

基于谱-效相关金银花提取物抑菌作用质量评价系统的研究

高樱¹, 牛水蛟¹, 于海英¹, 林钰镓¹, 胡文岳¹, 李启艳^{1*}, 高燕^{2*}

(1. 山东省食品药品检验研究院 国家药品监督管理局化妆品原料质量控制重点实验室/特色植物资源化妆品济南市工程研究中心/化妆品功效原料山东省工程研究中心/产业技术基础公共服务平台, 济南 250101; 2. 山东中医药大学, 济南 250355)

摘要 **目的:** 对金银花提取物的化学成分进行数据分析, 建立谱-效相关金银花提取物抑菌作用质量评价系统。**方法:** 通过考察流动相、波长、流速等条件, 确定最佳液相色谱条件, 建立 50 批金银花提取物的定量指纹图谱; 通过微量稀释法得出金银花提取物的最佳抑菌浓度, 并对 50 批样品进行抑菌测定, 得出抑菌率; 采用相似度分析、聚类分析、主成分分析、灰色关联度分析及通过支持向量机法建立数学模型等方法对 50 批定量指纹图谱及抑菌率结果进行分析。**结果:** 建立的 50 批金银花提取物定量指纹图谱中选择了 18 个共有峰, 相似度在 0.608-1, 确立了 6 个化学成分(峰 4: 新绿原酸、峰 8: 绿原酸、峰 9: 隐绿原酸、峰 16: 异绿原酸 B、峰 17: 异绿原酸 A、峰 18: 异绿原酸 C), 50 批金银花药材的抑菌率平均值在 3.93%~70.50%。主成分分析与聚类分析的结果吻合度很高, 灰色关联度分析结果所有成分均与抑菌作用呈正相关。数学模型的拟合数据与实验数据的相对偏差均在 2% 以下。**结论:** 建立的金银花提取物液相色谱条件稳定可靠, 建立的金银花提取物抑菌作用质量评价系统能够达到从抑菌率评价药物质量的目的。

关键词: 金银花提取物; 谱效相关; 定量指纹图谱; 数学模型; 抑菌作用; 质量评价系统

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)06-1031-09

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024.06.14

Research on the quality evaluation system of antibacterial activity of Flos Lonicerae extract based on chromatogram-effect correlation

GAO Ying¹, Niu Shui-jiao¹, YU Hai-ying¹,
LIN Yu-jia¹, HU Wen-yue¹, LI Qi-yan^{1*}, GAO Yan^{2*}

(1. Shandong Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Control of Cosmetics Raw Material, Jinan Engineering Research Center for Special Plant Resource Cosmetics, Shandong Engineering Research Center of Cosmetic Effective Raw Materials, Industrial Technology Foundation Public Service Platform, Jinan 250101, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

Abstract Objective: To establish a chromatogram-effect correlated quality evaluation system for the antibacterial activity of Flos Lonicerae extract by data analysis of components. **Methods:** The best liquid chromatographic conditions were optimized by investigating the conditions of mobile phase, wavelength and flow rate, and the quantitative fingerprint of 50 batches of Flos Lonicerae extract was established. The best antibacterial concentration of the extract was obtained by microdilution method, and the antibacterial rates of 50 batches of samples were determined. Similarity analysis, cluster analysis, principal component analysis, grey correlation analysis and mathematical model establishment by support vector machine were used to analyze the quantitative fingerprints and

* 通信作者 高燕 Tel:18615212592; E-mail: gaoyaningyes@163.com

李启艳 Tel:15253118118; E-mail: 1336504774@qq.com

第一作者 Tel:13256786362; E-mail: 626596924@qq.com

antibacterial rates of 50 batches of samples. **Results:** Eighteen common peaks were selected from the 50 quantitative fingerprints of Flos Lonicerae extract, and the similarities were between 0.608–1. Six chemical components were identified (peak 4: neochlorogenic acid, peak 8: chlorogenic acid, peak 9: cryptochlorogenic acid, peak 16: isochlorogenic acid B, peak 17: isochlorogenic acid A and peak 18: isochlorogenic acid C). The average antibacterial rates of 50 batches of extracts were between 3.93%–70.50%. The results of principal component analysis and cluster analysis were highly consistent, and the results of grey correlation analysis showed that all components were positively correlated with antibacterial effect. The relative deviations between the predicted data of the mathematical model and the experimental data were all below 2%. **Conclusion:** The HPLC conditions of Flos Lonicerae extract are stable and reliable, and the quality evaluation system of antibacterial activity of Flos Lonicerae extract established can evaluate its quality based on antibacterial rate.

