

中国芍药组数量化理论Ⅲ

化学分类研究 I

丛晓东* 韩可勤 李广银

金昌东

(中国药科大学 南京 210009)

(黑龙江中医学院 哈尔滨 150000)

提 要 应用数量化理论Ⅲ原理和方法分析了13个芍药分类群与6种商品芍药的特征性成分的HPLC图谱的相似性,用三维图形表达各种间、种内的空间位置,根据空间距离大小,比较它们的相似程度。结果与经典分类的分类群间断有一定的相似和不同。

关键词 芍药属,高效液相色谱,数量化理论Ⅲ,数量化学分类,三维图,定性变量,定量变量,芍药甙。

常用中药赤芍和白芍均来自芍药属,芍药属全世界33种,中国11种。其主要活性成分芍药甙是一类很特殊的成分,仅存在芍药属植物中,为该属的特征性成分,具有一定的分类意义。

本文首次依据特征性成分的HPLC图谱定性、定量数据,使其与数量化理论Ⅲ^[1]相结合,讨论在芍药分类方面的应用。该方法是基于相关性最大原则,即对每个变量赋予适当的数值 $y_j(j=1,2,3,\dots,m)$,称为 j 个变量的得分。对每个样品赋予适当的数值 $y_i(i=1,2,3,\dots,n)$,称之为样品得分。特征相近的变量得分应当相近,得分越相近,样品特征越相近。该方法的优点是在分类研究过程中同时兼顾定性、定量的资料。

1 材料与方法

1.1 取材

于1988、1989年芍药的花期时间内,分别对黑、吉、辽、鲁、浙、皖、蜀、滇、新疆、内蒙等10个省区的芍药属植物进行了采集,分类鉴定,取药用部位,供实验用。如表1所示。

1.2 实验方法

1.2.1 HPLC 条件 高效液相色谱仪:岛津6A;柱:YWG-CN, $10\mu\text{m}$, $3.9\times 250\text{mm}$;流动相:MeCN-(MeCOOH-MeCOONa-H₂O, pH3.2)-CHCl₃(10:90:1, v/v/v);流速:1ml/min;室温;检测:UV231nm;标准品:羟基芍药甙(oxy-paeoniflorin I)、芍药甙内酯(albiflorin II)、芍药甙(paeoniflorin III)及苯甲酸(IV)。样品测定按文献[2]进行。得各样品HPLC图谱(图1)。定性、定量数据见表2。

1.2.2 资料处理 由HPLC图谱可知样品成分保留时间,峰面积或I—IV成分的百分

本文于1993年6月11日收到,同年9月17日收到修改稿

*通讯地址:中国药科大学生药学教研室,南京 210009。

表1 实验材料

Table 1 Materials for test

编号 No.	植物 Plants	产地 Habitat	标本号 No. of Specimen
1	芍药 <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	黑龙江 Mishan, Heilongjiang	870716
2	毛果芍药 <i>P. lactiflora</i> var. <i>trichocarpa</i> Stern	安徽 Bozhou, Anhui	880915
3	川赤芍 <i>P. veitchii</i> Lynch	四川 Songpan, Sichuan	880514
4	毛赤芍 <i>P. veitchii</i> var. <i>woodwardii</i> Stern	四川 Wolong, Sichuan	870712
5	美丽芍药 <i>P. mairei</i> Lével.	四川 Maowen, Sichuan	880509
6	新疆芍药 <i>P. sinjiangensis</i> K. Y. Pan	新疆 Tacheng, Xinjiang	880603-10
7	待定名 <i>P. sp.</i>	(待发表)	金昌东 880603
8	窄叶芍药 <i>P. anomala</i> L.	新疆 Tacheng, Xinjiang	880603-20
9	块根芍药 <i>P. anomala</i> var. <i>intermedia</i> (C. A. Meyer) O. et B. Fedtsch.	新疆 Tacheng, Xinjiang	880603-30
10	草芍药 <i>P. obovata</i> Maxim.	吉林 Zuoja, Jilin	870526
11	毛叶草芍药 <i>P. obovata</i> var. <i>willmottiae</i> Stern	四川 Maowen, Sichuan	870701
12	日本芍药 <i>P. japonica</i> Miyabe et Takeda	黑龙江 Heilongjiang	870816
13	黄牡丹 <i>P. delavayi</i> var. <i>lutea</i> (Franch.) Finet	云南 Dali, Yunnan	870819

