

## 基于 BP-ANN 模型的香附效应成分筛选

胡律江<sup>1,2</sup>, 郭慧玲<sup>2\*</sup>, 曾辉<sup>2</sup>, 金鑫<sup>2</sup>, 赵晓娟<sup>2</sup>, 闫柏屹<sup>2</sup>

(1. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 2. 江西中医学院, 南昌 330004)

**[摘要]** **目的:**分析香附不同炮制品的 HPLC 指纹图谱与药理效应数据,应用偏最小二乘法(PLS)和 BP 神经网络模型(BP-ANN)对香附不同炮制品中 HPLC 指纹图谱共有峰的峰面积与调经止痛药理效应进行关联,筛选香附主要效应成分。**方法:**采用 PLS 进行数据处理,通过 MATLAB 中的神经网络工具箱,建立 BP-ANN 模型,计算出各个因素的平均影响值(MIV),根据 MIV 大小列出各因素对应变量(药理效应)影响的相对重要性顺位,筛选香附治疗痛经的有效成分。**结果:**11 组香附样品中存在 16 个共有峰,假设各峰的成分分别为 X1, X2, X3, X4, X5, X6, X7, X8, X9, X10, X11, X12, X13, X14, X15, X16。香附对缩宫素所致小鼠痛经模型的扭体反应抑制率影响的主要效应成分排序为 X13 > X15 > X7 > X16;对缩宫素诱导小鼠离体子宫痉挛性收缩模型的肌张力抑制率影响的主要效应成分排序为 X15 > X13 > X5 > X16。**结论:**通过应用 PLS 和 BP-ANN 模型进行 HPLC 指纹图谱共有峰与药理效应关联性分析,可进行香附主要效应成分的筛选。

**[关键词]** 香附; 平均影响值; BP-ANN 模型; 效应成分; 人工神经网络

**[中图分类号]** R283.3; R283.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0027-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013220027

## Screening of Effective Ingredients from Cyperi Rhizoma Based on BP-ANN Model

HU Lv-jiang<sup>1,2</sup>, GUO Hui-ling<sup>2\*</sup>, ZENG Hui<sup>2</sup>, JIN Xin<sup>2</sup>, ZHAO Xiao-juan<sup>2</sup>, YAN Bai-yi<sup>2</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** Through analysis HPLC fiberprint and pharmacological effect data of different processed products of Cyperi Rhizoma, application PLS and BP-ANN model to associate total peak area of HPLC fingerprint and pharmacodynamics effect of anti-dysmenorrhea from different processed products of Cyperi Rhizoma, then to screen major effective ingredients of Cyperi Rhizoma. **Method:** Using PLS for data processing, BP-ANN model was established by the neural network toolbox in MATLAB, MIV of various factors were calculated, relative importance sequence of various factors for corresponding variable (pharmacological effect) was listed by according to MIV, then to screen major effective ingredients of anti-dysmenorrhea in Cyperi Rhizoma. **Result:** There were sixteen common peaks in eleven groups of Cyperi Rhizoma samples, compositions of each peak were assumed X1, X2, X3, X4, X5, X6, X7, X8, X9, X10, X11, X12, X13, X15, X16. Sequence of major effective ingredients for effect of Cyperi Rhizoma on writhing inhibition rate in mice dysmenorrhea model was X13, X15, X7, X16, sequence of major effective ingredients on muscle tension inhibition rate in mice isolated uterine contraction model was X15, X13, X5, X16, which were induced by oxytocin. **Conclusion:** Through relevance analysis of HPLC fingerprint total peak and pharmacodynamics effect by PLS and BP-ANN model, it was able to

**[收稿日期]** 20130426(002)

**[基金项目]** 江西省科技厅青年科学基金项目(20132BAB215028)

**[第一作者]** 胡律江, 博士, 讲师, 从事中药制剂新技术研究, Tel: 13767104131, E-mail: 380085581@qq.com

**[通讯作者]** \* 郭慧玲, 学士, 教授, 从事中药制剂新技术研究, Tel: 13870934562, E-mail: ghl6262@126.com

screen major effective ingredients in Cyperi Rhizoma.

