

# 头花蓼不同极性部位抑菌作用的谱效学分析

姚元贵<sup>1</sup>, 张丽艳<sup>1\*</sup>, 谢立敏<sup>2</sup>, 周英<sup>3</sup>, 王静蓉<sup>2</sup>, 姜志宏<sup>2</sup>, 唐靖雯<sup>4</sup>, 俸婷婷<sup>3</sup>, 薛鑫宇<sup>1</sup>

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 澳门科技大学中药质量研究国家重点实验室, 澳门 999078;  
3. 贵州大学药学院, 贵阳 550025; 4. 贵州威门药业股份有限公司, 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的:建立头花蓼醇提浸膏中7个有效部位的指纹图谱,阐明不同部位所有色谱峰代表的化学成分及其对抑菌效果的贡献值,揭示头花蓼抑菌的药效物质基础。方法:采用UPLC-TOF-MS建立头花蓼醇提浸膏中不同极性部位的指纹图谱,并对各色谱峰进行化学成分分析,通过96孔板法测得不同极性部位对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度(MIC),利用偏最小二乘回归法(PLSR)建立不同极性部位指纹图谱与抑菌作用的谱效关系。结果:头花蓼不同极性部位对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌抑菌效果成正相关的色谱峰分别为9个和13个,其主要抑菌成分为1~5和15,19号峰所代表的化合物。结论:头花蓼对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的主要抑菌活性部位为4个强极性部位(A,B,C,D),其主要抑菌成分为6-没食子酸酰葡萄糖,3,6-二没食子酸酰葡萄糖,1,3,6-三没食子酸酰葡萄糖和davidiin,为深入研究头花蓼的抑菌机制奠定了基础。

**[关键词]** 头花蓼; 抑菌作用; 谱效关系; 偏最小二乘回归法; 最低抑菌浓度; davidiin; 6-没食子酸酰葡萄糖

**[中图分类号]** R945;R283.6;R285.5;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)01-0020-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018010020

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170926.1021.016.html>

**[网络出版时间]** 2017-09-26 10:21

## Spectrum-effect Relationship of Antibacterial Effect of Different Polar Part of *Polygonum capitatum*

YAO Yuan-gui<sup>1</sup>, ZHANG Li-yan<sup>1\*</sup>, XIE Li-min<sup>2</sup>, ZHOU Ying<sup>3</sup>, WANG Jing-rong<sup>2</sup>,  
JIANG Zhi-hong<sup>2</sup>, TANG Jing-wen<sup>4</sup>, FENG Ting-ting<sup>3</sup>, XUE Xin-yu<sup>1</sup>

(1. Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; 2. State Key Laboratory of Quality Research of Chinese Medicines, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China;  
3. College of Pharmacy, Guizhou University, Guiyang 550025, China;  
4. Guizhou Warmen Pharmaceutical Co. Ltd., Guiyang 550004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the fingerprints of 7 effective parts from *Polygonum capitatum* ethanol extract, and clarify the contribution of the chemical components represented by all peaks at different sites to the antibacterial effect, and then to reveal the material basis for the efficacy of *P. capitatum*. **Method:** UPLC-TOF-MS was introduced to analyze fingerprint of different polar part of *P. capitatum* ethanol extract, and the chemical constituents of all peaks were analyzed, 96-well plate method was adopted to measure minimum inhibitory concentration (MIC) of different polar part for *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Partial least squares regression analysis was used to establish the spectrum-effect relationship. **Result:** Positive correlation peaks of different polar part for *E. coli* and *P. aeruginosa* were 9 and 13, respectively; its main antibacterial ingredients ranked as No. 1-5, 15, 19. **Conclusion:** The main antibacterial active sites of *P. capitatum* for *E. coli* and

**[收稿日期]** 20170607(010)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81260640);国家“重大新药创制”科技重大专项(2014ZX09301307-017)

**[第一作者]** 姚元贵,在读硕士,从事中药质量控制与新药研究,Tel:18798766167,E-mail:1821528530@qq.com

**[通信作者]** \*张丽艳,教授,硕士生导师,从事中药质量控制与新药研究,Tel:13984870641,E-mail:zly1964@163.com

*P. aeruginosa* are four polar sites (A, B, C and D) with strong polarity, the main active ingredients are 6-galloylglucose, 3, 6-digalloylglucose, 1, 3, 6-trigalloylglucose and davidiin.

