

· 药剂与炮制 ·

## 栀子炭的凉血止血作用及其炮制机制分析

潘玲玲, 刘婧\*, 黄潇, 付小梅, 谢赛赛, 关志宇, 甘春梅  
(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

**[摘要]** **目的:**考察栀子炒炭前后的主要化学成分变化及其对干酵母致血热复合出血模型大鼠的凉血止血作用,探索栀子炭的炮制机制。**方法:**检测栀子炮制前后主要化学成分的含量变化情况。运用 HPLC 测定京尼平-1- $\beta$ -D-龙胆双糖苷, 栀子苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 的含量, 流动相乙腈-0.2% 磷酸水溶液梯度洗脱, 检测波长 238 nm 和 440 nm; 利用 UV 测定总鞣质含量, 检测波长 760 nm。动物实验随机分为空白组、模型组、阳性药组、生栀子组、栀子炭组。阳性药(云南白药)组、生栀子组、栀子炭组分别按 2.1 g·kg<sup>-1</sup> (按生药量折算) 灌胃给药, 空白组和模型组分别给予等体积 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液, 6 d 后建立大鼠致热复合出血模型, 监测大鼠肛温、凝血功能指标[凝血酶时间(TT), 活化部分凝血活酶时间(APTT), 凝血酶原时间(PT)及纤维蛋白原(FIB)含量]及全血黏度的变化情况, 观察肺组织病理学变化。**结果:**栀子炒炭后, 栀子苷及西红花苷类成分含量急剧下降, 总鞣质含量上升; 与模型组比较, 生栀子能够极显著性降低大鼠的肛温( $P < 0.01$ ), 且能不同程度地降低全血高、中、低切黏度( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 但对凝血指标无影响; 栀子炭只能在 0~4 h 极显著性降低大鼠肛温( $P < 0.01$ )及全血低切黏度( $P < 0.05$ ), 但可显著缩短 TT, APTT 和 PT( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 且能明显降低 FIB 水平( $P < 0.05$ )。病理组织学观察发现, 栀子炭能够缓解血热出血大鼠肺损伤的症状。**结论:**栀子炭具有凉血止血作用, 其炮制机制可能与栀子苷、西红花苷类成分及鞣质的含量变化有关。

**[关键词]** 栀子炭; 栀子苷; 鞣质; 西红花苷; 凉血止血; 炮制机制; 全血黏度

**[中图分类号]** R283; R943.1; R285.5; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)23-0001-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017230001

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170912.1144.002.html>

**[网络出版时间]** 2017-09-12 11:44

### Discussion on Cooling Blood for Hemostasis and Processing Mechanism of Carbonized Gardeniae Fructus

PAN Ling-ling, LIU Jing\*, HUANG Xiao, FU Xiao-mei, XIE Sai-sai, GUAN Zhi-yu, GAN Chun-mei  
(School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the processing mechanism of carbonized Gardeniae Fructus by investigating main chemical components change of Gardeniae Fructus before and after processing and its cooling blood for hemostasis on blood heat and hemorrhage syndrome rat model induced by dried yeast. **Method:** HPLC and UV were adopted to determine the content changes of main chemical components in Gardeniae Fructus before and after processing. Rat blood heating and bleeding model was established after oral administration of Gardeniae Fructus and carbonized Gardeniae Fructus to rats for 7 days. The changes of rat rectal temperature, plasma thrombin time (TT), prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), plasma fibrinogen content (FIB), the change in whole blood viscosity and pathological changes in the lung were determined. **Result:** The contents of geniposide and crocins were dramatically dropped, while the content of total tannin was

**[收稿日期]** 20170422(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81360620);江西省自然科学基金项目(20171BAB215064);江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ150846, GJJ160854);江西省卫生计生委中医药科研项目(2015A051, 2015A040, 2015A045, 2016A019, 2016A048)

