

多维统计分析法综合评价濒危药用植物甘松的根及根茎和全草药材质量

金 乾¹, 李 莹^{1,2}, 群 培¹, 向海燕¹, 刘 圆^{2*}

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

2. 西南民族大学民族医药研究院, 四川 成都 610041

摘要: **目的** 在甘松野生资源保护的前提下, 其全草是否可等同药典中规定的根及根茎入药, 探讨市场流通的甘松药材为全草的科学性。**方法** 收集全国4省区的31批样品, 常规方法测定植株根长、株高、干质量、挥发油含量、水溶性浸出物、甘松新甾含量、水分、总灰分、酸不溶性灰分等数据。运用灰色关联度法、回归分析法以及主成分分析(PCA)、层序聚类分析(HCA)法对反映药材质量的数据进行深入分析, 综合评价野生甘松“全草”和“根及根茎”的药材质量。**结果** 甘松药材质量优劣主要与根及根茎挥发油含量、根及根茎水溶性浸出物含量有较明显的相关性; 甘松药材的根及根茎、全草具有差异的8个自变量中, 水溶性浸出物、挥发油2个自变量对因变量有显著影响($P < 0.01$)。**结论** 通过多维统计分析法对甘松全草、根及根茎的药材质量进行综合评价, 甘松全草与根及根茎的挥发油与水溶性浸出物含量存在明显差异。再次证实甘松仍然以历版《中国药典》规定的根及根茎入药为佳; 表明甘松全草不能完全替代甘松的根及根茎入药。

关键词: 甘松; 甘松根及根茎; 甘松全草; 灰色关联度法; 回归分析法; 主成分分析; 层序聚类分析; 综合评价

中图分类号: R282.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)04-0919-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.04.027

Comprehensive evaluation of quality of *Nardostachys Radix et Rhizoma* and *Nardostachys Herba* by multidimensional statistical analysis

JIN Qian¹, LI Ying^{1,2}, QUN Pei¹, XIANG Hai-yan¹, LIU Yuan²

1. College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

2. Ethnic Medicine Institute, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective Based on the premise of wild resources protection of *Nardostachys jatamansi*, whether *Nardostachys Herba* (NH) could be equal to *Nardostachys Radix et Rhizoma* (NRR) specified in pharmacopeia for medical use or not, and to discuss the scientificity of using NH as the commodity specifications in market circulation. **Methods** The gray correlation, regression analysis and PCA, and HCA analysis were used to analysis the data, including the root length, plant height, dry weight, content of volatile oil, water-soluble extract, content of nardosine, moisture, total ash, acid-insoluble ash, etc., in order to comprehensively evaluate the quality of NH and NRR. **Results** The quality of NH and NRR were mainly correlated with the content of volatile oil and water soluble leach of NRR. Two variables corresponding to the dependent variable, aqueous extract and volatile oil, of total eight variables had significant influences between NH and NRR ($P < 0.01$). **Conclusion** The multidimensional statistical analysis of medicinal material quality illustrated an obvious difference between NH and NRR. It was conformed once again the NRR was to be the best for medical use, which was the same indexed regulations in different version of *Chinese Pharmacopoeia*. The NH was not absolutely substituted for NRR.

Key words: *Nardostachys jatamansi* DC.; *Nardostachys Radix et Rhizoma*; *Nardostachys Herba*; gray correlation method; regression analysis; PCA; HCA; comprehensive evaluation

收稿日期: 2017-09-07

基金项目: 国家“十三五”科技支撑计划(2015BAC05B02); 四川省应用基础研究项目(2018); 西南民族大学中央高校基本科研业务费专项资金研究类项目(2018NZD10)

作者简介: 金 乾(1994—), 男, 辽宁锦州人, 满族, 在读硕士, 研究方向为民族药品种、品质评价和新药资源保护与利用研究。

Tel: 18702888493 E-mail: jinqianswun@163.com

*通信作者 刘 圆(1968—), 博士, 博士生导师, 教授, 研究方向为民族药品种、品质评价和新药资源保护与利用研究。

Tel: (028)85528812 E-mail: 499769896@qq.com

甘松为败酱科甘松属植物甘松 *Nardostachys jatamansi* DC. 的干燥根及根茎^[1]。课题组前期考证认为,甘松的基原植物为甘松 *N. jatamansi* DC. 及其变型光果甘松 *N. jatamansi* (D. Don) DC. f. *plena* Batal.。甘松为我国藏、蒙、维、纳西、傈僳等民族临床常用品种;亦为古印度阿育吠陀(Ayurveda)与尤纳尼(Unani)医学体系的常用药材。匙叶甘松 *N. grandis* Flora 已被列入《濒危野生动植物物种国际贸易公约》(即“华盛顿公约”或“CITES 公约”)2007 年、2013 年版附录 II 中。随着步长稳心颗粒、松补力口服液、伤痛凝胶囊等成药,藏香及日化品品类与销量的增加,对甘松的需求量也越来越大,当前甘松野生资源已无法满足市场需要;由于甘松对生态环境(海拔 3 500 m 左右)要求较为苛刻,人工种植尚未起步^[2]。

