

- of the main bioactive constituents from fruits of *Ziziphus jujube*[J]. Food Funct, 2016, 7(6):2870-2877.
- [15] 鲍和,屈清慧,彭亚杰,等.土家药九子连乙酸乙酯部位化学成分的研究[J].西北药学杂志,2020,35(2):159-163.
- [16] 高阳,杨敏飞,苏娅萍,等.老山芹根中亲脂性化学成分的GC-MS分析[J].西北药学杂志,2014,29(4):344-347.
- [17] 高阳,姜会敏,霍雅玉,等.刺玫果的体外抗氧化活性研究[J].西北药学杂志,2014,29(3):226-230.
- [18] Huo Y Y, Gao Y, Mi J, et al. Isolation and simultaneous quantification of nine triterpenoids from *Rosa davurica* Pall[J]. J Chromatogr Sci, 2017, 55(2):130-136.
- [19] Mi J, Peng Y J, Zhang H M, et al. A new benzofuran derivative glycoside and a new coumarin glycoside from roots of *Heracleum dissectum* Ledeb[J]. Med Chem Res, 2018, 27:470-475.
- [20] Zhang H L, Su Y P, Wang X R, et al. Antidiabetic activity and chemical constituents of the aerial parts of *Heracleum dissectum* Ledeb[J]. Food Chem, 2017, 214:572-579.

(收稿日期:2020-09-10)

基于主成分和聚类分析的不同地区红花质量评价

惠大永^{1,2}, 张晓莉², 黄壮壮², 孙宇宏², 马久太², 刘峰² (1. 陕西国际商贸学院, 咸阳 712000; 2. 陕西步长制药有限公司, 咸阳 712000)

摘要:目的 通过聚类分析,对不同产地红花的品质进行比较,为红花在陕西的培育及发展提供参考。方法 采用UPLC法测定10批新疆红花与3批陕西红花中6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷、羟基红花黄色素A及脱水红花黄色素B的含量;并通过主成分分析及聚类分析对陕西与新疆不同产地的红花品质进行分析与评价。结果 陕西省白水及蒲城县的红花中6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷的含量最高,均为0.21%,新疆昌吉奇台县的红花中羟基红花黄色素A的含量最高,为1.93%,新疆米东区八家户村的红花中脱水红花黄色素B的含量最高,为1.10%,不同产地的红花质量存在一定差异,可以通过主成分分析及聚类分析将陕西与新疆地区的红花进行区分。结论 红花中3种黄酮类成分可反映不同产地红花的内在质量,为不同产地红花的质量评价提供参考。

关键词:红花;含量测定;质量评价;聚类分析

DOI:10.3969/j.issn.1004-2407.2021.02.002

中图分类号:R284 文献标志码:A 文章编号:1004-2407(2021)02-0180-04

Evaluation of the quality of safflower from different regions based on principal component and cluster analysis method

HUI Dayong^{1,2}, ZHANG Xiaoli², HUANG Zhuangzhuang², SUN Yuhong², MA Jiutai², LIU Feng² (1. Shaanxi Institute of International Trade&Commerce, Xianyang 712000, China; 2. Shaanxi Buchang Pharmaceutical Limited Company, Xianyang 712000, China)

Abstract: **Objective** To compare the quality of safflower from different producing areas through cluster analysis, and to provide references for the future cultivation and development of safflower in Shaanxi. **Methods** The contents of 6-hydroxy kaempferol-3,6,7-tri-O-glucoside, hydroxy safflower yellow A and dehydrated safflower yellow B in 10 batches of Xinjiang safflower and 3 batches of Shaanxi Province safflower were determined by UPLC, then, the quality of safflower from different producing areas in Shaanxi and Xinjiang was analyzed and evaluated by principal component analysis and cluster analysis. **Results** The safflowers in Baishui County and Pucheng County of Shaanxi province had the highest content of 6-hydroxy kaempferol-3,6,7-tri-O-glucoside (0.21%); the safflowers in Changji Qitai County of Xinjiang had the highest content of hydroxy safflower yellow A (1.93%); the safflowers in Eight Families Village of Midong District of Xinjiang had the highest content of dehydrated safflower yellow B (1.10%). There are certain differences in the quality of safflower from different producing areas in Shaanxi and Xinjiang, that can be distinguished by principal component analysis and cluster analysis. **Conclusion** The 3 flavonoids in safflower can reflect the internal quality of safflower from different producing areas, which provides a certain reference for the quality evaluation of safflower from different areas.

