

米泔水制北苍术炮制工艺及其抗腹泻药效作用研究

杨雪晴, 徐 伟, 肖春萍*, 孙 金, 冯禹壮

长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117

摘要: 目的 对米泔水制北苍术的最佳炮制工艺进行优化, 并对其抗腹泻作用进行研究。方法 以单因素试验为基础, 结合 Box-Behnken 设计-响应面法, 以苍术素、浸出物和外观性状为综合评价指标, 对米泔水用量、闷润时间、炒制温度和炒制时间 4 个因素进行考察, 确定米泔水制北苍术的最佳炮制工艺。建立脾虚泄泻大鼠模型, 比较给药前后大鼠体质量和粪便含水率变化, 并采用酶联免疫吸附法测定血清中二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 和分泌型免疫球蛋白 (secreted immunoglobulin, SIgA) 含量。结果 响应面法得出米泔水制北苍术的最佳炮制工艺为米泔水中米水比例为 1:60, 米泔水用量 25 mL, 炒制温度 160 °C, 炒制时间 30 min; 与模型组比较, 高剂量组米泔水制北苍术醇提取物可使脾虚泄泻大鼠的粪便含水率和 DAO 含量显著降低 ($P < 0.01$), 体质量和 SIgA 含量显著增加 ($P < 0.01$), 且接近阳性药水平; 生苍术醇提取物对脾虚泄泻大鼠的粪便含水率、体质量、SIgA 和 DAO 含量改善效果低于米泔水制北苍术 ($P < 0.05, 0.01$)。结论 响应面法简便稳定、准确可靠, 可用于优化米泔水制北苍术炮制工艺, 且米泔水制北苍术醇提取物的抗腹泻作用药效显著。

关键词: 北苍术; 米泔水; 炮制工艺; Box-Behnken 设计-响应面法; 抗腹泻; 苍术素; 脾虚泄泻症; 酶联免疫吸附法; 二胺氧化酶; 分泌型免疫球蛋白

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)01-0078-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.01.011

Study on processing technology of *Atractylodes chinensis* with rice water and its pharmacodynamics of anti-diarrhea

YANG Xue-qing, XU Wei, XIAO Chun-ping, SUN Jin, FENG Yu-zhuang

School of Pharmaceutical Science, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130017, China

Abstract: Objective To optimize the processing technology of *Atractylodes chinensis* (AC) with rice water, and to study its anti-diarrhea efficacy. **Methods** Based on single factor test, the Box-Behnken response surface methodology was also used to determine the optimal processing technology of AC preparation with rice water investigated four factors, including the amount of rice water, moistening time, processing temperature and processing time, of which atractydin, extract and appearance traits were used as comprehensive evaluation indexes. Furthermore, with the establishment of spleen deficiency diarrhea model in rats, the changes of body weight and fecal moisture content before and after administration were compared, and the contents of diamine oxidase (DAO) and secreted immunoglobulin (SIgA) in serum were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** Response surface methodology showed that the best processing technology of AC with rice water was as follows: The ratio of rice to water in rice water was 1:60, the amount of rice water was 25 mL, the processing temperature was 160 °C, and the processing time was 30 min. Compared with model group, the content of fecal moisture content and DAO were significantly decreased ($P < 0.01$), meanwhile the body weight and SIgA content were significantly increased ($P < 0.01$) in high dose ethanol extract group of AC with rice water, which were close to the positive drug level to rats with spleen deficiency diarrhea. The effect of ethanol extract in raw products of AC on improving fecal moisture content, body weight, SIgA and DAO content in rats with spleen deficiency was lower than that of rice water treatment ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Response surface method is simple, stable, accurate and reliable, which can be used to optimize the processing technology of AC prepared with rice water, and the anti-diarrhea effect of ethanol extract from AC with rice water is significant.

收稿日期: 2021-08-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81803649); 吉林省科技厅科技项目 (20191102035YY); 吉林省中医药管理局科技项目 (2020047)

作者简介: 杨雪晴 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。Tel: (0431)81672193 E-mail: 1900056792@qq.com

*通信作者: 肖春萍, 硕士生导师, 博士, 研究方向为中药资源与栽培理论和技术。Tel: (0431)81672193 E-mail: btxnw@163.com

Key words: *Atractylodes chinensis* (DC.); rice water; processing technology; Box-Behnken response surface methodology; anti-diarrhea; atractylodin; diarrhera duo to spleen deficiency; enzyme linked immunosorbent assay; diamine oxidase; secretory immunoglobulin

北苍术是《中国药典》苍术药材来源之一,具有燥湿健脾、祛风散寒、明目等功效^[1-2]。生苍术性燥,古籍中记载的苍术泔水制、麦麸炒、炒焦等 20 多种炮制方法^[3],其炮制原理多为“炮制减燥”。其中,最早记载的苍术炮制方法为米泔水制,见于《银海精微》^[4],被认为具有缓和燥性、增强健脾和胃的作用,而《中国药典》2020 年版中只收载“麸炒”法,这极大地限制了米泔水制北苍术的传承和发展。

