

不同产地雪菊化学成分含量测定及模式识别研究

孙自增¹, 毕肯·阿不都克力木², 张彦丽¹, 阿依吐伦·斯马义^{1*}

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的:研究维药雪菊中主要化学成分的分布特征及模式识别方法,为雪菊的品质评价和质量控制提供实验依据。方法:采用紫外分光光度法及 ICP 法,测定新疆 10 批次、不同产地雪菊样品化学成分含量,运用主成分分析和聚类分析进行模式识别研究。结果:主成分分析选出 3 个主因子,得出雪菊特征成分为 Mn、Ni、Fe、Pb、Cr、Al;聚类分析将 10 批药材聚为 3 大类,不同产地雪菊中主要成分的含量与气候、地理位置等生态环境存在着一定的相关性。结论:通过测定若干含量为指标,利用主成分分析和聚类分析法清晰地揭示了雪菊不同产地的规律性和差异性。

[关键词] 维药; 雪菊; 主成分分析; 聚类分析

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)24-0174-05

Quantitate Chemical Composition and Chemical Pattern Recognition
in *Coriopsis tinctoria* from Different Areas

SUN Zi-zeng¹, BIKen Abuduklimu², ZHANG Yan-li¹, Aytulun · Simayil^{1*}

(1. Colloge of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

2. College of Tranditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] Objective: To study the character of the contents and distribution of chemical composition of Uighur Medicine *Coreopsis tinctoria* flowers (CTF), and to provide valuable experimental evidence for the quality evaluation and control of CTF. Method: Ten batches of samples, CTF come from different producing areas of Xinjiang were carried out to quantitate by UV and ICP. Principal component analysis and Hierarchical clustering analysis were applied to study on the chemical components were extracted from the original data. The principal component composition and chemical pattern recognition. Result: Three principal analysis results showed that Cu, Zn, Fe, Mn, Ni, Cr and Al may be the characteristic elements. The ten samples could be clustered reasonably into three groups, and the contents of chemical composition of CTF were related to the ecological environment, such as temperature and location. Conclusion: This paper, by measuring the number of content indicators, using principal component analysis and cluster analysis clearly reveals the regularity of the different origins and differences in CTF.

[Key words] uighur medicine; *Coreopsis tinctoria*; principle component analysis; hierarchical clustering analysis

雪菊为新疆特有植物,学名两色金鸡菊 *Coreopsis tinctoria* Nutt,为菊科金鸡菊属 1 年生草本

植物。由于颜色艳红,又名“血菊”,维吾尔语“古丽恰尔(Gulqai)”。新疆维吾尔民间以野生雪菊代茶饮,具有降血压、降血脂,降糖的功效,维吾尔医院将其作为一种维药材应用,是具有广阔应用前景和研究价值的新品种^[1]。张彦丽等^[2-7]对黄酮等化学成分进行定性及含量测定研究,发现具有降血压^[8-9]、降血脂^[10]、降糖^[11]的功效。微量元素是中药归经和药性物质基础的重要组成部分,对中药的药理活

[收稿日期] 20120620(002)
[第一作者] 孙自增,在读硕士,从事新疆地方药用植物的研究
[通讯作者] * 阿依吐伦·斯马义,教授,硕士生导师,从事药物分析和天然药物化学研究, E-mail: aytulunss@126.com

性往往起着关键作用^[12]。佟苗苗等^[13]对不同产地急性子中微量元素进行分析,发现不同产地含量差异较大,但仅对无机元素进行了分析,未将有机成分纳入影响因素进行分析。

目前市场上有野生与栽培雪菊,道地药材系统研究表明:不同产地药材质量与其所含药效物质基础有密切关系。植物生态条件变化,植物的变异和遗传使许多药用植物已部分或完全不同于野生药材^[14]。同种药材含有相同的遗传特性,其有机元素及从土壤中吸取并积累在药材内的微量元素在种类及含量上具有一定的规律,可以此作为药材鉴别的依据。因此本实验采用紫外分光光度法及等离子体发射光谱仪(ICP)法测定不同产地雪菊种总黄酮、总皂苷、总糖、微量元素的含量,并采用主成分分析法和聚类分析法对测定结果进行特征分析,分析产地对两色金鸡菊有效成分积累的影响规律。

1 材料

DK-S22 型电热恒温水浴锅,UV-2550 型紫外光谱仪(岛津公司),CW-2000 型超声微波协同萃取仪(新拓微波溶样测试技术有限公司),EYELA SB-100 型旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司),AB104-N 型多功能电子天平(Toledo Instr. Shanghai Ltd.),SK2510HP 型超声清洗仪(上海科导超声清洗仪器有限公司),DHG-9053A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),Agilent7500A 型电感耦合等离子体质谱仪(美国安捷伦公司),MDS-6 型温压双控微波消解/萃取仪等仪器。

