧化碳作为萃取剂。该方法条件温和, 无溶剂残留, 特别适用于挥发油、脂溶性成分的提取。通过调节温度、压力, 可实现对特定极性范围成分的选择性萃取, 但设备投资较大, 对强极性成分提取效果不佳。微波辅助萃取与超声辅助萃取法均为物理场强化萃取技术。微波通过分子极化和离子传导使物料内部瞬间产生热量, 加速有效成分的溶出; 超声波则利用空化效应破坏植物细胞壁, 增强传质效率。两者均能显著缩短提取时间, 提高提取效率, 是目前研究中的常用手段。在实际研究中, 常通过单因素实验或响应面法对提取溶剂、温度、时间、料液比等参数进行系统优化, 以确定最佳提取工艺。

1.2 分离与纯化方法

粗提物需经过进一步分离才能得到单体成分或特定组分。常用的分离纯化方法主要包括系统溶剂分离法、大孔吸附树脂法、色谱法以及制备型高效液相色谱法等。其中系统溶剂分离法是利用不同极性溶剂(如石油醚、乙酸乙酯、正丁醇等)对粗提物进行依次萃取, 从而将成分按极性初步分离成不同部分。大孔吸附树脂法广泛

应用于中药成分的富集与纯化。通过调节上样液浓度、洗脱溶剂等,可选择性地吸附和解吸目标成分,常用于绿原酸等有机酸和黄酮苷类成分的富集。色谱法是获得高纯度单体的核心技术。常用的色谱柱包括硅胶柱色谱、聚酰胺柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱等,根据成分的吸附性、分子大小或氢键作用力差异进行分离,是制备规模分离的主要手段。制备型高效液相色谱具有高分辨率和高效率的特点,可用于微量难分离成分的快速制备,是获取高纯度标准品的重要工具。

2 现代分析技术与方法在金银花研究中的应用

2.1 色谱分离技术

实现对金银花复杂化学成分体系的高效、精准分析,高度依赖于现代分析技术的进步,尤其是色谱分离技术与质谱鉴定技术的联用。其中色谱技术是复杂样品分离的前端利器。反相液相色谱(RPLC)是目前最主流的分离技术。它使用非极性的固定相(如C18)和极性的流动相,对金银花中的中等极性和非极性化合物,如黄酮苷元、三萜皂苷、环烯醚萜等,具有出色的分离效果。亲水相互作用液相色谱(HILIC)作为反向液相色谱的重要补充,使用极性固定相和高比例有机相(如乙腈)的流动相,对高极性化合物,如有机酸、部分高极性黄酮苷、氨基酸、核苷等,具有更强的保留和更好的分离度。将RPLC与HILIC结合,可以几乎覆盖金银花从强极性到弱极性的整个化学空间,是实现全面代谢组学分析的关键。

2.2 质谱鉴定技术

质谱技术,特别是高分辨质谱,是化合物定性和定量的核心。Orbitrap、TOF等质谱仪能够提供化合物的精确分子量(误差<5 ppm),可以计算出唯一的元素组成,这是区分不同化合物的第一道,也是至关重要的一道关卡。多级质谱碎片离子则通过碰撞诱导解离或高能碰撞解离等技术,使母离子碎裂,产生特征性的碎片离子谱图。多级质谱碎片离子数据提供了化合物的骨架结构和官能团信息,是区分同分异构体和推导化学结构的直接证据。Orbitrap ID-X等三合一质谱仪将离子阱的多级碎裂能力与Orbitrap的高分辨能力相结合,可轻松获得MS₂乃至MS₃、MS₄的高分辨碎片信息,极大地增强了结构解析的深度和可靠性。

2.3 数据分析与结构解析策略

金银花主要功效成分的分析过程中,数据分析是不可或缺的一环。面对HRMS产生的大量复杂数据,高效的数据处理策略至关重要。通过谱库检索可以将实验获得的MS和MS_n谱图与商业化或自建的标准谱库(如mzCloud, MassBank)进行比对,是鉴定已知化合物最快捷的方式。质谱树相似性注释则可以对于谱库中不存在的“未知”化合物,可以计算其碎裂谱图与已知结构化合物的谱图之间的相似性,根据“相似结构具有相似裂解行为”的原理,对未知物进行结构归类或推测。计算机辅助裂解预测则利用基于规则的in silico裂解软件(如CFM-ID, SIRIUS),可以预测一个候选结构的质谱裂解行为,将预测谱图与实验谱图比对,从而从众多候选结构中筛选出最可能的一个。母离子-子离子指纹图谱:系统性地分析所有母离子与子离子、中性丢失之间的关系,可以识别出共享相同结构单元的化合物系列(如都具有槲皮素母核的黄酮苷),有助于快速归类和组织数据。