甘松是藏香的重要原材料之一。近年,由于资源的匮乏,课题组访问过的藏香厂基本都建议藏香中不再添加甘松,特别在甘肃藏区当地寺庙和藏民禁止采挖甘松。目前《中国药典》2015 年版一部中,甘松项下的入药部位为根及根茎。课题组于 2016 年 5~10 月份,实地调查了四川、青海、甘肃、西藏 4 省区,横跨 7 个纬度(27°48'00"~35°27'24"),纵跨 16 个经度(86°12'00"~103°35'53"),共采集 31 个代表性产地的野生甘

松;通过线上线下调查发现,甘松药材以统根与全草统 2 种统货在药材市场上流通。因此,为确认甘松全草是否可等同甘松根及根茎入药,对实地采集的 31 个样品进行综合质量分析与评价,以期合理利用资源以及新版《中国药典》能否将甘松的入药部位根及根茎修改为全草提供科学实验数据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

游标卡尺、旋转蒸发器、挥发油测定器、烘箱, Altimeter GPS 定位软件、马弗炉、水浴锅; Waters Acquity UPLC[®] H-Class 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); METTLER AE240 电子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司); KQ-5200E 型超声波清洗器(40 kHz、250 W, 昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试药

五氧化二磷、无水氯化钙、盐酸、甘松新酮(批号 MUST-150021607, 质量分数>98%)购自中国食品药品检定研究院;色谱乙腈(美国 Sigma 公司),其他试剂均为分析纯。药材采自四川、青海、甘肃、西藏 4 省区内不同生长地区的 31 批甘松样品,经西南民族大学刘圆教授鉴定为败酱科植物甘松 *Nardostachys jatamansi* DC., 具体信息见表 1。

表 1 甘松样品采集信息

Table 1 Collection information details of *N. jatamansi*

序号	时间	地址	经纬度	海拔/m
A1	2016-05	四川省阿坝州红原县龙渡湾山	北纬: 33°04'42" 东经: 102°36'10"	3 497
A2	2016-05	四川省阿坝州红原县瓦切镇瓦罗多村	北纬: 33°12'54" 东经: 103°03'18"	3 453
A3	2016-05	四川省阿坝州红原县麦洼乡二村戈尔多谷中	北纬: 33°07'23" 东经: 102°49'16"	3 645
A4	2016-06	四川省阿坝州红原县邛溪镇麻萨村 6 组多尔玛山(6.21)	北纬: 33°20'19" 东经: 102°55'23"	3 800
A5	2016-06	四川省阿坝州红原县邛溪镇麻萨村 6 组多尔玛山(6.16)	北纬: 33°20'19" 东经: 102°55'23"	3 800
A6	2016-06	四川省阿坝州若尔盖县阿西茸乡茸果村	北纬: 33°39'32" 东经: 103°15'06"	2 828
A7	2016-06	四川省阿坝州若尔盖县班佑乡山上	北纬: 33°35'03" 东经: 103°06'17"	3 480
A8	2016-06	四川省阿坝州若尔盖县包座乡达青村(三队)	北纬: 33°12'17" 东经: 103°24'02"	3 528
A9	2016-06	四川省阿坝州若尔盖县包座乡姜冬村	北纬: 33°27'56" 东经: 103°10'29"	3 547

续表 1

序号	时间	地址	经纬度	海拔/m
A10	2016-06	四川省阿坝州若尔盖县包座乡噶子村罗马路山	北纬: 33°09'45" 东经: 103°18'34"	3 872
A11	2016-06	四川省阿坝州若尔盖县达扎寺镇多玛乡红光村	北纬: 33°57'42" 东经: 103°35'53"	3 470
A12	2016-08	若尔盖县唐克镇(209 省道西) 鲁根	北纬: 33°16'57" 东经: 102°31'18"	3 441
A13	2016-06	四川省阿坝州格阿坝县格莫乡上阿坝石头山	北纬: 101°36'41" 东经: 32°59'11"	3 276
A14	2016-06	四川省阿坝州阿坝县龙藏乡龙藏村四组吴木山	北纬: 32°58'50" 东经: 101°42'37"	3 568
A15	2016-06	四川省阿坝州阿坝县麦日玛乡三大队扎尕山	北纬: 33°30'25" 东经: 102°11'07"	3 500
A16	2016-06	四川省阿坝州阿坝县甲尔多乡龙桑村泽山	北纬: 33°02'12" 东经: 101°57'55"	3 442
A17	2016-07	四川省甘孜州色达县喇荣五明佛学院	北纬: 32°09'21" 东经: 100°27'59"	4 030
A18	2016-07	青海省果乐州久治县白玉乡科索村华热山	北纬: 33°15'40" 东经: 100°40'01"	3 780
A19	2016-07	青海省果乐州久治县白玉乡(往久治县方向 12 km 处过桥山沟)	北纬: 33°16'27" 东经: 100°45'55"	3 880
A20	2016-07	青海省黄南州河南县赛尔龙乡尔绣勒	北纬: 34°26'01" 东经: 101°50'00"	3 580
A21	2016-07	青海省黄南州河南县秀甲村	北纬: 35°27'24" 东经: 102°04'41"	3 480
A22	2016-07	青海省黄南州河南县赛尔龙乡往甘肃省玛曲县方向 7 km 处	北纬: 34°41'09" 东经: 101°28'08"	3 440
A23	2016-07	甘肃省甘南州玛曲县境内, 阿万仓乡欧拉路	北纬: 33°16'02" 东经: 100°39'07"	3 760
A24	2016-07	甘肃省甘南州玛曲县欧拉乡安茂村 45 km	北纬: 34°03'43" 东经: 101°45'28"	3 440
A25	2016-07	甘肃省甘南州玛曲县到碌曲县方向 50 km	北纬: 34°20'01" 东经: 102°15'30"	3 430
A26	2016-07	甘肃省甘南州碌曲县郎木寺镇 213 国道西	北纬: 34°12'06" 东经: 103°03'08"	3 600
A27	2016-07	西藏日喀则市拉孜县曲下镇桑珠村	北纬: 29°09'25" 东经: 88°04'18"	4 500
A28	2016-08	西藏日喀则市拉孜县查务乡查务村	北纬: 29°11'09" 东经: 87°58'32"	4 300
A29	2016-08	西藏日喀则市拉孜县芒普乡贡琼村	北纬: 29°36'17" 东经: 88°04'17"	4 266
A30	2016-07	西藏日喀则市昂仁县卡嘎镇色律村	北纬: 29°27'33" 东经: 87°19'08"	4 630
A31	2016-07	西藏日喀则市定日县曲当乡	北纬: 27°48'00"~29°06'00" 东经: 86°12'00"~87°42'00"	4 300

