

引用:郭亚琪,宋乃琪,密鑫铮,侯俊玲,王文全.甘草地上部分不同提取纯化部位HPLC指纹图谱及抗慢性非细菌性前列腺炎谱效关系研究[J].中医导报,2026,32(4):75-81.

甘草地上部分不同提取纯化部位HPLC 指纹图谱及抗慢性非细菌性 前列腺炎谱效关系研究*

郭亚琪¹, 宋乃琪¹, 密鑫铮¹, 侯俊玲¹, 王文全^{2,3,4}

(1.北京中医药大学中药学院,北京 102401;

2.新疆全安药业股份有限公司,新疆 库尔勒 841000;

3.北京灵泉药材研究所,北京 101511;

4.中国医学科学院药用植物研究所,北京 100193)

[摘要] 目的:建立甘草地上部分不同提取纯化部位的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,并探讨甘草地上部分化学成分与治疗慢性非细菌性前列腺炎功效的谱效关系。方法:以甘草地上部分不同提取纯化部位建立指纹图谱;以大鼠的生化指标及前列腺指数作为药效指标,考察甘草地上部分不同提取纯化部位治疗慢性非细菌性前列腺炎的功效。结果:确定了27个共有峰,指认了5个共有峰,分别为夏佛塔苷(17号峰)、异槲皮苷(22号峰)、紫云英苷(24号峰)、异甘草苷(25号峰)、槲皮素(26号峰);灰色关联度分析发现,所有共有峰与治疗慢性非细菌性前列腺炎作用的关联度均大于0.6,呈相关性;偏最小二乘分析发现,1号峰、2号峰、16号峰、19号峰、24号峰、25号峰对治疗慢性非细菌性前列腺炎作用的影响较大。结论:建立了甘草地上部分不同提取纯化部位的HPLC指纹图谱,并指认了5个共有峰成分;16号峰、19号峰、24号峰(紫云英苷)、25号峰(异甘草苷)所代表的化学成分可能是甘草地上部分治疗慢性非细菌性前列腺炎的药效物质。

[关键词] 甘草地上部分;提取物;慢性非细菌性前列腺炎;指纹图谱;谱效关系;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)04-0075-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.04.012

Study on HPLC Fingerprints of Different Extraction and Purification Fractions from the Aerial Parts of *Glycyrrhiza* and the Spectrum-Effect Relationship for Anti-Chronic Non-Bacterial Prostatitis

GUO Yaqi¹, SONG Naiqi¹, MI Xinzhen¹, HOU Junling¹, WANG Wenquan^{2,3,4}

(1.School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102401, China;

2.Xinjiang Quan'an Pharmaceutical Co., Ltd., Korla Xinjiang 841000, China; 3.Beijing Lingquan Institute of

Medicinal Herbs, Beijing 101511, China; 4.Institute of Medicinal Plants, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China)

[Abstract] Objective: To establish high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint profiles of different extracted and purified fractions from the aerial parts of *Glycyrrhiza* and explore the spectrum-effect relationship between their chemical components and the efficacy against chronic non-bacterial prostatitis (CNP). Methods: HPLC fingerprint profiles of different extracted and purified fractions from the aerial parts of *Glycyrrhiza* were established. Biochemical indicators and prostate index in rats were used as pharmacological indices to evaluate the anti-CNP efficacy of these fractions. Results: The established fingerprint profiles identified 27 common peaks, with five peaks specifically assigned as schaftoside (peak 17), isoquercitrin (peak 22), astragaloside (peak 24), isoliquiritin (peak 25), and quercetin (peak 26). Grey correlation analysis revealed that all common peaks exhibited correlations (association degree>0.6) with the therapeutic effects on CNP. Partial least squares

*基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFC1706500)

通信作者:侯俊玲,女,教授,研究方向为中药资源研究

analysis indicated that peaks 1, 2, 16, 19, 24, and 25 had significant impacts on CNP treatment. Conclusion: HPLC fingerprint profiles of different extracted and purified fractions from the aerial parts of licorice were successfully established, with five characteristic components identified, and the components represented by peak 16, peak 19, peak 24 (astragaloside), and peak 25 (isoliquiritin) are likely the pharmacodynamic substances of the aerial parts of *Glycyrrhiza* in the treatment of chronic non-bacterial prostatitis.

[Keywords] aerial parts of *Glycyrrhiza*; extract; chronic non-bacterial prostatitis; fingerprint profile; spectrum-effect relationship; rattrum-effect relationship

甘草为豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)、胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata* Bat.)或光果甘草(*Glycyrrhiza glabra* L.)的干燥根和根茎,具有祛痰止咳、补脾益气、缓急止痛、清热解毒、调和诸药的作用。甘草具有“十方九草”的美称^[1]。甘草的叶、茎、花、种子、果实等地上部分,并不是传统意义上的药用部位^[2]。现代药理研究发现,甘草地上部分含有丰富的黄酮类成分。黄酮类成分具有广泛的药理活性,包括抗炎镇痛、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、保肝、降压、降血脂、抗衰老、提高机体免疫力及治疗心血管系统疾病^[3-5]。前期研究发现,甘草地上部分具有抗前列腺炎的作用^[6-8],但起主要药效作用的成分尚不明确。

