

DOI 10.19656/j.cnki.1002-2406.20230805

药 学 专 题

基于HPLC含量测定法结合化学统计学 对甘肃地产淫羊藿的质量评价体系研究

刘鑫¹, 宋平顺^{2✉}

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730030; 2. 甘肃省药品检验研究院, 甘肃 兰州 730030)

【摘要】目的:通过HPLC法测定不同产区淫羊藿中淫羊藿总黄酮醇苷、淫羊藿总黄酮、浸出物的含量差异,同时结合计量统计学分析方法,科学的对不同区域淫羊藿进行质量评价。方法:采用HPLC法检测甘肃省不同产地淫羊藿、柔毛淫羊藿、制淫羊藿等37个品种的化学成分,并且结合化学计量学的分析方法[主成分分析(principal component analysis, PCA)、聚类分析(cluster analysis, CA)、正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least square discriminate analysis, OPLS-DA)]对37个产地的淫羊藿进行质量评价研究。结果:SPSS软件对主成分进行分析,共得到3个主成分,其方差贡献率83.868%,依据主成分计算最后得分,得到定西的淫羊藿样品整体较好,其次是陇南、天水、平凉、庆阳及甘南;选择平方欧氏距离作为测度进行聚类分析,同时运用多变量统计软件SIMCA14.1分析,结果CA和PCA结果基本一致;最后采用监督模式识别,偏最小二乘法得 R^2 回归线截距0.008 67, Q^2 截距为-0.196, $R^2 > Q^2$, 且 Q^2 为负值,说明预测能力较好,说明产地分类的合理性。结论:HPLC含量测定法结合化学统计学可全面反映甘肃地产淫羊藿质量及品质特色的标准体系,为合理开发野生资源,建立淫羊藿生产加工基地,确保岷州淫羊藿的道地优质性提供技术支持。

【关键词】淫羊藿;含量测定;主成分分析;聚类分析;偏最小二乘判别分析;质量评价

【引用格式】

刘鑫,宋平顺. 基于HPLC含量测定法结合化学统计学对甘肃地产淫羊藿的质量评价体系研究[J]. 中医药信息, 2023, 40(8): 29-36.

LIU X, SONG P S. Evaluation of Epimedium in gansu province based on HPLC content determination and chemical statistics[J]. Information on TCM, 2023, 40(8): 29-36.

淫羊藿(Herba Epimedii)为历版《中华人民共和国药典》^[1](以下简称《中国药典》)收录品种,始载于《神农本草经》^[2],已有2000多年的应用历史,具有补肾阳、强筋骨和祛风湿的功效,主要用于治疗肾阳虚衰、风湿痹痛和麻木拘挛等^[1]。现代药理研究表明,淫羊藿在助孕、抗骨质疏松、控制糖尿病、提高免疫力和抑制肿瘤等方面具有明显功效^[3-8]。目前,淫羊藿(*Epimedium brevicornu* Maxim.)、箭叶淫羊藿[*Epimedium sagittatum*

(Sieb. et. Zucc.) Maxim.]、柔毛淫羊藿(*Epimedium pubescens* Maxim.)和朝鲜淫羊藿(*Epimedium koreanum* Nakai)共同作为药材淫羊藿的基原植物^[1]。淫羊藿生长于甘肃、陕西、山西、湖北等地,基于不同品种、不同产地的淫羊藿药材存在质量差异,给临床用药及市场品种鉴定也带来很多困扰。在提倡大健康 and 中医药大发展的背景下,淫羊藿作为保健品常用品种,市场潜力巨大^[9],2011年全国年需求量高达5 000吨^[10],且呈逐年上升趋势

基金项目:国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项(2019YMC1711500);甘肃省药品监督管理局药品科研项目(2021GSMPA-KL01, 2021GSMPA-KL02)

第一作者简介:刘鑫(1994-),女,硕士研究生,主要研究方向:中药鉴定与品质评价研究。

✉通信作者简介:宋平顺(1964-),男,主任药师,主要研究方向:中药材标准及质量评价。

势,逐渐步入大宗品种行列,在中药产业中占有重要地位^[1]。本研究采用HPLS法结合化学统计学对甘肃地产淫羊藿的质量进行评价,建立其评价体系。

1 材料

1.1 仪器

安捷伦 1260 型高效液相色谱仪;KQ-300DB 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);紫外分光光度计(Agilent Technologies, 型号:ZY2018147);梅特勒 MS205D 型电子天平;9240A 鼓风干燥箱;QUINTIX224-1CN 万分之一分析天平。

1.2 试药

淫羊藿苷对照品(中国食品药品检定研究院,含量 94.2%,批号:110737-201516);乙腈(默克股份两合公司,批号:20240131,色谱纯);乙醇(国药集团化学试剂有限公司,批号:20210810,分析纯);水为纯净水。

