

# 不同产地连翘叶花中主要活性成分的含量分析

原江锋<sup>1,2\*</sup>,胡金婉<sup>1</sup>,王大红<sup>1,2</sup>,龚明贵<sup>1</sup>,李佩艳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>河南科技大学食品与生物工程学院,洛阳 471023; <sup>2</sup>东部战区总医院药理科,南京 210002

**摘要:**通过测定不同产地连翘叶花中主要活性成分的含量,分析不同产地样品的质量差异,为连翘叶花的资源开发和综合利用提供科学依据。采用液质联用(LC-MS)技术确定28批连翘叶花中芦丁、金丝桃苷、连翘酯苷A、连翘苷、齐墩果酸和熊果酸化合物,并测定这6种活性成分的含量,对结果进行主成分分析。结果表明,不同产地连翘叶花中的主要活性成分存在一定差异;主成分分析显示山西临汾、陕西西安和河南信阳连翘叶的综合评价较好,河南栾川、山东平邑和山东日照连翘花的综合评价较好。本研究建立的方法精密度、重复性和稳定性较好,可为连翘叶花的质量评价和资源产品的开发提供参考。

**关键词:**连翘叶;连翘花;LC-MS;活性成分;主成分分析

中图分类号:Q946.91

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)3-0389-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.3.006

## Analysis of main active components in leaves and flowers of *Forsythia suspensa* from different regions

YUAN Jiang-feng<sup>1,2\*</sup>, HU Jin-wan<sup>1</sup>, WANG Da-hong<sup>1,2</sup>, GONG Ming-gui<sup>1</sup>, LI Pei-yan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China;

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, Jinling Hospital, Nanjing 210002, China

**Abstract:** The content of main active components in *Forsythia suspensa* leaves and flowers from different regions were determined, and the quality difference in samples was analyzed, which provided a scientific basis for the resource development and comprehensive utilization of *F. suspensa* leaves and flowers. The contents including rutin, hyperoside, forsythiaside A, forsythitin, oleanolic acid and ursolic acid in 28 batches of *F. suspensa* leaves and flowers were determined by liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) technology, the results were analyzed by principal component analysis (PCA). The results showed there were some differences in the main active components in *F. suspensa* leaves and flowers from different regions. PCA showed the comprehensive evaluation of *F. suspensa* leaves in Shanxi Linfen, Shaanxi Xi'an and Henan Xinyang were better, and the comprehensive evaluation of *F. suspensa* flowers in Henan Luanchuan, Shandong Pingyi and Shandong Rizhao were better. The method of good precision, repeatability and stability showed certain reference to the comprehensive utilization and the development of resource products of *F. suspensa* leaves and *F. suspensa* flowers.

**Key words:** *Forsythia suspensa* leaves; *Forsythia suspensa* flowers; liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS); active components; principal component analysis

连翘叶和连翘花为木犀科植物连翘(*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl)的干燥叶和花,落叶灌木<sup>[1]</sup>。从入药部位来看,最早记载是使用连翘的地面上部分及根;自唐代后以连翘果实入药;至今《中药志》、《中国药典》皆以木犀科连翘果实为连翘正

品<sup>[2]</sup>。在中药典籍中记载的连翘叶与连翘果实药效极为相似,且现代化学角度发现连翘叶与果实在化学组成上也有较大的相似性<sup>[3]</sup>;有研究表明,就抗菌效果而言连翘叶优于连翘的青翘和老翘<sup>[4]</sup>。连翘在生长期需要疏花,以增加后期果实坐果率和品质,疏花导致连翘花被大量舍弃,造成了资源的浪费<sup>[5]</sup>,富含活性成分的连翘花<sup>[6]</sup>有待于进一步深入研究。

连翘资源分布广泛,主产于河南、山西和陕西等

收稿日期:2019-10-29 接受日期:2020-04-01

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31870093);青年科学基金(31701665);河南省自然科学基金(172102310543)

\*通信作者 E-mail:jiangfengyuan@163.com

地<sup>[7]</sup>。连翘叶花由于没有进入《中国药典》和《新资源食品管理办法》，不是传统中药，所以对连翘叶花的研究并不完善。在河南、陕西等地有将连翘叶嫩芽<sup>[8]</sup>和连翘花<sup>[9]</sup>制成茶饮用的习惯，富含活性成分的连翘叶和连翘花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。本实验室已经将连翘叶中主要活性成分的提取、分离和纯化进行工艺优化<sup>[10,11]</sup>，并分析了作为连翘主产区的河南和山西两地的连翘叶中主要活性成分的差异<sup>[12,13]</sup>；报道了河南地区连翘花中主要的活性成分和稳定性<sup>[14]</sup>，为连翘叶和连翘花更深入的研究提供了一定的研究基础。

本实验收集了5省的16批连翘叶和12批连翘花样品，采用液质联用(LC-MS)技术确定样品中芦丁、金丝桃苷、连翘酯苷A、连翘苷、齐墩果酸和熊果酸化合物，并测定这6种主要活性成分的含量，对测定结果进行主成分分析，探讨不同产地连翘叶花主要活性成分的综合差异，确定连翘叶花的质量优劣，旨在为连翘叶花资源的质量评价和综合利用提供理论指导，为其开拓应用市场提供科学依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

1260高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)；HZK2064B鼓风干燥箱(重庆汉瞻仪器有限公司)；BS-124S型万分之一天平(赛多利斯科学仪器有限公司)；KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)；DL-5-B粉碎机(上海安亭科学仪器厂)。

