

基于 HPLC 指纹图谱和多指标定量的连翘花质量评价研究

杜一凡^{1,2}, 谷子玉^{1,2}, 钟岳^{1,2}, 张丹^{1,2}, 郑倩^{3*}, 郭龙^{1,2*}

1. 河北中医药大学 河北省中药炮制技术创新中心, 河北 石家庄 050200
2. 河北中医药大学 河北省中药资源利用与质量评价国际联合研究中心, 河北 石家庄 050200
3. 石家庄市中医院, 河北 石家庄 050051

摘要: **目的** 建立连翘 *Forsythia suspensa* 花 HPLC 指纹图谱及多指标成分含量测定方法, 并结合化学计量学方法对不同产地连翘花化学成分进行分析与比较, 为连翘花的质量控制提供方法支撑与科学依据。 **方法** 采用 HPLC 对 20 批不同产地连翘花样品化学成分进行分析, 建立连翘花化学指纹图谱, 并应用聚类分析和主成分分析等化学计量学方法对不同产地连翘花样品进行区分与比较; 进一步采用 HPLC 法对不同产地连翘花样品中 7 个指标性成分的含量进行测定与比较。 **结果** 建立了连翘花 HPLC 指纹图谱, 共指认出 7 个共有峰, 分别为绿原酸、芦丁、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷、连翘苷、槲皮素、连翘脂素。20 批不同产地连翘花样品的化学指纹图谱相似度在 0.853~1.000, 所建立的指纹图谱方法专属性良好, 可用于连翘花质量控制与评价。聚类分析和主成分分析结果提示不同产地连翘花所含化学成分有一定差异, 整体可被分为山东、河南、山西/河北 3 类。含量测定结果表明不同产地连翘花样品中 7 种指标性成分差异明显, 山东产连翘花中绿原酸和连翘脂素的含量明显高于其他 3 省, 山西和河北产连翘花中(+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷和连翘苷的含量明显高于河南和山东。 **结论** 建立的连翘花化学指纹图谱和多指标含量测定方法稳定、可靠, 可为连翘花的质量控制与评价提供方法支撑, 也可连翘花资源的合理开发利用提供科学依据。

关键词: 连翘花; 指纹图谱; 化学计量学; 绿原酸; 芦丁; 连翘酯苷 A; (+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷; 连翘苷; 槲皮素; 连翘脂素; 质量评价

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)21-7956-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.21.024

Quality evaluation of *Forsythia suspensa* flowers based on HPLC fingerprint and multi-components quantitation

DU Yifan^{1,2}, GU Ziyu^{1,2}, ZHONG Yue^{1,2}, ZHANG Dan^{1,2}, ZHENG Qian³, GUO Long^{1,2}

1. Traditional Chinese Medicine Processing Technology Innovation Center of Hebei Province, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China
2. International Joint Research Center on Resource Utilization and Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine of Hebei Province, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China
3. Shijiazhuang Traditional Chinese Medicine Hospital, Shijiazhuang 050051, China

Abstract: Objective To develop a high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and multi-components quantitation method for quality evaluation of *Forsythia suspensa* flowers. Additionally, chemometric methods were employed to analyze and compare the chemical profiles of *F. suspensa* flower samples collected from different geographical regions. **Methods** An accurate and reliable HPLC fingerprint of *F. suspensa* flowers was established, and chemometric analysis including hierarchical clustering analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) were conducted to evaluate the chemical differences of *F. suspensa* flowers from different producing areas. Moreover, a validated HPLC method was employed to determine and compare the contents of 7

收稿日期: 2025-05-03

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (H2024423015); 河北省省级科技计划项目 (25292501D, 246W2501D); 河北省三三三人才工程资助项目 (C20231013); 河北省高等学校科学技术研究项目 (QN2025094); 河北省中医药管理局科研计划项目 (Z2022019); 河北省第二期现代农业产业技术体系创新团队项目 (HBCT2023080201, HBCT2023080205); 第四次全国中药资源普查 (Z135080000022)

作者简介: 杜一凡, 硕士研究生, 主要从事中药质量评价研究。E-mail: YJS20234006@hebcm.edu.cn

***通信作者:** 郭龙, 博士生导师, 教授, 主要从事中药药效物质基础及质量评价研究。E-mail: guo_long11@163.com

郑倩, 硕士生导师, 主任中药师, 主要从事中药质量评价研究。E-mail: 394012759@qq.com

bioactive compounds in 20 batches of *F. suspensa* flowers samples. **Results** The HPLC fingerprint of *F. suspensa* flowers was established. A total of seven common peaks in fingerprint of *F. suspensa* flowers were identified, including chlorogenic acid, rutin, forsythoside A, (+)-pinoresinol-4-*O*- β -D-glucopyraside, phillyrin, quercetin and phillygenin. The similarities of 20 batches of *F. suspensa* flowers samples were ranged from 0.853 to 1.000, indicating the established HPLC fingerprint method had good specificity and could be used for the quality evaluation of *F. suspensa* flowers. HCA and PCA results showed that there were certain chemical differences among *F. suspensa* flowers samples from different producing areas, and the *F. suspensa* flowers samples could be generally classified into three categories. Furthermore, the quantitative results also showed significant differences in the contents of bioactive components among *F. suspensa* flowers samples from different producing areas. **Conclusion** The present study provided stable and reliable HPLC fingerprint and multi-components quantitative method for quality evaluation of *F. suspensa* flowers, and also provide useful information for the development and utilization of *F. suspensa* flowers.

