

基于纳米类成分的黄芩炭凉血止血效应物质基础研究

李永康, 曹立华, 刘铭锦, 陈智*

山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355

摘要:目的 将黄芩炭成分分离纯化为黄芩炭透析袋内纳米类成分 (*Scutellariae Radix Carbonisata* intra dialysate nano-components, SRC-I) 及黄芩炭透析袋外自身指标成分 (*Scutellariae Radix Carbonisata* out dialysate endogenous marker components, SRC-O) 2部分, 明确 SRC-I 的理化性质并探究黄芩炭及各组分的凉血止血效果。方法 通过对黄芩炭提取、分离、透析得到 SRC-I, 利用纳米材料表征方法明确其形态、光学性质、官能团及元素组成等信息。利用小鼠断尾出血及肝脏出血实验初步评价黄芩炭和 SRC-I 的止血效果。构建大鼠血热出血模型, 通过比较大鼠一般体征、病理学变化、凝血四项参数、血浆中还原型谷胱甘肽 (reduced glutathione, GSH)、氧化型谷胱甘肽 (oxidized glutathione, GSSG)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的水平、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 的活力, 评价黄芩炭及各组分的凉血止血作用。结果 SRC-I 为类球形, 粒径分布在 3.40~11.70 nm, 晶格间距为 0.285 nm, 具有荧光特性, 主要由 C、O、N 元素构成, 表面含有羰基, 可能含有羟基、氨基等官能团, 未检测到黄芩炭中传统意义上的黄酮类成分。SRC-I 能显著缩短小鼠断尾出血和肝脏出血时间 ($P<0.01$), 且止血效果与黄芩炭无显著性差异; 改善血热出血大鼠的异常体征, 有效减轻肺、胃组织损伤; 显著缩短凝血酶原时间 (prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT) 及凝血酶时间 (thrombin time, TT) ($P<0.01$), 降低纤维蛋白原 (fibrinogen, FIB) 含量 ($P<0.01$), 效果优于黄芩炭及 SRC-O; 显著提高 GSH 水平及 SOD 活性 ($P<0.01$), 下调 GSSG、MDA 水平 ($P<0.05$ 、 0.01), 升高 GSH/GSSG 值 ($P<0.05$), 效果优于黄芩炭及 SRC-O。结论 黄芩炭过程中出现的纳米类成分是黄芩炭凉血止血的关键物质, 其纳米学特性使其表现出优于黄芩炭的凉血止血效应, 而 SRC-O 是黄芩炭发挥清热凉血功效的活性组分, 2部分共同发挥凉血止血功效。不仅为诠释黄芩炭凉血止血的科学内涵提供了新的思路, 也为规范黄芩炭炮制工艺、质量标准及其临床合理应用提供了科学依据。

关键词: 黄芩炭; 纳米类成分; 表征; 血热证; 凉血止血; 氧化应激; 野黄芩苷; 黄芩苷; 木犀草素; 汉黄芩苷; 黄芩素; 汉黄芩素; 白杨素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)19-7090-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.19.020

Material basis of blood-cooling and hemostatic effects of *Scutellariae Radix Carbonisata* based on nano-components

LI Yongkang, CAO Lihua, LIU Mingjin, CHEN Zhi

College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To separate and purify the components of *Scutellariae Radix Carbonisata* (SRC) into SRC intra dialysate nano-components (SRC-I) and SRC out dialysate endogenous marker components (SRC-O), define the physicochemical properties of SRC-I, and investigate the blood-cooling and hemostatic effects of SRC and its fractions. **Methods** SRC-I were obtained through extraction, separation, and dialysis of SRC. Their morphology, optical properties, functional groups and elemental composition were characterized using nanomaterial analysis methods. The hemostatic effects of SRC and SRC-I were preliminarily evaluated by mouse tail amputation and liver hemorrhage assays. A rat model of blood-heat hemorrhage was established to evaluate the blood-cooling and hemostatic effects of SRC and its fractions by comparing general physical characteristics, pathological changes, coagulation

收稿日期: 2025-06-23

基金项目: 山东省自然科学基金面上项目 (ZR2021MH009); 山东中医药大学科学研究基金项目 (KYZK2024M20); 山东中医药大学“药苑育研”优秀研究生创新基金项目 (YYCXJJ-202434)

作者简介: 李永康, 硕士研究生, 研究方向为中药新药与中药炮制原理研究。E-mail: avvv121382023@163.com

*通信作者: 陈智, 副教授, 硕士生导师, 从事中药新药与中药炮制原理研究。E-mail: chenchi6088@163.com

parameters, plasma levels of reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity in plasma. **Results** SRC-I exhibited quasi-spherical morphology with a particle size distribution of 3.40—11.70 nm, lattice spacing of 0.285 nm, and fluorescence properties. They mainly consisted of C, O and N elements, with surface carbonyl groups, potential hydroxyl and amino functionalities, while traditional flavonoid components of SRC were not detected. SRC-I significantly shortened tail amputation and liver hemorrhage times in mice ($P < 0.01$), with no significant difference compared to SRC. SRC-I demonstrated therapeutic efficacy in ameliorating abnormal physical characteristics and effectively mitigated pulmonary and gastric tissue damage in blood-heat hemorrhage rats. SRC-I significantly shortened prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), and thrombin time (TT) ($P < 0.01$), along with decreased fibrinogen content (FIB) ($P < 0.01$), exhibiting superior efficacy compared to both SRC and SRC-O. Additionally, SRC-I significantly increased GSH level and SOD activity ($P < 0.01$), decreased GSSG and MDA levels ($P < 0.05, 0.01$), and increased GSH/GSSG value ($P < 0.05$), demonstrating superior efficacy to both SRC and SRC-O. **Conclusion** The nano-components formed during SRC processing are the key substance for its blood-cooling and hemostatic effects, exhibiting superior efficacy compared to SRC due to their nanoscale properties. SRC-O are the active fraction responsible for the heat-clearing and blood-cooling effects of SRC. Both components work synergistically to achieve blood-cooling and hemostatic effects. This not only offers new insights into elucidating the scientific connotations of SRC blood-cooling and hemostatic effects, but also provides a scientific basis for standardizing its processing techniques, quality standards, and clinical applications.

Key words: *Scutellariae Radix Carbonisata*; nano-components; characterization; blood-heat syndrome; blood cooling and hemostasis; oxidative stress; scutellarin; baicalin; luteolin; wogonoside; baicalein; wogonin; chrysin

黄芩 *Scutellariae Radix* 为唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎的功效^[1]。黄芩炭为黄芩经武火炒制而成的炮制品, 相较于生品, 其凉血作用得以保留, 而止血作用增强, 临床上常用于治疗血热出血引起的各类出血病症^[2-4]。现代研究主要聚焦于黄芩炭自身成分变化, 发现黄芩炒炭后主要成分变化为黄酮苷类成分的苷键断裂生成苷元, 这一成分转化过程为解释黄芩炭的凉血止血功效提供了一定的科学依据^[5-6]。然而, 仅通过分析炭药的自身化学成分变化, 难以阐明中医“炭药止血”理论中多种炭药共有的止血作用物质基础。随着纳米材料技术在中医药研究中的深入应用, 研究人员从多种炭药中成功分离出具有良好止血功效的纳米类成分, 如茜草炭碳点、蒲黄炭碳点、黄柏炭碳点等^[7-12]。多项实验研究证实, 纳米类成分是炭药止血活性的关键效应物质, 可能是炭药发挥止血作用的共有物质基础。针对当前炭药研究的现状, 本研究以现代纳米学科为切入点, 从止血和凉血 2 个维度出发, 对黄芩炭的纳米类成分和存性部分成分进行探索, 揭示成分变化与药效改变的相关性。

