

连翘中酚酸类成分的研究进展^Δ

刘畅^{1,2*},温静^{1,2},阎新佳^{1,2#},李文兰^{1,2},李畅³,江园园^{1,2},郑鑫^{1,2},聂承冬^{1,2}(1.哈尔滨商业大学药学院,哈尔滨 150076;2.黑龙江省预防与治疗老年病药物研究重点实验室,哈尔滨 150076;3.哈尔滨医科大学药学院,哈尔滨 150081)

中图分类号 R282 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)12-1516-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.12.20

摘要 目的:为连翘的进一步开发利用提供参考。方法:以“连翘”“酚酸类化合物”“结构”“生物合成途径”“提取分离”“药理作用”“*Forsythia suspensa*”“Phenolic acids”“Structure”“Biosynthetic pathway”“Extraction and separation”“Pharmacological action”等为关键词,在中国知网、万方数据、维普网、PubMed等数据库中组合查询1995年9月—2020年2月发表的相关文献,对连翘中酚酸类成分的结构类型、生物合成途径、提取分离方法及药理作用的研究进展进行归纳和总结。结果与结论:共检索到相关文献357篇,其中有效文献68篇。连翘为我国传统的常用中药,其化学成分复杂。其中,酚酸为连翘中较为主要的一类化学成分,其化学结构一般包括以苯甲酸为母核的C₆-C₁型(如原儿茶酸、没食子酸等)、以苯乙酸为母核的C₆-C₂型(如对羟基苯乙酸、对羟基苯基乙酸甲酯等)和以肉桂酸为母核的C₆-C₃型(如咖啡酸、绿原酸等),大多通过莽草酸和肉桂酸生物合成途径生成。连翘酚酸类成分的提取溶剂一般选择有机溶剂和水的混合体系,多采用色谱法进行分离。连翘酚酸类成分主要有抗氧化、抗肿瘤、抗炎、保肝、抗菌、抗病毒等药理作用。目前对连翘酚酸类成分及其活性的研究尚有较大空间,建议今后对其化学成分及药理活性进行更深入的研究,优化其提取分离工艺,探究其药效物质基础,阐明其药理作用机制,以推动该药的进一步开发利用。

关键词 连翘;酚酸类化合物;生物合成途径;结构;提取分离;药理作用

连翘为木犀科植物连翘 [*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl] 的干燥果实,是一味使用历史悠久的中药,素有“疮家圣药”之称,其采收品分为青翘和老翘^[1],主产于我国河北、山西、陕西、河南、湖北等地^[2],具有清热解毒、散结消肿之功效^[3]。现代药理研究表明,连翘具有抗肿瘤^[4]、抗炎^[5-6]、抗菌^[6]、抗氧化^[7]等作用。连翘化学成分较为复杂,主要有黄酮类、苯乙醇苷类、木脂素类、酚酸类、挥发油类等化学成分^[8]。其中,酚酸类物质是连翘中重要的次生代谢产物之一,是一类具有多羟基酚结构的简单苯丙素类成分,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎等药理活性^[9]。目前,国内外学者对连翘中大部分化学成分已有多方面的研究,但对其酚酸类成分的研究有限。为此,笔者以“连翘”“酚酸类化合物”“结构”“生物合成途径”“提取分离”“药理作用”“*Forsythia suspensa*”“Phenolic acids”“Structure”“Biosynthetic pathway”“Extraction and separation”“Pharmacological action”等为中英文关

键词,在中国知网、万方数据、维普网、PubMed等数据库中组合查询1995年9月—2020年2月发表的相关文献。结果,共检索到相关文献357篇,其中有效文献68篇。现对连翘中酚酸类化学成分的结构类型、生物合成途径、提取分离方法及药理作用的研究进展进行综述,旨在为连翘的进一步开发利用提供参考。

1 连翘中酚酸类化学成分的结构类型

1.1 以苯甲酸为母核的C₆-C₁型

在连翘中,不少酚酸类成分属于以苯甲酸为母核的C₆-C₁型酚酸^[8,10]。目前研究显示,在连翘中已分离鉴定出的以苯甲酸为母核的C₆-C₁型酚酸类化合物主要有丁香酸^[11]、没食子酸^[12]、原儿茶醛^[11,13]、香草酸^[13]、对羟基苯甲酸^[11,13]、原儿茶酸^[14]、对羟基苯甲醇^[13]、对羟基苯甲醛^[13]、1-(4-羟基苯基)-2,3-二羟基丙酮^[13]、单宁酸^[15]等10种酚酸,其分子式和化学结构式详见表1、图1。

表1 连翘中以苯甲酸为母核的C₆-C₁型酚酸类成分

序号	中文名称	英文名称	分子式	分子量
1	丁香酸 ^[11]	Syringic acid	C ₉ H ₈ O ₅	198.17
2	没食子酸 ^[12]	Gallic	C ₇ H ₆ O ₅	170.12
3	原儿茶醛 ^[11,13]	Protocatechuic aldehyde	C ₇ H ₆ O ₃	138.12
4	香草酸 ^[13]	Vanillic acid	C ₈ H ₈ O ₄	168.15
5	对羟基苯甲酸 ^[11,13]	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₃	138.12
6	原儿茶酸 ^[14]	Protocatechuic acid	C ₇ H ₆ O ₄	154.12
7	对羟基苯甲醇 ^[13]	<i>p</i> -hydroxybenzyl alcohol	C ₇ H ₈ O ₂	124.14
8	对羟基苯甲醛 ^[13]	<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	C ₇ H ₆ O ₂	122.12
9	1-(4-羟基苯基)-2,3-二羟基丙酮 ^[13]	1-(4-hydroxyphenyl)-2,3-dihydroxyacetone	C ₇ H ₈ O ₄	182.18
10	单宁酸 ^[15]	Tannic acid	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₆	634.03

