

主成分和聚类分析法对不同产地半枝莲的综合质量评价

范菊娣^{1*}, 覃容贵¹, 张珏¹, 李相陵², 杨传玉¹

(1. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学医药卫生管理学院, 贵阳 550004)

[摘要] **目的:** 综合比较并评价不同产地半枝莲的质量。**方法:** 采用 RP-HPLC 法, 紫外分光光度法, 测定不同产地半枝莲中野黄芩苷、大波斯菊苷、总黄酮和多糖的含量; 并以这 4 个成分为指标, 运用主成分分析和聚类分析对 13 个产地的半枝莲进行综合质量评价。**结果:** 不同产地半枝莲中野黄芩苷、大波斯菊苷、总黄酮和多糖含量有明显差异, 其中总黄酮和多糖含量丰富, 分别在 18.56~74.67, 19.67~47.3 mg·g⁻¹, 所有样品均达到药用要求。主成分分析发现, 选择 2 个因子 (F_1, F_2) 即可对半枝莲药材进行综合评价, 其综合评价函数为 $F = 0.58128F_1 + 0.27882F_2$, 其综合评价得分在 -0.66~1.68。以贵州锦屏、云南、贵州镇远半枝莲药材样品的质量综合评价较好。**结论:** 不同产地及生长环境对半枝莲质量有影响, 该研究可为半枝莲质量评价及种质资源筛选提供一定的参考依据。

[关键词] 半枝莲; 主成分分析; 聚类分析; 质量评价

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)23-0040-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016230040

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160920.0920.026.html>

[网络出版时间] 2016-09-20 9:20

Comprehensive Quality Evaluation of *Scutellaria barbata* Different Habitats by Principal Component Analysis and Cluster Analysis Method

FAN Ju-di^{1*}, QIN Rong-gui¹, ZHANG Jue¹, LI Xiang-ling², YANG Chuan-yu¹

(1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China;

2. School of Medicine and Health Management, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** Compare and evaluate the quality of *Scutellaria barbata* from different habitats. **Method:** The content of scutellarin, cosmosiin, total flavonoids and polysaccharides were determined by RP-HPLC and ultra-violet spectrophotometry. Through the content of 4 indicated ingredients as the index, the quality of *S. barbata* was assessed by principal component analysis and cluster analysis method. **Result:** The difference of the content of scutellarin, cosmosiin, total flavonoids and polysaccharides of *S. barbata* which from different habitats were quite large. The total flavonoids and polysaccharides were abundance in *S. barbata*, which were 18.56-74.67 mg·g⁻¹ and 19.67-47.3 mg·g⁻¹ respectively. All the samples are up to the medical requirements. PCA concluded that two factors (F_1, F_2) could be used to evaluate the quality of *S. barbata*. The function is following $F = 0.58128F_1 + 0.27882F_2$, the scores of different habitats of *S. barbata* were from -0.66-1.68. The quality of *S. barbata* in the Jinping of Guizhou, Yunnan and Zhenyuan of Guizhou is the best respectively. **Conclusion:** The habitats and growing environment have some effect on the quality of *S. barbata*, this research can provide some reference for the germplasm resources and quality evaluation of *S. barbata*.

[Key words] Scutellariae Barbatae Herba; principal component analysis; cluster analysis; quality evaluation

[收稿日期] 20151222(006)

[基金项目] 贵州省科技厅中药开发专项(黔科合【2012】5001-4号);贵州省科技厅社会发展攻关项目(黔科合LG字【2012】029号)

[通讯作者] *范菊娣, 硕士, 副教授, 从事中药质量相关研究, Tel: 13985420860, E-mail: lfanjudi@163.com

半枝莲^[1]为唇形科植物,以干燥全草入药,具有清热解毒,活血祛瘀,消肿止痛的功效,是近年来国内外抗肿瘤中药的研究热点,现代药理学表明半枝莲具有抗癌、解热、抗菌、抗氧化、护肝作用^[2-6]。药材的化学成分是其药理作用的基础,研究表明半枝莲含有多种黄酮、多糖、萜类等成分^[7-9],近年半枝莲研究重点报道其总黄酮、野黄芩苷和多糖成分具有明显抗肿瘤、免疫调节作用和抗氧化等活性作用^[10-16]。随着现代社会竞争压力不断增大,环境污染日益严重,肿瘤发病率逐年升高,可以预测具有良好抗癌作用的半枝莲药材市场前景将相当可观。但半枝莲药材现行质量标准较为简单,仅以单一成分野黄芩苷为半枝莲药材的质量评价,无法达到真实、全面反映药材内在品质的目的。且半枝莲的产地广泛,在不同生长环境和地理位置,可能导致其质量良莠不齐,成分有差异,故中药材质量控制是中药现代化过程中的主要瓶颈之一。为了更好的综合比较、评价不同产地半枝莲的质量,本实验首次以具有良好抗癌活性的野黄芩苷、大波斯菊苷、总黄酮和多糖多组分为指标,进行聚类分析和主成分分析,探讨不同产地半枝莲药材的质量差异,旨在为其质量控制和种植资源提供依据。

