

## • 药理与临床 •

## 藿香正气水抑菌作用药效物质基础及质量控制方法研究

张洪坤, 黄 洋, 李 康\*, 吴韶辉

广东药学院药科学院, 广东 广州 510006

**摘要:** 目的 探讨藿香正气水 ig 大鼠后肠道内容物指纹图谱特征峰所代表的化学成分与抑菌药效的相关性, 为建立“代谢物指纹图谱与药效关联”的中药质量控制模式提供理论依据和数据支持。方法 自制 11 批藿香正气水, ig 给予大鼠后 40 min 处死动物, 制备肠道内容物样品, 检测藿香正气水抑菌效果, 建立 HPLC 指纹图谱, 并用化学计量学方法将抑菌圈直径与指纹图谱数据进行相关分析, 以期寻找控制藿香正气水质量的药效成分群。结果 以强迫引入法进行多元线性回归分析, 有 10 个与抑菌活性密切相关的色谱峰被引入回归方程, 其中呈正相关的色谱峰有 4 个(6、13、26、30 号), 且 26 号峰(和厚朴酚)经实验证明具有抑菌作用。结论 运用所建立的数学模型找到可控制藿香正气水质量的体内药效成分群, 且证明相关成分具有抑菌作用, 这些成分群对藿香正气水质量控制具有参考价值, 该法切实可行。

**关键词:** 藿香正气水; 抑菌作用; 药效成分群; 质量控制; 物质基础; 谱效关系

中图分类号: R285.5; R927.11 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)07-1349-06

## Antibacterial material basis and quality control of Huoxiang Zhengqi Tincture

ZHANG Hong-kun, HUANG Yang, LI Kang, WU Shao-hui

Department of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

**Abstract:** **Objective** After ig administration of Huoxiang Zhengqi Tincture (HZZT) to rats, the correlation between the homologous chemical composition from intestinal contents represented by fingerprint characteristic peaks and antibacterial efficacy was investigated to provide the theoretical basis and data for the model of quality control in Chinese materia medica by establishing “the fingerprint of metabolites association with efficacy”. **Methods** Eleven batches of HZZT were self-designed and rats were killed in 40 min after ig administration. The intestinal contents samples were obtained, the antibacterial effect was determined, the HPLC fingerprint was established, and simultaneously the correlation analysis between the inhibition zone diameter and fingerprint data was conducted by chemometric methods, so as to find the effective component group that could control the quality of HZZT. **Results** Multiple linear regression analysis was carried out. Ten peaks related to the antibacterial activity were closely induced to the regression equation, among which peaks 6, 13, 26, and 30 were positively correlated, and peak 26 showed the antibacterial effect proved by the experiments. **Conclusion** The component groups with curative effect *in vivo* which could control the quality of HZZT are basically achieved by applying mathematical model. In addition, the relevant components prove to have antibacterial effect and the method is feasible. **Key words:** Huoxiang Zhengqi Tincture (HZZT); antibacterial effect; component groups with curative effect; quality control; material basis; spectral-activity relationship

藿香正气水出自宋代的《太平惠民和剂局方》, 由紫苏叶油、广藿香油、厚朴、苍术、白芷、半夏、茯苓、甘草、陈皮、大腹皮 10 味药组成<sup>[1]</sup>。该药在临床上常用于治疗由于食入生冷腐馊、秽浊不洁食物导致的急性胃肠炎<sup>[2-5]</sup>, 其中以金黄色葡萄球菌、沙门菌属和嗜盐菌(副溶血弧菌)感染最为常见<sup>[6]</sup>,

药效机制与其抑菌作用有关。作为治疗急性胃肠炎的常用药物之一, 藿香正气水有广阔的市场前景和巨大的经济效益, 然而目前对其尚无较完善的质量控制方法, 导致市售藿香正气水制剂质量良莠不齐。本实验以抑菌作用为药效指标<sup>[7]</sup>, 将作用于靶器官的药效与 HPLC 指纹图谱相关联, 构建谱-效结合的

收稿日期: 2011-12-15

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(30801515)

作者简介: 张洪坤(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础及其质量评价方法。E-mail: hennanji@yeah.net

