

· 中药与天然药 ·

聚类分析在浙江省绞股蓝分类中的应用

孙红祥* 薛祥骥 (浙江医科大学药教研室, 杭州 310006)

连秋荣 (浙江省龙泉市药品检验所, 龙泉 323700)

摘要 从浙江省绞股蓝属植物的皂甙和黄酮类化合物的薄层色谱中选取25个数量化特征, 对这些植物进行了数量分类。用最短距离法、最长距离法、中间距离法甲、中间距离法乙、重心法、类平均法和离差平方和法等系统聚类方法, 探索了这些植物彼此间的亲缘关系。结果表明, 浙江绞股蓝 *G. sp.* 的形态和薄层色谱特征明显特殊, 认为另成立新种较为合理。

关键词 绞股蓝属 绞股蓝 喙果绞股蓝 浙江绞股蓝 小果绞股蓝 聚类分析

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino 为葫芦科绞股蓝属植物。近年来, 因发现其含有80多种类似人参皂甙的成分——绞股蓝皂甙和具有抗癌、抗衰老、抗疲劳、防治糖皮质激素的副作用、镇静、催眠、抗紧张以及降血脂等作用, 引起国内外学者广泛关注, 其大量制剂进入市场后颇受欢迎。然而目前绞股蓝的种群混乱造成制剂质量和疗效的不稳定, 严重阻碍其进一步开发利用。本文试图在化学分析基础上应用系统聚类方法寻找绞股蓝类植物的分类依据, 为阐明它们的亲缘关系、澄清绞股蓝类药材品种和进一步开发利用此类植物资源提供参考。

1 材料

绞股蓝样品的来源和原植物见表1。

2 方法和结果

2.1 皂甙的薄层色谱 称取各样品5g, 加75%乙醇50ml, 水浴回流2h, 趁热过滤, 重复一次, 合并滤液, 减压浓缩至无醇味, 加20ml水, 用乙醚20、15、10ml分次萃取, 水层用正丁醇萃取至醇液近无色, 醇液浓缩至干, 残留物用甲醇溶解, 过滤并定容至5ml, 供层析用。皂甙的薄层色谱条件和结果见图1。

2.2 黄酮类化合物的薄层色谱 取各样品5g, 加

表1 绞股蓝样品的来源

样品序号	原植物学名	产地	采集日期
1	<i>G. sp.</i> *	天目山	1992.7.4
2	<i>G. pentaphyllum</i>	天目山	1992.7.4
3	<i>G. yixingense</i>	杭州	1992.7.13
4	<i>G. pentaphyllum</i>	杭州	1992.7.13
5	<i>G. sp.</i> *	杭州	1992.8.1
6	<i>G. pentaphyllum</i> **	杭州	1992.7.31

*: 本种植物外形类似绞股蓝 *G. pentaphyllum*, 然其子房为半下位; 果实多, 常30~50枚集生成总状或复总状果序, 且果实较小, 直径仅3.5~4.5, 不具肉质根状茎。

**: 本标本的果实仅直径4.5~5.5mm, 余特征同绞股蓝 *G. pentaphyllum*, 故暂归属后者。

95%乙醇50ml水浴回流2h, 趁热过滤, 重复一次, 合并滤液, 浓缩至无醇味, 加水10ml, 过滤, 用石油醚萃取至醚层近无色, 水液减压浓缩至干, 用甲醇溶解并定容至5ml, 备用。色谱条件和结果见图2。

