

网络出版时间:2015-09-09 15:41

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.10.023

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150909.1541.046.html

忍冬开花过程中花青苷组成及含量的变化

刘安成¹, 尉 倩¹, 王 庆¹, 王亮生², 庞长民¹

(1 陕西省西安植物园, 陕西 西安 710061; 2 中国科学院植物研究所 北京植物园, 北京 100093)

[摘 要] 【目的】探讨忍冬属(*Lonicera* Linn.)植物花朵中花青苷的种类及开花过程中含量的变化,为忍冬花色育种提供依据。【方法】以忍冬(*L. japonica* Thunb.)、‘火焰’忍冬(*L. × heckrottii* Rehd. ‘Huoyan’)、‘格雷姆’忍冬(*L. periclymenum* L. ‘Geleimu’)、贯月忍冬(*L. sempervirens* L.)和‘台尔曼’忍冬(*L. × tellmanniana*)5种藤本植物为材料,采用高效液相色谱-二极管阵列检测技术(HPLC-DAD)、高效液相色谱-电喷雾离子化-质谱联用技术(HPLC-ESI-MSⁿ),对各材料开花过程中的花青苷进行定性及定量分析。【结果】在开花过程中,5种忍冬属植物花色变化明显,但在忍冬花朵中未检测到花青苷存在,在‘火焰’忍冬、贯月忍冬、‘格雷姆’忍冬和‘台尔曼’忍冬中共检测到4种花青苷,分别为矢车菊素 3,5-二葡萄糖苷、矢车菊素 3-葡萄糖苷、芍药花素 3,5-二葡萄糖苷和芍药花素 3-葡萄糖苷,其中矢车菊素 3,5-二葡萄糖苷为主要花色素成分。5种忍冬属植物在不同开花阶段花青苷种类基本一致,但含量均有较为明显的变化。【结论】5种忍冬属植物的花青苷组成及含量变化与其花色转变相一致,可为忍冬花色育种提供参考。

[关键词] 忍冬;花青苷;液质联用

[中图分类号] S682.39

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2015)10-0169-06

Changes in composition and content of anthocyanins during flowering process of *Lonicera*

LIU An-cheng¹, YU Qian¹, WANG Qing¹,
WANG Liang-sheng², PANG Chang-min¹

(1 Xi'an Botanical Garden of Shaanxi Province, Xi'an, Shaanxi 710061, China;

2 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract: 【Objective】 This study investigated the changes in anthocyanins composition and content in *Lonicera* during flowering to provide theoretical basis for development and breeding of flower colors. 【Method】 A high performance liquid chromatography (HPLC) with a photodiode array detector (HPLC-DAD) and a HPLC-electrospray ionization-multiple mass spectrometry (HPLC-ESI-MSⁿ) were employed for qualitative and quantitative analysis of anthocyanins from *L. japonica* Thunb., *L. × heckrottii* Rehd. ‘Huoyan’, *L. periclymenum* L. ‘Geleimu’, *L. sempervirens* L. and *L. × tellmanniana*. 【Result】 During flowering process, the colors of all varieties changed significantly. But no anthocyanins were detected in flowers of *L. japonica* during flowering process. In *L. × heckrottii* Rehd. ‘Huoyan’, *L. sempervirens* L., *L. periclymenum* L. ‘Geleimu’ and *L. × tellmanniana*, a total of 4 anthocyanins including Cy 3,5-di-O-glucoside, Cy 3-O-glucoside, Pn 3,5-di-O-glucoside, and Pn 3-O-hexoside were detected. Cy 3,5-di-O-glucoside was the main pigment. The types of anthocyanins from different varieties were almost same but their con-

[收稿日期] 2014-03-19

[基金项目] 陕西省科学院应用基础研究专项(2013K-08);西安市农业及区县工业创新计划-农业技术研发项目(NC1407-1)

[作者简介] 刘安成(1973—),男,陕西山阳人,副研究员,主要从事观赏植物资源开发与利用研究。

E-mail: anchengliu123@163.com

tents were significantly different. 【Conclusion】 The transformation of flower colors was consistent with composition and content of anthocyanins in *Lonicera* flower. This study could provide reference for breeding and selection of special flower colors.

