

野生和栽培川西獐牙菜醇提物红外光谱分析及药效比较研究

杨红霞^{1 2} 李岑^{1 2} 高婷婷^{1 2} 耿卢婧^{1 2 3} 魏立新^{1 2} 杜玉枝^{1 2*}¹中国科学院西北高原生物研究所 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室;²中国科学院藏药研究重点实验室, 西宁 810008; ³中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 比较野生和栽培川西獐牙菜醇提物的成分及其肝保护、镇痛、抑制肠蠕动等药理作用。采用 HPLC 方法、红外光谱分析技术分析两种醇提物的成分; 采用 CCl₄ 致小鼠肝损伤模型、小鼠扭体实验和小鼠小肠推进功能实验对其进行药效学研究。野生和栽培川西獐牙菜原药材中含獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷的总量分别为 3.949% 和 4.539%, 两种原药材的一维和二维红外光谱间均没有明显差异; 两种醇提物的二维红外光谱之间差异较显著, 但均有显著的预防肝损伤的作用, 明显抑制醋酸所致的炎性疼痛和正常小鼠的肠蠕动功能, 二者药效没有明显差异, 且栽培品随给药剂量的增加而增强药效的趋势比野生品明显。

关键词: 川西獐牙菜; 野生; 栽培; 红外光谱; 药效

中图分类号: R965.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.1.020

Infrared Spectroscopy Analysis and Pharmacological Activity of Ethanol Extracts of Wild and Cultivated *Swertia mussotii* Franch

YANG Hong-xia^{1 2}, LI Cen^{1 2}, GAO Ting-ting^{1 2}, GENG Lu-jing^{1 2 3}, WEI Li-xin^{1 2}, DU Yu-zhi^{1 2*}¹Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Qinghai key laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Evaluation; ²Key

Laboratory of Tibetan Medicine Research, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China;

³University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: To compare the ingredient and pharmacological activity of ethanol extracts of wild and cultivated *Swertia mussotii* Franch. The method of HPLC and infrared spectroscopy was used to compare the ingredient of extracts of wild and cultivated *S. mussotii* Franch; liver injury model induced by CCl₄ in mice, acetic acid-induced writhing experiment and normal mouse were used to compare the hepatoprotective function, irritation and peristaltic inhibition of the extracts. The total content of swertiamarin, gentiopicrin and mangiferin of wild and cultivated *S. mussotii* Franch were 3.949% and 4.539% respectively; Infrared spectroscopy of ethanol extracts had no obvious difference, while two-dimensional correlation spectroscopy (2D-COS) of them had evident difference. The pharmacological experiments results proved their hepatoprotective function, irritation and peristaltic inhibition, while the enhancement pharmacological activity of cultivated sample with the increasing of dosage was more obvious when it compared with that of wild sample.

Key words: *Swertia mussotii* Franch; wild; cultivated; infrared spectroscopy; pharmacological activity

川西獐牙菜(*Swertia mussotii* Franch.) 属龙胆科(Gentianaceae) 獐牙菜属(*Swertia* L.) 植物, 是重要的藏药材资源种类, 主要分布于我国西藏、青海、四川和云南(德钦), 是青藏地区的特有种^[1-3], 以干燥的全草入药。川西獐牙菜以其长期的用药历史和对肝炎疾病的显著治疗作用^[4-8], 在肝胆疾病市场被强

烈需求。

随着对川西獐牙菜药理活性的不断研究和我国民族医药的迅速发展, 川西獐牙菜的资源需求快速增加, 对野生植物资源的过量开发, 特别是在植物生长阶段的花果期大量采收导致其资源量锐减和逐渐枯竭, 其地域分布亦日益狭窄, 野生资源植物濒临灭绝^[9]。目前川西獐牙菜已经在较低海拔地区人工栽培成功^[3], 通过对野生和栽培种进行比较分析, 两者主要化学成分种类含量无显著差异^[10]。但有关栽培川西獐牙菜的药理作用, 目前还没有相关报

收稿日期: 2015-09-23

接受日期: 2015-12-03

基金项目: 中国科学院重点部署项目(KSZD-EW-Z-004)

* 通讯作者 Tel: 86-971-6132480; E-mail: yzdu@nwipb.cas.cn

道。本实验拟采用 HPLC 和红外光谱分析方法,分别检测野生和栽培川西獐牙菜原药材和醇提物化学成分。并选用 CCl_4 诱导的小鼠肝损伤模型、小鼠扭体实验和小鼠小肠推进功能实验对两种醇提物进行药效学比较研究。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

野生川西獐牙菜为 2013 年 8 月于四川小金县采集,经中国科学院西北高原生物研究所卢学峰副研究员鉴定为川西獐牙菜 (*Swertia mussotii* Franch.);栽培川西獐牙菜为中国科学院西北高原生物研究所自主栽培。谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)、胆汁酸(TBA)、小鼠前列腺素 E2(PGE2)、小鼠一氧化氮(NO)、小鼠总一氧化氮合酶(TNOS)、小鼠诱导型一氧化氮合成酶(INOS)试剂盒(南京建成生物工程研究所);阿司匹林肠溶片(山西太原晋阳制药厂,国药准字 H14023040)。

