

本文引用: 李文姣, 高湘婷, 李海英, 潘雪, 贺福元. 鱼腥草挥发性成分“印迹模板”特征研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(7): 1203-1212.

鱼腥草挥发性成分“印迹模板”特征研究

李文姣^{1,2}, 高湘婷^{1,2}, 李海英^{1,2}, 潘雪^{1,2*}, 贺福元^{1,2*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208; 2. 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 湖南长沙 410208

[摘要] **目的** 通过对 144 批不同产地、不同采收时间鱼腥草根部分挥发性成分“印迹模板”的定量分析, 阐明其特征, 为中药印迹质量评价提供理论参考和实验依据。 **方法** 采集全国不同产地不同采收期的鱼腥草, 用水蒸气蒸馏法获取根部挥发油, 通过 GC-MS 法获得指纹图谱并建立相应的成分数据库。对各批鱼腥草挥发性成分“印迹模板”进行定量表征, 获得其分子连接性指数 (molecular connectivity index, MCI)、物芯指数 (core index, CI)、总量统计矩参数、信息熵、信息量等参数。 **结果** 各批样品化学成分种类、数目、含量有较大差异, 各批样品间峰面积、信息量变化很大 (RSD 值分别为 68.67%、79.72%), 峰数变化较大 (RSD 值为 22.03%); 而信息熵、总量统计一阶矩、物芯指数 (Xvp 零阶、Xvp 一阶、Xvp 二阶) 的变化不大 (RSD 值分别为 16.17%、13.32%、5.46%、6.38%、6.03%)。 **结论** 鱼腥草生长过程中以“印迹模板”为中心修饰而成的具体成分及含量是随时随域变化, 整体表现为“变”与“不变”规律, 其印迹性质量评价可为中药更全面准确的质量控制提供新方法。

[关键词] 鱼腥草; 挥发油; 指纹图谱; 物芯指数; 总量统计矩; 信息熵; 信息量; 印迹模板

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.07.008

Characteristics of the "imprint template" of the volatile components of *Houttuynia cordate* Thunb.

LI Wenjiao^{1,2}, GAO Xiangting^{1,2}, LI Haiying^{1,2}, PAN Xue^{1,2*}, HE Fuyuan^{1,2*}

1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan Key Laboratory of Druggability and Preparation for Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To elucidate the characteristics of the "imprint template" of volatile components from 144 batches of *Houttuynia cordate* Thunb. roots from different origins and harvesting time through quantitative analysis, providing an theoretical reference and experimental evidence for the quality evaluation of Chinese medicine imprint. **Methods** *Houttuynia cordate* Thunb. from various regions and harvest periods across the country were collected. The volatile oil from the roots was extracted through steam distillation. GC-MS was used to acquire their fingerprint chromatograms and establish a corresponding component database. The "imprint template" of volatile components from each batch was quantitatively characterized to obtain parameters such as molecular connectivity index (MCI), core index (CI), total statistical moment parameters, information entropy, and amount of information. **Results** Significant differences were observed in the types, numbers, and content of chemical components among different batches. Variations in peak area and information content among the batches were considerable (with RSD values of 68.67% and 79.72%, respectively), and the number of peak also varied significantly (with RSD value of 22.03%). However, information entropy, total statistical first-order moment, and core index (Xvp zeroth-order, Xvp first-order, Xvp second-order) showed minimal changes (with RSD values of 16.17%, 13.32%, 5.46%, 6.38%, and 6.03%, respectively). **Conclusion** The growth process of raw Chinese medicines centers around the "imprint template", which modifies specific individual components with certain content, and the types and

[收稿日期] 2023-11-29

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (82274215); 湖南省自然科学基金项目 (2021JJ30509); 湖南省“国内一流培育学科”药学开放基金项目 (2020YX13); 湖南中医药大学研究生创新项目 (2022CX13)。

[通信作者] * 贺福元, 男, 教授, 博士研究生导师, E-mail: pharmsarking@163.com; 潘雪, 女, 博士, 讲师, E-mail: 405465029@qq.com。

content of those components vary with time and field. The overall performance exhibits patterns of "changed" and "unchanged". The evaluation of imprint quality can offer a novel method for more comprehensive and precise quality control of Chinese medicines.

[**Keywords**] *Houttuynia cordata* Thunb.; volatile oil; fingerprint chromatogram; core index; total statistical moment; information entropy; amount of information; imprint template

鱼腥草(*Houttuynia cordata* Thunb.)来源于三白草科蕺菜属植物蕺菜,全草入药,味辛,性微寒,具有清热解毒、消肿排脓、利尿通淋等功效。鱼腥草挥发油是其主要的活性组分之一,主要存在于根部,现代药理实验证明,鱼腥草挥发性物质具有抗菌、抗病毒、调节机体免疫力、抗炎、抗肿瘤等作用^[1-2]。鱼腥草挥发油成分较复杂,受不同产地^[3]、不同采收季节^[4-5]、不同炮制^[6]方法等因素影响,化学成分种类和含量的差异较大。研究发现,不同产地鱼腥草挥发油成分差异主要体现在物质的相对含量上^[3],各月份挥发油产率和化学成分也有很大差异,研究者潘雪等^[7]通过化学计量法找出了不同炮制方法的鱼腥草挥发油 11 个差异成分。这些研究均表明,中药化学成分是随时随域随法变化的,除人为因素外,中药成分主要受遗传因素和环境因素的双重控制^[7-9]。中药成分的动态性变化规律的揭示是进行中药质量控制研究的前提,探索成分动态变化中“变与不变”的规律是解决问题的关键。

中药是以多成分、多靶点作用于生物体,以单成分或多成分进行质量控制有一定的局限性,目前普遍认可物质基础联合生物效价检测^[10]。团队一直致力于中药超分子研究,中药超分子“印迹模板”既是其分子结构的空间活性结构,也是活性原子团的空间排列点阵,与药物的理化性质和生物效应密切相关^[11-13]。单个化合物分子结构及空间点阵的量化描述可用分子连接性指数(molecular connectivity index, MCI)量化表征,对于多成分体系的中药则可用物芯指数(core index, CI)来表征,它是中药所含成分的 MCI 与其相对含量的几何平均,是中药成分空间拓扑结构的一种精确的数学描述,可用于中药质量研究^[14-15]。同时,中药“印迹模板”特征还可以通过色谱行为来表征,相似的空间活性结构即相似“印迹模板”具有相似或相同的色谱印迹行为;而中药指纹图谱总量统计矩参数可反应中药化学成分整体的多样性及变化规律,信息熵表征中药所携带成分的信息单元,信息量表示指纹图谱的信息量大小;以这些参数表征中药成分“印迹模板”特征^[16-18],从中寻找“变与不变”的规律进行质量控制研究^[19-20]。

因此,本文在中药超分子“印迹模板”理论及实验的基础上^[21-22],以鱼腥草为模型药物,采集全国 10

个主产地、5—10 月不同采收期的 144 批鱼腥草,取其富含油部位——根部的挥发油,对其进行 GC/MS 分析;通过对各批次挥发性成分 MCI 及药材的 CI 值、指纹图谱总量统计矩参数、信息熵和信息量的统计分析,对比并量化表征鱼腥草挥发性成分“印迹模板”特征,为发掘鱼腥草动态规律及其质量控制奠定基础^[23-24]。

