

生乌头与制乌头提取物的药理评价

杨苗苗, 陈燕, 杨霖, 李孝栋*
(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

[摘要] **目的:**开展生乌头与制乌头提取物的药理研究与处方原料选择的评价,促进乌头类制剂的发展和临床应用。**方法:**按照乌头注射液的工艺,制得生草乌与生川乌(合称生乌头)以及制草乌与制川乌(合称制乌头)的混合提取物,以生药0.152 5 mg·g⁻¹为基础,配得生乌头与制乌头的不同剂量组,开展了镇痛、减慢心率、抑癌等药效和急性毒性、脏器观察等毒理实验,进行系统的分析与评价。**结果:**与空白组比较,生乌头与制乌头提取物均具有显著的镇痛作用,给药剂量相同时,生乌头注射液的疼痛抑制率(60.91%)比制乌头注射液的(53.42%)大,口服给药的生乌头提取物疼痛抑制率(73.94%)远大于制乌头提取物(29.97%)($P < 0.01$)。减慢心率实验,大鼠给药后第30 min的心率与0 min心率相比,随着给药剂量的增加,生乌头组依次呈现减慢、平稳、加快的趋势,制乌头组则表现为平稳、减慢、加快的顺序,表明生乌头提取物低剂量时可达到减慢心率的作用。噻唑蓝(MTT)比色法结果显示,生乌头与制乌头提取物均具有明显抑制胃癌AGS细胞增殖的作用,剂量相同时,生乌头提取液的抑制作用较制乌头的更强。大鼠急性毒性实验测得生乌头与制乌头提取液的半数致死量(LD₅₀)分别为3.9, 21.0 g·kg⁻¹,相当于临床剂量的4, 20倍,制乌头的LD₅₀是生乌头的5倍。中毒致死大鼠的解剖发现,肝、肾等脏器均已发黑,中毒症状明显,而临床及其以下剂量的大鼠,各脏器均为正常。**结论:**生乌头安全性比制乌头的小,但镇痛、减慢心率与抑癌作用来的大,建议乌头注射液等制剂在治疗胃、肝癌晚期等重症疼痛时,原料选用生乌头,治疗一般疼痛的乌头制剂选用制乌头提取物为处方,做到真正安全与疗效相结合地辨证施治。

[关键词] 乌头注射液; 生乌头; 制乌头; 安全有效; 处方评价

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)16-0044-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191023

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190211.2001.003.html>

[网络出版时间] 2019-02-12 14:07

Pharmacological Evaluation for Extracts of Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta

YANG Miao-miao, CHEN Yan, YANG Lin, LI Xiao-dong*

(College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

[Abstract] **Objective:** To carry out the studies of pharmacological action for extracts of Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta, and evaluate the selection of raw materials in prescriptions, in order to promote the development and clinical application of preparations. **Method:** The mixed extracts of Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta were prepared respectively according to the technique of aconitum injection, and different dose groups of Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta were established based on the dose of Aconiti Radix 0.152 5 mg·g⁻¹, and then applied in such pharmacodynamic tests as analgesia, heart rate reduction, antitumor effect and toxicology tests, such as acute toxicity and organ observation. The data were analyzed systematically on the basis of literatures. **Result:** Compared with blank group, the extracts of both Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta had a significantly analgesic effect. At the same dose, the pain inhibition rate of Aconiti Radix injection (60.91%) was higher than that of Aconiti Radix Cocta injection (53.42%), and the pain inhibition rate of Aconiti Radix extract

[收稿日期] 20181022(024)

[基金项目] 福建省科技厅引导性项目(2017Y0052)

