

醋制对京大戟毒性和药效的影响

张乐林, 葛秀允, 孙立立*, 孙付军
(山东省中医药研究院, 济南 250014)

[摘要] **目的:**考察醋制对京大戟的毒性和药效的影响。**方法:**昆明种小鼠,分别灌胃给予京大戟和醋京大戟石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、水提物和醇提物样品溶液,各样品剂量为(生药量)3.9 g·kg⁻¹,进行碳末肠推进试验、利尿试验和小鼠耳肿胀试验。**结果:**乙酸乙酯部位是京大戟的毒性部位。京大戟和醋京大戟的半数致死量(LD₅₀)分别为160.3, 234.8 g·kg⁻¹,二者95%可信区间分别为(142.5~180.3), (209.7~262.8) g·kg⁻¹。醋制后京大戟毒性明显降低。与空白对照组相比,京大戟、醋京大戟醇提物、石油醚部位、乙酸乙酯部位可明显促进小肠推进运动和利尿作用($P < 0.05$),并且二者的乙酸乙酯部位肠推进作用和利尿作用非常明显($P < 0.01$),与生品各组比较,醋制后各组墨汁推进率和利尿作用皆有所降低,药性缓和。醋制后乙酸乙酯部位抗炎作用较生品明显提高($P < 0.05$),抗炎作用增强。**结论:**京大戟的乙酸乙酯部位既是其毒性部位,又是其药效学主要部位。京大戟醋制后药性缓和,毒性作用显著降低,抗炎作用明显增强。

[关键词] 京大戟; 醋京大戟; 急性毒性; 泻下作用; 利尿作用; 抗炎作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0276-04

[doi] 10.11653/syfy2013190276

Impact of Vinegar Processing on Toxic and Pharmacological Actions of *Euphorbia pekinensis*

ZHANG Le-lin, GE Xiu-yun, SUN Li-li*, SUN Fu-jun
(Shandong Provincial Academy of Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To study the impact of vinegar processing on toxic and pharmacological actions of *Euphorbia pekinensis*. **Method:** The different concentration samples of different polarity parts of *Euphorbia pekinensis* and vinegar-processing *E. pekinensis* were administered in mice. The toxic reactions were recorded. The different polar samples of *E. pekinensis* and vinegar-processing *E. pekinensis* were administered in mice which were divided randomly into groups, the dose of samples were 3.9 g·kg⁻¹ (equal to crude herb). Charcoal powder movement in small intestine peristalsis, diuretic effect and anti-inflammatory effect were employed to evaluate the effects of the water and ethanol extractions and different polar parts of *E. pekinensis* and Vinegar-processed *E. pekinensis*. **Result:** The medium lethal dose (LD₅₀) was calculated by SPSS 13.0. The LD₅₀ of *E. Pekinensis* and vinegar-processed *E. Pekinensis* was 160.3, 234.8 g·kg⁻¹, its 95% confidence interval was 142.5-180.3 g·kg⁻¹ and 209.7-262.8 g·kg⁻¹ respectively. As compared with the control group, the purgative effect and diuretic effect of the ethanol extractions and different polar parts of *E. pekinensis* and vinegar-processed *E. pekinensis* had significant differences ($P < 0.05$). The effects of the parts of ethyl acetate is strongest ($P < 0.01$). The purgative effect and diuretic effect of Vinegar-processed *E. pekinensis* were reduced. anti-inflammatory effects of ethyl acetate of vinegar-processed *E. pekinensis* was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** The ethyl acetate extraction shows toxicity of *E. pekinensis* and pharmacodynamics effects. Vinegar-processed *E. pekinensis* can

[收稿日期] 20121012(009)

[基金项目] 2008年中医药行业科研专项(200807039);山东省中医药科技发展计划项目(2011-172)

[第一作者] 张乐林, 硕士, 研究实习员, 从事中药炮制原理与中药新药研究工作, Tel:0531-82949829, E-mail:zhanglelin_01@163.com

[通讯作者] * 孙立立, 研究员, 从事中药炮制原理与中药新药研究, Tel:0531-82949829, E-mail:xingerx@163.com

significantly reduce efficacy and toxicity, increase anti-inflammatory effect.

