

## 白芷中活血化瘀有效组分的谱效关系

张慧<sup>1</sup>, 海广范<sup>1</sup>, 栗志勇<sup>2</sup>, 张婷<sup>3</sup>, 吕洁丽<sup>4\*</sup>

(1. 新乡医学院药学院药理学教研室, 河南 新乡 453003;

2. 安阳市第三人民医院胸外科, 河南 安阳 453000;

3. 新乡医学院三全学院, 河南 新乡 453003; 4. 新乡医学院药学院中药学教研室, 河南 新乡 453003)

**[摘要]** **目的:** 研究白芷的活血化瘀活性成分。**方法:** 对白芷药材进行系统化学部位分离得到白芷石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水提部位。大鼠随机分成 7 组, 生理盐水对照组, 血瘀模型组, 阳性药对照组(阿司匹林  $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 及白芷 4 个不同提取部位组, 每组 8 只。每组均灌胃给药, 白芷不同提取部位剂量  $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (相当于原生药), 连续给药 7 d, 每日 1 次。第 7 天后 1 h 除生理盐水对照组外, 其余各组均皮下注射  $0.1\%$  肾上腺素  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 共 2 次, 间隔 4 h, 考察白芷各不同提取部位的活血作用。针对活性最强的部位建立 10 批不同产地样品的 HPLC 指纹图谱, 并对 10 批不同产地白芷乙酸乙酯部位活血化瘀作用进行检测, 利用多元回归和灰色关联度结合方法研究谱效相关性。**结果:** 与正常组相比, 模型组全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数均明显增高 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比, 白芷各提取部位组血液流变学指标均有不同程度的改善 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 其中以白芷乙酸乙酯部位作用最强 ( $P < 0.01$ )。将 10 批白芷乙酸乙酯部位 HPLC 指纹图谱按照中位数法建立各样品的对照指纹图谱, 共 16 个共有峰。谱效相关性研究发现 4, 9, 11, 12, 16 号峰是与活血化瘀作用相关色谱峰。**结论:** 4, 9, 11, 12, 16 峰可能为白芷活血化瘀作用的特征峰, 所建立的白芷 HPLC 特征图谱与药效作用的关系, 可为建立“指纹图谱与药效关联”的中药质量控制模式提供理论依据和数据支持。

**[关键词]** 白芷; 活血化瘀; 指纹图谱; 谱效关系

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0139-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150139

## Spectrum-activity Relationship of Activating Blood Circulation Components in Angelicae Dahuricae Radix

ZHANG Hui<sup>1</sup>, HAI Guang-fan<sup>1</sup>, LI Zhi-yong<sup>2</sup>, ZHANG Ting<sup>3</sup>, LV Jie-li<sup>4\*</sup>

(1. College of Pharmacy of Pharmacology Teaching and Research Section, Xinxiang Medical University,

Xinxiang 453003, China; 2. Department of Cerebral Surgery, the Third People's Hospital of

Anyang City, Anyang 453000, China; 3. Sanquan Medical College, Xinxiang Medical University,

Xingxiang 453003, China; 4. College of Pharmacy of Chinese Materia Medica Section,

Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the active components in Angelicae Dahuricae Radix with activating blood circulation effect. **Method:** The different extracts from Angelicae Dahurica Radix were obtained by the means of systematic solvent extraction. Rats were randomly divided into 7 groups: control group, model group, positive control group (aspirin  $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and petroleum ether, ethyl acetate, butanol, water extract group ( $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  equivalent to the primary drug). The drugs were ig given for 7 days, once each day. 1 h after the last administration, the rats were injected with  $0.1\%$  epinephrine  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  with 2 times and 4 h interval to

**[收稿日期]** 20130906(006)

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81202916)