2 方法

2.1 考察因素的测定

样品清洁后, 测量植株的根长、株高; 药材阴干后, 于烘箱低温(40 ℃)烘干至恒定质量后, 称定干质量; 挥发油含量、水溶性浸出物、水分、总灰分、酸不溶性灰分测定分别参照《中国药典》2015

年版四部通则中挥发油测定法、浸出物测定法、水分测定法第二法、灰分测定法^[3]。

2.2 甘松新酮的测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取甘松新酮对照品 2.8 mg, 加甲醇定容至 10 mL 棕色量瓶中, 混匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称定甘松粉末(过 2 号筛)约 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 密塞, 精密称定质量, 超声处理(功率 50 W, 频率 45 kHz) 15 min, 放冷, 再称定, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 色谱条件 Acquity UPLC[®] HSS C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); PDA 检测器漂移管温度 30 ℃, 柱温 30 ℃; 体积流量 0.25 mL/min; 进样量 2 μL; 流动相为乙腈(A)-水(B), 梯度

洗脱程序为 0~3 min, 30% A; 3~7 min, 50% A; 7~10 min, 70% A。

2.2.4 方法学考察 按照《中国药典》2015 年版方法考察稳定性、重复性、精密度、加样回收率试验, RSD 值均小于 1.9%。

3 结果与分析

3.1 主要性状数值的测定结果

采集的 31 个生长地区的参评材料(A1~A31)和构建的理想材料(A0)的 9 个考察性状的平均值见表 2。

表 2 理想材料及参评材料的主要性状数值

Table 2 Main characters values of ideal materials and participating materials

编号	株高/cm	根长/cm	单株平均 干质量/g	根及根茎挥 发油/%	根及根茎水溶 性浸出物/%	水分/%	总灰分/%	酸不溶性 灰分/%	根及根茎中甘 松新酮/%
A0	28.4	16.59	3.18	6.67	19.76	3.83	14.56	7.80	2.65
A1	3.94	3.30	0.21	3.33	18.48	6.85	16.33	8.97	1.60
A2	2.91	5.96	0.97	2.33	12.78	6.48	14.56	7.80	1.86
A3	9.60	11.00	2.32	3.33	16.05	6.14	17.25	10.14	2.35
A4	6.09	7.58	1.18	4.99	9.57	7.73	13.93	10.07	1.06
A5	6.15	7.61	0.71	6.67	10.83	8.20	13.56	10.13	2.54
A6	7.45	10.24	1.54	2.50	15.62	5.26	28.76	22.78	2.38
A7	9.57	12.26	1.62	2.00	13.71	4.98	31.08	21.97	2.16
A8	10.08	9.75	2.07	2.67	12.26	3.83	30.07	23.66	1.24
A9	11.15	13.07	1.29	3.33	11.29	5.96	29.65	22.87	1.16
A10	6.42	10.76	1.02	4.67	10.47	6.28	31.74	24.37	1.08
A11	10.53	16.59	1.05	6.66	15.36	6.73	29.58	23.28	2.65
A12	6.94	12.74	1.39	3.33	19.76	7.42	30.93	24.15	1.11
A13	4.58	8.50	1.67	3.33	13.02	6.27	21.47	15.63	1.67
A14	2.38	4.86	0.64	5.33	12.63	5.03	22.31	15.47	0.60
A15	3.75	5.28	1.32	4.33	12.30	5.66	21.96	14.98	1.53
A16	21.06	10.94	1.67	5.33	13.39	6.51	22.42	15.73	0.29
A17	19.90	13.4	3.18	3.33	9.51	4.58	45.92	35.26	0.21
A18	23.04	9.72	1.96	4.99	10.88	4.90	26.95	19.75	0.39
A19	19.00	12.06	1.48	5.00	11.04	4.94	37.39	29.90	0.20
A20	21.87	7.43	1.43	4.00	11.59	6.75	22.42	15.57	1.09
A21	20.48	11.46	2.16	2.67	15.13	5.88	26.18	18.78	1.49
A22	27.18	11.96	2.22	4.66	9.90	7.57	25.32	18.15	1.19
A23	18.42	9.52	1.96	2.66	9.82	4.50	41.08	32.64	1.08
A24	24.66	11.94	2.32	3.99	10.28	4.39	31.35	23.18	1.25
A25	28.40	6.75	1.25	2.33	9.15	4.98	37.67	29.77	0.60
A26	23.64	11.24	1.80	4.66	10.37	4.89	35.06	25.93	1.00
A27	10.58	8.93	0.82	1.50	5.47	5.40	31.10	26.50	0.03
A28	14.39	11.40	1.29	3.67	7.12	5.62	28.15	23.74	0.57
A29	4.93	11.83	1.04	3.33	11.22	8.04	27.13	21.95	0.03
A30	15.84	7.17	0.61	2.33	6.94	6.58	26.66	21.40	0.17
A31	12.37	9.89	1.08	3.33	10.44	7.87	17.70	13.67	0.35