[**Key words**] *E. pekinensis*; vinegar-processed *E. pekinensis*; acute toxicity; purgative effect; diuretic effect; anti-inflammatory effect

京大戟为大戟科植物大戟的干燥根,具泻水逐饮、消肿散结的功效,常用于水肿胀满、胸腹积水、痰饮积聚、气逆咳喘、二便不利、痈肿疮毒、瘰疬痰核^[1]。味苦、性寒、有毒,临床多使用京大戟醋制品^[2]。目前,京大戟醋制原理尚不明确,影响临床用药安全和疗效^[3]。本文从毒性和药理方面对京大戟、醋京大戟水和乙醇提取物及其不同极性部位的毒性、泻下、利尿和抗炎作用进行了研究^[4],旨在找出其药效作用部位和毒性部位,并比较京大戟醋制前后毒性和药效作用的变化,为探讨京大戟醋制减毒增效的炮制原理,保证临床用药安全有效提供依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种 SPF 级小鼠,体重 20 ± 2 g,雌雄各半,由山东大学实验动物中心供应,许可证号 SCXK(鲁)20090001。

1.2 试剂与药品 京大戟药材购自安徽省亳州市药材总公司,经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定为大戟科大戟属植物京大戟 *Euphorbia pekinensis* Rupr. 的干燥根。10% 碳末生理盐水溶液(由山东省中医药研究院药理实验中心制备,批号 20101002),巴豆油混合致炎剂(巴豆油 0.4 mL,加入 14.6 mL 乙醚,1 mL 蒸馏水,4 mL 无水乙醇,由山东省中医药研究院配制药理实验中心制备,批号 20101001),其余试剂均为分析纯。

1.3 仪器 德国 Sartorius 10-5 型电子天平(德国 Sartorius 公司),HH-4 型数显恒温水浴锅(金坛市晶玻试验仪器厂),RE2000 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),循环水式多用真空泵(真州长城科工贸有限公司)。

2 方法与结果

2.1 药材炮制与样品的制备 取京大戟药材净选,粉碎,过 24 目筛,备用;另取净京大戟适量,置锅内,加米醋(药材与醋的比例为 10:3),按照醋水比 1:9 加水,醋水混合均匀,倒入锅内,闷润 30 min,小火加热,煮至醋水液吸尽,取出晾至稍干,切厚片,阴干后粉碎,过 24 目筛,备用。分别取上述京大戟和醋京大戟粉末,依次加石油醚、乙酸乙酯索氏提取至无色,回收溶剂,得浸膏,备用;乙酸乙酯提取后的药渣,加 10 倍 95% 乙醇提取 2 次,每次 1 h,过滤,得

滤液,回收乙醇至无醇味,加水混悬,加正丁醇萃取至无色,回收正丁醇得正丁醇部位浸膏;正丁醇萃取剩余混悬液,减压蒸干分别得京大戟和醋京大戟水部位浸膏。取生品和醋制品药材粉末各 100 g,加 10 倍量蒸馏水,加热回流提取 3 次(2,1.5,1 h),合并提取液,60 °C 减压浓缩得浸膏;同法制备京大戟和醋京大戟醇提物。取京大戟和醋京大戟石油醚、乙酸乙酯、正丁醇部位和水部位浸膏,加 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液,研磨均匀,制成含生药 $10.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,作为急性毒性预试验样品;醋京大戟药典用量为 1.5 ~ 3 g,给药剂量拟按照小鼠临床等效剂量的 10 倍,京大戟各极性部位和水提物和醇提物均配制成含生药 $1.95 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,作为药效实验样品。