1.2 动物

SPF 级昆明种(KM)小鼠,体重 18~22 g,雌雄兼有,购买于甘肃中医学院实验动物中心,生产许可证号:SCXK(甘)2011-0001。

1.3 仪器

Spectrum One 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司);Millipore 超纯水器(美国 Millipore 公司);TECAN Infinite 200 系列多功能酶标仪(奥地利);东芝 TBA-40RF 型全自动生化分析仪(日本);ZH-YLS-6B 智能热板仪(淮北正华生物仪器设备有限公司)。

2 实验方法

2.1 样品制备

称取自然阴干粉碎后的川西獐牙菜 1.50 kg,加入 10 倍体积的 75% 乙醇浸泡过夜后加热回流提取,回流发生开始计时,第一次提取 2 h 后,将提取液移出;再加入 6 倍体积提取溶液提取 1 h,相同方法提取第三次,合并三次提取液,利用负压回收乙醇,获得提取物。野生川西獐牙菜 75% 乙醇提取物简称野生提取物,栽培川西獐牙菜 75% 乙醇提取物简称栽培提取物。

2.2 野生和栽培川西獐牙菜醇提物有效成分含量测定

2.2.1 检测条件

利用 HPLC Agilent 1100 检测器检测提取物中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷含量。XDB-C18 柱子(250 mm × 4.6 mm 5 μm; USA),温度 25 °C,流速 1.0 mL/min,流动相为水(A)和甲醇(B)。梯度洗脱程序如下:0~10 min,18%~30% B;10~25 min,30%~55% B;25~47 min,55%~80% B;47~60 min,80%~95% B。检测獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷,波长 254 nm。

2.2.2 HPLC 供试样品制备

称取提取物 0.30 g,溶于 20 mL 甲醇,超声 20 min 后过滤定容到 25 mL 容量瓶中,进样前过 0.45 μm 滤膜。

2.2.3 标准曲线

精密称取獐牙菜苦苷 2.96 mg,龙胆苦苷 4.61 mg,芒果苷 3.76 mg,分别溶于 5 mL 容量瓶中,浓度分别为 0.592、0.922、0.752 mg/mL,三种标准溶液以相同体积混匀后,混合标品逐一稀释 2、4、8、16、64 倍后进样检测,进样量对峰面积得校正曲线:獐牙菜苦苷: $Y = 12814X + 34.513$, $R = 1.0000$ (0.03~5.92 μg);龙胆苦苷: $Y = 11422X + 46.24$, $R = 0.9999$ (0.05~9.22 μg);芒果苷: $Y = 28848X - 75.693$, $R = 0.9999$ (0.04~7.52 μg)。

2.2.4 精密度

对 0.25 倍混合对照品母液连续进样 6 次,在 2.2.1 色谱条件下进行分析,计算 6 次进样三种对照物质的峰面积和 6 次进样峰面积的 RSD 值,3 种成分的 RSD 值分别为 0.21%、0.17% 和 0.14%,表明仪器的精密度良好。

2.2.5 重复性

精密称取野生样品 6 份,每份约 0.300 g,依照供试品处理方法进行处理制成待测溶液,进样测定各指标成分含量并计算 6 份样品各指标成分含量的 RSD 值,獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷同一批 6 个样品的含量的 RSD 分别为 2.21%、1.72% 和 0.98%,表明含量测定方法的重复性良好。

2.2.6 稳定性实验

取野生 HPLC 供试样品,室温放置,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样 5 μL,测定峰面积,计算其 RSD 值,獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷 3 种指标成分的 RSD 分别为 1.48%、1.79% 和 2.04%。表明供试品溶液中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷在 24 h 内稳定。

2.2.7 加样回收率实验

对已测定三种指标成分獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷的含量的样品,分别精密称取9份样品,每份样品约称量0.100 g,分别加入约0.5、1.0和2.0倍三种指标成分的对照品,按照样品溶液制备方法和优化的色谱条件分析,三种指标成分的三种加入量回收率的RSD值分别为0.82%、1.44%和0.94%。

2.3 野生和栽培川西獐牙菜醇提取物红外光谱比较

各样品真空减压干燥后经溴化钾压片制样扫描,测定其红外光谱。采用Spectrum One型傅里叶变换红外光谱仪(美国Perkin Elmer公司),光谱范围:4000~400 cm^{-1} ;DTGS检测器,分辨率4 cm^{-1} ;扫描次数16次;扫描时实时扣除水和 CO_2 的干扰。三级鉴定将药材及提取物的溴化钾压片放在变温池内,通过程序控制升温,从50~120 $^{\circ}\text{C}$ 每隔10 $^{\circ}\text{C}$ 进行原位实时扫描红外光谱,获得动态光谱集。

