

· 药剂与炮制 ·

黄芩提取物制备过程中化学成分及药效的变化规律分析

苏青^{1,2}, 吴婷婷², 黄雅兰², 凌保东², 吴纯洁^{1*}

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137;

2. 成都医学院结构特异性小分子药物研究四川省高校重点实验室, 成都 610500)

[摘要] 目的:分析黄芩提取物制备过程中化学成分及药效的动态变化规律,探寻确定合理提取工艺的研究思路。方法:根据2015年版《中国药典》收录的黄芩提取物制备工艺制备4个中间产物,分别记为水提物(样1),第1次酸沉产物(样2),醇沉精制后产物(样3)和第2次酸沉产物(样4),分别测定以上4个样品中各成分的含量及其解热、抗炎作用,采用灰色关联度分析和双变量相关分析考察成分与药效的相关性。**结果:**酸沉精制能明显提高黄芩提取物中5种黄酮类成分的含量,但醇沉精制对提高这5种黄酮类成分含量的作用不明显。样1对干酵母致大鼠发热试验的解热效应最强,样2对二甲苯致小鼠耳肿胀和角叉菜胶致大鼠足肿胀的抑制作用最明显,样3和样4的解热抗炎作用有所减弱,即进一步的纯化精制存在功效损失。黄芩苷与体温升高值、耳肿胀率和足肿胀率的灰色关联系数分别为0.78,0.81和0.70,双变量相关系数分别为0.957,0.848和0.819,均为5种成分中的最大值,说明黄芩苷对药效的影响最大;此外,除黄芩苷外,其他4种成分与体温升高值、耳及足肿胀率的双变量相关系数为负值(解热效应中的黄芩素除外),提示提高其他4种成分的含量有利于增强提取物的解热抗炎效果。**结论:**虽然黄芩苷对黄芩提取物药效的影响最大,但也不是该成分含量越高越好,且增加除黄芩苷外的其他成分的含量有利于提高该提取物的整体解热抗炎效果。黄芩提取物解热抗炎作用是多种成分的综合效应,在确定制备工艺时应综合考虑多种成分对药效的影响,避免过度纯化造成功效损失。

[关键词] 黄芩;提取物;黄酮类成分;药效;灰色关联度;双变量相关分析

[中图分类号] R22;R285.5;R283.6;R284;R94 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)14-0001-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20181401

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180425.1859.024.html>

[网络出版时间] 2018-04-26 16:58

Research on Changes of Composition and Efficacy of Scutellariae Radix Extract in Process of Preparation

SU Qing^{1,2}, WU Ting-ting², HUANG Ya-lan², LING Bao-dong², WU Chun-jie^{1*}

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. Key Laboratory of Small Molecule Special Structure Drugs, Sichuan Institution of Higher Education, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China)

[Abstract] **Objective:** The dynamic changes of composition and efficacy were analyzed during the process of preparation of Scutellariae Radix extract (SRE), and the research ideas to determine the reasonable extraction process were explored. **Method:** Four products were prepared according to the preparation procedure of SRE collected in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, which were water extract (sample 1), first acid precipitation product (sample 2), alcohol precipitation product (sample 3) and second acid precipitation product (sample 4). The content of each component in the above four samples and their antipyretic and anti-inflammatory effects were determined, respectively. The correlation between composition and efficacy were analyzed by grey

[收稿日期] 20171129(012)

[基金项目] 四川省卫生和计划生育委员会科研项目(17PJ568);成都医学院应用开发与成果转化培育项目(14Z068)

