

基于基线等比增减设计与谱效关系的黄芩射干汤药效物质基础研究

鲁 婧¹, 赵 玥², 邹桂欣², 王光函², 任 铭¹, 高小明^{2*}, 张 颖^{2*}

1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847

2. 辽宁省中医药研究院, 辽宁 沈阳 110034

摘要: 目的 联合基线等比增减设计与谱效关系分析方法, 筛选黄芩射干汤发挥抗炎、止咳、抑菌作用的药效物质。方法 采用基线等比增减设计法设置黄芩射干汤不同质量比 (2:8、4:6、5:5、6:4、8:2), 通过超高效液相色谱法 (UPLC) 建立各质量比样品的指纹图谱; 建立二甲苯致小鼠耳肿胀模型评价其抗炎作用, 构建浓氨水致小鼠咳嗽模型评价其止咳作用, 采用体外抑菌实验评价其对金黄色葡萄球菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑菌活性; 借助灰色关联分析与偏最小二乘法回归分析构建谱效关系, 筛选药效物质。结果 5 批不同质量比黄芩射干汤样品的指纹图谱共标定 18 个共有峰, 经对照品比对, 共指认 10 个色谱峰, 依次为射干苷 (2 号峰)、野黄芩苷 (3 号峰)、野鸢尾苷 (4 号峰)、黄芩苷 (6 号峰)、千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷 (10 号峰)、汉黄芩苷 (11 号峰)、野鸢尾黄素 (12 号峰)、黄芩素 (15 号峰)、次野鸢尾黄素 (16 号峰)、黄芩黄酮 II (17 号峰); 与模型组相比, 黄芩射干汤 5:5 组小鼠耳肿胀度显著降低 ($P<0.05$), 其抗炎主要药效物质为射干苷、野鸢尾苷、黄芩素; 各质量比组小鼠咳嗽次数均显著减少 ($P<0.01$), 止咳药效物质为野鸢尾苷、千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、野鸢尾黄素; 各质量比样品均表现出一定抑菌活性, 抑菌药效物质为黄芩素、野鸢尾苷。结论 明确黄芩射干汤发挥抗炎、止咳、抑菌作用的核心药效物质, 为该方剂的质量控制提供参考。

关键词: 黄芩射干汤; 药效物质基础; 基线等比增减设计; 灰色关联分析; 偏最小二乘法回归分析; 谱效关系; 抗炎; 止咳; 抑菌; 射干苷; 野鸢尾苷; 黄芩素; 千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷; 汉黄芩苷

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)12-3652-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.12.020

Study on material basis of pharmacodynamics of Huangqin Shegan Decoction based on increase-decrease baseline geometric proportion design combined with spectrum-effect relationship

LU Jing¹, ZHAO Yue², ZOU Guixin², WANG Guanghan², REN Ming¹, GAO Xiaoming², ZHANG Ying²

1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

2. Liaoning Academy of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China

Abstract: Objective To screen the pharmacodynamic substances of Huangqin Shegan Decoction for its anti-inflammatory, antitussive and antibacterial effects by combining the increase-decrease baseline geometric proportion design and the spectrum-effect relationship analysis method. **Methods** Different mass ratios of Huangqin Shegan Decoction (2:8, 4:6, 5:5, 6:4, 8:2) were set up using the increase-decrease baseline geometric proportion design method. Fingerprint chromatograms of samples with different mass ratios were established by ultra-performance liquid chromatography (UPLC). The anti-inflammatory effect was evaluated by the xylene-induced mouse ear swelling model, the antitussive effect was evaluated by the ammonia water-induced mouse cough model, and the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* was evaluated by *in vitro* antibacterial experiments. The spectrum-effect relationship was constructed by grey correlation analysis and partial least squares regression analysis to screen the pharmacodynamic substances. **Results** A total of 18 common peaks were identified in the fingerprint

收稿日期: 2025-06-12

基金项目: 辽宁省科学技术计划项目 (2023-MSLH-147, 2023-MSLH-151, 2024-MSLH-253); 国家中医药管理局“第七批全国老中医药专家学术经验继承项目” ([2022]76)

作者简介: 鲁 婧 (1995—), 硕士研究生, 主要从事中药药效物质基础与作用机制研究。E-mail: 952517552@qq.com

*通信作者: 张 颖 (1979—), 博士, 研究员, 主要从事中药药效物质基础及质量评价研究。E-mail: xuanxuanzy@163.com

高小明 (1984—), 硕士, 主要从事中医内科学研究。E-mail: gao7957286@163.com

chromatograms of 5 batches of Huangqin Shegan Decoction with different mass ratios. By comparing with reference substances, 10 chromatographic peaks were identified, namely, tectoridin (peak 2), scutellarin (peak 3), iridin (peak 4), baicalein (peak 6), oroxylin-7-*O*-glucuronide (peak 10), wogonoside (peak 11), irigenin (peak 12), baicalein (peak 15), irisfloreutin (peak 16), and skullcapflavone II (peak 17). Compared with the model group, the ear swelling degree of the 5 : 5 group of Huangqin Shegan Decoction was significantly reduced ($P < 0.05$), and the main anti-inflammatory pharmacodynamic substances were tectoridin, iridin, and baicalein. The cough frequency of mice in each mass ratio group was significantly reduced ($P < 0.01$), and the antitussive pharmacodynamic substances were iridin, oroxylin-7-*O*-glucuronide, wogonoside, and irigenin. All samples with different mass ratios showed certain antibacterial activity, and the antibacterial pharmacodynamic substances were baicalein and iridin. **Conclusion** The core pharmacodynamic substances of Huangqin Shegan Decoction for anti-inflammatory, antitussive and antibacterial effects were identified, providing a reference for the quality control of this formula.

