

贯叶连翘不同部位黄酮类成分差异与抗炎活性相关性分析

刘妍如, 唐志书*, 白宏博, 史鑫波, 张朝, 吕杨, 孔馨逸, 孙晓春, 宋忠兴

陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712083

摘要: 目的 超高效液相色谱 (UPLC) 法结合模式识别方法分析贯叶连翘不同生长部位成分和抗炎活性的差异, 建立同时定量测定贯叶连翘 5 个不同生长部位中 6 种黄酮类活性成分的方法。方法 采用 ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 0.2% 甲酸-水-乙腈作为梯度洗脱系统。采集贯叶连翘花、果、叶、茎、根 5 个不同部位样品的色谱信息, 对积分数据进行中心化、归一化等预处理, 采用偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 及 PLS-tree 聚类分析方法, 以 NO 活性的半数抑制浓度 (IC₅₀) 作为抗炎活性的监督因子, 评价贯叶连翘不同部位在黄酮成分、抗炎活性方面的相似性和差异性。结果 方法学验证结果显示, 5 种化合物线性关系良好, $r > 0.999$, 精密度、重复性和稳定性良好, 平均加样回收率为 97.28%~102.84%。根据不同部位黄酮类成分含量和抗炎活性 PLS 分析情况, 显示贯叶连翘不同部位的质量为叶>花>茎>果>根。结论 说明贯叶连翘采收部位应以地面上茎干部分开始采收为宜。

关键词: 贯叶连翘; 超高效液相色谱法; 偏最小二乘判别分析; 抗炎; 芦丁; 金丝桃苷; 异槲皮素; 槲皮苷; 槲皮素; 山柰酚

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)21-4465-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.21.016

Variation analysis of flavonoids contents and nitric oxide production inhibition in different parts from *Hypericum perforatum*

LIU Yan-ru, TANG Zhi-shu, BAI Hong-bo, SHI Xin-bo, ZHANG Zhao, LV Yang, KONG Xin-yi, SUN Xiao-chun, SONG Zhong-xing

Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Shaanxi Province Key Laboratory of New Drugs and Chinese Medicine Foundation Research, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China

Abstract: Objective To provide a chemometric analytical approach for different parts classification from *Hypericum perforatum* using ultra performance liquid chromatography (UPLC) combined with chemometrics methods. **Methods** The ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) column was used, and 0.2% formic acid aqueous solution-acetonitrile as gradient elution system. The chromatograms information of different parts that including flower, fruit, leaf, stem and root from *Hypericum perforatum* L. was collected. The original data were pretreated by centralization and normalization, analyzed by partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) and PLS-tree cluster analysis, and monitored by the half inhibition concentration of nitric oxide (NO) production activity as an anti-inflammatory factor, in order to evaluate the similarities and differences in flavonoids contents and nitric oxide production inhibition in different parts from *H. perforatum*. **Results** All the calibration curves of 6 flavonoids showed good linearity in each range with correlation coefficients greater than 0.999 that had good precision, repeatability and stability, and the average recovery ranged from 97.28% to 102.84%. By PLS-DA and PLS-tree, according to the data of flavonoids contents and NO product inhibition activities, it showed the quality of leaf > flower > stem > fruit > root for *H. perforatum*. **Conclusion** The established method suggested that an appropriate harvest part of *H. perforatum* is the stem part on the ground.

Key words: *Hypericum perforatum* Linn.; ultra performance liquid chromatography; partial least squares discriminant analysis; anti-inflammatory; rutin; hyperoside; isoquercetin; quercitrin; quercetin; kaempferol

贯叶连翘为藤黄科 (Guttiferae) 金丝桃属 *Hypericum* Linn. 植物贯叶连翘 *Hypericum perforatum* Linn. 的全草, 又名贯叶金丝桃^[1-2]。我

国有 55 种, 主要分布于华东、川西、陕西等地区, 其味苦, 性平, 归肝经, 具有清心明目、调经活血、止血生肌、解毒消炎的功效, 是当前全球研究开发

收稿日期: 2017-06-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81501229)