1 材料

1.1 药材来源

鱼腥草鲜草于 5—10 月采自全国 10 产地,经湖南中医药大学石继连教授鉴定为三白草科植物蕺菜 *Houttuynia cordata* 的新鲜全草,分离其根部,共获得 144 批样本,包括湖南(16 批,HN1~HN16)、贵州(12 批,GZ1~GZ12)、广东(16 批,GD1~GD16)、广西(12 批,GX1~GX12)、浙江(13 批,ZJ1~ZJ13)、安徽(12 批,AH1~AH12)、江苏(14 批,JS1~JS14)、江西(10 批,JX1~JX10)、四川(17 批,SC1~SC17)、云南(22 批,YN1~YN22)。

1.2 主要仪器及试剂

气相色谱质谱联用仪(GCMS-QP2010 型,日本岛津公司);超纯水制水机(PINE-TREE 型,北京湘源源科技有限公司);调温电热套(DZTW 型,北京市永光明医疗仪器有限公司);电子天平(CP-114 型,奥豪斯仪器上海有限公司);移液枪(上海大龙医疗设备有限公司);正己烷(批号:K46764991524,色谱纯,德国默克股份有限公司)。

2 方法

2.1 样品的制备

取新鲜鱼腥草根,剪碎至约 2 cm 的小段,置于圆底烧瓶中,采用水蒸气蒸馏法提取约 4 h,取挥发油提取器中上层油液,加正己烷定量稀释,用无水 Na_2SO_4 干燥后经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,得到供 GC-MS 分析的挥发油样品。

2.2 色谱条件

2.2.1 色谱条件 色谱柱 DB-5(60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm , Agilent);进样口温度 250 $^\circ\text{C}$,柱温采取程序升温:起始温度 80 $^\circ\text{C}$,保持 2 min;以 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 125 $^\circ\text{C}$ 后保持 5 min;以 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 165 $^\circ\text{C}$

后保持 10 min;以 2 °C/min 升至 185 °C后;以 10 °C/min 升至 240 °C,保持 20 min。分流比为 10:1,进样量 1 μL。

2.2.2 质谱条件 接口温度为 280 °C;离子源温度为 250 °C;电离方式为电子轰击离子源(EI);电子轰击能量为 70 eV;质量扫描范围是 35~500 m/z;数据采集扫描模式为全扫描。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度实验 取同一挥发油样品,按照 2.2 项下条件连续进样 6 次,以甲基正壬酮峰为参照峰,计算参照峰相对保留时间及相对面积,RSD 分别为 2.34%和 2.78%,均小于 5%,表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性实验 取同一挥发油样品,分别在 0、2、4、6、12、24 h 按 2.2 项条件下进行测定,以甲基正壬酮峰为参照峰,共有指纹峰的相对保留时间和参照峰面积的 RSD 分别为 2.86%和 3.24%,均小于 5%,表明供试品 24 h 内稳定。

2.3.3 重复性考察 取同一批次鲜鱼腥草根 5 份,按 2.1 项制备样品,按 2.2.1 项条件下进样测定,共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 3.59%和 4.67%,均小于 5%,说明该方法重复性良好。

2.4 “印迹模板”表征方法

2.4.1 MCI 和 CI 的计算

(1)MCI:是根据分子中原子的连接方式经计算而得的数值,经键的加权计数可以定量描述分子中原子的组成和排列,因而可对分子结构作出定量判断。根据分子的连接情况和分枝的多少计算分子构型的常数,则分子连接性指数 ${}^m\chi$ 通式可表示为:

$${}^m\chi = \sum_{j=1}^n \prod_{i=1}^{m+1} (\delta_i)_j^{-1/2} \quad (1)$$

式中, m 代表不同的阶项, δ 表示构成键的原子的点价, i 表示分子中依次排列的各原子(氢原子除外), j 为 m 阶项下 $m+1$ 原子(氢原子除外)的组合形式, n 为 m 阶项下 $m+1$ 原子(氢原子除外)的所有组合形式。根据分子不同阶的类型,计算项目可分为零阶项 ${}^0\chi$ 、一阶项 ${}^1\chi$ 、二阶项 ${}^2\chi$,以及高阶项 ${}^m\chi$,最高项取决于化合物中非氢原子的个数。分别用 X_p 、 X_{vp} 、 X_c 、 X_{vc} 、 X_{pc} 、 X_{vpc} 、 X_{ch} 、 X_{vch} 代表化合物路径、点价路径、簇、点价簇、路径簇、点价路径簇、环、点价环不同连接形式的 MCI。

(2)CI:分子连接性指数是对于单一化合物而言的,对于多成分体系的中药则可用 CI 表征。

$$\overline{{}^m\chi} = \sum_{l=1}^p \prod ({}^m\chi_l \cdot x_l) \quad (2)$$

式中, ${}^m\chi_l$ 表示 l 化合物的 m 阶项 MCI, x_l 表示 l 化合物的摩尔分数, p 为中药中化合物总数。因此,根据分子不同阶子图类型,可得到中药的各阶项物芯指数。从式中可知,中药的物芯指数即是其所含成分的 MCI 与其对应摩尔分数的几何平均,是中药成分群空间拓扑结构的一种精确的数学描述^[24]。

2.4.2 总量统计矩参数、信息熵和信息量计算 由指纹图谱计算每一批样品的总量统计矩参数,其中总量统计零阶矩和一阶矩、信息熵和信息量按文献公式算得^[15-16]。

3 结果

3.1 GC-MS 检测 144 批全国鱼腥草根挥发油的成分

对全国 10 个产地、5—10 月采收的新鲜鱼腥草根共 144 批样品的挥发油进行 GC-MS 分析,得到 144 张指纹图谱。对 10 个产地各随机抽 1 批共 10 批鱼腥草根挥发油,指纹图谱如图 1 所示。从谱图中可以看到,各批指纹图谱大致轮廓相似,但成分种类和含量有一定差异。对谱图中所有峰(峰面积 > 10 000 $\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)进行积分,利用 NIST 质谱数据库自动匹配检索各成分,经统计处理后,共测得 847 种成分,主要由非萜类化合物(脂肪族化合物和芳香族化合物)和萜类(萜类烃,包括单萜烃、倍半萜烃、二萜烃和含氧萜类化合物)组成。出现频次排在前 10 位的成分分别是 2-Undecanone、1-Nonanol、2-Dodecanone、3-Cyclohexene-1-methanol、Caryophyllene、D-Limonene、1,4-Cyclohexadiene、Azulene、3-Cyclohexene-1-methanol、2,6-Octadien-1-ol, 占总含量的 48.08%,若占总含量 60%需测 22 种成分,含量占 90%需测 78 种成分。若不考虑出现频次,含量占总挥发油前 10 位的成分分别为 2-Undecanone、D-Limonene、2-Tridecanone、(-)-beta-Pinene、beta-Pinene、3-Cyclohexen-1-ol、4-Tridecanone、4-methylene-1-(1-methylethyl)、beta-Myrcene、2-Dodecanone, 总含量占总挥发油含量的 66.79%。以共有成分甲基正壬酮(2-Undecanone)为例,不同产地、不同采收时间的鱼腥草根挥发油甲基正壬酮的百分相对含量始终处于一个动态变化的过程,其散点折线图详见图 2。6—9 月各样品中甲基正壬酮含量相对较平稳,其中 7 月含量偏低,10 月样品甲基正壬酮含量最低。10 个产地的鱼腥草根挥发油中,安徽、四川样