**[第一作者]** 潘玲玲, 硕士, 助教, 从事中药炮制及成分相关研究, Tel:0791-87118826, E-mail: pengling2003001@163.com

**[通讯作者]** \*刘婧, 硕士, 讲师, 从事药效物质基础相关研究, Tel:0791-87118645, E-mail: liujing860828@163.com

increased after the Gardeniae Fructus was fried to carbonized Gardeniae Fructus. Compared with model group, Gardeniae Fructus group could lower the body temperature of rats ( $P < 0.01$ ) and reduce the high, medium, and low shear viscosity of whole blood ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), but it had no effect on coagulation indexes. Although carbonized Gardeniae Fructus could only lower body temperature of rats in the 0-4 h ( $P < 0.01$ ) and decrease the whole blood low shear viscosity ( $P < 0.05$ ), it could significantly shorten TT, APTT and PT ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and lower the level of FIB ( $P < 0.05$ ). Histopathological observation indicated that carbonized Gardeniae Fructus could relieve the lung injury of blood heat and hemorrhage syndrome model rats. **Conclusion:** Carbonized Gardeniae Fructus has cooling blood for hemostasis and its processing mechanism may be associated with the content changes of geniposide, crocins and tannin.

**[Key words]** carbonized Gardeniae Fructus; geniposide; tannin; crocin; cooling blood for hemostasis; processing mechanism; whole blood viscosity

栀子为江西道地药材,性寒,味苦,具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒等功效<sup>[1]</sup>,其经炒炭后寒性减弱,且会产生止血作用,临床中多用于治疗吐血、咳血、咯血等多种出血症。以往研究对栀子炭止血作用分析时,多选择正常动物或体外实验<sup>[2-4]</sup>,却忽略栀子炭是在中医理论指导下进行使用,应在符合中医临床辨证特点的血热出血模型上进行研究,同时需结合血热出血证病因、病机特点,发热、出血等要点,选择影响机体发热过程的特征指标及血液循环系统中相关凉血止血的关键因子作为检测指标,才能更合理地阐明栀子炭的凉血止血作用。

本实验拟在符合中医辨证特点的血热出血模型上进行研究,将从体温变化、凝血功能、血液流变学及病理组织等方面探讨栀子炭的凉血止血作用,并比较栀子炒炭前后的主要化学成分变化,以期从体外化学成分和药理角度探讨栀子炭的凉血止血作用及其炮制机制,为该药材的临床应用和炮制工艺研究提供实验依据。

## 1 材料

SA-6001 型自动血流变测试仪(北京赛科希德科技发展有限公司),STA-compact 型全自动血凝仪(法国 Diagnostic Stago 公司),1510 型全波长酶标仪(美国 Thermo Fisher 公司),5418 型离心机(美国 Eppendorf 公司),AET-E121 型数字电子体温计(深圳市爱立康医疗电子有限公司),BS224S 型电子天平(德国赛多利斯公司),1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)。

凝血酶时间(TT)试剂盒、活化部分凝血活酶时间(APTT)试剂盒、纤维蛋白原(FIB)试剂盒、凝血酶原时间(PT)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20151202, 20151202, 20151208, 20151202),云南白药(云南白药集团股份有限公

司,批号 ZCA1309),干酵母(安琪酵母股份有限公司),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,国药集团化学试剂有限公司),枸橼酸钠(西陇化工有限公司),没食子酸对照品(南昌贝塔生物科技有限公司,批号 10306-201405,纯度 98%),酪蛋白(南京奥多福尼生物科技有限公司),福林试剂(自制,取钼酸钠 12.5 g,钨酸钠 50 g,水 350 mL,38% 盐酸 50 mL 及 85% 磷酸 25 mL,加入 1 L 的磨口瓶回流装置,加热至微沸状态下回流 10 h,移去冷凝管,加入硫酸锂 75 g 和数滴溴水后继续沸腾直到溴水完全挥发,此时溶液呈亮黄色,冷却后加水定容至刻度,过滤,置于棕色试剂瓶于冰箱中保存);京尼平-1- $\beta$ -D-龙胆双糖苷,栀子苷,西红花苷-I,西红花苷-II,西红花苷-III 对照品(自制,经<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, MS 鉴定结构,纯度经 HPLC 按面积归一化法测定均 > 98%);栀子购于江西新干栀子种植基地,经江西中医药大学范崔生教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* 的干燥成熟果实;栀子炭是由同一产地的栀子进行加工炮制,由江中药业股份有限公司按 1988 年版《全国中药饮片炮制规范》炮制而得;甲醇、乙腈均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SD 雄性大鼠,清洁级,体重 180 ~ 220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(湘)2013-0004,经江西中医药大学实验动物伦理委员会批准,批准号 20150925。