1.3 样品

收集甘肃 37 批淫羊藿药材样品,经甘肃省食品药品检验研究院宋平顺主任药师鉴定,均符合《中国药典》规定。产地及原植物情况,见表 1。

表 1 淫羊藿样品信息表

序号	产地	品种名称	序号	产地	品种名称
1	甘肃漳县 1	淫羊藿	20	甘肃	淫羊藿
2	甘肃岷县 1	淫羊藿	21	甘肃礼县 3	淫羊藿
3	甘肃岷县 2	淫羊藿	22	甘肃西和 2	淫羊藿
4	甘肃陇南	淫羊藿	23	甘肃清水	淫羊藿
5	甘肃岷县 3	淫羊藿	24	甘肃宕昌	淫羊藿
6	甘肃	淫羊藿	25	甘肃成县 2	淫羊藿
7	甘肃	淫羊藿、柔毛淫羊藿	26	甘肃武都	柔毛淫羊藿
8	甘肃天水	制淫羊藿	27	甘肃碌曲	柔毛淫羊藿
9	甘肃康县 1	淫羊藿	28	甘肃华亭	淫羊藿
10	甘肃礼县 1	淫羊藿	29	定西岷县 6	淫羊藿
11	甘肃康县 2	柔毛淫羊藿	30	定西漳县 2	淫羊藿
12	甘肃成县 1	柔毛淫羊藿	31	甘肃华池	淫羊藿
13	甘肃礼县 2	淫羊藿	32	甘肃通渭	淫羊藿
14	甘肃西和 1	淫羊藿	33	甘肃渭源	淫羊藿
15	甘肃岷县 4	淫羊藿	34	甘肃正宁	淫羊藿
16	甘肃	淫羊藿掺假	35	甘肃静宁	淫羊藿
17	甘肃	淫羊藿	36	甘肃康县 3	淫羊藿、柔毛淫羊藿
18	甘肃岷县 5	淫羊藿	37	甘肃文县	淫羊藿
19	甘肃	淫羊藿			

注:陇南来源于礼县、西和、宕昌、成县、武都、康县和文县;定西来源于漳县、岷县、通渭、渭源;甘南来源于碌曲;天水来源于天水、清水;庆阳来源于正宁、华池;平凉来源于华亭、静宁;甘肃来源于甘肃市场流通商品。

2 方法

2.1 淫羊藿中总黄酮醇苷的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备

精密称取淫羊藿苷对照品 9.24 mg,置于 50 mL 容量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,作为淫羊藿苷对照品储备液,再精密量取 5 mL 至 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备

取本品叶片,粉碎过 3 号筛,取约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇 20 mL,称定重量,超声处理(功率 400 W,频率 50 kHz)1 h,放冷,再称定重量,用稀乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 色谱条件

色谱柱为 Agilent ODS C₁₈ (250 mm × 4.6 mm,

5 μm)柱;以流动相乙腈(A)-水(B)洗脱,洗脱梯度为 0~30 min, 24%~26%(A), 30~31 min, 26%~45%(A), 31~45 min, 45%~47%(A);检测波长:270 nm;柱温:30℃;流量:1.0 mL/min,进样量 10 μL。

2.1.4 测定方法

分别吸取供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,测定,记录色谱图,即得。

2.2 淫羊藿中总黄酮的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备

精密称取“2.1.1”项下淫羊藿苷对照品储备液 1.5 mL 至 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备

同“2.1.2”项下供试品溶液制备。

2.2.3 测定方法

分别取对照品溶液和供试品溶液,并以稀乙醇为空白,在270 nm测定吸光度,计算即得。

2.3 淫羊藿中浸出物的测定

按照《中国药典》淫羊藿项下方法,取供试品约4 g,精密称定,置250~300 mL的锥形瓶中,精密加水100 mL,密塞,冷浸,前6 h内时时振摇,再静置18 h,用干燥滤器迅速滤过,精密量取续滤液20 mL,置已干燥

至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于105℃干燥3 h,置干燥器中冷却30 min,迅速精密称定重量。除另有规定外,以干燥品计算供试品中水溶性浸出物的含量(%)。

3 结果与分析

3.1 含量测定结果

37批淫羊藿样品含量及浸出物测定结果见表2。

表2 37批淫羊藿样品含量及浸出物测定结果(%)

