

DOI:10.11784/tdxbz202401006

基于 SVR 模型的 MIV 法的复方苦参抗菌成分的辨识研究

蒋建兰^{1,2}, 庞汐伦^{1,2}, 冯佳^{1,2}, 赵腾飞²

(1. 天津大学系统生物工程教育部重点实验室, 天津 300350; 2. 天津大学化工学院, 天津 300350)

摘要: 由苦参、蛇床子、黄柏和白鲜皮四味中药材组成的复方苦参外用洗剂, 因其抗菌效果而广泛应用于临床。然而, 目前尚不明确复方苦参洗剂中哪些成分对于抗菌是显著有效的。本文以复方苦参洗剂为研究对象, 应用化学计量法建立复方苦参中化学成分与其对金黄色葡萄球菌抑制活性之间的组效关系模型, 并通过支持向量回归(SVR)的平均影响值(MIV)法识别出复方苦参中作用显著的抑菌成分。采用 HPLC-UV 法建立复方苦参醇提物的指纹图谱的检测方法, 用该检测方法检测了 43 批次不同配方或不同提取工艺得到的复方苦参醇提物, 并采用内标法对 43 批次样品中 35 个共有峰进行了定量分析, 采用 UPLC-MS/MS 对共有峰进行了定性分析。采用分光光度法测定了该 43 批次样品对金黄色葡萄球菌的抑制率, 然后利用 PSO-SVR 模型建立各成分与抗菌效果的组效关系模型。在该 PSO-SVR 模型的基础上, 采用平均影响值法识别出复方苦参洗剂中抑菌效果显著的成分。结果表明, 显著抑菌活性成分为异苦参酮、非洲防己碱、小檗碱、异茴芹内酯、苦参新醇 O、黄柏碱、木兰花碱、苦参酮和蛇床子素, 这些成分的抑菌作用均有文献报道。本文抑菌活性成分的识别结果可为今后抑菌药物的研发提供参考。

关键词: 复方苦参; 抗菌活性; 组效关系; 化学计量学; 活性成分识别

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 0493-2137(2025)02-0138-09

Identification of Antibacterial Components from Compound *Sophora Flavescens* Extract by Mean Impact Value Based on Support Vector Regression

Jiang Jianlan^{1,2}, Pang Xilun^{1,2}, Feng Jia^{1,2}, Zhao Tengfei²

(1. Key Laboratory of Systems Bioengineering of Ministry of Education, Tianjin University, Tianjin 300350, China;

2. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300350, China)

Abstract: The compound *Sophora flavescens* lotion for external use, which is composed of extracts from *Sophora flavescens*, *Fructus cnidii*, *Phellodendron amurense*, and *Cortex platycladi*, has been widely used in clinics because of its antibacterial properties. However, it is unclear which components have the most significant antibacterial activity. In this study, the composition-activity relationship between the chemical constituents of compound *Sophora flavescens* and its antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* was established using chemometrics, and significant antibacterial components were identified by mean impact value (MIV) method based on support vector regression (SVR). The fingerprint of the compound *Sophora flavescens* extract was established by HPLC-UV. A total of 43 batches of compound *Sophora flavescens* alcohol extracts obtained from different formulations or extraction processes were detected. A total of 35 common peaks in 43 batches of the samples were quantitatively analyzed by the internal standard method and qualitatively analyzed by UPLC-MS/MS. Additionally, the antibacterial rates of samples against *S. aureus* were determined by ultraviolet-visible spectrophotometry. The PSO-SVR model was used to establish the relationship between the components and antibacterial activities. Based on this model, the MIV method was used to

收稿日期: 2024-01-12; 修回日期: 2024-04-19.

作者简介: 蒋建兰 (1972—), 女, 博士, 研究员.

通信作者: 蒋建兰, jljiang@tju.edu.cn.

基金项目: “重大新药创制”科技重大专项资助项目(2018ZX09303-024).

Supported by the Major Scientific and Technological Project for “New Drug Creation and Development” (No. 2018ZX09303-024).

identify the components with significant antibacterial effects. The result showed that the components with significant antibacterial activities were isokurarinone, columbamine, berberine, isopimpinellin, kushenol O, phellodendrine, magnoflorine, kurarinone, and osthole. The bacteriostatic effects of these components have been reported in previous studies. The results of this study can provide a baseline for future development of antibacterial drugs.

Keywords: compound *Sophora flavescens*; antibacterial activity; composition-activity relationship; chemometrics; identification of active components

随着抗生素的滥用,人们越来越重视中药在抗菌领域的应用. 复方苦参是一种抑菌抗炎的外用洗剂,它由苦参、黄柏、蛇床子和白鲜皮 4 种中药组成. 苦参(*Sophora flavescens*)是豆科槐属植物苦参的干燥根,是中国和其他亚洲国家的传统植物药,广泛用于治疗痢疾、肝炎、哮喘和炎症性疾病^[1-3]. 近期研究表明,苦参具有良好的药理活性,尤其是抗菌作用^[4]. 黄柏(*Phellodendron amurense*)是芸香科植物黄树皮或黄檗的干燥树皮,是著名的东方民间抗菌药^[5-6]. 蛇床子(*Fructus cnidii*)是蛇床子的干果,是一种重要的药材,药理学研究表明蛇床子提取物具有抗菌活性^[7-8]. 白鲜皮(*Cortex platycladi*)是芸香科常见的中药^[9],其抗菌作用已被药理学实验证实^[10].