[第一作者] 苏青,在读博士,副教授,从事中药提取物及新制剂研究,Tel:028-62739516,E-mail:743591781@qq.com

[通信作者] *吴纯洁,博士,研究员,博士生导师,从事中药炮制与制剂研究,Tel:028-61801001,E-mail:wcyj-one@263.net

correlation analysis and bivariate correlation analysis. **Result:** Acid precipitation could significantly increase the content of five flavonoids in SRE, but alcohol precipitation was not obvious to improve the content of five flavonoids. Sample 1 had the strongest antipyretic effect on the fever induced by dry yeast in rats, the inhibitory effect of sample 2 on dimethylbenzene-induced mouse ear swelling and carrageenan-induced foot swelling was the most obvious. The antipyretic and anti-inflammatory effects of sample 3 and 4 obtained by further purification were weakened, which meant further purification caused loss of efficacy. The gray correlation coefficients between baicalin and temperature increase, ear swelling rate and foot swelling rate were 0.78, 0.81 and 0.70, the bivariate correlation coefficients were 0.957, 0.848 and 0.819, respectively; which were all maximum among the five components, indicated that baicalin had the greatest impact on efficacy. In addition to baicalin, the bivariate correlation coefficients between other four components and temperature increase, ear swelling rate and foot swelling rate were negative (except for baicalin in antipyretic effect), which indicated that the overall antipyretic and anti-inflammatory activity for SRE can be enhanced by increasing the content of these four components. **Conclusion:** In summary, although baicalin has the greatest impact on the efficacy of SRE, but not the higher the better; on the contrary, the overall antipyretic anti-inflammatory effect of SRE can be enhanced due to the addition of other four components. The antipyretic and anti-inflammatory effect of SRE is a contribution of a variety of ingredients. During the preparation of SRE, we should take into account the impact of a variety of ingredients on the efficacy, in order to void loss of efficacy due to over-purification.

[**Key words**] Scutellariae Radix; extract; flavonoids; efficacy; grey correlation analysis; bivariate correlation analysis

黄芩是传统常用中药材,始载于《神农本草经》,味苦、性寒,具有清热燥湿、泻火解毒、止血安胎等功效^[1]。黄芩提取物由 2015 年版《中国药典》^[1] 记载,是黄芩经一系列精制纯化过程制备得到的精制品,黄芩提取物中有效成分很多^[2-3],但 2015 年版《中国药典》含量测定项下仅检测了黄芩苷的含量,存在一定的局限^[4-5]。目前已经有不少研究者对黄芩提取物的质量和工艺进行了考察^[6-8],但几乎都集中在采用某种指标(成分或药效)或方法对提取工艺或提取物质量进行评价,鲜有文献报道某精制纯化工艺路线中成分与药效的变化规律。

本实验以 2015 年版《中国药典》记载的黄芩提取物制备工艺为研究对象,根据该工艺流程制备 4 个中间产物,分别为水提物(样 1),第 1 次酸沉产物(样 2),醇沉精制后产物(样 3)和第 2 次酸沉产物(样 4),分别测定以上 4 个样品中 5 种黄酮类成分的含量及其解热、抗炎活性,采用灰色关联度分析^[9-10]和双变量相关性分析^[11-12]探索成分与药效之间的关系,以研究黄芩提取物制备工艺过程中成分及药效的动态变化情况,探寻黄芩提取纯化精制的“度”,以避免过度纯化带来的功效损失,为完善和改进黄芩提取物制备工艺提供参考。

1 材料

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(美国戴安公

司,Chromleon™ 色谱工作站) BP211D 型 1/10 万电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),IKA RV10 型旋转蒸发仪[艾卡(广州)仪器设备有限公司]。黄芩饮片购于成都荷花池中药材市场,经成都医学院药学院生药组游元元教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根;黄芩苷、野黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号分别为 15112909, 15102010, 15052312, 15062204, 15110311, 纯度均为 99%),高活性干酵母(安琪酵母股份有限公司),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

SPF 级 SD 大鼠,雌雄兼有,体质量 180 ~ 200 g; SPF 级昆明种小鼠,雌雄各半,体质量 18 ~ 22 g,均购于四川大学实验动物中心,合格证号 SCXK(川)2013-0026,本文涉及的动物实验均符合成都医学院实验动物伦理审查的相关规定。

2 方法与结果

2.1 黄芩提取物样品的制备 根据 2015 年版《中国药典》记载的黄芩提取物制备工艺,结合预试验工艺参数的筛选结果。称取黄芩适量,分别加 10, 8 倍量水煎煮 2 次,每次煎煮时间均为 20 min,合并滤液,取部分滤液减压浓缩至恒重,即得样 1(每克相当于生药材 5.7 g)。其余滤液浓缩至相对密度 1.1 (70 °C),用盐酸调节 pH 1.5, 80 °C 保温 1 h,静置

