

裸花紫珠主要化学成分的分布及其动态积累研究

黄 梅¹, 陈振夏¹, 于福来^{1*}, 廖 丽⁴, 谭湘杰¹, 庞玉新^{2*}, 胡 璇¹, 李 伟³

1. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南 海口 571101

2. 广东药科大学中药资源学院, 广东 云浮 527500

3. 海南九芝堂药业有限公司, 海南 海口 570311

4. 海南大学热带作物学院, 海南 海口 570228

摘 要: **目的** 研究裸花紫珠不同采收部位、不同生育期的化学成分含量变化规律, 为确定裸花紫珠最佳采收部位和采收期提供理论依据。 **方法** 采用 UV 法测定总黄酮、总酚酸、总皂苷含量, HPLC 法测定 7 种单体成分含量, 并运用方差分析及主成分分析法对各成分含量进行统计分析。 **结果** 浸膏得率、总黄酮、总酚酸、总皂苷、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、芹菜素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷以功能叶含量最高, 咖啡酸、木犀草苷和木犀草素则在嫩叶中含量最高, 且均与嫩枝呈显著性差异 ($P < 0.05$)。在 10 个不同生育期内, 除木犀草素含量呈下降趋势外, 其余成分大体呈先升高后降低的趋势。浸膏得率、总黄酮、咖啡酸与异毛蕊花糖苷在坐果前期含量最高, 但与盛花期含量无显著性差异 ($P > 0.05$)。总酚酸、总皂苷、连翘酯苷 B 和毛蕊花糖苷在盛花期含量最高, 但与坐果前期无显著性差异 ($P > 0.05$)。木犀草苷与芹菜素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷则分别在熟果前期和熟果后期含量最高, 且与坐果前期均无显著性差异 ($P > 0.05$)。各化学成分在落果期含量降到最低, 且均与坐果前期及盛花期呈显著性差异 ($P < 0.05$)。通过主成分分析构建的综合评价模型可知, 坐果前期综合评分最高 ($F = 3.252$), 其次为盛花期 ($F = 3.011$)。 **结论** 不同采收部位、生育期的裸花紫珠主要化学成分含量差异显著, 裸花紫珠主要化学成分在功能叶及嫩叶中分布较多, 且在盛花期到坐果前期化学成分积累较多。

关键词: 裸花紫珠; 化学成分积累; 采收部位; 生育期; 主成分分析; 连翘酯苷 B; 毛蕊花糖苷; 异毛蕊花糖苷; 芹菜素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷; 咖啡酸; 木犀草苷; 木犀草素

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)05-1308-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.030

Distribution and dynamic changes of chemical constituents in *Callicarpa nudiflora*

HUANG Mei¹, CHEN Zhen-xia¹, YU Fu-lai¹, LIAO Li⁴, TAN Xiang-jie¹, PANG Yu-xin², HU Xuan¹, LI Wei³

1. Institute of Tropical Crops Genetic Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

2. School of Chinese Materia Resources, Guangdong Pharmaceutical University, Yunfu 527500, China

3. Hainan Jiuzhitang Pharmaceutical Co., Ltd., Haikou 570311, China

4. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou 570228, China

Abstract: Objective To provide the theoretical basis for determining the best harvesting plant organ and harvesting period, and investigate the content of chemical constituents of *Callicarpa nudiflora* in different plant organs and different growth periods. **Methods** The contents of total flavonoids, total phenolic acid and total saponins were determined by ultraviolet spectrophotometry, and the seven components were determined by HPLC. The ANOVA and PCA methods were used to analyze the content of each constituent. **Results** The dry extract rate, the contents of total flavonoids, total phenolic acid, total saponins, forsythiaside B, acteoside, isoacteoside, and apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside in functional leaves were the highest, while the contents of caffeic acid, galuteolin and luteolin in tender leaves were the highest, and all of them were significantly different from the young shoots ($P < 0.05$). In ten different growth periods, except for the content of luteolin which showed a decreasing trend, the content of other components showed a trend of increasing and then decreasing. The dry extract rate, the content of total flavonoids, caffeic acid and isoacteoside were the highest in the

收稿日期: 2019-11-05

基金项目: 海南省重大科技计划子课题 (ZDKJ2016005-03); 科技部科技基础性工作专项子课题 (2015FY111500-060)

作者简介: 黄 梅 (1989—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向为南药种质资源评价及规范化栽培。E-mail: huangmei122@126.com

*通信作者 于福来 E-mail: fulai.yu@163.com

庞玉新 E-mail: pyxmarx@126.com

earlier fruit-setting (EFS) period, and there was no significant difference with the full-bloom (FB) period ($P > 0.05$). The contents of total phenolic acid, total saponins, forsythiaside B, and acteoside were the highest in the FB period, and there was no significant difference with the EFS period ($P > 0.05$). The contents of galuteolin and apigenin-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside were the highest in the earlier fruit maturation (EFM) period and the later fruit maturation (LFM) period, respectively, and there was no significant difference with the EFS period ($P > 0.05$). The contents of each chemical component were reduced to the minimum at the fruit-drop (FD) period, and it was significantly different from that at the EFS period and the FB period ($P < 0.05$). According to the comprehensive evaluation model constructed by PCA, the comprehensive score of the EFS period was the highest ($F = 3.252$), followed by the FB period ($F = 3.011$). **Conclusion** Main chemical constituents of *C. nudiflora* were significantly different in harvesting parts and growth periods. The contents of main chemical constituents were higher in functional leaves and tender leaves, and the contents of main chemical constituents were higher from FB period to EFS period.