[Key words] Cyperi Rhizoma; MIV; BP-ANN model; effective ingredients; artificial neural network

人工神经网络(ANN)是一门集神经科学、信息科学、计算机科学于一体的交叉性边缘学科,是一种模拟人类大脑思维方式的数学模型,由大量处理单元(神经元)互相连接组成的大规模、非线性、自适应系统。通过模拟人的智能行为,对样本数据信息的不断训练学习,可拟合输入和输出间的复杂、不确定联系,其处理非线性问题的能力高于传统统计分析<sup>[1-3]</sup>,近年被广泛应用于药学研究领域<sup>[4-7]</sup>。本实验采用神经网络中应用较广的 BP 神经网络对香附不同炮制品中所含成分 HPLC 共有峰的峰面积及其对应的药理效应进行建模分析,评价各影响因素的重要程度,筛选香附治疗痛经的主要效应成分。

### 1 材料

ZN1-1W 型电热套(巩义市予华仪器有限责任公司),HH-4 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(美国戴安,PDA-3000 型检测器,CHROMELEON 色谱工作站)。香附饮片(江西药都樟树中药饮片有限公司,批号 11020105,经本校鉴定教研室付小梅教授鉴定为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎),石油醚(60~90℃,天津市恒兴化学试剂制造有限公司),甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 供试品溶液的制备** 称取香附生品、醋制品、四制品、四制各工艺过程样品<sup>[8]</sup>及四制香附有效部位样品粉末各 4 g,加入 8 倍量 95% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,滤过,用 95% 乙醇定容至 100 mL,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

**2.2 色谱条件**<sup>[9]</sup> Diamonsil C<sub>18</sub>(2) 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),检测波长 250 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 20 μL,柱温室温,流动相甲醇(A)-水(B)梯度洗脱(0~10 min,30%~70% A;10~45 min,70%~100% A;45 min,100% A)。

**2.3 数据的采集与预处理** 精密量取 2.1 项下各供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件进行测定,对香附不同炮制品的 HPLC 指纹图谱共有峰的峰面积与对应的药理效应数据进行分析,以各共有峰的峰面积为影响因素,作为模型的输入,药理效应(抑制率)为应变量指标,作为模型的输出,利用 Matlab 7.14 软件对 BP 人工神经网络模型进行构建、训练及模

拟,建立 BP-ANN 模型,根据平均影响值(MIV)对香附的各有效成分进行评价。根据 HPLC 指纹图谱,找出 11 组样品的 16 个共有峰,假设各峰的成分分别为 X1,X2,X3,X4,X5,X6,X7,X8,X9,X10,X11,X12,X13,X14,X15,X16,共有峰的峰面积和样品的药理效应<sup>[10-11]</sup>数据见表 1。

应用偏最小二乘法(PLS)对各共有峰的峰面积及其对应的药理效应抑制率进行关联,见图 1~2,筛选出对抑制率有正相关的指纹图谱共有峰为 X4,X5,X6,X7,X11,X13,X15,X16。

