

产地加工与饮片炮制一体化对苦参饮片主要功效的影响

岳琳^{1,2}, 王岚¹, 刘颖¹, 殷小杰¹, 肖永庆¹, 梁日欣¹,
于定荣¹, 麻印莲¹, 李丽^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 首都医科大学 中医药学院, 北京 100069)

[摘要] 目的:比较产地加工与炮制一体化加工与传统方式加工苦参饮片的抗炎与解热作用。方法:采用二甲苯致小鼠耳肿胀试验,观察 2 种苦参饮片水提物的抗炎消肿作用;采用酵母致热大鼠模型,比较 2 种苦参饮片水提物的解热作用。结果:与空白组比较,2 种苦参饮片水提物均可降低小鼠耳肿胀度,但以一体化加工苦参饮片的抗炎消肿作用更为显著,各剂量组抑制率均 >40%。一体化加工苦参饮片 3 个剂量均能降低发热大鼠体温,且作用时间可持续 4 h,解热作用优于传统加工的苦参饮片。一体化加工苦参饮片中槐果碱、苦参碱、氧化槐果碱、槐定碱及氧化苦参碱等 5 种主要有效成分的含量均高于传统方式加工的苦参饮片,其总量约为传统苦参饮片的 1.3 倍。结论:一体化加工与传统加工方式生产的苦参饮片在抗炎及解热等主要功效方面具有较好的相似性,而且一体化加工方式从源头规范了苦参的饮片生产,在确保饮片质量的前提下缩短了生产周期,是一种值得推广应用的中药饮片生产模式。

[关键词] 产地加工; 饮片; 炮制一体化; 苦参; 槐果碱; 苦参碱; 药效

[中图分类号] R283.1;R283.6;R284.1;R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)12-0023-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017120023

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1409.018.html>

[网络出版时间] 2017-03-24 14:09

Effect of Integration of Habitat Processing and Pieces Processing on Main Efficiency of Sophorae Flavescentis Radix Products

YUE Lin^{1,2}, WANG Lan¹, LIU Ying¹, YIN Xiao-jie¹, XIAO Yong-qing¹,
LIANG Ri-xin¹, YU Ding-rong¹, MA Yin-lian¹, LI Li^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

[Abstract] **Objective:** To compare anti-inflammatory and antipyretic effect of Sophorae Flavescentis Radix pieces between integrated production process and traditional processing method. **Method:** Anti-inflammatory and detumescence effects of water extracts of two Sophorae Flavescentis Radix pieces was observed by xylene-induced ear edema in mice. Antipyretic effect of water extracts of two kinds of Sophorae Flavescentis Radix pieces was compared in febrile rats induced by yeast. **Result:** Compared with the blank group, water extracts of two kinds of Sophorae Flavescentis Radix pieces could reduce the ear edema of mice, but the anti-inflammatory and detumescence effects of the integrated processed pieces was more significant, the inhibition rates of its each dose group were more than 40%. Antipyretic experiment showed that all the three doses of integrated processed pieces could decrease the body temperature of fever rats for 4 hours, and the antipyretic effect was superior to the traditional processed pieces. The contents of five main active ingredients in integrated processed pieces, such as

[收稿日期] 20161222(005)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201507002)

[第一作者] 岳琳,在读硕士,从事中药炮制研究,Tel:010-84040221,E-mail:4803387@qq.com

[通讯作者] *李丽,博士,研究员,从事中药炮制及质量评价研究,Tel:010-84040221,E-mail:lili7755@163.com

sophocarpine, matrine, *N*-oxysophocarpine, sophoridine and oxymatrine, were higher than these in traditional processed pieces, their total amount was about 1.3 times to the traditional processed pieces. **Conclusion:** There has good similarity in the main effect of anti-inflammatory and antipyretic between integrated processed and traditional processed pieces, the integration processing method will standardize production process from the source, and it can shorten the production cycle under the premise of ensuring the quality of pieces.

