

# 蒸制和浸泡对四制益母草药效成分的影响\*

龙国斌<sup>1,2</sup> 甘国兴<sup>1,2\*</sup> 向燕芬<sup>1,2</sup> 朱卫星<sup>1,2</sup> 陈小锐<sup>3</sup> 李润虹<sup>2</sup> 陈海明<sup>3</sup>

(1.清远市中医院广东省鲜药民族医药工程技术研究中心,广东 清远 511500;

2.清远市中医院药学部,广东 清远 511500;3.清远市食品药品检验所,广东 清远 511500)

**摘要:**目的 研究蒸制和浸泡对四制益母草药效成分的影响。方法 采用2015年版《中华人民共和国药典》中益母草水溶性浸出物、盐酸水苏碱和盐酸益母草碱测定方法检测不同炮制方法制备的四制益母草水溶性浸出物、盐酸水苏碱和盐酸益母草碱含量。结果 浸泡的四制益母草水溶性浸出物增加;蒸制的四制益母草中盐酸水苏碱含量减少,盐酸益母草碱含量明显减少;浸泡的四制益母草中盐酸水苏碱和盐酸益母草碱含量均明显减少。结论 蒸制和浸泡均会使四制益母草中盐酸水苏碱和盐酸益母草碱含量减少。

**关键词:**四制益母草;水溶性浸出物;盐酸水苏碱;盐酸益母草碱

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2022.05.058

文章编号:1672-2779(2022)-05-0151-04

## Effects of Steaming and Soaking on the Active Ingredient of Sizhi Yimucao

LONG Guobin<sup>1,2</sup>, GAN Guoxing<sup>1,2\*</sup>, XIANG Yanfen<sup>1,2</sup>, ZHU Weixing<sup>1,2</sup>, CHEN Xiaorui<sup>3</sup>, LI Runhong<sup>2</sup>, CHEN Haiming<sup>3</sup>

(1. Fresh and Ethnic Medicine Engineering Technology Research Center of Guangdong Province, Qingyuan hospital of traditional chinese medicine, Guangdong Province, Qingyuan 511500, China;

2. Department of Pharmacy, Qingyuan hospital of traditional chinese medicine, Guangdong Province, Qingyuan 511500, China;

3. Food and Drug Inspection Institute of Qingyuan, Guangdong Province, Qingyuan 511500, China)

**Abstract: Objective** To study the effects of steaming and soaking on the active ingredient of Sizhi Yimucao. **Methods** The water soluble extract, hydrochloric stachyine and hydrochloric leonurine of Sizhi Yimucao which were processed by different methods were detected according to the methods of *Chinese Pharmacopoeia*. **Results** The water soluble extract of Sizhi Yimucao which was soaked was increased. The content of hydrochloric stachyine of Sizhi Yimucao which was steamed was decreased and the hydrochloric leonurine was obviously decreased. The content of hydrochloric stachyine and hydrochloric leonurine of Sizhi Yimucao which was soaked were obviously decreased. **Conclusion** The content of hydrochloric stachyine and hydrochloric leonurine of Sizhi Yimucao which was steamed and soaked was decreased.

**Keywords:** Sizhi Yimucao; water soluble extract; hydrochloric leonurine; hydrochloric stachyine

四制益母草是岭南特色炮制中药饮片,清代何克廉撰写的《生草药性备要》中记载四制益母草的炮制方法为“加童便米醋黄酒姜汁同浸也”<sup>[1]</sup>。《广东省中药炮制规范》记载四制益母草炮制方法为“取净益母草,用盐、醋、姜和酒混合液拌匀吸尽后,蒸2小时,晒干……”<sup>[2]</sup>。2种炮制方法所用辅料和工艺均存在差异,工艺的差异主要是蒸制和浸泡这2个关键环节。前期研究发现,童便、米醋、黄酒、姜汁混合液炮制的四制益母草中盐酸益母草碱含量明显高于盐、米醋、黄酒、姜汁混合液炮制的四制益母草,而二者盐酸水苏碱含量相当。本文以童便、米醋、黄酒、姜汁为辅料,考察蒸制和浸泡对四制益母草中药效成分盐酸益母草碱和盐酸水苏碱含量的影响,为优化四制益母草炮制方法提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 药材与辅料 净制益母草饮片(广州市志宁药业有