### 1.2 材料

甲醇、乙腈(均为色谱纯)(美国Fisher化学试剂公司)；芦丁(批号100080-201408)、金丝桃苷(批号111521-201507)、连翘酯苷A(批号111810-201304)、连翘苷(批号110821-201615)、齐墩果酸(批号110709-201206)、熊果酸(批号110742-201220)(中国食品药品检定研究院)；其他试剂均为分析纯。

连翘叶(S1~S16)和连翘花(S17~S28)样品，2017年采自河南、山西、陕西、山东、湖北，连翘花采摘于3月份左右，连翘叶采摘于4月份左右，剪取连翘的花和叶，放置阴凉通风处干燥后装于样品袋中，样品经河南科技大学农学院侯小改教授鉴定为木犀科植物连翘(*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl)的叶和花。样品于40℃烘箱内烘干，粉碎机粉碎，过40

目筛，得连翘花和叶粉末。S1、S2、S3、S4、S5为河南卢氏、信阳、栾川、洛阳龙门、洛阳西工连翘叶，S6、S7为山西临汾、太原连翘叶，S8、S9、S10为陕西太白、洛南、西安连翘叶，S11、S12、S13、S14为山东岱岳、泰安、平邑、日照连翘叶，S15、S16为湖北武汉、恩施连翘叶；S17、S18、S19、S20为河南卢氏、信阳、洛阳龙门、栾川连翘花，S21、S22、S23、S24为山西太原、临汾和陕西太白、洛南连翘花，S25、S26、S27、S28为山东岱岳、泰安、平邑、日照连翘花。

## 2 方法与结果

### 2.1 测定条件

液相条件：色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)，芦丁、金丝桃苷、连翘酯苷A和连翘苷流动相I为乙腈(A)-0.2%磷酸水溶液(B)，梯度洗脱，0~5 min, 5%→15% A；5~10 min, 15%→20% A；10~20 min, 20%→22% A；20~35 min, 22%→70% A；36~46 min, 95% A。流速0.8 mL/min，检测波长275 nm，柱温30℃，进样量10 μL；齐墩果酸和熊果酸流动相II为甲醇-质量分数1%磷酸水溶液(85:15, V/V)，流速0.6 mL/min，检测波长210 nm，柱温30℃，进样量10 μL。

质谱条件：采用大气压电喷雾离子源(ESI)，负离子模式扫描，扫描范围m/z=50~1000；毛细管电压3.5 KV；破裂电压85 V；氮气压力1.38×10<sup>5</sup> Pa；干燥气流速6 L/min；干燥气温度350℃。

### 2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取干燥至恒重的芦丁、金丝桃苷、连翘酯苷A和连翘苷标准品分别为10.8、7.0、10.0和16.3 mg，用甲醇溶解后定容于25 mL容量瓶中，用0.45 μm微孔滤膜过滤，即得芦丁、金丝桃苷、连翘酯苷A和连翘苷质量浓度分别为0.43、0.28、0.40、0.65 mg/mL的混合对照品溶液I。精密称取齐墩果酸对照品13.5 mg，熊果酸对照品14.3 mg，用甲醇溶解后定容于25 mL容量瓶中，用0.45 μm微孔滤膜过滤，得到齐墩果酸和熊果酸质量浓度分别为0.54 mg/mL、0.57 mg/mL的混合对照品溶液II。

### 2.3 供试品溶液的制备

精密秤定连翘叶(S1~S16)和连翘花粉末(S17~S28)1.00 g，分别置于具塞锥形瓶中，精密加入70%甲醇15 mL，密塞，称定重量，浸渍3 h，超声处理(250 W, 40 kHz)40 min，放冷，再称量，用70%甲醇补足失重，摇匀，过滤，取续滤液，用微孔滤膜(0.45 μm)过滤，即得供试品溶液，样品平行处理三次。

## 2.4 方法学考察

### 2.4.1 线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液 I 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00 mL, 用甲醇定容于 10 mL 容量瓶中, 精密吸取混合对照品溶液 II 0.20、0.40、0.80、

1.60、3.20、5.00 mL, 用甲醇定容于 10 mL 容量瓶中, 按“2.1”项下的色谱条件检测, 以对照品的峰面积为纵坐标(Y), 进样质量浓度为横坐标(X), 得到线性回归方程表(见表 1)。

表 1 回归方程及线性范围

Table 1 Regression equation and linear range

化合物 Compound	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range(μg/mL)
芦丁 Rutin	$Y = 1126.57X - 5.635$	0.999 6	10.75 ~ 344.00
金丝桃苷 Hyperoside	$Y = 978.52X + 23.747$	0.999 7	7.00 ~ 224.00
连翘酯苷 A Forsythiaside A	$Y = 1059.64X + 24.132$	0.999 4	10.00 ~ 320.00
连翘苷 Forsythin	$Y = 625.43X + 17.328$	0.999 7	16.25 ~ 520.00
齐墩果酸 Oleanolic acid	$Y = 682.31X + 28.259$	0.999 5	10.80 ~ 270.00
熊果酸 Ursolic acid	$Y = 533.74X + 19.475$	0.999 5	11.40 ~ 285.00

### 2.4.2 精密度试验

取编号为 S2 和 S18 样品粉末各 1 份, 按“2.3”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积, 计算 RSD 值。经计算 6 种活性成分峰面积的 RSD 均在 1.47% ~ 1.85% 之间, 表明仪器精密度良好。