**[Key words]** *Polygonum capitatum*; antibacterial activity; spectrum-effect relationship; partial least squares regression analysis; minimum inhibitory concentration; davidiin; 6-galloylglucose

头花蓼主要分布于江西、湖北、广西、四川等地<sup>[1]</sup>,以全草入药,具有清热利湿、利尿通淋、活血止痛的功效,是贵州苗族地区的常用药材,收录在 2003 年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》。以头花蓼为原料的单方制剂——热淋清颗粒在治疗大肠埃希菌等细菌引起的泌尿系统感染方面疗效显著。本课题组前期研究发现头花蓼对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌均有较好的抑制作用。目前文献报道中主要是研究头花蓼的化学成分及其含量<sup>[2]</sup>,还有研究通过对照品比对法探索其抑菌成分,但分析结果仍然不太明确<sup>[3]</sup>。

本实验拟采用 UPLC-TOF-MS 分析并确定头花蓼不同极性部位的化学成分,通过偏最小二乘回归法筛选并确定头花蓼中的抑菌物质,从分子化学水平阐明头花蓼在治疗大肠埃希菌、铜绿假单胞菌尿路感染方面的药效物质基础。偏最小二乘回归法集合了多元线性回归、主成分分析和典型相关分析的优点,可以较好地揭示各色谱峰与药效指标之间的相关性<sup>[4-5]</sup>。同时,对于成分复杂且有效成分不确定的中药而言,采用合适的评价方法分析中药谱效关系有利于确定其有效成分,为头花蓼替代抗生素的应用提供研究基础。

## 1 材料

1290 Infinity 型超高液相色谱系统和 6230 型 TOF LC/MS 联用仪(美国 Agilent 公司),HWS-150 型恒温培养箱(北京科伟永兴仪器有限公司)。头花蓼药材采自贵州水城,经贵阳中医学院药用植物栽培与鉴定教研室魏升华教授鉴定为蓼科蓼属植物头花蓼 *Polygonum capitatum* 的干燥全草;大肠埃希菌 CMCC44102(批号 44102-3a24-2)和铜绿假单胞菌 CMCC10104(批号 10104-2a21-1)均购于中国食品药品检定研究院,MCI 型大孔树脂(日本三菱化学公司),营养肉汤培养基和营养琼脂(上海博微科技有限公司,批号分别为 3103627 和 160825),二甲基亚砜(DMSO,北京索莱宝科技有限公司,批号 520C0314),水为双蒸水,甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 药物的提取与分离** 取头花蓼药材适量,加 7

倍量 70% 乙醇提取 2 次,每次 1.5 h,滤过,合并滤液,减压回收乙醇并浓缩成相对密度 1.20 ~ 1.25 (60 °C)的稠膏,减压干燥,粉碎成细粉,得头花蓼醇提浸膏。取该浸膏样品 45 g,加入适量甲醇,超声提取 3 次,过滤,滤液合并,于转速 3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 5 min,取上清液减压蒸馏除去溶剂,用 30% 甲醇溶解后通过 MCI 型大孔树脂柱(1 BV = 1 L)进行分离。分别用体积分数为 30%,35% ~ 40%,40%,40% ~ 50%,50%,60%,60% ~ 80% 的甲醇进行梯度洗脱,收集各部分洗脱液,挥干溶剂,依次得到 A ~ G 共 7 个部位。精确称取 A ~ G 部位各 25 mg 溶于 1 mL 的 DMSO 中,配成质量浓度为 25 g·L<sup>-1</sup>的溶液,备用。

## 2.2 头花蓼不同部位的 UPLC-TOF-MS 分析

**2.2.1 色谱及质谱条件** ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm,1.7 μm),柱温 40 °C,流速 0.35 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 2 μL,流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 0.5 min,95% A,0.5 ~ 20 min,95% A ~ 81.5% A;20 ~ 30 min,81.5% A ~ 95% A;30 ~ 32 min,95% A)。电喷雾离子源(ESI),干燥气体温度 180 °C,毛细管电压 4.5 kV,负离子检测模式,喷雾压力 0.25 MPa,干燥气(N<sub>2</sub>)流速 8 L·min<sup>-1</sup>,扫描范围 *m/z* 100 ~ 2 000,碰撞能量 10 eV。