Keywords: Flos Lonicerae extract; chromatogram – effect correlation; quantitative fingerprint; mathematical model; antibacterial action; quality evaluation system

金银花来源于忍冬科植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb) 的干燥花蕾或带初开的花^[1], 具有疏散风热、清热解毒的作用, 主要治疗风热感冒、热毒血痢、丹毒等症^[2-4], 黄酮类化合物、有机酸类、环烯醚萜类、三萜皂苷类及挥发油类等成分^[5-7] 是金银花药材中的典型有效成分, 具有解热抗炎、抗菌、抗病毒、抗紫外、抗氧化、增强免疫力^[8-10] 等作用。目前金银花提取物用途广泛, 是中药制剂常用的一种成分, 然而市面上金银花提取物的质量确参差不齐, 为了能够更好地选择高质量的金银花提取物, 本文通过建立金银花提取物的定量指纹图谱, 采用微量稀释法测定 50 批金银花提取物样品抑菌率; 采用相似度分析、聚类分析、主成分分析、灰色关联度分析及通过支持向量机法建立数学模型等方法^[11-15] 对 50 批金银花提取物定量指纹图谱及抑菌率结果进行分析。并以抑菌率为药效指标建立了一套能够评价其质量的数学模型, 为更好的应用于临床提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪, 配有 Waters 2998 紫外检测器 (Waters 公司), Milli-Q 超纯水系统 (密理博公司), KDM-A 数显恒温电热套 (山东博科再生医学有限公司), 酶标仪 (BIO-RAD 公司), CP225D 十万分之一电子天平 (Sartorius 公司), HWS 智能型恒温恒湿培养箱 (宁波江南仪器厂), LDZF-75L-I 立式高压蒸汽灭菌器 (上海习仁科学仪器有限公司)。

1.2 试剂与试药

乙腈 (Honeywell 公司, 色谱纯); 磷酸 (天津市科

密欧化学试剂有限公司, 色谱纯); 水为超纯水。

胰酪大豆胨琼脂培养基 (上海源培生物); 胰酪大豆胨液体培养基 (上海源培生物); 抑菌实验用水均为蒸馏水。

葛根素对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 110752-202217); 阳性药物: 阿莫西林胶囊 (石药控股集团有限公司, 批号 400170311)。

2 方法与结果

2.1 指纹图谱的研究

2.1.1 样品的收集及制备 从全国各地收集金银花药材 50 批, 由山东省中医药研究院林慧彬教授鉴定鉴定, 均为忍冬科植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb) 的干燥花蕾。照 2020 年版《中华人民共和国药典》一部中金银花提取物质量标准项下【制法】制备金银花提取物 50 批。

2.1.2 供试品溶液的制备 取制备好的金银花提取物约 0.2 g, 精密称定后置于圆底烧瓶中, 精密加入 100 mL 蒸馏水, 称量, 回流提取 30 min, 放冷至室温后用蒸馏水补足称量, 过滤, 取续滤液与内标溶液 1:1 混匀, 即得。

2.1.3 指纹图谱色谱条件的建立 采用 CAPCELL PAK C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 和 Venusil MP C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 3 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-0.3% 磷酸, 梯度洗脱 (见表 1), 流速为 0.7 mL · min⁻¹, 检测波长为 235 nm。

对金银花提取物进行方法学考察 (精密度、稳定性、重复性), 以葛根素为内标峰采集指纹图谱, 计算相对峰面积值和相对保留时间值,

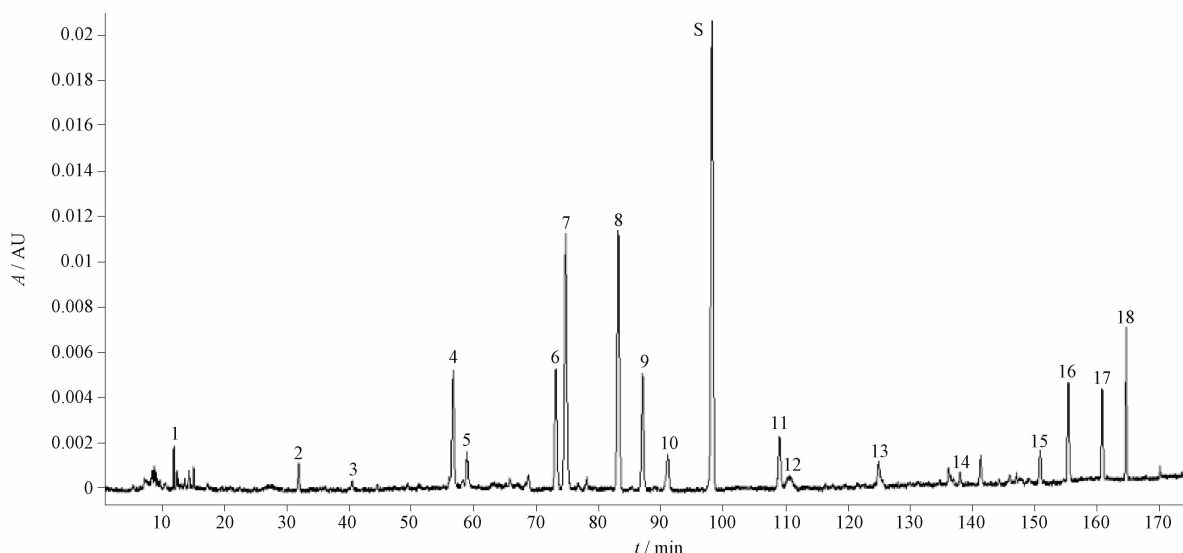
表 1 洗脱程序
Tab. 1 Elution program

时间 (time)/min	流动相比例 (ratio of mobile phase)/%	
	乙腈 (acetonitrile)	0.3% 磷酸 (phosphoric acid)
0	17	83
103	17	83
142	24	76
165	33	67
170	33	67
175	70	30