序号	产地	朝藿定A	朝藿定B	朝藿定C	淫羊藿苷	总黄酮醇苷总量	总黄酮	浸出物
1	甘肃漳县1	0.35	1.24	1.06	0.88	3.53	5.96	26.1
2	甘肃岷县1	0.32	0.94	1.08	0.85	3.19	6.25	27.7
3	甘肃岷县2	0.32	1.11	1.01	1.12	3.56	6.26	27.0
4	甘肃陇南	0.30	0.41	1.39	0.47	2.57	5.70	27.2
5	甘肃岷县3	0.35	1.05	0.98	0.87	3.25	5.92	26.8
6	甘肃1	0.30	1.32	0.47	0.83	2.92	5.38	22.1
7	甘肃2	0.19	0.53	0.99	0.64	2.35	5.03	19.2
8	甘肃天水	0.21	0.61	0.74	0.79	2.35	5.56	21.2
9	甘肃康县1	0.27	0.39	1.38	0.50	2.54	5.95	25.5
10	甘肃礼县1	0.22	0.47	1.29	0.59	2.57	6.77	23.8
11	甘肃康县2	0.21	0.36	1.48	0.52	2.57	5.98	23.1
12	甘肃成县1	0.26	0.42	1.39	0.59	2.66	6.52	24.2
13	甘肃礼县2	0.24	0.55	1.28	0.56	2.63	6.69	23.2
14	甘肃西和1	0.23	0.57	1.38	0.63	2.81	6.96	23.5
15	甘肃岷县4	0.31	1.09	0.94	1.01	3.35	6.24	27.6
16	甘肃3	0.02	0.04	0.16	0.02	0.24	8.73	20.5
17	甘肃4	0.34	0.27	0.33	0.65	1.59	6.97	20.4
18	甘肃岷县5	0.32	1.23	0.96	0.86	3.37	6.03	26.9
19	甘肃5	0.15	0.22	0.68	0.79	1.84	6.72	25.7
20	甘肃6	0.30	1.42	0.63	0.91	3.26	8.31	22.9
21	甘肃礼县3	0.23	0.61	1.37	0.66	2.87	6.78	23.4
22	甘肃西和2	0.25	0.60	1.41	0.62	2.88	7.01	24.0
23	甘肃清水	0.27	0.67	0.79	0.65	2.38	6.07	20.1
24	甘肃宕昌	0.31	0.81	1.30	1.33	3.75	7.30	24.3
25	甘肃成县2	0.28	0.39	1.31	0.53	2.51	6.93	23.8
26	甘肃武都	0.28	0.43	1.29	0.69	2.69	6.61	23.5
27	甘肃碌曲	0.20	0.28	0.67	0.95	2.10	5.67	18.4
28	甘肃华亭	0.31	0.38	0.68	0.47	1.84	5.86	18.6
29	定西岷县6	0.29	1.12	0.98	1.08	3.47	6.29	25.1
30	定西漳县2	0.27	1.18	0.92	0.83	3.20	6.23	25.7
31	甘肃华池	0.20	0.56	0.72	0.57	2.05	5.79	18.3
32	甘肃通渭	0.31	0.97	0.93	0.85	3.06	6.13	25.0
33	甘肃渭源	0.30	1.20	0.82	0.92	3.24	6.21	25.2
34	甘肃正宁	0.23	0.54	0.76	0.50	2.03	5.78	18.4
35	甘肃静宁	0.38	0.39	0.62	0.59	1.98	5.31	19.1
36	甘肃康县3	0.24	0.34	1.35	0.55	2.48	5.94	24.8
37	甘肃文县	0.38	0.65	1.28	0.66	2.97	6.52	23.1

3.2 主成分分析

主成分分析(principal component analysis, PCA)是一种掌握主要矛盾的统计方法^[12-22]。PCA是多元统计分析中最常见的数据分析方法,它能够通过“降维”处理简化大量相关数据,利用代表数据特征的不相关变量