作者简介: 刘妍如 (1985—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为药物分析。Tel: (029)38182207 E-mail: yanzi_2203@aliyun.com

*通信作者 唐志书, 男, 博士, 硕士生导师, 主要从事中药制剂制备技术的研究。Tel: (029)38185060 E-mail: tzs6565@163.com

的热门天然药物之一。其主要活性成分为萆薢二萜酮类（如金丝桃素、伪金丝桃素）和黄酮醇类化合物（如金丝桃苷、槲皮素、槲皮苷、异槲皮素等）^[3]。现代药理学研究证明，贯叶连翘具有抗病毒、抗菌、抗炎和增强免疫功能等药理活性，尤其在治疗抑郁、艾滋病、烧伤等疾病和止血消炎生肌等方面具有显著疗效^[4-7]。仅在抗抑郁制剂开发方面，贯叶连翘已在澳大利亚、德国、法国等十几个国家上市销售，说明贯叶连翘生药资源开发利用的价值十分可观，具有广阔的开发前景^[8-9]。

贯叶连翘不同药用部位的活性成分的量差异较大，因此，正确选择原料植物，合理选定采集部位、采收时间会直接影响到药品的产量和质量^[10]。研究表明贯叶连翘中金丝桃素的量是根据植物的不同部位而变化的，且在开花期植物的上部其量达到最大值 0.093%，说明植物不同部分金丝桃素的量与植物发育阶段之间有着重要的关系^[11-12]。吴畏等^[13]采用 HPLC 法测定了贯叶连翘不同部位中金丝桃素的量，结果表明同一产地贯叶连翘中，茎部位金丝桃素的量低于花、叶部位。温普红等^[14]对陕西太白山产贯叶连翘不同部位金丝桃素的量进行了测定，结果表明其各部位质量分数为花>全草上>叶>全草>果>全草下>茎>根，确定了其科学的采集提取部位为分枝以上部位。目前临床使用的贯叶连翘提取物制剂中黄酮类化合物（6%~8%，主要为槲皮素及其苷类金丝桃苷、芦丁、异槲皮苷、槲皮苷等）的量高于萆薢二萜酮类（0.06%~0.4%，金丝桃素、伪金丝桃素等），是贯叶连翘中抗炎、抗抑郁的主要活性成分^[15-16]。因此，为了保证贯叶连翘植物资源的持续利用，对贯叶连翘不同部位黄酮类化合物差异的分析研究也是十分必要的。

超高效液相色谱法（UPLC）是一种具有较强专属性、灵敏度及重现性的分析方法，能够高效反映药材中多种活性成分的色谱特征，使其在药材快速质量评价中具有一定优势^[17-19]。贯叶连翘成分复杂，仅测定单一指标性成分无法全面反映其不同部位的生物学特性，因此，本研究采用 UPLC 法对贯叶连翘不同生长部位中 6 种黄酮类成分进行同时测定，并对不同部位的抗炎活性进行评价。通过偏最小二乘判别（partial least squares discriminant analysis, PLS-DA）分析和 PLS-tree 聚类分析法，以抗炎活性作为监督因子，对贯叶连翘各部位的成

分差异进行分析，以期为贯叶连翘原药材采收和生产原料的质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters Acquity UPLC H-Class System，配备有 Acquity UPLC QSM、Acquity UPLC Sample、Manager FTN、Acquity UPLC PDA Detector 以及 Empower 2 工作站（美国 Waters 公司）；细胞培养箱（美国 Thermo 公司）；TS100-F 荧光倒置显微镜（Nikon 公司）；Thermo 热点 Multiskan FC 酶标仪（美国 Thermo 公司）；低温保存箱（-80℃，美国 Thermo 公司）；低温冷冻离心机（美国 Thermo 公司）；KQ-300DE 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；十万分之一电子天平（赛多利斯科学仪器有限公司）。

