

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

卿勇军, 刘文*, 杜平, 金阳, 姚晓艳

贵阳中医学院药学院, 贵州 贵阳 550002

摘要:目的 以大鼠胃溃疡模型为研究对象, 研究中药复方戊己丸对大鼠胃溃疡治疗效应的谱效关系及药效物质基础。方法 在建立不同来源药材的 11 批戊己丸指纹图谱的基础上, 采用大鼠胃溃疡模型, 对 11 批戊己丸进行药效实验。运用灰色关联度分析法, 将 11 批戊己丸药效数据与指纹图谱共有峰的相对峰面积相关联, 建立谱效关系模型。结果 谱效关系研究表明, 戊己丸对大鼠胃溃疡的药效作用是多种成分共同作用的结果, 黄连中盐酸小檗碱、吴茱萸中吴茱萸碱、白芍中芍药苷等可显著降低胃组织中胃蛋白酶(PEP)的量, 是戊己丸治疗胃溃疡的主要有效成分。结论 通过谱效关系研究获得了药效活性物质群, 建立了戊己丸谱效关系评价的方法, 客观反映药物内在质量, 为该类药物制剂后期创新研究提供了重要的参考依据。

关键词: 灰色关联度; 戊己丸; 指纹图谱; 谱效关系; 胃溃疡

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)16-3390-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.16.022

Spectrum-effect relationship for inhibitory action of Wuji Pills on pepsin based on grey incidence degree method

QING Yong-jun, LIU Wen, DU Ping, JIN Yang, YAO Xiao-yan

School of Pharmacy, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China

Abstract: Objective To study the spectrum-effect relationship and material basis of pharmacodynamic effect of Wuji Pills in the treatment of gastric ulcer in rat model. **Methods** The analysis method for the fingerprint of 11 batches of Wuji Pills from different sources was built, and the rat model of gastric ulcer was used to investigate the pharmacodynamics of 11 batches of Wuji Pills. By system clustering method and gray relational analysis, efficacy data and relative peak areas of fingerprint common peaks of 11 batches of Wuji Pills were associated, and the related spectral efficiency relationship model was established. **Results** The spectrum-effect relationship showed that the therapeutic effect of Wuji Pills on rat gastric ulcer was a result of a variety of ingredients, the effect of berberine hydrochloride in *Coptis Rhizoma*, *Evodia rutaecarpa* alkali in *Euodiae Fructus*, paeoniflorin in *Paeoniae Alba Radix*, etc could significantly reduce the content of pepsin in stomach tissue (PEP), which were the main effective components in Wuji Pills. **Conclusion** The efficacy of active substances are obtained through the study on the relationship between spectrum and efficiency, establish the relationship between spectrum and efficiency evaluation of Wuji Pills, and the method provides important reference for the research of traditional Chinese medicine preparation.

Key words: grey correlation degree; Wuji Pills; fingerprints; spectrum-effect relationship; gastric ulcer

戊己丸由黄连、吴茱萸、白芍 3 味中药组成, 3 药配伍具有辛开苦降、泻肝和胃、降逆止呕、止泻之功效^[1], 《中国药典》从 1977 年至 2015 年版都收载有戊己丸成方制剂, 剂型均为丸剂^[2]。现代药理研究表明, 戊己丸临床上用于消化系统溃疡的治疗, 均取得满意疗效^[3]。戊己丸中含有生物碱类、黄酮

类、内酯类、苷类、挥发油类等多种成分。鉴于戊己丸中药材成分复杂, 药效物质难以确定, 采用目前被国内外广泛接受的指纹图谱分析^[4-6], 及在此基础上建立的药效活性物质与指纹图谱的谱效模型^[7], 可以揭示中药所含的化学成分与药效之间的相互关系和规律。

收稿日期: 2017-07-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81460609)

作者简介: 卿勇军, 男, 在读硕士, 主要从事中药新技术与新制剂研究。Tel: 18285147069 E-mail: 1022207145@qq.com

*通信作者 刘文, 男, 硕士生导师, 教授, 主要从事中药新技术与新制剂研究。Tel: (0851)88233005 E-mail: 642771631@qq.com