Key words: *Lonicera*; anthocyanins; HPLC-MS

忍冬属(*Lonicera* Linn.) 隶属于忍冬科(Caprifoliaceae), 该属植物约有 200 种, 在北美洲、欧洲、亚洲和非洲北部的温带和亚热带地区均有分布, 但亚洲种类最多, 多样性尤以中国为最。我国忍冬属植物有 97 种、5 亚种、18 变种, 广布于全国各省区, 但以西南部种类最多^[1], 其中忍冬(*L. japonica* Thunb.) 是中国著名中药金银花的药源植物。迄今已对金银花、山银花及同属其他植物的花、叶和藤中的绿原酸、木犀草苷、黄酮等化学成分及药理进行了大量研究^[2-6]。同时, 本属内还有许多具有优良观赏价值的种类, 如从国外引种的贯月忍冬(*L. sempervirens* L.)、‘台尔曼’忍冬(*L. × tellmanniana*) 及中国科学院植物研究所北京植物园自育的‘火焰’忍冬(*L. × heckrottii* Rehd. ‘Huoyan’) 和‘格雷姆’忍冬(*L. periclymenum* L. ‘Geleimu’) 等优良品种, 这 4 种植物花色多样, 并富于变化, 观赏价值较高, 在园林绿化中可发挥重要的作用^[7]。

花青苷(Anthocyanins)是植物花色形成的重要物质基础, 因此对花青苷成分和含量进行分析是花色研究的重要内容之一^[8]。目前, 对忍冬属植物果实类黄酮的研究较多, Chavoanalikit 等^[9]对蓝靛果忍冬(*L. caerulea* var. *kamtschatica*) 果实进行了类黄酮化合物测定, 共检测到 6 种花青苷, 分别为矢车菊素 3-葡萄糖苷(Cyanidin 3-glucoside)、矢车菊素 3,5-二葡萄糖苷(Cyanidin 3,5-diglucoside)、矢车菊素 3-芸香糖苷(Cyanidin 3-rutinoside)、天竺葵素 3-葡萄糖苷(Pelargonidin 3-glucoside)、芍药花素 3-葡萄糖苷(Peonidin 3-glucoside)和芍药花素 3-芸香糖苷(Peonidin 3-rutinoside)。Jordheim 等^[10]从 7 种忍冬属植物的浆果或秋天叶片中检测出 5 种花青苷。但目前国内外针对忍冬属植物开花过程中花青苷组成及变化的研究较少, 刘安成等^[11]对 5 种忍冬属植物花朵不同开花阶段的绿原酸种类及含量进行了分析, 发现除初蕾期外, 贯月忍冬其他不同开花时期的总绿原酸含量显著高于忍冬。

为进一步探讨不同忍冬属植物的功能应用价值, 并探讨花青苷类物质在其开花过程中的变化规律, 本研究采用高效液相色谱-二极管阵列检测技术(HPLC-DAD)和高效液相色谱-电喷雾离子化-质谱

联用技术(HPLC-ESI-MSⁿ), 对忍冬及其同属 4 种植物不同开花阶段花朵中的花青苷组成及含量变化进行了分析, 以期对忍冬属植物的功能应用及花色育种提供科学依据, 也为阐明忍冬花色形成机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料采集与处理

选取具有典型花色、花型的 5 种忍冬属藤本植物‘火焰’忍冬、‘格雷姆’忍冬、贯月忍冬、忍冬和‘台尔曼’忍冬(图 1)为试验材料, 均采自中国科学院植物研究所北京植物园。在晴天上午 07:00—09:00, 采集不同开花阶段的花朵, 装入塑料自封袋内, 于室内进行清理, 并将忍冬属植物开花过程分为初蕾期(Initial alabstrum period)、中蕾期(Meddle alabstrum period)、膨大期(Expand period)、初花期(Initial flowering period)和末花期(Final flowering period)5 个阶段^[11]。

由图 1 可见, 各种(品种)忍冬从蕾期到末花期花色变化明显, ‘火焰’忍冬初蕾期为紫红色, 开花后转为红色; ‘格雷姆’忍冬初蕾期为绿色, 随着花蕾膨大到开放由黄色变为金黄色; 贯月忍冬蕾期为紫色, 开放后为红色, 花瓣内部初花为黄色, 到末花期转变为红色; 忍冬初蕾期为绿色, 随着花蕾膨大, 绿色褪掉而成白色, 花后期由白色变为黄色; ‘台尔曼’忍冬花蕾为橘红色, 花初开时花瓣内部为橘黄色, 到末期颜色加深变为红色。