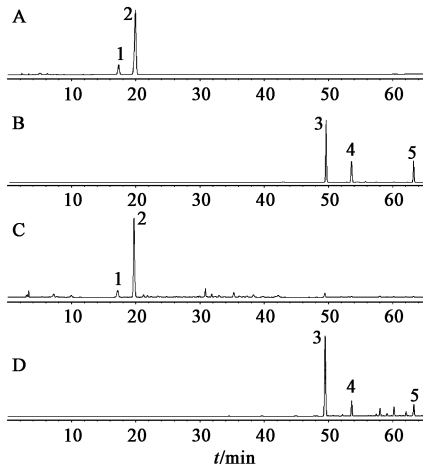
## 2 方法与结果

### 2.1 栀子中 5 种主要化学成分的含量测定

**2.1.1 供试品溶液的制备** 将生、炭栀子分别粉碎,过 40 目筛,精密称取其粉末 0.2 g,置 100 mL 锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 25 mL,称定质量;在 25 °C 下超声 30 min,放冷后称定质量,用 70% 乙醇补足减失的质量,过滤,滤液于 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心

20 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取上清液, 即得。

**2.1.2 色谱条件** 采用依利特 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.2% 磷酸水溶液(B) 梯度洗脱(0 ~ 10 min, 6% A; 10 ~ 18 min, 6% ~ 12% A; 18 ~ 22 min, 12% ~ 16% A; 22 ~ 28 min, 16% ~ 20% A; 28 ~ 40 min, 20% A; 40 ~ 60 min, 20% ~ 36% A; 60 ~ 65 min, 36% ~ 55% A), 流速调整至 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 5 μL, 柱温 30 °C, DAD 检测器采集范围 195 ~ 700 nm, 检测波长 238 nm 和 440 nm。见图 1。



A. 混合对照品 (238 nm); B. 混合对照品 (440 nm); C. 供试品 (238 nm); D. 供试品 (440 nm); 1. 京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷; 2. 栀子苷; 3. 西红花苷-I; 4. 西红花苷-II; 5. 西红花苷-III

图 1 栀子生品的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of Gardeniae Fructus

表 1 栀子样品中 5 种主要成分的线性关系考察

Table 1 Linear regression data of five compounds in Gardeniae Fructus

成分	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/mg·L <sup>-1</sup>	最低检测限/mg·L <sup>-1</sup>	最低定量限/mg·L <sup>-1</sup>
京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷	Y = 3.860X + 24.642	0.999 3	32.46 ~ 324.60	0.18	0.82
栀子苷	Y = 6.209X + 21.580	0.999 8	62.30 ~ 623.00	0.24	0.78
西红花苷-I	Y = 31.825X + 19.833	0.999 8	11.02 ~ 110.20	0.13	0.55
西红花苷-II	Y = 24.751X + 7.437	0.999 5	2.47 ~ 24.70	0.19	0.52
西红花苷-III	Y = 31.291X + 0.142	0.999 1	2.25 ~ 22.50	0.16	0.48

**2.1.7 重复性试验** 取生栀子粉末, 按 2.1.1 项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按 2.1.2 项下条件测定, 结果京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 栀子苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 的平均质量分数分别为 11.02, 60.77, 10.69, 2.12, 1.31 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 分别为 1.1%, 0.2%, 0.8%, 2.1%, 2.0%, 表明该方法重复性良好。

**2.1.8 加样回收试验** 精密称定 9 份生栀子样品粉末, 每份约 0.1 g, 分别精密加入等量上述 5 个对照品。按 2.1.1 项下方法平行制备供试品溶液, 依照 2.1.1 项下色谱条件测定, 结果京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 栀子苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 的平均加样回收率分别为 100.2%, 99.9%, 99.7%, 98.9%, 99.3%, RSD 分别为 1.7%, 0.3%, 1.0%, 1.5%, 2.1%。

