

# 女贞子与日本女贞子的 UV-化学模式识别

曹运姣, 王旭, 容蓉\*

(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

**[摘要]** **目的:**建立紫外谱线组法(Ultraviolet spectrum quad, UV)-化学模式识别鉴别女贞子和日本女贞子的方法。**方法:**分别用石油醚、二氯甲烷、无水乙醇、水4种溶剂对女贞子和日本女贞子平行提取,扫描其紫外-可见光谱,等间隔提取不同波长处的吸光度进行主成分分析, Q型聚类分析和 Fisher 判别分析。**结果:**基于主成分分析的数据和 Q型聚类分析的结果,建立了女贞子和日本女贞子的判别函数: $Y = -0.810 + 5.035 Z_{1,p} + 3.645 Z_{2,p} - 5.992 Z_{3,p} - 5.609 Z_{1,m} + 3.569 Z_{2,m} + 6.519 Z_{3,m} - 54.267 Z_{1,e} + 6.901 Z_{2,e} + 35.281 Z_{3,e} + 13.334 Z_{4,e} + 12.349 Z_{1,w} - 35.806 Z_{2,w}$ ,且本实验中回顾性考核正确率为100%,建立了 UV-化学模式识别鉴别女贞子和日本女贞子的方法。**结论:**UV-化学模式识别法科学、准确、简单,可用于女贞子和日本女贞子的快速鉴别。

**[关键词]** 女贞子; 日本女贞子; 紫外检测; 化学模式识别法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)17-0032-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016170032

## Ligustri Lucidi Fructus and Fruit of *Ligustrum japonicum* by Ultraviolet Spectrum Quad-Chemical Pattern Recognition

CAO Yun-jiao, WANG Xu, RONG Rong\*

(College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop the method of Ultraviolet spectrum quad (UV) -chemical pattern recognition for the identification of Ligustri Lucidi Fructus and the fruit of *Ligustrum japonicum*. **Method:** Ligustri Lucidi Fructus and the fruit of *L. japonicum* were exact parallelly by four solvents including petroleum ether, methylene chloride, ethanol and water. Ultraviolet spectra of each fraction was scanned and the absorbance at different wavelengths was extracted at regular intervals for principle component analysis, Q-type clustering analysis and Fisher discrimination analysis. **Result:** Based on the results of principal component analysis and the Q-type clustering analysis, the discriminant function was established as follows:  $Y = -0.810 + 5.035 Z_{1,p} + 3.645 Z_{2,p} - 5.992 Z_{3,p} - 5.609 Z_{1,m} + 3.569 Z_{2,m} + 6.519 Z_{3,m} - 54.267 Z_{1,e} + 6.901 Z_{2,e} + 35.281 Z_{3,e} + 13.334 Z_{4,e} + 12.349 Z_{1,w} - 35.806 Z_{2,w}$ . The accuracy of retrospective assessment was 100% in our experiment, and the UV-chemical pattern recognition method was established to identify Ligustri Lucidi Fructus and the fruit of *L. japonicum*. **Conclusion:** This method is scientific, accurate and simple, which can be used for the quick identification of Ligustri Lucidi Fructus and the fruit of *L. japonicum*.

**[Key words]** Ligustri Lucidi Fructus; the fruit of *Ligustrum japonicum*; UV; chemical pattern recognition

**[收稿日期]** 20150409(003)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2014ZX09509001-001);国家级大学生研究训练(SRT)计划资助项目(201510441009);山东中医药大学大学生研究训练计划(SRT)资助项目(2015104)

