

用聚类—矩阵和法评价不同 产地丹参提取物相关活性

□ 李 敏 孙 虹 林 佳

(中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所 北京 100094)

邢东明 杜力军

(清华大学生物科学与技术系药物药理学实验室 北京 100084)

摘 要 :目的 :对不同产地丹参有效部位进行药效学比较并进行评价。 方法: 对 8 个不同产地丹参含丹参素及含丹参酮成分进行了 ADP 诱导的血小板聚集实验、凝血酶原时间的测定及 MDA 的测定, 对实验结果进行聚类分析和综合药效评价。 结果: 8 种丹参的两种提取物均具有抗血小板聚集, 延长凝血酶原时间及降低 MDA 的作用。 结论: 就上述活性而言, 山西丹参野生及栽培药效近似且较优于其他产地, 四川中江栽培、山东野生、河南栽培药效近似, 优劣居中, 陕西安康野生和河南栽培相对较差。

关键词 :丹参 药效学 聚类分析 矩阵和法

丹参为唇形科植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)的干燥根及根茎^[1]。分布于辽宁、河北、河南、山东、山西、四川、陕西、湖北等地。主要成分有丹参酮、异丹参酮、隐丹参酮、异隐丹参酮及丹参素等。药理学研究表明, 丹参提取物具有改善微循环及抗凝的作用, 对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用, 以及舒张离

体冠状动脉、抗动脉粥样硬化等作用^[2]。本文以血小板聚集、凝血酶原时间和脑组织 MDA 含量等为指标分别对丹参醇提取物——含丹参酮成分及水提取物——含丹参素成分进行观察, 并以聚类分析和矩阵和分析对其活性进行综合, 以此对 8 种丹参进行评价。

一、材料与方 法

1. 药材来源 S1 四川中江栽培, S2 陕西安康野生, S3 山西降

县南樊镇栽培, S4 山西降县南樊镇野生, S5 山东沂南县青驼乡栽培, S6 山东沂南县青驼乡野生, S7 河南卢氏朱阳关乡栽培, S8 河南卢氏朱阳关乡野生。以上药材由中国医科院药用植物研究所资源室提供, 其水溶性成分及醇溶性提取成分由该所植化室制备。

2. 试验方法与设计 ADP 诱导的血小板聚集实验: 记录血小板聚集百分率。凝血酶原时间的测定: 记录血浆凝血酶原时间。培养

[收稿日期] 2001-7-10

[修回日期] 2001-12-21

* 国家自然科学基金重点项目(39730500)。

大鼠脑组织造成缺血缺氧病理模型,用TBA法测定脑组织MDA(丙二醛)含量。以上均为体外给药试验并参照文献^[3]进行。试验时用生理盐水将受试药物配制成所需浓度。每一实验做5个浓度,每个浓度设5个平行管。

3. 数据处理 以Microsoft Excel 软件进行数据处理,以logit法^[4]计算EC₅₀。以MINITAB 13 统计软件进行Single linkage 聚类分析、矩阵和分析,参考文献^[5,6]对8种样品药效进行综合评价。

二、结 果

1. 乙醇提取物 计算乙醇提取物对ADP诱导的血小板聚集、凝血酶原时间及MDA的EC₅₀。

2. 水提取物 计算水提取物对ADP诱导的血小板聚集、凝血酶

原时间及MDA的EC₅₀。

三、讨 论

1. 聚类分析 实验结果表明,上述8种丹参的两种提取物均具有不同程度的抗血小板聚集、延长凝血酶原时间及降低MDA的作用。为进一步考察这8种样品间在药效方面的亲疏远近关系,以两种成分3个指标共6组数据作为特征值,对其进行聚类分析,结果见图1。计算欧式距离(Euclidean distance)并求得相似水平(Similarity level)作为分类标准。从相似水平图中可知:S2、S8、S1、S5、S6、S7、S3、S4各成一类,共有4类。即四川中江栽培、山东沂南栽培和野生及河南卢氏栽培药效特征近似,山西降县南樊镇栽培和野生药效特征近似,陕西野生和河南卢氏野生与上述几种产地的

丹参药效相差较远,各成一类。

2. 矩阵和分析 由EC₅₀数据可形成8×6矩阵a_{ij}(i=1, 2...8; j=1, 2...6),并以相关系数等对a_{ij}进行修饰,形成新的矩阵b_{ij}(i=1, 2...8; j=1, 2...6),使得:

