

文章编号:1001-6880(2018)9-1543-05

基于主成分分析与聚类分析比较研究南沙参挥发性成分

周 坤¹,江汉美^{2*},许家琦²,郭 欧²¹华中科技大学同济医学院附属精神卫生中心药学部,武汉 430022;²湖北中医药大学制药工程教研室,武汉 430065

摘要:采用固相微萃取(SPME)对南沙参挥发性成分进行萃取,结合气相色谱-质谱联用(GC-MS)对其进行分析;以峰面积归一化法计算各组分的相对百分含量,并采用SPSS 18.0软件对结果进行主成分分析和聚类分析。结果表明,从不同产地南沙参中共分离鉴定出41种化学成分,其主要成分为烷酸、烯酸、醛类和醇类化合物;其中异缬草醛、己醛、 α -蒎烯、羊脂醛为5个不同产地南沙参的共有成分,江苏、湖北产的南沙参中含有丰富的萜类化合物;聚类分析结果可将不同产地南沙参划分为5类。本实验建立了南沙参挥发性成分的快速分析方法,获取了不同产地南沙参挥发性成分的特征分布和产地信息鉴别模式。主成分分析法和聚类分析法能有效区分不同产地的南沙参,研究结果可为南沙参药材品种、鉴别比较提供参考依据。

关键词:南沙参;固相微萃取;气相色谱-质谱;挥发性成分;聚类分析;主成分分析

中图分类号:R284.1;Q946

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.9.012

Comparative Study on Volatile Constituents of *Radix Adenophorae* Based on Principal Component Analysis and Cluster Analysis

ZHOU Kun¹, JIANG Han-mei^{2*}, XU Jia-qi², GUO Yu²

¹Affiliated Mental Health Center Department of Pharmacy, tongji Medicinal College of Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430022, China; ²Hubei University of Chinese Medicine Department of Pharmaceutical Engineering & Teaching, Wuhan 430065, China

Abstract: The volatile constituents were extracted from *Radix Adenophorae* by solid phase micro extraction, and were qualitified by gas-chromatography mass-spectrometry, and content of each component of volatile constituents were calculated by peak area normalization method. by SPSS 18.0 software, principal component analysis and cluster analysis were used to statistical analysis. 41 kinds of constituents were determined in *Radix Adenophorae* which come from different habitats, the main components are alkylic acid, olefine acid, aldehydes and alcohols; *Radix Adenophorae* which come from different habitats were contains isovaleraldehyde, hexanal, α -pinene and suet aldehyde; *Radix Adenophorae* which come from Jiangsu and Hubei were contain more terpenoids. *Radix Adenophorae* which come from different habitats can be divided into five categories by cluster analysis. the study established a rapid analysis method of the volatile components of *Radix Adenophorae* and contributed the patterns of characteristics distribution and origin information of volatile components from *Radix Adenophorae*, the method is simple and fast. principal component analysis and cluster analysis method can effectively distinguish *Radix Adenophorae* which come from different areas. the results can provide evaluation method for the species and quality comparison of *Radix Adenophorae*.

Key words: *Radix Adenophorae*; solid phase micro extraction; gas-chromatography-mass spectrometry; volatile components; cluster analysis; principal component analysis

南沙参为桔梗科植物轮叶沙参 *Adenophora tetraphylla* (Thunb.) Fisch. 或沙参 *Adenophora stricta* Miq. 的干燥根,具有养阴清肺、化痰、益气的功效,用于肺热燥咳,阴虚劳嗽,干咳痰黏,食少呕吐,烦热

口干等症^[1]。现代药理研究表明,南沙参具有增强免疫、抗辐射^[2]、抗衰老和清除氧化自由基^[3]、改善学习记忆障碍^[4]、抗肝损伤^[5]等广泛的药理活性。目前,对南沙参的化学成分研究主要集中于多糖类、 β -谷甾醇及其衍生物、三萜类、酚苷类和磷脂类^[6],王淑萍^[7,9]、高茜等^[8]对南沙参的挥发性成分研究表明,其挥发性成分药用成分主要为单萜、倍半萜类

