

射干抗炎药效物质基础研究

李国信, 姜 鸿, 邸子真

辽宁省中医药研究院, 辽宁 沈阳 110034

摘 要 **目的:** 探讨射干抗炎的药效物质基础。**方法:** 采用 SPSS 统计分析方法, 以 41 个色谱峰的相对峰面积为自变量, 提取物对蛋清致大鼠足跖肿胀形成的抑制作用为因变量进行相关分析和回归分析, 并进行了初步时效学观察。**结果:** 得到 41 个色谱峰的相关系数, 0.5 h 时, 消炎效果最好。**结论:** 初步确定 11 个色谱峰所代表的化学组分为射干抗炎的药效物质基础, 其中 X₃₃ 为鸢尾黄素, 其余为未知成分, 时效学实验结果提示, 射干抗炎作用起效较快, 但作用时间较短。

关键词 射干; 药效物质基础; 时效实验; 相关分析; 回归分析; 抗炎

中图分类号: R971.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2010)05-0384-04

Study on anti-inflammatory therapeutic material basis for *Belamcanda chinensis*

LI Guo-xin, JIANG Hong, DI Zi-zhen

Liaoning province academy of traditional Chinese medicine, Shenyang 110034, China

Abstract **Objective:** To study the anti-inflammatory therapeutic material basis of *Belamcanda chinensis*. **Methods:** Using SPSS statistical analysis methods to 41 peaks of the relative peak area of the independent variables, extract on egg white-induced mice paw edema formation inhibition as the dependent variable for correlation analysis and regression analysis. **Results:** Each correlation coefficient of 40 chromatographic peaks is got, the effect of antiphlogistic is the best at 0.5 h. **Conclusion:** It can be preliminary determined that the 11 chromatographic peaks represented by the chemical constituent for *Leontopodium* have an acute anti-inflammatory pharmacodynamic material basis, which chromatographic peak that X₃₃ is Iris flavin, and the remaining peaks are the unknown components. It suggests that the effect of antiphlogistic was quick but the effecting time was short.

Key words *Belamcanda chinensis* (L) DC; therapeutic material basis; Time effect; Correlation analysis; Regression analysis; Inflammation

射干为鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L) DC 的干燥根茎, 味苦、辛, 性寒, 有毒, 归肺、肝、脾经。具有清热解毒、清肺祛痰、散血消肿的功效, 主要用于治疗热毒所致痰火郁结、咽喉肿痛、痰咳气喘等症, 为中药治疗喉痹咽痛之要药^[1-3]。

本研究利用极性萃取法将射干提取液分离成不同极性化学成分群, 对不同化学成分群进行抗炎试验, 将药效学实验结果与各提取物指纹图谱峰相对峰面积相关联, 通过 SPSS 统计软件的相关分析和回归分析初步确定射干药材与抗炎作用相关的色谱峰, 为射干药效物质基础的进一步深入研究奠定

基础。

1 提取物制备

取射干药材 (购自河北黄冈, 由河北中医药大学刘合钢教授鉴定), 加 8、6 倍量水分别提取 2 次, 每次提取 1.5 h, 滤过, 合并滤液, 浓缩至体积与药材投料比约为 1:1 时, 放凉, 加入等体积乙醇, 静置 24 h, 3 000 r/min 离心, 取上清液, 回收乙醇, 加水稀释, 备用; 取 1/2 上述溶液, 浓缩并减压干燥至干, 加糊精稀释成 1 g 样品含 10 g 药材, 粉碎成粉末, 作为 1 号提取物; 其余 1/2 溶液置分液漏斗中, 分别用石油醚 (30~60℃)、醋酸乙酯、正丁

收稿日期: 2010-03-27

基金项目: 科技部重大专项“十一五”重大新药创制 (2009ZX09103-330)

作者简介: 李国信 (1963—), 男, 临床药理专业。E-mail: syyljdlgx024@126.com

醇各萃取 5 次, 分别合并各自萃取溶液, 回收溶剂, 减压干燥至干, 分别加入糊精稀释成 1 g 样品含 10 g 药材, 粉碎成粉末, 作为 2 号 (石油醚提取物)、3 号 (醋酸乙酯提取物)、4 号 (正丁醇提取物) 提取物; 取经过上述溶剂萃取后的水溶液, 浓缩并减压干燥至干, 加糊精配制成 1 g 样品含 10 g 药材的粉末, 作为 5 号提取物。

2 提取物指纹图谱分析

2.1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱分析仪: 四元泵、在线脱气机、柱温箱、DAD 检测器、全自动进样器 (美国 Agilent 公司)。乙腈、磷酸为色谱纯; 娃哈哈纯净水; 其他试剂均为分析纯。