限公司生产,产地:湖北,批号:190601)经清远市中医院朱卫星主任中药师鉴定为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicas* Houtt. 的干燥地上部分,黄酒(绍兴吴越酿酒有限公司酿造,酒精度15%vol),9°米醋(山西老陈醋集团有限公司生产),食用盐(广东省盐业集团有限公司专营),生姜购自清远市先锋市场,童便取自一名5岁健康男童。

1.1.2 仪器设备 2695-2489型高效液相色谱仪(Waters公司)、WT3002型电子天平(杭州万特衡器有限公司监制)、Agilent 1260 Infinity II 蒸发光高效液相检测器(安捷伦公司)、XMTD-7000型电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司)、DHG-9023A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)、XS205型十万分之一分析天平(梅特勒-托利多公司)、DFT-100型100克手提式高速粉碎机(温岭市林大机械有限公司)等。

1.1.3 试剂 盐酸益母草碱(中国食品药品检定研究院,批号:111823-201704)、盐酸水苏碱(中国食品药品检定研究院,批号:110712-201916)、1-辛烷磺酸钠(河南省万佳首化生物科技有限公司,批号:DE821040)、乙醇

\*基金项目:广东省中医药局科研项目[No. 20191405]

※通讯作者:guoxinggan@126.com

(广州化学试剂厂, 批号: 2019030118, 分析纯)、磷酸(天津市富宇精细化工有限公司, 批号: 20150804B, 分析纯)、乙腈(默克股份两合公司, 色谱纯)、超纯水等。

## 1.2 方法

**1.2.1 辅料制备** 取童便 530 g, 米醋 530 g, 黄酒 530 g, 生姜汁 160 g (530 g 生姜榨汁所得), 混匀即得。

### 1.2.2 炮制方法

**1.2.2.1 润 1 h** 取净制益母草饮片 300 g, 平均分为 6 份, 每份 50 g。取上述益母草饮片 1 份, 加入混合辅料 16.5 g, 拌匀闷润 1 h, 置电热恒温鼓风干燥箱中 50 ℃ 干燥。

**1.2.2.2 润 1 h+ 蒸 2 h** 取上述益母草饮片 1 份, 加入混合辅料 16.5 g, 拌匀闷润 1 h, 置蒸锅中蒸 2 h, 取出放凉, 置电热恒温鼓风干燥箱中 50 ℃ 干燥。

**1.2.2.3 浸泡 1 h** 取上述益母草饮片 1 份, 加入混合辅料 250 g (预实验提示 5 倍量的辅料才能完全浸泡药材) 浸泡 1 h, 取出益母草饮片, 收集浸泡液, 益母草饮片置电热恒温鼓风干燥箱中 50 ℃ 干燥。

**1.2.2.4 浸泡 1 h+ 蒸 2 h** 取上述益母草饮片 1 份, 加入混合辅料 250 g 浸泡 1 h, 取出益母草饮片, 收集浸泡液, 益母草饮片置蒸锅中蒸 2 h, 取出放凉, 置电热恒温鼓风干燥箱中 50 ℃ 干燥。

**1.2.2.5 浸泡 3 h** 取上述益母草饮片 1 份, 加入混合辅料 250 g 浸泡 3 h, 取出益母草饮片, 收集浸泡液, 益母草饮片置电热恒温鼓风干燥箱中 50 ℃ 干燥。

**1.2.2.6 浸泡 3 h+ 蒸 2 h** 取上述益母草饮片 1 份, 加入混合辅料 250 g 浸泡 3 h, 取出益母草饮片, 收集浸泡液。益母草饮片置蒸锅中蒸 2 h, 取出放凉, 置电热恒温鼓风干燥箱中 50 ℃ 干燥。

**1.2.3 水分测定** 分别取 1.2.2 项下益母草炮制品和净制益母草饮片粉碎, 按照《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)<sup>[3]</sup>2015 年版四部水分测定法第二法(烘干法)测定其水分。