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81803696);哈尔滨商业大学“青年创新人才”支持计划(No.2019CX11);哈尔滨商业大学研究生科研创新项目(No.YJSCX2019-613HSD);哈尔滨商业大学博士科研启动项目(No.15KJ21)

* 硕士研究生。研究方向:中药药效物质基础。电话:0451-84605022。E-mail:chang0504gbdg@yeah.net

通信作者:副教授,硕士生导师,博士。研究方向:中药药效物质基础、质量控制。电话:0451-84605022。E-mail:yanxinjia@yeah.net

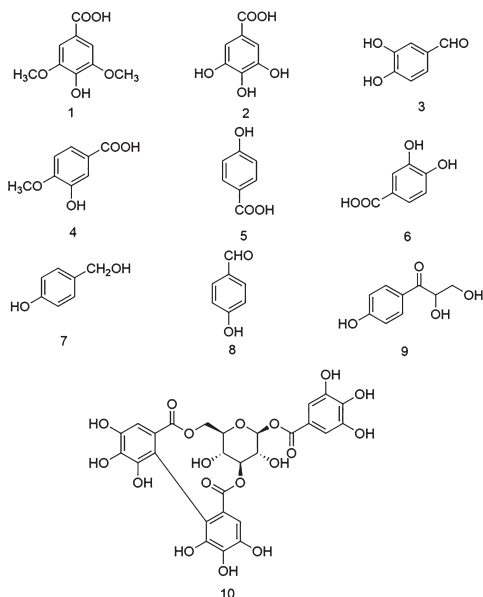


图1 连翘中以苯甲酸为母核的C₆-C₁型酚酸类成分的化学结构式

1.2 以苯乙酸为母核的C₆-C₂型

目前研究显示,在连翘中已分离鉴定出的以苯乙酸为母核的C₆-C₂型酚酸类化合物包括对羟基苯乙酸^[13]、对羟基苯基乙酸甲酯^[16]、连翘醇酯^[17]、4-(2-羟基乙基)苯甲醛^[18]、对甲氧基苯乙醛^[13]、Forsythiayarosiade C^[19]、Forsythiayarosiade D^[19]、对羟基苯乙醇^[13]、3,4-二羟基苯乙醇^[13]、4-hydroxyphenethyl 2-(4-hydroxyphenyl) acetate^[13]等10种酚酸,其分子式和化学结构式详见表2、图2。

表2 连翘中以苯乙酸为母核的C₆-C₂型酚酸类成分

序号	化合物名称	英文名称	分子式	分子量
1	对羟基苯乙酸 ^[13]	Methylp-hydroxyphenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₃	152.15
2	对羟基苯基乙酸甲酯 ^[16]	p-hydroxyphenylacetic acidmethyl ester	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	166.18
3	连翘醇酯 ^[17]	Rengyolester	C ₁₆ H ₂₂ O ₅	294.35
4	4-(2-羟基乙基)苯甲醛 ^[18]	4-(2-hydroxyethyl)benzaldehyde	C ₉ H ₁₀ O ₂	150.18
5	对甲氧基苯乙醛 ^[13]	Methoxyphenylacetaldehyde	C ₉ H ₁₀ O ₂	150.18
6	Forsythiayarosiade C ^[19]	Forsythiayarosiade C	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	330.33
7	Forsythiayarosiade D ^[19]	Forsythiayarosiade D	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	228.24
8	对羟基苯乙醇 ^[13]	p-hydroxyphenylethanol	C ₈ H ₁₀ O ₂	138.16
9	3,4-二羟基苯乙醇 ^[13]	3,4-dihydroxyphenylethanol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154.17
10	4-hydroxyphenethyl 2-(4-hydroxyphenyl) acetate ^[13]	4-hydroxyphenethyl 2-(4-hydroxyphenyl) acetate	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272.30

1.3 以桂皮酸为母核的C₆-C₃型

以桂皮酸为母核的C₆-C₃型是连翘中酚酸类化学成分的另一类主要构型,主要为苯丙酸类,大多以简单苯丙酸、苯丙酸苷类和苯丙酸聚合体的形式存在。目前研究显示,在连翘中已分离鉴定出的苯丙酸类化合物包括咖啡酸^[12]、反式香豆酸^[11]、反式阿魏酸^[11]、反式咖啡酸甲酯^[14]、绿原酸^[20]等5种酚酸,其分子式详见表3,化学结构式详见图3、表4。

