

樟帮特色酒润麸炒柴胡的炮制工艺优化

祝婧¹, 钟凌云^{1*}, 刘礼平², 龚千锋¹, 卢欢¹, 谌瑞林³

(1. 江西中医药大学药学院, 南昌 330004; 2. 赣南医学院第一附属医院, 江西赣州 341000;
3. 江中中药饮片有限公司, 江西武宁 332300)

[摘要] **目的:** 优选樟帮酒润麸炒柴胡的炮制工艺, 为这一地方特色炮制品的规范化生产及推广应用提供参考。**方法:** 以柴胡皂苷 a, d 质量分数及血清胃泌素质量浓度的综合评分为指标, 通过正交试验考察麦麸用量、黄酒用量、炒制温度、炒制时间对柴胡酒润麸炒工艺的影响。采用 HPLC 测定柴胡皂苷 a, d 含量, 流动相乙腈-水 (35:65), 检测波长 210 nm。采用三因素复合法复制脾虚大鼠模型, 给药 14 d 后利用放射免疫法测定血清胃泌素含量。**结果:** 酒麸炒柴胡的最佳炮制工艺为麦麸用量 15%, 黄酒用量 15%, 炒制温度 100 °C, 炒制时间 7 min, 其中黄酒用量、炒制温度、炒制时间对其炮制工艺有显著性影响。柴胡皂苷 a, d 质量分数及血清胃泌素质量浓度分别为 0.077%, 0.683%, 73.56 ng·L⁻¹。**结论:** 优选的炮制工艺合理可行、重复性好, 可为酒麸炒柴胡的工业化制备提供参考。

[关键词] 柴胡; 樟帮; 炮制工艺; 柴胡皂苷 a; 柴胡皂苷 d; 血清胃泌素

[中图分类号] R283.3; R945; R284.1; R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)20-0009-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015200009

Optimization of Processing Technology for Bupleuri Radix by Rice Wine Moistening to Stir-baking with Bran in Zhangbang ZHU Jing¹, ZHONG Ling-yun^{1*}, LIU Li-ping², GONG Qian-feng¹, LU Huan¹, CHEN Rui-lin³ (1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China; 3. Jiangzhong Chinese Herbal Medicine Co. Ltd., Wuning 332300, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize processing technology of Bupleuri Radix by rice wine moistening to stir-baking with bran, and provide references for standardization production and application of this decoction piece. **Method:** Taking comprehensive score of saikosaponin a, saikosaponin d and serum gastrin concentration as index, orthogonal test was adopted to optimize processing technology with four factors, including bran amount, wine amount, baking temperature and time. HPLC was employed to determine the content of saikosaponin a and d with mobile phase of acetonitrile-water (35:65) and detection wavelength of 210 nm. Spleen-qi deficiency syndrome was induced in animals by compound methods which including rhubarb, exhaust and hunger. After 14 days of administration, serum gastrin was determined by radio immunoassay. **Result:** Optimal processing parameters consisted of 15% bran, 15% wine and 7 min of baking time at 100 °C. The amount of wine, baking temperature and time had significantly effects on processing technology. Contents of saikosaponin a, d and serum gastrin concentration were 0.077%, 0.683% and 73.56 ng·L⁻¹, respectively. **Conclusion:** This optimum processing technology is reasonable, feasible and reproducible by verification, it can provide a reference for industrial preparation of Bupleuri Radix by rice wine moistening to stir-baking with bran.