\*通讯作者 李 康 Tel: (020)39352136 E-mail: likang229@yahoo.com.cn

中药质量控制模式。与以往谱-效研究采用体外指纹图谱与药效相关性分析不同,本实验将肠道代谢物作为药效相关实验样品,排除了体内对药物代谢的影响,通过谱-效研究直接获得药物在体内的活性物质,提供了一种寻找体内活性物质的谱效研究的新思路。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

藿香正气水,北京同仁堂科技发展股份有限公司,批号 9111203;厚朴、白芷、陈皮、甘草、苍术、白芷、大腹皮,广州市采芝林药业有限公司;广藿香油、紫苏叶油、半夏,广州市清平药材市场,经北京大学深圳医院药剂科曾向总主任药师鉴定均为正品。对照品橙皮苷、甘草苷、甘草素、水合氧化前胡素、白当归素、异甘草素、5,7,8,3',4'-五甲氧基黄酮、5,7,8,4'-四甲氧基黄酮、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橘皮素、欧前胡素、和厚朴酚、异欧前胡素、厚朴酚自制,经 IR、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 等方法鉴定,液相归一化法测定质量分数≥98%;甲醇、乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。营养琼脂培养基,青岛高科园海博生物技术有限公司。

### 1.2 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪(包括 G1322A 在线真空脱气装置、G1311A 四元泵、G1314B 检测器、Agilent 化学色谱工作站),美国安捷伦科技有限公司;1545—2 型恒温箱,美国 Shellab 公司;MOV—212S 型干热灭菌仪,日本三洋公司;Autolnoculator 比浊仪,英国 Sensititre 公司;HVE—50 高压蒸气灭菌仪,日本 Hirayama 公司;Allegra—64R 高速冷冻离心机,美国 Beckman Coulter 公司;80—2 型离心沉淀机,巩义市予华仪器有限公司;AUW220D 型十万分之一电子天平,日本岛津公司。

### 1.3 菌种

金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、白色念珠菌、副溶血弧菌、鼠伤寒沙门氏菌、痢疾杆菌,广州市福田区疾病预防控制中心提供。

### 1.4 动物

雄性 SD 大鼠,体质量 200~250 g,广州中医药大学动物饲养中心提供,许可证号:SCXK(粤)2008-0020。

## 2 方法

### 2.1 菌种选择及药效模型的建立

#### 2.1.1 菌种选择 采用纸片扩散法。以 5 张滤纸的

厚度,用纸片打孔器(直径为 5 mm)打出空白的抑菌纸片,121 °C 高压灭菌 15 min 后,于 120 °C 干热灭菌仪中烘 2 h,即为备用空白抑菌纸片。移取藿香正气水 20 μL,滴加到空白抑菌纸片上,于 37 °C 烘干,即为抑菌纸片。阴性对照样片的制备:取无菌干燥空白抑菌纸片,每片滴加无菌 45%乙醇 20 μL。上述抑菌纸片干燥后备用。用无菌棉拭子蘸取浓度为  $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$  cfu/mL 6 种实验菌悬液,在营养琼脂培养基平板表面均匀涂抹 3 次,每涂抹 1 次,转动平板 60°,最后将棉拭子绕平板边缘涂抹一周。盖好平皿,置室温干燥 5 min,每次实验贴放 1 个染菌平板,每个平板贴放 4 片抑菌纸片,1 片阴性对照样片,共 5 片。平板置 37 °C 温箱培养 16~18 h。用游标卡尺测量抑菌圈直径(包括贴片)。实验重复 3 次。

**2.1.2 最佳抑菌作用时间点确定** 按《中国药典》2010 年版方法自制 11 批无醇藿香正气水,取其中一批作为最佳抑菌作用时间点试验样品。取 6 只大鼠,每只大鼠 ig 给予自制藿香正气水 5 mL,大鼠给药前禁食不禁水 16~18 h,适应给药 3 d,分别于末次给药后 5、10、20、30、40、50、60 min 处死大鼠,取小肠,外翻剪碎,用甲醇冷浸提取,氮气吹干,用 45%乙醇定容至 1 mL 得肠道内容物样品。另取 6 只大鼠 ig 5 mL 无菌蒸馏水,同法处理所得样品作为阴性对照;以北京同仁堂科技发展股份有限公司产藿香正气水为体外抑菌实验阳性对照。按照“2.1.1”项方法进行体外抑菌实验,确定最佳抑菌时间。

