

指纹图谱及多成分定量结合化学模式识别法评价不同产地青钱柳质量

杨玉莹, 张丹丹, 罗心遥, 李慧君, 夏和元, 王天合, 魏 琼, 叶晓川*

湖北中医药大学药学院 中药资源与中药化学湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430065

摘 要: 目的 基于 UPLC 指纹图谱、多成分定量与化学模式识别相结合的方法, 评价不同产地青钱柳质量, 为其进一步开发利用提供依据。方法 建立 5 个省 20 批不同产地青钱柳 UPLC 指纹图谱, 确定共有峰, 通过对照品比对指认 3 种化学成分并测定样品中含量; 使用 SPSS 22.2、SIMCA 软件进行聚类分析和主成分分析。结果 选取了 16 个色谱峰作为指纹图谱的共有峰, 通过聚类分析可将 20 批青钱柳分为 6 类, 主成分分析与聚类分析结果基本一致; 经主成分分析, 5 个主成分因子的累积方差贡献率为 86.765%, 通过主成分分析推测出产于湖北恩施的 S14、S15 药材样品的质量最好, 产于江西修水的 S4、S5、S8、S16 次之; 被指认的异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷在 20 批样品中的质量分数分别为 0.360%~0.884%、0.263%~1.097%、0.092%~0.403%, 其中, S4、S8、S14、S15 的主成分分析综合得分及 3 个成分含量总和均处在 4 位, 而 S18、S20 则均处在倒数前 2 位。结论 指纹图谱、结合聚类分析及主成分分析可以更全面地评价青钱柳质量, 异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷可以作为青钱柳质量控制的指标性成分。

关键词: 青钱柳; 指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析; 异槲皮苷; 槲皮苷; 阿福豆苷; 质量控制

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)04-1082-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.04.036

Quality evaluation of *Cyclocarya paliurus* from different habitats by fingerprint and multi-component quantification combined with chemical pattern recognition

YANG Yu-ying, ZHANG Dan-dan, LUO Xin-yao, LI Hui-jun, XIA He-yuan, WANG Tian-he, WEI Qiong, YE Xiao-chuan

Hubei Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resources and Chemistry of Traditional Chinese Medicine, College of Pharmacy, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

Abstract: Objective Based on the method of UPLC fingerprint, multi-component quantification and chemical pattern recognition, the quality of *Cyclocarya paliurus* from different producing areas was evaluated to provide basis for further development and utilization. **Methods** The UPLC fingerprints of 20 batches of *C. paliurus* from different habitats in five provinces were established to determine the common peaks. Three chemical components were identified and the content of the samples was determined by comparison with the reference materials. Cluster analysis and principal component analysis were carried out by SPSS 22.2 and SIMCA software. **Results** A total of 16 chromatographic peaks were selected as the common peaks of the fingerprint, 20 batches of *C. paliurus* could be divided into six categories by cluster analysis, and the results of principal component analysis and cluster analysis were basically the same; By principal component analysis, the cumulative variance contribution rate of the five principal component factors was 86.765%. The quality of S14 and S15 samples from Enshi, Hubei Province was the best, and S4, S5, S8, and S16 of Xiushui, Jiangxi Province were the second. The content of isoquercetin, quercitrin and afzelin were 0.360%—0.884%, 0.263%—1.097%, and 0.092%—0.403%, respectively, among which the total content of S4, S8, S14, and S15 were the top 4, and that of S18 and S20 was in the last two places. **Conclusion** Combined with fingerprint, cluster analysis and principal component analysis, we can evaluate the quality of *C. paliurus* more comprehensively. Isoquercetin, quercitrin and afzelin can be used as the index components for *C. paliurus* quality control.

