

基于灰色关联度与正交偏最小二乘法分析的苍术挥发油燥性谱效关系研究

瞿领航¹, 曹国胜^{1,2}, 涂济源^{1,2}, 石坤¹, 王洁¹, 徐依依¹, 刘艳菊^{1,2*}

1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065

2. 湖北省中药炮制技术工程研究中心, 湖北 武汉 430065

摘要: 目的 研究苍术挥发油的气相色谱-质谱(GC-MS)联用指纹图谱与苍术燥性效应的谱效关系, 初步明确苍术主要燥性成分。方法 采用GC-MS法对不同批次苍术(S1~S9)挥发油进行分析, 以大鼠日均饮水量、全血黏度、肾脏中水道蛋白2(AQP2)量为苍术燥性效应药效指标, 采用灰色关联度分析法和正交偏最小二乘法相结合分析其谱效关系。结果 苍术发挥燥性效应是多种成分共同作用的结果, 对燥性作用药效贡献较大的3个峰分别为31、28、33号峰, 经过谱库检索分析鉴定出3个峰对应的成分分别为β-桉叶醇、马兜铃烯、异愈创木醇。结论 初步明确苍术主要燥性成分有β-桉叶醇、马兜铃烯、异愈创木醇, 为苍术燥性物质基础研究提供参考。

关键词: 苍术; 灰色关联度; 正交偏最小二乘法; 燥性; 谱效关系; β-桉叶醇; 马兜铃烯; 异愈创木醇

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)01-0150-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.01.023

Spectrum-effect relationship of dryness of *Atractylodes Rhizoma* volatile oil based on grey relational grade and orthogonal partial least squares analysis

QU Ling-hang¹, CAO Guo-sheng^{1,2}, TU Ji-yuan^{1,2}, SHI Kun¹, WANG Jie¹, XU Yi-yi¹, LIU Yan-ju^{1,2}

1. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

2. Chinese Materia Medica Processing Engineering Center of Hubei Province, Wuhan 430065, China

Abstract: Objective To study the spectrum-effect relationship between GC-MS fingerprint of the volatile oil of *Atractylodes Rhizoma* and the dryness effect of *Atractylodes Rhizoma*, and clarify the main dryness components of *Atractylodes Rhizoma*. **Methods** The volatile oil of different batches of *Atractylodes Rhizoma* (S1—S9) were analyzed by GC-MS. Using the daily drinking amount of water, the viscosity of whole blood, and the content of aquaporin 2 (AQP2) in the kidney of rats as the indexes of dryness effect of *Atractylodes Rhizome*, the spectrum-effect relationship was analyzed by the combination of grey relational grade and orthogonal partial least square method. **Results** The dryness effect of *Atractylodes Rhizoma* was the combined action of multiple components, and the peaks of the major contribution to dryness effect were 31, 28, and 33, respectively. The corresponding components of the three peaks were β-eudesmol, (-)-aristolene, and bulnesol, which were identified by the spectral library retrieval analysis. **Conclusion** The main dryness effect components of *Atractylodes Rhizoma* are β-eudesmol, (-)-aristolene, and bulnesol, which provide a reference for investigating the material basis of dryness effect of *Atractylodes Rhizoma*.

Key words: *Atractylodes Rhizoma*; grey relational grade; orthogonal partial least squares; dryness; spectral efficiency relationship; β-eudesmol; (-)-aristolene; bulnesol

苍术 *Atractylodes Rhizoma* 为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thumb.) DC. 或北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎, 具有燥湿健脾、祛风散寒、明目的功效, 用于湿阻中焦、脘腹胀满、泄泻、水肿、脚气痿痹、风湿痹痛、风寒感冒、夜

盲、眼目昏涩^[1]。生苍术燥性强烈, 麸炒燥性缓和, 古人对此早有认识。《本草纲目》中记载: “苍术性燥, 故以糯米泔浸去其油切片焙干用, 以制其燥者”。然而, 燥性也是中药的重要性能之一, 对不同病症患者, 其或表现为副作用, 或表现为治疗作用^[2]。

收稿日期: 2018-08-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81073051); 国家自然科学基金资助项目(81541080); 国家科技基础性专项资助项目(2014FY1111100-2)

作者简介: 瞿领航, 硕士研究生, 主要从事中药炮制工艺及质量标准研究。E-mail: qulinghang@163.com

*通信作者 刘艳菊, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中药炮制工艺及质量标准研究。Tel: (027)68890231 E-mail: lyj1965954@sohu.com