中药复方含有丰富的成分,具有整体和系统的作用^[11],有必要研究多组分与其活性之间的组效关系. 化学计量学使中药的研究超越了对单一成分的关注,它可以构建多组分和生物活性的数学模型^[12]. 组分和活性之间的关系是复杂的,因此常见的线性模型不能很好地反映真实的关系,非线性模型更能准确反映真实关系^[13]. 支持向量回归(support vector regression, SVR)等非线性回归算法可以提供比线性模型更准确的预测^[14]. SVR 是支持向量机(support vector machine, SVM)在回归问题上的扩展,是一种常用的建模方法. 基于结构风险最小化原理,支持向量机具有良好的泛化性能、全局最优性和较好的时间复杂度等优点. 即使对于小样本,SVM 也能得到最优的预测结果^[15]. 通过在支持向量机中引入一些参数,可以进行回归拟合,即支持向量回归. SVR 在系统建模中得到了广泛的应用^[16]. 其参数(惩罚系数 C 、不敏感系数 ϵ 和核函数的宽度参数 γ)对模型的精度和预测结果有显著影响,因此有必要对这些参数进行优化.

粒子群优化(particle swarm optimization, PSO)是一种全局搜索优化算法,其灵感来自于鱼群或鸟群的社会行为^[17]. PSO 的基本思想是通过群体中个体之间的合作和信息共享来寻找最优解. 它具有快速收敛和全局优化的特点^[18]. 它可以优化支持向量回归的参数,构建 PSO-SVR 训练网络. 平均影响值

(mean impact value, MIV)是 Dombi 等^[19]提出的一种评价自变量对因变量影响的方法,它被认为是评价变量相关性的最佳指标之一. MIV 结合 PSO-SVR 模型可以有效地度量变量的权重,并成功地识别出显著成分.

本研究选取 43 批样品中的 35 个峰作为共有峰,建立复方苦参的指纹图谱,并利用 PSO-SVR 模型和 MIV 法分析了复方苦参中 35 个共有组分与抑菌作用的相关性,并识别出具有显著抑菌作用的主要活性成分. 该模型与指纹图谱相结合,为进一步研究中药活性成分提供了参考.

1 实验材料与方法

1.1 实验材料和仪器

药材苦参、黄柏、蛇床子、白鲜皮,购自河北安国药源商贸有限公司,生产日期为 2017 年 8 月,经天津药物研究院张铁军研究员鉴定为正品药材;内标物(IS)大豆苷元($\geq 98\%$),购自上海源叶生物科技有限公司;乙腈(色谱级)和甲醇(色谱级),购自天津市康科德科技有限公司;冰醋酸(分析纯),购自天津市科密欧化学试剂有限公司;乙醇(分析纯),购自天津市元立化工有限公司;二甲基亚砜(分析纯),购自天津凯玛特化工科技有限公司;TSB 培养基,购自北京奥博星生物技术有限公司;营养肉汤培养基,购自杭州微生物试剂有限公司;金黄色葡萄球菌(ATCC 6538),购自上海复祥生物科技有限公司.

Waters e2695 高效液相色谱仪,配 2489 紫外检测器、Waters Symmetry C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱、Empower 3.0 软件,美国沃特世公司;Agilent 1290/6420 高效液相色谱三重四级杆质谱液质联用仪,Data Analysis 4.0 软件,美国 Agilent/Bruker 公司.

1.2 色谱条件和质谱条件

流动相组成为 0.1% (体积分数)冰醋酸水溶液(A)-乙腈(B),柱温 30 °C. 优化梯度洗脱顺序为: 0 ~ 50 min, 5% ~ 18% B; 50 ~ 80 min, 18% ~ 20% B; 80 ~ 100 min, 20% ~ 27% B; 100 ~ 150 min, 27% ~ 100% B. 流速为 0.6 mL/min,检测波长为 254 nm,进

样量为 10 μ L.

质谱使用电喷雾离子源(ESI),正离子模式,一级二级质谱同时扫描,扫描范围 100 m/z ~1 000 m/z ,毛细管电压为 3.5 kV;终板偏移电压为-0.5 kV;加热器温度为 180 $^{\circ}$ C;干燥气流速率为 6.0 L/min;雾化器压力为 0.12 MPa.

1.3 提取物的制备

如表 1 所示,均匀设计不同比例药材,准确称量后,用 70%乙醇 200 mL 浸泡 30 min,90 $^{\circ}$ C 回流提取 2 h 后过滤,将滤液在室温下以 9 500 r/min 离心 5 min,将上清液在减压下蒸发浓缩,直至 0.5 min 内损失小于 0.01 g,制备得 1~23 号样品.

表 1 1~23 号样品中 4 种药材的剂量比

Tab.1 Dosage ratios of four medicinal materials in samples No. 1—23

样品编号	苦参	黄柏	蛇床子	白鲜皮
1	3.2	12.6	2.4	1.7
2	7.1	7.4	5.1	0.4
3	7.1	5.9	1.2	5.8
4	1.1	4.7	7.7	6.5
5	12.1	3.6	2.2	2.1
6	3.0	2.7	10.6	3.7
7	0.8	1.8	3.5	13.9
8	3.2	1.1	14.7	1.0
9	5.1	0.3	5.1	9.5
10	13.8	2.4	1.0	2.8
11	9.4	6.5	3.5	0.6
12	8.2	3.0	0.8	8.0
13	6.3	5.9	5.3	2.5
14	5.5	2.0	12.1	0.4
15	4.8	10.7	0.9	3.6
16	4.1	4.7	5.6	5.6
17	3.5	0.7	12.5	3.3
18	3.0	8.2	0.3	8.5
19	2.4	3.1	4.7	9.8
20	1.9	15.0	1.9	1.2
21	1.5	6.2	11.2	1.1
22	0.6	10.6	3.9	4.9
23	0.2	4.3	11.4	4.1

分别准确称取苦参 4.9 g、黄柏 8.86 g、蛇床子 5.7 g、白鲜皮 0.54 g,响应面设计不同提取方法,如表 2 所示,其他操作与均匀设计不同比例药材样品制备方法相同,制得 24~43 号样品.