表2 各样品中药药甙类成分的HPLC 定性定量数据

Table 2 Data of peony glycosides in samples by HPLC

峰保留时间(min)										
Retetion time	4.2	5.5	5.9	9.1	13.2	16.1	5.0	7.0	7.8	12.2
of peaks										
变量 X_i Variable X_i	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}
1	1	1	1	1	1	1	0.56	0.27	7.55	0.18
2	0	1	1	0	0	0	0.40	2.50	6.45	0.17
3	0	1	1	0	1	1	0.13	0.25	5.21	0.14
4	1	0	1	0	1	1	0.76	0.54	3.38	0.04
5	1	1	0	0	0	1	0.29	0.21	1.40	0.25
6	0	1	0	0	1	1	0.09	0.06	2.95	0.27
7	0	1	1	1	1	1	0.36	0.06	4.36	0.22
8	1	1	0	0	1	0	0.07	0.46	2.62	0.25
9	0	0	1	0	1	1	0.31	0.19	2.21	0.42
10	0	1	1	1	0	1	0.02	0.43	1.47	0.19
11	0	1	1	0	0	1	0.71	0.19	3.82	0.13
12	1	1	1	0	0	1	0.05	0.89	1.11	0.24
13	1	1	0	0	1	1	1.42	0.27	1.82	0.15
14	1	1	1	1	1	1	1.22	0.26	6.28	0.07
15	1	1	1	1	1	1	0.64	0.02	5.45	0.16
16	0	1	1	0	1	1	0.35	0.11	4.13	0.15
17	1	1	0	0	0	1	0.03	0.54	0.76	0.26
18	0	1	1	0	1	1	0.69	0.35	3.50	0.14
19	1	1	1	1	1	1	0.28	0.27	5.28	0.08

* 1—19 为编号;“1”表示有峰;“0”表示未检出或无峰; X_7 — X_{10} 分别为: I—IV 的百分含量
1—19 are the compiled numbers of samples; “1” shows there is a peak at some variable X_i ; “0” indicates there is no peak detected at some variable X_i ; X_7 — X_{10} expresses the content(%) of I—IV separately