Key words: *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn.; accumulation of chemical constituents; harvesting parts; growth period; principal component analysis; forsythiaside B; acteoside; isoacteoside; and apigenin-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside; caffeic acid, galuteolin; luteolin

裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn. 为马鞭草科紫珠属植物,以干燥叶片入药,收载于《中国药典》1977 年版,也是《中国药典》2015 年增补本收录品种,为海南省道地药材,主要分布于海南、广东及广西等地^[1]。裸花紫珠含有黄酮类、酚酸类、皂苷类、糖类等多种化合物^[2-3],具有止血、散瘀、消炎、抗菌等多种功效^[4-6],以止血、消炎为主要功效的裸花紫珠片、裸花紫珠胶囊等中成药已广泛应用于临床^[7]。

中药材在不同的生长发育阶段及不同组织部位中有效成分含量存在差异,因此确定适宜的采收部位及采收时期对中药材的规范化种植及合理的临床应用具有重要意义。郑海等^[8]利用顶空固相微萃取-气相-质谱联用技术(HS-SPME-GC-MS)分析裸花紫珠不同部位的挥发性成分,发现裸花紫珠不同部位挥发性物质的化学成分基本相近,但含量各异。廖丽等^[9]研究发现,裸花紫珠花、茎、叶、果实等不同部位活性成分含量存在显著差异。刘幼娴等^[10]、于福来等^[11]、蔡金平等^[12]通过研究均发现,产地和采收时间对裸花紫珠化学成分含量的影响较大。目前关于采收方面的研究一般是以采收时间^[10-12]作为主要因子,但黄梅等^[13]通过调查发现,海南岛北部、中部地区与东南部地区的裸花紫珠在同一时间的生育期并不一样,因此仅按采收时间作为研究对象,具有一定局限性。而且在指标成分选择上,以往的研究多以一种或几种成分作为指标成分^[8-12],专属性不强,也不全面。基于此,本研究以裸花紫珠的采收部位及生育期为研究对象,以与止血、抗炎活性关联紧密的 3 种有效部位(总黄酮、总酚酸、总皂苷)、7 种单体成分^[3]及浸膏得率作为指标成分,探讨不同采收部位及生育期的裸

花紫珠主要化学成分变异规律,从而为确定适宜的采收部位及采收时期提供一定理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

1260 型高效液相色谱(HPLC)仪(G1311C 四元泵、G1316A 柱温箱、G1329B 全自动进样器和 G1315D 二极管阵列检测器),购自美国安捷伦科技公司;色谱柱为 Agilent TC-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μ m),购自美国安捷伦科技公司; Sartorius CPA225D 型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; KQ-500DB 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司);恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); UNICO2012-PCS 型紫外可见分光光度[优尼柯(上海)仪器有限公司];旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司)。

1.2 材料

对照品咖啡酸(批号 Y17D6C7672)、连翘酯苷 B(批号 20140120)、木犀草苷(批号 Y23S7H21785)、毛蕊花糖苷(批号 PMO321SA14)、异毛蕊花糖苷(批号 HA0820KA29)、芹菜素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(以下简称芹菜素糖苷,批号 P20N6F6297)、木犀草素(批号 YO1D6S6815)、芦丁(批号 P29D4F6327)、没食子酸(批号 Y15D6R6713)、齐墩果酸(批号 20170423)均购于上海源叶生物制药有限公司,且质量分数均大于 98%;乙腈为色谱纯(安徽天地高纯溶剂有限公司),乙醇、甲醇、福林酚、高氯酸、冰醋酸、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、碳酸钠和香草醛均为分析纯,水为 Merck Millipore 纯水机制备的超纯水。

不同部位及不同生育期的裸花紫珠样品材料采集于农业部儋州热带药用植物种质资源圃,经中国热

带农业科学院热带作物品种资源研究所于福来副研究员鉴定为裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn.。选取 3 片裸花紫珠种植区域, 各标记 10 株长势相近的 3 年生健康植株, 作为 3 次重复。从现蕾前期开始到落果后期, 在每个生育期分别对标记植株进行采样, 采样时间间隔不少于 1 周且不超过 3 周 (表 1 和图 1)。将样品放置于通风干燥处阴干、保存。不同采收部位的样品则选择在现蕾前期及落果后期进行采收, 分别对标记植株的功能叶、嫩叶、嫩枝 3 个部位进行采样, 将样品放置于通风干燥处阴干、保存。

