

# 不同炮制工艺附子煎煮液的急性毒性探讨

沈玉巧<sup>1</sup>, 林华<sup>2\*</sup>, 邓广海<sup>2</sup>, 贾雪岩<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广东省中医院 药学部, 广州 510120)

**【摘要】** 目的:研究附子新型炮制品煎煮液的急性毒性。方法:SPF级KM小鼠50只,雌雄各半,适应性喂养后,随机分为正常组、黑顺片组、高温片组、高压片组、微波片组,每组10只。正常组ig 0.04 mL·g<sup>-1</sup>蒸馏水,其他各组ig给予高温、高压、微波炮制品及黑顺片的煎煮液,进行最大给药量观察实验。结果:与正常组比较,黑顺片、高温、高压、微波组(48 g·kg<sup>-1</sup>)小鼠体重在灌胃过程中并没有明显差异,与正常组比较,高压片与微波片小鼠心脏指数有明显的升高,高温片与微波片组小鼠肝脏指数、脾脏指数有明显的降低,均具有统计学差异( $P < 0.05$ ),其他的脏器指数无明显统计学差异。病理观察显示,与正常组比较,给药组的心肌细胞边界模糊,胞浆肿胀,胞核模糊,心肌纤维排列紊乱;肝小叶界限模糊不清,胞浆肿胀,肝窦数量减少;肾脏切片可见肾小球肾炎,肾小管细胞也有些肿胀变形。结论:4种炮制品的最大给药量为生药48 g·kg<sup>-1</sup>,相当于临床成人日用药量(15 g·60 kg<sup>-1</sup>)的192倍。3种新型炮制工艺的附子临床用药较为安全。

**【关键词】** 新型炮制工艺; 附子; 煎煮液; 急性毒性

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2015)12-0121-04

**【doi】** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015120121

**Acute Toxicity of Different Processed Products of Aconiti Lateralis Radix** SHEN Yu-qiao<sup>1</sup>, LIN Hua<sup>2\*</sup>, DENG Guang-hai<sup>2</sup>, JIA Xue-yan<sup>1</sup> (1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

**【Abstract】** **Objective:** To study the acute toxicity of different processed products of Aconiti Lateralis Radix. **Method:** Fifty SPF Kunming mice, half male and half female, were randomly divided into the normal group (normal saline), the Heishunpian group, the high-temperature group, the high-pressure group and the microwave group of 10 mice each. The maximum amounts of the corresponding medicines were intragastrically administered to mice and the acute toxicity was observed. **Result:** Compared with the normal group, cardiac index increased in the high-pressure and microwave groups, hepatic and spleen index decreased in the high-temperature and microwave groups. There was statistical significance for the difference ( $P < 0.05$ ). No obvious changes for body weight and other visceral indexes were found. The pathology results showed that there was serious toxicity in heart, liver and kidney of mice. **Conclusion:** The maximum amount of three processed products of Aconiti Lateralis Radix was 48 g·kg<sup>-1</sup> for mice, which was 192 times higher than the clinical dosage in humans. Three new processing products of Aconiti Lateralis Radix would be safe in clinical application.

**【Key words】** new processing technology; Aconiti Lateralis Radix; decoction; acute toxicity

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* 的子根加工品,具有回阳救逆,补火助阳,温经止痛等功效<sup>[1]</sup>。附子主要用于亡阳虚脱,心腹冷痛,阳痿,宫冷,虚寒吐泻,寒湿痹痛等证。乌头类生物碱既是附子的活性成分,也是有效成分<sup>[2]</sup>。乌头类生物碱特别是双酯型生物碱,如次乌头碱、乌头碱、新乌头

碱等毒性极大<sup>[3]</sup>,很容易导致人体中毒,同时双酯型生物碱在加热、酸碱条件下很容易水解变成毒性很小的单酯型生物碱。因此附子的炮制历来讲究减毒,传统炮制工艺经过各种繁琐的炮制后,毒性往往大大降低,但有效成分也往往偏低<sup>[4]</sup>。课题组在前期对附子高温<sup>[5]</sup>、高压<sup>[6]</sup>、微波<sup>[7]</sup>炮制工艺进行了