2.2 色谱条件

Kromasil C₁₈ 色谱柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.2% 磷酸水溶液, B 为乙腈; 梯度洗脱。体积流量为 1 mL/min; DAD 检测器, 检测波长为 265 nm; 柱温 30℃; 谱图记录 60 min。

2.3 供试品溶液制备

取“1”项下 1~5 号提取物各适量, 分别精密称取 1 g, 加 50% 乙醇 50 mL, 称重, 回流提取 1 h, 静置冷却至室温, 称重, 用 50% 乙醇补足减失质量, 摇匀, 经 0.45 μm 滤膜滤过, 分别取续滤液作为供试品溶液。

2.4 HPLC 指纹图谱分析

取各供试品溶液, 在上述色谱条件下进样, 5 个提取物共得到 41 个色谱峰, 见图 1。

3 提取物对蛋清致大鼠足跖肿胀形成的抑制作用

3.1 药物及仪器

晒干提取物 (1~5 号); 醋酸地塞米松片, 天津天药药业股份有限公司, 批号 070414; 鸡蛋清, 新鲜鸡蛋清, 以 NS 配制成 10% 的浓度。PV-200 足趾容积测量仪, 成都泰盟科技有限公司。

3.2 试验方法

取体质量 180~220 g 的 Wistar 雄性大鼠, 随机分为 13 组, 每组 12 只, 分别为正常对照组, 模型对照组, 提取物 (1~5 号) 低剂量组 (相当于生药量 5.4 g/kg)、高剂量组 (相当于生药量 10.8 g/kg) 及阳性对照醋酸地塞米松片 1.08 mg/kg 组。各组动物按相应剂量 ig 给予相对应药液, 空白对照组及模型对照组 ig 等量蒸馏水, 给药容积均为 20 mL/kg, 连续给药 7 d。试验前各组大鼠左后脚爪

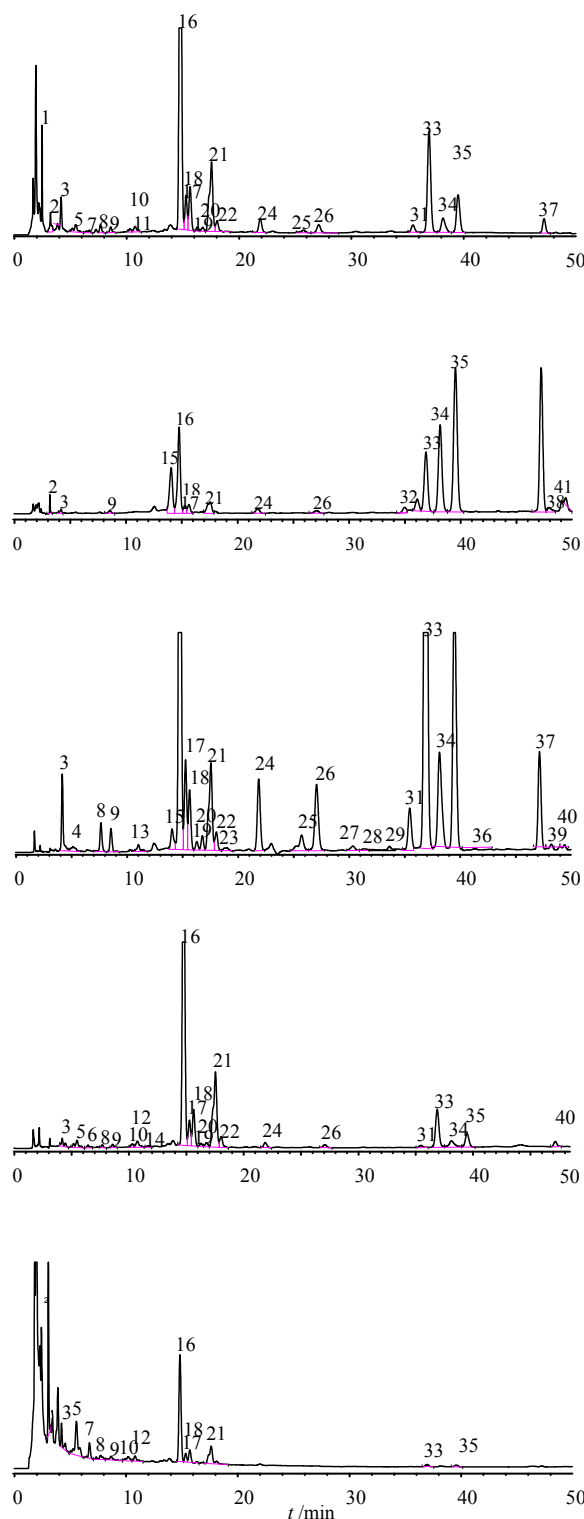


图 1 提取物 1~5 指纹图谱 (从上至下)