**[第一作者]** 张慧, 硕士, 讲师, 从事中药活性成分及药效学研究, E-mail: zhanghui12070300@163.com

**[通讯作者]** \* 吕洁丽, 博士, 副教授, 从事中药活性成分及药效学研究, E-mail: ruoxin0371@163.com

establish the blood stasis model. Then the activating blood circulation activity was studied by hemorheology test. The HPLC fingerprints of 10 different areas of the most active extracts from *Angelicae Dahurica Radix* were established and the activating blood circulation activity of 10 batches was detected. The spectrum-activity relationship of the extracts was studied by mathematical statistics method. **Result:** Compared with the normal group, the whole blood viscosity, plasma viscosity, hematocrit, erythrocyte aggregation index were significantly increased in model group ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the hemorrheological indexes in the groups of different extracts of *Angelicae Dahurica Radix* were improved ( $P < 0.05$ - $P < 0.01$ ). The Ethyl acetate extracts had the best activating blood circulation effect ( $P < 0.01$ ). The spectrum-activity relationship of the extracts was found that peaks 4, 9, 11, 12, 16 of the extracts had the stronger activating blood circulation effect.

**Conclusion:** Common peaks 4, 9, 11, 12, 16 could be characteristic peak for activating blood circulation activity of *Angelicae Dahurica Radix*. The spectrum-activity relationship of *Angelicae Dahurica Radix* established could provide the theoretical basis.

[**Key words**] *Angelicae Dahurica Radix*; activating blood circulation; fingerprint; spectrum-activity relationship

白芷为伞形科植物川白芷或杭白芷的干燥根<sup>[1]</sup>。早在《神农本草经》中已有白芷主“血闭”的记载,《药性论》中讲到其主“心腹血刺痛”。《神农本草经百种录》记录其“和利血脉”。为了整体有效反映白芷活血作用的物质基础,使之更好的为临床服务,本文对白芷活血有效部位进行了考察,并采用 HPLC 对白芷活血有效部位的指纹图谱进行了初步研究,并运用数理统计方法将药效学信息与 HPLC 指纹图谱化学信息进行相关性研究,以期表征白芷的活血化瘀效应组分,并建立谱效研究寻找白芷活血化瘀活性成分的研究思路,为探讨谱效相关性奠定基础<sup>[2]</sup>。

## 1 材料

**1.1 仪器** LG-R-80 型全自动血液流变仪(北京中勤世帝科学仪器有限公司), Shimadzu LC-6AD 型 HPLC 仪及 SPD-20A 型紫外检测器(日本岛津公司), Lichrospher5-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 江苏汉邦科技有限公司)。

**1.2 试剂** 石油醚(批号 20100306), 乙酸乙酯(批号 20100508), 正丁醇(批号 20100410)为分析纯, 甲醇(批号 20100521)为色谱纯, 均由天津市东丽区天大化学试剂厂生产。阿司匹林肠溶片(舒泰神北京药业有限公司, 批号 100210)。

**1.3 试药** 10 批白芷药材(产地为河南孟县, 江苏, 河北, 四川 GAP 基地, 浙江, 河南长葛, 安徽亳州, 河南禹县, 四川遂宁, 云南, 编号依次为 S1-S10)。由新乡医学院中药学教研室吕洁丽博士鉴定均为川白芷 *Angelica dahurica*(Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana*(Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根。阿司

匹林肠溶片先研磨至粉状, 然后用超纯水溶解, 终质量浓度亦为 10 g·L<sup>-1</sup>。

**1.4 动物** SD 雄性大鼠, 体重(250 ± 20)g, 4 周龄, 160 只, SPF 级, 购自山东鲁抗医药股份有限公司实验动物室, 生产许可证号 SCXK(鲁)2008-0003。

## 2 方法

### 2.1 白芷活血化瘀有效部位的筛选

**2.1.1 供试品的制备** 取四川 GAP 基地白芷(S4) 1 kg, 加入 60% 乙醇 2 L, 回流提取 1 h, 提取 2 次, 合并 2 次的提取液, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水萃取, 即分别得到各不同极性提取部位。挥干各提取物中残留溶剂, 分别加入适量聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯(吐温-80), 待提取物溶解, 加水配制成 100 mL 溶液, 使 1 mL 药液相当于原药材 10 g 中所含该类成分, 备用。

