

· 药剂与炮制 ·

## 醋炙降低芫花二氯甲烷部位对大鼠肝肾细胞毒性的分析

周琴蓉, 孙盼盼, 肖林焱, 刘其南, 张丽\*

(南京中医药大学江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 中药资源产业化与方剂  
创新药物国家地方联合工程研究中心, 南京 210023)

**[摘要]** 目的:比较醋炙前后芫花二氯甲烷提取物对于大鼠正常肝细胞 BRL 及大鼠正常肾细胞 NRK 的细胞毒性变化。  
方法:选择 BRL 及 NRK 细胞为研究对象,采用噻唑蓝(MTT)比色法评价生、醋芫花二氯甲烷部位对 BRL 与 NRK 活性的影响;  
测定 NRK 细胞中尿素氮(BUN),乳酸脱氢酶(LDH),谷胱甘肽(GSH)的含量,以及 BRL 细胞中丙氨酸氨基转移酶(ALT),天  
门冬氨酸氨基转移酶(AST),碱性磷酸酶(ALP),LDH,GSH 的含量,用于评价生、醋芫花二氯甲烷部位对 BRL 和 NRK 的氧化  
损伤作用。**结果:**与空白组相比,生芫花二氯甲烷部位对 NRK 和 BRL 细胞具有显著毒性,显著提高 NRK 细胞中 BUN 和 LDH  
的含量( $P < 0.05, P < 0.01$ );显著提高 BRL 细胞中 AST,ALT,ALP 和 LDH 的含量( $P < 0.05, P < 0.01$ );降低 NRK 和 BRL 细胞  
中的 GSH 含量。与生芫花二氯甲烷部位相应剂量组相比,醋芫花二氯甲烷部位相应剂量组能提高 NRK 和 BRL 的细胞活性,  
降低 NRK 细胞中 BUN 和 LDH 的含量,降低 BRL 细胞中 ALT,AST,ALP 和 LDH 的含量;提高 NRK 和 BRL 细胞中 GSH 的含  
量。**结论:**醋炙可降低芫花二氯甲烷部位对大鼠肝肾细胞的毒性,提高大鼠肝肾细胞功能与抗氧化能力。

**[关键词]** 芫花; 醋炙; NRK; BRL; 减毒; 肝肾细胞; 氧化损伤

**[中图分类号]** R22;R24;R28;R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)02-0035-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182203

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180827.1733.008.html>

**[网络出版时间]** 2018-08-28 15:21

## Effect of Processing with Vinegar on Hepatorenal Toxicity of Dichloromethane Site of Genkwa Flos

ZHOU Qin-rong, SUN Pan-pan, XIAO Lin-yan, LIU Qi-nan, ZHANG Li\*

(*Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization,  
National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and  
Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the hepatotoxicity on BRL and nephrotoxicity on NRK caused by dichloromethane site of Genkwa Flos before and after being processed with vinegar. **Method:** BRL of normal hepatocytes and NRK of normal renal cells in rats were selected as the subjects. Thiazolyl blue tetrazolium bromide method (MTT) was adopted to evaluate the effect of dichloromethane sites of raw and vinegar-processed products on cell activity of NRK and BRL. The levels or contents of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), glutathione (GSH), lactate dehydrogenase (LDH), blood urea nitrogen (BUN) were determined in cell culture supernatant and splitting supernatant for evaluation of their oxidative damage effect. **Result:** Compared with the blank group, dichloromethane site of raw products could obviously inhibit the cell activity of NRK and BRL, and increase the levels of AST, ALT, ALP and LDH ( $P <$

**[收稿日期]** 20180317(003)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81673599);江苏省“六大人才高峰”项目(2016-YY-026,2010-YY-009);江苏高校品牌专业建设工程项目(PPZY2015A070)

**[第一作者]** 周琴蓉,在读硕士,从事中药炮制学研究,E-mail:r790507807@gmail.com

**[通信作者]** \*张丽,博士生导师,教授,从事中药炮制与质量控制研究,E-mail:zhangliguanxiong@163.com

0.05,  $P < 0.01$ ) in BRL and decrease the content of GSH; meanwhile, it could obviously increase the levels of LDH and BUN ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and decrease the content of GSH in NRK. Compared with corresponding dose group of raw products, vinegar-processed products could improve cell activity of NRK and BRL, and decrease the levels of AST, ALT, ALP and LDH in BRL and increase the content of GSH; also, it decreased the levels of LDH and BUN and increased the content of GSH in NRK. **Conclusion:** Processing with vinegar can attenuate the hepatotoxicity and nephrotoxicity on NRK and BRL caused by dichloromethane site of Genkwa Flos, it can improve hepatic and renal function and antioxidant capacity.