**1.2.4 水溶性浸出物测定** 分别取 1.2.2 项下益母草炮制品和净制益母草饮片粉碎, 按照《中国药典》<sup>[3]</sup>2015 年版四部浸出物测定法(通则 2201)项下热浸法测定不同益母草炮制品水溶性浸出物含量: 取药材粉末约 2 g, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加水 50 mL, 密塞, 称定重量, 静置 1 h, 连接回流冷凝管, 加热至沸腾, 并保持微沸 1 h, 放冷后, 取下锥形瓶, 密塞, 再称定重量, 用水补足减失的重量, 摇匀, 用干燥滤器滤过, 精密量取滤液 25 mL, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 在水浴上蒸干后, 于 105 ℃ 干燥 3 h, 置干燥器中冷却 30 min, 迅速精密称定重量, 以干燥品计算供试品中水溶性浸出物含量(%)。

### 1.2.5 盐酸水苏碱测定

**1.2.5.1 供试品溶液的制备** 按照《中国药典》<sup>[4]</sup>2015 年

版中的方法, 分别取 1.2.2 项下益母草炮制品 20 g, 用手提式高速粉碎机粉碎, 过 3 号筛, 取粉末约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70 % 乙醇 25 mL, 称定重量, 加热回流 2 h, 放冷, 再称定重量, 用 70 % 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**1.2.5.2 对照品溶液的制备** 取盐酸水苏碱对照品适量, 精密称定, 加 70% 乙醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 即得。

**1.2.5.3 含量测定** 按照《中国药典》<sup>[4]</sup>2015 年版中高效液相色谱法(通则 0512)测定。以丙基酰胺键合硅胶为填充剂, 以乙腈-0.2% 冰醋酸溶液 (80:20) 为流动相, 用蒸发光散射检测器检测, 理论塔板数按盐酸水苏碱峰计算应不低于 6000。分别取对照品溶液 5、10 μL, 供试品溶液 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定, 用外标两点法对数方程计算, 即得。

### 1.2.6 盐酸益母草碱含量测定

**1.2.6.1 对照品溶液的制备** 取盐酸益母草碱对照品适量, 精密称定, 加 70% 乙醇制成每 1 mL 含 30 μg 的溶液, 即得。

**1.2.6.2 含量测定** 按照《中国药典》<sup>[4]</sup>2015 年版中高效液相色谱法(通则 0512)测定。以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以乙腈-0.4% 辛烷磺酸钠的 0.1% 磷酸溶液 (24:76) 为流动相, 检测波长为 277 nm, 理论塔板数按盐酸益母草碱峰计算应不低于 6000。分别精密吸取盐酸益母草碱对照品溶液和 1.2.5.1 项下供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定, 即得。

## 2 结果

**2.1 四制益母草水分及水溶性浸出物含量** 益母草水分含量为 10.46%, 符合 2015 年版《中国药典》的要求, 不同炮制方法制备的四制益母草水分含量在 5.96% ~ 7.63%。益母草的水溶性浸出物含量为 24.93%, 符合 2015 年版《中国药典》的要求, 不同炮制方法制备的四制益母草的水溶性浸出物含量在 23.50% ~ 26.70%, 最高的是浸泡 1 h+ 蒸制 2 h 的四制益母草, 最低的是浸泡 3 h 的四制益母草。浸泡后蒸制的四制益母草水溶性浸出物含量增加。

| 样品                   | 水分含量 / % | 水溶性浸出物 / % |
|----------------------|----------|------------|
| 益母草                  | 10.46    | 24.93      |
| 四制益母草(润 1 h)         | 7.63     | 24.28      |
| 四制益母草(润 1 h+ 蒸 2 h)  | 6.10     | 24.77      |
| 四制益母草(浸泡 1 h)        | 5.96     | 24.16      |
| 四制益母草(浸泡 1 h+ 蒸 2 h) | 6.80     | 26.70      |
| 四制益母草(浸泡 3 h)        | 6.38     | 23.50      |
| 四制益母草(浸泡 3 h+ 蒸 2 h) | 6.54     | 24.70      |