2.4 野生和栽培川西獐牙菜醇提取物的肝保护实验

SPF级KM小鼠90只,18~22 g,禁食不禁水12 h后,随机分组,每组10只动物,雌雄各半。设置空白对照组、模型对照组(蒸馏水20 mL/kg)、阳性对照组(联苯双酯0.10 g/kg)、野生和栽培川西獐牙菜醇提取物给药组,给药组各设置0.50、1.00和2.00 g/kg三个剂量。空白组和模型组灌胃蒸馏水,其它各组以不同剂量的野生或栽培提取物水溶液灌胃,每天1次,连续8 d。末次给药2 h后,除正常组外,其余各组腹腔注射0.1% CCl_4 (v/v,溶于橄榄油) 10 mL/kg,禁食不禁水22 h后,称重,断颈取血,分离血清,用全自动生化分析仪测定ALT、AST、TBA和TBIL。

2.5 野生和栽培川西獐牙菜醇提取物的镇痛作用

SPF级KM小鼠90只,18~22 g,禁食不禁水12 h后,随机分组,每组10只动物,雌雄各半,分别为空白对照组、模型组、阳性组、野生和栽培提取物给药组。空白对照组和模型组分别灌胃等剂量的蒸馏水,阳性组按照0.20 g/kg的剂量灌胃阿司匹林,野生和栽培川西獐牙菜醇提取物不同剂量给药组分别灌胃0.50、1.00和2.00 g/kg,每天灌胃一次,连续8 d,第8 d灌胃30 min后,除空白对照组外,所有实验小鼠按照10 mL/kg剂量皮下注射1.0%的冰醋酸,5 min后开始观察,将扭体反应(腹部内凹,伸展下肢,臀部抬高)作为观察项,记录10 min内的扭体次数。扭体实验结束30 min后,所有实验小鼠

采用断颈取血,于 $3.5 \times 10^3 \text{ r/min}$ 离心10 min,分离血清。参照试剂盒的说明,用多功能酶标仪测定血清生化指标PGE₂、NO、TNOS和iNOS。

2.6 野生和栽培川西獐牙菜醇提取物对正常小鼠小肠推进功能的影响

SPF级KM小鼠90只,18~22 g,禁食不禁水24 h后,随机分为8组,每组10只小鼠,雌雄各半,依次为空白对照组、阳性对照组、野生和栽培川西獐牙菜醇提取物给药组。空白对照组按照20 mL/kg灌胃10%的印度墨水;阳性对照组按照10 mL/kg腹腔注射阿托品,30 min后灌胃10%的印度墨水;野生和栽培川西獐牙菜提取物不同剂量给药组分别以1.25、2.50和5.00 g/kg剂量给药提取物的水溶液(含5%的印度墨水);各组灌胃2 min后,用颈椎脱臼法将小白鼠处死。小鼠处死后立即剖腹。取出整个胃肠道,置于盛有少量生理盐水的培养皿中,用眼科剪剪去附着在肠管上的肠系膜,将肠管不加牵拉地轻轻平铺在玻璃板上(玻璃板上滴有少许生理盐水,以防肠管粘在玻璃板上)。以胃的幽门为起点,回盲部为终点,测量并记录小肠全长(cm),并测量自幽门开始,墨汁在肠管内移行的距离(cm)。小肠推进率(%) = 用药后墨水的前沿到幽门的距离(推进距离) / 小肠全长(幽门至回盲部) $\times 100\%$ 。

2.7 数据处理

利用Origin软件处理一维红外光谱。采用清华大学分析中心红外光谱组自行设计的二维相关分析软件处理动态光谱集,获得二维相关红外光谱。

药理实验中各组数据比较均采用SPSS 17.0进行单因素方差(ANOVA)分析。实验结果以均值 \pm 标准差(S. D.)或相对百分比(%)表示, $P < 0.05$ 被认为是具有统计差异。

3 实验结果

3.1 野生和栽培川西獐牙菜提取率及其有效成分含量

根据2.1项下的提取流程,用75%乙醇分别提取野生和栽培川西獐牙菜,并计算提取率。根据2.1项下的指标成分含量测定方法,测定不同提取物中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷的含量,计算其在原药材中所占比例。提取率及指标成分含量检测结果见表1。

表1 野生和栽培川西獐牙菜提取率及川西獐牙菜中三种目标成分含量

Table 1 Extraction yield of wild and cultivated *S. mussotii* F. with ethanol and content of targeted constituents

	75% 乙醇提取率 Extraction yield (%)	目标成分含量 Content of targeted constituents (%)			目标成分 含量总计 Total content (%)
		獐牙菜苦苷 Swertiamarin	龙胆苦苷 Gentiopiricin	芒果苷 Mangiferin	
野生川西獐牙菜 Wild <i>S. mussotii</i>	27.4	0.365	2.974	0.610	3.949
栽培川西獐牙菜 Cultivated <i>S. mussotii</i>	36.2	0.448	3.323	0.768	4.539