**2.1.3 抑菌活性成分筛选** 将前期实验所得藿香正气水中量较大的化合物(自制)<sup>[8]</sup>甘草苷、甘草素、异甘草素、川陈皮素、和厚朴酚、厚朴酚、异欧前胡素和欧前胡素等均配制成质量浓度为 10 mg/mL 的溶液,进行体外抑菌试验。

**2.1.4 大鼠肠道内容物的抑菌作用** 分别取按《中国药典》2010 年版方法自制的 11 批无醇藿香正气水,按“2.1.2”项方法处理,按“2.1.1”项方法进行体外抑菌试验,重复 6 次。

### 2.2 色谱条件

藿香正气水中化学成分较复杂,一个色谱图很难完全表现出样品的信息和准确地进行谱-效相关性分析。因此本实验以白当归素为分界线点,将肠道内容物样品的色谱图用高、低极性部位两部分表示。

#### 2.2.1 肠道内容物样品高极性部位色谱条件

Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.05% 甲酸水溶液-乙腈-甲醇, 梯度洗脱 (表 1), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 270 nm, 柱温 35 °C, 进样量 20 μL。

**2.2.2** 肠道内容物样品低极性部位色谱条件 GraceSmart RP<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为水-乙腈, 梯度洗脱 (表 2), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。

表 1 高极性部位梯度洗脱条件

Table 1 Gradient elution condition on high-polar fraction

| <i>t</i> / min | 甲醇 / % | 0.05% 甲酸-水 / % | 乙腈 / % |
|----------------|--------|----------------|--------|
| 0.01           | 2      | 81             | 17     |
| 9              | 2      | 79             | 19     |
| 18             | 2      | 75             | 23     |
| 26             | 5      | 70             | 25     |
| 45             | 4      | 67             | 32     |

表 2 低极性部位梯度洗脱条件

Table 2 Gradient elution condition on low-polar fraction

| <i>t</i> / min | 水 / % | 乙腈 / % |
|----------------|-------|--------|
| 0.01           | 72    | 26     |
| 20             | 68    | 32     |
| 30             | 66    | 34     |
| 40             | 61    | 39     |
| 60             | 57    | 43     |
| 70             | 45    | 55     |
| 80             | 42    | 58     |
| 90             | 38    | 62     |

### 2.3 肠道内容物供试品溶液制备

取肠道内容物样品 50 μL, 用水定容至 1 mL, 醋酸乙酯 (2 mL) 萃取 3 次, 合并萃取液, 挥尽醋酸乙酯, 用甲醇定容至 10 mL, 摇匀, 即为供试品溶液。

### 2.4 混合对照品溶液制备

取 ig 无菌蒸馏水的大鼠 (空白) 肠道内容物样品 1 mL 两份, 一份加入含橙皮苷、甘草苷、甘草素、水合氧化前胡素、白当归素对照品储备液, 即为高极性部位混合对照品溶液。另一份加入含 5, 7, 8, 3', 4'-五甲氧基黄酮、5, 7, 8, 4'-四甲氧基黄酮、川陈皮素、3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮、橘皮素、欧前胡素、和厚朴酚、异欧前胡素、厚朴酚对照品储备液, 即为低极性部位混合对照品溶液。各对照品溶液的终质量浓度为甘草苷 8.66 μg/mL、橙皮苷 73.40 μg/mL、甘草素 6.92 μg/mL、水合氧化前胡素

11.02 μg/mL、白当归素 5.28 μg/mL、5, 7, 8, 3', 4'-五甲氧基黄酮 25.42 μg/mL、5, 7, 8, 4'-四甲氧基黄酮 9.52 μg/mL、川陈皮素 22.41 μg/mL、3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮 27.40 μg/mL、橘皮素 14.13 μg/mL、欧前胡素 11.77 μg/mL、和厚朴酚 20.40 μg/mL、异欧前胡素 43.00 μg/mL、厚朴酚 58.89 μg/mL。分别按“2.2.1”和“2.2.2”项下条件进样、检测。

