

基于灰色关联度法和 FCM 算法的木香质量评价研究

徐珍珍¹, 史星星², 樊旭蕾³, 王淑美^{1*}

1. 广东药科大学, 广东 广州 510006

2. 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006

3. 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点研究室, 广东 广州 510006

摘要: **目的** 采用灰色关联度法和 FCM (Fuzzy C-Means) 算法相结合的模式识别模型进行木香质量多指标综合评价研究。**方法** HPLC 法测定木香烃内酯、去氢木香内酯的含量及水蒸气蒸馏法测定木香挥发油的含量作为木香评价考察指标。采用灰色关联度法进行中药质量排序, FCM 算法进行中药质量分类。**结果** 不同产地木香平均关联度排序为云南>广东>广西>湖南>四川>安徽亳州>北京>河北, FCM 算法将不同产地木香样品分为 3 类。由 2 种方法结合分析可知云南、广东、广西在质量高的类组中; 湖南、四川在质量中等的类组中; 北京、安徽亳州、河北在质量低的类组中。**结论** 构建了用于评价中药材质量的综合模式识别模型体系, 首次在木香药材中采用模糊聚类算法, 旨在形成一种木香质量评价研究方法, 为现代模式识别、数据挖掘等新方法在中药质量评价方面的应用提供思路引领和经验借鉴。

关键词: 木香; 木香烃内酯; 去氢木香内酯; 灰色关联度法; FCM 算法

中图分类号: R282.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)24-5916-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.24.027

Quality evaluation of *Aucklandiae Radix* based on gray correlation method and FCM algorithm

XU Zhen-zhen¹, SHI Xing-xing², FAN Xu-lei³, WANG Shu-mei¹

1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Engineering & Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of the Universities of Guangdong Province, Guangzhou 510006, China

3. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica of State Administration of TCM, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To comprehensively evaluate the *Aucklandiae Radix* quality by combining gray correlation method and FCM (Fuzzy C-Means) algorithm. **Methods** HPLC method was used to determine the content of costunolide and dehydrocostus, and the content of volatile oil was determined by steam distillation. The gray correlation method was used to sort the quality of Chinese herbal medicines, and the FCM algorithm was used to classify the quality of medicines. **Results** The average correlation degree of *Aucklandiae Radix* from different producing areas was: Yunnan > Guangdong > Guangxi > Hunan > Sichuan > Bozhou > Beijing > Hebei. FCM algorithm divided samples into three categories: Yunnan, Guangdong and Guangxi were in the high quality group; Hunan and Sichuan were in the medium quality group; Beijing, Bozhou, and Hebei were in the low quality group. **Conclusion** Constructing an integrated pattern recognition model system for evaluating the quality of Chinese medicinal materials, and the fuzzy clustering algorithm was adopted for the first time in *Aucklandiae Radix*. The purpose of this study is to form a kind of research method of *Aucklandiae Radix* quality evaluation and provide a way to guide and apply the new methods of modern pattern recognition and data mining in the application of traditional Chinese medicine quality evaluation.

Key words: *Aucklandiae Radix*; costunolide; dehydrocostus; grey correlation method; FCM algorithm

木香为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根, 为中药常用商品, 又名蜜香 (《名医别录》)、广木香 (《普济方》)、青木香 (《木香经集注》)^[1], 载于《神农本草经》, 列为上品^[2]。梁代开始从广州进

收稿日期: 2018-03-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473413) 国家自然科学基金资助项目 (81274060)

作者简介: 徐珍珍 (1991—), 女, 在读硕士生, 从事中药质量分析与评价。Tel: 13724050271 E-mail: 2275234187@qq.com

*通信作者 王淑美 (1966—), 女, 博士, 教授, 从事中药质量分析与评价。Tel: (020)39352177 E-mail: shmwang@sina.com