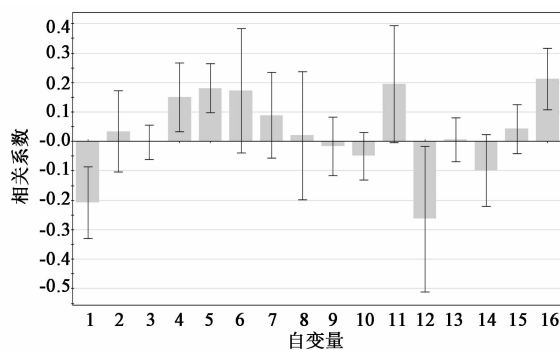


图 1 在体痛经模型香附不同炮制品 PLS 分析 Coefficient Plot

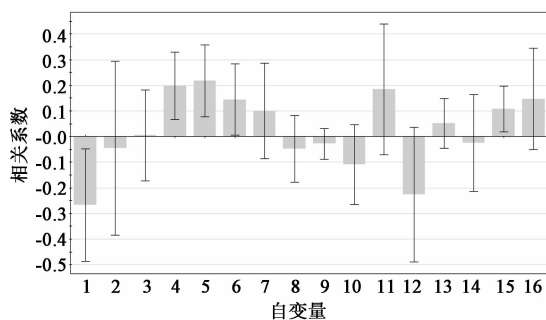


图 2 离子子宫肌张力收缩模型香附不同炮制品 PLS 分析 Coefficient Plot

**2.4 数据的归一化与反归一化处理** 对训练样本输入层的数据采用 premmx 函数变换为[-1,1]区间内的新数据,输出层的数据采用 postmmx 函数进行反归一化。

**2.5 网络结构的确定** 以 PLS 法筛选出的香附各组别中具有统计意义的共有峰成分为 X4,X5,X6,X7,X11,X13,X15,X16 号峰作为神经网络 X 的输入,分别以对应的药理效应抑制率作为神经网络 Y 的输出。网络隐含层节点数的选取按以下公式初步确定<sup>[12]</sup>。

$$n = \sqrt{n_i + n_o} + a$$

表 1 香附不同炮制品 HPLC 共有峰的峰面积与药理效应抑制率试验数据

共有峰成分	生香附	醋香附	四制香附	a-1	a-2	a-3	a-4	a-5	a-6	石油醚部位	乙酸乙酯部位
X1	8.890	25.644	21.459	12.550	15.132	10.830	12.491	9.554	21.938	0.973	6.298
X2	2.486	2.968	3.523	2.984	3.974	3.326	2.992	2.479	3.032	1.843	1.481
X3	1.036	1.331	1.472	1.381	1.540	2.461	1.326	1.065	1.424	0.650	1.307
X4	3.512	4.374	4.767	4.231	4.746	3.769	3.726	3.706	4.096	2.035	2.334
X5	2.711	3.036	3.642	3.102	3.382	2.634	3.009	3.054	3.412	1.492	1.705
X6	2.052	2.215	3.030	2.427	2.425	2.197	2.247	2.441	2.793	1.426	0.544
X7	4.280	5.673	5.925	5.397	5.714	4.613	4.833	4.511	5.322	2.780	2.776
X8	2.962	3.533	4.968	3.814	4.063	3.170	2.914	3.409	3.862	1.652	1.510
X9	3.897	4.163	5.713	4.883	5.118	3.742	3.803	4.460	4.068	2.130	2.035
X10	9.357	7.075	9.766	8.305	7.007	8.445	8.399	7.454	8.176	1.984	7.452
X11	3.084	3.769	3.793	3.476	3.610	3.194	3.280	3.302	3.767	2.857	1.192
X12	1.957	2.266	1.875	1.839	1.974	1.937	2.031	2.071	2.476	1.689	1.234
X13	53.730	59.942	63.167	59.143	64.773	49.544	52.046	54.524	59.575	38.421	11.633
X14	1.919	2.294	2.162	2.363	1.782	1.970	2.025	1.987	1.862	1.348	0.527
X15	84.212	98.592	97.903	97.305	103.090	86.113	86.704	83.030	91.478	67.510	16.136
X16	7.064	10.180	11.523	10.079	11.275	3.653	13.082	13.201	15.089	7.746	2.818
药理效应 Y1	0.458	0.542	0.560	0.523	0.350	0.478	0.666	0.701	0.643	0.707	0.527
效应 Y2	0.341	0.378	0.770	0.699	0.625	0.615	0.621	0.737	0.650	0.859	0.559

注:Y1 为香附不同炮制品对缩宫素所致小鼠在体痛经模型扭体反应抑制率;Y2 为香附不同炮制品对缩宫素所致小鼠离体子宫肌张力抑制率;a-1,a-2,a-3,a-4,a-5,a-6 分别为香附炮制工艺各过程的样品<sup>[8]</sup>。

