

因此,采用药品的限度相对湿度值优化防潮性能良好的药品内包材具有更精准的指导意义。

参考文献:

[1] 韩鹏军,薛志峰,张丽娜,等. 3 种中药颗粒剂的吸湿性及模型拟合[J]. 天津中医药大学学报, 2018, 37(4): 326-331.

[2] 兰志琼,艾青青,杨吉玉,等. 基于水分吸附模型研究大黄的 安全贮藏水分[J]. 中草药, 2020, 51(12): 3165-3172.

[3] 杨兆阳,何 雁,罗晓健,等. 苦杏仁和燂苦杏仁的吸湿特性研究[J]. 中药材, 2021, 44(10): 2309-2315.

[4] 张青铃. 常用固体制剂辅料吸湿行为及 3 种中药制剂防潮工艺研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2021: 25-31.

[5] 张青铃,罗友华,许光辉,等. 干法制粒工艺在中药口服固体制剂制备中的应用[J]. 中国现代中药, 2020, 22(5): 827-834.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 114-115.

[7] 杨 薇,王雅洁,汤成成,等. 三七提取物吸湿性及其模型研究[J]. 中药材, 2018, 41(3): 670-676.

[8] 高建德,朱晓玉,宋开蓉,等. 几种常用辅料对圣济二精浸膏的阻湿性能及其模型研究[J]. 中药材, 2017, 40(4): 898-901.

[9] 郑龙金,何 雁,张俊鸿,等. 黄芩饮片等温吸附与解吸曲线及热力学性质研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 830-837.

[10] 唐 聘,张怡春,吴斯宇,等. 不同醇沉浓度对清利咽喉

浸膏粉吸湿性影响的实验研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(4): 429-433.

[11] 刘璋温,吴国富. 选择回归模型的几个准则[J]. 数学的实践与认识, 1983, 13(1): 61-69.

[12] 张崇岐,闫 湛. 混料试验设计变量选择 AIC 准则研究[J]. 广州大学学报(自然科学版), 2016, 15(2): 21-24.

[13] 廖晓芳,周立东,孔维军. 基于动态露点等温线法的莲子吸湿和解吸特性考察及模型确定[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2020, 22(3): 817-822.

[14] 许 燕,何 雁,张爱玲,等. 基于动态水分吸附法的金银花喷干粉吸湿特性研究[J]. 中草药, 2017, 48(16): 3353-3358.

[15] 王雅洁,汤成成,贾艾玲,等. 人参提取物吸湿特性及其模型[J]. 中草药, 2017, 48(15): 3064-3070; 3076.

[16] 张青铃,杨艳希,罗友华,等. 化学药品对照品的吸湿性、溶解性与比表面积相关性研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(11): 1343-1349.

[17] 杨 晶,王楼群,许天阳,等. 防潮辅料种类及其加入方式对人参提取物吸湿性的影响[J]. 中成药, 2020, 42(12): 3259-3263.

[18] 梁春霞,王爱潮,薛志峰,等. 四物汤防潮颗粒的制备[J]. 中成药, 2020, 42(1): 15-19.

[19] 赵樱霞,熊志伟,胡晓欣,等. 基于中药提取物粒子空间构造性质与吸湿性关联的抗吸湿技术研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(23): 6020-6027.

[20] 陈光宇,饶 智,瞿昊宇,等. 五汁饮颗粒处方优化及其吸湿性[J]. 中成药, 2021, 43(8): 2157-2160.

4 种提取方法对清咽润喉复方有效成分含量及抗炎镇痛作用的影响

韩江云^{1,2}, 王春龙², 李建平¹, 刘明华², 陈斯玮², 张 丹^{2*}

(1. 西南医科大学附属中医医院药剂科, 四川 泸州 646000; 2. 西南医科大学药学院, 四川 泸州 646000)

