

# 基于灰色关联分析探索艾纳香非挥发性部位的 抗炎活性谱效关系

汪洋, 彭潇, 何燕玲, 孙绪, 马雪, 王广成, 兰燕宇, 李勇军\*

(贵州医科大学民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州省药物制剂重点实验室, 药学院, 贵阳 550004)

**[摘要]** **目的:**研究艾纳香非挥发性部位 UPLC 指纹图谱与抗炎药效之间的相关性,为明确艾纳香抗炎药效物质基础提供实验依据。**方法:**采用 UPLC 建立 12 批艾纳香非挥发性部位的指纹图谱,运用 UPLC-Q-TOF-MS 对艾纳香非挥发性部位的共有指纹峰进行指认,通过二甲苯致小鼠耳廓肿胀炎症模型获取相应的药效数据,通过灰色关联分析建立其谱效关系。**结果:**UPLC 指纹图谱显示艾纳香非挥发性部位有 14 个共有峰,与抗炎药效的关联度处于 0.717 1~0.550 5,各特征峰所代表的化学成分对其抗炎药效贡献的大小顺序为 3 号峰 > 9 号峰 > 4 号峰 > 11 号峰 > 2 号峰 > 1 号峰 > 14 号峰 > 7 号峰 > 6 号峰 > 5 号峰 > 12 号峰 > 8 号峰 > 10 号峰 > 13 号峰,并指认了其中 9 个共有峰,对抗炎药效贡献较大的前 2 个共有峰(3 号和 9 号)对应的化学成分分别为 3-O-咖啡酰基奎宁酸和 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸。**结论:**通过谱效关系研究获得了艾纳香非挥发性部位的抗炎药效物质群,其抗炎药效是多种成分共同作用的结果,明确咖啡酰基奎宁酸类化合物为艾纳香非挥发性部位发挥抗炎药效的主要物质基础。

**[关键词]** 艾纳香; 咖啡酰基奎宁酸类; 抗炎; 灰色关联分析; 谱效关系; 指纹图谱; 正丁醇部位

**[中图分类号]** R22;R24;R28;C37;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)04-0180-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182492

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180928.1400.001.html>

**[网络出版时间]** 2018-09-28 16:03

## Spectrum-effect Relationship of Anti-inflammatory Active Components from Nonvolatile Fraction of *Blumea balsamifera* Based on Gray Correlation Analysis

WANG Yang, PENG Xiao, HE Yan-ling, SUN Xu, MA Xue, WANG Guang-cheng,  
LAN Yan-yu, LI Yong-jun\*

(School of Pharmaceutical Sciences, Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics in Guizhou Province,  
State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Engineering Research  
Center for Development and Application of Ethnic Medicine and Traditional Chinese Medicine,  
Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the correlation between UPLC fingerprint of anti-inflammatory effect of active components from nonvolatile fraction of *Blumea balsamifera*, and to provide the basis for clarifying the anti-inflammatory material basis of *B. balsamifera*. **Method:** UPLC was used to establish fingerprint of nonvolatile fraction of 12 batches of *B. balsamifera* and their common fingerprint peaks were identified by UPLC-Q-TOF-MS. The corresponding pharmacodynamic data were obtained by auricle swelling and inflammation model mice induced