[**Key words**] Genkwa Flos; processing with vinegar; NRK; BRL; reducing toxicity; hepatorenal cells; oxidative damage

芫花性温, 味苦、辛, 有毒<sup>[1]</sup>, 为传统的泻水逐饮药。临床用于治疗水肿胀满、胸腹积水、二便不利等证<sup>[2]</sup>。现代药理学研究发现, 芫花具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节、利尿泻下、镇咳祛痰等作用<sup>[3]</sup>。前期研究表明芫花的乙醇提取物具有肝毒性, 进一步研究结果显示芫花的三氯甲烷部位为致大鼠肝毒性部位, 能显著提升大鼠体内的丙氨酸氨基转移酶和天门冬氨酸氨基转移酶含量<sup>[4-5]</sup>。曹艳等<sup>[6]</sup>通过实验研究表明芫花作用于正常小鼠可升高其肾脏指数, 增加其体内肌酐含量。醋炙为芫花的基本炮制方法, 芫花经醋炙后可降低其毒性。研究表明芫花对于肝脏具有毒性<sup>[7-8]</sup>, 而肾脏作为人体主要的泻水器官之一, 可作为芫花泻水逐饮有效部位进行进一步考察, 但目前关于醋炙可降低芫花肝肾毒性的研究尚未见深入报道, 故本实验以大鼠肝、肾细胞为研究对象, 拟探讨芫花醋炙的减毒作用机制, 为该药材的临床应用提供参考。

## 1 材料

SW-CJ2F 型超净工作台(江苏苏净集团有限公司), TDZ4-WS 型高速离心机(湘仪集团有限公司), Powerwave X340 型全波长酶标仪(美国 Bio-Tek 公司), 3111 型 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

芫花购于河北安国, 经南京中医药大学岳薇副教授鉴定为瑞香科植物芫花 *Daphne genkwa* 的干燥花蕾; 大鼠肾细胞 NRK 和大鼠肝细胞 BRL(上海中科院细胞库), DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶和磷酸盐缓冲液(PBS)(美国 Gibco 公司, 批号分别为 12002-090, 12100-038, 27254-019, 12044-091), 噻唑蓝(MTT, Solarbio 公司, 批号 M9280); 考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒(批号 W041-20180901), RIPA 裂解液(中, 批号 P0013B), 丙氨酸氨基转移酶(ALT, 批号 20170729), 天门冬氨酸氨基转移酶(AST, 批号 20170828), 碱性磷酸酶(ALP, 批号 20170939), 尿

素氮(BUN, 批号 20171009), 微量还原型谷胱甘肽(GSH, 批号 2017079020), 乳酸脱氢酶(LDH, 批号 20170936)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

## 2 方法

**2.1 生、醋芫花提取物及其供试品溶液的制备** 取净选过后的干燥芫花花蕾, 打粉备用(过六号筛), 得生芫花。取净选过后的干燥芫花花蕾, 置于干净的托盘中, 将生芫花与米醋以 100:30 的比例拌匀, 闷透, 待醋被完全吸收后, 置文火预热锅中, 反复翻炒至表面微黄色, 微有醋香气, 取出, 放凉, 打粉备用(过六号筛), 得醋芫花。取芫花生、醋品粉末 200 g, 置 3 L 圆底烧瓶中, 加入 95% 乙醇 2 L, 加热回流 3 次, 每次 1.5 h; 合并提取液, 50 °C 减压回收提取溶剂至干, 得生、醋芫花醇提物浸膏(得率分别为 22.55% 和 19.24%)。取相当于生药量 20 g 的生、醋品醇提物浸膏, 加入适量水制备成混悬液, 加入二氯甲烷, 反复萃取至无色, 合并萃取液, 60 °C 减压浓缩得二氯甲烷部位浸膏, 溶于 5 mL 的二甲基亚砜(DMSO)中, 制成生药质量浓度为 4 g·mL<sup>-1</sup> 的母液。再以 DMEM 培养基等比例稀释, 得生药质量浓度分别为 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 g·L<sup>-1</sup> 的供试品溶液, 配好的各溶液以 0.22 μm 滤器推滤除菌, 备用。

