

主成分及聚类分析法对不同产地头花蓼的综合质量评价

潘雯婷¹, 张丽艳^{1*}, 谢宇², 李孟林², 周涛¹, 魏升华¹, 何平¹

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 贵州威门药业股份有限公司, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 综合比较、评价不同产地头花蓼的质量。方法: 采用高效液相色谱法、紫外分光光度法、水溶性浸出物测定法, 对不同产地的 41 个野生及栽培头花蓼中槲皮素、槲皮苷、没食子酸、总黄酮、浸出物进行测定, 并以上述 5 个指标成分的含量为指标, 运用主成分和聚类分析对不同产地的 41 个野生及栽培头花蓼进行综合质量评价研究。结果: 不同产地头花蓼中槲皮素、槲皮苷、没食子酸、浸出物、总黄酮含量有明显差异, 除贵州省毕节县亮岩镇 2 号样品外, 其余样品均达到药用要求。以贵州东部头花蓼药材样品的综合质量较好。结论: 头花蓼样品中所含的上述化学成分受产地、土壤类型影响较大, 受海拔影响较小。其中, 贵州西部地区头花蓼野生资源较为丰富, 但其指标性成分槲皮素含量及综合质量低于贵州东部地区及外省样品; 贵州东部地区头花蓼槲皮素含量较高、综合质量较好, 验证了头花蓼基地建在黔东南施秉的合理性。

[关键词] 头花蓼; 主成分分析; 聚类分析; 质量评价

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0153-05

Comprehensive Quality Evaluation of *Polygonum capitatum* from Different Habitats by Principal Component Analysis and Cluster Analysis Method

PAN Wen-ting¹, ZHANG Li-yan^{1*}, XIE Yu², LI Meng-lin², ZHOU Tao¹, WEI Sheng-hua¹, HE Ping¹

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. Guizhou Warmen Pharmaceutical Company Limited, Guiyang 550000, China)

[Abstract] **Objective:** To compare and evaluate the quality of *Polygonum capitatum* from different habitats. **Method:** Quercetin, quercitrin, gallic acid, general flavone and extractives of 41 wild and cultivated *P. capitatum* were determined by HPLC, UV and water soluble extractive method. Through the content of five indicated ingredients as the index, the quality of 41 wild and cultivated *P. capitatum* was assessed by principal component analysis and cluster analysis method. **Result:** The differences of quercetin, quercitrin, gallic acid, general flavone and extractives among *P. capitatum* from different habitats are significant. In addition to sample 2 from town of Liangyan Bijie County, the remaining samples are up to the medical requirements. The quality of *P. capitatum* in east of Guizhou is the best. **Conclusion:** The chemical composition above in *P. capitatum* is more influenced by the place of origin and the type of soil comparatively than by the elevation. The wild *P. capitatum* in the west Guizhou is widespread, but the content of the indicated ingredient-quercetin-is lower than the east one and other provinces, so reaches the same conclusion to the comprehensive quality. The content and the comprehensive quality of quercetin of *P. capitatum* in the east Guizhou is better, which proves the rationality of GAP base of *P. capitatum* in the southeast Guizhou. This study build up the reference to the quality, excellent provenance selection and GAP production of *P. capitatum*.

[Key words] *Polygonum capitatum*; multi component; cluster analysis; quality evaluation

[收稿日期] 20111108(003)

[基金项目] 黔科合重大专项(20086020); 十一五科技支撑项目(2009BAI74B01-4); 贵阳市科技局项目([2010]筑科农合同字第1中-12号)

[第一作者] 潘雯婷, 在读硕士研究生, 从事中药质量控制与新药研究, Tel: 13639073195, E-mail: panwenting126@126.com

[通讯作者] * 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

头花蓼为蓼科植物头花蓼的干燥全草或地上部分,收载于《贵州省中药材民族药材质量标准》2003 年版,具清热利湿、抗菌消炎、利尿通淋等功效^[1]。

头花蓼是贵州常用苗药,是贵州省中药现代化重点发展的“十大苗药”和重点培育发展的“十大中药产业链”的品种之一。贵州威门药业已在贵州施秉及贵阳乌当区建立了头花蓼规范化种植基地,并通过国家 GAP 认证。