**【收稿日期】** 20141028(018)

**【基金项目】** 广东省自然科学基金项目(S2013010014082)

**【第一作者】** 沈玉巧,硕士,从事中药鉴定中药质量控制研究,Tel:15989076179,E-mail:569051290@qq.com

**【通讯作者】** \*林华,主任中药师,硕士生导师,从事中药质量控制和安全性评价研究,Tel:13600468665,E-mail:lh33895380@163.com

大量实验研究,优选出了各种炮制工艺的最佳条件。为了进一步验证新型炮制工艺的科学性及为附子炮制工艺的改进提供一定的实验依据,进行各炮制品煎煮液的急性毒性实验。

### 1 材料

**1.1 动物** KM小鼠,SPF级,雌雄各半,体重18~22g,由广东省医学实验动物中心提供,动物合格证号SCXK(粤)2013-0002。

**1.2 药物及试剂** 附子药材(批号20130812)由康美药业股份有限公司(产地四川江油)提供,经广东省中医院主任中药师林华鉴定为毛茛科植物乌头的子根,高温片(批号20140221),高压片(批号20131227),微波片(批号20140225),黑顺片(批号20131230),自制完成。

**1.3 器材** AU220型分析天平(日本岛津公司),RV10basic V型旋转蒸发仪(德国IKA公司),GZZ500型蒸煮夹层锅,GT<sub>7</sub>C<sub>5</sub>-3型润药机(卧式灭菌锅),CT-C-II型热风循环烘箱,均由周口制药机械厂有限公司生产,P7021TP-6型格兰仕微波炉(广东格兰仕集团有限公司)。

### 2 方法

**2.1 附子炮制品的制备** 取同一批次的药材进行分别炮制

**2.1.1 黑顺片<sup>[1]</sup>** 按照2010年版《中国药典》要求进行炮制。

**2.1.2 高温片<sup>[5]</sup>** 取大小均匀的附子生品洗净,24h换1次胆巴水,泡至透心,切片,在120℃下烘制12h,即得。

**2.1.3 高压片<sup>[6]</sup>** 取大小均匀的附子生品洗净,喷洒适量胆巴水,闷润30min,在0.1MPa的压力下蒸制150min,切片,50℃烘至干,即得。

**2.1.4 微波片<sup>[7]</sup>** 取大小均匀的附子生品洗净,喷洒胆巴水适量,使附子润至透心,切片,微波炉中火炮制25min,即得。

**2.2 附子不同炮制品煎煮液的制备** 取各炮制品

适量,先加10倍量水煎煮1h,再加8倍量水煎煮30min,合并2次水煎液,浓缩成1.2g·mL<sup>-1</sup>。

**2.3 附子水煎液最大耐受量实验** 经过预试验,黑顺片、高温片、高压片、微波片煎煮液灌胃KM小鼠均能引起一些毒性反应,但并不引起动物死亡,故均进行最大给药量实验。正式实验时,4种煎煮液分别实验。取小鼠50只,适应性喂养后,随机分为正常组、黑顺片组、高温片组、高压片组、微波片组,每组10只,雌雄各半。实验前禁食不禁水12h,正常组ig蒸馏水0.04mL·g<sup>-1</sup>,各给药组ig相应药液0.04mL·g<sup>-1</sup>,各炮制品煎煮液浓度均为1.2g·mL<sup>-1</sup>,给药剂量48g·kg<sup>-1</sup>,1d ig 1次。常规饲养14d,逐日观察小鼠的进食、饮水、自发活动、精神活动、四肢活动、大小便、毛发光泽等,并且详细记录可能出现的一些毒性反应以及开始和消失时间点。同时给药后第5,10,14天测定小鼠体重及给药后第3,6,8,10,14天测定小鼠的进食量。实验结束后,取心、肝、脾、肺、肾称重,计算脏器指数。同时取各组小鼠的心、肝、肾组织,经10%福尔马林固定,HE染色,光镜下进行组织病理学观察。

**2.4 统计学分析** 采用SPSS 19.0软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析,以P<0.05为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 最大耐受量实验** 黑顺片、高温片、高压片、微波片煎煮液ig小鼠14d后,虽然有一定的毒性反应,但并不引起动物的死亡。

**3.2 毒性反应** 4种煎煮液ig后,中毒症状多发生在给药后30min内,个别小鼠出现扎堆,活动减少,呼吸急促,反应迟钝等症状,一般在2h后毒性症状消失,且不同给药组差异不明显。

**3.3 对小鼠体重和进食量的影响** 与正常组比较,黑顺片、高温、高压、微波组小鼠体重在灌胃过程中并没有明显差异。见表1。进食量也没有明显不同。见图1。

表1 不同炮制工艺的附子煎煮液对小鼠体重的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effects of different processed products of Aconiti Lateralis Radix on body weight of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	体重/g			
		给药前	药后5d	药后9d	药后14d
正常	-	25.00 ± 1.54	32.83 ± 3.24	35.83 ± 4.13	36.92 ± 4.32
黑顺片	48	25.33 ± 0.98	31.83 ± 3.21	34.08 ± 4.29	35.17 ± 3.97
高温片	48	25.58 ± 1.73	31.17 ± 2.21	34.17 ± 2.76	35.50 ± 3.09
高压片	48	25.33 ± 1.07	31.67 ± 2.93	33.92 ± 3.80	35.00 ± 3.69
微波片	48	25.25 ± 1.27	30.75 ± 1.54	33.25 ± 2.26	35.25 ± 2.73