1.2 药品与试剂

对照品金丝桃苷（批号 111521-201406）、槲皮苷（批号 111538-200504）、山柰酚（批号 110861-200405）、芦丁（批号 10080-201408）均购自中国食品药品检定研究院；槲皮素（批号 6151-25-3）、异槲皮素（批号 21637-25-2）均购自宝鸡辰光生物科技有限公司，对照品质量分数均大于 98%；色谱甲酸（美国 Sigma-Aldrich 化工有限公司）；色谱甲醇、乙腈（霍伟尼尔试剂有限公司），娃哈哈纯净水（杭州娃哈哈有限公司）。

RPMI 1640 培养基（Hyclone 公司），胎牛血清（Biological Industries 公司）；两性霉素、青霉素-链霉素（北京索莱宝科技有限公司）；0.25%胰蛋白酶（美国 Hyclone 公司）；脂多糖（LPS，美国 Sigma 公司）；增强型 CCK-8 试剂盒（碧云天生物科技有限公司）；Griess 试剂 [生工生物工程（上海）股份有限公司]；亚硝酸钠（西安化学试剂厂）；无菌 PBS（博士德生物技术有限公司）；磷酸溶液（质量分数≥88.0%，天津市科密欧化学试剂有限公司）。

1.3 药材

贯叶连翘样品于 8 月份采自陕西太白山，由陕西中医药大学陕西省中药资源产业化协同创新中心张琳教授鉴定为贯叶连翘 *Hypericum perforatum* Linn. 的带根全草。样品采集后，清洗根茎部位，-20℃冷冻 48 h 后阴干，备用。

1.4 细胞株

RAW264.7 细胞株，由中国科学院细胞库/中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库提供。

2 方法与结果

2.1 贯叶连翘不同部位黄酮类成分定量分析

2.1.1 对照品储备液的制备 分别取芦丁、金丝桃苷、异槲皮素、槲皮苷、槲皮素、山柰酚对照品适量,精密称定质量,置于 10 mL 量瓶中,加色谱甲醇溶液,定容。分别精密移取各溶液 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,混合摇匀,定容制成质量浓度分别为 0.203 40、0.130 75、0.128 50、0.051 25、0.057 50、0.052 50 mg/mL 的混合对照品溶液,0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取贯叶连翘不同部位(花、果、叶、茎、根)的药材粉末(过 3 号筛)各 0.4 g,将 80% 甲醇 50 mL 加入具塞锥形瓶中,精密称定质量,加热回流 1 h 后放冷,再次称定质量,加入 80% 甲醇补足减失质量,混合均匀,0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得贯叶连翘各部位供试品溶液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,备用。

2.1.3 色谱条件 采用 ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ (50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱,流动相为 0.2% 甲酸水溶液(A)-乙腈溶液(B),梯度洗脱程序为 0~1 min, 3% B; 1~2 min, 3%~15% B; 2~4 min, 15% B; 4~10 min, 15%~27% B; 10~11 min, 27% B; 11~13 min, 27%~35% B; 13~14 min, 35% B; 14~15 min, 35%~3% B; 体积流量 0.2 mL/min,进样量 2 μL ,柱温为 25 $^{\circ}\text{C}$,检测波长为 254 nm。

2.1.4 系统适用性考察 按“2.1.3”项下色谱条件,将混合对照品溶液、供试品溶液分别进样 2 μL 进行色谱分析。混合对照品溶液、供试品溶液对比色谱图见图 1,结果显示各成分分离度符合测定要求,

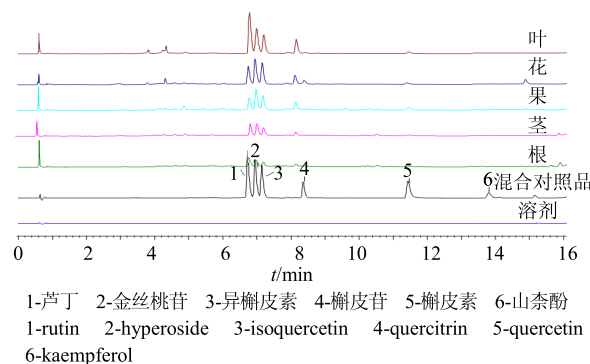


图 1 贯叶连翘不同部位 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC of different parts of *Hypericum perforatum*

