

论著·中药研究

抗感复方不同方法提取物药效与活性成分含量比较研究*

李 锦,王 建,钟佩茹,高 岚,苗 戎

摘要:[目的]对抗感复方不同提取物活性成分含量与其解热、抗炎效应比较。[方法]以阿司匹林、地塞米松为阳性对照,用酵母致大鼠发热、角叉菜胶致大鼠足跖肿胀及大鼠棉球肉芽肿模型,研究不同提取物的解热、抗炎效应。[结果]复方水提物解热抗炎效应均明显,水提液经絮凝澄清剂(ZTC)1+1絮凝剂处理后解热效果明显。[结论]单从活性成分含量高低简单评价提取方法的优劣是不完全的。

关键词 抗感复方;提取物;活性成分;解热抗炎

中图分类号 R284.2 文献标识码 A 文章编号:1673-9043(2007)02-0071-03

Comparative study between pharmacodynamics and contents of active components in extracts of Kang-gan compound with different method

LI Jin, WANG Jian, ZHONG Pei-ru, et al

(Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To compare the content of active component of different extracts from Kang-gan (anti-common cold) Compound and their anti-pyretic effect and anti-inflammatory effect. [Methods] Taking aspirin or dexamethasone as the positive control medicine and reproducing experimental fever in rats with yeast, edema of paw metatarsus with carrageenin in rats and cotton-ball granuloma in rats to investigate the anti-pyretic and anti-inflammatory effect of the different extracts. [Results] The water extracts showed a significant anti-pyretic and anti-inflammatory effect, and the water extract dealt with ZTC 1+1, a floccule coagulating preparation, showed a more marked anti-pyretic effect. [Conclusions] The evaluation of the extract method from the content of the active component only is not a completed.

Key words: kanggan compound; extracts; active component; anti-pyretic and anti-inflammatory effect

抗感复方是用于疏风解表、抗炎退热,疗效显著的临床验方,由连翘、大黄、厚朴、薄荷、荆芥穗等10余味中药组成。为了开发利用此药物,根据方剂中药材成分性质,确定了3种提取方法。本研究将3种提取方法得到的提取物,进行抗炎退热药效实验,并以活性成分含量、药效实验双重指标进行评价,对结果进行比较研究。

1 材料

1.1 药品 复方中各味中药购于天津中医药大学安康医院中药房。

1.2 动物 Wistar大鼠,雄性,体质量(240±20)g,

*基金项目:天津市卫生局中医、中西医结合科研课题(2005095),

作者单位:300193 天津中医药大学

作者简介:李 锦(1955-),女,副教授,主要从事分析化学、药物分析的研究工作。

天津中医药大学实验动物室提供。

1.3 药品 酵母(安琪发酵食品有限公司);阳性对照药阿司匹林(青岛海洋制药有限公司,批号0507214);地塞米松(天津金耀氨基酸有限公司,批号为0506081);角叉菜胶为sigma公司产品。

2 实验方法与结果

2.1 药品制备 1)水提法:加入10、8、6倍水,分别提取40、30、20min,合并提取液浓缩至适当体积。

2)70%醇提法:加入10、8、6倍70%乙醇分别回流提取40、30、20min,合并提取液回收乙醇浓缩,加水至一定体积;3)按一法得到的提取物,80℃下分两次加入0.5%絮凝澄清剂(ZTC)1+1絮凝剂,搅拌、放置24h,离心、过滤除去絮状物,浓缩至适当体积。方法1、2、3均分别收集挥发油,加吐温-80制成乳剂后混入提取物中。不同提取方法指标成分峰面积均值比

较结果见表1。

2.2 抗感复方不同提取方法对酵母引起的大鼠发热解热效应比较 参考方法^[1]建立酵母大鼠发热模型。将大鼠头身固定后,用医疗体温计(石蜡油涂布)从大鼠肛门插入6cm,保留2min即可读数,实验前测2次基础体温,选择合适的实验大鼠(温差0.3、体温在35.5~37.5),体温合格大鼠随机分为5组,分别为酵母发热模型组(灌胃给予等量蒸馏水)、阳性药组(灌胃给予阿司匹林0.3g/kg)、抗感复方3组,分别灌胃3种提取液(相当于生药15.3g/kg),造模前连续给药4d,2次/d,上下午各1次,末次给药前大鼠皮下注射10%鲜酵母液3mL/kg,同时给药。然后测定0、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8h动物体温变化,结果见表2。