2.3 从薄层色谱中提取数量化特征 薄层色谱定性地反映了不同种所含化学成分的差异, 而化学成分的差异正是导致绞股蓝质量差异的主因。特征提

* 孙红祥, 男, 24岁。浙江医科大学药教研室在读研究生。

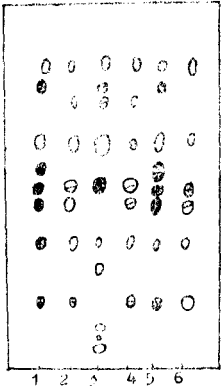


图1 皂式的薄层色谱
展开剂：正丁醇，乙酸乙酯，水(4:1:5上层液)
吸附剂：硅胶
显色剂：香草醛—浓硫酸

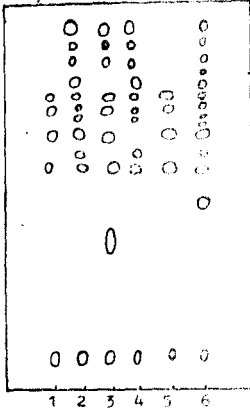


图2 黄酮的薄层色谱
展开剂：甲苯，乙酸乙酯，甲苯(5:4:1)
吸附剂：硅胶60H
显色：254mm紫外灯

取的目的是使定性信息数量化，便于进行数学运算和分类，数量化特征提取结果见表2。

表2 数量化特征矩阵

序号	数量化特征
1	0001001001001000010000000
2	0000100110110000110110111
3	1110010000010110010000111
4	0000100110110000100110111
5	0001001001001000010000000
6	0000100110100001111111111

2.4 样本间相似性的度量 选用 Sokal 和 Michener (1958年)提出的适于二元数据的简单联合系数为表征样本间相似程度的定量指标。简单联合系数 S_{SM} 的计算公式：

$$S_{SM} = \frac{a+d}{n}$$

式中 $0 \leq S_{SM} \leq 1$ 表征二个分类单位的相似程度， a 、 d 分别为二个分类单位状态都取0或1的性状个数， n 为所取的性状总个数。

2.5 聚类分析 建立联合系数矩阵后，按公式 $D = 1 - S_{SM}$ 得到类间距离矩阵(见表3)，然后用最短距离法、最长距离法、中间距离法甲($\beta = 0$)、中间距离乙($\beta = -0.25$)、重心法、类平均法、离差平方和法进行系统聚类得出各法的树系图(见图3~5)。

表3 距离系数矩阵

NO.	1	2	3	4	5	6
1	0					
2	0.60	0				
3	0.56	0.52	0			
4	0.64	0.04	0.56	0		
5	0	0.60	0.56	0.64	0	
6	0.64	0.16	0.68	0.20	0.68	0

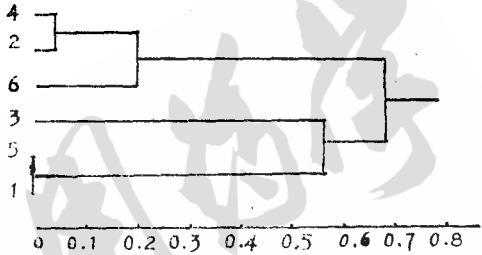


图3 最长距离法的树系图

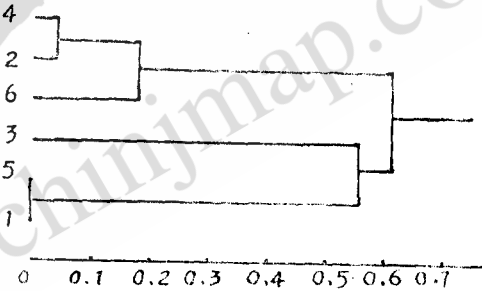


图4 中间距离法甲的树系图

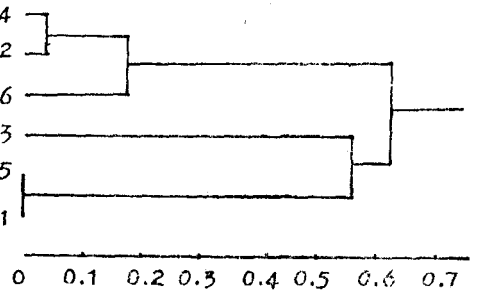


图5 类平均法的树系图

2.6 分类结果比较 树系图的协变矩阵中分类结果呈现的相似性关系应该与分类之前原来的相似性关系尽可能一致。二个矩阵之间的一致性可用下列三个比较系数作为判别标准。

$$M = \max\{|D_{ij} - D^*_{ij}|\}$$

$$A = \left[\frac{2}{t(t-1)} \sum (D_{ij} - \bar{D})^2 \right]^{1/2}$$

$$R = \frac{\sum (D_{ij} - \bar{D}) \cdot (D^*_{ij} - \bar{D}^*)}{[\sum (D_{ij} - \bar{D})^2 \cdot \sum (D^*_{ij} - \bar{D}^*)^2]^{1/2}}$$