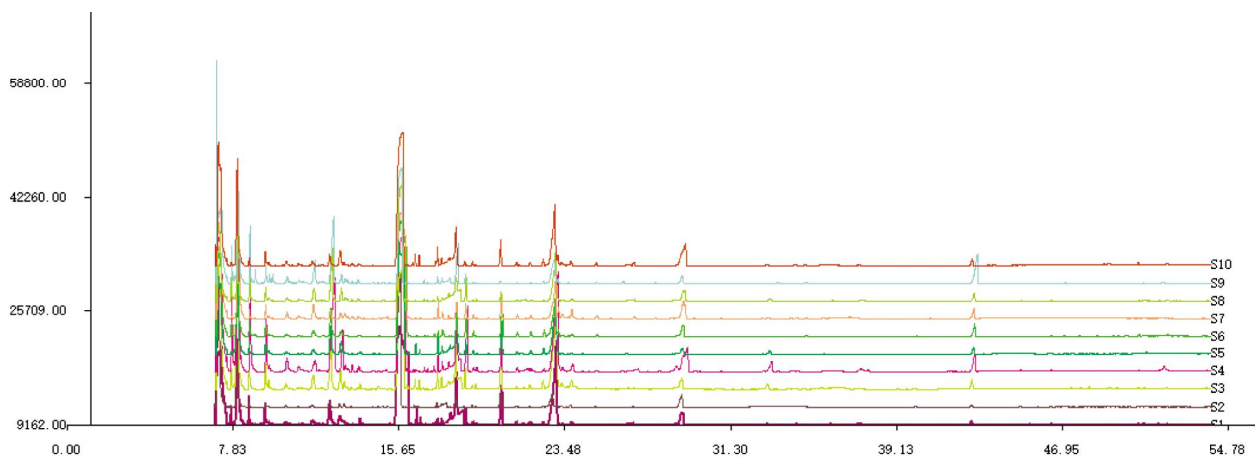


图 1 10 批鱼腥草根挥发油指纹图谱

Fig.1 10 batches fingerprints of volatile oil in the root of *Houttuynia cordata*

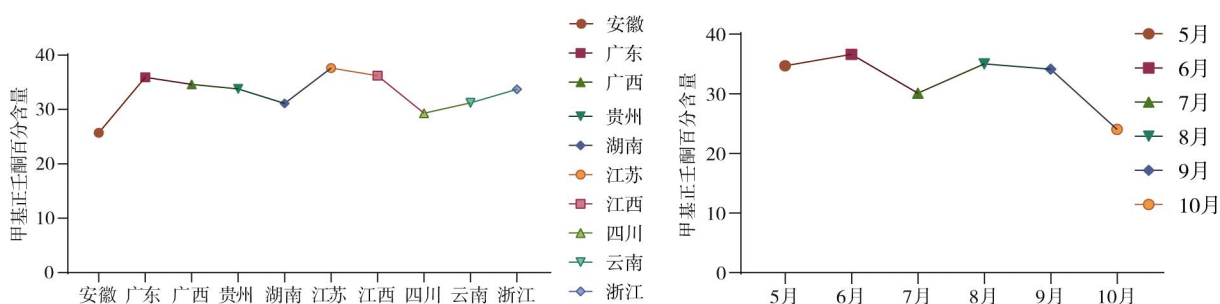


图 2 不同采收时间、地点鱼腥草根挥发油中甲基正壬酮的百分含量

Fig.2 The percentage content of methyl n-nonanone of *Houttuynia cordata* root volatile oil in different harvest time and place

品甲基正壬酮含量相对较少,在江苏、江西、广东样品甲基正壬酮相对较多。由上可知,鱼腥草成分及含量呈动态变化,单以甲基正壬酮为标准品对鱼腥草进行质量评价缺乏全面性。详见图 2。

3.2 鱼腥草根挥发性成分“印迹模板”表征及动态分析

3.2.1 144 批鱼腥草根挥发性成分 MCI 及 CI 以湖南 5 月的一批鱼腥草根样品为例,其 GC-MS 色谱图详见图 3。用 NIST 质谱数据库自动匹配检索其化学成分,经筛查后得到 57 个成分,将 57 个化学成分结构转化为 mol 格式,通过自编程序计算处理^[25],计算每个分子相应的 X_{vp} 零阶至七阶 MCI 值(表1)。采用同样的方法计算 144 批鱼腥草根挥发油的化学成分 MCI,再由式(1)计算每批样本的 $CI^{[4]}$,结果见表2。

3.2.2 鱼腥草挥发油总量统计矩参数、信息熵和信息量 各批挥发油峰数、总量统计矩参数、信息量、信息熵及物芯指数详见表 2。表中显示 144 批鱼腥草根挥发油指纹图谱中峰数与峰面积的分布范围分别在 $26\sim 94$ 、 $7.35\times 10^6\sim 1.57\times 10^9 \mu v\cdot sec$ 之间,信息量与信息熵的分布范围分别为 $2.17\times 10^7\sim 5.74\times 10^9 \mu v\cdot sec$

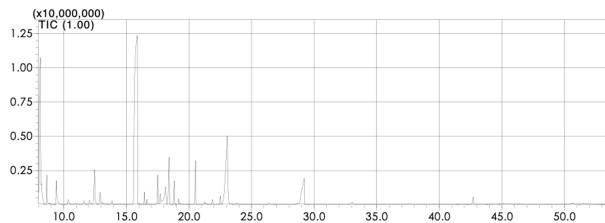


图 3 5 月 5 日湖南鱼腥草根挥发油 GC-MS

Fig.3 GC-MS diagram of volatile oil of *Houttuynia cordata* root in Hunan on May 5

和 $2.03\sim 4.77 \mu v\cdot sec$,总量统计一阶矩分布范围为 $11.20\sim 24.38 \text{ min}$,物芯指数 X_{vp} 零阶至 X_{vp} 七阶的分布范围分别为 $7.33\sim 10.39$ 、 $4.37\sim 6.54$ 、 $3.11\sim 4.67$ 、 $1.88\sim 3.55$ 、 $1.16\sim 2.46$ 、 $0.70\sim 1.65$ 、 $0.39\sim 0.98$ 、 $0.20\sim 0.43$ 。各参数均值及对应的 RSD 值见表 3,不同时间及不同产地的挥发油样品各项参数散点柱状图详见图 4—5。

3.2.3 鱼腥草根挥发性成分“印迹模板”动态规律分析 从表 3 中可以看出,144 批鱼腥草根挥发油的峰面积,信息量,峰数的 RSD 值较大(均大于 20%),分别为 68.67%、79.72%、22.03%,总量一阶矩、信息

熵及物芯指数 X_{vp} 零阶到七阶 RSD 值相对较小(均小于 20%),特别是物芯指数 X_{vp} 零阶、 X_{vp} 一阶、 X_{vp} 二阶 RSD 值很小,分别为 5.46%、6.38%、6.03%;总量一阶矩、信息熵的 RSD 值分别为 13.32%、16.17%。各批次样本化学成分种类、数目、含量存在较大差异,成分呈动态性。对不同采收时间鱼腥草根挥发油各参数进行整理,发现随着生长时间的延长,鱼腥草挥发油峰数有所增多,对应成分种类也有所增多,4月、5月的峰数均在 55 左右,成分数最多的在 10月,峰数均值为 63.69,如图 4 所示。各月份峰面积比较结果显示,5月至 8月峰面积呈增长趋势而后逐渐

