

· 药剂与炮制 ·

## 基于化学成分和药理效应比较益母草的传统 加工工艺与一体化加工工艺

乔晶晶, 吴启南\*, 薛敏, 王倩, 徐安娜, 吴达维

(南京中医药大学药学院, 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 中药资源产业化与方剂创新  
药物国家地方联合工程研究中心, 南京 210023)

**[摘要]** **目的:**比较益母草传统加工饮片与一体化加工饮片在化学成分含量与药理作用方面的差异,阐述益母草一体化加工工艺的合理性。**方法:**选择盐酸水苏碱、盐酸益母草碱、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷的含量为指标,比较2种加工工艺益母草饮片中化学成分含量的差异;以二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型,考察2种加工工艺益母草饮片抗炎作用的差异;采用大鼠急性血瘀模型,考察2种加工工艺益母草饮片对全血黏度和凝血功能指标的影响。**结果:**益母草一体化工艺饮片中盐酸水苏碱、盐酸益母草碱、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷的质量分数分别为1.558%、0.168%、0.137%、0.113%、0.078%;传统工艺饮片中则分别为1.482%、0.134%、0.125%、0.082%、0.071%。2种工艺饮片均能降低致炎小鼠耳肿胀度、降低致炎小鼠血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 和IL-6的含量,产生抗炎作用;同剂量组间比较,一体化工艺组整体优于传统工艺组。2种加工饮片均能降低急性血瘀模型大鼠的全血黏度,延长凝血酶时间(TT),凝血酶原时间(PT)和活化部分凝血活酶时间(APTT),降低血浆纤维蛋白原(FIB)的质量浓度;同剂量组间比较,一体化工艺组整体优于传统工艺组。**结论:**与传统加工工艺相比,益母草一体化加工工艺在保证饮片质量的同时,降低了生产成本,且所得饮片化学成分与药理作用均略高于传统加工饮片,表明该药材选择一体化加工具有一定的合理性。

**[关键词]** 益母草; 一体化加工; 生物碱; 黄酮类; 抗炎作用; 急性血瘀模型; 传统加工工艺

**[中图分类号]** R22;R24;R28;C37;R931 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)08-0101-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190104

**[网络出版地址]**

**[网络出版时间]**

### Comparison Between Traditional and Integrated Processing Technology of Leonuri Herba Based on Chemical Composition and Pharmacological Effect

QIAO Jing-jing, WU Qi-nan\*, XUE Min, WANG Qian, XU An-na, WU Da-wei

(*Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, National and  
Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae  
Innovative Medicine, College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To elucidate the rationality of integrated processing technology of Leonuri Herba based on comparison of chemical constituents and pharmacological effect of Leonuri Herba between traditional and integrated processing technology. **Method:** The contents of stachydrine hydrochloride, leonurine hydrochloride, rutin, hyperoside and isoquercetin were used as indexes to compare the differences in the contents of chemical constituents between traditional and integration processing technology of Leonuri Herba. Effect of Leonuri Herba

**[收稿日期]** 20180610(008)

**[基金项目]** 国家中医药行业科研专项(2015468002-2);江苏高校优势学科建设工程项目(ysxk-2010);江苏省中药资源产业化过程协同创新中心项目(2011)

**[第一作者]** 乔晶晶,在读硕士,从事中药资源生产与品质评价研究,E-mail:qiao19900420@163.com

**[通信作者]** \*吴启南,博士,教授,从事中药资源生产与品质评价研究,Tel:025-85811010,E-mail:qnwysj@163.com

with different processing technology on auricular swelling induced by dimethylbenzene in mice were observed to compared the differences of their anti-inflammatory effect. And rat acute blood stasis model was used to compare the differences of Leonuri Herba with different processing technology on hemorheology and blood coagulation indexes. **Result:** Contents of stachydrine hydrochloride, leonurine hydrochloride, rutin, hyperoside and isoquercetin in products of integrated processing were 1.558%, 0.168%, 0.137%, 0.113% and 0.078%, they were 1.482%, 0.134%, 0.125%, 0.082% and 0.071% in products of traditional processing, respectively. Both of the processing methods could reduce the degree of swelling and the contents of tumor necrosis factor (TNF)  $-\alpha$ , interleukin (IL)  $-1\beta$ , IL-6 in mouse serum. And both of the processing methods could reduce the whole blood viscosity, prolong the thrombin time (TT), prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT) and reduce the concentration of plasma fibrinogen (FIB) in acute blood stasis model rats. **Conclusion:** Compared with the traditional processing technology, the integrated processing technology is better in guaranteeing the quality of Leonuri Herba decoction pieces and reducing the production cost, which indicates that the integrated processing of Leonuri Herba is reasonable.