内标溶液的制备:将大豆苷元(50.0 mg)作为内标物准确称重,并在 25 mL 容量瓶中溶解于甲醇中.内标液 4 $^{\circ}$ C 保存备用.

取准确称量的提取物(100.0 mg)和 100 μ L 内标溶液,用 70%甲醇稀释于 5 mL 容量瓶中.用 0.22 μ m 膜过滤,4 $^{\circ}$ C 保存备用.

表 2 24~43 号样品的提取条件

Tab.2 Extraction conditions of samples No. 24—43

样品编号	乙醇体积分数/%	回流时间/h	提取温度/ $^{\circ}$ C
24	65.00	3.00	95.00
25	65.00	1.00	95.00
26	72.50	2.00	90.00
27	72.50	2.00	90.00
28	65.00	3.00	85.00
29	80.00	3.00	95.00
30	72.50	2.00	98.41
31	80.00	1.00	95.00
32	72.50	2.00	90.00
33	72.50	3.68	90.00
34	72.50	2.00	90.00
35	72.50	2.00	81.59
36	59.89	2.00	90.00
37	72.50	2.00	90.00
38	72.50	2.00	90.00
39	80.00	1.00	85.00
40	80.00	3.00	85.00
41	85.11	2.00	90.00
42	65.00	1.00	85.00
43	72.50	0.32	90.00

1.4 抑菌活性测定

在 TSB 培养基上接种金黄色葡萄球菌并活化.将选择的单个菌落接种于营养液中,37 $^{\circ}$ C 培养过夜.金黄色葡萄球菌用营养液培养基稀释至 1×10^6 CFU/mL.

采用紫外可见分光光度法测定细菌计数^[20].称取第 1.3 节中制备的复方苦参提取物,用 DMSO 对其进行溶解,制成质量浓度为 1.2 g/mL 的药液.实验组:取 0.5 mL 药液,用营养肉汤培养基将其稀释至药液质量浓度为 0.006 g/mL.在试管中加入 10 mL 稀释液,再加入 10 μ L 金黄色葡萄球菌液,混合均匀.空白对照组:在试管中加入 10 mL 营养肉汤培养基,再加入 10 μ L 金黄色葡萄球菌液,混合均匀.阴性对照组:取 0.5 mL DMSO 用营养肉汤稀释至 DMSO 含量为 0.005 mL/mL.在试管中加入 10 mL 稀释液和 10 μ L 金黄色葡萄球菌液,混合均匀.所有的实验都是平行重复进行的.实验组、空白对照组和阴性对照组在 37 $^{\circ}$ C 下同时振荡培养 9 h,在 650 nm 处检测吸光度(OD).抑制率(η)按式(1)计算.

$$\eta = \frac{OD_{neg} - OD_{exp}}{OD_{bla}} \times 100\% \quad (1)$$

式中 OD_{neg} 、 OD_{exp} 和 OD_{bla} 分别为阴性对照组、室验组和空白对照组的吸光度.

1.5 PSO-SVR 模型构建与 MIV 构建

1.5.1 数据处理优化

在数据收集过程中出现的一些随机误差和系统

误差可能会降低数据的准确性。此外,对于同一批次所有组分和不同批次相同组分,峰值面积会发生急剧变化,这可能会显著增加训练时间,甚至导致 SVR 模型无法收敛。因此,在建模前使用式(2)对实验数据进行平滑处理,并根据式(3)进行归一化,以减少负面影响。

$$x_{\text{smo},i} = \frac{1}{2m+1} \sum_{j=i-m}^{i+m} x_j \quad (2)$$

式中: $x_{\text{smo},i}$ 表示平滑处理后数据值; m 表示原始数据 x_i 两侧变量的个数。

$$x'_i = \frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}} \quad (3)$$

式中: x'_i 为归一化数据值; x_{\max} 和 x_{\min} 分别为每组自变量中的最大值和最小值。

1.5.2 PSO-SVR 建模与 MIV 算法

SVR 的性能取决于适当的参数。SVR 模型中有 3 个重要参数: 惩罚系数 C 、不敏感系数 ε 和核函数的宽度参数 γ 。惩罚系数 C 是预先给定的常数,用来控制拟合精度的惩罚程度,实现拟合精度与算法复杂度之间的权衡。不敏感系数 ε 的大小会改变模型的精度,拟合程度和泛化能力。对于核函数,选择径向基函数(RBF)。它径向对称,易于分析。如式(4)所示,本研究在建模过程中选择 ν -SVR,可以自动调节 ε 。

$$K(x, x_i) = \exp(-\gamma \|x - x_i\|^2) \quad (4)$$

式中 $\gamma > 0$ 。

为了获得预测能力较好的支持向量回归模型,采用粒子群优化(PSO)法对 C 和 ν 进行优化。PSO 法的基本原理是初始化一组随机粒子,通过各个粒子的移动,计算出每个粒子的适应度值和经历过的位置,不断迭代、比较,最终得到全局最优解,即得到了 SVR 的最优参数。在本研究中,迭代次数为 100 次,粒子总数为 20 个。在参数优化过程中,采用行列式系数(R)和均方根误差(E_{RMS})对 PSO-SVR 模型的精度进行评价,其计算式分别为

$$R = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (5)$$

$$E_{\text{RMS}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - y'_i)^2} \quad (6)$$