1.2 花青苷成分的提取

称取不同开花阶段各种忍冬花蕾或花朵 2 g, 液氮研磨后转入锥形瓶中, 加入 V(甲醇): V(盐酸): V(水)=70:0.1:29.9 的提取液适量, 4℃暗光下浸提 24 h, 冷冻离心机离心 5 min (12 000 r/min, 4℃), 转出上清液后继续加入适量提取液重复浸提, 混合浸提液, 取上清液用滤纸粗滤后, 经微孔滤膜(0.45 μm)过滤, 保存于 4℃冰箱中供花青苷定性、定量分析用。每个样品重复 3 次。

1.3 花青苷的定性分析

1.3.1 HPLC-DAD 分析 所用仪器为戴安(Dionex HPLC-DAD)系统。液相色谱系统包括 PDA-

100 光电二极管阵列检测器、P680A LPG-4 型二元梯度泵、UltiMate 3000 自动进样器、TCC-100 色谱柱控温箱和 Chameleon 6. 60 工作站。色谱柱为日本 Tosoh 株式会社生产的 TSK gel ODS 280TsQA

反相硅胶柱(4.6 mm ×150 mm,5 μm)。
所用试剂有甲酸(分析纯)、乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、水(双蒸水,试验室自制)。

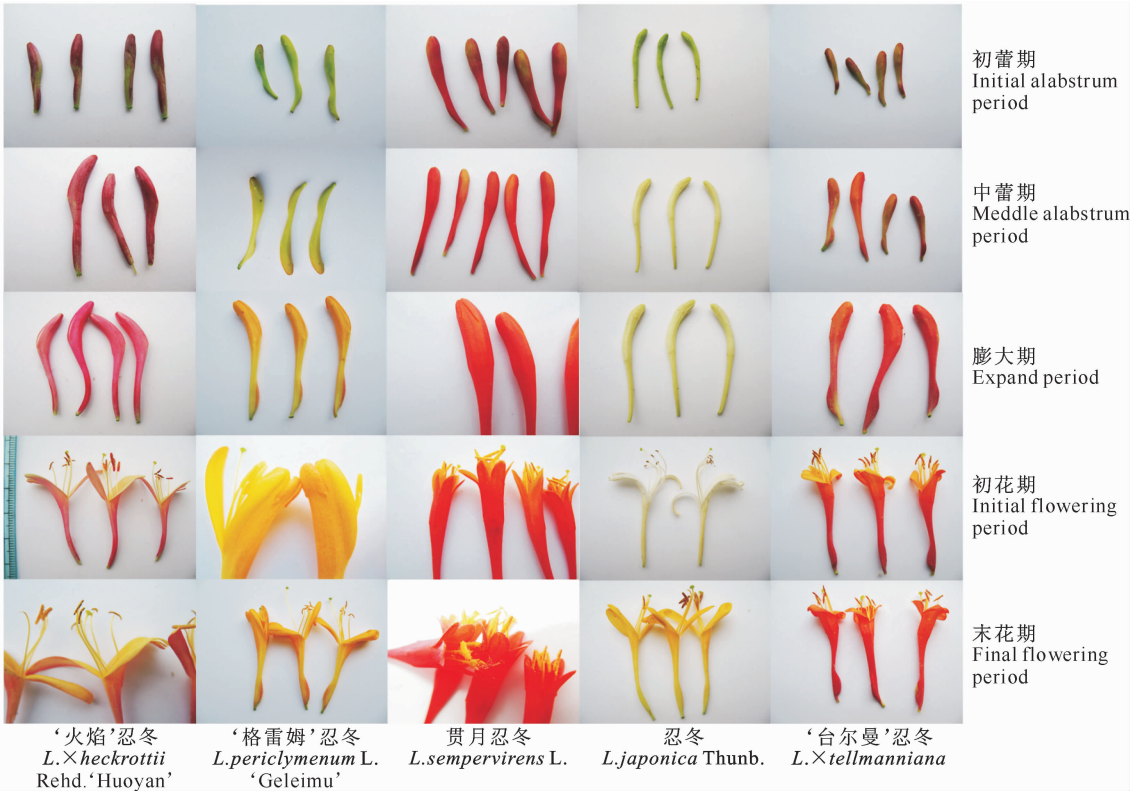


图 1 5 种忍冬属植物不同开花阶段的花朵形态

Fig. 1 Flower morphologies of 5 *Lonicera* varieties during different flowering periods