芦丁、人参皂苷 Rb₁ 对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 100080-200707,710704-200420),亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等均为分析纯。

雪菊于 2011 年 6~9 月在新疆地区采集,经新疆医科大学药学院天然药物化学/生药学教研室帕丽达·阿布力孜教授鉴定为菊科金鸡菊品种,采集信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 总黄酮的含量测定^[5]

2.1.1 供试品溶液制备 雪菊于 60℃干燥 1 h,研磨,过三号筛,备用。称取雪菊 2 g,按 1:20 投料比,加 50%乙醇 40 mL,浸泡 1 h,CW-2000 型超声微波协同萃取仪设置:温度 60℃,萃取 30 min,过滤。滤液置 50 mL 量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,得供试品溶液,备用。

2.1.2 芦丁对照品溶液的制备 称取芦丁对照品

表 1 雪菊样品采集信息

No.	产地	样品生长环境
A	新疆吉木萨县	天山山脉,山区
B	新疆吉木萨县	天山山脉,平原
C	新疆策勒县	昆仑山脉,山区
D	新疆民丰县	昆仑山脉,平原
E	新疆策勒县	昆仑山脉,平原
F	新疆墨玉县	昆仑山脉,山区
G	新疆墨玉县	昆仑山脉,平原
H	新疆皮山县	昆仑山脉,高山地带
I	新疆民丰县	昆仑山脉北麓
J	新疆和田县	昆仑山脉,山区

23.84 mg,加甲醇溶解,并稀释至 25 mL,摇匀即得芦丁对照品液(0.953 6 g·L⁻¹)。

2.1.3 吸收波长的选择 精密量取芦丁对照品溶液和供试品溶液各 1 mL,用蒸馏水稀释至 6 mL,加入 5%亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 10%硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 4%氢氧化钠溶液 10 mL,加蒸馏水定容至刻度,摇匀,静置 15 min,在 200~760 nm 内扫描,供试品与对照品溶液均在(510±2) nm 处具有较强吸收,故选择 510 nm 为测定波长。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密吸取芦丁对照品溶液 0,0.5,0.6,0.8,1.0,1.2,1.4 mL 分别加入到 25 mL 量瓶中,分别加蒸馏水至 6 mL,加入 5%亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 10%硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 4%氢氧化钠溶液 10 mL,蒸馏水定容至刻度,摇匀,静置 15 min,以试剂为空白,在波长 510 nm 下分别测定其吸光度(A),以浓度(C)为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $A = 11.149C + 0.0211$ ($R^2 = 0.9998$)。

2.1.5 样品测定 取供试品溶液 1 mL 于 25 mL 量瓶中定容,按 2.1.4 法操作,测定结果见表 2。

2.2 皂苷的含量测定^[3]

2.2.1 供试品溶液的制备 雪菊于 60℃干燥 1 h,研磨,过三号筛,备用。称取雪菊约 2 g,1:20 投料比,95%乙醇 40 mL,浸泡 1 h,CW-2000 型超声微波协同萃取仪设置:温度 60℃,萃取 30 min,过滤。滤液置 50 mL 量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,得到供试品溶液,备用。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称定人参皂 Rb₁ 对照品 15.0 mg,置于 100 mL 量瓶中,加少量甲醇溶解,稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 0.15 g·

表 2 不同产地雪菊化学成分含量测定 mg·kg⁻¹

No.	总黄酮(X1)	总皂苷(X2)	总糖(X3)	Cu(X4)	Mn(X5)	Zn(X6)	Ni(X7)	Fe(X8)	Pb(X9)	Cr(X10)	Al(X11)
A	224 100	10 600	249 900	7. 1	38. 2	27. 8	0. 5	87. 2	0. 1	0. 1	65
B	195 500	12 300	158 000	13. 8	96. 8	28. 9	0. 6	72. 8	0. 2	0. 5	104
C	163 100	8 700	242 200	7. 0	95. 4	17. 6	2. 8	1 854	1. 7	2. 4	1 648
D	160 400	31 700	205 200	11. 4	53. 7	36. 0	1. 5	999	0. 8	1. 5	914
E	118 300	8 700	168 500	8. 8	96. 6	27. 6	2. 2	1 792	1. 5	2. 4	1 605
F	208 900	9 200	227 500	9. 6	52. 5	33. 2	1. 7	1 319	1. 0	1. 8	1 115
G	111 400	8 900	142 800	14. 0	53. 5	33. 9	1. 6	928	0. 9	1. 4	924
H	132 200	16 200	145 600	12. 4	48. 5	37. 1	1. 6	376	0. 4	0. 6	428
I	122 200	22 100	137 800	12. 0	49. 7	26. 8	1. 2	1 387	0. 6	1. 2	567
J	203 700	9 800	273 000	10. 4	67. 1	28. 9	1. 5	1 054	0. 9	1. 4	867