式中: y_i 为实验值; y'_i 为预测值。

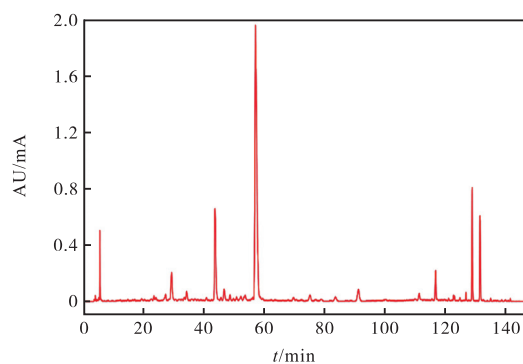
MIV 结合 PSO-SVR 模型的算法过程如下: 训练样本中的每个自变量在其原始值的基础上减少或增加 10%, 从而产生两个新的变量。通过将新变量引入

模型,得到了两个仿真结果。两个结果的差值为影响值,各变量差值的平均值为平均影响值(MIV)。MIV 的绝对值表示相关程度;绝对值越大,相关性越强^[21-22]。采用 Matlab R2013b 进行建模。

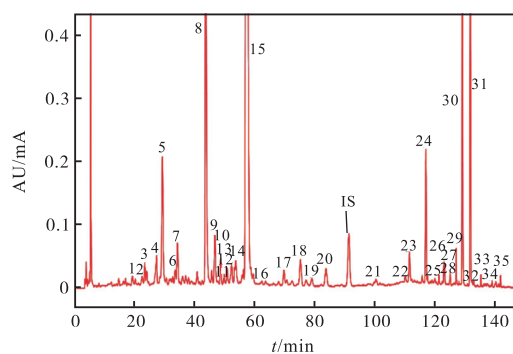
2 结果与讨论

2.1 HPLC 指纹图谱分析

为了达到理想的分离效果并获得尽可能多的信息,优化了色谱条件,包括色谱柱、流动相、洗脱程序、检测波长、柱温和流速。在优化的色谱条件下,建立复方苦参的 HPLC 指纹图谱,如图 1 所示。通过对各批次提取物色谱图的比较,共标定出 35 个共有峰。



(a) 原图



(b) 图(a)的局部放大

图 1 复方苦参提取物 HPLC-UV 指纹图谱

Fig.1 HPLC-UV fingerprint of compound *Sophora flavescens* extract

考察了该方法的精密度、稳定性和重现性,以共有峰的相对保留时间(relative retention time, RRT)和相对峰面积(relative peak area, RPA)为评价指标,以确保优化后的液相色谱分析方法的准确性和可靠性。每两次分析的间隔为 4 h,包括色谱柱平衡时间,采用相同的实验方法测定精密度和稳定性。同份样品溶液连续进样 6 次,分别为 0 h、4 h、8 h、12 h、16 h、20 h。通过注射同一提取物平行制备 6 份样品溶液进行重现性实验。从表 3 可以看出,相对保留时

间的相对标准偏差均在 1% 以内, 相对峰面积的相对标准偏差均在 5% 以内, 说明了该分析方法的有效性.

表 3 复方苦参提取物指纹图谱方法学考察结果

Tab.3 Validation results of the fingerprint method of compound *Sophora flavescens* extract

评价指标	RSD/%	
	RRT	RPA
精密度和稳定性	0.090 ~ 0.370	1.078 ~ 3.888
重现性	0.112 ~ 0.495	1.296 ~ 4.882

采用内标法对 35 个共有峰进行相对定量分析,

表 4 复方苦参提取物指纹图谱 35 个共有峰的质谱分析结果

Tab.4 Results of mass spectrophotometry analysis of 35 common peaks in the fingerprint of compound *Sophora flavescens* extract