分析条件为:柱温 35 ℃,流速 0.8 mL/min,进样体积 10 μL,花青苷的检测波长为 525 nm,200~800 nm 内全波长扫描吸收光谱。流动相 A 液为甲酸水溶液(V(甲酸):V(水)=0.1:99.9);B 液为甲酸-乙腈溶液(V(甲酸):V(乙腈)=85:15)。

线性梯度洗脱程序为 0 min,8%B;20 min,30%B;30 min,8%B。

1.3.2 HPLC-ESI-MSⁿ 分析 对 HPLC 检测出的峰较多的样品提取液,采用安捷伦(Agilent 1100 LC/MSD Trap VL)液质联用系统进行 HPLC-ESI-MSⁿ 分析。

液相色谱分析条件、流动相组成、洗脱程序与 1.3.1 节相同,进样体积 15 μL。质谱分析条件:电喷雾离子化(ESI),离子阱分析器,正离子检测模式,全离子扫描,扫描范围(*m/z*)100~1 000 nm。毛细管电压 3 500 V,喷雾器压力 241.3 kPa,毛细管出口电压 117.9 V,干燥温度 350 ℃,干燥气(N₂)流速 6.0 L/min。

1.4 花青苷的定量分析

运用 HPLC-DAD 方法,在波长 525 nm 条件下,采用标准品半定量法,分别计算新鲜花蕾和花朵中的花青苷含量(μg/g),以锦葵素 3,5-二葡萄糖苷(Malvidin-3, 5-diglucoside, Mv3G5G, 购于法国 Extrasynthese 公司)标准品为参照^[12]。每样品 3 个重复,结果取平均值。

1.5 数据统计与分析

用 LC/MSD Trap 软件(5.2 版)分析质谱结果,用 SPSS 11.5 对数据进行分析,用 SigmaPlot 10.0 绘制花青苷 HPLC 色谱图。

2 结果与分析

2.1 5 种忍冬属植物花中花青苷成分的分析

对 5 种忍冬植物不同开花阶段花蕾或花朵提取液在 525 nm 下进行 HPLC-DAD 检测,结果表明,‘火焰’忍冬初蕾期出现峰 a1 和 a3,中蕾期及之后检测到 a1、a2 和 a3;‘格雷姆’忍冬只检测到 a1;贯月

忍冬不同时期都检测到 a1、a2 和 a3,在末花期还检测到弱的峰 a4(图 2);忍冬在不同开花时期都未检出特征峰;‘台尔曼’忍冬均检测到特征峰 a1、a2 和 a3。花青苷类物质在紫外-可见吸收光下具有 2 个明显的吸收峰,位于波长较长一侧的 500~540 nm 处可见光区域称为带 I,较短一侧 275 nm 附近紫外光区域称为带 II。带 I 反映了 B 环的取代情况,随着 B 环上羟基及甲基化数目的增加,带 I 有向短波长方向移动的趋势。因此,可通过紫外-可见吸收光谱判定特征峰是否为花青苷,也可以初步掌握苷元组成的大致类型^[13],本研究检测到的 a1~a4 4 个特征峰在 200~800 nm 下的全波长扫描结果符合花青苷的色谱峰特征,故判定为花青苷。

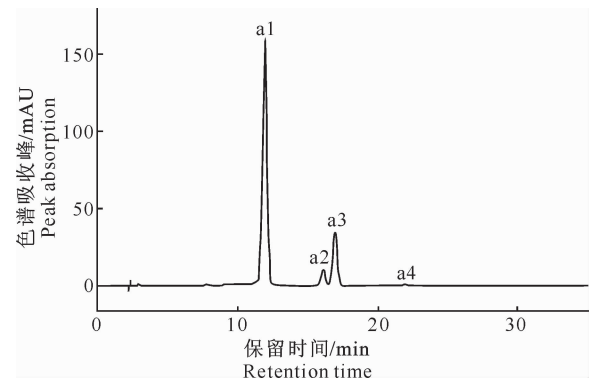


图 2 贯月忍冬末花期花青苷定性分析的 HPLC 色谱图(525 nm)

