

# 基于多元统计分析的车前子药材质量等级研究

丁若雯<sup>1,2,3</sup>, 魏惠珍<sup>1,2</sup>, 吕尚<sup>1,2</sup>, 宋细忠<sup>4</sup>, 漆俊芬<sup>4</sup>, 金浩鑫<sup>2</sup>, 曹艳霞<sup>2</sup>, 饶毅<sup>1,2\*</sup> (1.江西中医药大学, 南昌 330000; 2.中药制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006; 3.江西省药品检查员中心, 南昌 330029; 4.江西青春康源中药饮片有限公司, 江西 新余 338000)

**摘要:**目的 以市场收集的48批车前子药材为研究对象,构建外观性状与内在质量相关联的车前子的质量等级评价手段。方法 建立了车前子中京尼平苷酸、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的含量测定方法并完成48批次的测定,同时对48批车前子药材进行了千粒重、长度、宽度、膨胀度、水分、总灰分、酸不溶性灰分的检测;运用主成分分析、偏最小二乘法分析、相关性分析、方差分析等多种数理统计手段,筛选分级指标进行车前子等级划分研究。结果 经筛选认为千粒重、膨胀度、京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量为车前子品质评价的关键指标,且外在指标(千粒重、膨胀度)与内在质量(京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量)在0.01水平上呈显著性正相关,结合市场实际情况,制定了车前子一等、二等、统货的质量等级标准。结论 该质量等级不仅从外观特性上对车前子进行了等级评价,同时也在其内在质量差异上进行了表征,满足了历代对于车前子“饱满者为佳”的判断规律,也为行业标准或国家标准的建立提供依据。

**关键词:** 车前子; 外观性状; 内在质量; 质量等级

中图分类号: R917; R282.5

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2021)06-0673-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.06.007

引用本文: 丁若雯, 魏惠珍, 吕尚, 等. 基于多元统计分析的车前子药材质量等级研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(6): 673-679.

## Study on Quality Grade of Plantaginis Semen Based on Multivariate Statistical Analysis

DING Ruowen<sup>1,2,3</sup>, WEI Huizhen<sup>1,2</sup>, LYU Shang<sup>1,2</sup>, SONG Xizhong<sup>4</sup>, QI Junfen<sup>4</sup>, JIN Haoxin<sup>2</sup>, CAO Yanxia<sup>2</sup>, RAO Yi<sup>1,2\*</sup> (1.Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330000, China; 2.National Pharmaceutical Engineering Center for Preparation of Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 3.Jiangxi Drug Inspector Center, Nanchang 330029, China; 4.Jiangxi Qingchun Kangyuan Herbal Sliced Medicine Co., Ltd., Xinyu 338000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To construct a quality grade evaluation method of plantain seed based on 48 batches of Plantaginis Semen collected from the market. **METHODS** Determination method of the contents of geniposidic acid, acteoside and isoacteoside in Plantaginis Semen was established and 48 batches herbs were determined. At the same time, 1000-grain weight, length, width, swelling degree, water content, total ash content and acid insoluble ash content of 48 batches of Plantaginis Semen herbs were tested. The principal component analysis, partial least square analysis, correlation analysis, variance analysis and other mathematical statistical methods were used to select the classification index for the study of Plantaginis Semen classification. **RESULTS** The 1000-grain weight, swelling degree, geniposidic acid content, total contents of acteoside and isoacteoside were the key indicators of the quality evaluation of Plantaginis Semen, moreover, external index (1000-grain weight, swelling degree) and inner quality(geniposidic acid content, total contents of acteoside and isoacteoside) at the 0.01 level showed significant positive correlation, in combination with the practical situation of the market, the Plantaginis Semen quality grade standard of first class, second class and uniform goods were developed. **CONCLUSION** This quality grade not only evaluates Plantaginis Semen in terms of appearance characteristics, but also characterizes its internal quality difference, which satisfies the judgment rule of “plump seed is the best” and provides basis for the establishment of industry standard or national standard.