其中  $n$  为隐含层节点数,  $n_i$  为输入层节点数,  $n_o$  为输出层节点数;  $a$  为 1 ~ 10 间的常数。依据误差较小和隐含层节点数较少的原则, 选择隐含层节点数为 6 个。采用 BP-ANN 模型的结构为 8-6-1, 其中 8 为输入层节点数, 6 为隐含层节点数, 1 为输出层节点数, 见图 3。输入层和隐含层的传输函数采用双曲正切 S 型函数 (tansig), 隐含层和输出层的传输函数采用线性函数 (purelin)。

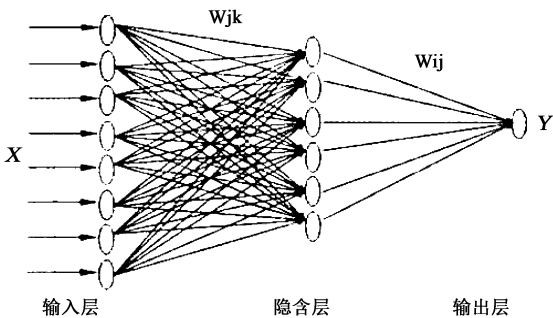


图 3 香附共有峰峰面积与抑制率关系的 BP-ANN 模型

$X$  为输入向量,  $Y$  为输出向量,  $W_{jk}$  为输入层第  $k$  个神经元与隐含层第  $j$  个神经元之间的连接权重,

$W_{ij}$  为隐含层第  $j$  个神经元与输出层第  $i$  个神经元之间的连接权重。

**2.6 网络的训练** 采用 LM (levenberg-marquardt) 算法修改网络的权值和阈值。通过反复训练直到训练误差逐步下降至最小均方误差 (MSE)。设定的最小均方误差为 0.000 01, 迭代次数选择 100。训练后的误差曲线见图 4 ~ 5, 显示训练次数分别为 19, 23 次后, 最小误差达到训练目标, 模型收敛。

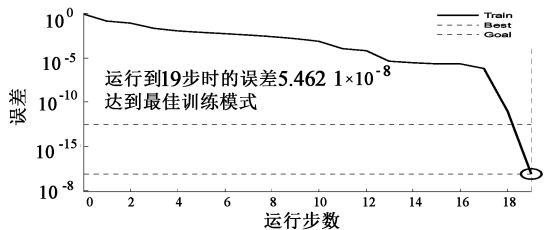


图 4 香附共有峰峰面积与小鼠扭体反应抑制率关系的训练误差曲线

**2.7 峰面积对药理效应抑制率影响的相对重要性** 采用 MIV 评价。通过对所有训练样本的每一个输入变量的值分别  $\pm 10\%$  后, 根据输出值的变化情况以确定输入神经元 (各种成分的峰面积) 对输

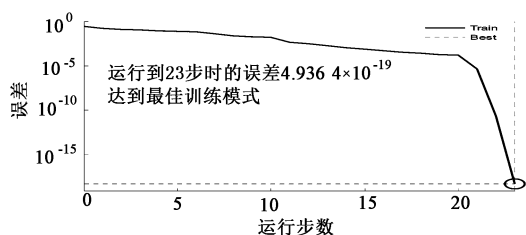


图 5 香附共有峰相对峰面积与小鼠离体子宫肌张力抑制率关系的训练误差曲线

出神经元(抑制率)影响的大小。每一种成分的峰面积的 MIV 值为所有训练样本输出变量变化的平均值,其符号代表相关的方向(正负效应),绝对值大小代表影响的相对重要性,结果见表 2,3。

表 2 在体痛经模型中香附共有峰成分峰面积平均影响值及排序

共有峰成分	MIV	位次
X4	-0.002 3	5
X5	-0.003 2	6
X6	-0.003 4	7
X7	0.007 4	3
X11	-0.004 4	8
X13	0.100 9	1
X15	0.026 5	2
X16	0.002 6	4

