

· 论著 ·

基于正交投影偏最小二乘法对复方首乌藤合剂抗失眠作用的谱效关系研究

曾棋平, 蔡小辉, 吴坤林, 杨丽娜, 曹毅祥, 陈锦珊 (中国人民解放军联勤保障部队第九〇九医院/厦门大学附属东南医院制剂科, 福建 漳州, 363000)

[摘要] **目的** 探讨复方首乌藤合剂抗失眠作用与 HPLC 指纹图谱间的相关性。**方法** 采用 HPLC 分析得到不同提取工艺条件下的复方首乌藤合剂指纹图谱; 腹腔注射 DL-4-氯苯丙氨酸建立大鼠失眠模型, 用 ELISA 法测定大鼠海马体 5-HT 的含量, 采用正交投影偏最小二乘法分析谱效关系。**结果** 从指纹图谱中共确定 21 个共有峰, 12 个峰的变量投影重要性 (VIP) 均 > 1.0, 复方首乌藤合剂指纹图谱中 3 个色谱峰对抗失眠发挥重要作用。**结论** 复方首乌藤合剂抗失眠作用的物质基础与其所含多种成分共同作用的结果有关, 通过谱效关系分析得到复方首乌藤合剂的抗失眠物质基础, 可为制剂的质量控制提供实验依据。

[关键词] 复方首乌藤合剂; 指纹图谱; 抗失眠; 谱效关系; 正交投影偏最小二乘法

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2019)05-0427-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.05.008

Study on spectrum-effect relationship of sedative and hypnotic effect of compound caulis polygoni multiflori mixture based on orthogonal partial least squares regression analysis

ZENG Qiping, CAI Xiaohui, WU Kunlin, YANG Lina, CAO Yixiang, CHEN Jinshan (Department of Pharmacy, No. 909 Hospital of Joint Logistic Support Force/Southeast Hospital Affiliated to Xiamen University, Zhangzhou 363000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between anti-insomnia effects and HPLC fingerprint of compound caulis polygoni multiflori mixture. **Methods** A fingerprinting method was established by high performance liquid chromatography and then used to analyze different batches of compound caulis polygoni multiflori mixture. Rat insomnia model was established by intraperitoneal injection of *p*-chlorophenylalanine, 5-HT in rat hippocampus was determined by ELISA. Then the orthogonal partial least squares (OPLS) analysis was used to investigate the spectrum-effect relationship. **Results** 21 common peaks were identified from the fingerprints, the variable projection importance (VIP) values of these 12 peaks were more than 1.0, indicated that the 3 peaks had played an important role in the anti-insomnia activity of compound caulis polygoni multiflori mixture. **Conclusion** The anti-insomnia activity of compound caulis polygoni multiflori mixture was the result of synergistic effect of multiple components, its material basis could be analyzed by spectrum-effect relationship, which could provide basis for the quality control of preparation.

[Key words] compound caulis polygoni multiflori mixture; fingerprint; anti-insomnia; spectrum-effect relationship; orthogonal partial least squares

中药制剂具有高度的复杂性, 通过多成分、多途径、多靶点发挥药效作用。中药的整体药效是制剂中所含的“药效物质成分群”综合作用的结果^[1-3]。当前, 在众多的中药质量控制方法中, 指纹图谱切实

可行且被国内外广泛认可。然而, 药效活性成分并不一定是指纹图谱所体现的化学成分, 含量高并不等于活性高。因此, 单纯的指纹图谱还不能准确全面评价中药的成分与药效之间的相关信息, 存在一定的局限性^[4]。近年来, 谱效关系学已成为中药研究的新领域^[5-6]。中药谱效关系就是以中医药理论研究为基础, 通过指纹图谱与药效之间的相互关系揭示中药所含化学成分与药效之间的相关性, 最终确定相应的药效物质基础, 使构建的指纹图谱用于中药质量控制更具有针对性。

[基金项目] 医院青年苗圃课题(16Y024); 福建中医药大学临床专项校管课题(XB2017080)