L⁻¹ 的人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液。

2.2.3 吸收波长的确定 分别取人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液 0.5 mL、供试品溶液 0.01 mL,置具塞试管中,挥去溶剂。精密加 10 mL 高氯酸显色,旋涡混匀 1 min,于 70 ℃ 水浴加热反应 15 min,立即于冰水中终止反应,以高氯酸为空白对照,在分光光度计上于 200 ~ 700 nm 进行扫描,供试品溶液和对照品溶液均在(314 ± 1) nm 处有最大吸收,故确定吸收波长为 314 nm。

2.2.4 标准曲线的制备 精密吸取人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 ,0.7 mL 于具塞试管中,其余步骤按 **2.2.3** 项下操作,于 314 nm 处测定 A。得到回归方程 $A = 0.066\ 6C - 0.004\ 8(R^2 = 0.998\ 8)$ 。

2.2.5 样品皂苷含量的测定 精密吸取样品液 0.01 mL,按 **2.2.3** 项下显色方法显色,在 314 nm 处测定其 A,以人参皂苷 Rb₁ 为对照,含量均以干燥品计。测定结果见表 2。

2.3 总糖的含量测定^[2]

2.3.1 供试品溶液的制备 雪菊于 60 ℃ 干燥 1 h,研磨,过三号筛,备用。称取雪菊约 2 g,1:20 投料比,加 40 mL 蒸馏水,浸泡 1 h,CW-2000 设置为:温度 60 ℃,超声开,微波自动,超声 30 min,过滤,用蒸馏水定溶于 50 mL 量瓶中,得到供试品溶液。

2.3.2 对照品溶液的制备 称取 105 ℃ 干燥至恒重的葡萄糖 99.21 mg,置于 50 mL 的量瓶中,加蒸馏水定容至刻度,吸取 0.5 mL 于 10 mL 量瓶中。

2.3.3 标准曲线的制作 分别吸取稀释 10 倍后的标准葡萄糖溶液 0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 mL,均用蒸馏水补充至 2.0 mL。加 5% 的苯酚溶液 1 mL,摇匀,再滴加浓硫酸 5 0 mL,迅速振荡摇匀,90 ℃ 下显色 30 min,然后用冰水混合物迅速冷却,以 2.0 mL

蒸馏水按同样显色操作为空白,于 487 nm 处测定 A,以葡萄糖的浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $A = 0.015\ 4 + 0.043\ 36C(r^2 = 0.999\ 6)$ 。

2.3.4 总糖含量测定 取样品液 2.0 mL,按 **2.3.3** 项下测定其 A。计算出雪菊多糖中总糖的含量,测定结果见表 2。

2.4 微量元素测定 委托新疆出入境检验检疫局,采用 ICP 法,测定微量元素含量,测定结果见表 2。

2.5 主成分分析 运用 IBM-SPSS 19.0 统计分析软件对 10 产地雪菊进行主成分分析。主成分分析是以中国将多个指标化为少数几个综合指标的一种统计方法,可以起到降维的作用,用少数几个综合指标来反映大量原始指标的主要信息,从而使问题简化^[15]。以特征值大于 1 为提取标准可知,前 3 个因子总方差的贡献率 85.441%,即一个 3 因子模型解释了实验数据的 85.441%。3 个主成分的累计贡献率高,说明用几个相互独立的因子可以概括不同产地间的差异。从图 1 可直观看出,主成分 1 包括 Mn,Ni,Fe, Pb,Cr,Al 等负荷因子;主成分 2 包括 Zn,总皂苷,Cu 等负荷因子;主成分 3 包括黄酮,总糖等负荷因子。见表 3。

表 3 主成分因子总体描述解释的总方差 %

成分	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差	累积	合计	方差	累积
1	5.665	51.497	51.497	5.665	51.497	51.497
2	2.551	23.193	74.691	2.551	23.193	74.691
3	1.183	10.750	85.441	1.183	10.750	85.441
4	0.661	6.007	91.448	0.661	6.007	91.448
5	0.524	4.766	96.214	0.524	4.766	96.214

