

20 种中药水溶性糖 GC/MS 指纹图谱与寒热药性的 Fisher 判别分析

周正礼¹, 李峰^{1*}, 胡平²

(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东大学公共卫生学院, 济南 250014)

[摘要] 目的:探讨中药寒热药性与水溶性糖的相关性,进一步阐明中药四性与物质基础的关系。方法:选取 10 种寒性中药和 10 种热性中药,提取水溶性糖,分别加入盐酸羟胺、吡啶和乙酸酐进行乙酰化反应,测定水溶性糖的 GC/MS 指纹图谱,利用 Fisher 方法建立判别函数,分析实验结果。结果:Fisher 判别函数实现了对 20 种中药寒热药性的准确识别,组内回代一致率为 100%。结论:Fisher 可以作为判别中药寒热药性与水溶性糖关系的统计学工具,水溶性糖是中药寒热药性的物质基础之一。

[关键词] 水溶性糖;寒热药性;气相色谱-质谱指纹图谱;Fisher 分析

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0041-04

GC/MS Fingerprints and Fisher Discrimination Analysis on Water-soluble Sugar from 20 Chinese Herbs with Cold and Heat Properties

ZHOU Zheng-li¹, LI Feng^{1*}, HU Ping²

(1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;

2. School of Public Health Shandong University, Jinan, 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the relationship between water-soluble sugar and cold-heat properties and further reveal correlations of four properties and material basis. **Method:** Water-soluble sugars were purified from 10 herbs with cold properties and 10 herbs with heat properties. After acetylation, GC/MS fingerprints of water-soluble sugars were determined and the results were analyzed by Fisher. **Result:** Discriminant function had been established by Fisher. The Fisher discriminant analysis could distinguish the cold and heat properties between 20 herbs that the back substitution in group was 100%. There was difference between the drugs with cold and heat properties in the GC/MS fingerprints, which corresponded to the different water-soluble sugars in the cold and heat herbs. **Conclusion:** The Fisher analysis could differentiate the herbs with cold and heat properties, and it was an effective statistical tool to study the relationship between the cold and heat properties by water-soluble sugar. It concludes that the water-soluble sugar is one of the material basis of four properties of herbs.

[Key words] water-soluble sugar; cold and heat properties; GC/MS fingerprints; Fisher analysis

[收稿日期] 20100106(003)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)

[第一作者] 周正礼, Tel: 13969023889, E-mail: zzl_314@163.com

[通讯作者] *李峰,教授,山东中医药大学博士生导师,研究方向中药质量控制与资源研究, Tel: 0531-896228172

中药药性理论是中药的灵魂,是中医、中药衔接的桥梁,是临床应用的纲领,是保持中医特色、发挥中医优势的关键环节^[1]。中药药性的现代研究以四性与物质基础的研究最为突出,目前关于中药药性的物质基础研究主要集中于次生代谢产物,而对初生物质与中药四性关系的研究较少,本文通过参考相关文献^[2-3]中测定糖类物质的方法,并加以改进。

测定 20 种中药水溶性糖的 GC/MS 指纹图谱,利用 Fisher 线性判别分析,探讨中药寒热药性与水溶性糖类成分的相关性。

1 材料

1.1 药材 统一购置符合药典规定的 20 种中药实验样品,经山东中医药大学中药鉴定学教研室李峰教授鉴定,均为道地药材,见表 1。

表 1 20 种中药实验样品

中文名称	英文名称	性质	采样地区
知母	Rhizoma Anemarrhenae	寒	河北省
栀子	Fructus Gardeniae	寒	江西省
淡竹叶	Herba Lophatheri	寒	浙江省
黄柏	Cortex Phellodendri	寒	四川省
黄连	Rhizomae Coptidis	寒	重庆市
秦皮	Cortex Fraxini	寒	辽宁省
金银花	Flos Lonicerae	寒	山东省
大青叶	Folium Isatidis	寒	河北省
蒲公英	Herba Taraxaci	寒	山东省
大黄	Radix et Rhizoma Rhei	寒	甘肃省
附子	Radix Aconiti Lateralis Praeparata	热	四川省
肉桂	Cortex Cinnamomi	热	广西省
干姜	Rhizoma Zingiberis	热	四川省
吴茱萸	Fructus Evodiae	热	贵州省
高良姜	Rhizoma Alpiniae Officinarum	热	广东省
胡椒	Fructus Piperis	热	海南省
荜茇	Fuctus Piperis longi	热	海南省
仙茅	Rhizoma Curculiginis	热	四川省
淫羊藿	Herba Epimedii	热	陕西省
杜仲	Cortex Eucommiae	热	四川省

1.2 仪器与试剂 GC6890N/5975I 型气相色谱/质谱联用仪(美国安捷伦公司);RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);三氟乙酸和盐酸羟胺(国药集团化学试剂有限公司);吡啶(天津市广成化学试剂有限公司);乙酸酐(淄博化学试剂厂);以上试剂均为 AR 级。