3 研究新思路与新方法

为了突破当前研究的局限,迫切需要引入新的研究范式。将植物代谢组学与网络药理学进行整合,形成一条从化学物质组到生物效应组的系统性研究路径,是极具前景的新思路。

3.1 基于双系统色谱-高分辨质谱的植物代谢组学研究

双色谱系统全面分离,即对同一份金银花提取物,分别采用优化的RP-LC-MS和HILIC-LC-MS方法进行分析。这两个数据集互为补充,共同构成了金银花近乎完整的“化学指纹”。同时,在两种色谱系统下,均采用高分辨质谱进行深度数据采集,以UPLC-Orbitrap ID-X平台,结合DDA和AcquireX Deep Scan模式进行数据采集。这不仅确保了主要成分能被有效碎裂,还显著增强了对痕量、低丰度成分的MS_n数据获取能力。然后,对采集到的高质量MS_n数据进行系统性化合物鉴定与相对定量,尽可能多地对色谱峰进行注释和鉴定,包括已知化合物确认和未知化合物结构推测。同时,基于一级离子的峰面积,建立各组分的相对定量方法。最后,通过化学计量学分析发现药理活性标志物,将不同产地、不同采收期或不同炮制方法的金银花样本作为不同的组别,获取其代谢组学数据。运用多元统计分析(如主成

分分析、偏最小二乘判别分析)和单变量分析,寻找组间具有显著差异的化学标志物。这些标志物是导致药材品质差异的关键化学成分。

3.2 基于网络药理学的药效机制预测与验证

在获得详尽的化学成分信息后,研究进入药效机制探索阶段,主要包括一下五部分。一:活性成分与潜在靶点预测。利用传统中药系统药理学数据库和分析平台、SwissTargetPrediction 等数据库,对鉴定出的金银花化学成分(特别是差异标志物成分)进行口服生物利用度和类药性筛选,并预测其潜在的蛋白质作用靶点。二:网络构建与可视化。将预测得到的成分-靶点关系对,导入 Cytoscape 等软件,构建“金银花活性成分-作用靶点”网络。此网络可以直观展示金银花多成分、多靶点的作用特征。三:蛋白互作与核心靶点挖掘。将上述靶点导入 STRING 数据库,构建蛋白质-蛋白质相互作用网络。通过拓扑学分析(如度值、介数中心性),筛选出网络中的核心靶点,这些靶点可能在金银花药效发挥中起枢纽作用。四:通路富集分析与机制阐释。对核心靶点进行 KEGG 通路富集分析和 GO 生物过程注释。通过富集分析,可以揭示金银花作用的信号通路集群,如病毒性疾病通路、炎症介质通路、免疫反应通路等,从而从系统层面解释其抗炎、抗病毒的作用机制。五:分子对接验证。利用 AutoDock 等分子对接软件,模拟关键活性成分与核心靶点蛋白的三维结合模式和作用力。通过计算结合能,从理论上验证预测的可靠性,为后续的实验验证(如细胞热位移 assay、表面等离子共振技术)提供重点方向。通过这条整合的技术路线,研究不再是化学分析与药理学研究的简单叠加,而是形成了一个从“化学物质基础发现”到“生物机制预测”,再到“关键环节验证”的完整逻辑闭环,能够系统、深刻地揭示金银花的药效物质基础和作用机理。

4 总结与展望

金银花作为中医药宝库中的瑰宝,其价值的深度挖掘离不开现代科学技术的支撑。本文系统综述了其功效成分分析与鉴定研究的发展历程,并指出,在当前阶段,依赖于单一分析技术和孤立研究模式的传统方法已难以满足全面阐释其药效物质基础的需求。未来金银花研究的方向,必然是走向系统化、整合化和智能化。本文所提出的整合植物代谢组学与网络药理学的研究策略,正是这一发展趋势的体现。通过该策略的实施,不仅能够为金银花的传统功效提供现代科学语言的解读,为其质量控制、标准制定提供更全面的化学依据,还能发现新的活性先导化合物,为开发基于金银花化学成分的创新药物奠定坚实的基础。最终,这将有力推动金银花这一传统中药材的现代化和国际化进程,让古老的中药焕发出新的生机与活力。

参考文献

- [1] 中国药典 2025 年版一部.
- [2] 郑婷月,刘文静,董树清,等.金银花挥发油提取、成分分析及药理作用的研究进展[J], 华西药学杂志,2025,40(3):331-337.
- [3] Wang LN, Jiang Q, Hu JH, et al. Research progress on chemical constituents of *Lonicerae japonicae* flos[J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 8968940.
- [4] 刘晓龙,李春燕,薛金涛.金银花主要活性成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报,2021,38(10):992-995.

作者简介:张上上(1985-),女,高级工程师,硕士,研究方向食品药品质量。

倪阳(1985-),女,工程师,研究方向食品药品检测。

项目基金:秦皇岛市科技计划项目(202401A067)