**[收稿日期]** 20180510(011)

**[基金项目]** 贵州省科技成果转化项目(20155201);贵州省优青项目(201511);贵州省创新人才团队项目(20165613/20165677)

**[第一作者]** 汪洋,在读硕士,从事中药药效物质基础及质量控制研究,E-mail:291584813@qq.com

**[通信作者]** \*李勇军,教授,硕士生导师,从事天然产物活性研究,Tel:0851-86908468,E-mail:liyongjun026@126.com

by xylene, and spectrum-effect relationship was established by gray correlation analysis. **Result:** A total of 14 common peaks in nonvolatile fraction of *B. balsamifera* were established by UPLC fingerprint and 9 common peaks of them were identified. The correlation between UPLC fingerprint and the anti-inflammatory activity was from 0.717 1 to 0.550 5. The contribution of chemical compositions represented by each characteristic peak to the anti-inflammatory efficacy was in the order of peak 3 > peak 9 > peak 4 > peak 11 > peak 2 > peak 1 > peak 14 > peak 7 > peak 6 > peak 5 > peak 12 > peak 8 > peak 10 > peak 13, and the top two peaks with strong contribution to anti-inflammatory effect were peak 3 and peak 9, they were 3-*O*-caffeoylquinic acid and 3, 5-di-*O*-caffeoylquinic acid identified by contrast reference substances, respectively. **Conclusion:** The active substances in nonvolatile fraction of *B. balsamifera* are obtained through the study on the relationship between spectrum and efficiency, and the anti-inflammatory efficacy of the nonvolatile fraction is the result of combination of various components. It is clear that the caffeoylquinic acid derivatives act as predominant anti-inflammatory active substance of nonvolatile fraction of *B. balsamifera*.

[**Key words**] *Blumea balsamifera*; caffeoylquinic acid derivatives; anti-inflammation; gray correlation analysis; spectrum-effect relationship; fingerprint; *n*-butanol site

艾纳香夏、秋二季采收,鲜用或阴干,为贵州省少数民族用药<sup>[1]</sup>,亦是贵州许多中成药产品的原料药。具有镇痛、祛风除湿、祛痰止咳等功效,在黎族、苗族、壮族等少数民族地区有着悠久的用药历史<sup>[2]</sup>,多用于治疗风湿性关节炎、皮炎、感冒等疾病<sup>[3]</sup>,以艾纳香药材为主要成分的制剂(如银丹心脑通软胶囊、心胃止痛胶囊等)已经上市<sup>[4-5]</sup>。艾纳香中主要成分为挥发油,挥发油中的 *L*-龙脑, $\beta$ -石竹烯和樟脑等成分具有抗炎、抗菌、抗氧化等生物活性<sup>[6-7]</sup>。

炎症是机体的一种重要的基本病理过程,许多常见病都与其密切相关<sup>[8]</sup>。研究发现艾纳香挥发油对炎症小鼠表现出了较好的抗炎作用,其发挥抗炎作用的机制可能与降低炎症区域前列腺素 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 含量和提高机体抗氧化损伤有关<sup>[9-11]</sup>。艾纳香挥发油已成为了众多研究的关注热点,却忽略其非挥发性部位,有文献报道艾纳香乙醇提取物和提取挥发油后的剩余物等非挥发性成分对炎症也具有一定的抑制作用<sup>[12-13]</sup>,说明艾纳香非挥发性部位仍存在其利用价值,但相关报道较少,且研究处于初步阶段,有必要对该部位进一步研究。中药药谱学已被广泛运用于中药的药效物质基础研究<sup>[14-15]</sup>,通过中药指纹图谱信息与药理学数据关联能将多组分药物的化学组成与中药药效联系起来<sup>[16-18]</sup>。本课题组前期研究表明艾纳香正丁醇部位具有较好的抗炎活性,故本实验从艾纳香正丁醇提取物的 UPLC 指纹图谱与抗炎药效的关系入手,采用灰色关联分析对谱效关系进行研究,从而明确其抗炎药效物质基础,为艾纳香的开发与应用提供实验依据和理论支持。

## 1 材料

1290 Infinity 型超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),microTOF-Q II 型电喷雾-四极杆-飞行时间质谱仪(德国 Bruker 公司),AE240 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

阿司匹林肠溶片(大同市利群药业有限责任公司,批号 161002),二甲苯(重庆川江化学试剂厂,批号 20090628);3-*O*-咖啡酰基奎宁酸,4-*O*-咖啡酰基奎宁酸和 5-*O*-咖啡酰基奎宁酸对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为 151123,150922,150426,纯度均 $\geq 98\%$ );3,4-*O*-二咖啡酰基奎宁酸,3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸和 4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品(中国科学院成都生物研究所,批号分别为 MUST-16031612, MUST-16031611, MUST-16031613,纯度均 $\geq 98\%$ );1,3-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,批号 D15-20130213,纯度 $\geq 98\%$ ),甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯;12 批艾纳香药材均由贵州省望谟县平宇中药材种植农民专业合作社提供,由贵州医科大学药用植物学与生药学教研室龙庆德教授鉴定为菊科植物艾纳香 *Blumea balsamifera* 的干燥全草,具体编号及来源见表 1。