下降,即 8月是总体成分含量最多的时候,这与信息量的变化趋势相近,推测 8月是鱼腥草较佳的采收时间,这与文献研究比较一致^[26]。从不同采收时间各参数的 RSD 值看出,各月采收样本的峰面积,信息量的 RSD 较大,峰数、信息熵居中,总量一阶矩及物芯指数 X_{vp} 零阶、 X_{vp} 一阶、 X_{vp} 二阶 RSD 很小。不同产地鱼腥草根挥发油各参数值也呈现波动性,如图 5 所示,安徽和江西产地的样品峰数相对更大,即安徽和江西鱼腥草挥发性成分的种类相对更多。湖南鱼腥草的峰面积和峰数目相对更大,综合反映在信息量上,推测湖南鱼腥草质量相对更好。而不

表 1 5月5日湖南鱼腥草根挥发油各成分的 MCI 值

Table 1 Molecular connectivity index of volatile oil components of *Houttuynia cordata* root on May 5

成分	X_{vp} 零阶	X_{vp} 一阶	X_{vp} 二阶	X_{vp} 三阶	X_{vp} 四阶	X_{vp} 五阶	X_{vp} 六阶	X_{vp} 七阶
D-Limonene	6.98	4.01	3.37	2.33	1.41	0.98	0.54	0.10
gamma-Terpinen	7.15	4.04	3.39	2.11	1.22	0.81	0.52	0.10
5-Isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hexan-2-ol	7.72	4.71	5.00	3.55	2.70	1.79	0.91	0.12
2-Nonanone	7.15	4.26	2.87	1.63	0.98	0.57	0.31	0.15
(+)-4-Carene	7.15	4.33	4.30	3.05	2.21	1.31	0.61	0.10
Nonanal	6.94	4.35	2.72	1.68	1.01	0.59	0.33	0.17
cis-beta-Terpineol	7.56	4.39	4.12	2.76	1.73	1.29	0.81	0.12
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,3,3-trimethyl-	7.72	4.65	5.32	4.19	3.28	2.13	1.05	0.20
1,4-Hexadiene, 5-methyl-3-(1-methylethylidene)-	6.59	3.55	2.07	1.18	0.57	0.29	0.14	0.07
alpha-Campholenal	7.55	4.20	3.94	3.13	1.71	0.82	0.36	0.09
2-Cyclohexen-1-ol	7.67	4.43	4.16	2.54	1.52	1.07	0.77	0.11
Camphene hydrate	7.72	4.68	5.08	4.55	3.09	1.88	1.18	0.32
1-Nonanol	7.10	4.52	2.84	1.76	1.07	0.63	0.36	0.19
1-2-Bornanol	7.72	4.66	5.13	4.75	3.16	1.95	1.04	0.33
(-)-Terpinen-4-ol	7.72	4.42	4.01	2.83	1.49	1.11	0.64	0.12
p-Menth-1-en-8-ol	7.72	4.38	4.18	2.64	1.61	1.07	0.70	0.14
Decanal	7.64	4.85	3.08	1.93	1.18	0.71	0.42	0.23
(1R)-(-)-Myrtenal	7.13	4.31	4.36	3.65	2.41	1.55	0.77	0.31
trans-Piperitol	7.67	4.46	3.95	2.62	1.79	1.02	0.68	0.12
1-Nonanol	7.10	4.52	2.84	1.76	1.07	0.63	0.36	0.19
Fenchyl acetate	9.59	5.53	5.90	4.42	3.72	2.63	1.25	0.38
beta-Cyclocitral	7.61	4.23	4.05	2.66	1.90	0.88	0.53	0.10
cis-Geraniol	7.72	4.06	3.05	1.53	0.85	0.36	0.28	0.07
2-Undecanone	8.57	5.26	3.57	2.13	1.33	0.82	0.49	0.28
p-Cymen-7-ol	11.68	7.06	5.87	3.57	2.04	1.19	1.02	0.44
Undecanal	8.35	5.35	3.43	2.18	1.36	0.84	0.50	0.29
alpha-Cyclogeraniol acetate	9.59	5.23	4.83	3.20	2.16	1.15	0.79	0.19
Cyclopentanemethyl-	9.38	5.31	4.45	3.36	2.40	1.24	0.73	0.30
Elixene	10.69	5.85	5.42	3.98	2.61	1.75	1.22	0.43
2-Carene	7.15	4.29	4.51	2.74	2.08	1.62	0.99	0.32
Terpinyl acetate	9.59	5.27	4.72	3.03	2.05	1.24	0.80	0.22
Nerol acetate	9.59	4.94	3.67	1.81	0.99	0.49	0.40	0.11
(17R)-3β-Hydroxyspiro[androst-5-ene-17, 1'-cyclobutan]-2'-one	15.31	10.32	10.16	9.76	8.05	6.37	4.75	3.59

续表 1

成分	Xvp 零阶	Xvp 一阶	Xvp 二阶	Xvp 三阶	Xvp 四阶	Xvp 五阶	Xvp 六阶	Xvp 七阶
<i>n</i> -Decanoic acid	8.01	4.99	3.27	1.99	1.23	0.75	0.44	0.25
Nerol acetate	9.59	4.94	3.67	1.81	0.99	0.49	0.40	0.11
2-Dodecanone	9.27	5.76	3.93	2.38	1.51	0.94	0.58	0.35
(-)-beta-Elemene	10.47	5.85	5.43	4.11	2.79	1.93	1.29	0.46
Dodecanal	9.06	5.85	3.78	2.43	1.54	0.96	0.59	0.36
Caryophyllene	10.47	6.34	6.19	4.57	3.32	2.28	1.52	0.88
(Z)-beta-Farnesene	10.47	5.65	4.27	2.34	1.30	0.66	0.52	0.20
Undecanoic acid	8.72	5.49	3.62	2.24	1.41	0.87	0.53	0.31
alpha-Caryophyllene	10.64	5.98	5.44	3.02	1.80	1.24	0.83	0.39
Guaia-1(5),11-diene	10.47	6.46	5.72	4.56	3.33	2.48	1.85	0.96
4-Tridecanone	9.98	6.33	4.16	2.59	1.68	0.99	0.61	0.37
Eremophilene	10.47	6.39	5.91	4.94	3.46	2.68	1.63	0.98
cis-4,11,11-Trimethyl-8-methylenebicyclo (7.2.0)undeca-4-ene	10.47	6.34	6.19	4.57	3.32	2.28	1.52	0.88
Guaia-1(10),11-diene	11.40	6.79	6.40	5.35	3.86	2.76	1.88	1.04
Dodecanoic acid	9.43	5.99	3.97	2.49	1.59	1.00	0.62	0.37
14-Bromo-2-methyltetradec-1-en-3-ol	12.01	7.52	5.33	3.40	2.07	1.34	0.86	0.54
Docosanoic acid	18.17	11.96	7.92	5.29	3.58	2.37	1.58	1.06
Asarone	9.53	4.69	2.95	2.08	1.36	0.86	0.46	0.21
4-Tridecanone	9.98	6.33	4.16	2.59	1.68	0.99	0.61	0.37
Octadecanoic acid	15.34	9.96	6.50	4.29	2.87	1.87	1.23	0.81
2,6,10-Dodecatrien-1-ol	11.21	6.11	4.64	2.56	1.49	0.73	0.59	0.22
Pentadecanoic acid	12.90	10.17	8.95	7.02	5.40	4.39	2.43	1.74
Farnesyl acetate	13.08	6.99	5.26	2.84	1.64	0.86	0.70	0.26
1,6,10,14-Hexadecatetraen-3-ol	14.71	8.07	6.56	3.71	2.05	1.09	0.92	0.37