3.2 灰色关联度分析

3.2.1 建立矩阵 利用 Excel 软件, 采用均值计算方法, 建立矩阵并进行无量纲化处理。公式:

$$x'_i(k) = x_i(k) / \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m x_j(k)$$

$i=0, 1, 2, \dots, m; k=0, 1, 2, \dots, n$

设待评的甘松药材为 m , 评价指标为 n , 本实验中 m 值为 31, n 为 9; 通过比较数列值与相对应的参考数列值之差的绝对值计算差序列值。

3.2.2 关联系数计算^[4] 各指标与理想值的吻合程度呈正相关, 关联系数越大, 表明某指标越接近理想值。计算各参评材料与理想材料的关联系数, 结果

见表 3。

3.2.3 归一化处理与灰色关联指标 由表 3 可知, 关联系数多, 不易比较, 因此有必要将各个时刻的关联系数集中为 1 个值, 而求关联度平均值便是这种信息集中处理的 1 种方法。可求得各指标的关联度 (r_i)。再将其归一化处理可得各个指标的权重, 结果见表 4; 灰色关联评价指标公式:

$$r'_i = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \omega \kappa \zeta_i(k)$$

其中 $\omega \kappa$ 为权重系数, 将表 3 和表 4 所得结果代入并计算, 求出各指标的灰色关联评价指标, 并对所得值大小进行排序, 结果见表 5。

表 3 关联系数

Table 3 Correlation coefficient

编号	关联系数								
	株高	根长	单株平均干质量	挥发油	水溶性浸出物	水分	总灰分	酸不溶性灰分	甘松新酮
A1	1.861 7	1.350 2	2.033 8	0.888 1	0.108 3	0.502 7	0.065 7	0.057 7	0.931 9
A2	2.050 3	1.381 0	1.844 7	1.459 4	1.117 3	0.088 1	0.267 4	0.191 1	1.507 1
A3	1.793 1	1.118 1	1.372 8	1.319 9	0.962 7	0.107 5	0.214 1	0.131 3	1.254 7
A4	1.925 1	1.287 4	1.758 0	1.086 3	1.240 1	0.039 1	0.274 2	0.131 1	1.849 9
A5	1.921 0	1.280 8	1.922 7	0.835 4	1.176 7	0.095 1	0.279 0	0.127 5	1.145 2
A6	1.868 0	1.134 3	1.625 3	1.411 8	0.946 9	0.156 9	0.018 2	0.198 6	1.195 6
A7	1.780 9	1.014 2	1.588 9	1.481 7	1.020 8	0.176 3	0.074 2	0.188 6	1.270 7
A8	1.755 8	1.140 2	1.413 2	1.381 9	1.077 6	0.278 3	0.066 1	0.244 2	1.721 5
A9	1.707 0	0.942 2	1.692 5	1.279 7	1.114 6	0.072 7	0.069 4	0.235 4	1.761 3
A10	1.896 0	1.059 3	1.790 7	1.070 7	1.146 1	0.032 2	0.125 1	0.289 3	1.801 3
A11	1.722 6	0.701 2	1.778 1	0.749 9	0.888 0	0.023 4	0.093 2	0.273 1	0.991 0
A12	1.868 2	0.906 0	1.645 0	1.245 6	0.638 3	0.105 6	0.135 6	0.312 1	1.761 7
A13	1.966 2	1.152 6	1.529 7	1.238 4	0.968 0	0.004 6	0.060 8	0.076 2	1.455 4
A14	2.059 5	1.376 1	1.925 3	0.906 6	0.974 2	0.112 7	0.034 5	0.078 1	2.028 0
A15	2.000 2	1.346 5	1.656 5	1.051 0	0.978 1	0.038 3	0.034 4	0.069 9	1.526 0
A16	1.251 1	0.976 3	1.512 6	0.865 6	0.900 3	0.063 7	0.015 5	0.099 6	2.193 6
A17	1.275 3	0.797 0	0.887 9	1.192 1	1.110 7	0.133 7	0.552 5	0.717 9	2.237 3
A18	1.105 5	1.022 5	1.354 0	0.889 2	1.018 9	0.090 8	0.124 3	0.255 3	2.141 4
A19	1.261 2	0.846 3	1.544 6	0.866 2	0.996 0	0.077 9	0.401 5	0.604 2	2.243 5
A20	1.095 7	1.155 1	1.564 4	1.028 4	0.947 4	0.139 8	0.041 6	0.146 5	1.760 4
A21	1.129 7	0.854 6	1.243 5	1.266 7	0.704 7	0.055 6	0.151 8	0.266 8	1.530 7
A22	0.747 1	0.796 2	1.196 7	0.879 3	1.019 6	0.273 3	0.143 8	0.257 7	1.679 5
A23	1.159 1	0.957 7	1.291 3	1.250 4	1.012 0	0.081 5	0.593 9	0.794 5	1.734 9
A24	0.777 2	0.752 7	1.112 5	0.978 0	0.967 6	0.086 7	0.357 6	0.485 1	1.634 4
A25	0.497 2	1.143 0	1.592 1	1.299 5	1.031 4	0.003 7	0.570 0	0.763 8	2.003 7
A26	0.700 4	0.767 9	1.329 9	0.814 1	0.931 8	0.003 7	0.530 3	0.652 5	1.771 9
A27	1.477 3	0.936 1	1.787 1	1.456 6	1.272 6	0.075 4	0.442 4	0.710 8	2.334 4
A28	1.213 2	0.706 7	1.561 0	0.992 6	1.146 2	0.119 8	0.377 3	0.631 0	2.021 5
A29	1.827 5	0.639 4	1.677 1	1.051 5	0.830 7	0.469 9	0.369 9	0.584 8	2.334 5
A30	1.078 1	1.030 7	1.881 0	1.257 5	1.137 6	0.299 3	0.380 2	0.589 5	2.253 3
A31	1.286 7	0.765 6	1.652 6	1.027 7	0.855 1	0.513 8	0.088 9	0.256 7	2.149 6