**KEYWORDS:** Plantaginis Semen; appearance character; inner quality; quality grade

中药材是中药饮片和中成药的原料,其质量的优劣直接影响着临床用药的安全有效性,而中药材商品规格等级则是其质量优劣的标志。自古

以来中药材都是“看货评级,分档议价”,这是随着历史发展,在中药市场流通中不断演变形成的方法和规律,具有简易、快捷的优点,同时能够

基金项目: 国家中药标准化项目(ZYY-2017-075)

作者简介: 丁若雯,女,硕士生 Tel: (0791)87119625  
(0791)87119625 E-mail: raoyi99@126.com

E-mail: dingdingruo@sina.com \*通信作者: 饶毅,男,博士,教授 Tel:

体现中药外观性状与品质价值的联系。但这种传统方法多以主观评价为主,需要依靠丰富的经验,且经过时间的变迁,该传统方法也难以继承<sup>[1]</sup>。所以为了切实解决等级标准稀缺、老化滞后等问题,不少研究者对中药材商品规格等级与化学评价进行了研究,制定中药材商品规格等级标准,分析其等级间质量差异、外观性状与其内在指标成分含量的相互关系,在五倍子<sup>[2]</sup>、厚朴<sup>[3]</sup>、决明子<sup>[4]</sup>中已有报道。

车前子为车前科植物车前 *Plantago asiatica* L.或平车前 *Plantago depressa* Willd.的干燥成熟种子<sup>[5]</sup>,可用于小便不利<sup>[6]</sup>、目赤肿痛<sup>[7]</sup>、咳嗽痰多<sup>[8]</sup>、结肠炎<sup>[9]</sup>、高血压<sup>[10]</sup>等病症的治疗。车前子一直以来是以“粒大饱满者为佳”,但缺少准确、统一的度量标准,非专业人士难以判定。《中药材商品规格等级汇编》<sup>[11]</sup>中利用长宽差异将车前子分为大粒车前子和小粒车前子,能够直观地反映车前子的商品等级,具有很强的应用价值,但未涉及车前子的化学评价。沈立<sup>[12]</sup>构建了基于中药质量常数方法的车前子等级,是一种新型的评价模式,将外观性状与内在指标一并纳入等级标准,能够客观、准确地划分饮片的等级,但是未体现外观特性与内在质量之间的相关性。本研究以多元数理统计手段综合筛选车前子品质评价的关键指标,结合实际应用情况,构建车前子外在性状与内在质量相关的质量等级标准,为市场上车前子的品质评价提供一定的参考方法。

## 1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司); AB-104N 万分之一天平(瑞士梅特勒-托利多公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); CS101-2EB 电热鼓风干燥箱(重庆万达仪器有限公司); SX2-12-12Z 箱式电阻炉(上海博迅实业有限公司); MG69-25mL 膨胀度测定管(北京中西华大科技有限公司); MNT-150T 游标卡尺(德国美耐特公司); KDW 控温电热套(山东鄞城华鲁仪器公司)。

乙腈(色谱纯, AQA 公司); 甲醇(分析纯)、冰醋酸(分析纯)均购自国药集团化学试剂有限公司; 京尼平苷酸对照品(批号: 111828-201604, 供含量测定用)、毛蕊花糖苷对照品(批号: 111530-201713, 供含量测定用)均由中国食品药品检定研究院提供; 异毛蕊花糖苷对照品(成都普瑞法科技开发有

限公司, 批号: PRF9010243, 供含量测定用)。

样品共收集 48 批车前子药材, 分别来自江西、四川、黑龙江, 其中江西车前子是来自吉安市新干县、樟树市、九江市修水县 3 个主产区 39 批, 四川车前子 6 批, 黑龙江车前子 3 批。

## 2 方法

### 2.1 车前子指标成分含量测定

本研究在中国药典 2015 年版车前子京尼平苷酸、毛蕊花糖苷的含量测定基础上, 增加一个指标成分——异毛蕊花糖苷, 进行 3 个指标成分的共同测定。

**2.1.1 色谱条件** 以 WELCH ODS XB-C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 为色谱柱, 甲醇(A)-0.5% 醋酸水溶液(B)为流动相, 梯度洗脱(0~1 min, 5%A; 1~20 min, 5%→20%A; 20~40 min, 20%→55%A); 检测波长为 254 nm; 柱温为 30 °C; 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量为 10 μL。

**2.1.2 供试品溶液制备** 取本品粉碎, 过 2 号筛, 取 1.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 60% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 加热回流 2 h, 放冷, 再称重, 用 60% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.3 对照品溶液制备** 取京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷对照品适量, 精密称定, 置棕色量瓶中, 加 60% 甲醇制成每毫升含 0.1 mg 京尼平苷酸、0.1 mg 毛蕊花糖苷、0.05 mg 异毛蕊花糖苷的混合溶液, 即得。