[Key words] Bupleuri Radix; Zhangbang; processing technology; saikosaponin a; saikosaponin d; serum gastrin

[收稿日期] 20150717(019)

[基金项目] 国家中医药管理局中药炮制学重点学科青年教师培养计划项目(2012jzdxk024); 江西省主要学科学术带头人培养计划项目(20133BCB22006); 江西省教育厅青年科学基金项目(GJJ14622); 江西省卫生厅课题(2012x005)

[第一作者] 祝婧, 硕士, 讲师, 从事中药饮片炮制机制研究, Tel: 0791-87118995, E-mail: 277836041@qq.com

[通讯作者] * 钟凌云, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药饮片质量标准研究, Tel: 0791-87118995, E-mail: ly1638163@163.com

樟树是我国南方药材集散和加工炮制的发祥地,其药材炮制加工技艺独具特色,自成体系,素有“樟树帮”之称。樟帮中药饮片选料上乘,炮制技术精良,因其饮片“薄如纸、吹得起、断面齐、造型美”而久负盛名,创造了“药不过樟树不灵,药不到樟树不齐”的辉煌,自古以来被称为“南国药都”,为全国三大药帮之一。

柴胡作为临床常用中药,具有疏散退热、疏肝解郁、升举阳气的作用,用于感冒发热、寒热往来、胸胁胀痛、月经不调、子宫脱垂、脱肛^[1]。目前主要集中于对醋柴胡、酒柴胡、蜜柴胡和鳖血柴胡等主流炮制品进行炮制工艺及其炮制机制等方面的研究^[2],对酒麸柴胡等极具地方特色的炮制品则未见研究报道。酒润麸炒是樟帮柴胡所特有的炮制工艺,辅料选用考究,以双重辅料黄酒和麦麸同时对药物进行炮制,可缓和寒性、引药上行,增强药物升举阳气、活血调经的作用^[3]。目前使用的樟帮酒麸柴胡饮片的炮制工艺是经历代药工口传心授而传承下来,20世纪80年代被收录在《樟树中药传统炮制法》,但其中所载饮片炮制方法经验性较强,缺乏明确的工艺参数及饮片质量标准,无法进行规范化生产,而使具有确切疗效的传统优势炮制品无法更好地推广应用。为解决这一问题,本实验采用正交设计法对樟帮酒麸柴胡炮制工艺进行考察,优选其炮制工艺参数,为该品种的工业化推广提供参考。

1 材料

UltiMate 3000 型液相色谱仪(美国 Dionex 公司,含 PDA-3000 型二极管阵列紫外检测器,Chromleon 工作站),AE 240 型 1/10 万电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),FW135 型中药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),Raytek Raynger ST20 型红外测温仪(美国雷泰公司),DNA Expert 型酶标仪(瑞士 Tecan 公司),TGL-16B 型冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),GZX-9076MBE 型电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)。

柴胡和大黄购自江西樟树天齐堂中药饮片有限公司,经江西中医药大学中药炮制学科组龚千锋教授鉴定,分别为伞形科植物北柴胡 *Bupleurum chinense* 的干燥根和蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* 的干燥根;麦麸(陕西真农真味农家坊),黄酒(浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司),柴胡皂苷 a, d 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 11077-200304, 11077-200303),胃泌素酶联免

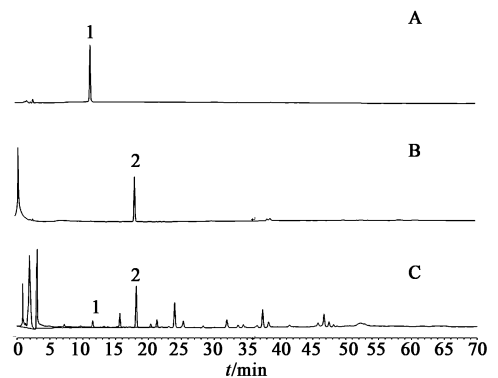
疫吸附试剂盒(武汉华美生物工程有限公司),甲醇、乙腈为色谱纯,水为自制双蒸水,其他试剂为分析纯。

清洁级 SD 大鼠,雌雄各半,体重(200 ± 20) g,由南昌大学动物实验中心提供,合格证号 SCXK(赣)2012-0002。

2 方法与结果

2.1 柴胡皂苷 a, d 的含量测定

2.1.1 色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(35:65),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 210 nm,进样量 10 μL。见图 1。