### 2.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 双变量相关分析方法处理, 计算各共有峰与抑菌圈药效作用的 Pearson 相关系数。

## 3 结果

### 3.1 菌种确定及抑菌作用

**3.1.1** 菌种确定 实验选取几种常见的诱发急性胃肠炎的病原菌, 包括革兰阴性菌、革兰阳性菌和真菌。结果显示, 除大肠杆菌外, 藿香正气水对其他菌种均有不同程度的抑制作用。由于金黄色葡萄球菌为较常见的食源性致病菌和试药对其具有较大的抑菌圈和较小的最低抑菌浓度 (MIC), 故选定金黄色葡萄球菌为实验菌种。

**3.1.2** 最佳抑菌作用时间点确定 藿香正气水 ig 给予大鼠后, 大鼠肠道内容物抑菌作用最强时间点是在给药后 40 min。

**3.1.3** 抑菌活性成分筛选 对甘草苷、甘草素、异甘草素、川陈皮素、和厚朴酚、厚朴酚、异欧前胡素、欧前胡素等进行抑菌试验, 发现异甘草素与和厚朴酚具有抑菌作用, 且和厚朴酚作用最强烈。

**3.1.4** 大鼠肠道内容物的抑菌作用 大鼠 ig 给予自制 11 批藿香正气水后 40 min 处死, 建立各批肠内容物样品药效指标, 结果 11 批自制藿香正气水 ig 给予大鼠后, 肠道内容物对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为 (10.08±0.78)、(10.45±1.06)、(11.56±1.10)、(9.98±0.59)、(9.18±0.47)、(9.47±0.61)、(10.59±0.76)、(9.15±0.35)、(10.58±0.98)、(12.40±1.35)、(9.61±1.27) mm, 阳性对照抑菌圈直径为 (14.26±0.48) mm。

### 3.2 肠道内容物样品的指纹图谱

根据色谱条件, 建立大鼠 ig 给予自制 11 批藿香正气水后, 肠道内容物样品高极性部位和低极性部位的指纹图谱, 并得到 32 个共有色谱峰的峰面积。结果见表 3 和图 1。

### 3.3 混和对照品的液相色谱图

将混合对照品溶液, 按相应的色谱条件分离, 并进行色谱峰归属和在样品中各峰的归属。结果见图 2。

表 3 自制藿香正气水 11 批次样品给药后大鼠肠道内容物液相色谱共有峰峰面积  
Table 3 HPLC common peak areas of intestinal contents in rats after administrated  
with 11 batches of self-designed HZT

| 样品（批） | 峰面积 |      |      |       |      |       |       |       |       |       |      |
|-------|-----|------|------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
|       | 峰 1 | 峰 2  | 峰 3  | 峰 4   | 峰 5  | 峰 6   | 峰 7   | 峰 8   | 峰 9   | 峰 10  | 峰 11 |
| 1     | 2.8 | 35.6 | 6.8  | 132.4 | 45.0 | 178.7 | 29.1  | 55.8  | 127.7 | 130.6 | 61.4 |
| 2     | 4.4 | 33.1 | 4.5  | 145.4 | 29.7 | 64.6  | 39.8  | 59.7  | 138.5 | 201.0 | 86.3 |
| 3     | 4.5 | 41.5 | 4.2  | 149.9 | 29.6 | 133.6 | 386.0 | 87.7  | 274.0 | 109.5 | 78.3 |
| 4     | 2.8 | 24.3 | 2.8  | 111.1 | 29.7 | 136.3 | 26.5  | 63.1  | 161.2 | 113.5 | 67.4 |
| 5     | 4.2 | 21.6 | 6.7  | 120.4 | 59.2 | 55.1  | 38.1  | 40.4  | 115.7 | 125.1 | 62.8 |
| 6     | 2.3 | 26.6 | 4.0  | 99.3  | 31.4 | 150.7 | 57.8  | 104.2 | 236.9 | 59.7  | 57.8 |
| 7     | 3.0 | 25.4 | 2.7  | 81.7  | 20.0 | 85.3  | 28.2  | 61.8  | 187.9 | 70.3  | 81.6 |
| 8     | 4.2 | 30.6 | 10.1 | 92.7  | 46.0 | 112.5 | 24.4  | 33.3  | 50.6  | 112.3 | 49.4 |
| 9     | 3.3 | 26.9 | 12.0 | 120.7 | 39.7 | 166.8 | 35.4  | 43.3  | 96.1  | 88.4  | 45.4 |
| 10    | 4.5 | 31.1 | 6.2  | 114.2 | 42.2 | 179.2 | 42.0  | 75.3  | 158.6 | 79.5  | 64.6 |
| 11    | 1.7 | 18.9 | 2.1  | 73.9  | 24.8 | 96.5  | 12.1  | 42.3  | 78.3  | 65.3  | 35.3 |