本研究将黄芩炭成分分离为黄芩炭透析袋内纳米类成分 (*Scutellariae Radix Carbonisata* intra dialysate nano-components, SRC-I) 及黄芩炭透析袋外自身指

标成分 (*Scutellariae Radix Carbonisata* out dialysate endogenous marker components, SRC-O) 2 部分, 利用 HPLC 法探究 SRC-I、SRC-O 中成分的差异, 利用透射电子显微镜 (transmission electron microscopy, TEM)、X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 技术、紫外-可见吸收光谱 (UV-vis absorption, UV-Vis)、荧光光谱 (fluorescence spectrum, FL)、傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 及 X 射线光电子能谱 (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) 技术对 SRC-I 进行理化表征。采用小鼠断尾出血、肝脏出血模型对黄芩炭、SRC-I 的止血效果进行评价。通过观察和比较大鼠血热出血模型的一般体征、肺及胃组织病理变化、凝血四项参数和血浆氧化还原稳态, 探究黄芩炭的凉血止血物质基础, 以期为黄芩炭的炮制机制提供科学的阐释。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性昆明小鼠 40 只, 体质量 (30.0±2.0) g, 购自山东朋悦实验动物科技有限公司, 质量合格证编号 370726241100380465, 伦理批准号 SDUTCM20240312004。SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只, 体质量 (200±20) g, 购自山东朋悦实验动物科技有限公司, 质量合格证编号 370726251100314782, 伦理批准号 SDUTCM20250303003。正式实验开始前, 动物适应性饲养 1 周, 环境温度为 (25±1) °C,

相对湿度为 55%~65%，明暗循环饲养。实验期间动物自由进食饮水。动物实验遵循山东中医药大学有关实验动物管理和使用的规定，均符合 3R 原则。

1.2 药材

黄芩饮片（批号 C22122031）购自安国润德药业有限公司，经山东中医药大学徐凌川教授鉴定为唇形科植物黄芩 *S. baicalensis* Georgi 的干燥根。

1.3 药品与试剂

透析袋（截留相对分子质量 1 000）购自美国 JielePu 公司；对照品野黄芩苷（批号 J31GB156318）、黄芩苷（批号 Z28S11X125952）、木犀草素（批号 C24M8Q36543）、汉黄芩苷（批号 A09GB144759）、黄芩素（批号 C04D8Y49741）、汉黄芩素（批号 T11J11R108209）、白杨素（批号 X24O6C4947）购自上海源叶生物科技有限公司，质量分数均大于 98%；白眉蛇毒血凝酶（hemocoagulase, HC, 批号 06220903）购自锦州奥鸿药业有限责任公司；云南白药（批号 Z53020798）购自云南白药集团股份有限公司；干酵母购自安琪酵母股份有限公司；还原型谷胱甘肽（reduced glutathione, GSH）含量试剂盒（批号 JL-T0906）、氧化型谷胱甘肽（oxidized glutathione, GSSG）含量试剂盒（批号 JL-T1263）、丙二醛（malondialdehyde, MDA）含量试剂盒（批号 JL-0761）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）活性测定试剂盒（批号 JL-0781）购自上海将来实业股份有限公司；凝血酶原时间（prothrombin time, PT）测定试剂盒（批号 2024091601）、活化部分凝血活酶时间（activated partial thromboplastin time, APTT）测定试剂盒（批号 20240821）、凝血酶时间（thrombin time, TT）测定试剂盒（批号 2024071202）、纤维蛋白原（fibrinogen, FIB）含量测定试剂盒（批号 2024092002）购自深圳雷杜生命科学股份有限公司。

1.4 仪器

JEM-2100Plus 型场发射透射电子显微镜（日本电子株式会社）；U-3900 型紫外分光光度计、F-2700 型荧光分光光度计（日本日立株式会社）；Frontier FT-IR 型傅里叶变换红外光谱仪（美国珀金埃尔默公司）；Agilent 1260 型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；AXIS SUPRA 型 X 射线光电子能谱仪（日本岛津制作所）；D8 ADVANCE 型 X 射线衍射仪（德国布鲁克公司）；RAC-1830 型全自动凝血分析仪（深圳雷杜生命科学股份有限公司）。

2 方法

2.1 黄芩炭水煎液、SRC-I 及 SRC-O 的制备

黄芩炭照炒炭法（《中国药典》2020 年版四部通则 0213）制备。取黄芩饮片，大小分档，置热锅内，用武火炒至表面焦黑色、内部焦褐色时，喷淋清水少许，熄灭火星，取出，晾干，取适量黄芩炭粉碎，过 60 目筛，留置备用。

称取黄芩炭粉末 100 g，加入 2 000 mL 去离子水浸泡 30 min，回流提取 2 次，每次 2 h。合并水煎液，定性滤纸粗滤，取 1/2 滤液浓缩、冷冻干燥，得黄芩炭水煎液冻干粉；剩余滤液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，浓缩后装入透析袋，置于盛有去离子水的烧杯中透析 72 h，每隔 12 h 更换 1 次去离子水，结束后收集袋内溶液，冷冻干燥得 SRC-I 冻干粉；收集每次更换的去离子水，浓缩后冷冻干燥得 SRC-O 冻干粉。冻干粉均常温避光保存，留置备用。

2.2 SRC-I 的表征

利用 TEM 观察 SRC-I 的形貌、分散度、粒径大小、晶格间距等特征，采用 UV-Vis 及 FL 分析 SRC-I 的光学性质，采用 FTIR 结合 XPS 分析 SRC-I 的官能团及元素组成信息。

2.3 HPLC 分析

2.3.1 色谱条件 Kromasil 100-5-C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm, 5 μm）；流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液，梯度洗脱：0~10 min, 10%~15%乙腈；10~20 min, 15%~20%乙腈；20~30 min, 20%~25%乙腈；30~60 min, 25%~45%乙腈；60~70 min, 45%~60%乙腈；70~75 min, 60%~10%乙腈。体积流量 1 mL/min；检测波长 274 nm；柱温 30 ℃；进样量 10 μL。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取野黄芩苷、黄芩苷、木犀草素、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素对照品适量，加甲醇溶解，制得混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 分别取适量 SRC-I 及 SRC-O 冻干粉加入去离子水溶解，质量浓度均为 0.01 g/mL（按原药材质量计算），0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得供试品溶液。

2.4 SRC-I 的止血作用研究

2.4.1 小鼠断尾出血实验 40 只雄性昆明小鼠随机分为 4 组，每组 10 只，分别为对照组、HC（0.67 KU/kg）组、黄芩炭（1.50 g/kg，按原药材质量计算，等同于临床日用量）组及 SRC-I（1.50 g/kg，按原药材质量计算）组。HC 组给药体积为 7 mL/kg，其他

组给药体积为 17 mL/kg^[13]。对照组 sc 生理盐水，其他组 sc 生理盐水配制的相应药物^[13]。给药 2 h 后，在距小鼠尾尖 1 cm 处剪断，血液流出时开始计时，每隔 30 s 用滤纸片点蘸断尾处，至滤纸上无血迹为止，所历时间即出血时间。