空白溶剂对样品无干扰。

2.1.5 线性关系及定量限、检测限考察 按“2.1.3”项下色谱条件,精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按 7 个梯度体积稀释,同体积 2 μL 进样,进行色谱分析。以色谱峰峰面积(Y)为纵坐标,对照品溶液中化合物质量浓度(X)为横坐标绘制标准曲线,计算各成分的回归方程和线性范围,并考察各化合物信噪比(S/N) 10:1 的定量限(LOQ),信噪比(S/N) 3:1 的检测限(LOD),结果见表 1。

2.1.6 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件连续进样 6 次,考察精密度。精密度 RSD 值为 0.06%~0.59%,说明方法精密度良好。

2.1.7 重复性试验 取同一份样品,按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件,进行重复性考察,结果 RSD 值为 0.31%~1.72%,说明方法重复性良好。

表 1 6 种黄酮类化合物的线性方程、线性范围、 r 、LOD 和 LOQ

Table 1 Linearity, regressions coefficients, limits of detection, and quantification of six flavonoids standards

化合物	线性方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOD/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOQ/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
芦丁	$Y=3\times 10^6 X-2\ 619.9$	0.999 7	3.83~203.40	0.05	0.25
金丝桃苷	$Y=5\times 10^6 X-23\ 451$	0.999 2	2.62~130.75	0.06	0.13
异槲皮素	$Y=1\times 10^7 X-65\ 917$	0.999 2	2.57~128.50	0.07	0.20
槲皮苷	$Y=3\times 10^6 X+1\ 990.2$	0.999 6	0.85~51.25	0.02	0.67
槲皮素	$Y=6\times 10^6 X-6\ 142.9$	0.999 8	0.58~57.50	0.11	0.17
山柰酚	$Y=4\times 10^6 X-550.02$	0.999 7	0.21~2.10	0.04	0.10

2.1.8 稳定性试验 取同一供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件,分别于制备后 0、2、4、6、8、10、24 h 考察供试品稳定性。RSD 值为 0.45%~0.68%,表明各样品在 24 h 内稳定。

2.1.9 加样回收率试验 分别精密称取已测定黄酮类成分的各部位样品 1.0 g,根据样品中已测知各成分质量分数的 80%、100%、120%,分别向上述供试品溶液加入对照品。按“2.1.3”项下色谱条件

进样, 计算得各样品中各黄酮类成分的平均加样回收率 (RSD) 为: 花 97.20%~108.11% (0.27%~0.95%); 叶 98.25%~100.75% (0.08%~1.20%); 果 99.65%~102.36% (0.65%~1.17%); 茎 97.85%~102.36% (0.44%~1.06%); 根 97.56%~100.17% (0.89%~1.23%)。

2.1.10 样品测定 按“2.1.2”项下供试品溶液制备方法, 将贯叶连翘各部位的药材分别平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1.3”项下色谱条件, 记录峰面积, 计算各成分质量分数, 结果见图 2。

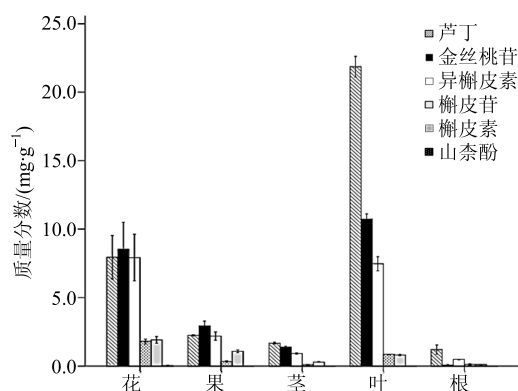


图 2 贯叶连翘不同部位中 6 种黄酮类成分质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Six flavonoids contents variation in different parts of *H. perforatum* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