[第一作者] 杨苗苗,在读硕士,从事中药制剂及质量控制方面研究, E-mail: ymm9698@163.com

[通信作者] *李孝栋,博士,教授,硕士生导师,从事中药物质基础、中药药物制剂及其复杂体系药代动力学的研究, E-mail: lxdtcm@163.com

for oral administration (73.94%) was also much higher than that of Aconiti Radix Cocta extract (29.97%), with significant differences ($P < 0.01$). In terms of heart rate reduction test, the heart rate of rats at 0 min was compared with that at 30th min after administration, the heart rate of the Aconiti Radix group was decreased first, then stabilized, and finally increased with the rise of the dose, while for the Aconiti Radix Cocta group showed a different trend of first stability, then decrease and finally increase. The result indicated the Aconiti Radix group had the effect in reducing heart rate in rats at a low dose. The survival inhibition rate was evaluated by 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). The extracts of both Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta had a significantly inhibitory effect on the proliferation of AGS gastric cancer cells, in which Aconiti Radix was stronger than that of Aconiti Radix Cocta at the same dose. In the acute toxicity test of rats, lethal dose 50% (LD₅₀) of Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta were 3.9 g·kg⁻¹ and 21.0 g·kg⁻¹ respectively, which were equivalent to 4 times and 20 times of the clinical dose. LD₅₀ of the extract of Aconiti Radix Cocta was 5 times than that of Aconiti Radix. The liver and kidney of dead rats were dark with obvious symptoms of poisoning after dissection, while all the organs of rats at the clinical and lower dose were normal. **Conclusion:** The safety of Aconiti Radix is lower than that of Aconiti Radix Cocta, but with greater analgesic, bradycardic and anticancerous effect. Therefore, it is suggested that the preparations, such as aconitum injection, should be prepared with Aconiti Radix in the treatment of severe pain of patients with advanced gastric and liver cancer, and the preparations for general pain can be prepared with Aconiti Radix Cocta, so as to achieve a truly safe and effective dialectical treatment.

[**Key words**] Aconiti Radix injection; Aconiti Radix; Aconiti Radix Cocta; safety and effectiveness; prescription evaluation

中药乌头为毛茛科乌头属多年生草本植物乌头的块根,常用的有草乌、川乌及其炮制品等,明代以前草乌、川乌并没有明确区分,统称为乌头。中医认为其具有祛风湿、温经止痛、强心麻醉等作用^[1-3],乌头镇痛效果良好,且无成瘾性,可用于麻醉止痛和抑制肿瘤细胞等^[4-7]。双酯型乌头生物碱是其主要药效成分,同时也是致毒物质^[8-10],治疗窗窄,临床应用中常将其炮制以降低毒性,但乌头经炮制后,药效物质发生变化,毒性降低的同时疗效也降低^[11-12]。乌头注射液具有镇痛、强心等作用,临床上用于治疗胃癌、肝癌等消化系统晚期癌症引发的疼痛^[13-17]。1998年乌头注射液^[18]标准,显示其药材处方为生草乌、生川乌,2002年改版后乌头注射液(贵州汉方制药有限公司,国药准字 Z20027139等)说明书中处方却标为草乌、川乌,意味着可用生草乌与生川乌(合称生乌头),也可用制草乌与制川乌(合称制乌头)。胃肝癌晚期的患者,往往出现持续性的疼痛,在安全保障的前提下,更强调疗效的提高,而乌头注射液改用制乌头代替生乌头的疗效结果尚未见文献报道。本文拟对生乌头和制乌头提取物开展相关药效与毒理实验,比较二者的疗效与安全,为乌头注射液制剂中生乌头与制乌头处方的选择进行评价,有助于安全范围内胃、肝癌晚期等重症

患者疼痛的缓解和生活质量的提高,为乌头注射液等中药制剂的处方确定提供理论上的指导,避免原料药材不明确现象的发生,促进乌头类制剂的真正发展。

1 材料

1.1 动物与细胞株 ICR 小鼠,清洁级,雌雄各半,体质量(20 ± 2)g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号 SCXK(闽)2017-0002。SD 大鼠,清洁级,健康雄性,体质量(160 ± 10)g,上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,合格证号 SCXK(沪)2014-0002。动物实验经福建省中医药研究院动物伦理委员会批准进行,实验动物符合伦理委员会规定,编号 FJATCM-IAEC2017109。AGS 细胞株由福建中医药大学中西医结合研究院馈赠,培养至第 7 代。

1.2 药物与试剂 布洛芬片(山东省方明药业集团股份有限公司,国药准字 H37022628,0.1 g/片);冰乙酸(西陇科学股份有限公司,批号为 1708271);乌拉坦(上海润捷化学试剂有限公司,批号 20160610);RPMI 1640 培养基,磷酸盐缓冲液(PBS),青霉素-链霉素(美国 Hyclone 公司,批号分别为 AC13973263,AD18108279,C0222);胎牛血清(FBS,浙江天杭生物科技股份有限公司,批号

15011-8611); 0.25% 胰酶(美国 Gibco 公司,批号 SH42605.01); 噻唑蓝(MTT,北京索莱宝科技有限公司,批号 EZ2411A401); 二甲基亚砜(DMSO,美国 Biosharp 公司,批号 P1356320)。