中药谱效关系即采用多种数据处理方法分析中药指纹图谱与药效的关系,可寻找潜在的药效物质基础^[9-10]。基于此,本研究采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)建立甘草地上部分不同提取纯化部位的指纹图谱,并考察其抗慢性非细菌性前列腺炎的作用;同时,本研究采用灰色关联度分析及偏最小二乘法(partial least squares regression, PLS)分析^[11],研究甘草地上部分抗慢性非细菌性前列腺炎作用与指纹图谱共有峰之间的相关性,以期为进一步阐明甘草地上部位的药效物质基础提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器 电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司,型号:FA2004N);酶标仪(上海赛默飞仪器有限公司,型号:Multiskan MK3);高效液相色谱仪[华谱科技(香港)有限公司,型号:ACchrom S6000];Agilent SB-C₁₈色谱柱(250.0 mm×4.6 mm, 5.0 μm)(美国安捷伦科技公司);旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂,型号:RE-52);数控超声波清洗器(北京鑫科奥科技有限公司,型号:KH-500DE)。

1.2 试剂 异甘草苷(曼斯特生物科技有限公司,批号:MUST-15031204,纯度98.50%);槲皮素(上海源叶生物科技有限公司,批号:C28J11Y116820,纯度≥98.00%);紫云英苷(上海源叶生物科技有限公司,批号:F18HB175834,纯度≥98.00%);异槲皮苷(曼斯特生物科技有限公司,批号:MUST-22041603,纯度98.62%);夏佛塔苷(上海源叶生物科技有限公司,批号:MUST-21112211,纯度≥98.00%);乙酸乙酯(天津市大茂化学试剂厂,批号:20191201);正丁醇(北京化工厂,批号:221043);无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司,批号:100092683);甲酸(赛默飞世尔科技公司,批号:J1908039);甲醇(赛默飞世尔科技公司,批号:F25P4F206);乙腈(赛默飞世尔科技公司,批号:F22MAB201);水(娃哈哈集团有限公司);三溴乙醇(上

海麦克林生化科技股份有限公司,批号:T831042);叔戊醇(上海麦克林生化科技股份有限公司,批号:A800283);无菌生理盐水(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:G4702);羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose sodium, CMC-NA)(国药集团化学试剂有限公司,批号:20200713);角叉菜胶(北京索莱宝科技有限公司,批号:1202A053);青霉素钠(华北制药集团动物保健品有限责任公司,批号:180601);免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunoadsorbent assay, ELISA)试剂盒(批号:20201223-30626A)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)ELISA试剂盒(批号:20201223-30219A)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)ELISA试剂盒(批号:20201223-31063A)、双氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)ELISA试剂盒(批号:20201223-30773A)、γ干扰素(interferon-gamma, IFN-γ)ELISA试剂盒(批号:20201223-30173A)、前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)ELISA试剂盒(批号:20201223-30702A)均购自上海酶联生物科技有限公司。

甘草地上部分均采自新疆图木舒克市,经中国医学科学院药用植物研究所王文全教授鉴定为甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)地上部分。

1.3 动物 66只SPF级SD大鼠,雄性,6~7周龄,体质量180~200 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0010。动物质量合格证号:110324241102044213。大鼠饲养于北京中医药大学动物实验中心,饲养温度(22±2)℃,湿度(55±5)%,昼夜节律为12 h/12 h,大鼠自由摄取食物与水。本实验经过北京中医药大学动物伦理委员会审批,实验动物伦理编号:BUCEM-4-2019062601-2077。

2 方法与结果

2.1 甘草地上部分不同提取纯化部位供试品制备 (1)醇提物、水提物:取甘草地上部分分别进行乙醇和水回流提取,分离提取液和药渣。药渣按上述提取条件重复提取一次,合并两次提取液,浓缩,真空干燥,粉碎,得甘草地上部分醇提物、甘草地上部分水提物。(2)醇提水沉上清样品:取甘草地上部分醇提物置于10倍量水中,搅拌均匀,离心,分别收集上清液,浓缩,真空干燥,粉碎备用,得甘草地上部分醇提水沉上清样品。(3)醇提水沉上清-ab-8-30%、醇提水沉上清-ab-8-45%样品:将甘草地上部分醇提水沉上清粉末以水溶解制成上清液,过ab-8树脂,以适当水除杂,分别用30%、45%乙醇溶液洗脱,将各洗脱液浓缩、收集浸膏,烘干打粉,即得醇提水沉上清-ab-8-30%、醇提水沉上清-ab-8-45%样品。(4)水提物-