Key words: safflower; content determination; quality evaluation; cluster analysis

红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,夏季花由黄变红时采收,阴干或晒干^[1],具

有活血通经、散瘀止痛的功效,临床主治冠心病、脑血栓等心脑血管疾病^[2-4]。红花的主要有效成分是黄酮类成分(包含黄酮、黄酮醇、二氢黄酮及查尔酮等)^[5-6],具有广泛的药理活性,对心脑血管、神经系统

基金项目:陕西省重点研发计划项目(编号:2018SF-301)

和免疫系统等有一定的作用,还有抗炎镇痛、抗肿瘤、抗氧化等多种生理活性^[7-9]。

目前,我国红花主产区主要集中在新疆、四川、云南、甘肃、河南、河北、山东、浙江和江苏等省^[10-12],其中新疆的红花占全国红花产量的 90% 以上^[13-14],是临床应用及研究的主要来源,已成为当地农民增收的支柱产业。陕西属于干旱地区^[15],适宜种植抗旱耐寒的红花,但因种植分散、规模小,对其研究相对较少。

本文以新疆红花作为参考,采用 UPLC 法同时测定新疆和陕西红花中 3 种黄酮类成分的含量,并采用主成分分析及聚类分析对 2 个产地红花中的各成分含量进行比较,为红花在陕西的发展提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters Acquity UPLC H-Class 系统(PDA 检测器,Empower 3 网络版),美国 Waters 公司;KQ-250V 型超声波清洗仪,昆山市超声仪器有限公司;AR1140 型电子分析天平,瑞士 Mettler Toledo 公司。

1.2 试剂 6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷对照品(批号 MUST-17011503),成都曼斯特生物科技有限公司;羟基红花黄色素 A 对照品(批号 111637-201308),中国食品药品检定研究院;脱水红花黄色素 B 对照品(批号 110725-201213),上海源叶生物科技有限公司。乙腈为色谱纯,美国 Fisher 公司;水为超纯水;其余试剂均为分析纯。13 批红花样品经陕西中医药大学中药资源教研室王西芳教授鉴定均为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,来源信息见表 1。

表 1 红花样品来源信息

Tab. 1 The source information of safflower samples

编号	样品来源
S1	新疆米东区天山村(基地)
S2	新疆米东区八家户村(基地)
S3	新疆塔城托里县
S4	新疆塔城额敏县
S5	新疆昌吉奇台县
S6	新疆昌吉木垒县
S7	新疆伊犁霍城县
S8	新疆伊犁巩留县
S9	新疆米东区柏杨河乡
S10	新疆昌吉阜康市
S11	陕西省白水縣
S12	陕西省蒲城县
S13	陕西中医药大学植物园(咸阳市)

2 方法与结果

2.1 样品含量测定

2.1.1 供试品溶液的制备 取 13 批不同产地的红花样品各 0.5 g,加水 50 mL,超声处理 40 min,混匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得^[16]。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称取 1.2 项下各对照品适量,加体积分数为 25% 的甲醇制成 3 种成分质量浓度分别为 12.75, 249.14, 57.20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 采用 BEH C_{18} 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm)。以乙腈(A)-5 mL $\cdot$ L⁻¹ 甲酸(B)为流动相,梯度洗脱(0~5 min, 2% A~8% A; 5~15 min, 8% A~20% A; 15~22 min, 20% A; 22~27 min, 2% A)。流速为 0.1 mL $\cdot$ min⁻¹;检测波长为 275 nm;柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。取 2.1.1 项下制备的供试品溶液及 2.1.2 项下制备的混合对照品溶液各 10 μL ,进样^[17-18]。色谱图见图 1。