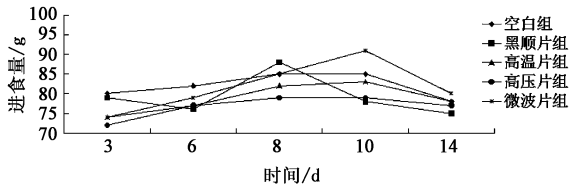


图 1 不同炮制工艺的附子煎煮液对小鼠进食量的影响  
Fig.1 Effects of different processed products of Aconiti Lateralis Radix on food-intake of mice

3.4 对小鼠主要脏器系数的影响 与正常组比较, 高压片与微波片小鼠心脏指数有明显的升高; 高温片与微波片组小鼠肝脏指数、脾脏指数有明显的降低。其他的脏器指数无明显统计学差异。与黑顺片组比较, 高压片与微波片组小鼠心脏指数有明显的升高, 高温片组小鼠的脾脏指数、肺脏指数均有明显的降

低; 微波片组小鼠的脾脏指数也有明显的降低。见表 2。

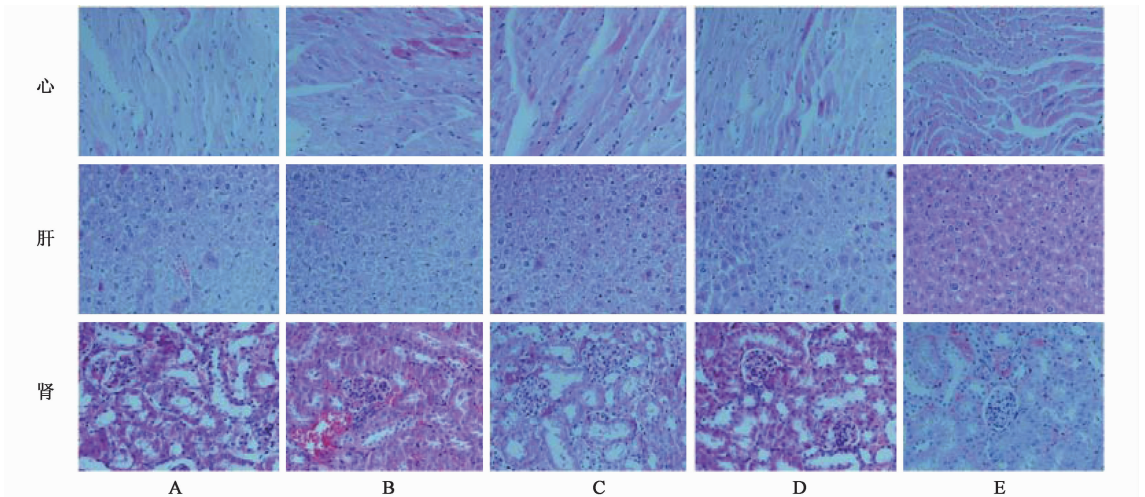
3.5 对小鼠心、肝、肾组织病理学的影响 正常组小鼠的心脏心肌细胞界限清晰, 胞核多且明显, 心肌纤维排列整齐, 界限明显; 肝组织中肝窦数量多且清楚, 肝小叶界限明显; 肾组织中肾小管排列整齐, 肾小球清晰。与正常组比较, 给药组的心肌细胞边界模糊, 胞浆肿胀, 胞核模糊, 心肌纤维排列紊乱。肝小叶界限模糊不清, 胞浆肿胀, 肝窦数量减少。肾脏切片可见肾小球肾炎, 肾小管细胞也有些肿胀变形。说明各种炮制后的附子虽然毒性较生品大大减小<sup>[8]</sup>, 但对于动物的各主要脏器仍存在毒性作用。提示临床上在注意附子疗效的同时也得注意其用量, 不能通过盲目增加剂量来达到增大疗效的目的。见图 2。