峰号	保留时间/min	准分子离子峰 m/z	特征碎片离子	加合离子	分子式	化合物鉴别	来源	参考文献
1	17.8	342.171 9	192.103 1, 174.075 1	[M] ⁺	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄	黄柏碱 phellodendrine	黄柏	[23]
2	21.4	342.145 4	192.101 1, 177.079 7	[M + H] ⁺	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	四氢药根碱 tetrahydrojatrorrhizine	黄柏	[24]
3	24.7	342.170 1	265.086 6, 237.089 1	[M] ⁺	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄	木兰碱 magnoflorine	黄柏	[24]
4	27.4	161.061 0	—	—	—	—	—	—
5	29.4	314.175 1	269.121 3, 137.058 4	[M + H] ⁺	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	evoeuropine	黄柏	[25]
6	33.8	177.054 2	—	—	—	—	—	—
7	34.5	356.184 2	265.084 6, 208.089 9	[M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	四氢巴马汀 tetrahydropalmatine	黄柏	[24]
8	42.9	352.115 3	336.083 3, 322.070 4, 308.090 3, 294.080 6	[M] ⁺	C ₂₁ H ₂₂ NO ₄	巴马汀 palmatine	黄柏	[23]
9	46.7	177.055 2	—	—	—	—	—	—
10	49.5	227.073 0	131.049 2	[M + H] ⁺	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O	N-甲基金雀花碱 N-methylcytisine	苦参	[25]
11	50.9	338.139 7	308.092 4, 294.106 6	[M] ⁺	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	非洲防己碱 columbamine	黄柏	[24]
12	52.1	338.138 8	322.106 4, 308.092 3, 294.110 5	[M] ⁺	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	药根碱 jatrorrhizine	黄柏	[24]
13	54.6	354.168 7	190.087 7	[M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	异黄腐醇 isoxanthohumol	苦参	[26]
14	57.9	336.125 0	278.080 2, 191.072 1	[M + H] ⁺	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	表小檗碱 epiberberine	黄柏	[23]
15	59.7	336.124 2	320.092 0, 306.071 1	[M] ⁺	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	小檗碱 berberine	黄柏	[23]
16	65.3	340.260 7	278.081 6, 209.164 5	[M + H] ⁺	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	四氢小檗碱 tetrahydroberberine	黄柏	[24]
17	72.7	609.181 4	301.070 3	[M + H] ⁺	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	芦丁 rutin	蛇床子, 白鲜皮	[27]
18	75.2	396.803 3	322.248 7	—	—	—	—	—
19	78.6	563.176 0	269.081 3	[M + H] ⁺	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₃	苦参新醇 O kushenol O	苦参	[28]
20	87.8	277.106 0	151.042 5	[M + CH ₃] ⁺	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂	黄叶槐碱 maminine	苦参	[25]
21	100.6	275.089 6	245.040 7	[M + CH ₃] ⁺	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	野靛叶素 baptifoline	苦参	[25]
22	111.1	243.101 0	185.057 5	[M + H] ⁺	C ₁₂ H ₁₈ O ₅	白鲜酯 A dasycarpusenester A	白鲜皮	[25]
23	112.4	217.049 7	202.027 0, 174.031 5	[M + H] ⁺	C ₁₂ H ₈ O ₄	佛手柑内酯 bergapten	蛇床子	[29]
24	117.5	247.060 4	189.017 8, 217.213 1, 161.023 2	[M + H] ⁺	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	异茵芹内酯 isopimpinellin	蛇床子	[30]
25	121.5	455.206 4	179.033 5	[M + H] ⁺	C ₂₆ H ₃₀ O ₇	苦参醇 I kurarinol I	苦参	[31]
26	123.1	303.155 5	151.036 6, 179.031 1	[M + H] ⁺	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	槲皮素 quercetin	苦参, 白鲜皮	[27]
27	125.3	439.210 4	197.045 8, 179.035 0	[M + H] ⁺	C ₂₆ H ₃₀ O ₆	苦参酮 kurarinone	苦参	[26]
28	127.3	439.177 0	327.051 7, 315.049 0	[M + H] ⁺	C ₂₆ H ₃₀ O ₆	异苦参酮 isokurarinone	苦参	[26]
29	128.7	425.199 3	183.029 5, 165.081 7	[M + H] ⁺	C ₂₅ H ₂₈ O ₆	降苦参酮 nokurarinone	蛇床子	[32]
30	129.6	271.097 0	203.032 6, 175.039 7, 147.044 7	[M + H] ⁺	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	欧前胡素 imperatorin	蛇床子	[29]
31	132.0	489.224 3	245.116 4, 189.054 1, 131.049 4	[M + H] ⁺	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	蛇床子素 osthole	蛇床子	[33]
32	133.4	439.206 5	165.017 4, 315.067 6	[M + H] ⁺	C ₂₆ H ₃₀ O ₆	异苦参啉 isokurarinidin	苦参	[26]
33	135.4	439.211 8	315.086 2, 303.159 4, 179.034 9	[M + H] ⁺	C ₂₆ H ₃₀ O ₆	苦参啉 kurarinidin	苦参	[26]
34	138.8	277.213 1	245.116 8, 149.023 9	[M + CH ₃] ⁺	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂	leontalbinine N-oxide	苦参	[25]
35	142.2	217.143 0	174.037 5	[M + H] ⁺	C ₁₂ H ₈ O ₄	花椒毒素 xanthotoxin	蛇床子	[34]

计算各共有峰的相对峰面积(RPA), 结果表明, 同一组分在不同批次样品中的含量差异很大. 以 15 号共有峰为例, RPA 最大值为 16.300, 最小值为 0.226. 这些明显的差异可以为后面的组效关系建模提供可靠的数据基础.

采用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS, 通过与已发表文献中的分子离子和特征片段离子的比较, 识别出 35 个共有峰. 保留时间、 m/z 、特征碎片离子、加合离子、分子式、化合物鉴别、来源等分析结果如表4所示.

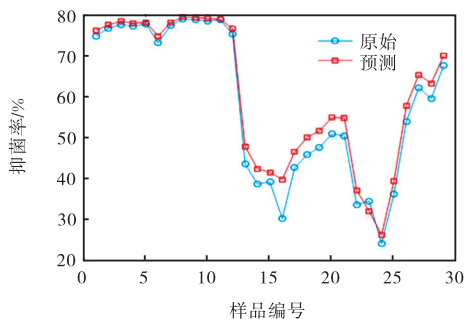
2.2 抗菌活性分析

对 43 批提取物的抑菌率进行测试, 结果见表 5. 优化比例后的样品具有良好的抑菌活性. 各批次样品的抑菌效果差异显著, 抑菌效果范围为 0.10% ~ 89.80%. 说明不同批次提取物对金黄色葡萄球菌的抑制率存在明显差异. 因此, 实验数据结果可应用于组效关系建模.