2 连翘中酚酸类成分的生物合成途径

酚酸类成分大多通过莽草酸和肉桂酸生物合成途径生成^[21](因连翘中酚酸类成分报道较少,且研究多为

C₆-C₁型和C₆-C₃型,故未对C₆-C₂型进行表述)。

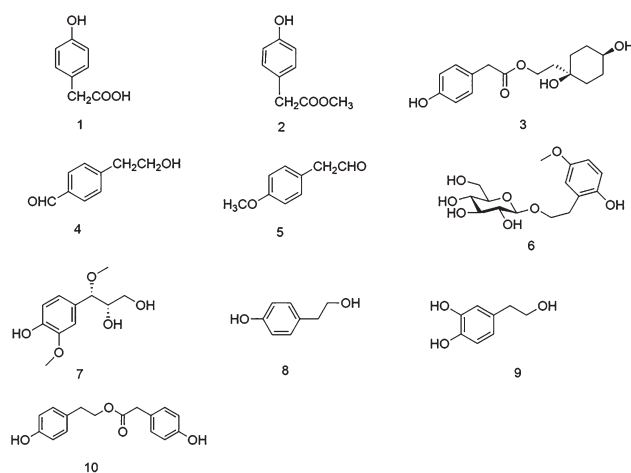


图2 连翘中以苯乙酸为母核的C₆-C₂型酚酸类成分的化学结构式

表3 连翘中以桂皮酸为母核的C₆-C₃型酚酸类成分

序号	化合物名称	英文名称	分子式	分子量
1	咖啡酸 ^[12]	caffeic acid	C ₉ H ₈ O ₄	180.16
2	反式香豆酸 ^[11]	trans-coumaric acid	C ₉ H ₈ O ₃	164.16
3	反式阿魏酸 ^[11]	transferulic acid	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.18
4	反式咖啡酸甲酯 ^[14]	(E)-caffeic acid methyl ester	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.06
5	绿原酸 ^[20]	chlorogenic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₆	354.31

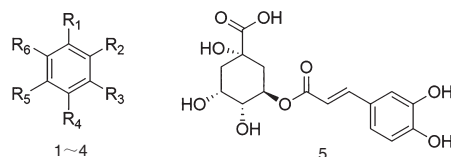


图3 连翘中以桂皮酸为母核的C₆-C₃型酚酸类成分化合物的化学结构式

表4 连翘中以桂皮酸为母核的C₆-C₃型酚酸类成分1~4的R₁~R₆取代基取代情况

序号	化合物名称	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
1	咖啡酸 ^[12]	H	H	OH	OH	H	CH=CHCOOH
2	反式香豆酸 ^[11]	H	H	CH=CHCOOH	H	H	OH
3	反式阿魏酸 ^[11]	CH=CHCOOH	H	OCH ₃	OH	H	H
4	反式咖啡酸甲酯 ^[14]	OH	OH	H	H	H	CH=CHCOOCH ₃

2.1 苯甲酸生物合成途径

苯甲酸类化合物的合成途径主要包括苯丙氨酸次级代谢和莽草酸转化^[22]。其中,莽草酸转化途径始于磷酸烯醇式丙酮盐(PEP)和4-磷酸-D-赤藓糖的偶联反应,然后通过醛缩合反应生成3-脱氧-D-阿拉伯庚酮糖酸-7-磷酸酯(DAHP),再经过生物体内一系列复杂的酶催化反应得到莽草酸,再经过一系列化学反应衍生得到一些简单的C₆-C₁型酚酸类成分^[10,23],详见图4。

2.2 桂皮酸生物合成途径

连翘中以桂皮酸为母核的C₆-C₃结构的化合物的生物合成途径主要始于苯丙氨酸或酪氨酸,首先由葡萄糖代谢为莽草酸,再经过莽草酸途径得到苯丙氨酸和酪氨酸。在植物体内经侧链脱氢后得到香豆酸。如果是苯

丙氨酸,将先生成桂皮酸,再被氢化成香豆酸;而酪氨酸会直接生成香豆酸,然后再通过一系列羟基化和甲基化生成桂皮酸的衍生物,详见图5^[23-24]。

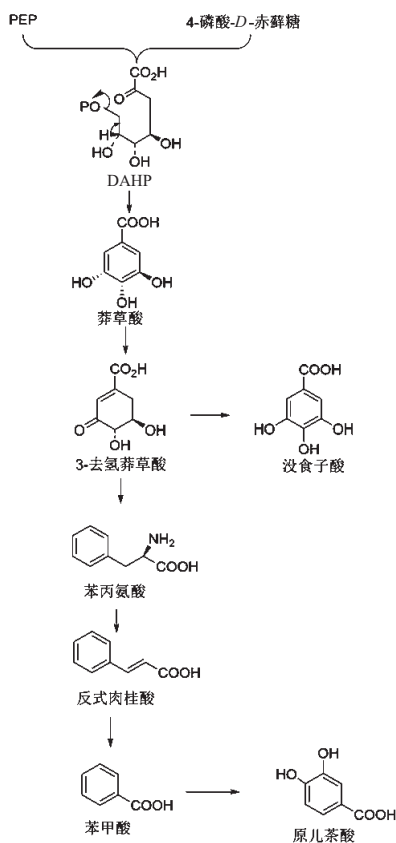


图4 莽草酸转化生物合成途径

3 连翘中酚酸类成分的提取、分离

3.1 连翘中酚酸类成分的提取

酚酸类化合物多含有酚羟基,且酚羟基是其主要活性基团。但该基团容易受到光照、温度等外界因素的影响,大多易被氧化成羰基而失去活性。因此,连翘中酚酸类成分的提取应选择新鲜的原材料,在适当的条件下进行提取分离,避免在日光或酶的作用下变性变质,同时还应避免长时间高温高热。由于酚酸类化合物在植物体内通常会与蛋白质和多糖形成稳定的复合物,所以酚酸类化合物的提取溶剂应对其具有很强的溶解性,因此有机溶剂和水的混合体系最适宜于酚酸类成分的提取^[10]。但应注意的是,选择的提取溶剂不可与连翘中酚酸类成分以及连翘中其他类化学成分发生反应。例如,王福男^[12]将连翘加水温浸30 min后,煎煮2次,每次1 h,合并两次煎煮后的滤液,浓缩,放冷至40℃,缓慢加入乙醇至含醇量达75%,充分搅拌,静置12 h,滤过,取上清液,回收乙醇至无醇味,加入3~4倍量(mL/g)水,静置12 h,滤过,取上清液,加热浓缩,放冷至40℃,加入乙醇至醇量达85%,静置12 h,滤过,取上清液,回收乙醇至无醇味,得总浸膏。田粟等^[25]采用正交设计法确定了超声提取连翘叶总酚酸的最佳超声提取条件为以20倍