北苍术的主要活性成分为苍术素、苍术酮和 β -桉叶醇等挥发油成分^[5-6],具有抗溃疡和抗菌、抗炎等药理作用^[7]。据报道,苍术中挥发油过量会对人体产生副作用(“燥性”),通过炮制可降低苍术中挥发油含量,从而降低燥性、缓和药性并增强健脾作用,而对苍术素含量影响较小^[7-8]。宋代《太平惠民和剂局方》中的和气散、参术散等方中均有应用苍术“米泔浸品”治疗脾胃不和及泄泻病症的历史^[9]。在日本汉方医学中,苍术也常作为利尿药和止痛药,被用来治疗胃肠疾病^[10-12]。腹泻是临床上常见的消化道疾病之一,其中脾虚泄泻导致腹泻的主要原因是脾虚、气虚,脾胃运化功能失调导致水谷不化、湿热内生,从而导致肠道运输功能障碍^[13]。中医药理论认为,治疗脾虚泄泻根本在于补气健脾^[14],通过补脾,改善胃肠功能达到止泻效果。米泔水制可去除部分油脂,降低药材的辛燥之性,增强其补脾和中作用^[15]。然而,应用米泔水制北苍术治疗脾虚泄泻的研究尚未见报道。

因此,本研究以苍术素、浸出物和外观性状为综合评价指标,优选米泔水制北苍术最佳炮制工艺;同时以脾虚泄泻症大鼠为模型,考察了大鼠体质量、粪便含水率、血清中二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)和分泌型免疫球蛋白(secreted immunoglobulin, SIgA)等指标,进一步评价苍术米泔制前后的抗腹泻药效作用,旨在完善米泔水制北苍术炮制工艺并明确其治疗腹泻作用,为米泔水制北苍术规范化应用提供参考,也为进一步拓展米泔水制北苍术的临床应用提供理论支撑。

1 仪器与材料

LC-2030 高效液相色谱仪,岛津企业管理(中国)有限公司;MS-5 型炒货机,浙江迈斯机械制造有限公司;HWS-12 电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪

器有限公司;KQ3200E 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

生苍术饮片,批号 20200206,河北省安国市荣华本草中药材有限公司,由长春中医药大学中药鉴定教研室翁丽丽教授鉴定为菊科苍术属植物北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎。生大黄饮片,批号 200802,河北省安国市安兴中药饮片有限公司,由长春中医药大学中药鉴定教研室翁丽丽教授鉴定为蓼科大黄属植物药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根茎;盐酸小檗碱片,批号 H51022193,质量分数 98%,成都锦华药业有限责任公司;苍术素对照品,批号 P29N9F76159, HPLC 测定质量分数 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司。

实验用 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 42 只,体质量 200~220 g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司,许可证号 SCXK(辽)2020-0001,质量合格证号 210726210100208713,动物实验经长春中医药大学实验动物伦理委员会批准,批准文号 2020317。

2 方法与结果

2.1 米泔水制北苍术的制备

将适量米泔水(用 2 kg 大米粉过 7 号筛后加入 100 kg 水中充分搅拌后代替^[16])均匀喷淋至 100 g 北苍术饮片上,拌匀,闷润一定时间后,置于炒药机内炒至饮片表面呈黄色或棕黄色后取出,晾干,即得苍术米泔水制品。

2.2 米泔水制北苍术中苍术素的含量测定

2.2.1 对照品溶液和供试品溶液的制备 参照《中国药典》2020 年版 I 部苍术药材项下含量测定方法制备苍术素对照品溶液和北苍术供试品溶液,并按药典规定色谱条件进行检测^[1]。

2.2.2 标准曲线的制备 取苍术素对照品溶液(40 $\mu\text{g/mL}$),分别稀释成质量浓度为 4、8、12、16、20、28、36、40 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,各吸取 10 μL 测定其峰面积,以不同质量浓度的苍术素对照品溶液为横坐标(X),相应峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,得到苍术素线性回归方程为 $Y=130\,776X+86\,970$, $r=0.999\,7$,结果表明苍术素在 4~40 $\mu\text{g/mL}$ 呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 取同一批次(批号 20200206)北苍术供试品溶液,按药典色谱条件连续进样 6 次,

测得苍术素峰面积的 RSD 为 0.53%，表明所使用的仪器具有良好的精密性。

2.2.4 稳定性试验 取同一批次（批号 20200206）北苍术供试品溶液，按药典色谱条件分别于 0、4、8、12、24、48 h 进样测定，测得苍术素峰面积 RSD 为 0.94%，结果表明该供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.2.5 重复性试验 取同一批次（批号 20200206）北苍术饮片，同法制成 6 份供试品溶液，按药典色谱条件分别进样测定，测得苍术素质量分数的 RSD 为 0.66%，结果表明此方法重复性良好。

2.2.6 加样回收率试验 称取同一批次北苍术样品（批号 20200206）6 份，每份约 0.10 g，精密称定，分别精密加入约含 0.3 mg 苍术素对照品溶液，按供试品溶液制备方法操作，按药典色谱条件分别进样测定，计算苍术素的加样回收率，结果测得苍术素平均加样回收率为 99.28%，RSD 为 0.76%，表明该方法准确度良好。

2.3 单因素实验

通过文献查阅^[8,27-28]及饮片厂生产实际，选择米泔水用量、炒制时间、炒制温度、米泔水中米水比例和闷润时间进行单因素考察。

2.3.1 闷润时间 取 4 份苍术饮片，每份 100 g，加入米水比例为 1：50 的米泔水 20 mL，结合预实验，闷润 1 h 内北苍术饮片不能完全润透，故选取闷润 1、2、3、4 h，150 °C 下炒制 30 min 即得。由表 1 可知，闷润 4 h 时，闷润效果最好，但考虑闷润时间过长，炮制成本和效率不高，参考饮片加工厂炮制实际参数，综合比较选择闷润 2 h 进行后续研究，可将苍术饮片完全润透，成品性状完全达到制品的相关标准，有效成分苍术素含量相对较高。

2.3.2 米泔水用量 取 4 份苍术饮片，每份 100 g，加入米水比例为 1：50 的米泔水 10、20、30、40 mL，闷润时间 2 h，150 °C 炒制 30 min 即得。由表 2 可知，随米泔水用量增加，苍术素含量逐渐升高；