表 1 不同产地半枝莲质量分数测定结果($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Determination of mass fractions of *Scutellaria barbata* from different origins($\bar{x} \pm s, n = 3$) mg. g⁻¹

No.	产地	野黄芩苷	大波斯菊苷	总黄酮	多糖
1	贵州锦屏	11.11 ± 0.13	29.48 ± 0.04	74.67 ± 0.03	32.96 ± 0.30
2	云南	9.22 ± 0.06	5.95 ± 0.08	64.43 ± 0.03	38.33 ± 1.02
3	广西	5.73 ± 0.05	3.30 ± 0.05	35.47 ± 0.03	27.36 ± 1.00
4	河北	5.25 ± 0.05	2.41 ± 0.04	52.68 ± 0.05	33.59 ± 0.19
5	四川	4.64 ± 0.08	2.26 ± 0.05	51.21 ± 0.03	22.86 ± 0.91
6	贵州镇远	3.94 ± 0.10	0.00 ± 0.00	34.32 ± 0.07	47.39 ± 0.30
7	湖北	3.71 ± 0.05	2.38 ± 0.05	61.54 ± 0.11	36.87 ± 0.28
8	江苏	2.75 ± 0.06	2.48 ± 0.02	32.22 ± 0.10	31.65 ± 0.36
9	江西	2.64 ± 0.05	2.26 ± 0.03	20.47 ± 0.15	37.81 ± 1.79
10	浙江	2.40 ± 0.06	2.44 ± 0.04	30.80 ± 0.53	29.57 ± 0.18
11	河南	2.33 ± 0.04	0.88 ± 0.02	26.73 ± 0.20	26.38 ± 0.30
12	安徽	2.30 ± 0.05	2.40 ± 0.02	71.50 ± 0.86	19.67 ± 0.65
13	贵州施秉	2.06 ± 0.05	2.04 ± 0.02	18.56 ± 0.10	44.86 ± 1.28

2 方法

2.1 野黄芩苷,大波斯菊苷含量的测定 参照《中国药典》(2015年版)^[1]一部半枝莲项下野黄芩苷含量测定方法进行,同时测定野黄芩苷,大波斯菊苷的含量。Agilent ODS 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5

1 材料

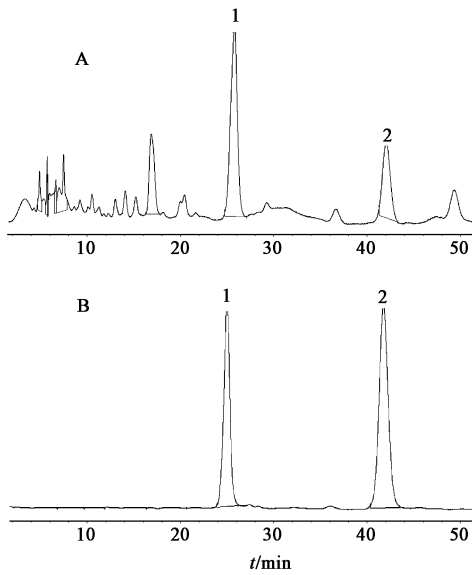
1100 高效液相色谱仪(DAD 检测器, Chemstation 色谱工作站,美国 Agilent), UV-2401PC 型紫外分光光度计(日本岛津), FZ-102 型植物粉碎机(河北黄骅县齐家务科学仪器厂), 200 型标准检验筛(60 目,浙江上虞市道墟张兴纱筛厂), DK-98-11 型水浴锅(天津市秦斯特仪器有限公司)。