[ **Key words** ] Leonuri Herba; integrated processing; alkaloids; flavonoids; anti-inflammatory; acute blood stasis model; traditional processing technology

益母草味辛、苦,性微寒,归心包、肝、膀胱经,具有活血调经、利水消肿、清热解毒的功效<sup>[1-2]</sup>,常用于治疗痛经经闭、水肿、月经不调等证<sup>[3]</sup>。益母草始记载于《神农本草经》,列为上品。《本草纲目》记载:“此草及子皆芜盛密蔚,故名芜蔚,其功宜于妇人及明目益精,故有益母之称”;载其功效:“白花者入气分、紫花者入血分,治妇女经脉不调,胎产一切血气诸病”。

2015 年版《中国药典》(一部)规定的益母草药材干品产地加工方法是夏季茎叶茂盛、花未开或初开时采割,晒干,或切段晒干;制成饮片时,将益母草药材除去杂质,迅速洗净,略润,切段,干燥<sup>[1]</sup>。已有研究者对益母草干燥的工艺进行优化,最终确定益母草的最佳炮制工艺为 40℃ 干燥 3.5 h<sup>[4]</sup>。纵观益母草传统分段加工方法,操作繁琐、生产环节重复、贮藏及运输不便,为避免传统加工造成的饮片有效成分流失、质量不稳定、资源浪费等问题。本课题组前期已对益母草产地加工一体化工艺进行了考察<sup>[5]</sup>,本实验拟以化学成分与药理效应为指标,对益母草传统工艺与一体化工艺饮片进行等量性与等效性研究,为益母草的产地一体化加工提供科学依据。

## 1 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国沃特世公司,含 Empower Pro 软件系统和 2998 型光电二极管阵列检测器),6000 型蒸发光散射器[格雷斯科(中国)有限公司],AUW220D 型 1/100 万电子天平(日本岛津公司),BT125D 型 1/10 万电子天平[赛多利斯科学

仪器(北京)有限公司],SAGA-10TY 型实验室级超纯水仪(南京易普易达科技发展有限公司),SA-5000 型半自动血流变测试仪(北京中勤世帝科学仪器有限公司),LG-PABER 型半自动凝血分析仪(北京世帝科学仪器公司),TGL-16M 型台式高速冷冻离心机(长沙维尔康湘鹰离心机有限公司),TDZ4-WS 型台式低速离心机(上海安亭科学仪器厂),Infinite M200 Pro 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司)。

益母草于 2017 年 7 月采自山东临沂,经南京中医药大学吴啟南教授鉴定为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* 的地上部分;盐酸水苏碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110712-201614,纯度  $\geq 98\%$ ),盐酸益母草碱对照品(北京索莱宝科技有限公司,批号 SL8020,纯度  $\geq 98\%$ ),芦丁、异槲皮苷、金丝桃苷对照品(南京森贝伽生物科技有限公司,批号分别为 JBZ-0660,JBZ-1459,JBZ-0554,纯度均  $\geq 98\%$ );白细胞介素(IL)- $1\beta$ , IL-6,肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司,批号分别为 SBJ-R0024, SBJ-M0044, SBJ-M0010);阿司匹林肠溶片(江苏平光制药有限公司,批号 170305),云南白药(云南白药集团股份有限公司,批号 ZCA1705),盐酸肾上腺素注射液(遂成药业股份有限公司,批号 1704172);凝血酶时间(TT),凝血酶原时间(PT),活化部分凝血活酶时间(APTT),血浆纤维蛋白原(FIB)凝血四项试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20180414, 20180416, 20180414,

20180416);水为自制超纯水,乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

ICR 小鼠,SPF 级,雄性,体质量(20 ± 2) g,由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供,合格证号 SCXK(苏)2017-0001;SD 大鼠,SPF 级,雌性,体质量(200 ± 20) g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(沪)2013-0016;本文涉及的动物实验经南京中医药大学动物伦理委员会批准,批准号 201804372。