Key words: *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinsk.; fingerprint; cluster analysis; principal component analysis; isoquercetin; quercitrin; afzelin; quality control

收稿日期: 2019-09-06

基金项目: 湖北省技术创新专项重点项目 (2019AFB866)

作者简介: 杨玉莹, 女, 硕士研究生。E-mail: 326937897@qq.com

*通信作者 叶晓川, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药物质基础及其制剂研究。E-mail: yxxcc1965@163.com

青钱柳 *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinsk. 又名摇钱树, 系胡桃科青钱柳属植物, 是我国特有的单种属植物及国家重点保护的濒危植物之一, 主产于江西、湖南、贵州、广西、湖北等地^[1], 长期以来民间以其叶作甜茶食用^[2]。青钱柳叶主要含有黄酮、三萜及多糖类等化学成分, 现代药理研究显示, 其水提物及醇提物具有明显降血糖、调血脂及降血压的功效^[3-6]。青钱柳有“植物界的大熊猫”之称, 野生资源有限。但随着人们对青钱柳化学物质及药理活性研究的不断深入, 特别是青钱柳叶被国家相关部门列为可作为功能性食品原料的新资源食品后, 以其为原料研制出多种保健食品及普通食品, 导致需求量不断攀升, 野生资源远不能满足市场需要, 因而目前人工种植青钱柳已成为热点, 有些地区还将其作为精准扶贫的重点项目进行推广。由于青钱柳不同种植产地的地理环境、种植模式等存在较大差异, 由此可能导致其内在品质的差异, 进而影响以其为原料生产的产品质量。因此, 鉴于青钱柳目前尚无完善的质量控制方法, 建立青钱柳品质评价方法及确定质量控制指标成分, 并对不同产地青钱柳进行品质研

究具有重要的意义。

中药化学成分复杂, 且其活性成分不甚明确, 而指纹图谱具有针对中药多组分、多靶点的特点, 从“全成分”角度出发进行质量控制, 因此指纹图谱被国内外学者认可为评价药材质量的有效方法之一。本研究通过建立青钱柳的指纹图谱获得化学数据, 指认并测定了异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷 3 个成分的含量, 结合聚类分析、主成分分析对不同产地青钱柳品质进行综合评价, 将为青钱柳的合理利用和资源开发提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 药物与试剂

对照品异槲皮苷(批号 PS001042)、槲皮苷(批号 PS0162-0025)、阿福豆苷(批号 PS1267-0025)均购于成都普思生物科技有限公司, 质量分数均大于 98%; 甲醇(色谱级, 德国默克公司); 乙腈(色谱级, 德国默克公司); 超纯水。

不同产地青钱柳叶多为实验室成员亲自赴各地采集, 其样品信息见表 1, 经湖北中医药大学叶晓川研究员鉴定为胡桃科植物青钱柳 *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinsk. 的干燥叶。

表 1 样品信息

Table 1 Habitats and batch numbers of *C. paliurus*

编号	来源	采收期	编号	来源	采收期
S1	湖南绥宁黄桑上堡村	2016 年 7 月	S11	湖南城步县岩寨乡	2016 年 7 月
S2	湖南绥宁黄桑兰家村	2016 年 7 月	S12	湖南通道县木脚村	2016 年 7 月
S3	江西修水黄坳山	2016 年 5 月	S13	湖南武冈县白云村	2016 年 7 月
S4	江西修水黄坳山	2016 年 6 月	S14	湖北省恩施自治州	2017 年 5 月
S5	江西修水黄坳山	2016 年 7 月	S15	湖北省恩施自治州	2017 年 6 月
S6	江西修水黄坳山	2016 年 8 月	S16	江西修水九龙山脉	2016 年 5 月
S7	江西修水谭西山	2016 年 5 月	S17	江西修水九龙山脉	2016 年 8 月
S8	江西修水谭西山	2016 年 6 月	S18	贵州省黔东南雷山县雷公山	2017 年 5 月
S9	江西修水谭西山	2016 年 8 月	S19	江西修水	2016 年 6 月
S10	广西龙胜各族自治县	2017 年 8 月	S20	贵州省黔东南三棵树基地	2017 年 6 月

1.2 仪器

Agilent 1290 超高效液相色谱仪 (Agilent 公司); Milli-Q 超纯水系统 (Millipore 公司, 美国); BSA224S-CW 型万分之一分析天平及 BT25S 型十万分之一分析天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取青钱柳粉末(过 3 号筛)约 0.5 g, 精密称定。

置具塞锥形瓶中, 精密加入 60%乙醇 25 mL, 超声处理 1 h, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2 混合对照品溶液的制备

