

基于 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定结合化学计量学评价不同产地连翘质量

徐荣荣, 李蕊, 张楚涵, 王鑫国, 冯薇*

河北中医药大学药学院, 中药材品质评价与标准化河北省工程研究中心, 河北 石家庄 050091

摘要: 目的 建立连翘 *Forsythiae Fructus* 的 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定方法, 并结合化学计量学方法寻找不同产地连翘药材质量差异成分。方法 采用菲罗门 Titank C₁₈ 色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 以体积分数乙腈 (A)-0.2% 甲酸水溶液 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0~5 min, 5%~12% A; 5~8 min, 12%~20% A; 8~15 min, 20% A; 15~18 min, 20%~29% A; 18~20 min, 29%~48% A; 20~25 min, 48%~70% A; 25~28 min, 70%~85% A; 28~30 min, 85%~5% A), 体积流量为 0.3 mL/min, 柱温为 30 °C, 进样量为 0.4 μL, 采用定时波长检测 (0~13.2 min, 265 nm; 13.2~20 min, 260 nm; 20~21.5 min, 270 nm; 21.5~22 min, 275 nm; 22~30 min, 280 nm)。采用中药指纹图谱相似度评价软件进行相似度评价, 结合化学计量学分析, 同时测定连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇、连翘脂素的含量。结果 建立了连翘药材的指纹图谱, 以 6 号峰为参照峰, 共标记了 11 个共有峰, 用对照品比对法指出 5 个色谱峰, 分别为峰 6 (连翘酯苷 A)、峰 7 (芦丁)、峰 9 (连翘苷)、峰 10 (松脂醇)、峰 11 (连翘脂素)。24 批连翘药材样品指纹图谱相似度均在 0.99 以上。聚类分析将 24 批连翘样品分为 3 类, 不同产地来源各自聚为一类。主成分分析表明, 不同产地来源的连翘样品间存在差异。连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇、连翘脂素的质量分数分别为 59.286 5~114.849 2、2.653 6~4.055 6、7.133 3~11.911 1、0.300 7~1.614 6、0.089 3~0.838 2 μg/g, 经方法学考察, 各成分呈现良好的线性关系, 平均加样回收率在 104.30%~111.48%, RSD 在 1.86%~2.96%。通过 OPLS-DA 项下的变量权重值 (variable importance projection, VIP) 分析筛选出连翘酯苷 A 等 3 个成分可作为不同产地连翘的差异标志物。结论 建立的 UPLC 指纹图谱和多成分含量测定方法稳定、可靠, 可为连翘药材的质量评价与控制提供科学依据及参考。

关键词: 连翘; 指纹图谱; 不同产地; 连翘酯苷 A; 芦丁; 连翘苷; 松脂醇; 连翘脂素; 化学计量学

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)17-6362-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.17.024

Based on UPLC fingerprint and multi-index component determination combined with chemometrics to evaluate quality of *Forsythiae Fructus* from different sources

XU Rongrong, LI Rui, ZHANG Chuhan, WANG Xinguo, FENG Wei

School of Pharmaceutical Sciences, Quality Evaluation & Standardization Hebei Province Engineering Research Center of Traditional Chinese Medicine, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China

Abstract: Objective To establish an ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) fingerprint and multi-component content determination method for *Forsythiae Fructus* from different sources, and to evaluate the quality of *Forsythiae Fructus* from different sources in combination with chemometrics methods, so as to provide technical method reference and basic data for its quality control research. **Methods** Phenomenex Titank C₁₈ chromatographic column (150 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) was used, with acetonitrile (A) - 0.2% formic acid water (B) solution as mobile phase, gradient elution (0—5 min, 5%—12% A; 5—8 min, 12%—20% A; 8—15 min, 20% A; 15—18 min, 20%—29% A; 18—20 min, 29%—48% A; 20—25 min, 48%—70% A; 25—28 min, 70%—85% A; 28—30 min, 85%—5% A). The flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 30 °C, the injection volume was 0.4 μL, and time-programmed wavelength detection wavelength was set at a fixed wavelength (0—13.2 min, 265 nm; 13.2—20 min, 260 nm; 20—

收稿日期: 2025-03-03

基金项目: 河北省省级科技计划项目资助 (21372503D)