Key words: Huangqin Shegan Decoction; material basis of pharmacodynamics; increase-decrease baseline geometric proportion design; grey correlation analysis; partial least squares; spectral effect relationship; anti-inflammatory; antitussive; antibacterial; tectoridin; iridin; baicalein; oroxylin-7-*O*-glucuronide; wogonoside

中药药效物质基础是中医药相关研究与应用领域的核心难点与研究热点,其不仅是中药质量控制的关键依据,更是优化中成药的制备工艺、提升临床疗效的重要支撑^[1]。目前,“谱效关系”是中药药效物质基础研究中应用最广泛的方法之一,该方法可系统揭示中药化学成分与药效间的综合关联,在复杂体系的中药药效物质解析中展现出较高适用性。然而,传统中药复方的“谱效关系”研究多集中于处方药材剂量比固定的前提,通过多批次样品的指纹图谱与体外药效建立关联,这种模式存在明显局限:一方面,因需依赖多批次样品,其“效”常通过体外实验获取,导致建立的谱效关系模型难以精准反映临床实际疗效;另一方面,固定剂量比例下的多批次样品,批次间药效成分差异有限,不仅增加了谱-效关联分析的难度,也可能降低结果的准确性。

基线等比增减设计法^[2]是一种创新的中药复方配比优化技术,其核心逻辑为:在固定复方药材总剂量的前提下,对方中两种关键药材的剂量进行等比增减,通过设计多批次不同配比的样品,既能确保批次间药效物质存在显著差异,又可同步探索最优药材配比。将该方法与谱效关系结合,不仅能保留谱效关系“合理拆方”的优势,还可通过较少实验次数与体内动物实验建立关联,为中药复方及药对的药效物质研究提供了新策略。

黄芩射干汤首载于清代翁藻《医钞类编》,由黄芩、射干两味药材配伍而成,传统用于治疗肺胃两经热毒所致的喉中腥臭症。课题组前期研究^[3]已证实,该方对感染后咳嗽大鼠模型具有显著治疗作用,可有效发挥抗炎、止咳及抑菌功效。基于此,

本研究采用基线等比增减设计,构建包含 5 个不同质量比的黄芩射干汤实验组;基于超高效液相色谱(UPLC)技术建立各组样品的指纹图谱,将其与二甲苯诱导小鼠耳肿胀、浓氨水致小鼠咳嗽及体内外抑菌等药效学指标进行关联;结合灰色关联度分析与偏最小二乘回归分析(PLS-DA)^[4-5],深入分析指纹图谱与药效学指标间的谱效关系。本研究旨在筛选黄芩射干汤治疗感染后咳嗽的关键药效物质,为该方的质量控制与临床应用提供科学支撑,同时为中药复方药效物质基础研究拓展新视角。

1 材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC H-Class 超高效液相色谱仪,沃特世科技(上海)有限公司;KQ-250DB 超声波清洗,昆山舒美超声仪器有限公司;YLS-8A 诱咳引喘仪,山东省医学科学院设备站;HL-MCF 麦氏比浊仪,北京合力科创科技发展有限公司。

1.2 药品与主要试剂

对照品射干苷(批号 100574,质量分数>98%)、野黄芩苷(批号 101091,质量分数>98%)、野鸢尾苷(批号 100413,质量分数>98%)、黄芩苷(批号 200535-201204,质量分数>98%)、千层纸素 A-7-*O*-葡萄糖醛酸苷(批号 102373,质量分数>98%)、汉黄芩苷(批号 103030,质量分数>98%)、野鸢尾黄素(批号 100509,质量分数>98%)、黄芩素(批号 101124,质量分数 97.8%)、黄芩黄酮 II(批号 YJD105,质量分数>98%)、次野鸢尾黄素(批号 201808812,质量分数>98%)均购自江苏永健医药科技有限公司;甲基- β -环糊精(批号 C2017190),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;乙腈(批号

21125304), 美国天地有限公司; 甲醇 (批号 R141098), 北京迪科马科技有限公司; 磷酸 (批号 C6C311), 德山药品工业株式会社; 胰酪大豆胨琼脂培养基 (批号 20200218), 北京奥博星生物技术有限责任公司; 二甲苯 (批号 20211112), 沈阳市新化试剂厂; 氨水 (批号 20200102), 天津市北辰方正试剂厂。黄芩 (批号 200601)、射干 (批号 200401), 均由辽宁中医药大学附属第二医院提供, 经辽宁省中医药研究院张颖研究员鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎; 苏黄止咳胶囊 (批号 22042591, 扬子江药业集团北京海燕药业有限公司); 醋酸地塞米松 (批号 20111461, 新乡市常乐制药有限责任公司); 枸橼酸喷托维林片 (批号 20210507, 丹东医创药业有限责任公司)。

1.3 动物

SPF 级昆明小鼠, 体质量 18~22 g, 动物许可证号: SCXK (辽) 2020-0001, 购于辽宁长生生物技术有限公司。动物饲养于辽宁中医药大学 SPF 级动物实验室, 自由进食饲料以及饮水, 在进行 1 周的适应性饮食后应用于实验, 本研究所使用的实验动物严格遵守辽宁中医药大学伦理规定, 批准号 21000042022030。

1.4 菌株

金黄色葡萄球菌 (STA, 批号 9a6-1) 购自中国食品药品检定研究院; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA, 批号 220492) 由辽宁中医药大学附属第二医院检验科微生物室提供。

2 方法与结果

2.1 黄芩射干汤的基线等比增减设计

本研究采用基线等比增减设计法, 以黄芩射干汤原方中黄芩与射干 5:5 的质量比为基线, 向两侧扩展设定配比。具体操作如下: 分别称取黄芩与射干药材, 按 2:8、4:6、5:5、6:4、8:2 的质量比混合, 混合药材采用水煎煮法提取。首次煎煮加入 8 倍药材量的水, 提取 1 h 后趁热滤过取滤液; 第 2 次煎煮加入 6 倍药材量的水, 提取 40 min 后趁热滤过取滤液。合并 2 次滤液, 浓缩至稠膏状, 经减压干燥后粉碎为细粉, 备用。采用超高效液相色谱 (UPLC) 法测定, 对应上述配比的黄芩射干汤细粉中, 黄芩苷质量分数依次为 (33.05±0.02)、(80.02±0.05)、(140.90±0.09)、(134.10±0.87)、

