

基于防己主要活性成分的品质区划及环境影响因素分析

杨帆^{1,2}, 吴梦丽^{1,2}, 高慧^{1,3}, 何秋梅¹, 谢阳姣^{1*}

- (1. 广西中医药大学 瑶医药学院, 南宁 530001;
2. 广西中医药大学 中医药科学实验中心, 南宁 530001;
3. 中央民族大学 药学院, 北京 100081)

[摘要] 目的: 基于防己主要活性成分, 研究防己品质区划及环境影响因素, 为防己优质产区的确定和影响含量的主导环境因子提供参考依据。方法: 基于防己主要活性成分粉防己碱和防己诺林碱及产地环境因子, 采用偏最小二乘法回归分析(PLS), 主成分分析(PCA)研究防己品质区划及其环境影响因素。结果: 防己诺林碱含量与土壤pH, 年均温呈较强正相关, 与纬度呈较强负相关; 粉防己碱含量与土壤pH呈较强正相关, 与经度和年降雨量呈较强负相关; 总含量与土壤pH, 年均温呈较强正相关, 与年降雨量及经度和纬度呈较强负相关。主成分分析结果表明, 针对品质形成, 50个产区可划分为4个类群, 其中广东始兴县、安徽歙县、福建松溪县、广东南雄市、湖南湘乡市防己主成分含量得分较高, 为品质形成较佳区域。结论: 土壤pH, 年均温, 年降雨量, 经度和纬度为影响防己药材主要活性成分的主导环境因子。品质较优防己生产区为广东始兴县、安徽歙县、福建松溪县、广东南雄市、湖南湘乡市。

[关键词] 防己; 粉防己碱; 防己诺林碱; 品质区划; 环境因子

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)12-0170-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201112

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20200218.2340.006.html>

[网络出版日期] 2020-2-19 13:36

Quality Regionalization and Environmental Impact Factors Analysis Based on Main Active Ingredients of *Stephaniae Tetrandrae Radix*

YANG Fan^{1,2}, WU Meng-li^{1,2}, GAO Hui^{1,3}, HE Qiu-mei¹, XIE Yang-jiao^{1*}

- (1. College of Yao Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;
2. Guangxi Scientific Research Center of Traditional Chinese Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;
3. School of Pharmacy, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the quality regionalization and environmental impact factors of *Stephaniae Tetrandrae Radix* based on main active ingredients, and provide a reference for the determination of high-quality production areas and the dominant environmental factors affecting the content of *Stephaniae Tetrandrae Radix*. **Method:** Partial least squares regression analysis (PLS) and principal component analysis (PCA) were used to study the quality regionalization and environmental impact factors based on the main active ingredients of tetrandrine and fangchinoline, and investigate the environmental factors of the producing areas. **Result:** The content of fangchinoline was positively correlated with soil pH and annual average temperature, negatively correlated with latitude. The content of tetrandrine was positively correlated with soil pH, negatively correlated with annual rainfall and longitude. The total content was positively correlated with soil pH and annual

[收稿日期] 20191201(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81760681)

[第一作者] 杨帆, 在读硕士, 从事中药、民族药资源开发与利用研究, E-mail: 15677166963@163.com

[通信作者] *谢阳姣, 博士, 研究员, 从事中药、民族药资源开发与利用研究, E-mail: xieyangjiao@163.com

average temperature, but negatively correlated with annual rainfall, latitude and longitude. Principal component analysis showed that the 50 production areas could be divided into four groups of quality formation. The groups with the highest scores were Shixing county in Guangdong, Shexian county in Anhui, Songxi county in Fujian, Nanxiong city in Guangdong and Xiangxiang city in Hunan, all of which were best areas for accumulation of the two main active ingredients. **Conclusion:** Soil pH, annual average temperature, annual rainfall, latitude and longitude are the main environmental factors affecting the main active ingredients of *Stephaniae Tetrandrae Radix*. The best areas for accumulation of tetrandrine and fangchinoline are Shixing county in Guangdong, Shexian county in Anhui, Songxi county in Fujian, Nanxiong city in Guangdong and Xiangxiang city in Hunan.

[Key words] *Stephaniae Tetrandrae Radix*; fangchinoline; tetrandrine; quality regionalization; environmental factors

防己具有祛风止痛、利水消肿功效,主治风湿痹痛、水肿脚气、小便不利、湿疹疮毒等证^[1]。现代药理研究表明,防己中主要化学成分为粉防己碱和防己诺林碱,该成分不仅为2015年版《中国药典》判断其品质优劣的重要指标,也是目前科研人员研究防己药理作用的热点,如粉防己碱的抗癌^[2-4]、抗肿瘤^[5],防己诺林碱的抗癌^[6]、抑制增生性瘢痕^[7]等的主要靶向成分。防己来源主要为野生,广泛分布于江西、安徽、浙江、福建、湖北、湖南等地区,近年来由于市场需求增加,药农过度采挖导致野生药材资源破坏严重,现江西成为主产区。采用人工栽培方式已成为解决市场需求与实现防己野生资源可持续利用的唯一途径。

