

连翘不同果形质量评价

夏伟, 董诚明*, 李汉伟, 魏硕
(河南中医药大学, 郑州 450008)

[摘要] **目的:**探讨连翘的种内变异,明确不同果形连翘的形态特征,质量和产量的差异,为更好的开发、利用和保护连翘种质资源,以及优良品种的选育,奠定了基础。**方法:**观察不同果形连翘的形态特征,测定其果实长宽及产量,作为划分果形的依据;采用高效液相色谱法对不同果形连翘中化学成分的含量进行了测定,并对其进行综合评价。**结果:**种内变异的调查,根据连翘果实不同形状进行了分类,分为长角椭圆形、椭圆形、纺锤形、狭长形、圆形等果形;并对不同果形的经济指标和性状进行了评价分析和描述。结果表明纺锤形产量较高,属丰产型;测定不同果形连翘中连翘苷、连翘酯苷 A、醇溶性浸出物及农业经济指标百果重,运用主成分分析对不同来源连翘进行了综合评价。其中纺锤形综合评价较好。**结论:**本实验为连翘品质的提高以及新品种的选育奠定基础。

[关键词] 连翘; 果形; 化学成分; 质量评价

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0060-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060060

Quality Evaluation of Different Fruit Types of Forsythiae Fructus

XIA Wei, DONG Cheng-ming*, LI Han-wei, WEI Shuo

(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the intraspecific variation of Forsythiae Fructus, clarify the morphological characteristics, quality and yield in different habits and different fruit types, and lay the foundation for better development, utilization and protection of germplasm resources as well as breeding of fine varieties of Forsythiae Fructus. **Method:** The morphological characteristics of different fruit types were observed, and their length, width and yield were measured as basis for determining the type of fruit. The contents of chemical components in different fruit types were measured by using high performance liquid chromatography (HPLC) and the comprehensive evaluation was then carried out. **Result:** Upon investigation of intraspecific variation, the fruits of Forsythiae Fructus were classified into long oval, oval, spindle, elongated and round types. The economic indexes and properties of these different fruit types were analyzed and described. The results showed that the yield of spindle shape was highest, so it was among the high yield types. The phillyrin, forsythiaside A, ethanol soluble extraction and weight per 100 fruits in agricultural economic index of different fruit types were measured, and a comprehensive evaluation of different sources of Forsythiae Fructus was carried out by the method of principal component analysis. The comprehensive evaluation of spindle shape was better. **Conclusion:** This experiment could lay foundation for the breeding of new varieties and the quality improvement of Forsythiae Fructus.

[Key words] Forsythiae Fructus; fruit types; chemical composition; quality evaluation

连翘为木犀科多年生落叶灌木,果实初熟尚带绿色时采收称为青翘,果实熟透颜色发黄时采收称

[收稿日期] 20160406(005)

[基金项目] 国家科技攻关计划项目(2001BA701A62-01)

[第一作者] 夏伟,在读硕士,从事中药材规范化种植研究, Tel:18300677220, E-mail:m18300677220@163.com

[通讯作者] *董诚明,教授,从事中药材规范化种植研究, Tel:0371-65962581, E-mail:dcm371@sohu.com

为老翘,具有清热解毒、消肿散结之功效^[1]。现代研究表明,连翘的化学成分主要为挥发油类、连翘苷和连翘酯苷 A 等,具有抗菌、抗氧化、降血脂等作用^[2-3]。连翘主产于我国山西、河南、陕西、山东等地^[4]。根据笔者对河南产区连翘的调查发现,连翘在生长过程中,出现了一些种内变异现象,主要表现在果实形状、大小、表面附属物、产量等;其内在指标连翘苷、连翘酯苷 A、醇溶性浸出物的含量等也有所不同。

长期以来连翘一直处于野生或者半野生状态,气候的变化,人为掠夺性采摘,使得连翘品种退化,质量下降。提高连翘的产量及质量成为迫切需求。本课题以河南地区产野生连翘为研究对象,根据不同野生品种果实的表面特征、经济指标、化学成分指标结果进行分析和评价,筛选出优良果实类型,为更好地开发利用和保护连翘的种质资源提供科学依据。