表 4 指标归一化处理 (权重系数分配)

Table 4 Normalized processing of indicators (weight coefficient distribution)

指标	株高	根长	单株平均干质量	挥发油	水溶性浸出物	水分	总灰分	酸不溶性灰分	甘松新酮
r_i	0.456 0	0.542 9	0.431 4	0.517 9	0.553 7	0.904 8	0.855 0	0.796 6	0.409 5
ω_k	0.083 4	0.099 3	0.078 9	0.094 7	0.101 3	0.165 5	0.156 4	0.145 7	0.074 9

表 5 灰色关联度法结果分析

Table 5 Results of grey correlation analysis

样品	灰色关联度分析结果		
	r_i	排序	关联度差异/%
A1	0.077 8	4	1.89
A2	0.071 2	21	10.21
A3	0.074 7	13	5.80
A4	0.069 8	26	11.98
A5	0.073 9	17	6.81
A6	0.075 3	11	5.04
A7	0.070 4	23	11.22
A8	0.072 2	19	8.95
A9	0.075 0	12	5.42
A10	0.074 0	16	6.68
A11	0.078 9	2	0.52
A12	0.074 5	14	6.05
A13	0.078 0	3	1.64
A14	0.075 9	9	4.29
A15	0.077 6	5	2.11
A16	0.079 3	1	0.00
A17	0.068 3	27	13.87
A18	0.075 9	8	4.29
A19	0.070 6	22	10.97
A20	0.077 0	7	2.90
A21	0.077 3	6	2.52
A22	0.075 8	10	4.41
A23	0.067 9	28	14.38
A24	0.074 2	15	6.43
A25	0.069 8	25	11.98
A26	0.073 2	18	7.69
A27	0.066 7	29	15.89
A28	0.070 1	24	11.60
A29	0.066 5	30	16.14
A30	0.066 3	31	16.39
A31	0.072 1	20	9.08

3.3 甘松质量影响因素分析

灰色关联度结果得出四川 A16(0.079 3)、A11(0.078 9)、A13(0.078 0)为质量最优的 3 个样品,即影响甘松质量优劣的因素主要为甘松中挥发油含量、甘松新酮含量、水溶性浸出物量、水分相关数据,因此采用逐步回归分析法,可解释以上变量与甘松质量之间的线性关系,分析以上 8 项指标对于甘松质量的影响。

3.3.1 逐步回归分析 原始数据见表 6 (药材质量排序见表 5)。利用 SPSS 19.0 软件对表 6 中数据逐步分析,结果见表 7。结果显示,运用逐步回归法引入和剔除的标准分别为 $P \leq 0.05$ 和 $P \geq 0.1$,在 8 个自变量中,仅有根及根茎水溶性浸出物、根及根茎挥发油这 2 个自变量对因变量有显著影响 ($P < 0.01$),以上 2 个自变量对因变量的预测力分别为 38.0%和 15.5%,共同解释了变异量的 53.5%,故其余 6 个自变量被剔除。