2.2 急性毒性试验

2.2.1 京大戟毒性部位的确定 取小鼠称重、分组,每组 6 只,雌雄各半,京大戟和醋京大戟各提取部位按含生药 $250 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig 1 次,观察小鼠 7 d 内的存活状况并记录,以确定其毒性部位。小鼠给药后京大戟和醋京大戟乙酸乙酯部位组表现为自主活动减少、进食减少、腹泻、小便失禁等现象。其他极性部位组未见异常。连续观察 7 d,只有京大戟和醋京大戟乙酸乙酯部位组有小鼠死亡,其他极性部位和水提取、醇提物组小鼠正常。结果表明京大戟的主要毒性部位为乙酸乙酯部位。见表 1。

2.2.2 京大戟和醋京大戟小鼠半数致死量(LD₅₀)的测定

预试验:根据上述实验结果京大戟乙酸乙酯部位是其毒性部位。取京大戟和醋京大戟乙酸乙酯部位浸膏,加 0.5% CMC-Na 溶液,研磨均匀,京大戟和醋京大戟质量浓度(生药量)分别为 $7.9, 15.6 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。根据预实验找出 D_{\min} 。京大戟生品 D_{\max} 为 $239 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, D_{\min} $81 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;京大戟生品 D_{\max} 为 $375 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, D_{\min} $153 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

正式试验:取小鼠 100 只,随机均分为 10 组,将 10 组小鼠分为京大戟和醋京大戟各 5 组。在预试验测得 D_{\max} 和 D_{\min} 的范围内选择 5 个剂量组,组间剂量比为 0.8,京大戟 5 个剂量组为 239, 191, 153, 122, 98 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,醋京大戟 5 个剂量组为 375, 300, 240, 192, 153 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。试验前小鼠禁食不禁水 1 h,试验从中间剂量开始,京大戟中间剂量为 153 $\text{g} \cdot$

表 1 京大戟毒性部位的确定

只

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	死亡动物数							死亡小鼠 总数
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	
生品	石油醚部位	250	0	0	0	0	0	0	0
	乙酸乙酯部位	250	2	3	1	0	0	0	6
	正丁醇部位	250	0	0	0	0	0	0	0
	水部位	250	0	0	0	0	0	0	0
	醇提物	250	0	0	0	0	0	0	0
	水提物	250	0	0	0	0	0	0	0
醋制品	石油醚部位	250	0	0	0	0	0	0	0
	乙酸乙酯部位	250	0	2	1	0	0	0	3
	正丁醇部位	250	0	0	0	0	-	0	0
	水部位	250	0	0	0	0	-	0	0
	醇提物	250	0	0	0	0	-	0	0
	水提物	250	0	0	0	0	-	0	0

kg⁻¹, 醋京大戟中间剂量为 240 g·kg⁻¹, 按 30 mL·kg⁻¹ 单次剂量 ig。给药后观察 7 d, 记录中毒反应、死亡例数、死亡状态^[5-7]。在给药 1 h 后部分动物开始出现烦躁、呼吸增强、全身抖动、卷缩等中毒症状, 直至中毒死亡。对死亡动物进行解剖发现小鼠肠系膜极度充血, 肠容积显著膨大。急性毒性试验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析, 采用 Probit 概率单位加权回归法计算京大戟和醋京大戟对小鼠的 LD₅₀ 及置信区间。京大戟生品和醋制品 LD₅₀ 分别为 160.3, 234.8 g·kg⁻¹, 二者 95% 可信区间分别为 142.5, 180.3 g·kg⁻¹, 209.7 ~ 262.8 g·kg⁻¹。醋京大戟 LD₅₀ 与京大戟比较明显增加, 提高了 46.75%, 说明京大戟醋制后毒性明显下降。