**2.1.2 对急性实验性血瘀证模型大鼠血液流变性的影响<sup>[3-4]</sup>** 雄性大鼠 56 只, 随机分成 7 组, 生理盐水对照组, 血瘀模型组, 阳性对照组(阿司匹林组 12 mg·kg<sup>-1</sup>), 白芷石油醚部位组、乙酸乙酯部位组、正丁醇部位组, 水提部位组, 每组 8 只。每组均灌胃给药, 白芷不同提取部位剂量 20 g·kg<sup>-1</sup>(相当于原生药), 连续给药 7 d, 每日 1 次。第 7 天药后 1 h 除生理盐水对照组外, 其余各组均 sc 0.1% 肾上腺素 0.8 mg·kg<sup>-1</sup>, 共 2 次, 间隔 4 h。在第 1 次 sc 肾上腺素 2 h 后将大鼠置于冰水中 4 min, 第 2 次 sc 给肾上腺素后造成血瘀证模型, 然后禁食 12 h, 于术前 2 h 再给药 1 次, 4% 水合氯醛 ip 麻醉, 各组腹主动脉取血 2 mL, 肝素钠 20 kU·L<sup>-1</sup> 抗凝。取其中 1 mL

血用全自动血流变仪测定各组高、中、低切全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数,另1 mL用温氏法测红细胞压积。

**2.1.3 数据的统计与分析** 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 19.0 软件进行  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2.2 白芷活血有效部位的指纹图谱

**2.2.1 10批白芷乙酸乙酯部位供试液的制备** 分别取10批不同产地白芷药材样品粉末20 g,加6倍量60%乙醇回流提取2次,每次1 h,合并两次提取液,先用环己烷萃取,去除低极性化学成分,再用乙酸乙酯萃取,即得白芷乙酸乙酯部位供试液。收集乙酸乙酯液,减压浓缩得干膏,残渣甲醇溶解定容至20 mL,从中取250  $\mu$ L用甲醇稀释至7.5 mL,过0.45  $\mu$ m微孔滤膜,供HPLC分析。

**2.2.2 色谱条件** 柱温30  $^{\circ}$ C,流动相0~15 min,5%~30%甲醇,20~30 min,80%甲醇,30~38 min,80%~90%甲醇,波长254 nm,流速1 mL $\cdot$ min $^{-1}$ 。

**2.2.3 方法学考察** 取供试品溶液进行精密度、重现性、稳定性考察,其RSD均 $< 5\%$ ,符合指纹图谱条件。

**2.2.4 白芷乙酸乙酯部位指纹图谱的测定** 根据2.2.2色谱条件,对10批不同来源的白芷药材的乙酸乙酯部位提取物进行测定,记录40 min色谱图。通过比较各色谱图,以中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004 A版相似度评价系统软件进行匹配分析,按照中位数法建立各样品的对照指纹图谱。

## 2.3 10批不同产地白芷乙酸乙酯部位活血化瘀作用的检测

### 2.3.1 10批白芷乙酸乙酯部位样品溶液的制

备 同2.2.1,乙酸乙酯提取液减压浓缩得干膏,加磷酸缓冲液(PBS)溶解,定容至100 mL,无菌滤过,滤液于4  $^{\circ}$ C保存备用,即得。

**2.3.2 大鼠活血化瘀实验** SD大鼠104只,随机分成13组,生理盐水对照组,血瘀模型组,阳性对照组(阿司匹林12 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ ),10批不同产地白芷乙酸乙酯部位组,每组8只,均灌胃给药,白芷乙酸乙酯部位给药剂量20 g $\cdot$ kg $^{-1}$ (相当于原生药),连续给药7 d,每日1次。其余处理同2.1.2。