3.3.2 回归模型系数数据分析 数据见表 8。在模型 1 中,自变量“根及根茎水溶性浸出物”的回归系数为-1.786, t 值-4.218 ($P < 0.01$),容差为 1.000,方差膨胀系数(VIF)值为 1.000;在模型 2 中,自变量“根及根茎水溶性浸出物”的回归系数为-1.697, t 值为-4.535 ($P < 0.01$),容忍度值为 0.994, VIF 为 1.006;自变量“根及根茎挥发油”的回归系数为-2.776, t 值为-3.058,容忍度为 0.994, VIF 值为 1.006,两自变量值容忍度及 VIF 相同,SPSS 系统所计算为两者间的共线性统计量;回归标准化残差值见图 1,结果表明样本观察值分布接近正态分布,此模型合格,数据分析具有参考意义;标准化残差正态概率分布见图 2,结果表明样本分布符合正态分布标准;标准化残差与预测值交叉分布见图 3,结果表明样本亦符合正态分布且方差也是齐性的,数据合理有效,可进一步分析数据的科学性。

3.4 影响甘松质量主要因素的主成分分析 (PCA) 及层序聚类分析 (HCA)

为了进一步确认以上 2 种主要因素对甘松样品质量的影响,采用 SIMCA-P 13.0 软件对 31 批甘松药材全草(Q1~Q31)、31 批甘松药材根及根茎(G1~G31)进行 PCA、HCA,以上药材产地均为一一对应关系,将以上样品的挥发油含量,水溶性浸出物含量作为数据,采用 Minitab 15 软件对原始数据进行 Box-Cox 变换。对 62 批样品进行 PCA 和 HCA,得分图、层次聚类图见图 4 和图 5。

通过 PCA、HCA 使结果更加直观化^[5],PCA 中挥发油含量、水溶性浸出物 2 个主要因素的方差贡献

表 6 原始数据
Table 6 Original data

质量排序	挥发油/%		水分/%		水溶性浸出物/%		甘松新酮/%	
	全草	根及根茎	全草	根及根茎	根及根茎	全草	根及根茎	全草
4	4.00	3.33	6.85	5.97	18.48	22.39	1.60	0.78
21	2.00	2.33	6.48	5.34	12.78	14.44	1.86	1.11
13	4.67	3.33	6.14	6.10	16.05	17.31	2.35	1.01
26	3.33	4.99	7.73	7.88	9.57	13.66	1.06	1.01
17	3.33	6.67	8.20	7.20	10.83	16.19	2.54	0.47
11	2.33	2.50	5.26	5.50	15.62	15.10	2.38	1.19
23	2.00	2.00	4.98	5.80	13.71	14.49	2.16	0.55
19	1.33	2.67	3.83	5.98	12.26	14.02	1.24	0.26
12	4.00	3.33	5.96	4.70	11.29	10.89	1.16	1.47
16	2.67	4.67	6.28	5.56	10.47	11.68	1.08	0.32
2	4.00	6.66	6.73	6.96	15.36	12.37	2.65	1.64
14	2.00	3.33	7.42	7.92	19.76	22.96	1.11	0.36
3	4.33	3.33	6.27	6.59	13.02	13.85	1.67	0.36
9	3.33	5.33	5.03	5.96	12.63	15.19	0.60	0.51
5	3.67	4.33	5.66	4.64	12.30	9.50	1.53	0.33
1	3.33	5.33	6.51	7.27	13.39	11.86	0.29	0.85
27	2.67	3.33	4.58	6.20	9.51	9.27	0.21	0.11
8	3.00	4.99	4.90	6.40	10.88	13.61	0.39	0.18
22	2.66	5.00	4.94	4.10	11.04	13.04	0.20	0.09
7	2.66	4.00	6.75	7.16	11.59	15.19	1.09	0.29
6	2.33	2.67	5.88	7.00	15.13	14.75	1.49	0.19
10	2.33	4.66	7.57	7.65	9.90	14.61	1.19	0.54
28	2.33	2.66	4.50	5.87	9.82	9.65	1.08	0.19
15	3.00	3.99	4.39	4.36	10.28	14.57	1.25	0.19
25	1.99	2.33	4.98	5.93	9.15	12.34	0.60	0.12
18	3.33	4.66	4.89	7.11	10.37	14.09	1.00	0.09
29	1.67	1.50	5.40	6.15	5.47	11.56	0.03	0.01
24	2.33	3.67	5.62	6.32	7.12	8.15	0.57	0.74
30	2.33	3.33	8.04	9.94	11.22	10.49	0.03	0.03
31	2.50	2.33	6.58	6.46	6.94	8.12	0.17	0.07
20	3.00	3.33	7.87	8.41	10.44	10.15	0.35	0.28

表 7 模型汇总
Table 7 Model summary

模型	R	R ²	调整 R ²	标准估计的误差	更改统计量				
					R ² 更改	F更改	df1	df2	Sig.F更改
1	0.617 ^a	0.380	0.359	7.280	0.380	17.795	1	29	0.000
2	0.732 ^b	0.535	0.502	6.414	0.155	9.353	1	28	0.005

a-预测变量为常量、根及根茎水溶性浸出物 b-预测变量为常量、根及根茎水溶性浸出物、根及根茎挥发油

a-prediction variable: constant, root water soluble extract b-prediction variable: constant, root water soluble extract, root volatile oil