2.4.2 小鼠肝脏出血实验 动物分组、给药同“2.4.1”项。给药 2 h 后将小鼠沿腹中线剪开，用生理盐水浸润的纱布将其肝脏垫起，并用生理盐水冲洗肝脏表面血迹。于左叶肝脏离下缘 0.5 cm 处用 2 mL 注射器垂直进针，刺入深度为 3 mm，血液流出时开始计时，每隔 30 s 用生理盐水浸润的滤纸片轻拭伤口，至滤纸上无血迹为止，所历时间即出血时间。

2.5 SRC-I 的凉血止血作用研究

2.5.1 动物分组、给药及取材 48 只雄性 SD 大鼠随机分为 6 组，每组 8 只，分别为对照组、模型组、云南白药 (0.25 g/kg) 组、黄芩炭 (2.08 g/kg, 按原药材质量计算, 等同于临床日用量的 2 倍) 组和 SRC-I 组 (2.08 g/kg, 按原药材质量计算)、SRC-O (2.08 g/kg, 按原药材质量计算) 组。动物适应性饲养 1 周后，对照组及模型组 ig 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 溶液，其他组 ig 0.5% CMC-Na 溶液配制的相应药物，1 次/d，连续给药 7 d，各组大鼠给药体积均为 10 mL/kg。第 7 天给药后，模型组及各给药组大鼠皮下双侧注射 20% 干酵母混悬液 (10 mL/kg)，对照组皮下双侧注射等体积生理盐水。sc

6 h 后模型组及各给药组大鼠 ig 0.5 mL 无水乙醇，对照组 ig 等体积蒸馏水。第 8 天给药 40 min 后腹主动脉取血，3.8% 柠檬酸钠 (1:9) 抗凝，3 000 r/min 室温离心 15 min，取血浆，-80 °C 保存。大鼠放血致死取肺、胃组织，于 4% 多聚甲醛固定。

2.5.2 大鼠一般体征检测 自 sc 干酵母混悬液起，每隔 1 h 测定 1 次大鼠肛温，至第 6 小时结束。检测大鼠 sc 干酵母混悬液后 24 h 内的食物摄入量、水摄入量及体质量变化。

2.5.3 肺组织及胃组织病理变化观察 各组肺、胃组织固定后，脱水，石蜡包埋，切片，苏木素-伊红 (HE) 染色，于光学显微镜下观察组织的病理变化。

2.5.4 凝血指标的检测 按试剂盒说明书处理血浆，使用全自动凝血仪测定凝血四项参数。

2.5.5 抗氧化水平的检测 取血浆，按试剂盒说明书测定 GSH、GSSG、MDA 水平及 SOD 活性。

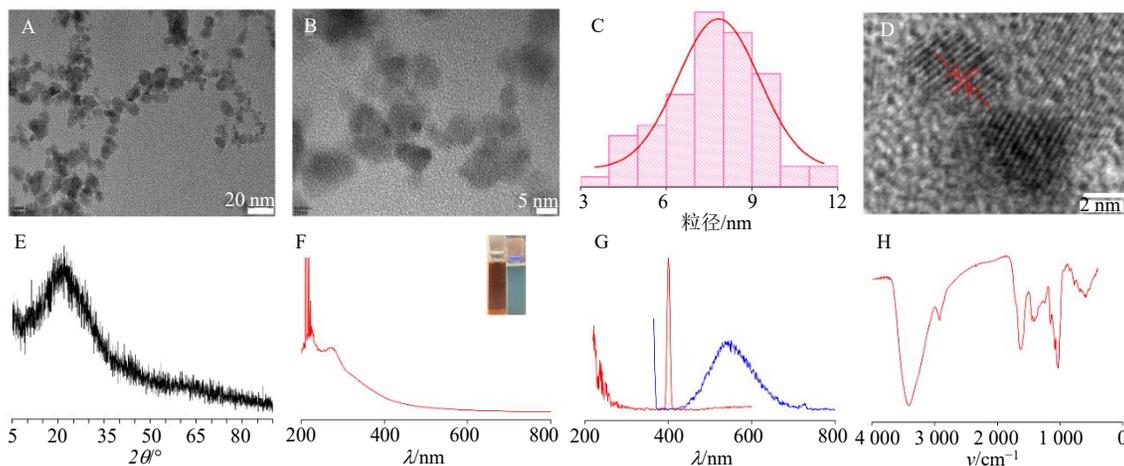
2.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间数据采用单因素方差分析进行比较，符合正态分布的数据方差齐时使用 LSD 检验，方差不齐时使用 Tamhane's T2 检验。

3 结果

3.1 SRC-I 的表征结果

如图 1-A、B 所示，SRC-I 形状为类球形，在水中分散度良好。其粒径分布在 3.40~11.70 nm，



A-TEM 图 ($\times 250\ 000$)；B-TEM 图 ($\times 800\ 000$)；C-粒径分布图；D-TEM 图 ($\times 15\ 600\ 000$ ，晶格间距)；E-XRD 图；F-UV-Vis；G-FL；H-FTIR。
A-TEM image ($\times 250\ 000$)；B-TEM image ($\times 800\ 000$)；C-histogram depicting particle size distribution；D-TEM image ($\times 15\ 600\ 000$ ，lattice spacing)；E-XRD pattern；F-UV-Vis；G-FL；H-FTIR.

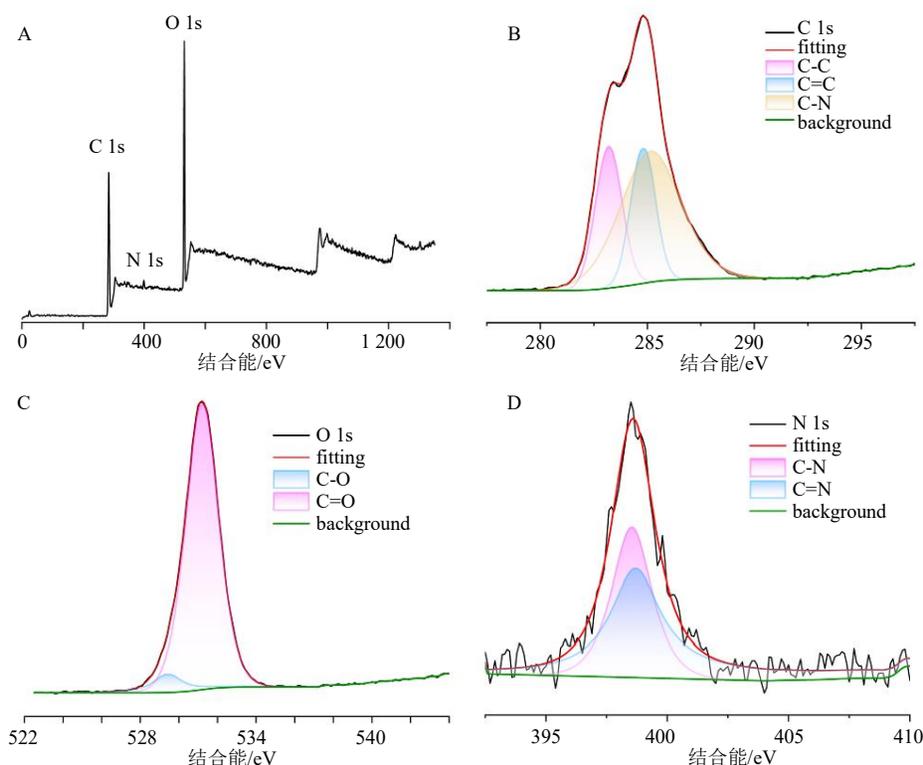
图 1 SRC-I 的表征结果

Fig. 1 Characterization of SRC-I

主要集中在 6.0~10.0 nm (图 1-C)。图 1-D 显示 SRC-I 的晶格清晰整齐,晶格间距为 0.285 nm。XRD (图 1-E) 结果显示, SRC-I 在衍射角度 $2\theta=22^\circ$ 时存在衍射峰,峰形较宽,角度较小,表明 SRC-I 为非晶态碳材料。由图 1-F 可知, SRC-I 水溶液在自然光下呈现黄色,在 365 nm 紫外光下发出蓝色荧光; SRC-I 在 200~300 nm 出现紫外吸收峰,推测源于 $\pi-\pi^*$ 跃迁。SRC-I 的荧光光谱 (图 1-G) 显示,其最大激发波长及最大发射波长分别为 401、544 nm。红外光谱 (图 1-H) 显示, SRC-I 在 3 424、2 927、1 628、1 412、1 026 cm^{-1} 处存在吸收峰。3 424 cm^{-1} 处的强吸收峰归因于 O-H 或 N-H 的伸缩振动, 2 927 cm^{-1} 处的吸收峰为饱和碳上 C-H 的伸

