

四物汤及衍化方香附四物汤挥发性成分 与子宫平滑肌收缩效应相关性分析*

□宿树兰 (南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室 南京 210046)
(江苏大学药学院 镇江 212013)

段金廛** 赵新慧 侯鹏飞 尚尔鑫 唐于平** 丁安伟
(南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室 南京 210046)

华永庆 (南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室 南京 210046)
(中国药科大学中药学院 南京 210009)

摘要:目的:探讨四物汤及类方香附四物汤挥发性成分与子宫平滑肌收缩效应之间的相关性。方法:采用GC-MS联用技术对四物汤、香附四物汤及组方中富含挥发性成分药材当归、川芎、香附、木香的挥发油成分进行分析鉴定;采用小鼠离体子宫收缩试验对四物汤、香附四物汤及组方药材挥发性成分的生物效应进行评价;选择相对含量高于1%的挥发性成分(53个)与子宫收缩效应的生物信息建立多变量数学模型,采用主成分分析(PCA)法对其相关性进行分析评价。结果:四物汤、香附四物汤挥发油的GC-MS/MS化学信号主要来源于当归、川芎药材的贡献;香附四物汤中对应于香附、木香的挥发性成分信号数及相对丰度表现均不及两药材挥发油各自的组成及相对含量;PCA分析结果表明21个化学成分对活性贡献率较大,其中对四物汤挥发油活性贡献率较大的成分主要有:(Z)-ligustilide、cis-ocimene、 γ -selinene、Spathulenol、3-butylidene phthalide、(E)-ligustilide等;对香附四物汤挥发油活性贡献率较大的成分主要有:Dehydrocostuslactone、Cyperene、 β -caryophyllene、 γ -selinene、Curcumene、 α -elemene、 β -cyperone、 α -cyperone、(Z)-ligustilide、Squalene等,分析结果支持了本实验结果。结论:香附四物汤中的挥发油部位具有显著的抑制子宫平滑肌收缩效应;香附四物汤挥发油活性优于四物汤及各组方药材挥发油,其中作为行气、止痛、调经常用药材的香附、木香挥发性成分与治疗气滞血瘀型痛经密切相关。同时,本文采用的GC-MS和PCA联用方法可以较客观的评价化学成分对活性的贡献率,分析化学成分与生物效应之间的相关性,故该方法可为方剂复杂效应物质的阐明提供思路和方法的借鉴与参考。

关键词:四物汤 香附四物汤 挥发性成分 子宫平滑肌收缩 GC-MS PCA

收稿日期:2007-04-30

修回日期:2007-11-03

* 江苏省高校自然科学基金重大基础研究资助项目(NO.06KJA36022):四物汤类方治疗妇科血瘀证的配伍规律与物质基础研究,负责人:段金廛;江苏省中医药管理局资助项目(2007):四物汤治疗妇科血瘀证的物质基础与其生物效应的关系评价,负责人:唐于平。

** 联系人:段金廛,本刊编委,教授,博士生导师,主要研究方向:方剂效应物质基础与中药资源化学研究,Tel:025-85811116,E-mail:dja@njutcm.edu.cn;唐于平,博士,研究员,主要研究方向:中药及天然药物化学、方剂效应物质基础研究,Tel:025-85811916,E-mail:ypingtang@nutcm.edu.cn。

出自《仙授理伤续断秘方》的四物汤,始用治外伤疾患;至宋代《太平惠民和剂局方》将其衍化为治疗妇科疾患的专方,以补血活血调经为主;后世医家以四物汤为核心加减化裁形成类方用于治疗临床各证型妇人经行腹痛,其中出自《不知医必要》的香附四物汤即为治疗气滞血瘀型痛经的代表方剂之一。许多学者对四物汤补血作用物质基础研究较深入^[1-2],但尚未完全阐明其活血调经效应物质,对类方香附四物汤的效应物质研究则涉及甚少。

汤剂作为中医临床用药的传统剂型,在煎制过程中发生着化学物质的相互作用和动态变化。通常根据中药药性及药材中有效物质的理化性质采取相应措施,如对于富含挥发性成分的芳香类药材,采取后下法水煎以减少有效成分的逸失或破坏。因此,汤剂是一个内涵丰富的复杂化学体系,它既包含了水溶性小分子及大分子物质,又由于各类成分相互作用所产生的助溶增溶等作用,使亲脂性成分在汤剂中的溶解度大大增加,富含挥发性成分的汤剂实则为芳香水复合剂。因此,挥发性成分同样是方剂效应物质的重要组成部分,且在本课题组前期研究工作的基础上,发现方剂及组方中富含挥发性成分的药材挥发油具有显著的生理活性^[3-4]。