摘要: **目的** 探讨 4 种提取方法对清咽润喉复方有效成分含量及抗炎镇痛作用的影响。**方法** 采用醇提法、水提法、醇水双提法、挥发油双提法提取清咽润喉复方,通过 HPLC 法测定清咽润喉复方中没食子酸、滨蒿内酯、荷叶碱的含量,加上干膏率进行综合评分;通过耳廓肿胀、足跖肿胀、热板法镇痛、扭体法镇痛实验对比 4 种提取物的抗炎镇痛效果。**结果** 综合评分结果表明,4 种提取方法的综合评分依次为挥发油双提法(99.39 分)>醇水双提法(96.34 分)>醇提法(77.45 分)>水提法(62.92 分);动物实验结果表明,醇提法低、中、高剂量组,水提法高剂量组,醇水双提法中、高剂量组,挥发油双提低、中、高剂量组对二甲苯致小鼠耳廓肿胀有抑制作用($P<0.05$, $P<0.01$),并能减少注射冰醋酸后引起的小鼠扭体反应平均次数($P<0.05$, $P<0.01$),缓解角叉菜胶致大鼠足关节肿胀程度($P<0.05$, $P<0.01$),提高小鼠的痛阈值($P<0.05$, $P<0.01$),并呈现剂量依赖性。**结论** 挥发油双提法是清咽润喉复方的最佳提取方法,醇提法、挥发油双提法所得提取液的抗炎镇痛作用最强。

关键词: 清咽润喉复方; 抗炎; 镇痛; 醇提法; 水提法; 醇水双提法; 挥发油双提法

中图分类号: R944 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)02-0549-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.02.036

收稿日期: 2021-12-15

基金项目: 西南医科大学-泸州市中医医院基地项目(2018-LH001)

作者简介: 韩江云(1987—),男,硕士生,从事中药药剂药理研究。E-mail: 1061025913@qq.com

* 通信作者: 张 丹(1975—),女,博士,副教授,从事中药药剂药理研究。E-mail: 393335427@qq.com

清咽润喉复方由青龙白虎汤加荷叶而来。青龙白虎汤，出自清代著名医家《王氏医案》卷二^[1]，由鲜青果、鲜莱菔组成，具有清热泻火、解毒利咽、生津止渴的功效，可用于治疗慢性咽炎^[2]。青果，《本草纲目》中记载“生津液，止烦渴，治咽喉痛”；现代研究表明，青果中黄酮和没食子酸均有抗炎、镇痛作用^[3]。莱菔，即萝卜，为药食同源中药，可清热解毒、理气宽中；现代研究表明，萝卜具有清热生津、化痰止咳等作用^[4]。荷叶，可除晕清痰、泄气、止呕；现代研究表明，荷叶中生物碱、黄酮类化合物具有抗菌、消炎等功效^[5]。

复方现代研究中，醇和水为最常用提取溶剂，不同溶剂性质各异，故同一复方经不同溶剂提取，在成分种类、含量等方面也存在明显差异，将极大地影响复方药效发挥。因此，将有效成分和药效学相结合考察不同提取方法对复方药效的影响是一个更全面、更科学的考察方法^[6]。本研究以清咽润喉复方为研究对象，通过对比其有效成分含量和抗炎镇痛效果探究最佳提取方法，以期为开发安全可靠、服用方便的清咽润喉相关产品奠定理论基础和实验支撑。

1 材料

1.1 试剂与药物 青果、荷叶购自四川天植中药股份有限公司，经西南医科大学生药学教研室庄元春副教授鉴定为正品，均符合 2020 年版《中国药典》一部各饮片项下要求；萝卜、鸡蛋清购自泸州市菜市场。没食子酸（批号 MUST-17022801，纯度 99%）、荷叶碱（批号 MUST-17030204，纯度 98.91%）对照品购自成都曼思特生物科技有限公司；滨蒿内酯对照品（批号 Z05D7B26157，纯度 98%）购自上海源叶生物科技有限公司；二甲苯（批号 20150628）购自成都欣正通化工有限公司；地塞米松（批号 110310）购自北京百灵威科技有限公司。甲醇、乙腈均为色谱纯，购自成都科隆化学制品有限公司；冰乙酸为分析纯，购自天津申泰化学试剂有限公司。

1.2 仪器 LC-2030C 型高效液相色谱仪（日本岛津公司）；SQP 型电子分析天平（德国 Sartorius 公司）；艾柯超纯水机（成都唐氏唐宁科技发展有限公司）。

1.3 动物 SPF 级昆明种小鼠、SPF 级 SD 大鼠均由西南医科大学动物实验中心提供，实验动物生产许可证号 SCXK（川）2018-0017，实验动物使用许可证号 SCXK（川）2018-0063。本研究所有动物实验操作经西南医科大学实验动物伦理委员会批准。

