

商洛连翘中连翘苷和连翘酯苷 A 含量比较研究

赵志新, 赵月梅

(商洛学院 生物医药与食品工程学院, 陕西 商洛 726000)

摘要:使用高效液相色谱法(HPLC), 对比 8、9 和 10 月份商洛连翘叶和果实中连翘苷及连翘酯苷 A 的含量, 以探究主要次生代谢产物在连翘成熟期中积累量的变化。研究显示, 8—10 月连翘苷和连翘酯苷 A 在叶中的积累逐步增加, 而果实中含量则变化不大; 连翘同一部位中连翘苷和连翘酯苷 A 比例的动态变化显示, 连翘果实中连翘酯苷 A 是连翘苷的 13 倍左右, 而在连翘叶中则只有 3 倍左右。通过比较连翘叶和果实中连翘苷和连翘酯苷 A 含量变化, 可以更加清楚了解主要有效成分的积累变化, 为商洛地区连翘采收期选择及规范化生产提供借鉴。

关键词:商洛; 连翘苷; 连翘酯苷 A; 含量

作为木犀科连翘属植物, 连翘(*Forsythia suspense* (Thunb.) Vahl) 主产于陕西、河南和山西等省份, 主要以果实入药, 常用于清热解毒, 消肿散结等病之治疗^[1]。商洛地处秦岭腹地, 其独特的气候、土壤等条件适宜于连翘的生长, 同时连翘被商洛市政府列为重点发展的“五大商药”之一^[2]。目前主要通过测定连翘苷及连翘酯苷 A 的含量对其药效成分进行评价, 这也是 2015 版药典所采用的标准。连翘苷为连翘的干燥果实和叶中的提取物, 是较早分离出来的主要活性成分, 易溶于甲醇、乙醇等有机溶剂; 连翘酯苷 A 主要来自于连翘干燥的果实与叶子中, 它可溶于水、乙醇、甲醇, 但难溶于乙醚, 氯仿^[3]。

长期以来, 连翘药材来源主要以野生资源为主, 采收混乱, 是造成连翘品质不稳定的重要因素^[4]。因此笔者采集不同月份商洛地区种植的连翘叶和果实, 通过高效液相色谱法(HPLC)检测连翘苷和连翘酯苷 A 的含量, 以期对不同生长期及不同药用部位连翘药材品质进行评价, 为确定商洛连翘合理采收期提供借鉴, 同时也有利于对连翘及其相关药品进行质量控制。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以我校商洛张村种植基地的连翘为实验材料, 分别于 2017 年 8 月 3 日、9 月 3 日和 10 月 3 日采集连翘果实和叶子, 带至实验室 105℃ 杀青 30 min, 然后 80℃ 烘干至恒重, 粉碎后过 40 目

筛, 密封瓶保存备用^[5]。

1.2 仪器与试剂

液相色谱仪为日本岛津公司生产的 LC-20A, 液相用溶剂过滤器为 ap-99015; 连翘苷标准品及连翘酯苷 A 标准品为上海金穗生物科技有限公司生产, 甲醇、乙醇为分析纯(A.R.)。

1.3 试验方法

1.3.1 连翘苷色谱条件与标准曲线制作 色谱条件: 填充剂为 C18 色谱柱; 流动相为乙腈—水(体积比为 25:75); 色谱检测波长 277 nm; 理论塔板数不低于 3000(以连翘苷峰计算)。对照品溶液的制备: 取连翘苷标准品, 加甲醇制成 0.2 mg·mL⁻¹ 溶液。

供试品溶液的制备: 分别称取不同月份的连翘果实及叶子的样品粉末 0.1 g, 加入甲醇 1.5 mL, 过夜。将浸渍过夜的样品溶液, 使用 250 W, 40 kHz 超声器处理 30 min, 室温冷却, 若有损失, 用甲醇补足, 摇匀过滤, 精确量取过滤后的溶液 0.5 mL, 放入烘箱, 将溶液蒸至近干, 加在中性氧化铝柱(100~120 目)上, 然后使用 70% 乙醇进行洗脱, 将洗脱液浓缩至干, 后用 50% 甲醇溶解, 转移至 5 mL 容量瓶中, 摇匀过滤, 取过滤后的溶液, 即为连翘苷供试品溶液。

标准曲线: 使用 3、5、10、20、40 和 50 μL 的对照品溶液, 按上述色谱条件, 检测连翘苷峰值。以进样量 X(μg) 对峰面积 Y 进行回归, 得连翘苷回归方程为 $Y = 571499X - 6008.3$, $R^2 = 0.9993$ 。回归方程显示, 上样溶液在 0.30~4.50 μg 有良

