

ROC 曲线方法确定恒山仿野生黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量限度

曹庆伟^{1,2,3}, 张瑞^{1,2,3}, 李科^{1,3*}, 李爱平^{1,3}, 刘月涛^{1,3}, 秦雪梅^{1,3*}

(1. 山西大学 中医药现代研究中心, 太原 030006;

2. 山西大学 化学化工学院, 太原 030006;

3. 山西大学 地产中药药效物质研究与利用山西省重点实验室,
化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030006)

[摘要] 目的:探索确立黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量限度的受试者工作特征(ROC)曲线数理统计方法,以区分山西恒山仿野生芪与甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差异。方法:选取 45 批共 225 个山西恒山仿野生芪样本与 42 批共 210 个甘肃移栽芪样本为研究对象,采用 2015 年版《中国药典》黄芪项下毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定方法测定黄芪样本毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量。统计分析数据并采用 ROC 曲线判定山西恒山仿野生芪与甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷临界值。结果:恒山仿野生芪和甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷平均质量分数分别为 0.107% 和 0.039%,两者差异有统计学意义($P < 0.01$)。ROC 曲线判定恒山仿野生芪与甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数差异的临界值为 0.069%。该曲线的灵敏度为 100%,特异度为 93.33%,模型诊断准确率为 0.978,说明预测结果准确。结论:ROC 曲线法可确定山西恒山仿野生芪与甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷临界值,提高恒山仿野生芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量限度,体现市场“优质优价”规律,为建立优质黄芪中药材标准提供理论基础。

[关键词] 黄芪; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; ROC 曲线; 方法分析; 含量限度

[中图分类号] R284.1;R2-031;R22;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)12-0158-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191311

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190305.1645.003.html>

[网络出版时间] 2019-03-07 9:56

Determination of Content Limit of Isoflavone Glucoside of Hengshan Wild-simulated Astragali Radix by ROC Curve Method

CAO Qing-wei^{1,2,3}, ZHANG Rui^{1,2,3}, LI Ke^{1,3*}, LI Ai-ping^{1,3},

LIU Yue-tao^{1,3}, QIN Xue-mei^{1,3*}

(1. *Modern Research Center of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shanxi University, Taiyuan 030006, China;*

2. *School of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;*

3. *Shanxi Key Laboratory of Research and Utilization of Functional Substances in TCM, Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering under Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)*

[Abstract] **Objective:** To explore the receiver operating characteristic (ROC) curve mathematical

[收稿日期] 20181117(006)

[基金项目] 山西省优秀人才科技创新项目(201605D211030,201705D211020);山西省重点研发计划重点项目(201603D311101);国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-JIN-34);山西省科技攻关项目(2014ZD0401);国家自然科学基金项目(81872962)

[第一作者] 曹庆伟,在读硕士,从事中药质量控制研究,E-mail: 936029876@qq.com

[通信作者] *李科,副教授,从事中药质量控制控制及创新药物研究,Tel:0351-7019297,E-mail: like@sxu.edu.cn;

*秦雪梅,教授,从事中药质量控制与新药研发,Tel:0351-7018379,E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

statistics method to establish the content limit of isoflavones glucoside contents in Astragali Radix, in order to distinguish the difference in isoflavones glucoside content between Hengshan wild-simulated Astragali Radix in Shanxi and cultivated Astragali Radix in Gansu. **Method:** A total of 225 samples of 45 batches of wild-simulated Astragali Radix in Hengshan and 210 samples of 42 batches of cultivated Astragali Radix in Gansu were selected as research objects, and isoflavones glucoside contents of these samples were determined by using the method in the edition 2015 *Chinese Pharmacopoeia*. Data was statistically analyzed, and the ROC curve was used to determine the critical value of wild-simulated Astragali Radix in Hengshan and transplanted Astragali Radix in Gansu. **Result:** The average contents of isoflavones glucoside in imitative wild Astragali Radix in Hengshan and cultivated Astragali Radix in Gansu were 0.107% and 0.039% respectively, with statistically significant differences ($P < 0.01$). The ROC curve had a critical value of 0.069%, and its sensitivity and specificity was 100% and 93.33%, and its model diagnostic accuracy was 0.978, which indicated accurate prediction results. **Conclusion:** ROC curve can be used to distinguish the critical value of the wild-simulated Astragali Radix in Hengshan and cultivated Astragali Radix in Gansu. The results reflected the regularity of "high quality and good price" in the market. The research provided a theoretical basis for the establishment of standard of high-quality Chinese herbal medicines.