## 2.4 白芷活血化瘀作用与HPLC指纹图谱的谱-效相关性分析

**2.4.1 多元回归分析** 用10个不同产地白芷乙酸乙酯部位图谱的数据来建立方程,自变量( $X$ )为16个共有峰的量化峰面积( $X_1 - X_{16}$ ),因变量( $Y$ )分别为全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数。使用软件SPSS 19.0,采用逐步后退法建立方程。

**2.4.2 灰色关联度分析**<sup>[5-7]</sup> 将10个批次白芷乙酸乙酯部位的16个共有色谱峰分别与其血液流变学4个药效指标相关联,计算其关联度。

## 3 结果

**3.1 白芷不同提取部位对急性实验性血瘀证模型大鼠血液流变性的影响** 与正常组相比,模型组全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数均明显增高( $P < 0.01$ )。与模型组相比,白芷乙酸乙酯部位组全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数均明显下降( $P < 0.01$ ),环己烷部位、正丁醇部位、水提部位组亦不同程度改善血液流变学指标( $P < 0.05$ ),以白芷乙酸乙酯部位改善血液流变学的作用最强。见表1。

表1 白芷不同提取部位对大鼠血液流变学的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量 /g $\cdot$ kg $^{-1}$	全血黏度/mPa $\cdot$ s				血浆黏度 /mPa $\cdot$ s	红细胞 压积	红细胞聚集 指数
		200 s $^{-1}$	30 s $^{-1}$	5 s $^{-1}$	1 s $^{-1}$			
生理盐水对照	-	3.42 $\pm$ 0.23 <sup>1)</sup>	4.24 $\pm$ 0.63 <sup>1)</sup>	6.54 $\pm$ 1.65 <sup>1)</sup>	14.52 $\pm$ 2.58 <sup>1)</sup>	1.73 $\pm$ 0.36 <sup>1)</sup>	0.46 $\pm$ 0.21 <sup>1)</sup>	6.25 $\pm$ 2.12
模型	-	5.85 $\pm$ 0.68 <sup>4)</sup>	7.94 $\pm$ 2.63 <sup>4)</sup>	15.58 $\pm$ 1.36 <sup>4)</sup>	18.52 $\pm$ 5.43 <sup>4)</sup>	2.64 $\pm$ 0.73 <sup>4)</sup>	0.78 $\pm$ 0.46 <sup>4)</sup>	9.68 $\pm$ 2.68 <sup>4)</sup>
阿司匹林	12 $\times$ 10 $^{-3}$	3.82 $\pm$ 0.86 <sup>2)</sup>	4.68 $\pm$ 0.73 <sup>2)</sup>	7.78 $\pm$ 1.89 <sup>2)</sup>	15.76 $\pm$ 3.45 <sup>2)</sup>	1.87 $\pm$ 0.68 <sup>1)</sup>	0.48 $\pm$ 0.09 <sup>2)</sup>	6.76 $\pm$ 1.23 <sup>2)</sup>
白芷石油醚部位	20	5.02 $\pm$ 0.21 <sup>1)</sup>	6.68 $\pm$ 0.82 <sup>2)</sup>	12.63 $\pm$ 1.52 <sup>1)</sup>	17.31 $\pm$ 3.85 <sup>1)</sup>	2.46 $\pm$ 0.43	0.72 $\pm$ 0.24	8.65 $\pm$ 1.56 <sup>1)</sup>
白芷乙酸乙酯部位	20	4.43 $\pm$ 0.18 <sup>2)</sup>	5.97 $\pm$ 0.58 <sup>2)</sup>	9.52 $\pm$ 1.86 <sup>2)</sup>	16.12 $\pm$ 3.52 <sup>2)</sup>	2.12 $\pm$ 0.53 <sup>2)</sup>	0.52 $\pm$ 0.14 <sup>2)</sup>	7.38 $\pm$ 1.07 <sup>2)</sup>
白芷正丁醇部位	20	4.86 $\pm$ 0.23 <sup>1)</sup>	6.71 $\pm$ 0.86 <sup>1)</sup>	12.02 $\pm$ 1.32 <sup>1)</sup>	16.89 $\pm$ 2.56 <sup>1)</sup>	2.21 $\pm$ 0.52 <sup>1)</sup>	0.65 $\pm$ 0.12 <sup>1)</sup>	8.12 $\pm$ 1.23 <sup>1)</sup>
白芷水提部位	20	4.93 $\pm$ 0.26 <sup>1)</sup>	6.23 $\pm$ 0.72 <sup>2)</sup>	11.52 $\pm$ 1.14 <sup>1)</sup>	16.73 $\pm$ 3.06 <sup>1)</sup>	2.67 $\pm$ 0.43	0.62 $\pm$ 0.13 <sup>1)</sup>	8.43 $\pm$ 1.33 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与正常组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup> $P < 0.01$ 。