结果显示各共有峰的相对峰面积 RSD < 2%, 相对保留时间 RSD < 2%, 表明仪器精密度良好, 金银花提

取物供试品在 30 h 内稳定性且重复性均良好。

2.1.4 指纹图谱结果分析 按照“2.1.3”方法, 对 50 批金银花提取物进行测定并确定其指纹图谱共有峰, 记录指纹图谱峰面积值及保留时间, 按照以下转换公式: 金银花提取物共有峰相对峰面积值 = (金银花提取物共有峰峰面积/供试品溶液浓度) / (内标峰峰面积/内标浓度) × 抑菌浓度, 将各成分相对峰面积值转换成抑菌浓度下的相对峰面积值, 以便与抑菌作用建立联系。通过对照品比对以及 LCMS-8050 液-质联用仪 (岛津公司) 对金银花提取物的共有峰成分进行鉴别研究, 确定 6 种化学成分, 见图 1。



S. 葛根素 (puerarin) 4. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) 8. 绿原酸 (chlorogenic acid) 9. 隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid) 16. 异绿原酸 B (isochlorogenic acid B) 17. 异绿原酸 A (isochlorogenic acid A) 18. 异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)

图 1 50 批金银花提取物共有峰指纹图谱

Fig. 1 Common peak fingerprint of 50 batches of Flos Lonicerae extract

2.2 体外抑菌实验

随机取 10 批金银花提取物水提液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 经灭菌后稀释 6 个浓度 (1:32, 1:16, 1:8, 1:4, 1:2, 1:1) 采用 96 孔板法, 每个浓度平行 4 次, 每孔加入液体培养基 50 μL、金银花提取物水提液 50 μL 和金葡菌液 10 μL (浓度为 1 × 10⁵ cfu · mL⁻¹), 将各组置于 37 °C 的恒温恒湿培养箱内培养 24 h, 采用酶标仪在波长 570 nm 下分别测定培养前及培养后的吸收度 (A), 最终得出金银花提取物最佳抑菌浓度为 40 μg · mL⁻¹。在此浓度下考察 50 批金银花提取物的抑菌效果。结果见表 2。

抑菌率% = [1 - (样品培养后 A - 样品培养前 A) / (菌液培养后 A - 菌液培养前 A)] × 100%

3 数据分析

3.1 指纹图谱相似度评价

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004 A 版)》中位数法对 50 批金银花提取物定量指纹图谱进行分析, 并生成标准指纹图谱 R, 计算各批次样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度, 结果表明, 金银花提取物各批次间的相似度在 0.608 ~ 1, 由此可以看出金银花提取物各批次之间差异较大, 50 批相似度指纹图谱见图 2。

表 2 50 批金银花提取物抑菌结果

Tab.2 Antibacterial results of 50 batches of Flos Lonicerae extract

批次 (batch)	抑菌率 (antibacterial rate)/%	批次 (batch)	抑菌率 (antibacterial rate)/%	批次 (batch)	抑菌率 (antibacterial rate)/%	批次 (batch)	抑菌率 (antibacterial rate)/%	批次 (batch)	抑菌率 (antibacterial rate)/%
1	53.15	11	71.53	21	44.57	31	52.99	41	69.58
2	60.81	12	60.09	22	56.18	32	47.07	42	70.50
3	62.07	13	56.14	23	49.45	33	59.55	43	41.11
4	54.05	14	37.66	24	44.86	34	62.85	44	39.59
5	56.28	15	40.36	25	52.12	35	50.84	45	42.57
6	57.46	16	62.44	26	53.51	36	39.29	46	36.50
7	41.76	17	45.95	27	43.35	37	3.93	47	51.72
8	44.55	18	50.40	28	45.39	38	36.80	48	62.72
9	48.60	19	56.24	29	53.45	39	60.35	49	70.15
10	68.78	20	36.22	30	41.67	40	65.17	50	56.03