昆明种小鼠,SPF 级,体质量(20 $\pm$ 2) g,雌雄各半,由贵州医科大学实验动物中心提供,许可证号 SYXK(黔)2012-0001,动物实验的开展经过贵州医科大学动物实验伦理委员会审核,批准号 1702082。

## 2 方法与结果

**2.1 艾纳香正丁醇部位的制备** 分别称取艾纳香(切至 3~5 cm 小段)160 g,加 12 倍量 25% 乙醇

表 1 艾纳香药材的来源

Table 1 Source of *Blumea balsamifera*

样品	生态型	批号
S1	小叶艾	A20160820-1
S2		A20161016-1
S3		A20161219-1
S4	野艾	A20160820-2
S5		A20161016-2
S6		A20161219-2
S7	大叶艾	A20160820-3
S8		A20161016-3
S9		A20161219-3
S10	马耳艾	A20161016-4
S11		A20161130-4
S12		A20161219-4

注:产地均为望谟县蔗香乡。

提取 2 次,每次 2 h,滤过,合并滤液后减压浓缩成浸膏;加入 2 倍量水使溶解并混匀,依次加 2 倍量乙酸乙酯、正丁醇萃取,将正丁醇萃取液减压浓缩挥干,得艾纳香正丁醇部位,备用。

**2.2 二甲苯致小鼠耳肿胀试验<sup>[19]</sup>** 取昆明种小鼠 140 只,雌雄各半,随机分为 14 组,每组 10 只,即模型组、阳性药组和 12 批次药材有效组分给药组。模型组给予水,阳性药组按剂量  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  给予阿司匹林肠溶片,给药组给予相应批次艾纳香正丁醇部位提取物,按相应浓度 ( $0.6 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,以生药量计)给药,每日 1 次,给药体积均为  $0.02 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ,连续灌胃给药 7 d。末次给药 45 min 后于小鼠右耳均匀涂布二甲苯  $40 \mu\text{L}$  致炎,左耳不涂作为正常耳。30 min 后脱臼处死,剪下左右两耳,用 6 mm 打孔器取下左右耳片,立即称定质量,分别按公式耳肿胀度 = 右耳质量 - 左耳质量,抑制率 =  $[(\text{模型组耳肿胀度} - \text{给药组耳肿胀度}) / \text{模型组耳肿胀度}] \times 100\%$  计算耳肿胀度及其抑制率。见表 2。

**2.3 不同批次艾纳香正丁醇部位的 UPLC-Q-TOF-MS 分析**

**2.3.1 色谱条件** Agilent Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  色谱柱 ( $2.1 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}, 1.8 \mu\text{m}$ ),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B) 梯度洗脱 (0 ~ 8 min, 5% ~ 20% B; 8 ~ 16 min, 20% B; 16 ~ 21 min, 20% ~ 22% B; 21 ~ 27 min, 22% ~ 35% B; 27 ~ 30 min, 35% ~ 100% B),柱温设定  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,流速  $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,进样量  $10 \mu\text{L}$ 。

表 2 二甲苯致小鼠耳肿胀试验分析 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Analysis of mouse ear swelling test induced by xylene ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	耳肿胀度 $/\text{mg}$	耳肿胀 抑制率/ $\%$
模型	-	$15.32 \pm 0.87$	-
阿司匹林肠溶片	0.6	$9.46 \pm 0.31^{1)}$	38.25
S1	12	$9.67 \pm 0.55^{1)}$	36.88
S2	12	$9.28 \pm 0.35^{1)}$	39.43
S3	12	$10.09 \pm 0.96^{1)}$	34.14
S4	12	$11.88 \pm 0.22^{1)}$	22.45
S5	12	$11.54 \pm 0.71^{1)}$	24.67
S6	12	$10.87 \pm 0.57^{1)}$	29.05
S7	12	$10.76 \pm 0.52^{1)}$	29.77
S8	12	$11.37 \pm 0.55^{1)}$	25.78
S9	12	$10.80 \pm 0.52^{1)}$	29.50
S10	12	$9.65 \pm 0.38^{1)}$	37.01
S11	12	$10.21 \pm 0.52^{1)}$	33.36
S12	12	$9.85 \pm 0.49^{1)}$	35.70