## 2 方法与结果

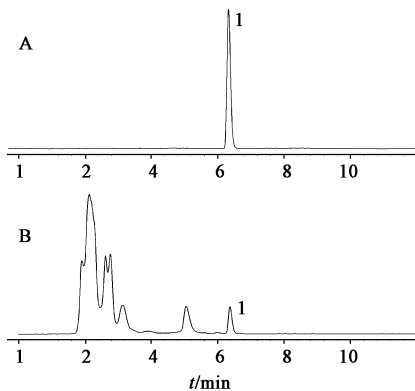
### 2.1 样品的制备<sup>[5]</sup>

**2.1.1 一体化工艺饮片样品** 鲜益母草除杂后,整株高温热风干燥 30 min,含水量 40% 时切段(1 cm),70 °C 高温热风干燥 4 h,即得。

**2.1.2 传统工艺饮片样品** 鲜益母草整株晒干后,除杂,稍润,切段(1 cm),70 °C 高温热风干燥 3 h,即得。

### 2.2 盐酸水苏碱的含量测定

**2.2.1 色谱条件** Waters XBridge HILIC 色谱柱(4.6 mm × 150 mm,5 μm),流动相乙腈-0.2% 冰乙酸(80:20),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C;蒸发光散射检测器检测,载气流速 2.4 L·min<sup>-1</sup>,漂移管温度 80 °C。见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;1. 盐酸水苏碱

图 1 益母草一体化工艺饮片中盐酸水苏碱的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of stachydrine hydrochloride in Leonuri Herba decoction pieces with integrated process

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取盐酸水苏碱对照品 5 mg,精密称定,加 70% 乙醇制成 0.522 g·L<sup>-1</sup> 的溶液,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取益母草粉末(过三号筛,下同;批号 170707-1)约 1 g,精密称定,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 25 mL,称定质量,加热回流 2 h,放冷,再称定质量,用 70%

乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

**2.2.4 方法学考察** 将对照品溶液逐级稀释,按 2.2.1 项下色谱条件测定,以盐酸水苏碱进样量的对数值为横坐标,峰面积的对数值为纵坐标,得回归方程  $Y = 1.6627X + 4.8319 (R^2 = 0.9992)$ ,线性范围 0.522 0 ~ 5.220 μg。精密吸取同一盐酸水苏碱对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算盐酸水苏碱峰面积的 RSD 0.9%。取同一供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件分别于 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 进样,计算盐酸水苏碱峰面积的 RSD 0.6%。取同一样品(批号 170708-2),按 2.2.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算盐酸水苏碱平均质量分数为 0.88%,RSD 0.1%。精密称定已知指标成分含量的样品粉末 9 份,每份约 0.5 g,每 3 份为 1 组,按样品中指标成分含量的 80%,100%,120% 分别加入对照品,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算加样回收率,见表 1。

表 1 盐酸水苏碱含量测定的加样回收试验

Table 1 Sample recovery test for determination of stachydrine hydrochloride

样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
4.393 8	3.524 5	7.822 3	97.28		
4.403 5	3.524 5	7.793 4	96.18		
4.410 6	3.524 5	7.876 7	98.34		
4.415 0	4.403 2	8.747 2	98.39		
4.402 6	4.403 2	8.663 8	96.77	96.86	1.1
4.398 2	4.403 2	8.583 7	95.06		
4.409 7	5.282 3	9.473 2	95.86		
4.401 8	5.282 3	9.495 9	96.44		
4.403 5	5.282 3	9.548 3	97.40		

**2.2.5 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液 5, 10 μL,供试品溶液 10 μL,按 2.2.1 项下色谱条件测定,见表 2。

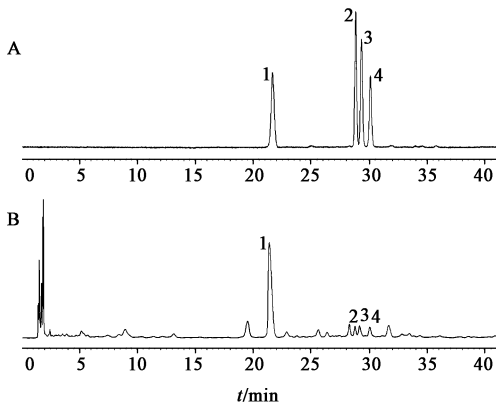
### 2.3 盐酸益母草碱和黄酮类成分的含量测定

**2.3.1 色谱条件** Waters XBridge™ C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相乙腈(B)-0.1% 甲酸水溶液(A)梯度洗脱(0 ~ 10 min,10% B;10 ~ 18 min,10% ~ 13% B;18 ~ 25 min,13% ~ 18% B;25 ~ 35 min,18% B;35 ~ 40 min,18% ~ 30% B),流