ab-8-45%样品:取甘草地上部分水提取物按上述条件,洗脱液为45%乙醇溶液,得到水提取物-ab-8-45%样品。(5)醇提水沉上清-ab-8-45%乙醇洗脱,正丁醇萃取样品:取醇提水沉上清-ab-8-45%提取物,加入适当水溶解,置于两个梨形分液漏斗中。加入正丁醇,缓慢振荡,萃取,收集有机层。重复该操作3~5次。分别合并分液漏斗中多次正丁醇萃取液,浓缩,干燥,制备成粉末,即得醇提水沉上清-ab-8-45%乙醇洗脱,正丁醇萃取样品。(6)醇提水沉上清-ab-8-45%乙醇洗脱,乙酸乙酯萃取样品:取醇提水沉上清-ab-8-45%提取物,分别加入适当水超声溶解(功率100 W,频率40 kHz),置于两个梨形分液漏斗中。加入乙酸乙酯,缓慢振荡,萃取,收集有机层。重复该操作3~5次。分别合并两分液漏斗中多次乙酸乙酯萃取液,浓缩,干燥,制备成粉末,即得醇提水沉上清-ab-8-45%乙醇洗脱,乙酸乙酯萃取样品。(7)醇提水沉上清-HPD600-30%、醇提水沉上清-HPD600-60%样品:分别取醇提水沉上清加适量水,超声溶解(功率100 W,频率40 kHz),分别上样于层析柱,层析柱内填装预处理好的HPD-600型大孔树脂,先用水除杂,再分别用30%、60%乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩,干燥,制备成粉末得醇提水沉上清-HPD600-30%、醇提水沉上清-HPD600-60%样品。(8)水提取物-HPD600-60%样品:取甘草地上部分水提取物按照上述条件,用60%乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩,干燥,制备成粉末得水提取物-HPD600-60%样品。(见表1)

表1 供试品信息

编号	纯化工艺
S1	醇提水沉上清-ab-8-30%
S2	醇提水沉上清-ab-8-45%
S3	水提取物-ab-8-45%
S4	醇提水沉上清-ab-8-45%乙醇洗脱,正丁醇萃取
S5	醇提水沉上清-ab-8-45%乙醇洗脱,乙酸乙酯萃取
S6	醇提水沉上清-HPD600-30%
S7	醇提水沉上清-HPD600-60%
S8	水提取物-HPD600-60%

2.2 甘草地上部分不同提取纯化部位指纹图谱建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱Agilent SB-C₁₈(250.0 mm×4.6 mm, 5.0 μm),流动相为乙腈(A)-0.5%甲酸水溶液(B)。梯度洗脱:0~7 min,5%~10%A;7~22 min,10%~15%A;22~38 min,15%~20%A;50~55 min,30%~5%A;55~60 min,5%A。流速为1.0 mL/min,柱温为30℃,检测波长为280 nm,进样量为10 μL。

2.2.2 供试品溶液制备 取“2.1”项下甘草地上部分不同提取纯化部位样品粉末0.02 g,置于10 mL容量瓶中,分别加入适量甲醇超声溶解(功率250 W,频率40 kHz)并定容,得到各样品溶液,将溶液过0.22 μm的微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。

2.2.3 混合对照品溶液的制备 分别精密称取夏佛塔苷、异槲皮苷、紫云英苷、甘草苷和异甘草苷对照品,加70%乙醇制成质量浓度分别为48.48、86.51、18.96、12.85、58.24 ng/mL的混合对照品溶液,测定前用0.22 μm微孔滤膜过滤。

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 精密度试验 取编号为S6的样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件连续测定6次。以

21号峰为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD值均<2%,表明仪器的精密度良好。

2.2.4.2 稳定性试验 取编号为S6的样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件,分别在配制后0、6、12、18、24 h进样测定。以21号峰为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD值均<2%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.4.3 重复性试验 取编号为S6的样品6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。以21号峰为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD值均<2%,表明仪器的重复性良好。

2.2.5 指纹图谱的建立 取甘草地上部分不同提取纯化部位样品(编号S1~S8),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件测定,得到各批药材的HPLC指纹图谱。通过与对照品比对,指认了其中的5个色谱峰,分别为夏佛塔苷、异槲皮苷、紫云英苷、异甘草苷、槲皮素。(见图1~2)

将上述甘草地上部分不同提取纯化部位的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004版),以S6为参照(其峰形较好、峰面积适中、分离度较好),设置时间宽度为0.1 s,通过多点校正,Mark峰匹配,生成叠加图及对照图谱,共确定了27个共有峰。(见图3)

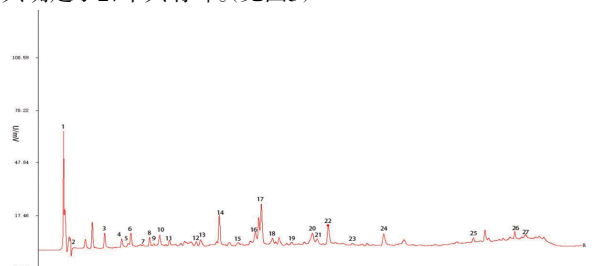


图1 甘草地上部分不同提取纯化部位的 HPLC 对照图谱

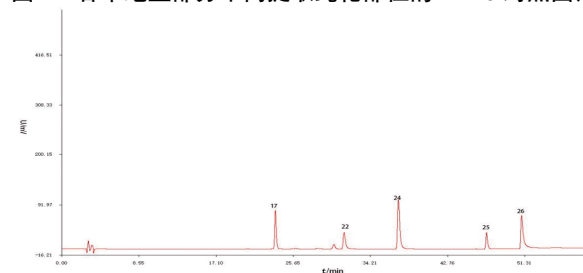
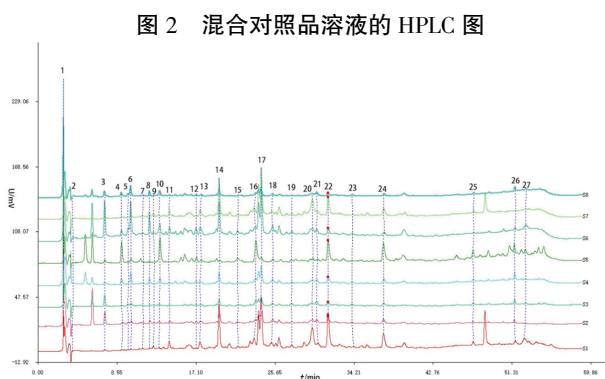
图2 混合对照品溶液的 HPLC 图
注:17.夏佛塔苷;22.异槲皮苷;24.紫云英苷;25.异甘草苷;26.槲皮素。