**2.2.2 不同极性部位指纹图谱的建立** 按 2.2.1 项下检测条件建立不同极性部位的 UPLC-TOF-MS,见表 1 和图 1;确定不同极性部位各色谱峰的归属,见表 2。结果发现由甲醇分离得到的 7 个极性部位分离的较为彻底,且不同极性部位的主成分也得到了有效富集,特别是 D 部位首次分离得到了 davidiin,其纯度 > 90%。由质谱分析得到各色谱峰分子式及其二级质谱数据,因此可确定头花蓼中的化学组成,还可分析得到各部位的主要成分,A 部位主要为二没食子酰可水解鞣质;B 部位主要为三没食子酰可水解鞣质;C 部位主要为三没食子酰可水解鞣质及原花青素类成分;D 部位 90% 以上是可水解鞣质 davidiin;E 部位主要含有黄酮苷及木脂素类成分;F 部位主要含有黄酮苷类成分,特别是黄酮碳苷类成分;G 部位主要含有黄酮单糖苷及其苷元类成分。

表 1 头花蓼不同极性部位所含化合物的峰面积

Table 1 Compounds in different polar part of *Polygonum capitatum* and their peak areas

峰号	$t_R/\text{min}$	A	B	C	D	E	F	G
1	0.96	66 553	-	-	-	-	-	-
2	1.45	71 267	-	-	-	-	-	-
3	2.10	57 316	-	-	-	-	-	-
4	2.33	24 074	-	-	-	-	-	-
5	2.80	32 042	-	-	-	-	-	-
6	3.95	96 053	630 503	43 789	-	-	-	-
7	4.70	-	-	58 665	-	-	-	-
8	5.05	147 758	1 479 403	76 567	60 165	-	-	-
9	5.81	-	23 504	-	-	-	-	-
10	6.01	-	-	154 773	-	-	-	-
11	6.13	27 095	182 670	27 095	-	-	-	-
12	6.76	-	-	59 591	-	-	-	-
13	7.33	-	-	191 303	-	-	-	-
14	7.35	-	-	109 254	-	-	-	-
15	7.48	-	96 383	333 482	-	-	-	-
16	7.61	-	-	69 265	-	-	-	-
17	7.95	-	-	103 609	-	-	-	-
18	9.14	-	-	-	-	55 183	-	-
19	9.66	-	-	557 117	1 384 209	-	-	-
20	10.48	-	-	-	-	215 605	31 994	-
21	10.61	-	-	-	-	86 052	-	-
22	10.69	-	-	-	-	-	273 775	13 042
23	11.01	-	-	-	-	88 406	-	-
24	11.04	-	-	-	-	-	533 100	-
25	11.59	-	-	-	-	57 459	-	-
26	11.69	-	-	-	-	85 252	106 931	-
27	12.39	-	-	-	-	-	238 285	-
28	12.41	-	-	-	-	-	51 377	96 046
29	12.89	-	-	-	-	-	1 067 855	4 264 209
30	13.42	-	-	-	-	-	17 033	-
31	13.74	-	-	-	-	-	-	50 058
32	13.77	-	-	-	-	-	-	274 337
33	13.81	-	-	-	-	-	19 368	-
34	13.91	-	-	-	-	-	-	28 621
35	14.02	-	-	-	-	-	-	959 232
36	14.06	-	-	-	-	-	-	194 335
37	14.11	-	-	-	-	-	-	37 138