**[第一作者]** 曹运姣,从事中药学研究, Tel:15275310669, E-mail:1483592824@qq.com

**[通讯作者]** \*容蓉,博士,教授,从事中药及复方活性成分与质量控制研究, Tel:0531-89635379, E-mail:rong\_sdutcm@hotmail.com

女贞其果实入药为女贞子,收录于 2010 年版《中国药典》,具有滋补肝肾,明目乌发之功。它含有熊果酸、齐墩果酸等<sup>[1]</sup>多种有效成分,具有抗肝癌<sup>[2]</sup>、抗骨质疏松<sup>[3]</sup>等作用,临床用于肝肾阴虚,眩晕耳鸣,腰膝酸软,须发早白,目暗不明,内热消渴,骨蒸潮热,为养阴常用药。日本女贞与女贞为同科同属植物,其叶可捣烂消肿毒,具有清热解毒之效,其果实与女贞子的果实性状极为相似,但误用后却可导致下痢、全身不适等中毒症状<sup>[4]</sup>,给临床用药带来不少麻烦和困扰。为了减少类似情况的发生,保证临床安全、有效地用药,需要一种快速、简单、方便、有效的方法鉴别来二者。目前关于女贞子及混淆品鉴别的研究主要有聚丙烯酰胺凝胶电泳法<sup>[4]</sup>,差热性分析法<sup>[5]</sup>,RAPD 分析法<sup>[6]</sup>,分子鉴定法<sup>[7]</sup>等。本实验采用 UV-化学模式识别法鉴别二者,并且利用 Fisher 判别分析建立了鉴别女贞子和日本女贞子的判别函数模型,丰富了中药材质量控制的方法。

## 1 材料

UV-2550 型紫外分光光度计(日本岛津公司),KQ5200DB 型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司),ST-04A 型多功能粉碎机(上海树立仪器仪表有限公司),标准检验筛(浙江上虞市金鼎标准筛具厂),FA-1104N 型电子分析天平(上海精密仪器有限公司),FXB101-2 型电热鼓风干燥箱(上海树立仪器仪表有限公司)。石油醚、二氯甲烷、无水乙醇均为分析纯,水为蒸馏水。

试验用药材经山东中医药大学药学院徐凌川教授鉴定,分别为木犀科植物女贞 *Ligustri lucidi* 和日本女贞 *Ligustrum japonicum* 的干燥果实。日本女贞子和女贞子的来源见表 1,2。

## 2 方法与结果

**2.1 供试品溶液制备** 参照文献[8-9]方法,将不同批次的女贞子和日本女贞子于烘箱中 60℃ 烘干,采用干燥失重测定法控制水分在 10% 左右。粉碎,过筛,得到药材粗粉,按四分法取样,每批药材各取 4 份分别置于 50 mL 碘量瓶中,每份 0.5 g。分别加蒸馏水、无水乙醇、二氯甲烷、石油醚(60~90℃) 20 mL,密塞称定质量后超声提取 20 min,再补足失重。过滤,弃去初滤液,取续滤液备用。取水、无水乙醇和二氯甲烷部位分别稀释 14, 10, 4 倍,另取石油醚部位原液,得各部位供试品溶液,浓度折合原药材量分别为 1.79, 2.5, 6.25, 25 g·L<sup>-1</sup>。

**2.2 紫外光谱测定条件** 紫外光谱测定波长在

表 1 女贞子来源统计

Table 1 Origin statis of *Ligustri Lucidi Fructus*

No. 药材	批号或采收日期	采购单位	产地
1 女贞子	140902	天马(安徽)中药饮片科技有限公司	安徽
2 酒女贞子	150302	亳州市国苑中药材饮片有限公司	四川
3 女贞子	131001	山东九州通医药有限公司	河北楚风
4 女贞子	201412	山东济南市大明湖景区	山东济南
5 女贞子	A41001	湖北金贵中药饮片有限公司	湖北
6 女贞子	A1101	湖北金贵中药饮片有限公司	湖北
7 女贞子	140202	安徽纪淞堂中药饮片有限公司	安徽
8 酒女贞子	141101	郑州瑞龙制药股份有限公司	浙江
9 酒女贞子	140522	亳州市国苑中药材饮片有限公司	四川
10 制女贞子	141001	安徽纪淞堂中药饮片有限公司	江苏
11 女贞子	140201	安国市万联中药饮片有限公司	四川
12 女贞子	201412	济南市长清区山东中医药大学校园	济南长清

