

多指标定量结合化学计量学评价不同产地野生白鲜皮质量及产地识别模型的建立

姜博千, 尹海波*, 王 丹, 叶秋鞠, 吴 伟, 骆佳熠, 金炳倩

辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116000

摘 要: **目的** 采用多指标成分定量结合化学计量学对不同产地野生白鲜 *Dictamnus dasycarpus* 皮样品进行综合质量评价并建立产地识别模型。**方法** 采用高效液相色谱法同时测定野生白鲜皮中汉黄芩素、柠檬苦素、白鲜碱、黄柏酮、梣酮 5 种活性成分的含量。结合相关性分析、差异性分析及主成分分析对不同产地野生白鲜皮进行质量评价; 利用系统聚类、正交偏最小二乘法-判别分析及 Fisher 线性判别建立野生白鲜皮的产地识别模型。**结果** 不同产地野生白鲜皮化学成分含量测定结果存在差异, 可通过 5 种成分含量进行区分。其中内蒙古的样品质量较好, 辽宁的样品其次, 吉林的样品质量稍差。利用系统聚类可初步对产地进行识别, 但辽宁仍有部分样品无法准确识别; 正交偏最小二乘法-判别分析可准确将样品产地进行分类, Fisher 线性判别模型结果可准确判别未知产地的野生白鲜皮样品, 准确率为 100%。**结论** 以多指标成分定量结合化学计量学建立的评价方法明确了野生白鲜皮质量较好的产地, 评价了不同产地野生白鲜皮的质量, 建立的野生白鲜皮产地识别模型准确可靠, 为野生白鲜皮质量控制及产地快速鉴别提供依据。

关键词: 白鲜; 多指标成分; 汉黄芩素; 柠檬苦素; 白鲜碱; 黄柏酮; 梣酮; 化学计量学; 质量评价; 产地识别模型

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2025)09 - 3274 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.09.024

Evaluation of the quality of wild *Dictamnus dasycarpus* from different origins and establishment of the origin identification model by multi-index quantification combined with chemometrics

JIANG Boqian, YIN Haibo, WANG Dan, YE Qiuju, WU Wei, LUO Jiayi, JIN Bingqian

School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116000, China

Abstract: **Objective** To undertake a comprehensive quality assessment of wild Baixianpi (*Dictamni Cortex*) samples from diverse origins through multi-index component quantification in conjunction with chemometrics and establish an origin identification model. **Method** The contents of five active components, namely limonin, wogonin, dictamnine, obacunone and fraxinellon, in wild *Dictamni Cortex* were concurrently determined by high performance liquid chromatography. The quality of wild *Dictamni Cortex* from different origins was evaluated by integrating correlation analysis, difference analysis, and principal component analysis. The origin identification model of wild *Dictamni Cortex* was constructed by applying systematic clustering, orthogonal partial least squares-discriminant analysis, and Fisher's linear discriminant. **Results** There were disparities in the determination outcomes of chemical components in wild *Dictamni Cortex* from different origins, which could be discriminated based on the contents of the five components. Among them, the samples from Inner Mongolia exhibited superior quality, followed by those from Liaoning, while the samples from Jilin presented slightly inferior quality. The origin could be initially identified through systematic clustering, yet some samples from Liaoning could still not be precisely identified. Orthogonal partial least squares-discriminant analysis could accurately categorize the origin of the samples, and the results of the Fisher's linear discriminant model could precisely discriminate the samples of wild *Dictamni Cortex* from unknown origins, with an accuracy rate of 100%. **Conclusion** The evaluation approach established by multi-index

收稿日期: 2024-11-02

基金项目: 辽宁省“兴辽英才计划”教学名师项目(XLYC2211011); 辽宁省科技厅科技特派行动计划项目—辽宁省喀左县中药材科技特派团(2024JH5/10400152); 通辽市科技计划项目“通辽市 6 种道地药材生态适宜性区划和品质区划研究”(TL2023YF035)

作者简介: 姜博千(2000—), 男, 辽宁大连人, 硕士, 主要从事中药资源与中药材品质评价研究。E-mail: 1029303579@qq.com

*通信作者: 尹海波(1973—), 男, 辽宁沈阳人, 教授, 博士生导师, 从事中药资源与鉴定研究。E-mail: yhb0528@sina.com

component quantification combined with chemometrics clarified the origins with better quality of wild *Dictamni Cortex*, evaluated the quality of wild *Dictamni Cortex* from different origins, and the established origin identification model of wild *Dictamni Cortex* was precise and reliable, providing a foundation for the quality control and rapid origin identification of wild *Dictamni Cortex*.