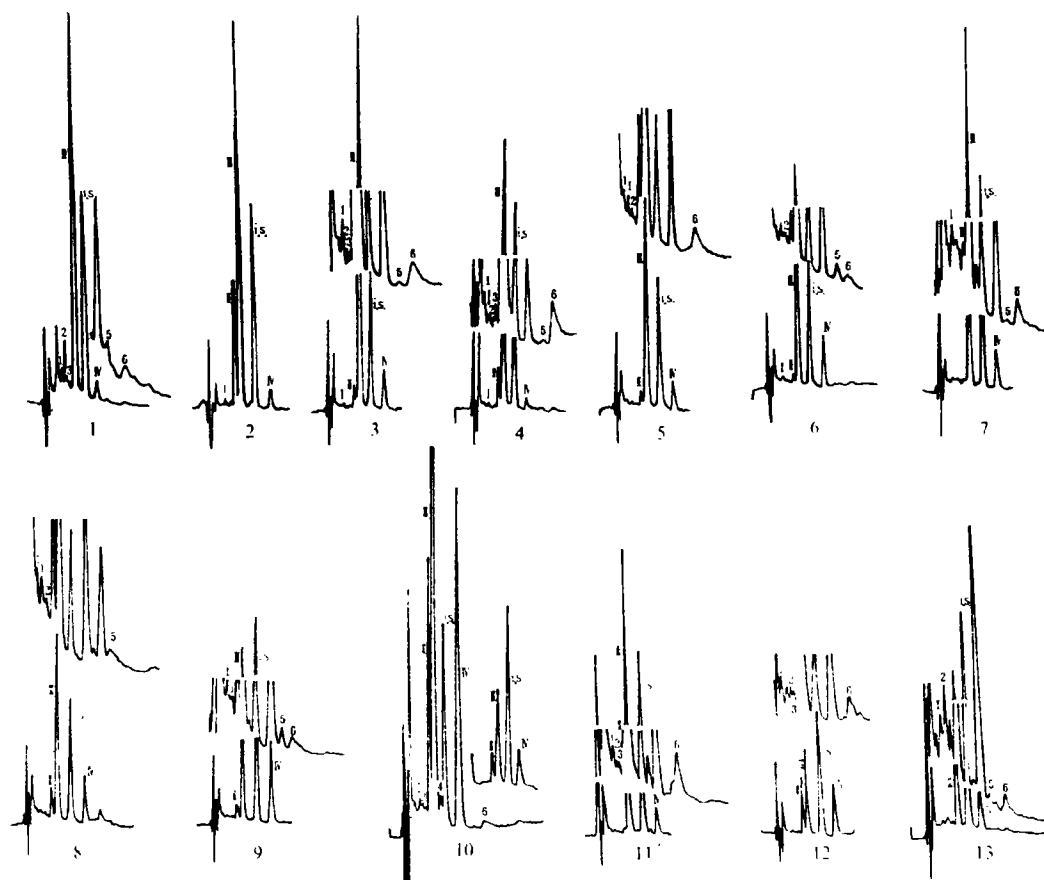


图1 样品芍药甙类成分 HPLC 图谱(1—13 样品编号同表1)

Fig. 1 Plots of peony glycosides in samples by HPLC

(1) *P. lactiflora* (870716, Heilongjiang); (2) *P. lactiflora* var. *trichocarpa* (880915, Anhui); (3) *P. veitchii* (880514, Sichuan); (4) *P. veitchii* var. *woodwardii* (870712, Sichuan); (5) *P. mairei* (880509, Sichuan); (6) *P. sinjiangensis* (880603-10, Xinjiang); (7) *P. sp.* (880603, Xinjiang); (8) *P. anomala* (880603-20, Xinjiang); (9) *P. anomala* var. *intermedia* (880603-30, Xinjiang); (10) *P. obovata* (870526, Jilin); (11) *P. obovata* var. *willmottiae* (870701); (12) *P. japonica* (870816, Heilongjiang); (13) *P. delavayi* var. *lutea* (870819, Yunnan)

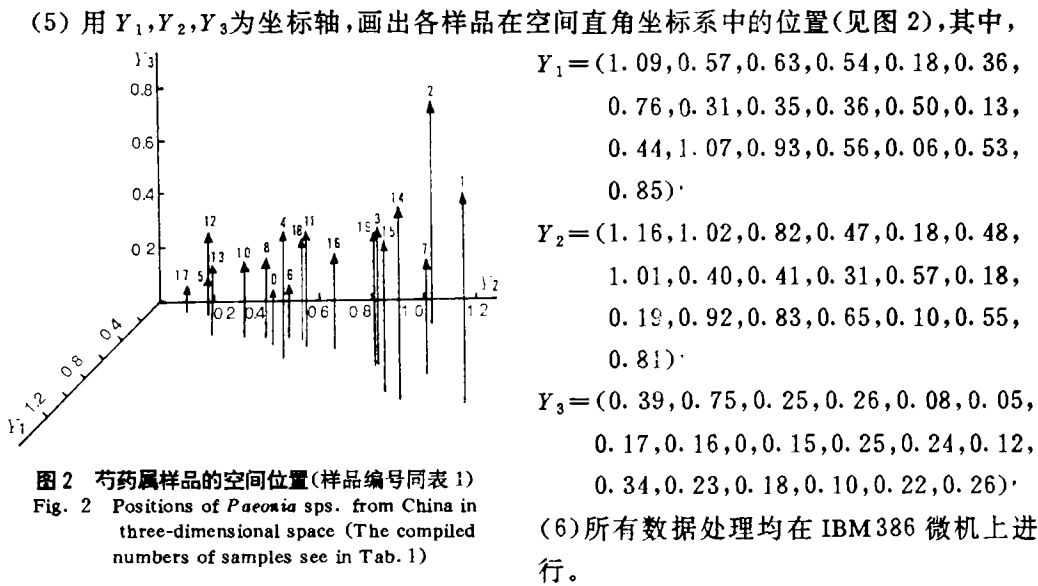
含量。根据峰面积的有无予以赋值,无峰为0;有峰为1(表2),其步骤如下:

(1)用 Z 表示原始数据矩阵。为了消除量纲的影响,首先对各定量变量的数据标准化,即均值为0,方差为1。样品数 $n=19$,变量个数 $m=10$,其中包括6个定性变量与4个定量变量。

(2)用向量 $B=(b_1, b_2, b_3, \dots, b_{10})$ 表示变量得分。

(3)样品的得分为 $Y = \frac{1}{m} ZB$ (1)