2.2 方法学考察

2.2.1 线性关系考察 取各成分对照品适量,加体积分数为 25% 的甲醇配制成 6 份系列混合对照品溶液,按照 2.1.3 项下色谱条件分别进样 10 μL ,以质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y),进行线性回归,3 种成分的回归方程分别为 $y_1 = 3 \times 10^7 x_1 - 29\,285 (r_1^2 = 0.999\,7)$, $y_2 = 3 \times 10^6 x_2 - 94\,044 (r_2^2 = 0.999\,8)$, $y_3 = 2 \times 10^7 x_3 + 4\,354 (r_3^2 = 0.999\,6)$,分别在 3.375 ~ 108.000、9.760 ~ 312.400、2.540 ~ 81.500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系。

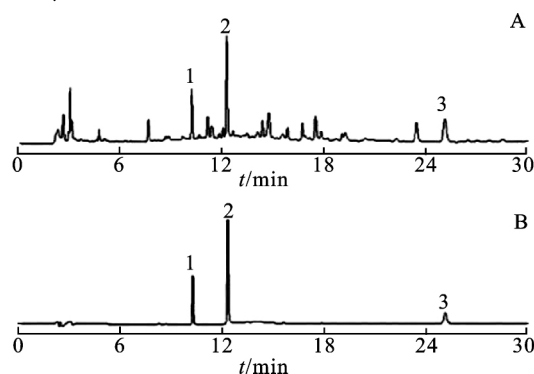


图 1 UPLC 图

A. 供试品溶液;B. 混合对照品溶液;1. 6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷;2. 羟基红花黄色素 A;3. 脱水红花黄色素 B。

Fig. 1 UPLC chromatograms

A. sample solution;B. mixed reference substance solution;1. 6-hydroxy kaempferol-3, 6, 7-tri-O-glucoside; 2. hydroxy safflower yellow A;3. dehydrated safflower yellow B.

2.2.2 精密度实验 精密吸取 2.1.2 项下制备的混合对照品溶液 10 μL ,按照 2.1.3 项下色谱条件连续

进样 6 次,结果 3 种成分峰面积的 RSD 值分别为 0.7%、0.8%、0.6%,均小于 3.0%,表明仪器精密度良好。

2.2.3 重复性实验 按照 2.1.1 项下方法制备 6 份供试品溶液,按照 2.1.3 项下色谱条件进样测定。计算 3 种成分的含量,结果各成分含量的 RSD 值依次为 0.3%、0.9%、1.5%,均小于 5.0%,表明该方法重复性良好。

2.2.4 回收率实验 精密称取已知含量的红花样品 6 份,按照 2.1.1 项下方法制备供试品溶液。按照 2.1.3 项下色谱条件进样,计算得到 3 个成分的平均回收率分别为 100.34%、98.96%、96.47%,RSD 值依次为 0.74%、0.91%、1.23%,各成分回收率均在 95%~105% 范围内^[17]。

2.3 数据分析 采用 Origin 8.0 软件对数据进行分析处理。采用 SIMCA 14.1 软件进行主成分分析,采用 SPSS 19.0 软件进行聚类分析。

2.4 结果与分析

2.4.1 不同产地红花的含量分析 结果见表 2。由表 2 可知,S1~S10 为新疆产地红花样品,S11~S13 为陕西地区红花样品。采用 Origin 8.0 软件对陕西和新疆地区红花中的 3 种成分的含量进行 *t* 检验,结果发现,不同地区红花中 3 种成分的含量差异均有统计学意义(*P* 值均 <0.05)。其中陕西省白水及蒲城县的红花中 6-羟基山柰酚-3,6,7-三-*O*-葡萄糖苷的含量最高,新疆昌吉奇台县的红花中羟基红花黄色素 A 的含量最高,新疆米东区八家户村的红花中脱水红花黄色素 B 的含量最高。

2.4.2 不同产地红花主成分分析 在对 13 批不同地区红花样品中 3 种黄酮类成分初步分析的基础上,采用统计学软件 SIMCA 14.1 进行主成分分析,进一步分析 2 个地区各成分的异同,结果显示,新疆地区的红花在第 2 象限和第 3 象限,陕西地区的红花集中在第 1 象限和第 4 象限,产地能够被较好地区分。总体来说,新疆各地区的红花质量较为相近,与陕西地区的红花有一定差异,这与上述对各成分的差异性分析结果一致。由主成分分析可知,主成分得分从高到低为:S2>S12>S11>S1>S5>S10>S4>S7>S8>S9>S3>S6>S13,表明新疆米东区八家户村和陕西省蒲城县的红花质量较好^[19-20]。