### 2.4.3 稳定性试验

取编号为 S2 和 S18 样品粉末各 1 份, 按“2.3”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下的色谱条件, 分别在 0、1、2、5、10、24、48 h 进行检测, 连续进样 6 次, 记录相应峰面积, 计算 RSD 值。结果 6 种活性成分峰面积的 RSD 在 1.35% ~ 2.06% 之间, 表明样品在 48 h 内稳定性良好。

### 2.4.4 重复性试验

取编号为 S2 和 S18 样品粉末各 6 份, 每份精密称定 1.00 g, 按“2.3”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进样, 记录峰面积, 并计算 RSD 值。经计算 6 种活性成分含量的 RSD 在 1.23% ~ 2.18% 之间, 表明此方法重复性良好。

### 2.4.5 回收率试验

采用加样回收率试验方法, 精密称取已知含量的同一连翘叶和花样品各 1.00 g, 平行 6 份, 分别精密加入一定量的对照品溶液分别进行超声提取, 过滤, 按“2.1”项下色谱条件测定, 计算回收率和 RSD 值。经计算 6 种活性成分的回收率在 97.2% ~ 104.1% 之间, RSD 在 1.15% ~ 1.86% 之间, 说明该方法有较好的准确度。

## 2.5 LC-MS 分析

称取连翘叶(S1 ~ S16)和连翘花(S17 ~ S28)粉末, 按照按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项下 LC-MS 条件进样分析, 根据质谱图谱确定连翘叶和连翘花样品中 6 个待测化合物(图 1); 根据紫外检测器测定的峰面积, 用外标法计算出芦丁、金丝桃苷、连翘酯苷 A、连翘苷、齐墩果酸和熊果酸的含量。

通过对连翘叶(S1 ~ S16)和连翘花(S17 ~ S28)的指纹图谱(图 2 和图 3)分析表明, 不同产地的连翘叶花在化学组成上基本相似。连翘叶(S1 ~ S16)活性成分含量测定结果(见表 2), 显示芦丁含量在 0.47 ~ 2.84 mg/g 之间, 金丝桃苷含量在 0.42 ~ 15.43 mg/g 之间, 连翘酯苷 A 含量在 0 ~ 53.22 mg/g 之间, 连翘苷含量在 12.45 ~ 45.72 mg/g 之间, 齐墩果酸含量在 1.26 ~ 6.28 mg/g 之间, 熊果酸含量在 5.68 ~ 23.02 mg/g 之间。连翘花(S17 ~ S28)活性成分含量测定结果(见表 3)显示芦丁含量在 0 ~ 2.68 mg/g 之间, 金丝桃苷含量在 0.92 ~ 21.38 mg/g 之间, 连翘酯苷 A 含量在 0 ~ 20.61 mg/g 之间, 连翘苷含量在 3.03 ~ 28.58 mg/g 之间, 齐墩果酸含量在 1.56 ~ 4.29 mg/g 之间, 熊果酸含量在 5.83 ~ 10.50 mg/g 之间。综上可知, 不同产地的连翘叶花在化学组成上基本相似, 但主要活性成分含量差异较大。

次生代谢产物是以初生代谢产物的中间产物作为底物的代谢物, 是植物适应生态环境、谋求生存的需要<sup>[15]</sup>。虽为同一品种, 由于气候条件的差异, 连

翹叶和连翹花的次生代谢产物的含量也不同。从28批样品中发现:芦丁、金丝桃苷、连翹酯苷A、连翹苷、齐墩果酸和熊果酸在连翹叶和连翹花中均有分布,但含量不同;除了山西临汾和山东平邑的连翹花,其余26批连翹样品中均检测到黃酮化合物芦丁,28批样品中均检测到金丝桃苷,并且不同产地的样品中金丝桃苷含量变化范围的高于芦丁含量的变化范围,说明金丝桃苷的地域差异性比芦丁明显。《中国药典》以连翹苷和连翹酯苷A的含量作为连翹质量控制指标,规定连翹药材中连翹酯苷A的含量不得低于2.50 mg/g,连翹苷含量不得低于1.50 mg/g<sup>[16]</sup>。本研究发现连翹叶和连翹花所有样品中连翹苷的含量高于药典中对连翹果实的限定标准;28批样品中连翹酯苷A的含量具有明显的地区差异性,并且陕西西安和山西临汾的连翹叶、山东平邑的连翹花中连翹酯苷A的含量远远高于药典中对连翹果实的限定标准,而洛阳龙门和山东泰安的连翹叶和连翹花中没有检出连翹酯苷A的存在;同一地区连翹叶中连翹苷和连翹酯苷A的含量基本高

于连翹花,也有相关文献报道过连翹叶中连翹苷和连翹酯苷A的含量高于连翹其他部位的有效成分的积累<sup>[17-19]</sup>,这与本实验所测样品的结果趋势相同。28批连翹叶花样品中均检测到较高的熊果酸和齐墩果酸的含量,并且熊果酸含量均高于齐墩果酸含量,这与Zhao等<sup>[20]</sup>发现连翹叶中熊果酸含量高于齐墩果酸研究结果一致。

药用植物在环境胁迫条件下,生长速率下降,初生代谢产物降低,但是次生代谢产物含量提高。本实验还发现山西临汾连翹叶、陕西西安连翹叶和河南栾川连翹花中6种活性成分含量均较高,说明这三个地区在连翹初生长的阶段气候条件较差,连翹为了抵抗不良生态环境,因此有较多的次生代谢物的积累。山东地区连翹花中黃酮化合物金丝桃苷的含量普遍较高;山西临汾连翹花中芦丁、金丝桃苷、齐墩果酸含量均为最低,但是山西临汾连翹叶芦丁、金丝桃苷、齐墩果酸的含量是连翹叶样品中含量最高的,这可能与先花后叶的连翹生长过程中次生代谢产物在不同部位的累积量有关<sup>[21]</sup>。