本研究采用超高液相色谱-质谱联用技术 (UPLC-MS/MS) 建立了不同药材来源的 11 批戊己丸指纹图谱, 采用大鼠胃溃疡模型, 对其抗胃溃疡药效指标胃蛋白酶 (PEP) 的量进行测定, 建立谱效相关性分析模型, 初步揭示戊己丸抗胃溃疡作用的物质基础, 为该类药物质量控制和药效评价提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器与试剂

Acquity UPLC、Waters-Xevo TQ 质谱检测器、MassLynx TM 质谱工作站软件 (美国 Waters 公司); SK8210HP 型台式超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司); Auy220 型电子天平 (日本岛津公司); 0.22 μm 微孔滤膜 (广州泛宏贸易有限公司); 酶标仪 (芬兰雷勃公司); 隔水式恒温培养箱 (上海简户仪器设备股份有限公司)。

对照品盐酸小檗碱 (批号 110713-201212, 质量分数 86.7%)、盐酸巴马汀 (批号 110732-201309, 质量分数 87.4%)、盐酸药根碱 (批号 110733-201108, 质量分数 98.0%)、吴茱萸碱 (批号 110802-201409, 质量分数 99.4%)、吴茱萸次碱 (批号 110801-201207, 质量分数 99.9%)、吴茱萸内酯 (批号 110800-20120, 质量分数 99.9%)、芍药苷 (批号 110736-201640, 质量分数 95.2%), 均购于中国食品药品检定研究院; 黄连碱 (批号 GZDD-0426,

质量分数 98.0%)、表小檗碱 (批号 GZDD-0833, 质量分数 98.0%)、芍药内酯苷 (批号 GZDD-0690, 质量分数 98.0%), 均购于贵州迪达科技有限责任公司。乙腈为色谱纯 (德国 Merck 公司), 其他为分析纯; PEP 试剂盒 (上海哈灵生物科技有限公司); 屈臣氏蒸馏水。

黄连、吴茱萸、白芍药材购于国内不同药材市场或者药店, 具体来源见表 1。不同产地及品种的黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. K. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeta* Wall. 的干燥根茎; 吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.、石虎 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 或疏毛吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实; 白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根; 经贵阳医学院周汉华教授鉴定均为正品。戊己丸按照《中国药典》2015 年版方法实验室制备。

1.2 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠, 12 周龄, 体质量 (200±20) g, 雌雄各半。购自贵州医科大学实验动物中心, 动物质量合格证编号 SCXK (黔) 2012-0001。

2 方法与结果

2.1 化学指纹图谱的建立

2.1.1 供试品溶液的制备 将戊己丸研细, 过 80

表 1 11 批药材来源

Table 1 Habitats of 11 batches of medicinal materials

编号	黄连				吴茱萸				白芍			
	产地	来源	批号	种	产地	来源	批号	种	产地	来源	批号	种
S1	四川	贵州同济堂药店	150701	a	贵州印江	凉山新鑫中药饮片	140601	d	安徽	凉山新鑫中药饮片	161101	g
S2	四川	贵州同济堂药店	151001	a	贵州思南	北京同仁堂药店	140601	d	安徽	亳州京皖中药饮片	151101	g
S3	四川	贵州同济堂药店	160101	a	贵州玉屏	贵阳一品药业	040301	f	浙江	北京同仁堂药店	141101	g
S4	四川	北京同仁堂药店	151101	a	贵州德江	贵州同济堂药店	140807	f	浙江	贵州同济堂药店	140811	g
S5	四川	贵州同济堂药店	160101	a	贵州江口	北京同仁堂药店	140502	d	浙江	贵阳一品药业	140301	g
S6	四川	贵阳一品药业	150401	b	贵州大方	北京同仁堂药店	140602	e	浙江	贵阳一品药业	141001	g
S7	四川	贵州同济堂	151201	b	贵州威宁	贵州同济堂药店	141001	f	安徽	贵州同济堂药店	140501	g
S8	重庆	贵阳怀仁大药房	141102	c	贵州石阡	贵阳一品药业	140602	f	安徽	贵阳芝林大药房	140312	g
S9	重庆	贵阳怀仁大药房	150601	c	贵州沿河	贵阳芝林大药房	140701	e	安徽	贵阳一品药业	140602	g
S10	重庆	贵阳芝林大药房	150501	c	贵州天柱	北京同仁堂药店	160301	e	安徽	贵阳济仁堂药店	150302	g
S11	湖北	北京同仁堂	160601	a	贵州思南	凉山新鑫中药饮片	140601	d	安徽	安徽亳州药材市场	140609	g