图3 甘草地上部分不同提取纯化部位的 HPLC 叠加指纹图谱

2.3 甘草地上部分不同提取纯化部位治疗慢性非细菌性前列腺炎的药效研究

2.3.1 动物分组与造模 适应性饲养1周后,将66只SD雄性大鼠随机分为11组,即空白组、模型组、阳性对照组、醇提物ab-8大孔树脂30%洗脱部位组(S1组)、醇提物ab-8大孔树脂45%洗脱部位组(S2组)、水提物ab-8大孔树脂45%洗脱部位组(S3组)、正丁醇萃取部位组(S4组)、乙酸乙酯萃取部位组(S5组)、醇提物HPD600大孔树脂30%洗脱部位组(S6组)、醇提物HPD600大孔树脂60%洗脱部位组(S7组)、水提物HPD600大孔树脂60%洗脱部位组(S8组),每组各6只。

造模当天,所有大鼠腹腔注射三溴乙醇-叔戊醇生理盐水溶液(1 mL/kg)进行麻醉^[12]。大鼠麻醉后,空白组大鼠不做任何处理,其余各组大鼠无菌条件下在下腹正中切口,找到两侧精囊腺,向左右两侧精囊各注射0.05 mL 1%角叉菜胶生理盐水溶液诱导动物模型,然后缝合肌肉皮肤^[13-15]。术后大腿肌肉注射青霉素,25万U/kg,1次/d,连续3 d,预防感染。术后1周,血清中前列腺特异性抗原(PSA)含量显著高于空白组,表明造模成功^[16]。

2.3.2 给药 取不同提取纯化工艺粉末样品适量,加入CMC-NA制成混悬液。参考前期实验结果设置给药剂量^[16]。大鼠造模术恢复1周后,S1组、S2组、S3组、S4组、S5组、S6组、S7组、S8组大鼠分别灌胃醇提物ab-8大孔树脂30%洗脱部位CMC-NA溶液、醇提物ab-8大孔树脂45%洗脱部位CMC-NA溶液、水提物ab-8大孔树脂45%洗脱部位CMC-NA溶液、正丁醇萃取部位CMC-NA溶液、乙酸乙酯萃取部位CMC-NA溶液、醇提物HPD600大孔树脂30%洗脱部位CMC-NA溶液、醇提物HPD600大孔树脂60%洗脱部位CMC-NA溶液、水提物HPD600大孔树脂60%洗脱部位CMC-NA溶液,63 mg/kg,1次/d;阳性对照组大鼠灌胃前列腺,3 mg/kg,1次/d;空白组、模型组大鼠灌胃CMC-NA溶液,1 mL/kg,1次/d。各组均连续给药28 d。

2.3.3 取材 在第28天给药后,禁食不禁水12 h。第29天所有大鼠腹腔注射三溴乙醇-叔戊醇生理盐水溶液(1 mL/kg)进行麻醉,腹主动脉取血,血样常温静置2 h后以4 000 r/min(离心

半径为48 mm)离心15 min,收集血清,-80 °C储存。取完血清后,采用颈椎脱臼法处死大鼠,分别取各组大鼠前列腺。

2.3.4 观察指标 (1)前列腺指数:称大鼠体质量与前列腺质量,计算前列腺指数。前列腺指数=前列腺质量/体质量×100%。(2)血清生化测定:根据ELISA试剂盒说明书检测各组大鼠血清IgG、IL-6、TNF-α、DHT、IFN-γ、PSA含量。

2.3.5 统计学方法 采用SPSS 27.0软件统计分析数据,计量资料以“均数±标准差”(x̄±s)表示。计量资料符合正态分布且方差齐,多组间数据比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2.3.6 实验结果

2.3.6.1 各组大鼠前列腺指数比较 模型组大鼠前列腺指数高于空白组,差异有统计学意义(P<0.05);阳性对照组、S1组、S2组、S3组、S4组、S5组、S6组、S7组、S8组大鼠前列腺指数均低于模型组,差异均有统计学意义(P<0.05或P<0.01)。(见表2)

表2 各组大鼠前列腺指数比较 (x̄±s)

组别	n	给药剂量/(mg/kg)	前列腺指数
空白组	6		0.114 9±0.003 5
模型组	6		0.130 8±0.006 7 ^a
阳性对照组	6	3	0.113 3±0.003 3 ^b
S1组	6	63	0.122 9±0.005 4 ^b
S2组	6	63	0.112 4±0.017 6 ^b
S3组	6	63	0.118 8±0.003 7 ^c
S4组	6	63	0.114 7±0.005 6 ^c
S5组	6	63	0.114 1±0.002 2 ^c
S6组	6	63	0.122 2±0.006 4 ^b
S7组	6	63	0.117 7±0.003 8 ^c
S8组	6	63	0.119 1±0.003 9 ^c
F			3.599
P			0.000