作者简介: 徐荣荣, 女, 硕士, 研究方向为中药药效物质基础。

*通信作者: 冯薇, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (0311)85216828

21.5 min, 270 nm; 21.5—22 min, 275 nm; 22—30 min, 280 nm). The fingerprints of *Forsythiae Fructus* from different sources were constructed, and the contents of forsythiaside A, rutin, forsythin, pinoresinol and forsythigenin were determined by similarity analysis and chemometrics analysis. **Results** The fingerprint of *Forsythia suspensa* was established, and taking peak 6 as the reference peak, 11 common peaks were marked. A total of five chromatographic peaks were identified by reference substance comparison method, which were peak 6 (forsythiaside A), peak 7 (rutin), peak 9 (forsythin), peak 10 (pinoresinol) and peak 11 (forsythigenin). The similarity of fingerprints of 24 batches of *Forsythiae Fructus* samples was above 0.99. Cluster analysis divided 24 batches of *Forsythiae Fructus* samples into three categories, and different origins were clustered into one category. Principal component analysis showed that there were differences among *Forsythiae Fructus* samples from different origins. The mass fraction ranges of forsythiaside A, rutin, forsythin, pinoresinol and forsythigenin were 59.286 5—114.849 2、2.653 6—4.055 6、7.133 3—11.911 1、0.300 7—1.614 6、0.089 3—0.838 2 $\mu\text{g/g}$, respectively. The methodological investigation showed that each component showed a good linear relationship. The average recovery was between 104.30 % and 111.48 %, and the RSD was between 1.86 % and 2.96 %. Three components such as forsythiaside A were screened by VIP analysis under OPLS-DA, which could be used as differential markers of *Forsythiae Fructus* in different producing areas. **Conclusion** The UPLC fingerprint and multi-component content determination method established in this study are stable and reliable, which can provide scientific basis and reference for the quality evaluation and control of *Forsythiae Fructus*.

Key words: *Forsythiae Fructus* ; fingerprint ; different producing areas; forsythoside A; rutin; phillyrin; pinoresinol; forsythigenin; chemometrics

连翘为木犀科多年生植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实^[1], 是我国常用大宗中药材之一^[2], 目前连翘药材资源以野生为主, 主产于河北、山西、河南等地^[3]。连翘味苦、性微寒, 归肺、心、小肠经, 现代药理研究表明, 连翘具有抗菌^[4]、抗病毒^[5]、抗炎^[6]、抗氧化^[7]、止吐^[8]、抗肿瘤^[9]等作用, 并具有肝保护^[10]、神经保护^[11]、心血管保护^[12]以及调节免疫^[13]、利尿降压^[14]、调血脂^[15]等作用。临床多用于治疗急性风热感冒、痈肿疮毒、尿路感染等, 是连花清瘟、双黄连口服液等中成药的主要原料^[16]。目前市场上连翘药材质量因受产地、采收、加工等多方面因素的影响而参差不齐, 因此对连翘药材质量进行评价研究显得尤为重要。

含量测定为历版《中国药典》中判定药材质量的常用方法, 具有方法简单、成本低、易操作等优点^[17]。指纹图谱从整体上对中药进行研究, 能够全面反应中药所含的复杂成分及相互关系, 是符合中药特点的质量控制模式之一, 能够实现对不同中药材及其制剂的质量控制^[18]。近年来, 中药指纹图谱与化学计量学模式相结合, 已成为最常用最有效的控制药材质量的手段之一^[19]。目前对连翘药材的含量测定报道较少, 已有报道主要是研究连翘复方及连翘叶中有关化学成分的含量测定^[20-21], 因此, 本研究对 24 批不同产地的连翘药材建立其 UPLC 指纹图谱, 同时对连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇和连翘脂素 5 种化学成分进行含量测定, 在此基础上结合聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis,

PCA)、正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least-squares discriminant analysis, OPLS-DA) 等化学计量方法筛选出不同产地连翘药材差异性成分, 以期全面、客观、准确评价连翘药材质量提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

H-Class 型超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), YB-150 型多功能粉碎机 (永康市速锋工贸有限公司), CPA225D 型电子天平、BSA224S-CW 型电子天平 (德国赛多利斯有限公司), KQ-250E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), H2050R 型高速离心机 (湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司)。

1.2 试剂

对照品连翘酯苷 A、松脂醇 (成都普菲德生物技术有限公司, 批号分别为 22012104、20092410); 对照品连翘脂素、芦丁 (成都克洛玛生物科技有限公司, 批号为 CHB201204、CHB-L-062); 对照品连翘苷 (成都乐美天医药科技有限公司, 批号为 DSTDL004802), 所有对照品质量分数均大于 98%。乙腈 (色谱纯, 德国默克公司), 甲酸 (色谱纯, 北京迪科马科技有限公司), 其他试剂均为分析纯, 实验用水为超纯水。

1.3 药材

所用药材从河北安国药材市场购买, 经河北中医药大学侯芳洁副教授鉴定为木犀科植物连翘 *F. suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实。样品信息见表 1。

