

基于酶活性的丹参茎叶活血活性谱-效模型

伍利华^{1,2}, 张佳¹, 邓燕君¹, 杨慧¹, 许庆东¹, 张小雪¹, 刘涛^{1*}

(1. 成都大学 药学与生物工程学院, 成都 610106; 2. 成都大学 期刊中心, 成都 610106)

[摘要] **目的:** 以 12 批丹参茎叶为研究对象, 为究其 HPLC 指纹图谱中色谱峰和活血活性的相关性, 建立其基于酶活性的活血活性谱-效模型并进行验证。**方法:** 采用高效液相色谱法和纤维蛋白原平板法, 测定 6 批丹参茎叶的指纹图谱和体外活血活性值, 用对照品对指纹图谱特征峰进行指认, 并对指纹图谱特征峰成分与其活血活性进行相关分析; 运用 SPSS 软件, 采用主成分分析-相关性分析-多重线性回归的分析方法建立其谱-效模型, 采用 6 批丹参茎叶对该模型进行验证。**结果:** 丹参茎叶指纹图谱中得到 7 个特征峰, 由 Kendalls tau-b 相关性分析可证明丹参茎叶活血活性与 7 个色谱峰峰面积有相关性, 陡坡图分析得该模型的最优主成分数为 5, 经指认分别为原儿茶醛, 咖啡酸, 共有峰 5 (未指认), 迷迭香酸和丹酚酸 B。其中原儿茶醛、共有峰 5 和丹酚酸 B 对活血作用显正相关, 咖啡酸 (CA) 和迷迭香酸 (PCA) 对活血作用显负相关, 预测值和实测值的平均相对误差较小。**结论:** 该实验建立的基于酶活性的活血活性谱-效模型可较好地预测丹参茎叶的活血活性。

[关键词] 丹参; 茎; 叶; 指纹图谱; 活血活性; 纤维蛋白原平板; 谱-效关系

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)23-0133-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191513

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190423.1223.002.html>

[网络出版时间] 2019-04-24 15:02

Spectrum-effect Model of *Salvia miltiorrhiza* Stem and Leaves Based on Enzymatic Activity

WU Li-hua^{1,2}, ZHANG Jia¹, DENG Yan-jun¹, YANG Hui¹, XU Qing-dong¹,
ZHANG Xiao-xue¹, LIU Tao^{1*}

(1. College of Pharmacy and Biological Engineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China;
2. Journal Center of Chengdu University, Chengdu 610106, China)

[Abstract] **Objective:** Totally 12 batches of *Salvia miltiorrhiza* stem and leaves were taken as the research object, in order to investigate the correlation between the chromatographic peaks and the blood circulation activity in the HPLC fingerprint, and establish and verify the activity spectrum-effect model based on enzyme activity. **Method:** HPLC method and fibrinogen plate method were used to determine the fingerprint and *in vitro* activity values of stems and leaves of *S. miltiorrhiza* in 6 batches. SPSS was used to establish its spectrum-effect model by the principal component analysis-correlation analysis-multiple linear regression analysis method, and six batches of *S. miltiorrhiza* stems and leaves were used to verify the model. **Result:** Totally 7 characteristic peaks were obtained in the fingerprints of *S. miltiorrhiza* leaves. Kendalls tau-b correlation analysis showed the correlations between the blood circulating activity of *S. miltiorrhiza* stems and leaves and the 7 characteristic peak areas. The steep slope map analysis showed five optimal principal components of the model, namely protocatechualdehyde, caffeic acid, common peak 5 (to be identified), rosmarinic acid and salvianolic acid B. Among them, protocatechualdehyde,

[收稿日期] 20181018(005)

[基金项目] “十三五”国家重点研发计划项目(2017YFC1701900); 2018 年德阳市科技计划项目(2018CKJ023)

[第一作者] 伍利华, 硕士, 从事中成药再评价及中药资源综合利用研究, Tel: 028-864616063, E-mail: 914549716@qq.com

[通信作者] * 刘涛, 博士, 研究员级高级工程师, 从事中成药质量再评价研究, Tel: 028-864616063, E-mail: liutao0578@sina.com

common peak 5 and salvianolic acid B showed a positive correlation with the activity of blood circulation, while caffeic acid and rosmarinic acid showed a negative correlation with the activity of blood circulation, with low mean relative errors between the predicted value and the measured value. **Conclusion:** The blood circulation activity spectrum-effect model based on enzyme activity can predict the blood circulation activity of stems and leaves of *S. miltiorrhiza*.