现在有关头花蓼 GAP 种植及化学成分等方面的研究已取得一定成果^[2],但头花蓼药材现行质量标准较为简单,仅以单一成分槲皮素为指标进行评价,无法达到真实、全面反应药材内在品质的目的。为了更好的综合比较、评价不同产地头花蓼的质量,本试验以槲皮素、槲皮苷、没食子酸、浸出物、总黄酮为指标,运用主成分和聚类分析,对贵州、云南等 39 个地区的野生及云南保山、腾冲引种栽培于施秉 GAP 基地的头花蓼药材,共 41 个样品进行综合评价研究,并结合采集地点、土壤类型、海拔等因素来探讨可能导致不同产地头花蓼之间化学成分差异的原因。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪(真空脱气机,自动进样器,四元泵,DAD 检测器),Agilent 1100 液相色谱系统化学工作站。

1.2 试药 槲皮素对照品(批号 100081-200406,含量测定用),没食子酸对照品(批号 110831-200302,含量测定用),槲皮苷对照品(批号 111538-200403,含量测定用),芦丁(批号 110725-200513,含量测定用)由中国药品生物制品检定所提供。甲醇、四氢呋喃、乙腈为色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

1.3 头花蓼药材 41 个不同产地头花蓼药材均为自采。经贵阳中医学院魏升华副教授鉴定为蓼科植物头花蓼 *Polygonum capitatum* Buch.-Ham. ex D. Don 的干燥地上部分。每个样地样本于 40 ℃ 烘干、粉碎、密封保存,见表 1。

2 方法

2.1 头花蓼槲皮素的测定 参照^[1]《贵州省中药材、民族药材质量标准》2003 年版头花蓼项下进行测定。

2.2 头花蓼槲皮苷的测定 参照谢宇^[3]的试验方法进行测定。

2.3 头花蓼没食子酸的测定 参照谢宇^[4]的试验

方法;以水为提取溶剂加热回流 2 h,采用高效液相色谱法,以甲醇-水-*N,N*-二甲基甲酰胺-冰醋酸(1:95:3:1)为流动相,在 272 nm 波长下检测。

2.4 头花蓼浸出物的测定 参照 2010 年版《中国药典》水溶性浸出物测定法(附录 X A)项下的热浸法进行测定。

2.5 头花蓼总黄酮的测定 参照张丽艳^[5]的试验方法进行测定。

2.6 数据处理方法 数据处理主要使用 SPSS 17.0 数据处理软件。

3 结果与分析

3.1 主成分分析用于头花蓼的质量评价 以头花蓼 5 个指标的含量为指标,运用主成分分析对 41 个不同产地头花蓼进行分析评价。第 1 主成分方差贡献率为 61.710%,槲皮素贡献率最大,特征向量为 0.931;第 2 主成分方差贡献率为 17.886%,没食子酸贡献率最大,特征向量为 0.816。前两个主成分方差累计贡献率达到 79.595%,当累计贡献率达到 75% 即认为比较满意^[6],因此,第 1、第 2 主成分即可基本反映总体情况,达到降维的目的(图 1)。根据特征向量,可得到主成分线性组合表达式为:

$$F = 0.6171F_1 + 0.1789F_2, (F_1 = 0.931X_1 + 0.846X_2 + 0.523X_3 + 0.636X_4 + 0.908X_5; F_2 = 0.037X_1 - 0.255X_2 + 0.816X_3 - 0.402X_4 + 0.011X_5)$$

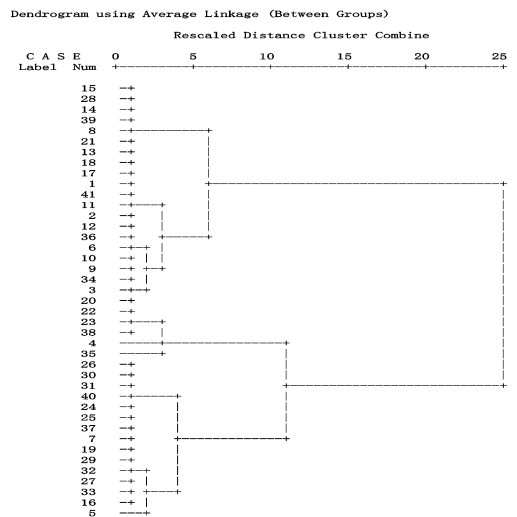


图 1 41 个不同产地头花蓼样品的聚类分析

按上述函数计算出综合主成分值并排序,可得到 41 个头花蓼样品质量综合评价值^[7-9],结果见表 1。槲皮素、槲皮苷、浸出物、总黄酮特征向量的方向相同,与没食子酸特征向量方向相反^[7]。可见槲皮