[**Key words**] Astragali Radix; isoflavones glucoside; ROC curve; method analysis; content limit

黄芪为常用大宗类药材,具有补气固表、利尿脱毒等功效。黄芪中主要成分为黄酮类、皂苷类、多糖类等,其中黄酮类成分具有调节免疫、抗炎、保肝、清除氧自由基等药理作用^[1],是黄芪药材的主要活性成分。2015年版《中国药典》将毛蕊异黄酮葡萄糖苷定为含测指标来评价黄芪药材质量,其含量限度为 0.02%^[2]。依据 2015 年版《中国药典》质量标准研究原则,此含量限度设定标准为选取全国市场不同规格等级黄芪药材 30 批左右,测定含量后选取含量平均值下浮 20% 为限度值。此限度为最低限度即合格限度,目的为使尽量多的黄芪药材达标。作为药品合格标准的 2015 年版《中国药典》,此限度确立方法符合中国国情。然而,这样的合格限度值却无法体现不同规格等级黄芪药材质量差异^[3-4]。

中药材市场素有“看货评级、分档议价”之说,说明中药材市场有质量优劣之分。目前,商品黄芪以蒙古黄芪为主,主要分为仿野生黄芪和移栽黄芪。主产于山西浑源、应县等地的恒山仿野生黄芪(生长期 6 年以上)价格远远高于甘肃移栽黄芪(2 年生)。2015 年版《中国药典》毛蕊异黄酮葡萄糖苷合格限度并不能评价 2 类黄芪药材质量优劣。已有多篇文献报道^[5-6]及本课题组前期发现^[7]恒山仿野生黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量显著高于甘肃移栽黄芪,本课题组在承担国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-JIN-34)研究中,通过测定比较 45 批共 225 个山西恒山仿野生黄芪样本与 42 批共 210 个甘肃移栽黄芪有效成分含量差异,结果显示恒山仿野生黄芪

毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量明显高于甘肃移栽黄芪,而黄芪甲苷与浸出物等含量差异不明显,说明毛蕊异黄酮葡萄糖苷可以作为区分恒山仿野生黄芪与甘肃移栽黄芪的有效成分。因此为了体现恒山仿野生黄芪道地性特点,应提升毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量限度,从含量差异区分恒山仿野生黄芪与甘肃移栽黄芪。

如何确定优质药材的含量限度,一直是困扰中药质量控制研究者的问题。因某一成分的含量值在不同的样品中是连续变化的,即野生药材有含量低的批次,栽培药材也有含量高的批次,无法确立一个绝对临界值。基于此,本文引入一种全新的数据统计方法 ROC 曲线^[8-10]来区分恒山仿野生黄芪与甘肃移栽黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差异。ROC 曲线不固定分类界值,允许中间状态存在,利于使用者结合专业知识,权衡漏诊与误诊的影响,选择一更佳截断点作为诊断参考值。目前 ROC 曲线广泛应用于临床诊断试验与数理模型的建立^[11-13],ROC 曲线可以将 2 组不同样本含量数据导入 Graphpad Prism 6 软件中的 ROC 曲线分析,所绘制三角形曲线,并可生成灵敏度、特异度分析表。依据灵敏度与特异度之和最大值选择临界值,依据 ROC 曲线下面积判定方法的准确性。ROC 曲线所围面积越大,试验的准确性就越高。最靠近左上角的 ROC 曲线的点是错误最少的最佳阈值,其假阳性和假阴性的总数最少。故 ROC 曲线确定临界值的方法可用于探索确定山西恒山仿野生黄芪与甘肃移栽黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷最佳临界值,提高山西恒山仿野生黄

芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量限度, 以为黄芪市场的优质低价提供依据。

1 材料

2489 型高效液相色谱仪(包括 2489 紫外检测器, 美国 Waters 公司); BSA124S 型 1/1 万, CPA 225D 型 1/10 万分析天平(德国 Sartorius 公司); HH-S4 型恒温数显水浴锅(常州国宇仪器制造有限公司); Milli-Q Gradient A 10 型超纯水仪(密理博上海贸易有限公司); DHG-9030A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷(江苏永健医药科技有限公司, 批号 101355, 纯度 > 98%); 甲醇、甲酸(分析纯, 国药公司), 乙腈(色谱纯, 赛默飞世尔科技有限公司); 黄芪药材样本由本课题小组于 2017 年 5 月, 前往山西浑源、应县及甘肃渭源、岷县、陇西等产地收集。样品信息见表 1, 2(黄芪药材等级参照《中华中医药学会团体标准-黄芪(恒山黄芪等级划分以绝对年限为主)》《山西省地方标准-黄芪》与产地实际购买情况); 黄芪样品经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的干燥根, 药材样品留存于山西大学中医药现代研究中心样品库。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Venuil MP C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 260 nm, 进样量 10 μL, HPLC 色谱图见图 1。理论板数按毛蕊异黄酮葡萄糖苷峰计不低于 7 000, 分离度 > 1.5。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品 12.54 mg, 置于 250 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 得到质量浓度为 50.16 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过四号筛)约 1 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 4 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 回收溶剂至干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系考察 称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解配制成每 1 mL 含有毛蕊异黄酮葡萄糖苷 1.018 mg 的储备液, 然后依次稀释成 0.010 8, 0.021 6, 0.108, 0.216, 0.509 g·L⁻¹ 对照品溶液。按照上述色谱条件进行

表 1 山西恒山仿野生芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数(n = 5)
Table 1 Isoflavones glucoside content of Hengshan wild-simulated Astragali Radix(n = 5)

产地	等级	毛蕊异黄酮葡萄糖苷/%
山西浑源	特等	0.094
山西浑源	特等	0.073
山西浑源	特等	0.106
山西浑源	特等	0.152
山西浑源	特等	0.221
山西浑源	特等	0.117
山西浑源	一等	0.112
山西浑源	一等	0.122
山西浑源	一等	0.097
山西浑源	一等	0.227
山西浑源	一等	0.157
山西浑源	一等	0.209
山西浑源	二等	0.081
山西浑源	二等	0.177
山西浑源	二等	0.078
山西浑源	二等	0.179
山西浑源	二等	0.138
山西浑源	二等	0.105
山西浑源	三等	0.057
山西浑源	三等	0.081
山西浑源	三等	0.080
山西浑源	三等	0.090
山西浑源	三等	0.097
山西浑源	三等	0.184
山西浑源	四等	0.070
山西浑源	四等	0.080
山西浑源	四等	0.069
山西浑源	四等	0.082
山西浑源	四等	0.147
山西浑源	四等	0.072
山西应县	特等	0.096
山西应县	特等	0.070
山西应县	特等	0.072
山西应县	一等	0.171
山西应县	一等	0.091
山西应县	一等	0.137
山西应县	二等	0.078
山西应县	二等	0.071
山西应县	二等	0.090
山西应县	三等	0.070
山西应县	三等	0.073
山西应县	三等	0.071
山西应县	四等	0.047
山西应县	四等	0.034
山西应县	四等	0.074

表 2 甘肃移栽芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数 (n = 5)

Table 2 Isoflavones glucoside content of Gansu cultivated Astragali Radix (n = 5)

产地	等级	毛蕊异黄酮葡萄糖苷/%
甘肃渭源	特等	0.041
甘肃渭源	特等	0.022
甘肃渭源	特等	0.067
甘肃渭源	一等	0.068
甘肃渭源	一等	0.031
甘肃渭源	一等	0.049
甘肃渭源	二等	0.032
甘肃渭源	二等	0.067
甘肃渭源	二等	0.060
甘肃渭源	三等	0.053
甘肃渭源	三等	0.036
甘肃渭源	三等	0.040
甘肃渭源	四等	0.029
甘肃渭源	四等	0.032
甘肃渭源	四等	0.066
甘肃岷县	特等	0.026
甘肃岷县	特等	0.058
甘肃岷县	特等	0.012
甘肃岷县	一等	0.026
甘肃岷县	一等	0.099
甘肃岷县	一等	0.036
甘肃岷县	二等	0.067
甘肃岷县	二等	0.023
甘肃岷县	二等	0.045
甘肃岷县	三等	0.039
甘肃岷县	三等	0.050
甘肃岷县	三等	0.019
甘肃岷县	四等	0.037
甘肃岷县	四等	0.050
甘肃岷县	四等	0.046
甘肃陇西	特等	0.046
甘肃陇西	特等	0.026
甘肃陇西	特等	0.024
甘肃陇西	一等	0.030
甘肃陇西	一等	0.028
甘肃陇西	一等	0.038
甘肃陇西	二等	0.018
甘肃陇西	二等	0.037
甘肃陇西	二等	0.022
甘肃陇西	三等	0.030
甘肃陇西	三等	0.046
甘肃陇西	三等	0.025