2 方法与结果

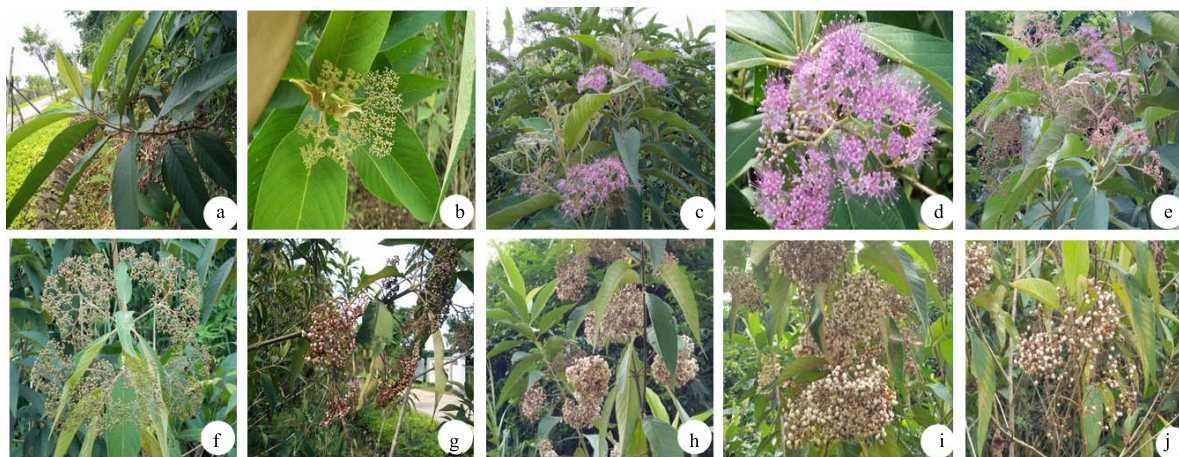
2.1 总黄酮、总酚酸及总皂苷测定

2.1.1 供试品溶液制备 参考黄梅等^[14]的提取工艺方法, 称取 5 g 裸花紫珠样品粉末 (过 20 目筛), 按料液比 1:17, 62%乙醇, 超声提取 42 min, 提取 2 次。将提取液置于 65 °C 下旋转蒸发 6 min, 转置于 15 mL 蒸发皿, 烘干至恒定质量, 得干浸膏, 并计算浸膏得率。用少量 70%乙醇溶解并转移至 50 mL 量瓶中, 定容, 再移取 1~5 mL 量瓶定容, 即得裸花紫珠供试液。

表 1 裸花紫珠不同生育期样品信息

Table 1 Sample information of *C. nudiflora* in different growth periods

序号	取样时间	生育期	主要特征描述
1	2017-06-07	现蕾前期	未见花蕾出现
2	2017-06-14	现蕾期	20%以上花蕾出现
3	2017-06-21	初花期	20%以上小花开放
4	2017-06-28		
5	2017-07-07	盛花期	80%以上小花开放
6	2017-07-27	坐果前期	20%以上小青果出现
7	2017-08-10	坐果后期	80%以上小青果出现
8	2017-08-19		
9	2017-08-24		
10	2017-09-06	熟果前期	20%以上白色略紫成熟果实出现
11	2017-09-14		
12	2017-09-28	熟果后期	80%以上白色略紫成熟果实出现
13	2017-10-13	落果前期	20%以上果实变黄枯萎掉落
14	2017-10-24		
15	2017-11-10	落果后期	80%以上果实变黄枯萎掉落
16	2017-11-24		



a-现蕾前期 b-现蕾期 c-初花期 d-盛花期 e-坐果前期 f-坐果后期 g-熟果前期 h-熟果后期 i-落果前期 j-落果后期
a-earlier budding period b-squaring period c-initial bloom period d-full-bloom period e-earlier fruit-setting period f-later fruit-setting period
g-earlier fruit maturation period h-later fruit maturation period i-earlier fruit-dropping period j-later fruit-dropping period

图 1 不同生育期裸花紫珠生长发育特征

Fig. 1 Growth characteristics of *C. nudiflora* in different growth periods

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取干燥至恒定质量的芦丁、没食子酸、齐墩果酸对照品适量, 分别配制成 0.403、0.049、0.534 mg/mL 的对照品溶液。

2.1.3 标准曲线的绘制 参考颜小捷等^[15]的方法: (1) 分别取芦丁对照品溶液 0.15、0.30、0.60、1.20、

2.40、4.00 mL 于 25 mL 的试管中, 加入 5%的亚硝酸钠溶液 1 mL, 摇匀, 静置 6 min, 加入 10%的亚硝酸铝溶液 1 mL, 摇匀, 静置 6 min, 加入 4%的氢氧化钠溶液 4 mL, 静置 15 min 后, 在 495 nm 下检测吸光度 (A) 值。以芦丁质量浓度为横坐标 (X), A 值为