Key words: *Dictamnus dasycarpus* Turcz.; multi-index components; limonin; wogonin; dictamnine; obacunone; fraxinellon; chemometrics; quality evaluation; origin identification model

白鲜 *Dictamnus dasycarpus* Turcz. 属芸香科白鲜属多年生草本植物, 为东北地区著名的关药品种。植株有刺激性气味, 其根皮入药, 称为白鲜皮。性苦, 寒, 归脾、胃、膀胱经。具有清热燥湿, 祛风解毒的功效^[1], 是临床常用中药。目前, 国内外研究学者从白鲜皮中分离的化学成分包括生物碱^[2]、柠檬苦素^[3]、黄酮、倍半萜及其苷类、甾醇等化学成分, 以生物碱和柠檬苦素类为主^[4]。现代药理学研究已证实, 白鲜皮具有抗真菌、抗炎、抗过敏、杀虫、抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、止血、保肝、改善心血管系统功能、神经保护及抗氧化等药理作用^[5-6]。

课题组实际调查发现, 目前市场上流通的白鲜皮主要以栽培药材为主, 但由于白鲜栽培周期较长, 家种品种并未形成规模化发展, 每年仍有约 25% 的商品药材来源于野生品种。有研究表明, 在中药传统功效的研究中, 普遍认为野生药材的质量优于栽培药材的质量^[7-9], 将来有序开发利用野生药材仍具有很好的应用前景, 冉启琼等^[10]也在白鲜皮质量标

准中提出, 对白鲜皮药材进行质量控制时一定要明确药材产地。同时由于目前对白鲜皮的质量评价研究尚未发现对不同产地野生白鲜皮进行质量评价及产地鉴别的报道, 而《中国药典》2020 年版也仅以黄柏酮和梲酮作为评价指标, 不能满足综合评价白鲜皮药材质量的需求, 因此对其进行质量评价和构建产地识别模型具有一定的实际意义。

本研究采用 HPLC 同时测定不同产地野生白鲜皮中柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮、梲酮 5 种活性成分的含量, 运用多种化学计量学进行综合质量评价并建立产地识别模型, 为野生白鲜皮的质量控制及产地快速鉴别提供依据。

1 材料

1.1 样品信息

所用野生白鲜皮药材于 2023 年 8~9 月采集于我国内蒙古、吉林、辽宁 3 个省份, 共计 22 批次, 洗净泥沙抽取木芯后自然阴干保存, 由辽宁中医药大学中药资源教研室主任尹海波教授鉴定为白鲜 *D. dasycarpus* Turcz.

表 1 22 批野生白鲜来源信息

Table 1 Source information of 22 batches of wild *D. dasycarpus*

编号	样品来源	经度 (N)	纬度 (E)	海拔/m
NM-1	内蒙古自治区呼伦贝尔市牙克石市	120.919 444	49.307 778	683.0
NM-2	内蒙古自治区呼伦贝尔市扎兰屯	122.511 389	48.026 217	409.0
NM-3	内蒙古自治区通辽市扎鲁特旗1	119.791 884	45.172 922	1 056.6
NM-4	内蒙古自治区通辽市扎鲁特旗2	120.464 167	44.999 167	813.8
JL-1	吉林省通化市东昌区	125.938 249	41.731 663	487.7
JL-2	吉林省白山市浑江区	126.303 163	41.880 917	490.0
JL-3	吉林省延边朝鲜族自治州敦化市	126.610 445	42.393 040	683.1
JL-4	吉林省延边朝鲜族自治州安图县1	128.536 106	43.221 290	570.9
JL-5	吉林省延边朝鲜族自治州安图县2	128.671 187	43.244 789	502.2
JL-6	吉林省延边朝鲜族自治州安图县3	128.897 798	43.110 056	415.8
LN-1	辽宁省朝阳市朝阳县	119.920 723	41.519 463	658.3
LN-2	辽宁省朝阳市凌源市	118.931 903	40.800 960	779.8
LN-3	辽宁省葫芦岛市建昌县1	119.731 392	40.782 237	632.5
LN-4	辽宁省葫芦岛市建昌县2	120.237 222	40.842 190	280.6
LN-5	辽宁省丹东市振安区	124.322 494	40.315 428	500.0
LN-6	辽宁省锦州市北镇市	121.678 557	41.583 125	124.2
LN-7	辽宁省辽阳市灯塔市1	125.539 665	41.309 555	147.4
LN-8	辽宁省辽阳市灯塔市2	123.454 684	41.254 160	116.7
LN-9	辽宁省辽阳市弓长岭区	123.292 093	41.121 157	156.4
LN-10	辽宁省辽阳市辽阳县	123.252 396	40.889 755	231.2
LN-11	辽宁省鞍山市铁东区	123.228 388	41.139 400	198.0
LN-12	辽宁省丹东市宽甸县	123.142 063	41.051 174	109.0

1.2 试剂

柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮、枳酮对照品(批号 24240329001、723G021、24230818001、2240422001、A211A022),质量分数均 $\geq 98\%$,北京索莱宝科技有限公司;乙腈、甲醇为色谱纯(默克股份有限公司);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

1.3 仪器

Agilent-1260 (ELSD) 高效液相色谱仪、DAD 检测器(美国 Agilent 公司);PT-35SL 微量电子天平[华志(福建)电子科技有限公司];FW-100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);S-CH-6A 数显恒温水浴锅(上海舍岩仪器有限公司);SHZ-D(III)循环水式多用真空泵(河南省予华仪器有限公司);WKYII2 型微量移液器(上海佳安分析仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液制备 分别精密称取柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮、枳酮对照品适量,置于 10 mL 量瓶中加入甲醇溶解至刻度,得到对照品溶液(柠檬苦素 1.03 mg/mL、汉黄芩素 1.05 mg/mL、白鲜碱 2.00 mg/mL、黄柏酮 1.51 mg/mL、枳酮 1.03 mg/mL)。取各对照品溶液适量进行混合作为混合对照品储备液,于 4 °C 冰箱中冷藏保存。