2.3 抗感复方不同提取方法对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀抗炎作用比较^[2] 健康Wistar大鼠随机分为4组,用标记笔在右后肢标记一个测量圈,然后测定每只鼠右后肢正常足跖容积后,给药组分别灌胃抗感复方、提取液(分别给予生药15.3g/kg),阳性药组(灌胃给予地塞米松0.03g/kg),模型组给予等容积的蒸馏水。2次/d,连续3d,于末次给药后予每只大鼠右后肢足跖皮下注射1%角叉菜胶混悬

液0.1mL/只致炎。随后测量1、2、3、4、6h大鼠足跖容积,记录结果。以致炎前后足跖容积的差值作为肿胀度,计算各组肿胀度。结果见表3。

2.4 抗感复方不同提取方法对大鼠棉球肉芽肿抗炎作用比较 健康Wistar大鼠,雄性,随机分为4组(同2.3项下),实验初始,腹腔注射10%水合氯醛3mL/kg麻醉大鼠,腹部切口,将两个灭菌棉球[每个棉球质量(50±)mg,高压灭菌,50℃烤箱烤干]分别植入大鼠两侧腋窝部皮下,待大鼠清醒后开始给药,1次/d,连续7d,第8d颈椎脱臼处死大鼠,剥离棉球肉芽组织,置60℃烤箱烘干致恒质量,精密称量,减去原棉球质量即为肉芽肿组织质量。结果见表4。

2.5 统计处理 结果均以($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异性比较采用单因素方差分析。

3 讨论

3.1 解热效应 从表2可以看出,用药后与模型组相比,复方提取物均有降低酵母所致的大鼠体温升高的效应,复方水提物(包括经絮凝澄ZTC1+1处理)解热作用更为明显($P < 0.01$),与阿司匹林作用接近,与同一时间点的发热模型组相比较($P < 0.01$)。水提物和阿司匹林的解热作用特点各不相同,阿司匹

表1 不同提取方法指标成分高效液相色谱(HPLC)峰面积均值比较

制备法	连翘酯苷(Forsythoside)	厚朴酚(Magnolol)	和厚朴酚(Honokiol)	大黄素(Emodin)	大黄酚(Chrysophanol)
水提法	403 753	143 416	188 717	96 807	196 672
70%醇提法	382 594	268 130	316 642	210 204	422 331
水提絮凝剂沉降法	379 936	119 694	157 078	84 398	175 186

表2 抗感复方不同提取方法对酵母所致大鼠发热解热效应的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量(g/kg)	发热后不同时间体温									
			0h	0.5h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h
模型组	8		36.74 ± 0.19	37.28 ± 0.93	37.60 ± 0.65	37.60 ± 0.41	37.36 ± 0.31	37.61 ± 0.33	38.10 ± 0.59	38.88 ± 0.56	39.18 ± 0.33	39.16 ± 0.45
阳性药组	8	0.3	36.01 ± 0.62	36.60 ± 0.60	37.40 ± 0.25	37.49 ± 0.36	37.29 ± 0.58	37.10 ± 0.33*	37.40 ± 0.83*	38.00 ± 0.80*	38.48 ± 0.39**	38.36 ± 0.41**
70%醇提组	8	15.3	36.51 ± 0.86	37.08 ± 0.73	37.42 ± 0.52	37.60 ± 0.33	37.03 ± 0.57	37.94 ± 0.50	38.20 ± 0.72	38.76 ± 0.54	38.79 ± 0.46*	38.89 ± 0.40*
水提组	8	15.3	36.46 ± 0.01	36.91 ± 0.58	37.13 ± 0.46	37.36 ± 0.48	37.08 ± 0.28	37.50 ± 0.42	37.52 ± 0.36	38.06 ± 0.38*	38.48 ± 0.35**	38.09 ± 0.54**
絮凝剂组	8	15.3	36.58 ± 0.73	37.00 ± 0.50	37.31 ± 0.43	37.54 ± 0.29	37.60 ± 0.85	37.77 ± 0.40	37.99 ± 0.32	38.00 ± 0.65*	38.62 ± 0.29*	38.40 ± 0.25**

注:与发热模型组同时时间比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表3 抗感复方不同提取方法对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀抗炎作用比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量(g/kg)	致炎后不同时间肿胀度				
			1h	2h	3h	4h	6h
模型组	8		0.535 ± 0.150	0.333 ± 0.210	0.382 ± 0.169	0.285 ± 0.113	0.248 ± 0.119
阳性药组	8	0.03	0.303 ± 0.190*	0.305 ± 0.095**	0.305 ± 0.095**	0.215 ± 0.090**	0.149 ± 0.107**
70%醇提组	8	15.3	0.604 ± 0.244	0.498 ± 0.233*	0.483 ± 0.140*	0.492 ± 0.118**	0.693 ± 0.179**
水提组	8	15.3	0.385 ± 0.121	0.469 ± 0.065	0.377 ± 0.040*	0.269 ± 0.026*	0.188 ± 0.037*