$b_{ij} = K_{ij} \times r_{ij} \times B_{ij} \times a_{ij}$ (公式1)
K_{ij}为6个药理指标的权重,这里均为1;r为量效曲线的相关系数,r为0到1之间的数值;B_{ij}=sin{arctg(S_{ij})},B_{ij}将斜率转换成0到1之间的数值,使数值简化,其中S_{ij}为量效曲线的斜率,反映实验的灵敏度。

用MINITAB 13 软件对b_{ij}矩阵进行标准化处理,从而缩小数据间因数量级不同引起的差距,得矩阵C_{ij},并求得:

$A_i = \sum C_{ij} (j = 1, 2 \dots 6)$ (公式2)

以此作为综合评价药效的依据。由系数K_{ij}、r_{ij}和B_{ij}的数值特

表 1 丹参醇提取物不同活性的 EC₅₀

S	EC ₅₀ (mg/ml) (95% 置信限)		
	血小板聚集	血浆凝固时间	MDA
1	1.167(1.1608 - 1.1741)	20.275 (2.7298 - 150.5941)	0.983(0.8177 - 1.1819)
2	2.506(2.4986 - 2.5148)	16.049 (2.2187 - 116.0935)	0.909(0.6569 - 1.2526)
3	1.001(0.9910 - 1.0116)	14.136 (2.7985 - 71.4045)	10.582(8.0662 - 13.8834)
4	1.775(1.7120 - 1.8413)	555.09 (79.7942 - 3861.51)	4.675(3.3122 - 6.5979)
5	0.709(0.6966 - 0.7208)	11.891 (1.4827 - 95.3689)	5.499(1.9663 - 15.3781)
6	0.517(0.5168 - 0.5171)	12.882 (1.8082 - 91.7672)	2.942(2.2594 - 3.8315)
7	1.054(1.0438 - 1.0646)	16521.8 (1704.11 - 160183)	3.408(0.6789 - 17.1059)
8	4.277(4.2146 - 4.3340)	81376.59(5328.9 - 1242681)	2.748(1.2549 - 6.0164)

表 2 丹参水提取物不同活性的 EC₅₀

S	EC ₅₀ (mg/ml) (95% 置信限)		
	血小板聚集	血浆凝固时间	MDA
1	0.426(0.4168 - 0.4356)	11.036(3.1477 - 38.6940)	0.853(0.0728 - 12.4715)
2	0.313(0.2422 - 0.4099)	50.092(21.4608 - 117.3712)	0.872(0.1061 - 7.1626)
3	0.213(0.2035 - 0.2226)	7.524(2.1652 - 26.1487)	0.933(0.6445 - 1.3503)
4	0.065(0.0628 - 0.0677)	7.372(2.0864 - 26.0520)	0.797(0.1860 - 3.4140)
5	0.459(0.4408 - 0.4776)	16.303(5.1902 - 51.2155)	1.303(0.6449 - 2.6323)
6	0.317(0.3132 - 0.3209)	7.104(2.5968 - 19.4342)	1.208(0.6714 - 2.1733)
7	0.419(0.3513 - 0.5011)	7.764(1.9631 - 30.7110)	1.124(0.2967 - 4.2591)
8	0.262(0.2590 - 0.2655)	7.409(2.2165 - 24.7725)	0.935(0.2755 - 3.1758)

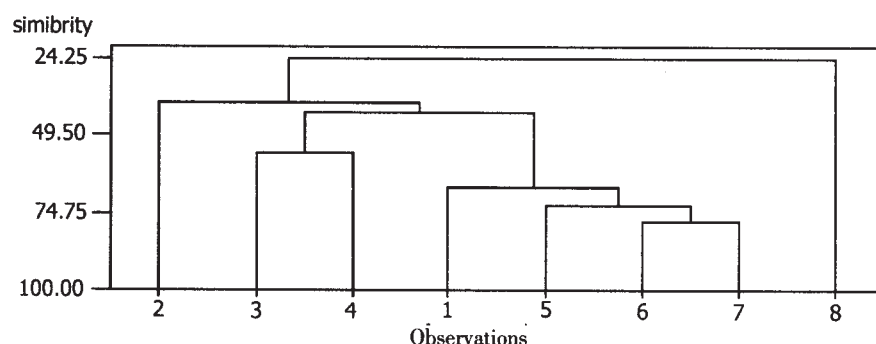


图1 丹参活性的聚类分析(Cluster Analysis)