表 1 闷润时间对苍术素含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of moistening time on content of atractylodin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

闷润时间/h	苍术素/%
1	0.533 ± 0.050
2	0.530 ± 0.044
3	0.577 ± 0.085
4	0.627 ± 0.025

表 2 米泔水用量对苍术素含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of rice swill dosage on content of atractylodin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

米泔水用量/mL	苍术素/%
10	0.343 ± 0.012 ^a
20	0.373 ± 0.068 ^a
30	0.470 ± 0.035 ^b
40	0.443 ± 0.006 ^b

同列不同小写字母表示不同组别间差异显著 ($P < 0.05$)，下表同
different lowercase letters in the table indicate significant differences among different groups ($P < 0.05$), same as below tables

当米泔水用量达 30 mL 时，苍术素含量最高，而当米泔水用量达 40 mL 时，掰断饮片发现药材有“伤水”现象^[17]，对药材质量产生影响，故选择米泔水用量为 10~30 mL 进行后续研究。

2.3.3 米泔水中米水比例 取 4 份苍术饮片，每份 100 g，加入米水比例 1：25、1：50、1：75、1：100 的米泔水 20 mL，闷润时间 2 h，150 °C 炒制 30 min 即得。由表 3 可知，随米水比例增加，苍术素含量先升高后降低，并于米水比例 1：75 时苍术素含量最高，1：100 时含量最低，结合 1987 年版《吉林省中药炮制标准》相关参数^[18]，故选择米水比例为 1：25、1：50、1：75 进行后续研究。

2.3.4 炒制温度 取 4 份苍术饮片，每份 100 g，加入米水比例 1：50 的米泔水 20 mL，闷润时间 2 h，130、140、150、160 °C 炒制 30 min 即得。由表 4 可知，随炒制温度升高，苍术素含量呈波浪形变化，

表 3 米水比例对苍术素含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of rice water ratio on content of atractylodin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

米水比例	苍术素/%
1：25	0.585 ± 0.007 ^a
1：50	0.535 ± 0.021 ^a
1：75	0.685 ± 0.049 ^b
1：100	0.530 ± 0.026 ^a

表 4 炒制温度对苍术素含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of frying temperature on content of atractylodin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

炒制温度/°C	苍术素/%
130	0.483 ± 0.006 ^a
140	0.577 ± 0.006 ^b
150	0.543 ± 0.015 ^b
160	0.600 ± 0.026 ^b

但当炒制温度低于 130 ℃时,炒制时间过长,超过 170 ℃时,饮片容易产生焦斑或糊化现象,综合考虑苍术素含量和饮片外观性状,本研究选择炒制温度 140、150、160 ℃进行后续研究。

2.3.5 炒制时间 取 4 份苍术饮片,每份 100 g,加入米水比例 1:50 的米泔水 20 mL,闷润时间 2 h,150 ℃炒制 10、20、30、40 min 即得。由表 5 可知,随炒制时间增加,苍术素含量逐渐增高且在 30 min 达到最大;当炒制时间小于 20 min 时,炒制后饮片半干,外观性状不符合要求,故综合考虑,本研究选择炒制时间 20、30、40 min 进行后续研究。

表 5 炒制时间对苍术素含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 5 Effect of frying time on content of atractylodin ($\bar{x} \pm s, n=3$)

炒制时间/min	苍术素/%
10	0.525±0.007 ^a
20	0.595±0.050 ^b
30	0.607±0.023 ^b
40	0.597±0.021 ^b

2.4 Box-Behnken 设计-响应面优化苍术米泔水制工艺

2.4.1 实验设计与结果分析 根据单因素试验结果,进一步选取米泔水用量(X_1)、米水比例(X_2)、炒制温度(X_3)、炒制时间(X_4)为优化因素,采用 Design-Expert 8.0.7.1 软件进行 4 因素 3 水平 Box-Behnken 响应面试验设计。参考药典规定和文献方法^[19],以苍术素含量(M_1)、醇溶性浸出物得率(M_2)、水溶性浸出物得率(M_3)及外观评分(M_4)4 个指标的综合评分值(Y)为响应值进行试验设计。水溶性浸出物和醇溶性浸出物的测定参考《中国药典》2020 版 IV 部浸出物规定进行^[1],外观评分参照表 6。根据所测指标在苍术饮片质量控制中的重要性,

表 6 米泔水制北苍术外观性状评分规则 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 6 Scoring rules for appearance characters of AC prepared with rice swill ($\bar{x} \pm s, n=3$)

断面颜色	颜色、气味	分值
深黄色	片形完整、表面散有多数棕褐色油室、散发焦香气者	9~10
浅黄色	片形完整、表面散有棕褐色油室、微有焦香气者	7~8
深褐色	有碎片,表面带有焦斑、出现糊化	5~6
其余		5分以下

令 M_1 占 30%、 M_2 占 25%、 M_3 占 25%、 M_4 占 20%,得 Y 计算公式 $Y=M_2/M_{2\max} \times 0.25 + M_3/M_{3\max} \times 0.25 + M_4/M_{4\max} \times 0.2 - M_1/M_{1\max} \times 0.3$ ^[8],其中 $M_{1\max}$ 、 $M_{2\max}$ 、 $M_{3\max}$ 、 $M_{4\max}$ 分别为苍术素含量、醇溶性浸出物得率、水溶性浸出物得率及外观评分的最大值,总评分为 1.0。设计因素与水平见表 7。米泔水制后北苍术进行外观评价^[8]:以片形完整、表面深黄色、散有多数棕褐色油室、散发焦香气为标准,不得出现焦斑或糊化现象,满分为 10 分。