A, B. 对照品; C. 供试品; 1. 柴胡皂苷 a; 2. 柴胡皂苷 d

图 1 柴胡生品 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of Bupleuri Radix

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取柴胡皂苷 a, d 对照品适量,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为 2.496, 5.856 g·L⁻¹ 的对照品溶液,作为储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取柴胡生品及炮制品各 0.5 g,置具塞锥形瓶中,加入含 5% 浓氨试液的甲醇溶液 25 mL,密塞,于 30 °C 超声处理 30 min,滤过。加甲醇 20 mL 分 2 次洗涤容器及药渣,洗液与滤液合并,置于 60 °C 水浴锅上挥发至干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,定容至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取柴胡皂苷 a, d 对照品储备液各 0.5, 1, 2, 3, 5 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以峰面积对进样量进行回归,得回归方程分别为 $Y = 12.099X - 2.352$ ($r = 0.9997$), $Y = 4.936X + 4.364$ ($r = 0.9996$), 线性范围依次为 1.284 ~ 12.84, 2.928 ~ 29.28 μg。

2.1.5 精密度试验 分别取柴胡皂苷 a, d 对照品

溶液各 20 μL , 按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 5 次, 计算二者峰面积的 RSD 分别为 0.3% 和 0.6%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一生柴胡样品, 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 结果柴胡皂苷 a, d 峰面积的 RSD 分别为 2.0% 和 1.8%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性较好。

2.1.7 重复性试验 精密称取柴胡生品粉末 6 份, 每份 0.5 g, 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算柴胡皂苷 a, d 峰面积的 RSD 分别为 1.8% 和 2.0%。

2.1.8 加样回收试验 精密称取已知含量的柴胡样品约 0.5 g, 共 6 份, 分别精密加入等量的柴胡皂苷 a, d 对照品储备液的稀释液, 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 酒麸柴胡中柴胡皂苷 a, d 含量测定的加样回收率试验

Table 1 Recovery test for determination of saikosaponin a and saikosaponin d in Bupleuri Radix

组分	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
柴胡皂苷 a	0.510 1	0.510 1	0.499 2	0.999 3	98.00	95.21	2.1
	0.503 6	0.503 6	0.499 2	0.965 5	92.53		
	0.509 2	0.509 2	0.499 2	0.975 2	93.35		
	0.510 7	0.510 7	0.499 2	0.992 0	96.41		
	0.511 3	0.511 3	0.499 2	0.987 4	95.37		
	0.507 9	0.507 9	0.499 2	0.985 2	95.61		
柴胡皂苷 d	0.510 1	5.611 1	5.856 0	11.221 0	95.80	94.88	1.3
	0.503 6	5.539 6	5.856 0	10.983 6	92.96		
	0.509 2	5.601 2	5.856 0	11.236 4	96.23		
	0.510 7	5.617 7	5.856 0	11.169 5	94.81		
	0.511 3	5.624 3	5.856 0	11.210 1	95.39		
	0.507 9	5.586 9	5.856 0	11.095 8	94.00		

2.2 脾虚大鼠血清胃泌素 (GAS) 的含量测定 取酒麸柴胡饮片, 粉碎成粗粉, 加 10 倍量水浸泡 30 min, 煎煮至沸腾, 保持微沸 30 min 后过滤, 滤渣加 8 倍量水煎煮 30 min 后过滤, 合并滤液, 浓缩成 2 g·mL⁻¹ 药液, 作为检测样品。取 SD 大鼠 72 只, 随机分为 9 组, 雌雄各半, 每组 8 只, 以三因素复合造模法^[4]复制大鼠脾虚模型。每日上午以 20 mL·kg⁻¹ 灌胃大黄水煎液; 每日下午使动物负重 (于大鼠尾部缠绕质量为大鼠体重 10% 的保险丝) 于 25 °C 水

