

连翘不同部位中连翘苷和连翘酯苷 A 的含量分析及其入药探讨[△]

王进明, 范圣此*, 李安平, 陈婷婷, 孙斌, 杨霞

(山西振东道地药材开发有限公司, 山西 长治 047100)

[摘要] 目的: 通过连翘不同部位的连翘苷和连翘酯苷 A 的含量比较, 为连翘资源的综合开发利用提供科学依据。方法: 采用 HPLC 测定连翘果实、叶、果梗、枝梗中连翘苷和连翘酯苷 A 的含量, 以 Luna5u_C₁₈(2) 100A (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 连翘苷测定流动相为乙腈-水(25:75), 检测波长为 277 nm, 柱温为室温, 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 连翘酯苷 A 测定流动相为乙腈-0.4% 冰醋酸溶液(15:85), 检测波长为 330 nm, 柱温为室温, 流速为 1.0 mL·min⁻¹。结果: 连翘苷在 3.33~13.32 μg 线性关系良好($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 99.30%, RSD=1.4%; 连翘酯苷 A 在 4.17~6.69 μg 具有良好的线性关系($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 98.26%, RSD=1.8%。结论: 连翘苷含量在不同部位中叶子最高, 其次为果实、枝梗、果梗; 连翘酯苷 A 含量在不同部位中同样叶子最高, 其次为果实、果梗、枝梗。

[关键词] 连翘; 连翘苷; 连翘酯苷 A; HPLC

连翘为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实。秋季果实初熟尚带绿色时采收, 除去杂质, 蒸熟, 晒干, 习称“青翘”; 果实熟透时采收, 晒干, 除去杂质, 习称“老翘”^[1]。在市场销售的青翘中有水煮货和生晒货两种, 水煮即青翘经水煮后晒干或烘干, 生晒为直接将采收的青翘晒干或阴干。连翘具有消肿散结, 清热解毒, 疏散风热之功效, 还是预防和治疗禽流感、SARS、甲型 H₁N₁ 流感等流行性疾病的主要成分^[1,4]。连翘除其果实有药用价值以外, 近些年也有研究报道连翘叶提取物有抑菌等药理作用, 同时连翘叶、花可作茶饮, 在我国河北、河南、陕西、山西等地, 均有将连翘叶作为茶饮用的习惯^[5]。

由于近年来连翘价格的迅速上涨, 使得产地百姓和商贩在经济利益的驱动下, 造成青翘的“抢青”、掺入连翘叶、掺杂丁香果实等伪品、枝梗、沙土现象屡有发生; 同时一些不法厂家以价格低廉的连翘叶提取物代替青翘果实提取物入药, 造成了较大的混乱; 《中国药典》2010 版规定, 青翘入药部

位是果实, 但是在青翘炮制加工和提取过程中, 由于青翘果梗、枝梗的比重和果实的比重非常接近, 导致了连翘不同部位不能有效地分离, 这些现象一方面造成青翘市场质量标准的层次不齐, 市场混乱; 其次以青翘为原料的中成药质量不稳定, 以致于影响其临床疗效, 最终对连翘的产业化发展造成一定程度的影响。

近年来国内外的许多学者都集中于连翘果实、叶子、种子及花等不同部位的化学成分含量研究^[6-9], 但是对于连翘的枝梗、果梗的药用成分含量研究却鲜有报道。作者通过测定适宜采收期内连翘的果梗、枝梗、叶子、果实等不同部位药用成分含量并对其综合分析, 来探讨在连翘产业过程中连翘不同部位的入药问题, 旨在为以后连翘资源的合理开发利用提供一定的理论参考。

1 材料、仪器及试剂

1.1 材料

连翘于 2012 年 8 月 30 日采集自山西振东集团园林绿化地的 3 株植株, 经山西大学张立伟教授鉴

[△][基金项目] 国家“十二五”科技支撑项目(2011BA107B01); 山西省科技攻关项目(20120313015-9); 长治市科技计划项目(20118033-1)