2.4.2 模型拟合与方差分析 各因素回归拟合后建立多元二次效应面回归模型,回归方程为 $Y = -0.476 + 1.732 X_1 - 2.072 X_2 + 9.237 X_3 + 0.093 X_4 + 2.480 X_1 X_2 + 6.100 X_1 X_3 - 6.126 X_1 X_4 + 4.565 X_2 X_3 + 1.711 X_2 X_4 + 4.304 X_3 X_4 - 4.974 X_1^2 - 9.884 X_2^2 - 4.143 X_3^2 - 9.386 X_4^2$, $R^2=0.9176$ 。由表 8 方差分析结果可知,该拟合模型具有显著性 ($P<0.001$),且失拟项为 0.109 ($P>0.05$),差异不显著,说明该模型拟合度较好,无明显失拟因素存在。另外, X_2 项的 $P<0.05$,说明该模型中米水比例对米泔水制北苍术饮片综合评分有显著影响。由各 1 次项、交互项、2 次项 P 值可知, $X_1 X_2$ 、 $X_2 X_3$ 的交互作用显著 ($P<0.05$), X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2 均达到极显著水平 ($P<0.01$)。

2.4.3 响应面分析 为进一步评价 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 之间的交互作用对米泔水制北苍术综合评分的影响,并确定各因素的最佳水平范围,根据分析结果作相应响应曲面图(图 1)。结果表明,米水比例(X_2)和炒制温度(X_3)的交互作用对综合评分影响显著,其他因素交互作用影响较小。按照模拟方程进行优化,得出优化后炮制工艺为米泔水量用量为 24.72 mL,米水比例 1:64,炒制温度 160.8 ℃,炒制时间 30.5 min。 Y 预测值为 0.492。

2.4.4 最佳炮制工艺的确定及验证试验 为方便实际工厂化操作,将优化后的米泔水制北苍术炮制工艺调整为将米水比例为 1:60,米泔水用量 25 mL,闷润 2 h,炒制温度 160 ℃,炒制时间 30 min。取 3 份北苍术饮片(批号 20200206)500 g,按调整后米泔水制北苍术最佳炮制工艺进行炮制(图 2),分别测定苍术素含量、水溶性和醇溶性浸出物得率以及外观评分并计算出 Y 值。由表 9 可见,3 次验证结果 Y 分别为 0.489、0.488、0.493, Y 平均值为 0.490 (RSD 为 0.54%),与 Y 预测值(0.492)接近,表明调整后的米泔水制北苍术工艺与响应面优化工艺结

表 7 Box-Behnken 设计-响应面设计及结果分析
Table 7 Design and result of Box-Behnken response surface

编号	X_1/mL	X_2	$X_3/^\circ\text{C}$	X_4/min	$M_1/\%$	$M_3/\%$	$M_2/\%$	M_4	Y
1	20 (0)	1 : 75 (+1)	150 (0)	40 (+1)	0.562	37.390	9.226	7.0	0.360
2	30 (+1)	1 : 50 (0)	140 (-1)	30 (0)	0.601	39.446	9.271	8.0	0.386
3	30	1 : 50	150	20 (-1)	0.617	37.212	9.744	7.5	0.358
4	20	1 : 50	150	30	0.525	36.809	11.262	10.0	0.500
5	20	1 : 50	150	30	0.577	38.426	11.855	9.0	0.468
6	20	1 : 25 (-1)	150	40	0.559	35.678	11.188	6.0	0.356
7	20	1 : 50	160 (+1)	40	0.586	33.938	11.231	7.0	0.364
8	20	1 : 25	140	30	0.644	31.803	11.038	8.0	0.351
9	20	1 : 50	150	30	0.626	35.935	12.413	10.0	0.470
10	20	1 : 75	150	20	0.661	29.057	12.333	7.0	0.319
11	20	1 : 25	150	20	0.607	30.317	13.162	7.0	0.367
12	20	1 : 50	140	40	0.618	31.749	11.951	6.0	0.319
13	20	1 : 50	160	20	0.571	27.084	12.276	7.0	0.346
14	10 (-1)	1 : 75	150	30	0.617	27.690	11.193	7.0	0.310
15	10	1 : 50	150	40	0.584	34.450	9.926	8.0	0.374
16	20	1 : 25	160	30	0.559	32.753	7.806	5.5	0.261
17	30	1 : 50	150	40	0.580	34.974	8.732	7.5	0.343
18	10	1 : 50	150	20	0.609	37.253	8.057	7.0	0.317
19	20	1 : 50	140	20	0.622	36.184	8.069	7.5	0.319
20	20	1 : 50	150	30	0.553	35.811	12.270	9.0	0.470
21	30	1 : 25	150	30	0.550	33.916	7.818	6.0	0.288
22	10	1 : 50	160	30	0.563	34.466	9.637	7.5	0.364
23	10	1 : 50	140	30	0.566	36.483	10.700	8.0	0.409
24	30	1 : 75	150	30	0.539	35.482	13.238	7.5	0.447
25	20	1 : 50	150	30	0.574	34.925	13.713	10.0	0.511
26	30	1 : 50	160	30	0.558	32.413	12.818	8.0	0.426
27	20	1 : 75	140	30	0.584	35.036	11.862	7.5	0.398
28	10	1 : 25	150	30	0.573	35.420	12.306	7.0	0.399
29	20	1 : 75	160	30	0.487	34.653	11.800	8.5	0.469