(171.90±1.12) mg·g⁻¹。

2.2 不同质量比黄芩射干汤指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件 采用 ACQUITY UPLC HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱; 流动相为 0.1% 磷酸水溶液 (A)-甲醇 (B)-0.72% β-CD 环糊精-0.1% 磷酸水溶液 (C); 梯度洗脱 0~15 min, 72% A, 28% B; 15~25 min, 72%→65% A, 28%~35% B; 25~35 min, 65% A, 35% B; 35~40 min, 65%→0 A, 35%→40% B, 0→60% C; 40~60 min, 40%→50% B, 60%→50% C; 60~70 min, 0→50% A, 50%→50% B, 50→0 C; 70~75 min, 50%→40% A, 50%→60% B; 体积流量 0.2 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 280 nm。

2.2.2 供试品溶液的制备 分别取“2.1”提取物粉末 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W、频率 40 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用 70% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 2.5 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取射干苷、野黄芩苷、野鸢尾苷、黄芩苷、千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、野鸢尾黄素、黄芩素、次野鸢尾黄素、黄芩黄酮 II 对照品适量, 加二甲基亚砜少许使其溶解, 用 50% 甲醇配制成质量浓度分别为 17.300、53.500、26.860、99.500、81.280、17.470、36.910、77.540、8.859、4.640 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.4 精密度考察 取“2.2.2”项下供试品溶液 (5:5), 按“2.2.1”色谱条件连续进样 6 次, 选取响应值较大, 保留时间适中的 11 号峰为参照峰, 结果显示各峰相对保留时间 RSD 为 0.06%~0.51%, 相对峰面积 RSD 为 1.26%~3.75%, 均小于 5%, 表明该仪器稳定, 精密度良好。

2.2.5 重复性考察 取“2.1”项下供试品溶液 (5:5) 6 份, 按“2.2.1”色谱条件进样测定, 以 11 号峰为参照峰, 结果显示各峰相对保留时间 RSD 为 0.07%~0.88%, 相对峰面积 RSD 为 1.36%~4.98%, 均小于 5%, 表明该分析方法重复性良好。

2.2.6 稳定性考察 取“2.2.2”项下供试品溶液 (5:5), 分别于 0、4、8、12、24、36 h 在“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 以 11 号峰为参照峰, 结果显示各峰相对保留时间 RSD 为 0.23%~1.16%, 相

对峰面积 RSD 为 1.15%~4.88%，均小于 5%，表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

2.2.7 不同质量比黄芩射干汤指纹图谱的建立 取 5 种不同质量比黄芩射干汤提取物粉末，按“2.2.2”项方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件分析，分别采集 5 种不同质量比黄芩射干汤提取物的指纹图谱，将指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版），设定 5:5 组样品的色谱图

校正法及 Mark 峰自动匹配生成 UPLC 叠加指纹图谱，采用中位数法生成相应的对照指纹图谱（R），标定 18 个共有峰。黄芩-射干质量比 2:8、4:6、5:5、6:4、8:2 提取物的指纹图谱与 R 相似度分别为 0.999、0.999、0.999、1.000、0.999，指纹图谱见图 1。

通过将所得色谱峰保留时间与供试品溶液的保留时间进行比对，共指认 10 个色谱峰（图 2），分别为射干苷（2 号峰）、野黄芩苷（3 号峰）、野

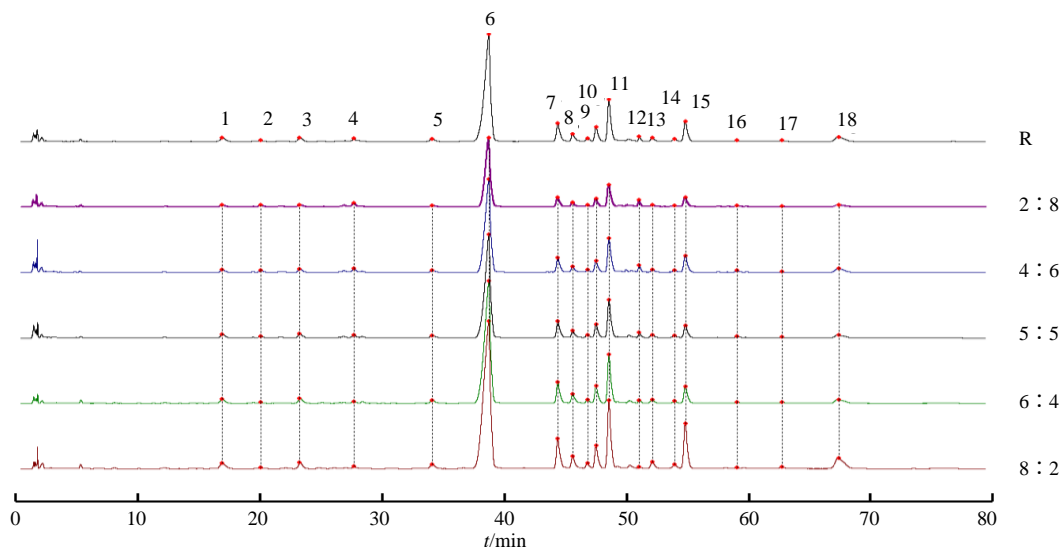
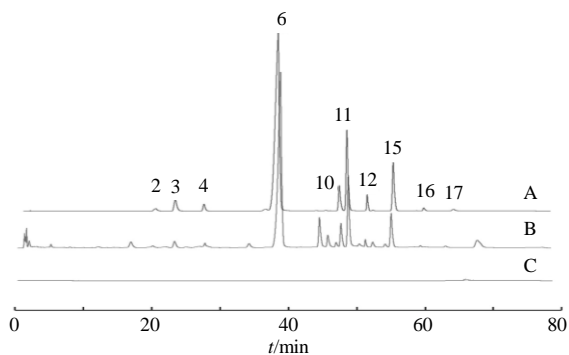