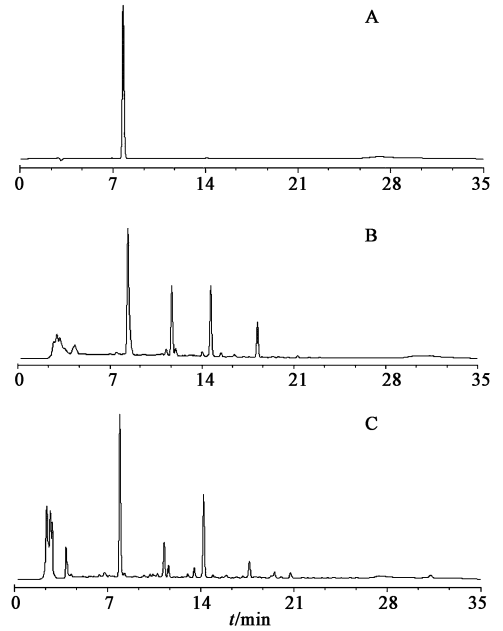


图 1 毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品 (A), 恒山仿野生黄芪样品 (B) 和甘肃移栽芪样品 (C) 的 HPLC

Fig.1 HPLC of reference content isoflavones glucoside (A) and Hengshan wild-simulated Astragali Radix sample (B) and Gansu cultivated Astragali Radix sample (C)

分析,取上述溶液各 10 μL ,分别注入高效液相色谱仪。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。得到毛蕊异黄酮葡萄糖苷线性方程为 $Y = 3\,734.3X - 13\,109$ ($R^2 = 0.999\,3$),结果显示,毛蕊异黄酮葡萄糖苷在 0.101 8 ~ 10.18 μg 线性关系良好。

2.5 数据处理方法 将所测 87 批黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量导入 SPSS 16.0 中,分别寻找 2 种植方式黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量异常值,计算描述性统计及数值分布范围;运用 Graphpad Prism 6 软件中 ROC 曲线分析寻找山西恒山仿野生黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷限度。

2.6 毛蕊异黄酮葡萄糖苷测定 黄芪样品测定结果见表 1,2。

2.7 山西恒山仿野生黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量数据分析 共测定 45 批山西浑源与应县恒山山脉不同等级黄芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量。使用 SPSS 16.0 对 45 批黄芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量进行统计学分析。箱图分析见图 2,45 批数据无异常值。描述统计探索分析见图 3 和表 3,45 批数据呈现正态分布,95% 的数值集中在 0.092% 到 0.121%,平均值质量分数为 0.107%。

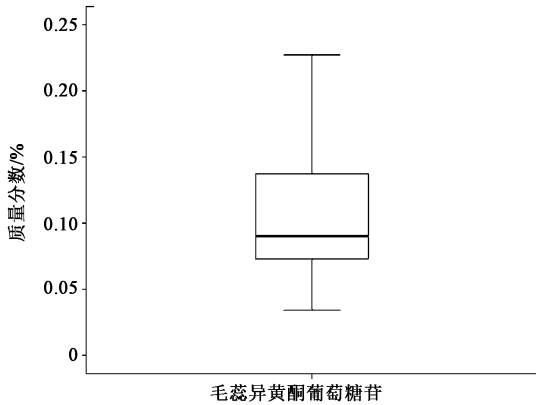


图 2 恒山仿野生芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含测箱
Fig. 2 Box-plot of content of isoflavones glucoside in Hengshan wild-simulated Astragali Radix