[作者简介] 曾棋平, 硕士, 主管药师, 研究方向: 医院制剂研发, Tel: (0596)2975793, Email: 850705020@qq.com

[通讯作者] 陈锦珊, 副主任药师, 研究方向: 医院药学, Tel: (0596)2975701, Email: cjs18659341758@163.com

复方首乌藤合剂为厦门大学附属东南医院特色制剂,主要由首乌藤、合欢皮、五味子、蔓荆子、续断、川芎、菟丝子、煅牡蛎八味药材组成,具有清心安神、滋阴清肝、活血行气、祛风止痛等功效,临床上用于治疗神经衰弱性失眠^[7-9]。虽该方临床功效确切,但其整体复方的药效成分群以及配伍的现代科学依据仍未阐明。本实验研究复方首乌藤合剂的指纹图谱与抗失眠作用,采用正交投影偏最小二乘法(orthogonal partial least square, OPLS)对两者进行相关性分析,旨在寻找对抗失眠贡献较大的药效成分群,初步阐明该复方配伍的科学依据,以便更好地对其进行质量控制。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(DAD 检测器,美国 Agilent 公司);BT224S 型电子分析天平(精度:0.1 mg,德国赛多利斯集团);PHS-3C 型 pH 计(杭州雷磁分析仪器厂);RE-2000A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);H1650R 高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);680 型酶标测试仪(美国 BIO-RAD 公司)。

1.2 药物与试剂

对照品:五味子醇甲(批号:110857-201513,质量分数 99.9%)、绿原酸(批号:110753-200413,质量分数 99.9%)、盐酸川芎嗪(批号:817-200104,质量分数 99.9%),均购自中国食品药品检定研究院;二苯乙烯苷(批号:GZDD-0506,质量分数 98%)、合欢皮木脂素苷(批号:GZDD-0817,质量分数 98%)、阿魏酸(批号:GZDD-0022,质量分数 99%)、川续断皂苷 VI(批号:GZDD-0006,质量分数 98%),均购自贵州迪大生物科技有限责任公司。药材:首乌藤 *Polygoni multiflori* Caulis (PMC,批号:20150828,产地:湖北)为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥藤茎,合欢皮 *Albiziae Cortex* (AC,批号:20170214,产地:湖北)为豆科植物合欢 *Albizia julibrissin* Durazz. 的干燥树皮,菟丝子 *Cuscutae semen* (CS,批号:20160320,产地:内蒙)为旋花科植物南方菟丝子 *Cuscuta australis* R. Br. 或菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥成熟种子,牡蛎(煅) *Ostreae concha* (OC,批号:20150605,产地:浙江)为牡蛎科动物长牡蛎 *Ostrea gigas* Thunberg 大连湾牡蛎 *Ostrea talienwhanensis* Crosse 或近江牡蛎 *Ostrea*

rivularis Gould 的贝壳,蔓荆子 *Viticis fructus* (VF,批号:20150102,产地:江西)为马鞭草科植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 或蔓荆 *Vitex trifolia* L. 的干燥成熟果实,续断 *Dipsaci radix* (DR,批号:20161107,产地:四川)为川续断科植物川续断 *Dipsacus asper* Wall. ex Henry 的干燥根,均购自福建尤溪仙锦药业有限公司;五味子 *Schisandrae chinensis* Fructus (SCF,批号:201702374,产地:辽宁)为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实,川芎 *Chuanxiong rhizoma* (CR,批号:201703358,产地:四川)为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,均购自樟树市庆仁中药饮片有限公司;DL-4-氯苯丙氨酸[批号:A13323,阿法埃莎(中国)化学有限公司];0.9%氯化钠注射液(100 ml/袋,自制);碳酸氢钠(批号:180425,上海虹光化工厂);地西洋片(规格:2.5 mg,上海信谊药厂有限公司);聚山梨酯-80(批号:180801,四川金山制药有限公司),羧甲基纤维素钠(国药集团化学试剂有限公司);大鼠 5-羟色胺试剂盒(上海极威生物科技有限公司);乙腈、磷酸为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为纯化水。