**2.1.3 混合对照品溶液的制备** 精密称取京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 栀子苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 对照品适量, 置于 25 mL 棕色量瓶中, 加 70% 乙醇溶解并定容至刻度, 制成质量浓度分别为 324.6, 623.0, 110.2, 24.7, 22.5 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品储备液。取该储备液适量, 分别稀释 2, 5, 8, 10 倍, 待用。

**2.1.4 线性关系考察** 精密吸取 2.1.3 项下不同稀释倍数的混合对照品溶液, 按 2.1.2 项下条件测定, 以峰面积积分值为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。以仪器的信噪比 S/N = 3 时测定最低检测限, S/N = 10 时测定最低定量限, 结果见表 1。

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取 2.1.3 项下中混合对照品 2 倍稀释液, 按 2.1.2 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 栀子苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 峰面积的 RSD 分别为 0.3%, 0.1%, 0.3%, 0.6%, 0.8%, 说明仪器的精密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液, 分别于 0, 1, 3, 5, 12, 24 h 按 2.1.2 项下色谱条件测定, 结果京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 栀子苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 峰面积的 RSD 分别为 0.5%, 0.1%, 0.8%, 0.7%, 1.3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

胆双糖苷, 栀子苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 的平均加样回收率分别为 100.2%, 99.9%, 99.7%, 98.9%, 99.3%, RSD 分别为 1.7%, 0.3%, 1.0%, 1.5%, 2.1%。

**2.1.9 样品测定** 精密称取生栀子和栀子炭各 0.2 g, 按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.2 项下色谱条件测定, 结果生栀子中京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 栀子苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II 和西红花苷-III 的质量分数分别为 10.94, 60.79, 10.62, 1.99, 1.28 mg·g<sup>-1</sup>; 在栀子炭中则只能测得京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷、栀子苷及西红花苷-III 这 3 种成

分的含量,三者的质量分数分别为 16.29, 36.63, 0.31  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。与生栀子相比,栀子炭中的成分除京尼平-1- $\beta$ -D-龙胆双糖苷含量增加外,其他 4 种成分含量都急剧减少,其中西红花苷-I 和西红花苷-II 的含量已无法检测到。

## 2.2 总鞣质的含量测定

**2.2.1 供试品溶液的制备** 将生栀子、栀子炭分别粉碎,过 40 目筛,精密称取各粉末 0.4 g,置于 100 mL 锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 25 mL,称定质量,于 25  $^{\circ}\text{C}$  超声 30 min,放冷后称重,用 70% 乙醇补足缺失的质量,过滤,滤液离心(3 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 20 min),取上清液,即得。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取没食子酸对照品 5.0 mg,置于 50 mL 量瓶中,用 70% 乙醇定容,得 0.1  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  对照品溶液,待用。

**2.2.3 线性关系考察** 精密吸取没食子酸对照品溶液 0.2, 0.3, 0.35, 0.45, 0.5, 0.52 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加入福林试剂 2.0 mL,摇匀,静置 5 min,加 10% 碳酸钠溶液定容,避光放置 90 min。以 70% 乙醇作为空白组,于 760 nm 处测定吸光度  $A$ 。以  $A$  为纵坐标,没食子酸质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y=0.1425X-0.0239(R^2=0.9991)$ ,线性范围 2 ~ 5.2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.2.4 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液 0.1 mL,按 2.2.3 项下方法连续测定 6 次  $A$ ,计算 RSD 0.7%,表明仪器精密度良好。

**2.2.5 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液 0.1 mL,按 2.2.3 项下方法分别于 30, 60, 90, 120, 150, 180 min 测定  $A$ ,计算 RSD 1.0%,结果表明供试品溶液在 180 min 内较为稳定。

**2.2.6 重复性试验** 精密称取同一栀子炭粉末 0.4 g,共 6 份,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下方法测定,结果样品中总鞣质平均质量分数 8.64  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD 1.9%。