**2.2 细胞常规培养** NRK, BRL 培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 置于 37 °C 恒温培养箱中培养。用含乙二胺四乙酸(EDTA)的 0.25% 胰蛋白酶消化传代, 取状态良好的细胞用于实验。

**2.3 MTT 比色法测定细胞相对抑制率** 取对数生长期的 NRK 和 BRL, 用含 EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶消化, 调密度分别为 8 000, 5 000 个/mL, 每孔 100 μL 接种于 96 孔板中, 置于 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 的饱和湿度培养箱中贴壁培养 24 h, 弃去培养基, 每孔加入质量浓度为 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 g·L<sup>-1</sup> 的各芫花供试品溶液 100 μL, 同时设置空白组, 每孔加入无血清 DMEM 培养液 100 μL, 每组设置 6 个复孔, 培养

48 h 后每孔加入新鲜配制的  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  MTT  $10 \mu\text{L}$ , 继续培养 4 h, 轻轻吸弃上清, 每孔加入 DMSO  $150 \mu\text{L}$ , 水平摇床混匀, 利用酶标仪于  $490 \text{ nm}$  处测定吸光度  $A$ 。按公式  $\text{IR} = (1 - A_{\text{给药组}} / A_{\text{空白组}}) \times 100\%$  计算各供试品溶液对大鼠 NRK 和 BRL 生长的抑制率 (IR)。

**2.4 生化指标检测** 将 BRL 和 NRK 制成单细胞悬液, 分别按  $50\,000, 8\,000$  个/mL 接种于 6 孔板上, 每孔 1 mL, 置于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$   $5\% \text{ CO}_2$  及饱和湿度条件下细胞培养箱中培养 24 h, 每孔加入不同质量浓度的羌花二氯甲烷部位和醋炙后二氯甲烷部位供试品溶液 1 mL, 使各供试品的终质量浓度分别为 1, 0.5,  $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 同时设置空白组, 空白组加入等体积细胞培养液, 每组设 6 个复孔。培养 48 h 后收集细胞上清, 根据说明书检测细胞培养上清液中 LDH, ALT, AST, ALP 和 BUN 的含量, 再每孔用 PBS 洗 1 遍, 往板中加入 RIPA 细胞裂解液进行细胞裂解 15 min, 用细胞刮收集细胞, 于转速  $3\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min 后取细胞上清, 根据试剂盒说明书进行蛋白

定量及细胞裂解液中 GSH 含量检测。

**2.5 数据分析** 实验数据采用 SPSS 19.0 和 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析, 各组定量检测数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用最小显著性差异法 (LSD) 进行处理,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对大鼠 BRL 和 NRK 增殖的抑制作用** 与空白组相比, 生、醋羌花的二氯甲烷部位质量浓度在  $2 \sim 0.125 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  对 NRK 与 BRL 均有显著的细胞毒性 ( $P < 0.01$ ), 且其抑制作用均呈现出一定的量毒关系; 计算生羌花二氯甲烷部位对 NRK 与 BRL 的半抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 分别为  $0.441, 0.895 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。醋炙后, 与生羌花二氯甲烷部位相应剂量组相比, 醋羌花二氯甲烷部位组在  $0.25 \sim 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  能显著提高 NRK 的活性 ( $P < 0.01$ ), 在  $0.125 \sim 2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  能显著提高 BRL 的活性 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 计算醋羌花二氯甲烷部位对 NRK 与 BRL 的  $\text{IC}_{50}$  分别为  $0.841, 1.477 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。见表 1。