本文采用 GC-MS 法对四物汤、香附四物汤及组方药材中挥发性成分进行分析鉴定,采用小鼠离体子宫收缩模型对生物效应进行评价,建立多变量数学模型、采用 PCA 法分析化学成分与生物效应的相关性,并比较分析基本方与类方在效应、效应成分的差异性,探讨方剂加减配伍与效应成分、生物效应之间的关系,为方剂配伍规律与复杂效应物质的研究提供新的研究思路和方法。

一、实验材料

1. 实验动物

实验用昆明种清洁级雌性未孕小鼠,体重 18~22g,由南京中医药大学实验动物中心(SPF 级)提供(许可证号 SCXK(苏)2002-0031)。

2. 实验仪器

Agilent 6890N 气相色谱仪 (Palo Alto, CA, US-

A), 5973N 质谱仪 (Palo Alto, CA, USA), 自动进样器 7683series, Agilent 色谱工作站 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)。PowerLab/8s 数据记录系统 (AD Instruments, Australia), 联机电脑 (Powermac 7200/120, Apple, USA), 绘图软件 (v. 4.2.2 AD Instruments, Australia)

3. 实验药物

当归为伞形科植物当归 (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels) 的干燥根,产地甘肃岷县当归 GAP 种植基地;川芎为伞形科植物川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort.) 的干燥根茎,产地四川彭州川芎 GAP 种植基地;白芍为毛茛科植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 的干燥根,产地安徽亳州;熟地为玄参科植物地黄 (*Rehmannia glutinosa* Li-bosch.) 的干燥块根,产地河南怀庆;延胡索为罂粟科植物延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang) 的块茎,产地浙江淞阳;香附为莎草科植物莎草 (*Cyperus rotundus* L.) 的干燥根茎,产地广西玉林;木香为菊科植物木香 (*Saussurea lappa* C.B. Clarke) 的干燥根,产地云南丽江。以上药材均经段金殿教授鉴定,符合《中华人民共和国药典》(2005 年版)项下标准。薰本内酯购于上海中药标准化研究中心。四物汤药物组成:当归 川芎 白芍 熟地 各等分;香附四物汤药物组成:当归 9g 川芎 4.5g 白芍 4.5g 熟地 12g 香附 4.5g 延胡索 4.5g 木香 3g。

二、实验方法

1. 样品制备

称取 10 倍处方量(420g)香附四物汤组方药材,按照当归:川芎:白芍:熟地:香附:木香:延胡索(3:1.5:1.5:4:1.5:1.5:1) 比例配比;称取 10 倍处方量(360g)四物汤组方药材,按照当归:川芎:白芍:熟地(1:1:1:1)比例配比;另称取富含挥发油的组方药材当归、川芎、香附、木香各 100g,经粉碎至粒径为 40 目,采用水蒸气蒸馏法提取得到挥发油,得率分别为 0.29%, 0.61%, 0.70%, 0.52%, 1.29%, 0.64%。

2. GC-MS 分析条件

色谱条件:色谱柱 DB-1701,石英毛细管色谱柱(0.25mm×30m×0.25μm);进样口温度 200℃,检测器

温度 250℃; 程序升温: 初始温度 90℃保持 1min, 以 4℃/min 的速率升温至 175℃保持 5min, 以 1℃/min 的速率升温至 180℃保持 2min, 再以 8℃/min 的速率升温至 210℃保持 10min, 分流比: (100:1), 进样量 1μl; 载气为氦气(纯度>99.99%), 流速为 1ml/min。

质谱条件: 电子轰击(EI)离子源, 电离电压 70eV, 离子源温度 220℃, 加速电压 200eV; 扫描质量 m/z 35~500。

3. 小鼠离体子宫收缩模型的建立^[5]

取未孕雌性小鼠, 体重 18~22g; 实验前连续 3 天腹腔注射苯甲酸雌二醇(oestradiol benzoate) 1mg·kg⁻¹·d⁻¹, 以同步化子宫并增加子宫对缩宫素的敏感性。于第 4 日取出小鼠子宫, 置于 Locke's 溶液中清洗, 用细线分别扎住子宫颈端及两侧卵巢端, 一端固定于浴槽底部, 另一端连接在张力换能器上。置于 20ml Locke's 液恒温浴槽中, 温度为(37±0.1)℃, 持续供氧, pH 7.3, 通过调节螺母加 1g 的负荷(10mN), 平衡 40min, 待子宫收缩稳定, 自发节律恢复后, 开始进行实验。

预先记录 5~10min 正常收缩曲线, 继加入缩宫素注射剂(oxytocin) 10μl, 终浓度为 5 ul/L, 作用 15min 后再加入各受试药物, 各部位样品受试药物加入的初始浓度均为 10mg/mL, 终浓度为 0.01mg/mL, 观察药物对缩宫素引起子宫痉挛性收缩的抑制作用, 采用 T 检验方法统计给药前及给药后子宫的收缩频率及收缩幅度, 计算抑制子宫收缩的百分率(%). 计算公式: IR%=(给药前参数-给药后参数)/给药前参数×100。