[Key words] *Salvia miltiorrhiza*; stem; leaves; fingerprints; activating blood circulation; fibrinogen tablets; spectrum-effect relationship

丹参茎叶为唇形科植物丹参的茎叶,丹参是活血化瘀的常用药物,味苦,性微寒,归心经。现代研究证明,丹参具有行经止痛,凉血消痈,清心除烦的功效^[1]。根据其有效成分可分为水溶性成分和脂溶性成分,其代表物质为丹酚酸类和丹参酮类成分^[2-3],现代药理实验证明,丹酚酸类成分具抗氧化、抗凝血、降血脂等功效;丹参酮类成分具有抗血栓、抗菌消炎、保护神经细胞等作用^[4-5]。丹参茎叶还有良好的抗肺纤维化和耐缺氧作用^[6-7]。丹参传统用药部位为丹参植株的根及根茎,只占全植株的 33%^[8],在丹参采收过程中,丹参茎叶为非用药部位,多弃置不用。为综合利用丹参植物资源,在本课题组已建立了丹参茎叶药材初步质量标准研究^[9]的基础上,结合其活血功效。本文对丹参茎叶进行了的谱(HPLC 指纹图谱)-效(体外活血效应)关系研究。

中药谱-效关系是映射中药指纹图谱和药效的内在关系的一门学科,目前是中药发展领域一个新兴方向。随着近十年信息技术的发展,科学的分析统计方法日渐成熟,谱-效成为中药研究的一个主要方向^[10]。纤维蛋白原平板法是纤维蛋白原与底物发生水解,产生纤维蛋白而产生透明圈,根据透明圈大小可有效评判活性大小。在本研究中,用高效液相测定指纹图谱,用纤维蛋白原平板法测定出体外活血活性值,建立其谱效模型,以实现对其药效作用的预测和评价,并对其所含成分活血作用的正负相关性进行研究,确定相应的药效物质基础,从而保证所建立的指纹图谱更有针对性地控制中药质量。

1 材料

P230 II 型高效液相色谱仪(大连依利特分析仪器有限公司),FA2004 型 1/1 万电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司),SQP 型 1/10 万电子分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司),PS-40 型超声波清洗器(深圳市深华泰超声洗净设备有限公司,240 W,40 kHz),JJ-CJ-2FD 型洁净工作台(苏州市金净净化设备科技有限公司),DH 系列电热恒

温培养箱(西安禾普生物科技有限公司),XFS-280 型手提式压力蒸汽灭菌器(浙江新丰医疗器械有限公司),702N Hamilton 型微量进样器(瑞士哈美顿博纳图斯股份有限公司),150 mm 数显游标卡尺(卡夫威尔实业有限公司)。

尿激酶试剂(丽珠集团丽珠制药厂,批号 170202);凝血酶试剂,牛血纤维蛋白原试剂(上海经科化学科技有限公司,批号分别为 T20170301, F20170301);氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司,批号 N17122008-1);琼脂粉(成都市科隆化学有限公司,批号 2017100101);迷迭香酸,丹酚酸 B,咖啡酸,芦丁,原儿茶醛对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为 wkq17010504, wkq17061901, wkq17051207, wkq18012501, wkq17122004,纯度均 $\geq 98\%$)。

12 丹参批茎叶药材均购自中江县(四川省德阳市中江县集凤镇林家沟村 1 组,批号 180101-1, 180101-2, 180101-3, 180101-4, 180101-5, 10101-6; 四川省德阳市中江县集凤镇林家沟村 11 组,批号 180102-1, 180102-2, 180102-3, 180102-4, 180102-5, 180102-6),经成都大学药学与生物工程学院刘涛教授鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* 的茎叶。样品粉碎后,过 50 目筛,水分为 4% ~ 12%。

2 方法与结果

2.1 丹参茎叶活血活性的测定

2.1.1 供试品溶液的制备 取样品粉末 1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加纯净水 50 mL,称质量,超声 1 h 后冷却至室温,再以纯净水补足减失质量,摇匀,滤过,取续滤液适量作为供试品溶液。

2.1.2 纤维蛋白原平板的制备 取经高压蒸气灭菌后的直径为 10 cm 的平皿,分别依次加入加热至 85 °C 的 1% 琼脂溶液 20 mL,0.3% 的纤维蛋白原溶液 15 mL,20 U·mL⁻¹ 凝血酶 1 mL,轻轻摇匀,冷却静置 30 min,分别打出直径为 3.5 mm 的孔,备用。