2.2 贯叶连翘不同部位抗炎活性分析

2.2.1 贯叶连翘不同部位提取物的制备 按照“2.1.2”项下供试品溶液的制备方法, 同法制备不同部位的样品溶液, 并将各提取液于水浴蒸干。取各部位的干燥提取物 200 mg, 分别加入 10 mL 超纯水, 超声 30 min, 放入超净工作台, 紫外照射 40 min, 0.22 μm 水系滤膜滤过, 将上述配好的贯叶连翘各部位母液分别稀释成不同质量浓度, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2.2.2 贯叶连翘各部位提取物的抗炎作用质量浓度范围测定 将处于对数生长期的巨噬细胞 RAW264.7 弃去旧培养液, 用少量无菌 PBS 溶液清洗, 轻轻吸出上清液后加入适量新鲜培养基, 用吸管轻柔吹打混匀细胞悬液, 用含 10% FBS 的 RPMI 1640 完全培养基调整密度至 2.5×10^6 个/孔的单细胞悬液, 按每孔 100 μL 的密度均匀接种于 96 孔板, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中培养 4 h 后, 设定对照组和不同药物组, 对照组均加入 100 μL RPMI 1640 空白培养基, 药物组均加入 90 μL 空白培养基

和 10 μL 药液, 每组 3 个复孔, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下继续培养 24 h 后, 加入 CCK-8 试剂 10 μL , 培养箱 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件继续培养 1 h, 在酶标仪 490 nm 波长下测定吸光度 (A) 值, 计算细胞增殖抑制率, 筛选各药物浓度, 以对细胞没有抑制作用为宜。最终选定贯叶连翘各部位提取物的抗炎作用质量浓度范围分别为花提取物: 0.13~1.00 $\mu\text{g/mL}$; 果提取物: 2.50~25.00 $\mu\text{g/mL}$; 叶提取物: 1.25~12.50 $\mu\text{g/mL}$; 茎提取物: 0.50~5.00 $\mu\text{g/mL}$; 根提取物: 2.50~25.00 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2.3 贯叶连翘各部位提取物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO 的影响 RAW264.7 细胞按 2.5×10^6 个/孔密度接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL , 贴壁 4 h 后, 吸出上清液, 设置对照组、LPS 组、LPS+不同药物组, 分别加入新的空白培养基 100、90、80 μL , 继续放入培养箱中培养 2 h, 除对照组不加 LPS 溶液外, 其他组均加入终浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS 溶液, 于培养箱中培养 20 h 后, Griess 法测定细胞上清液中 NO^{2-} 的量, 根据得到的 A 值计算 NO 生成抑制率 [NO 生成抑制率 = $(\text{NO}^{2-}_{\text{LPS}} - \text{NO}^{2-}_{\text{样品}}) / (\text{NO}^{2-}_{\text{模型}} - \text{NO}^{2-}_{\text{对照}})$] [19-20]。采用 SPSS 19.0 软件计算得到各提取物抑制 NO 活性的半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为花: (0.416 ± 0.067) $\mu\text{g/mL}$; 果: (4.358 ± 0.267) $\mu\text{g/mL}$; 叶: (0.157 ± 0.038) $\mu\text{g/mL}$; 茎: (1.278 ± 0.319) $\mu\text{g/mL}$; 根: (0.16778 ± 0.290) $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3 贯叶连翘不同部位中黄酮类化合物与抗炎活性差异的相关分析

2.3.1 PLS 分析 将贯叶连翘不同部位测定的色谱数据 ($n = 6$) 进行数据对齐、积分、标准化处理后, 导入 Simca-p 13.0 软件, 以不同部位的抗炎活性 (抑制 NO 活性的 IC_{50} 值) 作为监督因子 (Y), 以各活性成分质量分数作为观测值 (X) 进行 PLS 分析。从得到的数据矩阵中提取携带差异变量最多的主成分, 并找到因部位不同而产生的差异成分信息。由相关系数矩阵 R 得到特征值、方差贡献率 (R^2_Y) 和累积贡献率。提取前两个主成分得到模型拟合度为 90.0%, 以前两个主成分建立投影, 得到散点图 (图 3), 可以看出花和叶被归为一类, 果和茎被归为一类, 根为一类, 且 3 类按照第 1 主成分 (黄酮类成分质量分数) 以及第 2 主成分 (抗炎活性) 从低到高的趋势依次排列。说明贯叶连翘不同部位的黄酮类成分富集情况为叶 > 花 > 果 > 茎 > 根。由载荷计算回归系数值, 各黄酮类成分的载荷值: 芦丁