槽中游泳, 以力竭为度 (大鼠鼻尖没入水面 10 s); 控制饮食, 每日早上 9:00 给食, 晚上 9:00 撤食, 共 21 d。第 22 天各组分别按 15 mL·kg⁻¹ 给予酒麸柴胡水煎液, 共 14 d。末次给药后将全部大鼠禁食 12 h, 而后以 10% 水合氯醛 3 mL·kg⁻¹ 进行麻醉, 股静脉取血, 静置离心制备血清^[5]。采用放免法严格按照试剂盒说明书程序进行实验操作, 测定大鼠血清 GAS 含量, 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。

2.3 正交试验分析 根据文献资料并结合预试验结果, 选择麦麸用量、黄酒用量、炒制温度、炒制时间为考察因素, 以柴胡皂苷 a, d 质量分数及血清 GAS 质量浓度为综合评价指标, 采用 L₉(3⁴) 正交试验优选柴胡酒润麸炒炮制工艺。先将锅烧热, 撒入麦麸, 用中火加热, 待冒烟时投入经黄酒润润过的柴胡片, 不断翻炒至一定程度, 取出, 筛去麦麸, 放凉。采用多指标加权评分法处理试验数据。柴胡皂苷 a, d 是柴胡的主要药效物质, 权重系数均设定为 0.3。而血清 GAS 作为药效指标, 权重系数设定为 0.4, 其含量越高提示药物对脾气虚大鼠的治疗作用越好。试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 2 酒麸柴胡炮制工艺正交试验分析

Table 2 Orthogonal test analysis of processing technology of Bupleuri Radix by rice wine moistening to stir-baking with bran

No.	A 麦麸 用量 /%	B 黄酒 用量 /%	C 炒制 温度 /°C	D 炒制 时间 /min	柴胡 皂苷 a /%	柴胡 皂苷 d /%	GAS /ng·L ⁻¹	综合 评分 /分
1	10	10	80	3	0.04	0.37	53.20	58.52
2	10	15	100	5	0.08	0.63	74.93	96.25
3	10	20	120	7	0.06	0.45	70.92	79.11
4	15	10	100	7	0.07	0.65	59.22	84.95
5	15	15	120	3	0.05	0.45	63.13	71.20
6	15	20	80	5	0.07	0.54	68.34	85.23
7	20	10	120	5	0.05	0.43	57.49	67.36
8	20	15	80	7	0.08	0.72	55.76	89.77
9	20	20	100	3	0.06	0.49	72.86	82.81

表 3 综合评分方差分析

Table 3 Variance analysis of comprehensive score

方差来源	SS	F	P
A(误差)	10.561	1.000	
B	396.953	37.587	<0.05
C	369.806	35.016	<0.05
D	338.778	32.078	<0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

由直观分析可知,各因素对柴胡酒润麸炒工艺的影响顺序为 $B > C > D > A$ 。以极差最小的 A 因素为误差项进行方差分析,结果显示 B, C, D 因素对酒麸柴胡炮制工艺的影响均具有显著性差异。确定酒麸柴胡最佳炮制工艺为 $A_2B_2C_2D_3$, 即麦麸用量 15%, 黄酒用量 15%, 炒制温度 100 ℃, 炒制时间 7 min。取生柴胡饮片适量, 等分为 3 份, 每份 0.5 g, 按最佳工艺进行炮制, 各指标成分含量见表 4。表明该炮制工艺合理, 制备的酒麸柴胡饮片质量稳定。

表 4 酒麸柴胡炮制工艺验证试验

Table 4 Verification test of processing technology of Bupleuri Radix by rice wine moistening to stir-baking with bran

编号	柴胡皂苷 a/%	柴胡皂苷 d/%	GAS/ng·L ⁻¹
1	0.08	0.66	73.08
2	0.07	0.70	74.62
3	0.08	0.69	72.97