表 1 生、醋羌花二氯甲烷部位对 NRK 和 BRL 增殖的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 1 Inhibition of dichloromethane sites of raw and vinegar-processed products of Genkwa Flos on proliferation of NRK and BRL ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	质量浓度 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	NRK		BRL	
		A	抑制率/%	A	抑制率/%
空白	-	$0.766 \pm 0.023$	0	$0.786 \pm 0.026$	0
生羌花二氯甲烷部位	0.125	$0.643 \pm 0.034^{2)}$	$16.03 \pm 4.45$	$0.647 \pm 0.019^{2)}$	$14.22 \pm 2.45$
	0.25	$0.552 \pm 0.009^{2)}$	$27.99 \pm 1.17$	$0.637 \pm 0.056^{2)}$	$19.01 \pm 7.10$
	0.5	$0.379 \pm 0.046^{2)}$	$50.52 \pm 5.99$	$0.602 \pm 0.028^{2)}$	$23.45 \pm 3.57$
	1	$0.116 \pm 0.006^{2)}$	$84.91 \pm 0.81$	$0.420 \pm 0.029^{2)}$	$46.55 \pm 3.69$
	2	$0.107 \pm 0.087^{2)}$	$85.99 \pm 1.15$	$0.141 \pm 0.124^{2)}$	$82.06 \pm 1.58$
醋羌花二氯甲烷部位	0.125	$0.670 \pm 0.026^{2)}$	$15.17 \pm 4.97$	$0.755 \pm 0.029$	$3.92 \pm 3.68^{4)}$
	0.25	$0.608 \pm 0.017^{2)}$	$20.65 \pm 2.22^{4)}$	$0.708 \pm 0.012^{2)}$	$9.93 \pm 4.14^{3)}$
	0.5	$0.554 \pm 0.033^{2)}$	$27.73 \pm 4.31^{4)}$	$0.695 \pm 0.033^{2)}$	$11.53 \pm 4.14^{4)}$
	1	$0.400 \pm 0.039^{2)}$	$47.76 \pm 5.04^{4)}$	$0.551 \pm 0.040^{2)}$	$29.90 \pm 5.13^{4)}$
	2	$0.118 \pm 0.008^{2)}$	$84.55 \pm 1.03$	$0.257 \pm 0.022^{2)}$	$67.25 \pm 2.81^{4)}$

注: 与空白组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与生羌花二氯甲烷部位同剂量组相比<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$  (表 2, 3 同)。

**3.2 对大鼠肾细胞 NRK 肾功能指标的影响** 与空白组相比, 生羌花二氯甲烷部位各剂量组均能显著提高 NRK 细胞中 LDH 和 BUN 的含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 显著降低细胞中 GSH 含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。醋炙后, 与生羌花二氯甲烷部位相应剂量组相比, 醋羌花二氯甲烷部位相应剂量组能降低 NRK 中 LDH 和 BUN 的含量, 且大部分具有显著性

差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 明显升高 NRK 中 GSH 含量 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

**3.3 对大鼠肝细胞 BRL 肾功能指标的影响** 与空白组相比, 生羌花二氯甲烷部位各剂量组能降低 BRL 中 GSH 含量, 显著提高 BRL 中 LDH, AST, ALT, ALP 的含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。醋炙后, 与生羌花二氯甲烷部位相应剂量组相比, 醋羌花二氯甲

表 2 生、醋茺花二氯甲烷部位对大鼠肾细胞 NRK 中 GSH,LDH,BUN 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 2 Effect of dichloromethane sites of raw and vinegar-processed products of Genkwa Flos on contents of GSH, BUN, LDH in NRK ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	质量浓度/g·L <sup>-1</sup>	GSH/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	LDH/U·L <sup>-1</sup>	BUN/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
空白	-	44.529 ± 6.336	234.168 ± 23.89	0.267 ± 0.076
生茺花二氯甲烷部位	0.25	32.612 ± 5.101 <sup>1)</sup>	270.582 ± 6.286 <sup>1)</sup>	0.360 ± 0.024 <sup>1)</sup>
	0.5	27.675 ± 1.859 <sup>2)</sup>	310.828 ± 15.825 <sup>2)</sup>	0.723 ± 0.117 <sup>2)</sup>
	1	18.567 ± 3.195 <sup>2)</sup>	330.815 ± 12.722 <sup>2)</sup>	4.615 ± 0.220 <sup>2)</sup>
醋茺花二氯甲烷部位	0.25	42.485 ± 7.421 <sup>3)</sup>	263.162 ± 11.142	0.269 ± 0.070 <sup>3)</sup>
	0.5	32.739 ± 3.366 <sup>3)</sup>	273.370 ± 7.104 <sup>4)</sup>	0.300 ± 0.116 <sup>4)</sup>
	1	23.980 ± 3.852 <sup>3)</sup>	312.882 ± 7.100 <sup>3)</sup>	1.318 ± 0.079 <sup>4)</sup>