a-黄连 b-云连 c-三角叶黄连 d-吴茱萸 e-石虎 f-疏毛吴茱萸 g-芍药

a-*C. chinensis* b-*C. teeta* c-*C. deltoidea* d-*E. rutaecarpa* e-*E. rutaecarpa* var. *officinalis* f-*E. rutaecarpa* var. *bodinieri* g-*P. lactiflora*

目筛,精密称取 0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,500 W、53 kHz 超声处理 30 min,取出放冷,再称定质量,用甲醇补充减失质量,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,滤液作为供试品溶液备 UPLC 使用。药效实验所用的提取物浸膏制备方法:按处方称取相应药材,分别第 1 次加入 8 倍量 70%乙醇,回流提取 1 h,第 2 次加入 6 倍量 50%乙醇,回流提取 1 h,滤过,合并滤液,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴挥干乙醇制成干浸膏,临用加适量水超声制成混悬液,使各配伍组中各组成药材生药质量浓度与全方相应药材生药质量浓度相同,剩余混悬液 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

2.1.2 对照品溶液的配制 精密称取盐酸小檗碱 3.06 mg、盐酸巴马汀 4.69 mg、盐酸药根碱 5.43 mg、黄连碱 4.06 mg、表小檗碱 5.38 mg、吴茱萸内酯 5.25 mg、吴茱萸碱 4.64 mg、吴茱萸次碱 4.45 mg、芍药内酯苷 5.25 mg、芍药苷 4.98 mg,分别置于 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇至刻度,母液冷藏备用。精密吸取适量体积母液置于同一 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇至刻度,配制质量浓度为盐酸小檗碱 79.56 $\mu\text{g/mL}$ 、盐酸巴马汀 93.80 $\mu\text{g/mL}$ 、盐酸药根碱 10.86 $\mu\text{g/mL}$ 、黄连碱 20.30 $\mu\text{g/mL}$ 、表小檗碱 32.28 $\mu\text{g/mL}$ 、吴茱萸内酯 10.50 $\mu\text{g/mL}$ 、吴茱萸碱 9.28 $\mu\text{g/mL}$ 、吴茱萸次碱 4.45 $\mu\text{g/mL}$ 、芍药内酯苷 36.00 $\mu\text{g/mL}$ 、芍药苷 59.76 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 色谱柱为 Acquity UPLC BEH C_{18} 柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 样品温度 10 $^{\circ}\text{C}$, 体积流量 0.4 mL/min, 进样量 2 μL ; 以水 (A, 含 0.05% 甲酸) - 乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱程序: 0~5 min, 8%~15% B; 5~10 min, 15%~18% B; 10~12 min, 18%~20% B; 12~14 min, 20%~35% B; 14~24 min, 35%~40% B; 24~30 min, 40%~50% B; 30~43 min, 50%~55% B; 43~55 min, 55%~59% B。

2.1.4 质谱条件 离子源为 ESI 源, 正离子扫描模式; 毛细管电压 3.0 kV; 取样锥孔电压 30 V; 离子源温度 150 $^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气温度 500 $^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气体积流量 600 L/h; 锥孔气体积流量 50 L/h; 扫描范围: m/z 100~1 000, 采用 MS-Scan 模式采集总离子流图。在上述条件下检测, 所得混合对照品、供试品 UPLC-MS/MS 图谱见图 1。