图 1 不同质量比黄芩射干汤提取物 UPLC 指纹图谱

Fig. 1 UPLC fingerprint profiles of Huangqin Shengan Decoction extracts with different mass ratios



2-射干苷；3-野黄芩苷；4-野鸢尾苷；6-黄芩苷；10-千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷；11-汉黄芩苷；12-野鸢尾黄素；15-黄芩素；16-次野鸢尾黄素；17-黄芩黄酮 II。

2-tectoridin；3-scutellarin；4-iridin；6-baicalin；10-oroxilin A-7-O-glucuronide；11-wogonoside；12-irigenin；15-baicalin；16-irisflorentin；17-skullcapflavone II。

图 2 混合对照品（A）、黄芩射干汤供试品溶液（质量比 5:5，B）、空白溶剂（C）的溶液 UPLC 图

Fig. 2 UPLC chromatograms of mixed reference substances solution (A), Huangqin Shengan Decoction test solution (mass ratio 5:5, B), and blank solvent (C)

鸢尾苷（4 号峰）、黄芩苷（6 号峰）、千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷（10 号峰）、汉黄芩苷（11 号峰）、野鸢尾黄素（12 号峰）、黄芩素（15 号峰）、次野鸢尾黄素（16 号峰）、黄芩黄酮 II（17 号峰）。

2.3 不同质量比黄芩射干汤抗炎作用研究

取雄性昆明小鼠 80 只，按体重随机分为 8 组，每组 10 只，分别为模型组，苏黄止咳胶囊（530 mg·kg⁻¹）组，醋酸地塞米松（1.56 mg·kg⁻¹）^[6]组，黄芩射干汤 2:8（0.85 g·kg⁻¹）组，黄芩射干汤 4:6（1.04 g·kg⁻¹）组，黄芩射干汤 5:5（1.39 g·kg⁻¹）组，黄芩射干汤 6:4（1.29 g·kg⁻¹）组，黄芩射干汤 8:2（1.36 g·kg⁻¹）组，提取物给药剂量均相当于生药量 4.16 g·kg⁻¹（2 倍临床等效剂量），用蒸馏水配成相应药液，各组动物 ig 给予 20 mL·kg⁻¹^[7]，连续 ig 给药 7 d。

末次给药后 60 min，每组每只鼠左耳涂致炎剂二甲苯 20 μL（背腹面各 10 μL），停留 15 s，30 min 后将小鼠安乐死，剪下双耳，用打孔器在双耳同一

部位打下两耳片，电子天平称质量，计算肿胀度、肿胀率、耳肿胀抑制率，结果见表 2，与模型组比较，黄芩射干汤 5：5 组、醋酸地塞米松组耳肿胀度显著降低（ $P<0.05$ ）。

肿胀度=右耳质量-左耳质量

肿胀率=（右耳质量-左耳质量）/左耳质量

耳肿胀抑制率=（模型组耳肿胀度-给药组耳肿胀度）/模型组耳肿胀度

2.4 不同质量比黄芩射干汤止咳作用研究

取昆明小鼠 80 只，雌雄各半，按体质量随机分为 8 组，每组 10 只，分别为模型组、苏黄止咳胶囊（530 mg·kg⁻¹）组、枸橼酸喷托维林片（13 mg·kg⁻¹）组^[8]，以及黄芩射干汤实验组（按黄芩与射干的不同质量比分为 2：8、4：6、5：5、6：4、8：2，且各组均 ig 给予 20 mL·kg⁻¹“2.1”项下制备的提取物，提取物给药剂量均相当于生药量 4.16 g·kg⁻¹），

连续 ig 给药 7 d。末次给药后 30 min，将小鼠放入加有浓氨水的诱咳引喘仪内，雾化 13 s 观察记录小鼠的咳嗽潜伏期（从喷雾开始至动物出现咳嗽的时间）和 2 min 内咳嗽次数，计算咳嗽抑制率，结果见表 3。与模型组比较，黄芩射干汤各实验组、苏黄止咳胶囊组咳嗽次数显著减少（ $P<0.05$ 、0.01）。

咳嗽抑制率=（模型组咳嗽次数-给药组咳嗽次数）/模型组咳嗽次数

2.5 不同质量比黄芩射干汤抑菌作用研究

取浓度分别为 1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹ 的 STA 菌液与 1.0×10⁶ CFU·mL⁻¹ 的 MRSA 菌液各 0.1 mL，分别加入至琼脂平皿中，用涂布棒将菌液均匀涂布，待菌液完全吸收后，使用 1 mL 移液枪枪头在每个平皿上均匀打孔，每个平皿共打 4 个孔。选取质量比为 2：8、4：6、5：5、6：4、8：2 的提取物，加

表 2 不同质量比黄芩射干汤提取物对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响（ $\bar{x} \pm s, n=10$ ）

Table 2 Effects of different proportions of Huangqin Shegan Decoction extracts on xylene-induced ear swelling in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	左耳质量/mg	右耳质量/mg	肿胀度/mg	肿胀率/%	肿胀抑制率/%
模型	—	17.68±3.08	13.04±1.31	4.63±3.36	36.75±28.48	—
苏黄止咳胶囊	0.53	16.51±3.40	12.64±1.14	3.55±2.52	27.27±18.40	25.82
醋酸地塞米松	1.56×10 ⁻³	12.87±2.10	11.27±1.85	1.60±1.20*	14.71±11.30	59.98
黄芩射干汤 2：8	0.85	17.02±3.75	12.71±1.05	3.12±2.97	32.70±27.11	11.02
黄芩射干汤 4：6	1.04	15.59±1.73	12.99±1.18	2.60±1.88	20.65±15.37	43.82
黄芩射干汤 5：5	1.39	14.86±1.24	12.72±0.45	2.00±1.33*	15.85±10.40	56.86
黄芩射干汤 6：4	1.29	15.76±2.56	12.58±0.85	3.18±2.00	24.86±15.36	32.36
黄芩射干汤 8：2	1.36	16.79±3.27	12.72±0.87	4.07±3.07	32.05±24.08	12.80

与模型组比较：* $P<0.05$ 。

* $P<0.05$ vs model group.