烷部位相应剂量组能提高 BRL 中 GSH 含量,降低 BRL 细胞中 LDH,AST,ALT 和 ALP 的含量。见表 3。

表 3 醋炙前后茺花二氯甲烷部位对大鼠肝细胞 BRL 中 GSH,LDH,AST,ALT,ALP 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 3 Effect of dichloromethane sites of raw and vinegar-processed products of Genkwa Flos on GSH, AST, ALT, ALP, LDH in BRL ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	质量浓度/g·L <sup>-1</sup>	GSH/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	LDH/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>	ALP/U·L <sup>-1</sup>
空白	-	52.167 ± 7.526	72.800 ± 17.999	1.704 ± 0.589	0.948 ± 0.252	1.447 ± 0.143
生茺花二氯甲烷部位	0.25	49.837 ± 3.927	109.600 ± 50.801 <sup>1)</sup>	4.348 ± 1.085 <sup>2)</sup>	2.229 ± 0.254 <sup>2)</sup>	1.748 ± 0.085 <sup>2)</sup>
	0.5	39.385 ± 12.291 <sup>2)</sup>	134.277 ± 29.171 <sup>2)</sup>	4.659 ± 0.840 <sup>2)</sup>	3.314 ± 1.007 <sup>2)</sup>	1.807 ± 0.053 <sup>2)</sup>
	1.0	29.813 ± 2.565 <sup>2)</sup>	165.867 ± 34.339 <sup>2)</sup>	8.060 ± 0.871 <sup>2)</sup>	7.719 ± 0.251 <sup>2)</sup>	1.858 ± 0.115 <sup>2)</sup>
醋茺花二氯甲烷部位	0.25	51.732 ± 7.192	74.359 ± 30.603 <sup>3)</sup>	2.192 ± 0.349 <sup>4)</sup>	1.596 ± 0.368 <sup>4)</sup>	1.706 ± 0.103
	0.5	46.831 ± 5.760 <sup>3)</sup>	93.149 ± 30.097 <sup>4)</sup>	2.470 ± 1.563 <sup>3)</sup>	2.820 ± 0.894	1.719 ± 0.026 <sup>4)</sup>
	1.0	33.710 ± 2.854 <sup>4)</sup>	105.846 ± 7.437 <sup>4)</sup>	5.630 ± 0.807 <sup>4)</sup>	4.934 ± 1.596 <sup>4)</sup>	1.752 ± 0.023 <sup>4)</sup>

#### 4 讨论

茺花作为传统的泻水逐饮药材,其利尿作用十分显著。中医临床常用含有茺花的十枣汤来治疗肝硬化腹水、恶性胸腔积液等,具有良好的利尿、消除积液作用<sup>[9]</sup>。李玉婷等<sup>[10]</sup>通过实验研究表明,灌服茺花单煎液可有效抑制肝癌腹水小鼠腹水量、腹围及体质量的异常增加,具有良好的泻水逐饮效果。但茺花对人的皮肤、消化道等有严重的刺激性,前期研究表明茺花醇提液、水提液均可致小鼠死亡<sup>[7]</sup>,这些都在一定程度上限制了茺花的临床应用。

在药物不良反应中,肝损伤占很大比例,而肝脏是人体最大的“加工厂”,承担着生物合成、代谢转化以及分泌排泄等重要功能,是药源性损伤的主要靶器官之一<sup>[11]</sup>。肾细胞体外模型<sup>[12]</sup>是最常用的药物肾毒性体外评价模型之一,可进行体外药物肾毒性的预测和评价。药物造成肾损伤的机制较为复杂,主要是通过影响细胞内外环境,引起细胞功能、代谢及增殖能力的改变,导致细胞形态发生变化。

故本实验选择大鼠肝、肾细胞作为研究对象进行实验设计。

醋炙是一种重要的中药炮制方法,早在《雷公炮制论》中就有记载<sup>[13]</sup>,2015 年版《中国药典》规定,茺花作为饮片应醋炙,100 kg 茺花用醋 30 kg,按醋炙法炒至表面微黄,微有醋香气即可<sup>[1]</sup>。前期研究表明,茺花的二氯甲烷部位为其毒性显著部位,其中分离所得到的茺花酯甲、乙、丙、丁、戊等成分对于大鼠小肠隐窝上皮细胞具有显著毒性,且能引发小鼠的肠黏膜上皮轻度或重度变性、坏死、炎细胞浸润<sup>[7]</sup>。施洁瑕等<sup>[8]</sup>研究发现,茺花二氯甲烷部位在一定剂量范围内能明显抑制人肝细胞 LO2 的生长,通过细胞亲和实验表明其中二萜原酸酯类代表性成分茺花酯甲对 LO2 具有显著的细胞毒作用,是茺花提取物中主要的活性物质。茺花醋炙后,醇提物中毒性代表成分茺花酯甲的含量明显降低<sup>[14]</sup>,提示茺花醋炙后二氯甲烷部位对肝肾细胞的毒性降低可能与其毒性代表物质二萜类化学成分含量降低有关。