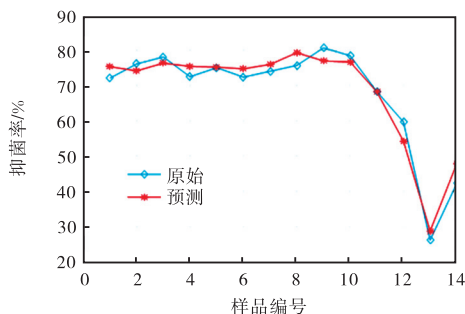
表 5 43 批复方苦参提取物的抑菌率

Tab.5 Antibacterial rates of 43 batches of compound *Sophora flavescens* extracts

样品编号	抑菌率/%	样品编号	抑菌率/%	样品编号	抑菌率/%
1	67.30 ± 0.21	16	57.40 ± 0.51	31	67.30 ± 0.81
2	77.10 ± 0.84	17	0.10 ± 0.01	32	87.10 ± 0.21
3	33.40 ± 0.97	18	24.30 ± 0.25	33	64.50 ± 0.45
4	61.70 ± 0.23	19	47.60 ± 0.65	34	62.00 ± 0.73
5	70.20 ± 0.11	20	62.80 ± 0.47	35	83.40 ± 0.76
6	26.10 ± 1.02	21	82.20 ± 0.35	36	78.30 ± 0.22
7	19.90 ± 0.73	22	81.50 ± 0.56	37	74.20 ± 0.57
8	2.20 ± 0.03	23	67.30 ± 0.64	38	89.80 ± 0.34
9	1.30 ± 0.24	24	81.10 ± 0.36	39	59.20 ± 0.22
10	81.40 ± 0.31	25	80.30 ± 0.64	40	85.10 ± 0.91
11	66.70 ± 0.25	26	82.10 ± 0.44	41	73.90 ± 0.46
12	15.70 ± 0.44	27	80.00 ± 1.11	42	82.40 ± 0.89
13	86.20 ± 0.15	28	79.80 ± 0.78	43	72.10 ± 0.47
14	3.10 ± 0.26	29	70.40 ± 0.97		
15	65.30 ± 0.42	30	80.90 ± 0.34		



(a) 训练组



(b) 测试组

图 2 PSO-SVR 模型的回归预测曲线

Fig.2 Regression prediction curves of the PSO-SVR model

在优化过程中, 采用 R 值和均方根误差对模型进行评价. 该模型训练组和测试组的相关系数 R 分别为 0.9945、0.9797, 均方根误差分别为 0.0322、

2.3 PSO-SVR 参数优化结果

选取 43 批样品中 35 个共有峰的相对峰面积作为自变量, 43 批样品的抑菌率作为因变量, 构建 PSO-SVR 模型. 在建模过程中, 得到了参数为 C 和 γ 的优化 SVR 模型, 其中最优 $C = 2.903$, 最优 $\gamma = 0.1$. PSO-SVR 模型的回归预测曲线如图 2 所示, 可以看出预测抑菌率与实际抑菌率吻合较好.

0.0308. 结果表明, 该模型具有较高的精度. 因此, 本实验可采用 PSO-SVR 模型构建复方苦参的抑菌率与各成分之间的关系.

2.4 抑菌成分的识别

根据绝对 MIV 值对 35 个共有峰进行排序, 如表 6 所示. MIV 绝对值越高, 该成分对抗菌活性的贡献越大. 最终, 前 9 个抗菌活性成分(峰 28、11、15、24、19、1、3、27、31)被认为是潜在的具有明显活性抗菌成分. 排在前 9 位的化合物分别是异苦参酮、非洲防己碱、小檗碱、异茴芹内酯、苦参新醇 O、黄柏碱、木兰花碱、苦参酮和蛇床子素, 这 9 种化合物已被文献报道具有抗菌活性.

异苦参酮、苦参酮和苦参新醇 O 均是从苦参中分离得到的黄酮类化合物. 异苦参酮和苦参酮对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有比较强的抑制作用^[35]. 异茴芹内酯属于香豆素类, 既往研究证实其对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有抑制作用^[36]. 非洲防己碱、小檗碱、黄柏碱和木兰花碱是黄柏皮中的生物碱. 小檗碱是黄连中志贺氏痢疾杆菌的主要抑菌成分, 非洲防己碱对痢疾杆菌也有一定的抑制作用^[37-38]. 此外, 有报道称木兰花碱不仅能抑制白色念珠菌毒力所需的 α -葡萄糖苷酶活性, 还能减少白色念珠菌生物膜的形成. 本研究识别出一些相对含量低

而抑菌活性高的成分(如峰 11, 非洲防己碱), 说明本研究可以有效识别出复方苦参中的主要抑菌成分, 不会忽略某些抑菌活性高但相对含量低的化学成分. 如果识别出抑菌活性高的未知化合物, 可以结合制备色谱分离和核磁共振检测等方法进行追踪筛选发现新药成分.