(-0.508)、异槲皮素 (-0.489)、金丝桃苷 (-0.474)、槲皮苷 (-0.318)、槲皮素 (-0.142)、山柰酚 (0.000 3)。其中异槲皮素、金丝桃苷、芦丁、槲皮素、槲皮苷的峰与第 1 主成分呈负相关, 山柰酚的色谱峰信息与第 1 主成分呈正相关。

2.3.2 PLS-tree 聚类分析 在 PLS 基础上, 采用 PLS-tree 聚类分析进一步评价贯叶连翘不同部位的分类情况。通过从因变量和自变量间寻找最大协方差, 表达特征向量并对数据进行分类^[21-22]。利用 PLS 的正交特点, 根据不同划分因素进行简单而快速的

聚类, 结果表明, 除根部位外, 节点 1 将 5 个部位主要分为 2 组, 一组为芦丁、金丝桃苷和异槲皮素量较高的部位: 花和叶; 一组为相对较低的部位: 果、茎和根。从节点 2 开始分别分为 3 类, 一类为 NO 生成抑制率较高 (抗炎活性高) 的分组, 一类以节点 3 为出发点又分为 2 类, 为抗炎活性中等的一类。根为独立一类, 抗炎活性最低。从分类结果可见, 贯叶连翘不同部位的差异是根据其中黄酮类成分的含量和抗炎活性的高低来划分的, 这说明其分类与黄酮类成分的含量和抗炎活性的差异有关 (图 4)。

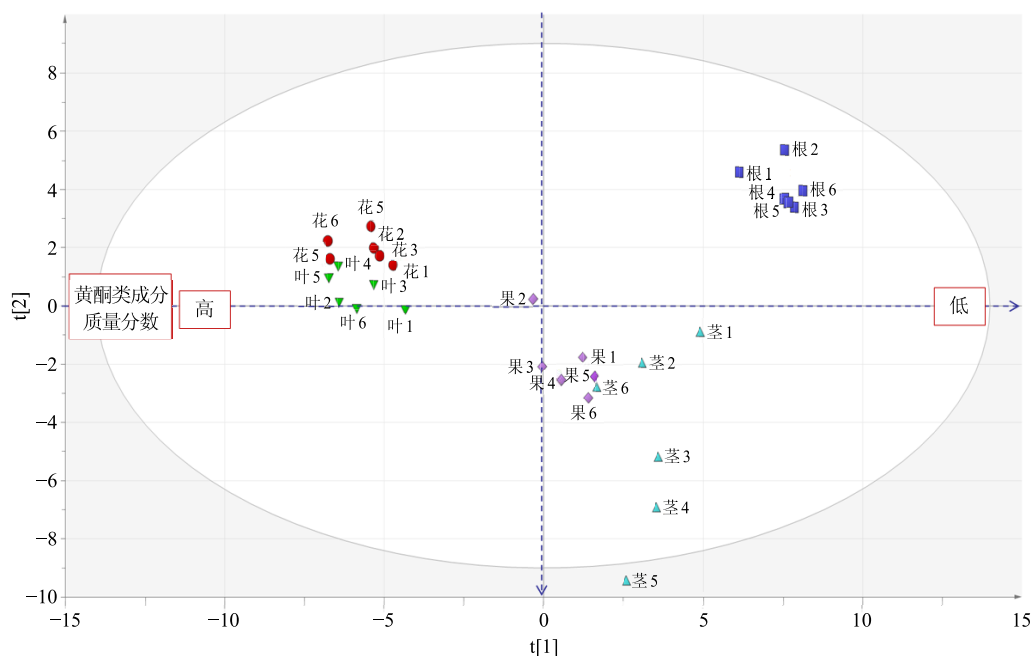


图 3 贯叶连翘不同部位黄酮类成分质量分数与 NO 生成抑制活性的 PLS 分析散点图

Fig. 3 PLS analysis of flavonoids and Nitric Oxide product inhibitory activities according to different parts of *H. perforatum*