表 8 回归模型系数
Table 8 Coefficient of regression model

模型	变量	非标准化系数		标准系数	t	Sig. F	共线性统计量	
		回归系数	标准误差				容差	VIF
1	(常量)	37.114	5.173		7.174	0.000		
	根及根茎水溶性浸出物	-1.786	0.423	0.908	-4.218	0.000	1.000	1.000
2	(常量)	46.499	5.495		8.462	0.000		
	根及根茎水溶性浸出物	-1.697	0.374	-0.586	-4.535	0.000	0.994	1.006
	根及根茎挥发油	-2.776	0.908	-0.395	-3.058	0.000	0.994	1.006

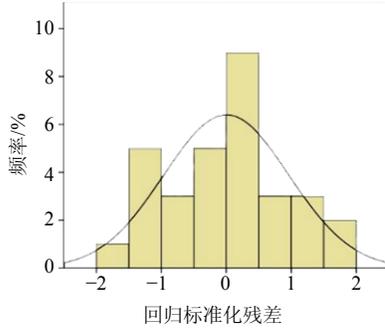


图 1 回归标准化残差

Fig. 1 Values of regression standardized residual

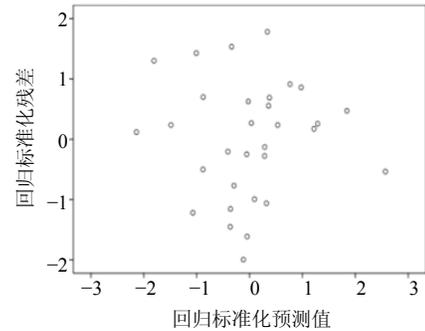


图 3 标准化残差与预测值交叉分布

Fig. 3 Crossing distribution diagram of standardized residuals and predicted values