表 3 不同质量比黄芩射干汤提取物对浓氨水所致小鼠咳嗽的影响（ $\bar{x} \pm s, n=10$ ）

Table 3 Different quality ratios of Huangqin Shegan Decoction extract on cough induced by concentrated ammonia water in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	潜伏期/s	咳嗽次数/次	咳嗽抑制率/%
模型	—	34.03±11.59	45.70±9.21	—
苏黄止咳胶囊	0.530	34.67±8.67	33.00±13.12*	27.79
枸橼酸喷托维林片	0.013	32.65±6.79	41.90±5.74	8.32
黄芩射干汤 2：8	0.850	31.06±6.66	33.70±9.17**	26.26
黄芩射干汤 4：6	1.040	42.01±12.00	30.67±8.46**	32.90
黄芩射干汤 5：5	1.390	43.23±11.68	29.80±9.99**	34.79
黄芩射干汤 6：4	1.290	43.60±12.71	28.60±9.73**	37.42
黄芩射干汤 8：2	1.360	45.88±18.89	33.70±16.80**	26.26

与模型组比较：* $P<0.05$ ** $P<0.01$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group.

入无菌蒸馏水溶解配制药液，确保各组药液的生药量均为 $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，且所有药液均现用现配。随后，向平皿的孔中分别加入对应药液（针对 STA 的药液质量浓度为 $0.5\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，针对 MRSA 的药液质量浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）及 $150\text{ }\mu\text{L}$ 无菌蒸馏水（作为阴性对照），待孔中药液完全吸收后，将平皿放入 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 $18\sim 24\text{ h}$ 。培养结束后，使用游标卡尺测量各组抑菌圈的直径，结果见表 4。不同质量比黄芩射干汤对 STA、MRSA 均有抑制作用。

2.6 指纹图谱与药效的谱效关系分析

2.6.1 灰色关联度分析法 运用 SPSS PRO 软件，以抗炎、止咳、抑菌作用药效指标值作为母序列，以影响药效指标的 5 种不同质量比黄芩射干汤提取

物的 18 个共有峰的峰面积（ $X_1\sim X_{18}$ ）为子序列，进行灰色关联度分析。采用均值化法进行无量纲化处理，得到均值化的结果，将分辨系数 ρ 设为 0.5，由此得出灰色关联度值，进而对灰色关联度值进行排序，见表 5。由此可知与止咳作用关联度大于 0.6 的峰有 10 个，大小排序为 $X_2=X_4>X_{16}>X_{12}>X_1>X_5>X_{11}>X_8=X_9>X_{10}$ ；与抗炎作用关联度大于 0.6 的峰有 17 个，大小排序为 $X_2>X_4>X_{14}>X_{12}>X_{16}>X_{18}>X_{15}>X_{13}>X_9>X_3>X_{11}>X_1>X_{10}>X_6>X_7>X_5>X_8$ ；与抑 STA 作用关联度大于 0.6 的峰有 8 个，大小排序为 $X_{16}>X_2>X_4>X_{13}>X_{12}>X_{14}>X_{18}>X_{15}$ ；与抑 MRSA 作用关联度大于 0.6 的峰有 4 个，大小排序为 $X_2>X_4>X_{12}>X_{16}$ 。

表 4 不同质量比黄芩射干汤提取物抑菌圈直径（ $\bar{x}\pm s,n=3$ ）

Table 4 Diameters of inhibition zones of different quality ratios of Huangqin Shegan Decoction extract ($\bar{x}\pm s,n=3$)		
组别	STA 抑菌圈直径/mm	MRSA 抑菌圈直径/mm
黄芩射干汤 2：8	14.53±0.25	19.37±0.49
黄芩射干汤 4：6	17.12±0.34	23.10±0.10
黄芩射干汤 5：5	20.63±0.31	25.30±0.70
黄芩射干汤 6：4	19.62±0.73	25.77±0.83
黄芩射干汤 8：2	20.47±0.49	26.33±0.29
无菌蒸馏水	—	—

表 5 不同质量比黄芩射干汤提取物药效作用的关联度

Table 5 Correlation of pharmacological effects of different quality ratios of Huangqin Shegan Decoction extract											
峰号	止咳 关联度	排序	峰号	抗炎 关联度	排序	峰号	抑 STA 关联度	排序	峰号	抑 MRSA 关联度	排序
X ₁	0.618	5	X ₁	0.629	12	X ₁	0.584	9	X ₁	0.546	9
X ₂	0.744	1	X ₂	0.778	1	X ₂	0.671	2	X ₂	0.661	1
X ₃	0.594	12	X ₃	0.632	10	X ₃	0.556	15	X ₃	0.523	15
X ₄	0.744	1	X ₄	0.761	2	X ₄	0.669	3	X ₄	0.642	2
X ₅	0.610	6	X ₅	0.619	16	X ₅	0.569	10	X ₅	0.533	10
X ₆	0.596	11	X ₆	0.624	13	X ₆	0.555	16	X ₆	0.521	16
X ₇	0.589	14	X ₇	0.622	15	X ₇	0.548	18	X ₇	0.515	17
X ₈	0.603	8	X ₈	0.609	17	X ₈	0.562	12	X ₈	0.526	14
X ₉	0.603	8	X ₉	0.644	9	X ₉	0.562	13	X ₉	0.529	12
X ₁₀	0.602	10	X ₁₀	0.624	14	X ₁₀	0.562	14	X ₁₀	0.527	13
X ₁₁	0.605	7	X ₁₁	0.631	11	X ₁₁	0.566	11	X ₁₁	0.531	11
X ₁₂	0.681	4	X ₁₂	0.728	4	X ₁₂	0.643	5	X ₁₂	0.635	3
X ₁₃	0.588	15	X ₁₃	0.696	8	X ₁₃	0.644	4	X ₁₃	0.597	5
X ₁₄	0.579	16	X ₁₄	0.745	3	X ₁₄	0.622	6	X ₁₄	0.592	6
X ₁₅	0.558	18	X ₁₅	0.701	7	X ₁₅	0.602	8	X ₁₅	0.562	8
X ₁₆	0.691	3	X ₁₆	0.717	5	X ₁₆	0.676	1	X ₁₆	0.634	4
X ₁₇	0.594	12	X ₁₇	0.587	18	X ₁₇	0.552	17	X ₁₇	0.514	18
X ₁₈	0.563	17	X ₁₈	0.706	6	X ₁₈	0.614	7	X ₁₈	0.573	7