3 讨论

柴胡始载于《神农本草经》,在我国用药历史悠久,被称为“解表退热第一要药”,其临床主要运用于治疗表证发热。除此之外,历代医家对柴胡升举脾阳的功效也非常重视,临床运用颇多,如“补土派”的代表人物李杲,认为方中以柴胡为君可以升举清阳,其所著《脾胃论》中共载方 63 首,其中有 20 首方运用了柴胡^[5]。而樟帮柴胡运用酒润麸炒炮制工艺,使药物在借助黄酒的升腾之性升提药力,升举清阳的同时,引入固体辅料麦麸补脾胃、缓药性的功效,进一步增强药物升举脾阳之功,较之于柴胡其他炮制品更加适合于因中气不足所致脏器下陷,久泻脱肛等证的治疗。

现代研究表明柴胡中含有柴胡皂苷、挥发油、多糖等成分。其中挥发油是其发挥解表退热功效的主要物质基础;皂苷类成分具有有免疫调节、抗病毒、抗菌、促进胃肠动力等作用,被认为是柴胡发挥升举脾阳作用的主要有效成分之一^[6]。本课题前期试验结果表明,酒麸柴胡中柴胡皂苷 a, d 的含量较之其他炮制品为高,说明经过酒润麸炒之后,其有效成分含量损失较其他炮制方法要少,结果与樟帮炮制柴胡“酒麸制长于升举清阳”的理论相吻合。故本文选择柴胡皂苷 a, d 的含量为评价指标。

GAS 作为一种胃肠道肽类激素,经食物消化为蛋白质的分解产物刺激产生,具有刺激胃酸、胃酶和胰酶分泌,刺激胃壁肌肉收缩等作用^[7],目前普遍将动物血清 GAS 含量作为指示试验动物脾胃功能的指标。本文采用广泛应用的三因素复合法^[4]复制脾气虚动物模型,持续造模 21 d,至造模结束时试验动物各项生理指标符合脾气虚证评估标准^[8],认为造模成功。各组动物给予不同酒麸柴胡水煎液干预 14 d 后,测定其血清 GAS 含量。课题前期研究表明脾气虚动物血清 GAS 含量较之正常动物降低,经过给药干预之后可使脾气虚动物血清 GAS 含量上升至接近正常值,提示酒麸柴胡具有恢复脾气虚大鼠胃肠功能的作用,与中医认为柴胡“升举脾阳”的理论相一致,所以,试验将大鼠血清 GAS 含量设定为评价指标。通过设定多个指标优选酒麸柴胡的炮制工艺,以期从药物主要成分及药效作用等不同方面提炼炮制目的,使评价指标更加全面、客观,为酒麸柴胡这一地方特色炮制品的规范化生产及推广应用提供参考。

[参考文献]

[1] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2012:236-238.

[2] 王金权,王娟,樊劬,等. 炮制对柴胡质量的影响[J]. 中医研究,2011,24(5):43-46.

[3] 龚千锋. 樟树中药传统炮制法[M]. 南昌:江西人民出版社,1983:111-112.

[4] 施旭光,邓棕友,翟理祥,等. 补中益气汤及益气升阳配伍对脾气虚大鼠药理效应的影响[J]. 广州中医药大学学报,2012,29(3):271-274.

[5] 洪俐. 李东垣运用升麻、柴胡的经验浅析[J]. 光明中医,2001,16(97):10-11.

[6] 赵晶丽,高红梅. 北柴胡不同炮制品疏肝利胆药效作用初探[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(16):235-238.

[7] 魏彦明,宗瑞谦,杨孝朴. 实验性脾虚证大鼠血浆胃泌素和胃动素含量变化及四君子汤对其调整作用[J]. 中国兽医学报,2001,21(3):281-283.

[8] 王颖,郑小伟,李秀月. 模拟中医病因所致脾气虚、脾阳虚大鼠模型的证候比较研究[J]. 中华中医药学刊,2012,30(1):104-107.

[责任编辑 刘德文]