

## • 药剂与工艺 •

## 总量统计矩结合聚类分析与主成分分析评价虎杖饮片一致性与差异性

王元清<sup>1</sup>, 韩彬<sup>2</sup>, 向荣<sup>1</sup>, 孙琴<sup>1</sup>, 张陈<sup>3</sup>, 乔志斌<sup>1</sup>, 周钰珂<sup>1</sup>, 严建业<sup>4\*</sup>, 夏新华<sup>4\*</sup>

1. 中南林业科技大学生命科学与技术学院 生物技术与工程实验室, 湖南 长沙 410004
2. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006
3. 暨南大学药学院, 广东 广州 510632
4. 湖南中医药大学药学院 中药现代化重点实验室, 湖南 长沙 410208

**摘要:** 目的 评价不同批次虎杖饮片一致性与差异性, 为其质量控制提供方法参考。方法 采用 HPLC 法建立 11 批虎杖饮片的化学指纹图谱; 采用总量统计矩法计算总量零阶矩 ( $AUC_T$ )、总量响应率 ( $AUCPW_T$ )、总量一阶矩 ( $MCRT_T$ )、总量二阶矩 ( $VCRT_T$ ) 等参数; 采用总量统计矩法、夹角余弦法和相关系数法进行相似度评价; 采用聚类分析法与主成分分析 (PCA) 法对虎杖样品进行分类分析。结果 对 11 批虎杖饮片进行测定, 共标定了 13 个共有峰, 指认了虎杖苷、白藜芦醇、大黄素苷、大黄的色谱峰; 总量统计矩参数  $AUC_T$ 、 $AUCPW_T$ 、 $MCRT_T$ 、 $VCRT_T$  的平均值分别为  $1.52 \times 10^6$  AU·min、 $2.31 \times 10^3$  AU·min·mL/mg、22.0 min、110.0 min<sup>2</sup>; 各批次样品的相似度在 0.85 以上; 聚类分析法与 PCA 法均将样品分为 4 类。结论 化学指纹图谱结合总量统计矩分析、聚类分析与 PCA 可评价虎杖饮片一致性与差异性, 是适合中药特点的质量控制方法。

**关键词:** 虎杖; 一致性; 差异性; 指纹图谱; 总量统计矩; 聚类分析; 主成分分析; 虎杖苷; 白藜芦醇; 大黄素苷; 大黄素  
中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)19-2863-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.19.008

## Evaluation of consistency and difference of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* pieces using total statistical moment method combined with cluster analysis and principal component analysis

WANG Yuan-qing<sup>1</sup>, HAN Bin<sup>2</sup>, XIANG Rong<sup>1</sup>, SUN Qin<sup>1</sup>, ZHANG Chen<sup>3</sup>, QIAO Zhi-bin<sup>1</sup>, ZHOU Yu-ke<sup>1</sup>, YAN Jian-ye<sup>4</sup>, XIA Xin-hua<sup>4</sup>

1. Laboratory of Biotechnology and Engineering, College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China
2. School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510006, China
3. School of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China
4. Key Laboratory of Modernization of Chinese Materia Medica, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

**Abstract: Objective** To establish a method to evaluate the consistency and difference of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* from different batches. **Methods** Chemical fingerprints of 11 batches of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* were established by HPLC; The follow parameters, such as under curve of total quantum ( $AUC_T$ ), area under curve of total quantum perweight ( $AUCPW_T$ ), mean chromatographic retention time of total quantum ( $MCRT_T$ ), and variance of chromatographic retention time of total quantum ( $VCRT_T$ ),

收稿日期: 2015-05-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81173194); 湖南省中药活性物质筛选工程技术研究中心项目资助 (湘科计字 [2013] 83 号); 湖南省高校“中药新药创制与资源综合持续利用”科技创新团队资助 (湘教通 [2010] 212 号); 湖南省“中药学”重点学科资助 (湘教通 [2011] 76 号); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201410538015); 湖南省大学生研究性学习与创新性实验计划项目 (2014194); 中南林业科技大学大学生研究性学习与创新性实验计划项目 (201457)

作者简介: 王元清 (1980—), 女, 博士, 讲师, 主要从事生物药物的教学与科研。Tel: (0731)85623496 E-mail: wangyuanqing201@126.com