2.6.2 PLS-DA 采用 SIMCA 14.1 软件, 将关联度大于 0.6 的共有色谱峰峰面积作为自变量, 分别与不同药效指标进行 PLS-DA, 回归分析成分数为 2, 模型预测参数见表 6, 其中, R_X^2 、 R_Y^2 、 Q^2 均大于 0.5, 表明建立的模型可靠, 预测能力较强。不同质量比黄芩射干汤提取物与 3 种药效指标的 VIP 值见图 3。结果显示, 药效指标为耳肿胀抑制率时, X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{18} 为正相关, VIP 值大于 1 的 X_2 (射干苷)、 X_4 (野鸢尾苷)、

X_{15} (黄芩素)、 X_{18} 为主要药效峰; 药效指标为咳嗽抑制率时, 所有指标均为正相关, VIP 值大于 1 的 X_4 (野鸢尾苷)、 X_{10} (千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷)、 X_{11} (汉黄芩苷)、 X_{12} (野鸢尾黄素) 为主要药效峰; 药效指标为 STA 的抑菌圈直径时, X_4 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{18} 为正相关, VIP 值大于 1 的 X_{15} (黄芩素)、 X_{18} 为主要药效峰; 药效指标为 MRSA 的抑菌圈直径时, X_4 为正相关, 且 VIP 值大于 1, 认为 X_4 (野鸢尾苷) 为主要药效峰。

表 6 不同药效作用的模型预测参数
Table 6 Model prediction parameters of different pharmacological effects

组别	成分数	R_X^2/cum	R_Y^2/cum	Q^2/cum
抗炎作用	2	0.995	0.913	0.861
止咳作用	2	0.996	0.874	0.775
抑 STA 作用	2	0.987	0.836	0.513
抑 MRSA 作用	2	0.994	0.771	0.529

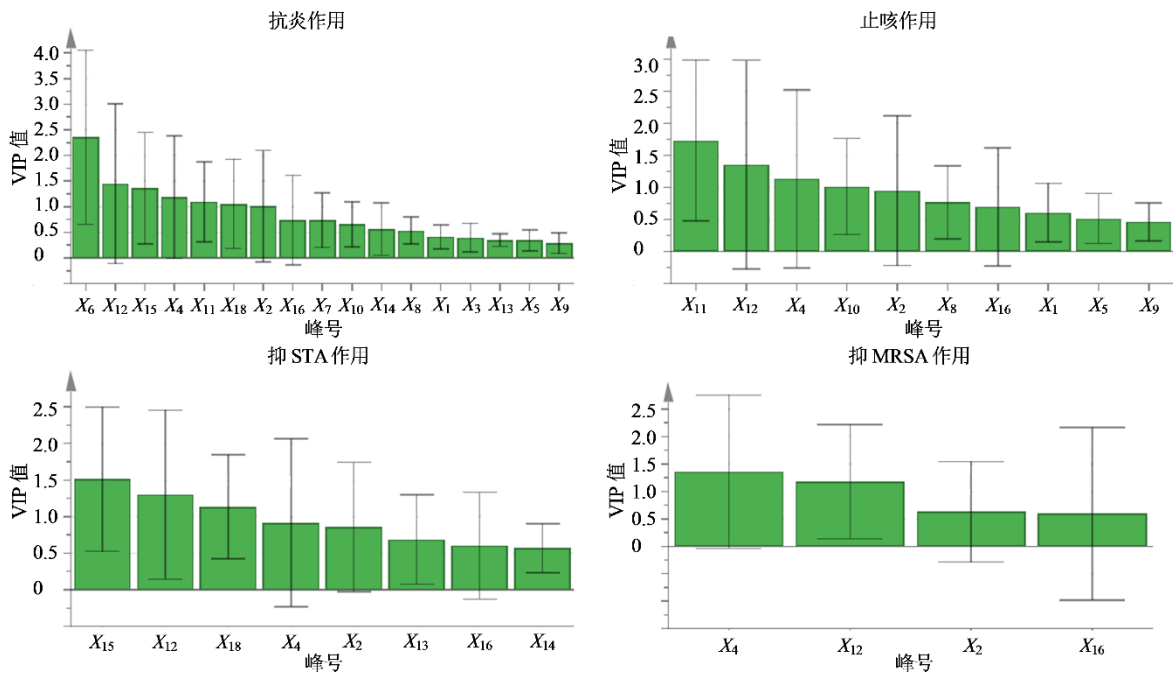


图 3 不同药效指标 VIP 得分图
Fig. 3 VIP value of different pharmacodynamic indicators

3 讨论

在中药谱效关系研究领域, “效” 通常指中药的治疗效果。药效指标的筛选需紧密结合研究药物的自身特性与传统功效, 优先选用检测技术经典、操作便捷且灵敏度高的指标, 同时确保所选指标能精准反映中药的核心治疗作用。在前期研究中, 课题组采用感染后咳嗽模型^[9], 进行了黄芩射干汤的药

效与作用机制研究, 在明确其疗效的基础上, 进一步围绕感染后咳嗽的病理机制 (涵盖细菌感染与炎症反应) 及临床表现 (如咳嗽症状), 通过小鼠耳肿胀炎症模型、浓氨水诱咳实验、体外抑菌实验等药效学指标, 深入探究指纹图谱与药效学指标间的谱效关系, 为黄芩射干汤药效物质基础的后续研究提供科学依据。