1.3 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,72 只,体重(180±20)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物使用许可证号:SCXK(沪)2012-0002。

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的制备

取盐酸川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、二苯乙烯苷、合欢皮木脂素苷、川续断皂苷 VI、五味子醇甲对照品适量,精密称定,加甲醇制成混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

称取首乌藤 18.75 g、合欢皮 12.5 g、五味子 4.17 g、蔓荆子 4.17 g、续断 12.5 g、川芎 7.5 g、菟丝子 12.5 g、煅牡蛎 9.44 g,按表 1 的设计进行回流提取,提取溶剂为水,最终均加水制成 100 ml,摇匀,即得样品溶液。精密量取样品溶液 5 ml,置 10 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得,分别标记为 S1、S2、S3、S4、S5、S6、S7、S8 和 S9。

表1 复方首乌藤合剂样品制备工艺的正交试验分析

序号	A因素 料液比	B因素 提取时间(t/h)	C因素 提取次数	D因素 空白
1	1:8	0.5	1	1
2	1:8	1	2	2
3	1:8	1.5	3	3
4	1:10	0.5	2	3
5	1:10	1	3	1
6	1:10	1.5	1	2
7	1:12	0.5	3	2
8	1:12	1	1	3
9	1:12	1.5	2	1

2.3 指纹图谱的建立

2.3.1 色谱条件

色谱柱: Agilent C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸溶液, 梯度洗脱: 0~10 min, 2%~3%乙腈; 10~35 min, 3%~9%乙腈; 35~50 min, 9%~13%乙腈; 50~65 min, 13%~18%乙腈; 65~85 min, 18%~25%乙腈; 85~100 min, 25%~35%乙腈; 100~107 min, 35%~65%乙腈; 107~118 min, 65%~90%乙腈;

118~120 min, 90%~2%乙腈; 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μl。

2.3.2 方法学考察

取“2.2”项下供试品溶液(S5), 按“2.3.1”项下条件连续进样6次, 记录色谱图, 结果各色谱峰相对保留时间和峰面积的RSD均<1.0%, 表明仪器精密密度良好。取“2.2”项下同一供试品溶液(S5), 分别于制备后0、2、4、6、8、12、24 h按“2.3.1”项下条件进样, 记录色谱图, 结果各色谱峰相对保留时间和峰面积的RSD均<3%, 表明供试品溶液在24 h内稳定。从同一提取液(S5)中按“2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液, 按“2.3.1”项下条件测定, 结果各色谱峰相对保留时间和峰面积的RSD均<5%, 表明该方法重复性良好。

2.3.3 指纹图谱的建立及色谱峰的确定

采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012年版)软件, 以表1中S5样品的色谱图为参照谱, 时间窗口设为0.5 min, 选择各图谱中均含有且峰形相对好的色谱峰进行多点校正, 运用平均数法生成对照图谱。结果从9张图谱中筛选了21个特征峰(X₀~X₂₀)作为研究对象(图1), 复方首乌藤药材指纹图谱色谱峰匹配数据见表2。

