

## 北柴胡不同炮制品柴胡皂苷 a 含量及 急性毒性实验比较研究

孙蓉<sup>1\*</sup>, 黄伟<sup>2</sup>, 尹建伟<sup>3</sup>, 张作平<sup>3</sup>

(1. 山东省中医药研究院, 济南 250014; 2. 山东中医药大学, 济南 250355;  
3. 济南杏林生物技术有限公司, 济南 250101)

[摘要] 目的: 对北柴胡不同炮制品中柴胡皂苷 a 的含量和急性毒性大小进行比较研究, 探讨炮制对北柴胡柴胡皂苷 a 含量与毒性的影响。方法: 运用 HPLC 法、经典急性毒性实验法, 进行北柴胡不同炮制品中柴胡皂苷 a 的含量测定及急性毒性比较研究。结果: 北柴胡生品, 清炒品, 醋炙品, 酒炙品和蜜炙品不同炮制品中柴胡皂苷 a 的百分含量依次为 0.60%, 0.23%, 0.56%, 0.39%, 0.35%。北柴胡生品, 清炒品, 醋炙品, 酒炙品和蜜炙品没有出现死亡, 测得最大给药量 (MLD) 值按含生药量计算分别为 26.4, 31.2, 27.6, 28.8, 32.4 g·kg<sup>-1</sup>, 分别相当于临床 70 kg 人每公斤体重日用量的 205, 242, 214, 224, 252 倍, 连续观察 14 d, 小鼠一般状况良好, 无一死亡。结论: 北柴胡不同炮制品中柴胡皂苷 a 含量和毒性各不相同, 且各样品均未出现死亡, 其最大给药量显示北柴胡的各炮制品基本安全低毒, 提示炮制对北柴胡药材柴胡皂苷 a 含量和安全剂量范围大小有一定影响。

[关键词] 北柴胡; 炮制品; 柴胡皂苷; 小鼠; 急性毒性

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0190-04

## Comparative Study on Content of Saikosaponin Substances and Acute Toxicity of Radix Bupleuri and its Processed Products

SUN Rong<sup>1\*</sup>, HUANG Wei<sup>2</sup>, YIN Jian-wei<sup>3</sup>, ZHANG Zuo-ping<sup>3</sup>

(1. Shandong Research Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China;  
2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;  
3. Jinan Xinglin Biology Technology Corporation, Jinan 250101, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the content of saikosaponin and the acute toxicity on Radix Bupleuri and its processed products, and discuss the effect of processing on the content and toxicity of Bupleurum saikosaponin substances. **Method:** HPLC method and the classical method of acute toxicity were used to determine the content of saikosaponin a and the acute toxicity of the Radix Bupleuri and its processed products, and compare the content and the acute toxicity. **Result:** The content of saikosaponin a on the different processed products which included health products, fried products, vinegar products, wine products and honey roasted products was separately 0.60%, 0.23%, 0.56%, 0.39%, 0.35%. The health products, fried products, vinegar products, wine products and honey roasted products of Radix Bupleuri did not appear dead. Calculated by crude drug content, the MLD were respectively 26.4, 31.2, 27.6, 28.8, 32.4 g·kg<sup>-1</sup>, which were respectively equal to 205, 242, 214, 224, 252 times of 70 kg people's daily dried medicinal herb expenses. Making continuous observation of 14 days, mice were generally

[收稿日期] 20100511(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30672649); 山东省科技平台建设项目(2008GG2NS02021); 山东省科技公关关键技术研究课题(2007GG2NS02073); 山东省国际合作引智项目(L20083700336); 国家 863 科技攻关计划课题(2004BA721A15)

[通讯作者] \* 孙蓉, 博士, 硕士生导师, 研究员, 主要从事中药药理与毒理, Tel: 0531-82949843, E-mail: sunrong107@163.com

in good condition, and no one died. **Conclusion:** The content of saikosaponin a and the acute toxicity of the Radix Bupleuri and its processed products were different, and no death occurred in each sample, the MLD showed the basic security and low toxicity of the Radix Bupleuri and its processed products, suggesting that processing has some influence on the content of the saikosaponin substances and the safe dose range of Radix Bupleuri herbs.