在中药指纹图谱研究中,单味药材因成分相对简单、获取与辨识难度较低,其谱效相关研究应用更为广泛。与之相比,中药复方的化学成分极为复杂,且不同药材中有效成分的极性差异显著,难以在单一图谱中实现全面表征,这导致复方药材的谱效相关研究相对匮乏。本研究综合分析黄芩与射干在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)中的化合物种类,并结合文献报道,选择了以黄酮类成分为重点的提取方法和检测技术,建立了指纹图谱;最终确定黄芩射干汤的药效物质基础为射干苷、野鸢尾苷、黄芩苷、千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、野鸢尾黄素、黄芩素,并明确各成分对药效影响的贡献排序:止咳作用为野鸢尾苷>野鸢尾黄素>汉黄芩苷>千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷;抗炎作用为射干苷>野鸢尾苷>黄芩素;抑菌作用为野鸢尾苷>黄芩素。

在建立不同质量比黄芩射干汤提取物 UPLC 指纹图谱过程中,课题组参考黄芩、射干中有效成分测定的相关文献及前期相关研究,为了实现对射干成分中的同分异构体的分离,本实验保留课题组^[10-11]前期的流动相 0.72% β -CD 环糊精-0.1%磷酸-水溶液。在色谱条件筛选阶段发现,汉黄芩苷与千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷的色谱峰无法完全分离,且射干苷与野鸢尾苷的保留时间处出现双峰。为优化色谱峰分离效果,实验在保持流动相 A 与流动相 C 组成不变的前提下,通过调整流动相 B 的极性进行考察。结果表明,当流动相 B 为纯甲醇溶液时,双峰、肩峰等分离问题均得到解决,故最终确定该体系为实验所用色谱条件。

黄芩射干汤的抗炎、止咳及抑菌作用,主要依赖于黄芩、射干两味药材及其主要活性成分的协同作用,相关研究已从多维度验证这一机制:李巧玲等^[12]基于网络药理学与实验验证发现,黄芩射干汤可通过调控核因子(NF)- κ B/NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)轴介导的炎症信号通路,抑制下游肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与白细胞介素-1 β (IL-1 β)的表达,从而发挥治疗小儿肺炎的作用;胡青等^[13]通过构建过敏性鼻炎小鼠模型证实,黄芩素能调控 NF- κ B/信号转导与转录激活因子 3(STAT3)/丝裂原活化蛋白激酶(ERK)信号通路,抑制蛋白磷酸化水平,进而减轻炎症反应;董国良^[14]在慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠模型与 BEAS-2B 细胞炎症模型中发现,黄芩苷的抗炎机制可能与

NF- κ B 信号通路相关——通过增强组蛋白去乙酰化酶 2(HDAC2)活性,上调 HDAC2、糖皮质激素受体(GR)、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)的蛋白表达,同时抑制 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1(KEAP-1)、NF- κ B 的蛋白及 mRNA 表达,最终缓解炎症;张乃月等^[15]在脂多糖(LPS)诱导的人脂肪间充质干细胞炎症反应模型中发现,射干苷可抑制 IL-6、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、TNF- α 、 γ 干扰素(IFN- γ)等促炎因子的分泌,从而抑制炎症反应;熊豪等^[16]通过 LPS 诱导细胞炎症模型证实,野鸢尾苷能通过胆碱能抗炎通路,调节巨噬细胞释放 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子,发挥抗炎作用;梁爽^[17]采用垂钓技术研究发现,黄芩苷可显著降低咳嗽相关因子瞬时受体电位锚蛋白 1(TRPA1)、P 物质(SP)及降钙素基因相关肽(CGRP)的表达,延缓咳嗽发生;左芳等^[18]研究表明,射干中的野鸢尾黄素对呼吸道合胞病毒(RSV)诱导的感染后咳嗽模型豚鼠具有抗气道炎症作用,可有效缓解咳嗽症状;张洛嘉等^[19]发现,黄芩素能通过下调 *icaA* 与 *cidA* 基因的表达,阻断多糖胞间黏附素(PIA)的合成及胞外 DNA(eDNA)的释放,从而抑制金黄色葡萄球菌菌株生物被膜的形成;Luo 等^[20]等研究证实,黄芩苷作为群体感应抑制剂,在小鼠腹膜植入感染模型中可抑制生物膜形成,同时激活辅助性 T 细胞 1(Th1)诱导的免疫反应,促进铜绿假单胞菌的清除。综上所述,黄芩射干汤提取物的药效发挥并非依赖单一成分,而是多种成分协同作用的结果:其中黄芩侧重于广谱抗炎、抗氧化及抑菌,射干则在利咽、止咳及抗过敏方面表现出显著优势。这种多成分、多靶点、多途径的作用模式,是黄芩射干汤能够有效应对复杂炎症与感染状态的核心机制。本研究初步揭示了黄芩射干汤抗炎、止咳、抑菌作用的药效物质基础,为该方剂的质量控制与评价、以及临床合理应用提供了重要参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 汪小莉,刘晓,韩燕全,等. 中药药效物质基础主要研究方法概述 [J]. 中草药, 2018, 49(4): 941-947.
Wang X L, Liu X, Han Y Q, et al. Overview on main research method of effective material basis of Chinese materia Medica [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(4): 941-947.
- [2] 商洪才,张伯礼,王永炎,等. 一种适用于中药小复方