缩振动峰, 1 628 cm^{-1} 处的较强吸收峰由 C=O 或 C=C 伸缩振动产生, 1 412 cm^{-1} 处的吸收峰与 C-N 的伸缩振动有关, 1 026 cm^{-1} 处的吸收峰对应 C-O 的伸缩振动。

SRC-I 的元素峰图 (图 2-A) 显示其主要由 C (63.26%)、O (34.32%)、N (2.42%) 元素组成。在 C 1s 谱带 (图 2-B) 中存在 283.18、284.83、285.15 eV 3 个峰, 分别对应 C-C、C=C、C-N 键^[14-15]。O 1s 谱带 (图 2-C) 显示 529.38、531.18 eV 2 个峰, 分别表示 C-O、C=O 键^[16]。图 2-D 为 N 1s 谱带, 398.54、398.69 eV 处的峰分别对应 C-N、C=N 键^[17]。由 FTIR 及 XPS 的结果可知, SRC-I 表面含有羰基, 可能含有羟基、氨基等官能团。



A-全扫描图谱; B-C 1s 图谱; C-O 1s 图谱; D-N 1s 图谱。

A-full-scan spectrum; B-C 1s spectrum; C-O 1s spectrum; D-N 1s spectrum.

图 2 SRC-I 的表面基团和元素组成信息

Fig. 2 Surface composition and elemental analysis of SRC-I

3.2 SRC-O 和 SRC-I 成分分析

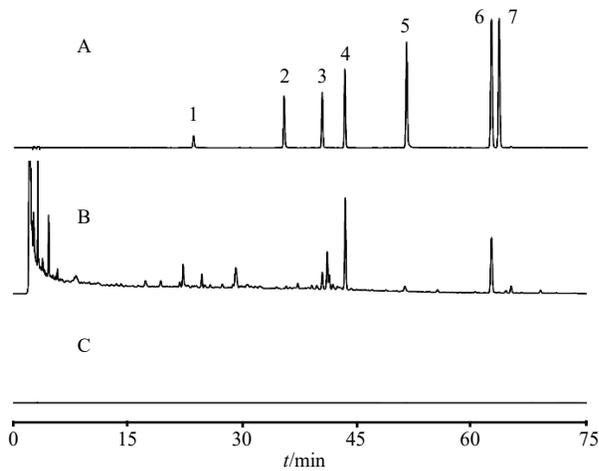
如图 3 所示, SRC-O 中含有木犀草素、汉黄芩苷、汉黄芩素等黄酮类成分, 表明其保留了黄芩炭中的重要化学成分。而经透析纯化得到的 SRC-I 未检测到黄芩炭中的典型小分子化合物。

3.3 SRC-I 的止血作用研究

3.3.1 小鼠断尾出血实验 如表 1 所示, 与对照组

比较, HC 组、黄芩炭组及 SRC-I 组小鼠断尾出血时间显著缩短 ($P<0.01$), 且 SRC-I 组止血时间与 HC 组、黄芩炭组无显著性差异。

3.3.2 小鼠肝脏出血实验 如表 1 所示, 与对照组比较, HC 组、黄芩炭组及 SRC-I 组小鼠肝脏出血时间显著缩短 ($P<0.01$), 且 SRC-I 组止血时间与 HC 组、黄芩炭组无显著性差异。



1-野黄芩苷; 2-黄芩苷; 3-木犀草素; 4-汉黄芩苷; 5-黄芩素; 6-汉黄芩素; 7-白杨素。

1-scutellarin; 2-baicalin; 3-luteolin; 4-wogonoside; 5-baicalein; 6-wogonin; 7-chrysin.

图3 混合对照品 (A)、SRC-O (B) 和 SRC-I (C) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of mixed reference substances (A), SRC-O (B) and SRC-I (C)

表1 小鼠断尾出血模型及肝脏出血模型的出血时间 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Hemostatic time in mice tail amputation and liver scratch models ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	断尾出血时间/min	肝脏出血时间/min
对照	—	9.70 ± 2.79	5.80 ± 1.11
HC	0.67 KU·kg ⁻¹	3.44 ± 0.93 ^{##}	3.70 ± 0.86 ^{##}
黄芩炭	1.50 g·kg ⁻¹	2.30 ± 0.71 ^{##}	3.06 ± 0.96 ^{##}
SRC-I	1.50 g·kg ⁻¹	2.40 ± 1.10 ^{##}	2.38 ± 0.61 ^{##}

与对照组比较: ^{##}P < 0.01。

^{##}P < 0.01 vs control group.

3.4 SRC-I 的凉血止血作用研究

3.4.1 大鼠一般体征 如表2所示,与对照组比较,模型组大鼠在造模2h后肛温显著升高 ($P < 0.01$),且发热稳定,饮食量、饮水量减少,体质量显著减轻 ($P < 0.01$),表明血热证大鼠模型复制成功。除造模后2h黄芩炭组及造模后4h云南白药组肛温与模型组相比无统计学意义外,黄芩炭组、SRC-I组、SRC-O组及云南白药组在造模后2~5h肛温均显著低于模型组 ($P < 0.05, 0.01$),表明各药物均

表2 各组大鼠一般体征变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Changes in general physical characteristics of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	肛温/°C						饮食 量/g	饮水 量/mL	体质量变化/g	
		0h	1h	2h	3h	4h	5h				6h
对照	—	36.85 ± 0.35	36.89 ± 0.59	36.44 ± 0.30	36.19 ± 0.22	36.39 ± 0.44	36.26 ± 0.43	36.21 ± 0.30	91.22	132.5	0.86 ± 2.50
模型	—	36.66 ± 0.24	36.79 ± 0.54	37.53 ± 0.13 ^{##}	38.33 ± 0.49 ^{##}	38.76 ± 0.39 ^{##}	38.90 ± 0.60 ^{##}	37.54 ± 0.81 ^{##}	1.78	55.0	-34.86 ± 3.18 ^{##}
云南白药	0.25	36.74 ± 0.24	36.74 ± 0.24	36.19 ± 0.38 ^{**}	37.20 ± 0.70 ^{**}	38.36 ± 0.44	38.09 ± 0.48 ^{**}	38.05 ± 0.67	22.41	102.5	-17.21 ± 3.23 ^{**}
黄芩炭	2.08	36.91 ± 0.36	36.82 ± 0.54	37.01 ± 0.67	36.63 ± 0.39 ^{**}	36.69 ± 0.38 ^{**}	36.98 ± 0.71 ^{**}	37.65 ± 0.15	11.14	87.5	-31.84 ± 2.50
SRC-I	2.08	36.65 ± 0.37	36.71 ± 0.48	36.69 ± 0.54 [*]	37.06 ± 0.72 ^{**}	37.50 ± 0.63 ^{**}	38.28 ± 0.37 ^{▲▲}	37.95 ± 0.38	20.44	75.0	-20.23 ± 6.72 ^{▲▲}
SRC-O	2.08	36.66 ± 0.40	36.36 ± 0.44	36.61 ± 0.55 [*]	37.53 ± 0.39 ^{▲▲}	38.00 ± 0.82 [▲]	37.99 ± 0.57 ^{▲▲}	38.05 ± 0.67	9.24	110.0	-28.25 ± 6.86 ^{**}

与对照组比较: ^{##}P < 0.01; 与模型组比较: ^{*}P < 0.05 ^{**}P < 0.01; 与黄芩炭组比较: [▲]P < 0.05 ^{▲▲}P < 0.01。

^{##}P < 0.01 vs control group; ^{*}P < 0.05 ^{**}P < 0.01 vs model group; [▲]P < 0.05 ^{▲▲}P < 0.01 vs *Scutellariae Radix Carbonisata* group.