和镰叶芹醇,而萜类化合物通常具有提神、抗菌消炎、抗肿瘤和镇痛作用;镰叶芹醇是具有防止真菌病害的天然多元聚乙炔化合物,具有抗癌活性。南沙参在我国资源分布广泛,主要分布于东北及河北、山东、江苏、安徽、浙江、江西、广东、贵州、云南等地,因气候环境的不同,各地产南沙参质量必然存在一定差异。由于挥发性成分的组成、相对含量受产地、炮制、加工和贮存等因素影响,故本研究以南沙参挥发性成分作为研究切入点,采用 SPME 萃取南沙参的挥发性成分,结合 GC-MS 对其进行分析、检测,采用 SPSS 18.0 软件进行聚类分析(CA) 和主成分分析(PCA),从化学成分种类和特征成分峰两方面来评价,建立南沙参药材的特征成分峰和快速模式化、可视化的产地信息识别模式和初步质量评价方法。

表 1 南沙参样品信息表

Table 1 Information of *Radix Adenophorae*

样品批号 Batch No	药材产地 Brigins	样品编号 Sample NO.	样品来源 Source of sample	生产厂家 Manufacturer
110412	江苏宜兴	S1	南通市普泽大药房	江苏国中医药有限公司
110315	江苏宜兴	S2	扬州泰康大药房	江苏福源中药饮片有限公司
110521	安徽亳州	S3	合肥市广慈大药房	安徽新盛中药饮片有限公司
110321	安徽亳州	S4	合肥市江淮大药房	安徽华鼎堂中药饮片有限公司
110926	浙江临安	S5	浙江长红大药房	浙江养元堂中药材有限公司
110515	神农架红坪	S6	十堰红卫康源大药房	十堰市宏康中药材有限公司
110411	浙江临安	S7	浙江康盛堂大药房	浙江磐安乡田中药材有限公司
110513	神农架红坪	S8	十堰盛泽大药房	十堰神农药材种植基地有限公司
111023	神农架红坪	S9	十堰车城大药房	湖北中医药药材公司
110425	贵州遵义	S10	贵州芝林大药房	铜仁市中源中药材有限公司
110324	贵州遵义	S11	贵州民心大药房	贵州仁康药业有限公司
110420	贵州遵义	S12	贵州和平大药房	贵州东方神农药业有限公司
110420	贵州遵义	S13	芝林大药房药店	贵州神通药材开发有限公司

2 方法^[10,11]

2.1 顶空固相微萃取条件

取各产地南沙参样品粉碎、过 40 目筛,取粉末 1.5 g 置样品瓶中,用带有 65 μm PDMS-DVB 萃取纤维头的手动进样器插入顶空瓶内,90 °C 下预平衡 15 min,缓缓伸出萃取头,顶空萃取 30 min,取出,立即注入色谱仪进样口(250 °C),解吸附 4 min。

2.2 GC-MS 色谱与质谱条件

色谱柱:HP-5MS(50 m × 0.25 mm × 0.25 μm)石英毛细管色谱柱;程序升温:初始温度 30 °C 保留 5 min,以 3 °C/min 升温至 65 °C,保留 1 min,再以 5

1 实验材料

1.1 仪器

Agilent 6890/5973 型气相色谱-质谱联用仪(安捷伦公司,美国,配 NIST 系列标准谱库);手动固相微萃取(SPME)进样器装置(Supelco 公司,德国);65 μm 聚二甲基硅氧烷-二乙烯基苯(PDMS/DVB)萃取头(Supelco 公司,德国);15 mL 顶空瓶(配聚四氟乙烯胶垫);电子天平(Sartorius, ALC-210.2)。

1.2 药材

实验用药材均由湖北中医药大学中药教研室张秀桥教授鉴定,13 批南沙参药材均由当地市场采购而来,具体样品来源信息见表 1,所有药材鉴定结果均为 *Adenophora tetraphylla* (Thunb.) Fisch。

°C/min 升温至 180 °C,保留 2 min;载气:高纯氮气;载气流速:1 mL/min;分流模式:不分流;接口温度:280 °C。质谱条件:离子源:EI 源,电子能量:70 eV;离子源温度:230 °C;四极杆温度:150 °C;倍增管电压:1.2 kV;扫描质量范围:35 ~ 550 m/z;扫描模式:选择离子扫描。