Fig.1 Fingerprint of extract 1-5 (top to bottom)

正面上端用打号笔划一清晰横线, 末次给药后 30 min, 除正常对照组外, 将鸡蛋清 0.05 mL 分别注射于大鼠左后脚跖皮下, 然后分别于 0.5、1、2、4、6

h 利用 PV—200 足趾容积测量仪测鼠爪体积一次， 胀率差异的显著性。结果见表 1。
计算鼠爪肿胀率。 鼠爪肿胀率 = [（致炎后鼠爪体积-致炎前鼠爪
t 检验比较各给药组与模型对照组之间鼠爪肿 体积） / 致炎前鼠爪体积] × 100 %

表 1 射干提取物对蛋清致大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 1 Effect of *B. chinensis* extract on paw edema induced by egg white in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	肿胀率 / %				
		0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
正常对照	—	3.73± 2.76	5.39± 4.12	6.13± 3.79	4.15± 2.79	5.06± 3.92
模型对照	—	46.24± 9.41 ^{AAA}	52.72±12.98 ^{AAA}	42.99±14.90 ^{AAA}	35.05±17.90 ^{AAA}	28.92±16.50 ^{AAA}
提取物 1 号	5.4	39.72±12.00	48.36±14.64	41.73±12.94	31.96±11.76	17.36± 9.01
	10.8	37.64±12.40	40.44±12.45	37.28±18.20	19.62±16.97	15.66±13.62
提取物 2 号	5.4	45.24±20.76	50.08±17.50	41.38±16.72	25.84±13.71	14.21±11.38*
	10.8	36.23±16.79	43.60±15.66	28.84±14.18*	17.40±9.95*	13.92±10.08*
提取物 3 号	5.4	38.07±13.24	40.40±14.53	29.64±11.78*	20.96± 8.99*	16.60± 7.55*
	10.8	32.19±16.91	39.44±14.39	27.08±14.62*	17.07±14.40*	12.43±14.01*
提取物 4 号	5.4	40.66±16.86	42.58±16.92	33.02±15.76	18.98± 9.63*	13.45± 9.06*
	10.8	34.74±11.01*	40.13±12.96*	29.18±14.10*	18.35± 7.45*	13.59± 7.18*
提取物 5 号	5.4	44.39±14.40	52.30±22.65	37.18±23.05	24.09±21.31	21.79±21.05
	10.8	41.54±13.19	39.52±16.38	28.92±18.24	19.05±10.46*	16.69± 7.65
地塞米松	0.001 08	9.07± 3.51***	17.30± 7.36***	12.04± 7.12***	9.54± 6.25**	6.24± 4.71**

与正常对照组比较: ^{AAA} $P<0.001$; 与模型对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$
^{AAA} $P<0.001$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs model group

4 数据处理

4.1 数据统计

将指纹图谱化学数据和抗炎试验数据（表 1）组成原始数据矩阵，自变量 X1~X41 代表各色谱峰校正后的峰面积，因变量 Y₁~Y₁₀ 代表药理指标——肿胀抑制率（Y₁~Y₅ 分别代表低剂量组 0.5、1、2、4、6 h 的肿胀率，Y₆~Y₁₀ 分别代表高剂量组 0.5、1、2、4、6 h 的肿胀率），组成矩阵，采用 SPSS 软件进行数据处理，采用相关分析的方法探讨射干中可能的药效物质基础。

4.2 相关分析

相关分析是研究变量之间密切程度的一种统计方法。有双变量相关分析（bivariate）、偏相关分析（partial）等。当分析多个变量之间的关系，而这种关系又往往是变量之间的数量关系时，通常采用双变量相关分析方法。使用 SPSS13.0 软件中的双变量相关分析可以得到变量两两之间的皮尔逊系数（Pearson correlation coefficients）及其统计量。

在低剂量试验中，0.5 h 变量 X8、X9、X24、X26、X31、X33、X34、X35、X37 与小鼠足肿胀

率呈显著负相关，提示这个 9 个变量有明显的消炎作用，初步确定为射干消炎的有效成分，其中 X33 为鸢尾黄素。在低剂量试验的 1~6 h，均无变量与之显著相关，提示低剂量时，可能消炎的起效时间较快且较短。而在高剂量试验中，无变量与之显著负相关，X1、X2、X11、X30、X32、X38 变量与小鼠耳肿胀率呈显著正相关，提示这 6 个成分有对抵抗消炎的作用，对消炎效果不利。