纵坐标(Y)绘制总黄酮量测定标准曲线得 $Y=9.3601X-0.0204$, $R^2=0.9998$, 线性范围为 $0.0060\sim0.1612$ mg/mL。(2)分别取没食子酸对照品溶液 0.10 、 0.20 、 0.40 、 0.60 、 0.80 、 1.20 mL 于 10 mL 的具塞试管中,加入福林酚试剂 0.15 mL,静置 2 min 后加入 7% 碳酸钠溶液 1 mL,加塞 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min 后,定容至 5 mL,在 700 nm 下测定 A 值。以没食子酸浓度为横坐标(X), A 值为纵坐标(Y)绘制总酚酸含量测定标准曲线得 $Y=61.096X+0.0323$, $R^2=0.9971$, 线性范围为 $0.0098\sim0.1172$ mg/mL。(3)分别取齐墩果酸对照品溶液 50 、 100 、 150 、 200 、 250 、 $300\text{ }\mu\text{L}$ 于 10 mL 的具塞试管中, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下鼓风吹干,加入香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,加塞封口摇匀,置于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min 后,自来水冷却,迅速加入冰醋酸 5 mL,保鲜膜封口摇匀后,静置 5 min,在 590 nm 下测定 A 值。以齐墩果酸浓度为横坐标(X), A 值为纵坐标(Y)绘制总皂苷含量测定标准曲线得 $Y=22.5894X-0.0063$, $R^2=0.9932$, 线性范围为 $0.0059\sim0.03528$ mg/mL。

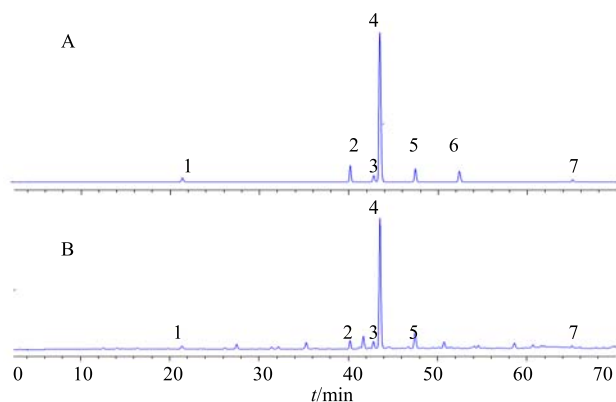
2.1.4 含量测定 分别取 0.5 、 0.05 、 0.1 mL 的供试品溶液按“2.1.3”项下方法进行总黄酮、总酚酸及总皂苷测定。

2.2 裸花紫珠中 7 种有效单体成分的测定

2.2.1 色谱条件^[16] Agilent-TC C_{18} 色谱柱 ($250\text{ mm}\times4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相为乙腈(A)- 0.4% 磷酸(B),梯度洗脱为 $0\sim30$ min, $8\%\sim16\%$ A; $30\sim45$ min, $16\%\sim21\%$ A; $45\sim55$ min, $21\%\sim24\%$ A; $55\sim65$ min, $24\%\sim35\%$ A; $65\sim70$ min, $35\%\sim100\%$ A; 体积流量 1.0 mL/min ; 检测波长 330 nm ; 柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。色谱图见图 2。

2.2.2 对照品溶液制备 分别精密称取适量咖啡酸、木犀草素对照品,置于不同 10 mL 量瓶中,加入 70% 色谱甲醇溶解定容。分别精密称取适量连翘酯苷 B、木犀草苷、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、芹菜素糖苷对照品,置于同一 10 mL 量瓶中,加入适量 70% 色谱甲醇溶解后再加入上述咖啡酸和木犀草素对照品溶液各 1 mL 定容。即配制成含咖啡酸 0.00164 mg/mL 、连翘酯苷 B 0.225 mg/mL 、木犀草苷 0.062 mg/mL 、毛蕊花糖苷 2.01 mg/mL 、异毛蕊花糖苷 0.251 mg/mL 、芹菜素糖苷 0.155 mg/mL 、木犀草素 0.00195 mg/mL 对照品母液。

2.2.3 供试品溶液制备 参考谭湘杰等^[16]的提取方法,精密称取裸花紫珠粉末(过 20 目筛) 1 g ,



1-咖啡酸 2-连翘酯苷 B 3-木犀草苷 4-毛蕊花糖苷 5-异毛蕊花糖苷
6-芹菜素糖苷 7-木犀草素
1-caffeic acid 2-forsythiaside B 3-galuteolin 4-acteoside
5-isoacteoside 6-apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside 7-luteolin

图 2 混合对照品 (A) 和裸花紫珠供试品 (B) 液相色谱图
Fig. 2 Liquid chromatogram of reference substances (A) and *C. nudiflora* sample (B)

置于 100 mL 离心管中,加入 70% 甲醇 50 mL ,在 40 kHz 、 400 W 条件下超声提取 20 min ,吸取上层清液, $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,取续滤液。

2.2.4 样品含量测定 将制备的供试品溶液液在“2.2.1”项色谱条件下进行分析,测定咖啡酸、连翘酯苷 B、木犀草苷、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、芹菜素糖苷和木犀草素的含量。

2.3 不同采收部位裸花紫珠化学成分差异性分析

由表 2 可知,裸花紫珠不同采收部位的浸膏得率、总黄酮、总酚酸及总皂苷含量均以功能叶最高,嫩枝含量最低;其中总黄酮与有效部位含量总和在 3 个采收部位中均呈显著性差异 ($P<0.05$);而功能叶与嫩叶中总酚酸、总皂苷及浸膏含量无显著性差异,但均与嫩枝呈显著性差异 ($P<0.05$)。由表 3 可知,咖啡酸以嫩叶中含量最高(平均值为 0.08 mg/g),且与其他 2 个部位呈显著性差异 ($P<0.05$),木犀草苷、木犀草素在嫩叶中含量最高(平均值分别为 2.97 、 0.33 mg/g),功能叶次之,两者之间无显著性差异 ($P>0.05$),但均与嫩枝呈显著性差异 ($P<0.05$),连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、芹菜素糖苷及单体成分总和则以功能叶中含量最高,且均与嫩枝呈显著性差异 ($P<0.05$)。