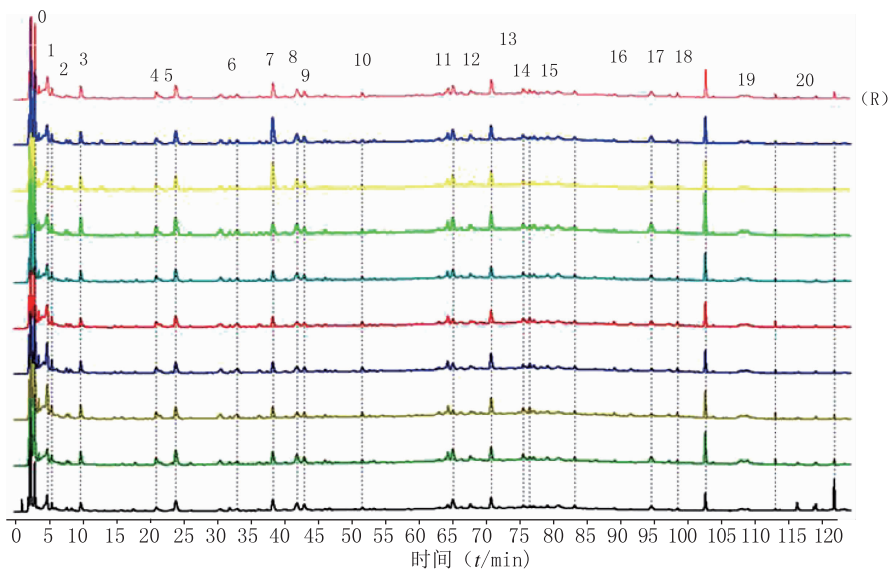


图1 复方首乌藤合剂的HPLC指纹谱及其对照指纹谱(R)

表2 复方首乌藤合剂指纹图谱色谱峰的匹配数据

峰面积	样品组								
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
X ₀	5 487.58	8 985.55	9 962.61	8 966.2	6 469.32	7 462.1	9 780.63	8 794.1	8 794.1
X ₁	2 875.51	2 855.39	5 281.47	4 577.35	4 457.53	2 936.37	4 036.42	3 439.97	3 439.97
X ₂	896.65	1 145.69	1 240.84	1 242.88	832.75	943.85	1 121.93	1 020.25	1 020.25
X ₃	1 457.25	2 623.1	2 713.5	2 281.19	1 516.64	2 254.12	3 437.72	2 444.99	2 444.99

(续表 2)

峰面积	样品组								
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
X ₄	1 353.33	1 953.15	1 714.64	1 537.28	1 446.36	1 644.27	3 243.46	2 157.16	2 157.16
X ₅	2 840.42	4 027.98	3 172.05	2 960.59	3 005.47	3 317.13	4 838.53	3 636.64	3 636.64
X ₆	802.4	824.65	1 747.73	1 677.06	1 330.02	1 037.75	1 563.71	1 085.36	1 085.36
X ₇	2 751.38	2 920.27	2 409.03	2 295.65	2 011.99	2 522.44	3 029.9	6 332.02	6 332.02
X ₈	2 487.92	3 239.6	1 900.05	2 038.34	1 653.61	2 751.31	3 886.41	3 187.3	3 187.3
X ₉	1 651.73	1 722.81	1 331.17	1 245.12	860.22	1 467.66	1 765.23	1 663.95	1 663.95
X ₁₀	542.68	683.75	1 053.49	910.42	858.23	627.64	852.98	676.18	676.18
X ₁₁	2 213.16	2 780.19	976.92	1 398.93	1 009.01	2 126.55	3 312.56	2 707.62	2 707.62
X ₁₂	2 266.04	2 979.06	3 637.21	3 425.03	2 851.6	2 385.01	3 860.01	3 074.55	3 074.55
X ₁₃	417.46	1 093.71	926.84	689.02	819.24	1 518.06	1 007.37	809.94	809.94
X ₁₄	267.32	540.26	1 058.26	890.31	908.97	701.82	687.46	437.81	437.81
X ₁₅	639.41	791.98	708.41	630.7	550.51	683	872.39	685.35	685.35
X ₁₆	1 228.01	1 927.08	698.23	535.75	1 111.85	1 311.66	3 005.44	1859.66	1 859.66
X ₁₇	285.73	520.01	675.89	559.65	528.68	547.59	732.2	508.32	508.32
X ₁₈	2 361.35	4 430.21	3 530.09	2 951.64	3 114	3 795.37	6 042.81	3 675.39	3 675.39
X ₁₉	141.61	431.29	526.02	284.48	505.91	252.54	476.94	252.1	252.1
X ₂₀	3 534.21	686.12	559.42	461.38	404.5	360.42	339.35	313.43	313.43