表 1 连翘样品采集信息
Table 1 Collection information of *Forsythiae Fructus* samples

编号	产地	采集时间	编号	产地	采集时间
S1	河南洛阳	2022-08	S13	山西运城	2022-08
S2	河南洛阳	2022-08	S14	山西运城	2022-08
S3	河南洛阳	2022-08	S15	河北易县	2022-07
S4	河南洛阳	2022-08	S16	河北邯郸	2022-08
S5	山西长治	2022-07	S17	河北邯郸	2022-08
S6	山西长治	2022-07	S18	河北邯郸	2022-08
S7	山西长治	2022-08	S19	河北邯郸	2022-08
S8	山西晋中	2022-08	S20	河北邯郸	2022-08
S9	山西晋中	2022-08	S21	河北邯郸	2022-08
S10	山西晋中	2022-08	S22	河北邯郸	2022-08
S11	山西晋中	2022-08	S23	河北石家庄	2022-08
S12	山西运城	2022-08	S24	河北石家庄	2022-08

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为菲罗门 Titank C₁₈ 色谱柱（150 mm×2.1 mm，1.8 μm）；流动相为乙腈（A）-0.2%甲酸水溶液（B）梯度洗脱（0~5 min，5%~12% A；5~8 min，12%~20% A；8~15 min，20% A；15~18 min，20%~29% A；18~20 min，29%~48% A；20~25 min，48%~70% A；25~28 min，70%~85% A；28~30 min，85%~5% A），体积流量 0.3 mL/min，柱温 30 ℃，进样量 0.4 μL，采用定时波长（0~13.2 min，265 nm；13.2~20 min，260 nm；20~21.5 min，270 nm；21.5~22 min，275 nm；22~30 min，280 nm）。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取连翘酯苷 A、芦丁、松脂醇、连翘苷、连翘脂素对照品适量，加甲醇溶解稀释定容于 10 mL 量瓶中，分别制成质量浓度为 0.507 0、0.512 0、0.766 0、0.507 0、0.524 0 mg/mL 的单一对照品储备液。精密量取上述对照品储备液适量，加甲醇稀释定容至 2 mL，制成质量浓度分别为 447.40、15.40、1.90、4.18、0.13 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取连翘粉末（过 60 目筛）1.0 g，置于 50 mL 锥形瓶中，加入 20 mL 70% 的甲醇，称定质量，超声处理（功率 250 W、频率 40 kHz）30 min，取出，静置至室温，再次称定质量，用 70% 甲醇补足减失的质量，摇匀，用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取 S16 号连翘药材粉末，按照“2.2.2”项下制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，连续进样 6 次，以 6 号色谱峰（连翘酯苷 A）为参照峰，测得各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.46%，相对峰面积 RSD 值均小于 2.97%，表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取 S16 号连翘药材粉末 6 份，按照“2.2.2”项下平行制备 6 份供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，以 6 号色谱峰（连翘酯苷 A）为参照峰，测得各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.52%，相对峰面积 RSD 值均小于 2.95%，表明该方法重复性好。

2.3.3 稳定性试验 取 S16 号连翘药材粉末，按照“2.2.2”项下制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定，以 6 号色谱峰（连翘酯苷 A）为参照峰，测得各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 1.32%，相对峰面积 RSD 值均小于 2.95%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4 UPLC 指纹图谱的建立及相似度评价

分别精密称取 24 批连翘药材样品，按照“2.2.2”项下方法制成供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件分别进样分析，记录色谱图。将所得 24 批连翘药材的图谱文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012 A 版），以 S1 为参照图谱，设置时间窗宽度为 0.1，并基于中位数法生成对照图谱，运用多点校正进行 Marker 色谱峰匹配，计算其相似

度。结果表明, 所测 24 批连翘药材与指纹图谱的相似度均大于 0.99, 说明不同批次的连翘药材的化学组成具有一定的相似度。相似度结果见表 2。共标定 11 个共有峰, 指纹图谱见图 1。按“2.2.1”项下方法制备混合对照品溶液, 得到对应的对照品溶液色谱图, 将其与供试品溶液色谱图进行比对, 根据保留时间确定共有峰。本研究采用对照品比对法指出 5 个色谱峰, 分别为连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇、连翘脂素。24 批连翘样品的特征色谱峰匹配图谱见图 2-A, 混合对照品溶液的色谱图见图 2-B。

表 2 24 批连翘药材样品的相似度评价结果
Table 2 Similarity evaluation results of 24 batches of *Forsythiae Fructus* samples