**[Key words]** Radix Bupleuri; processed products; Bupleurum saikosaponin; mice; acute toxicity

柴胡系伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *B. scorzonerifolium* Willd. 的干燥根,按性状不同,前者习称“北柴胡”,后者习称“南柴胡”。野生或栽培,北柴胡主产于河北、辽宁、湖北、陕西等地,南柴胡主产于湖北、四川、安徽、黑龙江、吉林等地<sup>[1]</sup>。生柴胡升散作用较强,多用于解表退热;清炒柴胡具有缓和升散作用,增强升举阳气的功效;醋制柴胡缓和升散之性,增强疏肝止痛的作用;酒制柴胡能改变药性、引药上行,增强活血通络作用并能矫臭去腥;蜜炙柴胡药性缓和,能增强润肺止咳、补脾益气的作用且能矫味和消除副作用。但是有关柴胡炮制品化学成分种类、含量以及急性毒性大小方面的文献未见报道。为了探讨炮制对柴胡皂苷类物质含量及毒性的影响,为临床安全、有效、合理应用柴胡及其炮制品提供实验依据,我们对北柴胡不同炮制品的皂苷 a 含量和急性毒性大小进行了比较研究。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 北柴胡药材购自河北省安国药材批发市场,经山东中医药大学学生药学教研室张芳鉴定为伞形科植物柴胡 *B. chinense*。北柴胡清炒品、醋炙品、酒炙品和蜜炙品,由济南杏林生物技术有限公司提供:将北柴胡生品、清炒品、醋炙品、酒炙品、蜜炙品粉碎,过 120 目药物筛,备用(供样批号均为 20050512)。上述样品分别配成生药量为 0.22, 0.26, 0.23, 0.24, 0.27 g·mL<sup>-1</sup>,临用时用蒸馏水稀释成所需浓度的混悬液。

**1.2 动物** 昆明种小鼠,雌雄各半,健康适龄,体重 18~22 g,共 120 只,SPF 级,购自山东大学实验动物中心,SYXK(鲁)20030004 号。

## 2 方法

**2.1 北柴胡不同炮制品中柴胡皂苷 a 的含量测定**

**2.1.1 仪器与试剂** 高效液相色谱仪(SSI,美国科学系统公司)及紫外检测器。柴胡皂苷 a 对照品(11077-200303,供含量测定用,中国药品生物制品检定所提供),试剂均为色谱纯。北柴胡清炒品、醋炙品、酒炙品和蜜炙品,由济南杏林生物技术有限公

司提供。

**2.1.2 色谱条件** C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm);流动相甲醇-水(70:30);室温 23℃;检测波长 210 nm。

**2.1.3 对照品溶液制备** 取柴胡皂苷 a 对照品 12.5 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 2 mL 于 10 mL 量瓶中,定容,摇匀即得。

**2.1.4 供试品溶液制备** 取已干燥的北柴胡不同炮制品,粉碎过 20 目筛,取样品粗粉 0.5 g,精密称定,置于 50 mL 量瓶中,加入 40 mL 甲醇,密闭,超声提取 1 h,静置 24 h,过滤。残渣用 20 mL 甲醇洗涤 2 次,合并滤液,滤液浓缩至干后再用甲醇溶解,于 25 mL 量瓶中定容,摇匀即得。

**2.1.5 含量测定** 在以上色谱条件下,精密量取 20 μL 对照品及供试品分别注入高效液相色谱仪中,记录峰面积,进行含量测定<sup>[2-4]</sup>。

**2.2 北柴胡不同炮制品对小鼠急性毒性的研究** 按照急性毒性试验<sup>[5-6]</sup>要求进行预试,发现北柴胡生品、清炒品、醋炙品、酒炙品和蜜炙品的粉碎物无法测出 LD<sub>50</sub> 和最大给药量(MTD),故进行 1 日内 MLD 试验。