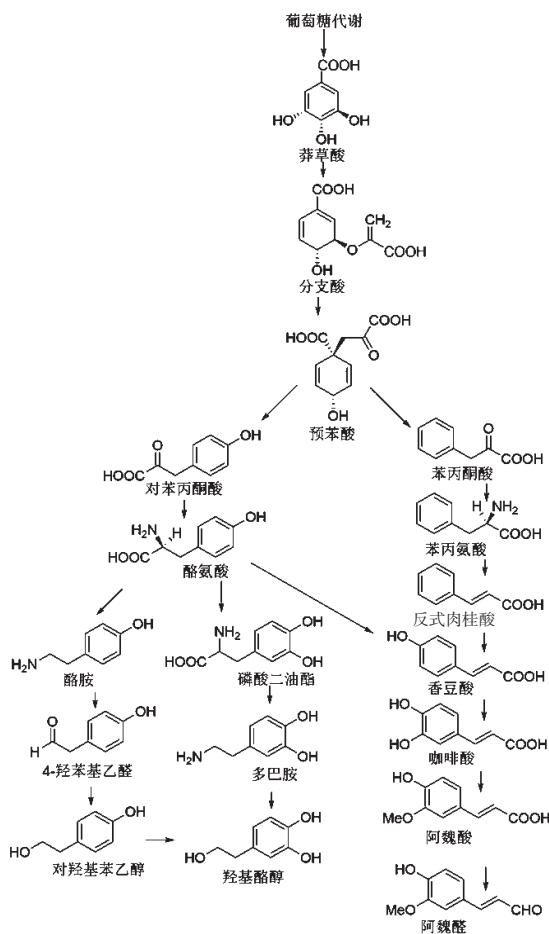


图5 肉桂酸生物合成途径

量(mL/g)60%甲醇作为提取溶剂,在45℃下超声提取3次,每次10 min。阎新佳等^[13]则采用回流提取法提取连翘干燥果实中的酚酸类成分,以50%乙醇作为提取溶剂,提取3次,每次2 h,合并提取液,减压浓缩得总浸膏,经进一步萃取及多种分离色谱技术分离纯化后得到酚酸类化合物单体。赵志勇等^[18]同样采用回流提取法,提取连翘干燥果实中的酚酸类成分,提取溶剂则为60%乙醇,提取3次,每次2 h,合并提取液,减压浓缩得总浸膏,经进一步萃取及色谱分离后得到酚酸类化合物单体。目前,有关酚酸的提取报道总体较少,有待今后进一步研究。

3.2 连翘中酚酸类成分的分离

连翘中小分子的酚酸类化合物主要集中在氯仿和乙酸乙酯萃取部位中,其糖苷则多见于正丁醇萃取部位。连翘中酚酸类成分多采用色谱法分离,色谱柱的固定相或吸附剂通常是C₁₈、阴离子交换树脂和分子印迹聚合物(MIP)^[26]。王福男^[12]采用X-5型大孔吸附树脂以不同体积分数乙醇对连翘提取物进行梯度洗脱,其中40%乙醇洗脱部分依次通过硅胶柱色谱、Sephadex LH-20葡聚糖凝胶柱色谱以及反相高效液相色谱法(HPLC)制备型柱色谱分离得到酚酸类化合物单体。阎新佳等^[13]将连翘乙醇提取物浸膏加水稀释后,依次用氯仿、乙酸乙

酯、正丁醇进行萃取。其中,乙酸乙酯萃取部位用适量水溶解后,采用大孔吸附树脂柱色谱进行分离,分别用10%、30%、50%、95%乙醇进行梯度洗脱;取50%乙醇洗脱部分用硅胶柱色谱进行分离,用不同体积比的二氯甲烷-甲醇混合溶液进行梯度洗脱后,依次经过 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱、硅胶柱色谱、聚酰胺柱色谱并结合半制备型液相分离系统纯化得到酚酸类化合物单体。赵志勇等^[17]采用同样的方法,分别用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇对连翘乙醇提取物进行萃取,取乙酸乙酯萃取部位通过大孔吸附树脂以10%、30%、60%、95%乙醇梯度洗脱后,采用 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱、ODS 柱色谱等对上述60%乙醇洗脱部分进行分离纯化,得到酚酸类化合物单体,最后再根据单体的理化性质和波谱数据鉴定其结构。

4 药理作用

4.1 抗氧化、抗自由基作用

酚酸类成分是连翘中广泛存在的具有抗氧化活性的次生代谢产物^[27]。有研究表明,酚酸类成分有较强的抗氧化、抗自由基作用,并且其抗氧化活性与其羟基数及取代基位置相关,即随着羟基数目的增加,其抗氧化能力逐渐增强;在取代基相同时,C₆-C₃型酚酸类成分的抗氧化能力强于C₆-C₁型酚酸类成分,例如咖啡酸的抗氧化能力强于原儿茶酸^[28]。酚酸的抗氧化能力还与总酚酸的含量成正相关。例如,王燕等^[29]研究发现,随着连翘中总酚酸含量的增加,其清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的能力逐渐加强。酚酸的浓度对其抗氧化活性也有影响,范金波等^[30]采用钼酸铵法比较了不同浓度(0.02~0.1 mg/mL)咖啡酸的抗氧化能力,结果显示,咖啡酸的抗氧化能力随其浓度的增加而有所增强。张飞^[31]通过HPLC-DPPH离线法识别连翘叶中能够消除DPPH自由基的成分,发现连翘中的酚酸类成分绿原酸对DPPH自由基具有清除作用。Jiao J等^[32]从连翘制成的茶浸液中分离得到绿原酸,并采用DPPH法评价其抗氧化能力,发现其半数抑制浓度(IC₅₀)[(0.083 ± 0.002) mg/mL]与阳性对照药物抗坏血酸(VC)[(0.062 ± 0.002) mg/mL]相似,表明该化合物具有与VC相当的抗氧化活性。