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ 。

**2.3.2 质谱条件** 电喷雾离子源 (ESI),扫描方式为正离子模式扫描 ( $m/z$  50 ~ 1 000),毛细管电压 4.5 kV,锥孔电压 80 V,离子源温度  $110 \text{ }^\circ\text{C}$ ;雾化气 ( $\text{N}_2$ ) 压力设置 0.13 MPa,体积流量  $6 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ,温度  $180 \text{ }^\circ\text{C}$ ;脱溶剂气温度  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ ,气体体积流量  $50 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ ,脱溶剂气体积流量  $550 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ ,准确质量测定采用甲酸钠标准溶液校正。

**2.3.3 指纹图谱建立** 取 2.1 项下制备的各批次艾纳香正丁醇部位,用 50% 甲醇制成生药质量浓度为  $0.02 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的供试品溶液,按 2.3.1 项下色谱条件进样分析,得相应的 UPLC 指纹图谱,以 S4 指纹图谱为参考图谱,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”匹配生成 12 批次艾纳香正丁醇部位共有模式及样品叠加图,得共有峰 14 个,见图 1,各批次样品的共有峰峰面积见表 3。

**2.3.4 共有峰的归属** 在正离子模式下,对艾纳香正丁醇部位分别进行一级质谱和二级质谱采集,获得有效组分及混合对照品的基峰色谱图 (BPC),见图 2。根据总离子流色谱峰得到的精确化合物相对分子质量信息,通过 Compass DataAnalysis SmartFormula Manually 软件得到分子式,对化合物进行初步鉴定,然后选择分子离子峰进行碰撞诱导

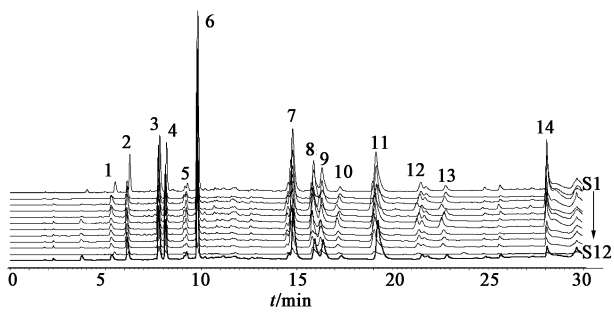


图 1 12 批次艾纳香正丁醇部位的 UPLC 指纹谱共有模式  
Fig.1 Common mode of UPLC fingerprint of *n*-butanol fraction of 12 batches of *B. balsamifera*

表 3 12 批次艾纳香药材正丁醇部位的共有峰峰面积

Table 3 Peak areas of common peaks in *n*-butanol fraction of 12 batches of *B. balsamifera*

样品	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	峰 13	峰 14
S1	276.77	864.33	1 311.86	1 079.11	121.9	4 030.71	2 747.48	1 053.14	1 227.59	207.51	2 506.33	432.9	245.57	1 279.11
S2	106.92	377.86	757.15	477.85	194.43	1 787.35	1 050.68	642.99	406.37	217.19	846.41	309.80	271.90	1 872.44
S3	330.31	729.77	1 605.61	911.36	226.53	3 738.04	2 380.22	2 123.89	1 202.49	304.07	2 421.57	437.34	290.03	2 511.14
S4	207.58	523.40	769.45	732.41	288.87	3 282.77	2 179.45	1 351.17	495.56	247.16	1 857.69	354.96	249.17	1 673.86
S5	322.71	937.46	1 768.38	1 174.37	242.20	4 239.45	2 193.71	1 467.64	974.6	235.41	2 106.60	456.32	282.17	745.89
S6	195.45	476.72	1 430.23	740.73	380.69	2 350.68	1 750.80	1 972.63	683.22	462.02	2 122.74	422.86	453.35	1 330.66
S7	219.42	448.09	1 197.65	638.81	323.06	2 190.47	1 028.82	865.72	727.30	508.38	979.82	458.37	501.19	1 581.01
S8	180.26	730.24	1 060.89	1 130.15	187.91	3 246.33	1 211.26	689.36	447.64	176.27	1 152.35	247.78	246.62	402.23
S9	154.52	569.05	1 304.88	760.16	199.60	2 009.76	2 262.32	1 501.06	1 113.54	196.94	2 505.88	263.15	172.63	571.25
S10	149.29	677.70	1 127.16	623.05	128.27	1 365.16	1 153.40	560.29	929.16	141.25	1 116.45	190.80	164.46	795.42
S11	151.31	482.30	1 267.67	764.41	242.22	1 922.68	2 691.27	1 250.50	1 138.22	132.85	2 872.45	202.19	124.22	669.42
S12	205.87	670.74	1 494.56	987.76	219.68	2 377.66	1 187.38	1 027.60	1 032.16	173.98	2 516.08	211.43	196.01	475.67