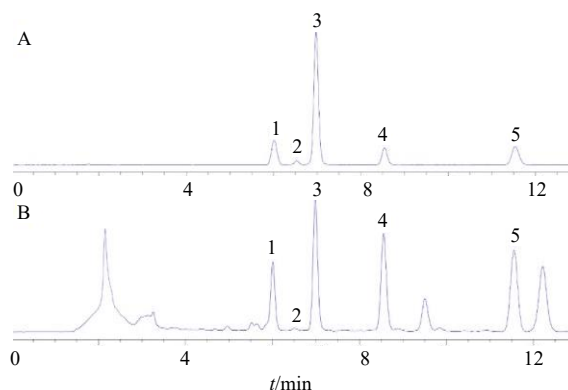
2.1.2 供试品溶液制备 精密称取白鲜皮粉末 0.20 g(过 80 目筛),置 100 mL 圆底烧瓶中,精密加入甲醇 25 mL,热回流提取 60 min,冷却后使用甲醇补足缺失的质量,摇匀后经 0.22 μm 微孔滤膜滤过收集备用。

2.2 色谱条件

Waters Symmetry® C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈(B)-水(A),梯度洗脱(0~5.5 min, 55% B; 5.5~8.0 min, 55%~60% B; 8.0~13.0 min, 60% B),后运行 7 min,检测波长 214 nm,体积流量 0.8 mL/min,柱温 35 °C,进样量,5 μL 。在此色谱条件下,各成分色谱峰分离较好,混合对照品溶液及供试品溶液的 HPLC 图见图 1。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 将“2.1.2”项下对照品溶液稀释为 6 个质量浓度梯度,精密吸取后按照“2.2”项下的色谱条件依次进样,以 5 种对照品质量为横坐标(X),对照品峰面积为纵坐标(Y)得到回归方程,见表 2。



1-柠檬苦素; 2-汉黄芩素; 3-白鲜碱; 4-黄柏酮; 5-枳酮。

1-limonin; 2-wogonin; 3-dictamnine; 4-obacunone; 5-fraxinellon.

图 1 混合对照品 (A) 和供试品溶液 (B) 的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC diagram of mixed reference solution (A) and test solution (B)

表 2 线性关系考察结果

Table 2 Results of linear relationship investigation

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ μg
柠檬苦素	$Y=4\,251.8X-1.484\,1$	0.999\,9	2.50~60.00
汉黄芩素	$Y=35\,614X-19.489\,0$	0.999\,9	0.30~10.00
白鲜碱	$Y=38\,603X-31.633\,0$	0.999\,7	2.50~60.00
黄柏酮	$Y=15\,706X+2.992\,9$	0.999\,7	2.50~60.00
枳酮	$Y=14\,906X-3.084\,7$	0.999\,9	1.25~40.00

2.3.2 精密度考察 精密称取同一批样品粉末(编号 LN-10) 0.20 g,按“2.1.1”项下制备供试品溶液,精密吸取同一供试品溶液,按照“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次^[11],记录 5 种对照品的峰面积并计算 RSD 值。计算得到柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮、枳酮 5 种对照品的 RSD 值分别为 1.30%、2.30%、1.89%、1.82%、1.53%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性考察 精密称取同一批样品粉末(编号 LN-10) 0.2 g,按“2.1.1”项下制备供试品溶液,室温放置,于 0、2、4、8、12、24 h,按照“2.2”项下色谱条件进行测定,记录 5 种对照品的峰面积并计算 RSD 值。计算得到柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮、枳酮 5 种成分的 RSD 值分别为 1.55%、2.45%、1.16%、1.32%、1.16%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 重复性考察 精密称取同一批样品粉末(编号 LN-10) 6 份,按照“2.1.1”项下的方法制备供试品溶液,按照“2.2”项下色谱条件进行测定,计算 5 种对照品的质量分数及 RSD 值。计算得到柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮、枳酮 5 种成分的

RSD 值分别为 1.19%、2.29%、1.35%、1.10%、1.26%，表明本方法重复性良好。

2.3.5 加样回收率考察 分别精密称取已测定的样品粉末 0.10 g^[12]，各 6 份，按照“2.1.1”项下的方法制备供试品溶液。分别加入 5 个对照品溶液适量（柠檬苦素 0.103 mg、汉黄芩素 0.018 mg、白鲜碱 0.100 mg、黄柏酮 0.103 mg、桉酮 0.103 mg）按照 2.2 项下色谱条件进行测定，记录 5 种对照品的峰面积并计算 RSD 值。计算得到柠檬苦素、汉黄芩

素、白鲜碱、黄柏酮、桉酮的平均加样回收率分别为 101.53%、99.16%、101.04%、99.03%、100.84%，RSD 值分别为 1.89%、1.28%、2.32%、1.04%、2.08%，表明本方法准确度良好。