4.2 抗肿瘤作用

连翘中的酚酸类成分在体内外研究中均表现出一定的抗肿瘤活性,如没食子酸、绿原酸、咖啡酸等^[33-35]。郗艳丽^[36]采用MTT法、环境扫描电镜技术和激光共聚焦显微技术检测到没食子酸可抑制3种人肺癌细胞(95-D细胞、A549细胞和NCI-H460细胞)的增殖并诱导其凋亡。Kawada K等^[37]将LL-2肺癌细胞移植到C57Black小鼠体内,并以没食子酸进行干预,利用末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP生物素缺口末端标记法(TUNEL)测得模型组和给药组小鼠肿瘤组织中的TUNEL阳性细

胞数分别为(2.8 ± 1.7)、(7.4 ± 4.1)个,即给药组小鼠的凋亡细胞明显更多。该研究表明,没食子酸可通过诱导肿瘤细胞的凋亡来抑制移植性肺癌细胞的生长。

另有研究表明,绿原酸可预防结肠癌、口腔癌等疾病的发生,并且其可促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞生长^[38]。Yamagata K等^[39]采用MTT法检测了绿原酸对A549细胞增殖的影响,并借助聚合酶链式反应法(PCR)分析其可能机制。结果显示,经绿原酸处理后的肺癌细胞存活率降低,Bcl-2基因的表达下降,Bax基因的表达增加,提示绿原酸可通过影响肺癌细胞相关凋亡基因的表达来促进肺癌细胞的凋亡。Yan Y等^[40]研究发现,绿原酸可以通过抑制人肝癌HepG2细胞增殖、诱导胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)失活、抑制HepG2异种移植组织中基质金属蛋白酶2(MMP-2)和MMP-9表达等多种途径来阻止肝癌的进一步发展。Li HR等^[41]研究发现,30、60 μmol/L的绿原酸均能显著抑制B16小鼠黑色素瘤细胞增殖。

研究表明,连翘中存在的酚酸类成分咖啡酸也具有抗肿瘤活性。Dziedzic A等^[42]利用流式细胞术分析了咖啡酸对人头颈部鳞癌Detroit 562细胞增殖和凋亡的影响,结果表明,50 μmol/L的咖啡酸即可诱导Detroit 562细胞凋亡。Brautigan DL等^[43]在土拨鼠WHC-17肝癌细胞培养基中加入咖啡酸,12 h后活细胞数明显减少,表明咖啡酸可通过诱导肝癌细胞凋亡来抑制肝癌细胞的增殖。

4.3 抗炎作用

相关研究发现,连翘可改善由结肠炎所引起的结肠组织病理学损害,包括上皮细胞坏死、炎性细胞浸润、溃疡和黏膜下水肿等^[44-52]。连翘可抑制结肠炎模型小鼠的肠道炎症,研究者推测连翘对结肠炎的药理作用可能源于其酚酸类成分(咖啡酸、绿原酸和原儿茶酸)^[44]。阿魏酸是连翘酚酸类成分中的一种^[45],吴建良等^[46]研究发现,阿魏酸可通过ERK信号通路抑制炎症因子表达,并且该化合物具有抑制小胶质细胞活化和神经性炎症的作用。Su JH等^[47]研究发现,绿原酸不仅能显著抑制脂多糖(LPS)诱导的小鼠RAW 264.7细胞和BV2小神经胶质细胞中一氧化氮(NO)的产生,而且还能显著抑制诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、环氧合酶2(COX-2)的表达,减少促炎细胞因子[包括白细胞介素1(IL-1)和肿瘤坏死因子α(TNF-α)]和其他炎症相关标志物(如IL-6)的产生,且呈剂量依赖性,提示该化合物可用于预防和治疗炎症反应性疾病。Lee JH等^[48]研究发现,绿原酸对由白色念珠菌引起的败血症性关节炎模型BALB/c小鼠具有保护作用,这种作用可能是通过抑制巨噬细胞产生NO和抑制T细胞增殖来介导的。Chen DY等^[49]研究发现,绿原酸可抑制脊髓损伤模型大鼠的炎症反应,降低iNOS活性,抑制COX-2蛋白表达,并可通过Toll样受体

4(TLR4)/核因子 κ B(NF- κ B)和p38信号通路介导的抗炎作用来减轻脊髓损伤。由COX-2产生的前列腺素E₂(PEG₂)是一种重要的促炎介质,其可诱导机体产生红、热、肿、痛等一系列炎症反应^[50]。Shan JH等^[51]研究发现,绿原酸可通过抑制NF- κ B和c-Jun氨基末端激酶/活化蛋白1(JNK/AP-1)信号通路的激活,显著降低LPS诱导的RAW264.7细胞中COX-2的表达,从而抑制该细胞释放PEG₂,最终达到抗炎的目的。Guo YJ等^[52]研究了绿原酸对单纯疱疹病毒1(HSV-1)诱导的BV2小胶质细胞的抗炎作用,其采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)和实时荧光定量PCR法检测TNF- α 、IL-6及其mRNA的表达水平,结果表明,绿原酸可通过抑制TLR2/TLR9/髓样分化因子88(MyD88)信号通路来抑制HSV-1诱导的TNF- α 和IL-6释放,并且对其mRNA的表达也有明显的抑制作用。