取异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成含异槲皮苷 0.112 mg/mL、槲皮苷 0.064 mg/mL、阿福豆苷 0.054 mg/mL 的混合对照品溶液, 摇匀, 即得。

2.3 色谱条件

Agilent 1290 超高效液相色谱仪; Zorbax Eclipse C₁₈ 色谱柱 (150 mm×3.0 mm, 3.5 μm); 流

动相乙腈 (A) -0.1% 磷酸水 (B); 梯度洗脱条件: 0~12 min, 10% A; 12~34 min, 10%~60% A; 34~48 min, 60%~90% A; 48~60 min, 90%~100% A; 体积流量 0.3 mL/min; 检测波长 0~33 min, 320 nm; 33~60 min, 210 nm; 柱温 40 °C; 进样量 2 μ L。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取同一批青钱柳粉末 (S5) 约 0.5 g, 精密称定, 按“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录指纹图谱, 以 6 号峰 (异槲皮苷) 为参照峰计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。各色谱峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 值均小于 3%。

2.4.2 稳定性试验 取同一批青钱柳粉末 (S5) 约 0.5 g, 精密称定, 按“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件, 分别在 0、2、4、8、10、12、24 h 测定, 记录指纹图谱, 以 6 号峰 (异槲皮苷) 为参照峰计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。各色谱峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 值均小于 3%, 表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批青钱柳粉末 (S5) 约 0.5 g, 精密称定, 一式 6 份, 按“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行测定, 记录指纹图谱, 以 6 号峰 (异槲皮苷) 为参照峰计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。各色谱峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 值均小于 3%, 表明该方法重复性良好。

2.5 指纹图谱的建立

取 20 批不同产地青钱柳叶粉末, 分别按“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下的色谱条件进行测定, 得到 20 批青钱柳指纹图谱 (图 1)。将 20 个不同样品的色谱图导入由国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统” (2004A 版), 以 S1 为参照指纹图谱, 采用多点校正后进行自动匹配, 生成对照指纹图谱 (图 2), 采用与对照品比对的方法对色谱峰进行指认, 确定 6 号峰为异槲皮苷、8 号峰为槲皮苷、10 号峰为阿福豆苷。从图 1 可看出, 20 批青钱柳指纹图谱中, 有 5 批样品有 90 个色谱峰, 而其余的 15 批样品仅有 70 个色谱峰, 显示不同产地样品存在较大差异。

2.6 聚类分析

采用 SPSS 22.2 数据统计分析软件进行系统聚类分析, 利用平方欧氏距离作为样品的测度, 采用

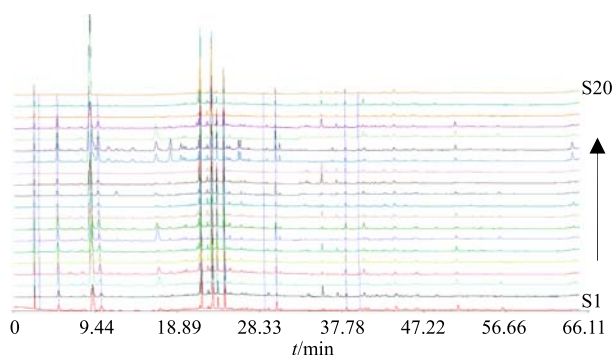


图 1 20 批青钱柳 UPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of 20 batches of *C. paliurus*

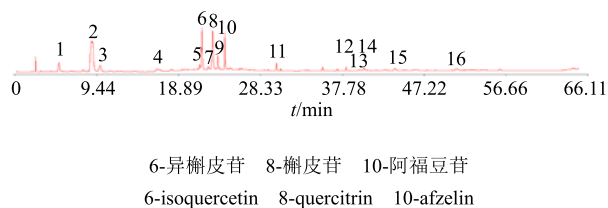


图 2 青钱柳对照指纹图谱

Fig. 2 Comparison fingerprint of *C. paliurus*

组间连接法进行聚类分析, 结果见图 3。结果显示, 当分类距离为 14 时, 20 批样品可分为 6 类, 第 I 类 S1、S2、S6、S9~S13、S17, 其中 S1、S2、S11~S13 为湖南省 7 月采摘的样品, S6、S9、S17 为江西修水 8 月采摘的样品; 第 II 类为 S18、S20, 2 个样品都属于贵州黔东南; 第 III 类为 S19; 第 IV 类为 S3、S7、S16, 3 个样品均采自江西修水 5 月; 第 V 类为 S14、S15, 2 个样品均采自湖北恩施; 第 VI 类为 S4、S5、S8, 3 个样品均采自江西修水, 且采摘月份相近。