**3.2 白芷乙酸乙酯部位对照指纹图谱的建立** 以中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004 A版相似

度评价系统软件进行匹配分析,按照中位数法建立各样品的对照指纹图谱,共16个共有峰,结果见

图 1。10 批白芷乙酸乙酯部位 HPLC 指纹图谱叠加图,见图 2。

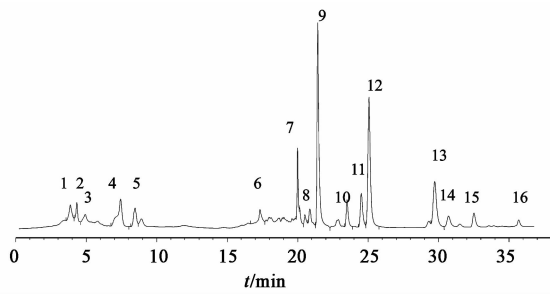


图 1 白芷乙酸乙酯部位各样品的对照指纹谱

3.3 10 批不同产地白芷乙酸乙酯部位活血化瘀作用的检测 与模型组相比,10 批不同产地白芷(S1-S10)乙酸乙酯部位提取物均有不同程度的改善急

性实验性血瘀证模型大鼠各项血液流变学指标的作用( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 2。

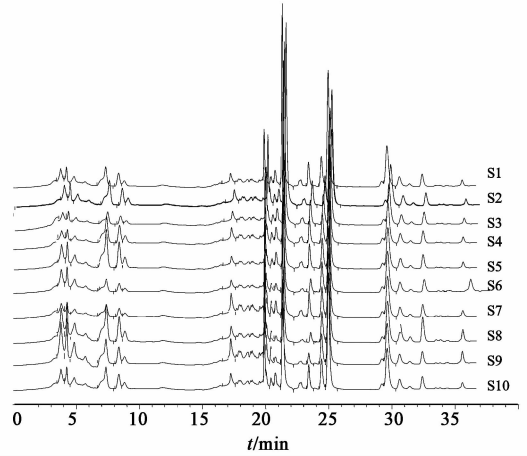


图 2 10 批白芷 HPLC 指纹谱

表 2 10 批不同产地白芷乙酸乙酯部位对大鼠血液流变学的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	全血黏度/mPa·s				血浆黏度 /mPa·s	红细胞 压积	红细胞聚集 指数
		200 s <sup>-1</sup>	30 s <sup>-1</sup>	5 s <sup>-1</sup>	1 s <sup>-1</sup>			
生理盐水	-	3.52 ± 0.33 <sup>2)</sup>	4.48 ± 0.82 <sup>2)</sup>	7.23 ± 1.65 <sup>2)</sup>	14.72 ± 2.87 <sup>1)</sup>	1.53 ± 0.44 <sup>2)</sup>	0.56 ± 0.12 <sup>2)</sup>	5.45 ± 2.41 <sup>2)</sup>
模型	-	5.87 ± 0.78	8.23 ± 2.85	18.95 ± 2.32	18.52 ± 4.42	3.94 ± 0.52	0.88 ± 0.36	8.96 ± 2.12
阿司匹林	12 × 10 <sup>-3</sup>	3.82 ± 0.85 <sup>2)</sup>	4.72 ± 0.44 <sup>2)</sup>	8.45 ± 2.31 <sup>2)</sup>	15.76 ± 3.45 <sup>1)</sup>	1.95 ± 0.74 <sup>1)</sup>	0.59 ± 0.11 <sup>2)</sup>	6.76 ± 1.63 <sup>1)</sup>
S1	20	5.08 ± 0.21 <sup>1)</sup>	6.58 ± 0.73 <sup>1)</sup>	12.82 ± 1.86 <sup>1)</sup>	17.61 ± 3.95	2.46 ± 0.36 <sup>1)</sup>	0.71 ± 0.34 <sup>1)</sup>	6.55 ± 1.65 <sup>1)</sup>
S2	20	4.57 ± 0.42 <sup>1)</sup>	5.87 ± 0.48 <sup>1)</sup>	10.62 ± 1.86 <sup>2)</sup>	16.42 ± 3.63 <sup>1)</sup>	2.21 ± 0.53 <sup>1)</sup>	0.47 ± 0.14 <sup>2)</sup>	6.78 ± 1.31 <sup>1)</sup>