(4)取最大的3个特征值所对应的特征向量记为 B_1, B_2, B_3 ,根据公式(1)分别求得样品的3个得分 $Y_1(\dots)$ 。



2 结果与讨论

为了方便比较, 根据上述 Y_1, Y_2, Y_3 的坐标, 求出各样品在空间直角坐标系中的距离, 请见表 3。

表 3 各样品之间的空间距离
Table 3 The space-distances among samples

样品编号 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	0																		
2	0.58																		
3	0.59	0.54																	
4	0.89	0.74	0.36																
5	1.37	1.14	0.80	0.50															
6	1.05	0.91	0.48	0.28	0.35														
7	0.42	0.61	0.24	0.59	1.02	0.67													
8	1.11	0.89	0.50	0.26	0.27	0.14	0.76												
9	1.23	0.99	0.56	0.33	0.30	0.09	0.75	0.17											
10	1.15	0.95	0.59	0.26	0.23	0.20	0.81	0.10	0.18										
11	0.85	0.68	0.28	0.11	0.53	0.26	0.52	0.27	0.33	0.31									
12	1.38	1.08	0.81	0.50	0.17	0.42	1.04	0.30	0.40	0.28	0.54								
13	1.20	1.05	0.87	0.33	0.26	0.31	0.88	0.25	0.27	0.15	0.41	0.33							
14	0.25	0.65	0.46	0.70	1.21	0.88	0.36	0.94	0.95	0.96	0.67	1.20	0.99						
15	0.40	0.66	0.30	0.53	1.00	0.69	0.25	0.76	0.75	0.53	0.50	1.03	0.81	0.20					
16	0.76	0.68	0.20	0.20	0.61	0.29	0.41	0.35	0.36	0.40	0.12	0.64	0.48	0.60	0.41				
17	1.51	1.24	0.93	0.63	0.15	0.49	1.15	0.40	0.44	0.40	0.56	0.18	0.39	1.32	1.14	0.75			
18	0.85	0.71	0.29	0.09	0.53	0.25	0.52	0.27	0.32	0.30	0.05	0.55	0.19	0.82	0.49	0.11	0.66		
19	0.44	0.60	0.22	0.46	0.94	0.83	0.24	0.69	0.69	0.71	0.42	0.96	0.76	0.14	0.09	0.34	1.07	0.41	

* 1—13 样品名称同表 1, 14—19 样品名称同表 4
1—19 are the compiled numbers of samples where 1—13 see Table 1 and 14—19 see Table 4

2.1 未知药材的鉴定

根据特征相近的变量得分应相近原则, 由表 3 各样品的空间距离远近, 求知商品药材

来源(见表 4)。

2.2 种间差异

由表 3 可知新疆芍药与块根芍药空间距离最小,即 6 号与 9 号的距离(0.09);其次是窄叶芍药与草芍药,即 8 号与 10 号距离(0.10);第三是毛赤芍与毛叶草芍药,即 4 号与 11 号距离(0.11);反之,芍药与日本芍药空间距离最大,即 1 号与 12 号距离(1.38);其次是芍药与块根芍药,1 号与 9 号距离(1.23)。

2.3 种内差异

种与其变种间的空间距离由大到小的顺序为芍药与其变种毛果芍药(1 号与 2 号距离为 0.65);川赤芍与其变种毛赤芍(3 号与 4 号的距离为 0.36);草芍药与其变种毛叶草芍药(10 号与 11 号的距离为 0.31);窄叶芍药与块根芍药(8 号与 9 号的距离为 0.17)。

2.4 种间与种内差异比较

各种间空间距离为 0.09—1.23,平均距离为 0.57 ± 0.33 ;而种距离是 0.17—0.65,平均距离是 0.37 ± 0.20 。该结果表明经典分类的分类群间断不均匀,如种间最小距离大于种内平均距离,但从平均值来看与经典分类一致,即种间距离大于种内距离。本文之后将进一步用该理论比较经典分类与化学分类以及两者加权的空间距离,来说明分类群间断的程度。

表 4 商品药材的鉴定

Table 4 Identification of commercial peony drugs

编号 No.	商品来源 Market	鉴定结果 Results of identification
14	黑龙江 Heilong Jiang	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.
15	吉林 Jilin	<i>P. lactiflora</i> Pall.
16	四川 Sichuan	<i>P. veitchii</i> Lynch 或 <i>P. veitchii</i> var. <i>woodwardii</i> Stern
17	四川 Sichuan	<i>P. veitchii</i> Lynch.
18	云南 Yunnan	<i>P. veitchii</i> var. <i>woodwardii</i> Stern
19	山东 Shandong	<i>P. lactiflora</i> Pall.