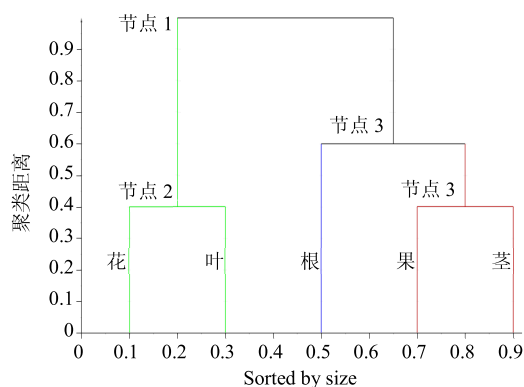


图 4 贯叶连翘不同部位黄酮类成分质量分数与 NO 生成抑制活性的 PLS-tree 聚类图

Fig. 4 PLS-tree cluster analysis of flavonoids and nitric oxide product inhibitory activities according to different parts of *H. perforatum*

3 讨论

3.1 色谱条件优化

本实验借助 UPLC 技术, 建立了贯叶连翘药材不同部位中黄酮类化合物的同时定量分析方法。通过对金丝桃苷、芦丁等 6 种对照品溶液分别进行全波长扫描, 选择 254 nm 作为检测波长; 对不同比例甲酸 (0.05%~0.2%) 缓冲液的梯度洗脱条件进行了比较, 结果显示在 0.2% 甲酸水-乙腈组成的梯度洗脱系统下, 各成分出峰峰形较好, 分离度较高, 基线平稳; 对 0.1~0.4 mL/min 不同体积流量进行考察, 选择 0.2 mL/min 作为体积流量, 不但色谱峰的对称性提高, 分离度也增加; 同时考察了不同柱温 (25~40 °C) 对色谱峰的影响, 结果确定柱温为 25 °C。最终确定色谱条件为进样量 2 μL, 柱温

25 ℃, 体积流量 0.2 mL/min, 检测波长 254 nm, 0.2% 甲酸水溶液-乙腈系统梯度洗脱。中药材的质量因采收部位而异, 不同的生长部位活性成分的量不同, 其临床疗效也不同, 因此对中药材采收部位的质量评价也十分重要。本实验建立了一种快速、灵敏的 UPLC 分析方法, 用于同时测定贯叶连翘中 6 个量较高的黄酮类活性成分芦丁、异槲皮素、金丝桃苷、槲皮苷、槲皮素和山柰酚, 为贯叶连翘不同采收部位的质量控制提供有效的分析手段和科学依据。

3.2 不同部位黄酮类成分差异及抗炎活性分析

本实验对贯叶连翘不同部位的黄酮类成分和抗炎活性进行了判别分析, 结果表明不同部位黄酮类成分的量因不同部位而变化, 且与抗炎活性呈一定相关性。通过采用 PLS 分析和聚类分析结合的数据处理技术, 能较合理地反映药材不同部位的成分和活性差异, 根据不同部位的黄酮类成分量和抗炎活性的分类情况, 可以看出贯叶连翘不同部位的质量为: 叶 > 花 > 茎 > 果 > 根。提示在采收贯叶连翘时, 应从地面上茎干部分开始采收, 以便获得活性更高、疗效更好的药材。