**2.2.7 加样回收试验** 精密称定 9 份栀子炭样品粉末,每份 0.20 g,分别精密加入等量没食子酸对照品,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下方法测定,结果没食子酸平均加样回收率 98.64%,RSD 2.4%。

**2.2.8 样品测定** 取生栀子、栀子炭供试品溶液适量,置于 10 mL 量瓶中,加水至 4.0 mL,按 2.2.3 项下方法测定  $A$ ,计算总多酚含量。取生栀子、栀子炭供试品溶液适量,加干酪素至质量浓度 50  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,于 30  $^{\circ}\text{C}$  水浴 30 min,振摇,离心(转速 3 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,

15 min),按 2.2.3 项下方法测定  $A$ ,计算供试品溶液中未被吸附的多酚含量。按总鞣质含量 = 总多酚含量 - 未被吸附的多酚含量计算,结果生栀子、栀子炭中总鞣质质量分数分别为 0.37, 8.67  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

## 2.3 生栀子、栀子炭对血热出血大鼠的影响

**2.3.1 灌胃药液的制备** 分别称取适量生栀子及栀子炭,加 20 倍量 70% 乙醇提取 2 次,每次 2 h,趁热过滤,合并滤液,浓缩,得干浸膏。

**2.3.2 分组、造模及给药** 取 SD 大鼠 40 只,随机分为空白组、模型组、阳性药组、生栀子组、栀子炭组,每组 8 只。阳性药(云南白药)组、生栀子组、栀子炭组分别按 2.1  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (按生药量折算)灌胃给药,空白组和模型组分别给予等体积 0.5% CMC-Na 溶液,连续给药 6 d。第 6 天给药 1 h 后,模型组及各给药组大鼠皮下注射 20% 干酵母混悬液,空白组皮下注射等体积生理盐水,注射体积均设定为 10  $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ [5];注射 5 h 后,模型组及各给药组大鼠灌胃给予无水乙醇 1 mL,空白组灌胃给予等体积水,在 0 ~ 10 h,每隔 1 h 测量大鼠肛温 1 次,大鼠肛温变化情况见图 2。结果发现与空白组比较,模型组大鼠背部皮下注射 0.2  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  干酵母混悬液后体温在第 1 h 之后明显升高,并且持续保持高温状态 10 h( $P < 0.01$ ),说明热证模型复制成功;云南白药组和模型组相比无显著性差异,说明云南白药并不能起到调节体温的作用。与模型组比较,生栀子组能在 0 ~ 10 h 内极显著性地降低大鼠肛温( $P < 0.01$ );而栀子炭组只能在 0 ~ 4 h 内极显著性地降低大鼠肛温( $P < 0.01$ ),在 4 h 后对于肛温调节作用不明显。

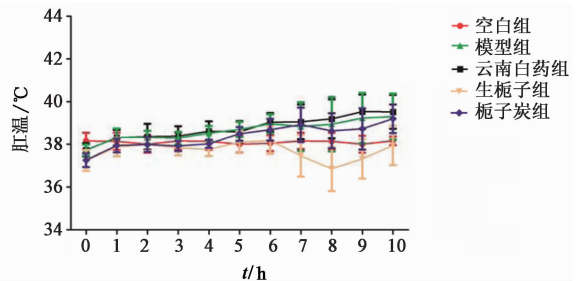
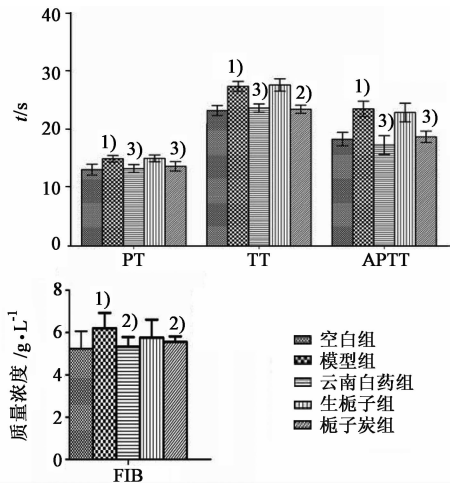