表 6 各共有峰对应的 MIV 绝对值及其排序

Tab.6 Absolute MIV and rank of each common peak

峰号	MIV 绝对值	排序	峰号	MIV 绝对值	排序
1	0.011 5	6	19	0.012 3	5
2	0.001 3	31	20	0.002 1	26
3	0.009 3	7	21	0.001 6	30
4	0.000 3	35	22	0.004 5	17
5	0.001 2	32	23	0.004 8	14
6	0.002 2	25	24	0.013 8	4
7	0.003 5	22	25	0.006 5	11
8	0.005 7	12	26	0.002 0	28
9	0.004 0	19	27	0.009 0	8
10	0.000 8	34	28	0.020 0	1
11	0.016 4	2	29	0.003 7	21
12	0.004 8	14	30	0.005 3	13
13	0.004 6	16	31	0.008 9	9
14	0.002 9	23	32	0.003 8	20
14	0.015 8	3	33	0.006 6	10
16	0.004 1	18	34	0.002 4	24
17	0.002 1	26	35	0.002 0	28
18	0.001 1	33			

3 结 语

本研究通过 PSO-SVR 模型分析了复方苦参中常见成分及其抑菌活性, 识别出具有明显抑菌活性成分为异苦参酮、非洲防己碱、小檗碱、异茴芹内酯、苦参新醇 O、黄柏碱、木兰花碱、苦参酮和蛇床子素. 该方法为中药生物活性成分的识别提供了一种有效的途径, 并为进一步研究抗菌药物的早期筛选和发现提供了参考.

参考文献:

- [1] Zhang R X, Hu S, Chen X, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the simultaneous analysis of matrine alkaloids in traditional Chinese medicine[J]. Journal of Chromatographic Science, 2016, 4(9): 1687-1693.
- [2] Zhong J L, Liu Z H, Zhou X X, et al. Synergic anti-pruritus mechanisms of action for the radix sophorae flavescens and fructus cnidii herbal pair[J]. Molecules, 2017, 22(9): 1465.
- [3] Weng Z B, Zeng F, Zhu Z H, et al. Comparative analysis of sixteen flavonoids from different parts of *Sophora flavescens* Ait. by ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 156: 214-220.
- [4] Weng Z B, Guo S, Qian D W, et al. *Sophora flavescens* seed as a promising high potential by-product: Phytochemical characterization and bioactivity evaluation [J]. Industrial Crops and Products, 2017, 109: 19-26.
- [5] Chen M L, Xian Y F, Ip Siupo, et al. Chemical and biological differentiation of cortex phellodendri chinensis and cortex phellodendri amurensis[J]. Planta Medica, 2010, 76(14): 1530-1535.
- [6] Li X H, Zhang W J, Qi H Y, et al. A new phenolic lactone from the bark of phellodendron chinense[J]. Chinese Chemical Letters, 2009, 20(8): 958-960.
- [7] Matsuda H, Tomohiro N, Ido Y, et al. Anti-allergic effects of cnidii monnieri fructus (dried fruits of *Cnidium monnieri*) and its major component, osthol[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2002, 25(6): 809-812.
- [8] Basnet P, Yasuda I, Kumagai N, et al. Inhibition of itch-scratch response by fruits of *Cnidium monnieri* in mice[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2001, 24(9): 1012-1015.
- [9] Yuan Y N, Zhou R, Fu J, et al. First report of dodder (*Cuscuta japonica*) on *Dictamnus dasycarpus* in China[J]. Plant Disease, 2015, 99(9): 1285-1285.
- [10] Zhai W Y, Liu J H, Liu Q, et al. Rapid identification and global characterization of multiple constituents from the essential oil of cortex dictamni based on GC-MS[J]. Journal of Separation Science, 2017, 40(12): 2671-2681.
- [11] Qu C, Pu Z J, Zhou G S, et al. Comparative analysis of main bio-active components in the herb pair Danshen-Honghua and its single herbs by ultra-high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2017, 40(17): 3392-3401.
- [12] Wang Y, Wang X W, Cheng Y Y. A computational approach to botanical drug design by modeling quantita-