口的木香逐渐成为主流品种,称广木香。后在云南引种成功,称云木香,是现存木香药材主流品种。木香内含挥发油、树脂、生物碱、菊糖及甾醇等成分,其性温,味辛、苦,归胃、脾、胆、大肠、三焦经,具有健脾消食、行气止痛的功能^[3]。药理研究表明,木香挥发油具有抗湿热、抗肿瘤、抗炎、泻痢解痉等作用^[4]。木香烯内酯和去氢木香内酯是木香挥发油的主要成分,它们具有松弛平滑肌和解痉作用,具有显著的生理活性^[5-6],因此挥发油成分的含量和组成与药材的质量有直接关系。目前木香的质量评价多采用传统经验鉴别、化学模式识别、药材指纹图谱及“一测多评”的方法,前一种方法带有很大主观性,中间2种方法在实际应用受到很大限制,最后一种方法仅仅是在某类成分的“单一”层面来评价药材质量。本实验首次采用灰色关联度法和FCM算法相结合的模式识别模型,以去氢木香内酯、木香烯内酯含量及挥发油含量作为考察指标,进行木香质量综合评价研究,为木香质量评价提供科学依据。在该模式体系中灰色关联度法用于中药质量排序,FCM算法用于中药质量分类,2种方法相结合能够评价不同分类组中木香质量的优劣性。在聚类分析方面不再是单纯的采用SPSS自带的系统聚类方法,而是首次采用模糊聚类3大分支(模糊关系、模糊规则学习、目标函数优化)中基于目标函数优化的FCM算法,并结合matlab编程工具进行木香质量评价,并且通过FCM算法引入模糊理论,使聚类具有直观性^[7],使得评价结果更有依据、更加客观,因此该模式识别体系方法的创新应用在中药质量评价研究领域的研究具有重要意义。

1 材料与仪器

1.1 材料

木香药材分别购于广西南宁万康乐中草药材种植有限公司(S1~S6,产地广西),北京市延庆县中药材种植研究所(S7~S12,产地北京),广东韶关市武江区仁昌中药材种植基地(S13~S18,产地广东),云南丽江市玉山县鲁甸乡新主村(S19~S21,产地云南),云南省大理州祥云县禾甸镇(S22~S24,产地云南),亳州谯城区中药材种植合作社(S25~S30,产地亳州),四川省绵阳市平武县药材基地(S31~S36,产地四川),湖南益阳市科技药材有限公司(S37~S39,产地湖南),湖南张家界龙山中药材种植基地(S40~S42,产地湖南),河北省沧州市中药材种植基地(S43~S48,产地河北),48批木香药材经广东药科大学中药学院刘基柱教授鉴定为菊科植物木香 *Aucklandia*

lappa Decne. 的干燥根。

1.2 仪器与试剂

FW135 中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)、LC-20A 高效液相色谱仪包括 LC-20AAT 溶液传输单元, SIL-20A 自动进样器、SPD-M20A 二极管阵列检测器、二元高压梯度泵、真空脱气机、柱温箱、LC-Solution 色谱工作站(日本岛津公司), KQ3200V 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), 岛津 AY120 型万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司), TC-15 恒温电热套(海宁市新华医疗机械厂)。木香烯内酯(批号 MUST-16050705)、去氢木香内酯(批号 MUST-16041601)均购自成都曼斯特生物科技有限公司,质量分数均大于98%,甲醇(分析纯,天津市百世化工有限公司),水为 Milli-Q 超纯水。

2 方法与结果

2.1 木香烯内酯和去氢木香内酯的测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Phenomasil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(65:35),等度洗脱 40 min,体积流量 1 mL/min,柱温 30 ℃,检测波长 225 nm。

2.1.2 对照品溶液的制备 取木香烯内酯和去氢木香内酯对照品适量,精密称定,分别置于 5.0 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度。再分别吸取上述对照品储备液适量置于 5.0 mL 量瓶中,加甲醇制成含木香烯内酯 0.2 mg/mL 和去氢木香内酯 0.2 mg/mL 的混合溶液作为对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过4号筛)约 0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 50 mL,密塞,摇匀,称定质量,放置过夜,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz) 30 min,取出,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,过微孔滤膜,得到供试品溶液。