苍术具有燥脾湿之功效，但历版《中国药典》均亦记载其能治疗水肿、风湿等湿症。为充分利用苍术的燥性，使其更好应用于临床，有必要进一步明确其燥性的主要物质基础。目前，对于苍术的燥性研究甚少，课题组前期对苍术的燥性部位进行了初步探索，确定了苍术的主要燥性部位是挥发油部位，也初步确立了苍术燥性评价指标^[3]。基于前期研究基础，本研究通过收集多批次的苍术，建立苍术挥发油气相色谱-质谱（GC-MS）指纹图谱，通过灰色关联度及正交偏最小二乘法分析，初步确定苍术的主要燥性成分，为苍术燥性的临床应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Trace1300 气相色谱仪和 ISQ 型质谱联用仪、Xcalibur 数据处理系统 NIST 标准质谱图库 (Thermo Fisher 公司); MEN-C100A 全自动血液流变仪 (上海泰益医疗仪器设备有限公司); 352 型酶标仪 (芬兰 LabSystems Multiskan MS 公司)。

1.2 试剂

大豆油 [湖北省粮油 (集团) 有限公司]; 无水硫酸钠 (国药集团化学试剂有限公司); 乙醚 (上海马陆制药厂); 牛血清白蛋白 (BSA, 北京索莱宝科技有限公司); 大鼠水通道蛋白 (AQP2) 酶联试剂盒 (武汉基因美生物科技有限公司)。

1.3 试药

苍术药材样品来源见表 1, 经湖北中医药大学药学院张秀桥教授鉴定为菊科苍术属植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 的干燥根茎。

1.4 实验动物

SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 180~220 g,

表 1 苍术药材样品来源

Table 1 Source of *Atractylodes Rhizoma*

编号	批号	产地
S1	20170607	湖北罗田
S2	20170630	湖北蕲春
S3	18011501	江苏句容
S4	18011502	江苏句容
S5	20180402	江苏南京
S6	20180420	江苏苏州
S7	20180510	湖北英山杨柳
S8	20180510	湖北英山草盘
S9	20180510	湖北英山温泉

由湖北省实验动物研究中心提供, 许可证号 SCXK (鄂) 2015-0018。

2 方法与结果

2.1 苍术挥发油 GC-MS 指纹图谱的建立

2.1.1 供试品溶液的制备 称取 500 g 生苍术饮片, 装入 5 L 圆底烧瓶中, 加入 3 000 mL 蒸馏水, 加热提取挥发油, 温度控制在 100 °C 左右, 至挥发油的量不再增加。蒸馏液用乙醚萃取, 萃取后用无水硫酸钠干燥, 滤过, 自然挥干, 得挥发油, 挥发油为淡黄色透明油状物, 得率为 5%。精密称定 0.1 g 挥发油置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇, 定容, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 得供试品溶液。

2.1.2 GC-MS 条件 TG-1701 毛细管柱 (60 mm × 0.25 mm, 0.25 μm); 程序升温: 起始柱温 100 °C, 维持 2 min, 以 2 °C/min 升至 180 °C, 维持 6 min, 以 30 °C/min 升至 270 °C, 维持 5 min。进样口温度 300 °C; 体积流量 0.8 mL/min; 分流比 30:1; 进样量 1 μL; 载气为高纯氮气 (99.99%); 接口温度 280 °C; EI 电离: 离子源温度 300 °C; 电子轰击能量 70 eV; 采集方式为全扫描模式, 扫描范围 *m/z* 35~500; 溶剂延迟时间为 4 min。

2.1.3 精密度试验 取适量苍术饮片 (S1), 按照“2.1.1”项制得供试品溶液, 按“2.1.2”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版)”, 得到各图谱的相似度均大于 0.96, 计算 35 个主要共有峰相对保留时间 RSD < 2%, 峰面积 RSD < 2%, 表明此方法精密度较好。

2.1.4 稳定性试验 取适量苍术饮片 (S1), 按照“2.1.1”项制得供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12 h, 按“2.1.2”项色谱条件进行测定, 将所得数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版)”, 得到各图谱的相似度均大于 0.96, 计算 35 个主要共有峰相对保留时间 RSD < 2%, 峰面积 RSD < 2%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.5 重复性试验 取适量苍术饮片 (S1), 按照“2.1.1”项下方法平行制得 6 份供试品溶液, 按“2.1.2”项色谱条件进行测定, 将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版)”, 得到各图谱的相似度均大于 0.96, 计算 35 个主要共有峰相对保留时间 RSD < 2%, 峰面积 RSD < 2%, 表明该方法重复性较好。

2.1.6 苍术挥发油 GC-MS 指纹图谱建立 将 9 批

苍术饮片按“2.1.1”项制得挥发油供试品溶液，按照“2.1.2”项下的测定条件进样测定，并记录各批次样品色谱数据。将 9 批苍术挥发油 GC-MS 图谱数据导入到“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)”，设定参照图谱，将谱峰自动匹配，生成叠加图谱见图 1，得到的 35 个共有峰见图 2，生成的共有峰匹配数据见表 2。