解离,通过二级质谱的裂解,获得化合物的离子碎片,结合对照品和文献[20-23]进一步推测,对 14 个共有峰进行归属,共归属出 9 个成分,见表 4。

**2.3.5 鉴定化合物分析** 利用 Compass DataAnalysis SmartFormula Manually 软件,对 1~4 号峰进行处理,得分子式均为  $C_{16}H_{18}O_9$ ,初步推测为单取代咖啡酰基奎宁酸,二级质谱有  $m/z$  377  $[M + Na]^+$ ,  $m/z$  163  $[C_9H_6O_3 + H]^+$  等碎片离子,通过对对照品比对结合文献[20-21]报道,确定 2 号峰为 5-*O*-咖啡酰基奎宁酸,3 号峰为 3-*O*-咖啡酰基奎宁酸,4 号峰为 4-*O*-咖啡酰基奎宁酸,结合文献[22]报道,

确定 1 号峰为 1-*O*-咖啡酰基奎宁酸。对 6~9,11 号峰进行处理,得分子式均为  $C_{25}H_{24}O_{12}$ ,推测为双取代咖啡酰基奎宁酸,二级质谱有  $m/z$  539  $[M + Na]^+$ ,  $m/z$  499  $[M + H - H_2O]^+$ ,  $m/z$  355  $[M + H - C_9H_6O_3]^+$  等离子碎片,通过对对照品比对结合文献[20-22]报道,确定 6 号峰为 1,3-*O*-二咖啡酰基奎宁酸,7 号峰为 3,4-*O*-二咖啡酰基奎宁酸,9 号峰为 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸,11 号峰为 4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸,结合文献[23]报道,确定 8 号峰为 1,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸。其中 5,10,12~14 号碎片离子峰未能解析与鉴定。

**2.4 UPLC 指纹图谱与抗炎作用的灰色关联分析**<sup>[24-26]</sup> 采用 Microsoft Office Excel 2003 进行关联度计算。在系统中由于各因素的物理意义不同,导致数据量纲上的不统一,便于比较,在进行灰色关联分析时,一般需将原始数据进行无量纲化,采用归一化法,按公式 1 进行无量纲化处理,按公式 2 计算关联系数( $\eta$ ),按公式 3 计算关联度。

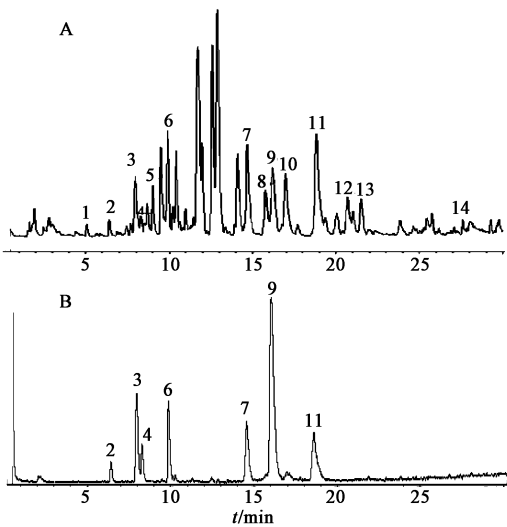


图 2 艾纳香样品 S4 正丁醇部位 (A) 和混合对照品溶液 (B) 在正离子模式的 BPC  
Fig.2 BPC chromatograms of *n*-butanol fraction of *B. balsamifera* (A, sample S4) and mixed reference solution (B) under positive model

表 4 艾纳香正丁醇部位 UPLC-Q-TOF-MS 特征图谱中共有峰的鉴定

Table 4 Identification of common peaks in characteristic chromatograms of *n*-butanol fraction of *B. balsamifera* by UPLC-Q-TOF-MS

