

- phisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. *Nucleic Acid Res*, 1990, 18(22): 6531-6533.
- [2] 朱永宏, 李学敏, 韩宝玲. RAPD 技术在中药材鉴定中的应用进展 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 附 7-8.
- [3] 魏 瑜. RAPD 技术在中药材地道性鉴定中的应用 [J]. 海峡药学, 2008, 20(10): 148-150.
- [4] 唐学芳, 蒋舜媛, 孙 辉, 等. 川产羌活种质遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 中草药, 2008, 39(9): 1387-1392.
- [5] 肖小河, 史成和, 李隆云, 等. 国产姜黄属药用植物 RAPD 分析与分类鉴定 [J]. 中草药, 2000, 34(3): 209-212.
- [6] 李 颖, 李劲平. 广霍香道地性的 RAPD 研究 [J]. 现代医药卫生, 2006, 22(13): 2027-2028.

佛手和属间药用植物的主成分聚类分析及 HPLC 指纹图谱研究

崔红花^{1,2}, 郭 娇², 高幼衡¹, 沈志滨², 陈 超²

(1. 广州中医药大学 中药化学教研室, 广东 广州 510405; 2. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006)

摘 要:目的 研究佛手及属间药用植物化橘红、广陈皮的亲缘关系,同时建立了 HPLC 指纹图谱。方法 运用 HPLC 法对佛手同属的 3 种药用植物进行测定,对其进行主成分分析及聚类分析,实现了预分类,制定了原料药材的选择方法。结果 测定了样本的 HPLC 的色谱峰,从获得的 17 个不同产地的佛手药材的 HPLC 指纹图谱比较,结果从检测出 17 个分离度良好的共有指纹峰可以看出它们之间的相似性良好,说明佛手这一植物所含的化学成分分布及比例较稳定;使用 SPSS 分析软件,采用欧氏距离进行聚类分析,样品的聚类结果理想,19 个样本可聚为 8 类,即样本 1、7~10 和 15 处于一类,样本 2 和 3 处于一类,样本 4、14、16 和 17 处于一类,样本 5、6 和 11 处于一类,样本 12 和样本 13 分别单独处于一类,而同属药用植物化橘红(样本 18)和广陈皮(样本 19)分别单独处于一类,可较明显地与佛手样品区分。结论 将佛手及其属间 3 种药用植物的中药指纹图谱及主成分聚类分析相结合,丰富了中药鉴定的理论内容。

关键词:佛手;主成分聚类分析;指纹图谱

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)06-0978-07

Principal component cluster analysis for *Citrus medica* var. *sarcodactylia* fruits and fingerprint identification of medicinal plants in *Citrus* L.

CUI Hong-hua^{1,2}, GUO Jiao², GAO You-heng², SHEN Zhi-bin², CHEN Chao²

(1. Department of Phytochemistry, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. College of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

Abstract : Objective To compare the affiliation of *Citrus grandis* var. *tomentosa* fruits and *C. reticulata*, and establish HPLC fingerprint. **Methods** *C. medica* var. *sarcodactylia* fruits and three medicinal plants in *Citrus* L. were measured by HPLC method, which can be used to carry out principal component analysis and cluster analysis of the pre-classification of medicinal raw materials, and develop an initial method of selection. **Results** The HPLC chromatographic peaks of *C. medica* var. *sarcodactylia* and its adulterants were determined so as to obtain HPLC fingerprint comparison on *C. medica* var. *sarcodactylia* fruits and its adulterants from 17 different habitats. The similarity between them showed a good description of chemical distribution in this plant and stable proportion. By using the SPSS analysis software and Euclidean distance cluster analysis, sample clustering results were satisfactory. Nineteen samples can be clustered into eight categories, namely 1, 7-10, and 15 samples in a class, the samples 2 and 3 in a class, samples 4, 14, 16, and 17 in a class, samples 5, 6, and 11 are in a class, the samples 12 and 13 alone in a class, adulterants *C. grandis* var. *tomentosa* (sample 18) and *C. reticulata* (sample 19) left alone in a class, respectively. So it can be more obvious distinction between samples of *C. medica* var. *sarcodactylia* fruits. **Conclusion** The Chinese materia medica (CMM) fingerprint of *C. medica* var. *sarcodactylia* fruits

收稿日期:2009-10-22

基金项目:国家“十五”重大科技专项“创新药物和中药现代化”资助项目(2001BA701A38);广东省科技厅重点项目(2004B33001010)

作者简介:崔红花(1976—),女,讲师,博士,研究方向为中药及中药制剂的分析研究与资源开发。

Tel:13710768642 E-mail:honghuacui@163.com

*通讯作者 高幼衡 Tel:(020)39358083 E-mail:gaoyouheng@yahoo.com.cn

and three medicinal plants in *Citrus* L. is combined with cluster analysis of principal components to enrich the content of CMM theory of identification.