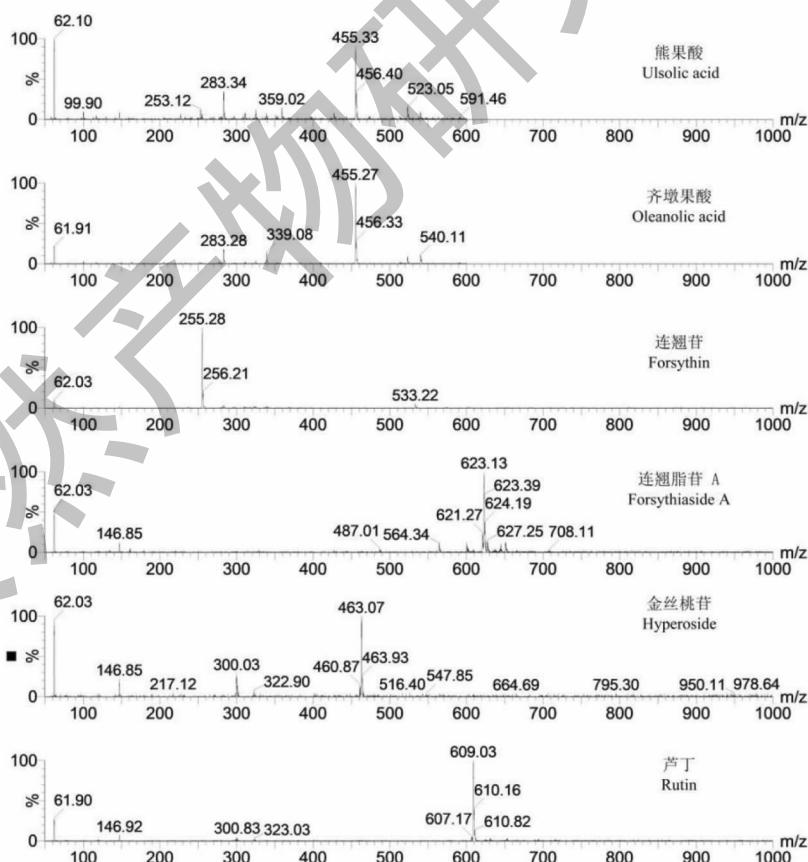


图1 6个待测化合物质谱图

Fig. 1 Mass spectra of 6 components to be determined

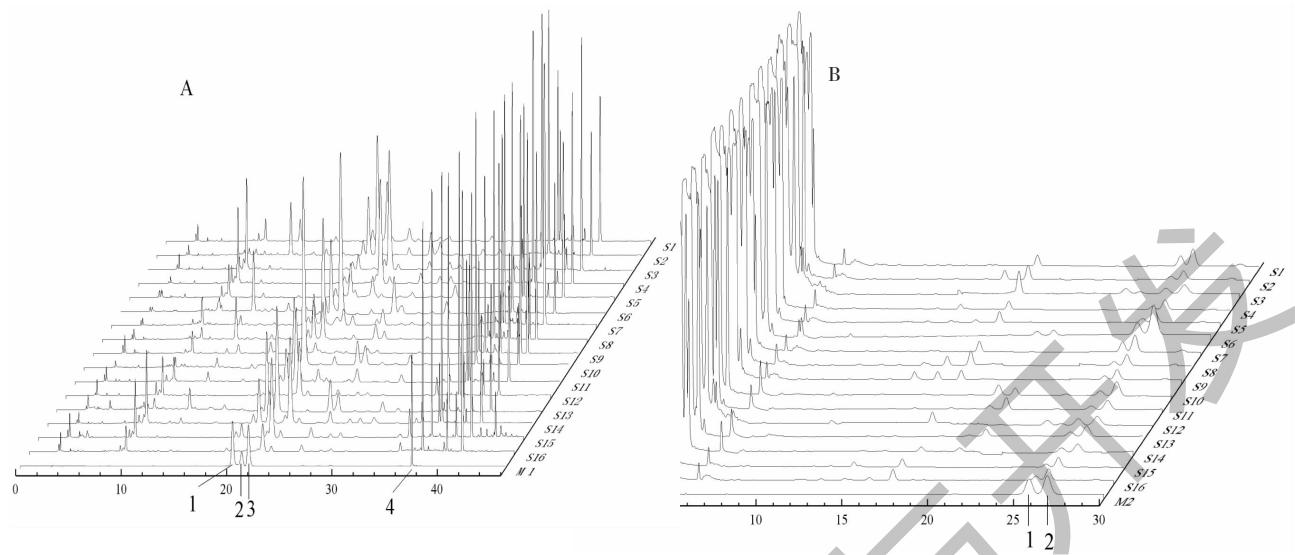


图 2 连翘叶 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of *F. suspensa* leaves

注: A; M1. 混合对照品 I 色谱图; S1 ~ S16. 连翘叶样品色谱图; 1. 芦丁; 2. 金丝桃苷; 3. 连翘酯苷 A; 4. 连翘苷。B; M2. 混合对照品 II 色谱图; S1 ~ S16. 连翘叶样品色谱图; 1. 齐墩果酸; 2. 熊果酸。Note: A; M1. Chromatogram of mixed standards I ;S1 ~ S16. Chromatogram of the leaves of *F. suspensa*; 1. Rutin; 2. Hyperoside; 3. Forsythiaside A;4. Forsythin. B; M2. Chromatogram of mixed standards II ;S1 ~ S16. Chromatogram of the leaves of *F. suspensa*;1. Oleanolic acid;2 Ursolic acid.