2.4 不同生育期裸花紫珠化学成分差异性分析

由表 4 可知,浸膏得率、总黄酮、总酚酸及总皂苷均呈先升高后下降趋势。其中浸膏得率与总黄酮均在坐果前期含量最高(分别为 42.06% 和 171.14

表 2 不同采收部位有效成分含量及浸膏得率 ($n=3$)Table 2 Effective fraction and extract yield of different parts of *C. nudiflora* ($n=3$)

生育期	采收部位	浸膏得率/%	总黄酮/(mg·g ⁻¹)	总酚酸/(mg·g ⁻¹)	总皂苷/(mg·g ⁻¹)	有效部位总和/(mg·g ⁻¹)
现蕾前期	嫩叶	33.06 ^a	94.44 ^b	50.12 ^b	62.39 ^a	206.95 ^b
	嫩枝	19.00 ^c	42.47 ^d	20.19 ^d	21.03 ^b	83.69 ^d
	功能叶	34.17 ^a	120.09 ^a	65.87 ^a	61.47 ^a	247.43 ^a
落果后期	嫩叶	25.61 ^b	66.49 ^c	42.21 ^{bc}	51.91 ^a	160.61 ^c
	嫩枝	16.39 ^c	37.78 ^d	21.40 ^d	18.00 ^b	77.18 ^d
	功能叶	28.61 ^{ab}	92.42 ^b	36.94 ^c	56.66 ^a	186.02 ^{bc}
平均值	嫩叶	29.33 ^a	80.47 ^b	46.16 ^a	57.15 ^a	183.78 ^b
	嫩枝	17.70 ^b	40.12 ^c	20.80 ^b	19.51 ^b	80.44 ^c
	功能叶	31.39 ^a	106.26 ^a	51.40 ^a	59.07 ^a	216.72 ^a

同一列中不同字母表示差异显著, $P<0.05$ Different letters in same column represent for the significant difference, $P<0.05$

表 3 裸花紫珠不同采收部位单体成分含量比较

Table 3 Monomer content of different parts of *C. nudiflora*

生育期	采收部位	质量分数/(mg·g ⁻¹)							单体成分总和
		咖啡酸	连翘酯苷 B	木犀草素	毛蕊花糖苷	异毛蕊花糖苷	芹菜素糖苷	木犀草素	
现蕾前期	嫩叶	0.07 ^b	1.47 ^b	2.97 ^a	31.52 ^a	2.98 ^b	0.36 ^a	0.33 ^{ab}	39.71 ^a
	嫩枝	0.03 ^{de}	1.14 ^{bc}	0.28 ^c	9.18 ^{bc}	1.24 ^c	0.11 ^b	0.08 ^d	12.07 ^c
	功能叶	0.05 ^{cd}	3.15 ^a	2.56 ^a	39.05 ^a	5.84 ^a	0.38 ^a	0.36 ^a	51.39 ^a
落果后期	嫩叶	0.09 ^a	0.35 ^d	1.94 ^b	10.90 ^{bc}	1.28 ^c	0.18 ^b	0.26 ^{bc}	15.00 ^{bc}
	嫩枝	0.02 ^e	0.13 ^d	0.34 ^c	4.67 ^c	0.89 ^c	0.13 ^b	0.09 ^d	6.26 ^c
	功能叶	0.05 ^c	0.68 ^{cd}	1.92 ^b	19.95 ^b	2.49 ^b	0.35 ^a	0.23 ^c	25.67 ^b
平均值	嫩叶	0.08 ^a	0.91 ^b	2.46 ^a	21.21 ^a	2.13 ^b	0.27 ^b	0.30 ^a	27.36 ^a
	嫩枝	0.02 ^b	0.63 ^b	0.31 ^b	6.93 ^b	1.07 ^b	0.12 ^c	0.09 ^b	9.17 ^b
	功能叶	0.05 ^c	1.92 ^a	2.24 ^a	29.50 ^a	4.17 ^a	0.37 ^a	0.29 ^a	38.53 ^a

同一列中不同字母表示差异显著, $P<0.05$ Different letters in same column for the significant difference, $P<0.05$ 表 4 裸花紫珠不同生育期有效部位及浸膏得率 ($n=3$)Table 4 Effective fraction and extract yield of different growth periods of *C. nudiflora* ($n=3$)