2.1.4 方法学考察

(1) 线性关系考察:分别精密吸取木香烯内酯对照品和去氢木香内酯对照品混合溶液 2、4、6、8、10、12 μL 进样,按上述色谱条件测定峰面积,以对照品进样量为横坐标(X)、峰面积值为纵坐标(Y),绘制标准曲线,木香烯内酯回归方程为 $Y=2 \times 10^6 X-33\ 173$, $r=0.999\ 5$;表明木香烯内酯在 0.4~2.4 μg 内具有良好的线性关系;去氢木香内酯回归方程为 $Y=1 \times 10^6 X-56\ 577$, $r=0.999\ 7$;结果表明去氢木香内酯在 0.4~2.4 μg 内具有良好的

线性关系。

(2) 精密度试验: 取木香药材 (S1) 0.3 g, 制备供试品溶液按“2.1.3”项下方法, 按上述色谱条件连续重复进样 6 次, 每次进样 10 μ L, 测得木香烃内酯峰面积 RSD 为 1.61%, 去氢木香内酯峰面积 RSD 为 1.70%, 表明仪器精密度良好。

(3) 稳定性试验: 取木香药材 (S1) 0.3 g, 制备供试品溶液按“2.1.3”项下方法, 按上述色谱条件, 在 0、2、4、8、12、24 h 各进样 10 μ L, 测其峰面积, 木香烃内酯峰面积 RSD 为 2%, 去氢木香内酯峰面积 RSD 为 2.23%, 表明溶液在 24 h 内稳定。

(4) 重复性试验: 取同一木香药材 (S1) 6 份, 按照“2.1.3”项方法制备, 每次进样 10 μ L, 测定木香烃内酯、去氢木香内酯的质量分数, 结果木香烃内酯和去氢木香内酯的质量分数 RSD 分别为 2.22% 和 1.87%, 表明重复性良好。

(5) 加样回收率试验: 取同样已测定的木香药材 6 份, 每份约 0.15 g, 每份均加入去氢木香内酯与木香烃内酯对照品, 按照“2.1.3”项方法制备, 每次进样 10 μ L, 求得平均加样回收率分别为 100.6%、

101.1%, RSD 分别为 0.89%、1.61%, 表明回收率良好。

2.2 挥发油的含量测定

按照《中国药典》2015 年版一部附录 XD 挥发油测定法 (甲法) 进行提取测定^[3]。

2.3 样品测定

将 48 批木香样品按“2.1”和“2.2”项下方法操作。HPLC 图谱见图 1, 测定结果见表 1。

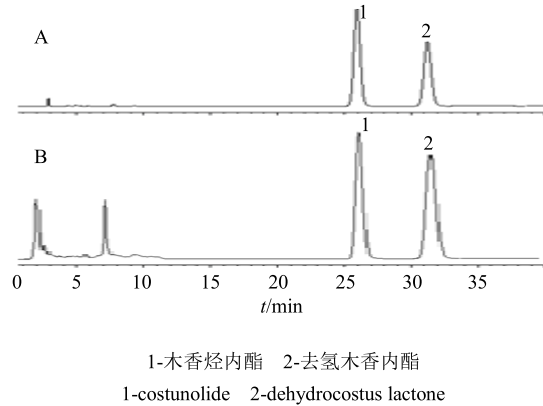


图 1 混合对照品 (A) 和供试品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mix control (A) and *Aucklandiae Radix* (B)