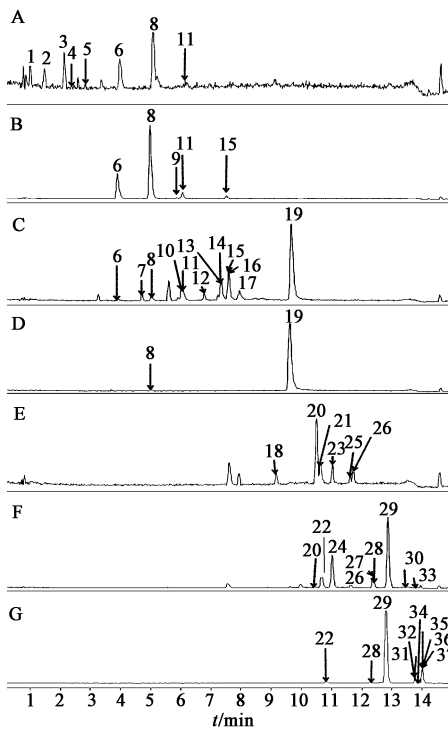


图1 头花蓼不同极性部位的UPLC

Fig. 1 UPLC of different polar part of *Polygonum capitatum*

表2 头花蓼不同极性部位中化合物的质谱分析

Table 2 MS data of 37 compounds in different polar part of *Polygonum capitatum*

No.	$t_R$ /min	分子式	实测值 ( $m/z$ , [ $M - H$ ] <sup>-</sup> )	理论值 ( $m/z$ , [ $M - H$ ] <sup>-</sup> )	化合物	MS/MS 碎片
1	0.96	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.067 3	331.067 1	6-没食子酸酰葡萄糖	162.015 0, 125.025 0
2	1.45	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	483.077 0	483.078 0	3,6-二没食子酸酰葡萄糖	331.071 7, 313.061 1, 169.014 7, 125.025 1
3	2.10	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	483.077 3	483.078 0	3,6-二没食子酸酰葡萄糖	331.081 2, 313.072 3, 169.013 6, 125.025 1
4	2.33	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	483.077 2	483.078 0	3,6-二没食子酸酰葡萄糖	169.014 1, 125.025 6
5	2.80	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	483.077 0	483.078 0	3,6-二没食子酸酰葡萄糖	313.073 9, 169.014 3, 125.025 1
6	3.95	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.087 4	635.089 0	1,3,6-三没食子酸酰葡萄糖	483.077 2, 465.066 5, 313.056 3, 169.014 5
7	4.70	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289.072 0	289.071 8	(+)-表儿茶素	123.009 5
8	5.05	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.088 2	635.089 0	1,3,6-三没食子酸酰葡萄糖	483.079 8, 313.061 4, 169.014 6, 125.025 6
9	5.81	C <sub>34</sub> H <sub>26</sub> O <sub>22</sub>	785.083 4	785.084 3	1,3-二-O-没食子酰基-4,6-O-(S)- 六羟基二苯甲酰基-β-D-葡萄糖	313.056 4, 169.014 8, 125.025 4
10	6.01	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	577.133 8	577.135 1	1,3,8-三羟基-6-甲基蒽醌, 1-O- [4-hydroxy-E-cinnamoyl-(→2)-β-D- glucopyranoside	169.013 3, 125.025 2
11	6.13	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.087 1	635.089 0	1,3,6-三没食子酸酰葡萄糖	465.070 6, 313.055 0, 169.016 2, 125.025 7
12	6.76	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289.072 1	289.071 8	(+)-表儿茶素	123.010 2
13	7.33	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.088 4	635.089 0	1,3,6-三没食子酸酰葡萄糖	465.064 1, 169.015 1, 125.025 4

**2.3 菌悬液配制与平板制备** 实验用菌种接种于平板上,在37℃恒温恒湿培养箱中培养24h。挑选特征菌种接于液体培养基中,于37℃条件下振摇24h。采用麦氏比浊法将其稀释至0.5个麦氏浓度,即 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>菌悬液备用;将18g·L<sup>-1</sup>营养肉汤培养基加入20g的纯化琼脂粉中,加水1L并调节pH至7.4。于121℃条件下灭菌30min,取出。待培养基冷却至约45℃时,在超净工作台将培养基倒入无菌培养皿中冷凝,即得实验用琼脂平板培养基。

**2.4 最低抑菌浓度(MIC)的测定** 在超净工作台先向无菌的96孔板中每孔中加入液体培养基50μL和菌悬液50μL,将待测药物用移液枪精确量取100μL加入到96孔板中的第1孔混匀,并吸取100μL移至第2孔混匀,以此类推至最后1孔,混匀后吸取100μL弃掉,使每孔保持100μL。即得质量浓度为12.5~0.012g·L<sup>-1</sup>的不同极性部位药物;以硫酸庆大霉素为阳性组,DMSO为阴性组;37℃培养24h,分别转种琼脂平板培养基,24h后无细菌生长的微孔则为药物的MIC<sup>[3]</sup>,见表3。结果显示各部位对大肠埃希