表1 不同产地头花蓼含量测定结果及主成分排序

No.	采样地点	海拔 /m	土壤	纬度	经度	槲皮素 /%	槲皮苷 /%	没食子酸 /%	浸出物 /%	总黄酮 /%	主成分 评价结果 排序
1	贵州省兴仁县马家屯	1 384	石灰岩风化沙砾土	25°24.533'	105°08.734'	0.362	0.680	0.173	28.851	1.874	6
2	贵州省罗甸罗苏乡	692	黄色沙砾土	25°18.929'	106°33.439'	0.387	0.708	0.202	28.869	3.185	1
3	贵州省石阡县中坝镇	685	黄土	27°28.09'	108°12.45'	0.270	0.486	0.205	27.094	1.624	11
4	贵州省赫章县达依镇	1 445	风化沙砾土	27°12.562'	104°43.320'	0.440	0.773	0.131	16.935	2.749	32
5	云南省师宗县五龙乡	1 380	石灰岩黑色土	24°39.130'	104°10.907'	0.295	0.577	0.147	23.077	2.562	17
6	云南省师宗县高良镇	1 459	黄壤	24°28.574'	104°23.558'	0.376	0.628	0.176	27.255	2.812	8
7	云南省镇雄中屯乡	1 404	黄色石灰土	27°20.696'	104°51.861'	0.344	0.614	0.176	21.693	1.815	24
8	广西省田林县利周乡1号	556	水稻土	24°21.388'	106°22.524'	0.322	0.546	0.179	24.404	2.000	18
9	广西省田林县利周乡2号	1 050	黄色砂砾土	24°23.033'	106°24.563'	0.390	0.799	0.210	26.909	2.250	9
10	广西省田林县浪平乡	1 189	石灰岩黄土	24°29.841'	106°21.152'	0.324	0.693	0.163	27.133	3.312	4
11	广西省乐业县国营林场	958	黄土	24°51.920'	106°34.190'	0.331	0.631	0.167	28.350	2.437	5
12	湖南省古丈县古阳镇	314	石灰岩黄砂砾土	28°35.319'	109°55.308'	0.321	0.540	0.192	29.322	2.937	3
13	重庆市南川区三汇场	588	石灰岩黑沙土	29°04.307'	107°01.435'	0.106	0.160	0.216	25.809	1.250	21
14	四川省兴文县熨山镇	372	黑色土	28°20.484'	105°03.663'	0.248	0.434	0.186	24.434	1.249	22
15	四川省兴文县石海镇	488	黄色石灰土	28°11.642'	105°09.258'	0.451	0.746	0.186	25.089	2.374	12
16	四川省叙永县两河镇	379	黑色砂砾土	28°06.529'	105°22.894'	0.222	0.350	0.161	23.116	1.125	25
17	四川省兴文县古宋镇	375	黄色石灰土	28°18.37'	105°13.03'	0.251	0.619	0.206	26.004	1.625	15
18	四川省高县沙镇	373	黄色石灰土	28°35.22'	104°44.12'	0.209	0.371	0.219	25.658	1.249	19
19	四川省叙永县赤水镇	797	黄色石灰土	27°43.57'	105°34.38'	0.294	0.539	0.271	21.624	1.500	28
20	贵州省雷山县西江镇1号	794	黄色砂砾土	26°31.021'	108°09.479'	0.278	0.627	0.689	27.248	1.251	14