2.1.3 对照品溶液及阴性样品的制备 精密称取活性为 100 000 U 的尿激酶粉末适量,用生理盐水

配制浓度为 $1\ 000\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,分别稀释成浓度为 $100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的尿激酶溶液,备用。阴性样品为纯净水和生理盐水。

2.1.4 标准曲线的绘制 取纤维蛋白平板,分别精密吸取浓度为 $100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的尿激酶 $25\ \mu\text{L}$ 进行点样后,置于恒温培养箱中($37\ ^\circ\text{C}$)培养 $18\ \text{h}$,取出,测定透明圈,以尿激酶浓度($\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标(X),透明圈面积(mm^2)为纵坐标(Y),得线性方程为 $Y = 0.339\ 6X + 173.46$ ($r = 0.997\ 1$)。结果表明,尿激酶在 $100 \sim 800\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 与透明圈面积呈良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验 同板精密度试验取纤维蛋白原平板,分别精密吸取 $300\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的尿激酶溶液 $25\ \mu\text{L}$,进行同板点样,共点样 6 次,置于恒温培养箱中($37\ ^\circ\text{C}$)培养 $18\ \text{h}$,取出,测定溶出的透明圈面积,计算其 RSD 为 3.2% ,结果表明同板精密度良好。

异板精密度试验取纤维蛋白原平板,分别精密吸取 $300\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的尿激酶溶液 $25\ \mu\text{L}$,进行异板点样,每板点样 6 次,共点 6 个板,置于恒温培养箱中($37\ ^\circ\text{C}$)培养 $18\ \text{h}$,取出,测定溶出的透明圈面积,计算其 RSD 为 3.6% ,结果表明异板精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取样品粉末(批号 180101-3),按 2.1.1 项方法平行制备 6 份供试品溶液,取纤维蛋白原平板,对供试品溶液, $300\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 尿激酶、生理盐水、纯净水进行同板点样,每孔点样 $25\ \mu\text{L}$,置于恒温培养箱中($37\ ^\circ\text{C}$)培养 $18\ \text{h}$,测定溶出的透明圈面积,样品浓度与透明圈面积在线性范围内,根据透明圈面积与尿激酶浓度的量效关系,以活血活性为指标,计算其 RSD 为 5.2% ,结果表明重复性良好,阴性样品无干扰。

2.1.7 稳定性试验 取样品粉末(批号 180101-3),按 2.1.1 项方法制备供试品溶液,取出纤维蛋白原平板,分别于 $0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5\ \text{h}$ 后点样,每次点样 $25\ \mu\text{L}$ (同时点阴性样品),置于恒温培养箱中($37\ ^\circ\text{C}$)培养 $18\ \text{h}$,测定溶出的透明圈面积,样品活性与透明圈面积在线性范围内,根据透明圈面积与尿激酶浓度的量效关系,以活血活性为指标,计算其 RSD 为 6.0% ,结果表明稳定性良好,阴性样品无干扰。

2.1.8 加样回收率试验 取样品粉末(批号 180101-3,活性值为 $4\ 985\ \text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)6 份,每份 $0.5\ \text{g}$,精密称定,置于具塞锥形瓶中,分别加入浓度为 $100\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 尿激酶 $25\ \mu\text{L}$,再精密加入纯净水 $25\ \mu\text{L}$,称定质量,超声($1\ 200\ \text{W}$)提取 $1\ \text{h}$,放冷,用

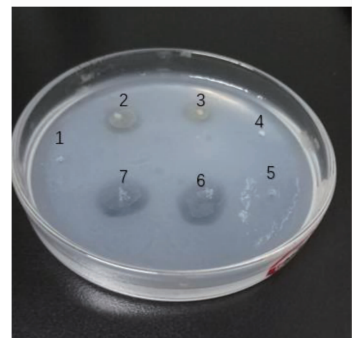
纯净水补足减失质量,滤过,取续滤液即得供试品溶液。取纤维蛋白平板,分别精密吸取供试品溶液 $25\ \mu\text{L}$,同板点样(同时点阴性样品),置于恒温培养箱中($37\ ^\circ\text{C}$)培养 $18\ \text{h}$,取出,测定溶出的透明圈面积,样品活性与透明圈面积在线性范围内,根据透明圈面积与尿激酶浓度的量效关系,以活血活性为指标,计算加样回收率。平均加样回收率为 92.56% ,RSD 为 1.7% ,结果表明加样回收率良好,阴性样品无干扰。