表 8 方差分析结果

Table 8 Results of variance analysis

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性	来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.102 813	14	7.344×10^{-3}	6.082	0.000 9	极显著	X_3X_4	8.170×10^{-5}	1	8.170×10^{-5}	0.068	0.798 6	
X_1	4.750×10^{-4}	1	4.750×10^{-4}	0.393	0.540 7		X_1^2	0.016 049	1	0.016 049	13.290	0.002 6	极显著
X_2	6.574×10^{-3}	1	6.574×10^{-3}	5.444	0.035 1	显著	X_2^2	0.024 752	1	0.024 752	20.498	0.000 5	极显著
X_3	1.880×10^{-4}	1	1.880×10^{-4}	0.155	0.699 5		X_3^2	0.016 704	1	0.016 704	13.833	0.002 3	极显著
X_4	6.710×10^{-4}	1	6.710×10^{-4}	0.556	0.468 3		X_4^2	0.046 287	1	0.046 287	38.332	0.000 1	极显著
X_1X_2	0.015 376	1	0.015 376	12.734	0.003 1	极显著	总残差	0.016 906	14	1.208×10^{-3}			
X_1X_3	1.824×10^{-3}	1	1.824×10^{-3}	1.510	0.239 4		失拟误差	0.015 253	10	1.525×10^{-3}	3.693	0.109 8	
X_1X_4	1.351×10^{-3}	1	1.351×10^{-3}	1.119	0.308 1		纯误差	1.652×10^{-3}	4	4.130×10^{-4}			
X_2X_3	6.383×10^{-3}	1	6.383×10^{-3}	5.286	0.037 4	显著	总和	0.119 718	28				
X_2X_4	6.580×10^{-4}	1	6.580×10^{-4}	0.545	0.472 5								

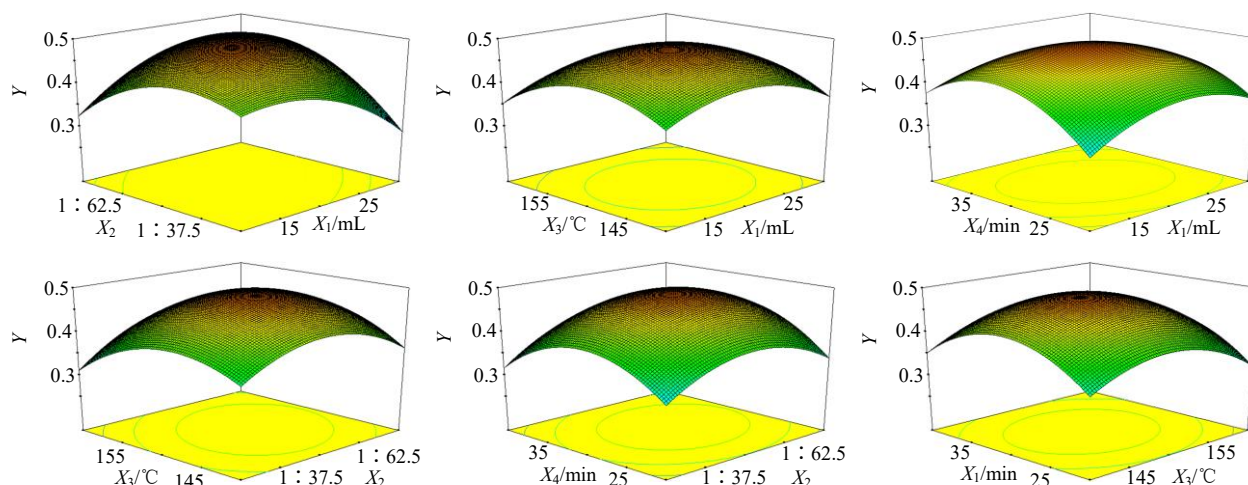


图 1 各因素对综合评分的响应面图

Fig. 1 Response surface of each factor to comprehensive score

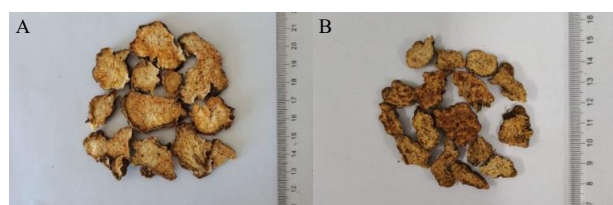


图 2 苍术米泔水制前 (A)、后 (B) 饮片图

Fig. 2 Decoction pieces of stir-frying pre (A) and post (B) of AC

表 9 验证结果

Table 9 Verification results

批号	$M_1/\%$	$M_2/\%$	$M_3/\%$	M_4	Y
1	0.43	13.14	38.65	10	0.489
2	0.42	12.83	38.66	10	0.488
3	0.43	13.34	38.72	10	0.493

果一致, 表明该工艺稳定可靠。

2.5 苍术提取物抗腹泻药效学研究

2.5.1 药液制备

(1) 大黄药液的制备: 采用常规煎煮法, 取 100 g 生大黄切碎, 加入 5 倍量水煮沸 30 min 后滤过, 药渣再加 3 倍量水煮沸 20 min, 合并 2 次滤液并浓缩至 50 mL, 即得 200% 大黄水煎液。

(2) 苍术的醇提取物溶液制备: 取“2.4.4”项下米泔水制北苍术 (饮片中苍术素为 0.422%) 和生苍术 (饮片中苍术素为 0.500%) 各 75.6 g, 粉碎过三号筛, 分别用 10 倍量体积 80% 乙醇浸泡 12 h 后超声提取, 共提取 3 次, 每次 2 h, 滤过, 分别合并滤液, 经 40 °C 减压浓缩至 100 mL, 利用“2.2”项下苍术素测定方法, 经 3 次重复验证测得米泔水制北苍术醇提取物中苍术素为 0.367%, RSD 为 1.37%; 生