表 2 144 批不同产地不同时间鱼腥草根挥发油各项参数

Table 2 Each parameter of 144 batches of *Houttuynia cordata* Thunb root volatile oil from different harvest times and different regions

批号	峰数	峰面积/ ($\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)	信息量/ ($\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)	信息熵/ ($\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)	总量统计— 阶矩/min	CI							
						Xvp 零阶	Xvp 一阶	Xvp 二阶	Xvp 三阶	Xvp 四阶	Xvp 五阶	Xvp 六阶	Xvp 七阶
AH1	62	1.84×10^8	6.37×10^8	3.46	12.25	8.12	4.82	4.50	3.51	2.39	1.58	0.91	0.34
AH2	75	4.16×10^7	1.81×10^8	4.36	22.00	9.68	5.98	4.26	2.65	1.68	1.04	0.68	0.37
AH3	47	2.76×10^8	8.29×10^8	3.00	17.53	9.25	5.63	4.08	2.54	1.61	1.01	0.63	0.32
AH4	64	7.05×10^8	2.66×10^9	3.77	15.92	8.71	5.29	4.22	2.81	1.86	1.19	0.72	0.33
AH5	94	3.75×10^7	1.69×10^8	4.51	19.94	9.47	5.84	4.16	2.60	1.65	1.03	0.68	0.36
...
AH12	90	3.24×10^8	1.51×10^9	4.66	16.09	9.12	5.46	4.67	3.33	2.22	1.37	0.83	0.34
GD1	56	2.41×10^8	2.68×10^9	3.51	16.77	8.98	5.47	3.98	2.52	1.61	1.04	0.65	0.33
GD2	47	2.45×10^8	6.33×10^8	2.63	17.42	9.16	5.61	4.07	2.60	1.69	1.09	0.68	0.36
GD3	69	1.32×10^8	6.05×10^8	2.47	14.32	8.43	5.08	4.60	3.55	2.46	1.65	0.98	0.42
GD4	26	3.90×10^8	4.48×10^8	3.39	15.11	8.67	5.29	4.59	3.36	2.31	1.54	0.94	0.43
GD5	55	4.96×10^8	8.46×10^8	2.17	14.86	8.57	5.26	4.03	2.72	1.77	1.14	0.67	0.32
...
GD16	68	3.03×10^8	1.09×10^9	3.60	17.79	9.23	5.70	4.42	3.01	1.97	1.28	0.76	0.37
GX1	80	4.58×10^8	2.46×10^8	3.13	18.36	9.08	5.47	4.11	2.59	1.67	1.09	0.72	0.37
GX2	43	2.37×10^8	9.81×10^7	3.85	17.79	9.39	5.76	4.10	2.57	1.63	1.03	0.64	0.34
GX3	50	3.07×10^8	2.09×10^9	4.57	15.31	8.76	5.36	4.41	3.07	2.04	1.33	0.80	0.36

续表 2

批号	峰数	峰面积/ ($\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)	信息量/ ($\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)	信息熵/ ($\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)	总量统计— 阶矩/min	CI							
						Xvp 零阶	Xvp 一阶	Xvp 二阶	Xvp 三阶	Xvp 四阶	Xvp 五阶	Xvp 六阶	Xvp 七阶
GX4	50	2.75×10^8	6.93×10^8	2.93	12.88	8.11	4.80	3.79	2.47	1.57	0.97	0.57	0.23
GX5	58	6.46×10^8	9.73×10^8	3.16	15.03	8.44	5.08	4.08	2.66	1.81	1.19	0.68	0.29
...
GX12	60	1.94×10^8	1.73×10^9	4.46	15.74	8.41	5.16	4.28	2.88	1.88	1.26	0.77	0.34
GZ1	48	2.69×10^8	8.15×10^8	3.03	17.18	8.85	5.38	3.94	2.46	1.55	0.99	0.61	0.30
GZ2	62	2.60×10^8	8.51×10^8	3.06	17.65	9.19	5.62	4.32	2.83	1.82	1.20	0.74	0.36
GZ3	73	9.24×10^8	2.70×10^9	3.66	15.73	8.79	5.33	4.17	2.75	1.78	1.14	0.68	0.30
GZ4	63	5.16×10^8	2.65×10^9	3.69	14.33	8.45	5.11	4.03	2.71	1.76	1.12	0.65	0.28
GZ5	62	1.08×10^9	4.45×10^8	3.69	14.57	8.34	4.96	3.87	2.45	1.54	1.00	0.61	0.25
...
GZ12	46	5.54×10^8	1.45×10^9	4.31	15.45	8.79	5.38	4.49	3.14	2.10	1.32	0.75	0.34
HN1	56	5.03×10^8	1.58×10^9	3.13	15.03	8.46	5.05	3.82	2.42	1.51	0.96	0.59	0.26
HN2	53	1.19×10^9	4.50×10^9	3.79	18.72	9.52	5.84	4.37	2.91	1.87	1.25	0.77	0.40
HN3	55	4.59×10^8	1.49×10^9	3.25	16.88	9.20	5.61	4.10	2.63	1.68	1.08	0.66	0.34
HN4	53	2.84×10^8	9.28×10^8	3.27	14.14	8.22	4.89	3.75	2.31	1.48	0.96	0.58	0.26
HN5	58	4.28×10^8	1.19×10^9	2.78	15.00	8.64	5.18	3.76	2.32	1.45	0.91	0.57	0.29
...
HN16	75	3.01×10^8	1.29×10^9	4.29	16.04	8.92	5.39	4.62	3.38	2.25	1.46	0.87	0.36
JS1	68	2.31×10^8	6.64×10^8	2.87	15.74	9.26	5.63	4.11	2.60	1.67	1.07	0.68	0.36
JS2	49	3.44×10^8	1.13×10^9	3.29	14.44	8.44	5.03	3.68	2.26	1.40	0.88	0.54	0.25
JS3	69	2.79×10^8	1.14×10^9	4.08	14.37	8.00	4.77	3.83	2.60	1.67	1.07	0.64	0.27
JS4	60	5.55×10^8	1.75×10^9	3.15	14.30	8.36	5.01	3.84	2.47	1.56	0.99	0.60	0.28
JS5	53	2.38×10^8	7.15×10^8	3.00	16.99	8.86	5.44	4.08	2.66	1.71	1.11	0.68	0.34
...
JS14	50	2.41×10^8	9.26×10^8	3.84	11.53	7.90	4.66	4.03	2.81	1.85	1.16	0.67	0.24
JX1	54	2.47×10^8	7.77×10^8	3.14	18.76	9.79	6.01	4.32	2.70	1.74	1.09	0.71	0.38
JX2	56	1.60×10^8	4.34×10^8	2.71	20.26	10.39	6.54	4.48	2.88	1.87	1.17	0.73	0.43
JX3	84	5.27×10^8	1.85×10^9	3.51	14.98	8.45	5.15	4.18	2.85	1.87	1.22	0.73	0.33
JX4	57	2.19×10^8	6.05×10^8	2.76	17.10	8.93	5.50	4.03	2.57	1.67	1.08	0.67	0.36
JX5	50	3.17×10^8	1.06×10^9	3.34	15.28	8.61	5.25	4.14	2.81	1.83	1.18	0.70	0.33
...
JX10	84	2.84×10^8	1.20×10^9	4.22	14.07	8.43	5.12	4.11	2.82	1.85	1.20	0.70	0.31
SC1	56	1.93×10^8	6.79×10^8	3.52	18.05	8.77	5.32	3.88	2.45	1.52	0.98	0.60	0.29
SC2	37	2.83×10^8	7.38×10^8	2.61	16.92	8.94	5.42	3.94	2.44	1.52	0.95	0.60	0.30
SC3	53	3.25×10^7	1.14×10^8	3.50	13.15	7.93	4.82	4.02	2.84	1.84	1.19	0.67	0.27
SC4	59	7.50×10^8	2.91×10^9	3.87	13.85	8.53	5.07	3.85	2.41	1.48	0.95	0.58	0.26
SC5	67	6.37×10^8	2.97×10^9	4.67	14.45	8.60	5.11	4.07	2.61	1.65	1.05	0.63	0.26
...
SC17	39	2.09×10^7	6.43×10^7	3.08	17.70	9.57	5.87	4.32	2.82	1.78	1.13	0.68	0.34
YN1	49	3.66×10^8	1.56×10^9	3.56	13.67	8.01	4.99	4.35	3.15	2.14	1.41	0.77	0.31
YN2	33	4.37×10^8	1.46×10^9	3.98	11.20	7.96	4.73	4.03	2.69	1.76	1.14	0.66	0.23
YN3	54	2.40×10^8	8.33×10^8	3.47	16.39	8.71	5.37	4.16	2.77	1.76	1.20	0.71	0.33
YN4	57	9.91×10^8	3.99×10^9	4.02	12.81	8.52	5.20	4.23	2.86	1.89	1.21	0.70	0.28
YN5	67	2.75×10^8	9.44×10^8	3.43	14.41	8.35	4.95	3.82	2.47	1.57	0.97	0.58	0.25
...
YN22	53	6.29×10^7	1.44×10^8	2.28	15.56	7.33	4.37	3.11	1.88	1.16	0.70	0.39	0.20
ZJ1	50	2.47×10^8	7.89×10^8	3.19	17.69	8.88	5.40	4.15	2.72	1.76	1.14	0.70	0.34
ZJ2	50	2.30×10^8	7.09×10^8	3.08	18.14	9.38	5.76	4.21	2.69	1.74	1.11	0.70	0.36
ZJ3	50	1.89×10^8	5.77×10^8	3.05	17.21	8.85	5.37	3.95	2.48	1.59	1.01	0.64	0.32
ZJ4	81	1.50×10^8	6.03×10^8	4.03	15.27	9.04	5.53	4.64	3.41	2.29	1.50	0.89	0.39
ZJ5	40	6.85×10^7	1.39×10^8	2.03	13.27	8.10	4.95	3.91	2.69	1.76	1.12	0.64	0.28
...
ZJ13	78	3.53×10^8	1.56×10^9	4.43	14.41	8.51	5.32	4.64	3.33	2.18	1.39	0.84	0.37