色谱甲醇,冰醋酸(天津市科密欧化学试剂开发中心, HPLC 级),野黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110842-201207),大波斯菊苷对照品(2013 年 10 月由扬州大学生物科学与技术学院天然产物化学实验室提供,经检测纯度 > 98%)。D-无水葡萄糖(中国食品药品检定研究院,批号 100317),纤维素酶,果胶酶(为上海源叶生物科技有限公司提供,批号分别为 S10041, S10007),娃哈哈纯净水,其余所有试剂均为分析纯。

半枝莲药材为 2013 年 5 月同期课题组采集或购买,经贵州医科大学药学院覃容贵教授鉴定为唇形科植物半枝莲 *Scutellaria barbata* 的干燥全草。每个样本于 40 °C 烘干、粉碎、过筛,密封保存,标本存放于贵州医科大学药学院中药学教研室,见表 1。

μm),以甲醇-冰醋酸-水(35:4:61)为流动相,检测波长为 335 nm,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,柱温 25 °C。见图 1。

2.2 总黄酮的含量测定 参照《中国药典》(2015年版)^[1]一部半枝莲项下总黄酮含量测定方法,采



A. 样品; B. 对照品; 1. 野黄芩苷; 2. 大波斯菊苷

图 1 半枝莲样品 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Scutellaria barbata*

用紫外-可见分光光度法,以野黄芩苷对照品,在 335 nm 处测定其吸光度 A 。

2.3 多糖含量测定 参照黄秀香等^[17]试验方法,以 D -无水葡萄糖作为对照品,在 488 nm 处测定其 A 。

2.4 数据处理方法 数据处理主要使用 SPSS 19.0 数据处理软件。

表 3 主成分因子总体描述

Table 3 Overall description of principal components and factors

主成分	初始特征值			提取平方和载入			旋转平方和载入		
	合计	方差/%	累积率/%	合计	方差/%	累积率/%	合计	方差/%	累积率/%
x_1	2.325	58.128	58.128	2.325	58.128	58.128	2.286	57.158	57.158
x_2	1.115	27.882	86.010	1.115	27.882	86.010	1.154	28.852	86.010
x_3	0.391	9.766	95.777						
x_4	0.169	4.223	100.000						

主成分抽取方法选择相关性矩阵,经最大方差法旋转,旋转因子显示设置为降序排列,同时根据成分得分矩阵建立主成分分析模型,结果见表 4。经分析前 2 个主成分分别为:

主成分 1: x_1 为野黄芩苷, x_2 为大波斯菊苷, x_3 为总黄酮。主成分 2: x_4 为多糖。

建立主成分模型如下:

$$F = 0.58128F_1 + 0.27882F_2$$

$$F_1 = 0.428x_1 + 0.403x_2 + 0.303x_3 + 0.088x_4$$

$$F_2 = 0.158x_1 + 0.098x_2 - 0.331x_3 + 0.859x_4$$

根据主成分模型,计算 13 个地区主成分结果,

3 结果与分析

不同产地的半枝莲中野黄芩苷,大波斯菊苷,总黄酮和多糖的含量测定结果见表 1。

3.1 指标主成分分析 因指标含量差异较大,分析前对原始数据进行标准化处理。在对 4 指标进行主成分分析前先进行 KMO 和 Bartlett 因子分析适用条件的检验,本例 KMO 抽样适度测定统计值 (Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy) 为 0.567,可进行主成分分析。巴特尼特 (Bartlett) 法圆形统计量 (Bartlett's Test of Sphericity) 有 $P = 0.008 < 0.01$,提示各变量将存在显著的相关性,有必要进行因子分析综合各变量间共性。结果见表 2。

表 2 KMO 和 Bartlett 因子分析适用条件的检验

Table 2 Detection of KMO and Bartlett

指标	数值
取样足够度的 Kaiser-Meyer-Olkin 度量	0.567
近似卡方 (Approx. Chi-Square)	17.359
自由度 (df)	6.000
统计值 (Sig.)	0.008

取特征根 > 1 的前 2 个主成分,前 2 项主成分累计贡献率 86.01%,即总体多于 86.01% 的信息可以由前 2 个主成分解释。结果见表 3。

分析显示前 3 位为贵州锦屏 1.68,其次为云南昆明 0.82,贵城镇远为 0.26。

表 4 4 种主成分得分矩阵

Table 4 Component matrix

主成分	旋转因子载荷		得分系数	
	1	2	1	2
x_1	0.945	0.091	0.428	0.158
x_2	0.900	0.027	0.403	0.098
x_3	0.764	-0.446	0.303	-0.331
x_4	0.017	0.973	0.088	0.859

