

基于主成分分析研究山楂叶 4 种提取物对血瘀证相关指标的影响

高 婧^{1,2}, 姚建伶³, 赵胜男¹, 潘海峰^{1*}

1. 承德医学院 河北省中药研究与开发重点实验室, 河北 承德 067000

2. 承德市食品药品检验检测中心, 河北 承德 067000

3. 北京四环制药有限公司, 北京 100025

摘要: **目的** 运用主成分与单因素方差分析有机结合的方法, 从整体和局部双重角度观察山楂叶 4 种提取物对血瘀证大鼠血液流变学类、红细胞类、血小板类和凝血时间等 27 个指标的影响, 分析指标所蕴含的信息, 为山楂叶提取物活血化瘀作用机制的研究提供新的思路。**方法** 将 48 只 Wistar 大鼠随机分为对照组、模型组和给药组, 利用冰水浴联合 sc 盐酸肾上腺素制备血瘀证模型, 对照组和模型组 ig 等剂量生理盐水, 给药组分别 ig 4 种山楂叶提取物 (A、B、C、D) 水溶液。采集大鼠血液样本, 选取血液流变学、红细胞类、血小板类和凝血酶原时间等 27 个指标进行检测。采用主成分分析法对所有指标数据进行无量纲化及降维处理, 生成互不相关的主成分, 再将新变量 (即主成分) 进行单因素方差分析, 将分析结果结合各主成分的贡献率和各指标的相关系数, 对各组中指标群及单个指标进行综合分析, 得出规律性结论。**结果** 通过主成分分析提取 8 个主成分, 贡献率达到 77.992%, 根据主成分的信息结合单因素方差分析结果, 得出第 1 主成分中的 9 个指标性成分可以取代原 27 个指标反映山楂叶提取物活血化瘀作用, 分别是纤维蛋白原水平 (FIB), 红细胞总数, 血小板总数, 血小板平均体积, 血小板压积, 低、中、高切变率全血黏度, 血浆黏度。山楂叶 4 种提取物对指标性成分的作用有所不同。**结论** 山楂叶提取物的活血化瘀作用主要是通过降低血液和血浆黏度、促进血红蛋白降解、增加血小板的数量、缩短凝血时间等来实现的。

关键词: 山楂叶提取物; 活血化瘀; 主成分分析; 单因素方差分析; 血浆黏度; 血红蛋白; 凝血时间

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)08-1871-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.021

Effects of four extracts of *Crataegi Folium* on blood stasis syndrome related indexes based on principal component analysis

GAO Jing^{1,2}, YAO Jian-ling³, ZHAO Sheng-nan¹, PAN Hai-feng¹

1. Hebei Province Key Laboratory of Chinese Medicine Research and Development, Chengde Medical College, Chengde 067000, China

2. Chengde City Food and Drug Inspection and Testing Center, Chengde 067000, China

3. Beijing Sihuan Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 100025, China

Abstract: Objective To observe the effects of four kinds of extracts of *Crataegi Folium* on hemorheology, erythrocytes, platelets, coagulation time, and other indicators of 27 indicators in blood stasis rats from the aspects of whole and local double aspects by using the combination method of principal component and one-way ANOVA, and analysis of indicators contained in the information, in order to provide new analytical ideas for the mechanism of *Crataegi Folium* extract on activating blood and resolving stasis. **Methods** Forty-eight wistar rats were randomly divided into blank group, model group, and drug group. Blood stasis model was prepared by using adrenaline in ice water bath. Both blank group and model group were given normal saline, and drug group was given hawthorn leaves extract aqueous solution. Blood samples were collected and 27 indicators such as hemorheology, erythrocyte, platelet, and prothrombin time were selected. The principal component analysis (PCA) was used to decompose all the index data by dimensionless treatment and dimensionality reduction, and then the principal components were generated. The new variables (ie, principal component