### 2.2 不同炮制方法对四制益母草中盐酸水苏碱含量的影

响 益母草中盐酸水苏碱含量为 0.980%，符合 2015 年版《中国药典》的要求。不同炮制方法制备的四制益母草中盐酸水苏碱含量在 0.367%~0.933%，最高的是润 1 h 的四制益母草，最低的是浸泡 3 h+ 蒸制 2 h 的四制益母草。蒸制会导致四制益母草中盐酸水苏碱含量减少，浸泡会导致四制益母草中盐酸水苏碱含量明显减少。结果见表 2，图 1。

2.3 不同炮制方法对四制益母草中盐酸益母草碱含量的影响 益母草中盐酸益母草碱含量为 0.139%，符合 2015 年版《中国药典》的要求。不同炮制方法制备的四制益母草中盐酸益母草碱含量在 0.070%~0.120%，最高的是润 1 h 的四制益母草，最低的是浸泡 3 h+ 蒸制 2 h 的四制益母草。蒸制会导致四制益母草中盐酸益母草碱含量减少，浸泡会导致四制益母草中盐酸益母草碱含量明显减少。结果见表 3，图 2。

### 3 讨论

中药炮制与其临床疗效密切相关。宋代《太平圣惠方》就提出：“炮制失其体性，筛罗粗恶，分剂差殊，虽有疗疾之名，永无必愈之效，是以医者必须殷勤注意”。明代《本草蒙筌》又载：“凡药制造，贵在适中，不及则功效难求，太过则气味反失……”。清代《修事指南》又载：“炮制

不明，药性不确，则汤方无准，而病症不验也”。益母草始载于《神农本草经》，具有活血调经，利尿消肿，清热解毒等作用，用于月经不调，痛经经闭，恶露不尽，水肿尿少，疮疡肿毒。历代医方本草对益母草炮制方法记载颇多，包括炒制、制炭、酒制、醋制、蜜制和四制等。

四制益母草是岭南特色炮制中药饮片，四制能够增强祛瘀生新作用。药理研究表明，益母草活血化瘀的主要成分是盐酸益母草碱和盐酸水苏碱。本研究中，润法炮制的四制益母草，蒸制与未蒸制对水溶性浸出物基本无影响，蒸制后盐酸水苏碱含量略微减少，盐酸益母草碱含量明显减少。浸泡炮制的四制益母草，蒸制后水溶性浸出物增加，盐酸水苏碱含量和盐酸益母草碱含量均减少。与润法相比，浸泡炮制的四制益母草盐酸水苏碱和盐酸益母草碱含量均明显减少。研究表明，蒸制对盐酸益母草碱影响较大，浸泡会造成盐酸水苏碱和盐酸益母草碱明显减少。

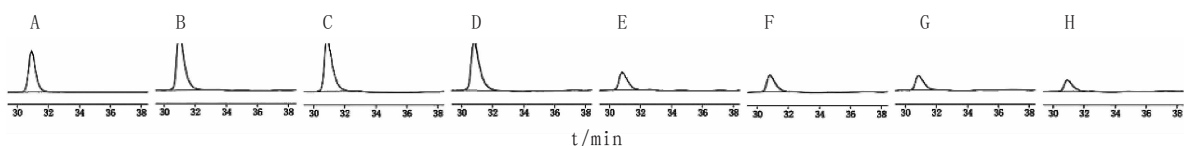
《生草药性备要》中记载四制益母草的炮制方法为“加童便米醋黄酒姜汁同浸也”。本研究结果表明，浸泡会造成益母草主要药效成分盐酸水苏碱和盐酸益母草碱明显减少，因此认为浸泡法炮制四制益母草是不合理的。《广东中药炮制规范》记载四制益母草炮制方法为“取净

表 2 不同炮制方法对四制益母草中盐酸水苏碱含量的影响 (n=3)

| 样品                   | 盐酸水苏碱含量 | RSD  | 与益母草比   |
|----------------------|---------|------|---------|
|                      | /%      | /%   | /%      |
| 益母草                  | 0.980   | 1.04 | /       |
| 四制益母草(润 1 h)         | 0.933   | 0.27 | 4.79 ↓  |
| 四制益母草(润 1 h+ 蒸 2 h)  | 0.896   | 1.04 | 8.57 ↓  |
| 四制益母草(浸泡 1 h)        | 0.480   | 0.32 | 51.02 ↓ |
| 四制益母草(浸泡 1 h+ 蒸 2 h) | 0.464   | 1.14 | 52.65 ↓ |
| 四制益母草(浸泡 3 h)        | 0.424   | 0.54 | 56.73 ↓ |
| 四制益母草(浸泡 3 h+ 蒸 2 h) | 0.367   | 0.83 | 62.55 ↓ |