来描述样本,在“无监督”模式下根据数据特征进行分析^[23]。

为更好地客观反映各产地淫羊藿之间的差异性,将37批次淫羊藿的7种成分含量测定结果导入SPSS 25.0软件,进行主成分分析。首先进行标准化数据处理

理,再进行运算,共提取3个主成分,其3个主成分的累计方差贡献率达83.868%,几乎囊括了淫羊藿的大部分信息,表明在淫羊藿样品中,这三个主要成分反映了7个特征成分与不同样品之间的关系。结果见表3。以主成分为变量,得到主成分矩阵。结果见表4。表明总黄酮醇苷总量、淫羊藿苷、朝藿定B、朝藿定A、浸出物代表了第1主成分的信息,朝藿定C代表了第2主成分的信息,总黄酮代表了第3主成分的信息。结合上述结果,通过主成分分析降维处理后所提取的3个主成分可以代表淫羊藿药材的主要信息。根据公式 $PCA_1 = \alpha_1/\sqrt{\lambda_1} = \alpha_1/\sqrt{3.486}$; $PCA_2 = \alpha_2/\sqrt{\lambda_2} = \alpha_2/\sqrt{1.294}$; $PCA_3 = \alpha_3/\sqrt{\lambda_3} = \alpha_3/\sqrt{1.09}$ (其中, λ 为特征值, α 为因子得分,PCA为主成分得分);分别计算出主成分1、2、3的得分 PCA_1 、 PCA_2 、 PCA_3 。再根据公式 $F = (49.803\%PCA_1 + 18.49\%PCA_2 + 15.575\%PCA_3)/83.868\%$ 计算37批样品的综合得分F,得到37批淫羊藿样品的得分排名。结果见表5。表明岷县的淫羊藿样品的得分最高,得分都大于2,样品质量最好。按照市区分类来看,定西的淫羊藿样品整体品质较好,得分都大于2,其次是陇南的样品,天水、平凉、庆阳、甘南的样品得分较低,排在后面。由37批淫羊藿淫羊藿含量测定柱状图可知,总黄酮醇苷含量1.59%~3.75%,均符合《中华人民共和国药典》的规定;其中,2批淫羊藿中混有柔毛淫羊藿(7、36号样),总黄酮醇苷含量2.35%~2.48%,1批制淫羊藿(8号样)总黄酮醇苷含量2.35%;4批柔毛淫羊藿(11、12、26、27号样)总黄酮醇苷含量2.10%~2.69%。结果见图1。表明不同产地的淫羊藿样品之间各特征成分的含量存在较大差异,药材的质量相差很大,所以划分药材的道地产区具有重要的现实意义,药材种植适宜性的考察是规范化药材种植的主要方面。

表3 总方差解释

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差百分比	累积%	总计	方差百分比	累积%
1	3.486	49.803	49.803	3.486	49.803	49.803
2	1.294	18.490	68.293	1.294	18.490	68.293
3	1.090	15.575	83.868	1.090	15.575	83.868
4	0.480	6.863	90.732			
5	0.385	5.497	96.228			
6	0.264	3.772	100			
7	-3.89E-16	-5.55E-15	100			

3.3 聚类分析(CA)

聚类分析(cluster analysis)是一种无监督的分类方法,按照“物以聚类”的原则,首先将研究对象各自成

类,用距离测量方法定义类与类之间的距离,然后将距离最近的两类合并,再重新计算新类和其他类间的距离并按照最小距离归类。重复此过程,每次减少一类,直到所有对象成为一类为止。聚类分析可以把研究对象的多种特征综合为一个可供比较研究对象之间亲疏关系的相似性统计量。

表4 成分矩阵

成分	1	2	3
总黄酮醇苷总量	0.975	0.102	-0.014
朝藿定B	0.822	-0.311	0.306
淫羊藿苷	0.813	-0.277	0.193
朝藿定A	0.726	-0.242	-0.255
浸出物	0.707	0.499	0.155
朝藿定C	0.368	0.783	-0.442
总黄酮	-0.191	0.435	0.821

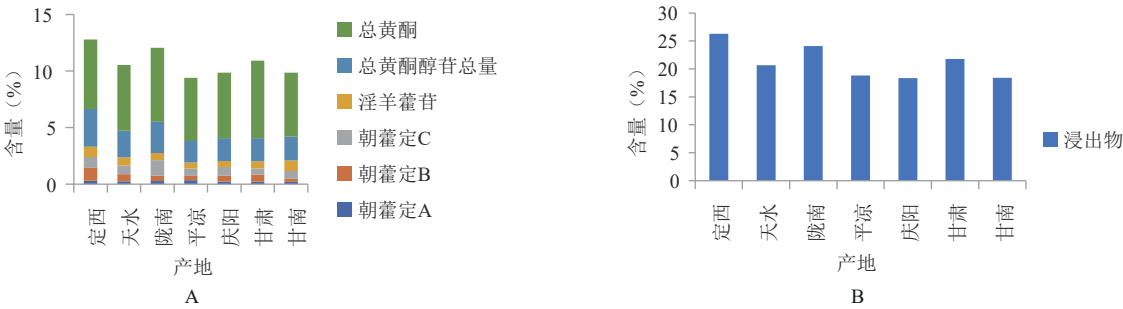
表5 主成分综合得分结果

排名	产地	得分	排名	产地	得分
1	甘肃岷县4	2.22	20	甘肃礼县3	1.89
2	甘肃岷县1	2.20	21	甘肃礼县1	1.88
3	甘肃岷县2	2.20	22	甘肃文县	1.88
4	甘肃岷县5	2.17	23	甘肃成县2	1.87
5	甘肃岷县3	2.15	24	甘肃武都	1.87
6	甘肃漳县1	2.14	25	甘肃礼县2	1.85
7	甘肃陇南	2.08	26	甘肃康县2	1.82
8	定西漳县2	2.08	27	甘肃1	1.81
9	定西岷县6	2.07	28	甘肃天水	1.68
10	甘肃宕昌	2.06	29	甘肃清水	1.62
11	甘肃渭源	2.05	30	甘肃4	1.56
12	甘肃通渭	2.02	31	甘肃2	1.55
13	甘肃康县1	1.97	32	甘肃静宁	1.50
14	甘肃6	1.94	33	甘肃碌曲	1.48
15	甘肃西和2	1.93	34	甘肃正宁	1.47
16	甘肃5	1.92	35	甘肃华亭	1.46
17	甘肃康县3	1.92	36	甘肃华池	1.46
18	甘肃成县1	1.91	37	甘肃3	1.42
19	甘肃西和1	1.89			