Key words: *Forsythia suspensa* flowers; fingerprint; chemometrics; chlorogenic acid; rutin; forsythoside A; (+)-pinoresinol-4-*O*- β -D-glucopyraside; phillyrin; quercetin; phillygenin; quality evaluation

连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl. 为木犀科连翘属多年生落叶灌木, 花期 3~4 月, 果期 7~9 月, 具有良好的观赏价值和药用价值。《中国药典》2025 年版中记载连翘药用部位为干燥果实, 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”。连翘果实具有清热解毒、消肿散结、疏散风热的功效^[1]。河北、河南、山西等为连翘的道地产区。文献报道连翘中主要的化学成分为苯乙醇苷类(连翘酯苷 A~K、连翘新苷 A~C 等)、木脂素类(连翘苷、松脂素、表松脂素、连翘脂素等)、黄酮类(芦丁、异槲皮素等)、萜类、挥发油及酚酸类等成分^[2], 具有抗菌、抗病毒、抗炎、抗肿瘤、抗氧化等药理作用^[3]。《本草纲目》中记载“连翘生太山山谷, 八月采, 阴干。弘景曰: 处处有之。今用茎连花实”^[4], 可见连翘最早是以地上部分入药, 而现代主要使用连翘果实入药, 其他部位如叶、花等大量丢弃造成资源浪费。因此为避免资源浪费并拓展连翘药用部位资源, 近年来, 对连翘其他药用部位如连翘叶进行了较多的研究, 如刘银等^[5]建立了连翘叶的指纹图谱, 周明月等^[6]研究表明连翘叶中主要含有苯乙醇苷类、木脂素类、黄酮类等成分, 与连翘果实化学成分组成基本一致, 连翘叶可抑制 α -葡萄糖苷酶和酪氨酸酶活性^[7], 还可改善大鼠肝硬化、肥胖等^[8-9], 同时文献报道连翘叶中连翘苷的含量明显高于连翘果实^[10]。

目前对连翘花也有相关研究, 原江峰等^[11]测定了不同产地连翘叶花中芦丁、金丝桃苷、连翘酯苷 A、连翘苷、齐墩果酸和熊果酸等成分的含量; 倪素丽等^[12]运用一测多评法同时测定了连翘花中的 5 种成分。此外有研究表明连翘花具有美白、抗氧化、

保护线粒体、抗衰老等作用^[13-15], 连翘花在道地产区被制作为花茶饮用^[16-17], 有良好的保健功效。与连翘果实和连翘叶相比, 对连翘花的研究较少, 同时未见连翘花指纹图谱及不同产地连翘花的化学成分比较相关研究。为了进一步完善连翘花的质量评价方法, 扩展连翘药用部位资源, 为连翘资源综合开发利用提供科学依据, 本研究拟采用高效液相色谱法(HPLC)对不同产地连翘花进行分析, 建立连翘花的化学指纹图谱, 并结合聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和主成分分析(principal component analysis, PCA)等化学计量学方法分析与比较不同产地连翘花化学成分异同。在连翘花化学指纹图谱分析基础上, 进一步建立连翘花中绿原酸、芦丁、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷、连翘苷、槲皮素、连翘脂素 7 个指标成分的含量测定方法, 并比较不同产地连翘花中指标性成分含量差异。

1 材料与仪器

1.1 材料

对照品芦丁(批号 2423103005, 质量分数 98.61%)购自于北京索莱宝科技有限公司, 对照品绿原酸(批号 PS010694, 质量分数 99.93%)、连翘酯苷 A(批号 PS000582, 质量分数 99.39%)、(+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷(批号 PS011563, 质量分数 99.29%)、连翘苷(批号 PS012094, 质量分数 99.66%)、槲皮素(批号 PS012150, 质量分数 100.00%)、连翘脂素(批号 PS011622, 质量分数 99.67%)购自于成都普思生物科技有限公司。甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯(美国 Fisher Chemical 公司)。

4 个主要产地, 包括山东(S1~S3)、河南(S4~S7)、山西(S8~S16)、河北(S17~S20)共 20 批

连翘花样品收集自各地药材市场, 采收时间均为 2024 年 3 月。样品经河北中医药大学郭龙教授鉴定为木犀科植物连翘 *F. suspensa* (Thunb.) Vahl. 的干燥花。

1.2 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); Sartorius 分析天平 (0.1 mg、0.01 mg) (赛多利斯科学仪器有限公司); KQ-3000DE 型超声波清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司); 离心机 (德国 Eppendorf AG 公司)。