- tive composition-activity relationship[J]. *Chemical Biology & Drug Design*, 2010, 68(3): 166-172.
- [13] Jiang J L, Zhang H, Zhou P P, et al. Composition-activity relationship modeling to predict the antitumor activity for quality control of curcuminoids from *Curcuma Longa* L. (turmeric) [J]. *Analytical Methods*, 2013, 5(3): 641-647.
- [14] Yu B F, Ji H B. Near-infrared calibration transfer via support vector machine and transfer learning[J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(6): 2714-2725.
- [15] Fan H L, Xuan J B, Zhang K X, et al. Anticancer component identification from the extract of *Dysosma versipellis* and *Glycyrrhiza uralensis* based on support vector regression and mean impact value[J]. *Analytical Methods*, 2018, 10(3): 371-380.
- [16] Jia J W, Fu H B, Hou Z Y, et al. Calibration curve and support vector regression methods applied for quantification of cement raw meal using laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Plasma Science & Technology*, 2019, 21(3): 27-34.
- [17] Wu Q H, Song T, Liu H M, et al. Particle swarm optimization algorithm based on parameter improvements[J]. *Journal of Computational Methods in Sciences and Engineering*, 2017, 17(3): 557-568.
- [18] Akande K O, Owolabi T O, Olatunji S O, et al. A hybrid particle swarm optimization and support vector regression model for modelling permeability prediction of hydrocarbon reservoir[J]. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 2016, 150: 43-53.
- [19] Dombi G W, Nandi P, Saxe J M, et al. Prediction of rib fracture injury outcome by an artificial neural network[J]. *The Journal of Trauma*, 1995, 39(5): 915-921.
- [20] 董自艳, 戴 翠, 马仕洪, 等. 紫外-可见分光光度法快速确定细菌菌液的浓度[J]. *中国药品标准*, 2014, 15(2): 120-121.
- Dong Ziyang, Dai Hui, Ma Shihong, et al. Bacterial counts by UV-vis spectrophotometry[J]. *Drug Standards of China*, 2014, 15(2): 120-121 (in Chinese).
- [21] Zhang X D, Chen L, Sun Y B, et al. Determination of zinc oxide content of mineral medicine calamine using near-infrared spectroscopy based on MIV and BP-ANN algorithm[J]. *Spectrochimica Acta Part A—Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 193: 133-140.
- [22] Zeng J, Zhang C, Xie N, et al. A hybrid model for short-term wind power forecasting based on MIV, TVERSKY model and GA-BP neural network[J]. *MATEC Web of Conferences*, 2016, 70: 10002.
- [23] Hu Y M, Su G H, Sze S C, et al. Quality assessment of cortex phellodendri by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Biomedical Chromatography*, 2010, 24(4): 438-453.
- [24] Xian X Y, Sun B H, Ye X T, et al. Identification and analysis of alkaloids in cortex *Phellodendron amurense* by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry coupled with photodiode array detection[J]. *Journal of Separation Science*, 2014, 37(13): 1533-1545.
- [25] Chang J B, Lane M E, Yang M, et al. A hexa-herbal TCM decoction used to treat skin inflammation: An LC-MS-based phytochemical analysis[J]. *Planta Medica*, 2016, 82(11/12): 1134-1141.
- [26] Zhang Y F, Zhang P, Cheng Y Y. Structural characterization of isoprenylated flavonoids from kushen by electrospray ionization multistage tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2008, 43(10): 1421-1431.
- [27] 马婷婷, 王 毅, 陈晓倩, 等. 液相色谱-质谱联用导向的黄葵胶囊肾保护活性物质研究[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2017, 46(1): 66-73.
- Ma Tingting, Wang Yi, Chen Xiaoqian, et al. LC/MS guided approach to discovering nephroprotective substances from Huangkuai capsule[J]. *Journal of Zhejiang University (Medical Sciences)*, 2017, 46(1): 66-73 (in Chinese).
- [28] 赵琴琴, 张玉峰, 范晓辉. 高效液相色谱多级质谱联用法同时鉴定苦参中的两大类活性成分[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(6): 762-769.
- Zhao Qinqin, Zhang Yufeng, Fan Xiaohui. Simultaneous characterization of two types of major active components in Kushen by high performance liquid chromatography coupled to multi-stage mass spectrometry[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36(6): 762-769 (in Chinese).
- [29] 李坤平, 高崇凯, 李卫民. UPLC/ESI-TOF-MS/MS 分

- 析蛇床子提取物中香豆素类化合物[J]. 中成药, 2009, 31(4): 584-587.
- Li Kunping, Gao Chongkai, Li Weimin. Analysis of coumarins in extract of *Cnidium monnieri* by ultra-performance liquid chromatographic coupled electrospray ionization time of flight mass/mass spectrometry[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2009, 31(4): 584-587 (in Chinese).
- [30] 刘江琴, 庄海旗, 莫丽儿, 等. 蛇床子香豆素的薄层分离-直接进样-质谱鉴定[J]. 分析测试学报, 1999, 18(4): 26-28.
- Liu Jiangqin, Zhuang Haiqi, Mo Li'er, et al. TLC-MS identification of coumarins from extracts of *Cnidium Monnieri*(L.) cusson[J]. Journal of Instrumental Analysis, 1999, 18(4): 26-28 (in Chinese).
- [31] Zhang L, Xu L, Xiao S S, et al. Characterization of flavonoids in the extract of *Sophora flavescens* ait by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector and electrospray ionization mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 44(5): 1019-1028.
- [32] 李琳, 海丽娜, 秦文杰, 等. 苦参中黄酮类化合物的液质联用研究[J]. 中医研究, 2014, 27(9): 69-71.
- Li Lin, Hai Lina, Qin Wenjie, et al. Study on flavonoids of *sophora flavescens* by LC-MS[J]. Traditional Chinese Medicinal Research, 2014, 27(9): 69-71 (in Chinese).
- [33] Li J, Ma B, Zhang Q, et al. Simultaneous determination of osthole, bergapten and isopimpinellin in rat plasma and tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2014, 970: 77-85.
- [34] 江英桥. 蛇床子中香豆素类成分的 HPLC-ESI-MS 分析[J]. 中药材, 2006, 29(10): 1033-1035.
- Jiang Yingqiao. Analysis of coumarins in fructus *cnidii* by HPLC-ESI-MS[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2006, 29(10): 1033-1035 (in Chinese).
- [35] Oh I, Yang W Y, Chung S C, et al. In vitro sortase a inhibitory and antimicrobial activity of flavonoids isolated from the roots of *Sophora flavescens*[J]. Archives of Pharmacal Research, 2011, 34(2): 217-222.
- [36] Zuo G Y, Wang C J, Han J, et al. Synergism of coumarins from the Chinese drug *Zanthoxylum nitidum* with antibacterial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. Phytomedicine, 2016, 23(14): 1814-1820.
- [37] Yan D, Li J X, Xiong Y, et al. Promotion of quality standard of herbal medicine by constituent removing and adding[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 3668.
- [38] Kim J, Bao T H Q, Shin Y K, et al. Antifungal activity of magnoflorine against *Candida* strains[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2018, 34(11): 167.

(责任编辑: 田 军)