2.8 甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量数据分析 测定了甘肃 3 个产地 42 批黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量。使用 SPSS 16.0 对 42 批黄芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量进行统计学分析。箱图分析见图 4, 岷县一等 2 为 0.099%, 含量太高, 大于均值加 3 SD 值, 属于异常值。剔除异常值后, 对剩下的 41 批药材重新进行描述统计探索, 分析结果见图 5 和表 4, 41 批药材的平均值为 0.039%, 95% 的数值处在 0.034% ~ 0.044%。

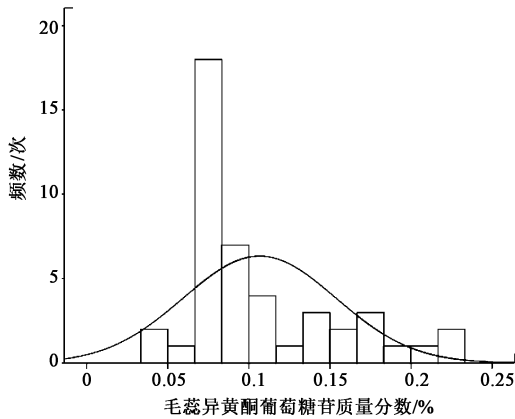


图 3 恒山仿野生芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含测数据柱状
Fig. 3 Bar-chart of content of isoflavones glucoside in Hengshan wild-simulated Astragali Radix

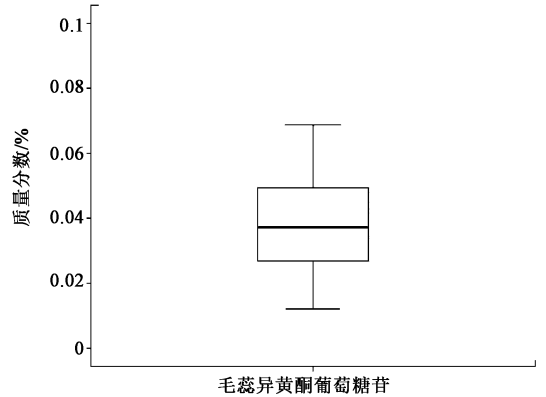


图 4 甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含测箱
Fig. 4 Box-plot of content of isoflavones glucoside in Gansu cultivated Astragali Radix

表 3 恒山仿野生芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量描述性统计
Table 3 Descriptive statistics of content of isoflavones glucoside Hengshan wild-simulated Astragali Radix

参数	统计量	标准误差
均值	0.106 587	0.007 033 9
均值的 95% 置信区间	下限	0.092 411
	上限	0.120 763
5% 修整均值	0.103 737	
中值	0.090 000	
方差	0.002	
标准差	0.047 184 8	
极小值	0.034 0	
极大值	0.227 2	
范围	0.193 2	
四分位距	0.064 9	
偏度	1.076	0.354
峰度	0.335	0.695

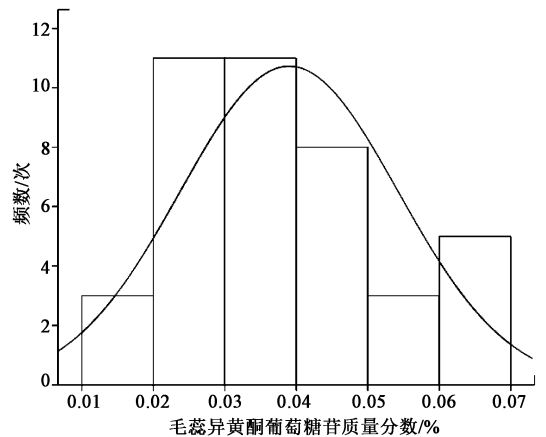


图 5 甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含测数据柱状
Fig. 5 Bar-chart of content of isoflavones glucoside in Gansu cultivated Astragali Radix

2.9 不同等级黄芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量比较 本文比较不同等级黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量, 其中山西恒山仿野生黄芪等级划分依据为绝对生长年限(特等黄芪主要为 5 年生以上; 一等主要分布在 4 ~ 5 年; 二等主要分布在 3 ~ 4 年; 三等主要分布在 2 ~ 3 年; 四等主要分布在 1 ~ 2 年)。甘肃移栽黄芪均为 2 年生, 等级按照直径大