**2.2.1 北柴胡不同炮制品小鼠急性毒性 MLD 试验**

取上述小鼠 120 只,雌雄各半,体重 18~22 g,按体重随机分为 6 组,每组 20 只,分别为空白对照组和北柴胡生品组、清炒品组、醋炙品组、酒炙品组和蜜炙品组。实验前禁食不禁水 12 h 后,给药组按 40 mL·kg<sup>-1</sup> 鼠重灌胃给药 3 次,计算 1 d 内给药量,水对照组灌胃等体积的水,进行急性毒性试验观察。

**2.2.2 小鼠急性毒性正式试验观察方法** 各组灌胃给药后,每盒 10 只,正常饲养,药后至 2 h,每 15 min 观察 1 次;药后 2~4 h,每 30 min 观察 1 次;药后 4~8 h,每 1 h 观察 1 次;药后 8~24 h,每 4 h 观察 1 次;药后第 2 天起,每天观察 1 次,称取体重,密切观察各小鼠的动度进食、饮水情况及 14 d 内可能出现的动度、异常肌肉运动、对外反应、瞳孔改变、异常分泌物、大小便异常、眼球凸出、眼睑下垂、呼吸异常、皮肤颜色

改变等毒性反应和死亡情况。若有小鼠死亡,则将死亡小鼠解剖,肉眼观察心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、小肠等脏器的改变,14 d 观察期结束后,将每组存活的小鼠处死进行解剖,按照上述同样方法对主要脏器大体病理变化进行肉眼观察。

### 3 结果

#### 3.1 北柴胡不同炮制品柴胡皂苷 a 含量测定结果

生品、清炒品、醋炙品、酒炙品、蜜炙品柴胡皂苷 a 质量分数分别为 0.60%, 0.23%, 0.56%, 0.39%, 0.35%。表明北柴胡经过炮制后,其所含的柴胡皂

苷 a 含量都有不同程度的降低。北柴胡各炮制品中柴胡皂苷 a 含量依次为生品 > 醋炙品 > 酒炙品 > 蜜炙品 > 清炒品。

#### 3.2 北柴胡不同炮制品对小鼠急性毒性的研究

给药后,药物组小鼠于灌胃后 2 h 见有腹泻,安静,毛色无光,未见其他异常表现。药后 2 d 后,药物组逐渐好转,药后 7 d,行为活动正常,无异常病理性神经反射出现,进食正常,未见其他异常表现。给药组小鼠每日体重变化与水对照组进行组间 t 检验,体重变化数据见表 1。