收稿日期: 2017-11-06

基金项目: 河北省高等学校科学技术研究重点项目 (ZD2015097); 河北省高校省级重点学科建设项目 (冀教高 [2013] 4 号); 河北省中医药管理局课题 (2017216); 承德市科学技术研究与发展计划项目 (201606A016); 河北省高等学校科学技术研究项目 (QN2017005)

作者简介: 高 婧 (1984—), 女, 满族, 在读研究生, 主管药师, 研究方向为中药分析。Tel: 18103141008 E-mail: 51913034@qq.com

***通信作者** 潘海峰, 女, 硕士研究生导师。Tel: (0314)2291186 E-mail: phf2301@163.com

scores) were subsequently analyzed by one-way ANOVA. The results combined with the contribution rate of principal components and the correlation coefficient of each index was analyzed. Finally, the index groups and individual indexes in each group were analyzed synthetically, and the regularity conclusions were drawn. **Results** Eight principal components were extracted by principal component analysis, and the contribution rate was 77.992%. The results of the principal component analysis combined with the ANOVA showed that nine main components in the first principal component could replace the original 27 indicators to reflect the effect of *Crataegi Folium* extract on blood circulation and blood stasis, namely FIB, total number of red blood cells, total platelet count platelet volume, platelet count, blood viscosity at low shear rate, blood viscosity at middle shear rate, blood viscosity at high shear rate, and plasma viscosity. The results showed that the effects of the four extracts of *Crataegi Folium* on the index components were different. **Conclusion** The effect of activating blood and resolving stasis is mainly by reducing blood viscosity and plasma viscosity, promoting hemoglobin degradation and increasing the number of platelets, shortening the blood clotting and so on to achieve.

Key words: *Crataegi Folium* extracts; activating blood and resolving stasis; principal component analysis; one-way ANOVA; plasma viscosity; hemoglobin; blood clotting time

血瘀证是离经之血不能及时排出或消散而停留于人体某部位,或血液运行不畅而淤积于经脉或器官之内所出现的症候。血瘀证常伴有浓、黏、凝、聚等血液流变性异常变化,而测定血液流变性指标的改变是判定血瘀证的主要客观诊断指标之一^[1]。山楂叶 *Crataegi Folium* 为活血化瘀类中药,近年来相关研究主要集中在其基因表达^[2]、抗氧化作用^[3]、治疗肝病^[4]以及对心肌细胞线粒体功能影响^[5-6]等方面。本实验运用主成分分析结合单因素方差分析,从整体和局部双重角度观察山楂叶 4 种提取物 [山楂叶 50%乙醇提取部位 (A)、《中国药典》2015 年版^[7]收录的山楂叶过大孔树脂后醇提取物 (B)、山楂叶醋酸乙酯部位 (C) 和山楂叶饱和正丁醇部位 (D)] 对急性血瘀证大鼠血液流变学类、红细胞类、血小板类和凝血时间等 27 个生化指标的影响,并对其指标群进行整体构建及分析,为探讨山楂叶提取物活血化瘀作用机制提供新的思路。

1 材料

1.1 药品与试剂

山楂叶药材由承德民族师范学院董建新教授鉴定为蔷薇科植物山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 的干燥叶。样品 A 由承德御室金丹药业有限公司提供,样品 B 购于山东临沂爱康药业有限公司 (批号 AKH15-1),样品 C、D 自制;乌拉坦 (批号 2015 年 4 月 01 日,天津市光复精细化工研究所);盐酸肾上腺素 (批号 1505301,天津金耀药业有限公司)。

1.2 仪器

AG245 电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); KQ-700 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); LBY-N6K 全自动自清洗血流变仪、LBY-N6B 微量血浆测量仪 (北京普利生仪器有限公