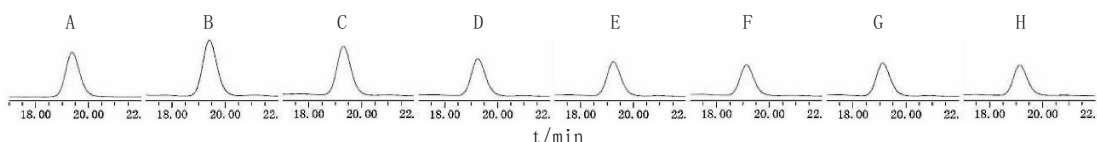
表 3 不同炮制方法对四制益母草中盐酸益母草碱含量的影响 (n=3)

| 样品                   | 盐酸水苏碱含量 | RSD  | 与益母草比   |
|----------------------|---------|------|---------|
|                      | /%      | /%   | /%      |
| 益母草                  | 0.139   | 0.43 | /       |
| 四制益母草(润 1 h)         | 0.120   | 0.15 | 13.67 ↓ |
| 四制益母草(润 1 h+ 蒸 2 h)  | 0.092   | 0.48 | 33.81 ↓ |
| 四制益母草(浸泡 1 h)        | 0.080   | 1.03 | 42.45 ↓ |
| 四制益母草(浸泡 1 h+ 蒸 2 h) | 0.074   | 1.24 | 46.76 ↓ |
| 四制益母草(浸泡 3 h)        | 0.078   | 0.58 | 43.88 ↓ |
| 四制益母草(浸泡 3 h+ 蒸 2 h) | 0.070   | 0.26 | 49.64 ↓ |



注:A- 盐酸水苏碱对照品;B- 益母草;C- 四制益母草(润 1 h);D- 四制益母草(润 1 h+ 蒸 2 h);E- 四制益母草(浸泡 1 h);F- 四制益母草(浸泡 1 h+ 蒸 2 h);G- 四制益母草(浸泡 3 h);H- 四制益母草(浸泡 3 h+ 蒸 2 h)。

图 1 盐酸水苏碱高效液相色谱图



注:A- 盐酸益母草碱对照品;B- 益母草;C- 四制益母草(润 1 h);D- 四制益母草(润 1 h+ 蒸 2 h);E- 四制益母草(浸泡 1 h);F- 四制益母草(浸泡 1 h+ 蒸 2 h);G- 四制益母草(浸泡 3 h);H- 四制益母草(浸泡 3 h+ 蒸 2 h)。

图 2 盐酸益母草碱高效液相色谱图



# 基于网络药理学 探讨金银花抗动脉粥样硬化的作用机制\*

曾长林<sup>1</sup> 胡子毅<sup>2</sup> 魏明全<sup>2\*</sup> 李人亮<sup>3</sup> 张平<sup>3</sup> 易莹<sup>3</sup>

(1.江西省永修县人民医院中医科,江西永修 330300;2.江西中医药大学附属医院急诊科,江西 南昌 330006;  
3.江西中医药大学,江西 南昌 330004)

**摘要:**目的 运用网络药理学方法探究金银花治疗动脉粥样硬化的分子作用机制。方法 通过多个数据库查找并筛选金银花的活性成分、作用靶点和动脉粥样硬化基因。通过 Cytoscape 3.7.2 软件构建“药物-活性成分-靶点-疾病”网络。运用 R 4.0.4 软件进行 GO 功能分析及 KEGG 通路分析。结果 筛选出 17 个活性成分,196 个靶标蛋白,2419 个疾病基因,129 个药物-疾病交集基因。GO 功能富集分析得到 GO 条目 2584 个,包括生物过程 2328 个,分子功能 172 个和细胞组分 84 个。KEGG 通路富集筛选得到信号通路 162 条,主要涉及血脂和动脉粥样硬化、流体剪切应力和动脉粥样硬化等。结论 金银花可能主要通过  $\beta$ -胡萝卜素、木樨草素、山柰酚和槲皮素等多种活性成分作用于 JUN、RELA、IL1B、IL6 和 MAPK1 等基因,直接调控血脂和动脉粥样硬化以及流体剪切应力和动脉粥样硬化通路起到抗动脉粥样硬化作用。