表 4 甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量描述性统计

Table 4 Descriptive statistics of content of isoflavone glucoside in Gansu cultivated Astragali Radix

参数	统计量	标准误差
均值	0.038 993	0.002 381 5
均值的 95% 置信区间	下限	0.034 180
	上限	0.043 806
5% 修整均值	0.038 697	
中值	0.037 000	
方差	0.000	
标准差	0.015 248 7	
极小值	0.012 1	
极大值	0.068 7	
范围	0.056 6	
四分位距	0.022 7	
偏度	0.506	0.369
峰度	0.621	0.724

小来划分。不同等级黄芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量比较见表 5, 浑源与应县毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量高低依次为一等、特等、二等、三等、四等。特等并不是含量最高的, 原因是特等黄芪药材生长年限较长, 中心木质部分腐朽程度较高, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量随之下降(毛蕊异黄酮葡萄糖苷主要集中在木质部), 见图 6。此结果提示在采挖黄芪时, 生长年限并非越久越好, 应在黄芪生长 4 到 5 年采挖最佳。这与高四云等^[14]所得结论一致。甘肃岷县、渭源、陇西含量与等级无相关性。由此结果可知, 生长年限对黄芪药材中化学成分含量影响较大。

表 5 各个产地不同等级黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数

Table 5 Content of isoflavones glucoside in different grades of Astragali Radix %

产地	特等	一等	二等	三等	四等
浑源	0.127	0.157	0.126	0.098	0.087
应县	0.079	0.133	0.080	0.071	0.051
渭源	0.043	0.049	0.053	0.043	0.042
岷县	0.032	0.031	0.045	0.036	0.044
陇西	0.032	0.032	0.030	0.034	-

2.10 ROC 曲线确定临界值及对异常值的分析

2.10.1 ROC 曲线确定含量限度分析 将山西恒山仿野生黄芪与甘肃移栽黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量分成 2 组导入 Graphpad Prism 6 软件中, 点击 Analyze 中 ROC curve 进行分析, 结果见表 6, 7 和



图 6 不同等级恒山仿野生芪药材木质部腐朽程度

Fig. 6 Oegree of decay in different grades Hengshan wild-simulated Astragali Radix xylem

图 7。由表 6 可知 2 组数据毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量存在显著性差异 ($P < 0.01$)。ROC 曲线下面积为 0.978, 明显 > 0.9 , 说明此结果可信度高。可用于评价 2 类黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差异, 找到最佳临界值对 2 类黄芪进行区分。由表 7 可知, 灵敏度与特异度之和最高值所对应毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数为 0.069% (最佳临界值为灵敏度和特异度之和所对应的含量)。其对应的灵敏度与特异度之值分别为 100% 与 93.33%。故在 2015 年版《中国药典》的基础上, 本文将恒山仿野生芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量限度提高到 0.069% (2015 年版《中国药典》毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量限度为 $> 0.02\%$)。体现中药材市场“优质优价”规律。为大力发展优质道地中药材提供理论基础。

表 6 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 ROC 曲线参数

Table 6 Parameter of ROC curve in isoflavones glucoside

ROC 曲线参数	结果
面积	0.978
标准误差	0.015
95% 置信区间	0.949 0 ~ 1.007
P	< 0.01

2.10.2 山西恒山仿野生芪异常值的分析 将山西恒山仿野生芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量限度提升到 0.069%, 45 批山西恒山仿野生芪药材中有 3 批含量不合格, 观察留样药材发现, 不合格的 3 批黄芪药材中心腐朽程度较高。文献报道, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷主要存在于木质部, 木质部腐朽程度越高, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量越低^[15]。此结果显示, ROC 曲线不仅可以区别 2 类黄芪最佳临界值, 还可以对异常值进行分析验证, 找到异常原因, 对 ROC 曲线分析结果作进一步论证。

表 7 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 ROC 曲线灵敏度、特异度分布

Table 7 Sensitivity and specificity distribution table of isoflavones glucoside ROC curve