2 方法与结果

2.1 HPLC 指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件 使用 Agilent 1260 高效液相色谱仪, ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (50 mm×4.6 mm, 1.8 μm) 色谱柱对连翘花样品进行分析, 流动相为乙腈 (A)-0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 10%~15% A; 5~25 min, 15%~18% A; 25~30 min, 18%~30% A; 30~35 min, 30%~45% A; 35~40 min, 45%~100% A; 40~45 min, 100% A)。柱温 30 ℃, 进样量 5 μL, 体积流量 0.3 mL/min, 检测波长 280 nm。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取绿原酸、芦丁、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-4-*O*-β-*D*-葡萄糖吡喃糖苷、连翘苷、槲皮素、连翘脂素对照品适量, 以 80% 甲醇溶解, 制成质量浓度分别为 627.48、7 014.00、7 266.00、7 294.00、3 570.00、224.00、3 430.00 μg/mL 的对照品溶液。精密量取各对照品溶液适量进行混合制成混合对照品母液。精密量取各对照品溶液 0.30、0.15、0.15、0.15、0.08、0.18、0.05 mL 定容至 5 mL 量瓶制成混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取连翘花粉 (过 40 目筛) 约 0.20 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (频率 100 kHz) 40 min, 放冷, 再称定质量, 用 80% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 13 000 r/min 高速离心 10 min, 取上清液, 过 0.22 μm 有机微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

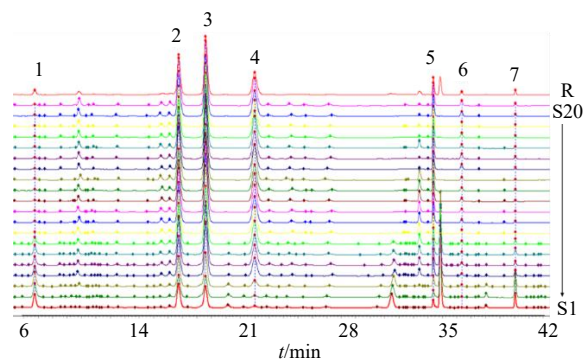
2.1.4 精密度试验 取连翘花样品 (S6) 适量, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定 6 次, 记录峰面积, 并计算相对标准偏差 (RSD), 以峰 3 (连翘酯苷 A) 为参照峰, 计算得到各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 1.7%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.4%, 表明仪器精

密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取同一份连翘花供试品溶液, 于 0、2、4、8、12、24 h 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算 RSD, 以峰 3 (连翘酯苷 A) 为参照峰, 计算得到各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 1.9%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.5%, 表明样品在 24 h 内保持稳定。

2.1.6 重复性试验 取连翘花样品 (S6) 适量, 按“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算 RSD, 以峰 3 (连翘酯苷 A) 为参照峰, 计算得到各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 1.7%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.5%。

2.1.7 指纹图谱建立及相似度评价 将 20 批连翘花样品按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 得到不同产地连翘花 HPLC 色谱图, 将色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统” (2012 版), 以 S1 为参照图谱, 采用中位数, 时间窗宽度设为 0.1 min, 进行多点校正和 Mark 峰匹配, 建立连翘花的指纹图谱和对照指纹图谱, 结果见图 1。由色谱图结果可知 3 号峰稳定性较好且峰强度较高, 因此以 3 号为参照峰, 最终标定出 7 个共有峰, 通过与混合对照品对比, 指认出 7 个主要特征峰: 峰 1 为绿原酸, 峰 2 为芦丁, 峰 3 为连翘酯苷 A, 峰 4 为 (+)-松脂素-4-*O*-β-*D*-葡萄糖吡喃糖苷, 峰 5 为连翘苷, 峰 6 为槲皮素, 峰 7 为连翘脂素。20 批连翘花相似度评价结果见表 1, 不同产地连翘花样品相似度结果均大



1-绿原酸; 2-芦丁; 3-连翘酯苷 A; 4-(+)-松脂素-4-*O*-β-*D*-葡萄糖吡喃糖苷; 5-连翘苷; 6-槲皮素; 7-连翘脂素。
1-chlorogenic acid; 2-rutin; 3-forsythoside A; 4-(+)-pinoresinol-4-*O*-β-*D*-glucopyranoside; 5-phillyrin; 6-quercetin; 7-phillygenin.