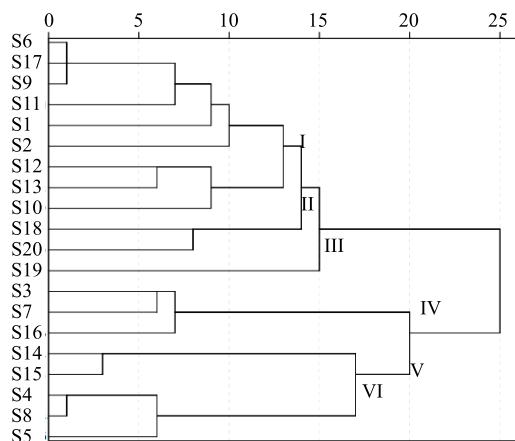


图 3 20 批青钱柳聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis result of 20 batches of *C. paliurus*

2.7 主成分分析

为了评价所有成分的样品分辨能力, 运用 SIMCA 14.1 分析软件对其进行主成分分析, 结果见图 4, 由 PCA 图可以看出, S1、S2、S6、S9~S13、S17、S19 聚为一类; S18、S20 聚为一类; S3、S7、S16 聚为一类; S14、S15 聚为一类; S4、S5、S8 聚为一类, 结果与聚类分析的结果基本一致, 样品之间的离散程度较大, 表明样品差异性较大。

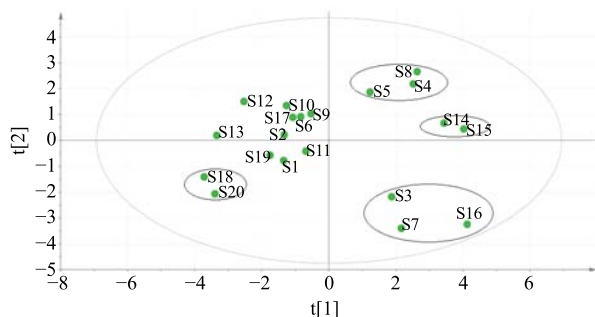


图 4 青钱柳 PCA 图

Fig. 4 PCA of *C. paliurus*

2.7.1 主成分因子特征值、方差贡献率分析 采用 SPSS 22.2 进行主成分因子分析, 相关系数的特征值和方差贡献率见表 2 和图 5, 以特征值 > 1 为标准, 得到前 5 个主成分因子的累积方差贡献率为 86.765% > 85%。故采用前 5 个主成分因子为指标对 20 批青钱柳样品进行评价。

根据初始因子荷载矩阵, 推测导致青钱柳质量差异的并不是单一成分, 而是多成分(群)协同作用的结果。16 个共有峰对 5 个主成分影响的排序坐标图见图 6。由图 6 可知, 16、9、11 对其贡献最大; 16 个变量中除共有峰 2、4、11、16 对主成分 2 呈负相关, 其余变量呈正相关, 其中共有峰 7~9 对其贡献最大; 16 个变量中除共有峰 4、6、12、14 对主成分 3 呈负相关, 其余变量呈正相关, 其中

表 2 5 个主成分因子的特征值和方差贡献率

Table 2 Eigenvalue and variance contribution rate of five main component factors

主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	6.418	40.110	40.110
2	3.007	18.794	58.904
3	1.930	12.062	70.966
4	1.291	8.066	79.032
5	1.237	7.733	86.765