表 3 离体子宫肌张力收缩模型中香附共有峰成分峰面积平均影响值及排序

共有峰成分	MIV	位次
X4	0.009 9	5
X5	0.014 5	3
X6	0.009 4	6
X7	0.001 9	7
X11	-0.019 5	8
X13	0.221 1	2
X15	0.457 9	1
X16	0.011 2	4

### 3 讨论

香附药材所含成分较为复杂,目前已知含有的化学成分包括挥发油类、三萜类、生物碱类、黄酮类、甾醇类、糖类<sup>[13]</sup>,仅通过 BP-ANN 难以训练出合适的模型。故本实验首先采用 PLS 进行预处理,筛选出对抑制率有正相关的指纹图谱共有峰,再将筛选出的共有峰进行训练,建立 BP-ANN 模型,结果证明该方法可行。

选取 PLS 和 BP-ANN 模型相结合的方法,对香附不同炮制品的 HPLC 指纹图谱共有峰与调经止痛

药理效应进行关联性分析,以 MIV 值大小进行排序,确立各因素对药理效应抑制率的重要性排序,从而揭示其调经止痛药效物质基础。

由表 2~3 可知,在体痛经模型中效应成分对小鼠扭体抑制率影响的重要性为 X13 > X15 > X7 > X16;离体子宫肌张力收缩模型中效应成分对子宫肌张力抑制率影响的重要性为 X15 > X13 > X5 > X16。通过比较分析,可初步推断 X13, X15 和 X16 为香附治疗痛经的主要效应成分,而 X5 和 X7 间差异性的原因可能与成分在体内的吸收机制有关,有待进一步探讨、确定。

### [参考文献]

- [1] Snow P B, Kerr D J, Brandt J M, et al. Neural network and regression predictions of 5-year survival after colon carcinoma treatment[J]. Cancer, 2001, 91(S8): 1673.
- [2] Santos-García G, Varela G, Novoa N, et al. Prediction of postoperative morbidity after lung resection using an artificial neural network ensemble[J]. Artif Intell Med, 2004, 30(1): 61.
- [3] 王晓海,吴志刚. 国外计算机科学经典教材·数据挖掘:概念、模型、方法和算法[M]. 2版. 北京:清华大学出版社, 2013:43.
- [4] 李睿,相秉仁. 神经网络在药动学/药效学研究中的应用[J]. 药学进展, 2000, 24(2): 97.
- [5] 耿利娜,李静. 神经网络法在使用裂解气相色谱鉴别中草药中的应用[J]. 分析化学, 2000, 28(5): 549.
- [6] 高守国,屈凌波. 神经网络用于特征提取及其在牛黄鉴别中的应用[J]. 计算机与应用化学, 2000, 17(1): 105.
- [7] 袁景淇,沈云岐. 生物制药生产中的在线产量预测及经济效益优化[J]. 中国抗生素杂志, 1999, 24(3): 161.
- [8] 胡志方,谢颖,胡律江,等. 香附不同炮制品的品质比较[J]. 江西中医学院学报, 2010, 22(6): 48.
- [9] 胡志方,谢颖,胡律江,等. 基于高效液相色谱法的建昌帮四制香附指纹图谱相似度评价[J]. 江西中医学院学报, 2011, 23(5): 45.
- [10] 胡律江,郭慧玲,胡志方,等. 建昌帮四制香附对小鼠痛经模型的影响[J]. 江西中医药, 2011, 42(12): 66.
- [11] 胡律江,郭慧玲,赵晓娟,等. 香附不同炮制品的药理效应实验比较[C]. 深圳:全国中药复方配伍及新药物研发及应用研讨会, 2012:147.
- [12] 周开利,康耀红. 神经网络模型及其 MATLAB 仿真程序设计[M]. 北京:清华大学出版社, 2005: 35.
- [13] 徐燕,李大祥,凌铁军,等. 香附化学成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11): 214.

[责任编辑 仝燕]