图 1 20 批连翘花 (S1~S20) 指纹图谱及对照图谱 (R)
Fig. 1 Fingerprints of 20 batches (S1—S20) of *F. suspensa* flowers and reference fingerprint (R)

表 1 20 批连翘花样品 (S1~S20) 相似度结果

Table 1 Similarity of 20 batches (S1—S20) of *F. suspensa* flowers

样品	相似度	样品	相似度
S1	0.871	S11	0.997
S2	0.853	S12	0.998
S3	0.946	S13	0.997
S4	0.996	S14	0.999
S5	0.996	S15	0.998
S6	0.997	S16	0.994
S7	1.000	S17	0.997
S8	0.998	S18	0.998
S9	0.996	S19	0.998
S10	0.998	S20	0.998

于 0.853。以上结果表明所建立的连翘花指纹图谱方法精密度、稳定性、重复性良好,可用于连翘花的品质评价和质量控制。

2.2 化学计量学分析

由不同产地连翘花化学指纹图谱分析结果可知,不同批次连翘花样品所含化学成分种类差异不大,但指纹图谱中各共有峰的峰面积有一定的差异。因此,为了明确不同产地连翘花化学成分差异,在指纹图谱分析的基础上,采用 HCA 和 PCA 等化学计量学方法,对 20 批不同产地连翘花的化学成分进行了分析与比较。

2.2.1 HCA 以 20 批连翘花中 7 个共有峰的峰面积作为变量,导入 SPSS 23.0 软件,经过标准化处理后,采用组间连接,平方欧式距离法进行系统聚类,结果如图 2 所示。当欧氏距离为 5 时,4 个产地连翘花样品可以聚为 3 类,山东产连翘花 (S1~S3) 聚为一类,河南产连翘花 (S4~S7) 聚为一类,山西和河北产连翘花 (S8~S20) 聚为一类,以上结果表明不同产地连翘花样品所含化学成分存在一定的差异性。

2.2.2 PCA 将 7 个共有峰的峰面积为自变量,20 批连翘花样品为因变量,导入 SIMCA 14.1 软件进行 PCA,主成分 1 (PC1) 与主成分 2 (PC2) 的贡献率分别为 89.1% 和 6.04%,方差累计解释能力参数 R^2_X 和预测能力参数 Q^2 分别为 0.952 和 0.862,说明 PCA 模型的区分度和预测能力较好,2 个主成分 (PC1 和 PC2) 可综合反映连翘花样品的差异情况,绘制 PCA 得分散点图,结果见图 3。与 HCA 结果相似,PCA 结果显示山东产连翘花样品 (S1~S3) 聚为一类、河南产连翘花样品 (S4~S7) 聚为一类,山西和河北产连翘花样品 (S8~S20)

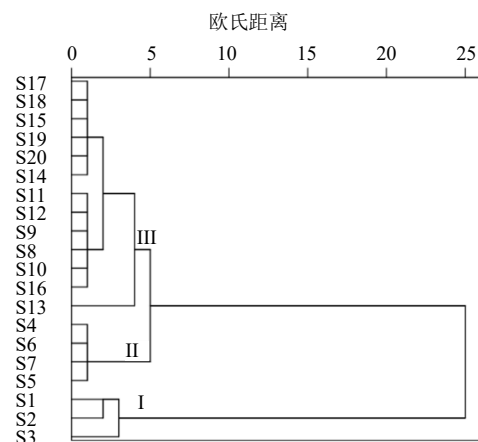


图 2 20 批连翘花样品 (S1~S20) 聚类分析结果

Fig. 2 HCA of 20 batches (S1—S20) of *F. suspensa* flowers

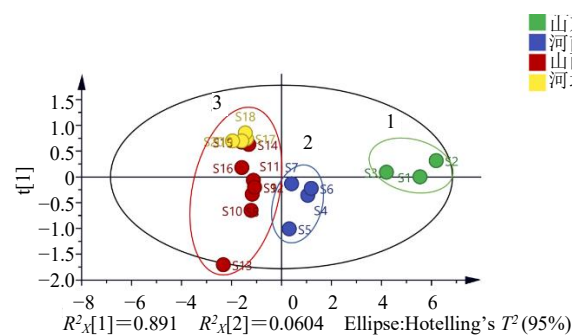


图 3 20 批连翘花样品 (S1~S20) 主成分分析结果

Fig. 3 PCA of 20 batches (S1—S20) of *F. suspensa* flowers samples

距离较近,聚为一类。PCA 结果表明不同产地连翘花化学成分间存在明显差异,各产地连翘花化学成分差异可能与产地环境、气候 (降水量、温度) 等因素有关。

2.3 多指标含量测定

通过上述研究建立了不同产地连翘花的化学指纹图谱,指认了 7 个共有峰,分别为绿原酸、芦丁、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-4-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷、连翘苷、槲皮素、连翘脂素,并采用 HCA 和 PCA 等化学计量学方法对不同产地连翘花化学成分进行了比较,结果表明不同产地连翘花样品中 7 个共有峰的峰面积有差异,提示不同产地连翘花样品中指标性化学成分的含量有区别。所指认的共有峰中绿原酸为酚酸类化合物,芦丁、槲皮素为黄酮类化合物,连翘酯苷 A 为苯乙醇苷类化合物, (+)-松脂素-4-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷、连翘苷和连翘脂素为木脂