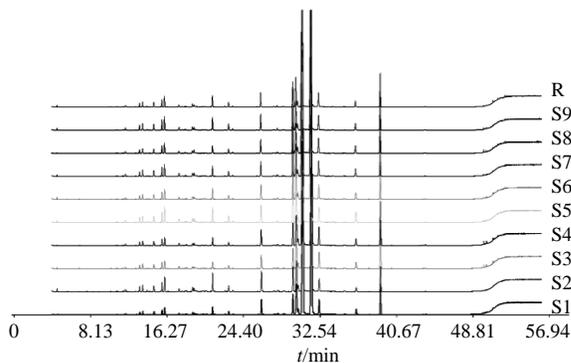


图 1 9 批苍术挥发油 (S1~S9) GC-MS 指纹图谱叠加图和对照图谱 (R)
 Fig. 1 GC-MS fingerprints of volatile oil from nine batches of *Atractylodes Rhizoma* (S1—S9) and control fingerprint (R)

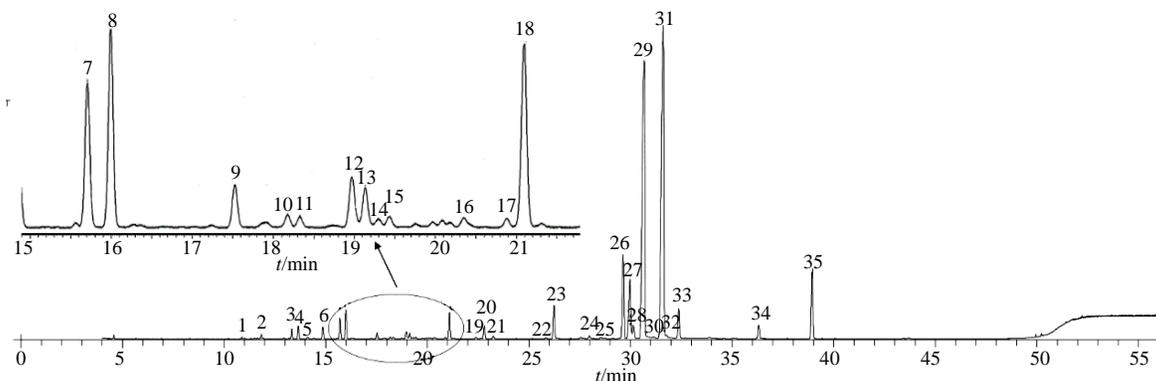


图 2 9 批苍术挥发油 GC-MS 指纹图谱共有峰
 Fig. 2 Common peak map of GC-MS fingerprints of volatile oil from nine batches of *Atractylodes Rhizoma*

凝的采血管中。吸取大鼠抗凝血 2 mL 缓慢加入血液流变仪的样品槽中，在 37 °C 恒温下测量切变率为 1/s 的全血黏度，测定结果见图 4。

2.2.5 肾脏中 AQP2 量的测定 处死大鼠，迅速取出肾脏，匀浆，参照 AQP2 试剂盒测定方法测定肾脏中 AQP2 的量，测定结果见图 5。

2.3 灰色关联度分析

2.3.1 原始数据的无量纲化处理^[4-5] 原始数据的变换采用初值化变换法。变换的母序列记为{X₀(t)}，子序列记为{X_i(t)}。将苍术燥性效应不同的药效指标作为母序列，苍术各批次的特征峰峰面积作为子

2.2 苍术燥性药效学实验

2.2.1 试药的制备 参照课题组前期研究给药剂量制备试药^[3]。分别取 9 批适量生苍术挥发油于量瓶中，加入大豆油，定容，混匀，配成 0.05 g/mL 的生苍术挥发油高剂量试药（相当于生药量 1 g/mL），并标号 S1~S9。

2.2.2 动物分组与给药 采用随机数字表法将 100 只 SD 大鼠分为 10 组（每组 10 只）。适应性饲养 1 周后开始 ig 给药，S1~S9 组分别给予 S1~S9 号挥发油试药，第 10 组作为对照组给予等体积生理盐水，连续给药 21 d。

2.2.3 饮水量的测定 按照每只大鼠每日饮水量（即体质量 150 g 的大鼠每 24 h 的饮水量）计算，每日定时添加饮用水并测量，各组所剩水质量 (M1) 与前 1 d 所给水质量 (M0) 之间的差值即为该组大鼠当日总饮水量。所得总饮水量除以该组大鼠个数，即为该组大鼠日平均饮水量。测定结果见图 3。