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.993	S13	0.999
S2	0.994	S14	0.999
S3	0.995	S15	0.997
S4	0.996	S16	0.997
S5	0.999	S17	0.997
S6	0.999	S18	0.997
S7	0.999	S19	0.996
S8	0.999	S20	0.998
S9	0.999	S21	0.996
S10	0.999	S22	0.997
S11	0.999	S23	0.997
S12	0.999	S24	0.998

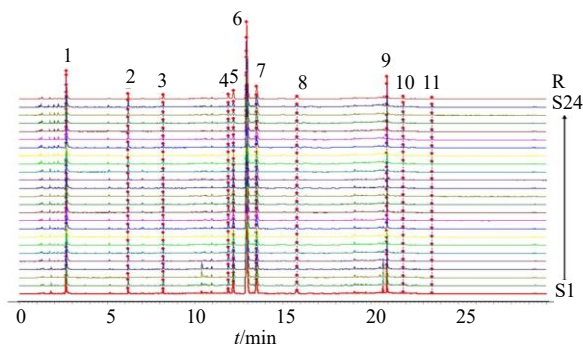


图 1 24 批连翘样品的 UPLC 指纹图谱
Fig. 1 UPLC fingerprint of 24 batches of *Forsythiae Fructus* samples

2.5 化学计量学分析

2.5.1 HCA 将 24 批不同产地的连翘药材指纹图谱中标定的 11 个共有峰峰面积为变量, 建立数据并导入到 SPSS 26.0 统计软件, 进行系统聚类分析。以瓦尔德法、平方欧氏距离生成谱系图。结果显示, 当平方欧氏距离为 5 时, 24 批连翘药材被分为河南产地 (S1~S4)、山西产地 (S5~S14)、河北产地

(S15~S24) 3 类, 表明不同产地连翘药材质量存在一定差异。具体结果见图 3。

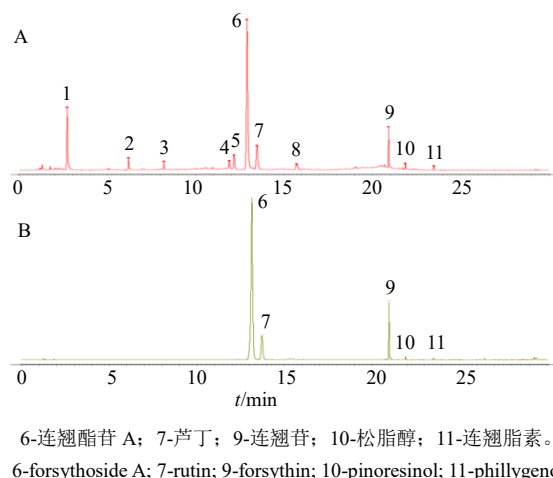


图 2 连翘 UPLC 对照指纹图谱 (A) 及混合对照品 (B) 色谱图

Fig. 2 UPLC reference fingerprint of *Forsythiae Fructus* (A) and mixed reference substances (B)

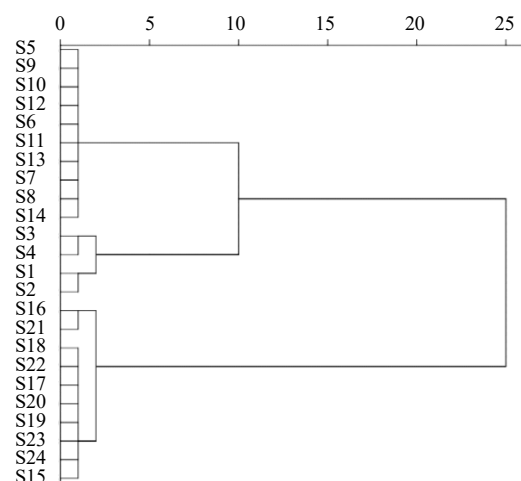


图 3 24 批连翘样品的聚类分析图
Fig. 3 Cluster analysis diagram of 24 batches of *Forsythiae Fructus* samples

2.5.2 PCA 为进一步比较不同产地连翘间的质量差异, 将 24 批连翘样品的 11 个共有峰峰面积导入 SPSS 26.0 和 Simca 统计软件进行主成分分析。主成分的特征值及方差贡献率见表 3。前 3 个主成分的初始特征值依次为 6.936、1.543、1.347, 累积方差贡献率达到 89.315%, 符合 SPSS 主成分分析中累积贡献率 > 80% 的要求^[22], 表明以上 3 个主成分能够较好的代表指纹图谱中的大部分信息。PCA 得分图显示 24 批样品大致分成 3 类, 样品 S1~S4 为第 1 类, 样品 S5~S14 为第 2 类, 样品 S15~S24 为第 3 类, 与聚类分析结果一致, 见图 4。