2 方法与结果

2.1 水溶性糖的提取 取 5.0 g 药材置于索式提取器中,圆底烧瓶中依次加入 20 倍的石油醚,20 倍的乙醚回流 2 h,分别挥干溶剂后干燥,加入 200 mL 蒸馏水 100 ℃ 回流 2h,过滤后药渣再加入 200 mL 蒸馏水 100 ℃ 回流 2 h,合并 2 次滤液,60 ℃ 减压浓缩至干,于烘箱中 110 ℃ 干燥 3 h,放入硅胶干燥器中。

2.2 色谱条件 DB-5 型石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m,0.25 μm);进样口温度 250 ℃;流量 1 mL·min⁻¹;升温程序 195 ℃ 保持 3 min,8 ℃·min⁻¹ 升温至 250 ℃,250 ℃ 保持 6 min;质谱 EI 源,电离电压 70 eV;检测器 FID 检测器,温度 220 ℃;进样量 0.2 μL,分流比 30:1,扫描范围 m/z 20 ~ 600。

2.3 供试品溶液的制备 取上述干燥品 10 mg,于 90 ℃ 烘箱中干燥 12 h 除尽水分,加入 10 mg 盐酸羟胺,0.6 mL 吡啶 90 ℃ 水浴 30 min,冷却后加入 1.6 mL 乙酸酐继续 90 ℃ 水浴反应 30 min,备用。

2.4 GC/MS 指纹图谱 供试品溶液 GC/MS 指纹图谱,见图 1。

3 结果分析

通过碎片分析并查阅标准质谱 NIST2.0 库确定水溶性糖的色谱峰,采集水溶性糖的保留时间和对应的峰面积数据。使用 PAST 统计软件,Fisher 法建立判别函数,计算函数得分,得分为正值时判为寒性中药,负值时判为热性中药,结果显示,20 种中药均判别正确,见表 2。

表 2 Fisher 线性判别分析

名称	判别函数得分	判别前分类	Fisher 预测结果
知母	8.378 1	寒	寒
金银花	0.315 4	寒	寒
淡竹叶	11.842 0	寒	寒
秦皮	7.164 3	寒	寒
蒲公英	6.794 8	寒	寒
大黄	4.223 3	寒	寒
黄柏	4.704 0	寒	寒
栀子	7.164 3	寒	寒
黄连	2.672 3	寒	寒
大青叶	0.385 9	寒	寒
肉桂	-8.435 2	热	热
附子	-5.694 6	热	热
吴茱萸	-2.233 0	热	热
干姜	-9.379 9	热	热
高良姜	-5.702 2	热	热
仙茅	-7.468 9	热	热
荜茇	-4.410 8	热	热
胡椒	-7.291 8	热	热
杜仲	-1.464 5	热	热
淫羊藿	-1.563 2	热	热