Fig. 2 HPLC chromatograms of qualitative analysis on anthocyanins in *L. sempervirens* L. at final flowering period (525 nm)

为进一步确定这些色素的化学结构,选取色素含量高、出峰多的样本进行了 HPLC-ESI-MSⁿ 分析。a1、a2、a3 和 a4 等 4 种花青苷组分在 440 nm 与 $\lambda_{vis-max}$ 2 处的吸光值之比($A_{440}/A_{vis-max}$)分别为 18.59%,31.89%,18.16%和 30.83%,a2、a4 的花青苷元 3 位及 a1、a3 的花青苷元 3 位和 5 位可能发生了糖苷化^[14],且 a1~a4 在紫外光区 290~340 nm 波长内无特征吸收峰,表明无芳香酸酰化^[15]。a1 经一级质谱得到分子离子 m/z 611($[M]^+$),分子离子裂解释放出的碎片离子 m/z 287($[Y_0]^+$,其中 Y_0 为苷元),为矢车菊素(Cyanidin,简称 Cy)的特征质荷比,中间碎片离子 m/z 449 为 $[M]^+$ 失去 1 个己糖,且与 Cy 己糖苷一致,Cy 连有 2 个己糖,推定该物质为矢车菊素-3,5-二葡萄糖苷(Cy 3,5-di-O-glucoside);a2 经一级质谱得到分子离子 m/z 449($[M]^+$),释放出碎片离子 m/z 287($[Y_0]^+$),Cy 连有 1 个己糖,推定该物质为矢车菊素-3-葡萄糖苷(Cy 3-O-glucoside);a3 经一级质谱得到分子离子 m/z 625($[M]^+$),分子离子裂解释放出的碎片离子 m/z 301($[Y_0]^+$),为芍药花素(Peonidin,简称 Pn)的特征质荷比,中间碎片离子 m/z 463 为 $[M]^+$ 失去 1 个己糖,并且与 Pn 己糖苷一致,Pn 连有 2 个己糖,推定该物质为芍药花素-3,5-二葡萄糖苷(Pn 3,5-di-O-glucoside);a4 经一级质谱得到分子离子 m/z 463($[M]^+$),释放出碎片离子 m/z 301($[Y_0]^+$),Pn 连有 1 个己糖,推定该物质为芍药花素-3-葡萄糖苷(Pn 3-O-glucoside)。具体分析结果见表 1。

表 1 5 种供试忍冬花中 4 种花色苷的 HPLC-DAD、HPLC-ESI-MSⁿ 分析及其结构推定

Table 1 HPLC-DAD and HPLC-ESI-MSⁿ analysis and identification of four anthocyanins from five *Lonicera* varieties

特征峰 Peak	保留时间/min Retention time	特征吸收波长/nm Absorption wavelength	($A_{440}/A_{vis-max}$)/%	正离子模式(m/z) Fragmentation	结构推定 Identification
a1	11.91	278,513	18.59	611 $[M]^+$,449,287 $[Y_0]^+$	Cy 3,5-di-O-glucoside
a2	16.03	281,516	31.89	449 $[M]^+$,287 $[Y_0]^+$	Cy 3-O-glucoside
a3	16.92	279,516	18.16	625 $[M]^+$,463,301 $[Y_0]^+$	Pn 3,5-di-O-glucoside
a4	22.00	280,516	30.83	463 $[M]^+$,301 $[Y_0]^+$	Pn 3-O-glucoside

2.2 忍冬不同开花阶段花青苷含量的变化

由表 2 可见,忍冬从花蕾到开花末期都未检测到花青苷成分。‘火焰’忍冬初蕾期花蕾下半部分为绿色,顶端部分紫色,到蕾膨大期全部呈紫红色,与其花青苷成分含量高的结果相符,随着花蕾的快速膨大到开花,色彩逐渐变淡,其总花青苷含量又呈下降趋势。‘格雷姆’忍冬花朵为黄色,其花青苷含量较少,花器官发育不同时期仅含有少量的矢车菊素