司); HF5000 全血黏度检测仪器 (北京海力孚科技有限公司); XN06-IV 凝血仪 (武汉现代友邦科技有限公司)。

1.3 动物

Wistar 大鼠 48 只,雄性,体质量 180~220 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号 SCXK (京) 2012-0001。饲料购自北京维通利华实验动物技术有限公司。实验期间动物自行采食和饮水。

2 方法

2.1 提取物的制备

2.1.1 样品 C 的制备 取山楂叶药材 50 g,加 6 倍量乙醇浸渍 48 h,渗漉,收集漉液,减压回收乙醇至相对密度为 1.04 (60 °C) 的清膏,加等量水稀释后,加 1/6 倍量石油醚 (60~90 °C),振摇,取水层,用 0.7 倍量醋酸乙酯振摇提取,提取液减压回收醋酸乙酯并浓缩至干,即得。

2.1.2 样品 D 的制备 取山楂叶药材 30 g,加 5 倍量 50%乙醇加热回流提取 2 次,合并提取液,减压回收至无醇味,用 3 倍量水饱和的正丁醇振摇 3 次,合并正丁醇提取液,减压回收正丁醇并浓缩至干,即得。

2.2 模型的制备和分组

将 48 只大鼠随机分为 6 组,每组 8 只。分别为对照组、模型组和 4 个给药组。大鼠正常饲养 1 周后,次日清晨开始 ig 给药,每天 1 次,对照组和模型组大鼠给予相应体积生理盐水,A、B、C、D 各给药组给药剂量分别为 50、23、20、30 mg/kg (根据山楂叶药材人体给药有效剂量和每个提取物出膏率进行折算^[7-8]),给药体积 10 mL/kg。给药前 6 d 所有大鼠均正常进食和饮水。除对照组外,其余 4 组大鼠第 7 天 ig 给药 1 h 后开始造模,大鼠颈背部

sc 盐酸肾上腺素 (1 mg/mL) 0.8 mg/kg, 2 h 后放入冰水中 (4 ℃) 浸泡 5 min, 取出后擦干, 2 h 后再次 sc 等剂量盐酸肾上腺素^[9], 造模完成后所有组大鼠禁食不禁水, 第 8 天 ig 给药 1 h 后取血。

2.3 血样采集及指标的测定

造模次日给药 1 h 后取血, ip 20%乌拉坦 (5 mL/kg) 麻醉, 枸橼酸钠抗凝管取血 2 mL, 于 5 mL 离心管中离心分离血浆, 测定凝血酶原时间 (PT, 50 μL)、部分凝血酶原时间 (APTT, 50 μL)、凝血酶时间 (TT, 100 μL)、纤维蛋白原水平 (FIB, 100 μL, 10 倍稀释)。用肝素钠抗凝管接收剩余血液, 取大鼠肝素钠抗凝血 2 mL (其中 1 mL 用于全血黏度测定; 20 μL 用于测红细胞压积、血常规); 另外 1 mL 肝素钠抗凝血 3 000 r/min、离心 10 min 制备血浆, 取 0.25 mL 血浆测定血浆黏度。

2.4 数据处理方法

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析, 采用主

成分分析和单因素方差分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 血瘀证相关指标的主成分分析

3.1.1 方法适用性检验 取样足够度的 Kaiser-Meyer-Olkin 度量统计量为 0.602, 反映 27 个指标间相关程度差异不大, 不适合进行主成分分析和因子分析。Bartlett 的球形度检验 $P=0.000$, 可认为 27 个指标不独立, 取值是有联系的, 可进行主成分分析。

3.1.2 确定主成分数目 主成分数目的确定主要取决于实际问题的需要, 可根据累积贡献率大于 70% 来定, 也可根据特征值大于 1 的数量来决定保留多少个主成分。同时还可以联合特征值大小和累积贡献率来确定主成分的数量。

分析结果如表 1 所示, 前 7 个主成分累积方差贡献率达 74.268%, 大于 70%。而特征值大于 1 的主成分有 8 个。综合考虑特征值大于等于 1 确定提取 8 个主成分, 累积方差贡献率为 77.992%, 因此