能有效缓解模型大鼠的发热状态。各给药组大鼠的饮食量及饮水量较模型组均有增加趋势,体质量下降情况亦有所改善。与黄芩炭组比较,SRC-I组除造模后5h时肛温明显升高外 ($P < 0.01$),其余各时间点与黄芩炭组相比无统计学意义;SRC-O组在造模后3~5h肛温显著高于黄芩炭组 ($P < 0.05, 0.01$),表明SRC-I在抑制大鼠发热方面与黄芩炭类似,SRC-O则弱于黄芩炭。研究表明,给予无水乙醇会导致大鼠体温下降^[18-19]。本实验中,模型组大鼠肛温在造模后6h较5h显著下降,而各给药组在同一时间段内肛温未见明显波动,提示各药物可能对无水乙醇诱导的体温下降具有缓解作用。

3.4.2 肺组织及胃组织病理变化 各组大鼠肺组

织病理切片结果如图4所示,对照组大鼠肺泡结构清晰,间隔正常,无出血及炎性浸润现象。模型组大鼠肺泡结构异常,肺泡腔存在红细胞浸润,肺泡壁毛细血管充血扩张,伴有红细胞渗出及炎性浸润。与模型组相比,云南白药可改善肺泡壁增厚及肺间质出血等病理性改变,且效果优于其他给药组。此外,SRC-I减轻肺组织损伤的效果与黄芩炭相近,并优于SRC-O。

各组大鼠胃组织病理切片结果如图5所示,对照组大鼠胃黏膜正常,表面黏液细胞完整,胃小凹明显,固有层中腺体数量多且形状规则。模型组大鼠胃黏膜表层受损,表面黏液细胞被破坏,固有层中腺体数量减少且形状异常,伴有炎性浸润。与模

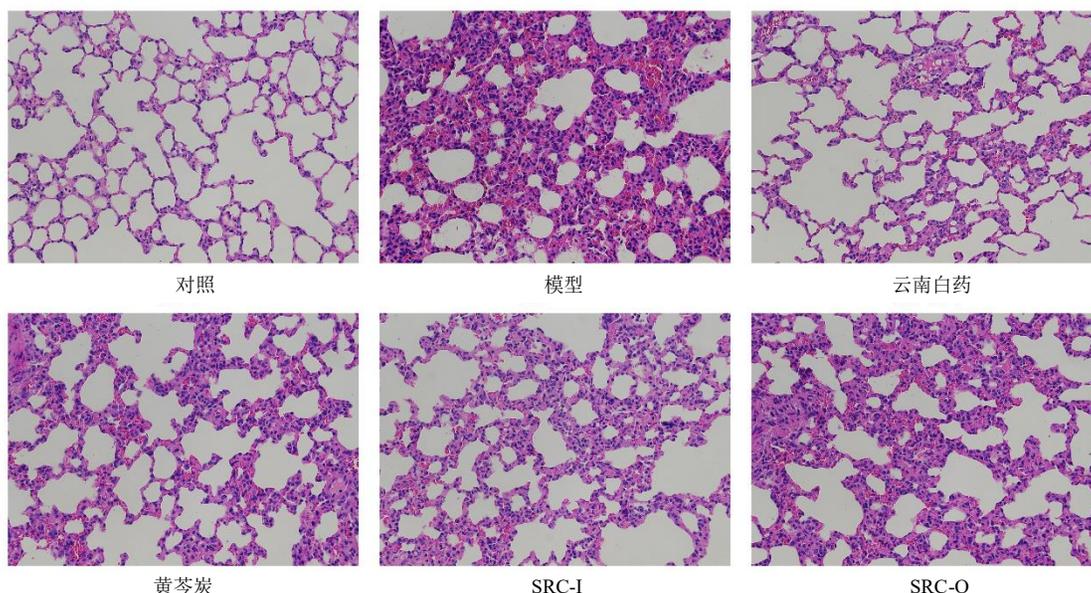


图 4 各组大鼠肺组织染色结果 (HE, ×200)

Fig. 4 Staining results of lung tissue of rats in each group (HE, × 200)

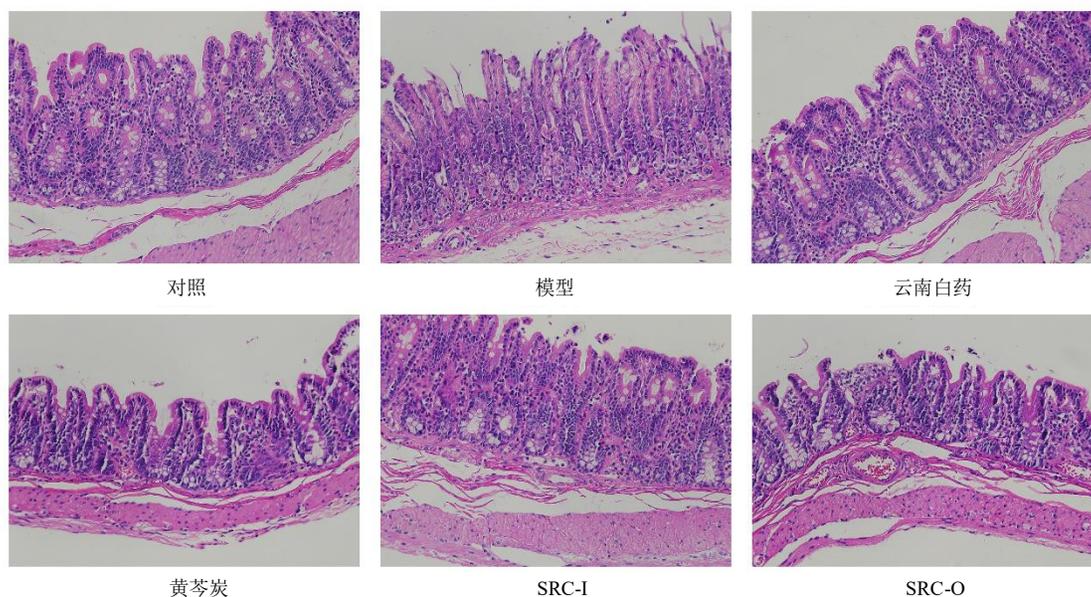


图 5 各组大鼠胃组织染色结果 (HE, ×200)