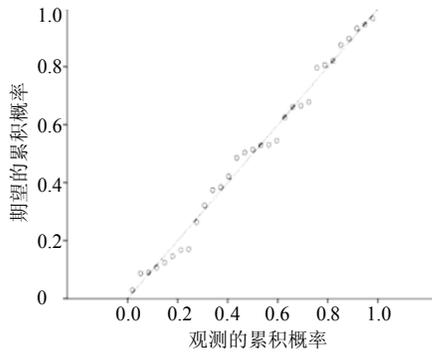


图 2 正态概率分布

Fig. 2 Normal probability distribution

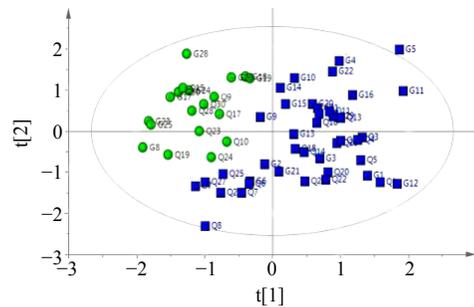


图 4 PCA 分析

Fig. 4 Results of PCA analysis

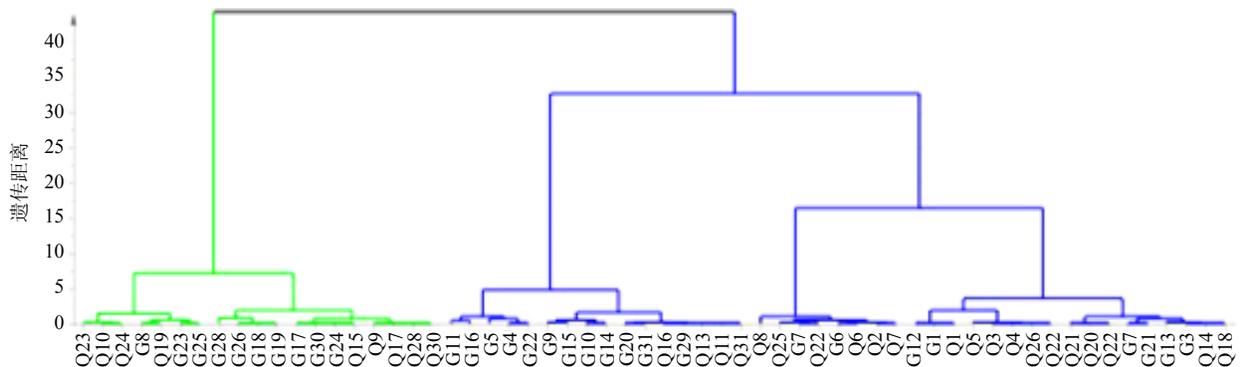


图 5 HCA 结果

Fig. 5 Results of HCA

率分别为 47.49%、51.54%。将甘松的全草和根及根茎分为 2 类, G27、Q12 2 个数据在模型拟合优化过程中已被剔除, 通过查阅原始数据也是其含量较小, 对于数据分析参考意义不大。同一类中既有全草又有根及根茎。根据图表得出, 四川 (G8、Q9、Q10、Q15、G17、Q17)、青海 (G18、G19、Q19)、甘肃 (G23、Q23、G24、Q24、G25、G26)、西藏 (G28、Q28、Q30、G30) 为一类; 四川 (G1、Q1、G2、Q2、G3、Q3、G4、Q4、G5、Q5、G6、Q6、G7、Q7、Q8、G9、G10、G11、Q11、G12、G13、Q13、G14、Q14、G15、G16、Q16), 青海 (Q18、G20、Q20、G21、Q21、G22、Q22), 甘肃 (Q25、Q26), 西藏 (Q27、Q29、G29、G31、Q31) 为一类, 以上 2 类分别为作用相近组, 其中同组内甘松药材的全草和根及根茎共有 22 组为一一对应组, 从本实验结果分析同组之间可互为替代: 四川省有 12 组可以互为代替, 青海有 4 组可以互为代替, 甘肃 2 组可以互为代替, 西藏有 4 组可以互为代替; 而有 8 组没有一一一对应分类。

4 讨论

鉴于灰色关联度方法已在番茄^[6]、小麦^[7]、水稻^[8]、药材秦艽^[9]、黄芪^[10]等质量评价方面具有广泛的应用, 回归分析法在中药材何首乌质量评价体系^[11]中具有良好运用, PCA、HCA 与回归分析法所得出的结果可相互验证。本研究联合应用灰色关联度法、回归分析法以及 PCA、HCA 法等多维统计分析对采自 31 个产地的野生甘松, 其全草与根及根茎的药材质量进行综合评价分析。为濒危药用植物甘松全草是否可等同药典中规定的根及根茎入药提供科学数据。同时为目前药材市场上不同药用部位与传统入药部位能否等同入药的科学性, 从综合质量评价的角度提供了可参考的研究模式。

传统方法通过新复极方差、方差分析^[12], 而本研究通过灰色关联分析法选出质量最优产地的甘松药材, 采用逐步回归分析法选出影响甘松药材质量的主要因素, PCA 方法得出对药材质量因素影响的方差贡献率法, HCA 方法可得出甘松药材不同部位的聚类结果。冯海生等^[13]对于甘松的成分进行动态分析, 采收时间对其有效成分有一定程度影响, 并讨论了甘松用药部位的状况; 同时通过查阅原始数据可分析出海拔对于其质量也有一定影响。

基于本研究结果, 课题组认为目前市场流通甘松药材多为全草^[14], 本实验分析的结论以根及根

茎入药为佳; 建议甘松全草不能完全替代甘松根及根茎入药; 且可通过对挥发油与水溶性浸出物的含量进行测定, 与性状鉴别联合快速定性所用饮片是否为《中国药典》2015 年版规定药用部位根及根茎。

鉴于甘松野生资源濒危而药材的需求量逐年增加的矛盾突显的形势下, 为进一步阐释甘松根及根茎与全草能否相互替代, 本课题组对甘松不同部位的化学成分、无机元素含量、药理药效、仿野生全株移栽与种子繁殖试验还在进一步研究中。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 李莹, 金乾, 群培, 等. 传统多民族药用植物甘松植物学名考 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1474-1477.
- [3] 中国药典 [S]. 四部. 2015.
- [4] 李硕, 王文全, 侯俊玲, 等. 基于灰色关联度法评价商品防风药材质量 [J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(4): 247-252.
- [5] 靳怡然, 杜英峰, 田婷婷, 等. HPLC-PDA 指纹图谱结合主成分分析评价不同产地冬凌草药材的质量 [J]. 中草药, 2015, 46(15): 2291-2295.
- [6] 姜永平, 刘水东, 薛晨霞, 等. DTOPSIS 法和灰色关联度法在番茄品种综合评价中的应用比较 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(22): 259-263.
- [7] 曹雯梅, 刘松涛, 路红卫. 灰色系统理论在小麦新品种综合评判中的应用 [J]. 中国种业, 2005(11): 47-49.
- [8] 胡成成, 陈林, 银永安, 等. 膜下滴灌水稻品种灰色关联度分析与评价 [J]. 中国稻米, 2016, 22(6): 76-79.
- [9] 宋九华, 孟杰, 曾羽, 等. 粗茎秦艽根茎品质与栽培土壤化学因子的相关性分析 [J]. 植物资源与环境学报, 2014, 23(4): 75-82.
- [10] 王宗权, 贾继明, 宋剑, 等. 黄芪皂苷成分与环境因子的灰色关联度分析 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1709-1712.
- [11] 罗益远, 刘娟秀, 刘训红, 等. 基于逐步回归分析何首乌中核苷类成分 [J]. 食品科学, 2016, 37(2): 104-108.
- [12] 孟杰, 陈兴福, 杨文钰, 等. 基于灰色关联度分析和 DTOPSIS 法综合评价青川柴胡资源 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 433-437.
- [13] 冯海生, 张宇霞, 王文义, 等. 不同来源和不同生长发育时期甘松成分的动态变化 [J]. 中药材, 2015, 38(11): 2266-2268.
- [14] 耿晓萍, 石晋丽, 刘勇, 等. 甘松地上和地下部位挥发油化学成分比较研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(1): 56-59.