S3	20	4.66 ± 0.34 <sup>1)</sup>	6.81 ± 0.64 <sup>1)</sup>	11.35 ± 1.35 <sup>1)</sup>	16.85 ± 2.75 <sup>1)</sup>	2.33 ± 0.76 <sup>1)</sup>	0.65 ± 0.42 <sup>1)</sup>	6.86 ± 1.32 <sup>1)</sup>
S4	20	4.93 ± 0.24 <sup>1)</sup>	6.73 ± 0.75 <sup>1)</sup>	13.45 ± 1.53 <sup>1)</sup>	17.93 ± 3.53	2.45 ± 0.68 <sup>1)</sup>	0.72 ± 0.21 <sup>1)</sup>	6.72 ± 1.42 <sup>1)</sup>
S5	20	4.85 ± 0.21 <sup>1)</sup>	6.68 ± 0.86 <sup>1)</sup>	12.64 ± 1.86 <sup>1)</sup>	17.41 ± 3.25	2.66 ± 0.47 <sup>1)</sup>	0.75 ± 0.32 <sup>1)</sup>	6.15 ± 1.12 <sup>1)</sup>
S6	20	4.63 ± 0.25 <sup>1)</sup>	5.89 ± 0.56 <sup>1)</sup>	10.65 ± 1.96 <sup>2)</sup>	16.52 ± 3.12 <sup>1)</sup>	2.12 ± 0.53 <sup>1)</sup>	0.56 ± 0.21 <sup>2)</sup>	5.46 ± 1.07 <sup>2)</sup>
S7	20	4.88 ± 0.32 <sup>1)</sup>	6.89 ± 0.86 <sup>1)</sup>	11.32 ± 2.32 <sup>1)</sup>	16.89 ± 2.65 <sup>1)</sup>	2.31 ± 0.54 <sup>1)</sup>	0.71 ± 0.31 <sup>1)</sup>	6.25 ± 1.01 <sup>1)</sup>
S8	20	4.73 ± 0.33 <sup>1)</sup>	6.53 ± 0.72 <sup>1)</sup>	12.62 ± 1.46 <sup>1)</sup>	16.83 ± 3.16 <sup>1)</sup>	2.27 ± 0.43 <sup>1)</sup>	0.67 ± 0.14 <sup>1)</sup>	5.73 ± 1.31 <sup>1)</sup>
S9	20	5.12 ± 0.35 <sup>2)</sup>	6.68 ± 0.82 <sup>1)</sup>	12.93 ± 1.83 <sup>1)</sup>	17.45 ± 3.65	2.56 ± 0.46 <sup>1)</sup>	0.76 ± 0.31 <sup>1)</sup>	5.65 ± 1.56 <sup>1)</sup>
S10	20	4.53 ± 0.23 <sup>1)</sup>	5.97 ± 0.68 <sup>1)</sup>	10.42 ± 2.86 <sup>1)</sup>	16.72 ± 2.52 <sup>1)</sup>	2.12 ± 0.53 <sup>1)</sup>	0.64 ± 0.17 <sup>1)</sup>	5.38 ± 1.07 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05, ^{2)}$  $P < 0.01$ 。