表3 144批鱼腥草根挥发油各项参数的平均值和RSD值

Table 3 The mean value and RSD of Each parameter on 144 batches of *Houttuynia cordata* Thunb root volatile oil

批号	峰数	峰面积/ ($\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)	信息量/ ($\mu\text{v}\cdot\text{sec}$)	总量统计一 阶矩/min	CI							信息熵	
					Xvp 零阶	Xvp 一阶	Xvp 二阶	Xvp 三阶	Xvp 四阶	Xvp 五阶	Xvp 六阶		Xvp 七阶
平均值	58.71	4.44×10^8	1.54×10^9	15.61	8.66	5.25	4.08	2.70	1.75	1.12	0.67	0.31	3.55
RSD/%	22.03	68.67	79.92	13.32	5.46	6.38	6.03	10.11	12.34	13.65	13.08	15.69	16.17

同产地的鱼腥草挥发油总量一阶矩、信息熵及CI Xvp零阶到二阶几个参数的RSD值均较小,即这几个参数相对稳定。

综上,本实验鱼腥草样本量大、采集地点与采收时间跨度大,受遗传基因、生长环境等影响,鱼腥草挥发性成分“印迹模板”呈动态性变化,即各批样品指纹图谱的峰面积和信息量波动很大,峰数波动较大,CI Xvp零阶、Xvp一阶、Xvp二阶相对稳定,总量统计一阶矩与信息熵波动较小。

4 讨论

本文对不同产地,不同采收时期的144批鱼腥

草根部挥发油进行GC/MS分析,获得了各批挥发油的指纹图谱,建立了鱼腥草总挥发油的化学成分库(共检出847种化学成分),其中2-Undecanone、1-Nonanol、3-Cyclohexene-1-methanol、Caryophyllene、D-Limonene、2-Dodecanone 6个化学成分几乎在每批中都出现,占每批挥发油种类不到10%,但含量可占40%以上,即大部分成分种类和含量波动较大,单从成分角度分析整体动态变化规律较复杂且有一定局限性,基于中药超分子成分“印迹模板”的整体角度分析变化规律可行性更强。这6个成分大部分是药理活性成分,如:2-Undecanone具有抗炎和抗肺癌作用^[27-28],1-Nonanol能抑制黄曲霉生长^[29],