2.2.4 血液流变学指标测定 大鼠 ip 20% 乌拉坦溶液麻醉后，腹主动脉取血约 2 mL，置于含有肝素抗

序列。

2.3.2 绝对差序列及关联系数的计算 在 t=k 时(k 为峰号)，母序列记为{X₀(k)}，子序列记为{X_i(k)}，母序列与子序列的绝对差序列 Δ_{0i}(k)=|X₀(k)-X_i(k)|(1≤i≤m)。计算在 t=k 时母序列与子序列的关联系数 η(k)。

$$\eta(k) = \frac{\min_i \min_j |Y_0(k) - Y_i(k) + \rho \max_i \max_j |Y_0(k) - Y_i(k)|}{|Y_0(k) - Y_i(k)| + \rho \max_i \max_j |Y_0(k) - Y_i(k)|}$$
 Y₀(k) 为苍术燥性效应不同的药效指标；Y_i(k) 为苍术各批次的特征峰峰面积归一化数值；k 为峰号；ρ 为分辨系数，作用是削弱最大绝对差数值的失真，提高关联系数之间的显

表 2 9 批苍术挥发油 GC-MS 指纹图谱共有峰峰面积数据

Table 2 Common peak area matching data of GC-MS fingerprints of volatile oil from nine batches of *Atractylodis Rhizoma*

编号	t/min	峰面积								
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
1	10.880	7 762 040	14 516 440	9 880 225	9 480 274	15 015 000	11 202 540	14 799 330	10 413 050	14 606 140
2	11.847	24 357 810	46 447 720	31 238 120	28 954 780	46 554 970	37 019 720	44 336 140	35 896 740	49 720 920
3	13.343	55 349 690	104 309 700	73 610 190	70 520 220	107 972 300	79 641 770	99 388 780	75 175 790	102 706 600
4	13.665	74 129 220	138 085 400	101 717 500	98 731 820	142 563 900	104 027 100	134 836 600	96 387 510	133 678 700
5	14.130	13 958 490	29 806 760	11 466 190	12 009 590	28 023 120	18 793 220	15 035 760	12 608 200	18 049 830
6	14.871	68 860 130	127 732 300	93 193 490	90 410 300	133 627 200	98 820 860	125 977 200	93 724 740	127 924 900
7	15.719	109 936 200	201 199 000	133 286 400	135 292 900	223 889 400	155 235 700	20 3481 200	154 900 200	219 362 100
8	16.008	159 017 200	321 426 600	166 630 900	171 257 100	339 254 300	225 060 800	262 052 800	223 832 100	296 852 500
9	17.539	37 113 160	67 268 410	44 668 380	45 758 020	69 773 900	51 149 650	63 908 180	48 495 690	68 188 910
10	18.189	17 410 020	24 874 120	11 421 380	13 740 350	16 474 400	15 275 600	18 489 310	16 437 580	18 161 260
11	18.339	16 525 760	22 984 010	19 066 770	16 923 640	21 934 640	17 840 450	14 454 000	14 286 530	14 843 190
12	18.983	52 293 970	98 052 240	47 536 800	48 714 460	98 866 070	67 482 660	68 533 700	5 300 1420	78 279 270
13	19.147	30 683 730	60 908 140	33 235 410	38 508 500	69 795 140	42 538 160	58 455 890	63 688 990	51 743 510
14	19.308	11 973 790	20 949 380	10 530 940	10 780 770	12 476 690	11 750 070	10 927 420	10 386 580	9 011 810
15	19.440	14 990 710	20 816 940	9 556 375	11 123 630	13 827 850	13 066 220	15 455 230	13 745 290	15 871 940
16	20.363	19 433 820	21 289 500	14 114 820	15 059 300	17 754 260	18 513 010	17 661 360	16 519 240	15 993 940
17	20.894	9 539 381	17 371 720	15 098 360	14 887 410	20 017 410	11 203 920	14 583 370	14 235 950	13 043 190
18	21.107	184 430 900	442 347 100	161 620 400	185 120 800	358 351 700	272 482 500	243 170 800	177 049 000	303 226 100
19	22.410	11 034 730	21 008 630	14 327 530	10 994 930	22 427 950	14 975 860	14 455 290	12 009 960	16 762 640
20	22.819	80 796 900	147 309 100	74 191 690	76 148 610	170 548 400	105 227 300	125 414 800	99 111 610	147 993 100
21	23.264	17 078 340	31 820 460	15 599 610	15 394 220	37 985 830	23 935 800	26 606 340	22 061 580	32 297 400
22	25.874	9 948 563	11 371 350	9 758 226	9 931 427	13 200 040	12 283 160	15 629 450	15 091 300	9 981 710
23	26.270	365 733 000	504 222 400	331 473 800	385 193 100	399 386 500	343 373 300	359 533 000	323 634 800	379 134 100
24	28.013	38 258 360	47 063 960	33 214 760	36 164 820	37 370 950	37 468 130	43 280 250	35 028 810	39 599 640
25	28.586	16 510 600	17 919 440	15 116 000	17 076 220	14 757 930	15 712 500	18 197 710	16 249 020	15 670 620
26	29.648	513 380 500	650 509 700	508 572 300	562 642 500	1 127 691 000	718 373 000	842 821 400	784 055 500	1 111 850 000
27	30.004	866 433 300	886 597 400	738 866 000	857 374 000	754 301 800	837 535 700	864 593 300	82 3891 400	793 841 300
28	30.175	107 066 000	105 452 700	100 081 100	114 682 400	107 747 800	107 622 700	112 830 600	106 507 700	106 972 900
29	30.719	5 544 723 000	5 535 408 000	5 370 004 000	5 833 093 000	5 168 207 000	5 381 780 000	5 889 910 000	5 590 355 000	5 226 358 000
30	31.183	18 723 620	15 106 450	14 411 590	16 461 960	15 913 820	16 921 410	19 214 370	17 453 610	18 522 930
31	31.650	5 754 102 000	5 225 211 000	5 686 368 000	5 966 810 000	5 596 293 000	5 603 268 000	5 627 746 000	5 225 711 000	5 710 119 000
32	31.808	9 546 283	11 785 350	8 718 248	10 058 810	10 160 410	12 490 700	11 020 110	11 921 330	10 101 980
33	32.410	361 084 400	332 194 300	397 128 800	451 102 900	388 534 100	367 300 900	383 454 200	378 694 400	362 793 000
34	36.346	137 627 100	112 395 200	155 559 100	160 533 300	267 250 700	167 689 500	187 740 400	188 950 100	163 214 200
35	38.962	784 172 200	658 054 300	1 041 756 000	1 182 722 000	1 025 106 000	865 031 700	917 465 600	948 251 900	872 435 100