3.4 白芷活血化瘀作用与 HPLC 指纹图谱的谱-效相关性分析

3.4.1 多元回归分析 因变量(Y)为全血黏度(高、中、低切黏度相加取平均值),建立方程为  $Y = 13.1 - 0.111X_4 - 0.062X_5 + 0.207X_6 + 0.185X_8 - 0.0X_9 + 0.021X_{11} - 0.085X_{12} + 0.013X_{13} - 0.177X_{16}$ 。

因变量(Y)为血浆黏度,建立方程为  $Y = -2.121 - 0.085X_4 - 0.232X_5 - 0.273X_7 + 0.169X_8 - 0.010X_9 - 0.011X_{11} - 0.082X_{12} - 0.036X_{14} - 0.066X_{16}$ 。

因变量(Y)为红细胞压积,建立方程为  $Y = 0.839 - 0.016X_4 - 0.009X_5 + 0.037X_6 - 0.035X_8 - 0.007X_9 - 0.003X_{11} - 0.018X_{12} + 0.002X_{13} - 0.011X_{16}$ 。

因变量(Y)为红细胞聚集指数,建立方程为  $Y = 0.720 - 0.040X_4 + 0.088X_6 + 0.076X_7 + 0.120X_8 -$

$0.004X_9 - 0.074X_{11} - 0.059X_{12} + 0.036X_{13} - 0.096X_{16}$ 。

由上可看出共同被引入方程的是 4,5,6,8,9,11,12,13,16 号峰,其中与全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数的增高具有负相关的共有峰为 4,5,9,11,12,16 号峰。即与抗全血黏度,抗血浆黏度、抗红细胞压积、抗红细胞聚集指数正相关的色谱峰为 4,5,9,11,12,16 号峰,负相关色谱峰为 6,8,13 号峰。

3.4.2 灰色关联法谱效相关性分析 由表 3 可见,与白芷不同血液流变学指标贡献作用关联度较大的色谱峰群不同,第 4,6,8,9,11,12,13,16 号色谱峰与白芷乙酸乙酯部位对急性血瘀性大鼠血液流变学的药效作用关联性较大。与多元回归分析结果结合分析,可综合得出,4,9,11,12,16 号峰是与活血化

瘀作用关联性较大的正相关色谱峰,即主要具有活血化瘀作用。其中9号峰为欧前胡素,12号峰为异欧前胡素,其余色谱峰所反映的物质成分,还需进一步的探索研究。

表3 10批白芷乙酸乙酯部位HPLC指纹图谱共有峰与全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数的灰色关联度分析

关联度排名	与全血黏度关联	与血浆黏度关联	与红细胞压积关联	与红细胞聚集指数关联
1	X4	X9	X13	X16
2	X9	X12	X9	X9
3	X12	X11	X11	X11
4	X16	X4	X16	X12
5	X6	X8	X4	X13