21	贵州省雷山县西江镇2号	819	风化沙土	26°28.130'	108°07.454'	0.196	0.546	0.436	24.509	1.875	20
22	贵州省雷山县单江镇	855	石灰岩黄色砂砾土	26°21.691'	108°04.211'	0.174	0.432	0.439	28.021	1.250	13
23	贵州省毕节县亮岩镇1号	986	黄棕壤	27°34.968'	105°29.340'	0.114	0.214	0.833	17.290	0.875	40
24	贵州省毕节县亮岩镇2号	1 066	黄色砂砾土	27°35.645'	105°29.495'	0.076	0.110	1.024	19.494	0.75	39
25	贵州省毕节县亮岩镇3号	1 126	灰棕色沙土	27°36.136'	105°29.297'	0.124	0.404	0.334	18.948	0.75	38
26	贵州省盘县柏果镇	1 516	砂岩砂砾土	25°02.258'	104°30.661'	0.174	0.468	1.043	19.983	1.000	36
27	贵州省盘县水塘镇	1 561	黄色石灰土	25°39.847'	104°36.039'	0.202	0.389	0.677	22.752	1.125	31
28	贵州省盘县刘官镇	1 475	风化砂砾土	25°49.232'	104°44.407'	0.274	0.533	0.335	25.170	2.250	16
29	贵州省晴隆县沙子镇1号	1 341	石灰岩砂砾土	25°48.865'	105°11.003'	0.246	0.541	1.112	22.201	1.875	26
30	贵州省晴隆县鸡场镇2号	1 222	黄砂砾土	25°48.369'	105°13.645'	0.156	0.462	0.590	20.418	1.000	35
31	贵州省兴义市则戎乡1号	1 178	石灰岩黄土	24°53.272'	104°57.029'	0.171	0.494	0.295	20.561	1.624	32
32	贵州省兴义市则戎乡2号	1 228	石灰岩黄土	24°53.848'	104°57.497'	0.212	0.595	0.450	22.011	1.499	29
33	施秉引种于云南腾冲	934	黄土,产地火山 岩黑土	27°08.149'	107°56.451'	0.300	0.697	0.407	22.542	1.375	27
34	施秉引种于云南保山	934	黄土,产地石灰 岩黑土	27°08.149'	107°56.451'	0.364	0.987	0.794	26.766	1.874	10
35	贵州省水城县鸡场乡	1 185	黄色砂砾土	26°16.069'	104°41.224'	0.113	0.353	0.616	15.420	0.750	41
36	贵州省凯里市三棵树镇	695	黄色砂砾土	26°33.800'	108°07.641'	0.396	0.896	0.625	28.221	3.502	2
37	贵州省纳雍县沙包乡	1 262	褐色砂砾土	26°49.142'	105°23.460'	0.228	0.662	0.689	19.231	1.750	34
38	贵州省普安县江西坡镇	1 358	黄色沙土	25°47.904'	105°03.663'	0.274	0.443	0.436	18.055	1.000	37
39	贵州省黔西关门山	1 087	硅铝质砂砾土	27°13.88'	106°14.350'	0.216	0.436	0.439	24.819	1.25	23
40	贵州省高坡石门	1 344	黄色砂砾土	25°43.765'	105°21.003'	0.318	0.618	0.833	20.299	2.000	30
41	贵州省龙里县湾寨	1 256	黄色砂砾土	25°46.865'	105°73.033'	0.260	0.718	1.024	29.037	2.126	7