4.3 回归分析

采用“有进有出”的回归分析方法，从一个自变量开始，视各个自变量 X 对因变量 Y 作用程度的显著，将显著变量逐个引入回归方程，而原引入的变量因后引入的新变量而变得不显著时，则将其剔除，每一步都进行 F 检验，以保证方程中只包含显著变量。这个过程反复进行直到再无新变量引入，也无变量被剔除，逐步回归完成，建立回归方程。经检验所有因变量均符合正态分布。共有 X1、X2、X4、X7、X9、X10、X11、X12、X15、X16、X17、X19、X20、X21、X26、X30、X31、X32、X34、X38 等 20 个变量被引入回归方程，其中 X1、X2、

X17、X30、X31、X32、X35 等 7 组分与小鼠的耳肿胀率呈正相关，与药效预期的结果相反，因此被剔除。X15、X16、X26 等 3 组分与小鼠的耳肿胀率呈负相关，提示是射干抗炎的有效成分。

综合相关分析和回归分析的结果，有效地抽提出 X8、X9、X15、X16、X24、X26、X31、X33、X34、X35、X37 等 11 个色谱峰，初步确定这 11 个色谱峰所代表的化学成分为射干抗炎的药效物质。

5 讨论

中药药效物质基础是中药现代化研究的核心，以中药的主要功效和配伍理论为指导，采用恰当的药理模型评价药效，利用现代分离、分析技术筛选、提取、分离与药效密切相关的化学成分群，进而阐明化学成分与药理活性的关系，确定中药药效物质基础，是中药现代化基础研究的主要内容^[4-5]。

本研究从射干 41 个色谱峰中有效地指出 11 个成分初步确定为射干抗炎药效物质基础，为射干药效物质的进一步研究奠定了坚实的基础。将指纹图

谱技术运用于其复杂成分的化学信息的采集，将化学信息与药理实验结果相关联，得出与药效相关性比较大的少数组分初步确定为药效物质基础，并进行了初步时效学实验研究，探索了中药药效物质基础研究的思路。对中药药效物质基础研究进行了有意义的探索，对中药复方药效物质基础研究也有一定的借鉴意义。

参考文献

- [1] 周立新, 林 茂. 射干的化学成分研究 I [J]. 中草药, 1996, 27 (1): 8-10, 59.
- [2] 秦民坚, 吉文亮, 王峥涛. 射干的化学成分研究 II [J]. 中草药, 2004, 35 (5): 487-489.
- [3] 李晓兰. 中药射干的研究概况 [J]. 海峡药学, 2003, 15(5): 72-74.
- [4] 钟 鸣, 关旭俊, 黄炳生, 等. 中药射干现代研究进展 [J]. 中药材, 2001, 24 (12): 904-906.
- [5] 吉文亮, 秦民坚, 王峥涛. 中药射干的化学与药理研究进展 [J]. 国外医药植物药分册, 2000, 15 (2): 57-58.

欢迎订阅

Chinese Herbal Medicines (CHM)

我国第一份中药专业的英文期刊——*Chinese Herbal Medicines (CHM)* (中草药英文版) 经国家新闻出版总署 (新出综合[2008]1343 号文件) 批准, 国内统一连续出版号为: CN12—1410/R, 已于 2009 年 10 月正式创刊。

CHM 由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办, 天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编; 中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员, 天津药物研究院院长汤立达研究员, 中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编; 天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

办刊宗旨 以高起点、国际化为特点, 继承和发扬祖国医药学遗产, 报道和反映中草药研究最新进展, 宣扬我国中草药的传统特色, 加强与世界各国在传统药物研究的经验交流, 在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁, 促进中药现代化、国际化。

主要栏目 综述与述评、论著、快报、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

读者对象 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM 邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟, 组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍 (第一届编辑委员会由 49 位专家组成, 其中院士 10 名, 国外编委 19 名)。吸引国内外高质量的稿件, 提高期刊的学术质量; 坚持按照国际标准编排, 加强刊物规范化和标准化, 充分利用计算机、网络技术和英语, 加强与国际知名科技期刊的交流合作; 充分发挥中医药特色, 争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引 (SCI), 把 CHM 办成国际知名期刊之一。

欢迎广大作者踊跃投稿! 欢迎广大读者积极订阅! 自办发行, 直接与编辑部订阅!

为提高稿件处理效率, 更好地为广大读者和作者服务, 从 2010 年 1 月开始, 中草药杂志社开通网上在线投稿系统。在线投稿请登陆天津中草药杂志社网站: <http://www.中草药杂志社.中国> 或 www.tiprpress.com 点击进入 4 刊网页, 在页面左侧有“作者登录”链接, 第一次登陆按操作说明注册后进行在线投稿; 作者可通过点击“作者登录”进行稿件查询。