12 h, 滤过, 取部分湿沉淀减压浓缩至恒重, 即得样 2 (每克相当于生药材 18.5 g)。剩余沉淀物加 4 倍量水搅匀, 用 40% 氢氧化钠溶液调节 pH 7.0, 加等量乙醇, 搅拌使溶解, 滤过, 取部分滤液减压浓缩至恒重, 即得样 3 (每克相当于生药材 20.9 g)。剩余滤液用盐酸调节 pH 1.5, 60 °C 保温 1 h, 静置 12 h, 滤过, 沉淀用水洗至中性, 减压浓缩至恒重, 即得样 4 (每克相当于生药材 73.3 g)。

2.2 指标成分的含量测定

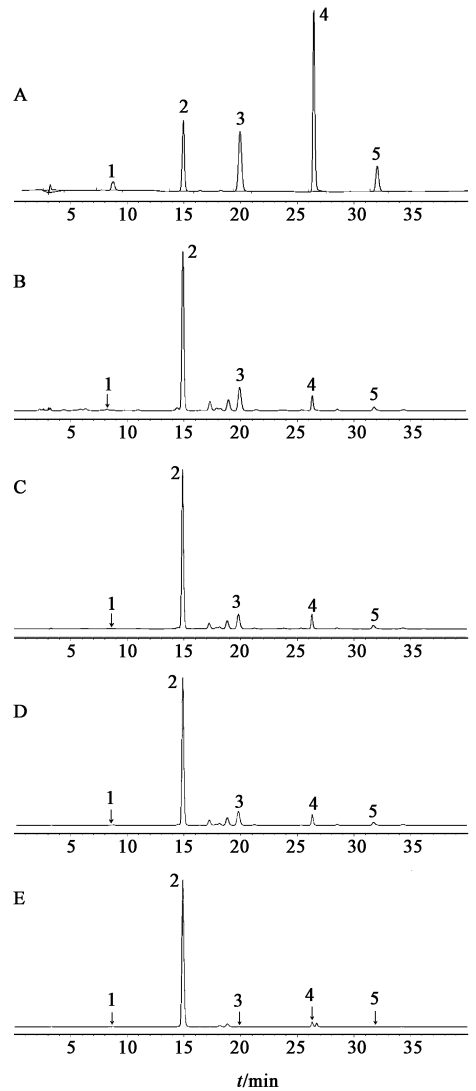
2.2.1 色谱条件 采用 Chromsil™ C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相选择甲醇 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 9 min, 45% A; 9 ~ 10 min, 45% ~ 55% A; 10 ~ 21 min, 55% A; 21 ~ 22 min, 55% ~ 65% A, 22 ~ 33 min, 65% A, 33 ~ 34 min, 65% ~ 45% A), 检测波长 280 nm, 柱温 30 °C, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL。见图 1。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷、野黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品适量, 加乙醇配成质量浓度分别为 554.0, 17.68, 44.8, 29.7, 4.72 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取 2.1 项下各样品, 加 80% 乙醇超声使溶解并定容, 配成 3.0 g·L⁻¹ (以生药量计) 的供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 取 2.2.2 项下混合对照品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进行测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 回归处理, 得 5 种黄酮类成分的标准曲线和线性范围, 见表 1。

2.2.5 方法学考察 精密量取 2.2.3 项下样 1 供试品溶液适量, 按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 计算各成分峰面积的 RSD 均 < 2.0%, 表明仪器精密良好。精密量取 2.2.3 项下样 1 供试品溶液适量, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.2.1 项下色谱条件检测, 计算各成分峰面积的 RSD 均 < 2.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。精密称取同一黄芩提取物样品 (样 1) 6 份, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件检测, 计算供试品溶液中黄芩苷、野黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的平均质量分数分别为 20.71%, 0.686%, 4.585%, 1.255% 和 0.417%, RSD 均 < 2.0%, 表明该方法重复性良好。精密称取同一黄芩提取物样品 (样 1) 6 份, 按 2.2.3 项下方法制备样品溶液, 分别加入黄芩苷对照品溶液 (554.0 mg·L⁻¹) 0.6 mL, 野黄芩苷对照品溶液 (17.68 mg·L⁻¹) 0.1 mL, 汉黄芩苷对照品溶液 (44.80 mg·L⁻¹) 0.6 mL, 黄芩素对照



A. 混合对照品; B. 样 1; C. 样 2; D. 样 3; E. 样 4; 1. 野黄芩苷; 2. 黄芩苷; 3. 汉黄芩苷; 4. 黄芩素; 5. 汉黄芩素

图 1 黄芩提取物各中间产物的 HPLC

Fig. 1 HPLC of each intermediate product of Scutellariae Radix extract

表 1 黄芩提取物中 5 种黄酮类成分的标准曲线和线性范围

Table 1 Standard curves and linear ranges of five flavonoids in Scutellariae Radix extract