2 方法与结果

2.1 提取与测定

2.1.1 提取方法

2.1.1.1 醇提法 将 30 g 清咽润喉复方用 10 倍量 70% 乙醇加热回流 3 次，合并滤液，浓缩至适当体积，即得清咽润喉复方醇提液。

2.1.1.2 水提法 将 30 g 清咽润喉复方用 10 倍量水加热提取 3 次，浓缩滤液至适当体积，即得清咽润喉复方水提液。

2.1.1.3 醇水双提法 先将适量青果、荷叶用 10 倍量 70% 乙醇加热回流 3 次，过滤，回收乙醇；另将滤渣与莱菔用 10 倍量纯水加热提取 3 次，过滤，合并乙醇提取物和水提取物，浓缩至当体积，即得清咽润喉复方醇水双提液。

2.1.1.4 挥发油双提法 称取青果、荷叶适量，打成粗粉，置圆底烧瓶中，加 10 倍量水，浸泡 30 min，按照 2020 年版《中国药典》四部通则 2204 挥发油测定法（甲法）提取，收集挥发油，滤渣用 10 倍量 70% 乙醇提取 3 次，过滤，回收乙醇；滤渣与莱菔加入 10 倍量水，加热提取 3 次，过滤，合并乙醇提取物和水提取物，浓缩至适当体积，加入挥发油，即得清咽润喉复方挥发油双提液。

2.1.2 溶液制备

2.1.2.1 供试品溶液 分别量取 10 mL “2.1.1” 项下 4 种提取液，挥干，10 mL 甲醇溶解，置于 10 mL 棕色量瓶中，加甲醇定容，0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.1.2.2 对照品溶液 精密称取没食子酸、滨蒿内酯对照品适量，置于 25 mL 棕色量瓶中，加入甲醇溶解，0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，制成质量浓度为 0.060 9、0.008 2 mg/mL 的混合对照品溶液。精密称取荷叶碱对照品适量，置于 25 mL 棕色量瓶内，加甲醇溶解，0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，制成质量浓度为 0.010 4 mg/mL 的对照品溶液。

2.1.3 色谱条件

2.1.3.1 没食子酸、滨蒿内酯 参考文献 [7] 报道，SHIMADZU Shim-pack GIST C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-0.5% 冰乙酸（B），梯度洗脱（0~5 min，2.5% A；5~21 min，2.5%~27% A；21~30 min，27%~35% A；30~32 min，35%~2.5% A；32~37 min，2.5% A）；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 271 nm（没食子酸）、345 nm（滨蒿内酯）；柱温 30 ℃；进样量 10 μL。理论塔板数以没食子酸计不低于 3 000；以滨蒿内酯计不低于 2 000。

2.1.3.2 荷叶碱 参考文献 [8] 报道，SHIMADZU Shim-pack GIST C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相乙腈-0.1% 三乙胺（60：40）；体积流量 0.8 mL/min；检测波长 270 nm；柱温 30 ℃；进样量 10 μL。理论塔板数以荷叶碱计不低于 2 000。

2.1.4 线性关系考察 取“2.1.2.2” 项下没食子酸、滨蒿内酯混合对照品溶液以及荷叶碱对照品溶液，分别在“2.1.3” 项色谱条件下进样 2、4、6、8、10、12 μL，以进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1。

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/μg
没食子酸	$Y=4\ 000\ 000X-32\ 378$	0.999 7	0.120 0~0.720 0
滨蒿内酯	$Y=4\ 000\ 000X-625.37$	0.999 6	0.001 6~0.009 6
荷叶碱	$Y=3\ 000\ 000X+4\ 079.2$	0.999 9	0.062 6~0.229 7

2.1.5 精密度试验 取“2.1.2.2”项下没食子酸、滨蒿内酯混合对照品溶液以及荷叶碱对照品溶液 10 μL，分别在“2.1.3”项色谱条件下进样测定 6 次，测得没食子酸、滨蒿内酯、荷叶碱峰面积 RSD 分别为 1.70%、2.00%、0.27%，表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一份“2.1.2.2”项下没食子酸、滨蒿内酯混合对照品溶液以及荷叶碱对照品溶液，于 0、2、4、6、12、24 h 在“2.1.3”项色谱条件下进样测定，测得没食子酸、滨蒿内酯、荷叶碱峰面积 RSD 分别为 1.66%、1.00%、1.32%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 取同一批“2.1.2.1”项下供试品溶液 6 份，在“2.1.3”项色谱条件下进样测定，测得没食子