生育期	浸膏得率/%	总黄酮/(mg·g ⁻¹)	总酚酸/(mg·g ⁻¹)	总皂苷/(mg·g ⁻¹)	有效部位总和/(mg·g ⁻¹)
现蕾前期	34.17 ^{cde}	120.09 ^{bc}	65.87 ^{ab}	61.47 ^{ab}	247.43 ^c
现蕾期	39.22 ^{abc}	124.61 ^b	51.04 ^{cd}	58.79 ^{ab}	234.45 ^c
初花期	35.11 ^{cd}	130.84 ^b	48.69 ^d	59.75 ^{ab}	239.28 ^c
盛花期	40.95 ^{ab}	170.53 ^a	74.25 ^a	69.57 ^a	314.35 ^a
坐果前期	42.06 ^a	171.14 ^a	61.93 ^{abc}	61.47 ^{ab}	294.53 ^{ab}
坐果后期	39.07 ^{ab}	143.37 ^b	53.22 ^{cd}	58.76 ^b	255.34 ^{bc}
熟果前期	35.92 ^{bcd}	140.43 ^b	58.58 ^{bc}	52.49 ^{bc}	251.49 ^c
熟果后期	32.45 ^{def}	123.07 ^b	51.61 ^{cd}	58.55 ^b	233.23 ^c
落果前期	29.56 ^{ef}	83.47 ^d	35.62 ^e	45.78 ^c	164.88 ^d
落果后期	28.96 ^f	94.53 ^{cd}	38.61 ^e	53.00 ^{bc}	186.14 ^d

同一列中不同字母表示差异显著, $P<0.05$ Different letters in same column represent for the significant difference, $P<0.05$

mg/g), 盛花期含量次之, 且两者之间无显著性差异 ($P>0.05$)。总酚酸、总皂苷与有效部位总和均在盛花期含量最高 (分别为 74.25、69.57、314.35 mg/g), 总皂苷与有效部位总和在坐果前期含量次之, 总酚酸则是现蕾前期含量次之, 坐果前期含量位列第 3, 但三者含量在盛花期与坐果前期均无显著性差异 ($P>0.05$)。总黄酮、总酚酸、总皂苷及有效成分总和均以落果前期最低, 浸膏得率则以落果后期最低, 且均与盛花期及坐果前期呈显著性差异 ($P<0.05$)。

由表 5 可知, 除木犀草素含量呈下降趋势外, 其余 6 种成分大体均呈先上升后下降趋势。连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷及单体成分总和均以盛花期含量最

高 (分别为 4.58、56.24、73.19 mg/g), 坐果前期次之, 但两者间无显著性差异 ($P>0.05$)。咖啡酸与异毛蕊花糖苷在坐果前期含量最高 (分别为 0.08、8.80 mg/g), 盛花期次之。木犀草苷在坐果后期含量最高 (3.47 mg/g), 坐果前期含量次之, 两者间无显著性差异 ($P>0.05$)。芹菜素糖苷则以熟果后期含量最高 (0.53 mg/g), 与坐果前期无显著性差异 ($P>0.05$), 但与含量最低的盛花期呈显著性差异 ($P<0.05$)。木犀草素则在现蕾前期含量最高, 且与其他生育期呈显著性差异 ($P<0.05$)。除芹菜素糖苷外, 其余 6 种成分, 在落果前期或者落果后期含量降到最低, 且均与盛花期及坐果前期呈显著性差异 ($P<0.05$)。

表 5 裸花紫珠不同生育期单体成分含量比较 ($n=3$)Table 5 Monomer content of *C. nudiflora* in different growth periods ($n=3$)

生育期	质量分数/(mg·g ⁻¹)							单体成分总和
	咖啡酸	连翘酯苷 B	木犀草苷	毛蕊花糖苷	异毛蕊花糖苷	芹菜素糖苷	木犀草素	
现蕾前期	0.05 ^b	3.15 ^{bc}	2.56 ^{cde}	39.05 ^b	5.84 ^b	0.38 ^{cd}	0.36 ^a	51.39 ^b
现蕾期	0.05 ^b	2.29 ^c	2.91 ^{bc}	31.22 ^{bc}	4.59 ^{bc}	0.41 ^{bcd}	0.30 ^b	41.00 ^{bc}
初花期	0.05 ^b	2.95 ^{bc}	2.63 ^{cd}	35.97 ^{bc}	5.10 ^b	0.37 ^d	0.28 ^b	46.93 ^{bc}
盛花期	0.05 ^b	4.58 ^a	3.01 ^{abc}	56.24 ^a	8.69 ^a	0.35 ^d	0.28 ^b	73.19 ^a
坐果前期	0.08 ^a	3.60 ^{ab}	3.41 ^{ab}	55.62 ^a	8.80 ^a	0.44 ^{abcd}	0.30 ^b	72.24 ^a
坐果后期	0.05 ^b	2.31 ^c	3.47 ^a	38.44 ^b	5.63 ^b	0.49 ^{ab}	0.26 ^{bc}	50.66 ^b
熟果前期	0.05 ^b	2.28 ^c	3.32 ^{ab}	38.82 ^b	5.39 ^b	0.46 ^{abc}	0.25 ^{bc}	50.57 ^b
熟果后期	0.05 ^b	1.23 ^d	3.21 ^{ab}	25.42 ^{cd}	3.02 ^{cd}	0.53 ^a	0.25 ^{bc}	33.71 ^{cd}
落果前期	0.03 ^c	0.78 ^d	2.32 ^{de}	13.08 ^e	1.68 ^d	0.45 ^{abc}	0.25 ^{bc}	18.59 ^e
落果后期	0.05 ^b	0.77 ^d	2.08 ^e	17.92 ^{de}	2.30 ^d	0.44 ^{bcd}	0.22 ^c	23.77 ^{de}