2.4 样品含量测定

将 22 批样品按照“2.1.1”项下的方法制备供试品溶液，按照“2.2”项下色谱条件进行测定，记录 5 种成分的峰面积并计算质量分数，结果见表 3。

表 3 含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 3 Results of determination ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)				
	柠檬苦素	汉黄芩素	白鲜碱	黄柏酮	桉酮
NM-1	1.468±0.015	0.033±0.001	0.464±0.003	1.431±0.006	2.052±0.018
NM-2	1.501±0.071	0.032±0.002	0.478±0.006	1.693±0.007	2.245±0.006
NM-3	1.381±0.020	0.042±0.001	0.449±0.009	1.612±0.013	1.883±0.018
NM-4	1.497±0.018	0.031±0.002	0.476±0.004	1.357±0.014	1.974±0.013
JL-1	1.627±0.013	0.054±0.001	0.231±0.004	1.907±0.010	1.124±0.029
JL-2	1.609±0.010	0.049±0.003	0.287±0.007	2.070±0.021	1.163±0.008
JL-3	1.621±0.009	0.051±0.001	0.222±0.003	1.777±0.012	1.179±0.004
JL-4	1.620±0.011	0.050±0.001	0.240±0.001	1.748±1.103	1.109±0.004
JL-5	1.581±0.027	0.049±0.001	0.228±0.004	1.814±0.007	1.097±0.008
JL-6	1.564±0.057	0.045±0.001	0.293±0.009	1.801±0.016	1.147±0.001
LN-1	2.119±0.012	0.029±0.001	0.369±0.003	2.945±0.028	1.344±0.010
LN-2	2.334±0.036	0.025±0.002	0.328±0.004	2.984±0.039	1.395±0.009
LN-3	4.029±0.010	0.024±0.003	0.356±0.012	3.292±0.047	1.571±0.016
LN-4	2.327±0.014	0.021±0.001	0.303±0.003	2.349±0.017	1.362±0.011
LN-5	4.033±0.077	0.022±0.001	0.359±0.012	3.220±0.047	1.531±0.024
LN-6	3.789±0.019	0.023±0.001	0.397±0.009	2.803±0.037	1.568±0.013
LN-7	2.428±0.025	0.028±0.001	0.333±0.005	2.437±0.008	1.461±0.022
LN-8	2.557±0.059	0.027±0.001	0.369±0.008	2.359±0.019	1.409±0.017
LN-9	2.853±0.021	0.026±0.001	0.354±0.005	2.276±0.041	1.518±0.037
LN1-0	2.991±0.044	0.025±0.001	0.417±0.004	2.324±0.023	1.460±0.013
LN-11	2.127±0.012	0.030±0.001	0.384±0.002	2.453±0.023	1.431±0.002
LN-12	2.094±0.010	0.024±0.001	0.332±0.002	2.328±0.044	1.399±0.007

2.5 不同产地野生白鲜皮的质量评价

2.5.1 相关性分析 利用 SPSS 软件对 5 种成分进行相关性分析^[13]，探索不同产地样品中 5 种成分之间的关系，相关性分析结果见表 4。可以看出，桉酮与白鲜碱、黄柏酮与柠檬苦素呈显著正相关关系。汉黄芩素与柠檬苦素、黄柏酮呈显著负相关关系；与桉酮、白鲜碱呈负相关关系，但不显著。白鲜碱与柠檬苦素、黄柏酮、桉酮和黄柏酮呈负相关关系，但不显著；柠檬苦素与桉酮呈正相关关系，

但不显著。

2.5.2 差异性分析 为进一步探索不同产地样品的差异，利用 SPSS 软件对测定结果进行方差分析^[14]。经验证，5 种成分含量数据均符合正态分布。方差齐性检验结果见表 5，方差分析结果见表 6，效应量化分析结果见表 7。从方差齐性检验结果中可以观察到，柠檬苦素、黄柏酮、桉酮均呈现显著性，数据不满足方差齐性，采用 Welch's 方差检验；汉黄芩素和白鲜碱不呈现显著性，数据满足方差齐

表 4 相关性分析结果
Table 4 Correlation analysis result

成分	相关系数 (P值)				
	柠檬苦素	汉黄芩素	白鲜碱	黄柏酮	桉酮
柠檬苦素	—				
汉黄芩素	−0.733 (0.000**)	—			
白鲜碱	−0.034 (0.879)	−0.345 (0.116)	—		
黄柏酮	0.861 (0.000**)	−0.705 (0.000**)	−0.068 (0.763)	—	
桉酮	0.063 (0.782)	−0.424 (0.049*)	0.870 (0.000**)	−0.041 (0.855)	—

**P<0.01 *P<0.05, 下表同。
**P<0.01 *P<0.05, same as below.

表 5 方差齐性检验结果 ($\bar{x} \pm s$)
Table 5 Test results of homogeneity of variance ($\bar{x} \pm s$)

成分	内蒙古	吉林	辽宁	F	P
柠檬苦素/mg	0.056	0.026	0.745	10.725	0.001**
汉黄芩素/mg	0.005	0.003	0.003	1.0830	0.359
白鲜碱/mg	0.014	0.031	0.032	1.3300	0.288
黄柏酮/mg	0.156	0.119	0.378	10.778	0.001**
桉酮/mg	0.154	0.032	0.078	3.914	0.038*

表 6 方差分析结果 ($\bar{x} \pm s$)
Table 6 ANOVA result ($\bar{x} \pm s$)

成分	内蒙古	吉林	辽宁	F	P
柠檬苦素/mg	1.462±0.056	1.604±0.026	2.807±0.745	25.235	0.001**
汉黄芩素/mg	0.034±0.005	0.050±0.003	0.025±0.003	112.777	0.007**
白鲜碱/mg	0.467±0.014	0.250±0.031	0.358±0.032	65.663	0.003**
黄柏酮/mg	1.523±0.156	1.853±0.119	2.647±0.378	32.994	0.003**
桉酮/mg	1.038±0.154	1.136±0.032	1.454±0.078	119.104	0.001**