素、槲皮苷、浸出物、总黄酮之间为正相关关系,分别都与没食子酸成负相关关系(表 2)。

表 2 变量总体描述

项目	1	2	3	4	5
特征根	0.617 1	0.178 860	0.133 530	0.048 0	0.022 5
方差贡献率%	61.71	17.886	13.353	4.802	2.249
方差累积贡献率%	61.71	79.595	92.494	97.751	100
槲皮素特征向量 X_1	0.931	0.037	-0.224	0.128	-0.254
槲皮苷特征向量 X_2	0.846	-0.255	-0.394	0.153	0.203
没食子酸特征向量 X_3	0.523	0.816	0.206	0.106	0.079
浸出物特征向量 X_4	0.636	-0.402	0.648	0.119	0.010
总黄酮特征向量 X_5	0.908	0.011	0.024	-0.418	0.019

3.2 头花蓼质量评价的聚类分析 以头花蓼 5 个指标的含量为指标,采用 Euclidean distance 系数对不同产地头花蓼质量指标进行聚类分析。分析结果见图 2,当阈值为 15 时,41 个不同产地头花蓼样品被聚为两组:四川兴文县石海镇、贵州盘县刘官镇、四川兴文县夔王山镇、贵州黔西县关门山、广西田林县利周乡 1 号、贵州雷山县西江镇 2 号、重庆市南川区三汇场、四川高县沙镇、四川兴文县古宋镇、贵州兴仁县马家屯、贵州龙里县湾寨、广西乐业县国营林场、贵州罗甸罗苏乡、湖南古丈县古阳镇、贵州凯里市三棵树镇、云南师宗县高良镇、广西田林县浪平乡、广西田林县利周乡 2 号、施秉引种于云南保山、贵州石阡县中坝镇、贵州雷山县西江镇 1 号、贵州雷山县单江镇聚为 I 组,其余样品聚为 II 组。

为贵州西部地区的样品,综合质量评价排序在 24~41,综合质量评价价值较低。贵州西部地区的样品较多,反映了此地区头花蓼野生资源较为丰富,但通过综合质量评价,此区头花蓼综合质量评价价值较低,明显低于贵州东部地区及外省样品。

3.3 头花蓼化学指标与地理分布的相关性评价 为进一步研究头花蓼化学成分与地理分布之间的关系,应用 SPSS 17.0 对头花蓼中五指标含量与其所在地地理分布进行相关分析。结果显示:除槲皮苷外其余四指标与不同产地、土壤类型相关性显著。说明不同产地、土壤类型对头花蓼化学指标具有一定的影响,海拔高度与浸出物的相关性显著。结果见表 3。

表 3 头花蓼化学指标与地理位置的相关性

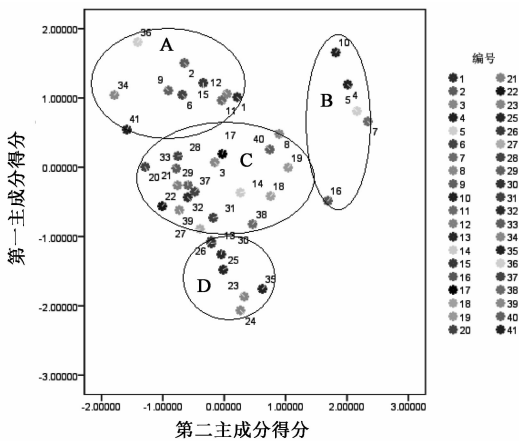
地理分布	没食子酸	槲皮素	槲皮苷	浸出物	总黄酮
不同采样地	-0.654 ¹⁾	-0.390 ¹⁾	-0.049	-0.362 ¹⁾	-0.372 ¹⁾
海拔	-0.108	-0.033	0.085	-0.406 ¹⁾	-0.023
土壤类型	-0.394 ¹⁾	-0.054 ¹⁾	-0.655	-0.364 ¹⁾	-0.374 ¹⁾

注: ¹⁾ 在 95% 的置信度下相关性显著。

以主成分分析为基础,运用 SPSS 17.0 软件,各采样点的第 1 和第 2 主成分得分系数生成散点图,结果见图 2。结果显示:A, B 两组多为外省样品,且槲皮素、槲皮苷、浸出物、总黄酮含量均较高,没食子酸含量较低。C, D 两组多为贵州省内样品,没食子酸含量较高,槲皮素、槲皮苷、浸出物、总黄酮含量较低。且 C, D 两组样品较为集中在贵州省西部地区,形成此种聚集可能与不同地理环境有关。本实验的头花蓼采自贵州、四川、重庆、云南、广西、湖南六省 41 个地区。除湖南外均位于云贵高原地区,是我国地形分布的第二级阶梯,西高东低使得来自太平洋的暖湿气流可以自东向西爬升,给此地区带来大面积降水,形成亚热带季风气候。头花蓼种子是以人畜和风力散布,贵州典型的喀斯特地貌所形成的地理隔离,可能对头花蓼种质资源交流产生了一定影响^[8]。头花蓼样品在此地区较为集中的聚集,可以推测地理环境对头花蓼药材影响较大。