2.3 促小肠运动试验 健康小鼠 110 只, 随机均分为 11 组。实验前 24 h 小鼠禁食不禁水, 实验当天各组给予相应的样品 3.9 g·kg⁻¹ (加入碳末至含量为 10%) ig, 空白组给予同体积 10% 碳末蒸馏水混悬液, 按照 20 mL·kg⁻¹, ig。给药 15 min 后立即脱颈椎处死小鼠, 打开腹腔, 分离肠系膜, 剪取上至幽门、下至回盲部的肠管, 测量肠长度为“小肠总长度”。从幽门至碳末前沿的距离作为“碳末在肠内推进距离。”计算小肠推进率。将小肠内容物取出, 称重, 计算肠容积^[8]。

$$\text{碳末推进率} = \frac{\text{碳末在肠内推进距离}}{\text{小肠总长度}} \times 100\%$$

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, *t* 检验进行组间统计学处理。P < 0.05 差异有统计学意义 (以下均同)。

结果表明, 京大戟和醋京大戟乙酸乙酯部位促肠运动作用最强; 与生品相比较, 醋制后各部位组泻下作用皆有所降低, 并以乙酸乙酯部位作用降低最为显著 (P < 0.01)。说明京大戟泻下作用的主要

部位为乙酸乙酯部位, 醋制后泻下作用减弱。见表 2。

表 2 醋制对京大戟促小肠运动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	小肠推进率 /%	肠容积 /g
空白对照	-	43.06 ± 1.29	1.974 ± 0.01
生品	石油醚部位	3.9	58.85 ± 1.34 ¹⁾
	乙酸乙酯部位	3.9	75.48 ± 1.20 ¹⁾
	正丁醇部位	3.9	56.38 ± 1.73 ¹⁾
	水提物	3.9	65.23 ± 1.72 ¹⁾
	醇提物	3.9	55.15 ± 1.01 ¹⁾
醋制品	石油醚部位	3.9	59.70 ± 1.95 ¹⁾
	乙酸乙酯部位	3.9	69.64 ± 1.91 ^{1,4)}
	正丁醇部位	3.9	52.20 ± 1.58
	水提物	3.9	56.31 ± 1.46 ¹⁾
	醇提物	3.9	48.10 ± 1.81

注: 与空白对照组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01; 醋制品与生品对应组间比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01 (表 3 ~ 4 同)。

2.4 利尿试验 取体重小鼠 110 只, 雌雄各半, 购进后适应性饲养观察 1 d, 然后随机分为 11 组, 按体重、性别均匀分为对照组及各样品组, 每组 10 只, 雌雄各半, 实验前 24 h 小鼠禁食不禁水, 实验当天各组给予相应受试药物 3.9 g·kg⁻¹, 对照组给予同体积蒸馏水, 按照 20 mL·kg⁻¹, ig, 给药后立即放入已称棉花质量的烧杯中, 30 min 后各组小鼠 ip 0.6% 的醋酸 10 mL·kg⁻¹, 1 h 后再次 ip 生理盐水 0.6 mL/只, 注射后立即将小鼠放入烧杯中, 分别于给药后 1, 2, 4, 6 h 称量棉花质量并记录。计算在不同时间段棉花质量的变化。结果表明, 京大戟和醋京大戟乙酸乙酯部位具有较强的利尿作用。与生品比

较,醋制后各部位组利尿作用皆有所降低,并以乙酸乙酯部位作用减弱最显著($P < 0.01$)。说明京大戟利尿作用的主要部位为乙酸乙酯部位,醋制后利尿作用减弱^[9]。见表3。

表3 醋制对京大戟利尿作用的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	总尿量/mg	
空白对照	-	253.67 ± 1.54	
生品	石油醚部位	3.9	1 008.62 ± 1.92 ¹⁾
	乙酸乙酯部位	3.9	1 151.18 ± 1.13 ²⁾
	正丁醇部位	3.9	857.83 ± 1.21 ¹⁾
	水提物	3.9	795.90 ± 1.76 ¹⁾
	醇提物	3.9	731.42 ± 1.43 ¹⁾
醋制品	石油醚部位	3.9	513.11 ± 1.56 ^{1,3)}
	乙酸乙酯部位	3.9	550.53 ± 1.68 ^{2,4)}
	正丁醇部位	3.9	508.71 ± 1.23 ^{1,3)}
	水提物	3.9	389.90 ± 1.98
	醇提物	3.9	168.67 ± 1.67