表 7 效应量化分析结果
Table 7 Effect quantification analysis results

成分	组间差	总离差	Partial η^2	Cohen's f值
柠檬苦素	8.704	14.817	0.587	1.193
汉黄芩素	0.002	0.003	0.922	3.445
白鲜碱	0.115	0.132	0.874	2.629
黄柏酮	4.940	6.654	0.742	1.698
桉酮	1.962	2.105	0.932	3.706

性,采用单因素方差进行检验。由方差分析结果可知, P 值均小于 0.01, 统计结果显著, 说明不同的产地的样品在柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮、桉酮的含量上存在显著差异。效应量化分析结果显示, 柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮、桉酮的 Eta 方 (η^2 值) 分别为 0.587、0.922、0.874、0.742、0.932, 说明数据的差异有 58.7%、92.2%、87.4%、74.2%、93.2%是来源于不同产地之间的差异。Cohen's f 值分别为 1.193、3.445、2.629、1.698、3.706, 说明数据的

效应量化的差异程度为大程度差异。
2.5.3 主成分分析 (principal component analysis, PCA)
利用 SPSS 软件对 5 种成分含量进行 PCA [15], 以综合评价各产地野生白鲜皮质量。其中 KMO 和巴特利特检验结果中显著性小于 0.01, 可以进行 PCA。根据方差贡献率结果, 主成分 1、主成分 2 的方差贡献率分别为 52.546%和 39.462%, 累积方差贡献率为 92.009%, 可认为前 2 种主成分基本代表野生白鲜皮药材的质量, 结果见表 8。5 种成分的贡献度见图 2。

表 8 总方差解释
Table 8 Total variance interpretation

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差百分比/%	累积方差贡献率/%	总计	方差百分比/%	累积方差贡献率/%
1	2.627	52.546	52.546	2.627	52.546	52.546
2	1.973	39.462	92.009	1.973	39.462	92.009
3	0.202	4.040	96.049			
4	0.125	2.510	98.559			
5	0.072	1.441	100.000			

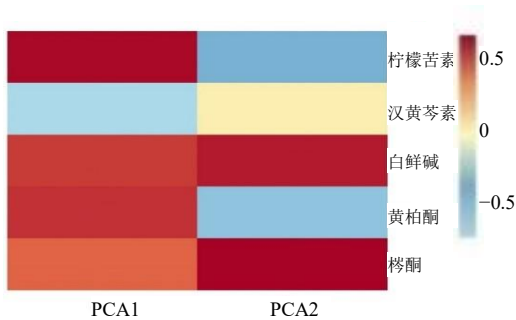


图 2 成分矩阵热图
Fig. 2 Component matrix heat map

依据表 9 成分得分系数矩阵结果, 对不同产地样品进行综合得分计算并排序, 前 2 个主成分得分公式及综合得分公式如下:

$$F_1=0.299 X_1-0.357 X_2+0.244 X_3+0.258 X_4+0.195 X_5$$
$$F_2=-0.265 X_1+0.013 X_2+0.374 X_3-0.347 X_4+0.42 X_5$$
$$F=0.57F_1+0.43F_2$$

X_1 为柠檬苦素, X_2 为汉黄芩素, X_3 为白鲜碱, X_4 为黄柏酮, X_5 为梣酮。

对计算结果进行排序, 其中得分较高的为 NM-2, 得分较低的为 JL-1, 由此可知内蒙古自治区呼伦贝尔市扎兰屯的样品质量较好, 吉林省通化市东昌区的样品质量较差。综合得分排序结果见表 10。

2.6 野生白鲜皮产地识别模型的建立

2.6.1 系统聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 将 5 种成分含量数据导入 SPSS 软件中进行系统聚类分析^[16], 将各产地野生白鲜皮样品进行分类。聚类方法采用最远邻元素法, 区间选择平方欧氏距离。分析结果将 22 批不同产地的样品在平方欧氏距离 5 处划分为 3 类, 其中吉林与内蒙古的样品聚为一类, LN-3、LN-5、LN-6 聚为一类, 剩余辽宁样品聚为一类; 在距离为 2.5 处可明显区分吉林与内蒙古的样品。结果见图 3。

2.6.2 PCA 与正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal

表 9 成分得分系数矩阵
Table 9 Component score coefficient matrix

成分	载荷	
	成分1	成分2
柠檬苦素	0.299	-0.265
汉黄芩素	-0.357	0.013
白鲜碱	0.244	0.374
黄柏酮	0.258	-0.347
梣酮	0.195	0.420

表 10 综合得分排序
Table 10 Comprehensive score ranking

排名	编号	综合得分
1	NM-2	1.180 0
2	NM-4	0.944 1
3	NM-1	0.925 3
4	LN-6	0.561 0
5	NM-3	0.552 9
6	LN-10	0.452 9
7	LN-5	0.417 7
8	LN-3	0.409 5
9	LN-9	0.246 8
10	LN-8	0.159 3
11	LN-11	0.155 7
12	LN-7	0.041 2
13	LN-1	0.027 8
14	LN-12	0.024 0
15	LN-2	0.013 5
16	LN-4	-0.039 4
17	JL-6	-0.762 6
18	JL-2	-0.834 3
19	JL-4	-1.085 8
20	JL-3	-1.097 1
21	JL-5	-1.120 6
22	JL-1	-1.171 8

partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 由于系统聚类分析结果不理想, 辽宁的部分样品无法准确识别, 因此利用 SIMCA 软件对 5 种成分含量进行 PCA 及 OPLS-DA^[17], 结果见图 4、5。由主成分得分图观察到, 内蒙古、吉林、辽宁 3 个产地的样