成分	标准曲线	R ²	线性范围/mg·L ⁻¹
黄芩苷	Y = 0.492 5X + 0.893 1	0.999 8	8.656 0 ~ 554.00
野黄芩苷	Y = 0.329 7X - 0.023 6	0.999 8	0.276 2 ~ 17.68
汉黄芩苷	Y = 0.620 2X - 0.008 2	0.999 9	0.175 0 ~ 44.80
黄芩素	Y = 0.870 6X - 0.384 8	0.999 9	0.928 1 ~ 29.70
汉黄芩素	Y = 1.048 9X - 0.048 8	0.999 9	0.073 8 ~ 4.72

品溶液 (29.70 mg·L⁻¹) 0.2 mL, 汉黄芩素对照品溶液 (4.72 mg·L⁻¹) 0.2 mL, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算上述成分的加样回收率依次为 101.9%,

100.9%, 98.9%, 98.8% 和 98.5%, RSD 分别为 1.3%, 1.6%, 0.9%, 1.5% 和 1.8%。

2.2.6 样品测定 按 2.2.1 项下色谱条件测定样 1, 样 2, 样 3 和样 4 中各成分的含量, 见表 2。结果发现从样 1 到样 2, 除了野黄芩苷外, 其他 4 种黄酮类成分在提取物中所占的比例都明显增加, 说明酸沉操作对提高提取物中以上 4 种成分的含量非常有效。从样 2 到样 3 经过了一步醇沉除杂操作, 比较各黄酮类成分的含量比例可知, 黄芩苷含量略有增加, 其他 4 种成分的含量有所降低, 说明醇沉除杂步骤对提高黄酮类成分的含量比例作用不明显。从样 3 到样 4 经过了第 2 次酸沉和沉淀洗涤, 经过此步骤, 黄芩苷和黄芩素的含量比例上升明显, 而汉黄芩苷和汉黄芩素的含量比例则明显下降, 说明该过程有利于提高黄芩苷和黄芩素的含量比例, 但对汉黄芩苷和汉黄芩素造成的损失较大。

表 2 不同黄芩提取物样品中各指标成分的质量分数 ($n=6$)

Table 2 Content of each component in four samples of *Scutellariae Radix* extract ($n=6$) %

样品	野黄芩苷	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素
样 1	0.686 1	20.71	4.585	1.255	0.416 9
样 2	0.635 1	48.88	9.840	3.336	1.226 0
样 3	0.474 5	51.51	9.267	1.017	1.141 0
样 4	0.324 2	89.96	0.391	2.914	0.129 3

2.3 药效学研究

2.3.1 干酵母致大鼠发热试验 取 SD 大鼠, 雌雄各半, 分别分为空白组, 样 1 组, 样 2 组, 样 3 组, 样 4 组。造模前每日早晚测量各组大鼠的肛温, 测定时间为上午 9:00 和下午 2:00, 将体温计于探头后 3 cm 处标记, 确保体温计每次伸入动物体内的长度一致, 连续测定 5 d。选取体温在 36.6 ~ 38.0 °C 且连续体温变化 < 0.3 °C 的大鼠, 取其平均值作为正常基础体温。称重后各组动物按剂量 10 mL · kg⁻¹ 皮下注射 20% 干酵母混悬液。造模同时, 黄芩提取物按 10 g · kg⁻¹ (以生药量计算, 下同) 灌胃给药, 空白组给予同体积的生理盐水。分别于给药后 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0 h 测定肛温, 记录数据, 与基础体温比较, 计算温差。计算公式为体温差值 = 各时间点温度 - 正常基础体温。采用 SPSS 21.0 软件进行数据处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较使用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。见图 2。

由图 2 可知, 空白组大鼠在注射酵母菌混悬液

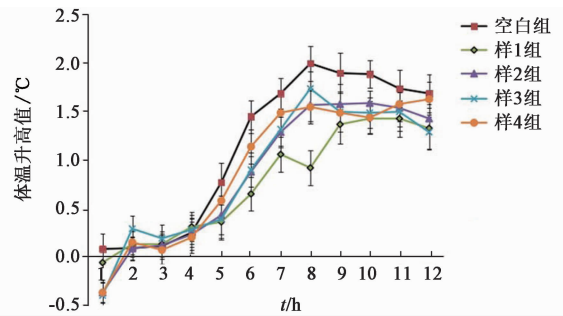


图 2 不同样品对发热模型大鼠体温的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 2 Effect of different samples on body temperature in fever model rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