续表 2

No.	$t_R$ /min	分子式	实测值 ( $m/z$ , [M - H] <sup>-</sup> )	理论值 ( $m/z$ , [M - H] <sup>-</sup> )	化合物	MS/MS 碎片
14	7.35	C <sub>37</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	729.145 8	729.146 1	3-没食子酸酰原花青素 B1/B2/B3/B4	407.074 8
15	7.48	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.088 3	635.089 0	1,3,6-三没食子酸酰葡萄糖	465.067 1, 313.056 4, 169.014 0, 125.024 8
16	7.61	C <sub>37</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	729.145 4	729.146 1	3-没食子酸酰原花青素 B1/B2/B3/B4	407.075 0
17	7.95	C <sub>34</sub> H <sub>26</sub> O <sub>22</sub>	785.083 8	785.084 3	1,3-二-O-没食子酰基-4,6-O-(S)-六羟 基二苯甲酰基-β-D-葡萄糖	465.063 2, 169.013 7, 125.025 5
18	9.14	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	491.081 6	491.083 1	3,3',4',5',5',7-六羟基黄酮,3-O-(5-O- 乙酰基-L-阿拉伯糖)	169.014 7, 125.025 6, 151.004 4
19	9.66	C <sub>41</sub> H <sub>30</sub> O <sub>26</sub>	937.095 3	937.095 3	davidiin	785.085 3, 741.092 9, 589.081 7
20	10.48	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	463.087 5	463.088 2	槲皮素-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	301.034 2
21	10.61	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	441.082 3	441.082 7	3-O-没食子酰原儿茶酸	287.020 2, 271.026 1
22	10.69	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	463.087 5	463.088 2	槲皮素-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	301.032 2, 255.031 7
23	11.01	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>12</sub>	551.211 9	551.213 4	nudiposide	520.203 1, 359.150 4
24	11.04	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	463.087 6	463.088 2	槲皮素-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	301.034 0, 255.028 8
25	11.59	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> O <sub>10</sub>	491.191 0	491.192 3	schizandriside	331.070 3, 169.015 1, 125.025 3
26	11.69	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>16</sub>	615.098 4	615.099 2	槲皮素-3-(2-没食子酸酰葡萄糖)	301.036 4, 151.004 5
27	12.39	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> O <sub>10</sub>	491.191 4	491.192 3	schizandriside	331.070 6, 169.013 4, 125.024 3
28	12.41	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	433.076 7	433.077 6	槲皮素-3-阿拉伯呋喃糖苷, 蓼属苷	300.027 8, 271.025 6, 255.029 6, 243.029 3 178.998 3, 151.003 5
29	12.89	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	447.092 9	447.093 3	槲皮苷	301.025 9
30	13.42	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>15</sub>	599.103 1	599.104 2	2"-O-没食子酸酰槲皮苷	436.085 4, 301.034 2
31	13.74	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>16</sub>	615.099 0	615.099 0	槲皮素-3-(2-没食子酸酰葡萄糖)	301.0337, 151.003 3
32	13.77	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	431.098 5	431.098 4	3'-羟基-3,4',5,5',8-五甲氧基-6,7-亚 甲二氧基黄酮	285.039 7, 255.029 9, 227.035 7
33	13.81	C <sub>44</sub> H <sub>34</sub> O <sub>20</sub>	881.156 8	881.157 1	3,3'-二没食子酰原花青素 B2	407.081 0
34	13.91	C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> O <sub>17</sub>	693.203 6	693.203 6	helonioside A	517.115 1
35	14.02	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>15</sub>	599.104 1	599.104 2	2"-O-没食子酸酰槲皮苷	301.034 2, 436.065 3
36	14.06	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	489.104 2	489.103 8	viviparum B	341.065 4
37	14.11	C <sub>34</sub> H <sub>40</sub> O <sub>18</sub>	735.213 2	735.214 2	6-乙酰基-3,6-二阿魏酰蔗糖	559.162 8

表 3 头花蓼不同极性部位对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的 MIC  
Table 3 MIC of different polar part of *Polygonum capitatum* on  
*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* g·L<sup>-1</sup>

部位	大肠埃希菌	铜绿假单胞菌
A	0.78	3.12
B	1.56	1.56
C	3.12	1.56
D	3.12	1.56
E	6.25	6.25
F	3.12	3.12
G	6.25	3.12