| 样品（批） | 峰面积  |       |      |       |      |      |      |      |       |      |      |
|-------|------|-------|------|-------|------|------|------|------|-------|------|------|
|       | 峰 12 | 峰 13  | 峰 14 | 峰 15  | 峰 16 | 峰 17 | 峰 18 | 峰 19 | 峰 20  | 峰 21 | 峰 22 |
| 1     | 46.0 | 149.1 | 10.2 | 104.3 | 30.2 | 68.2 | 30.6 | 70.5 | 351.7 | 10.7 | 16.9 |
| 2     | 42.7 | 234.5 | 19.1 | 60.5  | 25.3 | 72.7 | 43.0 | 45.6 | 567.2 | 17.0 | 31.4 |
| 3     | 51.9 | 131.9 | 21.4 | 15.2  | 34.2 | 74.3 | 57.7 | 53.4 | 728.8 | 24.8 | 32.9 |
| 4     | 40.7 | 136.5 | 16.7 | 38.8  | 28.6 | 62.2 | 53.6 | 44.8 | 665.5 | 23.3 | 29.3 |
| 5     | 32.2 | 145.3 | 14.4 | 24.6  | 19.4 | 24.4 | 32.9 | 3.3  | 486.1 | 15.8 | 21.6 |
| 6     | 26.0 | 72.1  | 8.5  | 50.6  | 28.9 | 60.8 | 56.5 | 32.0 | 891.0 | 24.1 | 43.6 |
| 7     | 49.9 | 92.3  | 21.7 | 8.9   | 24.2 | 57.3 | 38.6 | 41.9 | 513.9 | 18.5 | 28.8 |
| 8     | 26.8 | 130.2 | 13.9 | 12.5  | 20.3 | 38.5 | 36.0 | 23.8 | 489.3 | 16.0 | 22.8 |
| 9     | 34.1 | 112.7 | 14.6 | 24.1  | 21.3 | 52.3 | 47.0 | 34.8 | 624.4 | 21.1 | 28.8 |
| 10    | 28.3 | 95.5  | 11.4 | 34.9  | 24.4 | 70.2 | 57.0 | 62.0 | 790.3 | 25.1 | 37.5 |
| 11    | 14.6 | 80.3  | 7.2  | 11.2  | 22.5 | 34.0 | 24.0 | 31.6 | 240.3 | 8.2  | 12.4 |