4.4 保肝作用

有研究发现,连翘对肝脏具有一定的保护作用^[53],这与其酚酸类成分对肝损伤的保护有关^[54]。Zhang Y等^[55]研究发现,棕榈酸可诱导内质网应激,致使肝细胞凋亡;但绿原酸可抑制这种凋亡,减轻棕榈酸对肝细胞的损伤。血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)和乳酸脱氢酶(LDH)活性的显著升高是酒精摄入后肝脏急性损伤的重要指标之一,Kartkaya K等^[56]研究发现,没食子酸可显著减弱上述酶类的活性,提示该化合物可能具有肝脏保护作用。Kim H等^[57]研究发现,与单纯灌胃乙醇的小鼠相比,灌胃乙醇并且分别注射不同剂量(10、20、40 mg/kg)绿原酸的小鼠血清中ALT和AST活性呈剂量依赖性衰减,推测绿原酸可通过抑制氧化应激而有效减轻酒精性肝病,对肝损伤起到保护作用。Ali N等^[58]研究了绿原酸对甲氨蝶呤(MTX)诱导的肝损伤模型大鼠的保护作用,结果发现MTX组大鼠血清ALT、AST和LDH含量均显著高于正常对照组,而绿原酸处理组大鼠上述指标的含量均显著低于模型组($P < 0.05$),同时绿原酸还可抑制COX-2、iNOS、Bcl-2和胱天蛋白酶(Caspase-3)、Caspase-9介导的炎症和细胞凋亡,改善MTX诱导的组织学改变,该研究表明绿原酸可通过减少促炎介质和凋亡介质而发挥对MTX所致肝损伤的保护作用。相关研究表明,绿原酸还可预防对乙酰氨基酚引起的肝损伤^[59]。

4.5 抗菌作用

连翘抗菌活性与其酚酸含量成正相关,酚酸含量越高,其抗菌作用越强^[60]。Kepa M等^[61]研究发现,咖啡酸可抑制金黄色葡萄球菌,且最低抑菌浓度(MIC)为512 μ g/mL。另外相关研究报道,绿原酸对肺炎链球菌、志贺氏痢疾杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌均具有良好的抑制活性^[62-63]。Kabir F等^[64]采用紫外分光光度法以及记录MacConkey琼脂平板中的活细胞数量来评价绿原酸的

杀菌(大肠杆菌)效果,结果表明,绿原酸及相关化合物(阿魏酸、苯甲酸和羟基苯甲酸)均具有抑菌和杀菌作用。许维国等^[65]研究表明,连翘中存在的没食子酸具有一定的抑菌效果,尤其对金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门菌的抑制效果较好。

4.6 抗病毒作用

酚酸类成分还具有抗病毒的作用。Sakai S等^[66]研究发现,连翘中酚酸类代表性成分阿魏酸和异阿魏酸可抑制呼吸道合胞病毒(RSV)诱导的巨噬细胞炎性蛋白2(MIP-2)水平上升,阿魏酸和异阿魏酸均可使MIP-2水平分别降至对照组的42.8%和35.6%,且在阿魏酸或异阿魏酸的作用下,RSV感染的小鼠巨噬细胞RAW264.7以剂量依赖的方式减少MIP-2的产生。Wu ZM等^[67]研究了咖啡酸对犬瘟热病毒(CDV)的抑制活性,结果显示,人Vero细胞感染CDV后1、2 h,咖啡酸对其的IC₅₀值分别为23.3、32.3 mg/mL,表明咖啡酸能够有效抑制人Vero细胞中感染的CDV。Kratz JM等^[68]研究发现,没食子酸可有效抑制单纯疱疹病毒2(HSV-2),在HSV-2感染细胞期间和感染后分别添加没食子酸,该化合物的IC₅₀值分别为33.56、64.35 μ mol/L。

5 结语

连翘为我国传统的常用中药,其成分复杂,其中酚酸类成分作为该药的主要活性成分之一,具有广泛的应用前景。其主要成分有绿原酸、咖啡酸、没食子酸、阿魏酸等,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗病毒、保肝等多种药理作用。值得一提的是,目前对连翘成分研究的报道较多,但与连翘中其他类成分相比,酚酸类成分及其相关活性研究尚有较大空间。建议今后可对连翘中的酚酸类化学成分及其药理作用进行更深入的研究,优化其提取分离工艺,探究其药效物质基础,阐明其作用机制,以推动该药的进一步开发利用。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:117.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第61卷:第1分册[M].北京:科学出版社,1992:42.
- [3] 阎新佳,温静,项峥,等.连翘的化学成分研究[J].中草药,2017,48(4):644-647.
- [4] ZHANG WG, LIU Q, LEI CP. Forsythia suspensa extract has inhibitory effect on proliferation and apoptosis of A549 lung cancer cells[J]. Trop J Pharm Res, 2019, 18(9):1949-1954.
- [5] SHAO SY, YANG YN, FENG ZM, et al. Anti-inflammatory phenylpropanoid glycosides from the fruits of Forsythia suspensa[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2019. DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.126635.
- [6] ZHAO L, XIANG KL, LIU RX. et al. Anti-inflammatory and anti-viral labdane diterpenoids from the fruits of Forsythia suspensa[J]. Bioorgan Chem, 2020. DOI: 10.1016/j.