注:判别函数的常数项为 -4.611 82,组内回代一致率 100%。

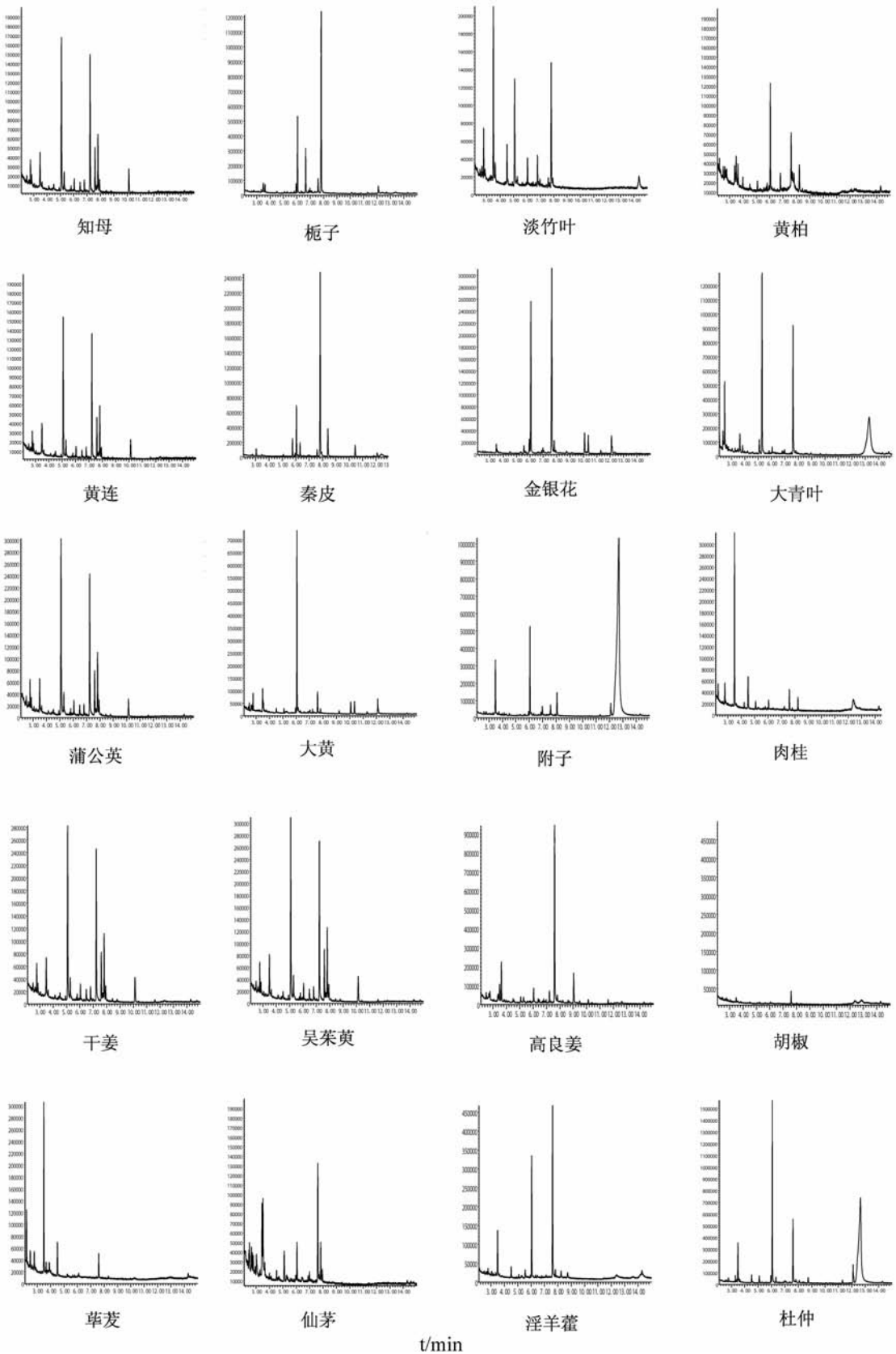


图 1 20 种中药水溶性糖 GC/MS

Fisher 判别效果图显示零坐标以上为寒性中药,得分越高表示其寒性越强;零以下为热性中药,得分越低表示其热性越强,因此是否可以赋予每一味中药一个表示其寒热程度的量值,还需要结合其他物质成分以及临床等多方面综合考虑,寒性中药和热性中药水溶性糖类成分有明显的不同,图 2。

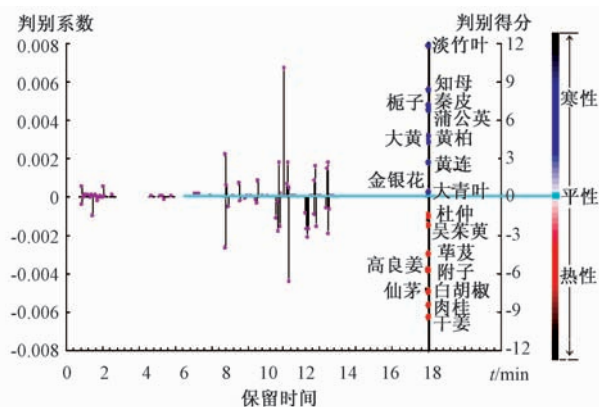


图 2 20 种中药 Fisher 判别效果

4 讨论

Fisher 判别规则是一个线性函数,从原样本的组内回代可以判断判别的准确性,适用于 2 类判别分析^[4-5]。Fisher 对 20 味中药的寒热药性进行了正确的识别,但是对于寒热程度的判别却存在一定误差。例如,附子属于大热,其程度明显高于其他中

药,而 Fisher 判别的结果却显示干姜的热性最强,这可能与样本量太小有关。如果扩大样本量,重新建立判别函数,可能达到更好的判别效果。进一步分析其他初生物质,建立初生物质与寒热药性判别体系,可以更好地研究中药四性与物质基础的关系,从而科学地表征中药药性理论,为中医药走向世界作出贡献。

[参考文献]

- [1] 邓家刚,秦华珍,秦海光. 中药药性效应及物质基础的文献研究[J]. 河南中医,2007,27(5):82.
- [2] Zhu X L, Gao Y, Chen Z Y, Su Q D. Development of a chromatographic fingerprint of tobacco flavor by Use of GC and GC/MS[J]. Chromatographia,2009,69(7):735.
- [3] Lothar B, Daniel W, Hermann M, et al. Structural and immunological nature of arabinogal-actan polysaccharides from pollen of timothy grass (*Phleum pratense* L.) [J]. Carbohydrate Research,2005,340(4):660.
- [4] 张焱,汤强. Fisher 判别分析法在川金丝猴亚种鉴定中的应用[J]. 生物数学学报,2003,18(2):238.
- [5] 赵旭,阎威武,邵惠鹤,等. 基于核 Fisher 判别分析方法的非线性统计过程监控与故障[J]. 化工学报,2007,58(4):951.

[责任编辑 顾雪竹]