4 讨论

运用主成分分析和聚类分析对 41 个不同产地头花蓼进行分析评价。结果表明不同产地头花蓼药材中槲皮素、槲皮苷、没食子酸、浸出物、总黄酮含量有明显差异,其中以贵州省凯里市三棵树镇、贵州省罗甸县罗苏乡等样品综合质量较好。以槲皮素单一指标来看,除贵州省毕节县亮岩镇 2 号的样品槲皮素含量低于 0.1% 外^[1],其余样品均达到药用要求。



A, B. 多为外省样品; C, D. 多为贵州省样品
图 2 41 个不同产地头花蓼样品的散点图

结合主成分分析和聚类分析的结果可以看出,第 I 组多为贵州东部地区及外省样品,综合质量评价排序在 1~23,综合质量评价价值较高;第 II 组多

头花蓼原有质量标准较为简单,建议采用多指标综合评价与药效作用相结合的方法对头花蓼进行质量控制。

王祥培^[10-11]等用 HPLC 测定不同产地的头花蓼中槲皮苷、没食子酸的含量,得出贵州施秉头花蓼中槲皮苷含量较高、贵州剑河头花蓼中没食子酸含量较高。周涛^[12]等对不同地理种源头花蓼中没食子酸的含量进行分析,得出贵州东部地区没食子酸含量要略高于西部地区。本文首次以多指标对头花蓼进行综合评价得出凯里样品综合质量较好,此地区属于贵州东部地区,与文献报道结果一致。头花蓼国家级 GAP 基地就建在贵州东部地区施秉县,此研究结果进一步验证了基地选址的正确性,云南保山、腾冲引种栽培于施秉 GAP 基地的头花蓼药材综合质量评价排序为 10,27,高于大多数野生药材,可见栽培品质量较为稳定、可控。建议今后可在贵州东部地区大力发展头花蓼种植。而罗甸地区样品为首次采集,以前未见文献报道,应进一步对此地区头花蓼进行跟踪调查研究。

运用相关性分析,头花蓼样品中化学成分受产地和土壤类型的影响较大,海拔对头花蓼的化学成分含量影响较小。因此,有效成分与生境之间的关联关系值得进一步研究,这对于提高栽培品的质量具有实际意义。

[参考文献]

- [1] 贵州省食品药品监督管理局. 贵州省中药材民族药材质量标准[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2003:147.
[2] 孙长生,韩见宇,杨锦纲,等. 头花蓼 GAP 种植基地的

- 环境质量评价[J]. 中药研究与信息,2005,7(2):27.
[3] 谢宇,张丽艳,梁斌,等. HPLC 法测定头花蓼及制剂热淋清颗粒中槲皮苷的含量[J]. 中国中药杂志,2009,34(8):984.
[4] 谢宇. 贵州苗药头花蓼及制剂多指标质量控制方法研究[D]. 贵阳:贵阳中医学院药理学系,2009.
[5] 张丽艳,杨玉琴,高言明,等. 贵州不同产地、不同物候期头花蓼中总黄酮的动态变化研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(9):889.
[6] 王芳. 主成分分析与因子分析的异同比较及应用[J]. 统计教育,2003(5):141.
[7] 张南,赵国巍,钟绍金,等. 主成分分析和聚类分析法用于微晶纤维素分类[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):4.
[8] 崔红花,高幼衡,蔡鸿飞,等. 主成分分析对佛手最佳产地的探讨[J]. 广州中医药大学学报,2009,29(3):281.
[9] 焦阳,尹海波,张乐,等. 基于 ICP-MS 对不同产地葛头无机元素的主成分分析和聚类分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):68.
[10] 杨立勇,王祥培,吴红梅,等. HPLC 测定不同产地的头花蓼中槲皮苷的含量[J]. 贵阳中医学院学报,2009,31(4):67.
[11] 王祥培,万德光,王强,等. HPLC 测定不同产地的头花蓼中没食子酸的含量[J]. 华西药理学杂志,2007,22(2):204.
[12] 周涛,艾强,王彦君,等. 基于不同地理种源头花蓼中没食子酸的含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):49.

[责任编辑 蔡仲德]