1.3 仪器 FA604A 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司), BL-420F 型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司), RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), BB16/BB5060 型二氧化碳培养箱(美国 Thermo 公司), ECX-800 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司), ATR TECH 型净工作台(苏州净化设备公司), Countes[®] 型全自动细胞计数仪(美国 Life 公司)。

2 方法

2.1 药物制备 生乌头注射液、制乌头注射液,参照中药部颁标准项下乌头注射液的制法^[18],称取处方量的生草乌和生川乌,乙醇浸提 2 次,合并乙醇提取液;药渣加水(pH 4~5)沸提 3 次,合并水提取液浓缩,加入乙醇提取液,放置 24 h,滤过,回收乙醇,再加水至 2 000 mL(pH 3),经煮沸,冷却,滤过,调 pH 至 6.5~7.0,加入活性炭,煮沸 10 min,滤过,注射用水调整含量,灌封,灭菌,即得生乌头注射液(生药质量浓度 0.5 g·mL⁻¹)。同法以制草乌、制川乌为原料制备得到制乌头注射液(生药质量浓度 0.5 g·mL⁻¹)。生乌头提取液、制乌头提取液,参照部颁标准项下乌头注射液基本制法^[18],称取处方量的生草乌、生川乌,乙醇冷浸提取 2 次,合并乙醇提取液,药渣加水(pH 4~5)煮提 3 次,合并的水提取液浓缩,干燥,得到生乌头提取药粉。同法以制草乌、制川乌为原料制得制乌头提取物。给药时参照乌头注射液的临床剂量,以生药 0.152 5 mg·g⁻¹为基础分别制得生乌头与制乌头提取物低、中、高剂量组。取适量布洛芬片^[19],研成细粉,加入适量的蒸馏水制成质量浓度为 0.004 g·mL⁻¹的布洛芬混悬液。

2.2 小鼠镇痛实验

2.2.1 动物分组 将 100 只 18~22 g 的小鼠,随机分为空白组,布洛芬组,生乌头注射液组、制乌头注射液组,生乌头提取物低、中、高剂量组,制乌头提取物低、中、高剂量组,10 只/组。

2.2.2 给药方案 空白组按 0.1 mL·g⁻¹灌胃生理盐水;布洛芬组按 0.030 3 mg·g⁻¹灌胃布洛芬药液;生乌头、制乌头注射液组均按生药 0.152 5 mg·g⁻¹进行尾静脉注射,生乌头提取物低、中、高剂量组按生药 0.076 3, 0.152 5, 0.228 mg·g⁻¹灌胃;制乌头提取物按低、中、高剂量组按生药 0.152 5, 0.457 5,

0.915 mg·g⁻¹灌胃;1 次/d,连续给药 3 d。第 3 天给药 30 min 后,小鼠按 0.01 mL·g⁻¹腹腔注射 0.7% 冰乙酸致痛。观察各组小鼠出现扭体现象的时间及 15 min 内产生扭体反应的次数,计算其疼痛抑制率。

$$\text{疼痛抑制率} = \frac{\text{空白组扭体次数} - \text{给药组扭体次数}}{\text{空白组扭体次数}} \times 100\%$$

2.3 大鼠减慢心率实验

2.3.1 动物分组 SD 大鼠按体质量随机分为 10 组,其中 5 组作为生乌头给药组,其余 5 组作为制乌头给药组,每组 6 只。

2.3.2 给药方案 取 SD 大鼠,腹腔注射乌拉坦(1.2 g·kg⁻¹)麻醉,仰卧位固定,连接 BL420F 生物机能实验系统,描记 II 导联心电图,描述正常心电图后,按 0.001 mL·g⁻¹灌胃给予不同剂量(临床剂量的 1, 2, 4, 8, 16 倍)的生乌头与制乌头提取液,分别于给药后 0, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min 时观测心电图,记录心率变化。

2.4 胃癌 AGS 细胞体外增殖的抑制作用^[20]

2.4.1 细胞培养 复苏冻存的胃癌 AGS 细胞,接种于 100 mL 培养瓶中,在含体积分数 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中贴壁生长,于 37 ℃ 5% CO₂ 培养箱中培养。细胞贴壁生长,每 48 h 换液 1 次,每 2~3 d 传代 1 次。