\*通信作者 严建业 Tel: (0731)88458231 E-mail: yanjianye201@126.com

夏新华 Tel: (0731)88458227 E-mail: xiaxinhua001@163.com

were also calculated using total statistical moment method. The similarities were obtained by total statistical moment method, cosine method, and correlation coefficient method. Cluster analysis (CA) and principal component analysis (PCA) were adopted to classify the samples. **Results** Chemical fingerprints were established with 13 common peaks and polydatin, resveratrol, emodin glycosides, and emodin were identified.  $AUC_T$ ,  $AUCPW_T$ ,  $MCRT_T$ , and  $VCRT_T$  were calculated as  $1.52 \times 10^6$  AU·min,  $2.31 \times 10^3$  AU·min·mL/mg, 22.0 min, and 110.0 min<sup>2</sup>, respectively. The similarities of all batches of samples were over 0.85. The samples were divided into four categories by CA or PCA. **Conclusion** Chemical fingerprint combined with total statistical moment method, CA, and PCA can evaluate the consistency and difference of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix*, which is suitable for the quality control of Chinese materia medica.

**Key words:** *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc; consistency; difference; fingerprint; total statistical moment method; cluster analysis; principal component analysis; polydatin; resveratrol; emodin glycosides; emodin

虎杖 *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* 为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc 的干燥块茎和根, 具有祛风利湿、散瘀定痛、止咳化痰功效, 主要用于关节痹痛、湿热黄疸、闭经、癥瘕、咳痰、水火烫伤、跌扑损伤、痈肿疮毒等<sup>[1]</sup>。虎杖中主要含蒽醌类<sup>[2]</sup>和二苯乙烯(芪)类成分, 其中蒽醌类成分主要为大黄素苷、大黄酸、大黄酚、大黄素和大黄素甲醚等蒽醌类衍生物, 芪类成分主要为白藜芦醇、虎杖苷等<sup>[3]</sup>, 具有抗炎、抗氧化<sup>[4]</sup>、抗癌、抗肿瘤<sup>[5-6]</sup>、抑制血小板凝聚<sup>[7]</sup>、调节脂蛋白代谢<sup>[8]</sup>等功效。

虎杖药材质量控制方法中虽有指纹图谱定性与多成分定量测定的研究报道<sup>[9-10]</sup>, 但没有采用总量统计矩法对其指纹图谱进行定性定量分析的研究报道; 传统指纹图谱的分析方法大多是将指纹图谱的特征峰响应值分割不连的数据信息元, 采用相对应特征峰的多维向量方法进行计算判断。但由于中药特征峰的信息元容易受到实验条件的干扰, 同一组合成分难以出现完全相同的峰形和峰数, 给成分的相应特征峰的分析带来困难。而总量统计矩法是将指纹图谱作为众多高斯曲线叠加而成的概率密度函数曲线, 用统计学的方法来分析指纹图谱的内在特征<sup>[11]</sup>。本实验建立虎杖化学指纹图谱后首次采用总量统计矩结合聚类分析与主成分分析(PCA)评价虎杖饮片一致性与差异性, 从而为虎杖饮片质量控制提供参考方法。

## 1 仪器与材料

Agilent1260 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; HC-400A 华晨多功能摇摆粉碎机, 浙江省永康市金穗机械制造厂; KQ5200DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; CP114 型电子分析天平(0.1 mg), 奥豪斯仪器有限公司; HH-600 型 3 用恒温水箱, 金坛市神科仪器厂; SHZ-D (III)

循环水式真空泵, 巩义市英峪予华仪器厂。

虎杖苷(批号 10201-201309)、白藜芦醇(批号 10040-201401)、大黄素(批号 10103-201305)对照品, 均购自南昌贝塔生物科技有限公司, 质量分数均大于 98%, 大黄素苷对照品(批号 201312), 购自南京泽朗医药科技有限公司, 质量分数大于 98%; 虎杖药材经湖南中医药大学药学院刘塔斯教授鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc 的干燥根, 购于长沙各大药房, 具体信息见表 1。乙腈(色谱纯), 美国天地公司; 娃哈哈纯净水, 杭州娃哈哈有限公司; 其他试剂均为分析纯。

表 1 不同批次虎杖饮片来源

Table 1 Sources of different batches of *P. cuspidatum*

编号	样品来源	批号	产地
S1	长沙东塘药店	201401	甘肃
S2	湖南中医药大学第二附属医院	201403	湖南
S3	湖南中医药大学第一附属医院	201312	湖南
S4	湖南济仁堂大药房	201402	广西
S5	长沙菁苹果大药房	201404	安徽
S6	湖南省九芝堂大药房	201403	河北
S7	湖南老百姓大药房	201311	陕西
S8	湖南万众大药房	201402	湖南
S9	湖南省中医药研究院附属医院	201312	湖北
S10	湖南养天和大药房	201311	安徽
S11	湖南药海堂医药公司	201312	四川