收稿日期: 2019-03-05 修回日期: 2019-04-10

基金项目: 陕西省教育厅 2018 年度专项科学研究计划(18JK0251)。

第一作者简介: 赵志新(1982—), 男, 河南滑县人。博士, 讲师。主要从事药用植物转录组代谢及基因组进化研究。

好的线性关系。

1.3.2 连翘酯苷 A 色谱条件与标准曲线制作
色谱条件:填充剂为 C18 色谱柱;流动相为乙腈-0.4%冰醋酸(体积比为 15:85);色谱检测波长为 330 nm;理论塔板数不低于 5000(以连翘苷峰计算)。对照品溶液的制备:取连翘酯苷 A 对照品,精密称量,后加甲醇制成 0.1 mg · mL⁻¹ 溶液。

供试品溶液的制备:分别称取不同月份的连翘果实及叶子样品粉末 0.1 g,加入 70%甲醇 3 mL,密塞,使用 250 W,40 kHz 超声器处理 30 min,室温冷却,再称定重量,若有损失,用 70%甲醇补足。摇匀过滤,即得连翘酯苷 A 供试品溶液。

标准曲线:使用 3、5、10、20、40、和 50 μL 的对照品溶液,按上述色谱条件,检测翘酯苷 A 峰

值。以进样量 X(μg)对峰面积 Y 进行回归,得连翘酯苷 A 回归方程为 Y=581726X-732634, R² =0.9998。回归方程显示,上样溶液在 0.50 ~4.00 μg 具有良好的线性关系。

2 结果与分析

2.1 不同部位连翘苷和连翘酯苷 A 动态变化研究

从图 1 可以看出,连翘叶中连翘苷的含量从 8 月到 10 月份逐渐增加,从 1.22% 增加到 1.47%再到 1.59%;而在果实中,连翘苷的含量变化不大,从 0.27% 增到 0.36%再回落到 0.33%。同时可以明显看到,从 8 到 10 月份中,连翘叶中的连翘苷含量(平均值 1.43%)显著高于果实中(平均值 0.32%)。

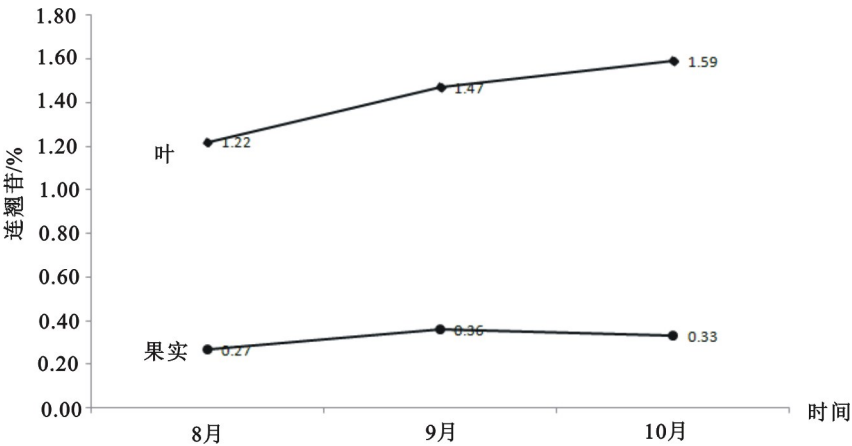


图 1 叶和果实中连翘苷的动态变化

图 2 为连翘酯苷 A 的动态变化趋势,可以看出在 8—10 月份中,叶中连翘酯苷 A 的含量稳步增加,从 3.73%到 4.26%再到 4.85%;在连翘果实中,连翘酯苷 A 的含量从 8 月份的 3.71%增加到 9 月份的 4.13%,然后 10 月份稍微下降

到 4.08%。同时可以看到,从 8 到 10 月份中,连翘叶中的连翘酯苷 A 含量(平均值 4.18%)稍微高于果实中(平均值 3.97%),二者差别不是很大,特别是在 8 月份的时候。

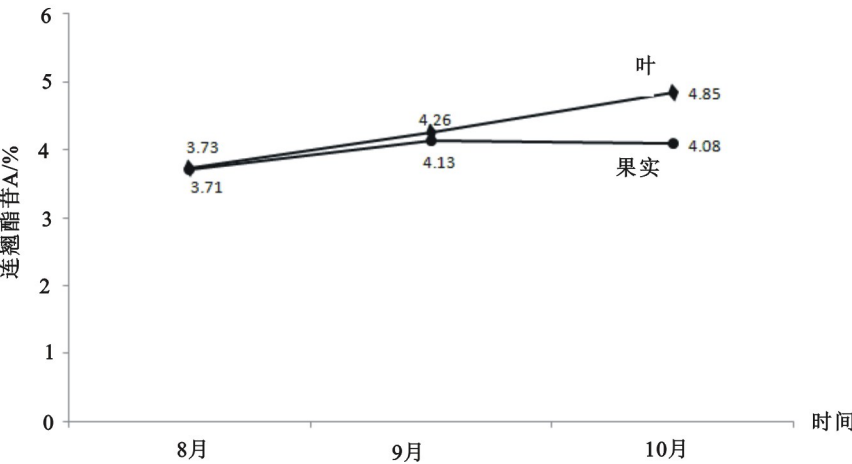


图 2 叶和果实中连翘酯苷 A 的动态变化

2.2 同一部位连翘苷和连翘酯苷 A 比例动态变化研究

设定连翘苷含量为 1,用对应月份同一部位连翘酯苷 A 含量相对于连翘苷的比例作图,分别获得连翘叶中连翘苷和连翘酯苷 A 比例动态变化(图 3),以及连翘果实中连翘苷和连翘酯苷 A