2.1.9 样品活性测定 分别精密称取 6 批丹参茎叶(批号 080102-1, 180102-2, 180102-3, 180102-4, 180102-5, 180102-6),按照 2.1.1 项下方法制备 6 份供试品溶液,取纤维蛋白原平板,同时对 $300\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 尿激酶、生理盐水、纯净水进行同板点样,每孔点样 $25\ \mu\text{L}$,置于恒温培养箱中($37\ ^\circ\text{C}$)培养 $18\ \text{h}$,测定溶出的透明圈面积,样品活性与透明圈面积在线性范围内,根据透明圈面积与尿激酶浓度的量效关系,计算样品的活血活性,阴性样品无干扰,6 批丹参茎叶活血活性见表 1,供试品及尿激酶活血扩散反应结果见图 1。

表 1 6 批丹参茎叶活血活性

Table 1 Activity of blood circulation in 6 batches of *Salvia miltiorrhiza* stem and leaf

批号	活血活性 / $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	批号	活血活性 / $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$
180102-1	99.56	180102-4	95.82
180102-2	100.29	180102-5	100.45
180102-3	90.63	180102-6	55.49



1. 生理盐水;2,3. 供试品;4,5. 纯净水;6,7. 尿激酶

图 1 丹参茎叶供试品溶液及尿激酶的活血扩散反应

Fig. 1 Hemodynamic diffusion reaction of *Salvia miltiorrhiza* stem leaves and urokinase

2.2 丹参茎叶的指纹图谱

2.2.1 供试品溶液的制备 取样品粉末 $1\ \text{g}$,精密

称定,置于具塞锥形瓶中,加入 80% 甲醇 50 mL,称质量,超声 30 min 后冷却至室温,再以 80% 甲醇补足损失质量,摇匀,快速滤过,取续滤液适量过 0.45 μm 微孔滤膜做为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 取原儿茶醛、咖啡酸、芦丁、迷迭香酸、丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,加入 90% 甲醇制成每 1 mL 含 140.6, 70.2, 125.0, 823.0, 135.9 μg 的溶液,即得。

2.2.3 色谱条件 Supersil ODS2 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇 (A)-0.1% 磷酸溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 8 min, 16% ~ 18% A; 8 ~ 25 min, 18% ~ 35% A; 25 ~ 38 min, 35% ~ 44% A; 38 ~ 58 min, 44% ~ 40% A; 58 ~ 70 min, 40% ~ 16% A; 70 ~ 72 min, 16% A), 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 280 nm, 进样量 10 μL 。

2.2.4 精密度试验 取丹参茎叶粉末 (批号 180101-1), 按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液, 同一供试品溶液重复进样 6 次, 进样分析, 计算各共有峰相对峰面积 RSD < 1.8%, 相对保留时间 RSD < 1.5%, 结果表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取丹参茎叶粉末 (批号 180101-1), 按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 注入高效液相色谱仪分析, 计算各共有峰相对峰面积 RSD < 4.3%, 相对保留时间 RSD < 2.4%, 表明供试品在 12 h 内稳定性良好。

2.2.6 重复性试验 取丹参茎叶粉末 (批号 180101-1), 按 2.2.1 项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 进样分析, 计算各共有峰相对峰面积 RSD < 8.3%, 相对保留时间 RSD < 3.1%, 表明供试品溶液重复性良好。

2.2.7 指纹图谱的构建 取 6 批丹参茎叶粉末 (批号 180102-1, 180102-2, 180102-3, 180102-4, 180102-5, 180102-6), 分别按照 2.2.1 项下方法平行制备供试品溶液, 2.2.3 项下色谱方法测定。通过“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版”对数据进行分析, 生成丹参茎叶 HPLC 对照指纹谱, 确定了 7 个共有峰, 见图 2。6 批丹参茎叶叠加指纹谱见图 3。经对照品比对, 鉴定出 2, 3, 5, 6, 7 号色谱峰分别为迷迭香酸, 咖啡酸, 芦丁, 原儿茶醛, 丹酚酸 B。丹参茎叶单一对照品 HPLC 见图 4。12 批丹参茎叶指纹图谱共有峰峰面积见表 2。