菌、铜绿假单胞菌的抑菌效果分别为 A > B > C = D = F > E = G, B = C = D > A = F = G > E。

2.5 偏最小二乘回归法 (PLSR) 分析 采用 SPSS 16.0 软件中 PLSR 的均值化法对峰面积与 1/MIC 的矩阵进行分析, 以各色谱峰的峰面积作为自变量, 1/MIC 作为因变量进行分析, 得各色谱峰与药效指标之间的关系, 见表 4。结果发现与大肠埃希菌抑菌效果呈正相关的色谱峰有 9 个, 主要存在于 A 部位, 其中贡献较大的是 1~5 号峰; 与铜绿假单胞菌抑菌效果呈正相关的色谱峰有 13 个, 主要集中在 B, C, D 部位, 贡献较大的是 19, 15 号峰。结合质谱分析结果可知, 6-没食子酸酰葡萄糖和 3,6-二没食

子酸酐葡萄糖对大肠埃希菌的贡献值最大;1,3,6-三没食子酸酐葡萄糖和 davidiin 对铜绿假单胞菌的贡献值较大。

表4 各色谱峰与大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的偏相关系数

Table 4 Partial correlation coefficients between peaks and *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

峰号	大肠埃希菌	铜绿假单胞菌	峰号	大肠埃希菌	铜绿假单胞菌
1	0.915	-0.251	20	-0.358	-0.649
2	0.915	-0.251	21	-0.330	-0.603
3	0.915	-0.251	22	-0.169	-0.265
4	0.915	-0.251	23	-0.330	-0.603
5	0.915	-0.251	24	-0.152	-0.251
6	0.341	0.457	25	-0.330	-0.603
7	-0.152	0.452	26	-0.355	-0.625
8	0.288	0.482	27	-0.152	-0.251
9	0.203	0.452	28	-0.391	-0.366
10	-0.152	0.452	29	-0.372	-0.317
11	0.327	0.498	30	-0.152	-0.251
12	-0.152	0.452	31	-0.330	-0.251
13	-0.152	0.452	32	-0.330	-0.251
14	-0.152	0.452	33	-0.152	-0.251
15	-0.094	0.587	34	-0.330	-0.251
16	-0.152	0.452	35	-0.330	-0.251
17	-0.152	0.452	36	-0.330	-0.251
18	-0.330	-0.603	37	-0.330	-0.251
19	-0.211	0.626			

### 3 讨论

本研究分别通过 UPLC-TOF-MS 和液体稀释法得到头花蓼不同极性部位的指纹图谱及其对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的抑菌效果,并采用 PLSR 揭示头花蓼不同极性部位中各化学成分对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的谱效关系,从而得到不同极性部位各色谱峰与抑菌效果的相关性。由谱效分析结果

可知,头花蓼的抑菌活性贡献较大的色谱峰存在于 A,B,C,D 等极性较大部位,同时也确定了头花蓼对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌抑菌作用的主要药效物质为极性强的 1~5 和 15,19 号峰所代表的化合物(6-没食子酸酐葡萄糖,3,6-二没食子酸酐葡萄糖,1,3,6-三没食子酸酐葡萄糖和 davidiin 及其同分异构体)。

本研究通过 PLSR 得到峰面积与 1/MIC 的简单相关系数矩阵,其相关性越大,说明对药效指标的贡献越大,其中首次分离得到的化合物 davidiin 对铜绿假单胞菌的抑制作用贡献最大;明确了头花蓼及其制剂临床治疗大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等引起的尿路感染的主要有效成分,也为其质量标准提供了相关依据与指导。在头花蓼不同极性部位的指纹图谱中,某些色谱峰会重叠,虽采取了各种尝试仍未能完全分开,但从质谱指认的信息可知,这些色谱峰之间的保留时间是非常接近,其极性也极其相近,分离的色谱条件需进一步深入探究,同时后续将针对头花蓼的抑菌机制进行研究。

#### [参考文献]

[1] 王洪平,曹芳,杨秀伟. 头花蓼地上部分的化学成分研究[J]. 中草药,2013,44(1):24-30.

[2] 潘雯婷,张丽艳,谢宇,等. 主成分及聚类分析法对不同产地头花蓼的综合质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(10):153-157.

[3] 胡露,张锦,蔺良才,等. 基于谱效关系的头花蓼抑菌作用物质基础研究[J]. 中药材,2016,39(9):2037-2040.

[4] 相美容,王孝霞,孙启慧,等. 细辛不同极性部位 HPLC 指纹图谱与其镇痛抗炎活性的谱效关系研究[J]. 辽宁中医杂志,2016,43(12):2603-2607.

[5] 吕邵娃,董书羽,郭玉岩,等. 数据分析技术在中药谱效关系中的应用进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(15):226-230.

[责任编辑 刘德文]