表 1 木香药材中指标成分含量

Table 1 Content of indexes in *Aucklandiae Radix*

编号	木香烃内酯/(mg·g ⁻¹)	去氢木香内酯/(mg·g ⁻¹)	挥发油/(mL·kg ⁻¹)	编号	木香烃内酯/(mg·g ⁻¹)	去氢木香内酯/(mg·g ⁻¹)	挥发油/(mL·kg ⁻¹)
S1	26.098 3	30.325 9	0.249	S27	20.312 2	22.432 3	0.158
S2	30.235 2	31.879 0	0.287	S28	20.335 4	22.380 6	0.156
S3	24.493 4	30.691 8	0.234	S29	20.449 5	22.581 7	0.160
S4	27.818 4	30.272 1	0.286	S30	19.870 5	21.931 4	0.121
S5	29.580 1	30.623 5	0.271	S31	26.956 1	28.704 8	0.159
S6	28.027 3	30.041 4	0.289	S32	27.111 8	29.117 2	0.166
S7	22.540 5	24.759 3	0.126	S33	27.998 7	29.690 6	0.185
S8	20.590 4	21.881 0	0.089	S34	27.569 7	29.841 8	0.201
S9	22.170 2	23.463 1	0.118	S35	26.129 2	30.033 4	0.184
S10	21.783 4	24.191 5	0.121	S36	26.405 3	28.678 0	0.153
S11	19.504 2	20.739 4	0.069	S37	26.354 2	27.284 3	0.149
S12	20.752 5	21.528 6	0.056	S38	27.236 1	28.024 6	0.162
S13	28.077 6	32.067 3	0.274	S39	28.181 2	29.014 2	0.214
S14	28.905 5	30.052 7	0.263	S40	27.175 4	28.372 5	0.165
S15	27.643 2	32.601 3	0.285	S41	27.118 5	28.645 7	0.170
S16	30.692 1	31.508 1	0.292	S42	25.972 9	26.234 4	0.131
S17	28.593 1	31.637 6	0.262	S43	24.681 3	26.744 9	0.165
S18	29.210 9	31.080 2	0.258	S44	21.407 6	24.329 8	0.158
S19	28.324 7	33.864 1	0.296	S45	20.044 8	23.565 1	0.142
S20	31.689 9	32.166 3	0.315	S46	18.842 1	20.589 5	0.098
S21	32.817 3	34.200 5	0.322	S47	20.593 2	22.641 1	0.130
S22	28.281 5	33.639 5	0.295	S48	21.200 9	24.628 4	0.136
S23	29.469 8	33.604 5	0.288	最优	32.817 3	34.200 5	0.322
S24	28.213 9	32.410 3	0.286	均值	25.496 6	27.800 3	0.197
S25	19.512 2	21.714 3	0.131	最差	18.842 1	20.589 5	0.056
S26	19.866 7	22.008 3	0.142				

2.4 结果分析

2.4.1 灰色关联度法分析^[8] 采用 matlab 对木香药材中指标性成分的含量（木香烃内酯、去氢木香内酯、挥发油）进行灰色关联分析得到各省样品的相关度，结果如图 2 所示，各样品相对关联度质量优劣排序结果如表 2 所示。由表 2 各样品相对关联度质量优劣排序结果可以看出，不同产地木香平均关联度介于 0.46~0.56，且云南>广东>广西>湖南>四川>亳州>北京>河北，云南品质最优，符合木香药材的道地性，收集的样品质量有一定的差异，可能与药材的地理环境，生长环境等有关。

2.4.2 模糊聚类分析结果 采用 matlab 编程，采用 FCM 算法^[9]对木香药材中指标性成分（木香烃内酯、去氢木香内酯、挥发油）进行聚类。采用

多次测试实验方法，最终发现聚类分为 3 组的效果明显，聚类结果效果图如图 3 所示，表明样品被分为 3 组，聚类结果明显。样本聚类过程中的隶属度如图 4 所示；根据隶属度的程度判别出样本具体分在哪一组当中，得到的各组聚类编号中成员分布情况如表 3 所示。表 3 的结果可以看出云南的样本全部都聚集在了组 1 中，广东、广西的大部分样品聚集在了组 1 中，四川、湖南大多数聚集在了组 2 当中，而北京、河北、安徽亳州的样本全部聚集在了组 3 中。

通过以上分析可知组 1 为木香质量高的分组单元，组 2 为质量中等的分组单元，组 3 为质量差的分组单元。同时由灰色关联及模糊聚类可以粗略地寻找不同产地木香间性质的相似程度及亲缘关系，有利于更好地对木香进行质量评价研究。