注:与空白组比较,^aP<0.05;模型组比较,^bP<0.05,^cP<0.01。

2.3.6.2 各组大鼠血清生化指标比较 模型组大鼠血清PSA、IgG、DHT、IFN-γ、IL-6、TNF-α含量均高于空白组,差异

表3 各组大鼠血清PSA、IgG、DHT、IFN-γ、IL-6、TNF-α含量比较 (x̄±s)

组别	n	给药剂量/(mg/kg)	PSA/(pg/mL)	IgG/(pg/mL)	DHT/(nmol/L)	IFN-γ/(pg/mL)	IL-6/(pg/mL)	TNF-α/(pg/mL)
空白组	6		1 477.53 ± 79.83	8.26 ± 0.40	31.24 ± 2.10	696.71 ± 88.38	71.44 ± 11.66	121.62 ± 22.29
模型组	6		2 114.09 ± 94.07 ^a	14.17 ± 0.59 ^a	44.78 ± 3.87 ^a	1 279.60 ± 173.32 ^a	125.24 ± 18.44 ^a	254.63 ± 18.63 ^a
阳性对照组	6	3	1 528.87 ± 59.86 ^b	9.11 ± 1.21 ^b	34.25 ± 2.90 ^b	793.86 ± 217.22 ^b	88.91 ± 19.96 ^b	122.90 ± 1.36 ^b
S1组	6	63	1 601.43 ± 83.48 ^b	9.89 ± 1.51 ^b	33.91 ± 2.61 ^b	710.72 ± 107.26 ^b	100.85 ± 14.32 ^c	173.94 ± 23.07 ^b
S2组	6	63	1 821.48 ± 217.37 ^c	8.82 ± 1.23 ^b	38.37 ± 5.45 ^a	853.60 ± 185.48 ^b	96.32 ± 14.19 ^c	124.47 ± 1.39 ^b
S3组	6	63	1 510.70 ± 74.61 ^b	11.89 ± 1.73 ^c	40.27 ± 6.38	917.12 ± 191.76 ^b	111.82 ± 11.81	122.27 ± 1.46 ^b
S4组	6	63	1 545.98 ± 153.05 ^b	10.30 ± 2.41 ^b	36.56 ± 5.51 ^a	708.78 ± 26.98 ^b	71.96 ± 1.15 ^b	122.67 ± 0.96 ^b
S5组	6	63	1 780.41 ± 260.93 ^c	8.81 ± 0.77 ^b	36.04 ± 4.33 ^b	814.38 ± 212.19 ^b	75.07 ± 8.11 ^b	124.55 ± 2.34 ^b
S6组	6	63	1 583.91 ± 90.22 ^b	10.34 ± 0.89 ^b	36.28 ± 2.74 ^b	840.24 ± 69.72 ^b	98.98 ± 14.67 ^c	198.51 ± 26.86 ^b
S7组	6	63	1 508.51 ± 67.66 ^b	8.71 ± 1.37 ^b	32.67 ± 2.04 ^b	775.98 ± 112.56 ^b	81.82 ± 6.42 ^b	139.59 ± 16.06 ^b
S8组	6	63	1 673.17 ± 191.46 ^b	8.73 ± 0.88 ^b	32.01 ± 1.07 ^b	741.59 ± 38.83 ^b	77.38 ± 2.95 ^b	122.14 ± 0.54 ^b
F			9.114	9.599	5.206	6.377	9.621	44.250
P			0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^aP<0.05;与模型组比较,^bP<0.01,^cP<0.05。

有统计学意义($P<0.05$);阳性对照组、S1组、S2组、S3组、S4组、S5组、S6组、S7组、S8组大鼠血清PSA、IgG、IFN- γ 、TNF- α 含量均低于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);阳性对照组、S1组、S2组、S4组、S5组、S6组、S7组、S8组大鼠血清DHT、IL-6含量均低于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表3)

2.4 甘草地上部分不同提取纯化部位治疗慢性非细菌性前列腺炎作用的谱效关系分析

2.4.1 药效综合评价方法 首先采用层次分析法对检测的指标进行权重分析^[17],然后借助模糊综合评价法对药效进行综合评分^[18-19]。

(1)等级评价:按照层次分析法的比例标度表,对7个药效指标进行两两比较,并按照其重要性程度评价等级,构建判断矩阵 A_{ij} 为要素 i 与要素 j 重要性结果。评价等级见表4。

表4 两两比较评价等级

因素 i 比因素 j	量化值
同等重要	1
稍微重要	3
较强重要	5
强烈重要	7
极端重要	9
两相邻判断的中间值	2,4,6,8

(2)判断矩阵的处理:依次通过列和归一化、行和归一化的方法,对获得的判断矩阵进行计算处理,获得最终的指标权重矩阵 W 。

(3)一致性检验:为检验获得的权重数据是否在获得过程中出现逻辑错误,层次分析法引入了特征值 λ 与一致性指标(consistency indicator, CI)值。根据公式(1),在Matlab软件上计算得到 λ 值,进而根据公式(2)得到 CI 值, CI 值与判断矩阵的阶数(即指标个数, n)有关, CI 值越大,不一致性越严重。

$$\lambda = \frac{AW}{W} \quad (1)$$

$$CI = \frac{\lambda - n}{n - 1} \quad (2)$$

为衡量 CI 的大小,层次分析法又引入了随机一致性指标(random consistency index, RI), RI 值与判断矩阵的阶数,一般情况下,矩阵阶数越大,则出现一致性随机偏离的可能性也越大,则 RI 值越大。具体关系数值见表5。