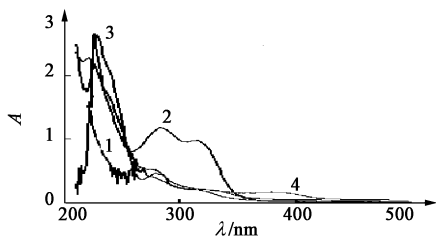
表 2 日本女贞子来源统计信息

Table 2 Origin statis of fruit of *Ligustrum japonicum*

No.	批号或采收日期	采购单位	产地
1	150915	沭阳雨缘花卉中心	江苏
2	140913	沭阳雨缘花卉中心	江苏
3	150120	沭阳雨缘花卉中心	山东
4	150702	沭阳雨缘花卉中心	江苏
5	151011	沭阳雨缘花卉中心	江苏
6	140412	沭阳雨缘花卉中心	江苏
7	150317	沭阳雨缘花卉中心	江苏
8	150501	沭阳雨缘花卉中心	山东
9	150622	沭阳雨缘花卉中心	江苏
10	150430	沭阳雨缘花卉中心	江苏
11	20150321	章丘植物园	济南章丘
12	20150320	山东中医药大学校园	济南长清

200~500 nm,狭缝 2 nm,扫描间隔 1 nm;取供试品溶液置于 1 cm 石英皿中,以相应溶剂做空白对照。平行测定 3 次,取平均值。

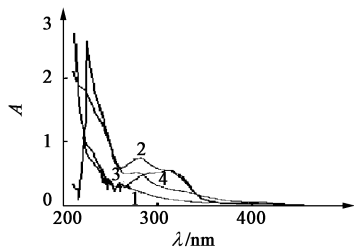
**2.3 紫外光谱测定** 参照 2.2 项下光谱测定条件,分别对 12 批女贞子和 12 批日本女贞子不同极性溶剂供试品溶液进行紫外光谱扫描,得到女贞子和日本女贞子的紫外光谱。以四川产女贞子(批号 150302)和江苏产日本女贞子(批号 150915)的 4 种溶剂提取液为例,紫外光谱扫描结果见图 1,2。将 12 批女贞子和 12 批日本女贞子提取液的紫外光谱数据,以 10 nm 为间隔,提取 200~490 nm 波长吸光度。



1. 石油醚; 2. 二氯甲烷; 3. 无水乙醇; 4. 水

图 1 女贞子(批号 150302) 4 个不同极性部位的紫外光谱

Fig. 1 UV-vis spectra for four different polar parts of Ligustri Lucidi Fructus (Lot No. 150302)



1. 石油醚; 2. 二氯甲烷; 3. 无水乙醇; 4. 水

图 2 日本女贞子(批号 150915) 4 个不同极性部位的紫外光谱

Fig. 2 UV-vis spectra for four different polar parts fruit of Ligustrum japonicum (Lot No. 150915)

**2.4 主成分分析** 在研究中,当观察指标(变量)很多时,由于变量之间复杂的相互关联,使得对数据的进一步分析发生困难。主成分分析是在不丢掉原来主要信息的前提下,从多个数值变量(指标)之间的相互关系入手,利用降维的思想,将原来的  $m$  个指标组合成少数几个互不相关的综合指标的统计方法<sup>[10]</sup>。本试验针对女贞子和日本女贞子各 12 批次不同部位的紫外光谱数据,分别提取其在 30 个波长处的吸光度,作为原始指标( $X_1, X_2, \dots, X_{30}$ )。由于原始指标较多,特征性不强,故对其进行主成分分析,从而使其有效地降维,寻找可以概括这 24 个样本主要信息的综合指标  $Z_1, Z_2, \dots, Z_m$  (此时,  $m < 30$ ),按下式计算:

$$Z_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + \dots + a_{1m}X_m$$

$$Z_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + \dots + a_{2m}X_m$$

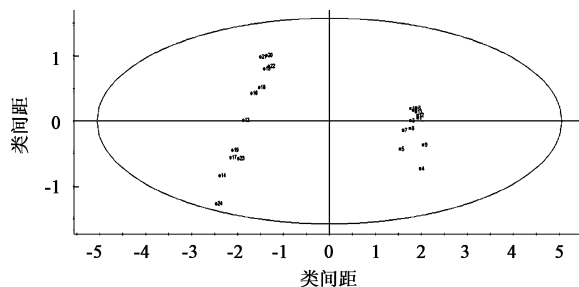
...