素类化合物。研究表明连翘果实与连翘花所含化学成分类型相似,均含有木脂素、苯乙醇苷、酚酸、黄酮等多种化学成分^[18],具有抗菌、抗炎、抗氧化等药理作用^[19-20]。因此,为了进一步明确不同产地连翘花化学成分含量差异,为连翘花的质量评价提供方法,采用 HPLC 法对 20 批不同产地连翘花样品中绿原酸、芦丁、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷、连翘苷、槲皮素、连翘脂素等指纹图谱中指认的 7 个成分的含量进行了测定与比较。

2.3.1 色谱条件 同“2.1.1”。

2.3.2 对照品溶液的制备 同“2.1.2”。

2.3.3 供试品溶液的制备 同“2.1.3”。

2.3.4 线性关系考察及定量限、检测限 精密吸取绿原酸、芦丁、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷、连翘苷、槲皮素、连翘脂素的混合对照品母液适量,用 80% 甲醇稀释成不同浓度的系列混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件,将不同浓度的混合对照品溶液进样分析。以对照品峰面积为纵坐标(Y),对照品质量浓度为横坐标(X),进行回归分析,得到 7 种成分的回归方程。依据信噪比 10:1 确定定量限(LOQ),信噪比 3:1 确定检测限(LOD)。由表 2 可知,各化合物在相应线性范围内呈良好的线性关系。

表 2 7 个成分的回归方程、相关系数、线性范围、定量限及检测限

Table 2 Retention time, calibration curves, correlation coefficients, linear ranges, LOQ and LOD of seven components

成分	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOQ/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOD/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$
绿原酸	$Y=23.058 X-189.850$	0.999 2	8.28~89.64	175.00	116.67
芦丁	$Y=9.395 8 X-8.028 4$	0.999 8	7.83~1 002.00	35.00	23.33
连翘酯苷 A	$Y=16.743 X-20.94 5$	0.999 9	8.11~1 038.00	67.50	45.00
(+)-松脂素-4- <i>O</i> - β -D-葡萄糖吡喃糖苷	$Y=10.181 X+2.358 8$	0.999 9	8.14~1 042.00	120.00	80.00
连翘苷	$Y=10.334 X+4.202 4$	0.999 9	3.98~510.00	27.50	18.33
槲皮素	$Y=21.546 X-31.05 7$	0.999 8	2.00~32.00	20.00	13.33
连翘脂素	$Y=16.505 X+8.925 2$	0.999 9	1.91~490.00	30.00	20.00

2.3.5 精密度试验 取连翘花样品(S6)适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次,计算得到 7 种成分含量的 RSD 分别为 1.50%、1.49%、1.40%、1.66%、1.64%、1.49%、1.53%,结果表明仪器工作稳定,精密度良好。

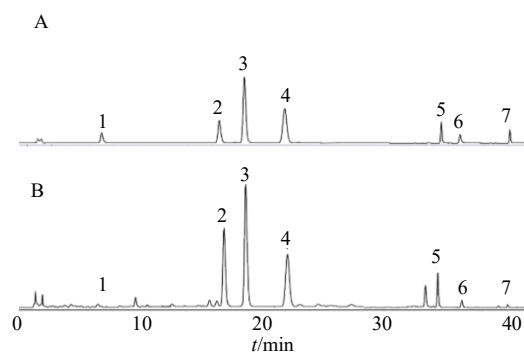
2.3.6 稳定性试验 取连翘花供试品溶液(S6),分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定,计算得到 7 种成分含量的 RSD 分别为 2.58%、2.85%、2.73%、2.57%、2.83%、2.75%、2.62%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性试验 取连翘花样品(S6)适量,按“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件下测定,计算得到 7 个成分的平均质量分数分别为 3.71、36.66、29.79、25.07、6.19、0.84、1.81 mg/g,并计算 7 个成分质量分数的 RSD 分别为 0.96%、1.35%、1.30%、2.29%、2.53%、2.80%、1.53%,结果表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 取测定含量的连翘花(S6)粉末 0.10 g,平行 6 份,精密称定,分别加入

各对照品溶液适量(相当于各对照品 0.36、3.70、2.92、2.50、0.61、0.08、0.18 mg),按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算得到 7 个成分的平均加样回收率分别为 100.52%、99.20%、103.13%、101.27%、100.59%、102.30%、102.24%,RSD 分别为 1.32%、1.79%、2.13%、2.43%、2.71%、2.54%、2.71%,结果表明所建立含量测定方法准确度良好,可用于连翘花多成分含量测定。

2.3.9 不同产地连翘花样品含量测定 取 20 批连翘花供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,计算样品中 7 个成分的含量。混合对照品与连翘花样品的 HPLC 色谱图见图 4,7 个成分含量测定结果见表 3。由含量测定结果可得连翘花样品中芦丁、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷等成分的含量较高,而槲皮素和连翘脂素等成分的含量偏低。所测定的 7 种指标性成分中芦丁、槲皮素为黄酮类化合物,连翘苷、连翘脂素和(+)-松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷为木脂素类化合物。山东、河南、山西、河北连翘花样品中黄酮类成分平均质量分数分别为 24.51、40.02、43.10、42.52



1-绿原酸; 2-芦丁; 3-连翘酯苷 A; 4-(+)-松脂素-4-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷; 5-连翘苷; 6-槲皮素; 7-连翘脂素。
1-chlorogenic acid; 2-rutin; 3-forsythoside A; 4-(+)-pinorelinol-4-O-β-D-glucopyraside; 5-phillyrin; 6-quercetin; 7-phillygenin.