| 样品（批） | 峰面积   |       |       |       |      |       |       |       |      |      |  |
|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|------|--|
|       | 峰 23  | 峰 24  | 峰 25  | 峰 26  | 峰 27 | 峰 28  | 峰 29  | 峰 30  | 峰 31 | 峰 32 |  |
| 1     | 364.1 | 52.1  | 69.9  | 351.7 | 24.2 | 364.6 | 87.0  | 487.7 | 44.9 | 42.6 |  |
| 2     | 552.2 | 85.3  | 103.6 | 370.1 | 42.4 | 467.4 | 70.8  | 468.4 | 32.7 | 36.1 |  |
| 3     | 751.2 | 84.7  | 119.7 | 513.4 | 42.6 | 620.2 | 103.5 | 463.3 | 21.0 | 33.4 |  |
| 4     | 711.1 | 76.9  | 102.5 | 348.4 | 37.0 | 403.7 | 75.0  | 430.0 | 34.4 | 30.2 |  |
| 5     | 494.4 | 47.9  | 64.1  | 296.6 | 28.4 | 471.1 | 11.4  | 427.8 | 25.8 | 34.0 |  |
| 6     | 977.8 | 57.7  | 74.6  | 338.7 | 31.0 | 431.3 | 72.9  | 524.6 | 33.9 | 29.5 |  |
| 7     | 572.8 | 119.9 | 164.8 | 393.5 | 73.5 | 524.5 | 88.4  | 521.6 | 38.1 | 37.8 |  |
| 8     | 535.3 | 59.8  | 85.6  | 236.9 | 36.2 | 278.2 | 52.8  | 524.5 | 22.7 | 32.2 |  |
| 9     | 589.9 | 50.5  | 69.2  | 380.9 | 24.2 | 451.8 | 60.9  | 491.0 | 22.2 | 60.0 |  |
| 10    | 892.2 | 85.1  | 116.0 | 545.0 | 45.9 | 556.4 | 105.0 | 579.8 | 33.7 | 34.3 |  |
| 11    | 267.9 | 34.3  | 53.4  | 199.7 | 16.8 | 274.9 | 34.2  | 401.6 | 27.2 | 43.2 |  |

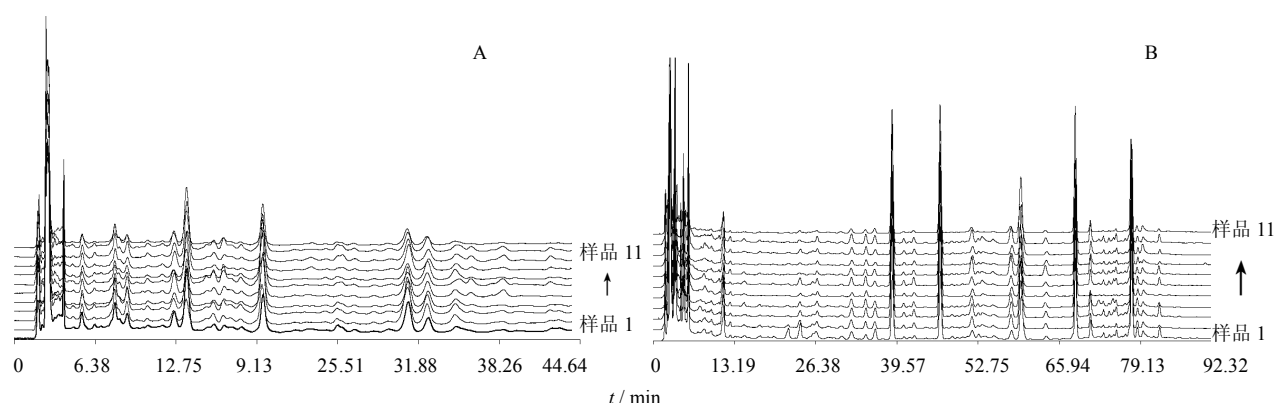
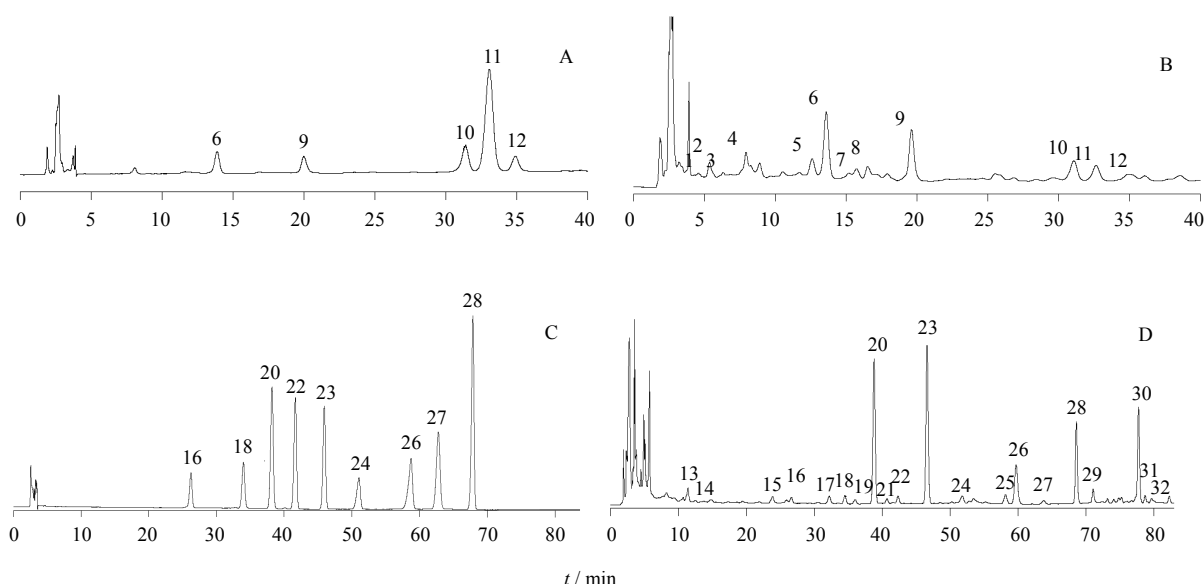