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

安捷伦色谱柱 C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱, 洗脱程序为 0~8 min, 23%~26%乙腈; 8~18 min, 26%~32%乙腈; 18~27 min, 32%~37%乙腈; 27~32 min, 37%~85%乙腈; 32~37 min, 85%~95%乙

睛; 37~42 min, 95%~23%乙腈; 42~45 min, 23%乙腈; 检测波长 0~32 min, 306 nm; 32~45 min, 254 nm; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 ℃。

### 2.2 供试品溶液的制备

称取虎杖粗粉约 0.5 g, 置于 50 mL 量瓶中, 加入甲醇超声 30 min, 冷却, 静置, 定容, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过即得供试品溶液。

### 2.3 对照品溶液的制备

精密称定虎杖苷、白藜芦醇、大黄素苷、大黄素各对照品适量, 分别置于棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释, 分别制备成虎杖苷 64 μg/mL、白藜芦醇 71 μg/mL、大黄素苷 73 μg/mL、大黄素 74 μg/mL 的对照品溶液。

### 2.4 方法学考察

#### 2.4.1 精密度试验

取同一供试品溶液 (S3 样品), 按照“2.1”项色谱条件连续进样 6 次, 测得各共有峰相对保留时间与相对峰面积, 计算其 RSD, 结果相对保留时间的 RSD 小于 1%, 相对峰面积的 RSD 小于 3%, 表明仪器精密度较好。

#### 2.4.2 稳定性试验

取同一供试品溶液 (S3 样品), 按照“2.1”项色谱条件分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样测定, 计算各共有峰相对保留时间与相对峰面积的 RSD, 结果各共有峰相对峰面积的 RSD < 3%, 相对保留时间的 RSD < 1%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

#### 2.4.3 重复性试验

取同一供试品溶液 (S3 样品) 适量, 共 6 份, 精密称定, 按照“2.2”项方法制备供试品溶液, 按照“2.1”项色谱条件进行测定, 计算各共有峰的相对峰面积和相对保留时间的 RSD, 结果各共有峰相对峰面积的 RSD < 3%, 相对保留时间的 RSD < 1%, 表明重复性较好。

### 2.5 指纹图谱的建立

#### 2.5.1 指纹图谱共有模式的建立

将 11 个不同批次虎杖 HPLC 色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A》软件, 建立了不同批次虎杖的指纹图谱共有模式, 结果见图 1。由图 1 可知, 共获得 13 个共有峰, 经对照品对照, 1、4、6、12 号峰分别为虎杖苷、白藜芦醇、大黄素苷、大黄素的