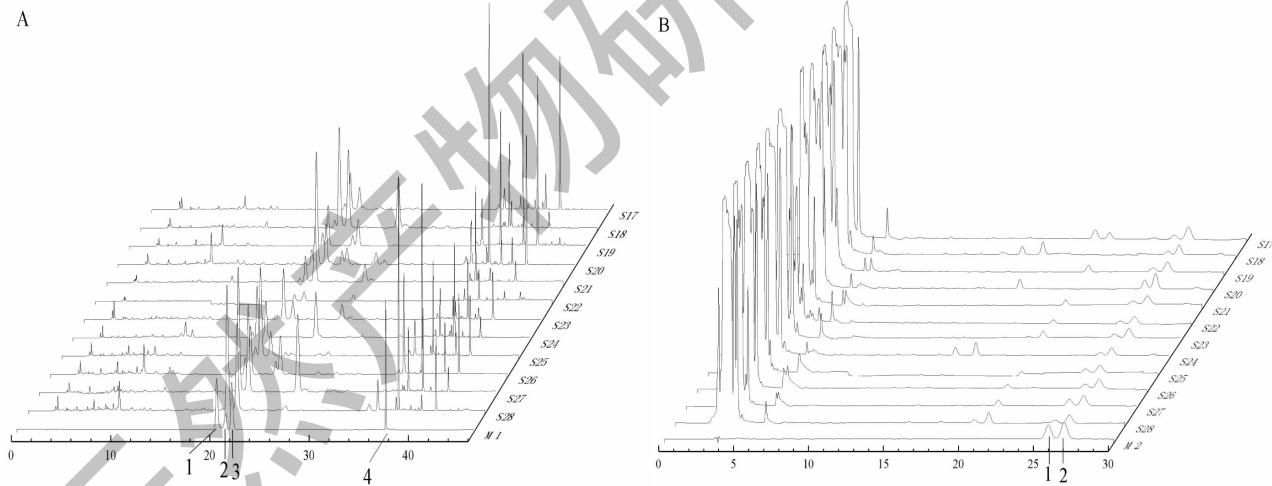


图 3 连翘花 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of *F. suspensa* flowers

注: A; M1. 混合对照品 I 色谱图; S17 ~ S28. 连翘花样品色谱图; 1. 芦丁; 2. 金丝桃苷; 3. 连翘酯苷 A; 4. 连翘苷。B; M2. 混合对照品 II 色谱图; S17 ~ S28. 连翘花样品色谱图; 1. 齐墩果酸; 2. 熊果酸。Note: A; M1. Chromatogram of mixed standards I ;S17 ~ S28. Chromatogram of the flowers of *F. suspensa*; 1. Rutin; 2. Hyperoside; 3. Forsythiaside A;4. Forsythin. B; M2. Chromatogram of mixed standards II ;S17 ~ S28. Chromatogram of the flowers of *F. suspensa*;1. Oleanolic acid;2 Ursolic acid.

## 2.6 主成分分析

应用 SPSS 25.0 软件对连翘叶(S1 ~ S16)和连翘花(S17 ~ S28)中 6 种活性成分的 HPLC 含量测定结果进行主成分分析,以初始特征值大于 1 为提取

标准<sup>[22]</sup>。连翘叶(S1 ~ S16)结果显示主成分 1 (PC1) 和主成分 2 (PC2) 的累积贡献率达到 78.45% ,表明前两个主成分代表了样品组分的大部分信息,可用这 2 个主成分对连翘叶进行综合评价,

表 2 连翘叶中 6 种活性成分含量( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 2 Content of 6 active components in *F. suspensa* leaves( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