2.3 丹参茎叶谱-效主成分分析

2.3.1 主成分数的确定^[11-12] 采用“Statistical

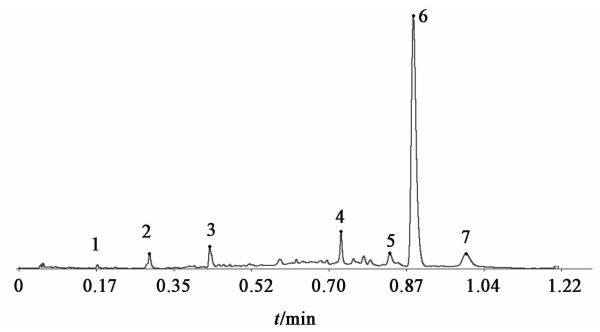
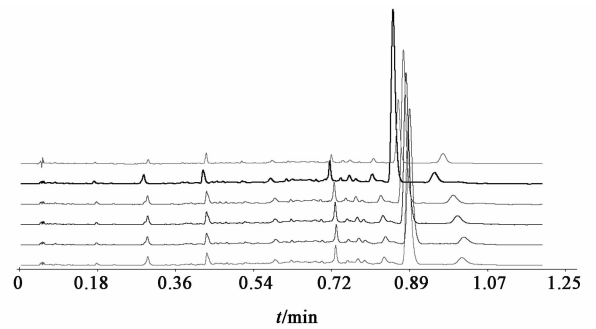


图 2 丹参茎叶 HPLC 对照指纹谱

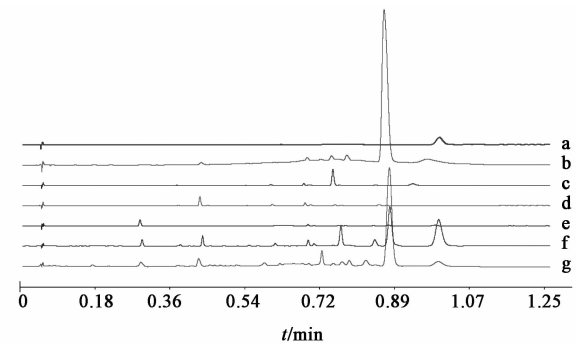
Fig. 2 HPLC fingerprint of *Salvia miltiorrhiza* stem and leaf



由下至上分别为 180102-1 ~ 180102-6

图 3 6 批丹参茎叶叠加 HPLC 指纹谱

Fig. 3 Overlay HPLC fingerprint of 6 batches of *Salvia miltiorrhiza* stem and leaf



a. 丹酚酸 B; b. 迷迭香酸; c. 芦丁; d. 咖啡酸; e. 原儿茶醛; f. 混合对照品; g. 供试品

图 4 丹参茎叶对照品 HPLC

Fig. 4 Reference substance HPLC of *Salvia miltiorrhiza* stem and leaf

Product and Service Solutions”中“Reduction”的“Factor”考察最优主成分数, 最优主成分确定根据解释数据变异的比例、前几位主成解释数据变异的总比例, 再由 Kendalls tau-b 相关性分析可证明丹参茎叶活血活性与 7 个色谱峰峰面积有相关性, 主成分分析解释总方差见表 3, Kendalls tau-b 分析中各共有峰峰面积活血相关性强弱见表 4。当主成分数为 5 时, 前 5 位主成解释数据变异的总比例为

表 2 12 批丹参茎叶指纹图谱共有峰峰面积

Table 2 Total peak area of fingerprints of *Salvia miltiorrhiza* stem and leaf in 12 batches

批号	共有峰 1	原儿茶醛	咖啡酸	芦丁	共有峰 5	迷迭香酸	丹酚酸 B
180101-1	37.30	150.13	327.53	207.67	290.78	4 794.03	321.45
180101-2	35.92	153.15	324.57	224.14	346.88	5 355.11	452.45
180101-3	33.33	132.58	291.59	176.03	269.61	4 177.25	412.72
180101-4	34.55	50.24	221.92	238.75	319.52	936.47	456.60
180101-5	36.15	127.45	370.80	375.71	444.16	1 135.74	631.51
180101-6	21.60	55.67	189.63	76.69	61.80	1 045.91	314.07
180102-1	24.77	46.74	219.98	75.82	103.71	902.35	219.81
180102-2	26.01	44.11	222.36	76.28	101.77	908.42	229.65
180102-3	28.69	36.69	196.48	60.02	73.27	870.45	297.37
180102-4	25.78	66.94	210.68	122.72	134.95	1 651.86	400.08
180102-5	36.15	28.47	210.68	91.18	94.70	1 178.87	429.82
180102-6	26.22	61.36	185.27	48.34	65.02	504.03	305.62