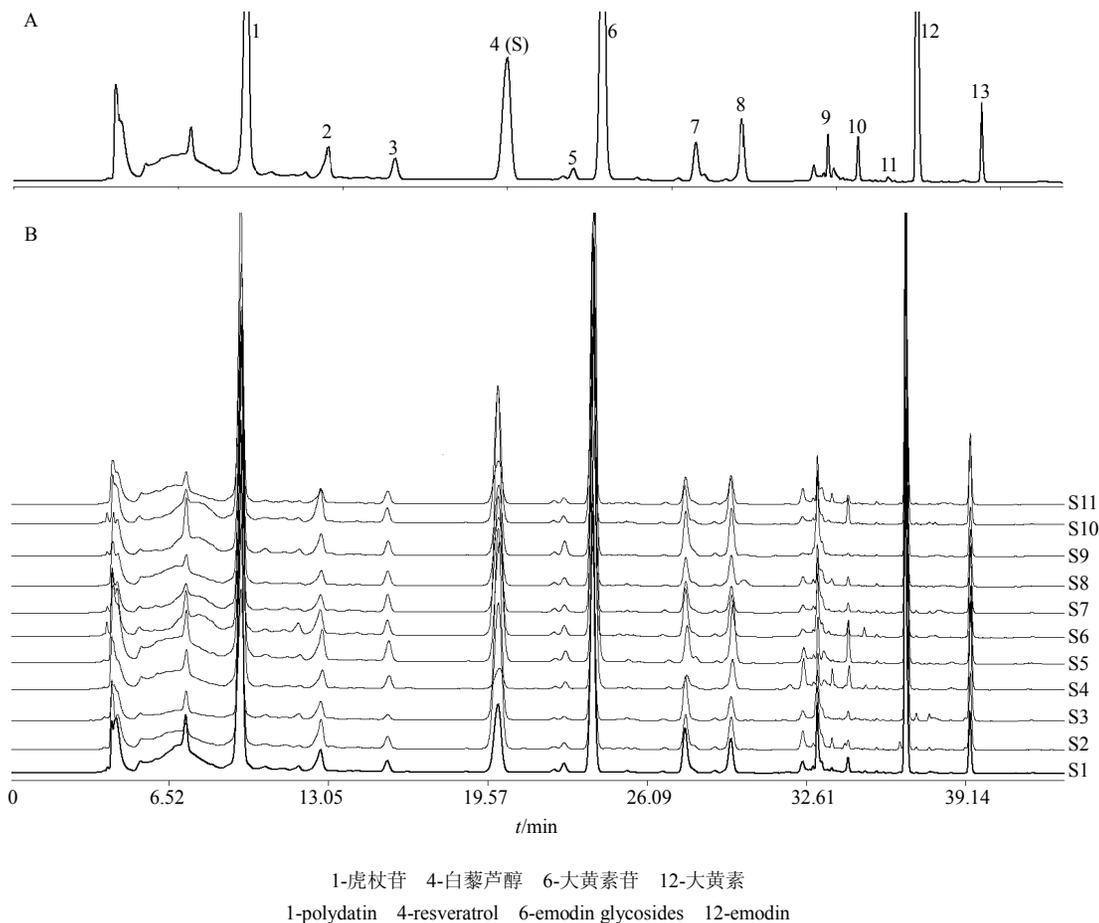


图 1 虎杖对照指纹图谱 (A) 与 HPLC 指纹图谱 (B)

Fig. 1 Control fingerprint (A) and HPLC fingerprint (B) of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix*

峰, 各批次样品中 4 号峰 (白藜芦醇) 的峰面积均比较大, 分离度较好, 为各批次样品所共有, 因此确定白藜芦醇峰为参比峰 (S)。

**2.5.2 共有峰的保留时间与相对峰面积** 以各批次的 4 号峰 (白藜芦醇) 为参比峰, 计算同一图谱中各共有峰的相对峰面积, 其结果见表 2。

**2.5.3 总量统计矩分析<sup>[12-13]</sup>** 采用指纹图谱的一种定性定量研究新方法: 总量统计矩分析法计算不同

批次的虎杖样品的总量统计矩参数, 如总量零阶矩 (AUC<sub>T</sub>)、总量响应率 (AUCPW<sub>T</sub>)、总量一阶矩 (MCRT<sub>T</sub>)、总量二阶矩 (VCRT<sub>T</sub>)<sup>[12]</sup>等, 计算结果见表 3。可知, 总量统计矩参数可以定量评价不同批次虎杖的指纹图谱, 各批次样品存在较大的差异。

**2.5.4 相似度评价** 分别采用总量统计矩法、夹角余弦法和相关系数法对 11 批虎杖样品的 HPLC 指纹图谱进行相似度评价, 相关系数法原理为将每张

表 2 不同批次虎杖样品各共有峰的保留时间与相对峰面积

Table 2 Retention time and relative peak areas of common peaks from different batches of samples

峰号	<i>t<sub>R</sub></i> /min	相对峰面积										平均值	
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10		S11
1	9.48	3.301 4	0.965 9	0.468 0	7.208 1	1.678 2	0.858 0	1.629 4	2.131 8	2.247 5	1.656 4	3.294 4	2.312 4
2	12.75	0.271 9	0.155 4	0.085 8	0.675 8	0.203 0	0.095 2	0.137 8	0.165 9	0.253 8	0.235 7	0.245 9	0.229 9
3	15.48	0.114 7	0.058 7	0.020 7	0.406 3	0.116 3	0.043 4	0.109 8	0.140 7	0.143 0	0.082 0	0.191 7	0.129 2
4 (S)	20.01	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
5	22.71	0.088 7	0.027 0	0.015 2	0.187 5	0.055 1	0.028 2	0.046 1	0.075 5	0.138 7	0.037 9	0.087 8	0.071 2
6	23.89	2.277 9	0.989 4	0.566 0	6.814 8	2.182 0	0.783 3	1.498 8	2.225 9	2.941 0	1.381 3	3.380 8	2.276 0
7	27.67	0.468 5	0.152 1	0.157 8	0.521 8	0.191 0	0.148 6	0.213 1	0.291 9	0.483 8	0.201 7	0.424 7	0.295 2
8	29.55	0.347 0	0.140 0	0.088 4	0.909 8	0.328 5	0.125 3	0.170 7	0.295 5	0.444 5	0.240 0	0.427 6	0.319 4
9	33.07	0.346 8	0.151 5	0.140 6	0.348 6	0.090 5	0.088 5	0.214 4	0.244 1	0.531 9	0.140 3	0.243 4	0.231 6
10	34.33	0.074 3	0.016 5	0.015 2	0.325 2	0.095 5	0.017 6	0.026 3	0.034 0	0.013 4	0.055 8	0.062 4	0.067 6
11	35.00	0.005 4	0.003 0	0.002 2	0.048 5	0.003 7	0.010 7	0.004 3	0.002 4	0.004 6	0.003 8	0.006 1	0.008 2
12	36.67	1.783 8	1.117 6	0.979 5	6.807 7	1.407 5	0.568 5	1.252 7	1.512 4	1.175 6	1.012 4	2.925 4	1.867 9
13	39.33	0.311 3	0.172 9	0.227 0	1.252 9	0.205 6	0.138 3	0.198 1	0.263 4	0.237 8	0.229 6	0.502 4	0.339 5