Key words: the fruits of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylia* Swingle; principal component cluster analysis; fingerprint

柑桔属记载的植物有 20 种,主要分布于亚热带及热带地区,我国有 14 种,其中 11 种为原产我国并已有悠久的栽培历史,我国是柑桔属植物的重要起源中心之一^[1]。该属植物在我国主要分布于秦岭以南各地,其中以长江流域各省区以及华南的资源最为丰富。药用柑桔类来源于芸香科(Rutaceae)柑橘属(*Citrus* L.)的植物。品种较多,用途广泛。柑桔果实为我国名贵水果之一,尚是橘红、桔壳、桔实、青皮、陈皮、佛手和香椽等传统中药材的来源。佛手始载于《本草纲目》,来源于芸香科植物佛手 *Citrus medica* L. var. *sarcodactylia* Swingle 的果实,为香椽 *C. medica* L. 的变种,现收载于《中国药典》2005 年版一部,系常用中药^[2,3]。现已在前期的研究工作中分别对广佛手^[4]、川佛手和金佛手的挥发油进行了 GC-MS 分析,发现这几种佛手挥发油中均含有甲基异丙苯,而与亲缘关系很近的同科同属药用植物化橘红、广陈皮多种原植物茶枝柑 *C. chachiensis* Hort、行柑 *C. suhojensis* Hort. ex Tanaka、八月橘 *C. reticulata* var. *ba-yue-jie* 等果皮挥发油中均未检测到甲基异丙苯。三者性味、功效、主治不同,佛手中主要是橙皮苷、佛手甾醇苷、柠檬橘内酯;化橘红中主要是挥发油、黄酮、香豆素类化合物、多糖等^[5];广陈皮中主要是含挥发油及以橙皮苷为主要的黄酮类成分等^[6]。综上所述,三者为同科同属不同种植物的果实,功效主治的侧重不同,主要药理成分更是不同,为了确保临床用药安全,保证药品质量,提高药物的疗效,对 3 者进行实验予以鉴别。以往进行鉴别研究中发现,基本是在外观性状、显微鉴别、薄层色谱等层面上进行区别,本实验在非挥发性成分化学微观层面上进行比较。为了更仔细地观察样品之间的差异,分别采集 17 个不同产地佛手和化橘红、广陈皮共 19 个样品的 HPLC 主要吸收峰,对其进行主成分分析及聚类分析,实现了预分类,初步制定了原料药材的选择方法。将传统中药鉴定的真伪优劣鉴别和中药指纹图谱相结合,丰富了中药鉴定的理论内容。这种中药材鉴定方法能更加客观地从整体上评价中药的内在质量,为解决中药质量评价的科学性等中药质量关键问题、建立完备的中药质量评价体系、使中药走向国际市场、

推进中药现代化研究不断深入发展,都将起到积极作用。罗文等^[7]为有效控制山楂药材的质量,建立了 10 批山楂药材的 HPLC 指纹图谱,显示出精密、稳定、重现性好的特点。

1 仪器与试剂

1.1 仪器:美国 Dionex Summit P680 高效液相色谱仪(四元梯度泵,Chromeleontm 数据处理软件系统);Kromasil C₁₈ 分析柱(250 mm × 4.0 mm, 5 μm);Dikma 微孔滤膜(0.45 μm);日本岛津 LI-BRORAEG 220 电子天平;艾科普纯水发生器。

1.2 试剂:甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Dikma 公司,色谱用);水为自制超纯水;乙醇、甲醇(提取用),均为分析纯(广州化学试剂厂)。

1.3 对照品:柠檬油素、6,7-二甲氧基香豆素、5-羟基-7-甲氧基-8-异戊烯基香豆素、6-羟基-7-甲氧基香豆素均从川佛手植物中提取分离得到,橙皮苷由中国药品生物制品检定所提供(批号:721-9909),经波谱分析鉴定结构,归一化法计算质量分数为 98%以上。

1.4 药材:药材经广州中医药大学程怡教授鉴定,将药材样品经低温干燥后,粉碎成粗粉(过 80 目筛),备用(表 1, F1 ~ F17 为佛手样品,编号 18 号为化橘红,编号 19 号为广陈皮)。

2 分析方法的建立

2.1 提取工艺的考察优化:精密称取一定量的药材粉末,分别加 50%、75%、95%乙醇,甲醇和醋酸乙酯适量,按以下工艺提取:超声提取 3 次(35 mL/次,15 min/次);加热回流 1、2、3 h;索氏提取 4 h,同一色谱条件下测定指纹图谱。

由于 3 个药材中主要有效成分是香豆素、黄酮类化合物,所以提取溶剂选择醇类和醋酸乙酯。尽管高效液相色谱一般常用甲醇-水系统,但结果发现,用甲醇、95%乙醇提取,因其对化学成分的提取无选择性,大量极性强的杂质影响色谱图效果。以醋酸乙酯为溶剂提取所得图谱较美观,但极性大的部分提取效率很低,且各色谱峰响应值低。热回流方法与索氏提取所得峰形较接近,但结合香豆素类成分较多,为避免加热时间过长,选择索氏提取方法。考虑到指纹图谱应尽可能真实地反映药材中所含成分,结果用 75%乙醇索氏提取效率最高而且完