[Key words] habitat processing; pieces; processing integration; *Sophorae Flavescentis Radix*; sophocarpine; matrine; efficacy

苦参具有清热燥湿、杀虫、利尿的功效^[1]。该药材质地坚硬、纤维性强,因此多在产地加工成饮片,历版《中国药典》及各地中药饮片炮制规范^[2-5]也规定苦参药材可以趁鲜切片。由此可见,苦参药材的产地加工及饮片炮制一直有着一体化生产的应用基础,但中药材的产地加工多为种植户完成,市场上流通的也多为已切制的饮片。这一生产加工方式虽多年来广泛应用,但却并不符合中药饮片生产质量管理规范的要求,不规范的环节也直接影响到中药饮片的品质及疗效。苦参药材趁鲜切制饮片,由于药材含水量较高,切制时易出现连刀片,干燥后会产生翘片、或皮部与木质部分离的现象。若以干燥药材为原料进行饮片的生产,则浸润软化工艺参数的控制又成为影响饮片品质的关键环节。由于药材质地坚硬,软化时间较长,外表皮有破损的药材在浸润软化过程中极易霉烂,这些都会影响苦参饮片的质量及其疗效。在以往的研究中发现,很多根及根茎类中药在饮片炮制过程中都存在类似的问题,而采用药材产地加工与饮片炮制一体化的生产方式,能有效解决这些问题^[6-11]。

有学者对苦参进行了产地加工与饮片炮制一体化生产方式的可行性研究^[12-13],认为苦参采用一体化的生产方式不仅可以规范其生产工艺,而且能够确保饮片质量,但上述研究也仅仅是从工艺及主要化学成分含量的角度对传统工艺和一体化生产工艺进行了比较,尚缺乏对这 2 种工艺加工的饮片主要生物活性的比较研究。在系统研究苦参药材产地加工与饮片炮制一体化生产工艺的基础上,本实验对一体化加工和传统方式加工的苦参饮片进行了主要功效的一致性评价,进一步评价一体化生产方式的可行性,在确保饮片质量及其功效的前提下建立规范的苦参饮片生产工艺。

1 材料

ZGCQ-300 型全自动高速万能截断机(杭州春江制药机械厂),BPZ-6123LC 型真空干燥箱(上海一恒科技有限公司),LC-20AT 型高效液相色谱仪

(日本岛津公司),XS105 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司),FA2204B 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),WMY-01 型数字温度计(上海医用仪表厂)。

传统苦参饮片水提物(苦参-1#)和一体化加工苦参饮片水提物(苦参-2#)均为自制,阿司匹林(北京曙光药业有限责任公司,40 mg/片,批号 151007),高活性干酵母粉(安琪酵母股份有限公司,批号 20160308),二甲苯(北京化工厂,批号 20130108),水为娃哈哈纯净水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF 级雄性昆明种小鼠 130 只,体重 20 ~ 22 g,购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,合格证号 SCXK(军)2012-0004;SPF 级雄性 SD 大鼠,体重(180 ± 10) g,由中国食品药品检定研究院提供,合格证号 SCXK(京)2014-0013。本文涉及的动物实验均符合北京市实验动物福利伦理审查指南的相关规定。

2 方法与结果

2.1 苦参饮片的制备

2.1.1 传统饮片 取新鲜苦参药材,自然晾晒至完全干燥,快速淋洗,加水闷润至内外水分一致,除去根头及小支根,置切片机切厚片,记为苦参-1。

2.1.2 一体化加工饮片 取新鲜苦参药材,去除附着的泥沙,60 °C 鼓风干燥 24 h,快速淋洗,晾干表面水分,除去根头及小支根,置切片机切厚片,记为苦参-2。

2.2 苦参饮片水提物的制备 取 2 种苦参饮片各 500 g,分别加水浸泡 30 min,分别加 8,6 倍量水煎煮 2 次,煎煮时间分别为 1.0,0.5 h,合并煎液,减压浓缩成稠膏,真空干燥 12 h,分别得传统苦参饮片水提物(苦参-1#)和一体化加工苦参饮片水提物(苦参-2#)148.4,135.8 g。

2.3 主要药理作用比较

2.3.1 抗炎作用比较 动物随机分为 7 组,每组 12 只。依次设置为空白组(灌胃水),苦参-1#大、

中、小剂量组 (6.6, 3.3, 1.15 g·kg⁻¹, 按生药量计算), 苦参-2# 大、中、小剂量组 (6.6, 3.3, 1.15 g·kg⁻¹, 按生药量计算)。按体重 0.02 mL·g⁻¹ 口服灌胃给药, 各组给药 7 d, 每天 1 次, 末次给药后 40 min, 于右侧耳壳正反两面均匀涂抹二甲苯液 0.015 mL, 1 h 后处死动物, 沿耳廓基线剪下两耳, 于同一部位用打孔器冲下耳片, 称重, 以两耳片之差为肿胀度, 计算给药组的肿胀抑制率, 见表 1。结果与空白组比较, 各给药组肿胀度均有所下降, 其中苦参-1# 样品大剂量、苦参-2# 样品各剂量组均有较大程度降低, 有显著性差异 ($P < 0.05$); 苦参-2# 样品各剂量组肿胀抑制率均 $> 40\%$, 高于-1# 样品各组。实验中由于操作不当造成动物死亡导致各组实验动物数不一致, 以实际动物数为准。