表5 不同阶数的 RI 值

矩阵阶数	2	3	4	5	6	7	8	9	10
RI	0	0.58	0.90	1.12	1.24	1.32	1.41	1.45	1.49

考虑到一致性的偏离可能是由于随机原因造成的,因此在检验判断矩阵是否具有满意的一致性时,还需将 CI 和 RI 值进行比较,根据公式(3)得出检验系数(critical ratio, CR),如果 $CR<0.1$,则认为该判断矩阵通过一致性检验,否则就不具有满意一致性。

$$CR = \frac{CI}{RI} \quad (3)$$

(4)疗效率:根据公式(4)计算疗效率。

$$H = \frac{(M-Y)}{M} \times 100\% \quad (4)$$

公式中, H 为各组疗效率, M 为模型组平均值, Y 为各给药组数据值,根据该公式计算每个指标每只大鼠的疗效率。

(5)指标评价标准划分:以空白组与模型组计算所得疗效率的最大值作为理论最大疗效率 H_{max} ,根据课题组前期研究结果,疗效 $<0.2 \times H_{max}$ 为无效, $0.2 \times H_{max} \leq$ 疗效 $<0.5 \times H_{max}$ 为稍有效, $0.5 \times H_{max} \leq$ 疗效 $<0.8 \times H_{max}$ 为有效, $0.8 \times H_{max} \leq$ 疗效 $<1 \times H_{max}$ 为显著有效。

(6)模糊矩阵 D 的计算:对各指标进行结果统计,将指标评价结果个数除以总评价个数,建立模糊矩阵 D 。

(7)药效结果的评价及分值:模糊综合评价法是基于模糊理论,利用隶属函数、模糊算子和语言变量进行安全评价的方法。针对药效效果评价体系,评语集采用 $U = \{$ 无效(U_1),稍有效(U_2),有效(U_3),显著有效(U_4) $\}$ 4个评价等级。

(8)综合评分:指标综合评价的结果用 P 表示,模糊关系综合评判公式为 $P = D$ (模糊矩阵) $\times W$ (权重系数) $\times U$ (分值量化)。

2.4.2 药效综合评价结果 层次分析法计算结果显示:前列腺指数、PSA、IgG、DHT、IFN- γ 、IL-6、TNF- α 的权重分别为0.250、0.125、0.125、0.125、0.125、0.125、0.125。通过模糊综合评价法得到的各批次综合评分。(见表6)

表6 甘草地上部分不同提取纯化部位综合评分

组别	检测指标评分/分							综合评分/分
	前列腺指数	PSA	IgG	DHT	IFN- γ	IL-6	TNF- α	
S1组	4.000	6.000	5.667	6.000	6.667	3.667	4.333	5.042
S2组	4.000	6.000	5.000	4.667	6.000	3.667	6.333	4.583
S3组	6.000	6.667	6.000	6.667	6.333	6.333	3.333	6.292
S4组	5.333	4.333	6.333	5.000	6.000	6.667	7.000	5.750
S5组	5.000	6.333	4.667	4.667	7.000	7.000	7.000	5.833
S6组	5.333	3.667	6.330	3.667	5.333	4.000	7.000	5.083
S7组	1.000	6.667	3.000	3.000	5.000	2.333	7.000	3.625
S8组	1.000	5.000	6.667	6.667	7.000	7.000	7.000	5.167

2.4.3 灰色关联度分析 本研究以前列腺指数和各生化因子的综合评分为参考序列,以甘草地上部分不同提取纯化部位HPLC指纹图谱的共有峰峰面积为比较序列,计算参考序列与比较序列的灰色关联系数(即关联度),并对关联度大小进行排序。若关联度 >0.6 ,则表明该共有峰与药效指标呈相关性;若关联度 >0.8 ,则表明该共有峰与药效指标呈高度相关性^[20-21]。结果显示,27个共有峰与治疗慢性非细菌性前列腺炎作用的关联度均大于0.6,且对慢性非细菌性前列腺炎作用影响大小的排序为7号峰 $>$ 21号峰 $>$ 19号峰 $>$ 26号峰(槲皮素) $>$ 15号峰 $>$ 23号峰 $>$ 16号峰 $>$ 18号峰 $>$ 25号峰(异甘草苷) $>$ 12号峰 $>$ 13号峰 $>$ 24号峰(紫云英苷) $>$ 1号峰 $>$ 5号峰 $>$ 9号峰 $>$ 11号峰 $>$ 8号峰 $>$ 22号峰(异槲皮苷) $>$ 17号峰(夏佛塔苷) $>$ 4号峰 $>$ 10号峰 $>$ 3号峰 $>$ 14号峰 $>$ 20号峰 $>$ 6号峰 $>$ 27号峰 $>$ 2号峰。(见表7)