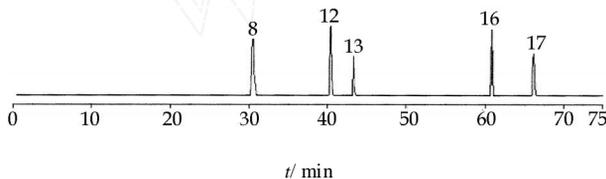
表 1 药材的来源

Table 1 Source of *C. medica* var. *sarcodactylia* fruits

样品号	样品来源	产地	采收期	规格	购买日期
F1	吉林市	不详		片	2005-05-04
F2	天津市	不详		丝	2005-04-29
F3	昆明市	云南		片	2005-04-25
F4	浙江金华市尖峰大药房连锁有限公司	金华(广东苗)		片	2005-04-18
F5	秦皇岛市唐人医药商场	广西	2004-03-10	片	2005-05-08
F6	秦皇岛市唐人医药商场	广东	2004-07-05	片	2005-05-08
F7	河北祺新中药颗粒饮片有限公司	广东	2004-07-08	片	2005-03-20
F8	河北祺新中药颗粒饮片有限公司	广西		片	2005-03-20
F9	河北祺新中药颗粒饮片有限公司	河北	2004-07-08	片	2005-03-20
F10	四川乐山市中药材市场	洪雅	2004-07-08	片	2005-04-20
F11	四川乐山市中药材市场	沐川	2004-07-08	片	2005-04-20
F12	四川成都市荷花池市场	泸县		片	2005-04-26
F13	四川成都市荷花池市场	合江		片	2005-04-26
F14	黑龙江三棵针药材市场	广东		片	2005-03-15
F15	黑龙江三棵针药材市场	广西		片	2005-03-15
F16	广州清平药材市场	广东肇庆		片	2005-05-08
F17	广州清平药材市场	广东德庆		片	2005-05-17
18	市售	广东		片	2005-05-16
19	市售	广东		片	2005-05-16

全,故采用此提取工艺。

2.2 色谱条件:Kromasil C₁₈分析柱(250 mm × 4.0 mm, 5 μm);流动相:乙睛-0.5%的冰醋酸水溶液,梯度洗脱 75 min;体积流量:1 mL/min;进样量:20 μL,检测波长:290 nm。在此条件下,5种化学成分实现基线分离,见图 1。



8-6,7-二甲氧基香豆素 12-橙皮苷 13-6-羟基-7-甲氧基香豆素
16-柠檬油素 17-5-羟基-7-甲氧基-8-异戊烯基香豆素
8-6,7-dimethoxy coumarin 12-hesperidin 13-6-hydroxy-7-methoxycoumarin
16-5,7-dimethoxycoumarin 17-5-hydroxy-7-methoxy-8-prenylcoumarin

图 1 化合物主要峰的归属色谱图

Fig 1 Attribution chromatogram of major peaks of compounds

2.3 方法学考察:供试品来源为四川洪雅产佛手样品。

2.3.1 精密度试验:取同一份供试品溶液,连续进样 5 次,检测指纹图谱。结果表明,其相对保留时间 RSD 小于 1.0%,主要共有峰相对峰面积比值的 RSD 不超过 1.0%,符合指纹图谱要求。

2.3.2 重现性试验:取同一批样品 5 份,制备供试品溶液,检测指纹图谱。结果表明,其相对保留时间 RSD 小于 1.0%,主要共有峰相对峰面积比值的

RSD 不超过 2.0%,符合指纹图谱要求。

2.3.3 稳定性试验:取同一份供试品溶液,分别在 0、2、6、18、12 h 检测指纹图谱。结果表明,其相对保留时间 RSD 小于 1.0%,主要共有峰相对峰面积比值的 RSD 不超过 2.0%,符合指纹图谱要求。

3 主成分分析及聚类分析

3.1 供试品溶液的制备:精密称取药材粉末(过 80 目筛)1.5 g 于索氏提取器中,加 75%乙醇 70 mL,提取 4 h,滤过,蒸干,残渣以甲醇溶解并定容至 10 mL,微孔滤膜滤过,备用。

3.2 主成分分析:为了更仔细地观察它们之间的差异,分别采集了佛手及化橘红、广陈皮样品的 HPLC 主要吸收峰,即吸收峰面积值(表 2),采用 SPSS 软件对其样品进行了主成分分析,即将它们投影至低维空间来看它们之间的细微差别。