- bioorg.2020.103651.
- [7] 张元波,张敏,程启斌,等.连翘叶抗氧化谱效相关质量评价研究[J].天然产物研究与开发,2017,29(4):629-634.
- [8] 阎新佳.连翘化学成分与药理活性研究进展[C]//哈尔滨:中国商品学会第5届全国中药商品学术大会论文集,2017:558-580.
- [9] 高媛,马帅,代敏,等.果蔬酚酸生物合成及代谢调控研究进展[J].食品科学,2018,39(9):286-293.
- [10] 张东明.酚酸化学[M].北京:化学工业出版社,2009:335.
- [11] KUO PC, CHEN GF, YANG ML, et al. Chemical constituents from the fruits of *Forsythia suspensa* and their antimicrobial activity[J]. *Biomed Res Int*, 2014. DOI: 10.1155/2014/304830.
- [12] 王福男.中药连翘的化学成分研究[D].北京:中国协和医科大学,2009.
- [13] 阎新佳,项峥,温静,等.中药连翘的酚酸类化学成分研究[J].中国药理学杂志,2017,52(2):105-108.
- [14] GE Y, WANG Y, CHEN P, et al. Polyhydroxytriterpenoids and phenolic constituents from *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl leaves[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(1):125-131.
- [15] KUO PC, HUNG HY, NIAN CW, et al. Chemical constituents and anti-inflammatory principles from the fruits of *Forsythia suspensa*[J]. *J Nat Prod*, 2017, 80(4):1055-1064.
- [16] 王伟芳,刘东雷,徐绥绪,等.连翘中的新化合物[J].沈阳药科大学学报,1999,16(2):63-70.
- [17] 赵志勇,杨姣.中药连翘的酚酸类化学成分研究[J].辽宁医学院学报,2016,37(3):12-14.
- [18] YAN XJ, WENJ, ZHENG X, et al. Two new phenolic acids from the fruits of *Forsythia suspensa*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2017, 19(3):254-259.
- [19] 冯卫生,李珂珂,郑晓珂.连翘化学成分的研究[J].中国药理学杂志,2009,44(7):490-492.
- [20] CUI Y, WANG Q, SHI XW, et al. Simultaneous quantification of 14 bioactive constituents in *Forsythia suspensa* by liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry[J]. *Phytochem Anal*, 2010, 21(3):253-260.
- [21] 马燕,魏媛,王冕,等.谷物酚酸合成途径及代谢调控研究进展[J].食品科学,2019,40(15):269-276.
- [22] 唐文强,刘长海.天然苯甲酸生物合成机制的研究进展[J].中国调味品,2011,36(8):12-15.
- [23] 吴立军.实用天然有机产物化学[M].北京:人民卫生出版社,2007:1529.
- [24] JIA JP, ZHANG FS, LI ZY, et al. Comparison of fruits of *Forsythia suspensa* at two different maturation stages by NMR-based metabolomics[J]. *Molecules*, 2015, 20(6):10065-10081.
- [25] 田粟,唐龙妹,许丽琴,等.超声波提取连翘叶总黄酮与总酚酸的实验研究[J].时珍国医国药,2009,20(1):109-110,112.
- [26] BI WT, TIAN ML, ROW KH. Separation of phenolic acids from natural plant extracts using molecularly imprinted anion-exchange polymer confined ionic liquids[J]. *J Chromatogr A*, 2012. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.08.054.
- [27] COOK NC, SAMMAN S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources[J]. *J Nutr Biochem*, 1996, 7(2):66-76.
- [28] 乔丽萍,傅瑜,叶兴乾,等.酚酸生物活性研究进展[J].中国食品学报,2013,13(10):144-152.
- [29] 王燕,王儒彬,孙磊,等.不同采摘期连翘叶中总黄酮、总酚酸含量与DPPH自由基清除能力的相关性[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(16):109-112.
- [30] 范金波,蔡茜彤,冯叙桥,等.咖啡酸体外抗氧化活性的研究[J].中国食品学报,2015,15(3):65-73.
- [31] 张飞.连翘花和叶中清除自由基成分分析及其含量测定[D].保定:河北农业大学,2011.
- [32] 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(2):857-863.
- [33] WANG ZY, XIA Q, LIU X, et al. Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: a review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.040.
- [34] 胡文静,钱晓萍,涂云霞,等.连翘乙醇提取物抗肿瘤作用的实验研究[J].南京中医药大学学报,2007,23(6):379-381,415.
- [35] FERGISON LR, ZHU S, HARRIS PJ. Antioxidant and antigenotoxic effects of plant cell wall hydroxycinnamic acids in cultured HT-29 cells[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2005, 49(6):585-593.
- [36] 郝艳丽.没食子酸诱导肺癌细胞凋亡机制及其应用的研究[D].长春:吉林大学,2012.
- [37] KAWADA K, OHNO Y, RI Y, et al. Anti-tumor effect of gallic acid on LL-2 lung cancer cells transplanted in mice[J]. *Anticancer Drugs*, 2001, 12(10):847-852.
- [38] 王丽萍,郭栋,王果,等.中药绿原酸的研究进展[J].时珍国医国药,2011,22(4):961-963.
- [39] YAMAGATA K, IZAWA Y, ONODERA D, et al. Chlorogenic acid regulates apoptosis and stem cell marker-related gene expression in A549 human lung cancer cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 441(1/2):9-19.
- [40] YAN Y, LIU N, HOU N, et al. Chlorogenic acid inhibits hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo[J]. *J Nutr Biochem*, 2017. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2017.04.007.
- [41] LI HR, HABASI M, XIE LZ, et al. Effect of chlorogenic acid on melanogenesis of B16 melanoma cells[J]. *Molecules*, 2004, 19(9):12940-12948.
- [42] DZIEDZIC A, KUBINA R, KABALA-DZIK A, et al. Induction of cell cycle arrest and apoptotic response of head