图 4 混合对照品 (A) 和连翘花样品 (B) HPLC 色谱图
Fig. 4 HPLC chromatograms of mixed reference solution (A) and *F. suspensa* flowers sample (B)

表 3 20 批连翘花样品中 7 个指标成分含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Contents of seven components in 20 batches of *F. suspensa* flowers ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)						
	绿原酸	芦丁	连翘酯苷A	(+)-松脂素-4-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷	连翘苷	槲皮素	连翘脂素
S1	5.92±0.05	23.01±0.54	12.25±0.02	2.95±0.09	3.41±0.10	0.19±0.01	3.53±0.12
S2	6.03±0.05	20.95±0.12	12.40±0.58	1.93±0.02	3.28±0.04	0.26±0.02	5.79±0.02
S3	6.29±0.02	28.58±0.18	20.19±0.07	8.33±0.19	4.66±0.03	0.53±0.02	3.99±0.07
S4	3.71±0.20	38.22±0.10	29.97±0.13	23.03±0.30	6.81±0.41	0.76±0.01	1.38±0.13
S5	3.87±0.10	44.15±0.37	33.05±0.59	25.42±0.84	6.56±0.12	0.75±0.03	1.08±0.05
S6	3.64±0.04	37.04±0.55	29.55±0.30	25.02±0.30	6.14±0.06	0.82±0.02	1.82±0.09
S7	3.04±0.01	38.38±0.37	31.84±0.02	28.64±0.01	6.75±0.02	0.99±0.03	1.38±0.01
S8	1.32±0.02	40.68±0.32	38.89±0.08	34.16±0.43	7.80±0.06	0.97±0.02	0.36±0.03
S9	1.30±0.02	39.87±0.52	39.60±0.71	34.58±0.81	8.24±0.11	0.97±0.01	0.42±0.01
S10	1.26±0.01	42.95±0.09	39.28±0.01	34.37±0.02	7.45±0.01	0.90±0.02	0.33±0.01
S11	1.28±0.01	39.85±0.37	38.37±0.63	35.00±0.27	7.79±0.02	1.03±0.02	0.39±0.01
S12	1.27±0.02	39.30±0.12	38.18±0.32	34.69±0.65	8.04±0.11	0.95±0.02	0.42±0.02
S13	1.42±0.02	51.38±0.64	46.89±0.66	44.70±0.63	8.33±0.14	0.83±0.02	0.24±0.01
S14	1.24±0.01	42.76±0.07	35.11±0.05	32.00±0.05	7.34±0.01	1.43±0.04	0.60±0.01
S15	1.25±0.01	41.29±0.13	36.72±0.05	34.73±0.03	8.02±0.01	1.45±0.02	0.61±0.01
S16	1.23±0.02	40.43±0.34	36.19±0.15	39.22±0.75	8.63±0.05	1.20±0.03	0.47±0.01
S17	1.12±0.05	38.85±0.04	35.57±0.06	34.43±0.06	8.38±0.01	1.35±0.02	0.53±0.01
S18	1.18±0.01	38.85±0.10	35.72±0.09	34.16±0.12	8.50±0.01	1.43±0.01	0.55±0.01
S19	1.18±0.01	43.06±0.05	34.40±0.12	32.71±0.06	8.61±0.01	1.44±0.03	0.58±0.01
S20	1.22±0.02	43.67±0.41	35.35±0.15	34.26±0.22	9.31±0.06	1.44±0.01	0.63±0.01