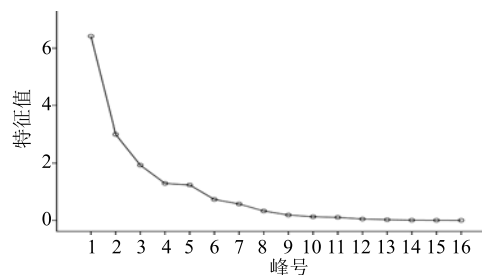


图 5 公共因子碎石图

Fig. 5 Macadam figure of common factor

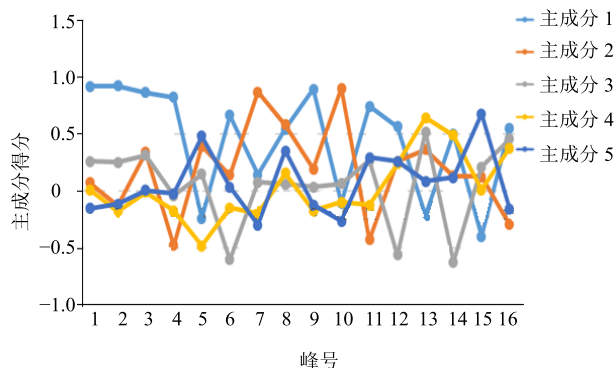


图 6 5 个主成分得分图

Fig. 6 Coordinate diagram of five principal components

共有峰 6、12~14、16 对其贡献最大; 共有峰 5、13、14、16 对主成分 4 贡献最大, 其中峰 13、14、16 与其呈正相关; 共有峰 5、15 对主成分 5 贡献最大, 其 2 个峰都与其呈正相关。

2.7.2 综合质量评分 以上述 5 个主成分对 20 批青钱柳样品质量进行综合评分, 结果见表 3。由表 3 可知, 第 1 主成分得分最高的为 S16 号样品, 第 2 主成分得分最高的为 S8 号样品, 第 3 主成分得分最高的为 S14 号样品, 第 4 主成分得分最高的为 S1 号样品, 第 5 主成分得分最高的为 S12 号样品。S14、S15 样品主成分因子综合得分排名前 2, 故推测整体质量相对较好(综合得分=相应的因子得分×相应主成分的特征值的平方根, 综合得分越高表示药材样品整体质量越好^[7])。

2.8 多指标成分的测定

2.8.1 色谱条件 Agilent 1260; Zorbax Eclipse C₁₈ 色谱柱 (150 mm×3.0 mm, 3.5 μm); 流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B); 梯度洗脱条件: 0~7 min, 10%~15% A; 7~17 min, 15%~30% A; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 320、210 nm; 柱温 40 °C; 进样量 10 μL。3 个成分按照此色谱条件进行分析, 其色谱峰之间的分离度均 > 1.5。对照品和供试品的色谱图见图 7。

表 3 20 批药材样品主成分因子得分及排序

Table 3 Main component factor score and ranking of 20 batches of medicinal materials

编号	主成分因子得分					综合得分
	1	2	3	4	5	
S1	-1.362	-0.769	1.749	2.788	1.225	-0.185
S2	-1.339	0.230	-1.238	0.740	-1.867	-0.839
S3	1.851	-2.184	-0.731	0.425	-0.916	0.239
S4	2.468	2.124	-1.740	0.543	-0.374	1.376
S5	1.223	1.875	-1.371	0.888	-0.065	0.858
S6	-0.863	0.905	1.226	0.785	-1.028	-0.051
S7	2.140	-3.393	0.565	-0.895	-1.024	0.159
S8	2.635	2.660	-1.385	0.440	0.394	1.678
S9	-0.523	1.079	1.145	0.448	-1.032	0.101
S10	-1.275	1.351	-1.074	-2.391	-0.280	-0.693
S11	-0.708	-0.438	0.134	0.019	0.519	-0.355
S12	-2.526	1.536	0.914	-1.473	0.057	-0.840
S13	-3.356	0.194	-0.262	-0.917	2.041	-1.449
S14	3.494	0.753	2.273	-1.587	0.922	2.029
S15	4.019	0.470	1.913	-0.108	1.104	2.314
S16	4.100	-3.271	-1.309	-0.260	0.254	1.003
S17	-1.088	0.887	1.543	0.772	-1.062	-0.119
S18	-3.728	-1.392	0.475	-0.934	-1.618	-2.190
S19	-1.749	-0.577	-2.502	0.159	1.265	-1.154
S20	-3.413	-2.040	-0.326	0.558	1.486	-1.881