4. 数学模型的建立

多变量分析方法常用于各种复杂体系的分析, 在中医药领域的应用越来越广泛^[6], 其中 Principal Component Analysis(PCA)方法最为常用。本研究对挥发性成分与小鼠离体子宫收缩效应之间建立数学模型, 采用 PCA 方法分析对效应起主要贡献的化学成分。其建模过程如下:

(1) 自变量矩阵 C 为 6 行 53 列, 对应于 6 次试验和 53 个化学成分。因变量为一含 5 个元素的向量, 表示 5 个活性数据。

(2) 矩阵 C 的标准化 $C_n = \frac{C - \text{Mean}C}{\text{Std}C}$ 。

(3) 计算相关系数矩阵 $R = C^T \cdot C$ 。

(4) 成分分组。

在相关系数矩阵 R 中搜索大于 0.999 的元素。凡相互之间相关系数大于 0.999 的变量被分为一组, 从原矩阵 C 中删除, 代之以该组变量的平均值。

(5) 主成分分析。

将合并变量后的矩阵重新标准化, 进行主成分分析。分析后可得到载荷矩阵(loading, 21×21), 得分矩阵(scores, 6×21)和特征值(latent, 4 个)。得分矩阵为新的空间坐标基下的值, 即经过变换后的新综合变量, 作为自变量矩阵进行以下的回归建模。

(6) Logistic 变换。

变换公式为: $\text{Log}P = \ln \left[\frac{P}{1-P} \right]$

P: 抑制率, 取值范围(0, 1)

(7) 逐步回归。

以主成分分析后的得分矩阵(scores, 5 行 4 列)为自变量, 活性数据的 Logistic 变换(LogP)为因变量, 进行逐步回归。

三、结果

1. 组方药材、基本方及类方挥发性成分 GC-MS 分析

对各样品总离子流图(见图 1)中化学色谱峰通过气相质谱分析工作站 NIST 标准图库进行检索并参照有关文献进行确认各化合物, 按峰面积归一化法计算各组分相对百分含量。从香附四物汤、四物汤及组方药材挥发性成分中选择相对含量大于 1% 的 53 个成分(见表 1), 以其峰面积为量的考察指标建立与效应的数学模型, 分析其中对子宫平滑肌收缩效应起主要贡献的化合物; 并对四物汤及衍化方香附四物汤生物效应及效应成分进行分析评价。

(1) 由图 1 化学信号峰可看出四物汤挥发油中的化学信号主要为当归、川芎的贡献, 仅有个别成分相对丰度降低或未检测到, 如 cis-ocimene(peak1)在当归挥发油中相对含量为 3.47%, 而在四物汤中仅占