2.1.5 指纹图谱的方法学考察 参考文献方法^[8], 取上述供试品溶液, 考察方法的精密度、稳定性、

重复性。计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD, 均符合指纹图谱建立的技术要求。

2.1.6 指纹图谱的建立 按上述方法测定 11 批戊己丸 UPLC-MS/MS 指纹图谱, 见图 2。

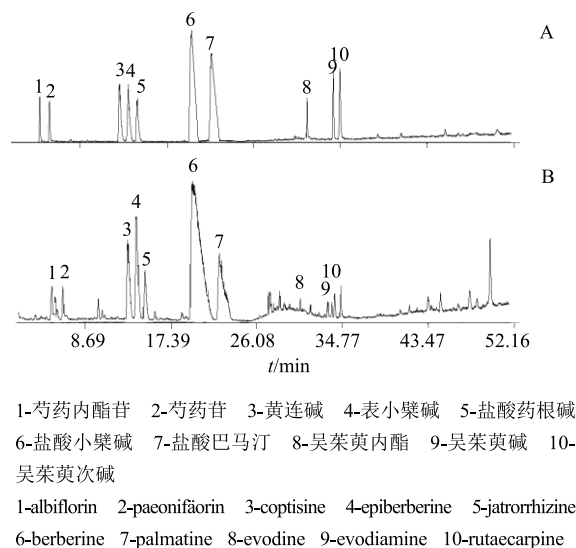


图1 混合对照品 (A)、戊己丸样品 (S4, B) 的 UPLC-MS/MS 图
Fig. 1 UPLC-MS/MS of reference substance (A) and sample (S4, B)

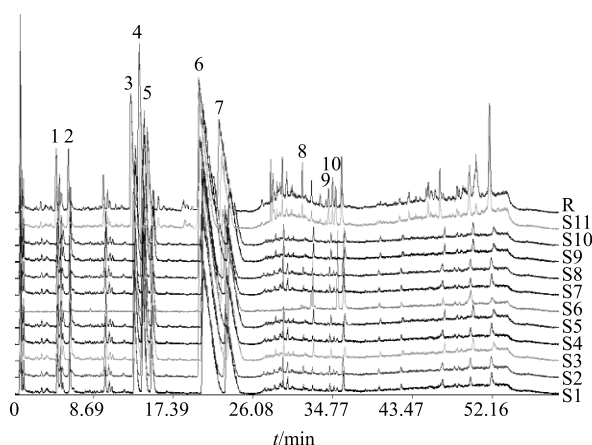


图2 11批戊己丸样品 UPLC-MS/MS 指纹图谱

Fig. 2 Fingerprint of UPLC-MS/MS for 11 batches of Wuji Pills

2.1.7 共有峰的标定 以中位数法筛选指纹图谱特征峰, 采用已知对照品图谱比对, 根据相对保留时间标定 10 个共有指纹峰 (1~10) 分别为芍药内酯苷、芍药苷、黄连碱、表小檗碱、盐酸药根碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、吴茱萸内酯、吴茱萸碱、吴茱萸次碱, 见图 2。

2.2 戊己丸对 PEP 的抑制作用

2.2.1 实验分组 大鼠适应性饲养 1 周后, 将其随机分为 14 组, 分别为对照组、模型组、戊己丸组 (共

11 组)、西咪替丁组。每组 8 只,雌雄各半。

2.2.2 造模及给药 大鼠连续 ig 给药 7 d,每日 1 次,第 7 天给药后将大鼠禁食、不禁水 24 h。第 8 天采用幽门结扎法造模:大鼠用乙醚麻醉后,固定在鼠板上,自胸骨剑突下沿腹中线切开腹壁,切口 2~3 cm。在左侧肋缘部位,用指轻轻往上推,使胃暴露于切口。在胃幽门下穿一线(勿伤及血管)将幽门结扎(不要将邻近的其他血管结扎)。同时经十二指肠用注射器注入被试药物,对照组给予等体积生理盐水。然后缝合腹壁切口,用生理盐水冲洗,停止供水供食。24 h 后用过量乙醚处死动物,开腹结扎贲门取出全胃。沿胃大弯侧剪开胃,用冰生理盐水漂去胃内容物,冲洗干净并平展在玻璃板上。取溃疡瘢痕周围组织吸干,放入冰生理盐水反复冲洗吸干,称取 0.3~0.4 g,用适量生理盐水制成 10% 组织匀浆液,置于 5 mL 离心管中,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液置于超低温冰箱中保存,备用。