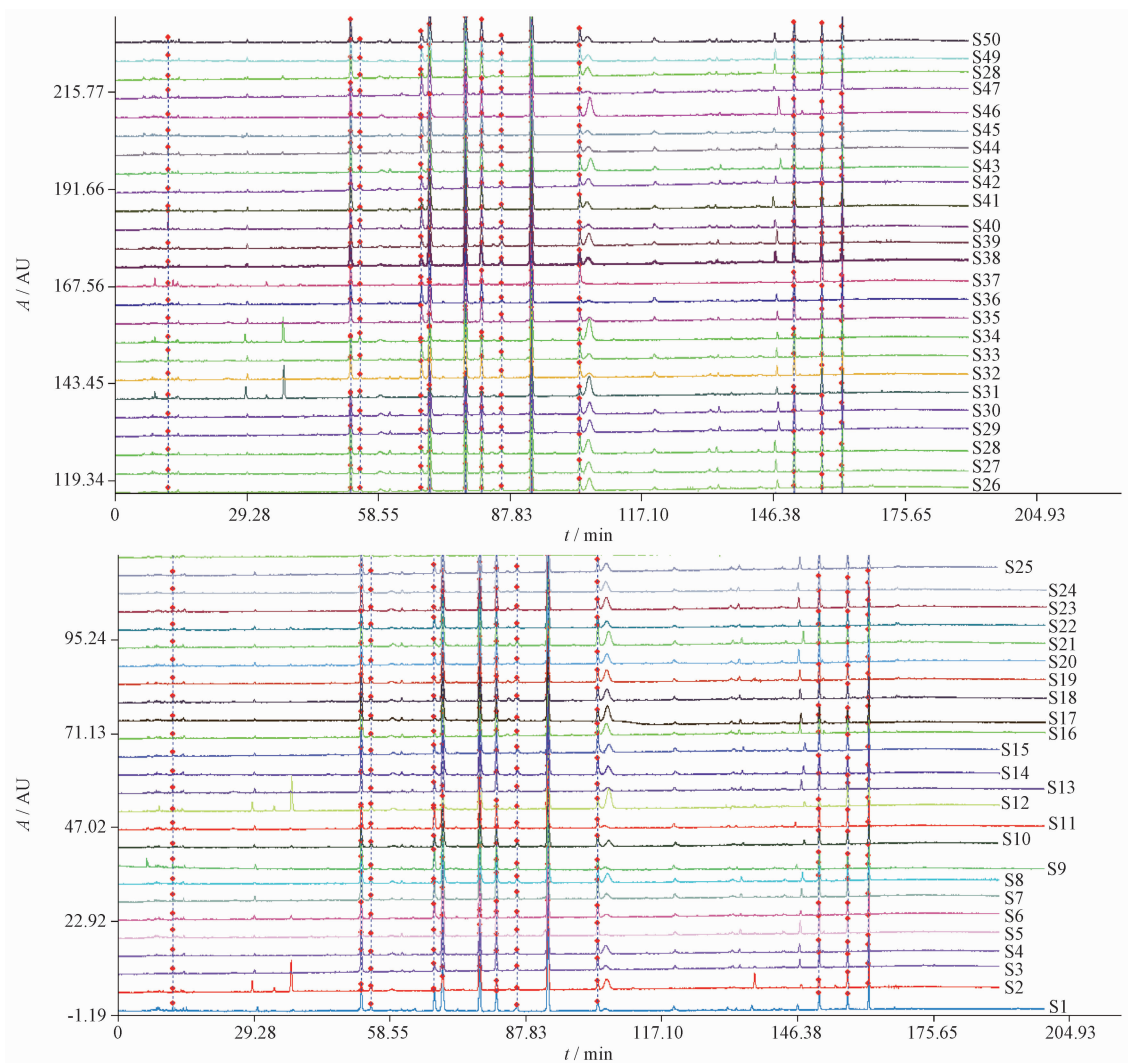


图 2 生成的金银花提取物对照指纹图谱

Fig.2 Reference fingerprint of Flos Lonicerae extract

3.2 聚类分析

采用 SPSS 19.0 软件对 50 批金银花提取物抑菌浓度下的共有峰相对峰面积进行聚类分析, 见图 3。

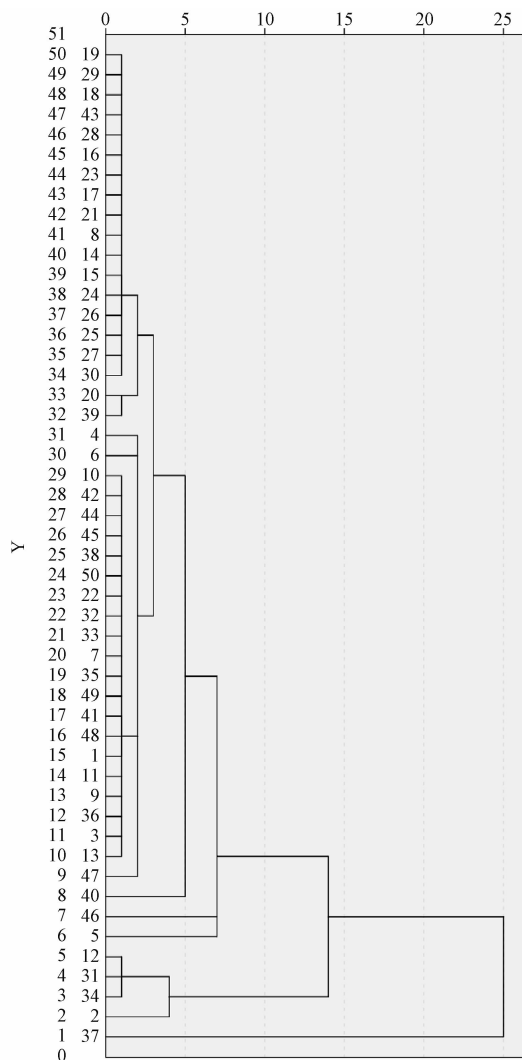


图 3 50 批金银花提取物样品分析结果

Fig. 3 Analysis results of 50 lots of Flos Lonicerae extract

3.3 主成分分析

采用 SPSS 19.0 对 50 批金银花提取物的 18 个变量进行主成分分析。按照以下步骤对各批次进行综合评价。

3.3.1 适应性检验 采用 SPSS 19.0 软件, 对标准化数据进行相关检验, 结果 KMO 统计量 = 0.682 > 0.5, 球形检验卡方统计量 = 1 121.095, 单侧 $P = 0.000 < 0.01$, 说明样本适宜进行主成分分析。