3 结果与分析

3.1 不同产地南沙参挥发性成分分析结果

经化学工作站数据处理结合面积归一化法从各总离子流图中计算各组分相对百分含量,按各峰的质谱图经 NIST05 谱库检索,确定各个组分,共鉴定

了41种挥发性成分,5个产地13批次鉴定出16~25种成分,占各总挥发性成分总量的67.70%~

99.76%。具体挥发性成分检测百分含量及化合物组成见表2。

表2 不同产地南沙参挥发性成分分析结果

Table 2 Results of analysis of volatile components in *Radix Adenophorae*

RT	化合物 Compounds	化学式 Chemical formula	相对百分含量 Relative percent(%)												
			S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈	S ₉	S ₁₀	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₃
1.15	2-甲基-1-丙醇	C ₄ H ₁₀ O	0.04	0.10	9.77	10.15	11.23	-	-	-	-	-	-	-	-
1.29	异缬草醛	C ₅ H ₁₀ O	0.96	1.02	5.76	5.81	5.99	9.18	9.23	8.99	2.78	2.65	2.14	2.09	2.25
1.64	戊醛	C ₅ H ₁₀ O	0.73	0.59	4.27	4.34	4.56	3.32	3.19	3.21	4.62	5.32	2.51	2.89	3.24
2.13	1-戊醇	C ₅ H ₁₂ O	-	-	2.67	2.73	2.81	-	-	-	-	-	-	-	-
2.24	3-甲基-1-丁醇	C ₅ H ₁₂ O	-	-	9.97	10.52	11.01	-	-	-	-	-	-	-	-
2.39	乙酸	C ₂ H ₄ O ₂	1.91	1.69	2.18	2.23	2.43	12.65	14.43	16.42	16.75	19.69	1.05	0.09	1.10
2.48	S-(-)-2-甲基-1-丁醇	C ₅ H ₁₂ O	-	-	2.97	3.09	3.21	-	-	-	-	-	-	-	-
2.67	甲苯	C ₇ H ₈	-	-	-	-	-	-	-	-	0.49	0.63	-	-	-
3.53	己醛	C ₆ H ₁₂ O	10.85	10.79	28.29	28.35	28.42	47.93	18.20	45.13	25.12	10.50	17.26	17.38	17.45
4.88	糠醛	C ₅ H ₄ O ₂	3.67	2.79	4.62	4.47	3.79	9.31	10.27	11.71	5.50	3.96	2.29	2.51	2.67
6.06	邻二甲苯	C ₈ H ₁₀	-	-	-	-	-	-	-	-	1.67	1.52	-	-	-
6.62	1-己醇	C ₆ H ₁₄ O	-	-	2.96	3.01	3.18	-	-	-	-	-	2.99	3.67	4.13
7.76	水芹醛	C ₇ H ₁₄ O	2.47	2.19	4.97	5.52	5.54	0.08	0.06	0.05	0.09	1.12	3.17	3.59	3.94
7.89	庚醛	C ₇ H ₁₄ O	-	-	-	-	-	-	-	-	0.71	0.69	-	-	-
9.03	(1R)-(+) - α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	52.17	53.20	0.75	0.96	0.68	2.17	2.24	2.01	0.29	0.33	23.79	25.25	17.23
9.31	莰烯	C ₁₀ H ₁₀	0.56	0.29	1.12	1.07	1.09	0.17	0.21	0.19	0.23	0.19	0.49	0.71	0.82
9.94	安息香醛	C ₇ H ₆ O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.64	1.76	1.59
10.66	4-戊烯醛	C ₅ H ₈ O	1.00	0.85	0.03	0.02	0.03	0.06	0.05	0.07	0.13	0.15	0.23	0.31	0.27
11.17	桧烯	C ₁₀ H ₁₆	5.62	4.94	0.05	0.03	0.04	1.09	1.12	1.21	0.81	0.72	0.93	2.21	1.97
12.14	1-辛烯-3-醇	C ₈ H ₁₆ O	-	-	-	-	-	-	-	-	6.47	6.59	-	-	-
12.22	β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.19	1.25	1.18
12.41	β -月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	2.00	1.79	0.23	0.19	1.02	1.05	1.12	1.09	1.22	1.19	2.13	2.15	2.20
12.81	2-正戊基呋喃	C ₉ H ₁₄ O	0.06	0.05	0.09	0.11	0.08	1.67	2.06	2.42	0.54	0.77	1.47	1.59	1.71
13.10	羊脂醛	C ₈ H ₁₆ O	2.25	1.09	3.97	4.43	5.13	1.18	2.19	2.34	0.38	0.56	5.92	6.39	7.21
13.43	(+)-4-蒈烯	C ₁₀ H ₁₆	1.08	0.93	1.02	1.05	1.07	0.05	1.02	1.15	0.80	0.60	1.50	1.30	0.90
13.87	对异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	0.82	0.69	0.91	1.12	0.75	0.21	0.33	0.51	-	-	-	-	-
13.89	间异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.19	1.30	1.21
14.02	D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	0.62	0.49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14.34	2-乙基-1-己醇	C ₈ H ₁₈ O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.77	0.84	0.79
15.65	松油烯	C ₁₀ H ₁₆	1.70	1.53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18.42	天竺葵醛	C ₉ H ₁₈ O	7.45	6.53	9.97	8.04	7.70	2.17	1.98	2.2	4.4	5.2	7.99	11.98	13.26
20.88	(E)-壬烯醛	C ₉ H ₁₆ O	0.97	0.87	-	-	-	-	-	-	-	-	1.59	1.71	1.84
22.81	癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	0.55	0.49	-	-	-	-	-	-	-	-	0.67	0.83	0.91
25.71	正十四烷	C ₁₄ H ₃₀	-	-	-	-	-	-	-	-	0.38	0.42	-	-	-
25.83	(+)- α -蒈烯	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	1.59	1.67	-	-	-	-