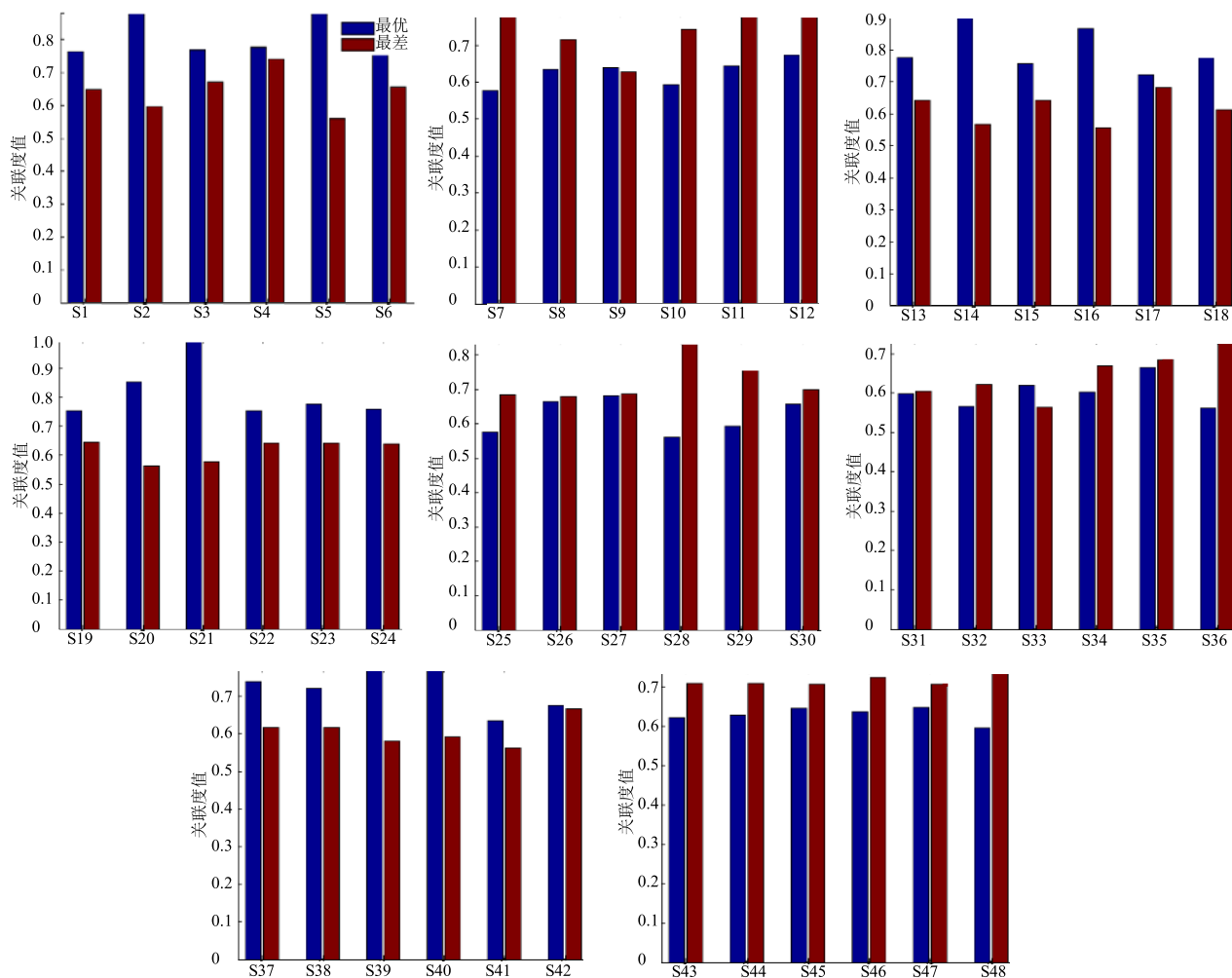


图 2 不同产地样品的相关度柱状图

Fig. 2 Correlation of samples produced in different areas

表 2 不同产地样品相对关联度及质量优劣排序结果

Table 2 Sorting results of relative correlation and quality of each sample

产地	相对最优关联度	相对最差关联度	相对关联度	平均关联度	产地	排名
S1	0.763 4	0.647 0	0.541 3	0.557 7	广西	3
S2	0.879 4	0.597 6	0.595 4			
S3	0.769 8	0.670 8	0.534 4			
S4	0.776 2	0.741 0	0.511 6			
S5	0.881 5	0.561 1	0.611 0			
S6	0.810 9	0.656 9	0.552 5			
S7	0.577 8	0.783 2	0.424 6	0.463 5	北京	7
S8	0.635 1	0.715 8	0.470 1			
S9	0.638 2	0.627 7	0.504 1			
S10	0.592 9	0.742 4	0.444 0			
S11	0.643 4	0.787 8	0.449 6			
S12	0.738 5	0.773 3	0.488 5			
S13	0.774 3	0.642 4	0.546 5	0.564 3	广东	2
S14	0.912 3	0.566 5	0.616 9			
S15	0.755 2	0.641 7	0.540 6			
S14	0.865 8	0.556 4	0.608 8			
S17	0.721 8	0.680 9	0.514 6			
S18	0.774 1	0.612 7	0.558 2			
S19	0.752 2	0.644 5	0.538 6	0.567 1	云南	1
S20	0.852 3	0.563 8	0.601 9			