$$Z_m = a_{m1}X_1 + a_{m2}X_2 + \dots + a_{mm}X_m$$

笔者采用 SPSS 19 软件,通过主成分分析求出各指标(所有批次的女贞子和日本女贞子的相应波长吸光度)相关矩阵  $R$  的特征根及累积贡献率,取累积贡献率大于 85%<sup>[11]</sup> 的前几个主成分,作为各极性部分的综合指标,结果石油醚(petroleum ether)部位选取了前 3 个主成分  $Z_{1,p}, Z_{2,p}, Z_{3,p}$ ,二氯甲烷(methylene chloride)部位选取了前 3 个主成分  $Z_{1,m}$ ,

$Z_{2,m}, Z_{3,m}$ ,无水乙醇(ethanol)部位选取前 4 个主成分  $Z_{1,e}, Z_{2,e}, Z_{3,e}, Z_{4,e}$ ,水(water)部位选取前 2 个主成分:  $Z_{1,w}, Z_{2,w}$ 。通过主成分分析,使得原指标得到有效地降维,4 个不同极性部位用累积特征贡献率均达到 85% 以上的 2~4 个主成分作为综合指标,代替各部位原先的 30 个原始指标(30 个波长处的吸光度)。累积贡献率 > 85% 的主成分,主成分分析结果见表 3。

**2.5 聚类分析** 聚类分析是通过描述事物特征的各种数理表现的分析比较,将性质相近的事物归在一类,而将性质相差较大的归在不同类。它分为 Q 型聚类(样品聚类)和 R 型聚类(变量聚类)<sup>[10]</sup>。在上述主成分分析所得的综合指标的基础上,采用 SIMCA-P 11.5 Demo 软件,对 24 个样品进行 Q 型聚类分析,聚类分析结果见图 3。由图 3 可以看出,女贞子和日本女贞子之间具有显著性差异,被正确地分为两大类;对于不同产地的女贞子或日本女贞子本身而言,日本女贞子的不同批次差异性较小,而女贞子不同批次间差异性较大,这可能是因药材的炮制方法、地域环境,采收时间等不同而引起的。



“●”女贞子(左侧); “■”日本女贞子(右侧)

图 3 女贞子和日本女贞子聚类分析

Fig. 3 Results of cluster analysis for Ligustri Lucidi Fructus and fruit of Ligustrum japonicum

**2.6 判别分析** 判别分析是在研究对象用某种方法已经分成若干类别的情况下,由已知样品的观测数据,建立判别函数和判别准则,对未知样品进行分类的统计方法,包括 Fisher 判别分析法, Bayes 判别分析法和逐步判别分析法<sup>[10]</sup>。

笔者采用 SPSS 19 软件进行 Fisher 判别分析,在上述聚类结果的基础上,对二者进行分类。以 1~10 号和 13~22 号样本不同极性部位的主成分为自变量,根据类间距最小的原则,建立线性函数,确定判别临界(即两类样品的分界点);大于临界点为一类,小于临界点为另一类。根据所得的典型判别函数未标准化系数,建立女贞子和日本女贞子的判别函数。

表 3 24 个样本 4 个不同极性部位紫外光谱的主成分值

Table 3 Principal component value of UV spectra for four different polar fraction of samples