表7 灰色关联度结果

关联序	峰号	关联度	关联序	峰号	关联度
1	7	0.870	15	9	0.730
2	21	0.869	16	11	0.730
3	19	0.861	17	8	0.729
4	26	0.829	18	22	0.726
5	15	0.828	19	17	0.714
6	23	0.825	20	4	0.712
7	16	0.819	21	10	0.704
8	18	0.791	22	3	0.702
9	25	0.768	23	14	0.694
10	12	0.759	24	20	0.693
11	13	0.747	25	6	0.679
12	24	0.742	26	27	0.672
13	1	0.742	27	2	0.641
14	5	0.732			

2.4.4 偏最小二乘分析 偏最小二乘回归分析能够反映自变量(X)对因变量(Y)的解释能力,集合了多种分析方法的优点,有着很强的解释和预测能力^[22-25]。在偏最小二乘回归分析中,回归系数表示各自变量(X)对因变量(Y)的贡献大小,回归系数的正、负表示各成分对药效值的正相关或负相关。回归系数绝对值越大,则对药效(Y)的贡献越大。变量投影重要性(variable importance in the projection,VIP)可反映自变量X对因变量Y的解释程度,VIP值越大(>1)则自变量X对因变量Y的解释能力就越强^[26-28]。

1号峰、2号峰、16号峰、19号峰、24号峰、25号峰VIP大于1且与药效呈正相关,表明当含量增加时,治疗慢性非细菌性前列腺炎作用药效显著增加,反之作用降低。(见图4~5)

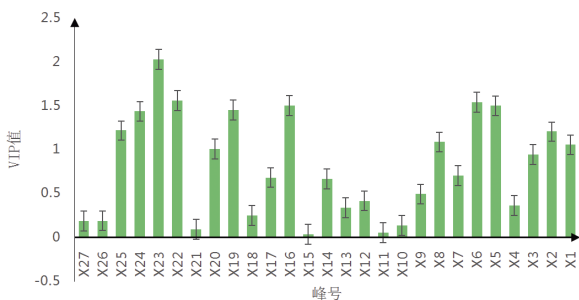


图4 共有峰与药效指标的变量重要性

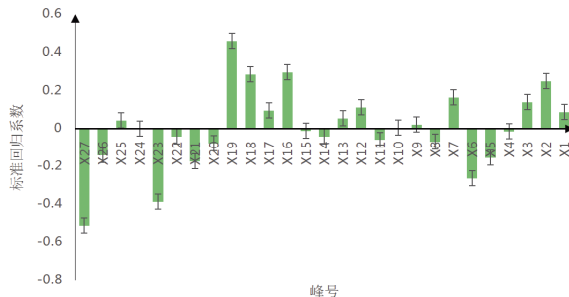


图5 标准化回归系数

3 讨论

甘草地上部分具有显著的抗慢性前列腺炎活性^[29-30]。醇提水沉及大孔树脂分离等工艺可以富集甘草地上部分黄酮

类成分^[31]。DHT、PSA在慢性前列腺炎发病机制中属于内分泌因子,IgG属于免疫因子,IFN- γ 、IL-6、TNF- α 属于神经内分泌因子^[32]。

本研究建立了甘草地上部分不同提取纯化部位的HPLC指纹图谱,并指认了5个共有峰成分。同时,本研究采用灰色关联度分析法及偏最小二乘分析法,分析了甘草地上部分不同提取纯化部位指纹图谱与治疗慢性非细菌性前列腺炎作用的相关性。灰色关联度分析法结果显示,21个共有峰关联度均大于0.6,其中7号峰、21号峰、19号峰、26号峰、15号峰、23号峰、16号峰、18号峰、25号峰和12号峰关联度都大于0.75,呈高度相关性,表明各共有峰与治疗慢性非细菌性前列腺炎作用均有较大关联性。甘草地上部分治疗慢性非细菌性前列腺炎的作用是多种成分共同作用的结果。偏最小二乘分析法分析发现,1号峰、2号峰、16号峰、19号峰、24号峰、25号峰对治疗慢性非细菌性前列腺炎作用的影响较大。16号峰、19号峰、24号峰(紫云英苷)、25号峰(异甘草苷)可能是甘草地上部分治疗慢性非细菌性前列腺炎的主要有效成分。另外,24号峰(紫云英苷)、25号峰(异甘草苷)、26号峰(槲皮素)所对应的成分均为黄酮苷类成分,故甘草地上部分治疗慢性非细菌性前列腺炎的药效物质成分可能是黄酮苷类,且其发挥作用可能是其多种成分相互协同作用的结果。