**2.1.4 方法学验证** 京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷分别在 23.79~761.13 μg·mL<sup>-1</sup>, 22.99~735.68 μg·mL<sup>-1</sup>, 3.40~108.64 μg·mL<sup>-1</sup> 内线性关系良好, 回收率分别为 99.1%, 99.4%, 101.8%, RSD 均 < 5.0%, 通过考察, 该方法仪器精密度、稳定性、重复性良好, 适用于车前子中京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷的含量测定。车前子供试品溶液色谱图见图 1。

### 2.2 检查项测定

对每份样品的水分、总灰分、酸不溶性灰分及膨胀度进行测定。其中, 水分按中国药典 2015 年版四部“0832 水分测定法”项下第二法(烘干法)测定; 总灰分、酸不溶性灰分按中国药典 2015 年版四部“2302 灰分测定法”项下测定; 膨胀度按中国药典 2015 年版四部通则“2101 膨胀度测定法”进行测定。

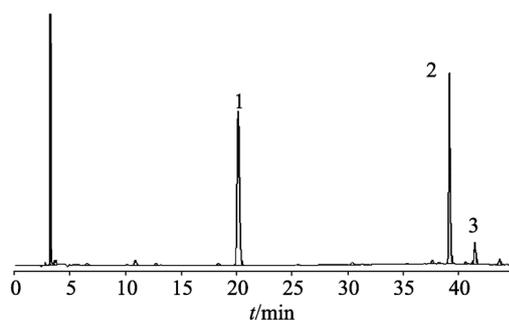


图1 供试品溶液高效液相色谱图  
1-京尼平苷酸; 2-毛蕊花糖苷; 3-异毛蕊花糖苷。

Fig. 1 HPLC chromatograms of sample solution  
1-geniposidic acid; 2-acteoside; 3-isoacteoside.

## 2.3 千粒重、长度、宽度测定

**2.3.1 千粒重的测定** 每一批车前子药材中随机数出 5 份 1 000 粒的车前子, 分别称重, 记录数据, 计算平均值及标准偏差。

**2.3.2 长度和宽度的测量** 随机选取每批样品的 20 粒车前子, 用游标卡尺测定 20 粒车前子的长度和宽度, 计算平均值, 记录数据。

**2.3.3 统计分析** 采用 SPSS 23.0、SIMCA14.1 统计软件进行数据分析, 采用描述统计、主成分分析、偏最小二乘法分析、相关性分析及方差分析筛选分级指标, 用 K-聚类分析获得等级划分的聚类中心值, 制定车前子等级划分的标准。

## 3 结果与分析

### 3.1 车前子外观性状与内在含量的数据结果

48 批车前子千粒重、长度、宽度、水分、总灰分、酸不溶性灰分、膨胀度、京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量结果见表 1。因异毛蕊花糖苷与毛蕊花糖苷为同分异构体, 且据文献报道二者存在转化现象, 为方便聚类, 将其两者的总含量作为评价内在含量的指标之一。

### 3.2 分级指标的筛选

**3.2.1 指标成分数据统计描述** 将得到的 48 批次车前子药材的数据资料进行整理和归纳, 有 8 批车前子药材的总灰分和酸不溶性灰分不合格, 舍去不合格的无效批次, 获得 40 批有效车前子药材, 进行后续研究。40 批车前子药材的统计描述见表 2。变异系数大的指标, 说明在组间的差异较大, 可作为车前子质量分级的依据。根据统计描述可知, 酸不溶性灰分、水分、京尼平苷酸含量、千粒重、毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总量变异系数较大, 可考虑作为分级指标。

**3.2.2 主成分分析** 9 个指标综合评定时, 指标之间通常存在信息不统一或重复等众多因素, 故为达到客观全面的综合评价目的, 引入主成分分析法进行降维, 利用 SPSS 23.0 将千粒重、膨胀度、水分、总灰分、酸不溶性灰分、长度、宽度、京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量进行主成分分析, 结果见表 3。第一主成分的特征根为 3.354, 第二主成分特征根为 1.505, 第三主成分特征根为 1.379, 第一主成分已经能比较全面反映所有样本的信息, 根据特征向量的大小可得到各指标对于主成分贡献的大小。从第一主成分中可以得到千粒重、膨胀度、京尼平苷酸、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总量的特征向量均  $>0.50$ , 故千粒重、膨胀度、京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量可作为划分车前子药材等级的重要参考。

**3.2.3 偏最小二乘法分析** 利用 Simca14.1 对车前子药材的数据进行整体分析, 以期寻找到影响不同产地车前子品质差异的关键指标。按产地划分, 将 40 批车前子分为江西车前子、四川车前子、黑龙江车前子 3 类, 采用偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA), 以 9 个指标为变量, 对其中蕴含的信息进行统计剖析, 结果见图 2。通过偏最小二乘法分析样品可明显分为 3 类, 表明 3 个产地之间的车前子药材存在一定的差异, 而江西和四川产地的车前子更为相近一些, 从一定程度上阐明了黑龙江车前子的特异性和江西车前子的道地性。