著性差异, $\rho \in (0, 1)$, 本实验中 ρ 取 0.5; $|Y_0(k) - Y_i(k)|$ 为母序列与子序列的绝对差值; $\min_{i \in I} |Y_0(k) - Y_i(k)|$ 为绝对差值的最小值, 又记为 Δ_{\min} ; $\max_{i \in I} |Y_0(k) - Y_i(k)|$ 为绝对差值的最大值, 又记为 Δ_{\max}

2.3.3 关联度 (r) 的计算 r 实质上是对时间序列

几何关系的比较, 是母序列与子序列各个时刻的关联系数的平均值。

$$r = \sum_{k=1}^n \eta / n$$

n 为子序列的数据个数

计算得到的各组结果见表 3~5。

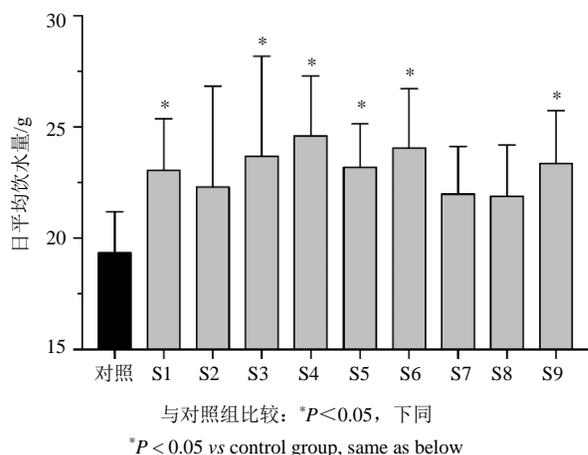


图 3 各组大鼠日平均饮水量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Average daily drinking water per rat in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

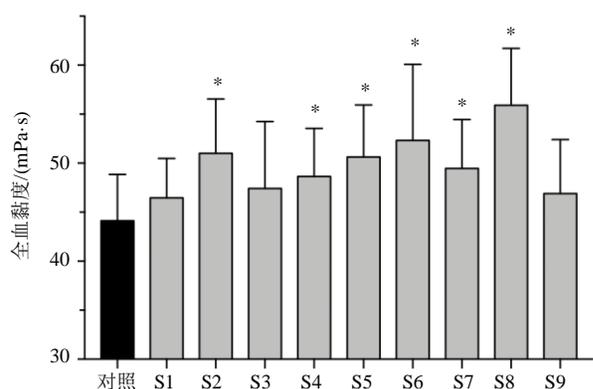


图 4 各组大鼠在切变率为 1 s^{-1} 时的全血黏度 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Blood viscosity of rats in each group at shear rate of 1 s^{-1} ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