续表2(Continued Tab. 2)

RT	化合物 Compounds	化学式 Chemical formula	相对百分含量 Relative percent (%)										
			S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈	S ₉	S ₁₀	S ₁₁
27.36	(+)-环苜蓿烯	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	12.75	14.97	-	-
28.75	γ-衣兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	1.37	1.46	-	-
28.78	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	0.53	0.63	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29.05	长叶蒎烯	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	1.36	1.49	-	-
31.26	白菖烯	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	0.33	0.27	-	-
33.43	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	0.61	0.55	-	-	-	-	-	--	-	-	-

注：“-”表示在本批次样品中未检测到此种成分。

Note: “-” means not detected that components in current sample.

3.2 不同产地南沙参主成分分析结果

将二维数据矩阵导入到 SPSS18.0 软件进行 PCA 统计分析。分析结果显示,第 1、2、3 主成分的方差贡献率为 59.11%、29.556%、8.263%,累计方差贡献率为 96.939%。图 1 为 5 个不同产地 13 批次南沙参前 3 个主成分为坐标的空间分布图。主成分直观分析结果表明,同一产地的不同批次样品在主成分分析得分图空间分布上相对集中,不同产地的样品在分布上则存在明显差异,其中 S9(来自神农架红坪)显示出较大差别,可能为引种栽培、神农架当地特殊的地理位置和气候环境差异等原因所导致。

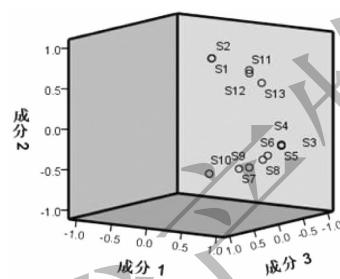


图 1 13 批南沙参样品的主成分分析得分图

Fig. 1 Principal components analysis score plots from 13 batches *Radix Adenophorae*