0.15%。川芎挥发油中 Unknown (peak28) 在四物汤挥发油中未检测到。

(2) 由图 1 化学信号峰可看出香附四物汤挥发油中的化学信号来源于当归挥发性成分的仅有 cis-

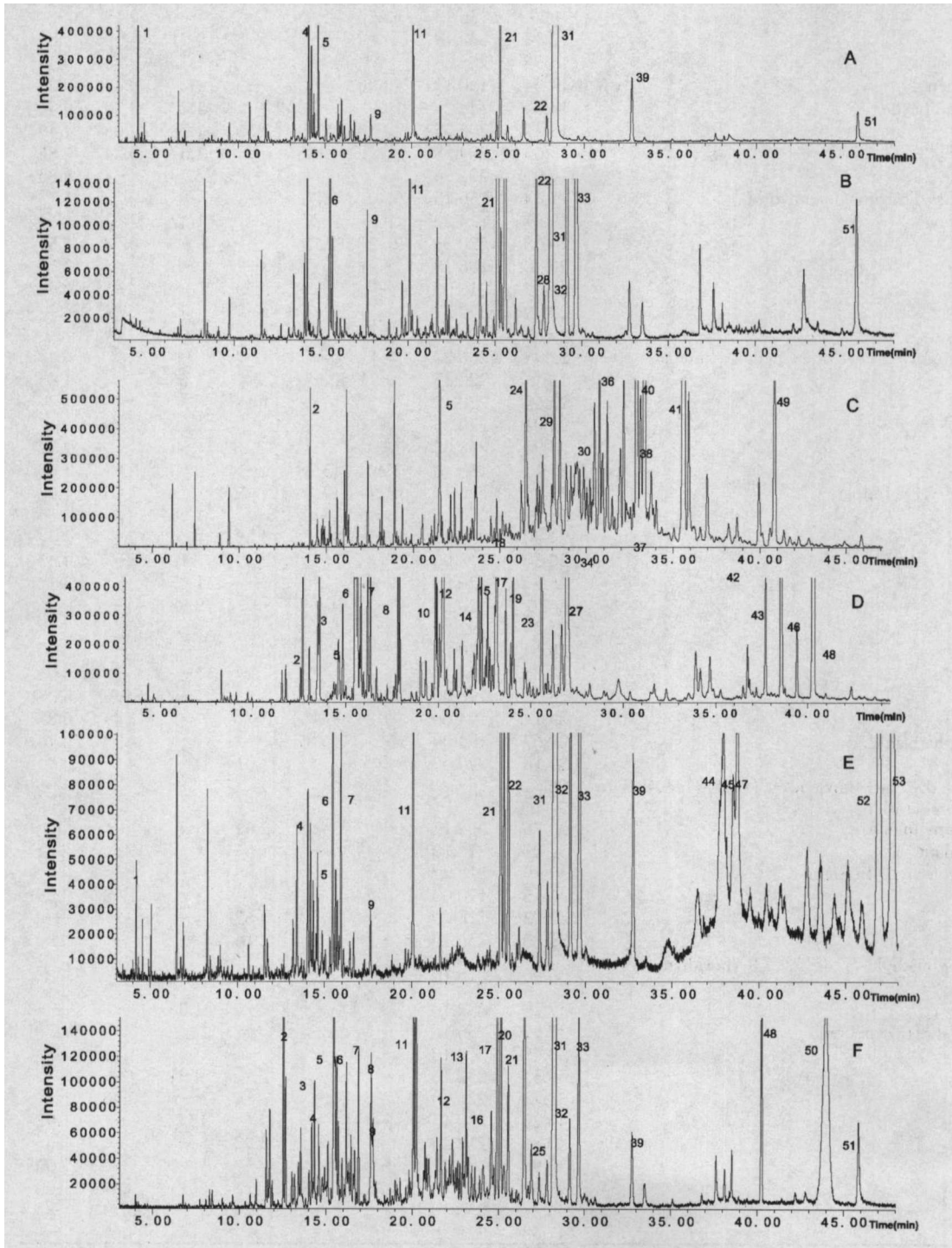


图 1 四物汤(E)、香附四物汤(F)及组方药材(A: Rhadix Angelica; B: Rhizoma Ligusticum; C: Rhizoma Cyperus; D: Radix Saussurea) TIC 图

ocimene (peak1)、来源于川芎药材挥发性成分的仅有 Unknown (peak28) 在方剂中未检测到。而对应于香附药材中的挥发性成分主要有 Cyperene (peak2)、 β -eudesmene (peak6)、Aristolone (peak13)、2-methyl-4-(2,2,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-2-butenal (peak16)、 β -cyperone (peak20)、 α -cyperone (peak25); 在方剂中未检测到的化学信号主要有 Unknown (peak18)、Unknown (peak23)、Caryophyllene oxide (peak24)、Unknown (peak29, 30, 34)、decahydro-1,1,7-trimethyl-4-ethylene-, [1 α R-(1 α , 4 α β , 7 α , 7 α β , 7 β α)] 1H-cycloprop[e]azulene (peak35)、8,9-dehydro-neoisolongifolene (peak36)、1,6-dien-3-ol-humulane (peak37)、1-fluoro-2-(2-methoxyethyl)-Benzene (peak38)、Aris-