通过分析主成分荷载信息可知,第 1 主成分解释了总体信息的 69.4%,荷载量因子有羟基红花黄色素 A 和脱水红花黄色素 B,第 2 主成分解释了总体信息的 22.9%,荷载量因子为 6-羟基山柰酚-3,6,7-三-*O*-葡萄糖苷。说明羟基红花黄色素 A 和脱水红花黄

色素 B 对红花产地的区分有较大的影响。

表 2 不同产地红花中 3 个成分的含量 ($n=3$)

Tab. 2 The content of 3 components in safflower from different habitats ($n=3$)

编号	含量/%		
	6-羟基山柰酚-3,6,7-三- <i>O</i> -葡萄糖苷	羟基红花黄色素 A	脱水红花黄色素 B
S1	0.18	1.80	0.97
S2	0.17	1.91	1.10
S3	0.14	1.69	0.78
S4	0.14	1.81	0.92
S5	0.14	1.93	1.00
S6	0.13	1.70	0.85
S7	0.15	1.74	0.86
S8	0.15	1.73	0.89
S9	0.15	1.71	0.83
S10	0.15	1.80	0.91
S11	0.21	1.66	0.48
S12	0.21	1.70	0.50
S13	0.18	1.39	0.71

2.4.3 不同产地红花聚类分析 根据主成分分析可知,3 种成分的含量可以在一定程度上反映红花的质量,本文采用 SPSS 19.0 统计软件中的系统聚类分析程序对 13 批红花样品进行聚类分析。在方法上采用欧氏距离测量,每两样本间用 Average linkage 法连接^[21-22]。结果见图 2。

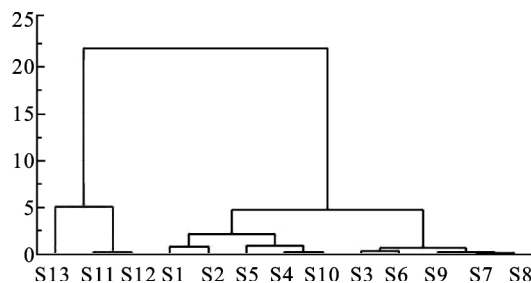


图 2 不同产地红花的聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of safflower from different habitats

由图 2 可知,13 批红花样品最终可聚成 2 大类:其中样品 S1~S10 相似性较高聚为一类,该类样品产地均为新疆地区;样品 S11~S13 相似性较高聚为另一类,该类样品产地均为陕西地区。说明陕西地区与新疆地区的红花可以被明显区分,由此推测陕西地区与新疆地区红花的品质确实存在一定差异,3 种成分所建立的聚类分析可用于不同地区红花的快速判断。

3 讨论

本文建立的主成分分析与聚类分析结果基本一致,说明二者结合能对新疆与陕西地区的红花进行很好地区分。主成分分析中贡献率较大的羟基红花黄色素 A 和脱水红花黄色素 B 也是文献报道的具有良好的扩张冠状动脉、抗氧化、保护心肌、降血压、免疫抑制和脑保护等活性的红花药效成分^[23-25]。红花中 3 种黄酮类成分均可反映不同产地红花的内在质量,为不同产地红花的质量评价提供了参考。