3.2 野生和栽培川西獐牙菜醇提取物红外光谱的分析及对比

3.2.1 一维红外光谱分析

由表2和图1可以看出,野生和栽培川西獐牙菜提取物中含有较多的糖(苷)类成分,相较于原药材,提取物中酯类化合物吸收峰明显(2853 cm⁻¹)。提取物之间和原药材之间的红外谱图均较为相似。

3.2.2 二维红外光谱分析

以热为诱因的二维红外相关谱,反应在升温过程中,被测样本中各组分有关基团的分子振动对热响应的行为。实验选取1200~900 cm⁻¹区域,对川西獐牙菜原药材,75%乙醇提取物分别进行分析比较。

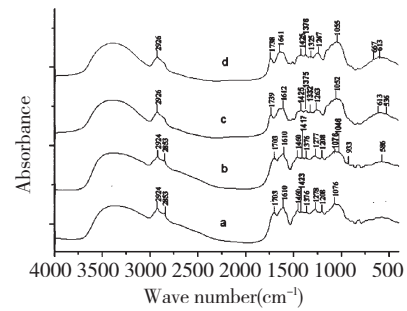


图1 野生川西獐牙菜醇提取物(a)、栽培川西獐牙菜醇提取物(b)、野生川西獐牙菜(c)及栽培川西獐牙菜(d)的红外光谱图

Fig. 1 Infrared spectra of wild *S. mussotii* ethanol extract (a), cultivated *S. mussotii* ethanol extract (b), wild *S. mussotii* (c) and cultivated *S. mussotii* (d)

表2 川西獐牙菜及提取物红外光谱中主要吸收峰及归属

Table 2 The main absorption peaks and attribution of *S. mussotii* and its extracts

波数 Wave number (cm ⁻¹)				基团 Group	振动方式 Vibration model	归属 Attribution
野生提取物 Wild sample extract	栽培提取物 Cultivated sample extract	野生川西獐牙菜 Wild sample	栽培川西獐牙菜 Cultivated sample			
2924	2924	2926	2926	次甲基 -CH ₂	反对称伸缩	酯类
2853	2853	-	-	次甲基 -CH ₂	对称伸缩	酯类
-	-	1739	1738	羰基 C=O	伸缩	酯类
1703	1703	-	-	羰基 C=O	伸缩	酯类
-	-	1641	1641	羰基 C=O	伸缩	酯类
1610	1610	1612	1612	C—C	反对称伸缩	萜类
1460	1460	-	-	甲基 -CH ₃	面外弯曲	酯类、糖(苷)
1423	1417	1425	1425	C-O	伸缩	糖(苷)
1376	1376	1375	1376	CH ₃	弯曲	酯类
-	-	1332	1325	O-H	弯曲	酚类
1278	1277	1263	1263	C-O, C-OH	伸缩	萜类, 酚类, 糖苷
-	-	1247	1247	C-O(H)	伸缩	萜类, 酚类, 糖苷
1208	1208	-	-	C-O, C-OH	伸缩	萜类, 酚类, 糖苷
1076	1076	-	-	C-O, C-OH	伸缩	萜类, 酚类, 糖苷
1046	1046	1052	1055	糖环	环振动	糖(苷)

由图 2 和表 3 可知,野生川西獐牙菜 75% 乙醇提取物的自动峰有 5 个,较强峰在 927 cm^{-1} 、1020 cm^{-1} 和 1079 cm^{-1} ,栽培川西獐牙菜 75% 乙醇提取物的自动峰有 4 个,较强峰在 1069 cm^{-1} 。

表 3 野生和栽培川西獐牙菜原药材 75% 乙醇提取物的二维相关红外光谱(1200 ~ 900 cm^{-1})
Table 3 Autopeaks of ethanol extracts of wild and cultivated *S. mussotii* in region of 1200-900 cm^{-1}

样品 Sample	自动峰 Automatic peak (cm^{-1})
野生提取物 Wild sample extract	927 ,989 ,1020 ,1079 ,1179
栽培提取物 Cultivated sample extract	931 ,986 ,1069 ,1149

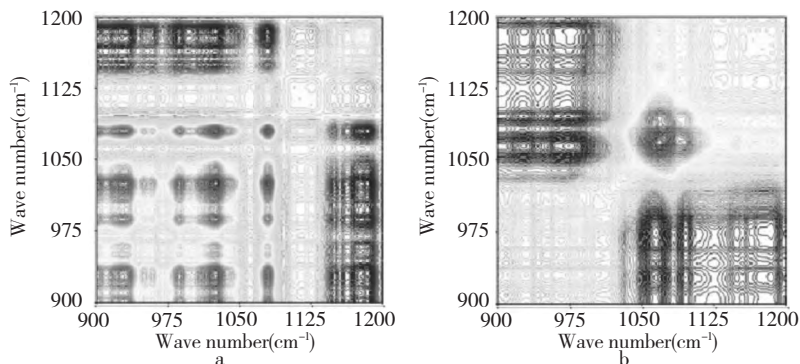


图 2 野生川西獐牙菜 75% 乙醇提取物 (a) 和栽培川西獐牙菜 75% 乙醇提取物 (b) 的二维红外光谱(1200 ~ 900 cm^{-1})
Fig. 2 2D-IR spectra of 75% ethanol extracts of wild *S. mussotii* (a) and cultivated *S. mussotii* (b) in the region 1200-900 cm^{-1}