后体温逐渐上升, 在 5 ~ 9 h 体温上升趋势非常明显, 此后体温逐渐回落。与空白组比较, 样 1 ~ 4 组在 5, 6, 7, 8, 9, 10 h 的体温升高值有统计学差异 ($P < 0.05$), 说明样 1 ~ 4 均表现出了明显的解热效应。其中样 1 组在 5 ~ 11 h 的体温变化值是 4 个样品中最小的, 而且样 1 组在 6 ~ 8 h 与样 2 ~ 4 组数据均存在统计学差异 ($P < 0.05$), 说明 4 个样品中样 1 的解热作用最为明显。

2.3.2 二甲苯致小鼠耳廓肿胀试验 取小鼠雌雄各半, 分别分为空白组, 样 1 组, 样 2 组, 样 3 组和样 4 组。黄芩提取物按 10 g · kg⁻¹ 灌胃给药, 空白组给予同体积生理盐水, 连续给 7 d。在末次给药 60 min 后用二甲苯涂抹小鼠右耳的前后两面, 每只小鼠 0.02 mL, 左耳不作任何处理。致炎后 1 h 将小鼠颈椎脱臼处死, 剪下小鼠左右两耳, 打孔器在同一部位打下圆形耳片, 精密称取每只小鼠左右耳片的质量, 计算各小鼠的耳片肿胀度和肿胀率, 见表 3。计算公式为肿胀度 = 致炎侧耳片质量 (右耳) - 对照侧耳片质量 (左耳); 肿胀率 = [致炎侧耳片质量 (右耳) - 对照侧耳片质量 (左耳)] / 左耳质量 × 100%。

表 3 不同样品在小鼠耳肿模型中的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Inhibition of different samples on mouse ear swelling model ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	肿胀度/mg	肿胀率/%
空白	8.65 ± 1.97 ^{2,3,4,5)}	101.63 ± 24.35 ^{2,3,4,5)}
样 1	4.57 ± 0.90 ¹⁾	55.20 ± 21.83 ¹⁾
样 2	4.20 ± 2.01 ^{1,4)}	41.95 ± 20.10 ^{1,4,5)}
样 3	6.12 ± 2.16 ^{1,3)}	66.94 ± 24.81 ^{1,3)}
样 4	5.31 ± 1.61 ¹⁾	64.32 ± 21.35 ^{1,3)}

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与样 1 组比较²⁾ $P < 0.05$; 与样 2 组比较³⁾ $P < 0.05$; 与样 3 组比较⁴⁾ $P < 0.05$; 与样 4 组比较⁵⁾ $P < 0.05$ (表 4 同)。

涂抹二甲苯后,小鼠右耳红肿,肿胀度肉眼明显可见。与空白组相比,样 1,2,3,4 组对二甲苯所致耳肿胀急性炎症模型小鼠的耳肿胀均有显著的抑制作用($P < 0.05$)。其中,样 2 组小鼠耳肿胀度和肿胀率均值均为最小;与样 2 组比较,样 3 组的肿胀度差异有统计学意义,样 3 和样 4 组的肿胀率差异有统计学意义,说明样 2 组的抗炎效果最好。

2.3.3 角叉菜胶致大鼠足肿胀试验 取 SD 大鼠,雌雄各半,分别分为空白组,样 1 组,样 2 组,样 3 组,样 4 组。黄芩提取物按 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给药,空白组给予同体积生理盐水,连续 5 d。在末次给药 60 min 后于右后足趾腱膜下注射新鲜配置的 1% 角叉菜胶 0.1 mL 致炎。分别测定在致炎前及致炎后 1,2,4,6,8 h 的大鼠足趾厚度,按肿胀率 = (造模后某个时间点的测量厚度 - 致炎前足趾厚度) / 致炎前足趾厚度 $\times 100\%$ 计算肿胀率,见表 4。结果发现样 2 组在 4 h 时与空白组相比,肿胀率差异有统计学意义($P < 0.05$);在 1,4 h 时与样 1 组相比,肿胀率差异有统计学意义($P < 0.05$),说明样 2 组的抗炎效果最好。