表 3 主成分分析特征值及方差贡献率

Table 3 Eigenvalues and variance contribution rates of PCA

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	6.936	63.050	63.050	6.936	63.050	63.050
2	1.543	14.023	77.073	1.543	14.023	77.073
3	1.347	12.242	89.315	1.347	12.242	89.315
4	0.639	5.810	95.126			
5	0.256	2.327	97.452			
6	0.088	0.803	98.255			
7	0.072	0.658	98.913			
8	0.062	0.566	99.480			
9	0.042	0.378	99.858			
10	0.010	0.090	99.948			
11	0.006	0.052	100.000			

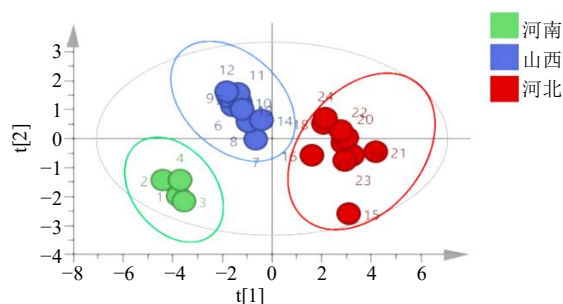


图 4 24 批连翘的 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot of 24 batches of *Forsythiae Fructus*

2.5.3 OPLS-DA 为了进一步分析不同产地连翘药材的组间差异,在 PCA 基础上进一步做了有监督模式的 OPLS-DA 识别分析。将 24 批连翘药材指纹图谱中的 11 个共有峰峰面积为变量导入 SIMCA 14.1 软件,进行 OPLS-DA 建模,得到的模型 R^2_X 为 0.984, R^2_Y 为 0.961, Q^2 为 0.914,说明 98.4% 的变量可以解释 96.1% 的差异,且该模型平均预测能力为 91.4% ($>50\%$),表明所建立的模型稳定性及预测能力较好。由 OPLS-DA 模型得分图见图 5,24 批连翘药材样品可分为 3 类,样品 S1~S4 为第 1 类,样品 S5~S14 为第 2 类,样品 S15~S24 为第 3 类,与聚类分析、PCA 分析结果一致。为防止所建立的 OPLS-DA 模型出现过拟合而影响结果的准确性,利用 200 次置换检验模型进行内部验证,结果见图 6,右上角的 R^2 和 Q^2 的纵坐标的值高于最左边的 R^2 和 Q^2 ,斜率为正值, Q^2 点的蓝色回归线与纵轴(左侧)相交点低于 0 点,说明所建模型可

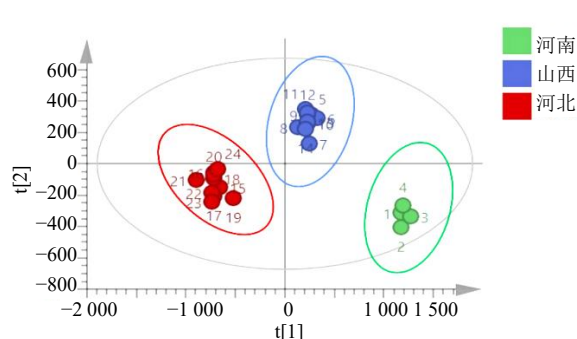


图 5 24 批连翘药材的 OPLS-DA 得分图

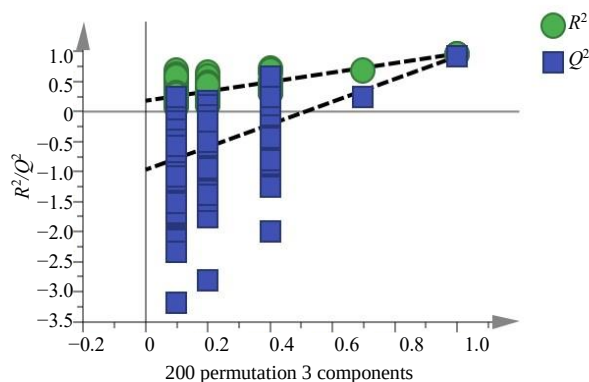
Fig. 5 OPLS-DA scores of 24 batches of *Forsythiae Fructus*

图 6 24 批连翘药材的 OPLS-DA 模型置换检验

Fig. 6 Permutation test of OPLS-DA for 24 batches of *Forsythiae Fructus*

靠,未出现过拟合现象,结果可靠。

再结合变量权重值(variable importance projection, VIP)进一步分析其差异,VIP 值表示每个变量对差异所起的贡献值,在 95%置信区间