苍术醇提取物中苍术素为 0.402%, RSD 为 0.44%。取米泔水制北苍术醇提取物和生苍术醇提取物, 按人鼠剂量换算公式浓缩得到高、低剂量 (756、189 mg/mL, 按生药量计^[20]) 组。

(3) 阳性对照药液的制备: 取适量盐酸小檗碱片, 研磨后加水制成质量浓度为 9.45 mg/mL 的混悬液后, 得到阳性对照组药液。

2.5.2 动物分组、造模和给药 将 42 只 Wistar 雄性大鼠随机分成 7 组, 每组 6 只, 分别为对照组, 模型组, 阳性对照组 (盐酸小檗碱), 生苍术高、低剂量组^[20-22], 米泔水制北苍术高、低剂量组。除对照组, 其余各组均需造模, 按 20 mL/kg ig 给予 200% 大黄水煎液, 早晚各 1 次, 共造模 10 d。造模结束后, 各组分别 ig 给予对应药液 (10 mL/kg), 1 次/d, 连续 7 d。实验期间对照组 ig 给予等量生理盐水。

2.5.3 大鼠一般行为状态 试验期间, 对照组大鼠活动正常, 背毛光泽, 反应灵敏, 粪便正常。除对照组外, 随造模时间延长, 造模组大鼠逐渐出现精神抑郁、眯眼倦怠、食欲不振、大便疏松、色脏无光泽、怕寒喜欢聚堆、肛门黏液带粪、部分大鼠肛门脱垂, 说明脾虚泄泻模型建立成功。

由表 10 可知, 随饲养天数增加对照组的大鼠体质量增长速度缓慢; 造模期间, 与对照组相比, 其余各组大鼠体质量均呈现极显著性下降趋势 ($P < 0.01$); 给药治疗 7 d 后, 与模型组相比, 生苍术、米泔水制北苍术醇提取物高剂量组大鼠的活动及背毛情况均恢复正常, 大鼠体质量显著上升 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且与阳性对照组差异不显著; 米泔水制北苍术醇提取物低剂量组体质量虽有好转, 但与模型组差

表 10 脾虚泄泻模型大鼠体质量变化量 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 10 Summary of body weight changes degree in rats with diarrhea due to spleen deficiency ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (mg·mL ⁻¹)	体质量变化量/g			
		造模第 1 天	造模第 7 天	造模第 10 天	给药第 7 天
对照	—	0	42.22±12.22	61.40±15.24	23.48±5.46
模型	—	0	-39.78±5.25 ^{##}	-59.05±6.17 ^{##}	56.07±9.25 ^{##}
阳性对照	9.45	0	-39.27±5.94 ^{**}	-56.44±10.28 ^{**}	78.48±1.44 ^{**}
米泔水制北苍术	189	0	-38.09±6.91 ^{**}	-57.82±8.15 ^{**}	59.95±6.94 ^b
	756	0	-39.56±2.27 ^{**}	-57.91±2.47 ^{**}	66.50±6.80 ^{**a}
生苍术	189	0	-40.32±13.78 ^{**}	-58.38±9.85 ^{**}	57.86±4.69 ^b
	756	0	-40.30±4.34 ^{**}	-58.40±5.00 ^{**}	63.40±1.60 ^{**a}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 同列不同小写字母表示不同组别相同剂量间差异显著 ($P < 0.05$); 下表同
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; different lowercase letters in the same column indicated that there was significant difference between different doses ($P < 0.05$); same as below tables

异不显著,精力、食欲及毛发光泽仍欠佳。综上所述可知,末次给药后,米泔水制北苍术和生苍术醇提物高剂量对上述症状均有显著改善 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

2.5.4 粪便含水率 于造模第 0、7、10 天和给药第 7 天收集大鼠新鲜粪便,105 °C 干燥 5 h,测定粪便含水率。由表 11 可知,与对照组相比,第 7~10 天各造模组粪便含水率均极显著升高 ($P < 0.01$),粪

便稀溏不成形,说明造模成功。给药治疗 7 d 后,与模型组相比,各组粪便含水率显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01),米泔水制北苍术醇提物高剂量组粪便含水率极显著降低,且与阳性对照组差异不显著。由此说明,米泔水制北苍术和生苍术醇提物均能显著改善大鼠腹泻状况,降低粪便含水率,但米泔水制北苍术醇提物高剂量组止泻效果更显著。

表 11 脾虚泄泻模型大鼠粪便含水率汇总表 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 11 Summary of fecal water content of rats with spleen deficiency diarrhea model ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (mg·mL ⁻¹)	含水率/%			
		造模第 1 天	造模第 7 天	造模第 10 天	给药第 7 天
对照	—	63.20±0.04	63.32±0.87	63.42±0.31	63.39±0.14
模型	—	62.51±1.29	77.27±0.10 ^{##}	86.14±0.95 ^{##}	78.74±0.26 ^{##}
阳性对照	9.45	63.51±1.52	77.20±0.07	85.40±0.44	65.42±3.00 ^{**}
米泔水制北苍术	189	62.08±0.93	77.10±0.06	85.92±1.89	76.14±0.31 ^{*c}
	756	63.60±1.01	77.12±0.11	86.05±1.44	69.95±0.52 ^{**a}
生苍术	189	63.54±1.06	77.10±0.05	85.96±1.63	77.80±0.69 ^{*c}
	756	62.63±1.80	77.30±0.03	85.85±1.30	71.59±1.05 ^{*b}