其中求最大值和求和号都是对标号 $i = 2, 3, \dots$,

t 和 $j = 1, 2, \dots, i-1$ 进行; D^*_{ij} 和 D_{ij} 分别为协表矩阵和原距离矩阵的第 i 行第 j 列元素; $\bar{D}$ 和 $\bar{D}^*$ 表示其相应的平均值, t 为矩阵的阶数。

七种分类结果的比较系数 M 、 A 和 R 的值见表 4。从表 4 可见, 类平均法分类结果优于其它各法的分类结果。

表 4 分 类 结 果 比 较

方 法 (系 数)	M	A	R
最短距离法 Single linkage method	0.16	0.0700	0.9811
最长距离法 Complete linkage method	0.16	0.0620	0.9812
中间距离法甲 WPGMA($\beta = 0$)	0.11	0.427	0.9836
中间距离法乙 WPGMC($\beta = -0.25$)	0.12	0.0641	0.9796
重心法 Centroid method (UPGMC)	0.12	0.0641	0.9796
类平均法 Group average method (UPGMA)	0.10	0.0423	0.9837
离差平方和法 Sum of square method (WARD)	0.45	0.2749	0.9632

3 讨论

浙江绞股蓝 *G. sp.* 以前一直被归入绞股蓝 *G. pentaphyllum*, 然二者形态特征有明显差异, 从 7 个聚类分析树系图可见, 浙江绞股蓝、绞股蓝和喙果绞股蓝为三个相互独立的种, 浙江绞股蓝宜从绞股蓝中分出另立新种。

聚类分析结果表明: 6 号样本与绞股蓝 *G. pentaphyllum* 样本之间有一定差异。两者在形态特征上也有一定差别, 前者果实直径较小, 4.5~5.5 mm, 而后者为 6~8 mm, 故 6 号样本似以订为绞股蓝的变型—小果绞股蓝 *G. pentaphyllum* (Thunb.) Makino forma sp. 为妥。

本文研究结果表明: 不同种绞股蓝的皂甙和黄酮类化合物有一定差异, 为确保绞股蓝的临床用药有效, 宜规定其正品原植物并尽快制订其质量标准。

参 考 文 献

- 1 薛祥骥. 绞股蓝研究的现状和展望. 浙江食品工业, 1990, (2): 21~25
- 2 曾宪武, 孙红祥, 王志分. 两种绞股蓝不同采集期的总皂甙含量测定. 现代应用药 学, 1990, 7 (1), 41~42
- 3 徐克学. 数量分类学的发展. 生物科学动态, 1980, (1), 1~13
- 4 徐克学. 浅谈分类学的数学方法. 植物分类学报, 1982, 20(4), 502~509

收稿日期: 1992—11—23

Application of Cluster Analysis in Classification of Herb *Gynostemmae* in Zhejiang Province

Sun Hongxiang, Xue Xiangxi, Lian Qiurong

(Department of Pharmacognosy, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006)

Abstract The paper deals with the application of cluster analysis in classification of Herb *Gynostemmae* in Zhejiang province. 25 numerical characteristic features were obtained from thin layer chromatogram of saponins and flavonoids. The coefficient of distance was used to show quantitative index of similarity among OTUs. By means of systematic cluster methods—single linkage method, complete linkage method, WPGMA($\beta=0$), WPGMC($\beta=-0.25$), centroid method (UPGMC), group average method(UPGMA) and square sum method, seven dendrograms were obtained from each method respectively. The results showed that seven dendrograms are identical with the classical taxonomy, and UPGMA is the best among the methods. According to the results, it is reasonable to separate *G. sp.* from *G. pentaphyllum* and to establish a new species for it.

Key words Cluster analysis Herb *Gynostemmae* *Gynostemmae pentaphyllum* *G. sp.* *G. pentaphyllum* (Thunb.) Makino forma sp.

(Original article on page 9)