图 3 中 VIP 值代表每个指标在区分样品时的贡献程度, 以 VIP 值  $>1$  为原则, 发现京尼平苷酸含量、千粒重、毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量、膨胀度为区分不同品质车前子的主要指标, 可为后续筛选车前子质量等级指标提供依据。

**3.2.4 指标相关性分析** 将京尼平苷酸含量和毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷总含量看作是评价车前子品质优劣的内在质量指标, 制定质量等级需要寻求外观性状与内在质量的相关性, 故利用 SPSS 23.0 将 40 批药材的 9 个指标进行两两相关的皮尔森 (Pearson) 相关性分析, 结果见表 4。表中的数字为两指标间的显著性参数, 数值为正数即正相关, 数值为负数即负相关。由表 4 可得, 千粒重、膨胀度、酸不溶性灰分、总灰分、长度与车前子内在质量 (京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量) 具有显著相关性, 其中千粒重、膨胀

表1 车前子药材指标数据表

Tab. 1 Index data of Plantaginisin Semen

编号	产地	千粒重平均值/ g(n=5)	膨胀度/ mL·g <sup>-1</sup>	水分/%	总灰分/%	酸不溶性 灰分/%	长度/mm	宽度/ mm	京尼平苷酸 含量/%	毛蕊花糖苷与异毛 蕊花糖苷含量/%
XG-SH-1801		0.712	6.2	11.9	5.87	0.95	2.1	1.2	1.23	1.35
XG-SH-1802		0.713	5.4	11.9	5.87	3.44	2.0	1.0	1.10	1.22
XG-SH-1701		0.459	4.2	11.8	7.18	1.04	1.5	1.0	0.51	0.68
XG-SH-1702		0.489	4.1	11.6	7.78	2.15	1.5	0.8	0.50	0.66
XG-SH-1703		0.603	4.4	10.8	5.69	2.61	1.9	0.9	1.13	1.08
XG-SH-1704		0.706	4.6	11.7	5.30	1.61	2.2	1.1	0.75	1.29
XG-SH-1803		0.641	5.1	11.5	5.51	1.09	2.0	1.0	1.00	1.19
XG-SH-1804		0.644	4.7	10.9	5.24	1.19	2.0	1.0	0.88	1.05
XG-SH-1705		0.596	5.3	11.0	5.36	0.16	2.1	1.1	0.88	0.98
XG-SH-1706		0.543	5.0	11.9	5.64	1.83	1.9	0.8	0.92	1.02
XG-SH-1707		0.617	5.2	11.2	8.46	3.13	2.1	1.0	0.96	1.02
XG-SH-1708		0.611	5.2	10.8	5.59	1.28	2.1	0.9	0.96	1.07
XG-JW-1709	江西吉安	0.634	4.9	11.9	5.78	1.13	1.7	0.7	0.90	0.95
XG-JW-1710	市新干县	0.641	4.8	10.8	8.71	4.49	1.8	0.8	1.01	1.11
XG-JW-1711		0.648	4.4	10.9	5.39	1.18	1.9	0.9	0.94	1.19
XG-JW-1712		0.616	4.3	10.5	4.71	0.82	1.7	1.0	0.93	1.14
XG-JW-1713		0.628	4.6	10.4	5.61	0.97	1.9	1.0	0.87	1.07
XG-JW-1714		0.642	4.7	10.5	5.92	1.08	2.1	1.0	0.89	1.13
XG-SH-1805		0.645	6.0	10.0	5.52	0.93	1.9	0.9	1.12	1.24
XG-SH-1806		0.627	4.3	10.1	5.64	0.80	1.9	1.0	0.97	1.14
XG-SH-1807		0.613	4.9	11.6	5.79	0.87	1.8	0.7	0.92	1.18
XG-SH-1808		0.624	4.6	11.0	5.88	0.76	1.9	0.9	0.92	1.19
XG-SH-1809		0.625	5.1	11.0	5.93	0.63	2.0	0.9	0.89	1.18
XG-SH-1810		0.629	4.9	10.9	5.68	0.78	2.0	1.1	1.07	1.22
XG-SH-1811		0.711	5.1	8.3	5.24	2.47	1.7	1.0	0.78	0.98
XG-SH-1812		0.645	5.0	8.0	5.24	0.91	2.0	1.0	1.06	1.28
ZS-1701		0.565	5.6	10.0	5.14	1.27	1.9	1.0	0.77	0.64
ZS-1702		0.742	5.2	7.8	4.93	0.57	2.1	1.0	1.44	1.16
ZS-1703		0.799	6.9	7.3	5.68	1.59	2.1	1.1	1.00	1.13
ZS-1801	江西樟树	0.787	5.2	10.4	5.59	1.40	2.0	1.1	1.00	1.13
ZS-1802		0.735	5.0	9.7	6.0	1.61	1.9	1.0	1.00	1.17
ZS-1704		0.535	5.1	7.4	5.30	0.30	2.0	0.9	1.18	1.15
ZS-1705		0.534	5.0	8.2	4.60	0.38	1.9	0.9	0.93	1.04
XS-1701		0.648	4.9	10.6	5.22	0.72	2.0	0.9	1.42	1.29
XS-1702		0.553	4.8	8.3	5.60	0.42	2.0	1.0	1.28	1.14
XS-1703	江西修水	0.722	4.8	6.0	6.44	2.21	2.0	1.0	1.22	1.07
XS-1704		0.796	5.3	6.1	4.59	0.68	2.1	1.1	1.18	1.14
XS-1705		0.590	5.1	6.0	4.79	1.15	2.1	1.0	1.16	1.16
XS-1706		0.587	5.2	6.1	4.70	0.79	2.0	1.0	1.29	1.29
SC-170501		0.524	4.5	7.8	5.52	0.98	2.0	1.0	1.19	1.12
SC-170502		0.510	4.5	6.8	5.45	0.97	2.1	0.9	0.95	1.07
SC-170503	四川成都	0.508	4.5	8.2	5.56	0.94	2.0	0.9	0.9	0.96
SC-170701		0.504	4.1	9.2	5.84	1.12	1.8	1.0	0.95	0.96
SC-170701		0.475	4.2	8.6	5.85	1.43	1.9	0.8	0.84	0.85
SC-170701		0.452	4.0	9.4	5.88	1.55	1.8	0.9	0.7	0.76
HLJ-1701	黑龙江	0.412	4.10	4.00	5.78	1.98	1.8	1.1	0.50	0.88
HLJ-1702	五常	0.423	4.10	4.20	5.60	1.57	1.7	1.2	0.52	0.89
HLJ-1703		0.433	4.20	4.20	5.64	1.64	1.6	1.0	0.55	0.96