内, VIP>1.0 的变量发挥着重要的作用, VIP 值介于 0.5~1.0 的变量其重要性级别取决于样品量^[23]。质量稳定 VIP 值越大, 表明对样品分类贡献值越大^[24]。结果见图 7。11 个变量的 VIP 值大小依次为峰 6(2.18, 连翘酯苷 A)>峰 1(1.52)>峰 5(1.06)>峰 4(0.86)>峰 7(0.73, 芦丁)>峰 9(0.62, 连翘苷)>峰 2(0.57)>峰 8(0.50)。指认了部分 VIP 值较大的峰, 包括峰 6(连翘酯苷 A)、峰 7(芦丁)、峰 9(连翘苷)。这些成分的含量不同是连翘样品间差异的主要因素, 是鉴别样品的重要成分, 对样品分类作用较大。

2.6 含量测定

2.6.1 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。以峰面积(Y)

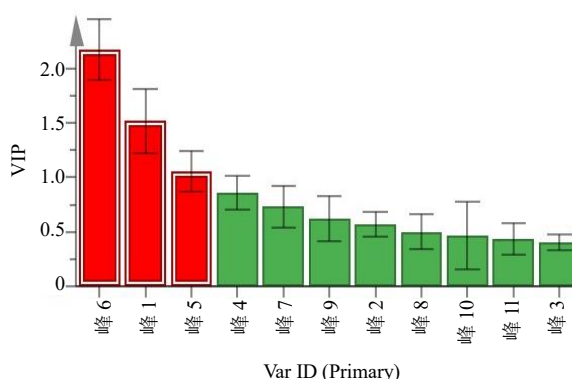


图 7 24 批连翘药材中 11 个化学成分的 VIP

Fig. 7 VIP values of 11 common peaks of 24 batches of *Forsythiae Fructus*

对进样量(X)进行线性回归, 即得回归方程及线性范围, 见表 4, 结果表明 5 种化学成分在线性范围内呈良好的线性关系。

表 4 线性关系考察结果

Table 4 Results of linear relationship investigation

成分	回归方程	R^2	线性范围/ μg
连翘酯苷 A	$Y=1\,250\,299.781\,X+49\,973.649$	0.999 7	0.089 5~2.359 5
芦丁	$Y=5\,765\,136.774\,X-456.373$	0.999 8	0.003 1~0.086 1
连翘苷	$Y=1\,774\,722.292\,X-2\,451.882$	0.999 9	0.008 4~0.275 1
松脂醇	$Y=2\,382\,628.841\,X+963.526$	0.999 5	0.000 4~0.120 1
连翘脂素	$Y=2\,585\,676.866\,X+491.206$	0.999 8	0.000 3~0.095 9

2.6.2 精密度试验 取同一供试品溶液(S16), 按“2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录峰面积。计算连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇、连翘脂素峰面积的 RSD 值, 结果分别为 0.35%、0.39%、2.22%、2.97%、1.76%。表明仪器精密度良好。

2.6.3 重复性试验 取 S16 连翘药材粉末 6 份, 按照“2.2.2”项下平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇、连翘脂素峰面积的 RSD 值, 结果分别为 1.18%、1.68%、2.49%、2.95%、2.12%。表明该方法的重复性良好。

2.6.4 稳定性试验 取 S16 连翘药材粉末, 按照“2.1.3”项下制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 计算连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇、连翘脂素峰面积的 RSD 值, 结果分别为 1.60%、1.37%、2.86%、2.94%、2.93%。表明供试品溶液在

24 h 内稳定性良好。

2.6.5 加样回收率试验 精密称取 S16 连翘药材 0.5 g, 平行 3 组, 每组 3 份, 按 1:0.8、1:1 及 1:1.2 的比例加入对照品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 9 份, 按“2.1”项下色谱条件测定, 计算连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇、连翘脂素的平均加样回收率分别为 106.58%、105.00%、104.30%、109.01%、111.48%, RSD 值分别为 2.16%、1.86%、2.96%、2.74%、2.38%, 表明此方法具有可行性。

2.6.6 样品含量测定 取 24 批连翘药材样品, 按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液 3 份, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算各批次样品中 5 种待测成分的含量, 结果见表 5, 结果表明 24 批连翘样品中均能定量检测出上述 5 种成分, 不同产地的连翘药材 5 种成分的含量存在一定的批间差异, 所得结果均在线性关系考察范围内。

表 5 24 批连翘药材含量测定结果
Table 5 Determination results of contents in 24 batches of *Forsythiae Fructus*