*[通讯作者] 范圣此, E-mail: fanshengci2008@sina.com

定为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 不同部位的样品,然后将不同部位(连翘枝梗、连翘果实、连翘果梗、连翘叶)进行阴干获得。

1.2 仪器与试剂

Aglient1260 高效液相色谱仪(四元泵,紫外检测器,在线脱气机,柱温箱);BSA124S 电子天平(赛多利斯科学仪器);KQ-500DB 型数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

试验用水为双蒸水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯;连翘苷对照品(批号:110821-201112,含量为 96.8%)、连翘酯苷 A 对照品(批号:111810-201103,含量为 92.9%),供含量测定用,均购自中国食品药品检定研究院。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Luna5u_C₁₈(2) 100A(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),连翘苷测定流动相为乙腈-水(25:75),检测波长为 277 nm,柱温为室温,流速为 1.0 mL · min⁻¹;连翘酯苷 A 测定流动相为乙腈-0.4%冰醋酸溶液(15:85),检测波长为 330 nm,柱温为室温,流速为 1.0 mL · min⁻¹。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取连翘苷对照品 11.47 mg,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得;精密称取连翘酯苷 A 对照品 14.97 mg,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(临用配制)。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 测定连翘苷的供试品溶液制备 取不同部位粉末(过三号筛)约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 15 mL,称定重量,浸渍过夜,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 25 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 5 mL,蒸至近干,加中性氧化铝 0.5 g 拌匀,转移至中性氧化铝柱(100 ~ 120 目,1 g,内径为 1 ~ 1.5 cm)上,用 70%乙醇 80 mL 洗脱,收集洗脱液,浓缩至干,残渣用 50%甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.2 测定连翘酯苷 A 的供试品溶液制备 取不同部位粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70%甲醇 15 mL,密塞,称定

重量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 30 min,放冷,再称定重量,用 70%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性关系考察

分别精密量取浓度为 1.110 30 mg · mL⁻¹的连翘苷、1.390 71 mg · mL⁻¹连翘酯苷 A 对照品溶液 3, 5, 8, 10, 12, 15 μL 进样分析,测定峰面积。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得连翘苷回归方程为 $Y = 2\,219.4X + 591.86$, $r = 0.999\,7$,表明连翘苷进样量在 3.33 ~ 13.32 μg 具有良好的线性关系;连翘酯苷 A 回归方程为 $Y = 1\,771\,X + 599.59$, $r = 0.999\,7$,表明连翘酯苷 A 在 4.17 ~ 6.69 μg 具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL,重复进样 5 次,连翘苷峰面积的 RSD = 0.8%,连翘酯苷 A 峰面积的 RSD = 0.1%,表明该方法的精密度良好。

2.6 重复性试验

取供试品(果实),按供试品溶液的制备方法制备 6 份供试液,分别进样 10 μL,连翘苷的 RSD = 1.6%,连翘酯苷 A 的 RSD = 0.3%。

2.7 稳定性试验

精密吸取果实供试品溶液,在 0, 4, 6, 8, 10, 12 h 内重复进样 6 次,每次 10 μL,计算连翘苷峰面积的 RSD = 1.5%,连翘酯苷 A 峰面积的 RSD = 0.2%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验

取已测含量的果实供试品溶液 5 份,分别精密加入定量的连翘苷、连翘酯苷 A 对照品,依法测定,结果测定见表 1、表 2。

2.9 样品测定

取连翘枝梗、果实、叶子、果梗,照 2.3 方法制备供试品溶液,依法测定,以外标法计算连翘苷、连翘酯苷 A 含量,测定结果见表 3。

表 1 连翘苷加样回收率试验

编号	取样量 /g	样品中含 量/mg	对照品加 入量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
1	0.500 15	1.650	1.800	3.431	98.9	99.30	1.4
2	0.500 21	1.651	1.897	3.506	97.8		
3	0.500 35	1.651	2.168	3.838	100.9		
4	0.500 43	1.651	2.159	3.824	100.6		
5	0.500 38	1.651	1.878	3.498	98.3		