优质药材的形成离不开适宜的生态条件,生态环境是影响中药材活性成分的主要因素之一。有研究认为,温度是影响鼓槌石斛中毛兰素含量的主要因素^[8];月最低温度、月平均气温、降水量均会影响太子参环肽A,环肽B,多糖,皂苷含量^[9]。前期研究表明不同产地防己药材质量参差不齐^[10-12],影响

防己合理利用。因此,环境条件的优劣成为防己品质形成的重要限制因子,也是防己栽培过程中必须解决的关键问题之一。目前关于不同产地防己环境因子与主要活性成分含量的相关性研究未见报道。因此,本研究基于防己分布区浙江、安徽、江西、福建、广东、湖南等省,研究防己药材中主要活性成分防己诺林碱和粉防己碱的含量及相关环境因子之间的联系,采用偏最小二乘法回归分析(PLS),主成分分析(PCA)研究该类成分与环境因子的相关性,并对防己分布区进行品质区划,为防己药材道地性的研究和优质药材产地选择及合理栽培防己提供依据。

1 材料

防己药材于2017年10月采集于广东、湖南、浙江、安徽、江西、福建6个省的50个县,均为野生药材,经广西大海阳光药业有限公司唐新高级工程师鉴定为防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra* 的干燥根。采样时详细记录采集点的经、纬度和海拔高度。信息见表1。

表1 不同产地防己环境因子

Table 1 Environmental factors from different habitats of *Stephania tetrandra*

编号	采样点	经度/°	纬度/°	海拔高度/m	年均温/°C	年最高温度/°C	年最低温度/°C	年降雨量/mm	年均日照/h	土壤类型	土壤pH
S1	安徽东至县龙泉	116.787 4	29.575 6	28	16.9	28	1	1 554.4	1 288.0	1	4.86
S2	安徽东至县木塔乡	117.055 1	29.774 1	148	16.9	28	1	1 554.4	1 288.0	2	5.20
S3	安徽祁门县红乡谢村	117.670 8	29.693 2	223	15.6	41	-13.2	1 781.4	1 277.0	1	5.62
S4	安徽祁门县历口镇里山	117.532 7	29.910 1	397	15.6	41	-13.2	1 781.4	1 277.0	1	4.99
S5	安徽祁门县三步塔	117.621 7	29.925 0	399	15.6	41	-13.2	1 781.4	1 277.0	2	4.92
S6	安徽青阳县前镇盘岭畈	117.863 1	30.640 4	15	16.1	40.6	-0.1	1 600.0	1 286.0	3	6.11
S7	安徽石台大演乡樟树坞	117.468 2	30.150 6	204	16	40	-18	1 624.4	1 286.0	4	4.79
S8	安徽歙县桂林镇庵上	118.416 3	30.015 3	295	16.4	40.8	-12.7	1 477.0	1 275.0	2	6.26
S9	安徽休宁县严田	117.748 4	29.641 8	328	16.3	33	-3	1 536.2	1 277.0	5	4.73
S10	安徽休宁溪口镇木坑村	117.992 2	29.663 9	217	16.3	33	-3	1 536.2	1 277.0	1	5.05