由表 3、图 2 得知,从特征值大小来看, $\lambda_1 = 4.939$, $\lambda_2 = 4.091$, $\lambda_3 = 2.627$, $\lambda_4 = 1.859$, $\lambda_5 = 1.237$,其他远小于 1;从贡献率来看, λ_1 的贡献率为 29.051%,而 λ_2 的贡献率为 24.067%, λ_3 的贡献率为 15.451%, λ_4 的贡献率为 10.934%, λ_5 的贡献率为 7.277%;从累积的贡献率来看,取前 5 个特征值时,累积贡献率达 86.779%,故取前 5 个为主成分(因子)。由表 4 可以看出,第一主成分(因子 1)主要反映了来自原始指标色谱峰 1、色谱峰 3、色谱峰 4 和色谱峰 14 的信息,第二主成分(因子 2)主要反映了来自原始指标色谱峰 5、色谱峰 6、色谱峰 13 和

表 2 佛手及化橘红、广陈皮样品的 HPLC 主要吸收峰积分面积

Table 2 Area of major absorption peaks from *C. medica* var. *sarcodatyli* fruits, *C. grandis* var. *tomentosa*, and *C. reticulata*

样品	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	峰 13	峰 14	峰 15	峰 16	峰 17
F1	120.2	27.3	41.1	235.0	42.1	6.7	4.9	21.7	3.5	5.0	11.4	17.9	6.5	3.0	4.4	75.8	3.9
F2	162.5	34.1	65.7	845.4	15.6	1.8	3.5	19.5	2.5	5.4	7.7	15.9	2.5	2.5	1.8	54.8	4.5
F3	160.7	38.1	68.8	837.0	17.6	1.6	6.1	20.8	1.7	5.8	7.6	15.2	2.6	2.4	1.6	55.0	4.3
F4	53.6	13.6	15.5	76.5	12.6	1.5	5.3	8.0	7.6	3.4	4.7	3.0	3.7	1.3	1.6	35.3	1.4
F5	98.2	31.0	33.9	90.6	45.4	4.7	20.1	24.5	1.2	12.2	9.4	20.2	17.1	1.5	4.5	92.5	5.5
F6	72.3	29.0	22.1	130.3	36.4	4.5	14.2	24.7	5.3	8.9	10.4	25.5	15.7	1.1	2.5	56.5	4.5
F7	125.0	30.3	28.9	200.9	30.4	6.1	4.6	14.0	3.1	4.5	8.6	16.2	6.5	1.5	1.8	84.9	4.8
F8	113.5	25.3	41.2	210.6	37.5	5.9	7.3	1.5	1.9	8.6	9.9	17.7	7.5	4.0	3.0	55.3	4.8
F9	87.3	23.1	27.5	65.9	30.2	7.5	3.2	10.5	2.6	4.0	6.2	13.0	7.1	1.1	3.9	70.2	3.2
F10	178.1	52.1	73.4	404.6	43.2	5.9	13.1	25.7	8.0	4.8	14.9	38.1	5.7	5.6	12.3	43.4	10.5
F11	184.2	6.8	53.0	288.0	36.5	5.5	19.1	38.8	2.4	3.5	10.5	28.7	9.1	3.9	22.2	65.3	10.1
F12	102.3	30.5	26.9	136.3	17.8	1.7	21.9	21.4	6.6	6.7	9.9	32.0	9.4	3.3	12.5	44.8	10.9
F13	174.1	32.9	67.9	316.7	41.4	11.5	12.1	13.1	3.9	6.4	8.4	13.0	5.5	3.5	3.7	88.2	3.8
F14	145.7	38.4	30.7	174.9	18.9	3.6	14.5	26.2	0.9	2.3	10.8	25.4	11.4	3.9	12.2	61.8	11.1
F15	117.5	30.0	49.1	335.6	35.6	6.6	5.9	18.3	2.5	4.4	6.5	23.1	4.6	3.1	3.1	59.1	4.8
F16	45.9	13.0	23.7	138.2	6.0	3.1	6.7	11.0	2.6	3.3	8.4	16.4	9.6	1.9	2.9	67.1	3.0
F17	58.3	13.9	15.9	81.0	12.9	1.5	5.6	8.5	7.9	3.8	4.8	3.1	3.8	1.4	1.7	36.2	1.5
18	169.7	50.8	14.8	58.3	11.9	0.0	7.7	7.1	11.7	11.5	2331.1	103.6	0.0	4.6	7.2	6.3	25.3
19	69.1	16.2	12.5	30.3	4.1	1.4	12.3	18.8	4.4	59.7	3.2	545.9	2.00	1.7	0.0	3.8	8.5

表 3 特征值表

Table 3 Characteristic values

序号	特征值	贡献率/ %	累计贡献率/ %
因子 1	4.939	29.051	29.051
因子 2	4.091	24.067	53.118
因子 3	2.627	15.451	68.569
因子 4	1.859	10.934	79.503
因子 5	1.237	7.277	86.779
因子 6	0.788	4.633	91.413
因子 7	0.538	3.167	94.580
因子 8	0.365	2.146	96.725
因子 9	0.205	1.207	97.933
因子 10	0.166	0.978	98.911
因子 11	0.069	0.408	99.319
因子 12	0.050	0.296	99.615
因子 13	0.028	0.162	99.777
因子 14	0.025	0.147	99.924
因子 15	0.011	0.067	99.992
因子 16	0.001	0.008	100.000
因子 17	0.000 068 27	0.000	100.000