No.	石油醚部位			二氯甲烷部位			乙醇部位				水部位	
	Z <sub>1,P</sub>	Z <sub>2,P</sub>	Z <sub>3,P</sub>	Z <sub>1,m</sub>	Z <sub>2,m</sub>	Z <sub>3,m</sub>	Z <sub>1,e</sub>	Z <sub>2,e</sub>	Z <sub>3,e</sub>	Z <sub>4,e</sub>	Z <sub>1,w</sub>	Z <sub>2,w</sub>
1	1.136	1.443	1.440	1.421	1.941	1.064	0.608	0.371	0.759	0.115	2.442	1.117
2	0.562	0.517	1.048	1.452	1.968	1.099	0.656	0.413	0.874	0.141	2.525	1.146
3	0.719	0.598	1.229	1.372	1.808	0.992	0.635	0.470	0.844	0.161	1.817	0.860
4	0.875	0.816	1.668	1.079	1.715	1.500	0.516	0.206	0.686	0.107	2.039	0.984
5	0.505	0.503	1.071	1.179	1.901	1.608	0.507	0.255	0.662	0.125	2.483	1.177
6	1.255	1.036	1.980	0.924	1.315	0.886	0.543	0.353	0.773	0.124	2.237	1.076
7	0.729	0.604	1.154	1.575	2.292	1.216	0.632	0.373	0.800	0.129	2.563	1.157
8	0.709	0.762	1.522	1.490	2.263	1.090	0.365	0.231	0.498	0.084	1.794	0.871
9	0.667	0.701	1.432	1.490	2.140	1.441	0.285	0.042	0.377	0.057	1.988	0.971
10	0.850	0.828	1.625	1.833	1.833	2.185	0.345	0.052	0.456	0.069	2.449	1.166
11	1.684	1.586	2.300	1.244	1.712	1.333	0.499	0.050	0.596	0.095	2.442	1.118
12	0.859	0.668	1.579	1.264	1.919	0.781	0.450	0.056	0.466	0.077	2.321	1.101
13	0.585	0.742	0.673	1.662	2.784	1.747	0.675	0.297	0.772	0.136	2.971	1.055
14	0.706	1.036	0.738	1.451	2.340	1.699	0.695	0.367	0.825	0.140	2.158	0.873
15	1.048	1.093	0.882	0.891	1.478	1.319	0.690	0.359	0.817	0.165	3.143	1.124
16	0.899	1.078	1.407	0.946	1.487	2.057	0.694	0.362	0.806	0.144	2.865	1.025
17	0.944	0.727	1.328	1.190	2.029	1.319	0.620	0.381	0.782	0.073	1.673	0.599
18	0.677	0.772	0.764	0.497	0.833	1.152	0.623	0.384	0.795	0.157	2.677	0.935
19	0.700	1.068	0.945	0.735	1.194	1.182	0.641	0.379	0.801	0.164	2.816	1.075
20	1.010	0.971	1.344	0.828	1.328	1.375	0.604	0.419	0.804	0.152	3.359	1.275
21	0.857	0.777	0.978	0.748	1.128	2.249	0.616	0.202	0.635	0.288	3.419	1.308
22	0.903	0.869	0.769	1.010	1.409	1.817	0.710	0.259	0.539	0.998	3.199	1.197
23	0.901	0.869	0.861	0.892	1.005	1.541	0.687	0.292	0.800	0.151	3.298	1.208
24	0.731	0.840	0.858	1.212	1.424	2.525	0.632	0.336	0.786	0.136	3.347	1.160

$$Y = -0.810 + 5.035 Z_{1,p} + 3.645 Z_{2,p} - 5.992 Z_{3,p} - 5.609 Z_{1,m} + 3.569 Z_{2,m} + 6.519 Z_{3,m} - 54.267 Z_{1,e} + 6.901 Z_{2,e} + 35.281 Z_{3,e} + 13.334 Z_{4,e} + 12.349 Z_{1,w} - 35.806 Z_{2,w}$$

非标准化典型判别函数对本实验样品进行两类判别的规则是,  $Y < 0$  判为第 1 类, 即女贞子;  $Y > 0$  判为第 2 类, 即日本女贞子。

判别函数的假设性检验中, 统计量  $P = 0.000 < 0.05$ , 判别函数有统计学意义。回顾性考核得出判别正确率为 100.0%。

将 11, 12, 23, 24 号样本作回代测试, 验证该判别函数的正确率。11, 12 号样本回代入判别函数, 计算得  $Y = -9.358$  和  $-15.987$ , 均  $< 0$ , 判为女贞子; 23, 24 号样本带入判别函数, 得  $Y = 3.607383$  和  $13.698740$ , 均  $> 0$ , 判为日本女贞子; 判别结果与原

样本归属吻合。故该判别函数可以用于女贞子和日本女贞子的鉴别。

### 3 讨论

本文分别用石油醚、二氯甲烷、无水乙醇、水等 4 种不同极性溶剂对女贞子和日本女贞子进行平行提取, 扫描不同极性提取液的紫外-可见光谱, 等间隔提取 24 个样本在 30 个不同波长的吸光度进行主成分分析降维, 再利用 Q 型聚类分析分析相似度, 基于以上结果利用 Fisher 判别分析, 建立女贞子和日本女贞子判别函数模型, 回代样本准确率为 100% (累计贡献率  $> 90\%$  有统计学意义<sup>[10]</sup>)。