酸、滨蒿内酯、荷叶碱含量 RSD 分别为 1.00%、2.80%、1.10%，表明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取各成分含量已知供试品溶液，加入适量没食子酸、滨蒿内酯、荷叶碱的混合对照品溶液，按“2.1.2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.3”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，没食子酸、滨蒿内酯、荷叶碱加样回收率分别为 104.21%、103.61%、102.53%，RSD 分别为 2.38%、2.84%、2.38%。

2.1.9 干膏率测定 精密吸取“2.1.1”项下所得提取液各 25 mL，置干燥至恒重的蒸发皿中，水浴挥干后，在 105 ℃烘箱中干燥 3 h，取出置干燥器中，冷却至室温后，精密称定质量至恒重，计算干膏率，结果见表 2。

表 2 各成分含量测定结果

提取方法	没食子酸/(mg·g ⁻¹)	滨蒿内酯/(mg·g ⁻¹)	荷叶碱/(mg·g ⁻¹)	干膏率/%	综合评分/分
醇提法	0.94	0.06	0.98	11.94	77.45
水提法	1.07	0.02	0.27	17.46	62.92
醇水双提法	1.18	0.07	0.92	19.62	96.34
挥发油双提法	1.26	0.07	0.95	19.98	99.39

2.1.10 含量测定 精密吸取“2.1.1”项下所得提取液适量，在“2.1.3”项色谱条件下进样测定，计算 4 种提取液中没食子酸、滨蒿内酯、荷叶碱含量。以青果中没食子酸含量、滨蒿内酯含量、荷叶中荷叶碱含量、干膏率作为考察指标，权重系数设置为 0.3、0.2、0.2、0.3 进行综合评分。评分标准中，因没食子酸、滨蒿内酯和荷叶碱均为方中有效成分，具有抗炎镇痛效果，其中没食子酸在方中含量最高，而中药是多成分的综合作用，干膏率又为后续的成型工艺提供一定的依据，故综合评分中二者的权重系数分别设为 0.3，滨蒿内酯和荷叶碱设为 0.2，公式为综合评分= (A×0.3+B×0.2+C×0.2+D×0.3) ×100 (A=没食子酸含量/没食子酸含量最大值，B=滨蒿内酯含量/滨蒿内酯含量最大值，C=荷叶碱含量/荷叶碱含量最大值，D=干膏率/干膏率最大值)。结果见表 2。

2.2 抗炎镇痛作用 本研究以小鼠耳廓肿胀、热板法、扭体法和大鼠足跖肿胀实验作为药效学评价指标，对 4 种提取物抗炎镇痛作用进行考察^[9]。

通过 Graphpad prism 5.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，2 组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析。以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2.2.1 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验 参考文献 [10] 报道，取雄性昆明种小鼠 140 只，体质量 (20±2) g，随机分为 14 组，每组 10 只，分别为醇提法、水提法、醇水双提法、挥发油双提法高、中、低剂量组 (18.20、9.10、4.55 g/kg)，地塞米松组 (10 mg/kg)，生理盐水组，连续灌胃给药 7 d。末次给药 0.5 h 后，用微量加样器于其右耳内外两侧均匀涂布二甲苯 25 μL/侧，左耳不处理作为对照。2 h 后脱颈椎处死，沿耳廓基部剪下双耳，用 6.0 mm 打耳器在相同位置打下两圆耳片，各自称定质量，以两耳片质量之差为肿胀程度，并计算肿胀抑制率。结果表明，与生理盐

水组比较，地塞米松组，醇提法低、中、高剂量组，水提法高剂量组，醇水双提法中、高剂量组，挥发油双提低、中、高剂量组小鼠耳廓肿胀度降低 (*P*<0.05，*P*<0.01)，并呈剂量依赖性，其中以醇提法高剂量组抗炎活性最强，见表 3。

2.2.2 角叉菜胶致大鼠足跖肿胀实验 参考文献 [10] 报道，取 SD 大鼠 140 只，雌雄各半，随机分为 14 组，每组 10 只，分别为分别为醇提法、水提法、醇水双提法、挥发油双提法高、中、低剂量组 (18.20、9.10、4.55 g/kg)，地塞米松组 (10 mg/kg)，生理盐水组，连续灌胃给药 7 d。末次给药 1 h 后，用足趾容积测量仪测其正常右后足跖容积，并于大鼠右后足跖皮下注入新鲜角叉菜胶 0.1 mL/爪，分别于致炎后 1、2、3、4、5、6 h 测定其右后足跖容积，计算肿胀值。结果表明，与生理盐水组比较，地塞米松组，