本课题组前期研究表明,芫花不同溶剂提取部位对大鼠小肠 IEC-6 细胞的毒性以二氯甲烷部位最为显著,故本实验选择芫花的二氯甲烷部位作为研究对象。三氯甲烷为强烈致癌致畸化学试剂,是化学管制品,且实验所需的提取溶剂用量较大,故本实验选用与三氯甲烷结构相似,但毒性较三氯甲烷低的二氯甲烷为提取溶剂,其获取途径较为方便且易于回收,同时提取过程中又能基本保留芫花三氯甲烷部位的化学成分。

本文研究结果显示,芫花的二氯甲烷部位对于大鼠肝肾细胞具有明显的毒性,与施洁瑕等<sup>[8]</sup>的研究结果一致。本文从氧化损伤及相关肝肾细胞功能指标入手,结果表明芫花二氯甲烷部位毒性与其引起大鼠肝肾细胞的氧化损伤、降低肝肾功能有关。醋炙后,芫花二氯甲烷部位毒性明显降低,其醋炙减毒机制可能为降低其细胞膜的损伤、减少细胞内 LDH 溢出、提高细胞内抗氧化物 GSH 含量、降低相关肝细胞指标(ALT,AST,ALP)的溢出、降低相关肾功能指标(BUN)的溢出,进而使其抗氧化损伤能力提高。但本文并未深入研究生、醋芫花二氯甲烷部位的化学成分,后期将对芫花醋炙前后的二氯甲烷部位进行物质基础研究,分析芫花二氯甲烷部位致肝肾细胞毒性的主要化学成分,以及芫花醋炙前后主要化学成分种类及其含量的变化,深入探讨醋炙降低芫花毒性的机制,为芫花的临床应用提供参考。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:159.  
[2] 李逢菊,王芝春,吴伟. 芫花的研究概况[J]. 科技信息,2010,27(15):389-390.  
[3] 李玲芝,宋少江,高品一. 芫花的化学成分及药理作用研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2007,24(9):

587-592.

[4] GENG L, MA C, ZHANG L, et al. Metabonomic study of genkwa flos-induced hepatotoxicity and effect of herb-processing procedure on toxicity [J]. *Phyther Res*, 2013, 27(4): 521-529.  
[5] 袁杨,耿璐璐,庄贺飞,等. 芫花致肝毒性部位筛选及其肝毒性部位 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1): 70-74.  
[6] 曹艳,李森,梁晨. 芫花及醋炙芫花提取物对小鼠的肾脏毒性及利尿作用研究[J]. 医药导报, 2013, 32(增刊): 5-6.  
[7] 陈艳琰. 基于“十八反”的中药配伍禁忌理论基础研究-芫花-甘草配伍毒效表征与物质基础研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2014.  
[8] 施洁瑕,马宏跃,段金廛,等. UPLC-QTOF/MS 分析芫花诱导人肝细胞 L02 损伤的毒性物质基础[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 278-282.  
[9] 陈健. 十枣汤联合当归补血汤治疗肝硬化顽固性腹水的疗效观察[J]. 深圳中西医结合杂志, 2015, 25(17): 52-54.  
[10] 李玉婷,闫晨,郭晓东,等. 甘草对芫花抗小鼠肝癌腹水作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 107-112.  
[11] 宋捷,钟荣玲,夏智,等. 中药肝毒性研究方法技术的新进展及其应用[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 41-48.  
[12] 王磊,张金晓,张宗鹏,等. 肾细胞体外模型在药物评价与筛选中的应用[J]. 华西药学杂志, 2012, 27(5): 597-599.  
[13] 孙增民,刘福昌. 醋制在中药炮制中的应用[J]. 新疆中医药, 2002, 20(3): 50-51.  
[14] 李林,关洪月,殷放宙,等. HPLC-MS 测定芫花炮制前后 5 种成分含量变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(24): 66-70.

[责任编辑 刘德文]