表 2 传统工艺与一体化工艺益母草饮片中指标成分质量分数的比较 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	盐酸水苏碱	盐酸益母草碱	芦丁	金丝桃苷	异槲皮苷
传统工艺	1.482 ± 0.005 0	0.134 ± 0.000 5	0.125 ± 0.001 5	0.082 ± 0.001 8	0.071 ± 0.000 5
一体化工艺	1.558 ± 0.006 8	0.168 ± 0.001 7	0.137 ± 0.003 3	0.113 ± 0.001 0	0.078 ± 0.001 9

速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL, 检测波长 277 nm。见图 2。



A. 混合对照品; B. 供试品; 1. 盐酸益母草碱; 2. 芦丁; 3. 金丝桃苷; 4. 异槲皮苷

图 2 益母草一体化工艺饮片中盐酸益母草碱和黄酮类成分的 HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of leonurine hydrochloride and flavonoids in Leonuri Herba decoction pieces with integrated process

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称定盐酸益母草碱、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷对照品 4.66, 4.96, 5.99, 4.57 mg, 分别用 70% 乙醇定容至 5 mL 量瓶中, 得各对照品母液。分别精密吸取盐酸益母草碱、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷对照品母液 0.5, 1, 1, 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇定容, 得各对照品质量浓度分别为 46.6, 99.2, 119.8, 91.4 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 取益母草粉末 (批号 170707-1) 约 1 g, 精密称定, 置于 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 25 mL, 超声提取 (功率 500 W, 频率 40 kHz) 30 min, 补足质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

**2.3.4 方法学考察** 将各对照品溶液逐级稀释, 按 2.3.1 项下色谱条件分别进样, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得盐酸益母草碱、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷回归方程分别为  $Y = 11\ 029.24X - 886.81$  ( $R^2 = 1.000\ 0$ ),  $Y = 17\ 814.29X - 9\ 848.44$  ( $R^2 = 0.999\ 8$ ),  $Y = 20\ 130.39X + 7\ 037.11$  ( $R^2 = 0.999\ 4$ ),  $Y =$

$24\ 303.04X - 18\ 780.65$  ( $R^2 = 0.999\ 2$ ), 线性范围依次为 1.86 ~ 466, 0.40 ~ 198.40, 0.48 ~ 47.92, 1.83 ~ 109.68 mg·L<sup>-1</sup>; 将同一混合对照品溶液按 2.3.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 计算盐酸益母草碱、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.8%, 0.4%, 0.5%, 0.4%。取同一供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 按 2.3.1 项下色谱条件进样, 计算盐酸益母草碱、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.2%, 1.2%, 1.5%, 1.4%。取一样品 (批号 170708-2), 按 2.3.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算盐酸益母草碱、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷的平均质量分数分别为 0.272%, 0.040%, 0.050%, 0.039%, RSD 分别为 1.0%, 1.4%, 2.0%, 1.6%。精密称定已知各指标成分含量的样品粉末 9 份, 每份约 0.5 g, 每 3 份为 1 组, 按样品中指标成分质量的 80%, 100%, 120% 分别加入对照品, 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算平均回收率, 见表 3。

**2.3.5 样品测定** 按 2.3.3 项下方法制备样品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 根据线性关系计算样品中盐酸益母草碱和黄酮类成分的含量, 结果见表 2。

**2.4 抗炎作用考察** ICR 小鼠 54 只, 随机分成 9 组, 每组 6 只, 即空白组、模型组、阿司匹林 (按剂量 0.6 g·kg<sup>-1</sup> 给予阿司匹林肠溶片) 组、传统工艺及一体化工艺低、中、高剂量 (2, 4, 8 g·kg<sup>-1</sup>) 组。灌胃体积均为 20 mL·kg<sup>-1</sup>。空白组与模型组灌胃给予等体积生理盐水, 每天给药 1 次, 连续给药 8 d。第 8 天给药 1 h 后, 除空白组外, 其余各组小鼠于左耳正、反两面涂抹二甲苯 0.04 mL 致炎, 右耳作为对照。随后将小鼠脱颈处死, 沿耳廓基线剪下两耳, 用直径 7 mm 的打孔器分别在同一部位打下圆耳片, 称定质量, 按公式 肿胀度 = (左耳质量 - 右耳质量) / 右耳质量 计算肿胀度。二甲苯致炎 1 h 后眼眶取血, 血样 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清, 采用 EILSA 检测血清中 TNF-α, IL-1β, IL-6 的水平。采用 SPSS17.0 软件对数据进行多样本方差分析及 t 检验,