表 3 清咽润喉复方对小鼠耳廓肿胀程度的影响 ($\bar{x}\pm s$ ，*n*=10)

组别	耳廓肿胀度/mg	抑制率/%
生理盐水组	10.30±1.55	—
地塞米松组	3.82±1.75**	62.91
醇提法低剂量组	7.52±1.67*	26.99
醇提法中剂量组	5.61±1.38**	45.53
醇提法高剂量组	4.38±1.26**	57.48
水提法低剂量组	8.04±1.67	21.94
水提法中剂量组	7.92±1.41	23.11
水提法高剂量组	7.53±1.56*	26.89
醇水双提法低剂量组	7.95±1.73	22.82
醇水双提法中剂量组	7.60±2.23*	29.13
醇水双提法高剂量组	6.96±1.83**	32.43
挥发油双提法低剂量组	7.86±2.14*	29.51
挥发油双提法中剂量组	6.92±2.16**	42.52
挥发油双提法高剂量组	6.17±1.63**	49.81

注：与生理盐水组比较，* *P*<0.05，** *P*<0.01。

醇提法低、中、高剂量组，水提法高剂量组，醇水双提法中、高剂量组，挥发油双提低、中、高剂量组大鼠足关节肿胀值降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），并呈剂量依赖性，其中醇提法、挥发油双提法高剂量组抗炎活性最强，见表 4。

表 4 清咽润喉复方对大鼠足趾肿胀值的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$ ）

组别	肿胀值/mL					
	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
生理盐水组	1.29±0.16	1.31±0.24	1.18±0.17	1.03±0.19	0.86±0.29	0.75±0.21
地塞米松组	0.93±0.18**	1.10±0.25**	0.82±0.13**	0.74±0.12**	0.43±0.17**	0.38±0.20**
醇提法低剂量组	1.13±0.22*	1.15±0.17*	0.97±0.22*	0.92±0.24*	0.71±0.19*	0.62±0.15*
醇提法中剂量组	1.01±0.14**	1.09±0.26**	0.91±0.13**	0.83±0.19**	0.62±0.23**	0.54±0.27**
醇提法高剂量组	0.96±0.15**	1.02±0.20**	0.81±0.17**	0.76±0.26**	0.56±0.18**	0.41±0.24**
水提法低剂量组	1.33±0.19	1.30±0.21	1.17±0.23	0.97±0.15	0.81±0.13	0.72±0.26
水提法中剂量组	1.15±0.22*	1.12±0.26*	1.02±0.18*	0.95±0.12*	0.74±0.25*	0.61±0.14*
水提法高剂量组	1.17±0.28*	1.24±0.16*	0.97±0.27*	0.90±0.24*	0.70±0.21*	0.57±0.15*
醇水双提法低剂量组	1.25±0.17	1.26±0.23	1.12±0.12	0.98±0.27	0.83±0.16	0.70±0.29
醇水双提法中剂量组	1.16±0.24*	1.20±0.15*	1.06±0.12*	0.90±0.26*	0.72±0.11*	0.61±0.18*
醇水双提法高剂量组	1.12±0.12*	1.15±0.18*	0.99±0.31*	0.87±0.17*	0.66±0.14*	0.59±0.11*
挥发油双提法低剂量组	1.14±0.13*	1.18±0.27*	1.00±0.14*	0.90±0.21*	0.69±0.27*	0.58±0.23*
挥发油双提法中剂量组	1.04±0.22**	1.07±0.18**	0.89±0.16**	0.86±0.19**	0.65±0.17**	0.53±0.10**
挥发油双提法高剂量组	0.93±0.15**	1.04±0.27**	0.83±0.16**	0.79±0.13**	0.59±0.21**	0.48±0.28**

注：与生理盐水组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

2.2.3 小鼠热板法镇痛实验 参考文献 [11] 报道，取雌性昆明种小鼠 140 只，体质量（20±2）g，随机分为 14 组，每组 10 只，分别为醇提法、水提法、醇水双提法、挥发油双提法高、中、低剂量组（18.20、9.10、4.55 g/kg），阿司匹林组（200 mg/kg），生理盐水组，连续灌胃给药 7 d。于末次给药后，以热板法（55±0.5）℃ 分别在 30、60、