表 2 连翘酯苷 A 加样回收率试验

样品 序号	取样量 /g	样品中含 量/mg	对照品加 入量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
1	0.100 63	3.301	3.205	6.516	100.3	98.26	1.8
2	0.100 39	3.293	3.159	6.471	100.6		
3	0.100 74	3.304	3.623	6.835	97.5		
4	0.100 18	3.288	3.437	6.619	96.9		
5	0.100 60	3.300	3.201	6.380	96.2		

表 3 连翘不同部位中连翘酯苷和连翘酯苷 A 含量测定					/%
	指标	枝梗	果实	叶子	果梗
连翘苷	1	0.20	0.33	1.34	0.28
	2	0.30	0.33	1.59	0.23
	3	0.31	0.30	1.62	0.25
	$\bar{x}$	0.270	0.320	1.517	0.253
连翘酯苷 A	1	0.32	3.28	4.87	1.67
	2	0.42	4.63	4.29	2.14
	3	0.54	4.34	4.45	1.84
	$\bar{x}$	0.427	4.083	4.537	1.883

通过表 3 比较分析可知,连翘不同部位中连翘苷、连翘酯苷 A 的含量均超过了《中国药典》2010 版标准,其中叶子中连翘苷含量最高为 1.517%,它是果实中连翘苷含量的 4.7 倍,枝梗的 5.6 倍,果梗的 6 倍,结果与李卫建等^[6]中连翘果实干物质与有效成分积累规律研究中结果基本一致,即叶子>果实>果梗>枝梗;不同部位中连翘酯苷 A 含量最高的同样为叶子,含量为 4.537%,是果实中连翘酯苷 A 含量的 1.1 倍,枝梗的 10.6 倍、果梗中的 2.4 倍,不同部位中连翘酯苷 A 含量高低为叶子>果实>果梗>枝梗,实验结果与靖会等^[10]测定的不同部位中连翘酯苷 A 含量的实验结果一致,即连翘叶中连翘酯苷 A 含量最高,但与李卫建等^[6]研究的连翘果实干物质与有效成分积累规律中连翘酯苷 A 在整个生长期果实中高于叶子中含量结果不同。实验结果的不同可能是由于他们的实验中将果壳和种子分开的原因,具体原因有待于进一步的研究证明。但就综合连翘苷、连翘酯苷 A 的含量结果分析,连翘叶子在药用新资源开发方面具有重要的研究价值和意义。

3 讨论

从入药部位来看,最早使用的是金丝桃科湖南连翘的地上部分及根,至唐代,多用地地上部分,也

有只用果实的。至宋代开始到明清以后则以木犀科的连翘果实为正品,且《中药志》、《中国药典》皆以木犀科连翘的果实为连翘正品的唯一来源^[11]。单从连翘苷和连翘酯苷 A 这两类药用成分含量来看,这 4 种不同部位,都具有一定的药用价值,因此在对不同入药部位和药用价值的研究中要加大力度进行研究、开发利用,才能保证连翘入药的安全、稳定、有效、可控。

连翘叶在中药典籍中记载的药物功效与连翘果实极为相似,化学组成上也有相似性^[12]。相关研究表明,单纯就抗菌效果而言,青翘优于老翘,连翘叶优于连翘果实^[8,13]。按照中医药理论,不同的部位入药的效果应该是截然不同的,所以必须加强中药的基础研究;连翘叶茶在我国的部分地区虽有饮用的习惯,但依据 2007 年 12 月 1 日起施行的《新资源食品管理办法》中的相关规定,它并不属于新资源食品,而只能作为一种农产品在旅游景点和连翘主产区的部分市场上进行销售。因此对连翘叶能否开发为保健茶和能否入药有待于更深入的研究。在连翘为原料的中成药的生产中,往往是将连翘果梗、枝梗和果实一起提取,这就导致中成药质量不稳定。如果解决连翘产业中的这些问题,需要国家相关部门批准连翘为新资源和药食两用品种,连翘资源的综合开发力度才会有更大的提高。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2010:234.