表 3 益母草中 4 种指标成分含量测定的加样回收试验

Table 3 Sample recovery test for determination of four components in Leonuri Herba

化合物	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
盐酸益母草碱	1.357 3	1.081 1	2.418 5	98.16	98.44	1.9
	1.365 4	1.081 1	2.445 3	99.89		
	1.357 0	1.081 1	2.467 3	102.70		
	1.363 5	1.360 7	2.705 6	98.63		
	1.361 1	1.360 7	2.698 9	98.32		
	1.363 0	1.360 7	2.684 3	97.11		
	1.363 8	1.631 0	2.952 7	97.42		
	1.360 5	1.631 0	2.940 3	96.86		
	1.359 2	1.631 0	2.939 3	96.88		
	芦丁	0.199 6	0.158 7	0.356 3		
0.200 8		0.158 7	0.353 2	96.03		
0.199 6		0.158 7	0.358 2	99.96		
0.200 5		0.198 4	0.397 2	99.13		
0.200 2		0.198 4	0.393 6	97.50		
0.200 4		0.198 4	0.387 2	94.13		
0.200 6		0.238 1	0.431 7	97.08		
0.200 1		0.238 1	0.428 6	95.98		
0.199 9		0.238 1	0.426 1	95.01		
金丝桃苷		0.249 5	0.200 8	0.445 1	97.41	97.27
	0.251 0	0.200 8	0.443 9	96.07		
	0.249 5	0.200 8	0.445 7	97.73		
	0.250 7	0.250 4	0.502 1	100.43		
	0.250 2	0.250 4	0.490 2	95.85		
	0.250 6	0.250 4	0.492 3	96.55		
	0.250 7	0.300 7	0.540 2	96.28		
	0.250 1	0.300 7	0.547 5	98.90		
	0.250 0	0.300 7	0.539 1	96.19		
	异槲皮苷	0.194 6	0.155 4	0.343 2	95.62	
0.195 8		0.155 4	0.354 7	102.27		
0.194 6		0.155 4	0.347 2	98.22		
0.195 5		0.195 6	0.389 8	99.33		
0.195 1		0.195 6	0.392 7	101.00		
0.195 4		0.195 6	0.378 2	93.44		
0.195 5		0.234 0	0.422 4	96.95		
0.195 1		0.234 0	0.423 8	97.74		
0.194 9		0.234 0	0.417 8	95.26		

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,结果见表 4。综合来看,益母草一体化工艺饮片的抗炎效果强于益母草传统工艺饮片。

### 2.5 一体化工艺与传统工艺饮片对急性血瘀大鼠模型的影响

**2.5.1 动物分组及给药** SD 大鼠随机分为 5 组,每组 6 只,分别为空白组、模型组、云南白药 ( $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组、传统工艺组及一体化工艺组 ( $8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。灌胃体积均为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。空白组与模型组灌胃给予等体积生理盐水,每天给药 1 次,连续给药 7 d。

**2.5.2 急性血瘀大鼠模型的制备**<sup>[6-7]</sup> 实验第 7 天给药后禁食不禁水饲养,空白组皮下注射等量生理盐水,其余各组皮下注射盐酸肾上腺素注射液 ( $0.8 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),共 2 次,间隔 4 h,并在第 1 次皮下注射 2 h 后将大鼠浸入 ( $0 \sim 2$ )  $^{\circ}\text{C}$  冰水浴 5 min,复制急性血瘀大鼠模型。