由图 3 和表 4 可知,野生川西獐牙菜的自动峰有 6 个,较强峰在 948 cm^{-1} 和 976 cm^{-1} ,栽培川西獐牙菜的自动峰有 4 个,较强峰在 948 cm^{-1} 和 976 cm^{-1} 。

图 1 ~ 3 和表 2 ~ 4 显示,野生和栽培川西獐牙菜原药材的一维红外光谱之间,75% 乙醇提取物的一维红外光谱之间,野生和栽培川西獐牙菜原药材的二维红外光谱之间,均没有明显差异,75% 乙醇提取物的二维红外光谱之间差异较明显。二维红外光

谱显示出的对野生和栽培川西獐牙菜 75% 乙醇提取物之间高分辨率这一特点,是否可作为区分野生和栽培野生川西獐牙菜的方法,有待于进一步考证。
3.3 野生和栽培川西獐牙菜醇提物保肝活性比较实验结果

结果显示,与模型组相比,野生和栽培川西獐牙菜均能预防 CCl_4 致小鼠的肝损伤作用,ALT 和 AST 两指标显示,模型组和给药组之间有显著性差异 ($P < 0.01$)。ALT、TBIL 和 TBA 三指标显示,人工栽培

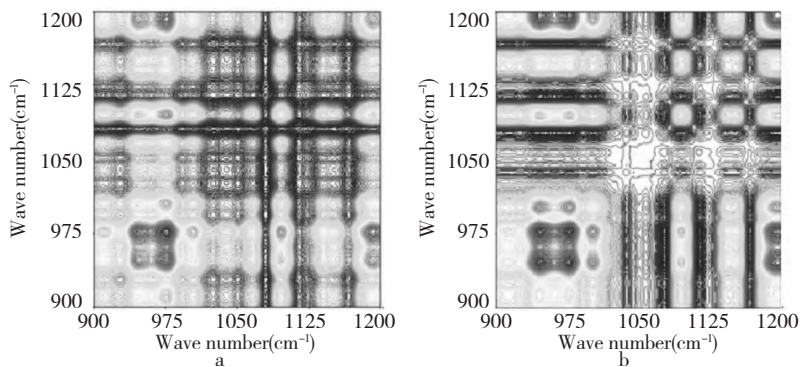


图 3 野生川西獐牙菜 (a) 和栽培川西獐牙菜 (b) 样品的二维红外光谱(1200 ~ 900 cm^{-1})
Fig. 3 2D-IR spectra of wild *S. mussotii* (a) and cultivated *S. mussotii* (b) in the region 1200-900 cm^{-1}

表 4 野生和栽培川西獐牙菜的二维相关红外光谱(1200~900 cm⁻¹)
Table 4 Autopeaks of wild and cultivated *S. mussotii* in region of 1200-900 cm⁻¹

样品 Sample	自动峰 Automatic peak cm ⁻¹
野生川西 Wild <i>S. mussotii</i>	948 ,976 ,1068 ,1098 ,1138 ,1192
栽培川西 Cultivated <i>S. mussotii</i>	948 ,976 ,1001 ,1148

川西獐牙菜高剂量给药的预防肝损伤的作用比阳性药联苯双酯的预防作用明显 ($P < 0.01$) ; 随着野生和栽培川西獐牙菜醇提物给药剂量增加, 预防肝损伤作用逐渐增强, 有明显量效关系, 而且栽培川西獐牙菜随给药剂量增加而增强的预防作用更明显。具体见表 5。

3.4 野生和栽培川西獐牙菜醇提物的镇痛作用比较

野生和栽培川西獐牙菜提取物对冰醋酸所引起疼痛的抑制作用结果如表 6 所示, 给野生或栽培川西獐牙菜醇提物不同剂量后均能减少小鼠扭体次数, 降低相关血清生化指标, 且作用呈现剂量依赖性。和模型组相比, 两个高剂量给药组的扭体次数

和四项指标均具有显著差异 ($P < 0.01$) ; 与阳性给药组相比, 两个高剂量给药组的血清 NO 含量有显著差异 ($P < 0.01$) , 扭体次数有统计差异 ($P < 0.05$) , 说明野生和栽培川西獐牙菜提取物都具有镇痛作用。