2.2.3 观察指标 以胃组织中 PEP 量为考察指标,采用 ELISA 法,严格按照试剂盒说明书,对各组大鼠胃组织中 PEP 进行检测,以标准物的质量浓度为横坐标,吸光度(A)值为纵坐标,计算出回归方程式 $Y=5.4584X^2+82.225X-3.2362$, $R^2=0.9991$ 。把样品的 A 值代入方程式,计算出样品中 PEP 质量浓度,再乘以稀释倍数,即为样品中 PEP 实际质量浓度。

2.2.4 统计分析方法 实验数据采用 SPSS 19.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,当资料满足正态分布且组间方差齐时,应用单因素方差分析;如不满足上述条件则采用非参数检验(秩和检验)方法,数据按 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2.2.5 戊己丸对胃组织中 PEP 量的影响

由表 2 可知,模型组大鼠胃组织中 PEP 量升高,与对照组相比差异显著($P<0.01$);11 批戊己丸给药组均能显著降低大鼠胃组织中 PEP 的量,与模型组相比均差异显著($P<0.01$)。

2.3 谱效学研究

运用灰色关联度分析法建立谱效相关性数理统计模型,对 11 批戊己丸指纹图谱中峰面积与其药效学指标 PEP 的量进行灰色关联度分析,对指纹图谱与药效指标的内在结果进行分析,见表 3。

根据表 3 中数据,以药效指标结果抑制率(X_0)为参考数列(母序列),以各共有峰(X_P)为比较数列(子序列),计算共有峰对药效指标的关联度。

表 2 戊己丸对各组大鼠胃组织中 PEP 量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of Wuji Pills on PEP in stomach tissue of rats in different groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	PEG/(ng·mL ⁻¹)
对照	239.290 ± 9.865
模型	882.590 ± 9.653**
S1	153.074 ± 16.763 ^{△△##}
S2	207.591 ± 21.741 ^{△△##}
S3	213.573 ± 13.546 ^{△△##}
S4	211.342 ± 20.906 ^{△△##}
S5	192.209 ± 17.523 ^{△△##}
S6	204.514 ± 16.168 ^{△△##}
S7	185.517 ± 17.258 ^{△△##}
S8	240.282 ± 18.444 ^{△△##}
S9	183.690 ± 9.738 ^{△△##}
S10	150.466 ± 14.244 ^{△△##}
S11	156.295 ± 16.141 ^{△△##}
西咪替丁	178.610 ± 4.450 ^{△△}

与对照组比较:** $P<0.01$;与模型组比较:^{△△} $P<0.01$;与西咪替丁组比较:^{##} $P<0.01$

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

第 1 步:由于每个数列量纲不一致,所以在进行灰色关联度之前,须对每个数列进行标准化处理,以达到量纲一致,采用均值化变换数据: $X=i$ 峰的相对峰面积/ i 峰相对峰面积的平均值。第 2 步:计算各比较数列同参考数列在同一戊己丸批次的绝对差。第 3 步:取分辨系数 $\rho=0.5$,根据灰色关联系数计算公式,依次计算灰色关联系数^[9]。第 4 步:计算关联度。分别求各个数列每个特征峰的关联系数的平均值即得关联度。结果见表 4。

依据关联度的分析结果可知,戊己丸指纹图谱中峰面积与胃组织中药效指标 PEP 的降低(Δ PEP)有高度关联性,关联度均大于 0.550。综合以上各色谱峰对药效指标 PEP 抑制作用的贡献由大到小依次为盐酸小檗碱>芍药苷>吴茱萸内酯>吴茱萸碱>表小檗碱>吴茱萸次碱>盐酸巴马汀>黄连碱>芍药内酯苷>盐酸药根碱。其中 6 号峰(盐酸小檗碱)、2 号峰(芍药苷)对戊己丸药效指标 PEP 贡献最大,关联度均在 0.800 以上,表明戊己丸是通过有效组分发挥药效作用的,为戊己丸的物质基础研究奠定基础。