2.6 聚类分析 采用 SPSS 19.0 系统聚类分析法对样品进行聚类分析,方法为组间连接法。10 个样品用 11 个成分含量作为聚类变量,总体上可分为 3 大类,D,F,G,H,I,J,聚为一类;A,B 聚为一类;C,E

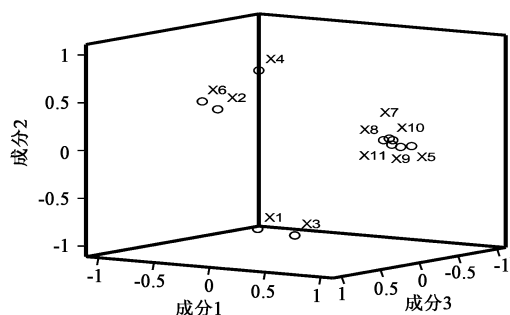


图1 主成分因子负荷散点

聚为一类,聚类结果见图2。比较聚类分析结果发现,不同产地雪菊有机及无机成分与海拔,气温等生态环境有直接的关系。样品D,F,G,H,I,J位于昆仑山脉地区,聚为一类;样品A,B位于天山山脉下,A,B海拔分别为2 000,700 m,但同为吉木萨,聚为一类;样品C,E为策勒产地,位于昆仑山脉,但同皮山等其他昆仑山脉雪菊并未归为一类。

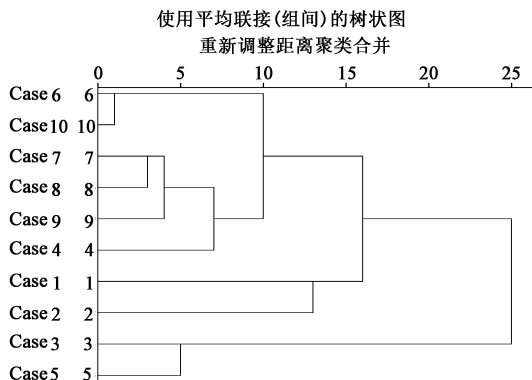


图2 不同产地雪菊聚类分析树形

3 讨论

聚类分析通过寻找一种客观反映和评价事物间相似程度的统计量,然后根据这种统计量和规定的分类准则对事物进行分类,量化种群间的差异程度,分析种群间的相似程度。本实验以雪菊11个成分含量为指标,对不同产地雪菊进行聚类,结果显示可分为3类。天山山脉产地为一类,昆仑山脉产地下又分为两类,成分上的差异可能与气候,地理位置等生态环境存在着一定的相关性,新疆属大陆性气候,北疆为温带大陆性干旱半干旱气候,年均气温-4~9℃,全年降水量150~200 mm以上;南疆属暖温带大陆性干旱气候,年均气温7~14℃,全年降水量25~100 mm,两地气候条件差别较大;天山山脉将新疆分为南北两大部分,天山山脉为北纬42.5°~43°,昆仑山脉大致沿北纬36°延伸,纬度差别较大。

主成分分析将雪菊多个成分含量综合成少数几

个因子,得出不同种类的差异大小,并可根据不同种类的主成分值找出各种类在主成分值上差异较大的参数。雪菊主成分分析结果显示10产地成分差异的3个累计贡献率为85.441%。主成分因子负荷散点图显示,Mn,Ni,Fe,Pb,Cr,Al等负荷因子雪菊成分差异分析影响较大,可作为研究的分析指标。

以雪菊有机及无机成分含量为指标,利用主成分分析和聚类分析法清晰地揭示了雪菊不同产地的规律性和差异性。两色金鸡菊属植物主要化学成分类型为黄酮类^[16],由本实验可知,不同产地雪菊成分差异并不是造成雪菊品质差异的主要原因,但仅从统计学意义上对不同产地进行模式识别研究。天然产物的来源和产地不同,植物生态条件变化,植物的变异和遗传使许多药用植物已部分或完全不同于野生药材^[13],因此,不同产地雪菊对疗效的影响尚需进一步研究。

[参考文献]

[1] 刘伟新,邓继华,徐鸿.一种金鸡菊花的生药研究[J].中国民族医药杂志,2009,1:24.

[2] 张彦丽,阿布都热合曼·合力力,阿依吐伦·斯马义.苯酚-硫酸法测定维吾尔药昆仑雪菊多糖含量的研究[J].药物分析杂志,2010,30(11):22057.

[3] 张彦丽,韩艳春,阿依吐伦·斯马义.分光光度法测定维吾尔药昆仑雪菊中总皂苷的含量[J].西北药学杂志,2011,26(2):87.

[4] 张彦丽,韩艳春,阿依吐伦·斯马义.GC-MS对昆仑雪菊挥发油成分的研究[J].新疆医科大学学报,2010,33(11):1299.