表1 四物汤、香附四物汤及组方药材挥发油中相对含量高于1%的化学成分

| NO. Compound | Retenti on time | molecul ar weight | Origin and Relative contents(%) | | | | | |
|--|-----------------|-------------------|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | A | B | C | D | E | F |
| 1 cis-ocimene | 4.20 | 136.13 | 3.47 | - | - | - | 0.15 | - |
| 2 Cyperene | 12.56 | 204.19 | - | - | 1.08 | 0.21 | - | 1.87 |
| 3 β -caryophyllene | 13.56 | 204.35 | - | - | - | 1.73 | - | 0.39 |
| 4 2-methoxy-4-vinylphenol | 14.04 | 150.17 | 1.80 | - | - | - | 0.43 | 0.25 |
| 5 2,4,6-trimethyl- benzaldehyde | 14.60 | 148.20 | 1.60 | - | - | 1.22 | 0.30 | 0.50 |
| 6 β -eudesmene | 15.47 | 204.35 | - | 2.11 | 2.35 | 1.78 | 1.06 | 4.49 |
| 7 γ -selinene | 15.63 | 204.35 | - | - | - | 1.57 | 0.24 | 0.86 |
| 8 Curcumene | 16.90 | 202.34 | - | - | - | 2.79 | - | 0.83 |
| 9 1,4-cyclohexadiene-1,2-dicarboxylic anhydride | 17.64 | 150.13 | 0.40 | 0.70 | - | - | 0.22 | 1.13 |
| 10 7-methyl-3,4-Octadiene | 19.84 | 124.22 | - | - | - | 1.47 | - | - |
| 11 Spathulenol | 20.08 | 220.35 | 2.42 | 2.15 | - | - | 0.78 | 1.57 |
| 12 1,3-cyclooctadiene | 20.28 | 108.18 | - | - | - | 19.17 | - | 3.75 |
| 13 Aristolone | 21.67 | 218.00 | - | - | 2.23 | - | - | 0.94 |
| 14 Eudesmol | 22.19 | 222.37 | - | - | - | 1.47 | - | - |
| 15 (+)-longifolene | 22.34 | 204.35 | - | - | - | 1.01 | - | - |
| 16 2-methyl-4(2,2,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-2-butenal | 22.93 | 206.20 | - | - | 1.99 | - | - | 0.43 |
| 17 α -elemene | 23.13 | 220.35 | - | - | - | 4.66 | - | 1.03 |
| 18 Unknown | 23.63 | 220.10 | - | - | 1.18 | - | - | - |
| 19 Z- α -trans- bergamotol | 24.04 | 220.35 | - | - | - | 1.09 | - | - |
| 20 β - cyperone | 24.93 | 218.00 | - | - | 12.21 | - | - | 2.57 |
| 21 3-butylidene phthalide | 25.13 | 188.10 | 2.40 | 13.98 | - | 0.15 | 2.88 | 3.40 |
| 22 2,3-dihydro-4-methyl-1H-Indole | 25.56 | 220.10 | 0.27 | 12.16 | - | - | 1.45 | 1.07 |
| 23 Unknown | 25.59 | 220.20 | - | - | - | 1.98 | - | - |
| 24 Caryophyllene oxide | 26.50 | 220.20 | - | - | 3.58 | - | - | - |
| 25 α -cyperone | 26.50 | 218.00 | - | - | 25.28 | - | - | 4.33 |
| 26 Unknown | 26.67 | 220.20 | - | - | - | 1.05 | - | - |
| 27 Cedrenol | 26.97 | 220.20 | - | - | - | 9.88 | - | - |
| 28 Unknown | 27.39 | 192.00 | - | 2.34 | - | - | - | - |
| 29 Unknown | 28.14 | 220.20 | - | - | 2.3 | - | - | - |
| 30 Unknown | 28.83 | 204.20 | - | - | 1.27 | - | - | - |
| 31 (Z)-ligustilide | 28.32 | 190.00 | 70.73 | 31.73 | - | - | 56.30 | 42.39 |
| 32 Neocnidilide | 29.14 | 194.00 | - | 6.16 | - | - | 1.49 | 0.87 |
| 33 4,5-dihydro-3-butylphthalide | 29.67 | 192.00 | - | 13.87 | - | - | 4.77 | 2.16 |
| 34 Unknown | 29.10 | 220.00 | - | - | 1.01 | - | - | - |
| 35 decahydro-1,1,7-trimethyl-4-ethylene-, [1 α R-(1 $\alpha\alpha$,4 $\alpha\beta$,7 α ,7 $\alpha\beta$,7 $\beta\alpha$)] 1H-cycloprop[e]azulene | 29.84 | 204.35 | - | - | 1.27 | - | - | - |
| 36 8,9-dehydro- Neoisolongifolene | 30.76 | 202.17 | - | - | 2.62 | - | - | - |
| 37 1,6-dien-3-ol -humulane | 31.21 | 218.10 | - | - | 1.65 | - | - | - |
| 38 1-fuoro-2-(2-methoxyethyl)-Benzene | 32.15 | 218.20 | - | - | 1.88 | - | - | - |
| 39 (E)- ligustilide | 32.75 | 190.00 | 1.50 | - | - | - | 1.08 | 0.85 |
| 40 Aristol-9-en-3-one | 32.92 | 218.00 | - | - | 9.62 | - | - | - |
| 41 Unknown | 35.89 | 236.20 | - | - | 2.16 | - | - | - |
| 42 7-isopropeny-1,4 α -dimethyl-4, 4 α ,5,6,7,8-hexahydro-3H-naphthalen-2-one | 36.96 | 218.10 | - | - | 1.03 | - | - | - |
| 43 Unknown | 37.70 | 232.10 | - | - | - | 1.03 | - | - |
| 44 2,4-diphenyl-4-methyl-1(E)-pentene | 37.92 | 236.16 | - | - | - | - | 3.18 | - |
| 45 Unknown | 38.49 | 270.10 | - | - | - | - | 1.46 | - |
| 46 Unknown | 38.55 | 232.10 | - | - | - | 4.51 | - | - |
| 47 Unknown | 38.73 | 236.20 | - | - | - | - | 2.48 | - |
| 48 Dehydrocostuslactone | 40.23 | 230.13 | - | - | - | 13.72 | - | 1.92 |
| 49 Nootkatone | 40.86 | 218.20 | - | - | 3.92 | - | - | - |
| 50 Squalene | 43.98 | 410.72 | - | - | - | - | - | 9.00 |
| 51 Unknown | 45.88 | 260.10 | 0.78 | 1.85 | - | - | 0.40 | 1.05 |
| 52 Unknown | 46.87 | 236.10 | - | - | - | - | 3.74 | - |
| 53 Unknown | 47.68 | 236.10 | - | - | - | - | 4.69 | - |