2.4.2 AGS 细胞生长形态学观察 倒置显微镜对生乌头、制乌头作用前、后 AGS 细胞的形态进行比较、评估。

2.4.3 胃癌细胞增殖检测^[21-22] 选取对数生长期(生长状态良好细胞)的人胃癌 AGS 细胞,0.25% 胰酶溶液消化,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基制备细胞悬液,用细胞计数板调整细胞密度为 1.0 × 10⁵ 个/mL,接种于 96 孔板,每孔 100 μL,待细胞培养 24 h 贴壁后加药,实验设空白组、生乌头、制乌头给药组。生乌头与制乌头分别设 0.4, 0.8, 1.6, 2.0 g·L⁻¹,每个质量浓度设定 6 个复孔,各加 100 μL,空白组加入同等体积的培养液,置于 37 ℃ 5% CO₂ 温箱内培养 48 h,每孔加入 0.5 g·L⁻¹ MTT 溶液 100 μL,37 ℃ 孵育 4 h,弃去上清液,每孔加入 DMSO 100 μL,轻度震荡 10 min(溶解 Fomazan 颗粒),置酶标仪于 490 nm 处测定吸光度 A,按照公式计算药物对肿瘤细胞生长的抑制率。肿瘤细胞生长抑制率 = (1 - A_{药物组}/A_{空白组}) × 100%。

2.5 大鼠急性毒性实验

2.5.1 分组 取 SD 大鼠 120 只,按体质量随机分

为 12 组, 每组 10 只, 其中 6 组给予生乌头提取液, 其余 6 组给予制乌头提取液, 实验前禁食 12 h, 不禁水。

2.5.2 给药方案 生乌头提取液组, 每组大鼠分别给予生药材 0.025 6, 0.012 8, 0.006 4, 0.001 0, 0.000 5, 0.000 25 $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 制乌头提取液组, 每组大鼠分别给予生药 0.048, 0.040, 0.032, 0.025 6, 0.012 8, 0.006 4 $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; 给药后记录大鼠灌胃相应剂量的药物后的中毒症状, 死亡情况及死亡时间、体质量变化等, 并解剖死亡大鼠, 观察其脏器变化, 以及根据各组大鼠死亡数计算出死亡率, 用改良寇氏法^[23]计算受试样品的半数致死量 (LD_{50}) 及 LD_{50} 的 95% 可信限。

$$\text{LD}_{50} = \lg \left[X_n - i \left(\frac{2 \sum m + h}{2n} - 0.75 \right) \right]^{-1}$$

$$\text{SE}_{50} = \frac{i}{n} \sqrt{\frac{n \sum m - \sum m^2}{n-1}}$$

95% 可信限 = $\text{LD}_{50} \pm 4.5 \times \text{LD}_{50} \times \text{SE}_{50}$

式中 X_n 为最高反应组剂量的对数; i 为相邻 2 组对数剂量之差值 (即组距); m 为各组动物反应数; $\sum m$ 为各组动物反应数的总和; $\sum m^2$ 为各组动物反应数的平方和; n 为每组动物数; h 为首末 2 组

反应数的平均值; SE_{50} 为测量标准误。

2.6 统计学方法 所有数据采用 SPSS 20.0 分析, 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对乙酸致小鼠扭体反应的抑制作用 与空白组比较, 生乌头注射液组、制乌头注射液组、生乌头提取物低、中、高剂量组、制乌头提取物高剂量组均能显著减少小鼠扭体次数 ($P < 0.01$), 表明乌头提取物及其制剂具有显著的镇痛作用。生乌头注射液的疼痛抑制率 (60.91%) 较相同剂量制乌头注射液 (53.42%) 大, 镇痛效果好; 与布洛芬组比较, 生乌头提取物中剂量组扭体次数明显降低 ($P < 0.05$), 生乌头提取物高剂量组显著降低 ($P < 0.01$), 生乌头提取物中剂量组的疼痛抑制率 (73.94%) 远大于制乌头提取物低剂量组 (29.97%) ($P < 0.01$)。当疼痛抑制率达到 40% 左右时, 生乌头提取物的给药剂量只需要临床剂量的 0.5 倍, 而制乌头提取物则需要临床剂量的 3 倍, 进一步表明生乌头提取物抑制疼痛效果比制乌头提取物的镇痛效果好。综上所述, 生乌头和制乌头提取物及其制剂均具有镇痛作用, 生乌头提取物的镇痛效果要比制乌头好。见表 1。

表 1 乌头提取物及制剂对乙酸致小鼠扭体反应的抑制作用

Table 1 Inhibitory effect of Aconiti Radix extracts and preparations in writhing response caused by acetic acid in rats for aconitum extract and preparation