[2] 山西医学院肝病研究组. 甘草、柴胡、连翘对实验性肝损伤的作用[J]. 新医药杂志,1973,(9):21.

[3] 李晓燕. 中药连翘抗菌活性的考察[J]. 山东医药工业,1997,16(2):46.

[4] 匡海学. 青连翘抗菌活性成分的研究[J]. 中药通报,1988,13(7):32.

[5] 梁文藻,董慧,涂国士. 连翘成分分析(I)连翘酯素的分离鉴定和测定[J]. 药物分析杂志,1985,5(1):1-3.

[6] 李卫建,李先恩. 连翘果实干物质与有效成分积累规律研究[J]. 中草药,2006,37(6):921.

[7] 陈随清,王三姓,董诚明,等. 连翘果实化学成分积累动态的研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(11):1096-1097.

[8] 段飞,张双民,杨建雄,等. 连翘叶提取物抑菌作用的研究[J]. 西北药学杂志,2005,20(2):66-67.

[9] 张海燕. 连翘化学成分及药理活性的研究进展[J]. 中药材,2000,23(10):657-660.

[10] 靖会,李教社,杨银京. 不同部位、不同产地及不同采集时间连翘中连翘酯苷 A 的含量测定[J]. 陕西中医, 2010,31(10):1406-1407.

[11] 李英霞,孟庆梅. 连翘的本草考证[J]. 中药材,2002,25(6):435-437.

[12] 叶华,吴臻,李发荣. 连翘叶入药的问题及思考[J]. 临床合理药,2011,4(3):74-75.

[13] 靖会,李教社,曹蔚,等. 高效液相色谱法测定连翘中连翘酯苷的含量[J]. 西北药学杂志,2003,18(4):156-157.

Analysis of the Contents of Forsythin and Forsythiaside A in Different Parts of
Forsythia suspensa and Its Medicinal Use Discussion

WANG Jin-ming, FAN Sheng-ci *, LI An-ping, CHEN Ting-ting, SUN Bin, YANG Xia
(Shanxi Zhendong Geoherts Development Co.,Ltd. ,Changzhi Shanxi 047100, China)

[Abstract] Objective: To provide theoretical basis for comprehensive development and utilization of *Forsythia suspensa* resources by evaluating the contents of forsythin and forsythiaside A in different parts of *Forsythia suspense*. Methods: HPLC method was used for analyzing the contents of forsythin and forsythiaside A for 4 samples of different parts of *Forsythia suspense*. Luna5uC₁₈(2) 100A (250 mm×4.6 mm,5 μm) Column was carried out, the mobile phrase of forsythin determination was acetonitrile-water(25:75), the detection wavelength was 277 nm. The mobile phase of forsythiaside A determination was acetonitrile – 0.4% acetic acid (15:85) and the detection wavelength was 330 nm. The column temperature was room temperature. And the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Results: There was a good linear relationship($r=0.9997$) for forsythin at 3.33 ~ 13.32 μg, the average recovery rate was 99.30%, and RSD was 1.4%. The good linear relationship ($r=0.9997$) for forsythiaside A was at 4.17 ~ 6.69 μg, the average recovery rate was 98.26%, and RSD was 1.8%. Conclusion: The highest content of forsythin was in leaves, followed by fruit and branches, the highest content of forsythiaside A was in leaves, and followed by fruits, stems and branches.

[Key words] *Forsythia suspensa*; Forsythin; Forsythoside A; HPLC

(收稿日期 2013-01-21)