3.3 不同产地南沙参聚类分析结果

运用 SPSS18.0 软件,采用 Ward's 聚类法,以 Euclidean 距离为测度、相对峰面积百分比为基准,以上述选出的 41 个成分为变量,对 5 产地 13 批次南沙参进行了全成分 CA 分析。以上述 41 个影响较大的成分的 HCA 为例,讨论南沙参药材的产地及归类,结果如图 2 所示。当阈值大于 15 时,可以将其分为两大类,其中,江苏宜兴 1、2 号样品与贵州遵义的 11、12、13 号样品可以先划分为第一类;其他产区的样品被划分为第二类。当 10 < 阈值 < 15 时,

可以将其分为三大类,其中,神农架红坪的 6、8 号样品被单独划为第一类;安徽亳州的 3、4 号样品与浙江临安的 5 号样品划为一类后,再与浙江临安的 7 号样品、神农架的 9 号样品、贵州遵义 10 号样品聚为第二类;江苏宜兴的 1、2 号样品与贵州遵义的 11、12、13 号样品聚为第三类。当 5 < 阈值 < 10 时,不同批次样本层次聚类分析聚成 5 类,江苏宜兴所产南沙参 2 个样品 S1、S2 聚为第一类;贵州遵义产 3 个样品中 S11、S12 和 S13 显示出一定差异,其中 S11、S12 首先划为一类后,再与 S13 聚为第二类;神农架南沙参 2 个样品 S6、S8 单独划为第三类;安徽亳州产南沙参 2 个样品 S3、S4 划为一类后与浙江临安的 5 号样品聚为第四类;神农架产南沙参 9、浙江 7 号样品与贵州遵义 10 号样品聚为第五类。从聚类图整体观察可将其划分连续的 3 个区间 a、b 和 c。其中,江苏宜兴的 1、2 号样品与贵州遵义的 11、12、13 号样品分布于 a 区间,位于聚类图的最上层;神农架南沙参 2 个样品 S6、S8 单独划为第三类;安徽亳州南沙参 2 个样品 S3、S4 与浙江临安的 5 号样品分布于 b 区间,位于聚类图的中层;神农架产南沙参 9、浙江 7 号样品与贵州遵义 10 号样品分布于 c 区间,位于聚类图的下层。

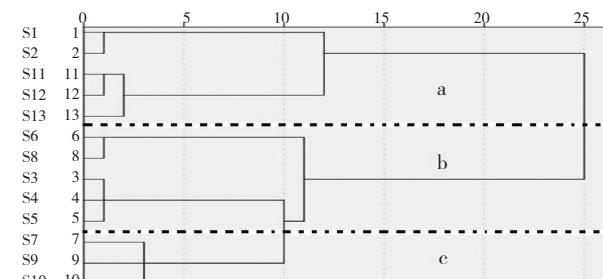


图 2 13 批南沙参样品的聚类树状图

Fig. 2 Results of dendrogram from 13 batches *Radix Adenophorae*

4 结论

本研究对江苏、安徽、浙江、湖北、贵州 5 个不同产地南沙参挥发性成分进行 SPME-GC-MS 分析,共分离鉴定出 41 种化学成分,主要包括醛类、萜类、有机酸类和醇类。其中,异缬草醛、己醛、 α -蒎烯和羊脂醛 4 种成分为上述 5 个产地所共有;乙酸、戊醛和糠醛 3 种成分为 4 个产地所共有;水芹醛、2-正戊基呋喃、天竺葵醛 3 种成分为 3 个产地所共有。此外,江苏、湖北神农架的南沙参中还含有丰富的萜类化合物。

不同产地南沙参挥发性成分种类和相对含量差异较大。江苏产南沙参共分别鉴定出 23 种挥发性化学成分,含量最高为 (1R)-(+)- α -蒎烯(52.17%),其次为己醛(10.85%)、天竺葵醛(7.45%);安徽产南沙参中分别鉴定出 21 种挥发性成分,含量最高为己醛(28.35%),其次是天竺葵醛(12.04%)、3-甲基-1-丁醇(10.52%);浙江产南沙参中分别鉴定出 16 种挥发性成分,含量最高为己醛(48.59%),其次是乙酸(14.43%)、糠醛(10.27%);湖北产南沙参中分别鉴定出 16~25 种挥发性成分,含量最高为己醛(24.75%),其次为乙酸(19.69%)、(+)-环苜蓿烯(14.97%);贵州产南沙参中分别鉴定出 22 种挥发性成分,含量最高为 α -蒎烯(25.25%),其次为己醛(17.38%),天竺葵醛(11.98%),羊脂醛(6.39%)。