3.5 野生和栽培川西獐牙菜提取物对小鼠小肠推进功能的影响实验结果

由表 7 可知, 不同剂量野生或栽培川西獐牙菜醇提物给药正常均可明显降低小鼠小肠的推进功能。和空白组相比, 注射阿托品的阳性对照组和不同剂量给药组的小肠推进率均有显著差异 ($P < 0.01$) ; 和阳性给药组相比, 野生或栽培川西獐牙菜醇提物高剂量组抑制小肠推进率的作用更明显 (P

表 5 野生和栽培川西獐牙菜醇提物保肝活性比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 5 The hepatoprotective effects of ethanol extract of wild and cultivated *S. mussotii* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose	谷丙转氨酶 ALT(U/L)	谷草转氨酶 AST(U/L)	总胆红素 TBIL($\mu\text{mol/L}$)	总胆汁酸 TBA($\mu\text{mol/L}$)
空白组 Control	distilled water	42.40 \pm 1.36	145.10 \pm 5.09	2.17 \pm 0.33	3.09 \pm 0.73
CCl ₄ 模型组 CCl ₄ Model	0.01 mL/kg	1456.87 \pm 106.32 ^{##}	821.30 \pm 71.30 ^{##}	3.34 \pm 1.04 ^{##}	4.61 \pm 1.08 ^{##}
阳性组 Positive	0.10 g/kg(Bifendate) + 0.01 mL/kg(CCl ₄)	955.12 \pm 130.47 ^{##**}	216.88 \pm 40.89 ^{##**}	3.04 \pm 0.82 ^{##}	7.51 \pm 1.69 ^{##**}
野生低剂量组 Wild-L	1.25 g/kg + 0.01 mL/kg(CCl ₄)	1016.62 \pm 68.30 ^{##**}	647.33 \pm 41.47 ^{##**$\Delta\Delta$}	3.23 \pm 1.04 ^{##}	6.02 \pm 1.64 ^{##**}
野生中剂量组 Wild-M	2.50 g/kg + 0.01 mL/kg(CCl ₄)	991.57 \pm 80.39 ^{##**}	556.42 \pm 28.34 ^{##**$\Delta\Delta$}	2.88 \pm 0.83 ^{##}	5.42 \pm 1.01 ^{##$\Delta\Delta$}
野生高剂量组 Wild-H	5.00 g/kg + 0.01 mL/kg(CCl ₄)	794.00 \pm 79.36 ^{##**$\Delta\Delta\&$}	449.71 \pm 32.67 ^{##**$\Delta\Delta\&$}	2.39 \pm 0.87 ^{##$\Delta\&$}	5.25 \pm 1.12 ^{##$\Delta\Delta\&$}
栽培低剂量组 Cultivate-L	1.25 g/kg + 0.01 mL/kg(CCl ₄)	1214.57 \pm 116.72 ^{##*}	681.22 \pm 69.69 ^{##**$\Delta\Delta$}	2.31 \pm 0.65 ^{$\Delta\&$}	5.42 \pm 1.09 ^{##**Δ}
栽培中剂量组 Cultivate-M	2.50 g/kg + 0.01 mL/kg(CCl ₄)	769.05 \pm 80.72 ^{##**$\Delta\Delta\&$}	529.42 \pm 40.84 ^{##**$\Delta\Delta$}	2.15 \pm 0.85 ^{**$\Delta\Delta\&$}	3.99 \pm 0.72 ^{##$\Delta\Delta\&$}
栽培高剂量组 Cultivate-H	5.00 g/kg + 0.01 mL/kg(CCl ₄)	198.00 \pm 29.58 ^{##**$\Delta\Delta\&$}	224.22 \pm 13.39 ^{##**$\Delta\Delta\&$}	1.83 \pm 0.56 ^{**$\Delta\Delta\&$}	3.79 \pm 0.61 ^{$\Delta\Delta\&$}

注: 与空白对照组比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型对照组比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; 与阳性对照组比, ^{Δ} $P < 0.05$, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$; 与野生低剂量给药组比, ^{$\&$} $P < 0.05$, ^{$\&\&$} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; Compared with model group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; Compared with positive control group, ^{Δ} $P < 0.05$, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$; Compared with low dose group of wild *S. mussotii*, ^{$\&$} $P < 0.05$, ^{$\&\&$} $P < 0.01$.