色谱峰 16 的信息,第三主成分(因子 3)主要反映了来自原始指标色谱峰 10 和色谱峰 12,第四主成分(因子 4)主要反映了来自原始指标色谱峰 2、色谱峰 9、色谱峰 11 和色谱峰 17,第五主成分(因子 5)主要反映了来自原始指标色谱峰 7、色谱峰 8、色谱峰 13 和色谱峰 15,故仅用前 5 个主成分就可表示原 HPLC 数据的主要信息。

3.3 聚类分析:由表 5 中第 1~5 主成分的得分,使用 SPSS 分析软件,采用欧氏距离进行聚类分析,聚类图见树状图 3,从中可以看出,样品的聚类结果理想。从图 3 可以看出,这 19 个样本可聚为 8 类,即

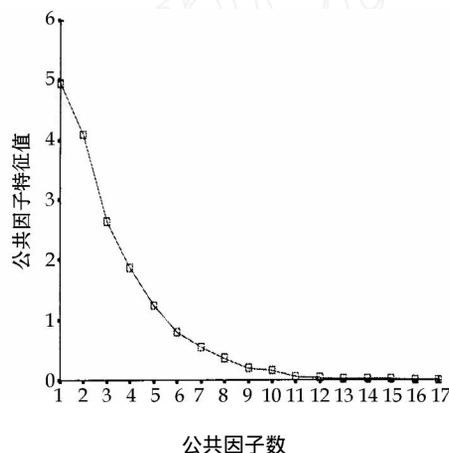


图 2 公共因子碎石图

Fig 2 Macadam figure of common factor

样本 1、7~10 和 15 处于一类,样本 2 和 3 处于一类,样本 4、14、16 和 17 处于一类,样本 5、6 和 11 处于一类,样本 12 和样本 13 分别单独处于一类,且混伪品化橘红(样本 18)和广陈皮(样本 19)分别单独处于一类,可较明显地与佛手样品区分。

3.4 HPLC 指纹图谱分析:将 17 个不同产地佛手药材按供试品溶液制备方法制成供试品溶液,按以上色谱条件进样分析,得各样品的 HPLC 指纹图谱及相应峰的 DAD 信息,采用相对保留时间标定共有指纹峰。将 17 个不同产地佛手药材的指纹图谱进行匹配后,有 17 个共有峰,选取图谱中峰面积较大、较稳定的共有峰 16(S)号峰(61.99 min)为参照物,将各色谱峰保留时间与同一图谱中参照物的保留时间比较,其比值为各色谱峰的相对保留时间。采

表 4 旋转后的公共因子载荷矩阵表

Table 4 Load matrix of postrotational common factors

色谱峰	因子1	因子2	因子3	因子4	因子5	因子6	因子7	因子8	因子9	因子10	因子11	因子12	因子13	因子14	因子15	因子16	因子17
1	0.651	0.251	-0.083	0.396	0.022	0.442	-0.033	0.212	0.189	-0.029	0.097	0.034	0.242	0.038	-0.003	0.001	-2.09E6
2	0.316	0.087	-0.075	0.362	0.018	0.161	0.119	-0.034	0.845	0.011	0.005	-0.001	0.004	-0.005	0.001	0.000	-4.34E6
3	0.857	0.351	-0.148	-0.146	0.005	0.247	-0.074	0.083	0.117	-0.015	-0.008	0.019	-0.055	0.010	0.088	-4.74E5	1.291E5
4	0.936	-0.117	-0.144	-0.110	-0.165	-0.019	-0.147	0.091	0.121	0.027	0.018	-0.016	-0.010	-0.019	-0.063	0.000	2.86E5
5	0.123	0.862	-0.219	-0.058	0.213	0.086	-0.051	0.136	0.126	0.311	0.053	-0.043	-0.013	-0.012	0.000	-0.001	0.000
6	0.061	0.937	-0.117	-0.168	-0.027	0.094	-0.164	-0.036	-0.018	-0.194	-0.023	0.003	0.015	0.010	0.003	0.000	5.464E5
7	-0.067	0.051	0.138	0.029	0.926	0.231	0.022	0.233	0.005	-0.009	-0.076	0.013	0.018	0.005	0.000	0.001	-8.05E5
8	0.265	0.078	0.060	-0.077	0.452	0.133	-0.131	0.821	-0.008	0.019	0.019	0.007	-0.003	-0.024	-0.001	0.001	6.284E5
9	-0.204	-0.214	0.014	0.321	-0.062	0.090	0.882	-0.083	0.114	-0.006	-0.008	0.018	0.001	0.000	0.000	0.000	2.045E5
10	-0.107	-0.119	0.977	0.023	0.064	-0.108	0.012	-0.033	-0.029	0.033	-0.001	0.004	-3.54E5	-0.009	-0.001	-0.011	-0.007
11	-0.106	-0.180	0.016	0.906	-0.128	0.110	0.261	-0.117	0.148	0.011	0.005	-0.007	-0.013	-0.031	0.026	-0.021	-2.26E5
12	-0.125	-0.174	0.972	0.046	-0.020	0.000	0.036	0.050	-0.032	-0.049	-0.015	1.899E5	-0.001	0.004	0.000	0.012	0.007
13	-0.325	0.249	-0.266	-0.169	0.677	-0.153	-0.347	0.184	0.071	0.069	0.289	-0.012	-0.054	-0.019	0.000	0.000	-2.68E5
14	0.299	0.123	-0.043	0.274	0.080	0.858	0.129	0.006	0.225	0.025	0.017	-0.007	-0.036	-0.082	0.006	-0.003	0.000
15	0.029	0.043	-0.201	0.171	0.422	0.667	0.032	0.481	-0.151	-0.040	-0.053	-0.017	0.065	0.201	0.002	0.000	4.342E5
16	0.104	0.585	-0.474	-0.212	0.157	-0.186	-0.484	0.066	-0.022	-0.060	-0.015	0.272	0.023	-0.007	0.001	-9.08E5	-5.25E6
17	-0.060	-0.198	0.174	0.765	0.163	0.437	0.169	0.126	0.263	-0.021	-0.031	-0.012	0.032	0.065	-0.048	0.038	9.731E5