表 1 北柴胡不同炮制品对小鼠急性毒性体重变化(  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 20$  )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$	药前	药后 1 d	药后 2 d	药后 3 d	药后 4 d	药后 5 d	药后 6 d	药后 7 d	药后 14 d
对照	-	20.01 $\pm$ 0.89	20.94 $\pm$ 0.81	22.58 $\pm$ 1.02	22.58 $\pm$ 1.02	23.38 $\pm$ 1.26	23.98 $\pm$ 1.33	24.79 $\pm$ 1.55	25.40 $\pm$ 1.67	30.66 $\pm$ 2.29
生品	26.4	20.27 $\pm$ 1.08	19.73 $\pm$ 1.27 <sup>3)</sup>	21.27 $\pm$ 1.56 <sup>3)</sup>	21.27 $\pm$ 1.56 <sup>2)</sup>	21.93 $\pm$ 1.53 <sup>2)</sup>	22.80 $\pm$ 1.73 <sup>1)</sup>	23.69 $\pm$ 1.40 <sup>1)</sup>	24.53 $\pm$ 1.45	29.56 $\pm$ 2.67
清炒品	31.2	20.32 $\pm$ 1.08	20.07 $\pm$ 0.83 <sup>2)</sup>	21.86 $\pm$ 1.16 <sup>2)</sup>	21.86 $\pm$ 1.16 <sup>1)</sup>	22.66 $\pm$ 1.05	23.47 $\pm$ 1.04	24.36 $\pm$ 0.98	25.30 $\pm$ 0.99	30.22 $\pm$ 2.48
醋炙品	27.6	20.49 $\pm$ 0.89	19.99 $\pm$ 0.80 <sup>3)</sup>	21.68 $\pm$ 1.16 <sup>2)</sup>	21.68 $\pm$ 1.16 <sup>1)</sup>	22.20 $\pm$ 1.13 <sup>2)</sup>	23.18 $\pm$ 1.19	24.11 $\pm$ 0.93	24.74 $\pm$ 0.92	30.19 $\pm$ 2.37
酒炙品	28.8	20.22 $\pm$ 1.00	20.01 $\pm$ 0.99 <sup>2)</sup>	21.88 $\pm$ 1.37 <sup>2)</sup>	21.88 $\pm$ 1.37	22.60 $\pm$ 0.83 <sup>1)</sup>	23.37 $\pm$ 0.82	24.28 $\pm$ 0.83	25.10 $\pm$ 0.81	29.86 $\pm$ 2.05
蜜炙品	32.4	20.08 $\pm$ 0.95	20.20 $\pm$ 0.91 <sup>1)</sup>	22.00 $\pm$ 1.14 <sup>1)</sup>	22.00 $\pm$ 1.14	22.77 $\pm$ 0.80	23.64 $\pm$ 0.82	24.15 $\pm$ 0.86	25.19 $\pm$ 0.90	30.13 $\pm$ 2.15

注 与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ 。

给药前北柴胡生品、清炒品、醋炙品、酒炙品、蜜炙品组和水对照组小鼠体重比较无显著性差异;在给药后 1 d,北柴胡生品和醋炙品组存活小鼠体重增长与空白组比较明显降低,经过统计学处理均有极显著性差异( $P < 0.001$ ),清炒品和酒炙品组均有非常显著性差异( $P < 0.01$ ),蜜炙品组呈显著性差异( $P < 0.05$ )。药后 2 d,北柴胡生品组存活小鼠体重增长经过统计学处理有极显著性差异( $P < 0.001$ ),清炒品、醋炙品和酒炙品组均有显著性差异( $P < 0.01$ ),蜜炙品组有显著性差异( $P < 0.05$ )。在给药后 3 d,北柴胡生品组存活小鼠体重增长经过统计学处理有非常显著性差异( $P < 0.01$ ),清炒品和醋炙品组均有显著性差异( $P < 0.05$ ),酒炙品、蜜炙品组无显著性差异。在给药后 5 ~14 d,药物组存活小鼠体重增长逐步恢复,经过统计学处理,药物组存活小鼠体重与空白组比较无显著性差异。14 d 后北柴胡生品、清炒品、醋炙品、酒炙品、蜜炙品组和水对照组小鼠无一动物死亡。

### 4 讨论

柴胡是临床常用中药,按性状不同,分为“北柴胡”和“南柴胡”。南、北柴胡均做为正品载入药典,其性味苦凉、微寒、归肝胆实经,具有和表解里、舒肝

利胆、退热升阳之功<sup>[7]</sup>。临床上两者皆可入药。柴胡皂苷 (saikosaponin, SS) 是其主要化学和活性成份。现代药理研究表明,柴胡皂苷具有解热、镇静、抗炎、免疫调节、抗病毒、抗肝纤维化、抗肿瘤、止痛、抗炎、抗菌、保肝、抗肾炎等药理作用<sup>[8]</sup>,目前,国内外学者用柴胡皂苷治疗肾病、肝纤维化、肿瘤等疾病取得了可喜的成就。柴胡虽然被《本经》列为上品,但在应用过程中,一些医家逐渐认识到柴胡亦有一定的毒副作用,尤以叶天士在《幼科要略》中提到“柴胡劫肝阴”,为后世所重视。近年来,常有使用柴胡而引起药物性肝损害的临床报道,病人出现转氨酶异常、血胆红素异常、头晕目眩等毒副作用,尤其在临床上治疗肝硬化、慢性胆囊炎和肝炎后综合征时,可发现有肝炎、药物性肝损害、黄疸,且多为急性肝损害,停药后肝功恢复正常<sup>[9-11]</sup>。特别是近年日本关于小柴胡汤毒副作用的报道<sup>[12-13]</sup>,引起了人们的广泛重视。