%

毛蕊异黄酮 葡萄糖苷质量分数	灵敏度	特异度	灵敏度加特异度	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷质量分数	灵敏度	特异度	灵敏度加特异度
<0.015 0	2.439	100	102.439	<0.067 4	95.12	93.33	188.45
<0.018 3	4.878	100	104.878	<0.068 25	97.56	93.33	190.89
<0.020 45	7.317	100	107.317	<0.069	100	93.33	193.33
<0.022 25	9.756	100	109.756	<0.069 5	100	91.11	191.11
<0.022 8	12.2	100	112.2	<0.069 65	100	88.89	188.89
<0.023 8	14.63	100	114.63	<0.070 2	100	84.44	184.44
<0.024 65	17.07	100	117.07	<0.070 8	100	82.22	182.22
<0.025 65	19.51	100	119.51	<0.071 60	100	80	180
<0.026 4	21.95	100	121.95	<0.072 55	100	77.78	177.78
<0.026 65	24.39	100	124.39	<0.072 9	100	73.33	173.33
<0.027 55	26.83	100	126.83	<0.073 7	100	71.11	171.11
<0.028 65	29.27	100	129.27	<0.075 95	100	68.89	168.89
<0.029 45	31.71	100	131.71	<0.077 85	100	66.67	166.67
<0.030 1	34.15	100	134.15	<0.079 25	100	64.44	164.44
<0.030 55	36.59	100	136.59	<0.080 45	100	60	160
<0.031 75	39.02	100	139.02	<0.080 95	100	57.78	157.78
<0.032 75	41.46	100	141.46	<0.081 65	100	55.56	155.56
<0.033 35	43.9	100	143.9	<0.085 75	100	53.33	153.33
<0.033 95	46.34	100	146.34	<0.089 75	100	51.11	151.11
<0.034 9	46.34	97.78	144.12	<0.090 25	100	48.89	148.89
<0.036 4	48.78	97.78	146.56	<0.092 2	100	46.67	146.67
<0.037 15	51.22	97.78	149	<0.094 75	100	44.44	144.44
<0.037 5	53.66	97.78	151.44	<0.096 2	100	42.22	142.22
<0.038 3	56.1	97.78	153.88	<0.096 85	100	40	140
<0.039 4	58.54	97.78	156.32	<0.100 8	100	37.78	137.78
<0.040 5	60.98	97.78	158.76	<0.105 3	100	35.56	135.56
<0.043 15	63.41	97.78	161.19	<0.109 0	100	33.33	133.33
<0.045 25	65.85	97.78	163.63	<0.114 4	100	31.11	131.11
<0.045 7	68.29	97.78	166.07	<0.119 5	100	28.89	128.89
<0.046 15	70.73	97.78	168.51	<0.129 8	100	26.67	126.67
<0.046 7	73.17	97.78	170.95	<0.137 7	100	24.44	124.44
<0.048 2	73.17	95.56	168.73	<0.142 5	100	22.22	122.22
<0.049 3	75.61	95.56	171.17	<0.149 5	100	20	120
<0.049 55	78.05	95.56	173.61	<0.154 4	100	17.78	117.78
<0.051 75	80.49	95.56	176.05	<0.164 0	100	15.56	115.56
<0.055 3	82.93	95.56	178.49	<0.174 1	100	13.33	113.33
<0.057 45	82.93	93.33	176.26	<0.177 9	100	11.11	111.11
<0.058 6	85.37	93.33	178.7	<0.181 4	100	8.889	108.889
<0.062 3	87.8	93.33	181.13	<0.196 5	100	6.667	106.667
<0.066 15	90.24	93.33	183.57	<0.214 6	100	4.444	104.444
<0.066 9	92.68	93.33	186.01	<0.223 7	100	2.222	102.222

注:特异度与灵敏度之和最大值为临界值,表格中特异度与灵敏度之和最大值所对应值为 0.069%,故 0.069% 为临界值。

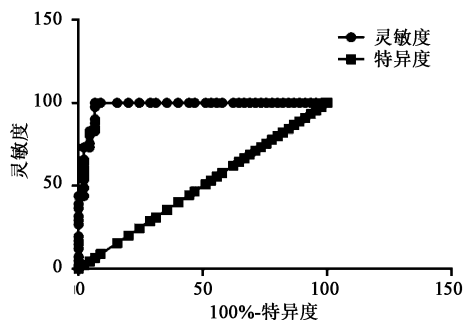


图 7 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 ROC 曲线
Fig.7 ROC curve of isoflavones glucoside