3.3.2 主成分提取 由图 4 碎石图可见图中曲线存在 1 个明显的拐点, 拐点前 4 个点代表前 4 个主成分,

说明前 4 个主成分的分析结果基本显示出了不同批次金银花提取物之间的差异性。提取前 4 个主成分, 进行主成分分析, 分析结果见表 3。

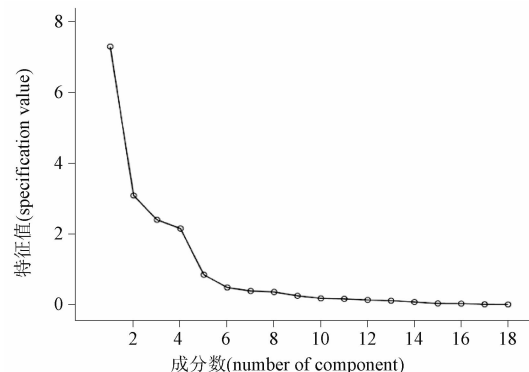


图 4 碎石图

Fig. 4 Lithotripsy

表 3 主成分分析结果

Tab. 3 Results of principal component analysis

共有峰 (common peak)	主成分 (principal component)			
	1	2	3	4
1	0.162	0.728	0.184	0.171
2	-0.475	0.032	0.733	0.098
3	-0.631	-0.307	0.649	0.072
4	0.741	-0.035	-0.475	-0.148
5	0.107	-0.081	0.821	0.081
6	0.058	0.938	0.002	-0.009
7	0.817	0.259	-0.173	-0.295
8	-0.615	-0.052	0.137	0.727
9	0.801	0.012	-0.453	-0.147
10	0.727	0.304	0.132	-0.017
11	0.743	-0.352	0.251	-0.106
12	0.008	-0.825	0.389	0.126
13	0.746	0.500	-0.087	-0.165
14	0.758	-0.441	-0.097	-0.171
15	0.014	-0.385	-0.616	0.457
16	0.904	0.173	-0.129	0.229
17	-0.379	-0.047	-0.037	0.875
18	0.315	0.325	0.268	0.811
特征值 (eigenvalue)	7.295	3.085	2.397	2.154
累积贡献率 (accumulating contribution rate)/%	40.527	57.664	70.981	82.946

注 (note): 表中各共有峰的分析数值的绝对值越高表示与主成分相关性越高, 贡献度越大 (A higher absolute value of the analytical value of each common peak in the table indicates a higher correlation with the principal component and a greater contribution)。

由表 3 可知,特征值大于 1 的成分有 4 个,累积贡献率高达 82.946%。第 1 主成分的贡献共有峰包含 3、4(新绿原酸)、7、8(绿原酸)、9(隐绿原酸)、10、11、13、14、16(异绿原酸 C),第 2 主成分的贡献共有

峰包含 1、6、12,第 3 主成分的贡献共有峰包含 2、3、5、15,第 4 主成分的贡献共有峰包含 8(隐绿原酸)、17(异绿原酸 A)、18(异绿原酸 C)。计算各主成分 F 得分,F 得分越高,表明样品质量越好。结果见表 4。

表 4 综合主成分评价结果

Tab. 4 Results of comprehensive principal component evaluation

批次(batch)	F	排序(rank)	批次(batch)	F	排序(rank)	批次(batch)	F	排序(rank)
40	2.034	1	49	0.603	18	23	0.001	35
15	1.655	2	9	0.581	19	42	-0.066	36
33	1.472	3	19	0.537	20	24	-0.101	37
8	1.186	4	41	0.519	21	13	-0.142	38
28	1.122	5	29	0.493	22	36	-0.155	39
7	1.114	6	11	0.481	23	47	-0.170	40
32	1.107	7	44	0.468	24	22	-0.407	41
39	0.903	8	50	0.334	25	6	-0.452	42
5	0.894	9	38	0.268	26	4	-0.492	43
14	0.891	10	25	0.265	27	48	-0.721	44
43	0.854	11	27	0.181	28	46	-1.945	45
20	0.845	12	10	0.167	29	34	-2.968	46
30	0.798	13	17	0.141	30	2	-3.243	47
35	0.768	14	3	0.05	31	12	-3.75	48
1	0.762	15	16	0.048	32	31	-4.087	49
18	0.743	16	45	0.035	33	37	-4.331	50
21	0.686	17	26	0.026	34			

在多元统计分析中,由于变量复杂多样,所以一般都需要采用 2 种或 2 种以上的多元统计学方法对变量进行分析,以增加结论的可信度。主成分分析虽然比较直观,但是无法对各对象所属类别进行准确划分,因此进一步通过聚类分析消除类别划分的随意性。由聚类分析结果可知,可将金银花提取物分为 2 个大类。样品 37 单独为 I 类,其余样品为 II 类。II 类中可分为 3 小类,其中 12、31、34、2 为一类,40 为一类,19、29、18、43、16、28、23、17、21、8、14、15、24、25、26、27、30、20、39 为一类。除个别批次外,大部分样品与主成分分析中的分析结果一致。