运用SPSS25.0统计软件进行聚类分析,在原始数据标准化的基础上,以平方欧氏距离计算,连接方法为平均联接,将37批不同产地、不同品种淫羊藿中总黄酮醇苷、总黄酮、浸出物含量进行系统聚类分析,得到聚类谱系图。结果见图2。聚类分析谱系发现直观地反映了37种淫羊藿类药材之间的相似性和差异性,体现出了各类样品之间的亲疏关系。当选择平方欧氏距离为15时,样品聚为2类,定西和陇南的样品聚为一类,16号样品和其他市区的样品聚为一类。当选择平方欧氏距离为10时,样品整体可聚为3类,定西和陇南的样品聚为一类,其他市区的样品聚为一类,16号样品单独聚为一类。当选择平方欧氏距离

为5时,陇南和定西的样品大致可各自聚为一类,4、9、36号样品本应聚类到陇南,但实际聚类到定西,提示可能是由于两地产地相近,上述7个特征成分含量差距较小,故聚为一类。上述聚类结果与样品实际产地情况基本一致,16号样品因掺伪的原因单独聚为一类,甘肃的样品,2号、4号样品与其他市区样品聚为一类,1号、6号样品与陇南定西的样品聚为一类,

提示这几个未知具体产地的样品可能属于相应的聚类市区。同时运用多元变量统计软件SIMCA 14.1,将37批数据导入,基于PCA建立无监督的模式识别模型,观察样品的组内聚集和组间分离趋势,得到PCA得分图。结果见图3。结果将其分为3类,对比CA与PCA结果,发现两者的分类结果基本一致,进一步证明了聚类分析的结果。



注:A为淫羊藿中各成分含量占比;B为浸出物含量占比。
图1 甘肃7个地区37批淫羊藿含量测定柱状图

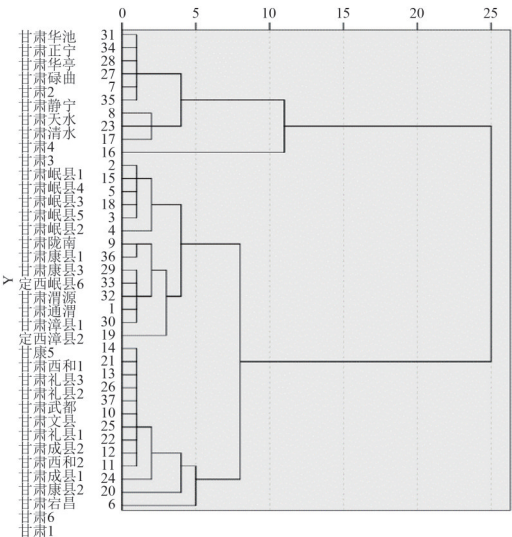


图2 37批淫羊藿样品聚类分析图

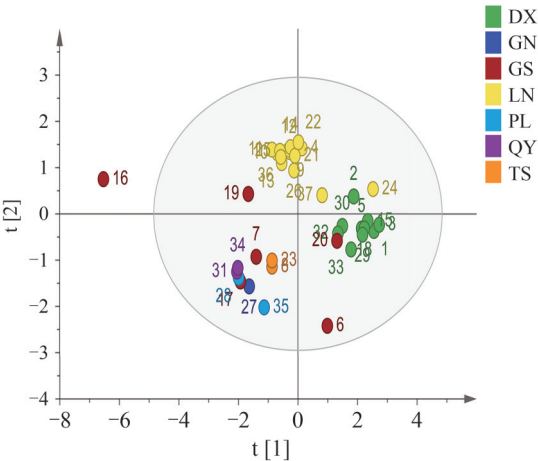
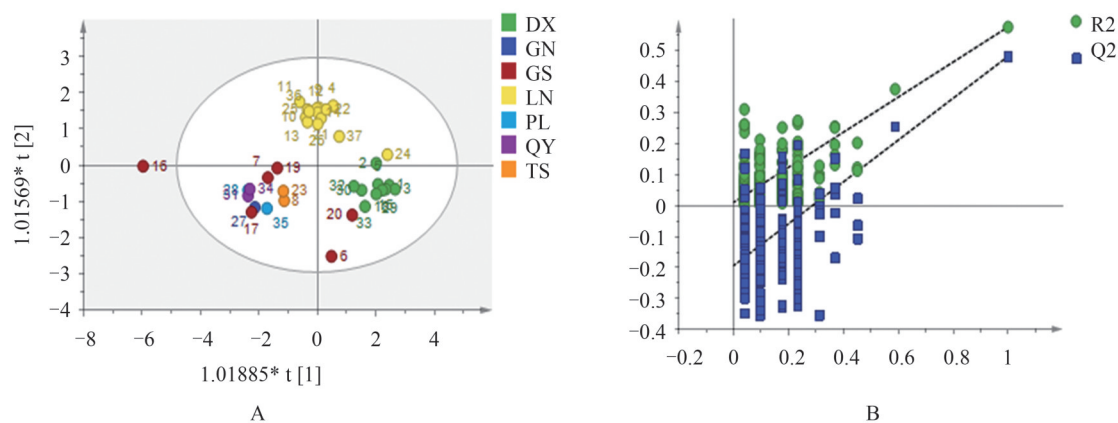