2.5.5 血清 DAO、SIgA 含量 各组大鼠于末次给药前 12 h 禁食不禁水,用 20%乌拉坦 (0.008 mL/g) 麻醉,腹主动脉取血后脱颈处死,4 °C 下 3000 r/min 离心 20 min,分离血清,按照酶联免疫吸附法说明书对血清中各指标含量进行测定。由表 12 结果可知,与对照组相比,模型组及各给药组大鼠血清 DAO 含量均极显著上升 ($P < 0.01$),SIgA 含量极显著降低 ($P < 0.01$) 趋势;与模型组相比,米泔水制北苍术醇提物高、低剂量组和生苍术高剂量组 DAO 含量均极显著降低 ($P < 0.01$),米泔水制北苍

术醇提物高、低剂量组和生苍术高剂量组 SIgA 含量均显著升高 ($P < 0.01$)。

以上结果说明,米泔水制北苍术醇提物高、低剂量和生苍术高剂量组均有利于改善脾虚泄泻症大鼠胃肠道生理功能,但米泔水制北苍术醇提物治疗效果显著优于生苍术醇提物组。

3 讨论

苍术“米泔水制”在古方中应用广泛,且以治疗泄泻为最佳,如《太平惠民和剂局方》《世医得效方》及《仁术便览》在治疗腹痛泄泻时所用的苍术

表 12 苍术对脾虚泄泻模型大鼠血清 DAO、SIgA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 12 Effects of AC on DAO and SIgA contents in serum of spleen deficiency catharsis rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/ (mg·mL ⁻¹)	DAO/(ng·L ⁻¹)	SIgA/(ng·L ⁻¹)
对照		218.17±11.98	118.44±3.76
模型		617.38±27.46 ^{##}	56.58±1.68 ^{##}
阳性对照	9.45	291.98±9.01 ^{**}	98.02±1.65 ^{**}
米泔水制	189	461.03±9.62 ^{**b}	60.69±1.42 ^{**c}
北苍术	756	324.52±2.38 ^{**c}	85.82±3.43 ^{**a}
生苍术	189	505.39±8.47 ^{*a}	57.45±0.84 ^d
	756	456.75±5.56 ^{**b}	68.75±2.38 ^{**b}

均为“米泔浸”品。现代药理研究表明,苍术醇提取物抗腹泻效果优于其水提取物^[23-24]。因此,本研究在优化米泔水制北苍术炮制工艺的基础上,初步探讨了米泔水制北苍术醇提取物对脾虚泄泻模型大鼠体重、粪便含水率及腹泻相关指标等的影响。

正交试验优选中药饮片炮制工艺,因其结果无法反映整个区域因素和响应值之间的关系,所得结果精确程度低^[25]。故本实验在单因素试验基础上利用 Box-behnken 响应面法设计,根据苍术素含量、浸出物及外观性状在苍术饮片质量控制中的重要性赋予相应权重^[8],并充分考虑各因素的交互作用^[26],通过模型选出米泔水制北苍术最优工艺,即将米水比例为 1:60 的米泔水 25 mL,均匀喷淋在苍术饮片上,闷润 2 h,160 °C 炒制 30 min 后取出,放凉即得。Box-Behnken 设计-响应面法也被应用于炒赤芍、麸炒苍术及酒大黄等炮制工艺优化^[8,27-29]。

苍术“燥性”,常需炮制减燥后入药^[30],其炮制方法均涉及加热过程,说明苍术中燥性物质是挥发性或热不稳定性成分。研究表明,苍术经不同方法炮制后,其挥发油的含量均呈下降趋势,并以麸炒和米泔水制品效果为佳,去油效果分别达 39%^[31]和 47%。对同属白术炮制原理研究发现,白术中燥性成分(苍术酮)经炮制后部分可转化为白术内酯 I、II、III 等内酯类成分^[32-33]。结合前期试验,米泔水制北苍术挥发油含量显著下降,但较大程度保留了北苍术浸出物和苍术素的含量,既达到降噪目的,又保证有效成分含量无过度流失,进而为保证临床疗效提供保障。

利用苦寒泻下中药大黄致大鼠脾虚泄泻模型是我国经典的脾虚模型之一^[34-35]。本实验以脾虚泄泻

大鼠为模型,探索米泔水制北苍术醇提物的抗腹泻药效作用。研究表明,与模型组相比,高剂量米泔水制北苍术和生苍术醇提取物均能显著改善大便溏稀、食少、体质量减轻等症状,大鼠体质量显著上升($P < 0.05$ 、 0.01);但米泔水制品醇提取物高剂量组的大鼠粪便含水率显著降低,血清 DAO 含量极显著下降,SIgA 表达极显著增加($P < 0.01$),且接近阳性药水平($P > 0.05$),原因可能是生苍术中也含有抗腹泻活性成分,但含量较少;结合苍术药性^[30]可知,米泔水制北苍术醇提取物止泻作用优于生苍术,且副作用小,高剂量米泔水制品醇提取物不仅有效缓解脾虚泄泻模型大鼠便溏等症状,增加大鼠体质量,还在一定程度上改善肠黏膜通透性和免疫功能,修复肠黏膜损伤。有证据显示,苍术醇提取物可从不同方面改善脾虚大鼠的胃肠功能障碍,对脾虚引起的胃肠功能障碍有良好的调节和治疗作用^[36-37]。

综上,本研究确定了米泔水制北苍术的最佳炮制工艺,并论证了米泔水制北苍术醇提取物可改善脾虚泄泻模型大鼠的肠道功能,这种作用可能与其调节肠道 DAO 和 SIgA 等因子分泌有关,为深入研究米泔水制北苍术抗腹泻作用机制奠定理论基础。同时,本研究将进一步探索苍术米泔水制前后的药效物质变化及对肠道菌群多样性的影响,深入挖掘其量效关系和作用机制,为拓宽米泔水制北苍术的合理应用提供重要依据。