续表1

编号	采样点	经度/°	纬度/°	海拔高度/m	年均温/°C	年最高温度/°C	年最低温度/°C	年降雨量/mm	年均日照/h	土壤类型	土壤pH
S11	安徽黟县鳧峰镇上店	117.910 1	29.974 6	315	15.8	33	-3	1 686.0	1 275.0	3	6.42
S12	福建省邵武金坑村马岭	117.186 0	27.239 1	495	18.0	40	-5	1 800.0	1 668.0	3	5.53
S13	福建省邵武市	117.486 6	27.332 6	196	18.3	30	5	1 863.4	1 668.0	6	5.13
S14	福建省松溪县项溪村	118.791 1	27.651 1	548	18.0	40	-5	1 600.0	1 900.0	5	5.07
S15	福建省顺昌县洋坊	117.791 3	26.788 8	206	18.5	31	8	1 756.0	1 740.7	4	7.22
S16	广东南海市南亩镇蛇岭	114.595 1	25.161 3	265	19.9	40.4	-4.1	1 495.2	1 622.5	3	7.67
S17	广东韶关始兴县天子地	114.060 7	24.983 9	124	19.6	40.3	-4.3	1 543.0	1 582.7	3	6.23
S18	湖南衡阳县贯塘乡	112.593 8	27.381 9	80	18.7	40	-7.9	1 470.9	1 531.7	1	4.40
S19	湖南湘乡市中沙镇塘托	112.381 3	27.534 5	279	17.1	39.6	-4.6	1 326.8	1 558.7	2	5.22
S20	湖南攸县桃水镇桃水	113.224 8	27.082 6	73	17.8	34	3	1 410.0	1 677.1	1	4.39
S21	江西德兴市	117.806 6	29.086 8	82	18.0	40.9	-10.6	1 869.6	1 775.4	2	5.16
S22	江西德兴绕二镇牛屎塘	117.686 2	28.786 3	162	18.0	40.9	-10.6	1 869.6	1 775.4	5	4.78
S23	江西德兴绕二镇骑岭头	117.787 7	28.866 6	593	18.0	40.9	-10.6	1 869.6	1 775.4	5	5.23
S24	江西德兴市桂湖小学	117.887 8	28.954 2	219	18.0	40.9	-10.6	1 869.6	1 775.4	7	5.71
S25	江西都昌县中馆彭家湾	116.525 4	29.376 1	36	17.1	41	-4	1 391.5	2 076.3	4	4.90
S26	江西浮梁勒功乡暗屋里	117.283 0	29.804 9	106	17.0	41.8	-10.9	1 763.5	2 009.8	5	4.69
S27	江西全南县陂头村	114.589 7	25.010 5	212	18.6	39	-3	1 695.0	1 690.0	1	4.90
S28	江西贵溪市	117.293 1	28.533 9	85	17.9	34	-3	1 350.0	1 749.9	1	5.69
S29	江西横峰县葛源镇	117.655 9	28.576 8	222	16.0	43.3	-14.3	1 850.0	1 940.0	1	4.76
S30	江西进贤县三里乡	116.376 3	28.679 7	23	17.3	40.5	-12.1	1 650.0	1 771.5	2	4.69
S31	江西景德镇昌江区慈义	117.096 0	29.127 6	86	17.0	38	-2	1 763.5	2 009.8	3	5.22
S32	江西乐平市	117.264 7	28.802 9	57	18.3	39	-5	1 672.3	1 766.3	6	4.82
S33	江西涇口乡西陶家	116.212 9	28.681 1	16	17.3	37	-2	1 650.0	1 771.5	6	4.55
S34	江西鄱阳县芦田乡	116.981 4	28.978 9	29	16.9	39	-5	1 500.0	2 098.0	7	4.91
S35	江西上饶县里平阳	117.799 7	28.745 6	329	17.8	39	-3	2 066.1	1 711.2	6	4.92
S36	江西万年县裴梅镇	117.114 1	28.614 8	80	17.4	41.2	-12.8	1 808.0	1 803.5	7	5.27
S37	江西婺源县	117.561 8	29.268 7	99	16.8	41	-10	1 962.3	1 715.1	3	4.92
S38	江西新建区金桥乡	115.879 0	28.980 4	39	17.3	37	-2	1 650.0	1 771.5	6	5.42
S39	江西弋阳县	117.457 6	28.484 4	58	17.8	41.4	-11.2	2 066.1	1 711.2	5	5.18
S40	江西余干县古埠镇	116.805 1	28.717 6	17	17.8	37	-2	1 586.4	1 872.0	7	5.01
S41	江西余江县余江服务区	116.877 0	28.370 3	23	17.6	41.12	-15.42	1 739.4	1 788.8	6	4.57
S42	江西玉山南山乡五么头	118.133 9	28.798 9	278	17.8	38	-3	2 066.1	1 711.2	5	4.73
S43	江西玉山山下镇镇大坞	118.411 0	28.691 5	207	17.8	35	-3	2 066.1	1 711.2	4	5.01
S44	浙江江山山余镇白福坞	118.735 7	28.685 7	691	17.0	38	-3	2 063.3	2 000.0	6	6.31
S45	浙江开化县公安局下庄	118.076 0	29.090 1	151	16.4	37	-4	1 814.0	1 712.5	2	5.51
S46	浙江开化县九节坞	118.427 5	29.120 8	320	16.4	37	-4	1 814.0	1 712.5	3	5.80
S47	浙江开化县宋家庄	118.239 4	29.000 4	237	16.4	37	-4	1 814.0	1 712.5	1	4.86
S48	浙江开化县苏庄镇	118.129 5	29.174 4	196	16.4	37	-4	1 814.0	1 712.5	3	5.90
S49	浙江开化县张湾乡	118.208 1	29.119 5	261	16.4	37	-4	1 814.0	1 712.5	3	5.07
S50	浙江龙泉市岩樟乡垟头	118.996 3	28.159 3	620	17.8	37	-4	1 568.4	1 676.6	2	4.99

注:土壤类型列1.黄棕壤;2.黄壤;3.紫色土;4.砖红壤;5.暗棕壤;6.赤红壤;7.潮土。

1260 Inifinal II 型高效液相色谱仪(包括 G7111A 四元泵, G7116A 柱温箱, G7129A 自动进样器, G7114AVWD 检测器, Control panel 化学工作站, 美国安捷伦公司)。

粉防己碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 110711-201609, 纯度 99.2%), 防己诺林碱对照品(北京中兴嘉仁生物技术有限公司, 批号 170301-005, 纯度 98%); 乙腈为色谱纯; 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 主要气候因子 通过查阅当地气象资料确定防己分布区的年均温度、年最高温、年最低温、年降雨量、年均日照共 5 个气候因子, 信息详见表 1。

2.2 土壤类型和 pH 测定 采集防己药材的同时, 记录采样点土壤类型, 并采集距地表 30 cm 以下防己根部周围土壤样品, 用于测定土壤 pH。

pH 测定方法: 称取每个样点的风干土壤约 25 g (孔径约 1 mm), 置于干净烧杯中, 加入蒸馏水 50 mL, 不断搅拌约 30 min, 静置 30 min 后用数字酸度计进行测定。