注:表中只列出前5个关联性最大的色谱峰;X1~X16为1~16号特征峰。

#### 4 讨论

中药指纹图谱是指应用色谱及其联用技术最大限度地获取有用的化学信息,结合化学计量学的理论与方法,进行数据解析和特征信息的提取,合理优化、量化指纹图谱,建立多模式多柱色谱、多元检测、多水平评价的系统方法。中药指纹图谱能够反映中药复方“多组分多靶点的整合调节作用”的特点,它以“识别指纹图谱”的表现形式来控制中药复方制剂的质量。而建立在中药指纹图谱基础之上的中药指纹图谱谱效相关性研究,系将标示活性成分群特征峰的中药指纹图谱与药效结果对应起来,将中药指纹图谱中化学成分的变化与中药药效结果联系起来,建立中药谱效关系,反映中药复方制剂内在质量<sup>[8,9]</sup>。分析指纹图谱信息与药效活性的相关性(组效关系),是表征中药及中药复方整体成分,配伍-药效相关性的有效途径,也为利用指纹图谱优化处方,改进制剂工艺,追踪分离目标活性成分,开发中药新药提出了新的思路和方法。

在建立中药谱-效相关关系方面,有多种统计学方法,包括相关分析、主成分回归分析、典型相关分析、多元线性回归分析、灰色关联度分析、逐步回归分析、聚类分析、偏最小二乘回归分析等<sup>[10]</sup>。回归分析是一种较通用的方法。由于将分析的所有变量一次性全部引入进行分析,因同时引入的变量较多,使各因素的影响变小,掩盖了主要因素的作用,使其不能通过显著性检验,从而难以保证两者关联的准确性。本文采用逐步后退回归法,它能最大程度的保留有贡献的变量,但无法同时反映所保留各个变量与因变量的相关程度的大小。

灰关联分析是灰色系统理论的一种新的分析方

法,是根据因素之间发展趋势的相似或相异程度,亦即“灰色关联度”,作为衡量因素间关联程度的一种方法。灰色关联分析方法可描述系统发展过程中因素间相对变化的情况,如果二者在发展过程中的相对变化基本一致,则认为二者关联度大,反之,则认为二者关联度就小。由于灰色关联分析就是通过对序列几何关系来比较系统中多因素关系的紧密程度,其紧密程度可由序列曲线的几何形状接近(或相近)程度来度量。序列曲线的几何形状接近程度的存在两个方面的差异,一个是序列曲线正相关,一个是序列曲线负相关,对于正相关和负相关仅仅通过关联系数无法反映。

本研究同时运用多元回归和灰色关联度结合方法将药理学信息与HPLC指纹图谱化学信息进行相关性研究,综合得出4,9,11,12,16号峰是与活血化瘀作用正相关色谱峰。为白芷活血作用有效组分的提取及质量控制提供了科学依据,有利于白芷用于活血化瘀作用的相关制剂的质量控制。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:化学工业出版社,2005:79.
- [2] 陶金华,狄留庆,文红梅,等. 中药指纹图谱谱效相关性研究思路探讨[J]. 中国中药杂志,2009,34(18):2410.
- [3] 李伟霞,黄美艳,唐于平,等. 大鼠急性血瘀模型造模方法的研究与评价[J]. 中国药理学通报,2011,27(12):1761.
- [4] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:902.
- [5] 刘思峰,党耀国,方志耕,等. 灰色系统理论及其应用[M]. 北京:科学出版社,2010:62.
- [6] 李治建,周露,古力娜·达吾提,等. 地锦草洗脱部位指纹图谱特征与其抗真菌作用的灰关联度分析[J]. 中国中药杂志,2012,37(5):580.
- [7] 孟庆刚,王微,李强,等. 黄芩解热作用的谱效关系研究[J]. 北京中医药大学学报,2011,34(6):379.
- [8] 李戎,闫智勇,李文军,等. 创建中药谱效关系学[J]. 中医教育,2002,21(2):62.
- [9] 罗国安,王义明,曹进,等. 建立我国现代中药质量标准体系的研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2002,4(4):5.
- [10] 陈峰. 医用多元统计分析方法[M]. 北京:中国统计出版社,2006:30,46,60.

[责任编辑 聂淑琴]