表 1 苦参 2 种饮片水提取物抗炎作用比较
Table 1 Comparison of anti-inflammatory effects of water extracts of two kinds of Sophorae Flavescentis Radix pieces

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	肿胀度 ($\bar{x} \pm s$) /g	肿胀抑制率 /%
空白	-	8	0.0168 ± 0.0048	-
苦参-1#	6.6	11	0.0101 ± 0.0043 ¹⁾	39.76
	3.3	11	0.0117 ± 0.0039	29.99
	1.15	12	0.0119 ± 0.0064	28.86
苦参-2#	6.6	10	0.0096 ± 0.0075 ¹⁾	42.69
	3.3	9	0.0096 ± 0.0046 ¹⁾	42.95
	1.15	12	0.0094 ± 0.0066 ¹⁾	43.78

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

表 2 苦参 2 种饮片水提取物对发热模型大鼠体温变化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of water extracts of two kinds of Sophorae Flavescentis Radix pieces on change in body temperature of rats with fever ($\bar{x} \pm s$)
℃

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	注射酵母后 6 h 温差	给药后体温变化				
				0.5 h	1.0 h	2.0 h	4.0 h	6.0 h
模型	-	12	1.5 ± 0.5	1.4 ± 0.5	1.6 ± 0.4	1.6 ± 0.4	0.8 ± 0.4	0.8 ± 0.6
阿司匹林	0.1	12	1.4 ± 0.3	0.8 ± 0.3 ³⁾	0.3 ± 0.2 ³⁾	0.4 ± 0.3 ³⁾	0.4 ± 0.4 ¹⁾	0.6 ± 0.4
苦参-1#	3.6	12	1.4 ± 0.4	1.4 ± 0.7	1.4 ± 0.8	1.3 ± 0.7	0.7 ± 0.6	0.7 ± 0.5
	1.8	12	1.4 ± 0.4	1.4 ± 0.4	1.5 ± 0.3	1.4 ± 0.4	0.8 ± 0.5	0.8 ± 0.4
	0.9	11	1.4 ± 0.4	1.5 ± 0.4	1.4 ± 0.5	1.4 ± 0.5	0.6 ± 0.3	0.5 ± 0.2
苦参-2#	3.6	11	1.4 ± 0.4	1.0 ± 0.4 ¹⁾	0.9 ± 0.4 ¹⁾	0.5 ± 0.4 ³⁾	0.3 ± 0.2 ²⁾	0.3 ± 0.3
	1.8	11	1.4 ± 0.3	1.2 ± 0.4	1.1 ± 0.5	0.8 ± 0.5 ¹⁾	0.5 ± 0.3 ⁴⁾	0.5 ± 0.3
	0.9	11	1.4 ± 0.5	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.4	0.8 ± 0.3 ²⁾	0.5 ± 0.3 ¹⁾	0.5 ± 0.4

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$; 相同剂量组间比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

2.3.3 统计处理 应用 SPSS 19.0 统计软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较使用单因素方差分析。

2.4 主要化学成分的含量测定^[14]

2.4.1 色谱条件 Agilent ZORBAX NH₂ 色谱柱

2.3.2 解热作用比较 动物适用性饲养 2 d, 之后每日测量基础体温, 早、晚各测量 1 次, 连续 2 日, 差异过大者剔除。实验前称重、测量基础体温, 同时在大鼠腹部皮下注射 20% 酵母生理盐水溶液 (剂量 10 mL·kg⁻¹)。大约 5 ~ 6 h 动物体温约上升 1 ~ 2 °C, 此时, 根据体温情况将动物分为 8 组, 分别为模型组, 阳性药组 (阿司匹林, 0.1 g·kg⁻¹), 苦参-1# 大、中、小剂量组, 苦参-2# 大、中、小剂量组。两样品大、中、小剂量均分别为 3.6, 1.8, 0.9 g·kg⁻¹ (按生药量计算), 各组分别按不同时间给药 (按体重计 0.01 mL·g⁻¹) 以便测量体温, 观察给药后 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 h 的体温变化情况。