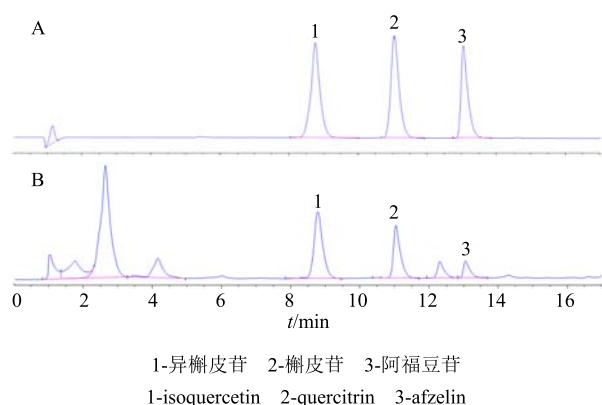


图 7 混合对照品 (A) 及青钱柳供试品 (B) HPLC 色谱图
Fig. 7 HPLC of reference substance (A) and *C. paliurus* (B)

2.8.2 对照品溶液的制备 分别称取异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷对照品适量，精密称定，加甲醇分别配制成含异槲皮苷 1.06 mg/mL、槲皮苷 1.02 mg/mL、阿福豆苷 0.51 mg/mL 的对照品溶液，然后分别取各对照品溶液 5 mL 至锥形瓶内，用甲醇定容至 25 mL，后分别取混合对照品溶液 1、2、4、6、8 mL，均定容至 10 mL，得到不同质量浓度的混合对照品溶液。

2.8.3 供试品溶液的制备 同“2.1”项下方法。

2.8.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液，制成

6 个不同质量浓度的对照品溶液，按照“2.8.1”项下的色谱条件进行测定并记录色谱峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y)，对照品质量浓度为横坐标 (X)，绘制标准曲线，并进行线性回归，得标准曲线方程，得到 3 个成分的线性回归方程：异槲皮苷 $Y=13\,091X-24.22$ ， $r=0.999\,7$ ，线性范围 0.265~2.120 mg；槲皮苷 $Y=15\,239X-67.223$ ， $r=0.999\,6$ ，线性范围 0.204~2.040 mg；阿福豆苷 $Y=16\,736X-2.665$ ， $r=0.999\,8$ ，线性范围 0.102~1.02 mg。

2.8.5 精密度试验 取分别含异槲皮苷 0.212 mg/mL、槲皮苷 0.204 mg/mL、阿福豆苷 0.102 mg/mL 的混合对照品溶液，按“2.8.1”项下的色谱条件进行测定，连续进样 6 次，记录峰面积，计算异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷峰面积的 RSD 值分别为 2.87%、1.04%、0.69%，表明仪器精密度良好。

2.8.6 稳定性试验 取同一批青钱柳粉末 1 份 (S7)，约 0.5 g，精密称定，按照“2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.8.1”项下色谱条件，分别在 0、2、4、8、10、12、24 h 测定，记录峰面积。计算异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷峰面积 RSD 值分别为 2.97%、2.07%、2.61%，表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.8.7 重复性试验 取同一批青钱柳粉末 6 份

(S7), 每份约 0.5 g, 精密称定, 按照“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.8.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 计算异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷质量分数 RSD 值分别为 0.007%、0.005%、0.007%, 表明该方法重复性良好。

2.8.8 加样回收率试验 取同一批青钱柳粉末 6 份 (S7), 每份约 0.5 g, 精密称定, 分别按已测定的 100% 加入异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷对照品, 按照“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.8.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积。计异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷平均加样回收率分别为 96.88%、97.04%、95.96%, RSD 值分别为 1.68%、2.28%、1.16%。

2.8.9 样品测定 取不同产地青钱柳粉末, 按照“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.8.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 计算样品中异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷 3 个成分的量, 结果见表 4。各指标成分的累积加和见图 8, 由图可直观看出, 不同产地之间 3 个指标性成分的含量存在一定差异。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