表 2 车前子药材分级指标的统计描述(n=40)

Tab. 2 Statistical description of grading index components of Plantaginis Semen(n=40)

指标	最大值	最小值	均值	标准差	变异系数/%
千粒重/g	0.799	0.412	0.603 5	0.097 8	16.20
膨胀度/mL·g <sup>-1</sup>	6.9	4.0	4.882 5	0.594 4	12.17
水分/%	11.9	4.0	9.170 0	2.256	24.60
总灰分/%	6.00	4.59	5.471 5	0.387 2	7.07
酸不溶性灰分/%	1.98	0.16	1.050 7	0.423 3	40.28
长度/mm	2.2	1.6	1.965 0	0.133 1	6.78
宽度/mm	1.2	0.7	0.985 0	0.109 9	11.15
京尼平苷酸含量/%	1.44	0.50	0.971 3	0.211 6	21.79
毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总量/%	1.35	0.64	1.093 8	0.151 1	13.81

度与车前子内在质量(京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量)在 0.01 水平上呈显著正相关,总灰分、酸不溶性灰分与车前子内在质量(京尼平苷酸含量和毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷总含量)呈负相关。长度与毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量无显著性相关,宽度与内在质量均无显著性相关。

故通过主成分分析、偏最小二乘法分析、相关性分析的结果,认为千粒重、膨胀度是和内在质量有显著相关的外观指标,同时千粒重、膨胀度、京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖

表 3 车前子药材指标主成分分析

Tab. 3 PCA of the index components of Plantaginis Semen

主成分	京尼平苷酸含量	毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量	千粒重	膨胀度	水分	总灰分	酸不溶性灰分	长度	宽度	特征根	贡献率/%	累积贡献率/%
第一主成分	0.853	0.765	0.797	0.681	0.365	-0.361	-0.583	0.581	-0.015	3.354	37.27	37.27
第二主成分	-0.134	0.078	0.184	0.030	0.805	0.654	0.147	-0.162	-0.588	1.505	16.72	53.99
第三主成分	-0.231	-0.032	0.322	0.309	0.026	0.388	0.579	0.401	0.691	1.379	15.32	69.31