表 3 各批次虎杖样品的总量统计矩参数

Table 3 Parameters of total quantum statistical moment of different batches of samples

样品号	AUC <sub>T</sub> / (AU·min)	AUCPW <sub>T</sub> / (AU·min·mL·mg <sup>-1</sup> )	MCRT <sub>T</sub> / min	VCRT <sub>T</sub> / min <sup>2</sup>
S1	1.41×10 <sup>6</sup>	2.33×10 <sup>3</sup>	20.1	119.0
S2	1.71×10 <sup>6</sup>	2.58×10 <sup>3</sup>	22.1	116.0
S3	1.56×10 <sup>6</sup>	2.12×10 <sup>3</sup>	24.5	108.0
S4	1.32×10 <sup>6</sup>	1.91×10 <sup>3</sup>	23.0	126.0
S5	1.94×10 <sup>6</sup>	2.87×10 <sup>3</sup>	22.4	100.0
S6	1.77×10 <sup>6</sup>	2.77×10 <sup>3</sup>	21.3	97.0
S7	1.46×10 <sup>6</sup>	2.25×10 <sup>3</sup>	21.5	113.0
S8	1.29×10 <sup>6</sup>	1.94×10 <sup>3</sup>	22.1	108.0
S9	1.38×10 <sup>6</sup>	2.18×10 <sup>3</sup>	21.0	100.0
S10	1.55×10 <sup>6</sup>	2.46×10 <sup>3</sup>	21.0	108.0
S11	1.34×10 <sup>6</sup>	1.96×10 <sup>3</sup>	22.8	118.0
平均	1.52×10 <sup>6</sup>	2.31×10 <sup>3</sup>	22.0	110.0

指纹图谱看作是 1 个由图谱峰对时积分所获得的面积值构成的一个 *n* 维空间向量  $\bar{x} = (x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n)$ , 比较 2 个向量是否在同一条直线上, 即利用 2 个向量的相关系数来反映样品间的相似程度; 夹角余弦法是采用比较各向量之间的夹角余弦值  $\cos\theta$  来反映样品的相似程度; 总量统计矩法是将 2 个指纹图谱的总量统计矩参数转变成 2 个正态分布曲线, 并定义相似度为 2 个指纹图谱的正态曲线下重叠面积之和<sup>[14-15]</sup>。本实验相似度评价结果见表 4~6。由表 4~6 结果可知, 总量统计矩法计算各批次虎杖样品的相似度均在 0.90 以上; 夹角余弦法和相关系数法 2 种方法计算各批次虎杖样品的相似度除了 3 号样品外也均在 0.910 以上; 表明各批次虎杖样品具有较高的相似度。

**2.6 各批次样品的聚类分析**

采用 SPSS 19.0 数据统计软件将 11 批虎杖样品的共有峰峰面积数据进行标准化, 选用组间联接法

表4 总量统计矩法计算各批次虎杖样品的相似度

Table 4 Similarities of different batches of samples by total statistical moment method

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
S1	1.000	0.930	0.923	0.966	0.950	0.928	0.958	0.982	0.938	0.971	0.901
S2	0.930	1.000	0.981	0.960	0.979	0.973	0.943	0.921	0.869	0.959	0.962
S3	0.923	0.981	1.000	0.956	0.965	0.989	0.944	0.912	0.865	0.949	0.948
S4	0.966	0.960	0.956	1.000	0.978	0.961	0.976	0.952	0.909	0.984	0.926
S5	0.950	0.979	0.965	0.978	1.000	0.962	0.956	0.943	0.889	0.980	0.948
S6	0.928	0.973	0.989	0.961	0.962	1.000	0.953	0.914	0.873	0.950	0.938
S7	0.958	0.943	0.944	0.976	0.956	0.953	1.000	0.940	0.919	0.962	0.907
S8	0.982	0.921	0.912	0.952	0.943	0.914	0.940	1.000	0.938	0.962	0.897
S9	0.938	0.869	0.865	0.909	0.889	0.873	0.919	0.938	1.000	0.909	0.839
S10	0.971	0.959	0.949	0.984	0.980	0.950	0.962	0.962	0.909	1.000	0.930
S11	0.901	0.962	0.948	0.926	0.948	0.938	0.907	0.897	0.839	0.930	1.000
平均	0.950	0.952	0.948	0.961	0.959	0.949	0.951	0.942	0.904	0.960	0.927