表 5 主成分因子得分表

Table 5 Score of principal component factors

样品号	Y(i,1)	Y(i,2)	Y(i,3)	Y(i,4)	Y(i,5)
F1	-0.438 12	1.107 85	-0.123 78	-0.218 59	-1.342 55
F2	2.308 19	-1.094 50	-0.170 99	-0.062 91	-0.692 39
F3	2.317 50	-1.147 00	-0.173 35	-0.064 75	-0.265 20
F4	-0.788 10	-0.934 41	-0.694 74	-0.869 38	-0.553 42
F5	-0.350 27	0.638 54	-0.022 54	0.462 18	2.174 02
F6	-0.498 96	0.494 51	-0.206 27	-0.015 44	1.178 59
F7	-0.534 67	0.656 97	-0.281 27	-0.001 77	-0.949 84
F8	-0.065 20	0.533 94	0.080 99	-0.338 10	-0.067 27
F9	-0.970 15	0.982 15	-0.315 24	0.007 76	-1.135 66
F10	0.837 90	0.707 05	0.142 94	-0.952 95	0.047 69
F11	0.629 33	0.407 23	-0.233 18	0.702 47	0.907 20
F12	-0.359 58	-1.052 72	-0.374 99	-0.521 27	2.067 95
F13	1.115 06	2.227 24	0.153 71	0.119 08	0.601 05
F14	-0.980 35	-0.952 72	-0.462 61	-0.298 03	0.320 36
F15	0.121 07	0.750 68	-0.132 35	-0.111 18	-0.921 88
F16	-0.662 15	-1.014 50	-0.585 96	-0.239 41	-0.167 83
F17	-0.755 24	-0.917 24	0.667 09	-0.912 45	-0.528 33
18	-0.439 61	-0.750 38	0.072 94	3.741 56	-0.537 21
19	-0.486 65	-0.642 67	3.993 79	-0.426 83	-0.135 28

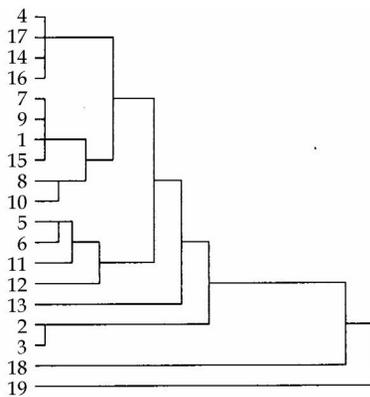


图 3 聚类树状图

Fig 3 Dendrogram of cluster

用药典委员会发布的中药色谱指纹图谱相似度评价软件(2004A 版),将佛手样品实验数据导入中药指纹图谱相似度计算软件,选择 3 个 Marker 校正峰,即选择 3 号峰(7.14 min)、8 号橙皮苷峰(30.10 min)和 16(S)号柠檬油素峰(61.99 min)3 个色谱峰进行多点校正,色谱峰自动匹配,以平均值生成佛手药材对照指纹图谱(佛手药材共有模式)作为谱峰匹配的模板,运用相似度软件计算。匹配后 HPLC 指纹图谱见图 4,其中 R 为生成的对照图谱,可以看出它们之间的相似性良好,说明佛手这一植物所含的化学成分分布及比例较稳定。表 2 和图 4 表明,不同产地佛手各色谱峰整体特征有良好的相似性,但