表6 野生和栽培川西獐牙菜醇提取物对冰醋酸所致疼痛的抑制作用($\bar{x} \pm s$ $n=10$)Table 6 Effect of ethanol extract of wild and cultivated *S. mussotii* on acetic acid induced pain of mice($\bar{x} \pm s$ $n=10$)

分组 Group	给药剂量 Dose	扭体次数 Twisting number(次)	血清生化指标 Serum biochemical indices			
			前列腺素 E2 PGE ₂ (pg/mL)	一氧化氮 NO(μmol/L)	总一氧化 氮合酶 TNOS(U/mL)	诱导型一氧 化氮合酶 iNOS(U/mL)
空白对照组 Control	-	-	97.48 ± 12.03	1.83 ± 0.67	30.83 ± 11.43	20.82 ± 7.91
1.0% AcOH 组 Model	10 mL/kg	52.68 ± 10.78	149.89 ± 11.33 ^{##}	2.71 ± 0.37 ^{##}	53.47 ± 3.21 ^{##}	42.01 ± 2.26 ^{##}
阳性对照组 Positive	0.20 g/kg + 10 mL/kg (1.0% AcOH)	39.67 ± 14.61	125.57 ± 9.72 ^{##}	2.48 ± 0.11 [#]	40.91 ± 4.45 [*]	25.85 ± 3.86 ^{**}
野生低剂量组 Wild-L	0.50 g/kg + 10 mL/kg (1.0% AcOH)	33.09 ± 6.98	121.74 ± 13.26 ^{##}	2.28 ± 0.31 ^{**}	45.63 ± 6.05 [#]	28.28 ± 1.87 ^{**}
野生中剂量组 Wild-M	1.00 g/kg + 10 mL/kg (1.0% AcOH)	29.45 ± 8.42 [*]	117.38 ± 10.00 ^{**}	2.19 ± 0.80 ^{**△△}	46.34 ± 5.83 [#]	28.40 ± 8.92 [*]
野生高剂量组 Wild-H	2.00 g/kg + 10 mL/kg (1.0% AcOH)	25.63 ± 2.15 ^{**△}	107.35 ± 8.62 ^{**△}	1.89 ± 0.57 ^{**△△}	35.76 ± 9.85 ^{**}	24.81 ± 3.42 ^{**}
栽培低剂量组 Cultivate-L	0.50 g/kg + 10 mL/kg (1.0% AcOH)	37.28 ± 4.36	130.77 ± 8.95 ^{##}	2.46 ± 0.98 ^{##}	39.28 ± 4.67	30.87 ± 0.74 ^{##}
栽培中剂量组 Cultivate-M	1.00 g/kg + 10 mL/kg (1.0% AcOH)	30.08 ± 6.78 [*]	121.54 ± 8.67 [#]	2.21 ± 1.02 ^{**△△}	41.24 ± 5.86 [#]	27.63 ± 3.52 [*]
栽培高剂量组 Cultivate-H	2.00 g/kg + 10 mL/kg (1.0% AcOH)	23.56 ± 3.87 ^{**△}	115.21 ± 4.32 ^{**}	2.00 ± 0.33 ^{**△△}	36.26 ± 4.32 ^{**}	23.66 ± 4.86 ^{**}

注:与空白对照组比,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型对照组比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与阳性对照组比,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; Compared with model group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$; Compared with positive control group,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

< 0.05);和野生提取物低剂量组相比,野生高剂量组有统计差异($P < 0.05$),栽培高剂量组有显著性差异($P < 0.01$),提示野生和栽培川西獐牙菜醇提取物都具有抑制正常小鼠肠蠕动的功能。

表7 野生和栽培川西獐牙菜醇提取物对正常小鼠小肠推进功能的影响($\bar{x} \pm s$ $n=10$)Table 7 Effect of ethanol extract of wild and cultivated *S. mussotii* on normal mouse intestine propulsive function($\bar{x} \pm s$ $n=10$)

分组 Group	给药剂量 Dose	小肠推进率 Small intestinal propulsion rates (%)
10% ink 空白对照组 Control	20.00 mL/kg	54.39 ± 3.23
Atropine 阳性对照组 positive	10.00 mL/kg	29.78 ± 5.01 ^{##}
野生低剂量组 wild-L	1.25 g/kg	30.12 ± 3.92 ^{##}
野生中剂量组 wild-M	2.50 g/kg	23.11 ± 6.75 ^{##}
野生高剂量组 wild-H	5.00 g/kg	20.78 ± 5.21 ^{##*△}
栽培低剂量组 cultivate-L	1.25 g/kg	31.71 ± 9.32 ^{##}
栽培中剂量组 cultivate-M	2.50 g/kg	25.83 ± 5.59 ^{##*△}
栽培高剂量组 cultivate-H	5.00 g/kg	19.78 ± 3.87 ^{##**△△}

注:与空白对照组比,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与阳性对照组比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与野生最低给药剂量组相比,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; Compared with positive control group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$; Compared with low dose group of wild *S. mussotii* group,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

4 讨论与结论

红外光谱分析方法近年来被广泛应用于药材分析中,具有快速、高效、宏观整体特征性强等特

点^[11]。本研究采用一维和二维红外光谱对野生和栽培川西獐牙菜原药材及其醇提取物进行分析,结果显示野生和栽培川西獐牙菜原药材和醇提取物的一维红外光谱之间没有明显差异;但是二维红外光谱显

示,在 1200 ~ 900 cm^{-1} 区域,原药材之间没有明显的差异,野生川西獐牙菜提取物中各成分的热响应比栽培川西獐牙菜提取物明显。同时,HPLC 含量检测显示栽培川西獐牙菜中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷含量较高。