注: Note A: *Radix Angelica*; B: *Rhizoma Ligusticum*; C: *Rhizoma Cyperus*; D: *Radix Saussurea*; E: *Si-Wu Decoction*; F: *Xiang-Fu-Si-Wu decoction*
“-”未检测到

tol-9-en-3-one (peak40)、Unknown (peak41)、7-iso-propeny-1,4a-dimethyl-4, 4a,5,6,7,8-hexahydro-3H-naphthalen-2-one (peak42)、Nootkatone(peak49)等,可看出香附药材配伍后其挥发性成分在方剂中化学信号数减少。

(3)香附四物汤挥发油中的化学信号来源于木香的挥发性成分主要有 Cyperene(peak2)、 β -caryophyllene (peak3)、2,4,6-trimethyl-benzaldehyde (peak5)、 β -eudesmene (peak6)、 γ -selinene (peak7)、Curcumene (peak8)、1,3-cyclooctadiene (peak12)、 α -elemene (peak17)、3-butylidene phthalide (peak21)、Dehydrocostuslactone(peak48);未检测到的化学信号主要包括 7-methyl-3,4-octadiene (peak10)、Eudesmol (peak14)、(+)-longifolene (peak15)、Z-a-trans-bergamotol (peak19)、peak23、peak26、peak43、peak47等,可看出木香药材配伍后其挥发性成分在方剂中化学信号数也减少。

2. 小鼠离体子宫收缩实验结果

小鼠离体子宫收缩实验结果表明,同等生药剂量下四物汤挥发油、香附四物汤挥发油、药材挥发油、主要成分藁本内酯对小鼠离体子宫收缩均有不同程度的抑制作用($P < 0.05$),其中香附四物汤挥发油活性明显优于四物汤及各组方药材挥发油的活性。结果见表2。

3. PCA 分析结果

选择挥发油中相对含量在1%以上的53个化学成分与生物效应之间建立6行53列的矩阵,按照成分间含量关系将其分成13个组作为变量,数据标准化后进行PCA分析,后2个主成分对总方差的累积贡献率>91%,作逐步回归分析,选择后2个主成分P3、P4与生物效应建立模型($R^2=0.9781$),P3、P4的系数分别为-0.16421和0.27432,说明P4主成分对活

性贡献最大(图2),对应的起主要贡献的21个化合物见表3。

由表3可知,对四物汤挥发油活性起主要贡献的成分主要包括 cis-ocimene、Spathulenol、3-butylidene

表2 四物汤、香附四物汤及组方药材挥发油对小鼠离体子宫收缩的影响

(mean \pm SD, n=10)

| 样品 | 剂量 (mg 生药/mL) | 频率抑制率 (%) | 幅度抑制率 (%) | 平均肌张力 抑制率(%) |
|-----------------|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 空白对照组 | 等体积 | 8.86 \pm 1.92 | 3.90 \pm 0.55 | 13.76 \pm 1.19 |
| A | 10 | 27.19 \pm 1.20 | 21.30 \pm 1.69*** | 20.25 \pm 1.58 |
| B | 10 | 25.03 \pm 1.91 | 25.07 \pm 6.99*** | 23.60 \pm 3.06 |
| C | 10 | 28.68 \pm 3.33 | 18.92 \pm 1.84** | 34.21 \pm 1.72** |
| D | 10 | 28.86 \pm 1.66* | 29.42 \pm 1.14*** | 41.70 \pm 3.14*** |
| E | 10 | 39.78 \pm 1.64** | 13.10 \pm 1.42 | 22.00 \pm 2.33 |
| F | 10 | 12.52 \pm 0.59 | 33.10 \pm 1.26*** | 30.86 \pm 0.74* |
| (Z)-ligustilide | 10 | 32.09 \pm 3.28*** | 2.28 \pm 0.04 | 26.32 \pm 1.28*** |

表3 对四物汤、香附四物汤及组方药材挥发油活性贡献率较大的22个化学成分

| Compounds | Retention Time | Origin | loading |
|--|----------------|---------|----------|
| cis-ocimene | 4.20 | A、E | 0.10261 |
| Cyperene | 12.56 | C、D、F | 0.32603 |
| β -caryophyllene | 13.56 | D、F | 0.38291 |
| 2-methoxy-4-vinylphenol | 14.04 | A、E、F | 0.10261 |
| 2,4,6-trimethyl-benzaldehyde | 14.60 | A、D、E、F | 0.10261 |
| γ -selinene | 15.63 | D、E、F | 0.33061 |
| Curcumene | 16.90 | D、F | 0.38291 |
| Spathulenol | 20.08 | A、B、E、F | 0.095756 |
| Aristolone | 21.67 | C、F | 0.26418 |
| α -elemene | 23.13 | D、F | 0.38291 |
| β -cyperone | 24.93 | C、F | 0.26418 |
| Caryophyllene oxide | 26.50 | C | 0.26418 |
| α -cyperone | 26.50 | C、F | 0.26418 |
| (Z)-ligustilide | 28.29 | A、B、E、F | 0.10216 |
| decahydro-1,1,7-trimethyl-4-ethylene-, [1 α R-(1 α ,4 α ,7 α ,7 α ,7 β ,7 β)] 1H-cycloprop[e]azulene | 29.84 | C | 0.26418 |
| 8,9-dehydro-neoisolongifolene | 30.76 | C | 0.26418 |
| (E)-ligustilide | 32.75 | A、E、F | 0.10216 |
| Aristol-9-en-3-one | 32.92 | C | 0.26418 |
| Dehydrocostuslactone | 40.23 | D、F | 0.38291 |
| Nootkatone | 40.86 | C | 0.26418 |
| Squalene | 43.98 | F | 0.38291 |