在建立青钱柳 UPLC 指纹图谱的过程中, 通过 UPLC-DAD 在 200~400 nm 进行全波段扫描, 综合

表 4 青钱柳含量测定结果

Table 4 Determination results of 20 batches of *C. paliurus*

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)		
	异槲皮苷	槲皮苷	阿福豆苷
S1	0.455	0.685	0.165
S2	0.552	0.668	0.297
S3	0.719	0.348	0.115
S4	0.884	0.832	0.403
S5	0.586	0.702	0.302
S6	0.467	0.585	0.317
S7	0.748	0.465	0.110
S8	0.824	0.818	0.377
S9	0.472	0.578	0.314
S10	0.718	0.517	0.335
S11	0.464	0.586	0.201
S12	0.468	0.488	0.330
S13	0.592	0.374	0.250
S14	0.625	1.097	0.223
S15	0.623	1.021	0.264
S16	0.789	0.532	0.092
S17	0.469	0.620	0.335
S18	0.450	0.263	0.307
S19	0.677	0.590	0.115
S20	0.360	0.436	0.185

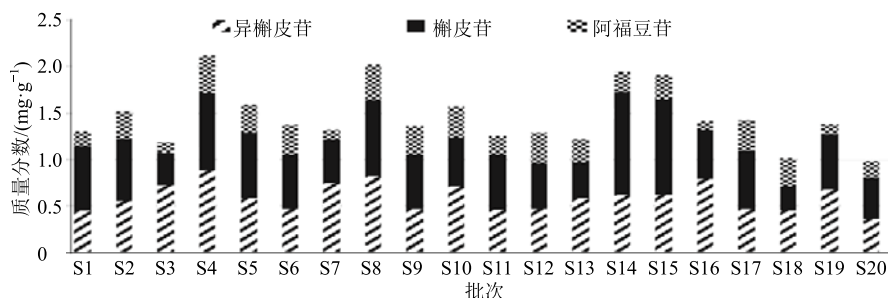


图 8 20 批青钱柳指标成分累积加和

Fig. 8 Sum graph of content of 20 batches of *C. paliurus*

考虑选取在不同时间段以 320 nm 和 210 nm 切换波长方式进行本实验的检测; 分别比较了 60%乙醇、80%乙醇、无水乙醇、甲醇等不同溶剂的提取效果及甲醇-水、甲醇-磷酸溶液、乙腈-水、乙腈-磷酸溶液、乙腈-甲酸溶液等为流动相的分离效果, 结果表明, 以 60%乙醇为提取溶剂, 乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相时色谱峰的数目最多, 分离效果最佳。

在建立异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷 3 种成分含量测定方法时, 考虑到方法的广泛适用性, 选择

了非超高效液相色谱仪, 并在指纹图谱的色谱条件基础上进行优化, 缩短了 3 个成分的出峰时间, 且分离度更好。建立的方法简便、快速、准确性好, 可用于青钱柳的质量控制。

3.2 结果分析

青钱柳主要生长在江西、湖北、湖南, 其野生资源也相对较多, 贵州、云南也有发现, 由于地区差异和采收时间的不同, 可能导致青钱柳的品质存在差异, 进而可能影响其药效。由聚类分析结果可

知,同一地区且采收时间相近的样品除 S19 外均聚为一类。S19 单独聚为一类,该样品为市售样品,可能与其系多个月份的混合样品有关;湖南、湖北恩施、贵州黔东南样品分别聚为一类,江西修水的样品则因采收时间不同(5、6 月和 7、8 月)分别聚为 3 类,其中 8 月和湖南样品聚为同一类,6 月和 7 月样品(S4、S5、S8)聚为一类,且主成分分析综合评分均高于 5 月和 8 月采收的样品,表明生长环境及采收时间会直接影响青钱柳的质量。

主成分分析结果显示,产于湖北恩施的 S14、S15 样品的质量最好,产于江西修水的 S4、S5、S8、S16 次之,而江西修水和湖北恩施都位于北纬 29° 左右,提示该区域范围可能更适合青钱柳的种植。