中药传统的炮制作用之一就是降低毒副作用,即所谓“炮制解毒”,其主要机制是破坏或改变药物中的毒性成分及结构,或降低毒性成分的含量,并使用辅料解毒。就柴胡而言,生品长于解毒退热,《本草逢原》谓:“入解表药生用”;蜜炙则可用于体虚

者;醋炙则降低解表退热作用,并能增强疏肝止痛作用;鳖甲血炒用升浮之性减弱,入阴分,清虚热作用增强。历代本草未将柴胡列为有毒之品,但近年来在临床应用过程中的临床不良反应报道日益增多,关于柴胡皂苷的毒性研究日益引起人们的高度重视。但尚未见到南柴胡不同炮制品中柴胡皂苷类物质的含量和急性毒性比较研究的报道,尤其是柴胡皂苷 a 含量和急性毒性相关性的研究报道。

通过本实验研究,北柴胡不同炮制品对小鼠急性毒性影响研究表明,一日内小鼠按最大给药量灌胃北柴胡生品按含生药量计算为  $26.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,北柴胡清炒品为  $31.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,北柴胡醋炙品为  $27.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,北柴胡酒炙品为  $28.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,北柴胡蜜炙品为  $32.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,分别相当于临床成人每公斤体重日用量的 205, 242, 214, 224, 252 倍以上时,连续观察 14 d,仍无一死亡。初步提示北柴胡不同炮制品在该剂量下安全低毒。北柴胡各炮制品柴胡皂苷 a 含量大小依次为生品 > 醋炙品 > 酒炙品 > 蜜炙品 > 清炒品,其急性毒性大小依次为生品 > 醋炙品 > 酒炙品 > 清炒品 > 蜜炙品,与柴胡皂苷 a 含量变化趋势基本一致。通过对北柴胡不同炮制品小鼠急性毒性研究,可见蜜炙柴胡的安全剂量要大于其他炮制品,提示蜜炙工艺可以提高其他安全剂量范围。

#### [参考文献]

[1] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2002:

82.

- [2] 白雪梅,田嘉铭,王德宝. HPLC 测定不同产地柴胡中柴胡皂苷 a 及柴胡皂苷 d 的含量[J]. 中成药, 2006, 28:440.
- [3] 孔伶俐,崔青娟,史德胜,等. HPLC 法测定柴胡中柴胡皂苷 a 的含量[J]. 中草药, 2004, 35:643.
- [4] 王鹏,贾凌云,孙启时,等. 不同产地柴胡中柴胡皂苷的含量测定[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21: 193.
- [5] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 1992: 201.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 中药新药研究的技术要求[M]. 1999: 22.
- [7] 中国药典. 一部[S]. 2005.
- [8] 史青,聂淑琴,黄璐琦,等. 柴胡属植物化学成分及药理研究新进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(5):53.
- [9] 梁少媚,张红梅,龙华. 37 例柴胡注射液不良反应分析[J]. 临床药学, 2008, 18(2): 62.
- [10] 王秀娟,许利平,王敏. 常用中药及复方制剂的肝毒性[J]. 首都医科大学学报, 2007, 28(2): 220.
- [11] 孔敏,王宇健. 中药引起肝损害的特点及预防[J]. 中国全科医学, 2003, 6(10): 859.
- [12] 孙其然,孙其新,戴昭宇. 小柴胡汤事件考察[J]. 中国中医药信息杂志, 1999, 6(4): 72.
- [13] 戈萌,柴逸峰,季红光,等. 不同配伍组方小柴胡汤的人肝细胞毒性体外检测[J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(11): 1266.

[责任编辑 邹晓翠]