100% ,且陡坡图在第 5 主成分之后趋于平缓,因此,该分析模型的最优主成分数为 5,在回归分析中,预测变量排除 1,5 号色谱峰。

表 3 主成分分析解释的总方差

Table 3 Total variance of method of principal component analysis

成分	方差	累积	成分	方差	累积
1	50.110	50.110	5	0.012	100.000
2	29.356	79.466	6	-1.347×10^{15}	100.000
3	19.229	98.694	7	-2.470×10^{15}	100.000
4	1.294	99.988			

表 4 各共有峰活血活性相关性强弱

Table 4 Correlation between co-peak and activity of activating blood was strong or weak

共有峰	Kendalls tau-b 相关性	共有峰	Kendalls tau-b 相关性
1	0.067	5	0.200
2	-0.467	6	0.606
3	0.690	7	0.670
4	0.600		

2.3.2 谱-效相关数学模型的构建^[13]

运用“Statistical Product and Service Solutions”中“Regression”的“Linear”,共有峰 1 和共有峰 4 因不满足线性拟合被系统自动排除,共有峰 5 虽在相关性分析中相关性小,却满足线性回归,以峰面积为 X ,活血活性为 Y ,采用多重线性回归,建立谱-效模型,回归方程可以表示为 $Y = 114.846 - 0.905X_{峰2} -$

$$0.063X_{峰3} + 0.367X_{峰5} + 0.026X_{峰6} - 0.096X_{峰7}。$$

2.4 丹参茎叶谱-效评价模型的验证 取 6 批丹参茎叶(批号 20180101-1,20180101-2,20180101-3,20180101-4,20180101-5,20180101-6),分别测定活血活性值,对已建立的谱-效评价模型的准确性和适用性进行验证,见表 5。结果表明丹参茎叶活血活性的模型预测值与实际测量值的相对误差较小,表明建立的模型对丹参茎叶活血活性值具有较好的评价效果。

表 5 丹参茎叶活血活性值的测量值与预测值的相对误差

Table 5 Relative error between measured value and predicted value of activity value of *Salvia miltiorrhiza* stem and leaf

批号	活血活性/ $U \cdot mL^{-1}$		相对误差 /%
	测量值	预测值	
180101-1	138.82	128.34	7.55
180101-2	130.85	133.85	2.30
180101-3	99.79	110.08	10.31
180101-4	41.67	72.42	73.80
180101-5	79.57	82.93	4.23
180101-6	79.58	77.70	2.48

3 讨论

HPLC 指纹图谱已被广泛地应用于中药整体质量控制中,其具体指标包括相似度、相对出峰时间和相对峰面积以及共有峰和非共有峰的数量等,但是这些指标只能从“模糊”的角度控制中药的质量,不能明确控制这些指标与中药临床药效的相关性,本

课题将丹参茎叶液相指纹图谱与活血活性结合,建立谱-效关系,将中药材的内在化学成分群与活血活性通过数学公式体现。Kendalls tau-b 分析法给出了主要色谱峰与活血指标的密切程度和变化方向,即协同和拮抗作用,采用对照品对照的方法对色谱峰进行指认,有利于针对性地对药材 HPLC 色谱峰进行控制,从而实现“质量标准控制药物临床疗效”的目标。

在对丹参茎叶谱-效分析时,得到咖啡酸、原儿茶醛对活血活性显负相关作用,王琦等^[14]研究发现咖啡酸止血的功效功效,原儿茶醛具有抗血小板聚集及抗血栓的作用^[15],与本实验结果相反,原因可能是原儿茶醛在不同浓度具有凝血活血双重作用,有待进一步研究。相关性检验中共有峰 6 的相关性为 0.606 是指该峰对活血活性的影响,而在方程中体现为负数是指 5 种化学成分在线性拟合后,整体对活血活性的影响;笔者后续将通过提取、分离和纯化共有峰 6,验证共有峰 6 是否有活血效果,但中药成分复杂,其他成分对共有峰 6 是否起拮抗作用,还有待进一步研究。