**2.5.3 血液流变学指标及内、外源性凝血指标的测定** 造模 12 h 后各组大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 麻醉,腹主动脉取血,真空采血管取血 5 mL (管中抗凝剂 3.2% 柠檬酸钠与血液的体积比 1:9),全血 1 mL 分装测定全血高、中、低切黏度,剩余全血以  $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min,取血浆,测定内、外源性凝血功能指标。TT,PT,APTT,FIB 各指标均按试剂盒的操作步骤进行测定。血液流变学指标按血液流变仪操作流程进行测定。采用 SPSS 17.0 软件对数据进行多样本方差分析及 *t* 检验,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,见表 5,6。结果表明一体化工艺组降低全血黏度的效果略高于传统工艺组,一体化工艺组对 APTT 的影响优于传统工艺组。

### 3 讨论

中药材产地加工和中药炮制是中药生产加工产业链中 2 个紧密相连的环节<sup>[8]</sup>。前者产生中药材,后者产生中药饮片。由于中药材和中药饮片在行业划分、政策监管等方面有诸多不同,针对中药产地加工与炮制生产环节交叉重复,易造成中药有效成分流失、能量损耗增大等问题,有学者提出中药材产地加工与中药炮制一体化概念,旨在从源头抓起,确保饮片质量及其临床使用的安全性和有效性<sup>[9]</sup>。益母草作为常用全草类中药,质地疏松,贮藏及运输不便。本课题组前期对益母草产地加工与炮制生产一体化工艺进行了研究,结果发现生物碱是益母草的主要活性成分,具有收缩正常子宫<sup>[10]</sup>、抗心肌缺血<sup>[11]</sup>、利尿<sup>[12]</sup>、抗炎<sup>[13]</sup> 等药理作用;此外,益母草

表 4 传统工艺与一体化工艺益母草饮片对小鼠耳廓肿胀度、血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 4 Effect of Leonuri Herba decoction pieces with integrated and traditional process on auricular swelling and levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 in serum of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	肿胀度/%	TNF- $\alpha$ /ng·L <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$ /ng·L <sup>-1</sup>	IL-6/ng·L <sup>-1</sup>
空白	-	-	128.61 ± 10.96	49.49 ± 4.81	75.67 ± 10.24
模型	-	53.87 ± 6.30 <sup>1)</sup>	473.03 ± 29.87 <sup>1)</sup>	141.32 ± 7.18 <sup>1)</sup>	148.16 ± 16.31 <sup>1)</sup>
阿司匹林	0.6	29.27 ± 6.52 <sup>2)</sup>	340.36 ± 28.71 <sup>2)</sup>	119.99 ± 6.64 <sup>3)</sup>	99.13 ± 10.21 <sup>2)</sup>
传统工艺	2	46.88 ± 3.77 <sup>3)</sup>	437.67 ± 23.26	109.32 ± 7.05 <sup>2)</sup>	127.17 ± 18.09 <sup>3)</sup>
	4	35.10 ± 2.88 <sup>2)</sup>	328.17 ± 16.30 <sup>2)</sup>	73.64 ± 5.44 <sup>2)</sup>	106.45 ± 15.84 <sup>2)</sup>
	8	21.77 ± 2.60 <sup>2)</sup>	224.95 ± 20.83 <sup>2)</sup>	59.78 ± 5.04 <sup>2)</sup>	89.00 ± 10.17 <sup>2)</sup>
一体化工艺	2	41.64 ± 3.79 <sup>2)</sup>	431.43 ± 35.57	103.11 ± 11.63 <sup>2)</sup>	119.51 ± 16.74 <sup>3)</sup>
	4	31.66 ± 2.23 <sup>2,4)</sup>	300.90 ± 18.96 <sup>2)</sup>	70.19 ± 7.78 <sup>2)</sup>	90.67 ± 8.93 <sup>2,4)</sup>
	8	18.32 ± 2.22 <sup>2)</sup>	192.45 ± 18.23 <sup>2,4)</sup>	58.85 ± 4.81 <sup>2)</sup>	82.31 ± 8.85 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> P < 0.01;与模型组比较<sup>2)</sup> P < 0.01,<sup>3)</sup> P < 0.05;与传统工艺同剂量组比较<sup>4)</sup> P < 0.05。