3 讨论

3.1 色谱条件优选

本实验选择流动相时,选择了 0.10%甲酸水-

表3 11批戊己丸指纹图谱中峰面积与其药效学指标 PEP

Table 3 Peak areas of fingerprint for 11 batches of Wuji Pills and its pharmacodynamic indexes of PEP

编号	峰面积										Δ PEP/ (ng·μL ⁻¹)	抑制率/ %
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10		
S1	1 058.40	1 250.10	660.40	898.50	2 393.00	2 268.90	11 117.80	297.60	209.40	51.90	729.52	1.134
S2	1 064.05	1 493.10	675.50	1 228.53	2 586.73	2 834.68	11 008.80	45.20	38.00	74.14	675.00	1.049
S3	1 071.20	1 764.00	830.20	1 119.40	2 864.00	3 378.40	14 779.20	83.20	151.20	86.20	669.02	1.040
S4	1 357.80	2 072.40	1 036.00	1 369.60	3 413.60	4 319.20	17 941.00	134.20	419.40	262.20	671.25	1.043
S5	962.60	1 055.80	764.85	1 144.10	2 128.95	2 438.30	7 169.40	63.15	61.60	111.10	690.38	1.073
S6	900.15	1 302.00	847.10	1 491.15	2 723.40	2 804.95	10 260.20	83.00	47.25	43.15	678.08	1.054
S7	1 064.10	1 155.00	802.20	712.05	2 104.95	3 127.35	12 769.00	113.40	645.75	219.75	697.07	1.084
S8	1 025.65	1 422.30	933.95	1 427.85	2 954.50	2 992.55	10 998.20	88.00	47.90	44.00	642.31	0.998
S9	858.70	976.80	519.25	967.45	1 603.60	2 272.65	6 267.00	59.50	47.60	42.50	698.90	1.086
S10	1 105.46	1 232.00	676.63	1 272.26	2 521.13	2 933.08	10 648.40	50.40	39.67	74.47	732.12	1.138
S11	1 232.10	1 212.30	1 076.00	1 811.40	3 520.70	4 315.70	15 466.00	86.80	263.20	111.50	726.30	1.129
均值	1 063.66	1 357.80	802.01	1 222.03	2 619.51	3 062.34	11 675.00	100.40	179.18	101.90	691.81	1.080

表4 戊己丸指纹图谱中峰面积与药效学指标 PEP 的关联度

Table 4 Grey correlation degree between area of fingerprint and pharmacodynamic indicator PEP

峰号	t/min	成分	与 PEP 关联度	药材归属
1	4.30	芍药内酯苷	0.605	白芍
2	4.79	芍药苷	0.806	白芍
3	11.87	黄连碱	0.638	黄连
4	12.77	表小檗碱	0.709	黄连
5	13.43	盐酸药根碱	0.598	黄连
6 (S)	17.75	盐酸小檗碱	0.949	黄连
7	19.75	盐酸巴马汀	0.656	黄连
8	31.69	吴茱萸内酯	0.782	吴茱萸
9	34.01	吴茱萸碱	0.717	吴茱萸
10	34.50	吴茱萸次碱	0.701	吴茱萸

0.10%甲酸甲醇、0.10%甲酸水-甲醇、水-乙腈、0.05%甲酸水-乙腈、0.10%甲酸水-乙腈、0.20%甲酸水-乙腈、0.50%甲酸水-乙腈、0.10%甲酸水-0.10%甲酸乙腈、水-甲醇等流动相系统进行考察,根据筛选条件,综合考虑各成分的分离情况,保留时间和噪音漂移等因素,选择以 0.05%甲酸水-乙腈系统为流动相,得到的色谱峰分离效果好。

3.2 药效机制作用

胃溃疡是消化性溃疡中最常见的一种,主要是指胃黏膜被胃酸和 PEP 自身消化而造成的超过黏膜肌层的组织损伤。目前一般认为是胃黏膜攻击因子(主要是胃酸和 PEP)增强或防御因子(主要是胃黏