峰号	$t_R/\text{min}$	$[M+H]^+$	二级质谱	分子式	化合物
1	5.0	355.101 3	377.083 8, 163.035 3	$C_{16}H_{18}O_9$	1- <i>O</i> -咖啡酰基奎宁酸
2 <sup>1)</sup>	6.4	355.103 3	377.089 7	$C_{16}H_{18}O_9$	5- <i>O</i> -咖啡酰基奎宁酸
3 <sup>1)</sup>	8.0	355.109 1	377.088 7	$C_{16}H_{18}O_9$	3- <i>O</i> -咖啡酰基奎宁酸
4 <sup>1)</sup>	8.3	355.103 9	377.085 8	$C_{16}H_{18}O_9$	4- <i>O</i> -咖啡酰基奎宁酸
5	9.0	411.162 1	227.129 7	-	未鉴定
6 <sup>1)</sup>	9.9	517.137 3	355.103 2	$C_{25}H_{24}O_{12}$	1,3- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸
7 <sup>1)</sup>	14.7	517.135 9	539.121 5, 355.105 7	$C_{25}H_{24}O_{12}$	3,4- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸
8	15.8	517.137 5	539.122 2, 499.125 9, 355.103 4	$C_{25}H_{24}O_{12}$	1,5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸
9 <sup>1)</sup>	16.2	517.139 2	539.118 4, 499.125 5, 355.117 2	$C_{25}H_{24}O_{12}$	3,5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸
10	17.0	415.782 4	397.313 2, 113.437 2	-	未鉴定
11 <sup>1)</sup>	18.8	517.137 2	539.119 4, 499.126 2, 355.100 1	$C_{25}H_{24}O_{12}$	4,5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸
12	20.7	453.358 3	325.098 7	-	未鉴定
13	21.5	463.065 0	362.197 5	-	未鉴定
14	28.1	509.901 4	479.177 5, 439.231 7	-	未鉴定

注: <sup>1)</sup> 通过与对照品比较后确认。

$$\text{无量纲化 } X = \frac{x - \min}{\max - \min} \quad (1)$$

$$\eta(k) = [\min_{\min} |X(k) - X_i(k)| + \rho_{\max} |X(k) - X_i(k)|] / [ |X(k) - X_i(k)| + \rho_{\max} |X(k) - X_i(k)| ] \quad (2)$$

$$\text{关联度} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n \eta \quad (3)$$

选用艾纳香正丁醇部位小鼠耳廓肿胀抑制率为参考序列(母序列),记为  $\{X(k)\}$ ;艾纳香正丁醇部位 UPLC 指纹图谱共有峰峰面积为比较序列(子序列),记为  $\{X_i(k)\}$ ;式中  $X$  为无量纲化处理后的数据; $x$  为原始数据; $\min$  为该组数据的最小值; $\max$  为该组数据的最大值; $k$  为不同批次编号; $i$  为峰号; $\rho$  为分辨系数,在 0~1 取值, $\rho$  越小表示关联系数间差异越大,区分能力越强,通常  $\rho$  取 0.5; $\min_{\min} |X(k) - X_i(k)|$  为母序列与子序列绝对差值的最小值; $\max_{\max} |X(k) - X_i(k)|$  为母序列与子序列绝对差值的最大值; $n$  为子序列数据个数;通过灰色关联度分析得到各共有峰与艾纳香抗炎药效的关联度,见表 5。结果发现艾纳香正丁醇部位中各共有峰与抗炎药效关联度均  $>0.55$ ,表明各共有峰与抗炎药效均具有一定的关联性,且抗炎活性是成分群共同的作用结果,其中 3 号峰(3-*O*-咖啡酰基奎宁酸)和 9 号峰(3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸)关联度最大,对艾纳香的抗炎药效贡献最大,推测艾纳香抗炎活性物质群为咖啡酰基奎宁酸类化合物。

表 5 艾纳香正丁醇部位各共有峰与抗炎药效的关联度分析

Table 5 Analysis of correlation between each common peak and anti-inflammatory efficacy of *n*-butanol fraction of *B. balsamifera*