表5 夹角余弦法计算各批次虎杖样品的相似度

Table 5 Similarities of different batches of samples by cosine method

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
S1	1.000	0.935	0.795	0.949	0.933	0.882	0.976	0.970	0.941	0.957	0.963
S2	0.935	1.000	0.954	0.907	0.942	0.954	0.983	0.952	0.904	0.957	0.938
S3	0.795	0.954	1.000	0.792	0.857	0.928	0.894	0.848	0.781	0.873	0.832
S4	0.949	0.907	0.792	1.000	0.956	0.831	0.949	0.968	0.923	0.933	0.992
S5	0.933	0.942	0.857	0.956	1.000	0.927	0.973	0.990	0.969	0.972	0.978
S6	0.882	0.954	0.928	0.831	0.927	1.000	0.947	0.927	0.903	0.967	0.883
S7	0.976	0.983	0.894	0.949	0.973	0.947	1.000	0.989	0.955	0.982	0.975
S8	0.970	0.952	0.848	0.968	0.990	0.927	0.989	1.000	0.977	0.982	0.990
S9	0.941	0.904	0.781	0.923	0.969	0.903	0.955	0.977	1.000	0.961	0.956
S10	0.957	0.957	0.873	0.933	0.972	0.967	0.982	0.982	0.961	1.000	0.962
S11	0.963	0.938	0.832	0.992	0.978	0.883	0.975	0.990	0.956	0.962	1.000
平均	0.936	0.948	0.869	0.927	0.954	0.923	0.966	0.963	0.934	0.959	0.952

表6 相关系数法计算各批次虎杖样品的相似度

Table 6 Similarities of different batches of samples by correlation coefficients

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
S1	1.000	0.926	0.767	0.943	0.924	0.866	0.973	0.966	0.933	0.951	0.958
S2	0.926	1.000	0.948	0.896	0.935	0.947	0.980	0.945	0.890	0.950	0.930
S3	0.767	0.948	1.000	0.766	0.839	0.918	0.880	0.827	0.751	0.855	0.810
S4	0.943	0.896	0.766	1.000	0.951	0.810	0.943	0.964	0.913	0.924	0.991
S5	0.924	0.935	0.839	0.951	1.000	0.918	0.970	0.989	0.966	0.969	0.976
S6	0.866	0.947	0.918	0.810	0.918	1.000	0.940	0.917	0.889	0.962	0.867
S7	0.973	0.980	0.880	0.943	0.970	0.940	1.000	0.987	0.949	0.980	0.972
S8	0.966	0.945	0.827	0.964	0.989	0.917	0.987	1.000	0.974	0.980	0.989
S9	0.933	0.890	0.751	0.913	0.966	0.889	0.949	0.974	1.000	0.955	0.950
S10	0.951	0.950	0.855	0.924	0.969	0.962	0.980	0.980	0.955	1.000	0.957
S11	0.958	0.930	0.810	0.991	0.976	0.867	0.972	0.989	0.950	0.957	1.000
平均	0.928	0.941	0.851	0.918	0.949	0.912	0.961	0.958	0.925	0.953	0.945

进行聚类, 用余弦法计算样品相似性程度, 聚类结果见图 2。从树状聚类图中看到, 当类间距离介于 5~10 时, 虎杖药材可以聚为 4 类, S3 为一类, S2、S6 为一类, S9 为一类, 其他虎杖样品为一类。

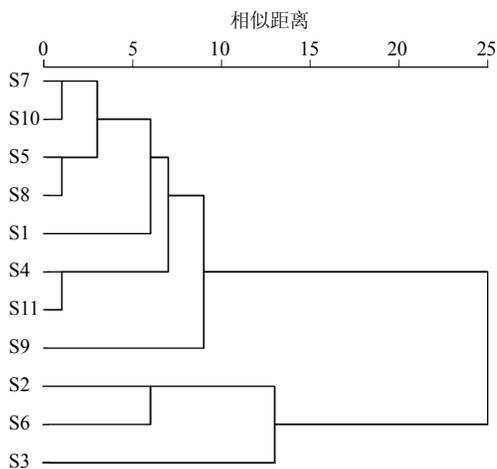


图 2 虎杖不同批次样品指纹图谱聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of different batches of samples