1 材料

连翘采自河南省灵宝、西峡、栾川,用定株采样的方法,连续 2 年跟踪采集不同果形的连翘,经河南中医学院董诚明教授鉴定为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* 的干燥果实。见表 1。

对照品连翘苷和连翘酯苷 A(四川维克奇生物科技有限公司,批号分别为 150602,140311,纯度 > 99.8%),色谱级甲醇(天津四友化学公司),水为高纯水,其他试剂均为分析纯。

表 2 不同果形连翘的特征

Table 2 Characteristics of different-fruit types in *Forsythiae Fructus*

果形	纵径/cm	横径/cm	果形指数	百果重/g	折干率/%	果实特征
长角椭圆	17.1 ± 1.03	9.49 ± 0.89	1.82 ± 0.19	12.67	39.43	暗绿色,表面皱褶多,果实较大且饱满,先端渐尖,中间膨大部分约在果实底端 1/3 ~ 1/2 处,瘤状皮孔大且多,果翅明显
椭圆	15.3 ± 0.91	7.39 ± 0.53	2.08 ± 0.12	12.75	35.59	表面无皱褶,先端锐尖,中间膨大部分约在果实底端 1/4 ~ 1/2 处,瘤状突起小且多,密布于果实表面,果翅较明显
纺锤	18.5 ± 1.21	8.98 ± 0.67	2.07 ± 0.11	15.72	40.89	深绿色,表面具皱褶,果实较大,先端渐尖,中间膨大部分约在果实 1/2 出,瘤状突起较少或无,只存在于果实中上部,果翅不明显
狭长	19.7 ± 0.94	7.56 ± 0.70	2.63 ± 0.25	11.85	40.13	色浅绿至绿色,表面无皱褶,先端渐尖,中间无明显膨大部分,瘤状突起较小,疏布于果实表面,果翅较明显
圆	15.9 ± 1.05	9.11 ± 0.60	1.80 ± 0.07	14.78	43.18	深绿色,表面无皱褶,先端锐尖,中间膨大部分约在果实 1/2 处,底部钝圆,无明显基座,瘤状突起皮孔较大,分布于果实顶部及中部,果翅不明显

注:每种果形随机测定 100 次;百果重为随机选取的 100 个果。折干率 = (干果重/鲜果重) × 100%。

表 2 中 5 种果形的连翘在河南主产区均有不同程度的分布,以椭圆形、长角椭圆形分布较普遍,从果实大小单株产量、折干率等经济指标来看,除狭长形果形原植株长势差、果实小、产量低外,其他果形都属良种。

表 1 连翘采集信息

Table 1 Collecting information of *Forsythiae Fructus*

采集地点	经纬度	海拔/m
灵宝市寺河乡	N 34°24'079'E 111°03'026'	800 ~ 900
栾川县白土镇	N 34°00'334'E 111°22'341'	1 363
西峡县太平镇	N 33°38'405'E 111°40'892'	1 310

LC-20Ap 型高效液相色谱仪(SPD-20Avp 型紫外-可见检测器,日本 Shimadzu 公司),SK2200H 型超声波提取器(上海科导超声仪器有限公司,60 kHz),AB204-N 型 1/1 万精密分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司),HENGAOTD 纯水过滤装置。

2 方法与结果

2.1 果实性状测定 通过现有资料,在调查中发现连翘种内性状变异现象在河南各个产区普遍存在,作者根据连翘果实的不同形状,测定果实的纵径、横径,作为划分果形的依据,并描述其表面的颜色、瘤点等特征;测定不同果形、连翘百果重、折干率等,评价其经济指标^[5-6]。

连翘在长期的进化过程中,种内产生许多形态上的变异,自然状态下果实的外观形态差异明显。本研究对果实的长、宽进行了测定,并对其表面特征进行了描述,每种果形样品测定 3 个批次,每批次每个果形处理至少 3 个样品,共计 45 个样品,处理结果见表 2。