关联序	峰号	关联度	关联序	峰号	关联度
1	3	0.717 1	8	7	0.606 6
2	9	0.714 8	9	6	0.604 6
3	4	0.693 3	10	5	0.577 9
4	11	0.653 1	11	12	0.574 9
5	2	0.650 7	12	8	0.570 0
6	1	0.640 5	13	10	0.559 8
7	14	0.631 6	14	13	0.550 5

### 3 讨论

炎症是机体的一种重要的基本病理过程,许多常见病都与炎症密切相关,因此评价药物抗炎效果,揭示其抗炎药效物质基础,对于抗炎药的开发与应用显得尤为重要。谱效关系是通过数学统计方法分析指纹图谱中化学成分变化与药效信息相关性的一种数据处理方法,以此确定与药效相关的化学成分群。目前,谱效关系研究的数据分析处理方法主要有相关分析、聚类分析、回归分析、灰色关联分析及图谱比对分析等,其中灰色关联分析是运用灰色关联顺序描述因素间大小、强弱、次序的方法,通过灰色关联分析可以确定系统因素间的影响程度或因素对系统主行为贡献的测度,近年来在中药材药效物质基础研究领域已被广泛应用<sup>[27-28]</sup>。

当前,有关艾纳香的基础研究多集中于其挥发性成分,而本文着重研究其非挥发性成分,通过上述研究获得艾纳香正丁醇部位指纹图谱各共有特征峰面积和对小鼠耳肿胀抑制程度的药效数据,采用灰色关联分析,以关联度作为评价指标,确定了各共有峰对抗炎药效的贡献大小。本实验鉴定的共有峰均为咖啡酰基奎宁酸类化合物,通过灰色关联分析研究了共有峰与抗炎活性之间的关系,其中 3-*O*-咖啡酰基奎宁酸和 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸的抗炎药效关联度最大,是艾纳香非挥发性部位主要抗炎活性物质,其余 7 个色谱峰均与抗炎活性相关联,推测咖啡酰基奎宁酸类化合物为艾纳香抗炎药效物质群。已有研究表明咖啡酰基奎宁酸类化合物具有抗炎活性,是一些植物发挥抗炎药效的主要物质基础<sup>[29-32]</sup>,与本研究结果较为符合。

综上所述,艾纳香的抗炎作用不仅仅与挥发性成分有关,还受非挥发性部位中的其他成分影响,是多种成分共同作用的结果,咖啡酰基奎宁酸类化合物为非挥发性部位的主要抗炎药效物质群,可作为艾纳香质量控制的指标成分,为艾纳香的后续开发与利用提供实验依据。本研究初步揭示了艾纳香非挥发性部位的抗炎药效物质基础,但在总离子流图谱中还有一些强峰未能鉴定,说明艾纳香非挥发性部位的抗炎过程中还有一些未知化合物参与,这有待后续进行分离与鉴定,同时,咖啡酰基奎宁酸类化合物在艾纳香抗炎过程中的相关药理机制也有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2003:118.  
[2] 官玲亮,庞玉新,王丹,等. 中国民族特色药材艾纳香研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(4):695-698.  
[3] 陈铭. 艾纳香的活性成分研究[D]. 上海:上海交通大学,2009.  
[4] 吴镝,解朝霞,吴波. 银丹心脑通软胶囊治疗心脑血管疾病的疗效分析[J]. 中国医药指南,2012,10(12):274-275.  
[5] 王嵩,赵永恒,周毅生,等. 艾纳香的研究进展及其研究价值探讨[J]. 中国现代中药,2014,16(11):953-956.  
[6] 吴丽芬. 艾纳香提取物质量标准与 GC 指纹图谱的研究[D]. 广州:广东药学院,2015.  
[7] 庞玉新,袁蕾,王中洋,等. 艾纳香不同部位提取物的