3 讨论

如何评价优质药材一直是中药研究者所热衷研究方向,本文从化学含量进行区分 2 类黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差异。引入一种全新的数理统计方法 ROC 曲线,它是根据一系列不同的二分类方式(分界值或决定阈),以真阳性率(灵敏度)为纵坐标,假阳性率(1-特异度)为横坐标绘制的曲线。将灵敏度与特异性以图示方法结合在一起,可准确反映分析方法特异性和敏感性的关系,是试验准确性的综合代表。ROC 曲线不固定分类界值,允许中间状态存在,利于使用者结合专业知识,权衡漏诊与误诊的影响,选择一更佳截断点作为诊断参考值。最靠近左上角的 ROC 曲线的点是错误最少的最佳阈值,其假阳性和假阴性的总数最少。ROC 曲线方法可用于确定山西恒山仿野生芪与甘肃移栽芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差异的最佳临界值。该曲线的灵敏度为 100%,特异度为 93.33%,模型诊断准确率为 0.978,表明运用 ROC 曲线法具有高的可信度。

本研究通过测定 45 批共 225 个山西恒山仿野生芪样本与 42 批共 210 个甘肃移栽芪样本毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量,结果发现山西恒山仿野生芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量均值为 0.107%,为甘肃移栽芪的 3 倍(甘肃移栽芪均值为 0.037%),为该芪的特征成分。毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量体现了山西道地黄芪的优质性。因此本文暂将山西恒山仿野生芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量限度提升到 0.069%,为制定优质药材标准提供依据。

[参考文献]

- [1] 梁连生,余静. 黄芪中黄酮化合物的药理作用[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2005,3(12):1085-1087.
- [2] 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,2015:302-303.
- [3] 叶迎,王瑞海,柏冬,等. 甘肃不同产地及不同生长年限红芪和黄芪中 4 种异黄酮类成分的含量对比[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(9):52-58.
- [4] 杜国军,秦雪梅,李震宇,等. 蒙古黄芪主产区 2 种不同种植模式黄芪药材的质量比较[J]. 中草药,2013,44(23):3386-3393.
- [5] 石子仪,鲍忠,姜勇,等. 不同来源黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芒柄花素的定量分析[J]. 中国中药杂志,2007,32(9):779-783.
- [6] 姚雪莲,裴彩云,王宗权. 不同产地、不同采收期黄芪药材及饮片中毛蕊异黄酮葡萄糖苷及芒柄花素含量测定[J]. 药物分析杂志,2012,32(5):797-801.
- [7] 杜国军. 恒山黄芪道地药材质量标准研究[D]. 太原:山西大学,2013.
- [8] 丁峰,石庆平,姜晓东,等. Logistic 模型和 ROC 曲线对参麦注射液致不良反应的预测分析[J]. 中国中药杂志,2015,40(7):1404-1409.
- [9] 赵晓利,孙利,黄喜英,等. ROC 曲线评价糖化血红蛋白在妊娠期糖尿病诊断中价值探讨[J]. 河北医学,2016,22(1):99-102.
- [10] 陈卫中,倪宗瓚,潘晓平,等. 用 ROC 曲线确定最佳临界点和可疑值范围[J]. 现代预防医学,2005,32(7):729-731.
- [11] 李洁. 表观扩散系数判断肺癌不同组织学类型及增殖程度的应用价值[J]. 临床医学研究与实践,2018,3(13):1-3.
- [12] 张军能,张焕棕,陈李好,等. 异常凝血酶原(PIVKA-II)在原发性肝癌临床诊断中的应用[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2018,39(2):192-195.
- [13] 冯磊,年士艳,赵阳,等. 不同分析策略下应用二分类 Logistic 回归进行疾病风险评估的结果差异性分析[J]. 中华检验医学杂志,2018,41(3):232-236.
- [14] 高四云,李科,熊一峰,等. 恒山仿野生黄芪绝对生长年限鉴别及黄酮和皂苷积累规律研究[J]. 药学学报,2018,53(1):147-154.
- [15] 王军. 苦参药用部位发育解剖暨黄芪道地药材的年限鉴别及其次生代谢产物积累研究[D]. 合肥:安徽中医药大学,2013.

[责任编辑 顾雪竹]