3.4 灰色关联分析

利用灰色关联分析法对金银花提取物共有峰的指纹图谱数据和抑菌率进行分析,通过计算母序列(抑菌率)与子序列(共有峰的指纹图谱数据)的关联程度来体现金银花提取物中化学成分对金葡菌的抑菌作用强弱。通过确定系统特征、无量纲化处理等步骤^[11]后,按以下公式计算 $Y_i(k)$, ($i=1,2,\dots,18$)

与 Y_0 的关联系数与关联度及关联极性。

(1) 关联系数

$$\xi_{0i}(k) = \frac{\min_i \min_k \Delta_{0i}(k) + \rho \max_i \max_k \Delta_{0i}(k)}{\Delta_{0i}(k) + \rho \max_i \max_k \Delta_{0i}(k)}, i = 1, 2, \dots, 18, k = 1, 2, \dots, 50$$

(2) 关联度

$$\gamma 0_i = \frac{1}{50} \sum_{k=1}^{50} \xi_{0i}(k), i = 1, 2, \dots, 18。$$

$$\Delta_{0i}(k) = |Y_0(k) - Y_i(k)|, i = 1, 2, \dots, 18, k = 1, 2, \dots, 50。$$

ρ 为分辨系数, $0 \leq \rho \leq 1$, 通常取 $\rho = 0.5$; $\Delta_{0i}(k) = |Y_0(k) - Y_i(k)|, i = 1, 2, \dots, 18, k = 1, 2, \dots, 50。$

(3) 关联极性

$$\sigma_i = \sum_{k=1}^{50} k Y_i(k) - \frac{\sum_{k=1}^{50} Y_i(k) \sum_{k=1}^{50} k}{50}, i = 1, 2, \dots, 18(4)。$$

如果 $sign(\sigma_i) = sign(\sigma_0)$, 则 Y_i 与 Y_0 呈正相关, 说明 Y_i 对 Y_0 是增强作用; 如果 $sign(\sigma_i) = -sign(\sigma_0)$, 说明 Y_i 与 Y_0 负相关, 即 Y_i 对 Y_0 是削弱作用, $i = 1, 2,$

...,18。这里 $sign(x)$ 为符号函数,即 $sign(x) = \begin{cases} 1, x > 0, \\ 0, x = 0, \\ -1, x < 0. \end{cases}$ 金银花提取物各化学成分对金葡菌抑菌作用灰色关联分析见表5。

表5 药效物质抑菌作用关联度及关联极性

Tab.5 Correlation degree and polarity of antibacterial effect of pharmacodynamic substances

i	$\gamma_{0,i}$	i	$\gamma_{0,i}$	i	$\gamma_{0,i}$
1	+0.928 8	7	+0.944 0	13	+0.926 0
2	+0.913 5	8	+0.950 3	14	+0.917 0
3	+0.830 6	9	+0.938 3	15	+0.916 6
4	+0.930 8	10	+0.932 0	16	+0.940 7
5	+0.957 1	11	+0.936 2	17	+0.944 7
6	+0.896 5	12	+0.887 1	18	+0.949 1

注:“+”表示此化学成分与抑菌率呈正关联(促进作用);“-”表示此化学成分与抑菌率呈负关联(削弱作用)。“+” The substance was positively correlated with the inhibition rate (promoting effect);“-” This substance has a negative correlation with the inhibition rate (weakening effect)

若关联度大于0.9,则子序列对母序列起显著作用;若关联度在0.8~0.9,表示有相对显著作用;若关联度在0.7~0.8,表示有明显作用;若关联度在0.6~0.7,表示有较小作用;若关联度小于0.6,表示有非常小的作用。

根据表6可以将金银花提取物各化学成分抑菌作用由强到弱排列:5>8(绿原酸)>18(异绿原酸C)>17(异绿原酸A)>7>16(异绿原酸B)>9(隐绿原酸)>11>10>4(新绿原酸)>1>13>14>15>2>6>12>3。其中,成分5、8(隐绿原酸)、18(异绿原酸C)、17(异绿原酸A)、7(绿原酸)、16(异绿原酸B)、9、11、10、4(新绿原酸)、1、13、14、15、2有显著抑菌作用;成分6、12、3有相对显著抑菌作用。由关联极性可知,所有化学成分均有抑菌作用。

4 谱-效相关质量评价系统的建立

4.1 数学模型拟合

通过LS-SVM Lab工具采用最小二乘支持向量机法随机对金银花提取物的47组数据(谱-效药效指标值)进行数学建模,当 $\gamma = 1\ 309.26$, $\sigma^2 = 1.68$ 时,其拟合与预测效果最好。结果见表6,图5。

表6 药效成分谱-效相关抑菌作用数学模型拟合结果

Tab.6 The predicted results of the mathematical model of pharmacodynamic component chromatogram and antibacterial effect