红花是一种优良的经济作物,在药用、食用和染色等方面具有很高的经济价值。我国红花产区主要集中在新疆,其次为四川、云南、河南、河北、山东、浙江和江苏等省^[26],近年来红花的开发利用逐渐增多,种植红花对部分地区农民的脱贫和地方财政增收具有较大作用,还可促进乡镇企业及地方加工业的发展,成为特色的支柱产业。陕西邻近红花主产区,属于干旱地区,适宜抗寒、耐旱和耐盐碱的红花生长。虽然陕西红花与新疆红花的品质存在一定差异,但仍可在部分贫困地区推广种植,推动陕西的经济发展。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典:2020 年版:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:157.
- [2] 易善勇,官丽莉,杨晶,等. 红花药理作用及其开发与应用研究进展[J]. 北方园艺,2015,(5):191-195.
- [3] 余勋章,唐春仕,王才安. 红花黄色素注射液治疗冠心病的效果及对内皮素-1 影响研究[J]. 中国社区医师,2018,34(21):110,112.
- [4] 房希增,陈民. 基于数据挖掘的中医治疗冠心病用药规律研究[J]. 中国社区医师,2018,34(15):12-13.
- [5] 李志立,杨冰,翟艳敏,等. 基于分子对接技术虚拟筛选红花中抗心肌缺血活性组分[J]. 中国中药杂志,2020,45(12):2881-2890.
- [6] 韩盟帝,马飞祥,汪亚楠,等. 基于网络药理学探讨红花活性成分及药理作用机制[J]. 内蒙古医科大学学报,2019,41(2):126-130.
- [7] 杨蓉,赵焕新,季新燕,等. 羟基红花黄色素 A 通过激活 Kv 通道舒张大鼠冠状动脉[J]. 中国病理生理杂志,2020,36(3):439-443.
- [8] 刘飞,邓云,段春寒. 中药红花抗脑缺血损伤作用机制的研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育,2018,16(1):151-154.
- [9] 扈晓佳,殷莎,袁婷婷,等. 红花的化学成分及其药理活性研究进展[J]. 药学实践杂志,2013,31(3):161-168,197.
- [10] 徐山. 新疆不同产地红花中羟基红花黄色素 A 的含量

测定[J]. 内蒙古中医药,2019,38(1):99,128.

- [11] 吴晶,周萍,杨怀镜. 云南不同产地红花挥发性成分气相指纹图谱研究[J]. 食品研究与开发,2020,41(6):43-47.
- [12] 林寒,李刚,刘虹,等. 中国红花种质资源的种类与分布[J]. 生物资源,2018,40(4):314-320.
- [13] 梁慧珍,董薇,余永亮,等. 国内外红花种质资源研究进展[J]. 安徽农业科学,2015,43(16):71-74.
- [14] 赵钢,王安虎. 红花的资源与药用价值[J]. 中国野生植物资源,2004,23(3):24-25.
- [15] 仇宽彪,成军锋. 陕西省植被水分利用效率及与气候因素的关系[J]. 水土保持研究,2015,22(6):256-260.
- [16] 孙燕雯,何昱,刘文洪,等. 红花水提物中羟基红花黄色素 A 和脱水红花黄色素 B 在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中华中医药杂志,2015,30(12):4287-4291.
- [17] 黄壮壮,孙宇宏,许刚,等. 基于 UPLC 同时测定 3 种成分法评价新疆主产区红花的品质[J]. 中药材,2018,41(9):2150-2152.
- [18] 罗春霞,王瑾,祁艳茹,等. 基于超高效液相色谱-质谱红花药材指纹图谱的建立[J]. 分析测试技术与仪器,2019,25(3):152-159.
- [19] 张娟,卿德刚,孙宇,等. 化学计量学辅助分析罗布麻中的黄酮类成分[J]. 西北药学杂志,2020,35(2):173-177.
- [20] 何如海,陆雅雯,周颖,等. 基于主成分-聚类分析法的淮河生态经济带土地生态安全评价研究[J]. 山东农业大学学报:社会科学版,2019,21(4):39-47.
- [21] 洪挺,张昆艳,许妍,等. 清热解毒颗粒的 HPLC 指纹图谱建立及聚类分析[J]. 中国现代应用药学,2019,36(24):3056-3060.
- [22] 张天鹏,刘铁林,高萍. 基于聚类分析和证据推理的装备体系能力评估与分析[J]. 军事运筹与系统工程,2019,33(4):51-58.
- [23] Kong Dezhao, Xia Wei, Zhang Zhe, et al. Safflower yellow injection combined with conventional therapy in treating unstable angina pectoris: a Meta-analysis[J]. J Tradit Chin Med,2013,33(5):553-561.
- [24] 王若菁,杨滨. 红花的化学成分及质量标准研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(5):65-69.
- [25] Harrelkas F, Azizi A, Yaaeoubi A, et al. Treatment of textile dye effluents using coagulation-flocculation coupled with membrane processes or adsorption on powdered activated carbon[J]. Desalination, 2009, 235: 330-339.
- [26] 梁慧珍,董薇,余永亮,等. 国内外红花种质资源研究进展[J]. 安徽农业科学,2015,43(16):71-74.

(收稿日期:2020-09-18)