同一列中不同字母表示差异显著, $P<0.05$

Different letters in same column represent for the significant difference, $P<0.05$

2.5 不同生育期裸花紫珠化学成分的主成分分析 (PCA)

为了更清晰地看出不同生育期各成分含量的差异, 本研究利用 SPSS 21 对浸膏得率、3 种有效部位含量及 7 种单体成分含量共 11 个指标进行 PCA。选择特征值大于 1, 贡献率较大的 2 个主成分, 其中主成分 1 特征值为 7.541, 贡献率为 68.557%, 主成分 2 特征值为 1.812, 贡献率为 16.473%, 累积贡献率达 85.03%, 即 2 个主成分代表了 11 个指标中 85.03% 的信息, 可基本反映总体情况, 达到降维目的。

由 11 个因子的载荷向量及特征值计算得到 11 个因子的特征向量, 以特征向量为系数构建 2 个主成分的线性方程: $F_1=0.331 X_1+0.346 X_2+0.332 X_3+0.315 X_4+0.25 X_5+0.347 X_6+0.229 X_7+0.36 X_8+0.358 X_9-0.157 X_{10}+0.21 X_{11}$; $F_2=0.146 X_1+0.198 X_2-0.075 X_3-0.132 X_4+0.25 X_5-0.192 X_6+0.528 X_7+0.029 X_8-0.001 X_9+0.63 X_{10}-0.374 X_{11}$, $X_1\sim$

X_{11} 为各成分含量标准化后的数据。根据特征值 $\lambda_1=7.541$, $\lambda_2=1.812$, 得综合得分评价方程 $F=AF_1+BF_2=0.806 F_1+0.194 F_2$, 其中 $A=\lambda_1/(\lambda_1+\lambda_2)$, $B=\lambda_2/(\lambda_1+\lambda_2)$ 。

根据主成分的载荷向量及上述方程得表 6 和图 3。由表 6 可知, 2 个主成分在 10 个生育期中, 排

表 6 不同生育期裸花紫珠主成分品质综合评价

Table 6 Comprehensive scores of *C. nudiflora* from different growth periods

生育期	F_1	F_2	综合评价值 F	排序
现蕾前期	1.117	-2.164	0.481	4
现蕾期	0.121	-0.404	0.020	6
初花期	0.133	-1.163	-0.119	7
盛花期	3.996	-1.082	3.011	2
坐果前期	3.736	1.241	3.252	1
坐果后期	0.568	1.626	0.773	3
熟果前期	0.073	1.190	0.289	5
熟果后期	-1.528	1.686	-0.905	8
落果前期	-4.557	-0.573	-3.784	10
落果后期	-3.641	-0.345	-3.001	9

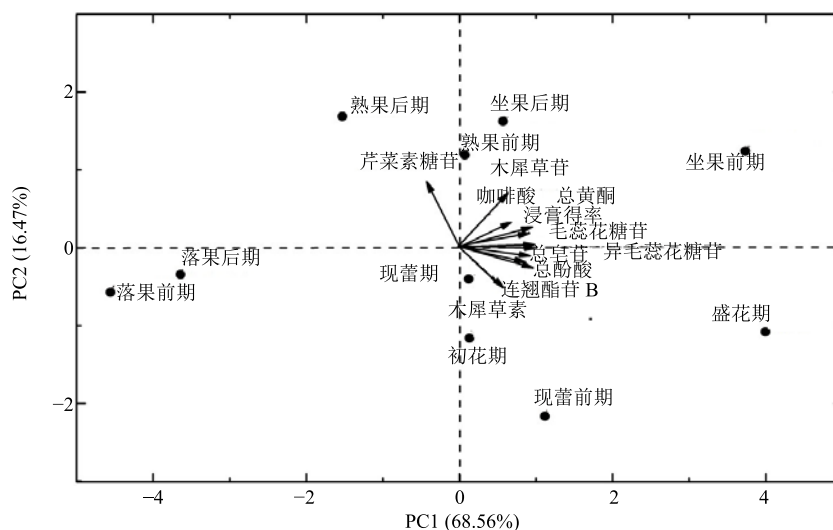


图 3 裸花紫珠中主要化学成分在不同生育期的 PCA 双标图

Fig. 3 PCA biplot of main chemical component of *C. nudiflora* in different growth periods

名前 3 的依次为坐果前期、盛花期及坐果后期，且综合评分均大于 0。由图 3 可知，除芹菜素糖苷外，其他 10 种成分指标均与 PC1 呈正相关，而芹菜素糖苷则与 PC2 呈正相关。得分较高的坐果前期和盛花期与得分较低的落果前期和落果后期及其他生育期均有明显的区分。排名第 1 的坐果前期中 11 种成分指标的含量均较高，盛花期中芹菜素糖苷虽然较低，且在 PC2 上得分较低，但由于其他 10 种含量均较高，因此综合评分排名仅次于坐果前期。而排名最后的落果前期和落果后期各化学成分含量均较低。因此，裸花紫珠在坐果前期主要化学成分含量最高，其次为盛花期。