批号 (batch)	实验结果 (experimental results)	拟合结果 (predicted results)	相对偏差 (relative deviation)/%	批号 (batch)	实验结果 (experimental results)	拟合结果 (predicted results)	相对偏差 (relative deviation)/%
1	53.15	53.15	0.001 8	25	53.51	53.50	0.017 8
2	60.81	60.80	0.011 8	26	43.35	43.36	0.007 8
3	62.07	62.06	0.012 2	27	45.39	45.39	0.005 8
4	56.28	56.27	0.006 9	28	53.45	53.44	0.023 7
5	57.46	57.45	0.007 1	29	41.67	41.68	0.012
6	41.76	41.76	0.016 7	30	47.07	47.08	0.021 1
7	44.55	44.56	0.004 8	31	59.55	59.54	0.012 6
8	48.60	48.60	0.003 3	32	62.86	62.85	0.014 0
9	68.78	68.77	0.010 9	33	50.84	50.84	0.000 3
10	71.53	71.51	0.031 1	34	39.29	39.30	0.033 5
11	60.09	60.08	0.011 0	35	3.93	3.96	0.920 3
12	56.14	56.14	0.003 8	36	36.80	36.82	0.067 2
13	37.66	37.67	0.012 4	37	60.35	60.34	0.009 4
14	40.36	40.37	0.017 5	38	65.17	65.16	0.016 2
15	62.44	62.42	0.029 9	39	69.58	69.57	0.020 4
16	45.95	45.97	0.033 2	40	70.50	70.48	0.015 9
17	50.40	50.40	0.005 6	41	41.11	41.11	0.015 6
18	56.24	56.24	0.010 8	42	39.59	39.60	0.022 6
19	36.22	36.23	0.029 5	43	42.57	42.58	0.030 8

续表 6 (continued)

批号 (batch)	实验结果 (experimental results)	拟合结果 (predicted results)	相对偏差 (relative deviation)/%	批号 (batch)	实验结果 (experimental results)	拟合结果 (predicted results)	相对偏差 (relative deviation)/%
20	44.57	44.57	0.002 2	44	36.50	36.51	0.030 8
21	56.18	56.18	0.005 7	45	62.72	62.71	0.012 3
22	49.45	49.45	0.011 9	46	70.15	70.12	0.035 6
23	44.86	44.88	0.027 6	47	56.03	56.03	0.007 5
24	52.12	52.11	0.008 2	平均相对偏差(mean relative deviation)/%		0.036	

注 (note): 横坐标“time”表示表示样品批次,纵坐标“Y”表示抑菌率(the abscissa “time” represents the sample batch, and the ordinate “Y” represents the inhibition rate)

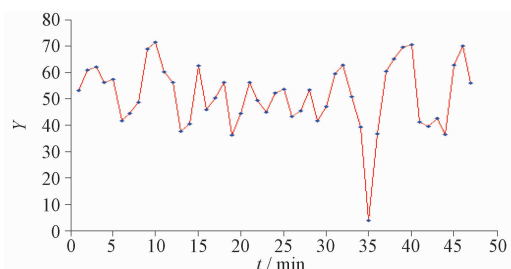


图 5 抑菌作用谱-效相关数学模型拟合图

Fig. 5 The fitting diagram of the mathematical model model of pharmacodynamic component chromatogram and antibacterial effect

由上述图表可以看出,该数学模型拟合数据与实验数据的相对偏差均在 1% 以下,平均相对偏差低至 0.036%,说明数学模型的拟合值与实验数据的吻合度很好。

4.2 数学模型的验证

为了验证金银花提取物数学模型是否准确,将其他 3 组金银花提取物指纹图谱数据代入建立的数学模型中,计算出预测值抑菌率,再将此数据与实验值抑菌率进行比较,结果见表 7。

表 7 药效成分抑菌作用谱-效相关数学模型盲法验证结果

Tab. 7 Results of blind validation of the mathematical model model of pharmacodynamic component chromatogram and antibacterial effect

批号 (batch)	实验结果 (experimental results)	预测结果 (predicted results)	相对偏差 (relative deviation)/%	平均相对偏差 (mean relative deviation)/%
48	54.05	55.20	2.13	1.8
49	52.99	51.84	2.17	
50	51.72	51.15	1.11	

由表 7 可知,该模型的实验数据与预测数据的平均相对偏差在 2% 以下。由此说明,建立的金银花提取物指纹图谱-抑菌药效指标数学模型,预测值与实验值误差很小,因此可以通过输入指纹图谱数据对金银花提取物的抑菌作用进行准确预测。

5 总结

本文通过自制金银花提取物,建立高效液相定量指纹图谱检测方法,采用微量稀释法测定金银花提取物的抑菌作用,利用灰色关联分析及最小二乘支持向量机法对谱(指纹图谱数据)-效(抑菌率)数据进行关联分析,结果显示,金银花提取物的 18 个共有成分均与抑菌率呈正相关,建立的数学模型的

拟合数据与实验数据的相对偏差均在 2% 以下,能够通过多种化学成分与药效相结合的方式实现仅输入指纹图谱数据就能预测金银花提取物质量(抑菌率)的目的,此外,若不同批次的金银花药材提取条件相同,宜可采用此评价系统通过金银花提取物的抑菌率大小判断金银花药材的优劣,实现从药材源头及提取物两个环节对质量的控制。金银花提取物谱-效相关质量评价系统的建立,可为金银花在抑菌作用上的药效成分有更深入的认识,不仅可全面、客观、科学地评价金银花提取物的质量优劣,也可以为含金银花提取物的成方制剂提供相应的质量评价手段,为丰富中药质量评价模式,提高质量评价的现代化、科学化水平提供相应的技术支持。因此,建立