各样品之间有一定差异,只是比例略有不同,但从色谱图的整体面貌上看,各样品之间仍是相似的(图 5,相似度基本在 0.90 以上),但 F5 样品和 F6 样品相似度较低,分别为 0.628、0.739。为进一步弄清它们之间的差别,将 F5、F6 样品抽出来直接观察它们的指纹图谱,从图中可以看出,它们的差别主要由色谱峰 4、9、13 的大小来决定,其中 F5 的 4、9 号色谱峰明显低于其他样品,F6 样品的情况则不同,13 号色谱峰明显高于其他样品。这说明了色谱指纹图谱不强调个体的绝对唯一性,而强调同一药材群体的相似性,即物种内的唯一性。说明不分析样品的实际情况,单纯看相似度可能有歧义,应该仔细观察辨认样品,如能结合主要成分分析更会有助于正确的评价。相似性是通过色谱的整体性和模糊性来体现,这是中药色谱指纹图谱分析的最基本的属性。非共有峰面积平均为 9.9% < 10%,符合中药指纹图谱的技术要求,但样品并未体现很好的产地区分。图谱中主要峰群的整体面貌基本一致,但各成分量的相对比值不尽相同,这是因为中药活性成分大部分为生物体内次生代谢产物,由于受产地、气候、生态环境、栽培或养殖技术条件等因素影响,相同种类的生物体,其内的代谢产物往往有一定的区别,有些有明显的差异。

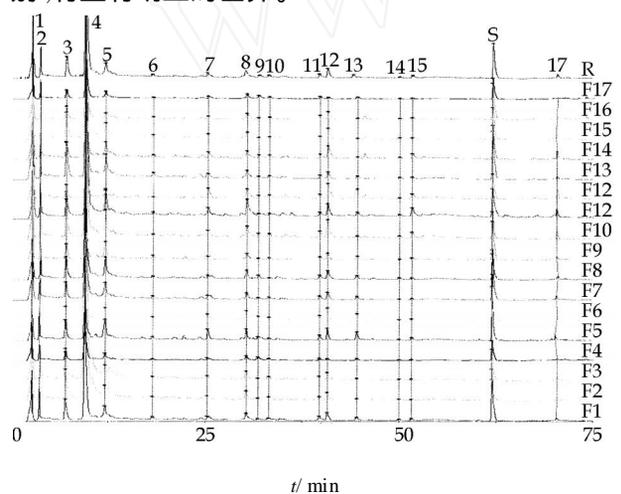


图 4 17 个不同产地佛手的 HPLC 色谱指纹图谱

Fig 4 HPLC Fingerprint of *C. medica* var. *sarcodactylia* fruits from 17 different habitats

以 16 号峰柠檬素积分值为 1, 无论以峰面积或峰高, 各特征峰与 16 号峰的比例关系基本稳定(其中 1 号峰与 4 号峰有较大差异), 由此构成相对稳定的指纹图谱整体面貌, 图 5 则直观比较也可清楚地表明佛手药材之间良好的相似性(相关性)。同时说明以平均值产生的指纹图谱可以作为质量标准

的对照用指纹图谱。

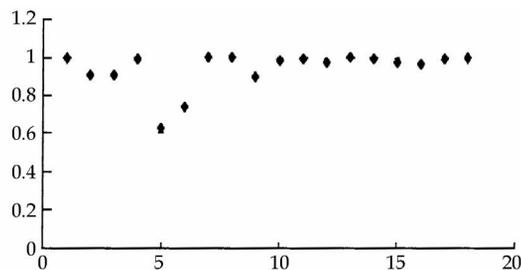


图 5 佛手样品的相似度评价

Fig 5 Similarity of *C. medica* var. *sarcodactylia* fruits

指纹图谱评价产品质量的有效性还表现在监测市场商品的真伪优劣。对同属药用植物化橘红、广陈皮进行了与佛手同样的 HPLC 测定, 见表 2 和图 4、6、7, 比较佛手与化橘红、广陈皮样品指纹图谱, 各峰的高低比例有明显的差异, 它们的主要差异来源于第 11 号峰和第 12 号峰(橙皮苷吸收峰), 3 者差异较大, 使它们在主成分分析及聚类分析中不能处于一类。