图 2 栀子炮制前后对血热出血模型老鼠肛温的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )  
Fig. 2 Tendency of rectal temperature of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

**2.3.3 血液凝血功能相关指标的测定** 第 7 天末次给药 40 min 后,颈动脉取全血 2 mL,加入含有 3.8% 枸橼酸钠(1:9)的离心管中,以 3 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上层血浆按试剂盒的要求测定 TT,

APTT, PT 和 FIB 的水平, 见图 3。结果发现与空白组比较, 模型组 PT, TT 和 APTT 极显著延长 ( $P < 0.01$ ), FIB 水平极显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 云南白药组可显著缩短 PT, TT 和 APTT ( $P < 0.01$ ), FIB 水平显著降低 ( $P < 0.05$ ); 梔子炭组可显著缩短 TT, APTT 和 PT ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 且能明显降低 FIB 水平 ( $P < 0.05$ ); 但生梔子组与模型组相比, PT, TT, APTT 和 FIB 均无显著差异。



与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.01$  (表 2, 3 同)  
图 3 梔子炮制前后对血热出血模型老鼠凝血功能的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )  
Fig. 3 Effect of Gardeniae Fructus before and after processing on coagulative function of blood heat and hemorrhage syndrome model rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

### 2.3.4 血液流变学相关指标的测定 第 7 天末次

表 2 梔子炮制前后对血热复合出血模型大鼠全血黏度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effect of Gardeniae Fructus before and after processing on whole blood viscosity of blood heat and hemorrhage syndrome model rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	200 s <sup>-1</sup>	30 s <sup>-1</sup>	5 s <sup>-1</sup>	1 s <sup>-1</sup>
空白	5.12 ± 0.28	8.72 ± 0.48	18.07 ± 0.77	48.45 ± 1.07
模型	7.07 ± 0.48 <sup>1)</sup>	10.20 ± 0.45 <sup>1)</sup>	22.88 ± 0.94 <sup>1)</sup>	55.97 ± 1.67 <sup>1)</sup>
云南白药	5.20 ± 0.32 <sup>3)</sup>	8.90 ± 0.56 <sup>3)</sup>	18.04 ± 1.21 <sup>3)</sup>	47.24 ± 0.89 <sup>3)</sup>
生梔子	6.31 ± 0.36 <sup>2)</sup>	9.38 ± 0.45 <sup>2)</sup>	21.52 ± 0.55 <sup>2)</sup>	49.60 ± 0.66 <sup>3)</sup>
梔子炭	7.17 ± 0.46	10.01 ± 0.34	22.23 ± 0.84	54.77 ± 0.83 <sup>2)</sup>

## 3 讨论

本研究中梔子炭的给药剂量选择 2.1 g·kg<sup>-1</sup>, 该剂量是查阅文献所给剂量换算所得<sup>[2]</sup>。同时为了更好地阐明梔子炭凉血止血的炮制机制, 生梔子采用了相同剂量进行药理实验。中医理论认为, 血热出血是指热邪侵入体内, 致气分热、血分热, 血热则郁结、互搏, 血盛则瘀, 则出血。本实验采用的干酵母致血热复合出血模型是在血热的基础上, 化学诱导使其出血, 最终模拟中医血热出血证候。通过皮下注射干酵母可导致皮下注射部位的局部部位发

给药 40 min 后, 颈动脉取血, 加入 3.8% 枸橼酸钠抗凝 (1:9), 取全血 1 mL 分装, 测定全血高、中、低切黏度, 见表 2。结果与空白组比较, 模型组大鼠的全血高、中、低切黏度均显著增加 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 云南白药组可使热证大鼠全血高、中、低切黏度明显下降 ( $P < 0.01$ ); 生梔子组可不同程度降低热证大鼠全血高、中、低切黏度 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 梔子炭组只能明显降低热证大鼠全血的低切黏度 ( $P < 0.05$ )。