图 1 自制藿香正气水 11 批次样品给药后大鼠肠道内容物高极性部位 (A) 和低极性部位 (B) 的 HPLC 指纹图谱  
Fig. 1 HPLC fingerprint of high-polar fraction (A) and low-polar fraction (B) of intestinal contents in rats after administrated with 11 batches of self-designed HZT



6-甘草苷 9-橙皮苷 10-甘草素 11-水合氧化前胡素 12-白当归素 16-5, 7, 8, 3', 4'-五甲氧基黄酮 18-5, 7, 8, 4'-四甲氧基黄酮  
20-川陈皮素 22-3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮 23-橘皮素 24-欧前胡素 26-和厚朴酚 27-异欧前胡素 28-厚朴酚  
6-liquiritin 9-hesperidin 10-liquiritigenin 11-oxypeucedanin hydrate 12-byak-angelicin 16-5, 7, 8, 3', 4'-pentamethoxy flavone  
18-5, 7, 8, 4'-tetramethoxy flavone 20-nobiletin 22-3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-heptamethoxy flavone 23-tangeretin 24-imperatorin  
26-honokiol 27-isoimperatorin 28-magnolol

图 2 高极性部位混合对照品 (A)、自制藿香正气水给药后大鼠肠道内容物高极性部位 (B)、低极性部位混合对照品 (C)、自制藿香正气水给药后大鼠肠道内容物低极性部位 (D) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed reference substances of high-polar fraction (A), high-polar fraction of intestinal contents in rats after administrated with self-designed HZT (B), mixed reference substances of low-polar fraction (C), and low-polar fraction of intestinal contents in rats after administrated with self-designed HZT (D)

### 3.4 肠道内容物谱-效分析

以 32 个共有色谱峰的峰面积 ( $X$ ) 为自变量, 11 批自制样品 6 次实验抑菌圈直径的均值 ( $Y$ ) 为因变量进行相关分析和逐步回归分析, 得到 Pearson 相关系数和回归标准系数。结果见表 4。

以强迫引入法进行多元线性回归分析, 结果见表 5, 有 10 个与抑菌活性密切相关的色谱峰被引入回归方程, 其中呈正相关的色谱峰为 6、13、26、30 号色谱峰, 表明肠道内容物抑菌作用随指纹图谱的 6、13、26、30 峰强度增大而增强, 其中 26 号峰