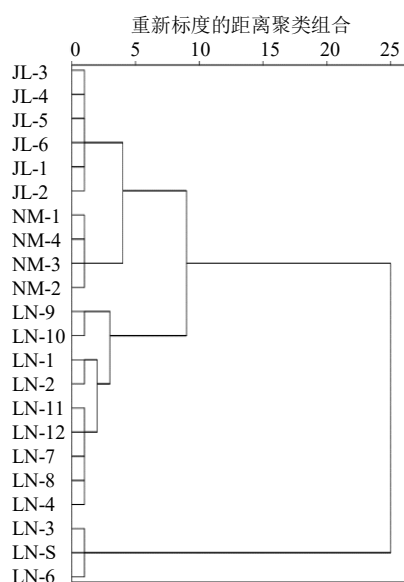


图3 系统聚类分析树状图

Fig. 3 Tree diagram of system cluster analysis

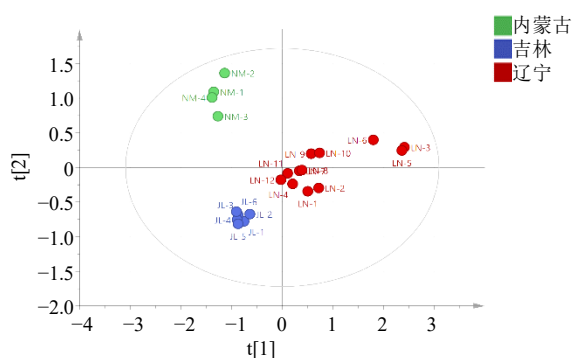


图4 PCA 得分分布图

Fig. 4 Diagram of PCA score distribution

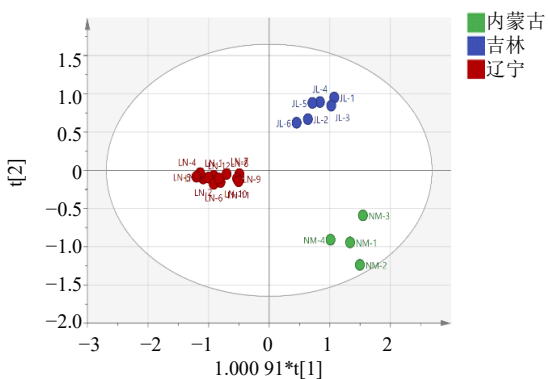


图5 OPLS-DA 得分分布图

Fig. 5 Diagram of OPLS-DA scores distribution

品分别聚为一类,可显著区分产地,其中辽宁的LN-3、LN-5、LN-6 较为独立,主成分分析结果与系统聚类结果一致。由 OPLS-DA 得分图观察到,不同产

地间可明显区分。经二者对比, OPLS-DA 结果优于主成分分析结果,可作为区分野生白鲜皮产地的方之一。对 5 种成分变量的重要性投影(variable importance projection, VIP)值进行排序, VIP 值越大,说明其对分类的贡献越大。发现 VIP 值大于 1 的成分有柠檬苦素(1.301 60)、黄柏酮(1.191 56)、梲酮(1.218 73),说明这三者对分类贡献较大。

2.6.3 Fisher 线性判别模型的建立 利用 SPSS 软件中 Fisher 线性判别分析验证 OPLS-DA 中 VIP 值大于 1 的 3 个指标成分^[8]并建立产地识别模型。以 60%的样本量作为训练集, 40%的样本量作为测试集, 分析结果见表 11、图 6。将数据代入判别函数模型中, 然后比较不同类别的判别函数值大小进行分类, 最大的值即为被判断的种类。由判别结果可知, 该模型在训练集与测试集中的准确率为 100.0%, 均做出了正确的判断, 没有误判的情况发生。表明该模型不仅能够完全正确地分类训练集中的样本, 而且在面对未见过的测试集数据时, 同样能够保持同样的高精度, 识别模型公式如下。

吉林 = $-131.912 - 24.193 \times \text{柠檬苦素} + 26.507 \times \text{黄柏酮} + 1\,221.136 \times \text{梲酮}$

辽宁 = $-202.722 - 27.265 \times \text{柠檬苦素} + 34.420 \times \text{黄柏酮} + 267.289 \times \text{梲酮}$

内蒙古 = $-417.668 - 43.388 \times \text{柠檬苦素} + 25.359 \times \text{黄柏酮} + 420.914 \times \text{梲酮}$

表 11 判别结果

Table 11 Discriminant results

分类	产地	样品个数	准确预测样品个数	准确度/%
训练集	内蒙古	3	3	100.00
	吉林	5	5	
	辽宁	7	7	
测试集	内蒙古	1	1	100.00
	吉林	1	1	
	辽宁	5	5	