[5] 王艳,张彦丽,阿依吐伦·斯马义.分光光度法测定新疆昆仑雪菊中总黄酮的含量[J].新疆医科大学学报,2011,34(8):817.

[6] Zhang Y, Zhao M B. A novel chalcone from *Coreopsis tinctoria* Nutt [J]. Biochem Syst Ecol, 2006 (34):766.

[7] 张彦丽,王艳,李新霞,等.高效液相色谱法测定昆仑雪菊中绿原酸和黄芩苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(4):107.

[8] 曹燕,庞市宾,徐磊,等.金鸡菊提取物对血管环舒张作用的探讨[J].农垦医学,2011,33(2):148.

[9] 梁淑红,哈木拉提,庞市宾,等.金鸡菊提取物降血压化学成分实验研究[J].时珍国医国药,2010,21(7):1619.

[10] 梁淑红,庞市宾,刘晓燕,等.金鸡菊提取物降血脂作用的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(9):234.

两头毛乙酸乙酯部位化学成分研究

莫小宇¹, 麦景标^{2*}

(1. 中山市陈星海医院, 广东 中山 528415; 2. 广东三才石岐制药有限公司, 广东 中山 528415)

[摘要] 目的:研究两头毛中乙酸乙酯部位的化学成分。方法:采用硅胶柱色谱、HP-20 和 Sephadex LH-20 等分离手段对乙酸乙酯萃取部分进行分离纯化,通过波谱数据分析(¹H-NMR, ¹³C-NMR)进行结构鉴定。结果:从乙酸乙酯萃取部分分离 5 个化合物,分别鉴定为 suberosenol A(1), suberosenol B(2), suberosenone(3), 山奈酚-7-O- α -L-鼠李糖苷(4), 阿魏酸(5)。结论:上述化合物均为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 紫薇科; 两头毛; 乙酸乙酯部位; 化学成分

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)24-0178-03

Studies on Chemical Constituents of Ethyl Acetate Portion of *Incarvillea arguta*

MO Xiao-yu¹, MAI Jing-biao^{2*}

(1. Chenxing Hai Hospital Zhongshan, Zhongshan 528415, China;

(2. Guangdong Sancai the Shiqi Pharmaceutical Co., Ltd., Zhongshan 528415, China)

[Abstract] Objective: To study the chemical constituents of the ethyl acetate portion of *Incarvillea arguta*. Method: The ethyl acetate portion were isolated and pured by silica gel column chromatography, HP-20 and Sephadex LH-20. Their chemical structures were elucidated by spectral data (¹H-NMR, ¹³C-NMR). Result: Five compounds were isolated from the ethyl acetate portion. They were identified as suberosenol A (1), suberosenol B (2), suberosenone (3), kaempferol-7-O- α -L-rhamnoside (4), ferulic acid (5). Conclusion: All compounds were isolated from this plant for the first time.

[Key words] Bignoniaceae; *Incarvillea arguta*; ethyl acetate portion; chemical constituent

两头毛为紫薇科角蒿属植物,生于海拔 1 500 ~ 2 800 m 的干热河谷、山坡灌丛中,分布于甘肃、四川、贵州西部及西北部、云南东北部及西北部^[1]。两头毛以干燥或新鲜全草入药,具有祛风除湿、消炎止痛、活血散瘀的功效^[2]。其主要用于肝炎、菌痢、骨折血肿、风湿劳伤等症。临床上用于治疗胆囊炎、

[收稿日期] 20120521(002)
[第一作者] 莫小宇,妇产科医师,从事女性生殖器官肿瘤的中医药防治研究
[通讯作者] * 麦景标,药师,从事有效成分筛选的研究, E-mail: maijingbiao168@163.com

[11] 张淑鹏,李琳琳,木合布力,等. 昆仑雪菊提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 现代生物医学进展, 2011,6(11):1055.

[12] 牛迎凤,韩春梅,邵赟,等. 十二种花类药材中八种微量元素的含量测定及比较研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2009,29(7):74.

[13] 佟苗苗,翟延君,王添敏,等. 不同产地急性子中人体必需微量元素含量测定与分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(14):95.

[14] 张南平,林瑞超. 我国中药材 GAP 生产研究现状及建议[J]. 中药研究与信息, 2001,3:15.

[15] 王力宾,顾光同. 多元统计分析:模型、案例及 SPSS 应用[M]. 北京:经济科学出版社, 2010.

[16] 吴征镒,周太炎,肖培根. 新华本草纲要. 第 3 册[M]. 上海:上海科技出版社, 1990.

[责任编辑 邹晓翠]