综上所述,黄酮苷类成分可能是甘草地上部分治疗前列腺炎的药效物质。

参考文献

- [1] 侯冰冰,梁朝朝,郜胜,等.嗜铬素A阳性神经内分泌细胞与慢性前列腺炎的关系[J].临床泌尿外科杂志,2011,26(12):922-924.
- [2] 叶成辉,宋国宏.慢性非细菌性前列腺炎中西医结合治疗研究进展[J].世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊),2019,19(52):247,265.
- [3] 刘颖,薄颖异,张志,等.不同来源甘草地上部分黄酮类成分含量研究[J].现代中药研究与实践,2023,37(3):46-51.
- [4] 张鲁,康雪芳,李红丽,等.甘草地上部分黄酮类成分HPLC-MS分析[J].辽宁中医药大学学报,2018,20(5):48-51.
- [5] 魏冠华.乌拉尔甘草化学成分及其神经保护活性研究[D].兰州:兰州大学,2021.
- [6] 李红丽.甘草地上部分水溶性成分的抗氧化及抗CNP活性研究[D].北京:北京中医药大学,2016.
- [7] 康雪芳.甘草地上部分脂溶性成分抗氧化及抗CNP活性研究[D].北京:北京中医药大学,2016.
- [8] 贾栖,侯俊玲,云鹭,等.基于网络药理学及实验验证探究甘草地上部分黄酮类成分抗慢性前列腺炎的有效成分及可能的作用机制[J].中南药学,2025,23(8):2143-2150.
- [9] 赵廷廷,徐帮会,张永萍,等.枸杞多糖指纹图谱的建立及其抗疲劳、免疫调节谱效关系研究[J].中国医院药学杂志,2024,44(24):2829-2838.
- [10] 黄华花,郑姗姗,许燕瑜,等.基于谱效关系的昆布自由基

- 清除活性成分研究[J].中医导报,2024,30(2):48-52.
- [11] 王宁,邓庆庆,白佳欣,等.青翘清热解毒的谱效关系研究[J].中南药学,2025,23(3):610-615.
- [12] REID W C, CARMICHAEL K P, SRINIVAS S, et al. Pathologic changes associated with use of tribromoethanol (avertin) in the Sprague Dawley rat[J]. Lab Anim Sci, 1999, 49(6):665-667.
- [13] HAJIGHORBANI M, AHMADI-HAMEDANI M, SHAHAB E, et al. Evaluation of the protective effect of pentoxifylline on carrageenan-induced chronic non-bacterial prostatitis in rats[J]. Inflammopharmacology, 2017, 25(3): 343-350.
- [14] 李唯.胀果甘草叶粗提物抗前列腺炎作用研究[D].武汉:华中科技大学,2008.
- [15] 王文地,郑玉婷,于冰莉,等.慢性前列腺炎模型筛选及其肾功能评价[J].西北药学杂志,2021,36(2):234-238.
- [16] 马瑞娟,苗明三.一种中药药效的多指标评价新方法:综合权重法[J].中药新药与临床药理,2011,22(5):569-572.
- [17] 杨子焯,张桂梅,王佩华,等.基于层次分析法-熵权法评价不同种类黄酒对酒当归饮片的影响[J].中南药学,2022,20(2):304-309.
- [18] 胡泽萍,张福明,高子涵,等.基于AHP-模糊数学综合评价枇杷清肺饮矫味工艺[J].中南药学,2023,21(7):1815-1819.
- [19] 皇立卫,李达,王静,等.基于谱-效关系的大皂角药材指纹图谱及其抗氧化活性研究[J].现代中药研究与实践,2023,37(6):51-57.
- [20] 王越,李虹,丁丽雪,等.基于谱效关系的不同贮藏年限广陈皮抗氧化活性成分差异研究[J].中国现代中药,2025,27(5):842-850.
- [21] 张萌,邓家刚,韦玮,等.广山楂HPLC指纹图谱建立及其活血化痰作用谱效关系研究[J].中草药,2023,54(2):601-607.
- [22] 孙杰玉,甘政坤,康点点,等.不同产地白芷指纹图谱的建立及抗偏头痛谱效关系研究[J].中药药理与临床,2024,40(8):65-70.
- [23] 孙仁爽,赵敏婧.不同产地老鹳草指纹图谱的建立及抗肿瘤谱效关系研究[J].中草药,2023,54(15):5003-5010.
- [24] 朱芊芊,汪诗沁,周旭香,等.熵权逼近理想排序法结合谱效分析辨识菊花抗氧化功能的物质基础[J].医药导报,2024,43(6):956-964.
- [25] 赵斯尘,王晓东,吴灏,等.猴耳环消炎片指纹谱效学分析[J].中南药学,2022,20(7):1540-1544.
- [26] 林婧,梁洁,黄春燕,等.壮药华佗豆不同极性部位HPLC指纹图谱的建立及其镇痛抗炎作用的谱效关系[J].中国药房,2021,32(17):2079-2084.
- [27] 牛乐,张雨,范蒙蒙,等.基于谱效-毒关系探讨川楝子醋炙减毒增效物质基础[J/OL].中华中医药学刊,2025:1-16 [2025-06-12].<https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZYHS20250311008&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [28] 喻琴,侯岩,沈翠娥,等.基于药效学优化参花方提取工艺及其治疗银屑病谱效关系研究[J].现代中西医结合杂志,2024,33(5):590-596,613.
- [29] 张琳,赵梓邯,于冰莉,等.甘草地上部分对慢性前列腺炎大鼠的影响[J].中成药,2019,41(6):1407-1410.
- [30] ZHANG K D, ZENG X B, CHEN Y G, et al. Therapeutic effects of Qian-Yu decoction and its three extracts on carrageenan-induced chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome in rats[J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1):75.
- [31] 王洪志. IFN- γ , TNF- α 和IL-10在慢性前列腺炎大鼠中的表达及白芍总苷对其的影响[D].重庆:重庆医科大学,2009.
- [32] 李红丽,康雪芳,侯俊玲,等.甘草地上部分水提液总黄酮纯化工艺研究[J].辽宁中医药大学学报,2016,18(8):60-63.

(收稿日期:2025-07-15 编辑:蒋凯彪)