表 4 指标的相关性分析

Tab. 4 Correlation analysis of index components

指标	京尼平苷酸成分含量	毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量	千粒重	膨胀度	水分	总灰分	酸不溶性灰分	长度	宽度
京尼平苷酸成分含量	1.000								
毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量	0.643 <sup>2)</sup>	1.000							
千粒重	0.512 <sup>2)</sup>	0.606 <sup>2)</sup>	1.000						
膨胀度	0.463 <sup>2)</sup>	0.357 <sup>1)</sup>	0.639 <sup>2)</sup>	1.000					
水分	0.142	0.244	0.425 <sup>2)</sup>	0.182	1.000				
总灰分	-0.368 <sup>1)</sup>	-0.162	-0.164	-0.144	0.281	1.000			
酸不溶性灰分	-0.593 <sup>2)</sup>	-0.365 <sup>1)</sup>	-0.177	-0.181	-0.154	0.386 <sup>1)</sup>	1.000		
长度	0.451 <sup>2)</sup>	0.286	0.386 <sup>1)</sup>	0.349 <sup>1)</sup>	0.166	-0.106	-0.211	1.000	
宽度	-0.106	-0.230	0.090	0.067	-0.331 <sup>1)</sup>	-0.050	0.178	0.279 <sup>1)</sup>	1.000

注: <sup>1)</sup>在 0.05 水平上显著相关; <sup>2)</sup>在 0.01 水平上显著相关。

Note: <sup>1)</sup>significantly correlated at the 0.05 level; <sup>2)</sup>significantly correlated at the 0.01 level.

苷总含量也是能够评价车前子品质的重要指标,故将这 4 个指标列为最终车前子药材的等级划分指标。

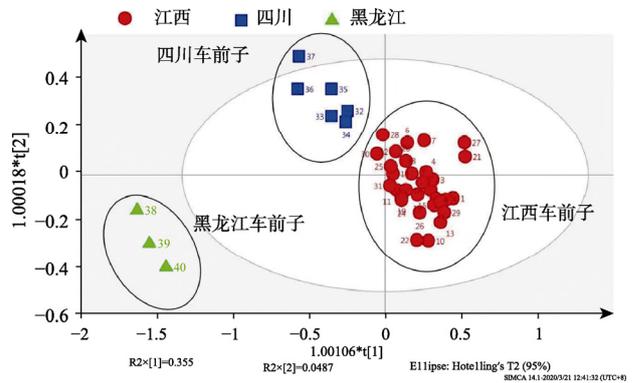


图 2 车前子药材 OPLS-DA 分析

Fig. 2 OPLS-DA analysis of Plantaginis Semen

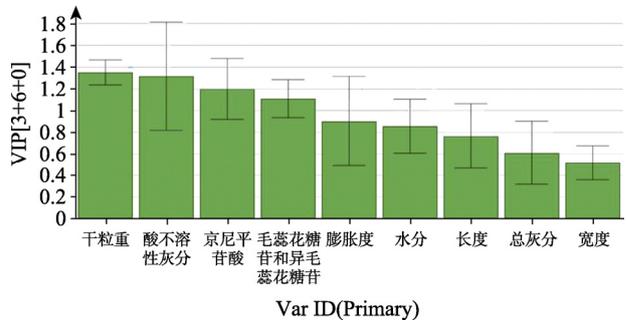


图 3 指标 VIP 值

Fig. 3 VIP value of index components

**3.2.5 方差分析** 为进一步验证选择指标的准确性,运用 SPSS 23.0 对分级指标——千粒重、膨胀度、京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量进行方差分析,结果见表 5。通过方差分析结果可得膨胀度、千粒重、京尼平苷酸含量的差异性达到极显著水平( $P<0.01$ ),而毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量( $P=0.055$ )也接近达到显著性水平。综上,方差分析的结果进一步佐证了千粒重、膨胀度、京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量可作为车前子药材分级指标的合理性。

表 5 方差分析

Tab. 5 Analysis of variance

指标	聚类均方	误差均方	F	P
千粒重/g	0.050	0.007	6.79	0.003
膨胀度/mL·g <sup>-1</sup>	5.911	0.053	111.86	0.000
京尼平苷酸含量/%	0.265	0.033	8.08	0.001
毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量/%	0.065	0.021	3.15	0.055