2.4 酶联免疫吸附法测定大鼠海马体 5-HT 的含量

2.4.1 DL-4-氯苯丙氨酸混悬液的制备

处方: DL-4-氯苯丙氨酸(PCPA) 15 g, 聚山梨酯 80 2.0 g, 羧甲基纤维素钠(CMC-Na) 3.0 g, 0.9%氯化钠注射液(pH7~8)加到 500 ml。

制法:量取 0.9%氯化钠注射液 500 ml 于烧杯中,缓慢滴加 5%碳酸氢钠溶液,用 pH 计调节 pH 在 7~8 之间,加入 CMC-Na,搅拌均匀,继续加入处方量的 PCPA 和聚山梨酯-80,超声 15 min,于搅拌状态下分装于耐高温的玻璃瓶内,盖塞轧口密封,100℃流通蒸汽灭菌 30 min。

2.4.2 供试品溶液的制备

取“2.2”项下的 9 组复方首乌藤合剂各 100 ml,分别浓缩至约 80 ml,即得浓度(含生药量)为 1.0 g/ml 的供试品溶液,于 4℃保存备用。

2.4.3 地西洋溶液的制备

取地西洋片剂 10 片,研磨成粉末,加纯化水适量,充分搅拌使溶解,转移至 100 ml 量瓶中,加纯化水稀释至刻度,即得浓度为 0.25 mg/ml 的阳性对照液。

2.4.4 动物分组、造模及给药

将 72 只 SPF 级 SD 大鼠,随机分为 12 组,分别为正常组、模型组、阳性对照组、9 批复方首乌藤合剂组,每组 6 只。大鼠适应性喂养 7 d 后,除了正常组外,对其余各组大鼠进行腹腔注射 PCPA

(300 mg/kg)制作失眠模型,每日 1 次,连续 2 d,在第 1 次腹腔注射 PCPA 的 48 h 后,大鼠出现白昼萎靡不振、食欲降低。而夜间活动频繁、兴奋性增高、易激惹且攻击性增强,对外界的声光等刺激异常敏感。此外,大鼠尾部多处出现撕咬痕迹且破损出血,昼夜节律紊乱,表明造模成功。于第 10 天进行灌胃给药,正常组和模型组给予适量的生理盐水,阳性对照组和不同批次的复方首乌藤组给药量分别为 4.2 ml/kg 和 6.8 ml/kg,每天给药 1 次,连续 7 d。

2.4.5 海马体取材和含量测定

将大鼠放入装有浸润乙醚(乙醚量为 1~1.5 ml)棉球的标本缸内,观察大鼠情况,待大鼠进入麻醉期后,处死,固定于自制的手术木板置于解剖盘中,开胸暴露并游离出心脏,经左心室插入灌流针并固定,切开右心耳,先灌注无菌生理盐水(4℃),直到肝和肺脏颜色转白及右心房流出液澄清,再灌注 4%多聚甲醛(4℃),断头取脑,冲净血液后,在冰上分离出各组大鼠的海马组织,并称量,将组织进行匀浆,于高速冷冻离心机离心(5 000×g)10 min,取上层清液,置于-80℃冰箱中保存,备用。采用酶联免疫吸附法(ELISA)进行 5-羟色胺(5-HT)的测定,实验步骤按照试剂盒具体要求进行操作,用酶联免疫检测仪在吸收波长 450 nm 处测得光密度(OD)值,复方首乌藤合剂镇静催眠药效值为各组大鼠海马体中 5-HT 的含量,结果见表 3。

表3 各组失眠大鼠海马体中的5-HT含量($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	5-HT 含量($\omega_B/\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)
正常组	232.27±21.45
模型组	118.41±10.11
S1组	171.60±20.83*
S2组	160.06±25.20*
S3组	214.21±27.39*
S4组	169.12±8.70*
S5组	166.65±9.41*
S6组	132.23±30.57*
S7组	135.64±26.16*
S8组	194.58±16.55*
S9组	200.30±21.03*
阳性组	139.25±22.64*