文献报道^[8-10],槲皮苷能显著降低原发性糖尿病大鼠(GK)体质量及空腹血糖,改善糖耐量异常,升高空腹 C 肽水平,其降血糖机制可能与其促进胰岛素分泌,改善胰岛素抵抗有关;异槲皮苷可以显著降低糖尿病大鼠的低密度脂蛋白(LDL)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、极低密度脂蛋白(VLDL)水平,同时提高高密度脂蛋白(HDL)水平,通过改善血脂水平而降低血糖;阿福豆苷体外抑制 α -葡萄糖苷酶的活性实验结果显示其活性强于阳性药阿卡波糖,表明阿福豆苷可能具有一定的降血糖作用。结合主成分分析综合得分及 3 个成分含量测定结果可知,综合评分排名前 4 的 S4、S8、S14、S15 其 3 个成分含量总和也排在前 4,而 S18、S20 的综合评分和含量总和则都排在倒数前 2,20 个样品主成分分析综合得分与 3 个成分总量具有较大的相关性。因此,异槲皮苷、槲皮苷、阿福豆苷可作为青钱柳质量控制的指标成分。

随着人们对中药需求量的增大以及用药安全意识的加强,中药质量控制越显重要。指纹图谱作为一种有效的中药质量控制模式,以其科学的理论依据获得了国际上的一致认可^[11]。指纹图谱在色谱峰未明确为何种成分的情况下,仍能给出充分、可靠的信息,用以控制中药材质量^[12-14]。本研究所建立的 UPLC 指纹图谱及聚类分析和主成分分析的结果不仅可以为青钱柳的质量控制提供依据,也初步

确定了青钱柳质量控制的指标性成分,进而为其药效物质基础研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 中华本草编委会. 中华本草. (第 2 卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 中国药材公司. 中国中药资源志要 [M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [3] 李 磊, 谢明勇, 易 醒. 青钱柳多糖降血糖作用研究 [J]. 中药材, 2002, 25(1): 39.
- [4] 潘慧敏, 许利嘉, 彭 勇, 等. 青钱柳改善 HepG2 细胞胰岛素抵抗作用的研究 [J]. 世界临床药物, 2015, 36(7): 447-451.
- [5] 胡文兵, 赵 静, 陈婷婷, 等. 青钱柳多糖对高脂血症小鼠的降血脂作用及机制初探 [J]. 现代食品科技, 2015, 31(11): 39-44.
- [6] 刘晓霞, 席加喜, 王 硕, 等. 青钱柳叶水提取物对 N_ω-硝基左旋精氨酸甲酯盐酸盐诱导的高血压大鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 174-178.
- [7] 朱星宇, 陈勇强. SPSS 多元统计分析方法及应用 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2005.
- [8] 汤小平, 施宁川, 丁志山, 等. 槲皮苷对原发性糖尿病大鼠血糖的作用研究 [J]. 中国药师, 2016, 19(8): 1449-1451.
- [9] Muthukumar J, Wu Z Y. Isoquercetin upregulates antioxidant genes, suppresses inflammatory cytokines and regulates AMPK pathway in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Chemico Biol Interact*, 2019, 303: 62-69.
- [10] María T N, Alirica S, Gianluca G, et al. Chemical constituents of *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn (Polygonaceae) and its *in vitro* α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities [J]. *Molecules*, 2016, 21(11): 1461-1470.
- [11] 刘 文, 蒋世云. 中药指纹图谱研究与应用进展 [J]. 中国药房, 2011, 22(19): 1819-1822.
- [12] 徐 男, 孙 蓉, 李元媛, 等. 基于 HPLC 指纹图谱、多成分定量结合化学计量学方法评价不同产地三棱药材的质量 [J]. 中草药, 2019, 50(7): 1682-1689.
- [13] 刘 芳, 周小江, 袁志鹰, 等. 基于指纹图谱结合多指标测定的玄参药材等级质量研究 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1238-1243.
- [14] 张茹萍, 何 昱, 石森林, 等. HPLC 指纹图谱主成分分析评价不同产地雷公藤药材质量 [J]. 中国现代应用药学, 2014, 11(13): 338-1344.