phthalide、(Z)-ligustilide、(E)-ligustilide 等；对香附四物汤起主要贡献的成分主要包括 Cyperene、 β -caryophyllene、 γ -selinene、Curcumene、Spathulenol、Aristolone、 β -cyperone、 α -cyperone、(Z)-ligustilide、Dehydrocostuslactone、Squalene 等。

四、讨论

研究结果表明，香附四物汤中的挥发性成分具有显著的抑制子宫平滑肌收缩效应；香附四物汤挥发油活性明显优于四物汤挥发油、各组方药材挥发油的活性。主成分分析(PCA)结果表明：22个化学成分对活性起主要贡献，其中对活性贡献率较大的成分有：Dehydrocostuslactone、Cyperene、 α -cyperone、3-butylidene phthalide、(Z)-ligustilide、 β -Caryophyllene，其中主要活性成分源于香附、木香等挥发油。该结果从挥发性活性物质群角度表明作为行气、止痛、调经常用药材的香附、木香挥发性成分与治疗气滞血瘀型痛经密切相关，同时也支持了相关文献^[7-14]的报道，其作用机制有待深入研究。

从 GC-MS TIC 图谱中可看出，四物汤、香附四物汤挥发油中化学信号均包含当归、川芎药材的挥发性成分，且与单味药材挥发性成分化学信号数基本一致；而香附、木香药材挥发性成分化学信号只有部分在香附四物汤挥发油中检测到。由此可见，富含挥发性成分的组方药材在煎汤过程中可能存在着一系列的挥发性成分间的相互作用与转化，其转化过程及转化产物以及含不同类型挥发性成分水煎煮和蒸馏过程中在媒介中分配系数的不同、油/水两相间饱和与动态平衡的关系等内容有待进一步探讨。

由于方剂是一个复杂化学物质系统，其中尚有部分物质未阐明，因此尚需从多方面、多效应、多角

度进行分析评价^[15]。本文针对四物汤及衍化方香附四物汤挥发性成分与离体子宫收缩效应的相关性进行的分析评价，对于探讨方剂加减配伍后挥发性成分与生物效应间的关联研究奠定了一定基础，为方剂研究提供新的研究思路和方法参考。

参考文献

- 1 王玉华. 中药方剂四物汤补血作用有效部位的研究(博士学位论文), 山东中医药大学, 2001.
- 2 朱力军. 四物汤及其拆方补血作用机理和物质基础的研究.(硕士学位论文), 军事医学科学院放射医学研究所, 2002.
- 3 华永庆, 洪敏, 李璇, 等. 当归、芍药、香附及其配伍对离体小鼠子宫痛经模型的影响. 浙江中医杂志, 2003, (1): 26~27
- 4 宿树兰, 华永庆, 段金廉, 等. 少腹逐瘀汤对小鼠离体子宫收缩模型的生物效应及物质基础评价. 中国药科大学学报, 2007, 38(6)
- 5 徐叔云. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1991, 1467~1468.
- 6 Fan G, Wang BT, Liang YZ, et al. Variable selection for discriminating herbal medicines with chromatographic fingerprints. Analytica Chimica Acta, 2006, 572(7): 265~ 271.
- 7 杨辉, 谢金伦, 孙汉董. 云木香化学成分及药理作用研究概况. 天然产物研究, 1998, 10(2): 90~96.
- 8 黄险峰, 彭国平. 香附的化学成分及药理研究进展. 中药材, 2003, 26(1): 65~68.
- 9 温东婷, 张蕊, 陈世忠. 香附化学成分的对未孕大鼠离体子宫肌收缩的影响. 北京大学学报(医学版), 2003, 35(1): 110~111.
- 10 Du JR, Yu Y, Ke Y, et al. Ligustilide attenuates pain behavior induced by acetic acid or formalin. J Ethnopharmacology, 2007, 112(3): 211~ 214.
- 11 Du JR, Bai B, Kuang X, Yu Y, et al. Ligustilide inhibits spontaneous and agonist- or K+ depolarization -induced contraction of rat uterus. J Ethnopharmacology, 2006, 108(1): 54~58.
- 12 Sunny SC, Cheng TY, Lin G. Relaxation effects of ligustilide and senkyunolide A, two main constituents of Ligusticum chuanxiong, in rat isolated aorta. J Ethnopharmacology 2007, 111(3): 677~ 680.
- 13 Sunny S, Angela O, Robert L, et al. Mechanisms underlying the vasorelaxing effects of butylidenephthalide, An active constituent of Ligusticum chuanxiong, in rat isolated aorta. European Journal of Pharmacology 2006, 537(1-3): 111~ 117.
- 14 Elizabeth S, Giselle F, Rodrigo M, et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and(-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of Cordia verbenacea. European Journal of Pharmacology 2007, 569(3): 228~ 236.
- 15 段金廉, 宿树兰, 丁安伟, 等. 方剂复杂效应物质研究思路与方法. 中国药科大学学报, 2006, 37(suppl): 59~64.