3,5-二葡萄糖苷。贯月忍冬在所检测的 5 个品种中花青苷含量最高,且随着花器官的发育,其总花青苷含量呈上升趋势,在末花期含量达到最大值(596.33 $\mu\text{g/g}$)。‘台尔曼’忍冬花蕾膨大期时的花青苷含量显著高于其他阶段。从 5 种忍冬属植物花中检测到的 4 种花青苷的主成分都是矢车菊素 3,5-二葡萄糖苷;各种(品种)忍冬开花过程中花青苷含量都有明显的变化,贯月忍冬和‘火焰’忍冬的花均为红色,其

花青苷含量总体高于其他 3 个品种。

表 2 5 种忍冬属植物开花不同阶段花青苷成分及含量的变化
Table 2 Anthocyanins content in *Lonicera* at different flowering stages

品种 Varieties	时期 Stage	花青苷类物质含量 Anthocyanins content				
		a1	a2	a3	a4	合计 Total
‘火焰’忍冬 <i>L. × heckrottii</i> Rehd. ‘Huoyan’	初蕾期 Initial alabstrum period	134.64 a	—	49.30 a	—	183.94 a
	中蕾期 Meddle alabstrum period	278.39 c	15.56 a	91.70 c	—	385.64 c
	膨大期 Expand period	245.19 bc	15.51 a	72.25 bc	—	332.95 bc
	初花期 Initial flowering period	198.38 ab	15.09 a	64.24 ab	—	277.71 ab
	末花期 Final flowering period	163.50 abc	15.10 a	54.52 ab	—	233.12 ab
‘格雷姆’忍冬 <i>L. periclymenum</i> <i>L. ‘Geleimu’</i>	初蕾期 Initial alabstrum period	14.53 a	—	—	—	14.53 a
	中蕾期 Meddle alabstrum period	22.87 b	—	—	—	22.87 b
	膨大期 Expand period	35.37 d	—	—	—	35.37 d
	初花期 Initial flowering period	27.56 c	—	—	—	27.56 c
	末花期 Final flowering period	20.19 b	—	—	—	20.19 b
贯月忍冬 <i>L. sempervirens L.</i>	初蕾期 Initial alabstrum period	233.56 a	16.18 a	54.11 a	—	303.85 a
	中蕾期 Meddle alabstrum period	269.86 ab	20.84 ab	65.46 b	—	356.17 ab
	膨大期 Expand period	290.12 ab	26.40 abc	71.35 bc	—	387.87 ab
	初花期 Initial flowering period	330.11 b	33.01 b	80.49 c	—	443.60 b
	末花期 Final flowering period	444.00 c	30.54 c	113.22 d	8.58	596.33 c
忍冬 <i>L. japonica</i> Thunb.	初蕾期 Initial alabstrum period	—	—	—	—	—
	中蕾期 Meddle alabstrum period	—	—	—	—	—
	膨大期 Expand period	—	—	—	—	—
	初花期 Initial flowering period	—	—	—	—	—
	末花期 Final flowering period	—	—	—	—	—
‘台尔曼’忍冬 <i>L. × tellmanniana</i>	初蕾期 Initial alabstrum period	68.14 a	16.36 a	15.86 a	—	100.36 a
	中蕾期 Meddle alabstrum period	176.48 b	27.65 b	35.16 b	—	239.29 b
	膨大期 Expand period	294.05 c	39.43 c	71.59 d	—	405.08 c
	初花期 Initial flowering period	121.66 b	25.57 b	33.33 b	—	180.57 b
	末花期 Final flowering period	164.75 ab	28.30 b	52.14 c	—	245.19 b

注:a1. 矢车菊素 3,5-二葡萄糖苷;a2. 矢车菊素 3-葡萄糖苷;a3. 芍药花素 3,5-二葡萄糖苷;a4. 芍药花素 3-葡萄糖苷。同列数据后标不同小写字母表示不同时期差异达显著水平($P=0.05$)。
Note;a1. Cy 3,5-di-*O*-glucoside;a2. Cy 3-*O*-glucoside;a3. Pn 3,5-di-*O*-glucoside;a4. Pn 3-*O*-hexoside. Different lowercase letters in each column mean significant difference among stages at $P=0.05$ level.