表 4 共有色谱峰峰面积与抑菌圈直径的 Pearson 相关系数

Table 4 Pearson correlation coefficients of common peak areas and inhibition zone diameter

| 抑菌圈直径 | 峰面积      |          |          |          |          |          |          |          |
|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|       | $X_1$    | $X_2$    | $X_3$    | $X_4$    | $X_5$    | $X_6$    | $X_7$    | $X_8$    |
|       | 0.436    | 0.528    | -0.055   | 0.394    | -0.223   | 0.431    | 0.441    | 0.420    |
|       | $X_9$    | $X_{10}$ | $X_{11}$ | $X_{12}$ | $X_{13}$ | $X_{14}$ | $X_{15}$ | $X_{16}$ |
| $Y$   | 0.448    | -0.056   | 0.414    | 0.367    | -0.028   | 0.324    | -0.026   | 0.369    |
|       | $X_{17}$ | $X_{18}$ | $X_{19}$ | $X_{20}$ | $X_{21}$ | $X_{22}$ | $X_{23}$ | $X_{24}$ |
|       | 0.692*   | 0.575    | 0.684*   | 0.434    | 0.538    | 0.444    | 0.431    | 0.550    |
|       | $X_{25}$ | $X_{26}$ | $X_{27}$ | $X_{28}$ | $X_{29}$ | $X_{30}$ | $X_{31}$ | $X_{32}$ |
|       | 0.564    | 0.920**  | 0.430    | 0.745**  | 0.773**  | 0.459    | 0.057    | 0.095    |

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ 

表 5 有效色谱峰的标准回归系数

Table 5 Standard regression coefficients of effective peaks

| 峰号 | 标准回归系数 |
|----|--------|
| 5  | -0.218 |
| 6  | 0.191  |
| 7  | -0.051 |
| 12 | -0.344 |
| 13 | 0.223  |
| 15 | -0.189 |
| 20 | -0.416 |
| 26 | 1.291  |
| 30 | 0.029  |
| 32 | -0.014 |

为和厚朴酚，经实验证明具有抑菌作用。而 6 号色谱峰为甘草苷，无抑菌作用，但可能与其他成分具有协同作用。13、30 号色谱峰未知。

#### 4 讨论

肠道菌群对口服中药成分的转化是中药发挥疗效的重要因素。肠道菌群对药物转化作用的研究方法通常有两种，一种是体外实验方法，即动物粪便温孵法和消化道内容物温孵法<sup>[9]</sup>，另一种是体内方法，即动物给药后，在一定时间内将动物处死，取消化道各部分内容物进行分析。胃肠道是藿香正气水消化、吸收、代谢的主要器官之一。本实验采用体内实验方法，建立了藿香正气水肠道内容物的 HPLC 指纹图谱，并将大鼠肠内藿香正气水代谢物

的药效与指纹图谱进行谱-效相关分析，寻找藿香正气水在大鼠体内的抑菌成分群，并进行了部分体外实验，还对藿香正气水中 14 个峰进行了归属，并对归属的部分峰进行了抑菌作用筛选，为确定可控制药品质量的药效物质基础，建立完善的质量标准提供参考。

#### 参考文献

- [1] 杨国汉. 藿香正气散的方证研究与实践 [J]. 贵阳中医学院学报, 2002, 24(2): 48-49.
- [2] 周斯花. 藿香正气液治疗急性胃肠炎 20 例 [J]. 中成药, 1999, 21(10): 545.
- [3] 吕妍, 徐芳, 李丹, 等. 藿香正气软胶囊提取物对腹泻型肠易激综合征大鼠胃肠激素的调节作用 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1507-1510.
- [4] 吕妍, 金兆祥, 李丹, 等. 藿香正气软胶囊提取物调节 D-IBS 模型鼠水液代谢的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1332-1335.
- [5] 陈芙蓉, 刘彤, 岳南, 等. 藿香正气不同剂型产品药效比较实验 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(6): 434-439.
- [6] 朱宁国, 孔杰, 宋文. 夏秋季节易发生急性胃肠炎的探讨 [J]. 医学动物防制, 2005, 21(7): 943-944.
- [7] 赵渤年, 于宗渊, 丁晓彦, 等. 黄芩质量评价谱-效相关模式的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 380-383.
- [8] 吴韶辉, 李康, 张洪坤. 藿香正气水化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2189-2192.
- [9] 陈怀侠, 杜鹏, 韩凤梅, 等. 山莨菪碱及其大鼠肠内菌体外代谢物的液相色谱-质谱法分析 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 563-565.