表 2 不同炮制工艺的附子煎煮液对小鼠心、肝、脾、肺、肾脏器系数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effects of different processed products of Aconiti Lateralis Radix on organ coefficient of heart, liver, spleen, lung, kidney in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	脏器系数/ $g \cdot kg^{-1}$				
		心	肝	脾	肺	肾
正常	-	4.37 ± 0.24	54.61 ± 5.03	3.04 ± 0.20	5.88 ± 0.46	13.68 ± 0.96
黑顺片	48	4.35 ± 0.41	52.62 ± 4.61	3.23 ± 0.42	6.28 ± 0.62	12.75 ± 1.18
高温片	48	4.50 ± 0.24	48.22 ± 3.66 <sup>1,2)</sup>	2.54 ± 0.26 <sup>1,2)</sup>	5.69 ± 0.31 <sup>2)</sup>	12.43 ± 1.80
高压片	48	4.73 ± 0.25 <sup>1,2)</sup>	55.20 ± 1.84	2.96 ± 0.55	6.08 ± 0.30	12.68 ± 1.77
微波片	48	4.74 ± 0.39 <sup>1,2)</sup>	50.34 ± 2.90 <sup>1)</sup>	3.19 ± 0.34	5.66 ± 0.50 <sup>2)</sup>	13.36 ± 1.13

注: 与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; 与黑顺片组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 。



A. 正常组; B. 黑顺片组; C. 高温片组; D. 高压片组; E. 微波片组  
图 2 不同炮制工艺的附子煎煮液对小鼠心、肝、肾组织病理学的影响

Fig.2 Effects of different processed products of Aconiti Lateralis Radix on heart, liver, kidney tissue pathology in mice

#### 4 讨论

不同炮制工艺的附子炮制品煎煮液的急性毒

性实验表明, 4 种炮制品煎煮液以最大给药量生药 48  $g \cdot kg^{-1}$   $ig$  小鼠 14 d 出现了一些毒性反应, 但都

没有导致动物死亡。各炮制品组的体重与进食量无统计学差异。由此可见,新型炮制工艺的附子毒性与传统炮制工艺比较并无明显区别。附子的炮制主要也就是一个减毒的过程,经过泡、浸、漂等过程,附子中的双酯型毒性生物碱由于不稳定而大量分解<sup>[9]</sup>。研究表明经过炮制的附子毒性已经很小了。

由脏器系数比较可以发现:与黑顺片比较,高温片、微波片组有些脏器系数成下降趋势,提示可能是由于它们的毒性反应大于黑顺片组导致的。而黑顺片与高压片脏器系数比较,高压片的脏器系数要大于黑顺片,其他脏器系数并无明显差异,提示高压片对于心脏的毒性可能要小于黑顺片。而由HE染色切片也可以看出附子4种炮制品对于心、肝、肾均有一定的损伤。同时高压组的心、肝、肾的病理切片表现的症状要轻于其他组,说明高压片对于主要脏器的毒副作用要小于其他3种炮制品。

综上所述,新型炮制工艺的附子虽然具有一定的毒性,但是毒性已经在安全范围之内。同时发现高压炮制工艺比传统炮制工艺制品的毒性更小,操作更简单可控,至于能否取代传统炮制工艺还要进行更广泛的毒理学及药效学研究。本实验为后续进一步研究提供了一定的参考依据。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:36-37.
- [2] Liu Y. Periodic solutions of nonlinear functional difference equations at nonresonance case [J]. J Math Appl, 2007, 327:801-805.
- [3] 王冬梅,王艳宏,李永吉,等. 附子毒性、药效物质基础及分析方法研究进展[J]. 黑龙江医药, 2011, 24(1): 45-48.
- [4] 邵峰,李赛雷,刘荣华,等. 附子不同炮制品镇痛抗炎作用研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(10): 2329-2332.
- [5] 林华,方莉,龚又明,等. 附子高温烘制工艺的正交试验追加法优选[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(6): 1382-1385.
- [6] 方莉,林华,邓广海,等. 正交试验法优选附子高压蒸制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 20-24.
- [7] 区炳雄,龚又明,林华,等. 川乌微波炮制工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 39-42.
- [8] 周子渝,熊永爱,黄勤挽,等. 附子不同炮制品及其部位急性毒性研究[J]. 成都中医药大学学报, 2012, 35(3): 63-66.
- [9] 叶定江,原思通. 中药炮制学辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2005:275.

[责任编辑 周冰冰]

## 《中国实验方剂学杂志》声明

本刊近期发现有某些网站使用类似本刊网站的域名,冒用本刊名义,收取高额审稿费及版面费。

现本刊郑重声明:①本刊不会以任何名义收取任何审稿费。

②<http://www.syfjxzz.com> 为本刊唯一域名。

对于假冒本刊名义、侵犯本刊权利的不正当行为,本刊将通过法律程序进行维权。