表 1 总方差解释

Table 1 Total variance interpretation

成分	初始特征值			提取平方和载入		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	7.689	28.478	28.478	7.689	28.478	28.478
2	3.533	13.086	41.564	3.533	13.086	41.564
3	2.281	8.448	50.012	2.281	8.448	50.012
4	2.205	8.165	58.177	2.205	8.165	58.177
5	1.570	5.816	63.992	1.570	5.816	63.992
6	1.461	5.409	69.402	1.461	5.409	69.402
7	1.314	4.866	74.268	1.314	4.866	74.268
8	1.006	3.724	77.992	1.006	3.724	77.992
9	0.987	3.657	81.649			
10	0.887	3.284	84.933			
11	0.579	2.145	87.078			
12	0.542	2.008	89.085			
13	0.477	1.766	90.852			
14	0.444	1.643	92.495			
15	0.399	1.476	93.971			
16	0.325	1.205	95.176			
17	0.274	1.013	96.189			
18	0.219	0.811	97.001			
19	0.199	0.738	97.739			
20	0.183	0.678	98.416			
21	0.155	0.575	98.991			
22	0.099	0.367	99.358			
23	0.068	0.252	99.610			
24	0.058	0.213	99.823			
25	0.026	0.095	99.918			
26	0.017	0.064	99.982			
27	0.005	0.018	100.000			

可以用这 8 个主成分代替 27 个指标进行分析,可概括原指标所包含信息的 77.992%。

3.1.3 主成分的表达式以及所包含的具体信息 因子负荷矩阵见表 2,提取了 8 个表达式,据此写出了 8 个主成分的表达式,以第 1 主成分为例。

第 1 主成分: $F_1=0.092 X_1+0.684 X_2-0.221 X_3+0.100 X_4-0.044 X_5-0.027 X_6+0.426 X_7-0.017 X_8-0.147 X_9-0.051 X_{10}+0.015 X_{11}+0.600 X_{12}+0.590$

$X_{13}+0.467 X_{14}+0.495 X_{15}-0.140 X_{16}-0.378 X_{17}+0.440 X_{18}+0.035 X_{19}+0.829 X_{20}+0.804 X_{21}+0.884 X_{22}+0.495 X_{23}+0.865 X_{24}+0.784 X_{25}+0.923 X_{26}+0.916 X_{27}$ 。

从成分矩阵可以看出,第 1 主成分中 FIB,红细胞总数,血小板总数,血小板平均体积,血小板压积,低、中、高切变率全血黏度,血浆黏度因子载荷比较大,其中低、中、高切变率全血黏度及血