2.3 主要有效成分含量测定 色谱条件: Agilent ZORBAX Extend-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.08% 三乙胺 (75: 25), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 紫外检测波长 282 nm, 柱温 25 °C, 进样量 8 μL, 运行时间 20 min。方法学考察结果显示精密度、重复性、稳定性、回收率良好。

对照品和供试品溶液的制备及提取方法等参考 2015 年版《中国药典》进行。

2.4 数据统计分析 采用 SPSS 25.0 软件对不同产地防己主要活性成分进行单因素方差分析; 采用 SIMCA 14.1 软件, 利用 PLS 分析防己主要有效成分与环境因子的相关性, 同时对防己主要活性成分进行 PCA, 得到 PCA 中的得分排序图并进行聚类以进行防己品质区划。

3 结果与分析

3.1 主要活性物质含量 应用 HPLC 法对 50 个不同产地防己样品中粉防己碱和防己诺林碱含量进行测定, 结果见表 2。防己样品中粉防己碱和防己诺林碱总含量高于 2015 年版《中国药典》规定的最低含量 (1.6%)。不同产地防己含量具有显著差异。其中粉防己碱质量分数的变化在 0.86%~2.28%, 最高为安徽歙县桂林镇庵上, 最低为浙江开化苏庄镇; 防己诺林碱质量分数的变化在 0.65%~2.58%, 最高为广东韶关市始兴县, 最低为江西进贤县三里

乡; 总含量, 最高为广东韶关市始兴县天子地, 最低为浙江开化县苏庄镇。

表 2 防己化学成分单因素方差分析 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 One-way ANOVA of chemical constituents of *Stephania*

tetrandra ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

编号	防己诺林碱	粉防己碱	总质量分数
S1	1.25±0.18 ^{if}	1.78±0.29 ^{if}	3.03±0.47 ^{hc}
S2	1.29±0.23 ^{ihFE}	1.74±0.33 ^{ihFE}	3.03±0.48 ^{hgC}
S3	1.36±0.21 ^{ihFED}	1.66±0.16 ^{ihFED}	3.02±0.34 ^{hgC}
S4	1.18±0.26 ^{ihFED}	1.31±0.20 ^{ihFED}	2.48±0.41 ^{hgC}
S5	1.11±0.13 ^{ihgFED}	1.57±0.19 ^{ihgFED}	2.68±0.78 ^{hgfeC}
S6	1.37±0.28 ^{ihgFED}	1.46±0.33 ^{ihgFED}	2.83±0.60 ^{hgfeC}
S7	1.49±0.23 ^{ihgFED}	1.61±0.22 ^{ihgFED}	3.10±0.40 ^{hgfeC}
S8	1.90±0.63 ^{ihgFED}	2.28±0.90 ^{ihgFED}	4.18±1.53 ^{hgfedC}
S9	0.97±0.10 ^{ihgfFEDC}	1.58±0.22 ^{ihgfFEDC}	2.55±0.27 ^{hgfedcC}
S10	0.99±0.53 ^{ihgfFEDC}	1.30±0.13 ^{ihgfFEDC}	2.29±0.13 ^{hgfedcC}
S11	1.00±0.66 ^{ihgfFEDC}	1.28±0.22 ^{ihgfFEDC}	2.28±0.27 ^{hgfedcC}
S12	1.55±0.32 ^{ihgfFEDC}	1.26±0.20 ^{ihgfFEDC}	2.81±0.51 ^{hgfedcC}
S13	1.27±0.18 ^{ihgfFEDCB}	1.41±0.25 ^{ihgfFEDCB}	2.68±0.38 ^{hgfedcCB}
S14	1.65±0.12 ^{ihgfFEDCB}	1.94±0.24 ^{ihgfFEDCB}	3.59±0.34 ^{hgfedcCB}
S15	1.29±0.21 ^{ihgfFEDCB}	1.89±0.41 ^{ihgfFEDCB}	3.18±0.61 ^{hgfedcCB}
S16	1.72±0.08 ^{ihgfFEDCB}	1.93±0.27 ^{ihgfFEDCB}	3.65±0.32 ^{hgfedcCB}
S17	2.58±0.39 ^{ihgfFEDCB}	2.08±0.29 ^{ihgfFEDCB}	4.66±0.62 ^{hgfedcCB}
S18	0.87±0.24 ^{ihgfFEDCB}	1.57±0.40 ^{ihgfFEDCB}	2.43±0.64 ^{hgfedcCB}
S19	1.56±0.73 ^{ihgfFEDCB}	2.08±0.43 ^{ihgfFEDCB}	3.63±1.11 ^{hgfedcCB}
S20	0.91±0.34 ^{ihgfFEDCB}	1.49±0.24 ^{ihgfFEDCB}	2.40±0.36 ^{hgfedcCB}
S21	1.38±0.13 ^{ihgfFEDCB}	1.33±0.11 ^{ihgfFEDCB}	2.71±0.22 ^{hgfedcCB}
S22	1.30±0.36 ^{ihgfFEDCB}	1.34±0.15 ^{ihgfFEDCB}	2.64±0.47 ^{hgfedcCB}
S23	1.74±0.35 ^{ihgfFEDCB}	1.73±0.32 ^{ihgfFEDCB}	3.47±0.63 ^{hgfedcCB}
S24	1.14±0.11 ^{ihgfFEDCB}	1.49±0.22 ^{ihgfFEDCB}	2.63±0.20 ^{hgfedcCB}
S25	1.11±0.22 ^{ihgfFEDCB}	1.87±0.35 ^{ihgfFEDCB}	2.98±0.53 ^{hgfedcCBA}
S26	1.26±0.16 ^{ihgfFEDCB}	1.51±0.13 ^{ihgfFEDCB}	2.77±0.63 ^{hgfedcCBA}
S27	1.86±0.16 ^{ihgfFEDCB}	1.37±0.14 ^{ihgfFEDCB}	3.23±0.27 ^{hgfedcCBA}
S28	1.37±0.16 ^{ihgfFEDCB}	1.67±0.24 ^{ihgfFEDCB}	3.03±0.38 ^{hgfedcCBA}
S29	1.49±0.10 ^{ihgfFEDCB}	1.46±0.12 ^{ihgfFEDCB}	2.95±0.20 ^{hgfedcCBA}
S30	0.65±0.12 ^{ihgfFEDCB}	1.35±0.15 ^{ihgfFEDCB}	1.99±0.27 ^{hgfedcCBA}
S31	0.78±0.07 ^{ihgfFEDCB}	1.25±0.09 ^{ihgfFEDCB}	2.04±0.15 ^{hgfedcCBA}
S32	1.02±0.69 ^{ihgfFEDCB}	1.24±0.12 ^{ihgfFEDCB}	2.26±0.17 ^{hgfedcCBA}
S33	0.96±0.14 ^{ihgfFEDCB}	1.17±0.22 ^{ihgfFEDCB}	2.14±0.35 ^{hgfedcCBA}
S34	1.35±0.18 ^{ihgfFEDCB}	1.80±0.19 ^{ihgfFEDCB}	3.15±0.35 ^{hgfedcCBA}
S35	1.05±0.07 ^{ihgfFEDCB}	1.39±0.32 ^{ihgfFEDCB}	2.44±0.38 ^{hgfedcCBA}
S36	0.87±0.11 ^{ihgfFEDCB}	1.06±0.11 ^{ihgfFEDCB}	1.94±0.08 ^{hgfedcCBA}
S37	1.24±0.07 ^{ihgfFEDCB}	1.46±0.09 ^{ihgfFEDCB}	2.70±0.15 ^{hgfedcCBA}
S38	1.25±0.17 ^{ihgfFEDCB}	2.05±0.59 ^{ihgfFEDCB}	3.31±0.74 ^{hgfedcCBA}