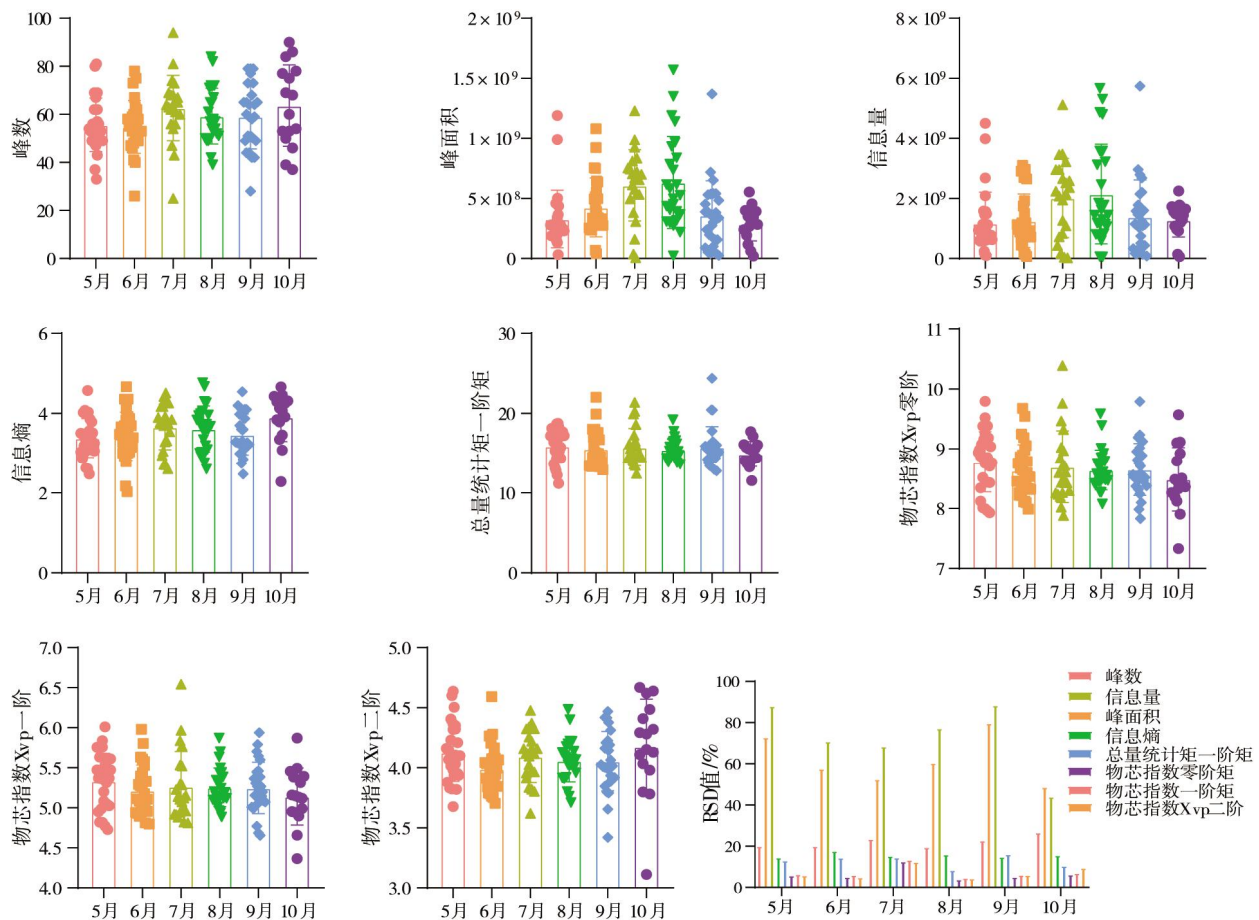


图4 不同采收时间鱼腥草根挥发油各参数值及其RSD值

Fig.4 Each parameter value and RSD value of *Houttuynia cordata* Thunb root volatile oil in different harvest times

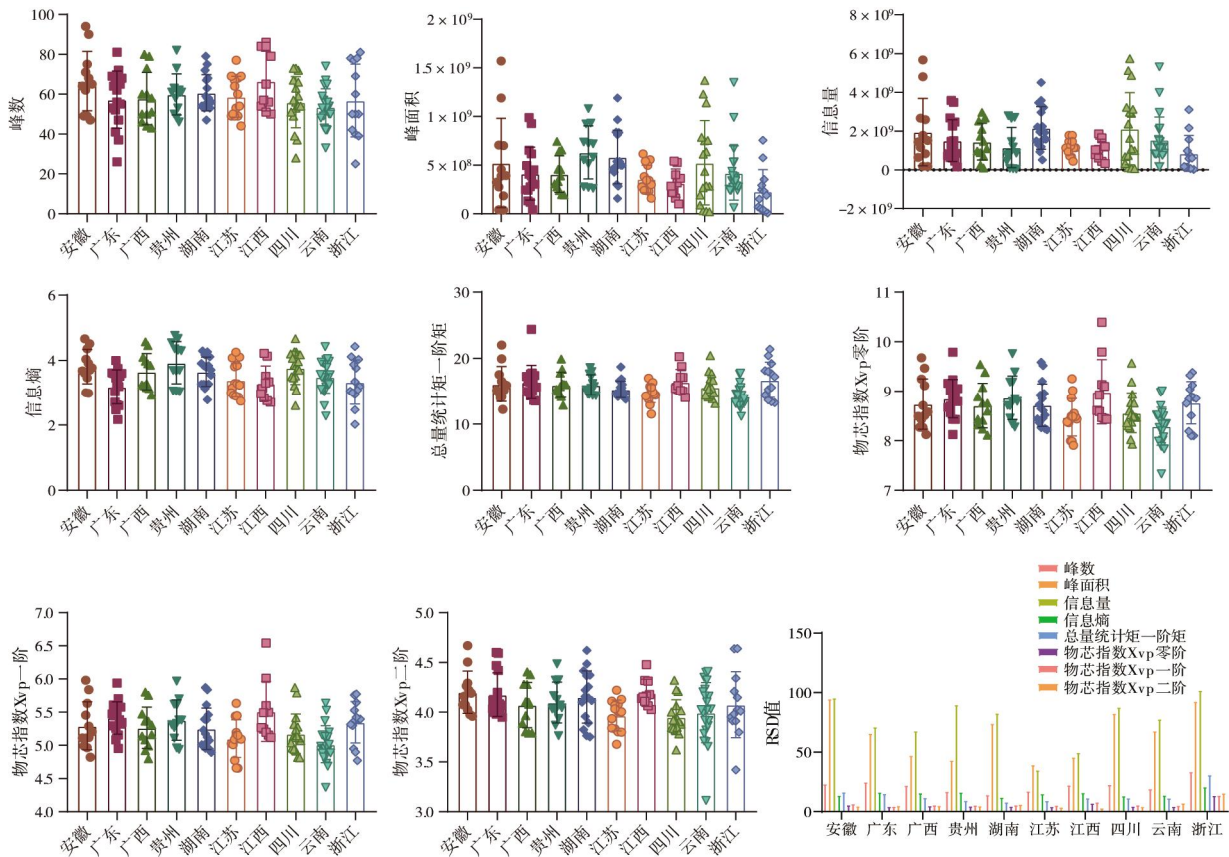


图5 不同产地鱼腥草根挥发油各参数值及其RSD

Fig.5 Each parameter value and RSD value of *Houttuynia cordata* Thunb root volatile oil in different origin

Caryophyllene 能抑制心肌缺血损伤和炎症^[30-31], D-Limonene 能抗胃癌和改善酒精性肝损伤^[32-33]。

根据中药超分子理论, 中药成分可看作超分子的“印迹模板”聚集体, 对其可从空间拓扑结构的量化(MCI、CI 参数)及“印迹性”(中药成分在进行色谱分析时, 表现为某个分子的某一个基团“印迹模板”随机与色谱固定相进行结合-迁移-解结合-再结合-再迁移等印迹作用, 最终综合印迹特征通过峰数、总量统计矩参数、信息熵信息量参数)两方面进行表征。CI 的提出、数学模型的构建及其在鱼腥草样本上的应用, 将单成分的拓扑空间特征扩展到中药多成分的拓扑空间特征, 再结合指纹图谱总量统计矩、信息熵、信息量等参数, 可实现微观成分宏观分析, 更好地揭露鱼腥草整体质量的变化规律。研究发现, 各批鱼腥草挥发油物志指数(X_{vp} 零阶、 X_{vp} 一阶、 X_{vp} 二阶)和总量统计一阶矩的变动小, 说明同种不同批次药材成分群内具有相对稳定的分子连接方式具有相对稳定的“印迹模板”空间结构, 即挥发油成分整体“印迹模板”相似、性质相似; 而峰面积、信息量、峰数变化较大, 说明挥发油成分种类与含量波动较大。这提示中药材成分整体遵循超分

子自主作用规律, “印迹模板”母核结构和印迹作用相对稳定, 呈现按“印迹模板”修饰成成分的随域随时的易变性和整体印迹作用的稳定性, 以稳定的印迹模板特征表征中药成分变化。稳定的参数值对应固定的成分母核即生物种类, 不稳的参数值对应波动的由母核修饰成具体各成分及含量, 这对揭露中药(生物)印迹模板内在规律, 生长过程中的母核特征、成分变化有重要意义, 可为进一步探索中药种类专有特征奠定基础。