* 14—19 编号同表 2
The compiled numbers of 14—19
are the same as these in Table 2

2.5 关于黄牡丹与芍药组各种的关系

在经典分类上,芍药属分为木本的牡丹组 Sect. *Moutan* 与草本的芍药组 Sect. *Paeonia*。而在化学分类上,牡丹组和芍药组也是两个自然类群^[3]。因为牡丹组含丹皮酚、丹皮酚甙、丹皮酚原甙及丹皮酚新甙,而芍药组一般不含有,仅个别种含有微量的丹皮酚原甙。当然两组在化学上的联系也非常密切。如两组均含有芍药甙、羟基芍药甙及苯甲酰芍药甙。从表 3 看出牡丹组中黄牡丹与芍药组各种的亲缘关系依次

是:草芍药(0.15),窄叶芍药(0.25),块根芍药(0.27),...,芍药(1.20)。因此,初步推知黄牡丹与芍药组中草芍药亲缘关系最为密切。

2.6 关于未知种

该种(7 号)与川赤芍(3 号)的距离最小(0.24),与新疆芍药(6 号)的距离为 0.67。未知种与川赤芍在化学成分方面颇为类似,形态学方面也是如此,根据种间平均距离可定为川赤芍的变种,但从地理分布角度,又与新疆芍药类似,距离也大于种间平均距离,因而又可以独立成一新种,全文待发表。

总之,本文首次借助于 HPLC 技术,把芍药组 13 个分类群中特征性成分展开成包含定性、定量信息的指纹图,再利用数量化理论Ⅲ,把该指纹图中的大多数信息变成空间直角坐标系中的空间坐标,然后根据坐标与坐标之间的距离,比较 13 个分类群之间的关系,鉴别未知药材的植物来源,确定未知植物的分类等级和已知植物的关系。这是一种新技术与新理论相结合的新方法,它对种群的空间表达比平面表达更为直观,可推广到各种群间的关系表达。

致谢 承蒙中国科学院武汉植物研究所郑重教授,武汉大学陈家宽教授审阅本文;中国药科大学周荣汉教授和杨永康副教授对本文提出宝贵意见;刘鸣远教授惠赠 *Paeonia japonica* Miyabe et Takeda 标本及标准药材,单玉山、孙有略、陈焕亮、姜大成、周凤琴、蒲旭峰、罗国海、岳武、王敬才等同志协助采集部分标本;胡永夷为本文图谱复墨。在此一并敬致谢忱。

参 考 文 献

- 1 董文泉,周光亚,夏立显. 数量化理论及其应用. 长春:吉林人民出版社,1979. 108—128
- 2 金昌东,徐国钧,金蓉鸾等. 反相 HPLC 法测定 13 种芍药根中甙类和苯甲酸的含量. 中国药科大学学报,1989,20(3):139—142
- 3 于津,肖培根. 芍药科化学和系统学的初步研究. 植物分类学报,1987,25(3):172—179

NUMERICAL QUANTIFICATION AND CHEMOTAXONOMICAL STUDY ON *PAEONIA* PLANTS IN CHINA

Cong Xiaodong Han Keqin Li Guangyin

(China Pharmaceutical University Nanjing 210009)

Jin Changdong

(Heilongjiang, Traditional Chinese Medical College Haerbin 150000)

Abstract Characteristic glycoside constituents were extracted from peony roots of 13 taxa and 6 commercial drugs, and their constituent HPLC-plots were obtained by HPLC with a 3.9×250 mm column of YWG-CN, the solvent system of MeCN-[(MeCOOH-MeCOONa-H₂O, pH3.2)]-CHCl₃ (10:90:1, v/v/v), and the internal standard of aspirin. The similarity of peony glycoside HPLC-plots among the samples was calculated by a computer according to the principle and methods of the quantification theory Ⅲ.

The positions among the samples were expressed by the space coordinate. The similarity comparison was made among them and between different species and their varieties in their space distances obtained by the quantification theory Ⅲ.

The method was used to not only identify unknown-commercial drugs or unknown plants but also compare the similarity among plants clearly.

Key words *Paeonia*, HPLC, Quantification theory Ⅲ, Chemotaxonomy, Three-dimension plot, Qualitative variable, Quantitative variable, Glycosides