2.3.5 组织学检查 大鼠取血后, 处死, 取肺组织, 用生理盐水冲洗, 肉眼观察出血情况。取右肺叶用 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 苏木素-伊红染色, 切片, 光镜下观察肺组织的病理变化。在 100 倍光镜下选取 5 个不重叠的视野, 根据肺泡壁增厚及肺泡腔狭窄程度、肺间隔充血、间质出血及炎症细胞浸润评价肺损伤程度, 每项评 0~4 分, 正常计为 0 分; 轻度即累及 < 25% 肺组织计为 1 分; 中度即累及 25%~50% 肺组织计为 2 分; 重度即累及 50%~75% 肺组织计为 3 分; 极严重即累及 > 75% 肺组织计为 4 分<sup>[6]</sup>, 见图 4 和表 3。结果与空白组比较, 模型组肺泡壁血管扩张充血, 纤维组织增生, 肺泡腔内大量红细胞渗出, 严重充血, 局部炎细胞浸润, 部分肺泡结构被破坏; 与模型组比较, 云南白药组及梔子炭组在一定程度上降低肺部损伤, 减少肺部出血程度; 生梔子组对降低肺损伤及减少肺出血的作用不明显。

生溃烂, 同时灌胃无水乙醇使得大鼠胃黏膜发生灼烧, 两者相结合进行造模, 最终导致机体发生剧烈炎症反应<sup>[7-8]</sup>, 因此模型大鼠的体温升高, 全血高、中、低切黏度极显著增加。

与模型组比较, 生梔子能够极显著性降低大鼠的体温, 且能不同程度地降低全血高、中、低切黏度; 然而梔子炭组只能在 0~4 h 极显著性降低大鼠体温, 在 4 h 之后对体温并无调节作用, 且仅能显著降低全血极低切黏度。PT 反映外源性凝血系统, APTT 反映内源性凝血系统, TT 反映内、外源共同性

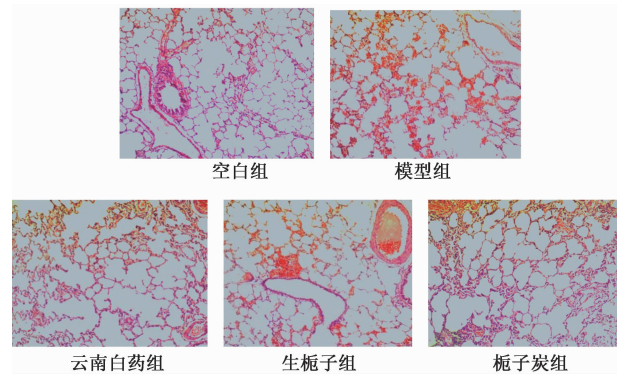


图 4 栀子炮制前后对血热出血大鼠肺部病理学特征的影响(HE, ×100)  
Fig. 4 Effect of Gardeniae Fructus before and after processing on pathological features of lung tissues in blood heat and hemorrhage syndrome model rats(HE, ×100)

表 3 不同组别大鼠的肺组织损伤评分( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 3 Scoring of lung tissue injury in different group of rats( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	间质出血	间隔充血	炎症细胞浸润	肺泡壁增厚
空白	0	0	0	0
模型	3.46 ± 0.53 <sup>1)</sup>	3.14 ± 0.69 <sup>1)</sup>	3.38 ± 0.74 <sup>1)</sup>	3.27 ± 0.72 <sup>1)</sup>
云南白药	2.29 ± 0.95 <sup>3)</sup>	2.09 ± 0.90 <sup>3)</sup>	2.25 ± 0.83 <sup>2)</sup>	2.14 ± 1.07 <sup>2)</sup>
生栀子	2.86 ± 0.69	2.43 ± 0.97	2.57 ± 0.92	2.75 ± 0.71
栀子炭	2.40 ± 0.79 <sup>2)</sup>	2.38 ± 0.74 <sup>2)</sup>	2.29 ± 0.76 <sup>2)</sup>	2.13 ± 0.99 <sup>2)</sup>