当前的质量控制模式主要基于中药传统功效、整体观的 Q-Marker、指纹特征谱、谱-效关系、传统鉴定相结合的直接或间接测定成分含量的评价方法, 如有效成分群、标准汤剂、物质基准、Q-Marker、一测多评、全息多指标分析等等众多评价方法; 也有近红外、电化学、核磁共振、蛋白质组学等新评价方法。这些方法适合构成比稳定的中药质量评价, 但对于中药材、中药饮片及中药制剂成分构成比和含量变化很大的中药, 就需面对“中药成分构成比、含量和疗效不对等”的科学问题。本团队已成功建立“构-印-效”关联的数学模型, 应成功运用于补阳还五汤^[34], 待建立“印迹性”的质量评价方法后, “印迹

模板”成为连接成分与药效的桥梁,“印迹模板”可决定中药药效,也可由“印迹模板”反推中药药效,最终推动中药单成分“构-效”关联转为多成分“印-效”关联,此方法更适合中医药多成分、多靶点的复杂作用体系,故具有重大的学术、社会和经济价值。

参考文献

- [1] ASAKAWA Y, TOMIYAMA K, SAKURAI K, et al. Volatile compounds from the different organs of *Houttuynia cordata* and *Litsea cubeba* (*L. citriodora*) [J]. *Journal of Oleo Science*, 2017, 66(8): 889-895.
- [2] 刘湘, 王玉钊, 张雨恬, 等. 基于等温滴定量热法对鱼腥草注射剂超分子结构特征的研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(17): 5530-5540.
- [3] 李聪, 黄诗雨, 陈丽华, 等. 药材部位、产地及采收期对中药挥发油成分的差异性分析 [J]. *中草药*, 2020, 51(20): 5395-5404.
- [4] VERMA R S, JOSHI N, PADALIA R C, et al. Chemical composition and allelopathic, antibacterial, antifungal, and antiacetylcholinesterase activity of fish-mint (*Houttuynia cordata* Thunb.) from India [J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2017, 14(10): 321-327.
- [5] 何刚, 卿光明, 李敏, 等. GC-MS 法测定不同采收期鲜品鱼腥草挥发油中 4 种成分的含量 [J]. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2014, 16(6): 1391-1395.
- [6] LALDINSANGI C. The therapeutic potential of *Houttuynia cordata*: A current review [J]. *Heliyon*, 2022, 8(8): e10386.
- [7] PAN X, LI H Y, CHEN D F, et al. Comparison of essential oils of *Houttuynia cordata* thunb. from different processing methods and harvest seasons based on GC-MS and chemometric analysis [J]. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2021, 2021: 8324169.
- [8] 刘文龙, 张喜利, 贺福元, 等. 同一 GAP 产地鱼腥草株间基因多态性研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2011, 31(11): 30-33.
- [9] NEUGART S, BALDERMANN S, HANSCHEN F S, et al. The intrinsic quality of brassicaceous vegetables: How secondary plant metabolites are affected by genetic, environmental, and agronomic factors [J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 233: 460-478.
- [10] 王金, 钟其培, 王华. 中药质量控制与评价模式的创新与发展探究 [J]. *临床合理用药杂志*, 2020, 13(22): 180-181.
- [11] 刘文龙, 余格, 文雯, 等. 分子拓扑指数表征中药质量的前沿性探索 [J]. *中成药*, 2021, 43(12): 3548-3551.
- [12] 张玉超, 钟鹏英, 夏凡, 等. 基于拓扑指数的 QSAR 法探讨脑泰方中抗脑血管关键活性成分簇 [J]. *中草药*, 2023, 54(3): 877-885.
- [13] LIU W L, ZHANG X L, FAN S Q, et al. A novel concept of Q-markers: Molecular connectivity index [J]. *Phytomedicine*, 2018, 45: 36-40.
- [14] 潘雪, 樊启猛, 余格, 等. 基于超分子“印迹模板”特性的中药质量标志物研究模式的思考 [J]. *中草药*, 2019, 50(19): 4569-4575.
- [15] 吴月峰, 朱志飞, 陈定芳, 等. 基于分子连接性指数的高频抗新型冠状病毒肺炎中药物质基础研究 [J]. *中南药学*, 2022, 20(7): 1659-1669.
- [16] 李海英, 贺鹏, 樊启猛, 等. 桃红四物汤 HPLC 指纹图谱的总量统计矩及一次稳态投料量分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(15): 37-43.
- [17] 贺福元, 周宏灏, 邓凯文, 等. 指纹图谱的一种定性定量研究新方法: 总量统计矩分析法 [J]. *药学学报*, 2008, 43(2): 195-201.
- [18] 唐宇, 贺福元, 邓凯文, 等. 中药燃烧焓、信息熵及生物熵的稳定性揭示其成分间的“虹势性” [J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(4): 867-873.
- [19] 贺鹏, 李海英, 樊启猛, 等. 基于超分子理论探索古代经典名方的质量控制模式 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(16): 161-166.
- [20] 李海英, 樊启猛, 贺玉婷, 等. 金银花、山银花动态挥发性成分的质量控制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(22): 148-155.
- [21] 周晋, 刘惠, 肖美凤, 等. 基于超分子“印迹模板”的中药成药性及制剂修饰研究策略 [J]. *中草药*, 2018, 49(18): 4205-4211.
- [22] 贺福元, 邓凯文, 樊启猛, 等. 基于中医药超分子“气析”理论破解中医药重大科学问题和工程技术难题 [J]. *中草药*, 2020, 51(20): 5381-5388.
- [23] 周燕子, 王敏存, 贺玉婷, 等. 鱼腥草挥发油体外代谢通用客体“印迹模板”研究 [J]. *中草药*, 2021, 52(1): 75-81.
- [24] 肖美凤, 张雨恬, 杨岩涛, 等. 基于鱼腥草挥发性成分动态性的中药制剂“印迹模板”一致性分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(14): 150-155.
- [25] 单利经. 分子连接性指数计算软件制作及应用 [D]. 上海: 华东理工大学, 2011.
- [26] 陈婧, 王文清, 施春阳, 等. GC、GC-MS 联合聚类分析对不同季节鱼腥草的不同药用部位中挥发性成分的差异性研究 [C]// 2014 年全国中药学术研讨会暨中国中西医结合学会第六届中药专业委员会换届改选会论文集. 杭州, 2014: 47-60.
- [27] 黄秋兰, 薛娜丽, 范德平, 等. 鱼腥草抗炎药理作用的研究进展 [J]. *海南医学*, 2019, 30(18): 2431-2433.
- [28] 朱源锋. 鱼腥草及其活性单体甲基正壬酮预防肺癌的作用及机制 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [29] 覃雨良. 辛醇和壬醇对黄曲霉生长抑制作用研究 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2023.
- [30] 何睿樵. 基于网络药理学探讨 β -石竹烯对心肌缺血再灌注损伤的作用机制 [D]. 广州: 南方医科大学, 2023.
- [31] 杨丙晔, 王闽龙, 李莹. β 石竹烯抑制核因子 κ B (NF- κ B) 通路下调炎症因子表达减轻小鼠全身炎症 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2024, 40(3): 229-234.
- [32] 杨明翰, 骆骄阳, 乔美玲, 等. 多伞阿魏挥发油化学成分 GC-MS 分析及 D-柠檬烯抗胃癌活性研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(7): 806-813.
- [33] 王广超. D-柠檬烯改善大鼠酒精性肝损伤实验的研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2014.
- [34] 李海英. 基于印迹性的补阳还五汤有效部位抗缺血性脑中风作用机理研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2023.