注:与致炎模型组同时时间比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表 4 抗感复方不同提取方法对大鼠棉球肉芽肿

组别	n	抗炎作用比较 ($\bar{x} \pm s$)	
		剂量 (g/kg)	用药前后棉球质量变化 mg
模型组	8		0.124 ± 0.022
阳性药组	8	0.001	0.065 ± 0.006**
70% 醇提组	8	15.300	0.154 ± 0.029*
水提组	8	15.300	0.088 ± 0.007**

注:与模型组比较,*P<0.05,**P<0.01。

林主要特点是起效快(4 h 起效),复方水提物虽起效慢,但达 8 h 仍见明显的解热作用,

3.2 抗炎效应 从表 2、3 可以看出,与同一时间点的炎症模型比较,复方提取物均有抗炎作用,复方水提物解热抗炎效应明显(P<0.01),而醇提物对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀及大鼠棉球肉芽肿无作用。

3.3 连翘活性成分与药效 连翘酯苷来源于方中君药连翘,属于苯乙醇苷类,可溶于水、乙醇,故在水、乙醇中提取完全,水提取、稀醇提取连翘酯苷含量均较高。苯乙醇苷类具有较强的抗菌活性^[3]。另外水溶性成分连翘酚也具有抗菌活性。连翘中的挥发油对金黄色葡萄球菌、肺炎双球菌、白色念球菌有明显的抑制作用^[4],复方中的其他大量挥发油成分均具有药理活性。水提后加入挥发油制备的提取物利于以上成分发挥药效,这应该是水提物药效好的原因之一。

3.4 其他活性成分与药效 大黄素、大黄酚、厚朴酚来源于方中臣药大黄和厚朴,是已明确的抗炎、解热、行气的活性成分,易溶于乙醇。醇提法可将此类成分提取完全,醇提法活性成分含量远远高于水提法。而药理实验却得出几乎完全相反的结果,即水溶液提取物抗炎解热药效最佳。提示在中药复方研究中仅从已知的活性成分含量简单评价提取分离方法是不够可靠的,必须结合紧扣复方功效而设

计的药效学实验方法。中药复方是一个复杂的巨系统,完全弄清复方中对疾病有治疗作用的化学成分非常困难。已认知的活性成分也会受到其他成分的作用、制约和拮抗,还会在生物体的代谢中分解或转化,这些都不能保证活性成分含量与药效正相关。抗感复方中一定还存在一系列极性较强的、具有抗炎退热作用的活性成分有待去研究。因此,目前有必要探讨中药复方有效部位(药效成分群)研究,结合药效研究的方法,才是完整的评价体系。

3.5 絮凝澄清剂与乙醇对抗感复方处理结果比较

ZTC1+1 天然澄清剂是一种以天然多糖等为原料制成的高分子物质,安全、无毒,常用于中药水提物的澄清处理,可除去蛋白质、鞣质、多糖等大分子物质。有研究表明其保留活性成分含量、临床疗效均优于水提醇沉处理^[5]。本研究结果表明:抗感复方水提物抗炎退热效应显著,但出膏率高,在后续制剂研究中会遇到困难。利用絮凝澄清技术处理复方水提物,在保留药效的前提下除去杂质,是值得研究推广的好方法。尤其对复方解表中药,水提取符合传统饮片制备方法,澄清技术加之挥发油包合技术的应用,将是此类复方中药很有前途的处理方法。

参考文献:

[1] 欧润妹,邓远辉,李伟英,等.香附不同溶剂提取物解热镇痛效应的比较[J].山东中医杂志,2004,23(12):747-750.

[2] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1991:722-725.

[3] 张海燕.连翘化学成分及药理活性研究进展[J].中药材,2000,23(10):657-659.

[4] 卫世安.连翘果实和种子挥发油化学成分的分析研究[J].药物分析杂志,1992,12(6):329-331.

[5] 戴军平,朱建华,刘秀霞.ZTC1+1天然澄清剂与乙醇用于黄芪精口服液除杂的对比研究[J].中草药,2001,3(3):224-225.

(收稿日期 2007-02-02)