2.2 连翘醇溶性浸出物、连翘苷及连翘酯苷 A 含量测定^[1,7]

2.2.1 连翘醇溶性浸出物 按照醇溶性浸出物测定法(2015 年版《中国药典》通则 2201)项下的冷浸法测定,用 65% 乙醇作溶剂,测定连翘醇溶性浸出

物含量,结果见表 3。

表 3 醇溶性浸出物、连翘苷及连翘酯苷 A 测定

Table 3 Results of ethanol soluble extraction, phillyrin and forsythoside A %

果形	醇溶性浸出物	连翘苷	连翘酯苷 A
狭长 I	21.39	0.76	1.58
狭长 II	23.19	0.84	1.76
狭长 III	23.01	0.8	1.73
长角椭圆 I	24.21	0.86	1.83
长角椭圆 II	25.12	0.99	1.95
长角椭圆 III	26.27	1.03	1.92
椭圆 I	20.89	0.86	1.68
椭圆 II	23.49	0.75	1.52
椭圆 III	24.56	0.73	1.72
圆 I	23.31	1.19	1.79
圆 II	25.01	0.98	1.88
圆 III	26.32	1.16	1.91
纺锤 I	25.94	1.02	2.61
纺锤 II	26.09	0.32	2.71
纺锤 III	26.54	1.14	2.57

2.2.2 连翘苷含量测定 采用 AGILENT-ZORBAX SB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(25:75), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 277 nm。

精密称取连翘苷对照品 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配成 1 g·L⁻¹ 的对照品溶液, 并精密量取 5 mL 至 25 mL 量瓶中, 甲醇定容得质量浓度为 0.2 g·L⁻¹ 的对照品溶液备用。

精密吸取连翘苷对照品溶液 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20 μL 进样, 以峰面积为纵坐标, 进样量(μg) 为横坐标做标准曲线, 求得回归方程 $Y = 605\ 706X + 27\ 580$, ($r = 0.999\ 9$), 表明进样量在 0.5 ~ 4 μg 呈良好的线性关系。

取本品粉末(过五号筛)约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 15 mL, 称定质量, 浸渍过夜, 超声处理 25 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 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, 加置中性氧化铝柱(100 ~ 120 目, 1 g, 内径 1 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, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液, 测定其连翘苷的含量, 结果见表 3。

2.2.3 连翘酯苷 A 含量测定 采用 AGILENT-ZORBAX SB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.4% 乙酸(15:85), 检测波长 330 nm。理论板数不低于 5 000。

精密称定连翘酯苷 A 对照品 20 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 配成 2 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

精密吸取连翘酯苷 A 对照品溶液 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20 μL 进样, 以峰面积为纵坐标, 进样量(μg) 为横坐标做标准曲线, 求得回归方程 $Y = 3\ 323\ 376.5X - 355\ 552.2$ ($r = 0.999\ 9$), 表明进样量在 5 ~ 40 μg 呈良好的线性关系。取本品粉末(过五号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 15 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz)30 min, 放冷, 再称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 滤液作为供试品溶液, 测定其连翘苷的含量, 结果见表 3。

2.3 不同果形连翘的质量评价 采集不同果形的连翘, 按上述供试品溶液制备方法、色谱条件进行测定, 评价其质量, 结果见表 4。

表 4 不同果形连翘质量分析

Table 4 Quality analysis of different-fruit types in Forsythiae Fructus

果形	连翘苷 /%	连翘酯苷 A /%	醇溶性浸出物 /%	百果重 /g	折干率 /%
狭长	0.80	1.69	22.53	11.85	39.43
长角椭圆形	0.96	1.90	25.20	12.67	35.59
椭圆	0.78	1.64	22.98	12.75	40.89
圆	1.11	1.86	24.88	14.78	40.13
纺锤	1.16	2.63	26.19	15.72	43.18

2.4 不同果形连翘质量评价的主成分分析^[6,8]