120 min 测量小鼠痛阈值。结果表明，与生理盐水组比较，阿司匹林组，醇提法低、中、高剂量组，水提法高剂量组，醇水双提法中、高剂量组，挥发油双提低、中、高剂量组小鼠痛阈值升高（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），并呈剂量依赖性，其中醇提法、挥发油双提法高剂量组活性最强，见表 5。

表 5 清咽润喉复方对小鼠热板性疼痛的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$ ）

组别	痛阈值/s		
	30 min	60 min	120 min
生理盐水组	22.58±6.32	21.36±5.02	23.94±5.67
阿司匹林组	42.21±8.15**	43.41±8.34**	42.39±7.92**
醇提法低剂量组	32.12±7.31*	32.64±6.49*	33.18±7.63*
醇提法中剂量组	37.02±8.12**	38.02±7.66**	39.02±8.17**
醇提法高剂量组	39.54±7.79**	40.47±8.71**	38.86±7.61**
水提法低剂量组	25.36±6.27	26.63±7.05	25.88±7.35
水提法中剂量组	26.53±7.06	26.74±6.82	27.39±7.26
水提法高剂量组	33.42±6.10*	34.69±6.34*	33.74±7.95*
醇水双提法低剂量组	26.78±6.74	26.74±7.66	26.74±7.66
醇水双提法中剂量组	32.62±7.11*	33.92±6.58*	33.18±7.63*
醇水双提法高剂量组	35.27±7.741*	34.36±6.82*	35.24±8.39*
挥发油双提法低剂量组	33.12±6.31*	31.64±6.16*	32.62±6.84*
挥发油双提法中剂量组	38.28±8.54**	38.18±7.84**	39.52±8.36**
挥发油双提法高剂量组	40.37±8.12**	39.86±8.41**	40.57±7.96**

注：与生理盐水组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

2.2.4 小鼠扭体法镇痛实验 参考文献 [12] 报道，取雄性昆明种小鼠 140 只，体质量（20±2）g，随机分为 14 组，每组 10 只，分别为醇提法、水提法、醇水双提法、挥发油双提法高、中、低剂量组（18.20、9.10、4.55 g/kg），阿司匹林组（200 mg/kg），生理盐水组，连续灌胃给药 7 d。末次药 1 h 后，各组小鼠腹腔注射 0.6% 冰醋酸 0.1 mL/10 g。以小鼠腹部内凹，后肢伸直，臀部抬起，蠕行为指标，观察记录注射 0.6% 冰醋酸后 15 min 内小鼠的扭体次数，并计算抑制率。结果表明，与生理盐水组比较，阿司

匹林组，醇提法低、中、高剂量组，水提法高剂量组，醇水双提法中、高剂量组，挥发油双提低、中、高剂量组小鼠平均扭体次数减少（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），并呈剂量依赖性，其中醇提法、挥发油双提法高剂量活性最强，见表 6。

3 讨论

青果多酚具有较好的抗炎活性，青果多酚中没食子酸含量较多，故可选用没食子酸为清咽润喉复方的指标性成分^[13]。研究发现，青果滨蒿内酯具有消炎止痛作用，故认为没食子酸、滨蒿内酯两者协同增效，从而发挥青果清热

表 6 清咽润喉复方对小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	平均扭体次数/次	抑制率/%
生理盐水组	20.63±6.38	—
阿司匹林组	9.82±4.75**	52.40
醇提法低剂量组	14.38±5.26*	30.30
醇提法中剂量组	12.56±5.01**	39.12
醇提法高剂量组	10.32±4.84**	50.95
水提法低剂量组	19.69±6.25	4.56
水提法中剂量组	18.92±5.79	8.29
水提法高剂量组	15.27±5.31*	25.98
醇水双提法低剂量组	17.95±1.73	12.99
醇水双提法中剂量组	15.60±2.23*	24.38
醇水双提法高剂量组	14.96±1.83**	27.48
挥发油双提法低剂量组	15.86±2.14*	23.12
挥发油双提法中剂量组	13.18±2.16**	36.11
挥发油双提法高剂量组	10.64±1.63**	48.42