表 4 不同样品对模型大鼠足肿胀率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of different samples on foot swelling rate of model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$) %

组别	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h
空白	51.3 ± 4.2	64.1 ± 6.7	78.4 ± 8.8 ³⁾	60.8 ± 6.1	74.4 ± 6.9
样 1	65.2 ± 7.7 ^{3,4)}	51.2 ± 9.7	75.2 ± 6.4	64.5 ± 7.6	69.1 ± 8.3
样 2	42.5 ± 5.3 ²⁾	46.4 ± 8.1	53.3 ± 7.3 ^{1,2)}	60.1 ± 5.4	71.7 ± 5.4
样 3	40.7 ± 8.2 ²⁾	55.2 ± 4.5	68.2 ± 5.4	60.2 ± 9.8	63.5 ± 4.2
样 4	49.1 ± 9.4	53.3 ± 7.4	58.7 ± 7.0	64.1 ± 7.0	62.3 ± 8.3

2.4 灰色关联度分析 首先对参考数列和比较数列进行无量纲化处理;然后分别计算每个比较序列与参考序列对应元素的关联系数,关联系数间差异越大,区分能力越强;第三步对各评价对象(比较序列)分别计算其各指标与参考序列对应元素的关联系数,以反映各评价对象与参考序列的关联关系,并称其为关联序;最后将 m 个比较序列对同一参考序列按照关联度大小的顺序排列,组成关联序,可直接反应各个比较序列对参考序列贡献的大小,即确定各色谱峰对解热抗炎作用贡献的大小。采用 DPS 数据处理系统,以解热抗炎作用为参考序列,5 种成分含量为比较序列进行灰色关联度分析,见表 5。结果发现黄芩提取物中 5 种有效成分的含量与体温升高值(7 h)之间的关联度大小顺序依次为黄芩

苷 > 野黄芩苷 > 黄芩素 > 汉黄芩苷 > 汉黄芩素,说明与大鼠体温升高值关联最大的成分是黄芩苷,其次是黄芩素和野黄芩苷。5 种成分的含量与小鼠耳肿胀率之间的关联度大小顺序依次为黄芩苷 > 野黄芩苷 > 黄芩素 > 汉黄芩苷 > 汉黄芩素,与大鼠足趾肿胀率之间的关联度大小顺序为黄芩苷 > 野黄芩苷 > 黄芩素 > 汉黄芩苷 > 汉黄芩素。综上所述,5 种成分中对解热、抗炎活性影响最大的成分是黄芩苷。

表 5 黄芩提取物的指标成分含量与其解热抗炎活性的灰色关联度分析

Table 5 Gray relational analysis between content of index ingredients in Scutellariae Radix extract and its antipyretic and anti-inflammatory activity

成分	体温升高值	耳肿胀率	足肿胀率
黄芩苷	0.78	0.81	0.70
野黄芩苷	0.70	0.78	0.66
汉黄芩苷	0.60	0.66	0.51
黄芩素	0.66	0.70	0.53
汉黄芩素	0.54	0.61	0.47

2.5 双变量相关性分析 通过 SPSS 21.0 软件对各成分峰面积和解热抗炎活性原始数据进行标准化处理,与解热、抗炎活性进行双变量相关性分析,计算 Pearson 相关系数,见表 6。结果发现与解热抗炎活性相关性最强的是黄芩苷,与灰色关联度分析结果一致。但从相关系数中发现,除黄芩苷外,其他 4 种成分与体温升高值、肿胀率呈负相关(解热效应中的黄芩素除外),即如果提高提取物中这几种成分的含量,会引起体温升高值和肿胀率降低,即解热抗炎药效增强。因此适当提高黄芩提取物中除黄芩苷外的其他几种成分的含量,有利于提高黄芩提取物的整体药效。

表 6 黄芩提取物的指标成分含量与其解热抗炎活性的双变量相关性分析

Table 6 Bivariate correlation analysis between content of index ingredients in Scutellariae Radix extract and its antipyretic and anti-inflammatory activity