2.4.1 标准化数据 对原始数据标准化, 即对同一变量减去均值, 再除以标准差, 来消除原始数据之间量纲不同的影响, 使标准化后的数据具有可比性, 见表 5。

表 5 连翘各指标数据标准化处理(Z)

Table 5 Standardized data of index ingredients of Forsythiae Fructus(Z)

果形	连翘苷	连翘酯苷 A	醇溶性浸出物	百果重	折干率
狭长	-0.933	-0.637	-1.180	-1.050	-0.150
长角椭圆	-0.012	-0.110	0.545	-0.545	-1.539
椭圆	-1.049	-0.762	-0.889	-0.496	0.378
圆	0.853	-0.211	0.339	0.756	0.103
纺锤	1.141	1.720	1.185	1.335	1.207

2.4.2 主成分因子的确定 相关系数的特征值和方差贡献率见表 6。

表 6 特征值和方差贡献率

Table 6 Characteristic value and variance contribution rate

主成分	初始特征值			提取平方负荷量之和		
	特征值	贡献率 /%	累计贡献率 /%	特征值	方差贡献率 /%	方差总贡献率 /%
1	3.762	75.234	75.234	3.762	75.234	75.234
2	0.969	19.370	94.604	0.969	19.370	94.604
3	0.236	4.711	99.315			
4	0.034	0.686	100.000			
5	0.000	0.000	100.000			

从表中可以看出,第 1,2 的主成分的累计方差贡献率为 94.6% > 85%,所以选取 2 个主成分进行评价就足够了,它代表了连翘中所测指标 94.6% 的信息量。主成分分析及综合评分,见表 7~9。

表 7 初始因子载荷矩阵

Table 7 Initial factor load matrix

变量	连翘苷	连翘酯苷 A	醇溶性浸出物	百果重	折干率
1	0.944	0.923	0.896	0.966	0.531
2	-0.228	0.023	-0.425	0.130	0.847

表 8 主成分向量

Table 8 Principal component vector

变量	连翘苷	连翘酯苷 A	醇溶性浸出物	百果重	折干率
1	0.486	0.476	0.462	0.498	0.274
2	-0.232	0.024	-0.432	0.132	0.861

表 9 主成分得分、综合得分排序

Table 9 Principal component score, comprehensive score ranking

果形	F_1	F_2	F	排序
狭长	-1.867	0.444	-1.319	5
长角椭圆形	-0.499	-1.632	-0.691	3
椭圆	-1.427	0.870	-0.905	4
圆	0.876	-0.160	0.628	2
纺锤	2.917	0.479	2.287	1

根据主成分计算公式可以得到线性组合如下:

$$F_1 = 0.486Z(\text{连翘苷}) + 0.476Z(\text{连翘酯苷 A}) + 0.462Z(\text{醇溶性浸出物}) + 0.498Z(\text{百果重}) + 0.274Z(\text{折干率})$$

$$F_2 = -0.232Z(\text{连翘苷}) + 0.024Z(\text{连翘酯苷 A}) - 0.432Z(\text{醇溶性浸出物}) + 0.132Z(\text{百果重}) + 0.861Z(\text{折干率})$$

$$F = 0.75F_1 + 0.19F_2$$

中药质量评价中运用模式识别法,体现了中药多成分多靶点的综合作用,又具有较强的科学性和实践性,因此本研究用主成分分析法对不同果形连翘进行了综合评价分析。由主成分综合得分排序可知在连翘中,纺锤形 > 圆球形 > 长角椭圆形 > 短角椭圆形 > 狭长形。

3 讨论

连翘以果实入药,前人研究^[9-11]主要集中对其化学成分及药理作用的研究,但缺少对其果形的评价及分析,通过本实验的研究对连翘品种进行分类,根据不同品种果实的经济指标,结合药材的化学成分指标进行综合分析和评价,初步筛选了优良果形。