注：与生理盐水组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。
利咽的作用^[14]。研究表明，荷叶主要活性成分生物碱抗炎作用最强^[15-18]。综合以上因素考虑，本研究选择没食子酸、滨蒿内酯、荷叶碱为清咽润喉复方有效成分考察指标。可能由于没食子酸在水中的溶解度大，滨蒿内酯、荷叶碱在乙醇中的溶解度大，故本研究中双提法能将大量水溶性和醇溶性成分提出，增加出膏率，综合评分较高（99.39分）。

复方有效性是多成分综合作用的结果，本研究以小鼠耳廓肿胀、热板法、扭体法、大鼠足跖肿胀实验作为药效学评价指标，对复方提取方法进行优化^[9]。结果表明，醇提法和挥发油双提法中、高剂量，醇水双提法高剂量组均对小鼠耳廓肿胀度有抑制作用（ $P<0.01$ ）；醇提法和挥发油双提法中、高剂量组均能减少小鼠平均扭体次数（ $P<0.01$ ）；醇提法和挥发油双提法中、高剂量组均能缓解大鼠足关节肿胀程度和提高小鼠的痛阈（ $P<0.01$ ），其中醇提法和挥发油双提法所得提取液的抗炎镇痛作用最强。

综上所述，本研究通过对比清咽润喉复方不同提取方法有效成分含量和抗炎镇痛效果，证明挥发油双提法为该复方最佳提取方法，为进一步的提取工艺和相关新型产品研发提供理论与实验基础。

参考文献：

[1] 游 宇，罗 林，傅超美，等. 青龙白虎保健饮料的研制[J]. 中药与临床，2018，9(2)：20-22.

[2] 傅小欧，海 霞. 慢性咽炎中医药治疗研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育，2020，18(8)：153-154；168.

[3] 张淑娟. 青果活性成分研究[D]. 广州：广东药科大学，2019.

[4] Paul S, Geng C A, Yang T H, *et al.* Phytochemical and health-beneficial progress of turnip (*Brassica rapa*) [J]. *J Food Sci*, 2019, 84(1)：19-30.

[5] 黄 雯. 荷叶抗菌消炎主要活性成分研究[D]. 长沙：中南林业科技大学，2010.

[6] 叶太生，张莹雯，王秀萍，等. 当归补血汤醇提物和水提物调控 BMP-7、TGF- β 1 表达对腺嘌呤诱导的肾间质纤维化大鼠保护作用的比较[J]. 时珍国医国药，2018，29(11)：2619-2622.

[7] 王 恒，宋良科，汤 昊，等. 不同种质青果清热利咽化学组分的研究[J]. 中国中药杂志，2010，35(6)：669-672.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020：287-288.

[9] 徐富翠，刘明华，孙玉红，等. 青果抗炎镇痛活性部位的筛选研究[J]. 中药药理与临床，2014，30(6)：121-124.

[10] 顾 平，李晋奇，童荣生. 苯甲酰乌头原碱配伍芍药苷的抗炎镇痛作用研究[J]. 中国现代应用药学，2018，35(8)：1212-1216.

[11] 赵 妮，方彩霞，王龙龙，等. 北败酱草镇痛、抗炎及体外抑菌作用探讨[J]. 西部中医药，2020，33(11)：26-29.

[12] 孙闪闪，耿树琼，李银蕊，等. 白族药紫地榆体内镇痛抗炎作用初步研究[J]. 中国医院药学杂志，2019，39(12)：1223-1226.

[13] 江仙凤，陈翠丽，李 诺，等. 青果有效成分的提取工艺研究进展[J]. 生物技术，2020，30(3)：307-311.

[14] Xiang Z B, Wu X L. Chemical constituents of Chinese white olive[J]. *Pharm Chem J*, 2017, 51(6)：465-470.

[15] Liu S H, Lu T H, Su C C, *et al.* Lotus leaf (*Nelumbo nucifera*) and its active constituents prevent inflammatory responses in macrophages *via* JNK/NF- κ B signaling pathway [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(4)：869-889.

[16] Zhang L N, Gao J H, Tang P, *et al.* Nuciferine inhibits LPS-induced inflammatory response in BV2 cells by activating PPAR- γ [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 63：9-13.

[17] Wang M X, Zhao X J, Chen T Y, *et al.* Nuciferine alleviates renal injury by inhibiting inflammatory responses in fructose-fed rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(42)：7899-7910.

[18] 程婷婷，原新博，惠小涵，等. 荷叶生物碱成分及其调脂机制研究进展[J]. 中草药，2019，50(8)：1998-2003.