3 讨 论

目前,针对忍冬属植物果实化学成分的研究较多,特别是蓝靛果忍冬^[9],证实其主要含 Cy 和 Dp 型花青苷。本试验所测定的 5 种忍冬属植物花朵中,忍冬从初蕾期一直到后期花色变黄过程中均未检测到花青苷的存在;而其他 4 种忍冬属植物花中的花青苷主要为 Cy 和 Pn 型花青苷,未检测到 Dp 型花青苷。这是因为植物种类不同及研究部位不同,其花青苷种类存在一定差异。付林江等^[16]研究发现,金银花花色的变化是因为金银花中叶绿素、类胡萝卜素、木犀草苷含量变化引起的呈色变化,而花由白变黄主要是因为类胡萝卜素含量的增加所致。

在开花过程中,忍冬属植物花朵中的花青苷种类变化均不大,在‘火焰’忍冬(除初蕾期末检测到矢车菊素 3-葡萄糖苷外)、贯月忍冬和‘台尔曼’忍冬

开花的不同阶段均检测到矢车菊素 3,5-二葡萄糖苷、矢车菊素 3-葡萄糖苷和芍药花素 3,5-二葡萄糖苷 3 种花青苷;还在贯月忍冬末花期检测到微量的芍药花素 3-葡萄糖苷。有研究发现,花朵从蕾期到开放过程中,花瓣面积的扩大速度较色素的合成速度快,可能会导致单位面积色素含量的下降^[17]。‘格雷姆’忍冬、‘火焰’忍冬和‘台尔曼’忍冬总花青苷含量的变化趋势与此结论一致,但贯月忍冬随着花瓣的开放和衰败,其总花青苷含量一直呈增加趋势,‘台尔曼’忍冬末花期的总花青苷含量仍高于初花期,这可能是由于花瓣衰败时含水量减少,从而使同质量鲜花瓣中的花青苷占比增加。在开黄花的‘格雷姆’忍冬中只检测到 1 种花青苷,且含量相对较低,这主要是因为黄色花色素组成一般为类黄酮和类胡萝卜素^[18-19]。

忍冬属植物在春季开放,花期较长,大多数种类具有 2 次或多次开花现象,但花色只有白色、黄色或

红色,如果能育成其他色调的新品种,将丰富忍冬花色,提高观赏价值。忍冬属植物在药用方面具有悠久的历史,具鲜艳花色的忍冬品种在花茶及其功能应用上更具开发价值,特别是贯月忍冬花朵,无论花青苷含量还是绿原酸含量均显著高于金银花,其药理和功能应用值得进一步研究。

[参考文献]

[1] 徐炳声,胡嘉琪,王汉津. 中国植物志:第 72 卷 [M]. 北京:科学出版社,1988:143-258.
Xu B S, Hu J Q, Wang H J. China flora: Volume 72 [M]. Beijing: Science Press, 1988: 143-258. (in Chinese)

[2] 牛晓雪,崔旭盛,苏 贺,等. 高效液相色谱法同时测定忍冬中 7 种成分 [J]. 色谱,2012,30(2):211-214.
Niu X X, Cui X S, Su H, et al. Simultaneous determination of seven compounds in *Lonicera japonica* by High Performance Liquid Chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(2): 211-214. (in Chinese)

[3] 苟占平,万德光. 6 种忍冬叶中绿原酸及总咖啡酰奎宁酸含量测定 [J]. 中药材,2008,31(3):388-390.
Gou Z P, Wan D G. Determination of chlorogenic acid and total caffeoylquinic acid in 6 folium *Lonicerae* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2008, 31(3): 388-390. (in Chinese)

[4] 余守军,朱 英. 忍冬属植物化学成分研究进展 [J]. 海峡药学,2008,20(6):1-7.
Yu S J, Zhu Y. Advances in studies on chemical constituents of *Lonicera* [J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2008, 20(6): 1-7. (in Chinese)