动物注射酵母后 6 h 体温普遍升高, 与基础体温相比升高差值在 1.0 ~ 2.1 °C。各组在不同时间点分别与模型组比较, 阿司匹林组 (0.1 g·kg⁻¹) 在药后各时间点均显示出较好的降温作用, 除 6 h 外均有显著性差异 ($P < 0.05$, $P < 0.001$); 苦参-2# 的 3 个剂量组在给药后各时间点体温差值均低于模型组, 尤其是在给药后 2 ~ 4 h 降温作用明显; 苦参-2# 大剂量组在大多数时间点, 中、小剂量组在药后 2, 4 h 体温有明显下降; 苦参-1# 组在各时间点体温差值虽有所下降, 但未见显著性差异; 药后 6 h 所有动物体温基本恢复正常。两样品相同剂量组间比较, 苦参-2# 样品中剂量组体温显著低于苦参-1# 样品同剂量组 ($P < 0.05$)。见表 2。

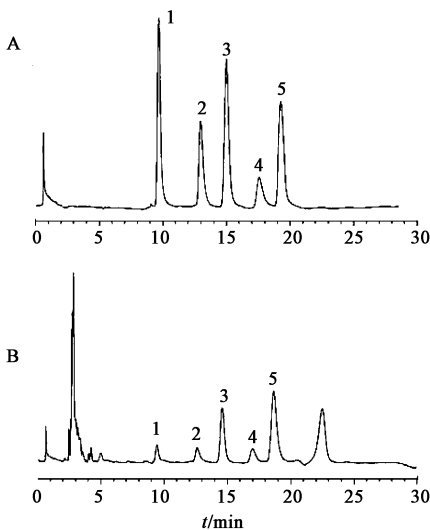
(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液 (80:10:10), 柱温 35 °C, 检测波长选择 220 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取槐果碱、苦参

碱、氧化槐果碱、槐定碱、氧化苦参碱对照品各适量,加乙腈-无水乙醇(80:20)混合液制成质量浓度分别为0.071,0.090,0.104,0.057,0.144 g·L⁻¹的混合对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 精密称取提取物粉末各约90 mg,置具塞锥形瓶中,加浓氨试液0.5 mL,精密加入三氯甲烷20 mL,密塞,称定质量,超声处理30 min(功率100W,频率40 kHz),放冷,称定质量,用三氯甲烷补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 mL,加在中性氧化铝柱(100~200目,5 g,内径1 cm)上,依次以三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇(7:3)混合液各20 mL洗脱,合并收集洗脱液,回收溶剂至干,残渣加无水乙醇适量使溶解,转移至10 mL量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4.4 样品测定 精密吸取混合对照品溶液5 μL和供试品溶液10 μL,按2.4.1项下色谱条件测定,见图1。结果苦参-1#中槐果碱、苦参碱、氧化槐果碱、槐定碱、氧化苦参碱的质量分数分别为0.202%,0.249%,0.953%,0.291%,1.637%;这些成分在苦参-2#中的质量分数分别为0.436%,0.516%,1.057%,0.542%,1.827%。



A. 混合对照品; B. 供试品; 1. 槐果碱; 2. 苦参碱; 3. 氧化槐果碱; 4. 槐定碱; 5. 氧化苦参碱

图1 苦参饮片水提物的HPLC

Fig. 1 HPLC of water extract of *Sophorae Flavescentis Radix* pieces

3 讨论

对不同方式加工炮制的苦参饮片主要药理作用的比较研究显示,一体化加工与传统方法加工的苦参饮片水提物均具有一定的抗炎消肿及解热作用,

且以一体化加工苦参饮片的抗炎消肿及解热作用更为显著。2种方式加工的苦参饮片其抗炎、解热作用的差异与其主要有效成分的含量有一定的相关性。在药理研究的基础上,进一步分析了2种饮片水提取物中槐果碱、苦参碱、氧化槐果碱、槐定碱及氧化苦参碱等5种主要有效成分的含量,一体化加工苦参饮片中上述5种成分的含量均高于传统方式加工的苦参饮片,其总量约为传统苦参饮片的1.3倍。此外,本文还对5种主要成分的比例进行了分析,一体化加工和传统方式加工的苦参饮片中5种成分的比例也有所不同,一体化加工苦参饮片中槐果碱、苦参碱、氧化槐果碱、槐定碱及氧化苦参碱的比例为1:1.2:2.4:1.2:4.2,而传统方式加工的苦参饮片中上述5种成分的比例为1:1.2:4.7:1.4:8.1。结合药理实验结果分析,苦参饮片中主要药效成分的含量及各成分间量比关系的不同可能是导致其抗炎、解热作用差异的原因所在^[15-19]。