续表 2

编号	防己诺林碱	粉防己碱	总质量分数
S39	1.01±0.09 ihgfedcbFEDCB	1.12±0.17 ihgfedcbFEDCB	2.13±0.25 hgfedcbCBA
S40	0.80±0.09 hgfedcbFEDCB	1.51±0.22 hgfedcbFEDCB	2.31±0.25 hgfedcbCBA
S41	0.75±0.06 hgfedcbFEDCB	1.29±0.16 hgfedcbFEDCB	2.03±0.21 hgfedcbCBA
S42	0.89±0.11 hgfedcbFEDCB	1.30±0.11 hgfedcbFEDCB	2.19±0.20 hgfedcbCBA
S43	1.37±0.10 gfedcbFEDCB	1.61±0.19 gfedcbFEDCB	2.98±0.27 gfedcbCBA
S44	0.92±0.09 gfedcbFEDCB	1.14±0.17 gfedcbFEDCB	2.06±0.26 gfedcbCBA
S45	1.04±0.06 fedcbEDCB	1.06±0.13 fedcbEDCB	2.11±0.15 fedcbCBA
S46	1.50±0.12 edcbEDCB	1.71±0.24 edcbEDCB	3.20±0.18 edcbaCBA
S47	1.02±0.13 dcbDCB	1.05±0.09 dcbDCB	2.07±0.22 dcbCBA
S48	0.78±0.08 cbCBA	0.86±0.07 cbCBA	1.65±0.15 cbaCBA
S49	0.80±0.10 bBA	0.97±0.14 bBA	1.77±0.21 baBA
S50	0.91±0.16 Aa	1.10±0.08 Aa	2.01±0.21 aA