表 5 传统工艺与一体化工艺益母草饮片对急性血瘀模型大鼠全血黏度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 5 Effect of Leonuri Herba decoction pieces with integrated and traditional process on whole blood viscosity of acute blood stasis model rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	全血黏度/mPa·s					
		200 s <sup>-1</sup>	100 s <sup>-1</sup>	50 s <sup>-1</sup>	30 s <sup>-1</sup>	5 s <sup>-1</sup>	1 s <sup>-1</sup>
空白	-	2.17 ± 0.23	4.49 ± 0.23	5.82 ± 0.40	6.38 ± 0.34	7.20 ± 0.38	25.70 ± 4.04
模型	-	5.53 ± 0.31 <sup>1)</sup>	6.52 ± 0.27 <sup>1)</sup>	7.98 ± 0.27 <sup>1)</sup>	9.28 ± 0.32 <sup>1)</sup>	17.86 ± 1.39 <sup>1)</sup>	36.11 ± 2.17 <sup>1)</sup>
云南白药	0.5	4.68 ± 0.31 <sup>2)</sup>	5.48 ± 0.43 <sup>2)</sup>	7.48 ± 0.43 <sup>3)</sup>	8.74 ± 0.30 <sup>3)</sup>	16.86 ± 1.21	27.23 ± 2.56 <sup>2)</sup>
传统工艺	8.0	3.77 ± 0.51 <sup>2)</sup>	5.95 ± 0.29 <sup>2)</sup>	6.94 ± 0.55 <sup>2)</sup>	8.33 ± 0.73 <sup>3)</sup>	14.80 ± 0.96 <sup>2)</sup>	31.52 ± 1.39 <sup>2)</sup>
一体化工艺	8.0	3.50 ± 0.38 <sup>2)</sup>	5.35 ± 0.60 <sup>2)</sup>	6.20 ± 0.58 <sup>2,4)</sup>	8.24 ± 0.85 <sup>3)</sup>	14.23 ± 1.03 <sup>2)</sup>	29.74 ± 1.17 <sup>2,4)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> P < 0.01;与模型组比较<sup>2)</sup> P < 0.01,<sup>3)</sup> P < 0.05;与传统工艺组相比<sup>4)</sup> P < 0.05(表 6 同)。

表 6 传统工艺与一体化工艺益母草饮片对急性血瘀模型大鼠 TT,PT,APTT 和 FIB 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 6 Effect of Leonuri Herba decoction pieces with integrated and traditional process on TT,PT,APTT and FIB of acute blood stasis model rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TT/s	PT/s	APTT/s	FIB/g·L <sup>-1</sup>
空白	-	34.82 ± 2.84	14.89 ± 1.78	23.11 ± 1.38	0.64 ± 0.10
模型	-	23.67 ± 2.18 <sup>1)</sup>	11.87 ± 0.61 <sup>1)</sup>	14.74 ± 1.61 <sup>1)</sup>	2.62 ± 0.15 <sup>1)</sup>
云南白药	0.5	28.60 ± 1.35 <sup>2)</sup>	12.83 ± 0.85 <sup>3)</sup>	19.01 ± 1.35 <sup>2)</sup>	2.34 ± 0.18
传统工艺	8.0	30.62 ± 2.08 <sup>2)</sup>	12.79 ± 0.54 <sup>3)</sup>	15.34 ± 1.47	2.00 ± 0.24 <sup>2)</sup>
一体化工艺	8.0	31.16 ± 2.57 <sup>2)</sup>	13.49 ± 0.78 <sup>2)</sup>	16.99 ± 1.02 <sup>3,4)</sup>	1.75 ± 0.24 <sup>2)</sup>

中黄酮类化合物具有抗菌、抗炎、抗氧化等功效<sup>[14]</sup>,故本文选择 2 种生物碱及 3 种黄酮类化合物为指标成分,比较益母草传统工艺与一体化工艺饮片中这些化学成分含量的差异。由于盐酸水苏碱极性大,在 C<sub>18</sub> 色谱柱上不保留,且无紫外吸收,故选用适合分离碱性大极性化合物的 Waters XBridge HILIC 色谱柱以及蒸发光散射检测器,结果发现益母草一体化工艺饮片中指标成分含量高于传统工艺饮片。

本文通过建立二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型来考察益母草一体化工艺和传统工艺饮片的抗炎作用,结果表明益母草一体化工艺组的抗炎效果略优于传统工艺组。益母草素有“血家圣药”之称,《本草纲目》记载:“益母草,行血养血,行血而不伤新血,养血而不滞瘀血,诚为血家之圣药也。”被视为治疗月经不调、胎漏难产、产后恶露不尽、瘀血腹痛等妇科常用药,是活血化瘀常用药<sup>[15]</sup>。血瘀证常伴随着