比例动态变化(图 4)。从连翘叶中可以明显看出(图 3),从 8 到 10 月份,连翘酯苷 A 比例相对稳定,为 3 倍左右;而在连翘果实中(图 4),连翘酯苷 A 比例有所下降,从 8 月份的 13.74 倍下降到 10 月份的 12.36,但下降幅度不明显。

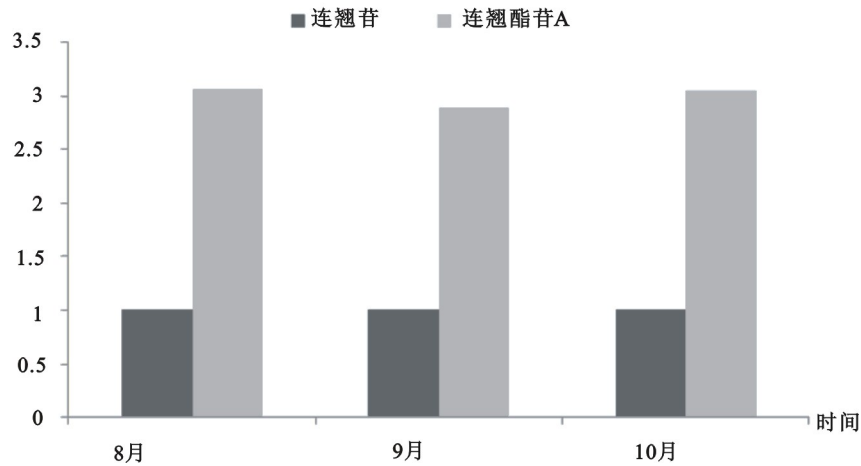


图 3 连翘叶中连翘苷和连翘酯苷 A 比例动态变化

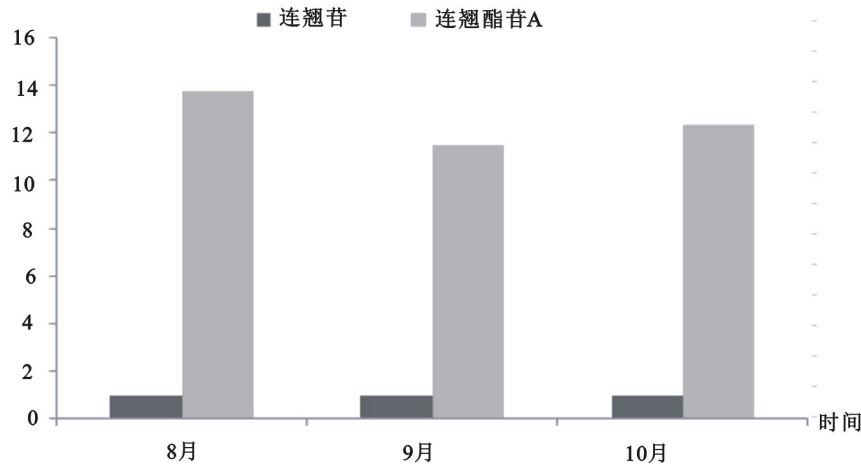


图 4 连翘果实中连翘苷和连翘酯苷 A 比例动态变化

3 讨论

研究采用高效液相色谱法,测定商洛地区种植的不同月份的连翘果实和叶中连翘苷和连翘酯苷 A 的含量。结果显示,从 8 到 10 月期间,连翘苷和连翘酯苷 A 在叶中的积累逐步增加,而这二者在连翘果实中含量则变化不大,这与李卫健^[4]、王进明^[6]等人结果相一致。这样的结果可能是 9 月份以后果实逐渐老化,有效成分积累趋于稳定,而此时叶子还在生长,有效成分积累并未停止,故建议商洛地区所种植连翘采收期应在 9 月份以后,这是有效成分积累稳定,也有利于药材的质量控制。连翘叶中连翘苷的含量数倍于果实中,故也应考虑连翘叶作为入药部位的可能性。

同时研究表明,连翘属植物叶子与果实的成分比较相似,同时连翘叶中的其他有药效物质,包括木质素、咖啡酰糖苷等的含量比连翘果实中高^[7],因此对于连翘叶资源的必将是较好的植物资源利用方向,同时对于连翘叶取代连翘果实入药也是一个值得研究的问题。

笔者研究了连翘同一器官(叶或果实)中连翘苷和连翘酯苷 A 比例的动态变化,显示连翘酯苷 A 含量是连翘苷含量的数倍,特别是在连翘果实中,连翘酯苷 A 是连翘苷的 13 倍左右。由于中药药效是多种有效成分之间相互作用的结果,考虑到药材中不同有效成分之间的量及其比例会影响药材药效的好坏^[4],所以对连翘有效成分含