图3 37批淫羊藿样品的主成分分析得分

3.4 正交偏最小二乘判别分析法(OPLS-DA)

为了进一步证明分类的准确性,我们采用监督的模式识别偏最小二乘判别分析法(orthogonal partial least square discriminate analysis, OPLS-DA)分析^[24],将淫羊藿样品按产地分为甘肃(GS)、定西(DX)、陇南(LN)、天水(TS)、平凉(PL)、甘南(GN)、庆阳(QY)。对37批淫羊藿样品中7个特征成分的含量预处理变量数据进行OPLS-DA分析,结果见图4。通过OPLS-DA得分图发现,累积解释能力参数 R^2X 为0.185,表明建立的模型稳定,可以用于区分不同产地的淫羊藿,淫羊藿样品聚类较好,分离显著,与聚类分析和PCA的分类结果基本一致,进一步证明了分析的合理性。对建立的OPLS-DA模型进行200次置换检验,得到OPLS-DA模型的验证图, R^2 回归线截距0.008 67, Q^2 截距为-0.196, $R^2 > Q^2$,且 Q^2 为负值,说明该模型没有过度拟合现象,预测能力较好。淫羊藿样品聚类可以按照这几个特征成分的含量聚为三类。

在95%置信区间内,由于所有变量的VIP值的平方和等于1,所以往往将1作为VIP判定的界值,一般认为 $VIP > 1$ 的变量对模型解释程度较高。结果发现淫羊藿定C、总黄酮、淫羊藿苷等4个峰的贡献率 > 1 ,说明这两个成分的含量对淫羊藿产地的划分影响较大,可以视为淫羊藿分类的潜在标志物。OPLS-DA模型VIP图见图5。



注:A为OPLS-DA得分图;B为OPLS-DA模型检验图。

图4 37批淫羊藿样品OPLS-DA得分图及模型检验图

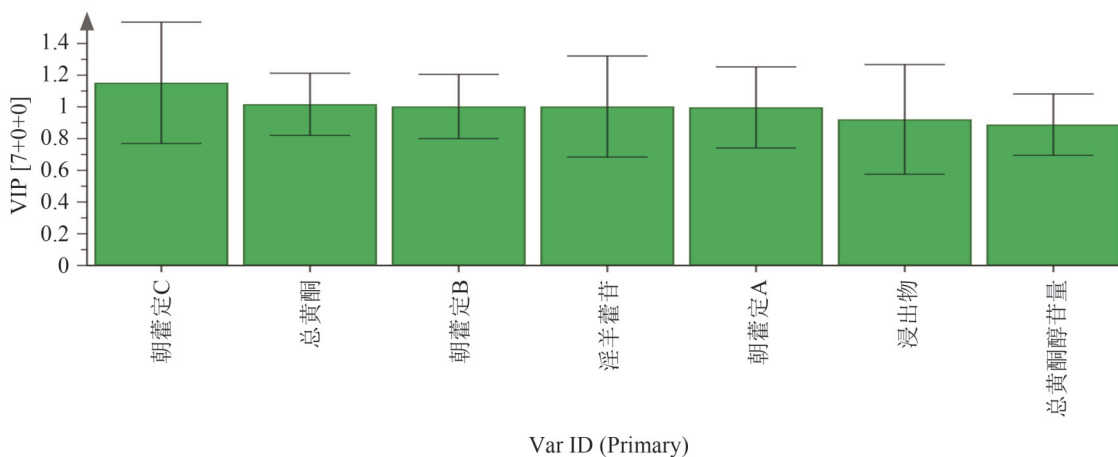


图5 37批淫羊藿OPLS-DA模型VIP图

4 讨论

长期以来,我国淫羊藿以采集野生自然资源为主,随着国内外需求的不断增长,我国现存资源急剧恶化,部分地区因过度开采资源和植被遭到严重破坏,分布狭窄的分类群可能绝迹^[25]。中国科学院武汉植物园2003年在进行居群遗传学研究的采样过程中也发现了类似情况^[26]。因此,对不同产地不同品种的淫羊藿进行指纹图谱分析具有重要意义,并且结合数量分析统计学方法更具科学性,用数理模型进行主成分分析和聚类分析,更加清晰客观,对后续实验具有重要的指向性,最后用最小二乘判别分析的方法,验证模型的可靠性和合理性,置信区间内讨论成分的相关性更加具有科学性。