**关键词:**网络药理学;金银花;动脉粥样硬化

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2022.05.059

文章编号:1672-2779(2022)-05-0154-04

## Discussion on the Mechanism of Anti-Atherosclerosis of Flos Lonicerae Based on Network Pharmacology

ZENG Changlin<sup>1</sup>, HU Ziyi<sup>2</sup>, WEI Mingquan<sup>2\*</sup>, LI Renliang<sup>3</sup>, ZHANG Ping<sup>3</sup>, YI Ying<sup>3</sup>

(1.Department of Traditional Chinese Medicine, Yongxiu County People's Hospital, Jiangxi Province, Yongxiu 330300, China;

2. Emergency Department, the Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi Province, Nanchang 330006, China;

3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi Province, Nanchang 330004, China)

**Abstract: Objective** Using the method of network pharmacology to explore the molecular mechanism of Flos Lonicerae in the treatment of atherosclerosis. **Methods** The active components, action targets and atherosclerosis genes of Lonicerae japonica were searched and screened through multiple databases. PPI network and drug-active component-targets-disease network were mapped by Cytoscape 3.7.2 software. Functional enrichment and main action pathway analysis were carried out through R 4.0.4 software. **Results** 17 active ingredients, 196 target proteins, 2419 disease genes and 129 drug-disease intersection genes were screened out. A total of 2584 GO items were obtained by GO functional enrichment analysis, including 2328 biological processes, 172 molecular functions and 84 cellular components. A total of 162 signaling pathways were obtained by KEGG pathway enrichment and screening, mainly involving Lipid and atherosclerosis, Fluid shear stress and atherosclerosis, etc. **Conclusions** Flos Lonicerae may directly regulate blood lipid and atherosclerosis as well as fluid shear stress and atherosclerosis pathway by acting on genes such as JUN, RELA, IL1B, IL6 and MAPK1 mainly through  $\beta$ -carotene, luteolin, kaumferol and quercetin.

**Keywords:** network pharmacology; Flos Lonicerae; atherosclerosis

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心血管疾病最普遍的病变基础。由于脂质沉积在动脉血管内壁,并

伴有平滑肌细胞和纤维基质增生,逐渐形成分散或成片的粥样斑块,导致血管管腔变窄不稳定的粥样斑块还容

益母草,用盐、醋、姜和酒混合液拌匀吸尽后,蒸2小时,晒干……”。本研究结果提示,蒸制对盐酸益母草碱影响较大,蒸制后盐酸益母草碱含量明显减少,马恩耀<sup>[1]</sup>研究发现蒸制超过1h的四制益母草中盐酸水苏碱和盐酸益母草碱均减少,因此认为蒸制2h是不合理的。本研究只是初步探讨蒸制和浸泡对四制益母草盐酸水苏碱、盐酸益母草碱和水溶性浸出物的影响,研究结果可

能没有全面系统地反映蒸制和浸泡对四制益母草质量的影响,今后将进一步深入研究阐明蒸制和浸泡对四制益母草质量的影响,为优化四制益母草炮制方法提供参考。

### 参考文献

- [1] 清·何克谦.生草药性备要[M].影印本.广州:广东科技出版社,2009:39.
- [2] 广东省卫生厅.广东省中药炮制规范[M].广州:广东省卫生厅,1984:198.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:104,202.
- [4] 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.
- [5] 马恩耀.四制益母草炮制工艺和质量标准研究[D].广东:广州中医药大学,2017.

\*基金项目:江西省中医药中青年骨干人才培养计划[No.赣中医药科教学[2020]2号];江西省卫生健康委科技计划项目[No.202130558];江西中医药大学附属医院中医药循证能力建设基金项目[No.2019XZZX-LG005]

※通讯作者:282344043@qq.com

(本文责编:王璞松皓 本文校对:邓桂珠 收稿日期:2021-03-23)