表 2 成分矩阵

Table 2 Composition matrix

指标	对应 变量	成分							
		1	2	3	4	5	6	7	8
APTT/s	X_1	0.092	-0.660	0.065	0.289	-0.183	0.150	-0.001	0.329
FIB/(g·L ⁻¹)	X_2	0.684	-0.327	0.044	0.248	-0.121	0.181	-0.277	-0.178
PT/s	X_3	-0.221	0.751	0.347	-0.016	0.109	0.118	-0.174	-0.079
TT/s	X_4	0.100	0.820	-0.054	0.198	0.168	0.084	0.047	-0.121
白细胞总数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	X_5	-0.044	-0.621	-0.204	-0.197	-0.167	-0.128	0.355	-0.203
淋巴细胞百分比/%	X_6	-0.027	-0.276	0.246	-0.417	0.570	0.190	-0.345	0.139
中间细胞百分比/%	X_7	0.426	0.191	0.012	0.062	-0.323	0.638	-0.127	-0.240
粒细胞百分比/%	X_8	-0.017	-0.104	-0.378	0.556	-0.246	-0.454	-0.225	-0.083
淋巴细胞数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	X_9	-0.147	0.246	0.208	0.614	0.018	0.038	0.303	-0.257
中间细胞数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	X_{10}	-0.051	0.030	0.247	0.004	0.309	0.104	0.703	-0.110
粒细胞数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	X_{11}	0.015	0.259	-0.100	0.221	-0.527	0.488	0.123	0.421
红细胞总数/(×10 ¹² ·L ⁻¹)	X_{12}	0.600	0.095	-0.568	-0.269	0.042	0.081	0.126	0.058
血红蛋白/(g·L ⁻¹)	X_{13}	0.590	0.034	-0.173	-0.268	0.159	0.137	0.034	-0.158
红细胞平均体积/fL	X_{14}	0.467	0.523	-0.363	0.024	0.017	-0.038	-0.130	-0.025
红细胞压积	X_{15}	0.495	0.093	-0.503	-0.080	0.254	0.211	-0.004	0.282
平均血红蛋白含量/pg	X_{16}	-0.140	-0.514	0.370	0.297	0.142	0.183	-0.286	-0.247
平均血红蛋白浓度/(g·L ⁻¹)	X_{17}	-0.378	0.211	0.665	-0.082	-0.135	0.094	-0.025	0.198
红细胞体积分布宽度标准差/fL	X_{18}	0.440	-0.077	-0.290	0.441	0.498	0.213	-0.012	-0.092
红细胞分布宽度变异系数/%	X_{19}	0.035	-0.243	0.073	0.645	0.431	0.029	0.121	0.411
血小板总数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	X_{20}	0.829	-0.012	0.341	-0.141	-0.112	-0.089	0.277	0.064
血小板平均体积/fL	X_{21}	0.804	-0.314	0.204	-0.282	-0.081	-0.057	-0.065	0.021
血小板压积	X_{22}	0.884	-0.002	0.185	-0.028	-0.001	-0.119	0.150	0.088
血小板分布宽度/%	X_{23}	0.495	-0.518	-0.006	0.088	-0.034	0.316	0.103	-0.241
低切变率 (20 s ⁻¹) 全血黏度/(mPa·s)	X_{24}	0.865	0.107	0.241	0.048	0.017	-0.280	-0.153	0.068
中切变率 (60 s ⁻¹) 全血黏度/(mPa·s)	X_{25}	0.784	0.197	0.134	0.303	0.006	-0.313	-0.022	0.051
高切变率 (150 s ⁻¹) 全血黏度/(mPa·s)	X_{26}	0.923	0.131	0.254	0.079	-0.020	-0.062	-0.111	-0.016
血浆黏度/(mPa·s)	X_{27}	0.916	0.130	0.231	-0.060	-0.073	-0.037	0.101	0.019

浆黏度与第 1 主成分呈高度正相关。第 1 主成分主要包含了 FIB, 红细胞总数, 血小板总数, 血小板平均体积, 血小板压积, 低、中、高切变率全血黏度, 血浆黏度 9 个成分的信息, 实际反映了血浆黏度、红细胞聚集性、变形性和数量、血小板情况和凝血功能。第 2 主成分中 APTT、PT、TT、白细胞总数因子载荷比较大, 第 2 主成分主要包含凝血因子的信息。第 3 主成分中平均血红蛋白含量、平均

血红蛋白浓度因子载荷比较大。第 4 主成分淋巴细胞数载荷因子比较大。第 5 主成分血小板分布宽度载荷因子比较大。第 6 主成分红细胞分布宽度载荷因子比较大。第 7 主成分粒细胞数载荷因子比较大。第 8 主成分粒细胞百分比较大。