编号 No.	地区 Region	质量分数 Mass fraction (mg/g)					
		芦丁 Rutin	金丝桃苷 Hyperoside	连翘酯苷 A Forsythiaside A	连翘苷 Forsythin	齐墩果酸 Oleanolic acid	熊果酸 Ursolic acid
S1	河南卢氏	2.07 ± 0.04	8.81 ± 0.10	15.50 ± 0.17	12.45 ± 0.12	1.87 ± 0.03	7.36 ± 0.11
S2	河南信阳	2.71 ± 0.03	10.37 ± 0.12	30.45 ± 0.32	35.83 ± 0.35	1.43 ± 0.03	5.81 ± 0.10
S3	河南栾川	1.62 ± 0.03	2.53 ± 0.04	0.00 ± 0.00	45.41 ± 0.40	1.31 ± 0.03	5.68 ± 0.09
S4	洛阳龙门	1.35 ± 0.03	2.01 ± 0.03	0.00 ± 0.00	45.72 ± 0.41	1.27 ± 0.03	5.99 ± 0.07
S5	洛阳西工	1.77 ± 0.05	5.42 ± 0.07	9.35 ± 0.11	22.78 ± 0.29	1.68 ± 0.05	7.02 ± 0.08
S6	山西临汾	2.84 ± 0.06	15.43 ± 0.19	44.04 ± 0.39	29.00 ± 0.31	6.28 ± 0.09	23.02 ± 0.25
S7	山西太原	1.35 ± 0.03	5.27 ± 0.05	27.14 ± 0.31	27.19 ± 0.30	1.81 ± 0.05	9.36 ± 0.12
S8	陕西太白	1.80 ± 0.04	6.76 ± 0.07	9.73 ± 0.13	30.26 ± 0.32	1.63 ± 0.05	6.79 ± 0.11
S9	陕西洛南	0.75 ± 0.03	1.64 ± 0.06	2.64 ± 0.03	21.18 ± 0.28	1.59 ± 0.06	6.50 ± 0.10
S10	陕西西安	2.21 ± 0.03	13.79 ± 0.13	53.22 ± 0.43	34.60 ± 0.37	2.65 ± 0.04	10.83 ± 0.12
S11	山东岱岳	1.08 ± 0.03	5.86 ± 0.07	19.54 ± 0.25	13.64 ± 0.23	1.96 ± 0.03	7.05 ± 0.08
S12	山东泰安	0.47 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.00 ± 0.00	31.11 ± 0.36	1.32 ± 0.03	6.83 ± 0.07
S13	山东平邑	0.72 ± 0.03	15.32 ± 0.14	28.4 ± 0.35	31.06 ± 0.35	2.09 ± 0.03	7.80 ± 0.08
S14	山东日照	1.59 ± 0.04	7.71 ± 0.12	8.06 ± 0.11	34.23 ± 0.37	2.86 ± 0.04	6.91 ± 0.08
S15	湖北武汉	1.04 ± 0.04	2.08 ± 0.03	0.00 ± 0.00	32.38 ± 0.31	1.26 ± 0.03	6.18 ± 0.06
S16	湖北恩施	0.62 ± 0.03	0.63 ± 0.03	0.00 ± 0.00	26.57 ± 0.30	1.45 ± 0.03	7.42 ± 0.08

表 3 连翘花中 6 种活性成分含量( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 3 Content of 6 active components in *F. suspensa* flowers( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

编号 No.	地区 Region	质量分数 Mass fraction (mg/g)					
		芦丁 Rutin	金丝桃苷 Hyperoside	连翘酯苷 A Forsythiaside A	连翘苷 Forsythin	齐墩果酸 Oleanolic acid	熊果酸 Ursolic acid
S17	河南卢氏	0.99 ± 0.02	5.77 ± 0.06	4.83 ± 0.06	15.47 ± 0.13	4.23 ± 0.05	10.50 ± 0.11
S18	河南信阳	1.39 ± 0.03	17.27 ± 0.17	18.60 ± 0.25	8.14 ± 0.12	1.75 ± 0.03	6.69 ± 0.10
S19	洛阳龙门	2.15 ± 0.03	6.18 ± 0.07	0.00 ± 0.00	13.80 ± 0.13	2.42 ± 0.03	8.47 ± 0.12
S20	河南栾川	2.36 ± 0.04	18.14 ± 0.20	9.03 ± 0.12	28.58 ± 0.29	4.29 ± 0.05	9.29 ± 0.12
S21	山西太原	0.70 ± 0.03	4.35 ± 0.08	13.49 ± 0.13	9.05 ± 0.11	2.00 ± 0.03	7.29 ± 0.11
S22	山西临汾	0.00 ± 0.00	0.92 ± 0.03	1.89 ± 0.03	3.03 ± 0.04	1.56 ± 0.03	6.35 ± 0.10
S23	陕西太白	0.65 ± 0.03	7.99 ± 0.10	4.03 ± 0.06	6.49 ± 0.10	2.12 ± 0.03	7.55 ± 0.11
S24	陕西洛南	0.80 ± 0.03	7.33 ± 0.09	7.33 ± 0.09	4.17 ± 0.06	1.97 ± 0.03	5.83 ± 0.09
S25	山东岱岳	1.42 ± 0.03	14.13 ± 0.12	5.64 ± 0.07	8.61 ± 0.11	2.39 ± 0.04	6.46 ± 0.12
S26	山东泰安	2.68 ± 0.04	7.50 ± 0.11	0.00 ± 0.00	17.67 ± 0.24	2.65 ± 0.03	8.78 ± 0.14
S27	山东平邑	0.00 ± 0.00	21.38 ± 0.25	20.61 ± 0.29	5.92 ± 0.10	3.74 ± 0.04	8.80 ± 0.13
S28	山东日照	1.59 ± 0.03	19.68 ± 0.26	10.89 ± 0.12	22.88 ± 0.27	3.28 ± 0.04	6.23 ± 0.10

同时成分矩阵结果显示(见表 4),对 PC1 贡献较大的是芦丁、金丝桃苷、连翘酯苷 A、齐墩果酸和熊果

酸,对 PC2 贡献较大的是连翘苷。根据 2 个主成分 (PC1 和 PC2) 得分,以各主成分的方差贡献率作为

权重,进行线性加权,构建连翘叶质量评价函数  $H = 0.60976 \times PC1 + 0.17475 \times PC2$ ,得出各产地连翘叶的综合评分值  $H$ (见表 5),分值越高表示该品种相对越好<sup>[23]</sup>。结果显示 S6 山西临汾、S10 陕西西安和 S2 河南信阳连翘叶综合评价较好,S12 山东泰安和 S16 湖北恩施连翘叶综合评价较差。

连翘花(S17~S28)结果显示主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)的累积贡献率达到 75.87%,可用这 2 个主成分对连翘花进行综合评价,成分矩阵结果显示(见表 6),对 PC1 贡献较大的是芦丁、连翘苷、齐墩果酸和熊果酸,对 PC2 贡献较大的是连翘酯苷 A 和金丝桃苷。根据 2 个主成分(PC1 和 PC2)得分,进行线性加权,构建连翘花质量评价函数  $H =$