3 讨论

临床上使用的裸花紫珠片、裸花紫珠胶囊等各种中成药均是以叶子所提取的浸膏单方入药制成，黄酮类、酚酸类及皂苷类成分为其主要的活性成分。课题组前期在系统分析裸花紫珠近 200 种成分基础上，筛选出了被定量过的，具有止血、消炎活性且具有种属特异性的 7 种单体成分，连同浸膏得率、总黄酮、总酚酸及总皂苷共 11 个指标作为评价指标，使研究结果更为系统和全面。

裸花紫珠始收录《中国药典》1977 年版，其中规定药用部位为干燥叶，《海南省中药材标准》中则规定裸花紫珠药材为干燥叶或带叶的嫩枝，《中国药典》2015 年版规定裸花紫珠药材为干燥叶。目前关于采收部位的研究，仅见郑海等^[8]、廖丽等^[9]对花、果实、茎、全枝等的活性成分进行过初步探讨，并未见到关于功能叶、嫩叶及嫩枝间成分差异的研

究。基于此，本研究通过分析这 3 个部位间的成分分布情况，发现总黄酮、总酚酸、总皂苷、浸膏得率、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、芹菜素糖苷均以功能叶含量最高，咖啡酸、木犀草素、木犀草素则在嫩叶中含量最高，且均与嫩枝呈显著性差异 ($P < 0.05$)，连翘酯苷 B 则以嫩枝中含量最高，与嫩叶、功能叶呈显著性差异 ($P < 0.05$)。而且在药材的实际采收过程中，根据药农反映，嫩枝干燥速度较慢，增加了人工成本及时间成本。因此，综合各种因素，建议采收时去掉嫩枝。

由于气候原因，裸花紫珠在不同地区所处的生育期并不一致^[13]，所以本研究以生育期为研究对象对裸花紫珠采收期进行探讨，由于 6 月以前为裸花紫珠的营养生长期阶段，其活性物质正处于不断积累阶段，且通过前期研究基础及参考刘幼娴等^[10]的研究成果，即下半年裸花紫珠样品中成分含量高于上半年。因此，本研究以下半年裸花紫珠所处的不同生育期作为研究对象，对不同生育期的裸花紫珠中化学成分动态积累规律进行分析，结果发现坐果前期综合评分最高，其次为盛花期。

参考文献

- [1] 中国医学科学院药用植物资源开发研究所. 中药志 (第 5 册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994.
- [2] Mei W L, Han H, Cui H B, et al. A new cytotoxic iridoid from *Callicarpa nudiflora* [J]. *Nat Prod Res*, 2010, 24(10): 899-904.
- [3] 谭湘杰, 于福来, 庞玉新, 等. 裸花紫珠药材质量控制研究进展 [J]. *广东药科大学学报*, 2017, 33(6):

- 803-810.
- [4] Tu Y H, Sun L N, Guo M L, *et al.* The medicinal uses of *Callicarpa* L. in traditional Chinese medicine: An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(3): 465-481.
- [5] 冯世秀, 张 旻, 易 博, 等. 裸花紫珠化学成分与药理活性研究进展 [J]. *中草药*, 2017, 48(5): 1015-1026.
- [6] Fu J, Zhu X, Wang W, *et al.* 1,6-di-*O*-caffeoyl- β -D-glucopyranoside, a natural compound from *Callicarpa nudiflora* Hook impairs P2Y₁₂ and thromboxane A₂ receptor-mediated amplification of platelet activation and aggregation [J]. *Phytomedicine*, 2017, 36: 273-282.
- [7] 刘小芬, 李顺祥. 裸花紫珠研究进展 [J]. *中南药学*, 2015, 13(4): 396-402.
- [8] 郑 海, 周伟明, 王如意, 等. HS-SPME-GC-MS 法分析裸花紫珠不同部位挥发性成分 [J]. *中成药*, 2018, 40(7): 1643-1647.
- [9] 廖 丽, 随元康, 胡 通, 等. 海南省裸花紫珠不同部位质量评价 [J]. *热带农业工程*, 2013, 37(2): 25-28.
- [10] 刘幼娴, 谷陟欣, 卢凤来, 等. 不同采收期裸花紫珠的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. *广西植物*, 2014, 34(2): 174-178.
- [11] 于福来, 吴丽芬, 庞玉新, 等. 海南裸花紫珠中毛蕊花糖苷和木犀草苷含量分析 [J]. *中国现代中药*, 2016, 18(8): 996-1000.
- [12] 蔡金平. 海南裸花紫珠质量标准及最佳采收期研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
- [13] 黄 梅, 陈振夏, 于福来, 等. 海南岛裸花紫珠种质资源调查报告 [J]. *中国现代中药*, 2017, 19(12): 1717-1721.
- [14] 黄 梅, 于福来, 谭湘杰, 等. Box-Behnken 响应面法优化裸花紫珠有效成分提取工艺 [J]. *福建农业学报*, 2018, 33(10): 1119-1124.
- [15] 颜小捷, 谷陟欣, 卢凤来, 等. 裸花紫珠中总酚、总黄酮和总皂苷的含量测定 [J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(12): 2852-2854.
- [16] 谭湘杰, 于福来, 庞玉新, 等. 海南裸花紫珠药材中 7 种成分含量分析 [J]. *中国现代中药*, 2018, 20(2): 173-178.