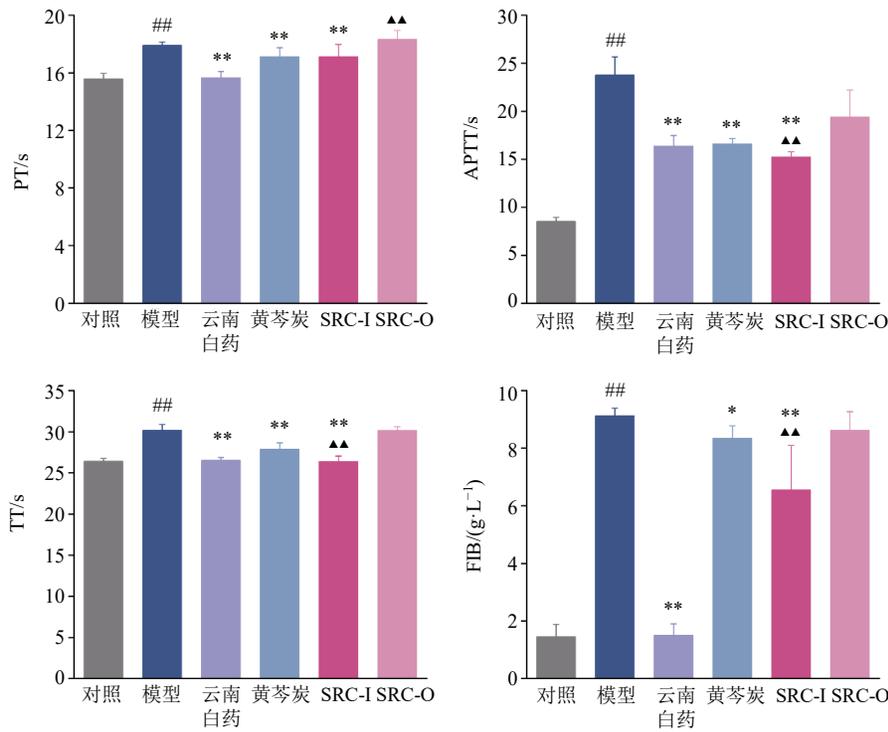
Fig. 5 Staining results of gastric g tissue of rats in each group (HE, × 200)

型组相比, 各给药组大鼠胃黏膜黏液细胞破坏、腺体异常等病理性改变均显著减轻, 其中云南白药组及黄芩炭组的改善作用最为明显。

3.4.3 凝血指标变化 如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组 PT、APTT、TT 显著延长 ($P < 0.01$), FIB 显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 云南白药组、黄芩炭组及 SRC-I 组 PT、APTT、TT 均显著缩短 ($P < 0.01$), FIB 显著降低 ($P < 0.05、0.01$); SRC-O 组的凝血四项参数中, 除 PT 外, 其余 3 项均有

所改善, 但无显著性差异。与黄芩炭组相比, SRC-I 组 APTT、TT 显著缩短 ($P < 0.01$), FIB 显著降低 ($P < 0.01$), PT 无显著性差异; SRC-O 组 PT、TT 显著延长 ($P < 0.01$), APTT 及 FIB 无显著性差异。结果表明, 云南白药、黄芩炭及 SRC-I 的止血作用较为明显, 其中 SRC-I 的促凝血效果优于黄芩炭, 而 SRC-O 无明显的止血作用。

3.4.4 抗氧化水平变化 如图 7 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血浆中 GSH 水平、GSH/GSSG 值



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 与黄芩炭组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$, 图7同。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; ^{▲▲} $P < 0.01$ vs *Scutellariae Radix Carbonisata* group, same as Fig. 7.

图6 黄芩炭、SRC-I、SRC-O对血热出血模型大鼠凝血功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 6 Effect of *Scutellariae Radix Carbonisata*, SRC-I and SRC-O on coagulation function in blood heat and hemorrhage model rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

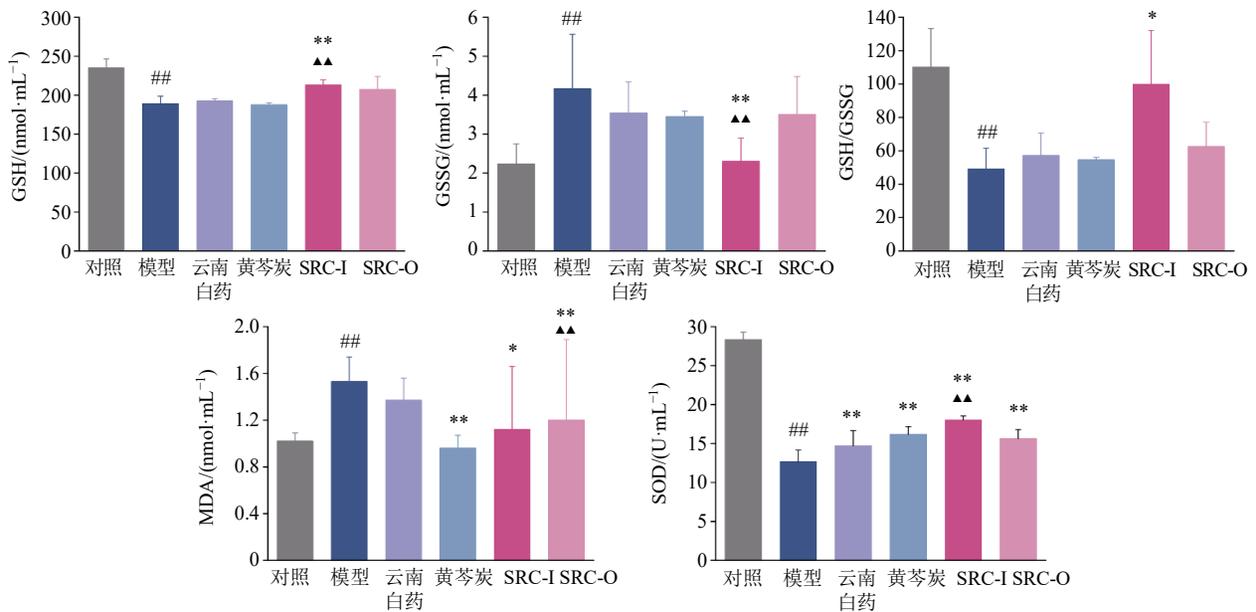


图7 黄芩炭、SRC-I、SRC-O对血热出血模型大鼠氧化还原稳态的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 7 Effect of *Scutellariae Radix Carbonisata*, SRC-I and SRC-O on oxidative-reductive homeostasis in blood heat and hemorrhage model rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

及 SOD 活性显著下降 ($P < 0.01$), GSSG 及 MDA 含量显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各给药组血浆中 SOD 活性均显著升高 ($P < 0.01$); 云南白药能够升高血浆中 GSH 水平及 GSH/GSSG 值, 降低 GSSG、MDA 水平, 但均无显著性差异; 黄芩炭可显著降低血浆中 MDA 水平 ($P < 0.01$), 并呈现降低 GSSG 水平及升高 GSH/GSSG 值的趋势, 但差异无统计学意义; SRC-I 可显著升高血浆中 GSH 水平及 GSH/GSSG 值 ($P < 0.05$ 、 0.01), 降低 GSSG、MDA 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01); SRC-O 可显著降低血浆中 MDA 水平 ($P < 0.05$), 而 GSH 水平、GSSG 水平及 GSH/GSSG 值虽有一定改善, 但差异无统计学意义。与黄芩炭组比较, SRC-I 组血浆中 GSH 水平、SOD 活性显著升高 ($P < 0.01$), GSSG 水平显著降低 ($P < 0.01$), GSH/GSSG 值及 MDA 水平无显著性差异; SRC-O 组血浆中 MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$), 其余指标均无显著性差异。结果表明, 各药物均能减轻血热出血大鼠的氧化应激, 但效果存在差异, 其中 SRC-I 的改善作用最佳, 优于其他药物。