2.5 抗炎试验^[10] 小鼠120只,按体重随机分为12组,每组10只。阳性对照阿司匹林0.29 g·kg⁻¹,京大戟各样品3.9 g·kg⁻¹ ig,1次/d,连续7d,末次给药1h后,于小鼠左耳两面涂抹巴豆油混合致炎剂0.1 mL/只,致小鼠耳肿,右耳不涂为正常耳。4h后脱颈椎处死小鼠,用9 mm打孔器冲下左耳和右耳同一部位的组织,于分析天平上称重。肿胀度以左耳与右耳的差值表示^[10]。结果表明,与空白对照组比较,只有醋制品乙酸乙酯部位的抗炎活性有明显差异($P < 0.05$)。比较生品组和醋制品组,醋制品中只有乙酸乙酯部位与生品的对应组有明显差异($P < 0.05$),说明京大戟醋制后抗炎作用增强。见表4。

表4 醋制对京大戟抗炎作用的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肿胀度/mg	
空白对照	-	12.2 ± 0.53	
阿司匹林	0.29	11.4 ± 0.84	
生品	石油醚部位	3.9	12.9 ± 0.85
	乙酸乙酯部位	3.9	12.6 ± 0.25
	正丁醇部位	3.9	12.9 ± 0.80
	水提物	3.9	10.5 ± 0.81
	醇提物	3.9	12.5 ± 0.32
醋制品	石油醚部位	3.9	12.7 ± 0.15
	乙酸乙酯部位	3.9	8.6 ± 0.12 ^{1,3)}
	正丁醇部位	3.9	12.8 ± 0.22
	水提物	3.9	12.3 ± 0.61
	醇提物	3.9	13.6 ± 0.51

3 小结

本文对京大戟醋制前后毒性和药理作用进行了比较研究,为保证京大戟安全、合理、有效的临床应用提供了依据。实验结果表明乙酸乙酯部位既是京大戟的毒性部位,又是药效作用主要部位;京大戟经醋制后毒性降低,药性缓和,抗炎作用增强。与传统炮制理论“炮制减毒增效、缓和药性”相一致,说明临床使用京大戟时内服醋制品的合理性和必要性。本课题组在本文研究的基础上,拟对京大戟化学成分进行全面的追踪,特别是京大戟炮制前后乙酸乙酯部位化学成分变化,并与毒性药效变化的相关性进行分析,以期阐明京大戟毒效物质基础和炮制减毒增效机制,进而促进京大戟炮制工艺规范化和饮片质量标准的制定^[11]。

[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:化学工业出版社,2010:209.
- [2] 邱韵紫,郁红礼,吴皓. 大戟科大戟属根类中药的毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(23):259.
- [3] 张乐林,孙立立. 京大戟现代研究概述[J]. 中华中医药学刊,2011,29(3):577.
- [4] 李尧尧,张志杰,王祝举,等. 近60年中药毒副作用及不良反应文献分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(15):213.
- [5] 钱利武,戴五好,王丽,等. 槐果碱及氧化槐果碱对小鼠的急性毒性[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(13):256.
- [6] 吴皓,葛秀允,郁红礼,等. 天南星科4种有毒中药针晶的晶型结构和其毒性的比较[J]. 中国中药杂志,2010,35(9):1152.
- [7] 何晓山,代蓉,陈秀红,等. 滇黄芩总黄酮急性毒性及抗实验性心律失常作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):150.
- [8] 李燕,隋峰,刘亮亮,等. 大黄各炮制品提取物泻下作用的比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):151.
- [9] 曾春晖,杨柯,刘海燕,等. 不同产地泽泻盐炙前后成分差异及利尿作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):148.
- [10] 闫荟,孙晓迪,刘守成. 海金护卫散微粉对小鼠抗炎及镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):157.
- [11] 李一飞,姚广涛. 商陆药理作用及毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):248.

[责任编辑 李玉洁]