征,可知 EC_{50} 越小 A_i 越小,而 EC_{50} 越小药效越好,所以 A_i 越小,表明综合药效越好。经计算得:

$$\begin{aligned} A_1 &= -1.8676 & A_2 &= 1.2946 \\ A_3 &= -0.5912 & A_4 &= -3.5954 \\ A_5 &= 2.2865 & A_6 &= -1.1868 \\ A_7 &= 0.8415 & A_8 &= 2.2818 \end{aligned}$$

由结果表明 S4 的药效最好,其次为 S1 S6 S3 S7 S2 S5 S8。

采用聚类分析对实验数据进行处理,可以了解不同产地的药材在药效方面是否相近,对于判断中药材是否来源于同一种属及不同产地中药材的相似程度具有重要意义。尤其是当样品有伪品时,可与正品相区别。本实验由于收集的样品有限,无伪品与正品的区别。药效优劣综合评价以矩阵和的方法对药物活性进行评价。该方法考虑到了药效指标、量效曲线的相关系数和实验灵敏度对药效的影响,可以较客观、全面地反映样品药效的优劣。聚类分析与矩阵和分析对于评价不同产地的中药材具有互补性,聚类分析对于判别药材种属的差异性和药材来源的道地性具有重要意义。矩阵和分析对于判断不同产地(包括道地药材和非道地药材)中药

材质量优劣提供了依据。本文中 S4 与 S3 在聚类分析中聚为一类,其产地来源相近,综合药效 S4 最优(-3.5954),S3 其次(-0.5912),S2(1.2946)及 S8(2.8183)各聚为一类,两者药效相对较差。

以上仅仅是从有限的活性指标,即从一个侧面对不同产地的丹

参进行比较评价。要想对其进行全面的比较和评价,尚有待于更多实验数据的积累。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 第1版. 北京: 化学工业出版社. 2000: 57.
- 2 杨春欣. 丹参素的药理学研究进展. 中国药理学通报. 1997, 13(4): 298.
- 3 陈奇. 中药药理实验方法学(第1版). 北京: 人民卫生出版社. 1994: 523.
- 4 刘昌孝, 孙瑞元. 药物评价实验设计与统计学基础. 北京: 军事医学科学出版社. 1999: 31.
- 5 王智民, 杜力军, 毕开顺. 中药药效评价的“水闸门”法. 世界科学技术——中药现代化. 2000, 2(5): 34-38.
- 6 韩京艳, 邢东明, 卢弘, 等. 中药药效评价的方法学研究. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版). 2001, 17(2): 4-6.

(责任编辑: 许有玲)

中南大学研究利用纳米技术治疗肝癌取得突破

中南大学利用纳米技术治疗肝癌取得的突破。该研究使患有肝癌的 900 多只老鼠接受治疗后, 体内的大部分癌细胞被抑制, 最后肿块消失, 治愈率达到 66.1%。

该研究从 1995 年开始“高性能磁性纳米粒 DNA 阿霉素治疗肝癌”课题的研究。他们将载有抗肿瘤药物阿霉素的纳米微囊注射到患肝癌的老鼠体内, 7 天后, 大部分癌细胞被抑制, 外观上肿块消失。

此实验证明, 纳米微囊对癌细胞具有高度的靶向性、选择性, 在杀死癌细胞的同时不损伤正常细胞, 对移植性肿瘤疗效好。这项课题目前已向国家提出申请进入临床试验阶段, 一旦全面研究成功, 就意味着肝癌这一全球性的医学难题有了治愈的希望。

原发性肝癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 一旦发现均已属中晚期, 难以治愈。目前, 对此类患者的治疗主要采用全身化疗、隔离肝动脉连续灌注化疗等。这些治疗方法不仅费用高昂, 而且给患者带来极大的痛苦。化疗药物在杀死癌细胞的同时对正常细胞损害更大。肝移植则因为排异反应常常失败。

目前, 纳米技术在国内外正被广泛应用于医疗领域, 已研制出许多载药纳米粒。由于其体积小, 具有良好的穿透性, 故易突破血管壁与细胞膜, 能靶向性杀死癌细胞而不伤正常细胞。

(文 摘)

Chinese medicine.

Key Words: traditional Chinese medicine, syndromic science, sub-health

The Modernization Research of DCXW

Zhou Mingmei, Wang Xing, Yang Kui and Yang Ming (Chengdu University of TCM, Chengdu, 610075)

Wang Yitao (China Academy of TCM, Beijing, 100700)

The study of substance basis and functional mechanism of Chinese Material Medica is the research focus of current Chinese Material Medica study. It is also the study emphasis of national 973 key project. The paper takes DCXW as an example to discuss the study of substance basis, functional mechanism and compose theory of Chinese Formula Medicine.