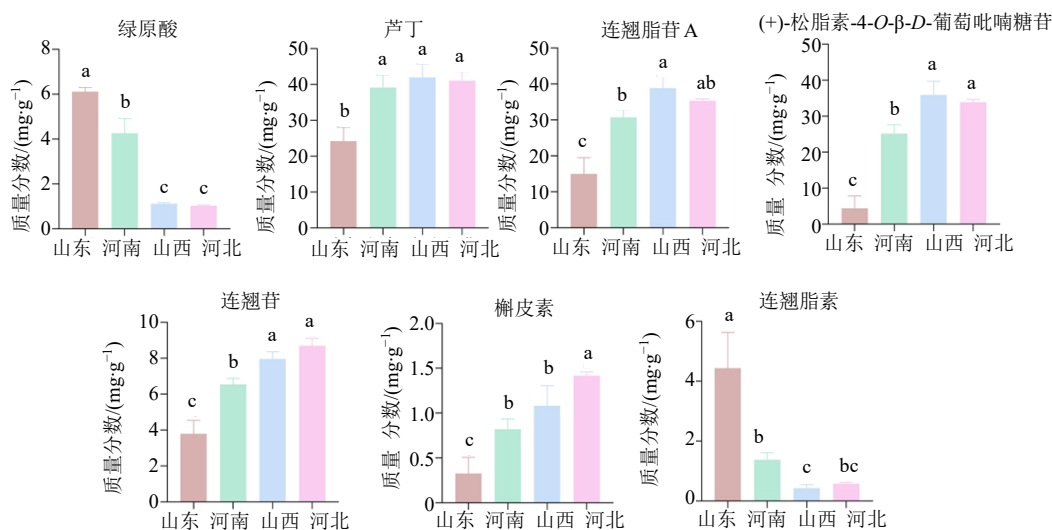
3 讨论

为了建立连翘花化学指纹图谱和多成分含量测定方法, 首先对连翘花的提取条件进行了考察和优化, 以 7 种指标成分提取含量为考察指标, 通过对提取方法 (回流法、超声法)、提取溶剂 (甲醇、乙醇、

mg/g, 木脂素类成分平均质量分数分别为 12.62、33.12、44.32、43.16 mg/g。

在不同产地连翘花样品多成分含量测定的基础上, 进一步比较不同产地连翘花样品中各成分的含量差异情况。如图 5 所示, 不同产地连翘花样品中 7 个指标性成分的含量存在一定的差异。山东产连翘花样品中绿原酸的含量较高, 河南产连翘花次之, 山西和河北产较低; 山东连翘花样品中芦丁和连翘酯苷 A 含量明显低于其他 3 省, 而连翘脂素的含量明显高于其他 3 省; (+)-松脂素-4-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷和连翘苷等木脂素类成分在山西和河北产连翘花样品中明显高于山东和河南样品; 河北产连翘花样品中槲皮素含量较高, 山西和河南产次之, 山东产含量最低。

90%甲醇、80%甲醇、70%甲醇、60%甲醇、50%甲醇)、料液比 (1:40、1:60、1:80、1:100、1:120)、提取时间 (10、20、30、40、50 min) 进行综合评价, 发现以 80%甲醇为提取溶剂, 料液比 1:100, 超声提取 40 min 时对连翘花中化学成分提取效果最佳。



不同字母表示不同产地间该化学成分存在差异, $P < 0.05$ 。

Different letters indicated differences in chemical composition between different producing areas, $P < 0.05$.

图 5 不同产地连翘花样品中 7 个指标成分的含量比较

Fig. 5 Comparison of contents of seven components in *F. suspensa* flowers from different origins

本研究通过应用 HPLC 方法建立了连翘花的化学指纹图谱, 并指出 7 个共有峰, 分别为绿原酸、芦丁、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-4- O - β -D-葡萄糖吡喃糖苷、连翘苷、槲皮素、连翘脂素, 其中芦丁和槲皮素为黄酮类化合物, 连翘酯苷 A 为苯乙醇苷类化合物, 连翘苷、连翘脂素和 (+)-松脂素-4- O - β -D-葡萄糖吡喃糖苷为木脂素类化合物, 绿原酸为酚酸类化合物。苯乙醇苷类、木脂素类、黄酮类是连翘果实的代表性成分, 说明连翘花与连翘果实化学成分类似, 可能具有相似的药理作用。文献报道苯乙醇苷类化合物如连翘酯苷 A 具有抗炎、抗病毒、神经保护等作用^[21]; 连翘苷、连翘脂素和 (+)-松脂素-4- O - β -D-葡萄糖吡喃糖苷等木脂素类化合物具有抑制神经元细胞凋亡、抗病毒、保肝等作用^[22-23]; 槲皮素和芦丁等黄酮类化合物具有抗氧化、抗衰老等作用^[24]; 酚酸类化合物如绿原酸具有抗菌、抗病毒等作用^[25]。连翘花化学指纹图谱中所指认的 7 个共有成分均为其活性成分, 具有良好的药理活性。推测连翘花也可能具有以上药理活性。进一步的指纹图谱相似度分析表明, 20 批连翘花样品相似度均大于 0.8, 而其中 3 批山东省样品相似度明显低于其他批次, 由后续含量测定结果可知, 这种差异可能是由于绿原酸含量的差异导致的。

通过对不同产地连翘花样品及其共有峰进行化学计量学分析, 可以更全面地了解不同产地连翘

花的质量差异。HCA 与 PCA 结果相近, 4 个产地连翘花样品中山西样品与河北样品较为相近, 呈一定的地域趋势; 山东、河南样品各聚为一类。同时指纹图谱中 7 个共有成分的含量测定结果同样表明不同产地连翘花样品中化学成分的含量存在一定的差异性。山东产连翘花中绿原酸和连翘脂素的含量较高, 河南产连翘花次之, 河北和山西产连翘花较低; 而山西和河北产连翘花中(+)-松脂素-4- O - β -D-葡萄糖吡喃糖苷和连翘苷的含量较高, 明显高于河南产连翘花, 山东产连翘花含量最低。根据化学计量学及含量测定结果推测, 连翘花化学成分与质量可能与产地纬度和地形地貌条件有关, 山西与河北纬度较高, 且都位于太行山区, 所以山西与河北连翘花质量相近; 山东与河南纬度较低, 且山东为沿海省份, 河南为内陆省份, 导致山东与河南产连翘花区别于其他 2 省。同时含量测定结果表明山西和河北产连翘花中以黄酮类、木脂素类化合物为主, 且含量明显高于山东、河南, 由指纹图谱及多成分含量测定结果初步推测产于太行山区、维度较高的山西与河北 2 地的连翘花品质较好。