目前中药鉴别的手段主要包括分子鉴定、化学鉴定、显微鉴定、生物效应鉴定 4 大类。其中化学鉴定是以中药化学物质组为检测对象, 将中药基原鉴别和质量控制相结合, 适用性强<sup>[11]</sup>。紫外谱线组法

是以紫外光谱数据反映中药化学物质群的整体性特征、从而鉴别中药品质的一种光谱指纹图谱鉴定技术,相比其他鉴定技术,该方法具有快速、灵敏、重复性好、客观有效、适用面广等特点。但对于基源相似的中药材,其所含化学成分相似,特征吸收峰差异较小,以光谱的最大吸收波长为指标进行鉴别,不能反映中药的整体性。本实验参照相关文献[12]对光谱数据提取方法<sup>[13]</sup>进行了改进,等波长间隔提取了紫外吸光度,采用紫外光谱指纹数据结合化学模式识别法<sup>[14-16]</sup>建立判别函数模型,进行了女贞子和日本女贞子的UV-化学模式识别法鉴别,测定方法快捷,使结果更加客观、准确。既反映了药材化学成分的整体性,又对多指标数据进行了降维处理,丰富了中药化学鉴定的内容。在今后的相关研究和应用中,注重“中药真伪-化学物质组-活性”指标的综合表征,运用统计学构建中药鉴别数理模型,更加快速、客观、合理地进行中药鉴定、评价,对中药质量控制具有重要的意义。

#### [参考文献]

[1] 聂映,姚卫峰.女贞子的化学成分研究[J].南京中医药大学学报,2014,30(5):475-477.  
[2] 高福君.女贞子提取物抑制人肝癌细胞血管生长因子表达作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):139-142.  
[3] 康学,刘仁慧,王秀娟.淫羊藿、女贞子抗骨质疏松症的应用与机制研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(21):331-334.  
[4] 刘杨,李峰,谭颖,等.聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴别女贞子与日本女贞子[J].山东中医杂志,2010,29(5):339-340.

[5] 林锦明,宓鹤鸣,赵长文.女贞子及其混淆品的差热分析鉴别[J].第二军医大学学报,1996,17(3):293-294.  
[6] 刘杨,包华音,李巧玉.女贞与日本女贞的RAPD分析[J].时珍国医国药,2014,25(1):103-104.  
[7] 李美妮,韩蕊莲,韩建萍,等.基于ITS2序列的女贞子原植物及其混伪品的分子鉴定[J].世界科学技术—中医药现代化,2011,13(4):644-649.  
[8] 朱琼花,付腾飞,周立艳,等.牡丹皮及牡丹皮炭紫外谱线组法鉴别研究[J].时珍国医国药,2013,24(9):2148-2149.  
[9] 包华音.壁虎药材紫外谱线组法鉴别研究[J].时珍国医国药,2015,26(5):1146-1148.  
[10] 史周华,张雪飞.中医药统计学[M].北京:科学出版社,2009.  
[11] 陈士林,郭宝林,张贵君,等.中药鉴定学新技术新方法研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(8):1043-1055.  
[12] 巩丽丽,容蓉.UV-化学模式识别不同产地的丹参[J].化学分析计量,2014,23(2):88-90.  
[13] 袁久荣.中药鉴别紫外谱线组法及应用[M].北京:人民卫生出版社,1999.  
[14] 苗琦,罗光明,罗扬婧,等.梔子多波长HPLC指纹图谱及化学模式识别研究[J].中草药,2014,45(21):3159-3164.  
[15] 王璠,欧阳臻,郭兰萍,等.苍术综合化学模式识别[J].中国中药杂志,2014,39(13):2536-2541.  
[16] 宋潇,谢昭明,黄丹,等.茯苓HPLC指纹图谱及化学模式识别[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(17):36-39.

[责任编辑 顾雪竹]