本研究在野生川西獐牙菜已被证实的抗氧化作用^[12]的基础上,联系抗氧化作用和镇痛作用的关系^[13],比较了野生和栽培川西獐牙菜的镇痛作用。另外,川西獐牙菜同属植物印度獐牙菜和紫红獐牙菜被证实具有抑制离体豚鼠回肠收缩兴奋的作用^[14,15],本实验通过预防肝损伤,镇痛和抑制肠蠕动三方面的药效实验,比较栽培川西獐牙菜药效作用和野生川西獐牙菜药效的差别。研究结果显示,野生和栽培川西獐牙菜表现出相似的药理作用,两者之间没有明显的差别,但栽培品种随着给药剂量的增加,药效的增加比野生品种增加明显。

周利、陈桂琛^[3,16]等人对野生和栽培川西獐牙菜中有效化学成分的研究结果显示,人工栽培川西獐牙菜药材仍具有优良的品质,其有效化学成分可达到野生状态水平,提示野生川西獐牙菜的人工栽培是可行的。由本研究的成分分析和药效实验结果可知,野生和栽培川西獐牙菜所含成分、主成分含量、药效没有显著性差异。在川西獐牙菜野生资源逐渐匮乏的情况下,本研究为开发和区分栽培川西獐牙菜提供了一些药效学依据,具有一定的现实意义。

参考文献

- 1 Yang YC(杨永昌). Tibetan Medicine Volunteers. Xining: Qinghai People's Publishing House, 1991.
- 2 Liu SW(刘尚武). Flora of Qinghai (3 volumes). Xining: Qinghai People's Publishing House, 1996.
- 3 Chen GC(陈桂琛), Lu XF(卢学峰), Sun J(孙菁) *et al.* Introduction and cultivation of *Swertia mussotii* Franch. a famous Tibetan medicine. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学) 2005 33: 272-273.
- 4 Hajimehdipoor H, Sadeghi Z, Elmi S *et al.* Protective effects of *Swertia longifolia* Boiss. and its active compound, swerchirin, on paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. *J Pharm Pharmacol* 2006 58: 277-280.
- 5 Li JC, Feng L, Sun BH *et al.* Hepatoprotective activity of the constituents in *Swertia pseudochinensis*. *Biol Pharm Bull*, 2005 28: 534-537.
- 6 Kotoky J, Das PN. Medicinal plants used for liver diseases in some parts of Kamrup district of Assam, a North Eastern State of India. *Fitoterapia* 2008 79: 384-387.
- 7 Han Q(韩青), Wei LX(魏立新), Du YZ(杜玉枝). The research of "zangyinchenan" resistance liver fibrosis in rats induced by CCl_4 . *Chin Tradit Pat Med* (中成药) 2009, 31: 936-937.
- 8 Han Q(韩青), Wei LX(魏立新), Du YZ(杜玉枝) *et al.* Reverse effect of "zangyinchenan" liver fibrosis in rats induced by CCl_4 . *Pharmacol Clin Chin Mater Clin Med* (中药药理与临床) 2008 24(5): 34-36.
- 9 Liu HQ(刘海青), Liu YR(刘亚蓉), Zhu ZQ(朱志强). Medicinal plant resources development and protection of *Swertia* in Qinghai. *China Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996 27: 112-114.
- 10 Yang HL, Ding CX, Duan YW *et al.* Variation of active constituents of an important Tibet folk medicine *Swertia mussotii* Franch. (Gentianaceae) between artificially cultivated and naturally distributed. *J Ethnopharmacol* 2005 98: 31-35.
- 11 Sun SQ, Chen JB, Zhou Q *et al.* Application of mid-infrared spectroscopy in the quality control of traditional Chinese medicines. *Planta Medica* 2010 76: 1987-1996.
- 12 Tripathi R, Mohan H, Kamat JP. Modulation of oxidative damage by natural products. *Food Chem* 2007 100: 81-90.
- 13 Gulcin I, Buyukokuroglu ME, Oktay M *et al.* Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. *J Ethnopharmacol*, 2003 86: 51-58.
- 14 Rafatullah S, Tariq M, Mossa JS. Protective effect of *Swertia chirata* against indomethacin and other ulcerogenic agent-induced gastric ulcers. *Drugs Exp Clin Res* 1993 19(2): 69-73.
- 15 Lv XM(吕小满), Xu FX(徐芳雄), Peng F(彭芳). Effects of *Swertia punicea* on intestine smooth muscle *in vivo* and *in vitro*. *J Dali Univ* (大理学院学报, 综合版) 2006 5(8): 73-75.
- 16 Zhou L(周利), Wang XF(王先飞), Shi CO(施超欧) *et al.* Composition analysis and comparative study of oleanolic acid in wild and cultivate *Swertia*. *Chin Tradit Pat Med* (中成药) 2011 33: 1068-1070.