- 配比优选设计方法的建立 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(3): 1-3.
- Shang H C, Zhang B L, Wang Y Y, et al. A method for proportion screening of TCM small prescriptions [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2003, 9(3): 1-3.
- [3] 王晓月. 基于分子对接的黄芩射干汤抗炎机制和质量控制研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2019.
- Wang X Y. Research on the anti-inflammatory mechanism and control of Huangqin Shegan Decoction based on molecular docking [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2019.
- [4] 舒宇航, 简祈盼, 郑宇锟, 等. 基于灰色关联度与正交偏最小二乘法分析的黄连抗菌谱效关系研究 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(9): 2298-2302.
- Shu Y H, Jian Q P, Zheng Y K, et al. Study on the relationship between antibacterial spectrum and activity of *Coptis chinensis* based on grey correlation degree and orthogonal partial least squares analysis [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(9): 2298-2302.
- [5] 黄广伟, 陈淮臣, 刘渝, 等. 基于灰色关联度和偏最小二乘回归分析的芩苏胶囊抑菌谱效关系研究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(6): 1060-1069.
- Huang G W, Chen H C, Liu Y, et al. Research on spectrum-effect relationship of bacteriostasis in Qinsu Capsule based on grey correlation degree and partial least squares regression analysis [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(6): 1060-1069.
- [6] 包玉龙, 甘雨, 范英兰, 等. 射干止咳胶囊抗炎作用初探 [J]. 实验动物科学, 2021, 38(06): 16-19.
- Bao Y L, Gan Y, Fan Y L, et al. Preliminary study on anti-inflammatory effect of Shegan Zhike Capsule [J], 2021, 38(06): 16-19.
- [7] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. (第 4 版) 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1439-1442.
- Wei W, Wu X M, Li Y J. *Pharmacological Experimental Methodology* [M]. (4th Edition) Beijing: Health Publishing House, 2010: 1439-1442.
- [8] 甘雨, 马跃海, 包玉龙, 等. 射干止咳胶囊缓解感染后咳嗽及对花生四烯酸代谢通路的影响 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(4): 828-831.
- Gan Y, Ma Y H, Bao Y L, et al. Effects of Shegan Zhike Capsule on relieving post-infectious cough and inhibiting arachidonic acid metabolism pathway [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(04): 828-831.
- [9] Zhu J, Li F X. Effects of Qufeng Xuanfei Decoction in animal model of post-infectious cough [J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 70(2): 881-885.
- [10] 姜鸿, 王光函, 辛旭阳, 等. UPLC 法测定射干药材中 10 个异黄酮类成分的含量 [J]. 中国药房, 2019, 30(23): 3216-3220.
- Jiang H, Wang G H, Xin X Y, et al. Content determination of 10 isoflavones in *Belamcanda chinensis* by UPLC [J]. Chin Pharm, 2019, 30(23): 3216-3220.
- [11] 姜鸿, 齐越, 邹桂欣, 等. 甲基- β -环糊精手性流动相添加剂法拆分射干中异构体和结构相近化合物 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(1): 1-3.
- Jiang H, Qi Y, Zou G X, et al. Separation of isomer and similar structure compounds in *Belamcandae Rhizoma* by methyl- β -CD chiral mobile phase additive HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2017, 34(1): 1-3.
- [12] 李巧玲, 彭静, 周本宏, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨黄芩射干汤治疗小儿肺炎的抗炎作用机制 [J]. 中南药学, 2023, 21(8): 2009-2015.
- Li Q L, Peng J, Zhou B H, et al. Effect and anti-inflammation mechanism of Huangqin Shegan Decoction for pediatric pneumonia based on network pharmacology and experimental studies [J]. Cent South Pharm, 2023, 21(8): 2009-2015.
- [13] 胡青, 颜微微, 王文广, 等. 黄芩素通过抑制 NF- κ B/STAT3/ERK 信号通路改善过敏性鼻炎小鼠的炎症反应 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(1): 165-170.
- Hu Q, Yan W W, Wang W G, et al. Scutellarin improves the inflammatory response of allergic rhinitis mice by inhibiting NF- κ B/STAT3/ERK signaling pathway [J]. Chin J Gerontol, 2024, 44(1): 165-170.
- [14] 董国良. 黄芩苷干预 COPD 体内外模型抗炎/抗氧化作用及机制研究 [D]. 南昌: 南昌大学. 2024.
- Dong G L. Study on Anti-inflammatory/antioxidant effects and mechanism of baicalin for treatment of COPD models *in vivo* [D]. Nanchang: Nanchang University. 2024.
- [15] 张乃月, 朱榕嘉, 尹秀平, 等. 射干苷和桃叶珊瑚苷抑制 LPS 诱导的人脂肪间充质干细胞炎症反应 [J]. 基础医学与临床, 2019, 39(7): 961-966.
- Zhang N Y, Zhu R J, Yin X P, et al. Tectoridin and aucubin inhibit LPS-induced inflammatory response of human adipose mesenchymal stem cells [J]. Basic Clin Med, 2019, 39(7): 961-966.
- [16] 熊豪, 高萌, 杨元丰, 等. 野鸢尾苷的制备及其体外抗炎活性机制的初探 [J]. 华西药理学杂志, 2023, 38(5): 512-516.
- Xiong H, Gao M, Yang Y F, et al. Preparation of iridin and study on its anti-inflammatory mechanism *in vitro* [J]. West China J Pharm Sci, 2023, 38(5): 512-516.
- [17] 梁爽. 芩百清肺浓缩丸及其活性成分黄芩苷对咳嗽因子 TRPA1 等表达影响研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江省中医药科学院. 2022.
- Liang S. Effect of Qinbai Qingfei concentrated Pill and its

- active ingredient baicalin on expression of cough factor TRPA1 [D]. Harbin: Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine. 2022.
- [18] 左芳, 王光函, 姜鸿, 等. 射干中野鸢尾黄素对合胞病毒感染豚鼠感染后咳嗽及气道炎症的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(9): 1967-1971, 2016.
- Zuo F, Wang G H, Jiang H, et al. Effects of irigenin in Shegan (*Belamcanda chinensis*) on cough and airway inflammation in guinea pigs infected with respiratory syncytial virus [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2019, 46(9): 1967-1971, 2016.
- [19] 张洺嘉, 谢明杰. 黄芩素抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(3): 334-340.
- Zhang M J, Xie M J. Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm by baicalein [J]. Chin J Biochem Mol Biol, 2018, 34(3): 334-340.
- [20] Luo J, Dong B Y, Wang K, et al. Baicalin inhibits biofilm formation, attenuates the quorum sensing-controlled virulence and enhances *Pseudomonas aeruginosa* clearance in a mouse peritoneal implant infection model [J]. PLoS One, 2017, 12(4): e0176883.

[责任编辑 孙英杰]