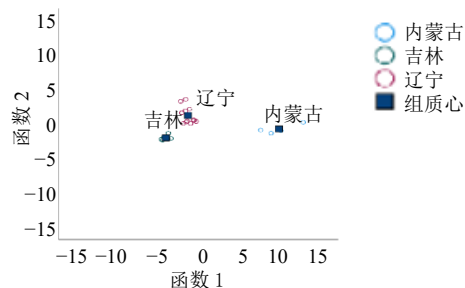


图6 Fisher 线性判别散点图

Fig. 6 Fisher linear discriminant scatter plot

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法考察

本实验前期考察了提取方式(超声提取、热回流提取)、提取溶剂浓度(100%甲醇、80%甲醇和50%甲醇)以及提取时间(30、40、50、60 min),以柠檬苦素、汉黄芩素、白鲜碱、黄柏酮及梣酮的含量作为依据。结果表明热回流 100%甲醇提取 60 min 各成分含量最高。

3.2 色谱条件的优化

本实验前期对色谱条件中流动相种类、检测波长、柱温及进样量进行了考察。其中流动相体系考察了甲醇-水、乙腈-水 2 种流动相体系;对 5 种标准品溶液在 190~800 nm 下进行紫外全波长扫描;考察了柱温为 25、30、35 °C、进样量 5、10、20 μ L 各色谱峰的分离情况。结果表明柠檬苦素的吸收波长范围在 204~223 nm、汉黄芩素吸收波长在 203~390 nm、白鲜碱吸收波长在 204~338 nm、黄柏酮吸收波长在 206~240 nm、梣酮吸收波长范围在 205~262 nm,实验发现在 214 nm 波长下色谱峰基线平稳且干扰较小,各成分均有较明显的吸收且能够得到有效分离与检测,综合考虑选择 214 nm 作为检测波长;在乙腈-水作为流动相、柱温为 35 °C、进样量为 5 μ L 的条件下,5 种成分的色谱峰峰形、分离度、理论塔板数较好。

3.3 不同产地野生白鲜皮的质量评价

本实验建立了一种 HPLC 同时测定野生白鲜皮中 5 种成分的方法,所选择的 5 种成分均为文献报道白鲜皮中的功效成分,其中柠檬苦素、黄柏酮、梣酮在白鲜皮中大量存在,且黄柏酮与梣酮是药典规定的指标性成分;白鲜碱对于紫外吸收较大,便于检测;汉黄芩素具有治疗银屑病等炎症疾病的功效^[19]。现有的白鲜皮质量评价如张玲等^[20]对白鲜中白鲜碱的含量进行测定;杨晓娟等^[21]对白鲜中白鲜碱、黄柏酮及梣酮的含量进行测定。朱利霞等^[22]、王玲等^[23]依据高效液相色谱法对白鲜碱、黄柏酮及梣酮进行含量测定及特征图谱中特征峰的指认,结合薄层色谱法及相关的理化指标制定了白鲜皮药材的质量标准。相较于现有白鲜皮质量评价的文献,本实验所测定的白鲜皮中功效成分指标有所增加,更加全面的评价野生白鲜皮的质量;同时可快速准确高效的测定其功效成分含量,缩短测定时间。实验所采用的样品均为野外采集,弥补了野生白鲜皮质量评价的缺失。

通过分析相关性结果发现,柠檬苦素与梣酮、黄柏酮呈正相关关系,三者皆为柠檬苦素类化合物,而白鲜皮中主要的化学成分种类为生物碱类与柠檬苦素类,与 VIP 值得分结果相一致,因此可认为柠檬苦素、黄柏酮、梣酮是控制野生白鲜皮质量的关键指标,与杨晓娟等^[21]所得出的黄柏酮在白鲜皮药材中的含量相对最高,是白鲜皮中必须测定的成分之一的结果部分一致。

对主成分分析结果进行分析,发现不同产地野生白鲜皮的质量为内蒙古较好,辽宁其次,吉林稍差。查阅相关文献了解到,白鲜适宜生长在向阳的山坡,林缘及低矮灌丛间含沙石的土壤上,喜温暖湿润的环境,喜光照,耐干旱,不耐水涝。结合实际采样点的生态环境,内蒙古的样品多为平原及土坡,土壤疏松排水良好;辽宁的样品大多来自辽宁西部,光照较充足,且土壤为沙壤土;吉林的样品收集于阔叶林带边缘,可能无法得到充足的光照与水分,因此相比内蒙古与辽宁其质量较差,这一结果与赵琳琳等^[24]对吉林省白鲜皮质量研究的结论相一致。与此同时,通过走访辽宁丹东宽甸县的白鲜栽培基地,询问种植户栽培白鲜的年限并记录照片。发现 5 年生白鲜分枝数在 2~3 根左右,叶片颜色为浅绿色且部分革质化,主根粗大且肉质较厚,羊膻味浓;7 年生白鲜分枝数在 4 根以上,茎呈木质化,叶片颜色呈深绿色且完全革质化,主根及侧根均粗壮,羊膻味浓烈。通过照片对比,初步判断采集的野生白鲜样品年限在 4~5 年。但目前对于野生白鲜的年限仍无法准确鉴别,因此不同产地野生白鲜皮质量存在差异可能与生长年限存在一定关系。

3.4 野生白鲜皮产地识别模型的建立

本实验使用系统聚类分析初步将不同产地不同批次的野生白鲜皮进行聚类,可将辽宁省内与省外样品分开,但其中的 LN-3、LN-5、LN-6 被单独聚为一类,推测可能是由于其生长环境因素较辽宁省其他地区不同所导致。使用 PCA 与 OPLS-DA 对不同产地进一步分析,发现 PCA 分析结果与系统聚类结果相一致,虽然能将不同产区进行区分,但效果并不理想,只可初步鉴别野生白鲜皮的产地。在系统聚类与 PCA 分析的基础上使用 OPLS-DA 分析,不同产地的样品可显著区分,表明 OPLS-DA 分析可作为准确区分野生白鲜皮产地的方法。最后,对于多种化学计量的分析结果,使用 Fisher 线性判