4 讨论

中药炭药主要具有止血^[20-22]、止泻^[23-24]、抗炎、抗氧化^[25]等药理作用, 尤其在止血领域应用广泛, “炭药止血”理论广泛应用于临床^[26]。炭药止血的机制非常复杂, 往往并非由单一因素发挥作用。总结目前的研究成果来看, 炭药止血物质基础的研究多集中于制炭前后成分含量的变化, 如鞣质、无机元素、黄酮类化合物等^[27-29]。此外, 炭药中的炭素因其强吸附力, 也是发挥止血效应的关键物质之一^[30]。然而, 上述研究结果尚不足以系统阐明炭药止血作用的共性物质基础。纳米技术在中医药领域的应用日益广泛, 以中药为碳前体制备而成的生物基碳点不仅可以保留原有中药材的功效, 还可以改善药物生物特性、溶解速率等, 具有生物相容性高、水溶性好、荧光稳定性强等优点^[31]。碳点的制备方法中的高温裂解法与中药炭药的炮制方法(高温)具有类似之处, 从炭药中分离出的纳米类成分同样能够保留原炭药的功效, 具有抗焦虑^[32]、抗炎、抗氧化^[33-34]、镇痛^[14]等药理活性。值得注意的是, 多种从止血炭药中分离出的纳米类成分已被证实是炭药发挥止血作用的关键物质之一, 如荆芥炭碳点、侧柏炭碳点、姜炭碳点、荷叶炭碳点、大蓟炭碳点、血余炭碳点等^[35-38]。根据前期研究基础以及炭药研究现状分

析, 炭药发挥止血作用极有可能是制炭前后药物自身成分改变及炒炭过程中所产生的纳米类成分共同作用的结果。

本研究借助纳米技术, 从黄芩炭中分离出纳米类成分(SRC-I)及自身指标成分(SRC-O), 使用纳米材料表征技术探究 SRC-I 的理化性质, 发现其形状为类球形, 在水中分散度良好, 晶格清晰整齐, 晶格间距为 0.285 nm; 粒径分布在 3.40~11.70 nm, 主要集中在 6.0~10.0 nm, 这种纳米级尺寸特性赋予了其优异的生物屏障穿透性能^[39]; 存在紫外吸收及荧光特性, 符合碳点的材料学特性, 碳点的荧光特性使其在生物成像、生物监测等领域应用广泛^[40]; 主要由 C、O、N 元素组成, 表面含有羧基, 可能含有羟基、氨基等官能团, 这些亲水性基团的存在可能是 SRC-I 具有良好水溶性的原因。HPLC 结果表明 SRC-O 中保留了黄芩炭中汉黄芩苷、汉黄芩素等黄酮类成分, 而 SRC-I 中则未检测到此类小分子化合物, 一定程度上排除了小分子化合物对 SRC-I 凉血止血药效的贡献。

小鼠断尾出血及肝脏出血实验结果表明, SRC-I 组表现出优异的止血效果, 止血时间与 HC 组、黄芩炭组无显著性差异, 提示 SRC-I 是黄芩炭的重要止血物质基础。通过建立大鼠血热出血模型来探究黄芩炭的凉血止血物质基础, 实验结果表明, SRC-I 在改善血热出血大鼠体温异常、组织病理损伤等方面与黄芩炭疗效相当, 而 SRC-O 的改善效果弱于黄芩炭。本研究发现, SRC-I 及黄芩炭均能显著缩短血热出血模型大鼠 PT、APTT、TT, 显著降低 FIB, 而 SRC-O 对凝血四项指标无明显的改善效果。此外, 值得注意的是, SRC-I 对 APTT、TT 及 FIB 的改善作用显著强于黄芩炭。以上结果表明, SRC-I 及黄芩炭的止血机制可能与内源性、外源性凝血途径及其后续的共同凝血途径相关。

氧化应激是发热的重要引发因素及病理特征, 其能够通过募集释放促炎性分子和活性氧的炎性细胞引发炎症反应, 引起高热及组织损伤^[41-43]。研究表明, sc 干酵母混悬液诱导的血热证模型小鼠会出现血液氧化损伤^[44]。为更好地构建血热出血模型, 本研究采用 sc 干酵母混悬液联合 ig 无水乙醇的方法复制血热证出血(吐血、便血)的病理状态, 能够进一步加重机体的氧化应激, 因此, 对血热出血大鼠血液氧化还原稳态的检测是评价其血热症状的重要依据。结果显示, 模型组大鼠血浆中 GSH

水平、GSH/GSSG 值及 SOD 活性显著下降, GSSG 及 MDA 含量显著升高。与模型组比较, SRC-I 可显著升高血浆中 GSH 水平、GSH/GSSG 值及 SOD 活性, 抑制 GSSG、MDA 生成, 效果优于黄芩炭及 SRC-O, 提示 SRC-I 能够显著改善血热出血模型大鼠的氧化应激, 达到解热及组织保护作用。