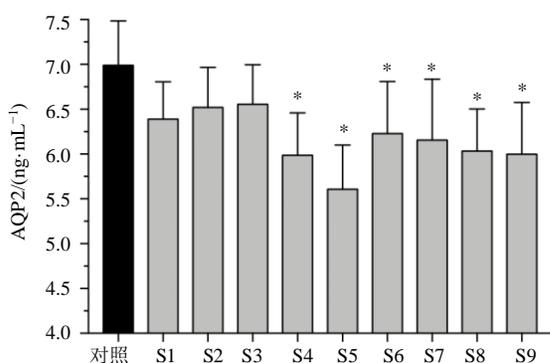


图 5 各组大鼠肾脏中 AQP2 表达量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 Content of aquaporin AQP2 in kidney of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

由表 3 可知，与饮水量关联度大于 0.5 的峰共有 9 个，分别是峰 31、28、29、33、23、27、25、24、16，其关联度大小依次为峰 $31 > 28 > 29 > 33 > 23 > 27 > 25 > 24 > 16$ 。

表 3 日平均饮水量与各特征峰峰面积的关联度

Table 3 Correlation between daily average drinking water volume and each characteristic peak area

峰号	关联度	峰号	关联度
31	0.803 38	19	0.379 27
28	0.752 65	5	0.357 42
29	0.555 71	34	0.354 32
33	0.592 07	18	0.344 53
23	0.582 35	2	0.337 28
27	0.555 71	12	0.307 20
25	0.546 12	8	0.304 99
24	0.541 99	6	0.303 88
16	0.518 07	3	0.300 73
14	0.470 57	4	0.298 33
30	0.458 52	9	0.291 43
10	0.442 50	7	0.288 33
17	0.439 26	1	0.284 02
15	0.422 70	21	0.279 22
32	0.419 09	26	0.278 66
35	0.418 39	13	0.270 32
11	0.416 76	20	0.256 91
22	0.413 60		

由表 4 可知，与全血黏度关联度大于 0.5 的峰共有 8 个，分别是峰 32、28、29、33、31、16、27、25，其关联度大小依次为峰 $32 > 28 > 29 > 33 > 31 > 16 > 27 > 25$ 。

由表 5 可知，与 AQP2 含量关联度大于 0.5 的峰共有 7 个，分别是峰 27、25、31、29、28、33、30，其关联度大小依次为峰 $27 > 25 > 31 > 29 > 28 > 33 > 30$ 。

综合以上 3 个燥性药效指标求得的关联峰，其共有的关联峰共有 6 个，分别为峰 25、27、28、29、31、33，初步确定燥性相关成分有 6 个。

2.4 正交偏最小二乘法验证

灰色关联度分析方法虽然能够很好地识别出与燥性药效具有较高相关性的峰，但其不足之处是不能识别出哪些是与燥性呈正相关的峰，哪些是与燥性呈负相关的峰。本研究选择的 3 个药效指标中，饮水量、全血黏度与苍术燥性呈正相关，而 AQP2 量与苍术燥性呈负相关，故选择 AQP2 含量数据，将其同 6 个共有峰峰面积数据一同导入到 SIMCA-P 14.1 软件中，通过正交偏最小二乘法进一步验证 6 个峰与燥性的相关性，得到其标准化回归系数图，见图 6。由图 6 可以看出，峰 28、31、33 与 AQP2

表 4 切变率为 1 s⁻¹ 时全血黏度与各特征峰峰面积的关联度

Table 4 Correlation between blood viscosity and peak area of each characteristic peak at shear rate of 1 s⁻¹

峰号	关联度	峰号	关联度
32	0.619 56	10	0.345 07
28	0.584 17	15	0.330 39
29	0.581 72	12	0.314 32
33	0.577 67	18	0.310 10
31	0.537 20	5	0.306 73
16	0.535 65	4	0.300 74
27	0.535 25	6	0.292 71
25	0.507 01	3	0.284 71
34	0.496 44	2	0.280 39
23	0.474 38	9	0.272 44
35	0.472 50	26	0.271 14
30	0.458 27	1	0.263 98
11	0.453 75	13	0.261 56
24	0.447 55	7	0.255 30
14	0.420 24	8	0.249 56
22	0.418 71	21	0.248 14
17	0.405 78	20	0.233 46
19	0.350 72		

表 5 肾脏中 AQP2 含量与各特征峰峰面积的关联度

Table 5 Correlation between AQP2 content in kidney and peak area of each characteristic peak