### 2.7 各批次样品的 PCA

PCA 是在尽可能保持原有信息的前提下, 将原本个数较多且彼此存在相关性的指标转换为新的个数比较少且彼此独立或不相关的综合性指标, 从而达到简化多指标分析的目的<sup>[16]</sup>。本实验将 11 批样品的 13 个共有峰峰面积导入 SPSS 19.0 软件, 对共有峰面积进行标准化处理, 计算相关系数矩阵、特征值和方差贡献率, 进行 PCA。主成分个数提取原则为主成分的特征值大于 1 的前  $m$  个主成分, 结果见表 7、8。

由表 7 可知, 经计算, 提取到了 4 个主成分,

表 7 虎杖 PCA 的特征值与贡献率结果

Table 7 Eigenvalue and contribution rate of PCA

主成分	特征值	贡献率/%	累计贡献率/%
1	4.689	36.069	36.069
2	3.232	24.860	60.929
3	2.479	19.069	79.997
4	1.045	8.037	88.034
5	0.625	4.810	92.844
6	0.424	3.258	96.102
7	0.255	1.965	98.067
8	0.169	1.297	99.364
9	0.070	0.539	99.903
10	0.013	0.097	100.000

表 8 虎杖 PCA 成分矩阵

Table 8 Component matrix of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix*

峰号	主成分			
	1	2	3	4
1	0.808	0.070	-0.046	-0.285
2	0.547	0.330	0.548	0.230
3	0.867	0.125	-0.236	-0.063
4	-0.110	0.193	0.910	-0.021
5	0.728	-0.598	0.111	-0.053
6	0.943	0.077	-0.013	0.123
7	0.156	-0.581	0.732	0.064
8	0.920	0.090	0.252	0.149
9	-0.126	-0.818	0.425	0.278
10	0.607	0.717	-0.059	0.087
11	0.000	0.229	0.470	-0.824
12	-0.202	0.844	0.122	0.311
13	-0.507	0.638	0.511	0.046

前 4 个主成分的特征值大于 1, 即 4.689、3.232、2.479、1.045, 对方差的贡献率分别为 36.069%、24.860%、19.069%、8.037%, 累计贡献率为 88.034%。从表 7 可以看出, 虎杖的多个成分可以简化为 4 个主成分进行分析。

载荷的绝对值越大, 对主成分的贡献越大。由表 8 的成分矩阵可知, 6 号峰在第 1 主成分上有最高的载荷, 12 号峰在第 2 主成分上有最高的载荷, 4 号峰在第 3 主成分上有最高的载荷, 另外 1 号峰在第 1 主成分上也有较高的载荷, 说明 1 号峰(虎杖苷)、4 号峰(白藜芦醇)、6 号峰(大黄素苷)、12 号峰(大黄素)对虎杖的质量贡献较大(作为主要化学成分)。

虽然有 4 个主成分的特征值大于 1, 但前 3 个主成分的特征值相对较大, 因此取前 3 个主成分的得分进行三维作图, 得图 3。可知, 11 批样品归为 4 类, S3 样品为 1 类、S5 样品为一类, S9 样品为一类, 其他为一类, 与聚类分析结果接近, 但也有一定的差异。

### 3 讨论

本实验采用构建化学指纹图谱的方法识别不同批次虎杖饮片的一致性与差异性。指纹图谱研究中通过变波长与变梯度洗脱, 获得 13 个主要共有峰, 并识别了 4 个共有峰: 虎杖苷、白藜芦醇、大黄素苷、大黄的峰。指纹图谱的识别模式中采用定性