- and neck squamous carcinoma cells (Detroit 562) by caffeic acid and caffeic acid phenethyl ester derivative[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017. DOI: 10.1155/2017/6793456.
- [43] BRAUTIGAN DL, GIELATE M, HEO J, et al. Selective toxicity of caffeic acid in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505 (2) : 612–617.
- [44] HWANG YH, KIM DG, LI W, et al. Anti-inflammatory effects of Forsythia suspensa in dextran sulfate sodium-induced colitis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017. DOI: 10.1016/j.jep.2017.05.011.
- [45] 张囡, 杜丽丽, 王冬, 等. 中药酚酸类成分的研究进展[J]. *中国现代中药*, 2006, 8(2): 25–28.
- [46] 吴建良, 沈敏敏, 杨水新, 等. 阿魏酸对小胶质细胞炎症反应的抑制作用[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(1): 97–102.
- [47] SU JH, KIM YW, PARK Y, et al. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells[J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(1): 81–90.
- [48] LEE JH, PARK JH, KIM YS, et al. Chlorogenic acid, a polyphenolic compound treats mice with septic arthritis caused by *Candida albicans*[J]. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8(12): 1681–1685.
- [49] CHEN DY, PAN D, TANG SH, et al. Administration of chlorogenic acid alleviates spinal cord injury via TLR4/NF- κ B and p38 signaling pathway anti inflammatory activity[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 1340–1346.
- [50] TSATSANIS C, ANDROULIDAKI A, VENIHAKI M, et al. Signalling networks regulating cyclooxygenase-2[J]. *Int J Biochem Cell B*, 2006, 38(10): 1654–1661.
- [51] SHAN JH, FU J, ZHAO ZH, et al. Chlorogenic acid inhibits lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression in RAW264.7 cells through suppressing NF- κ B and JNK/AP-1 activation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(9): 1042–1048.
- [52] GUO YJ, LUO T, WU F, et al. Involvement of TLR2 and TLR9 in the anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in HSV-1-infected microglia[J]. *Life Sci*, 2015. DOI: 10.1016/j.lfs.2015.01.036.
- [53] 侯改霞, 杨建雄. 连翘叶提取物对实验小鼠的降脂保肝作用研究[J]. *河南大学学报(自然科学版)*, 2010, 40(5): 504–506.
- [54] YEH CT, YEN GC. Induction of hepatic antioxidant enzymes by phenolic acids in rats is accompanied by increased levels of multidrug resistance associated protein 3 mRNA expression[J]. *J Nutr*, 2006, 136(1): 11–15.
- [55] ZHANG Y, MIAO LS, ZHANG H, et al. Chlorogenic acid against palmitic acid in endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis resulting in protective effect of primary rat hepatocytes[J]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17(1): 1–8.
- [56] KARTKAYA K, OGLAKCI A, ŞENTURK H, et al. Investigation of the possible protective role of gallic acid on paraoxanase and arylesterase activities in livers of rats with acute alcohol intoxication[J]. *Cell Biochem Funct*, 2013, 31(3): 208–213.
- [57] KIM H, PAN JH, KIM SH, et al. Chlorogenic acid ameliorates alcohol-induced liver injuries through scavenging reactive oxygen species[J]. *Biochimie*, 2018. DOI: 10.1016/j.biochi.2018.05.008.
- [58] ALI N, RASHID S, NAFEES S, et al. Protective effect of chlorogenic acid against methotrexate induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat liver: an experimental approach[J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 76(1): 80–91.
- [59] PANG C, SHENG YC, JIANG P, et al. Chlorogenic acid prevents acetaminophen-induced liver injury: the involvement of CYP₄₅₀ metabolic enzymes and some antioxidant signals[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2015, 16(7): 602–610.
- [60] QU JL, YAN XJ, LI CY, et al. Comparative evaluation of raw and ripe fruits of Forsythia suspensa by HPLC-ESI-MS/MS analysis and anti-microbial assay[J]. *J Chromatogr Sci*, 2017. DOI: 10.1155/2018/7413504.
- [61] KEPA M, MIKLASINSKA-MAJDANIK M, WOJTYCZKA RD, et al. Antimicrobial potential of caffeic acid against staphylococcus aureus clinical strains[J]. *Biomed Res Int*, 2018. DOI: 10.1155/2018/7413504.
- [62] LOU ZX, WANG HX, ZHU S, et al. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid[J]. *J Food Sci*, 2011, 76(6): 398–403.
- [63] KARUNANIDHI A, THOMAS R, BELKUM AV, et al. In vitro antibacterial and antibiofilm activities of chlorogenic acid against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* including the trimethoprim/sulfamethoxazole resistant strain[J]. *Biomed Res Int*, 2013. DOI: 10.1155/2013/392058.
- [64] KANIR F, KATAYAMA S, TANJI N, et al. Antimicrobial effects of chlorogenic acid and related compounds[J]. *J Korean Soc Appl Biolchem*, 2014, 57(3): 359–365.
- [65] 许维国, 刘洋, 刘多见, 等. 没食子酸抑菌活性分析[J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(10): 1329–1331.
- [66] SAKAI S, KAWAMATA H, KOGURE T, et al. Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on the production of macrophage inflammatory protein-2 in response to respiratory syncytial virus infection in RAW264.7 cells[J]. *Mediat Inflamm*, 1999, 8(3): 173–175.
- [67] WU ZM, YU ZJ, CUI ZQ, et al. In vitro antiviral efficacy of caffeic acid against canine distemper virus[J]. *Microb Pathogenesis*, 2017. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.07.006.
- [68] KRATZ JM, ANDRIGHETTI-FROHNER CR, LEAL PC, et al. Evaluation of anti-HSV-2 activity of gallic acid and pentyl gallate[J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(5): 903–907.

(收稿日期: 2020-03-23 修回日期: 2020-05-14)

(编辑: 孙冰)