峰号	关联度	峰号	关联度
27	0.721 86	12	0.335 98
25	0.628 12	22	0.274 05
31	0.626 17	19	0.316 10
29	0.597 35	2	0.308 68
28	0.592 08	6	0.288 86
33	0.572 91	4	0.284 73
30	0.536 54	3	0.283 90
32	0.493 99	8	0.279 27
17	0.488 61	9	0.277 38
24	0.485 58	21	0.274 05
11	0.480 92	26	0.272 23
16	0.480 81	7	0.270 88
10	0.455 94	5	0.269 66
35	0.455 08	1	0.267 14
15	0.434 40	18	0.257 90
23	0.431 84	13	0.248 34
34	0.405 72	20	0.245 26
14	0.378 24		

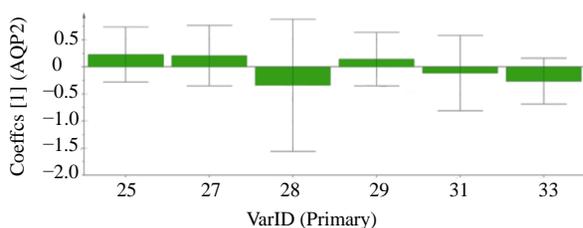


图 6 标准化回归系数图

Fig. 6 Normalized regression coefficient diagram

含量呈负相关, 峰 25、27、29 与 AQP2 含量呈正相关。故可以初步确定出苍术燥性成分为峰 28、31、33。

2.5 燥性成分的谱库检索

经过检索 ThermoFisher 公司 Xcalibur 数据处理系统 NIST 标准质谱图库的谱库, 初步确定峰 31、33、28 对应的 3 种燥性成分为 β-桉叶醇、异愈创木醇、马兜铃烯, 见表 6。

表 6 3 种燥性成分信息

Table 6 Three kinds of dryness components information

峰号	t/min	分子式	化合物	质量分数/%
31	31.6	C ₁₅ H ₂₆ O	β-桉叶醇 (β-eudesmol)	36.60
33	32.4	C ₁₅ H ₂₆ O	异愈创木醇 (bulnesol)	2.30
28	30.1	C ₁₅ H ₂₄	马兜铃烯 [(-)-aristolene]	0.68

3 讨论

中药成分复杂多样, 药理作用众多, 不同的成分发挥着不同的药效。仅凭简单的含量测定, 将含量高的成分认定为药效成分不够科学。同时, 将炮制前后量变最大的成分作为药效成分也不够全面。因此通过数学建模与计算机软件建模, 分析中药指纹图谱与药效学指标之间的内在相关性, 从而筛选出中药药效主要成分, 较为科学和合理。目前谱效关系研究的建模方法众多, 且各有优势与不足。近年来, 灰色关联度分析法被广泛应用于中药谱效研究^[5-7]。通过分析不同批次色谱峰数值的变化与药效数值的变化, 变化趋势一致则关联度高, 变化趋势不一致则关联度低。灰色关联度分析对样本数据要求低, 但也存在缺点, 如易受分辨系数等的影响。关联度值均为正值, 只能反映成分与药效相关性的大小, 并不能反映与药效呈负相关的化学成分, 即不能正确地分析化学成分对药效的综合贡献^[8]。故而在实际分析时, 很多学者在谱效学的研究中更趋向于采用 2 种及以上的分析方法联合应用^[9]。正交偏最小二乘回归分析是以主成分分析、典型相关分析和多元线性回归分析方法为基础的新型多元统计分析方法, 在分析多因素模型时, 可直观地分析图谱中各特征峰对药效的综合贡献, 更易于辨识系统信息与噪声, 回归系数更容易解释和分析, 可以很好地弥补灰色关联度分析的不足。

传统中医理论认为燥性干涩, 最易伤及人体津液, 从而导致一系列干燥失润的病理现象, 表现有

口渴多饮等。故在研究苍术燥性时,饮水量是苍术燥性的重要指标^[10]。燥伤津液,而中医理论认为津血同源,津液耗损势必会影响到血液的流变学,故在研究苍术燥性时,全血黏度也是苍术燥性的重要指标^[11]。全血黏度一般会有几个不同切变率下的全血黏度数值,为了简化计算,方便分析,本研究统一选择第 1 个切变率下的全血黏度数值作为代表进行分析。AQP 是一类具有高度选择性运输水的膜通道蛋白家族。AQP2 是 AQP 家族中的一员,存在于肾脏集合管的主细胞中,是抗利尿激素(ADH)敏感性蛋白,ADH 经过一系列机制激发,促进含 AQP 小泡向腔膜上镶嵌,并使 AQP 开放从而提高腔膜对水的通透性,促进尿液重吸收,大量研究表明尿量的增加可能与 AQP2 的降低有关^[12-14],检测 AQP2 的含量可以客观地反映水液代谢状况。故 AQP2 的含量可以作为衡量苍术燥性指标之一。课题组前期研究表明长期给予高剂量的苍术挥发油,会使正常健康大鼠的饮水量显著增加,血液黏度也会显著增加,同时 AQP2 的量显著降低。故本研究选择饮水量、全血黏度、AQP2 含量作为苍术燥性的代表性药效指标。