通过含量测定,主成分分析,聚类分析,最小二乘判别分析的分析方法,研究分布在甘肃不同市和县的淫羊藿所含成分是否具有相似性问题,最终实验结果得出:

①从甘肃不同产地和不同品种的淫羊藿药材含量测定得出,总黄酮醇苷指标成分含量存在较大差异,总

黄酮醇苷以定西>陇南>天水>甘南>庆阳>平凉呈递减趋势,高含量的总黄酮醇苷地域分布于岷县、西和、礼县及周边县区。朝藿定A含量:平凉>定西>陇南>天水>庆阳>甘南呈递减趋势;朝藿定B含量:定西>天水>庆阳>陇南>平凉>甘南呈递减趋势;朝藿定C含量:陇南>定西>天水>庆阳>甘南>平凉呈递减趋势;淫羊藿苷含量:甘南>定西>天水>陇南>庆阳>平凉呈递减趋势。从四种单一成分和总黄酮醇苷含量分析,定西产地的含量排在最前或前列。

②总黄酮。在2022年版《中国药典》中,对淫羊藿含总黄酮含量规定不得少于5.0%,37批样品均符合规定,以陇南>定西>天水>庆阳>甘南>平凉呈递减趋势。

③浸出物。在2022年版《中国药典》中,对淫羊藿浸出物的含量规定不得少于15.0%,37批样品均符合规定,以定西>陇南>天水>平凉>甘南>庆阳呈递减趋势。

其中主成分分析淫羊藿药材综合特征值>1和累

积贡献率考虑,得到三个主要成分,分别是总黄酮醇苷,朝藿定C,总黄酮;聚类分析37批淫羊藿样品,整体可聚为4类,对比CA与PCA结果,结果基本一致;最后为了验证实验的准确性,采用偏最小二乘判别分析,得到 $R^2 > Q^2$,且 Q^2 为负值,说明产地分类的合理性。

查阅相关文献,造成不同地区淫羊藿质量差异可能不仅与采收期有关^[27],产地、季节、部位、品种的不同都会对淫羊藿药材质量有不同程度的影响^[28],为了进一步研究相同地区淫羊藿所含成分的差异性,还需要做大量数据统计分析。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] 神农本草经[M]. 孙星衍,辑校. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,2007:85.
- [3] KIM D H, JUNG H A, SOHN H S, et al. Potential of icariin metabolites from *Epimedium koreanum nakai* as antidiabetic therapeutic agents[J]. *Molecules*, 2017, 22(6):E986.
- [4] CHEN F J, LIU B, WU Q, et al. Icariin delays brain aging in senescence – accelerated mouse prone 8 (SAMP8) model via inhibiting autophagy[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2019, 369(1): 121 – 128.
- [5] CHOI H M, KIM J Y, LI Z P, et al. Effectiveness of prenyl group on flavonoids from *Epimedium koreanum nakai* on bacterial neuraminidase inhibition[J]. *Molecules*, 2019, 24(2):E317.
- [6] HU L L, LI L L, ZHANG H Y, et al. Inhibition of airway remodeling and inflammatory response by icariin in asthma[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1):316.
- [7] TEO Y L, CHEONG W F, CAZENAVE A, et al. Pharmacokinetics of prenylflavonoids following oral ingestion of standardized epimedium extract in humans[J]. *Planta Med*, 2019, 85(4):347 – 355.
- [8] WU H, LIEN E J, LIEN L L. Chemical and pharmacological investigations of *Epimedium* species: a survey[J]. *Prog Drug Res*, 2003, 60:1 – 57.
- [9] 张华峰,杨晓华. 淫羊藿的生物活性成分及其开发策略研究[J]. *中草药*, 2010, 41(2):329 – 332.
- [10] 何顺志,王悦云,徐文芬,等. 贵州淫羊藿药材种质资源的研究[J]. *种子*, 2011, 30(5):69 – 71.
- [11] 肖培根,赵润怀,龙兴超,等. 中药资源可持续发展产销情况的宏观分析[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(17):2135 – 2139.
- [12] 刘荣华,殷茜茜,孟晓伟,等. 基于HPLC指纹图谱和多成分含量

测定的降香质量评价研究[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(4): 959 – 966.