3.2 单因素方差分析

根据主成分分析结果, 将所得比重大的因素带入到实验分组进行单因素方差分析 (表 3)。

表 3 单因素方差分析结果
Table 3 Result of one-way ANOVA

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	FIB/(g·L ⁻¹)	红细胞总数/ (×10 ¹² ·L ⁻¹)	血小板总数/ (×10 ⁹ ·L ⁻¹)	血小板平均 体积/fL	血小板压积	全血黏度/(mPa·s)			血浆黏度/ (mPa·s)
							低切变率 (20 s ⁻¹)	中切变率 (60 s ⁻¹)	高切变率 (150 s ⁻¹)	
对照	—	1.91±0.03	3.03±0.10	337.38±9.96	8.67±0.25	0.29±0.01	7.50±0.02	5.28±0.02	3.73±0.02	1.07±0.01
模型	—	3.93±0.18 ^{##}	3.54±0.12 ^{##}	703.75±20.23 ^{##}	13.79±0.20 ^{##}	0.68±0.02 ^{##}	11.25±0.05 ^{##}	7.74±0.04 ^{##}	5.90±0.02 ^{##}	1.46±0.01 ^{##}
A	50	3.17±0.24 [*]	3.09±0.10 ^{**}	460.38±27.47 ^{**}	9.03±0.25 ^{**}	0.44±0.04 ^{**}	9.79±0.01 ^{**}	7.36±0.02 ^{**}	5.04±0.02 ^{**}	1.21±0.01 ^{**}
B	23	3.72±0.27	3.21±0.13 [*]	409.25±29.44 ^{**}	9.32±0.30 ^{**}	0.35±0.03 ^{**}	8.20±0.03 ^{**}	5.80±0.01 ^{**}	4.63±0.01 ^{**}	1.17±0.01 ^{**}
C	20	2.92±0.12 ^{**}	3.20±0.12 [*]	521.00±27.60 ^{**}	9.33±0.42 ^{**}	0.43±0.04 ^{**}	7.91±0.02 ^{**}	6.04±0.01 ^{**}	4.53±0.02 ^{**}	1.26±0.01 ^{**}
D	30	3.47±0.36	3.27±0.12	493.88±19.80 ^{**}	9.40±0.37 ^{**}	0.57±0.02 ^{**}	9.66±0.02 ^{**}	8.15±0.02 ^{**}	5.04±0.01 ^{**}	1.28±0.01 ^{**}

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	APTT/s	PT/s	TT/s	平均血红蛋白 浓度/(g·L ⁻¹)	淋巴细胞数/ (×10 ⁹ ·L ⁻¹)	红细胞体积分布 宽度标准差/fL	淋巴细胞 百分比/%	中间细胞 百分比/%	中间细胞数/ (×10 ⁹ ·L ⁻¹)	粒细胞数/ (×10 ⁹ ·L ⁻¹)
对照	—	21.65±0.26	10.98±0.28	27.83±0.66	560.63±9.40	19.68±0.41	37.94±0.12	58.13±1.40	2.75±0.10	0.55±0.03	23.25±0.84
模型	—	21.73±0.35	10.84±0.45	31.80±2.00	543.75±9.90	19.24±0.68	38.92±0.48	59.95±1.70	3.67±0.15 ^{##}	0.55±0.06	24.16±0.54
A	50	21.69±0.38	10.19±0.34	36.05±2.20	558.40±13.30	22.84±1.20 [*]	38.59±0.34	58.06±3.60	3.50±0.18	0.54±0.03	26.23±0.77
B	23	21.70±0.63	10.96±0.42	33.83±2.80	541.25±11.40	21.14±1.20	38.51±0.43	60.41±2.70	3.71±0.15	0.49±0.03	24.89±1.30
C	20	21.90±0.75	10.92±0.41	35.63±2.70	567.20±6.90	23.50±1.70 [*]	38.50±0.28	51.19±2.30 [*]	3.90±0.18	0.61±0.04	27.33±0.33 [*]
D	30	21.86±0.46	10.84±0.33	38.21±2.50	533.60±8.90	21.88±1.30	39.13±0.37	47.76±2.20 ^{**}	3.51±0.13	0.54±0.02	24.02±0.90