表 5 不同产地半枝莲的主成分得分

Table 5 Principal components of *Scutellaria barbata* from different origins

No.	产地	F ₁	F ₂	F	排名
1	贵州锦屏	2.80	0.17	1.68	1
2	云南	1.17	0.50	0.82	2
3	广西	-0.07	-0.40	-0.15	7
4	河北	0.15	-0.07	0.07	4
5	四川	-0.09	-1.22	-0.39	10
6	贵州镇远	-0.32	1.61	0.26	3
7	湖北	0.09	0.04	0.06	5
8	江苏	-0.57	-0.06	-0.35	9
9	江西	-0.71	0.78	-0.20	8
10	浙江	-0.67	-0.28	-0.47	11
11	河南	-0.86	-0.57	-0.66	13
12	安徽	-0.16	-2.03	-0.66	12
13	贵州施秉	-0.77	1.53	-0.02	6

3.2 半枝莲质量评价的聚类分析 以半枝莲 4 个含量为指标,采用 Euclidean distance 系数对不同产地半枝莲进行聚类分析,结果见图 2。从结果来看,江苏、浙江、广西和河南半枝莲亲缘关系较近先聚为一类,说明它们环境条件相似,居群多样性分化相对较小有关。贵州镇远和贵州施秉能较好聚为一类,而贵州锦屏与它们亲缘关系较远,有必要进一步研究它们的生长环境。聚类分析的方法能反映不同产地半枝莲之间的多样性分化,产地不同会造成半枝莲在化学组成上存在着差异,同时也说明地理位置和环境对半枝莲的质量是有影响的。

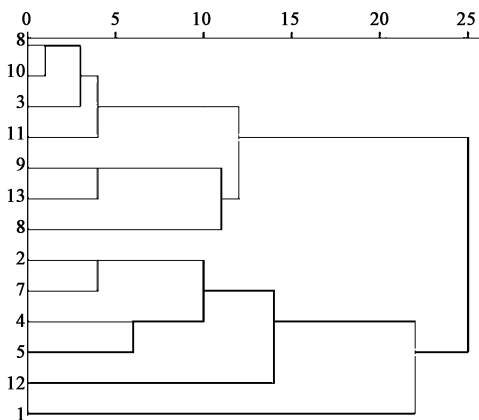


图 2 半枝莲的聚类结果

Fig.2 Clustering plot of *Scutellaria barbata* samples

4 讨论

测定半枝莲中的 4 个活性成分,运用 SPSS 19.0 软件,采用聚类分析和主成分分析方法,对 13 个不

同产地半枝莲进行分析评价。结果表明不同产地半枝莲药材中野黄芩苷、大波斯菊苷、总黄酮和多糖含量有明显差异,其中以贵州锦屏,云南和贵州镇远的样品综合质量较好。以野黄芩苷单一指标显示,以贵州锦屏,云南和广西较佳,13 个产地的半枝莲均达到药用要求。半枝莲原有质量标准较为简单,建议多指标综合评价与药效相结合的方法对半枝莲进行质量控制。

在本实验中依据 2015 年版《中国药典》HPLC 方法测定半枝莲中的野黄芩苷含量,发现在该色谱条件下,不少产地半枝莲中的大波斯菊苷^[7]分离条件好、含量丰富,且其为黄酮成分,因半枝莲总黄酮作为抗癌活性成分,对总黄酮含量的累积有很好的贡献作用,故本次实验把大波斯菊苷纳入活性成分进行检测。

依据主成分分析结果,贵州东南部 3 个产地的质量较好,尤其贵州锦屏半枝莲质量最佳,其海拔在 300~1 000 m,其半枝莲资源较为丰富,主要产在农田和水沟边。可把贵州锦屏半枝莲作为较好的种质资源,选择适宜的生态环境,建立栽培基地。

通过收集到的样品聚类分析表明,同为贵州产地的半枝莲没能聚为一类,可能因为 3 个产地的半枝莲均为野生资源,中药品质的形成是植物遗传和环境因素双重叠加作用的结果,除半枝莲自身的遗传和生长年限因素外,由于其环境因素包括了土壤、海拔、水分、日照和地形等因素,其中土壤包括土壤类型、质地和肥力等因素,导致不同产地半枝莲的化学成分组成与含量差异。有待对半枝莲资源跟踪调查研究,探讨有效成分与生境之间的关系,对提高半枝莲药材质量具有一定的实际意义。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 118-119.