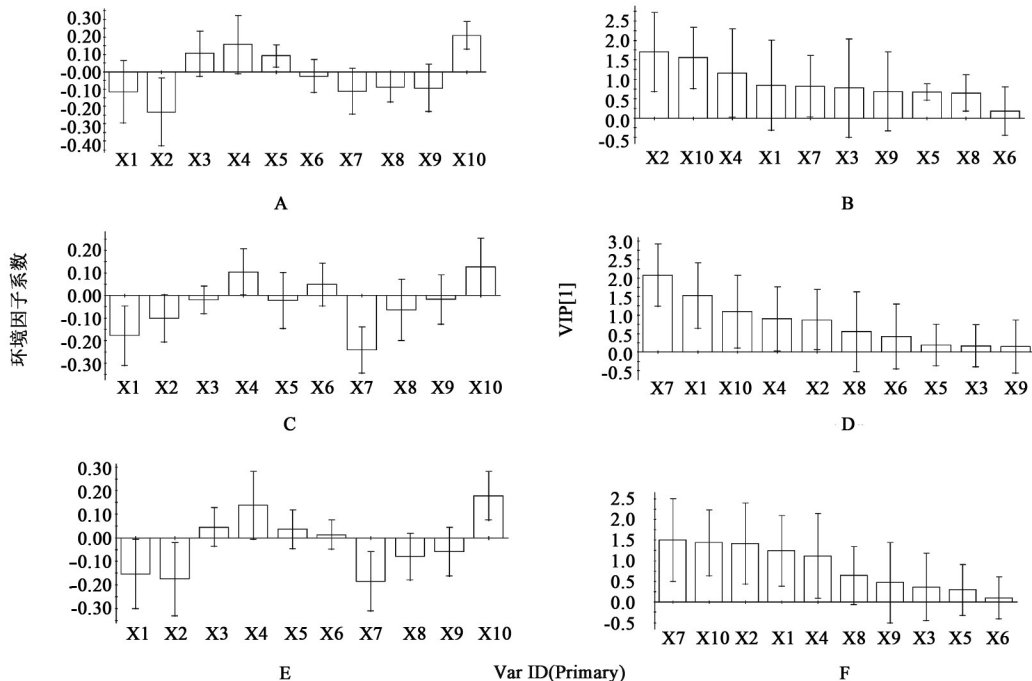
注:同一列中,不同大写字母代表有显著性差异($P<0.01$),不同小写字母代表有显著性差异($P<0.05$)。

3.2 有效成分含量与环境因子的PLS分析 防己诺林碱、粉防己碱及两者总含量分别与各环境因子的回归系数见图1(A,C,E),VIP值见图1(B,D,F)。由图1A可知,防己诺林碱含量与土壤pH的正回归系数最大,其次是年均温、海拔高度、年最高温,这些指标对其含量具有正向影响;与纬度的负回归系数绝对值最大,其次为经度、年降雨量、土壤类

型、年均日照、年最低温,这些指标对含量具有负向影响。由图1B可知,纬度的权重系数最大,其次是土壤pH和年均温,经度、年降雨量和海拔高度三者相当,土壤类型、年最高温和年均日照三者相当,年最低温权重最小。表明纬度对其含量的影响最大,其次是土壤pH和年均温。

图1C结果显示,粉防己碱含量与土壤pH的正回归系数最大,其次是年均温、年最低温,这些指标对其含量具有正向影响;与年降雨量的负回归系数绝对值最大,其次为经度、纬度、年均日照、年最高温、海拔高度、土壤类型,这些指标对含量具有负向影响。由图1D可知,年降雨量的权重系数最大,其次是经度,土壤pH,年均温,纬度,年均日照,年最低温,年最高温,海拔高度,土壤类型,表明影响粉防己碱的环境因子主要为年降雨量、经度和土壤pH。

总含量与环境因子的系数回归见图1E,由图1E可知防己主要有效成分总含量与土壤pH的正回归系数最大,其次是年均温、海拔高度、年最高温、年最低温;与年降雨量的负回归系数绝对值最大,其次为纬度、经度、年均日照、土壤类型。由图1F可知,年降雨量的权重系数对防己主要有效成分总含量的影响最大,其次是土壤pH,纬度,经度,年均温,年均日照,土壤类型,海拔高度,年最高温,年最低



A. 防己诺林碱回归系数; B. 防己诺林碱VIP; C. 粉防己碱回归系数; D. 粉防己碱VIP; E. 总含量回归系数; F. 总含量VIP; X1. 经度; X2. 纬度; X3. 海拔高度; X4. 年均温; X5. 年最高温; X6. 年最低温; X7. 年降雨量; X8. 年均日照; X9. 土壤类型; X10. 土壤pH

图1 防己主要有效成分的生态回归系数及VIP值

Fig. 1 Ecological regression coefficients and VIP values of main active components of *Stephania tetrandra*