- [13] 夏梦雨,王云,郑颖豪,等. 基于颜色-成分关联分析比较焦栀子炮制过程不同炒制形态质量变化规律[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(9):2197 – 2206.
- [14] 王计瑞,谭均,李隆云,等. 基于多指标综合评价的不同规格槐花干燥方法研究[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(6):1401 – 1409.
- [15] 王梦娇,唐婷婷,潘林梅,等. 基于HPLC指纹图谱和化学模式识别评价不同产地瓜蒌质量[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(8): 919 – 924.
- [16] 蔡淑慧,赵华聪,贾萌,等. 基于HPLC指纹图谱和多成分定量分析的炒甘草饮片质量评价研究[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(1): 118 – 124.
- [17] 乔萍,贾萌,王洪兰,等. 基于HPLC指纹图谱和多成分含量测定的辽藁本质量评价研究[J]. *中草药*, 2022, 53(5):1512 – 1517.
- [18] 申亚君,安琪,丁笑颖,等. 基于HPLC指纹图谱与多成分含量测定结合化学计量学的玉屏风散质量评价[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(7):1121 – 1128.
- [19] 张洁,焦伟杰,雷震,等. 基于HPLC指纹图谱、多指标成分含量测定及化学计量学的复方保泰松鸡血藤片质量评价[J]. *中国药理学杂志*, 2020, 55(22):1873 – 1882.
- [20] 高森,王苹,唐铖,等. 基于HPLC指纹图谱、多指标成分含量测定及化学计量学的湿热痹片质量评价[J]. *中草药*, 2020, 51(21): 5454 – 5461.
- [21] 张群,罗沙,李洁,等. 基于指纹图谱结合化学计量学方法评价荆芥穗质量[J]. *药学报*, 2022, 57(7):2146 – 2152.
- [22] 秦伟瀚,刘翔,张军,等. 不同产地15个品种淫羊藿的质量评价[J]. *中成药*, 2017, 39(9):1889 – 1895.
- [23] 王梦,于梦婷,彭梅梅,等. 基于UPLC特征图谱、多成分含量测定结合化学计量学的不同基原郁金质量评价研究[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(11):2964 – 2974.
- [24] 温春梅,张琛武,徐荣,等. 红外光谱法快速预测箭叶淫羊藿中黄酮类成分含量[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(22):6020 – 6026.
- [25] 李作洲,徐艳琴,王瑛,等. 淫羊藿属药用植物的研究现状与展望[J]. *中草药*, 2005, 36(2):289 – 295.
- [26] 孙超,林昌虎,钟雁,等. 贵州淫羊藿属植物资源的保护与合理开发利用研究[J]. *中国药理学杂志*, 2003, 38(8):16 – 18.
- [27] 徐艳琴,李仁清,张华雁,等. 黄小方. 箭叶淫羊藿的资源分布及质量特征研究进展[J]. *中草药*, 2020, 51(23):6119 – 6132.
- [28] 左建平. 淫羊藿药材质量影响因素研究进展[J]. *中国药业*, 2015, 24(4):93 – 95.

(收稿日期:2023 – 02 – 09)

Evaluation of Epimedium in Gansu Province Based on HPLC Content Determination and Chemical Statistics

LIU Xin¹, SONG Pingshun^{2✉}

(1. *Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China;*

2. *Gansu Institute for Drug Control, Lanzhou 730030, China*)

【Abstract】 Objective: To determine the content difference of total flavonoid glycosides, total flavone and extract of Epimedium in different regions by using HPLC and to scientifically evaluate quality of Epimedium in different regions by metrological analysis method. Methods: HPLC was used to determine the chemical constituents of Epimedium, Epimedium pubescens Maxim. and prepared Epimedium from different producing areas in Gansu province; stoichiometric methods, including principal component analysis (PCA), cluster analysis (CA) and orthogonal partial least square discriminate analysis (OPLS-DA) were applied to evaluate the overall quality of 37 different varieties of Epimedium. Results: The principal components were analyzed by SPSS software, and 3 principal components were obtained, whose variance contribution rate reached 83.868%. According to the final score calculated based on the principal components, the results showed that the whole sample of Epimedium in Dingxi was better, followed by Longnan, Tianshui, Pingliang, Qingyang and Gannan. The square Euclidean distance was selected as the measure for cluster analysis, and the multivariate statistical software SIMCA14.1 was used to analyze the data. The results of CA and PCA were basically consistent. Finally, by using supervised pattern recognition and partial least square method, the intercept of R^2 regression line was 0.008 67, the intercept of Q^2 was -0.196, and $R^2 > Q^2$. Q^2 was negative, indicating that the prediction ability was good, and finally explained the rationality of origin classification. Conclusion: Content detection by HPLC combined with chemical statistics can comprehensively reflect the standard system of quality and quality characteristics of Epimedium in Gansu, which provides a technical support for the rational development of wild resources, the base for production and processing of Epimedium and the guarantee for optimal property of Epimedium.

【Key words】 Epimedium; Content determination; Principal component analysis; Cluster analysis; Partial least squares discriminant analysis; Quality evaluation