本实验结果表明, 采用多种成分同时定量与模式识别分析方法对于评价中药不同采收部位的差异性有较为重要的意义, 可为贯叶连翘的采收及活性评价提供参考依据。

参考文献

- [1] 袁昌齐. 欧美植物药 [M]. 南京: 东南大学出版社, 2004.
- [2] 裴瑾. 川产金丝桃属药用植物品种、品质与药效研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2002.
- [3] Rao V, Ciddi V. An overview on *Hypericum perforatum* Linn [J]. *Nat Prod Rad*, 2005, 4(5): 368-381.
- [4] Anghelescu I G, Kohnen R, Szegedi A, et al. Comparison of *Hypericum* extract WS 5570 and paroxetine in ongoing treatment after recovery from an episode of moderate to severe depression: Results from a randomized multicenter study [J]. *Pharmacopsychiatry*, 2006, 39(6): 213-219.
- [5] Leandro V C, Martha D O G, Vera M P, et al. Effect of the extract of *Hypericum perforatum* on neurodevelopment of regions related to pain control and convulsion [J]. *J Med Plants Res*, 2017, 11(6): 107-117.
- [6] Ferrara M, Mungai F, Starace F. St John's wort (*Hypericum perforatum*)-induced psychosis: A case report [J]. *J Med Case Rep*, 2017, 11(1): 137.
- [7] Wurglics M, Schubert-Zsilavecz M. *Hypericum perforatum*: A 'modern' herbal antidepressant [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2006, 45(5): 449-468.

- [8] Liu Y R, Xiao B K, Yang J Y, et al. ¹H-NMR and HPLC-MS/MS-based global/targeted metabolomic evaluation of *Hypericum perforatum* L. intervention for menopause [J]. *J Funct Foods*, 2015, 17(1): 722-741.
- [9] Chaudhary S A, Gadhvi K V, Chaudhary A B. Comprehensive review on world herb trade and most utilized medicinal plant [J]. *Int J Appl Biol Pharm Technol*, 2010, 1(2): 510-517.
- [10] Agapouda A, Booker A, Kiss T, et al. Quality control of *Hypericum perforatum* L. analytical challenges and recent progress [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2017, 69(S1): 1-23.
- [11] Southwell I A, Campbell M H. Hypericin content variation in *Hypericum perforatum* in Australia [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(2): 475-478.
- [12] Kizil S, Inan M, Kirici S. Determination of the best herbage yield and hypericin content of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) under semi arid climatic conditions [J]. *Turkish J Field Crops*, 2013, 18(1): 95-100.
- [13] 吴畏, 孟德胜, 傅若秋, 等. HPLC 法测定不同产地贯叶连翘不同部位中金丝桃素的含量 [J]. 中国药房, 2010, 21(11): 1020-1022.
- [14] 温普红, 王晓玲. 太白贯叶连翘中金丝桃素的含量测定 [J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2001, 29(1): 121-122.
- [15] Zou Y P, Lu Y H, Wei D Z. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(16): 5032-5039.
- [16] Ganzer M, Zhao J, Khan I A. *Hypericum perforatum* & mdash; Chemical profiling and quantitative results of St. John's Wort products by an improved high-performance liquid chromatography method [J]. *J Pharm Sci*, 2002, 91(3): 623-630.
- [17] 李彤彤, 韩红园, 王宝丽, 等. 红花 UPLC 法特征指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(5): 997-1004.
- [18] 吴曠, 周素娣, 李萍. HPLC 测定贯叶金丝桃中黄酮的含量 (英文) [J]. 药科学报, 2002, 37(4): 280-282.
- [19] 钱秋霞, 丛晓东. HPLC 法测定不同干燥方法的贯叶连翘中黄酮类化合物的含量 [J]. 中草药, 2001, 32(5): 407-409.
- [20] Hammer K D, Hillwig M L, Solco A K, et al. Inhibition of prostaglandin E (2) production by anti-inflammatory *hypericum perforatum* extracts and constituents in RAW264. 7 mouse macrophage cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(18): 7323-7331.
- [21] 张子良, 提汝芳, 黄腾, 等. 气溶胶单粒子光谱的 PLS 聚类分析 [J]. 量子电子学报, 2012, 29(1): 106-113.
- [22] Eriksson L, Trygg J, Wold S. PLS-trees[®], a top-down clustering approach [J]. *J Chemometr*, 2009, 23(11): 569-580.