抗氧化活性及其对酪氨酸酶的抑制作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(18):4-8.  
[8] 杨巧芳,孟庆刚. 炎症动物模型探要[J]. 中华中医药学刊,2008,26(3):516-517.  
[9] 李波. 艾叶油的抗炎活性研究[D]. 晋中:山西农业大学,2013.  
[10] 马青松,王丹,庞玉新,等. 艾纳香油对小鼠耳肿胀的抗炎效果[J]. 贵州农业科学,2016,44(4):100-102.  
[11] 赵桂芝,王绪平,俞忠明,等. 艾叶挥发油对耳肿胀急性炎症模型小鼠的抗炎作用研究[J]. 浙江中医杂志,2016,51(4):288-289.  
[12] 李小芬,吴红梅,杨焯,等. 贵州不同产地艾纳香药材抗炎作用比较[J]. 时珍国医国药,2018,29(1):200-201.  
[13] 夏嫵,李祥,陈建伟. 艾纳香叶废弃物镇痛、抗炎、止血活性的初步研究[J]. 天然产物研究与开发,2015,27(6):1086-1091.  
[14] ZHU C S, ZHANG B, LIN Z J, et al. Relationship between high-performance liquid chromatography fingerprints and uric acid-lowering activities of *Cichorium intybus* L. [J]. *Molecules*, 2015, 20(5):9455-9467.  
[15] 于海帅. 基于主成分分析、聚类分析和典型相关分析的漏芦抗胃癌谱效关系探索[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(21):27-31.  
[16] 刘莉,李文兰,丁晶鑫. 基于“谱-效”相关的中药药效物质基础研究方法[J]. 天然产物研究与开发,2013,25(3):410-415.  
[17] 谭振鹏,夏英杰,王柳萍,等. 中药谱效关系研究进展[J]. 中国民族民间医药,2013,22(2):20-22.  
[18] 张颖. 中药谱效关系在中药研究中的现状与展望[J]. 黑龙江医药,2010,23(5):755-758.  
[19] 杨焯. 伸筋草、艾纳香等四味药材化学指纹图谱整体性和模糊性的质量评价研究[D]. 贵阳:贵阳中医学院,2014.  
[20] Correa V G, Gonçalves G A, de Sá-Nakanishi A B, et al. Effects of *in vitro* digestion and *in vitro* colonic fermentation on stability and functional properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) beverages [J]. *Food Chem*, 2017, 237:453-460.  
[21] DING G, WANG Y, LIU A, et al. From chemical markers to quality markers: an integrated approach of UPLC/Q-TOF, NIRS, and chemometrics for the quality assessment of honeysuckle buds [J]. *Rsc Advances*, 2017, 7(36):22034-22044.  
[22] 游飞祥,韩彦琪,龚苏晓,等. HPLC-Q-TOF-MS 分析植物凉茶中的化学成分[J]. 食品研究与开发,2016,37(8):161-165.

- [23] 李泮霖,李楚源,刘孟华,等. 基于 UFLC-Triple-Q-TOF-MS/MS 技术的金银花、山银花化学成分比较[J]. 中南药学,2016,14(4):363-369.
- [24] 刘威,王振中,胡军华,等. 不同产地牡丹皮中微量元素与多指标成分灰色关联度评价及相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):34-41.
- [25] 林梦雅,张玉萍,李雅,等. 基于灰色关联度分析的丹参提取物抗炎作用谱效关系研究[J]. 中草药,2017,48(16):3447-3452.
- [26] 梁健钦,王剑,熊万娜,等. 基于灰色关联分析的芒果叶提取物抗炎作用的谱效关系[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(1):121-125.
- [27] 李婷婷,王新芳,马玲,等. 谱效关系与一测多评相结合全面提升中药材质量控制标准[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(19):225-228.
- [28] 吕邵娃,董书羽,郭玉岩,等. 数据分析技术在中药谱效关系中的应用进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(15):226-230.
- [29] 董莉. 黑骨藤抗炎作用及质量控制研究[D]. 兰州:兰州大学,2017.
- [30] 李祖晟. 二咖啡酰奎宁酸药理实验研究进展[J]. 医学综述,2004,10(4):249-251.
- [31] Shin H S, Satsu H, Bae M J, et al. Anti-inflammatory effect of chlorogenic acid on the IL-8 production in Caco-2 cells and the dextran sulphate sodium-induced colitis symptoms in C57BL/6 mice[J]. Food Chem,2015,168:167-175.
- [32] GUO Y J, LUO T, WU F, et al. Involvement of TLR2 and TLR9 in the anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in HSV-1-infected microglia [J]. Life Sci, 2015, 127: 12-18.

[责任编辑 刘德文]