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

从结果可以看出, 山楂叶 4 种提取物对第 1 主成分的指标因素均有不同程度的作用, 具有统计学意义。其中提取物 A 和 C 对 FIB 作用比较明显, B 和 D 对 FIB 作用不明显。D 对红细胞总数的药理作用不明显, 而其他 3 种提取物作用显著。山楂叶 4 种提取物对第 2~8 主成分中载荷比较大的因素均无影响。

4 讨论

中医药学者认为七情中的“忧怒”和六淫中的“寒邪”为急性血瘀的主要原因。本实验采用的肾上腺素模型属于急性血瘀模型, 模拟人体暴怒时分泌大量肾上腺素的特点, 给大鼠 sc 大剂量的肾上腺素, 同时加冰水浸泡模拟寒邪, 二者综合作用, 引起血瘀证的病理体征, 同临床的相关性较大, 并且复制比较简单。血瘀证大鼠模型的血液流变学结果表明血液呈高黏、高浓、高凝状态, 红细胞功能异常, 对血小板聚集及相关凝血参数的影响也较为显著^[10]。

本实验使用统计学的主成分分析方法。在临床和科研中, 常遇到这样的多指标研究问题, 这些多指标在反映对象特征上存在信息的重叠, 而且不同指标之间又有着一定的相关性, 再加上指标数量较多, 势必增加分析问题的复杂性。主成分分析就是把具有关联的多指标进行简化, 最后用 1 个或少数几个综合指标取代原来指标, 尽可能充分地反映原指标信息的一种多元统计方法。不同指标间常存在着不同量纲, 而具有不同量纲的指标相互间不能进行比较。因此, 为了解决这一问题, 需要将原始数据标准化, 而标准化后的结果是将原始数据转化成均值, 方差为无量纲数据。依据统计理论, 选择一个指标用于区分不同个体时, 个体间的变异越大越好。在得到的所有主成分 (所有线性组合) 中, 第 1 个线性组合即第 1 综合指标的方差最大, 其所反映原指标的信息最多, 称为第 1 主成分。当第 1 主

成分不足以包含原来各指标的信息时,则考虑选取方差次大的第 2 线性组合,即第 2 主成分。主成分分析的目的是保留主要信息的前提下简化指标,故实际应用中不会选择所有得到的主成分,为了尽可能少的主成分代表尽可能多的原指标信息,常选择前几个最大的主成分^[11]。

山楂叶提取物具有抗血栓^[12]、调血脂^[13]、抗心肌缺血^[14]、抗动脉粥样硬化、减少血管成形术后再次狭窄^[15]以及抗心衰^[16]等多方面的心血管药理作用。本实验通过预防给药影响血瘀证的发生,采用统计分析方法研究山楂叶 4 种不同提取物对血液黏度等血流变指标、血常规指标以及凝血 4 项的影响。首先通过主成分分析方法提取 8 个主成分,根据各个主成分的矩阵信息,归纳每个成分指标性成分信息。然后把 8 个主成分中找出的指标性成分带回原分组进行单因素方差分析,最后总结出第 1 主成分中的 9 个指标性成分可以取代原 27 个指标反映山楂叶提取物活血化瘀的作用,其贡献率为 28.879%。分别是 FIB,红细胞总数,血小板总数,血小板平均体积,血小板压积,低、中、高切变率全血黏度、血浆黏度。

结合主成分分析结果,对指标性成分做单因素方差分析。结果表明山楂叶 4 种提取物对第 1 主成分的指标因素均有不同程度的作用,对第 2 主成分到第 8 主成分中载荷比较大的因素均无影响。山楂叶 4 种提取物对血小板总数、血小板平均体积、血小板压积,低、中、高切变率全血黏度,血浆黏度作用效果均显著,没有明显差异。血小板总数、血小板平均体积、血小板压积属于凝血反应的指标。血小板参与内外凝血途径,说明山楂叶提取物可能还参与内外凝血途径过程,抑制血小板聚集、抑制凝血。全血黏度和血浆黏度属于血流变指标,这 4 种不同提取物均可以通过降低全血黏度和血浆黏度来实现活血化瘀的功能。其中提取物 A 和 C 对 FIB 的作用比较明显,说明这 2 种提取物可以通过减少 FIB 的数量,进而减少 FIB 转变为纤维蛋白,缓解血液凝固,降低血液黏度;除了提取物 D,其他 3 种提取物可以显著降低红细胞的总数,降低血液黏度,减小凝滞的几率。