本研究成功从黄芩炭中分离得到 SRC-I, 并证实了黄芩炭及 SRC-I 的良好凉血止血作用, 作用机制可能与减轻氧化应激、调控内源性、外源性凝血途径及其后续的共同凝血途径有关。SRC-O 是黄芩炭发挥清热凉血功效的活性组分, 可通过调控氧化还原稳态减轻血热证损伤, 但无明显的止血作用; SRC-I 则凭借其纳米学特性, 在凉血和止血效应上均优于黄芩炭。二者协同发挥凉血止血功效, 为黄芩炭凉血止血物质基础及“炒炭存性”炮制理论的阐释提供了一定的科学依据。这不仅为中药炭药的相关研究提供了新的思维方式, 也为炭药止血共有物质基础的研究提供了一定的参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 314-315.
- [2] 陶红, 唐让让, 苏晴, 等. 黄芩炭通过 IKBKE/NLRP3 信号轴抑制细胞焦亡发挥抗 LPS 诱导小鼠子宫内膜炎作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(11): 3024-3034.
- [3] 孙静, 孙艺璇, 尹贻慧, 等. 基于形性、化学、生物活性相关联优选黄芩炭炮制终点 [J]. 中医药导报, 2023, 29(10): 43-49.
- [4] 赵玉升, 赵金莉, 刘楚好, 等. 黄芩炭止血作用与吸附力的相关性研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2020, 41(7): 72-76.
- [5] 李永康, 曹立华, 陈智. 基于 HPLC 指纹图谱与 UPLC-Q Exactive Focus MS/MS 的黄芩炒炭前后化学成分变化 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8425-8434.
- [6] 乔瑞瑞, 刘硕, 白亚亚, 等. 黄芩炒炭过程中主要成分与色度值的变化规律及其止血作用研究 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5083-5092.
- [7] Zhang Z J, Hu W J, Yu A Q, et al. Hemostatic bioactivity and mechanism of novel *Rubia cordifolia* L.-derived carbon dots [J]. *Nanoscale Adv*, 2024, 6(24): 6229-6238.
- [8] Yan X, Zhao Y, Luo J, et al. Hemostatic bioactivity of novel *Pollen Typhae Carbonisata*-derived carbon quantum dots [J]. *J Nanobiotechnology*, 2017, 15(1): 60.
- [9] Liu X M, Wang Y Z, Yan X, et al. Novel *Phellodendri Cortex* (Huang Bo)-derived carbon dots and their hemostatic effect [J]. *Nanomedicine*, 2018, 13(4): 391-405.
- [10] Cheng J J, Zhang M L, Sun Z W, et al. Hemostatic and hepatoprotective bioactivity of *Junci Medulla Carbonisata*-derived carbon dots [J]. *Nanomedicine*, 2019, 14(4): 431-446.
- [11] Zhang M L, Zhao Y, Cheng J J, et al. Novel carbon dots derived from *Schizonepetae Herba Carbonisata* and investigation of their haemostatic efficacy [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(8): 1562-1571.
- [12] Wang Y Z, Kong H, Liu X M, et al. Novel carbon dots derived from *Cirsii Japonici Herba Carbonisata* and their haemostatic effect [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2018, 14(9): 1635-1644.
- [13] 成金俊. 血余炭“止血, 疗痢”的物质基础及其作用机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [14] Zhang M L, Cheng J J, Zhang Y, et al. Green synthesis of *Zingiberis Rhizoma*-based carbon dots attenuates chemical and thermal stimulus pain in mice [J]. *Nanomedicine*, 2020, 15(9): 851-869.
- [15] 陈瑞, 赵金莉, 孔若岚, 等. 生地黄炭纳米类成分的发现及其对溃疡性结肠炎的治疗作用 [J]. 中草药, 2023, 54(16): 5172-5181.
- [16] Wei J M, Zhang X, Sheng Y Z, et al. Simple one-step synthesis of water-soluble fluorescent carbon dots from waste paper [J]. *New J Chem*, 2014, 38(3): 906-909.
- [17] 李梦含, 张曦文, 陈瑞, 等. 大黄-枳实炭纳米类成分对肝内胆汁淤积症的治疗作用及机制研究 [J]. 中草药, 2025, 56(6): 2034-2045.
- [18] Watson M R, James K, Mittleman G, et al. Impact of acute ethanol exposure on body temperatures in aged, adult and adolescent male rats [J]. *Alcohol*, 2020, 82: 81-89.
- [19] Westerman A T, Roma P G, Price R C, et al. Assessing the role of the medial preoptic area in ethanol-induced hypothermia [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 475(1): 25-28.
- [20] 栾飞, 邹俊波, 张小飞, 等. 茜草炒炭过程中颜色-成分变化相关性与其“炒炭存性”探索 [J]. 中草药, 2025, 56(6): 1945-1955.
- [21] 王本业, 李振辉, 陈思妙, 等. 虎杖炭炮制工艺优选及其凝血作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(8): 1482-1488.
- [22] Ouyang X J, Li J Q, Zhong Y Q, et al. Identifying the active ingredients of carbonized *Typhae Pollen* by spectrum-effect relationship combined with MBPLS, PLS, and SVM algorithms [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 235: 115619.
- [23] 陈志能, 黄立卉, 黄颖露, 等. 不同炒制程度陈皮炭止泻作用及对血清 5-HT 的影响 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(6): 167-170.

- [24] 杨海玲, 陆丽前, 黄冰. 广山楂不同炒炭程度对3种化学成分含量、色差值与止泻作用的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(21): 2405-2410.
- [25] Zhang X, Wang Y, Li X Q, *et al.* Treatment mechanism of *Gardeniae Fructus* and its carbonized product against ethanol-induced gastric lesions in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 750.
- [26] 姜涵, 卢琪, 曲珍妮, 等. 中药炭药现代研究进展 [J]. 中成药, 2025, 47(7): 2278-2283.
- [27] 张贺, 徐园园, 王明慧, 等. 中药炮制“炭药止血”理论的现代研究进展 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2023, 25(4): 1502-1510.
- [28] 张媛, 朱月健, 尹磊, 等. 炮制程度对大蓟炭有效成分含量、颜色及止血作用的影响 [J]. 中成药, 2024, 46(11): 3754-3758.
- [29] 薛露, 刘晨, 丁安伟, 等. 侧柏炭黄酮类成分群对干酵母致血热复合出血模型大鼠的止血作用研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(17): 1486-1491.
- [30] 孔德鑫, 张宇航, 董贝贝, 等. 山茱萸炭有效成分的含量测定及止血作用研究 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(8): 237-243.
- [31] Zhao Y S, Li Y C, Li D W, *et al.* Eco-friendly synthesized carbon dots from Chinese herbal medicine: A review [J]. *Int J Nanomedicine*, 2025, 20: 3045-3065.
- [32] Cui L M, Zhang Q, Zhang Y F, *et al.* Anxiolytic effects of *Chrysanthemum morifolium* Ramat *Carbonisata*-based carbon dots in mCPP-induced anxiety-like behavior in mice: A nature-inspired approach [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1222415.
- [33] Luo J, Hu J, Zhang M L, *et al.* Gastroprotective effects of *Nelumbinis Rhizomatis Nodus*-derived carbon dots on ethanol-induced gastric ulcers in rats [J]. *Nanomedicine*, 2021, 16(19): 1657-1671.
- [34] Zhou L, Yang Y X, Li T J, *et al.* Green carbon dots derived from *Zingiberis Rhizoma Carbonisatum* alleviate ovalbumin-induced allergic rhinitis [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1492181.
- [35] Sun Z W, Lu F, Cheng J J, *et al.* Haemostatic bioactivity of novel *Schizonepetae Spica Carbonisata*-derived carbon dots via platelet counts elevation [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(sup3): S308-S317.
- [36] Liang P, Bi T, Zhou Y N, *et al.* Carbonized *Platyclusus orientalis* derived carbon dots accelerate hemostasis through activation of platelets and coagulation pathways [J]. *Small*, 2023, 19(49): e2303498.
- [37] Hu W J, Yu A Q, Bi H Z, *et al.* Carbon dots derived from *Zingiber officinale* Rosc (ginger) with hemostatic effects [J]. *Front Mol Biosci*, 2025, 12: 1530469.
- [38] Han B C, Shen L D, Xie H B, *et al.* Synthesis of carbon dots with hemostatic effects using traditional Chinese medicine as a biomass carbon source [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(3): 3176-3183.
- [39] Xu Y L, Wang B Y, Zhang M M, *et al.* Carbon dots as a potential therapeutic agent for the treatment of cancer-related Anemia [J]. *Adv Mater*, 2022, 34(19): e2200905.
- [40] Sun L X, Zhang R, Zhang T, *et al.* Synthesis, applications and biosafety evaluation of carbon dots derived from herbal medicine [J]. *Biomed Mater*, 2023, doi: 10.1088/1748-605X/acdeb8.
- [41] Munakarmi S, Gurau Y, Shrestha J, *et al.* *Trans*-chalcone ameliorates CCl₄-induced acute liver injury by suppressing endoplasmic reticulum stress, oxidative stress and inflammation [J]. *Pathol Res Pract*, 2024, 263: 155663.
- [42] Munakarmi S, Gurau Y, Shrestha J, *et al.* Synergistic effects of *Vitis vinifera* L. and *Centella asiatica* against CCl₄-induced liver injury in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(14): 11255.
- [43] Hou C L, Liu L Y, Ren J Y, *et al.* Structural characterization of two *Hericium erinaceus* polysaccharides and their protective effects on the alcohol-induced gastric mucosal injury [J]. *Food Chem*, 2022, 375: 131896.
- [44] 李天一, 张闪闪, 马晓茹, 等. 基于血热证小鼠模型紫草素清热凉血与血液氧化还原稳态调控的研究 [J]. 中草药, 2020, 51(21): 5487-5495.

[责任编辑 李亚楠]