S21	1.000 0	0.578 9	0.633 3			
S22	0.751 9	0.643 1	0.538 9			
S23	0.775 1	0.642 3	0.546 8			
S24	0.758 6	0.638 1	0.543 1			
S25	0.622 1	0.707 7	0.467 8	0.467 6	亳州	6
S26	0.628 4	0.708 5	0.470 0			
S27	0.646 0	0.706 9	0.477 5			
S28	0.636 8	0.724 0	0.468 0			
S29	0.647 7	0.706 5	0.478 3			
S30	0.595 3	0.744 7	0.444 3			
S31	0.598 7	0.604 4	0.497 6	0.483 0	四川	5
S32	0.566 8	0.621 6	0.476 9			
S33	0.620 2	0.564 5	0.523 5			
S34	0.603 5	0.669 9	0.473 9			
S35	0.664 3	0.684 9	0.492 4			
S36	0.562 3	0.734 9	0.433 5			
S37	0.738 6	0.616 8	0.544 9	0.542 2	湖南	4
S38	0.719 8	0.616 9	0.538 5			
S39	0.767 5	0.579 8	0.569 7			
S40	0.773 9	0.591 1	0.567 0			
S41	0.634 0	0.563 1	0.529 6			
S42	0.675 8	0.666 5	0.503 5			
S43	0.577 3	0.684 2	0.457 6	0.462 3	河北	8
S44	0.664 4	0.678 6	0.494 7			
S45	0.681 1	0.688 3	0.497 4			
S46	0.562 5	0.843 9	0.399 9			
S47	0.594 5	0.757 3	0.439 8			
S48	0.657 0	0.699 6	0.484 3			