本实验采用主成分分析从整体角度观察相关性指标,再进行方差分析,从结果推测山楂叶 4 种提取物的活血化瘀作用主要是通过改变血液流变学、降低血液黏度和血浆黏度、促进血红蛋白降解以及增加血小板的数量、缩短凝血时间等来实现。

参考文献

- [1] 韩 岚,许 钊,章小兵,等.桃红四物汤活血化瘀作用的实验研究[J].安徽中医学院学报,2007,26(1):36-38.
- [2] 何蓓晖,陆永娟,李宝华,等.山楂叶总黄酮对 FXR 及其相关基因调控治疗 NAFLD 模型大鼠的机制研究[J].中华中医药杂志,2017,32(4):1807-1810.
- [3] 龚 霞,陈安徽,巫永华.山楂叶提取物不同极性组分的体外抗氧化作用[J].食品工业,2016,37(8):216-219.
- [4] 李中平,宋海坡,沈红艺,等.山楂叶提取物对非酒精性脂肪性肝病大鼠糖脂代谢作用的研究[J].中西医结合肝病杂志,2013,23(5):286-293.
- [5] 徐 颖,李劲松,孙 涛.山楂叶总黄酮对肥大大鼠心肌细胞线粒体功能的影响[J].中药与临床,2016,7(4):35-37.
- [6] 宋玉超,连超杰,雷海民,等.山楂叶及其制剂对心血管作用的研究进展[J].现代药物与临床,2011,26(1):25-28.
- [7] 中国药典[S].一部.2015.
- [8] 高 婧,李 响,周 芸,等.山楂叶不同提取物对血瘀大鼠全血黏度影响的谱效关系研究[J].中草药,2018,49(6):1385-1389.
- [9] 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):1761-1765.
- [10] 赵 玲,魏海峰,李雅莉.从血液流变学的改变分析肾上腺素致血瘀证大鼠模型的建立[J].中西医结合心脑血管病杂志,2010,8(2):188-190.
- [11] 李福凤,王忆勤.在证候标准化研究中数理统计思想和方法的应用概况[J].辽宁中医杂志,2007,34(2):148-151.
- [12] Rana A, Zeynep B, Nurcan B, et al. Antithrombotic effects of ethanol extract of *Crataegus orientalis* in the carrageenan-induced mice tail thrombosis model[J]. *Tromb Res*, 2011, doi: 10.1016/j.thromres.2010.11.028.
- [13] 杨宇杰,林 静,王春民,等.山楂叶总黄酮对大鼠高脂血症早期干预的实验研究[J].中草药,2008,39(12):1848-1850.
- [14] Fu J H, Zheng Y Q, Li P, et al. Hawthorn leaves flavonoids decreases inflammation related to acute myocardial ischemia-reperfusion in anesthetized dogs[J]. *Chin J Integr Med*, 2013, 19(8): 582-588.
- [15] Robert F, Ute Z, Frank T, et al. The *Crataegus* extract WS 1442 inhibits balloon catheter-induced intimal hyperplasia in the rat carotid artery by directly influencing PDGFR- β [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 211(2): 409-417.
- [16] Koch E, Malek F A. Standardized extracts from hawthorn leaves and flowers in the treatment of cardiovascular disorders-preclinical and clinical studies [J]. *Planta Med*, 2011, 77(11): 1123-1128.