Key Words: substance basis, functional mechanism, DCXW

Study on Culture Regionalization of Coptis Chinensis by

Methodology of Fuzzy Mathematics

Pu Sheban (China Pharmaceutical University ,Nanjing 210038)

Qian Shihui (Jiangsu Province Institute of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, 210028)

Zhang Yuhe (Institute of Botany of the Chinese Academy of Science and Jiangsu Province, Nanjing, 210014)

Coptis chinensis Franch is a famous medicinal plant of traditional Chinese medicine. According to the biological character of *Coptis chinensis* Franch and eight climate ecological factors (such as mean annual temperature), the authors suggest suitable regions for the introduction and cultivation of this plant by the application of the methodology of fuzzy mathematics.

Key Words: fuzzy mathematics methodology, *coptis chinensis* Franch, climate ecological factor, culture regionalization

Comparison of Effects of Salvia Miltiorrhiza Bge. from Different Habitats by

Cluster Analysis and Matrix Sum

Li Min, Sun Hong and Lin Jia (Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Beijing, 100094)

Xing Dongming and Du Lijun (Lab. of Pharmacy & Pharmacology, Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing, 100084)

Objective: To compare the total effects of *Salvia miltiorrhiza* Bge. from different localities. **Methods:** ADP-induced platelet aggregation and thrombogen time and MDA in rats' brain in vitro have been determined, and cluster analysis and comprehensive evaluation method have also been used to evaluate the total effects of *Salvia miltiorrhiza* Bge. **Results:** Active components of *Salvia miltiorrhiza* Bge. have inhibited ADP-induced platelet aggregation, retarded blood-plasma coagulation induced by Ca^{2+} -cephalin and reduced the MDA in rats' brain in vitro. **Conclusion:** The results

indicate that the wild *Salvia miltiorrhiza* Bge. from Shanxi province is the best one among the 8 varieties and then the planting ones in Sichuan, wild ones in Shandong and planting ones in Henan. The wild *Salvia miltiorrhiza* Bge. in Ankang county of Shanxi Province and in Lu county of Henan province are the worse.

Key Words: *salvia miltiorrhiza* Bge. pharmacodynamics, cluster analysis, matrix sum

Sieving Active Ingredients of Chinese Traditional Medicines by Biological Methods

*Ding Mingyu and Li Hongxia (Department of Chemistry ,Tsinghua University, Beijing, 100084)
liu Delin (Institute of Basic Theories, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100700)*

In this article a biological method for sieving active ingredients of traditional Chinese medicines is described, by which the active ingredients of Chuanxiong ,Mahuang and Tianma have been obtained as follows: The main active ingredients are vanillin, ferulic acid and senkyunolides in Chuanxiong; ephedrine alkaloids in Mahuang; gastrodin and p – hydroxybenzyl alcohol in Tianma. These results coincide with those reported in literatures, which show that biological methods are rapid and reliable for sieving active ingredients of traditional Chinese medicines.

Key Words: Biological sieving method, traditional Chinese medicines, Chuanxiong ,Mahuang ,Tianma

Overview of Taxus Resources in China and Strategy for their Sustainable Utilization

*Chen Zhenfeng, Zhang Chengwen, Kou Yufeng and Cui Shuyu
(Xi' an Tiancheng drugs & Bio – engineering Co. Ltd. Xi' an 710075)*

This paper gives an illustration of the present situation of the distribution of *Taxus* species, Taxol content and particular status of *Taxus* resources in China. Meanwhile, it advances the discussion on the sustainable utilization of *Taxus* resources.

Key Words: *Taxus*, Taxol, resources, sustainable utilization

Ultra – fine Powders of Traditional Chinese Medicine and their application to Prescription Granules

*Zhang Xiaojuan and Chen Changzhou
(The Society of Traditional Chinese Medicine of Guangdong Province, Guangzhou, 510095) Gui Jingchao (Institute of Traditional Chinese Medicine and Yifang Drugs Corporation Ltd. Of Guangdong Province, Guangzhou, 510095)*

This article discusses the advantages and prospects of micron traditional Chinese medicine and its application to prescription granules (formally called condensed granules of single drugs) and analyzes the problems which may possibly emerge in its industrization.

Key Words: ultra – fine powder of traditional Chinese medicine, prescription granules of traditional Chinese medicine