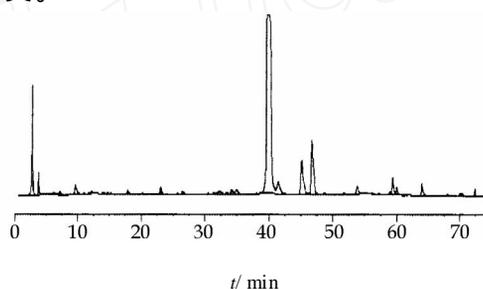


图 6 化橘红 HPLC 色谱图

Fig 6 HPLC Spectrum of *C. grandis* var. *tomentosa*

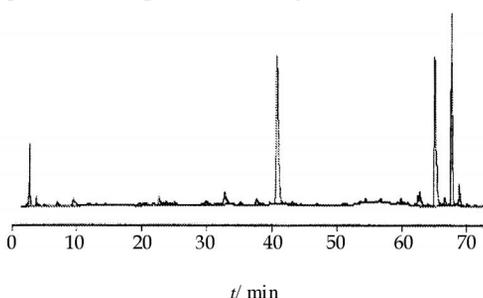


图 7 广陈皮 HPLC 色谱图

Fig 7 HPLC Spectrum of *C. reticulata*

4 讨论

经典的分析方法需要很长的分析步骤和大量的时间才能获得一个实验数据的时代已经过去, 现代的分析仪器能够在很短的时间得到海量的数据, 如果此时仍沿用经典的数据处理方法就完全不能满足现代分析化学的要求, 就会在新的分析任务前束手无策。采用多种化学计量学方法分析佛手药材指纹图谱, 其目的是为了找出隐藏在众多共性下的差异,

其方法应结合样品相关信息及指纹图谱自身特点加以选择。首次将主成分分析、聚类分析运用于不同品种佛手质量优劣及同属药用植物的鉴别,为药材质量评价方法的建立提供新的模式。由于中药指纹图谱所含信息十分丰富,如何将之整体性质有效定量并便于实际运用,化学计量学的模式识别及多元统计推断将发挥其特有作用,对有关方面工作进行进一步深入研究无疑将是努力的方向。化学计量学用于中医药现代化的研究必将取得更丰硕的成果。

参考文献:

- [1] 蔡逸平,曹 岚,范崔生. 枳壳、枳实类药材的品种考证和资源应用的调查研究 [J]. 江西中医学院学报, 1998, 10 (4): 184-186.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 上册. 第二版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [3] 中国药典 [S]. 2005.
- [4] 高幼衡,黄海波,徐鸿华,等. 广佛手挥发性成分的 GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2002, 33(10): 883-884.
- [5] 李润唐,张映南,李映志,等. 化橘红研究进展 [J]. 广东林业科技, 2008, 24(2): 82-85.
- [6] 黄月纯,魏 刚. 广陈皮 HPLC 指纹图谱的建立及在药材鉴定中的应用研究 [J]. 中草药, 2008, 31(2): 275-276.
- [7] 罗 文,刘 斌,王 伟,等. 山楂药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(1): 39-42.

土壤环境对川白芷产量和品质的影响研究

翟娟园,吴 卫,廖 凯,张 旭,侯 凯

(四川农业大学农学院,四川 雅安 625014)

摘 要:目的 研究土壤因子对川白芷药材产量和品质的影响。方法 对川白芷道地产区四川省遂宁市 15 个不同采集地的川白芷药材产量性状、欧前胡素和异欧前胡素的量,以及相应生长地土壤基本养分和其他 11 种无机元素进行测定,通过相关分析研究土壤环境对川白芷产量及品质的影响。结果 不同采集地川白芷的根质量、根长和周径以及欧前胡素和异欧前胡素量间均存在差异,其相应不同生长地土壤间基本养分和其他 11 种无机元素量也存在差异。川白芷根长与土壤有效磷的量、周径与土壤有机质的量、根质量与土壤有效磷及速效钾的量间均呈显著正相关。土壤全氮则与川白芷异欧前胡素的量间呈显著负相关。川白芷欧前胡素和异欧前胡素的量与土壤中其他 11 种无机元素的量间相关均不显著。结论 土壤环境对川白芷产量及品质均有一定影响。

关键词:川白芷;产量;品质;土壤因子

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)06-0984-05

Effects of soil factors on yield and quality of *Angelica dahurica* var. *formosana*

ZHAI Juan-yuan, WU Wei, LIAO Kai, ZHANG Xu, HOU Kai

(College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Ya an 625014, China)

Abstract : Objective To study the effects of the soil factors on the yield and quality of *Angelica dahurica* originated from Sichuan Province. **Methods** The yield and contents of imperatorin, isoimperatorin, and other 11 different inorganic elements of *A. dahurica*, gathered from 15 different habitats of Suining in Sichuan Province were determined. And the basic soil nutrients and other 11 different mineral elements of the soil were analyzed. The effects of the soil factors on the yield and quality were analyzed through correlation analysis. **Results** The weight, length, circumference, and the contents of imperatorin and isoimperatorin in the roots of *A. dahurica* from different habitats were different. And the basic soil nutrients and other 11 different mineral elements of soil were different. The positive correlation between root length of *A. dahurica*, and soil available P content, root circumference of *A. dahurica*, and soil organic matter content, root weight of *A. dahurica*, and soil available P and K contents were all significant. The soil total nitrogen content had negatively significant correlation with the content of isoimperatorin. The correla-

收稿日期:2009-10-19

基金项目:四川省育种攻关项目(2006yzgg12-7)

作者简介:翟娟园(1986—),女,广西桂林市人,在读硕士研究生,主要从事药用植物资源评价与利用研究。

E-mail:zhai117@yahoo.com.cn

*通讯作者 吴 卫 Tel:(0835)2882108 E-mail:ewuwei@sicau.edu.cn