导致:①栀子苷及西红花苷类成分均具有抗炎、抗凝血作用,在一定程度可减少由炎症所引起的发热状态,改善血液流动性。虽然这些成分在栀子炭中含量减少,但部分成分依旧存在,故起到了一定的凉血作用;②栀子苷及西红花苷类成分均具有抗凝血作用,鞣质具有止血作用,在栀子炭中抗凝血成分含量降低,止血成分含量增加,使得栀子炭产生较强的止血作用。虽然本实验在一定程度上阐明了栀子炭凉血止血作用及其炮制机制,但这些成分如何进入体内,在体内如何进行凉血止血作用,这些内容将作为本课题的后续研究方向。

[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,2015:248.  
[2] 盛萍,白杰,张冰. 栀子炒炭止血活性部位的药效学筛选研究[J]. 中药材,2008,31(1):23-24.  
[3] 姚蓝,张村,于定荣,等. 栀子炭炮制研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(6):363-367.  
[4] 山东省中医药研究所药理组. 30种中药炒炭前后的止血作用研究[J]. 药学通报,1965,11(2):562.  
[5] 柳佳,张丽,丁安伟,等. 基于中医辨证用药特点建立大鼠血热出血模型[J]. 中国药理学通报,2012,28(9):1319-1323.  
[6] 黄进洁,吴本清,丁璐,等. 不同潮气量通气启动新生鼠肺纤维化的特点[J]. 中国当代儿科杂志,2010,12(10):799-801.  
[7] 叶红,朱丽娜,冯甲棣,等. 丁香酚对酵母菌发热大鼠

凝血系统,FIB 是通过纤维溶系统的影响反映凝血效果,与模型组比较,栀子炭组可显著缩短 TT, APTT 和 PT,且能明显降低 FIB 水平,故推测其止血作用是通过影响内、外源性凝血以及纤维蛋白原的含量来达到止血效果。

结合栀子炮制前后主要化学成分的变化情况,发现生栀子经过炮制后,栀子苷及西红花苷类成分含量急剧下降,而总鞣质含量急剧上升。栀子苷、西红花总苷均具有较好的抗炎作用<sup>[9-12]</sup>,还都具有抗凝血作用<sup>[13-14]</sup>,其中栀子苷通过降低全血黏度发挥该作用,西红花总苷通过抑制血凝系统发挥作用,而鞣质被认为是炭药止血的主要成分<sup>[15-16]</sup>。故推测栀子炭的凉血止血炮制机制可能是由以下原因

血浆及脑脊液中精氨酸加压素含量的影响[J]. 中国医科大学学报,2006,35(3):260-264.  
[8] 江涛,唐春萍,冯毅凡,等. 高良姜总黄酮对实验性胃黏膜损伤的保护作用及其机制[J]. 中草药,2009,40(7):1117-1119.  
[9] Koo H J, Lim K H, Jung H J, et al. Anti-inflammatory evaluation of gardenia extract, geniposide and genipin [J]. J Ethnopharmacol,2006,103(3):496-500.  
[10] Koo H J, SONG Y S, Kim H J, et al. Antiinflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia [J]. Eur J Pharmacol,2004,495(2/3):201-208.  
[11] 马世平,刘保林,周素娣,等. 西红花总苷的药理学研究-I. 对炎症及免疫功能的影响[J]. 中草药,1998,29(8):536-539.  
[12] Nam K N, Park Y M, Jung H J, et al. Anti-inflammatory effects of crocin and crocetin in rat brain microglial cells [J]. Eur J Pharmacol,2010,648(1/3):110-116.  
[13] Hayashi T, Kaji T, Takebayashi M, et al. Stimulants from gardeniae fructus for cultured endothelial cell proliferation [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1992, 40(4):942-945.  
[14] 马世平,刘保林,周素娣,等. 西红花总苷的药理学研究 II. 对血凝、血小板聚集及血栓形成的影响[J]. 中草药,1999,30(3):196-198.  
[15] 黄琪,孟江,吴德玲,等. 黄芩炒炭前后鞣质含量及炭素吸附力的比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(22):82-84.  
[16] 钟凌云,龚干锋,张的风. 中药炒炭的炮制机理[J]. 时珍国医国药,2002,13(1):19.

[责任编辑 刘德文]