* $P < 0.05$, 与模型组比较

2.5 谱效关系的偏最小二乘回归分析

2.5.1 偏最小二乘回归方程的建立

以标准化处理的指纹图谱中各特征峰峰面积为自变量 X, 以各组失眠大鼠海马体中的 5-HT 含量水平为因变量 Y, 采用 SIMCA-P 14.1 软件对其进行 OPLS 回归分析, 结果见图 2, 得方程:

$$Y = 0.064 \ 0X_0 + 0.086 \ 7X_1 + 0.052 \ 4X_2 - 0.025 \ 3X_3 - 0.051 \ 6X_4 - 0.078 \ 6X_5 + 0.038 \ 4X_6 + 0.094 \ 5X_7 + 0.066 \ 0X_8 - 0.018 \ 3X_9 + 0.066 \ 1X_{10} -$$

$$0.067 \ 8X_{11} + 0.050 \ 8X_{12} - 0.124 \ 5X_{13} + 0.010 \ 4X_{14} - 0.061 \ 4X_{15} - 0.077 \ 4X_{16} - 0.032 \ 8X_{17} - 0.101 \ 0X_{18} + 0.001 \ 3X_{19} + 0.019 \ 0X_{20}$$

式中, 系数越大表明该自变量对药效影响越大, 并且系数为正值说明其与药效呈正相关, 负数则表示与药效呈负相关。

2.5.2 变量投影重要性分析

变量投影重要性(variable importance in projection, VIP)是反映自变量对因变量解释能力的 1 个重要指标, 其值越大说明该自变量对因变量的解释能力越强。一般认为, 当 VIP 值 > 1 时, 自变量在解释因变量时具有显著重要性, VIP 分析结果见图 3。OPLS 回归分析结果表明 X_1 、 X_4 、 X_5 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 和 X_{18} 的 VIP 值均 > 1, 排序为 $X_8 > X_{16} > X_{12} > X_5 > X_{18} > X_1 > X_9 > X_{15} > X_4 > X_{10} > X_{13} > X_{14}$, 其中 X_1 、 X_{10} 、 X_{12} 、 X_{14} 与 5-HT 含量水平呈正相关, 而 X_4 、 X_5 、 X_8 、 X_9 、 X_{13} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{18} 与 5-HT 水平呈负相关, X_8 、 X_{16} 、 X_5 、 X_{18} 的回归系数和 VIP 绝对值均较大, 当它们含量增加时, 复方首乌藤合剂提高 5-HT 水平的能力则会显著增强; X_4 、 X_5 、 X_8 、 X_9 、 X_{13} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{18} 与 5-HT 水平呈负相关, X_8 、 X_{16} 、 X_5 、 X_{18} 的回归系数和 VIP 绝对值均较大, 当它们含量增加时, 复方首乌藤合剂提高 5-HT 水平的能力则会减弱。