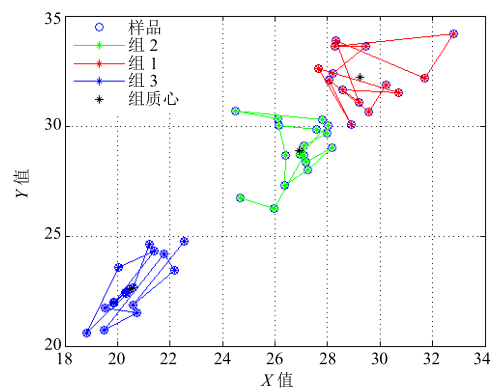


图 3 聚类结果的二维图

Fig. 3 Two-dimensional graph clustering results

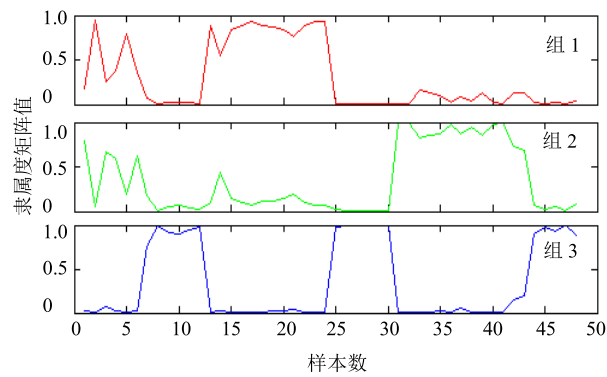


图 4 样本的隶属度

Fig. 4 Membership of samples

3 讨论

在本研究结果中,传统认为质量较优的木香中在 3 种有效成分上都很高。而《中国药典》2015 年版仅将木香烃内酯、去氢木香内酯作为其质量控制标准指标成分,这就说明一种或几种有效成分的含量并不是衡量中药质量的唯一标准,只能作为判断质量的参数之一。同时木香烃内酯和去氢木香内酯是木香挥发油的主要成分,因此挥发油成分的含量和组成与药材的质量有直接关系。挥发油的含量可以作为质量控制标准指标成分之一,可以得出木香烃内酯、去氢木香内酯和挥发油的含量三者也存在密切的关联性。所以本研究采用了 HPLC 法测定木香烃内酯、去氢木香内酯的含量及水蒸气蒸馏法测定木香挥发油的含量三者作为木香评价特征指标。本研究还构建了中药质量多指标的“综合评价”模式识别模型体系。其中,灰色关联度法用于中药质量排序,FCM 算法用于中药质量分类,2 种方法相结合能够评价不同分类组中木香质量的优劣性。

表 3 各组聚类样品结果

Table 3 Cluster members in each group

样品	类组号	样品	类组号
S1	2	S13	1
S2	1	S14	2
S3	2	S15	1
S4	2	S16	1
S5	1	S17	1
S6	1	S18	1
S7	3	S19	1
S8	3	S20	1
S9	3	S21	1
S10	3	S22	1
S11	3	S23	1
S12	3	S24	1
S25	3	S37	2
S26	3	S38	2
S27	3	S39	2
S28	3	S40	2
S29	3	S41	2
S30	3	S42	2
S31	2	S43	2
S32	2	S44	3
S33	2	S45	3
S34	2	S46	3
S35	2	S47	3
S36	2	S48	3

首次采用 FCM 算法进行木香质量评价。在聚类分析方面不再是单纯地采用 SPSS 自带的系统聚类方法,而是首次采用模糊聚类 3 大分支(模糊关系、模糊规则学习、目标函数优化)中基于目标函数优化的 FCM 算法,FCM 算法引入模糊理论,聚类具有直观性^[7],聚类结果具有规则性、稳定性、有序性,因而适合作为新方法用于中药材质量综合评价。灰色关联度法是一种经典的序模型算法,不需要数据服从经典的分布^[10],计算简捷方便。二者结合旨在形成一种木香质量评价研究方法应用创新,使得评价结果更有依据、更加客观,为现代模式识别、数据挖掘等新方法在中药质量评价方面的应用提供一种扩展思路和借鉴经验。因此,本研究对木香质量的“综合评价”研究也体现在多种方法的融合上。

参考文献

- [1] 张建春, 蔡雅明, 周德斌, 等. 木香的研究进展 [J]. 甘肃科技, 2010, 26(20): 170-173.
- [2] 魏•吴 普, 清•孙星衍, 孙冯翼辑. 神农本草经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [4] 魏 华, 彭 勇, 马国需, 等. 木香有效成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 613-620.
- [5] 侯鹏飞, 陈文星, 赵新慧, 等. 木香挥发性成分气质联用分析及其抑制血小板聚集作用的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(7): 26-30.
- [6] 王永兵, 王 强, 毛福林, 等. 木香的药效学研究 [J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(2): 146-148.
- [7] 曾 山. 模糊聚类算法研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.
- [8] 李 力. 中药木香质量评价、药代动力学及组织分布研究 [D]. 大连: 辽宁中医药大学, 2011.
- [9] Ruspini E H. A new approach to clustering [J]. *Inform Control*, 1969, 15(1): 22-32.
- [10] 王正新, 党耀国, 曹明霞. 基于灰熵优化的加权灰色关联度 [J]. 系统工程与电子技术, 2010, 32(4): 774-776.