**3.2.6 等级划分** 利用 SPSS 23.0 软件将与分级指标——千粒重、膨胀度与有效成分京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总含量进行 K-均值聚类,将车前子分为 3 类。车前子药材规格等级的 K-均值聚类法的最终聚类中心值见表 6。

表 6 最终聚类中心值

Tab. 6 Final clustering center values

类别	千粒重/g	膨胀度/mL·g <sup>-1</sup>	京尼平苷酸含量/%	毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量/%
1 类	0.718 7	6.4	1.12	1.24
2 类	0.630 5	5.1	1.06	1.12
3 类	0.551 5	4.4	0.84	1.04

根据结果,可以得到以下结论:千粒重越重,膨胀度也越大,有效成分的含量也越高,成正相关的关系。以 K-聚类中心值,结合行业内药材分

表 7 车前子药材质量等级划分

Tab. 7 Quality classification of Plantaginis Semen

等级	性状特征		有效成分	
	共同点	区别点	京尼平苷酸含量/%	毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量/%
一等品	本品呈椭圆形、不规则长圆形或三角状长圆形,略扁,长约 2 mm,宽约 1 mm。表面黄棕色至黑褐色,有细皱纹,一面有灰白色凹点状种脐。质硬。气微,味淡	千粒重>0.650 g,膨胀度>6.0 mL·g <sup>-1</sup> ,有明显的灰白色凹点状种脐,色泽光亮,外形饱满,杂质少	>1.00	>1.10
二等品		千粒重 0.600~0.650 g,膨胀度 5.0~6.0 mL·g <sup>-1</sup> ,有灰白色凹点状种脐,色泽较光亮,外形较饱满	0.70~1.00	0.80~1.10
统货		千粒重>0.500 g,膨胀度>4.0 mL·g <sup>-1</sup> ,有灰白色凹点状种脐,大小混装,未分选	>0.50	>0.48

级情况和实际应用的可行性,本研究拟定车前子药材等级划分标准,其中统货的标准参照中国药典 2015 年版制定,见表 7。

## 4 讨论

### 4.1 分级指标的合理性

千粒重是以克表示的 1 000 粒种子的质量,种子类药材常常将千粒重作为反映种子大小与饱满程度的指标性成分。膨胀度是指中药材吸水膨胀的程度,多为种子类中药材的检查项。有文献报道称,车前子多糖遇水膨胀,起缓泻作用,所以膨胀度是车前子缓泻功能的一个重要指标<sup>[13-14]</sup>。在相关性分析中,千粒重和膨胀度与车前子内在质量在 0.01 水平上呈显著性正相关,且千粒重越重,膨胀度也越大,有效成分的含量也越高,均与传统种子类中药分级规律“饱满者为佳”相一致,体现了研究工作的合理性。

对于长度和宽度并没有纳入分级指标,一是在收集来的车前子中,长度和宽度的变化范围比较小,差异性不大,二是车前子自身细小且不规则,长宽的测量存在不方便、误差大的情况,考虑到标准应用的可操作性,故认为长度和宽度不适合作为车前子的分级指标。

有文献报道称,京尼平苷酸有潜在抗动脉粥样硬化作用<sup>[15]</sup>,毛蕊花糖苷为车前子降尿酸主要物质基础<sup>[16]</sup>,异毛蕊花糖苷能改善肾脏功能,防止肾损伤<sup>[17]</sup>。该 3 种成分与车前子的药效作用具有高度相关性,可作为体现车前子内在品质质量的重要指标。因此,本研究在中国药典 2015 年版车前子含量测定的基础上,增加了异毛蕊花糖苷指标成分,并以京尼平苷酸含量、毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷总含量作为评价车前子内在质量的指标。故本研究既在国家标准的基础上进行了提升,同时也在车前子等级中体现了药效功能的重要性。

#### 4.2 等级划分的科学性

本研究利用多种数理统计方法对 9 个分级指标进行逐步筛选,主成分分析法可在多指标研究时优选出更有价值的指标因子,达到降维的作用;偏最小二乘法轮廓分析,可得出区分 3 个产地差异的重要指标;Pearson 相关性分析可以两变量间的线性关系,构建外观性状与内在质量的关联性。多元统计方法的应用使结果更具说服力和合理性。根据 K-均值聚类结果,可以得出千粒重越重,膨胀度越大,有效成分的含量也随之增加。经观察发现,内在含量较高的车前子,外形均较为饱满,灰白色的种脐较为明显,千粒重也较大。说明该等级划分与实际情况相符合,结果较为科学,同时也方便日常的分级工作。