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	连翘酯苷 A	芦丁	连翘苷	松脂醇	连翘脂素
S1	108.121 3	3.753 7	10.628 6	0.402 6	0.294 4
S2	114.849 2	4.055 6	11.911 1	1.130 8	0.343 3
S3	101.549 1	3.846 1	10.190 4	0.300 7	0.210 1
S4	98.727 3	3.749 8	10.169 0	0.320 9	0.214 0
S5	89.019 6	3.226 2	9.568 2	0.980 6	0.342 0
S6	87.623 2	3.240 1	9.636 1	0.736 2	0.333 4
S7	87.077 0	3.340 1	9.242 6	0.914 6	0.309 1
S8	83.623 0	3.264 9	9.111 0	0.811 8	0.330 5
S9	88.464 2	3.438 2	9.713 2	1.013 8	0.336 8
S10	87.198 9	3.277 5	9.818 4	0.941 7	0.380 7
S11	86.112 5	3.242 0	9.625 7	1.020 0	0.369 7
S12	87.204 1	3.373 2	9.876 1	1.085 5	0.390 0
S13	85.306 0	3.241 1	9.515 4	0.777 6	0.314 9
S14	82.324 9	3.042 7	8.948 3	0.910 9	0.328 8
S15	72.036 9	3.283 6	7.133 3	1.289 2	0.774 8
S16	63.497 7	2.919 9	9.008 3	0.737 9	0.089 3
S17	71.464 0	3.078 4	9.689 0	1.477 8	0.777 9
S18	70.091 0	3.146 9	9.528 6	1.600 2	0.771 2
S19	71.239 1	2.790 2	8.707 8	1.285 0	0.665 3
S20	71.072 1	2.990 6	8.727 0	1.412 8	0.822 6
S21	59.286 5	2.653 6	7.750 2	1.336 3	0.690 7
S22	70.403 3	2.933 2	9.911 1	1.614 6	0.830 0
S23	67.563 9	3.176 7	9.135 1	1.262 4	0.740 5
S24	75.360 3	3.204 4	9.373 3	1.603 5	0.838 2

3 讨论

本研究前期考察了 50%、70%、100%等不同体积分数的甲醇溶剂，20、30、40 倍等不同液料比以及 20、30、40 min 等不同提取时间对供试品制备的影响，最终确定了连翘药材的制备方法为：取连翘药材粉末 1.0 g，加 70%甲醇 20 mL，超声 30 min。考察了不同流动相体系（乙腈-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.2%甲酸水溶液）对连翘色谱峰分离度的影响，发现乙腈-0.2%甲酸水溶液对连翘各色谱峰的分离效果最好，所以选用此系统为流动相。

以 24 批不同产地的连翘药材为研究对象，本研究建立了不同产地连翘药材 UPLC 指纹图谱及 5 个化学成分的含量测定方法，结合 HCA、PCA、OPLS-DA 等化学计量学方法全面评价不同产地连翘药材质量。结果表明，24 批不同产地连翘药材的相似度均大于 0.99，说明不同产地的连翘药材在成

分含量上差异很大，但对指纹图谱反映的连翘药材整体概貌影响不大，即不同产地、批次连翘药材中含有的主要成分种类一致，但各成分含量有差异。

HCA 和 PCA 将 24 批连翘样品分成 3 大类，说明不同产地的连翘药材间存在差异。根据 OPLS-DA 分析结果显示，其分类结果与 HCA 分类结果相符合。OPLS-DA 结果进一步显示 VIP 值>1.0 的变量峰 6（连翘酯苷 A）、峰 1、峰 5 所代表的化学成分为不同产地连翘药材的主要差异成分，VIP 值介于 0.5~1.0 的变量峰 4、峰 7（芦丁）、峰 9（连翘苷）、峰 2、峰 8 所代表的化学成分也可作为不同批次连翘药材的差异成分。通过 OPLS-DA 分析筛选出 3 种差异性成分，提示峰 6（连翘酯苷 A）、峰 1、峰 5 可作为连翘品质评价的差异标志物。后续研究工作拟开展分离鉴定工作，明确这几个未知成分，进一步完善连翘的质量评价研究。

含量测定结果显示, 24 批连翘药材中连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇、连翘脂素质量分数分别在 59.286 5~114.849 2、2.653 6~4.055 6、7.133 3~11.911 1、0.300 7~1.614 6、0.089 3~0.838 2 $\mu\text{g/g}$, 其中连翘酯苷 A 在各个产区含量差异明显, 且含量在河南产区相对有优势, 比山西和河北 2 个产区平均含量分别高 18.35%、34.60%; 松脂醇和连翘脂素在各产区含量差异较大, 二者含量在河北产区有相对优势, 其中松脂醇平均含量比河南和山西 2 个产区平均含量分别高 60.44%、32.50%, 连翘脂素平均含量比河南和山西 2 个产区平均含量分别高 62.09%、50.92%; 芦丁和连翘苷含量在 3 个产区中变化较小, 河南产区连翘的含量较高, 其余产地含量相差不大。根据以上结果推测, 连翘中连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、松脂醇和连翘脂素含量与药材地域分布、种植技术及区域的土壤、日照等生长环境密切相关。