的金银花提取物抑菌作用谱-效相关质量评价系统相比较于传统的仅由个别成分、多个指标及指纹图谱评价药材优劣更加全面、客观、有说服力。本文建立的评价系统仅从抑菌方面评价药物优劣,药效指标单一,制定更全面更科学的药效指标将是我们后期研究的重点。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2020 版. 一部[S]. 2020:230
ChP 2020. Vol I [S]. 2020:230
- [2] 任蓓, 郝娟, 娄迎昕, 等. 不同产地金银花的质量评价[J]. 山西医科大学学报, 2022, 53(1):100
REN B, HAO J, LOU YX, *et al.* Quality evaluation of *Lonicerae Japonicae Flos* from different producing areas [J]. J Shanxi Med Univ Basic Med Educ, 2022, 53(1):100
- [3] 魏悦, 曹静亚, 张丽先, 等. 金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒指纹图谱及过程质量评价研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(4):495
WEI Y, CAO JY, ZHANG LX, *et al.* Fingerprint and process quality assessment of raw herbs, standard decoction, intermediates and dispensing granules of *Lonicerae Japonicae Flos* [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2022, 39(4):495
- [4] 刘璐, 吕凌, 李晨, 等. 基于多指标成分和模式识别分析不同产地金银花的质量差异[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(9):4328
LIU L, LÜ L, LI C, *et al.* Analysis on quality differences of *Lonicerae Japonicae Flos* from different producing areas based on pattern recognition and multi-component content determination [J]. Chin Med Pharm, 2023, 38(9):4328
- [5] 刘晓龙, 李春燕, 薛金涛. 金银花主要活性成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2021, 38(10):992
LIU XL, LI CY, XUE JT. Research progress on main active components and pharmacological effects of *Lonicera japonicum* [J]. J Xinxiang Med Univ, 2021, 38(10):992
- [6] 关秀锋, 王锐, 李晓龙, 等. 金银花的化学成分与药理作用研究新进展[J]. 化学工程师, 2020, 34(4):59
GUAN XF, WANG R, LI XL, *et al.* New progress in the study of chemical constituents and pharmacological effects of honeysuckle [J]. Chem Engin, 2020, 34(4):59
- [7] 韩旭, 赵薇. 金银花化学成分研究进展[J]. 农家参谋, 2018(22):54
HAN X, ZHAO W. Research progress on chemical components of *Lonicerae japonica* [J]. Farmers Consult, 2018(22):54
- [8] 戴江瑞. 中药金银花的药用成分及临床药理分析[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(58):11352
DAI JR. The analysis of medicinal components and clinical pharmacology of *Lonicera japonicum* [J]. Electronic J Clin Med Literature, 2017, 4(58):11352
- [9] 何显忠, 兰荣德. 金银花的药理作用与临床应用[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(12):865
HE XZ, LAN RD. The pharmacological action and clinical application of *Lonicera japonica* [J]. Lishizhen Med Mater Med, 2004, 15(12):865
- [10] 刘昌平. 金银花黄酮的抗氧化活性分析[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(20):9483
LIU CP. Analysis on anti-oxidized activity of flavonoid from honeysuckle [J]. J Anhui Agric Sci, 2009, 37(20):9483
- [11] 姐龙辉, 王变利, 高樱, 等. 基于谱-效相关黄芩提取物抑菌药效物质基础及质量评价系统的研究[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(20):2095
ZU RH, WANG BL, GAO Y, *et al.* Research on effective substance of *Scutellaria* extract and the quality evaluation system based on spectrum-effect correlation [J]. China J Hosp Pharm, 2020, 40(20):2095
- [12] 吕婧, 高樱, 高燕, 等. 基于谱-效相关的银黄颗粒溯源检测分析研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(5):2034
LÜ J, GAO Y, GAO Y, *et al.* Research on detection analysis of Yinhuang granules based on fingerprint-efficacy correlation [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34(5):2034
- [13] 高燕, 赵渤年, 于宗渊, 等. 金银花抗流感病毒谱-效相关质量评价模式的研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(12):3508
GAO Y, ZHAO BN, YU ZY, *et al.* Study on the spectrum-efficient correlation pattern for quality evaluation of *Lonicerae Japonicae Flos* on anti-influenza virus [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2013, 28(12):3508
- [14] 赵渤年, 于宗渊, 丁晓彦, 等. 黄芩质量评价谱-效相关模式的研究[J]. 中草药, 2011, 42(2):380-383
ZHAO BN, YU ZY, DING XY, *et al.* Spectrum-efficient correlation pattern for quality evaluation of *Scutellariae Radix* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2011, 42(2):380
- [15] 高燕, 李珂, 刘青, 等. 黄芩抑菌谱-效相关质量评价系统的研究[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(4):393
GAO Y, LI K, LIU Q, *et al.* Study of spectrum-efficient correlation mathematical system for the quality evaluation of *Scutellariae Radix* on antibacterial activity [J]. China J Hosp Pharm, 2018, 38(4):393

(本文于 2023 年 11 月 30 日收到)