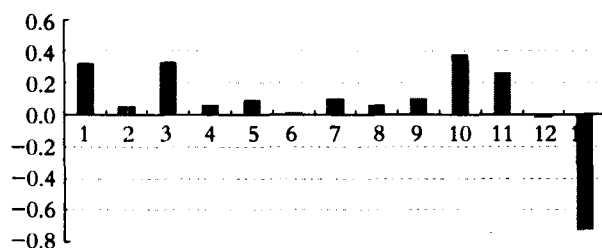


图2 主成分 P4 的载荷因子

An Analysis of Bioactive Components in Siwu Decoction and Xiangfu Siwu Decoction Oils

Su Shulan, Duan Jinao, Zhao Xinhui, Hua Yongqing, Hou Pengfei, Shang Erxin, Tang Yuping, Ding Anwei

(Jiangsu Key Laboratory for TCM Formulae Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Su Shulan

(College of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Hua Yongqing

(China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

This is a study to evaluate the correlation between volatile components and bioactivity of both 'Si-Wu Decoction' and 'Xiang-Fu-Si-Wu decoction'. In the study, chemical compositions of essential oils distilled from 'Si-Wu Decoction' and 'Xiang-Fu-Si-Wu Decoction' and their major constituting herbs (*Angelica sinensis*, *Ligusticum chuanxiong*, *Cyperus rotundus*, *Saussurea lappa*) were analyzed using GC-MS. An oxytocin induced female mice uterine contraction animal model was employed to evaluate the bioactivity of 'Si-Wu Decoction', 'Xiang-Fu-Si-Wu decoction', and their major constituting herbs. Finally, a mathematic model was established to compare chemical compositions and activity of inhibiting mice uterine contraction in vitro, and the correlation between chemical compositions and bioactivity analyzed using principal components analysis (PCA). We found that volatile components of 'Si-Wu Decoction' and 'Xiang-Fu-Si-Wu decoction' were mainly derived from *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong*, while 'Xiang-Fu-Si-Wu decoction' oil components were partly from *Cyperus rotundus* and *Saussurea lappa*. Twenty-two compounds, with a bioactivity contribution greater than or closely related to bioactivity, were obtained using PCA. The compounds, (Z)-ligustilide, cis-ocimene, g-selinene, Spathulenol, 3-butylidene phthalide, and (E)-ligustilide, mainly belong to 'Si-Wu Decoction'. The components, Dehydrocostuslactone, Cyperene, β -caryophyllene, γ -selinene, Curcumene, α -elemene, β -cyperone, α -cyperone, (Z)-ligustilide, and Squalene were part of 'Xiang-Fu-Si-Wu decoction'. It is apparent that the GC-MS technique, combined with PCA, can be a potential means to evaluate the bioactive components of TCM and TCM formula.

Keywords: Si-Wu decoction; Xiang-Fu-Si-Wu decoction; volatile components; the correlativity between chemical components and bioactivity; GC-MS; PCA

(责任编辑:王 瑀, 责任译审:邹春申)

(Continued from Page 62)

liver-wind; improving learning ability and memory by working on the kidney, and replenishing essence and marrow; and enhancing immunity by nourishing the liver and kidney; 2) *Polygonum multiflorum* thumb's efficacy and pharmacology of hair-blackening needs further study; 3) there are some differences in efficacy between raw *Polygonum multiflorum* thumb herb and its Processed Products. Pharmacological studies, therefore, should be dealt with to reflect therapeutic effects. Authors believe that there are certain correlations between the traditional Chinese herbal nature of *Polygonum multiflorum* thumb and the findings of modern pharmacological studies, which makes an evidence for the scientific explanation of *Polygonum multiflorum* thumb's traditional Chinese herbal nature, and provides a reference for studying *Polygonum multiflorum* thumb's pharmacology and associated clinical applications.

Keywords: *Polygonum multiflorum* thumb; efficacy; pharmacology; summary

(责任编辑:王 瑀, 责任译审:邹春申)

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 57