本研究基于 UPLC 分析方法, 建立了不同产地连翘药材的 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定方法, 结合 CA、PCA 和 OPLS-DA 等多种化学计量学方法评价不同产地连翘药材品质, 为其质量控制研究提供技术方法借鉴和基础数据, 为连翘产地溯源和品质评价提供有益参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 177.
- [2] 范圣此, 张立伟. 连翘产业现状的分析及其相关问题的对策研究 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(4): 371-376.
- [3] 王进明, 王瑞娜, 范圣此. 野生连翘资源调查与分析 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(15): 8483-8484.
- [4] 陈瑾, 谭丽媛, 张淑蓉, 等. 不同产地连翘主要成分分析及抗菌作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(2): 427-430.
- [5] 罗旋, 王薇, 胡本祥, 等. 连翘抗病毒作用文献研究 [J]. 陕西中医药大学学报, 2022, 45(6): 28-33.
- [6] 陈佳茜, 郭广洋, 谭新杰, 等. 连翘多胺氧化酶基因家族的鉴定及干旱和盐胁迫下的表达分析 [J]. 中草药, 2024, 55(9): 3077-3084.
- [7] 史正文, 郝晶晶, 甄会贤, 等. 连翘活性成分及其抗氧化和抑菌性比较分析 [J]. 分子植物育种, 2023, 21(9): 3057-3064.
- [8] 赵耀中, 聂克. 基于网络药理学方法探讨连翘防治化疗性恶心呕吐的作用机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(10): 807.
- [9] 聂承冬, 沙冬梅, 何晓勇, 等. 连翘的化学成分研究 [J]. 中草药, 2023, 54(17): 5487-5497.
- [10] Jeong Y H, Hwang Y H, Kim T I, et al. *Forsythia* fruit prevents fulminant hepatitis in mice and ameliorates inflammation in murine macrophages [J]. *Nutrients*, 2021, 13(8): 2901.
- [11] Kong F G, Jiang X, Wang R C, et al. Forsythoside B attenuates memory impairment and neuroinflammation via inhibition on NF- κ B signaling in Alzheimer's disease [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 305.
- [12] Zhang Y Y, Feng F, Chen T, et al. Antidiabetic and antihyperlipidemic activities of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl (fruit) in streptozotocin-induced diabetes mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 192: 256-263.
- [13] 陈冉, 王婷婷, 李开铃, 等. 免疫调节抗病毒中药的特性与应用 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1412-1426.
- [14] 史向华, 薛润苗, 牛丹, 等. 连翘酯苷对盐水负荷模型大鼠的利尿作用 [J]. 中国药业, 2021, 30(20): 36-39.
- [15] 梅雪, 周安琴, 李静, 等. 连翘叶的化学成分、药理学与毒理学研究概况 [J]. 中国药房, 2015, 26(22): 3143-3146.
- [16] 王文青, 王建忠, 王斌. 全球新冠肺炎背景下加快我国连翘产业发展的策略 [J]. 北方园艺, 2021(10): 136-141.
- [17] 尹晓娟, 曹海龙, 唐芳. 近 10 年中药质量控制与评价模式的最新进展 [J]. 甘肃科技, 2021, 37(5): 123-126.
- [18] 吕渭升, 李振雨, 侯栩轩, 等. 基于 UPLC 指纹图谱和化学计量学评价不同产地青蒿药材质量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(3): 107-113.
- [19] 郭正红, 陈山, 何琪, 等. HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别法评价黔钩藤质量 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(3): 583-591.
- [20] 逄安航, 李思思, 陈瑾, 等. 一测多评法同时测定连翘归尾颗粒中 3 种成分 [J]. 中成药, 2022, 44(9): 2779-2783.
- [21] 骆霞, 赵利军, 祝宇, 等. 秦巴山不同产区连翘叶中多酚类化合物含量分析 [J]. 职业与健康, 2023, 39(15): 2017-2018.
- [22] 吴明隆. 问卷统计分析实务: SPSS 操作与应用 [M]. 重庆: 重庆大学出版社, 2010: 350-380.
- [23] 程伟, 薛文静, 陈新梅, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和化学计量学的不同产地雪菊质量评价 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(11): 1444-1449.
- [24] 钟春燕, 黄文平, 关冠恒, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和化学模式识别的关节痛消颗粒的质量评价研究 [J]. 化学研究与应用, 2022, 34(11): 2729-2734.

[责任编辑 时圣明]