迷迭香酸、共有峰 5 和丹酚酸 B 对活血活性显正相关,实验指出迷迭香酸具有抑制血小板聚集的作用,直接证明迷迭香酸具有活血活性^[16-17];共有峰 5 暂时还未进行指认,后期将进行液-质分离后进行指认;考察丹酚酸 B 对动脉粥样硬化的作用,结果表明丹酚酸 B 可有效抑制血小板的凝血活性^[18]。本实验结果也证实了芦丁、丹酚酸 B 具有活血作用,与相关文献报道一致^[15-18],证明本实验建立的谱-效回归模型可较好地通过丹参茎叶液相色谱图数据评价其活血生物活性。

本研究中,批号 20180101-4 的丹参茎叶相对误差为 73.80%,其余都在 11% 范围内,证明建立的基于酶活性的活血活性谱-效模型可较好地预测丹参茎叶的活血活性。但不同分析方法之间的局限性导致分析结果出现一定程度的矛盾,本研究的后续研究将减小谱-效关系之间的误差,通过科学合理的“谱”,建立合理的“效”。

本实验在建立模型时运用了主成分分析、相关分析、回归分析 3 种分析方法,但每种分析方法都存在不足,如主成分分析通过数学降维的方法减少了分析变量,揭示了每组变量的主要因素,却不能给出 2 组变量间的相关性大小和建立数学模型。在后续的谱效相关研究中,收集更丰富的样品,应用更加完

善的分析软件,建立更加完善的谱-效模型。

[参考文献]

- [1] 肖禾,宋民宪,赖娟. 国家药品标准中丹参的质量控制情况[J]. 中国药事,2006,20(1):57-59,64.
- [2] 刘涛,焦芳,张敏,等. 丹参茎叶提取工艺研究[J]. 成都大学学报:自然科学版,2016,35(2):127-129.
- [3] 王涛,张慧,赵丹,等. 丹参波长叠加指纹图谱及多指标成分测定研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(2):338-343.
- [4] 梁文仪,陈文静,杨光辉,等. 丹参酚酸类成分研究进展[J]. 中国中药杂志,2016,41(5):806-812.
- [5] 沙秀秀. 丹参茎叶资源化学研究与药材质量标准的建立[D]. 南京:南京中医药大学,2016.
- [6] 高允生,姜隆梅,刘延平,等. 白花丹参茎叶水提取物对小鼠耐缺氧作用的影响[J]. 中国临床康复,2005,9(1):115-117.
- [7] 刁保忠,靳维荣,陈建中. 白花丹参茎叶水提取物对博莱霉素致肺纤维化小鼠的保护作用[J]. 中国中医基础医学杂志,2012,18(10):1132-1133,1135.
- [8] 刘涛,罗小伟,梁悦,等. 丹参茎叶质量标准研究[J]. 成都大学学报:自然科学版,2015,34(3):231-233,237.
- [9] 沙秀秀,戴新新,宿树兰,等. 丹参茎叶药材的质量标准研究[J]. 药物分析杂志,2016,36(6):1094-1100.
- [10] 潘杰,刘德胜,颜贵明. 数据分析应用于中药谱效关系中的研究进展[J]. 中医学报,2018,46(4):119-122.
- [11] 李小胜,陈珍珍. 如何正确应用 SPSS 软件做主成分分析[J]. 统计研究,2010,27(8):105-108.
- [12] 仝立国,宋美卿,冯玛莉,等. 谱效关系分析蛇床子镇静催眠的活性物质[J]. 山西中医,2011,27(6):52-53.
- [13] 李鹏,李祥,陈建伟,等. 桃红四物汤干预痛经模型小鼠有效部位的谱效关系研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(9):144-149.
- [14] 王琦,蒋英蓝,刘婷,等. 咖啡酸临床疗效研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘,2016,16(42):83-84.
- [15] 黄幼霞,黄荣桂,郑兴中. 迷迭香酸药理作用的研究进展[J]. 海峡药学,2010,22(5):17-20.
- [16] 张翠英,郭丽丽,王阶. 原儿茶醛的药理研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(23):338-342.
- [17] 石琳,吴婵群,顾振纶,等. 原儿茶醛抑制血小板聚集及其机制分析[J]. 中药药理与临床,1987(2):8-13.
- [18] Lee H J, Seo M, Lee E J. Salvianolic acid B inhibits atherogenesis of vascular cells through induction of Nrf2-dependent heme oxygenase-1 [J]. Curr Med Chem, 2014,21(26):3095-3106.

[责任编辑 顾雪竹]