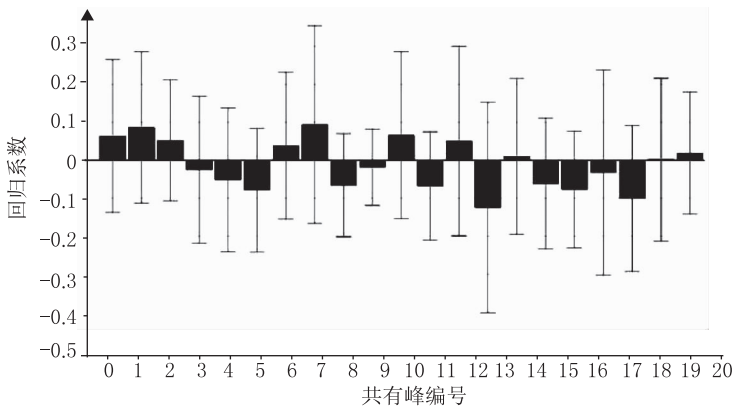


图2 复方首乌藤合剂抗失眠谱效相关性的 PLSR 模型回归系数

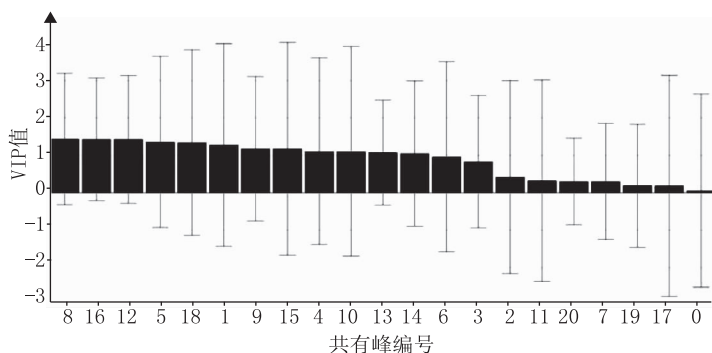


图3 各特征峰对复方首乌藤合剂抗失眠活性的 VIP 贡献

2.5.3 色谱峰的成分鉴定

采用已有对照品进行 HPLC 分析, 匹配出 X_4 为盐酸川芎嗪, X_8 为绿原酸, X_{11} 为阿魏酸, X_{12} 为二苯乙烯苷, X_{13} 为合欢皮木脂素苷, X_{17} 为川续断皂苷 VI, X_{19} 为五味子醇甲, 见图 4。

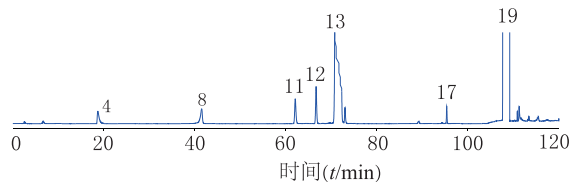


图 4 混合对照品的 HPLC 图

X_4 , 盐酸川芎嗪; X_8 , 绿原酸; X_{11} , 阿魏酸; X_{12} , 二苯乙烯苷;
 X_{13} , 合欢皮木脂素苷; X_{17} , 川续断皂苷 VI; X_{19} , 五味子醇甲

3 讨论

中药组分复杂, 其疗效的发挥为多成分、多靶点、多途径协调作用的结果, 单一或几个化学成分的定量检测难以全面评价中药质量的优劣。谱效关系研究实际上是数学相关分析与药学的一个交叉应用, 如何进行谱效关系研究尚未有统一的认识和适用模式。分析方法主要有最小二乘法分析、灰色关联度分析、聚类分析等^[10-12]。本试验采用的正交投影偏最小二乘法是一种改进的偏最小二乘法, 能有效去除预测矩阵中与因变量无关的信息, 改善了模型的解释性和真实性^[13]。研究结果显示, 复方首乌藤合剂抗失眠作用中有 12 个成分较为重要, 也解释了该合剂抗失眠作用并非某一具体成分的药效, 而是多成分协同起效的结果。

本实验选用乙腈-0.1% 磷酸溶液作为流动相, 采用梯度洗脱方式, 所得的 HPLC 图谱基线平稳, 共有色谱峰数目较多, 各主要成分峰分离度较好。采用 DAD 检测器在 190~400 nm 范围内进行全波长扫描, 发现波长在 210 nm 时色谱峰数量较多, 整体图谱较为匀称, 因此将 210 nm 作为检测波长。

由于 5-HT 是一种重要的中枢神经递质, 参与多种行为情绪活动尤其是睡眠的调节, 大鼠腹腔注射 PCPA 后, 可选择性地阻断脑内 5-HT 的合成。PCPA 诱导的大鼠失眠模型具有造模时间短、经济、简便易行、造模成功率高、病变典型、重复性高等优点, 是国内外较为公认的失眠模型^[14]。因 PCPA 溶解度差, 直接采用弱碱性生理盐水 (pH7~8) 溶解会导致混悬液易沉降、注射剂量不准确、堵塞注射器等问题。本研究在参考相关文献的基础上^[15], 通过添加聚山梨酯-80 和 CMC-Na 等助悬剂, 配制的 PCPA 混悬液微粒大小均匀、沉降速度慢, 具有良好的再分散性。