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,四部. 2020: 168, 232.
- [2] 李涵,金香环,赵百慧,等. 北苍术的化学成分及药理活性的研究进展 [J]. 吉林农业, 2019(3): 72-73.
- [3] 季光琼,肖波,刘艳菊,等. 苍术麸炒前后正丁醇部位对湿阻中焦证大鼠的药效学研究 [J]. 中成药, 2014, 36(7): 1527-1529.
- [4] 唐·孙思邈. 银海精微 [M]. 影印本. 北京: 中国书店, 1986: 78.
- [5] 欧阳臻,江涛涛,缪亚东,等. 苍术的化学成分、道地性和药理活性研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10): 1936-1938.
- [6] 付梅红,朱东海,方婧,等. 苍术的化学、分子生物学和药理学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(20): 2669-2672.
- [7] 于艳,袁媛,贾天柱,等. 苍术炮制前后化学成分及药理作用研究近况 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(1): 189-191.

- [8] 李萍, 刘舸. Box-behnken 效应面法优选麸炒苍术的炮制工艺 [J]. 中国药房, 2015, 26(34): 4844-4846.
- [9] 宋·太平惠民和剂局. 太平惠民和剂局方 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 82, 92.
- [10] Resch M, Heilmann J, Steigel A, *et al.* Further phenols and polyacetylenes from the rhizomes of *Atractylodes lancea* and their anti-inflammatory activity [J]. *Planta Med*, 2001, 67(5): 437-442.
- [11] Nakai Y, Kido T, Hashimoto K, *et al.* Effect of the rhizomes of *Atractylodes lancea* and its constituents on the delay of gastric emptying [J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 84(1): 51-55.
- [12] 石坤, 雷林, 谢颖, 等. 焦苍术对肠道损伤保护及抗腹泻效应部位研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(23): 2365-2369.
- [13] 朱萱萱, 朱吾元. 中医药治疗脾虚泄泻机理研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(8): 1709-1712.
- [14] 刘翠英, 黄娟, 施旭光. 参苓白术散治疗脾虚泄泻证的研究进展 [J]. 江西中医药, 2016, 47(11): 68-71.
- [15] 龚千锋. 中药炮制学 [M]. 第 3 版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 45.
- [16] 张钰祺, 龚千锋. 米泔水在中药炮制中的古今应用研究 [J]. 江西中医药, 2011, 42(4): 64-66.
- [17] 张家连. 中药材伤水及预防处理措施 [J]. 中外医疗, 2009, 28(3): 121.
- [18] 吉林省卫生厅. 吉林省中药炮制标准 [M]. 长春: 吉林省科学技术出版社, 1987: 23-24.
- [19] 刘艳菊, 许腊英, 李水清. 麸炒苍术炮制工艺研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(15): 1267-1269.
- [20] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1076.
- [21] 徐敬儒, 刘玉强, 才谦, 等. 平胃散中麸炒苍术用生苍术替代前后药效学比较研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2013, 27(6): 78-81.
- [22] 张亚杰, 韩冬, 李丽静. 脾虚泄泻动物模型实验研究进展 [J]. 吉林中医药, 2008, 28(7): 542-543.
- [23] 陆茵, 张大方. 中药药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 130-133.
- [24] 石坤. 基于肠道菌群的焦苍术抗腹泻药效及其作用机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- [25] 刘泽玉, 苏柘僮, 杨明, 等. 联用 Plackett-Burman 与 Box-Behnken 设计控制青黛制备过程中靛玉红的生成 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(19): 2551-2555.
- [26] 陈洁, 戴衍朋, 孙立立, 等. Box-Behnken 设计-效应面法优选甘草切制工艺 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1579-1583.
- [27] 许天阳, 董坤园, 宋凤媛, 等. Box-Behnken 响应面法优化炒赤芍炮制工艺 [J]. 中国药房, 2019, 30(20): 2845-2850.
- [28] 龚鹏飞, 于欢, 龚千锋, 等. 效应面法优选建昌帮米泔水漂苍术炮制工艺 [J]. 江西中医药大学学报, 2018, 30(3): 56-59.
- [29] 曾昭君, 田甜, 方朝纛, 等. 响应面法优化酒大黄炮制工艺研究 [J]. 亚太传统医药, 2020, 16(12): 50-54.
- [30] 徐德春, 蒋纪洋, 沈俊美. 苍术古今炮制研究初探 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(3): 257-258.
- [31] 李勤劳. 苍术炮制初探 [J]. 中药通报, 1985, 10(5): 23.
- [32] 郝延军. 白术的炮制原理研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2006.
- [33] 容穗华, 林海, 高妮. 白术炮制工艺及炮制原理的研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(8): 1001-1003.
- [34] 沈丽波, 钱会南. 脾虚模型实验研究方法概述 [J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(1): 93-95.
- [35] 赵冉, 王育苗, 黄树杰, 等. 金仁陈子方对小鼠脾虚模型肠道菌群的影响研究 [J]. 医学研究杂志, 2014, 43(6): 59-62.
- [36] 马潇, 康安, 徐珊, 等. 麸炒苍术不同提取物对小鼠脾虚泄泻的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(3): 292-297.
- [37] 刘芬, 刘艳菊, 田春漫. 苍术提取物调节脾虚证大鼠胃肠动力障碍的作用机制研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(12): 825-829.

[责任编辑 郑礼胜]