[2] Li H W, Jiu M L, Wei X, et al. *Scutellaria barbata* D. don inhibits tumor angiogenesis via suppression of hedgehog pathway in a mouse model of colorectal cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(8): 9419-9430.

[3] Ai L S, Yu T S, Jeng L H. *Scutellaria barbata* inhibits angiogenesis through downregulation of HIF-1 α in lung tumor [J]. *Environ Toxicol*, 2014, 29(4): 363-370.

[4] 郭珊珊, 时宇静, 高英杰. 半枝莲总黄酮抗副流感病毒的作用机制 [J]. *药学学报*, 2009, 44(12): 1348-1352.

[5] 冯德富, 李小沙. 复方半枝莲汤联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎疗效观察 [J]. *实用医内科学杂志*,

- 2010, 24(2):72-75.
- [6] 宋增芳,廖月霞. 肖炜明半枝莲水提取物调节肿瘤 VEGF/DC 实验研究[J]. 实用临床医药杂志,2011, 15(19):1-5.
- [7] 仲浩,薛晓霞,姚庆强. 半枝莲化学成分的研究[J]. 中草药,2008, 39(1): 21-23.
- [8] 任强. 半枝莲化学成分及药理作用研究进展[J]. 济宁医学院学报,2014, 37(3): 157-161.
- [9] 张晶,赵伟杰. 半枝莲多糖对 S180 荷瘤小鼠红细胞功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013, 19(22): 265-268.
- [10] Jie G, Wang F L, Zhi J D, et al. Induction of apoptosis by total flavonoids from *Scutellaria barbata* D. Don in human hepatocarcinoma MHCC97-H cells via the mitochondrial pathway[J]. Tumor Biology, 2014, 35(3): 2549-2559.
- [11] 石扬,周志愉,程流剑,等. 半枝莲中野黄芩苷对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖及侵袭能力的影响[J]. 江西医学院学报,2009, 49(11): 12-14.
- [12] 祝娉婷,孙云,刘兆国,等. 半枝莲总黄酮对 ApoE 基因缺陷小鼠动脉粥样硬化及磷脂转运蛋白表达的影响[J]. 中国药理学通报,2015, 31(6): 833-836.
- [13] 叶华,崔燎. 半枝莲多糖的抗肝癌作用及其机制的研究[J]. 癌症进展杂志,2009, 7(3): 331-334.
- [14] 宋高臣,张高坤,公长春,等. 半枝莲多糖对 HepA 荷瘤小鼠抑癌基因表达的影响[J]. 中国医药导刊,2010, 12(6): 1020-1021.
- [15] 杨姗姗,木艳,张秀娟. 半枝莲多糖的纯化及对 S₁₈₀ 小鼠体内抗肿瘤的作用[J]. 江苏农业科学 2012,40(5):249-151.
- [16] 张自丽,张雪薇,宋高臣. 半枝莲多糖对 S₁₈₀ 肉瘤转移抑制作用的研究[J]. 牡丹江医学院学报,2013,34(2): 25-27.
- [17] 黄秀香,赖红芳,罗丽程. 超声波协同复合酶法提取半枝莲多糖工艺优化优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5): 20-22.

[责任编辑 邹晓翠]

《中国实验方剂学杂志》简介

《中国实验方剂学杂志》主编为吴以岭院士,由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中华中医药学会共同主办。以报道、介绍中医药研究为主旨的专业性学术期刊,创刊于 1995 年 10 月,目前为半月刊。

随着中医药政策扶持力度的加大和中医药科技创新的振兴,在中医药事业蓬勃发展的进程中,《中国实验方剂学杂志》也进入快速发展阶段! 以下是本刊在各权威数据库中的最新评价数据及收录情况:

- ①中国知网《中国学术期刊影响年报》(2016 年版):影响力指数(CI)学科排序 3/122(中医药类 122 本期刊中排第 3 名);复合影响因子 1.319,学科排序 9/122;
- ②万方数据《中国科技期刊引证报告(扩刊版)》:H 指标为 16,总被引频次 15 664,复合影响因子 1.620,在中医药类 122 本期刊中排序分别为第 2,2,11 名;
- ③入选“中国科学引文数据库来源期刊”(CSCD 2015—2016);
- ④入选最新版《北大中文核心期刊要目总览》(2014 年版);
- ⑤入选“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊 2016 年版);
- ⑥入选“RCCSE 中国核心学术期刊”(2015—2016)。