中药指纹图谱可以反映药材多种化学成分的整体性差异, 而生物评价既关联临床功效又关联机制。

因此, 将化学指纹图谱与生物活性评价相结合, 构建基于化学指纹图谱与药效的综合评控模式有利于对中药制剂进行更合理的评控^[16]。通过基于谱效相关性的研究, 课题组发现复方首乌藤合剂中的 3 个成分对其抗失眠作用贡献度较高, 初步探讨了其抗失眠的物质基础。然而, 通过对照品匹配, 仅指认出 7 个色谱峰, 与活性显著相关的色谱峰指认出 1 个 (二苯乙烯苷), 在后续研究中, 将通过 Q-TOF 或 LC-MS/MS 等研究手段对未知色谱峰进行结构鉴定, 以进一步明确复方首乌藤合剂中与抗失眠活性相关的活性成分。

【参考文献】

- [1] 王忠, 陈寅莹, 张盈颖, 等. 多组分多靶点中药药理作用机制研究中的问题和解决策略[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(5):1-6.
- [2] LEE S. Systems biology - A pivotal research methodology for understanding the mechanisms of traditional medicine[J]. J Pharmacopunct, 2015, 18(3):11-18.
- [3] 张雨, 李恒, 李克宁, 等. 复方中药网络药理学研究进展[J]. 中成药, 2018, 40(7):1584-1588.
- [4] 刁嘉茵, 徐灿, 王淑美, 等. 中药指纹图谱与药效相关性研究进展[J]. 药学研究, 2018, 37(3):165-168.
- [5] 蔡靓, 张倩, 杨丰庆, 等. 中药谱效学的应用进展[J]. 中草药, 2017, 48(23):5005-5011.
- [6] 冯鑫, 房德敏, 周永梅. 谱效关系分析在中药组方研究中的应用进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(3):422-427.
- [7] 曾棋平, 杨丽娜, 曹毅祥, 等. 层次分析联合 Box-Behnken 效应面法优选复方首乌藤合剂提取工艺[J]. 中南药学, 2017, 15(1):48-52.
- [8] 曾棋平, 张荣. 高效液相色谱法同时测定复方首乌藤合剂中 3 种成分的含量[J]. 中南药学, 2015, 13(8):869-872.
- [9] 杨丽娜, 曾棋平, 蔡小辉, 等. 复方首乌藤合剂高效液相指纹图谱研究[J]. 中南药学, 2018, 16(1):27-30.
- [10] 池婕, 林兵, 刘志宏, 等. 基于最小二乘回归分析法的雷公藤多苷片免疫抑制作用谱效关系研究[J]. 中草药, 2015, 46(18):2755-2758.
- [11] 黎理, 曾祥燕, 谢凤凤, 等. 竹节蓼药材的 HPLC 指纹图谱建立及聚类分析[J]. 中国药房, 2018, 29(12):1640-1643.
- [12] 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.
- [13] 秦霞, 郑华, 阮俊翔, 等. 基于正交投影偏最小二乘法的当归四逆汤谱效关系研究[J]. 广西医科大学学报, 2015, 32(3):357-361.
- [14] 肖成荣, 马增春, 李海静, 等. PCPA 失眠大鼠模型的制作及其机制[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4):326.
- [15] 魏歆然, 郑雪娜, 裴芸, 等. 大鼠失眠模型造模中对氯苯丙氨酸混悬液改良法的探讨[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(9):986-989.
- [16] 王金璐, 郭伟英. 新益心宁神片镇静催眠作用的谱效关系研究[J]. 中药材, 2017, 40(7):1633-1637.

【收稿日期】 2019-03-15 【修回日期】 2019-05-22

【本文编辑】 李睿曼