成分	解热相关系数	耳肿相关系数	足肿相关系数
黄芩苷	0.957 ¹⁾	0.848	0.819
野黄芩苷	-0.968 ¹⁾	-0.721	-0.734
汉黄芩苷	-0.382	-0.563	-0.498
黄芩素	0.592	-0.647	-0.765
汉黄芩素	-0.250	-0.469	-0.359

注: ¹⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

本文通过灰色关联度分析发现,黄芩苷的关联系数最大,说明5种成分中黄芩苷对药效的影响最大。双变量相关性分析中,黄芩苷的系数为正,其他4种成分的系数为负,说明适当降低黄芩苷的含量,升高其他几种成分的含量有利于提高提取物的整体药效。综合2种分析方法的结果可知,即使黄芩苷对药效的影响最大,但也不是其含量越高越好,增加其他成分的含量有利于提取物的整体药效增强,充分说明中药提取物中多成分的协同起效作用。

本研究根据2015年版《中国药典》收录的黄芩提取物制备工艺制备了4个中间产物,并分别对这4个中间产物的化学成分含量和药效进行研究,探索制备工艺对成分和药效的影响。在化学成分方面,本研究发现第1次酸沉操作对提高5种黄酮成分的含量非常有效,接下来的醇沉精制对提高5种黄酮成分的含量作用不明显,最后一步精制有利于提高黄芩苷和黄芩素的质量分数,但是对汉黄芩苷和汉黄芩素造成的损失较大。在药效方面,样1的解热作用最强,样2的抗炎效果最佳,而进一步纯化得到的样3和样4中虽然黄芩苷的质量分数提高了,但解热抗炎作用却没增强,说明进一步纯化可能会导致其解热抗炎功效的损失。灰色关联度和双变量相关性分析中发现,虽然黄芩苷对解热抗炎作用影响最大,但是其他成分的作用也不容忽视,如果需要提高黄芩提取物的整体解热抗炎作用,应该适当降低黄芩苷的含量,提高其他几种黄酮成分的含量。综上所述,在黄芩提取物制备过程中,不能单纯追求黄芩苷的质量分数高而过度纯化,应该综合考虑多种成分对该提取物药效的影响,合理地进行提取物的纯化与精制,以避免过度纯化导致的功效损失。

中药提取物的制备往往需要经过一系列的精制纯化过程,本研究可为确定合理的精制纯化工艺提供参考,即综合考虑多种成分的协同作用及功效变化规律,避免过度纯化导致功效损失。但是本研究还存在很多不足,例如黄芩提取物中有效成分不止

本文涉及的5个,相关药理作用也非常广泛,后续将针对更多的化学成分和药理作用进行综合分析。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:301,415.
- [2] 孟庆刚,王微,李强,等. 黄芩解热作用的谱效关系研究[J]. 北京中医药大学学报,2011,34(6):379-383.
- [3] 封银曼,张威,白杨,等. 黄芩提取物有效成分的近红外光谱定量分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):84-87.
- [4] 马元春,蔡亚玲,严书超. 中药及植物药提取物质量及标准制订的逆向思维[J]. 湖北中医药大学学报,2015,17(2):5-9.
- [5] 瞿海斌,欧丹林,程翼宇. 中药提取物质量控制的一种新方法探讨[J]. 中国药学杂志,2006,41(1):57-60.
- [6] 于蓓蓓,吕凌,于宗渊,等. 药效学结合正交试验优选黄芩提取工艺[J]. 中国中药杂志,2013,38(24):4314-4318.
- [7] 刘征辉,魏静娜,赵琳琳,等. 黄芩提取物多指标成分鉴定及指纹图谱的研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2015,17(1):156-161.
- [8] 宋丽洁,高燕,刘青,等. 用主成分分析法对10批黄芩提取物的质量评价[J]. 山东中医药大学学报,2015,39(3):258-261.
- [9] 刘威,王振中,胡军华,等. 不同产地牡丹皮中微量元素与多指标成分灰色关联度评价及相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):34-41.
- [10] 梁健钦,王剑,熊万娜,等. 基于灰色关联分析的芒果叶提取物抗炎作用的谱效关系[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(1):121-125.
- [11] 白关亚,何盼,李媛媛,等. 青翘不同极性部位抗炎作用的谱效关系分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(11):1-6.
- [12] 黎丹,李三华,杨龙江,等. 基于组效关系的石上柏挥发油抗肿瘤有效成分的辨识[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(2):44-50.

[责任编辑 刘德文]