液屏障、黏膜屏障和黏膜血流量等)减弱,由二者失去平衡所引起^[10]。

PEP 主要由胃主细胞分泌的胃蛋白酶原,在胃液的酸性条件下切去 44 个氨基酸残基后转换而成,属于天冬氨酸蛋白水解酶类,是消化系统重要的蛋白水解酶^[11]。PEP 长期被当作溃疡疾病的攻击因子,当胃黏膜的侵袭因素和保护因素平衡被破坏时,PEP 可造成胃黏膜的损伤。本研究采用幽门结扎法造模,并用 ELISA 法测定大鼠胃组织中 PEP 的量。实验结果表明,戊己丸可使胃溃疡大鼠胃组织中的 PEP 量明显降低,提示戊己丸抑制了 PEP 的释放,在一定程度上减轻了对胃黏膜的损伤,对胃溃疡有一定治疗作用。

3.3 谱效关系分析

中药材来源广,化学成分复杂多样,研究和表征其发挥药效的物质基础难度较大。本研究将指纹图谱技术运用于中药复杂成分的化学信息采集,通过指纹图谱信息与药效作用的相互关系研究,揭示中药所含的化学成分与药效之间的相互关系和规律,从中选取代表性成分作为药效物质基础^[12],不但可系统表征该类中药复方整体成分-药效的相关性,而且为中药追踪分离药理活性成分提供途径。

关联度定量地描述了事物或因素之间相互变化的情况,如果事物或因素变化的态势基本一致,则可以认为它们之间的关联度较大,反之,关联度较小。对事物或因素之间的这种关联关系,虽然用回

归、相关等统计分析方法也可以得出一定程度的结果,但往往要求数据量较大、数据的分布特征也要求比较明显。相对来说,灰色关联度分析所需数据较少,对数据的要求较低,原理简单,易于理解和掌握。

本实验采用的灰色关联度分析,通过色谱峰代表的化学成分与药效信息建立谱效关系数学模型^[13],筛选与药效有关的活性组分,分析指纹峰对药效贡献大小,确定药效物质基础,从而探索中药复方的药效物质及配伍作用机制研究的科学方法,不断提高方药疗效,为研发疗效更加确切的新型中药复方制剂提供依据。

参考文献

- [1] 张建锋,刘 文,侯晓洁,等. 戊己丸的现代研究进展 [J]. 中医学报, 2017, 32(1): 96-98.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] Chen Z F, Liu W, Chen D Y, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of HPLC fingerprint of Wuji gastric floating sustained-release tablets [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2015, 24(5): 310-317.
- [4] 刘 文,王 群,宋信莉,等. 戊己胃漂浮缓释片多组分体外释放行为研究 [J]. 中成药, 2013, 35(13): 2394-2398.
- [5] Chen H, Zhang Q, Wang X M, *et al.* Qualitative analysis and simultaneous quantification of phenolic compounds in the aerial parts of *Salvia miltiorrhiza* by HPLC-DAD and ESI/MS [J]. *Phytochem Anal*, 2011, 22(3): 247-257.
- [6] 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.
- [7] 邵 峰,谷丽菲,钟丹丹,等. 山楂体外降三酰甘油主要活性组分谱效关系研究 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 339-344.
- [8] 张建锋,刘 文,侯晓洁,等. 戊己丸UPLC-MS/MS指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(11): 1897-1902.
- [9] 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.
- [10] Jalsrai A, Grecksch G, Becker A. Evaluation of the effects of *Astragalus mongholicus* Bunge saponin extract on central nervous system functions [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(3): 544-549.
- [11] 唐梅文,王 伟,李桂贤,等. 加味七方胃痛颗粒对慢性萎缩性胃炎大鼠胃蛋白酶含量及HSP 70蛋白表达的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(1): 69-72.
- [12] Zheng Q F, Zhao Y L, Wang J B, *et al.* Spectrum-effect relationships between UPLC fingerprints and bioactivities of crude secondary roots of *Aconitum carmichaelii* Debeaux (Fuzi) and its three processed products on mitochondrial growth coupled with canonical correlation analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3): 615-623.
- [13] 赵 琰,屈会化,王庆国,等. 利用单克隆抗体特异性敲除技术解析中药药效物质基础的新方法 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(17): 2906-2910.