本实验经过多年对连翘种质资源进行调查研究,市场上连翘药材主要来源于野生品种;且由于各大产区间生境条件的差异,连翘种质资源变异明显,主要是连翘果实性状的变异。本实验通过对连翘性状划分、特征描述将连翘果实划分为 5 种果形,分别为长角椭圆、椭圆、纺锤、类圆和狭长;考虑到性状变异往往引起内在品质的差异性,本实验对连翘不同果形进行质量评价,并结合连翘果实经济指标对其进行综合评价,利用 SPSS 软件对连翘苷、连翘酯苷 A、醇溶性浸出物、百果重和折干率进行主成分分析,得出纺锤形果实最优,狭长形果最差,由此可以说明,连翘自然变异与连翘质量存在一定的关联性;根据对产地连翘果形多年跟踪记录,连翘在长期的变异过程中,连翘果形能稳定遗传。

中药材规范化生产必须坚持以质量优先兼顾产量为原则,本实验对不同果形连翘的质量优劣进行评价,表明连翘不同果形质量有一定的差异,主要表现在连翘苷,连翘酯苷 A,醇溶性浸出物,百果重等指标上,其中纺锤形各项指标均高于其他果形,具有很好的推广价值。连翘在河南有广泛的分布,并且连翘对环境有较强的适应性,但由于人们在采摘过程中将连翘果枝剪掉,人为地破坏,导致连翘种质资源退化减产。因此及时进行种质资源的搜集保存,大力开展种植栽培规范化研究十分迫切。本实验进行了连续多年的观察,纺锤形在多年内遗传稳定,但能否利用连翘的遗传多样性,培育出高产、质优的新品种并进行推广有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:170.
- [2] 肖会敏,何悦,王四旺,等. 连翘挥发油体外抑菌实验研究[J]. 内蒙古中医药,2011,30(15):99-100.

- [3] 赵咏梅,李发荣,杨建雄,等. 连翘苷降血脂及抗氧化的实验研究[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(2):157-159.
- [4] 郭丁丁,张潞,朱秀峰. 中药连翘种质资源调查报告[J]. 时珍国医国药,2012,23(10):2601-2603.
- [5] 赵海娟,刘威生,刘宁,等. 普通杏 (*Armeniaca vulgaris*) 种质资源果实主要数量性状变异及概率分级[J]. 果树学报,2013,30(1):37-42.
- [6] 张振,张含,国周宇,等. 红松多无性系群体的种实性状变异研究[J]. 北京林业大学学报,2015,37(2):67-78.
- [7] 尹元元,闫利华,张启伟,等. 吴茱萸及其习用品药材中7个成分的HPLC含量测定[J]. 中国中药杂志,2014,39(14):2693-2698.
- [8] 邹小娟,谢和兵,钱芳,等. HPLC法测定苦杏仁中苦杏仁苷含量的方法研究[J]. 中国药事,2009,23(1):33-36.
- [9] 郝延军,胡静,桑育黎. 山茱萸药材质量评价研究[J]. 辽宁中医杂志,2012,39(1):126-128.
- [10] 韩小孩,张耀辉,孙福军,等. 基于主成分分析的指标权重确定方法[J]. 四川兵工学报,33(10):124-126.
- [11] 殷冬梅,张幸果,王允,等. 花生主要品质性状的主成分分析与综合评价[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(4):507-512,518.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国实验方剂学杂志》2014—2016年度优秀审稿专家名单

田元祥教授(中国中医科学院中医临床基础医学研究所)
刘春生教授(北京中医药大学)
沈祥春教授(贵阳医学院药学院)
王长虹教授(上海中医药大学)
倪艳教授(山西省中医药研究院)
倪健教授(北京中医药大学)
赵艳玲研究员(解放军302医院)
李孝栋教授(福建中医药大学)
康文艺教授(河南大学)
张艳教授(辽宁中医药大学)
任钧国研究员(中国中医科学院西苑医院)
蔡宇教授(暨南大学药学院)
王冰副教授(上海中医药大学)
袁子民副教授(辽宁中医药大学)
张华副教授(山东中医药大学)

获奖的优秀审稿专家是在2014—2016年度一贯积极支持编辑部工作,能认真负责、按时完成审稿任务,且审稿数量较多的专家,由责任编辑推荐,编委会年会通过并颁发了获奖证书及奖金。