温。但年降雨量,土壤pH,纬度,经度及年均温的权重差异较小,所占总权重比例较高,是总含量的主要影响因素。

3.3 基于防己主要活性成分的PCA品质区划分析 应用SIMCA 15.0软件对不同产地防己主要有效成分进行PCA得分排序及聚类分析。得分结果见图2,聚类分析结果见图3。从图2可以看出,50个产区可以分为4个类群,其中得分最高的产区有广东韶关始兴县天子地、安徽歙县桂林镇庵上、福建省松溪县项溪村、广东南雄市南亩镇蛇岭、湖南湘乡市中沙镇塘托5个产地,得分0.625~1;第二高的为江西德兴绕二镇骑岭头、江西新建区金桥乡、江西鄱阳县芦田乡、浙江开化县九节坞、福建省顺昌县洋坊、江西全南县陂头村、江西横峰县葛源镇、江西玉山山镇大坞、安徽石台大演乡樟树坞、安徽祁门县红乡谢村、江西都昌县中馆彭家湾、安徽东至县龙泉、安徽东至县木塔乡、江西贵溪市共14个产地,得分0.375~0.5;第三个类群含江西余干县古埠镇、江西乐平市、安徽休宁溪口镇木坑村、安徽黟县鳧峰镇上店、湖南攸县桃水镇桃水、安徽祁门县历口镇里山、江西上饶县里平阳、湖南衡阳县贯塘乡、江西德兴市、安徽青阳庙前镇盘岭畈、福建省邵武金坑村马岭、江西浮梁勒功乡暗屋里、福建省邵武市、安徽祁门县三步塔、安徽石台大演乡樟树坞、安徽休宁县严田、江西德兴绕二镇牛屎塘、江西德兴市桂湖小学18个产地,得分0.125~0.25;得分最低的有浙江开化县苏庄镇、浙江开化县张湾乡、江西玉山南山乡五么头、浙江开化县公安局下庄、江西泾口乡西陶家、江西弋阳县、江西万年县裴梅镇、江西进贤县三里乡、浙江龙泉市岩樟乡垟头、江西景德镇昌江区慈义、江西余江县余江服务区、浙江江山上余镇白福坞、浙江开化县宋家庄13个产地,得分0~0.125。这四个类群可分别代表4个防己品质高低不同的生长区域,最优产区为第一类群的5个产区。由图3可知,不同产区可有效分离,当阈值为10时,50个产区被聚为4大类群。各类群的划分与主成分得分划分的结果一致。

4 讨论

4.1 影响防己主要活性成分含量的因素 本课题测定了50个不同产地防己样品中主要有效成分防己碱和防己诺林碱的含量,均高于2015年版《中国药典》要求(1.6%)^[1],但是不同产地防己有效成分含量存在较大差异,这种产地间的差异性研究结果与报道^[10-12]的结果一致。药材有效成分含量主要

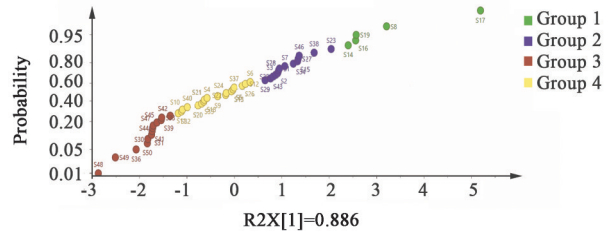


图2 主要活性成分PCA得分

Fig. 2 PCA score chart of main active ingredients

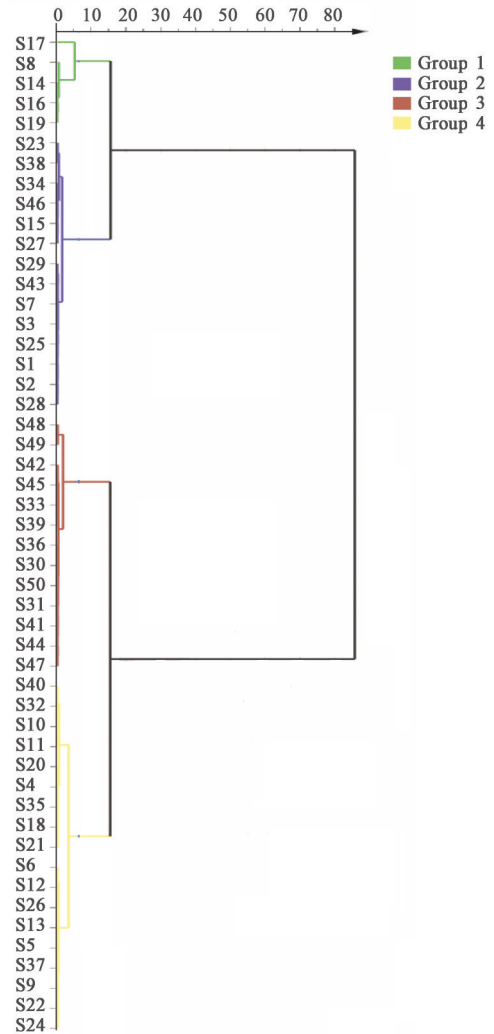


图3 主要活性成分得分聚类

Fig. 3 Main active ingredients score clustering diagram

由种质决定,同时受环境的影响^[13],是两者综合作用的结果。如研究表明海拔高度是影响绿原酸与木犀草苷的主导生态因子^[14],温湿度对山茱萸开花至关重要^[15]。本研究发现在环境因子中,土壤pH,纬度及年均温是影响防己诺林碱含量的主要因子,其中土壤pH和年均温对其含量呈正向作用,纬度则相反。因纬度越高,年均温越低,这2个指标对防己诺林碱的影响可归结为温度对其含量的影响,即