异缬草醛、己醛、 α -蒎烯和羊脂醛为 5 个不同产地南沙参挥发性成分中共有成分且含量较高,可作为南沙参初步鉴别的共性成分。主成分分析结果与系统聚类分析结果基本一致,主成分分析中产自神农架南沙参样品 S9 与 S6、S8 相比显示出一定差异,但聚类分析中这种差异却并未充分体现;相反,贵州遵义产南沙参样品 S10 在聚类分析中差异较明显,但在主成分分析中差异相对不明显。综合可知,两种分析方法得到相互印证和补充,不同产地南沙参在图中可得到良好区分,该方法不仅可以综合地反映相同产地南沙参间的亲缘关系,而且可以全面地反映不同产地药材间的差异,使分析结果更为直观,可为南沙参初步质量评价提供科学依据。

参考文献

1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会).

Pharmacopoeia of the people's republic of China; Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015:360.

- 2 Ge MZ(葛明珠), Zhao YL(赵亚莉), Ren SL(任少林). Polysaccharide from *Radix Adenophorae* protective effect of on mouse immune organs radiative damage[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*(中草药), 1996, 27: 673-675.
- 3 Sun YJ(孙亚捷), Li XF(李新芳). Study on the effect of anti-aging action of *Radix Adenophorae potaninii* korsh polysaccharides on mice and scavenging free oxygen radical[J]. *China Pharmacist*(中国药师), 2005, 8: 713-716.
- 4 Zhang CM(张春梅), Li XF(李新芳). Effect of *Radix Adenophorae* polysaccharides on chemical-induced learning and memory impairment in mice[J]. *Pharmacology and clinic of chin mat med*(中药药理与临床), 2001, 17(4): 19-22.
- 5 Liang L(梁莉), Qiao H(乔华), Wang T(王婷), et al. Effects of *Radix Adenophorae potanini* korsh p-olysaccharides on treatment of chronic hepatitis B with 30 cases[J]. *China Pharmacist*(中国药师), 2008, 11: 261-263.
- 6 Wei W(魏巍), Wu J(吴疆), Guo ZH(郭章华). Advance in research of chemical constituents and pharmacological activities of *Radix Adenophorae*[J]. *Drug Evaluation Research*(药物评价研究), 2011, 34: 298-300.
- 7 Wang SP(王淑萍), Xu FY(许飞扬), Zhang GZ(张桂珍), et al. Analysis of the volatile oil from *Radix Adenophorae*[J]. *J Hebei Univ:Nat Sci*(河北大学学报:自然科学版), 2008, 28: 373-383.
- 8 Gao Q(高茜), Xiang NJ(向能军), Shen HL(沈宏林), et al. Analysis of volatile components in *Adenophorae Radix* by accelerated solvent extraction / solid phase micro extraction with gas-chromatography-mass spectrometry[J]. *Fine Chem Interme*(精细化工中间体), 2008, 38(6): 66-69.
- 9 Wang SP(王淑萍), Xu FY(许飞扬), Zhang XW(张学伟). Analysis on chemical constituents of volatile oil in *Radix Adenophorae* produced by ethanol extraction[J]. *J Mol Sci*(分子科学学报), 2010, 26: 428-431.
- 10 Lu JQ(卢金清), Guo Y(郭彧), Li YL(李雨玲), et al. Studies on volatile chemical constituents of commercial chinese medicine *Radix Adenophorae* from different arenas by solid phase micro extraction with gas-chromatography mass - spectrometry[J]. *Hubei J Tradit Chin Med*(湖北中医杂志), 2013, 35(3): 71-73.
- 11 Xu JQ(许家琦). Studies on volatile chemical constituents of commercial chinese medicine *Radix Adenophorae* from different producing arenas[D]. Hubei: Hubei University of Chinese Medicine(湖北中医药大学), 2012.