本研究基于苍术挥发油的 GC-MS 指纹图谱,通过灰色关联度分析和正交偏最小二乘分析的联合运用,初步确定出苍术的燥性成分有 β -桉叶醇、马兜铃烯、异愈创木醇。有研究表明 β -桉叶醇可能是苍术燥性成分^[13,15-16],但未见马兜铃烯、异愈创木醇是燥性成分的相关报道,可能是由于苍术中 β -桉叶醇的含量高而马兜铃烯、异愈创木醇含量较低。相关研究表明,几种含马兜铃烯的中药均有不同的除湿、利水的功效,如水菖蒲根的挥发油中含 15.71% 的马兜铃烯,有除湿的功效^[17];广防己挥发油中含 3.68% 的马兜铃烯,有利水消肿的功效^[18];缬草根的化学成分中含 0.23% 的马兜铃烯,能治疗风湿痹痛^[19];吴茱萸中含有一定的马兜铃烯,也有燥湿的功效^[20];甘松中也含有马兜铃烯,外用可以祛湿消肿^[21]。综上, β -桉叶醇、马兜铃烯均可能是苍术的主要燥性物质,而异愈创木醇的研究较少,其是否有燥湿利水的功效有待进一步研究。

本研究初步明确了苍术主要燥性成分有 β -桉叶醇、马兜铃烯、异愈创木醇,为苍术燥性物质基础研究提供了参考,进一步完善了苍术燥性理论,为其临床拓展应用提供了一定的基础。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

- [2] 王瑾,王强,李鹏,等. 中药燥性理论溯源及研究思路探讨 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(2): 346-348.
- [3] 瞿领航,涂济源,曹国胜,等. 基于燥胜则干和燥性伤阴理论的苍术燥性效应研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(13): 2705-2712.
- [4] 白关亚,何盼,李媛媛,等. 青翘不同极性部位抗炎作用的谱效关系分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 1-6.
- [5] 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.
- [6] 卿勇军,刘文,杜平,等. 基于灰色关联度分析戊己丸对胃蛋白酶抑制作用的谱效关系 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3390-3395.
- [7] 胡露,张锦,蔺良才,等. 基于谱效关系的头花蓼抑菌作用物质基础研究 [J]. 中药材, 2016, 39(9): 2037-2040.
- [8] 李力,潘倩雯,刘宏. 灰色关联度分析法在中药谱效学研究中的应用 [J]. 中国药房, 2018, 29(11): 1581-1584.
- [9] 贾富霞,罗容,王秀娟. 谱效关系研究方法在中药研究中的应用进展 [J]. 北京中医药, 2015, 34(12): 996-1000.
- [10] 胡平,村上政隆,张前德,等. 养阴清热活血中药对大鼠离体灌流颌下腺唾液分泌的作用 [J]. 微循环学杂志, 2010, 20(4): 22-25.
- [11] 许晨曦,刘玉强,张丝雨,等. 生、麸炒苍术对大鼠 AQP1、AQP5 及血液流变学的影响 [J]. 中药材, 2015, 38(10): 2056-2059.
- [12] 刘艳菊,陈雯雯,曾敏,等. 苍术炮制前后水提物药效学研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(15): 2276-2279.
- [13] 陈雯雯. 苍术麸炒前后氯仿和挥发油部位药理学及化学成分对比研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2013.
- [14] Shida Y, Matsuoka H, Chiga M, et al. Characterization of AQP-2 gene mutation (R254Q) in a family with dominant nephrogenic DI [J]. *Pediatr Int*, 2013, 55(1): 105-107.
- [15] 赵青红. 麸炒对苍术挥发油的影响及其与道地性的关系 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.
- [16] 周洁,郭兰萍,黄璐琦,等. 基于道地药材标准的炮制苍术挥发油变化规律研究 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(8): 567-570.
- [17] 龚先玲,典灵辉,张立坚,等. 水菖蒲根状茎与根挥发油化学成分研究 [J]. 中国药房, 2007, 18(3): 176-178.
- [18] 吴惠勤. 广防己挥发油的 GC-MS 指纹图谱研究 [A] // 2004 年全国有机质谱学术交流会议论文集 [C]. 北京: 中国分析测试学会, 2004.
- [19] 邓芹英,黄维德,李考铮. 缬草根化学成分的研究 [J]. 分析测试学报, 1995, 14(2): 16-22.
- [20] 王世永. 吴茱萸挥发油的提取分离、鉴定及抗氧化和抗菌活性研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- [21] 耿晓萍,石晋丽,刘勇,等. 甘松地上和地下部位挥发油化学成分比较研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(1): 56-59.