$0.46256 \times PC1 + 0.29610 \times PC2$ ,得出各产地连翘花的综合评分值  $H$ (见表 7)。结果显示 S20 河南栾川、S27 山东平邑和 S28 山东日照连翘花综合评价较好;S22 山西临汾、S24 陕西洛南连翘花综合评价较差。

### 3 结论

#### 3.1 色谱条件方法学考察

在色谱条件下测定结果显示 6 种活性成分的线性关系良好;精密度、稳定性和重复性的 RSD 均小于 3%;加样回收率为 97.2%~104.1%,RSD 在 1.15%~1.86%。

#### 3.2 不同产地连翘叶花的差异性

本实验采用 LC-MS 技术结合主成分分析,分析不同产地连翘叶花中 6 种主要活性成分含量的差异

表 4 连翘叶的成分矩阵

Table 4 Component matrix of *F. suspensa* leaves

化合物 Compound	成分 Component	
	1	2
齐墩果酸 Oleanolic acid	0.888	
连翘酯苷 A Forsythiaside A	0.882	
金丝桃苷 Hyperoside	0.878	
熊果酸 Ursolic acid	0.866	
芦丁 Rutin	0.752	0.299
连翘苷 Forsythin		0.97

表 5 不同产地连翘叶综合得分值

Table 5 Comprehensive score value of *F. suspensa* leaves from different regions

No.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
PC1	0.44	0.91	-1.31	-1.5	-0.35	5.55	0.18	-0.27	-1.52	2.58	-0.26	-1.96	0.7	0.11	-1.59	-1.73
PC2	-1.48	1.23	1.76	1.68	-0.54	-0.13	-0.33	0.26	-1.11	0.7	-1.78	-0.2	-0.14	0.49	0.19	-0.62
H	0.01	0.77	-0.49	-0.62	-0.31	3.36	0.05	-0.12	-1.12	1.70	-0.47	-1.23	0.40	0.15	-0.94	-1.16
Rank	7	3	11	12	9	1	6	8	14	2	10	16	4	5	13	15

表 6 连翘花的成分矩阵

Table 6 Component matrix of *F. suspensa* flowers

化合物 Compound	成分 Component	
	1	2
连翘苷 Forsythin	0.905	
齐墩果酸 Oleanolic acid	0.876	0.179
熊果酸 Ursolic acid	0.704	
芦丁 Rutin	0.659	
连翘酯苷 A Forsythiaside A		0.951
金丝桃苷 Hyperoside	0.508	0.762

表 7 不同产地连翘花综合得分值

Table 7 Comprehensive score value of *F. suspensa* flowers from different regions

No.	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28
PC1	1.55	-0.68	0.38	3.32	-1.22	-2.65	-1.14	-1.83	-0.53	1.16	0.42	1.22
PC2	-0.81	1.61	-1.74	0.09	0.21	-0.9	-0.43	0	0.08	-1.88	2.79	0.97
H	0.48	0.16	-0.34	1.56	-0.50	-1.49	-0.65	-0.85	-0.22	-0.02	1.02	0.85
Rank	4	5	8	1	9	12	10	11	7	6	2	3

性。不同产地的连翘叶花化学组成基本相似,但主要活性成分含量差异较大。

连翘叶花的主成分分析的结果显示,山西临汾、陕西西安和河南信阳的连翘叶综合评价较好;河南栾川、山东平邑和山东日照连翘花综合评价较好,差异性是否与连翘的生长环境和土壤条件等因素有关,有待于进一步考察。

### 3.3 连翘叶花中主要活性成分的研究意义

本研究为完善连翘叶花的综合开发提供实验数据和参考。对于富含连翘苷、连翘酯苷 A 的连翘叶,能否代替连翘果实或者与果实合并用药提供实验依据,并且连翘叶可作为黄酮类、三萜酸类和木脂素类化合物提取的原材料。连翘花中连翘苷和连翘酯苷 A 的含量略低于连翘叶,但是连翘花中富含芦丁、金丝桃苷等黄酮类化合物和齐墩果酸、熊果酸等三萜酸类化合物,也具有较大的开发价值。本研究对于具有良好发展前景的天然抗氧化剂、保健食品及生物药品基料的连翘叶和连翘花的资源利用具有一定的指导意义。

### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 249.
- 2 Wang Z, Xia Q, Liu X, et al. Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: A review [J]. J Ethnoph, 2017, 210:318.
- 3 Han Z, Lei XL, Zhang H, et al. Evaluating the safety of forsythin from *Forsythia suspensa* leaves by acute and sub-chronic oral administration in rodent models [J]. Asian Pac J Trop Med, 2017, 10:47-51.
- 4 Jiao J, Gai QY, Luo M, et al. Comparison of main bioactive compounds in tea infusions with different seasonal *Forsythia suspensa* leaves by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and evaluation of antioxidant activity [J]. Food Res Int, 2013, 53:857-863.
- 5 Michalak B, Filippek A, Chomicki P, et al. Lignans from forsythia x intermedia leaves and flowers attenuate the pro-inflammatory function of leukocytes and their interaction with endothelial cells [J]. Eur Food Res Technol, 2018, 9:401.
- 6 Bai MM, Li DF, Li SF, et al. Activity-guided isolation of mushroom tyrosinase inhibitors from the flower of *Forsythia suspensa* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29:1688-1694.
- 7 Yan XJ, Wen J, Xiang Z, et al. Chemical constituents from fruits of *Forsythia suspensa* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48:644-647.
- 8 Yuan JF, Qiu ZJ, Liu JL, et al. Processing techniques of *Forsythia suspensa* leaves green tea and analysis of nutrient active ingredients [J]. J Henan Univ Sci Technol:Nat Sci(河南科技大学学报:自科版), 2015, 36:78-82.
- 9 Lu YY, Bai XL, Dai SN, et al. Dry flower tea development of hypericum perforatum L. and extraction of hypericin [J]. Tianjin Agr Sci(天津农业科学), 2017, 23:53-55.
- 10 Yuan JF, Liu XQ, Yang JX, et al. *Forsythia suspense* leaves, a plant: extraction, purification and antioxidant activity of main active compounds [J]. Eur Food Res Technol, 2014, 238: 527-533.
- 11 Sun JR, Wang DH, Qiu ZJ, et al. Simultaneous extraction purification of forsythoside A, rutin and phillyrin from *Forsythia suspensa* leaves [J]. Food Sci(食品科学), 2017, 38: 200-205.
- 12 Yuan JF, Qiu ZJ, Liu JL, et al. Determination of total lignans, forsythiaside A, forsythiaside B and phillyrin in *Forsythia suspensa* leaves from Henan and Shanxi [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2015, 27:845-848.
- 13 Yuan JF, Zhao JF, Sun JJ, et al. Determination of flavonoids and triterpene acids in *Forsythia suspensa* leaves from Henan and Shanxi provinces [J]. Food Sci(食品科学), 2015, 36: 164-167.
- 14 Yuan JF, Qiu ZJ, Hu LJ, et al. Active compounds and stability of *Forsythia suspensa* flower extract [J]. Food Sci(食品科学), 2015, 36:130-134.

- 15 Liu W, Yang F, Liu F, et al. Research on periodical changes and metabolism relations of active components in *Lonicera japonica* leaves [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2017, 42:1292-1299.
- 16 Zhao SY, Qu YR, Xu TL, et al. Improvement of the determination method of forsythin and forsythiaside A in the 2015 edition of Chinese pharmacopoeia [J]. *Chin Tradit Pat Med* (成药), 2018, 40:214-217.
- 17 Wang JM, Fan SC, Li AP, et al. Contents of forsythin and forsythiaside A in different parts of *Forsythia suspensa* and its medicinal value [J]. *Med Plant*, 2014, 5;51-53.
- 18 Zhang F, Tian S, Lv MX, et al. HPLC determination of chlorogenic acid, forsythoside, rutin and phillyrin in *Forsythia suspense* flowers and leaves [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2011, 17:103-106.
- 19 Cao XY, Wang DH, Si PF, et al. Comparison of forsythin content in different parts of *forsythia* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (成药), 2018, 40:214-217.
- (上接第 446 页)
- 25 Park JH, Lee DG, Yeon SW, et al. Isolation of megastigmane sesquiterpenes from the silkworm (*Bombyx mori* L.) droppings and their promotion activity on HO-1 and SIRT1 [J]. *Arch Pharmacal Res*, 2011, 34:533-542.
- 26 Zhu Y, Soroka D, Sang S. Oxyphytosterols as active ingredients in wheat bran suppress human colon cancer cell growth: identification, chemical synthesis, and biological evaluation [J]. *J Agr Food Chem*, 2015, 63:2264-2276.
- (上接第 481 页)
- 22 Henn R, Kirchler CG, Schirmeister ZL, et al. Hemodialysis monitoring using mid-and near-infrared spectroscopy with partial least squares regression [J]. *J Biophotonics*, 2018, 11 (7): e201700365.
- 27 Zhu HW. Study on chemical constituents and inhibitory activity of  $\alpha$ -Glucosidase of *Edgeworthia gardneri* (Wall.) Meissn. [D]. Chongqing: Chongqing University (重庆大学), 2015.
- 28 Peng K, Su RQ, Zhang GY, et al. Secondary metabolites from a deep-sea-derived actinomycete *Micrococcus* sp. R21 [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2015, 40:2367-2371.
- 23 Chen YP, Tan DP, Zeng Q, et al. Chemical constituents from leaves of *Acanthus ilicifolius* and their anti-influenza virus activities [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2015, 38:527-530.
- 24 Li JM, Xu ZG. Progress of psoralen [J]. *Guangdong Voc Tech Edu Res* (广东职业技术教育与研究), 2016(5):205-206.
- 20 Zhao SH, Liu MY, Wang YF, et al. Simultaneous determination of oleanolic acid and ursolic acid in the leaves of *Forsythia suspensa* by HPLC-ELSD [J]. *Food Sci* (食品科学), 2012, 33:224-226.
- 21 Gehlot M, Kasera PK. Variability in primary and secondary metabolites during different seasons in *Phyllanthus amarus* [J]. *Indian J Plant Physiol*, 2013, 18:169-171.
- 22 Jin BB, Pei XP, Liang HZ, et al. Establishment of HPLC fingerprint, cluster analysis and principle component analysis of *Citri Reticulatae Pericarpium Viride* [J]. *Med Plant*, 2019, 10:69-73.
- 23 Song JF, Liu CQ, Jiang XQ, et al. Comprehensive evaluation of vegetable soybean quality by principal component analysis and cluster analysis [J]. *Food Sci* (食品科学), 2015, 36:12-17.