综上所述, 本研究所建立的连翘花化学指纹图谱和多指标成分含量测定方法操作简便、分析快速、准确性好, 为连翘花的质量控制与评价提供了科学依据。该方法不仅可用于连翘花药材的质量标准提升, 同时为其药效物质基础研究奠定了基础,

对促进连翘花资源的合理开发利用具有重要参考价值。

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. 2025: 177-178.
- [2] 徐荣荣, 李蕊, 张楚涵, 等. 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 [J]. 中草药, 2025, 56(17): 6362-6369.
- [3] 景奉堂, 李峰, 张天屹, 等. 连翘的化学成分与生物活性的最新研究进展 [J]. 中药材, 2023, 46(1): 242-251.
- [4] 明·李时珍. 本草纲目 (第一册: 校点本) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975: 1080-1082.
- [5] 刘银, 刘晓兰, 李欧, 等. 十堰地区连翘叶 HPLC 指纹图谱的建立及抗氧化抑菌谱效关系研究 [J]. 饲料研究, 2023, 46(21): 124-129.
- [6] 周明月, 霍金海, 孙国东, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的连翘叶化学成分分析 [J]. 中药材, 2019, 42(11): 2582-2587.
- [7] 徐敬朴, 陶兴隆, 郑丽亚, 等. 用液质联用法联合生化分析法筛选连翘叶中 α -葡萄糖苷酶和酪氨酸酶抑制作用的成分 [J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(23): 3453-3457.
- [8] 吴永娜, 滕文龙, 张磊, 等. 连翘叶茶对大鼠肝硬化的影响及其机理研究 [J]. 生物技术通报, 2024, 40(11): 285-295.
- [9] 田真, 王紫玉, 渠鹏霞, 等. 连翘叶改善肥胖大鼠炎症因子水平及肠道菌群结构的作用 [J]. 海南医学院学报, 2024, 30(13): 970-981.
- [10] 李敬, 尤颖, 赵庆生, 等. 连翘叶成分及生物活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2020, 41(18): 344-352.
- [11] 原江锋, 胡金婉, 王大红, 等. 不同产地连翘叶花中主要活性成分的含量分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(3): 389-397.
- [12] 倪素丽, 董岳峰. UPLC-QAMS 法同时测定连翘花中 5 种成分的含量 [J]. 中国药房, 2023, 34(15): 1826-1829.
- [13] 樊雪艳, 李丹凤, 李石飞, 等. 连翘花美白活性有效部位的筛选及其成分分析 [J]. 化学研究与应用, 2018, 30(6): 887-892.
- [14] 李兴泰, 李洪成, 刘泽. 连翘花醇提物保护线粒体及抗氧化研究 [J]. 中成药, 2009, 31(6): 839-843.
- [15] 李兴泰, 李洪成, 陈瑞. 连翘花水提物保护线粒体及抗衰老研究 [J]. 食品科技, 2009, 34(2): 220-224.
- [16] 张璐. 连翘花蕾茶的制备及抗氧化活性研究 [J]. 山西科技, 2020, 35(6): 28-30.
- [17] 李爱江, 高辉耀. 连翘花茶制备及其活性成分分析 [J]. 粮油加工: 电子版, 2015(9): 57-61.
- [18] 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.
- [19] 陈星蕊, 汤瑜晨, 庄家蝶, 等. 连翘不同部位化学成分及药理作用研究进展 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2024, 41(6): 53-67.
- [20] 陈丹, 胡浚伟, 李红叶, 等. 连翘提取物调控 miR-223-3p 对肺炎链球菌感染的肺泡上皮细胞损伤的影响 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7561-7568.
- [21] 于洪雨, 张晓旭, 叶雨, 等. 基于信号通路的连翘酯苷 A 药理作用机制研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(1): 137-143.
- [22] 田溪, 李雯钰, 张惠怡, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和网络药理学探究连翘保肝作用潜在机制 [J]. 中国现代中药, 2025, 27(6): 1049-1058.
- [23] 张艺森, 张玉, 张新. 基于 Nrf2/NF- κ B 信号通路研究连翘苷对缺氧缺血性脑病新生大鼠神经元凋亡的影响 [J]. 中草药, 2025, 56(10): 3577-3584.
- [24] 马雪百合, 郭健敏, 温玉莹, 等. 连翘化学成分、药理作用及安全性评价的研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(7): 1093-1100.
- [25] Naveed M, Hejazi V, Abbas M, *et al.* Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 67-74.

[责任编辑 时圣明]