别建立不同产地野生白鲜皮的识别模型。但由于本研究中各个产区样本数较少,且缺少其他白鲜主产区的样品,目前只能准确识别内蒙古、吉林、辽宁的样品。而野生白鲜多分布在东北、华北、华东等地,因此本研究所建立的产地识别模型并不完善,在后续实验中还需继续收集其他产地与批次的样品,增加如水分、总灰分等药材质量指标及气味、颜色等性状指标^[25],结合野生药材年限鉴别方法,进一步完善不同产地野生白鲜皮的质量评价及产区鉴别研究。

本实验采用 HPLC 建立了同时测定野生白鲜皮中 5 种成分的方法,结合多种化学计量学对不同产地野生白鲜皮样品进行综合质量评价并建立了产地识别模型,为野生白鲜药材质量评价及产地快速识别提供科学依据和新的方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 114.
- [2] Wu T S, Li C Y, Leu Y L, et al. Limonoids and alkaloids of the root bark of *Dictamnus angustifolius* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 50(3): 509-512.
- [3] Tian M Y, Bao J, Li X, et al. Antimicrobial alkaloids from the root bark of *Dictamnus dasycarpus* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2022, 24(5): 483-489.
- [4] 刘雷,郭丽娜,于春磊,等. 白鲜皮化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中成药, 2016, 38(12): 2657-2665.
- [5] 刘新月,陈乐乐,孙鹏,等. 白鲜皮化学成分、药理作用和毒性研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中国新药杂志, 2023, 32(8): 799-805.
- [6] 陈禹竹,徐晓敏,刘树民,等. 白鲜皮及其有效成分的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(2): 409-418.
- [7] 刘萌萌,路静,林喆,等. 基于传统功效的野生与栽培细辛药效学对比研究 [J]. 人参研究, 2023, 35(6): 18-22.
- [8] 田春芳,胡倩南,詹志来,等. 基于传统品质评价的野生与栽培赤芍比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(14): 165-174.
- [9] 于佳禾,金重先,刘金凤,等. 基于指纹图谱结合化学计量学方法评价不同产地野生与栽培赤芍质量 [J]. 上海中医药大学学报, 2023, 37(5): 31-38.
- [10] 冉启琼,罗兰,朱丹妮. 白鲜皮质量标准研究 [J]. 中医药学报, 2005, 23(9): 1585-1586.
- [11] 曹梦,唐中华,张衷华. HPLC 双波长法同时测定白鲜皮中 5 种成分的含量 [J]. 中药材, 2018, 41(12): 2860-2862.
- [12] 张帅,郭幸,李雅静,等. 基于指纹图谱结合化学模式识别对不同发酵程度曼地亚红豆杉曲的质量评价 [J]. 中草药, 2024, 55(14): 4871-4881.
- [13] 魏伟,鲁露杰,钱怡洁,等. 不同产地苘麻子质量评价 [J]. 中成药, 2024, 46(6): 1977-1981.
- [14] 刘哲,刘孟奇,黄艳梅,等. 基于多指标成分定量结合化学计量学评价不同产地和不同采收期桔梗质量 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4516-4525.
- [15] 王迪,杨洁丽,聂佳,等. UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱结合一测多评法的不同品种苦荞麦质量评价 [J]. 中草药, 2024, 55(11): 3855-3865.
- [16] 陈旭,姜建双,李德华,等. HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别评价菊苣子质量 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4526-4534.
- [17] 廖春玲,吴燕红,吴月华,等. 一测多评结合化学计量学及加权逼近理想解排序法对不同产地葎草药材的多指标质量控制及差异评价 [J]. 中草药, 2024, 55(14): 4907-4916.
- [18] 郝壮壮,曹宇欣,刘朦朦,等. 基于 HPLC 指纹图谱及多指标成分测定结合化学计量学的不同商品规格山慈姑质量差异分析 [J]. 中草药, 2023, 54(6): 1935-1945.
- [19] 林丽云,林钰,雷海青,等. 白鲜皮及汉黄芩素治疗银屑病网络药理学研究及细胞验证 [J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40(6): 1488-1497.
- [20] 张玲,李云涛,王丽娜,等. HPLC 法测定白鲜皮中白鲜碱的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(9): 8-9.
- [21] 杨晓娟,刘艳芳,鲍忠,等. RP-HPLC 同时测定白鲜皮中 3 种活性成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2): 187-190.
- [22] 朱利霞,张汉扬,杨春云,等. 白鲜皮药材的质量标准研究 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(1): 155-158.
- [23] 王玲,赵明波,姜勇,等. 白鲜皮质量标准研究 [J]. 2017, 26(4): 298-303.
- [24] 赵琳琳,温博,温立义,等. 吉林省白鲜皮的质量现状分析 [J]. 中国医药指南, 2020, 18(25): 40-42.
- [25] 宋欢洁,李思雨,于丹,等. 不同产地两种苍术的定性识别模型及其“辨味论质”机制研究 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(5): 1146-1149.

[责任编辑 时圣明]