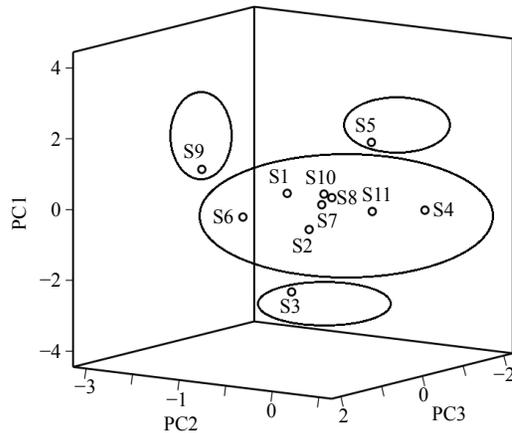


图3 虎杖不同批次样品主成分3D得分图

Fig. 3 3D PCA score of different batches of samples

定量方法之总量统计矩法，它具有抗干扰性、加合性与偶联性等特点，能消除操作方法的干扰，能与多维向量偶联构成谱学的特点<sup>[11]</sup>，所以可以作为评价指纹谱图的方法。研究中计算出各批次的总量统计矩参数如  $AUC_T$ 、 $AUCPW_T$ 、 $MCRT_T$ 、 $VCRT_T$ ，结果发现各批次样品的总量统计矩参数差异较大，表明各批次样品在“量”上存在较大的差异。相似度研究中，首次同时采用总量统计矩法、夹角余弦法和相关系数法3种方法计算出了各批次样品之间的相似度，表明各样品在“形”上存在较高的相似性，其中总量统计矩法计算出的相似度最高，其相似度均高于0.90。由于总量统计矩分析方法可使相似度主要反映成分的相似程度，对其特征峰不明显的指纹图谱也可以进行分析；它体现了单成分特征性与模糊指纹图谱整体随机性，同时也体现单个指纹峰定量分析与总量统计矩整合分析<sup>[14]</sup>，因此可以较好地评价样品的相似度。

聚类分析与PCA广泛应用于品质鉴定与样品分类研究中<sup>[17]</sup>。本实验的样品分类方面，分别采用PCA与聚类分析对各批次虎杖样品进行分类，分类结果接近，但也存在一定的差异，可能由于PCA法所提取的主要因素不能完全反映药材的所有信息，也有可能与参数设置与色谱峰选择有关，因此导致2种分类模式结果存在差异；PCA中，S5样品被分类出来，观察其色谱图，可能由于S5样品的3、6、8、12号峰的峰面积较其他样品大的原因。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.  
 [2] 沈路路, 卢燕, 程志红, 等. 虎杖的抗补体活性蒽醌类成分及其作用靶点 [J]. 中草药, 2013, 44(18):

2502-2507.  
 [3] 裴莲花, 吴学, 金光洙. 虎杖化学成分及药理作用研究现状 [J]. 延边大学医学学报, 2006, 29(2): 147-149.  
 [4] Lanzilli G, Cottarelli A, Nicotera G, et al. Anti-inflammatory effect of resveratrol and polydatin by *in vitro* IL-17 modulation [J]. *Inflammation*, 2012, 35(1): 240-248.  
 [5] Mitani T, Harada N, Tanimori S, et al. Resveratrol inhibits hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ -mediated androgen receptor signaling and represses tumor progression in castration-resistant prostate cancer [J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2014, 60(4): 276-282.  
 [6] Pooja T, Karunagaran D. Emodin suppresses Wnt signaling in human colorectal cancer cells SW480 and SW620 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 742(11): 55-64.  
 [7] Nabavi S F, Huige L, Daglia M, et al. Resveratrol and stroke: from chemistry to medicine [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2014, 11(4): 390-397.  
 [8] Zhang Q, Tan Y, Zhang N, et al. Polydatin supplementation ameliorates diet-induced development of insulin resistance and hepatic steatosis in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(1): 603-610.  
 [9] 张明昶, 彭小冰, 苗旭辉, 等. 中药虎杖特征指纹图谱研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 53-55.  
 [10] 张清峰, 付莹娟, 陈继光, 等. 高效液相色谱法同时测定虎杖中五种活性成分 [J]. 现代食品科技, 2014, 30(3): 216-219.  
 [11] 贺福元, 周宏灏, 邓凯文, 等. 指纹图谱的一种定性定量研究新方法: 总量统计矩分析法 [J]. 药学报, 2008, 43(2): 195-201.  
 [12] 马家骅, 谭承佳, 赵云生, 等. 蛭螂有效部位毛细管电泳指纹图谱的建立及其总量统计矩分析 [J]. 中草药, 2013, 44(10): 1263-1266.  
 [13] 杨岩涛, 吴春英, 吴德智, 等. 指纹图谱段带总量统计矩法对黄连解毒汤提取过程中成分变化的研究 [J]. 中草药, 2014, 45(15): 2157-2164.  
 [14] 杨岩涛, 吴春英, 刘文龙, 等. 不同相似度法对当归补血汤指纹图谱分析的比较研究 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(5): 1431-1435.  
 [15] 贺福元, 邓凯文, 黄胜, 等. 总量统计矩标准相似度数学模型的建立及应用研究 [J]. 药学报, 2013, 48(9): 1453-1458.  
 [16] 杨冰月, 李敏, 施佳, 等. 半夏及其炮制品姜半夏 HPLC 特征指纹图谱系统性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(5): 652-658.  
 [17] 吴玲芳, 林琛, 袁永兵, 等. 叶下珠指纹图谱及模式识别研究 [J]. 中草药, 2015, 46(4): 572-575.