血液循环障碍或血液流变学行为异常,呈现为血液黏度和凝固性增加<sup>[16]</sup>。寒邪为急性血瘀的主要病因,故本研究选择复制急性血瘀大鼠模型,比较益母草传统工艺与一体化工艺饮片的药效差异。全血黏度和血浆黏度反映了血液最基本的流变特性。PT 是外源性凝血途径的常用实验指标,TT 反映了内、外源凝血途径的共同途径,APTT 主要反映内源性凝血因子的活性和含量的变化,FIB 主要反映是否有足够纤维蛋白原来生成纤维蛋白。结果显示一体化工艺组降低全血黏度效果略高于传统工艺组,一体化工艺组对 APTT 的影响强于传统工艺组。

由于传统加工方式存在重复干燥和水处理的过程,易造成益母草水溶性成分的流失,而一体化加工工艺则是在益母草采收后经过适当干燥切段再干燥成饮片,避免了重复干燥和整株运输过程中的叶片脱落等情况,继而保证了饮片质量。本实验从化学成分和药理效应 2 个方面对益母草传统工艺与一体化工艺饮片进行比较,结果表明益母草饮片的一体化加工工艺有一定的合理性和可行性,可为益母草饮片的开发与应用提供参考。本研究所用益母草于 2017 年 7 月采自山东省临沂市,与传统认为的益母草最佳采收时期有一定差异。关于益母草化学成分的动态累积,目前多集中于生物碱类成分,建议增加对益母草黄酮类化合物的考察,以确定益母草的最佳采收时期。本文没有对新鲜益母草中化学成分的含量进行检测,益母草干燥过程中的成分变化及损失还未得到有效阐明。另外,由于盐酸水苏碱性质的特殊,传统液相技术并不能同时对盐酸水苏碱以及其他成分进行含量测定,后续将探索液质联用方法解决这一问题。

[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,2015:290-291.  
[2] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,

2013:325.

[3] 阮金兰,杜俊荣,曾庆忠,等. 益母草的化学、药理和临床研究进展[J]. 中草药,2003,34(11):15-19.  
[4] 宋崎,周小初,宋英,等. 益母草炮制工艺的优化[J]. 时珍国医国药,2009,20(3):709-710.  
[5] 王梦溪. 益母草药材产地加工与饮片炮制生产一体化工艺研究[D]. 南京:南京中医药大学,2017.  
[6] 单鸣秋,陈星,李娟,等. 茜草与茜草炭对大鼠急性血瘀模型的影响比较研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(3):493-497.  
[7] 章丽,赵冰洁,袁嘉瑞,等. 牡丹皮、赤芍与白芍对急性血瘀模型大鼠活血功效的比较研究[J]. 中草药,2016,47(15):2676-2683.  
[8] 钱岩,单鸣秋,张丽,等. 基于化学成分和药理效应分析天麻饮片一体化工艺与传统工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(18):5-8.  
[9] 张丽,丁安伟. 中药材产地加工-饮片炮制一体化研究思路探讨[J]. 江苏中医药,2016,48(9):70-71.  
[10] 秦美蓉,王平,王晓炜,等. 盐酸益母草碱和盐酸水苏碱对大鼠离体子宫收缩的影响[J]. 今日药学,2013,23(7):410-412.  
[11] 熊莺,杨解人. 益母草碱对大鼠急性心肌缺血损伤心肌钙蛋白 T 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(2):21-24.  
[12] 晁志,马丽玲,周秀佳. 益母草中生物碱成分对大鼠的利尿作用研究[J]. 时珍国医国药,2005,16(1):11-12.  
[13] 刘林,余纯,徐良. 益母草总生物碱抗炎镇痛作用的研究[J]. 临床医药实践杂志,2008,11(18):934-935.  
[14] 李素云,庞惠芳,卫洪昌,等. 益母草生物碱和黄酮成分抗大鼠心肌缺血药效学研究[J]. 山东中医杂志,2006,25(2):114-116.  
[15] 张雪,宋玉琴,杨雨婷,等. 益母草活血化瘀化学成分与药理作用研究进展[J]. 药物评价研究,2015,38(2):214-217.  
[16] 高冲,刘璐,胡爱菊,等. 活血化瘀中药的药理作用研究进展[J]. 药物评价研究,2013,36(1):64-68.

[责任编辑 刘德文]