高温有利于防己诺林碱的形成。年降雨量、经度和土壤pH是影响粉防己碱的主要因子,其中年降雨量的影响最大。年降雨量和经度对粉防己碱呈负向影响,土壤pH呈正向影响。总含量受这两个含量的综合影响。总的来看,两个指标成分均受土壤pH的影响,在适宜范围内,土壤过酸不利于其含量的提高。综上,不同产地环境条件的差异是影响不同产地指标成分出现差异的重要原因。

4.2 防己品质区域划分 中药药效往往与有效成分含量相关,许多研究基于有效成分含量筛选药材品质形成适宜区域^[16-17]。本研究采用PCA法,基于防己指标成分将防己的品质适宜区划分为4个类群,但各类群所包括的产地所处的地理位置均较分散。有研究认为如果依据某一个成分的高低评价枸杞子的品质,各个区域均有高品质的枸杞子产出,如新疆(精河县等),甘肃(榆中县、山丹县等),宁夏(中宁县、同心县等)和内蒙古等地枸杞多糖含量均较高^[18];宁夏(中宁县、同心县等),甘肃(民勤县、山丹县等),新疆(精河县等)和陕西、山西、河北等地的枸杞蛋白质含量均较高。甘肃南部、云南西北部、四川北部及西南部的相关州县均是当归适宜产地的集中分布区^[19]。表明药材品质形成评价指标较复杂,影响药材各指标成分的因素也较复杂,仅依靠少数指标成分筛选道地产区存在一定的局限,优质药材的评价应综合多个指标进行整体评价。如能利用尽可能多的活性成分筛选优质产区,仍是可行的。同时,针对天然药物某成分提取物的生产,可基于单成分进行适宜生长区的筛选。

综合来看,本试验品质适宜区的划分,由于采用指标成分较少,对于地属道地产区的划分具有一定的局限性,需扩大活性成分的筛选范围才能有效划分优质产区。但对于两个活性成分提取物所需药材原料的生产,则具有重要的指导意义。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:149.

[2] WANG X, CHEN Y, LI J, et al. Tetrandrine, a novel inhibitor of ether-à-go-go-1 (Eag1), targeted to cervical cancer development[J]. J Cellular Physiol, 2019, 234(5):7161-7173.

[3] ZHANG Y, LIU W, HE W, et al. Tetrandrine reverses epithelial-mesenchymal transition in bladder cancer by downregulating Gli-1[J]. Int J Oncol, 2016, 48(5):

2035-2042.

[4] ZHANG Y, LIANG Y, HE C. Anticancer activities and mechanisms of heat-clearing and detoxicating traditional Chinese herbal medicine[J]. Chin Med, 2017, 12(1):20.

[5] 邓香. 粉防己碱对神经母细胞瘤细胞增殖和迁移、侵袭能力的影响及其机制研究[J]. 中国药房, 2019, 30(2):211-216.

[6] 黄建国. 防己诺林碱抑制前列腺癌PC-3细胞增殖的机制研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2010.

[7] 宋英莉, 王洪一, 马书丹, 等. 防己诺林碱对增生性瘢痕的抑制作用[J]. 中国美容整形外科杂志, 2018, 29(5):297-300.

[8] 李文涛, 黄林芳, 杜静, 等. 基于PLS分析石斛品质与生态因子的相关性[J]. 应用生态学报, 2013, 24(10):2787-2792.

[9] 马阳, 侯娅, 邹立思, 等. 太子参指标成分与气候因子的相关性[J]. 中药材, 2016, 39(8):1723-1727.

[10] 马悦, 李凯, 崔娜, 等. RP-HPLC法同时测定防己中3种生物碱类成分的含量[J]. 化学工程师, 2019, 33(2):24-26.

[11] 宋俊蓉, 娄华勇, 方友来, 等. HPLC法同时测定粉防己中汉防己甲素和汉防己乙素的含量[J]. 山地农业生物学报, 2018, 37(3):79-83.

[12] 黄丽萍, 左坚, 张颖. 不同产地粉防己药材中主要生物碱含量对比研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2010, 12(3):65-67.

[13] 康传志, 周涛, 江维克, 等. 基于气候因子的全国栽培太子参品质区划分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(13):2386-2390.

[14] 王玲娜, 苏征, 刘星劫, 等. 金银花活性成分与生态因子相关性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17):27-31.

[15] 董诚明, 史应强, 马瑜, 等. 生态因子对山茱萸开花习性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8):87-89.

[16] 周国富, 刘金欣, 李晓娟, 等. 黄芩生态适宜性评价及生态因子对5种主要指标性成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20):28-32.

[17] 苏锦松, 赵彩云, 文检, 等. 中国沙棘叶黄酮类成分与生态因子相关性及其生态适宜性研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(10):1865-1870.

[18] 李静, 余意, 郭兰萍, 等. 枸杞子品质区划研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(6):1156-1163.

[19] 严辉, 张小波, 朱寿东, 等. 当归药材生产区划研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(17):3139-3147.

[责任编辑 顾雪竹]