本研究将车前子划分统货、一等、二等共 3 个等级,不仅能顺应中国药典 2015 年版项下对车前子的描述和规定,也满足历代本草对车前子质量的判断标准,体现了以饱满程度为核心的外观性状与内在质量的关联性,同时将等级指标进行了量化和细分,以期在市场流通过程中能实现高效、准确、可操作性强的等级评价。

#### 4.3 评价模式的可参考性

本研究建立的药材分级方法以评价药材品质为最终诉求,较传统的商品规格等级而言,增加了含量测定指标成分的等级标准,并将能够体现该药材品质质量的外在性状与内在质量进行相关联的等级区分,故该评价模式不仅从外观特性上对药材进行了等级评价,同时也在其内在质量差异上进行了表征。在未来的药材分级过程中,可初步采用以外观特性为导向的分级方法进行筛选,再进行深入的质量评价,以期更加全面、准确地体现中药材等级差异。本研究为中药材及饮片的分级提供了一种研究模式,为中药标准化研究提供了新的研究思路,后续可收集更多批次样品进行深入验证。

#### REFERENCES

[1] ZHAO H Y, RUN P P, YANG W H et al. Brief introduction of research methods of commodity specification and grade of Chinese medicinal materials[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40(4): 765-769.

[2] LIANG Q, ZHOU T, JIANG W K, et al. Study on commodity specification and grade standard and quality evaluation of *Galla Chinensis*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44(12): 2459-2466.

[3] WENG D H, LIU X Q, XU L Y, et al. Hierarchical cluster analysis of quality evaluation index of *Magnoliae Officinalis Cortex* with different grades[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2016, 22(23): 6-10.

[4] YANG G J. Study on specification grade and quality characteristics of *Cassia Seed*[D]. Henan university of traditional Chinese medicine, 2018.

[5] 中国药典. 二部[S]. 2015.

[6] YAN S, ZENG J X, BI Y, et al. Effects of *Plantago asiatica* L. seeds on diuretic activity, aquaporins and ion channels in normal rats[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2014, 34(12): 968-971.

[7] ZHANG X Y, CHENG J, ZHAO P, et al. Screening the best compatibility of *Selaginella moellendorffii* prescription on hyperuricemia and gouty arthritis and its mechanism[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 7263034. Doi: 10.1155/2019/7263034.

[8] TZENG T F, LIU W Y, LIOU S S, et al. Antioxidant-rich extract from *Plantaginis Semen* ameliorates diabetic retinal injury in a streptozotocin-induced diabetic rat model[J]. Nutrients, 2016, 8(9): E572. Doi: 10.3390/nu8090572.

[9] HU J L. Establishment of a system for *in vitro* and *in vivo* studies on digestion and fermentation of polysaccharide from seeds of *Plantago asiatica* L. with its beneficial effects on intestinal health[D]. Nanchang: Nanchang university, 2014.

[10] SUN X M, LAN J P, TONG R C, et al. An integrative investigation on the efficacy of *Plantaginis Semen* based on UPLC-QTOF-MS metabolomics approach in hyperlipidemic mice[J]. Biomedicine Pharmacother, 2019, 115: 108907.

[11] HUANG L Q, ZHAN Z L, GUO L P. Standard Compilation of Commercial Specifications and Grades of Chinese Medicinal Materials[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2019.

[12] SHEN L. The research on grade evaluation of fourteen kinds of traditional Chinese medicine pieces[D]. Jiangxi: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2019.

[13] WANG D, LIN L, YUAN C L, et al. Analysis of expansion degree of seeds of *Plantaginis* and their processed products[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2002, 27(12): 27-28.

[14] ZHANG J Q. The research of polysaccharide in the *Plantaginis Semen*[D]. Liaoning: Liaoning college of traditional Chinese medicine, 2005.

[15] LIAN X K. Regulation mechanism of geniposidic acid on the cholesterol metabolism of human mononuclear macrophage THP-1[D]. Guangzhou: Guangzhou university of Chinese medicine, 2018.

[16] WANG J, XU B B, ZENG J X, et al. Comparative study of *Plantaginis Semen* alcohol extract and acteoside on experimental hyperuricemia mice[J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2016, 35(9): 653-659.

[17] ZENG J X, XU B B, WANG J et al. Hypouricemic effects of acteoside and isoacteoside from *Plantaginis Semen* on mice with acute hyperuricemia and their possible mechanisms[J]. Chin Tradit Patent Med(中成药), 2016, 38(7): 1449-1454.

收稿日期: 2020-03-05  
(本文责编: 蔡珊珊)