中药是一个复杂体系,无论是复方还是单味药,其药效作用的发挥都与其所含化学成分的种类、含量及比例密切相关^[20-23]。本文通过对不同方式加工的苦参饮片进行与其功效相关的药理作用研究,结合进一步的成分分析,认为一体化加工与传统加工的苦参饮片在抗炎消肿及解热功效上具有较好的相似性。同时,产地加工与饮片炮制一体化的生产方式,解决了苦参饮片传统生产方式中原料药材软化时间长且软化程度不一致导致饮片质量不稳定的问题,规范了苦参饮片的生产工艺,明确了关键工艺参数,提高了饮片生产过程的可控性,实现了对苦参产地加工与饮片生产一体化技术的“工艺-质量-药效”系统评价,为苦参饮片生产模式的变革提供了科学依据。本文的研究思路与结果为同类中药饮片一体化生产模式的建立奠定了基础,也为中药饮片产业发展模式的变革和产业布局的调整提供了有益参考。

[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,2015:202.
- [2] 北京市药品监督管理局. 北京市中药饮片炮制规范[M]. 北京:化学工业出版社,2008:158.
- [3] 山东省卫生厅. 山东省中药炮制规范[M]. 济南:山东科学技术出版社,1990:57.
- [4] 上海市食品药品监督管理局. 上海市中药饮片炮制规范[M]. 上海:上海科学技术出版社,2008:107.
- [5] 安徽省食品药品监督管理局. 安徽中药饮片炮制规范[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2005:112.

- [6] 李丽,于定荣,麻印莲,等.根及根茎类中药饮片产地炮制加工生产模式的构建[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(5):356-358.
- [7] 郭丽,张村,李丽,等.桔梗的产地加工方法研究[J].中国中药杂志,2007,32(10):995-997.
- [8] 李丽,张村,肖永庆,等.川芎饮片产地加工可行性探索[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(3):24-26.
- [9] 刘涛,王鸿,李青苗,等.不同采收期金银花的产地加工方法考察[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(10):28-31.
- [10] 李丽,张村,肖永庆,等.黄芩饮片的产地加工方法研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):1-3.
- [11] 张丽,丁安伟.中药材产地加工与饮片炮制一体化研究思路探讨[J].江苏中医药,2016,48(9):70-72.
- [12] 麻印莲,李丽,张村,等.苦参饮片产地加工方法探讨[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(16):57-59.
- [13] 李月侠.苦参的产地加工与炮制一体化研究[D].合肥:安徽中医药大学,2015.
- [14] 陈静,王淑美,孟江,等.不同生长年限苦参不同部位的生物碱含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(7):80-84.
- [15] 钱利武,戴五好,周国勤,等.苦参及山豆根主要生物碱镇痛抗炎作用研究[J].中成药,2012,34(8):1593-1596.
- [16] 王永.槐果碱的抗炎与抗寄生虫作用研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2004.
- [17] 李春梅,李桂生,李敏.槐果碱的镇痛抗炎作用研究[J].时珍国医国药,2008,19(4):947-948.
- [18] 张爽,李红,杨世杰.苦参碱与槐定碱的镇痛作用比较[J].吉林大学学报:医学版,2005,31(4):561-563.
- [19] 吕晓强,邓扬鸥,杨丽,等.氧化苦参碱镇痛作用及阿片受体非相关性[J].中华中医药杂志,2014,29(2):564-567.
- [20] 杨滨,梁日欣,周晓宁,等.黄芩脂质过氧化抑制率与有效成分含量的相关性研究[J].中国中药杂志,2008,33(16):2019-2022.
- [21] 孙华,张涛,王桂清.接骨木提取物有效成分含量与抑菌活性的关系[J].聊城大学学报,2011,24(3):39-42.
- [22] 谢臻,王术玲,高峰,等.大承气汤配伍变化的药效物质基础研究[J].中药新药与临床药理,2011,22(1):57-60.
- [23] 陈永刚,李丽姣,邹吉利,等.基于药效学评价的烧伤愈合水凝胶制备工艺优化及其药效成分的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(11):10-16.

[责任编辑 刘德文]