[5] 赵娜夏,韩英梅,付晓丽. 忍冬藤的化学成分研究 [J]. 中草药,2007(12):1774-1776.
Zhao N X, Han Y M, Fu X L. Chemical constituents in stem of *Lonicera japonica* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2007(12): 1774-1776. (in Chinese)

[6] 王 芳,高 松. 金银花、山银花药理学研究现状 [J]. 辽宁中医药大学学报,2013,15(4):237-239.
Wang F, Gao S. Current research status of pharmacology of honeysuckle and *Lonicera confusa* [J]. Journal of Liaoning University of TCM, 2013, 15(4): 237-239. (in Chinese)

[7] 张金政,梁松洁,石 雷. 忍冬属藤本植物资源的栽培及应用 [J]. 中国园林,2004(5):53-56.
Zhang J Z, Liang S J, Shi L. The study on the cultivation and application of climbing honeysuckle resource [J]. Journal of Chinese Landscape Architecture, 2004(5): 53-56. (in Chinese)

[8] 孙 翊,李 慧,王亮生,等. 一种快速有效分析烟草花冠中花青素苷的方法 [J]. 植物学报,2011,46(2):189-196.
Sun X, Li H, Wang L S, et al. Rapid, effective method for anthocyanin analysis in *Tobacco corolla* [J]. Chinese Bulletin of

Botany, 2011, 46(2): 189-196. (in Chinese)

[9] Chavoanlikit A, Thompson M M, Wrolstad R E. Characterization and quantification of anthocyanins and polyphenolics in blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) [J]. J Agri Food Chem, 2004, 52: 848-852.

[10] Jordheim M, Giske N H, Andersen M. Anthocyanins in Caprifoliaceae [J]. Biochem Sys Ecol, 2007, 35: 153-159.

[11] 刘安成,王 庆,李珊珊,等. 忍冬属植物开花过程中绿原酸类化合物含量的变化 [J]. 西北植物学报,2012,32(7):1420-1425.
Liu A C, Wang Q, Li S S, et al. Changes of cholrogenic acids content during chang flowering in genus *Lonicera* plants [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2012, 32(7): 1420-1425. (in Chinese)

[12] 张 洁,李崇晖,王亮生,等. 植物花青苷液质联用方法的分析鉴定 [J]. 食品安全质量检测学报,2013,4(3):760-768.
Zhang J, Li C H, Wang L S, et al. Golden rules of separation and characterization of plant anthocyanins by high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2013, 4(3): 760-768. (in Chinese)

[13] Wang L S, Heshimoto F, Shiraishi A, et al. Chemical taxonomy in Xibei tree peony from China by floral pigmentation [J]. J Plant Res, 2004, 117: 47-55.

[14] Harborne J B. Spectral methods of characterizing anthocyanins [J]. J Biochem, 1958, 70(1): 22-28.

[15] Fossen T, Andersen M. Cyanidin 3-O-(6'-succinyl-β-glucopyranoside) and other anthocyanins from *Phragmites australis* [J]. Phytochemistry, 1998, 49(4): 1065-1068.

[16] 付林江,李厚华,李 玲,等. 金银花花色变化原因分析 [J]. 林业科学,2013,49(10):155-161.
Fu L J, Li H H, Li L, et al. Reason of flower color change in *Lonicera japonica* [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2013, 49(10): 155-161. (in Chinese)

[17] 李崇晖,王亮生,舒庆艳,等. 迎红杜鹃花色素组成及花色在开花过程中的变化 [J]. 园艺学报,2008,35(7):1023-1030.
Li C H, Wang L S, Shu Q Y, et al. Pigments composition of petals and floral color change during the blooming period in *Rhododendron mucronulatum* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(7): 1023-1030. (in Chinese)

[18] Iwashina T, Konta F, Kitajima J. Anthocyanins and flavonols of *Chimonanthus praecox* (Calycanthaceae) as flower pigments [J]. J Jap Bo, 2001, 76(3): 166-172.

[19] 白新祥,胡 可,戴思兰,等. 不同花色菊花品种花色素成分的初步分析 [J]. 北京林业大学学报,2006,28(5):84-89.
Bai X X, Hu K, Dai S L, et al. Components of flower pigments in the petals of different color *Chrysanthemum morifolium* Ramat. cultivars [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2006, 28(5): 84-89. (in Chinese)