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	与临床剂量倍数关系	潜伏期 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)/min	扭体反应 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)/次·(15 min) ⁻¹	疼痛抑制率 /%
空白	-	-	3.22 ± 0.74	38.38 ± 4.78	-
布洛芬	0.030 3	-	4.66 ± 1.37	23.88 ± 6.17 ¹⁾	37.79
生乌头注射液	0.152 5	1	3.59 ± 0.94	15.00 ± 4.34 ²⁾	60.91
制乌头注射液	0.152 5	1	3.46 ± 0.73	17.88 ± 4.42 ²⁾	53.42
生乌头提取物	0.076 3	0.5	3.18 ± 0.35	21.75 ± 5.73 ²⁾	43.32
	0.152 5	1	5.37 ± 2.12	10.00 ± 4.90 ^{2,3)}	73.94 ⁵⁾
	0.228 8	1.5	6.30 ± 2.78	7.13 ± 4.45 ^{2,4)}	81.43
制乌头提取物	0.152 5	1	3.19 ± 0.46	26.88 ± 9.34	29.97
	0.457 5	3	3.31 ± 0.76	22.25 ± 11.15	42.02
	0.915 0	6	5.06 ± 3.06	13.00 ± 6.21 ²⁾	66.12

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与布洛芬组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 与制乌头提取物低剂量组比较⁵⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对正常大鼠心电图心率的影响 生乌头提取物给药剂量在生药 0.000 15 ~ 0.000 6 $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 给药 30 min 时大鼠心率与给药前相比减慢, 制乌头在此范围内大鼠给药前后心率基本保持不变; 与给药前比较, 0.001 2 $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 灌胃 30 min 生乌头组大鼠心率与给药前保持平稳, 制乌头组给药大鼠心率明显减慢; 0.002 4 $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 灌胃 30 min 生乌头组大鼠心率明

显加快, 制乌头组大鼠给药后心率基本保持不变。说明生乌头提取物在低剂量时就可表现出减慢心率的作用。见表 2。

3.3 胃癌 AGS 细胞体外增殖的抑制作用

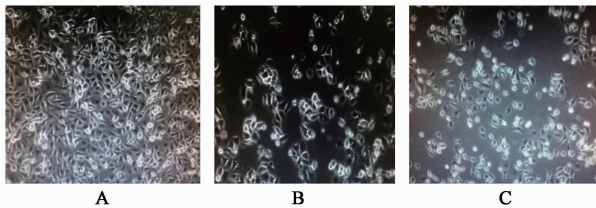
3.3.1 对细胞生长形态学的影响 正常 AGS 细胞贴壁生长, 细胞间接触紧密, 轮廓清楚, 细胞质饱满; 经药物处理后, AGS 细胞形态和增殖速率均发生较

表 2 生乌头、制乌头提取物对正常大鼠心电图心率的影响

Table 2 Effect of extracts from Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta on heart rate of normal rats in ECG

组别	剂量 /g·g ⁻¹	与临床剂量 倍数关系	心率($\bar{x} \pm s, n=6$)/次·min ⁻¹	
			给药前	给药第 30 min
生乌头	0.000 15	1	308.5 ± 21.3	282.0 ± 17.1
	0.000 3	2	316.9 ± 14.3	270.7 ± 11.9
	0.000 6	4	328.3 ± 27.3	292.0 ± 25.3
	0.001 2	8	280.1 ± 32.6	279.9 ± 30.7
	0.002 4	16	315.6 ± 28.2	337.9 ± 21.2
制乌头	0.000 15	1	300.0 ± 12.7	299.0 ± 32.5
	0.000 3	2	308.0 ± 23.2	306.0 ± 19.8
	0.000 6	4	298.0 ± 33.2	292.0 ± 26.2
	0.001 2	8	305.0 ± 30.1	260.0 ± 20.2
	0.002 4	16	329.0 ± 15.7	333.0 ± 23.4

明显的变化,细胞逐渐变圆,附壁疏松,脱壁,细胞间隙增大,增殖变慢,细胞周围碎片增多,且随着各组药物浓度的增加,上述变化愈加明显,见图 1。



A. 空白组; B. 生乌头给药组; C. 制乌头给药组

图 1 生乌头与制乌头对 AGS 细胞形态的影响(倒置显微镜, × 100)

Fig.1 Effect of Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta on cell morphology observation of AGS in blank group and drug administration group(inverted microscope, ×100)

3.3.2 对细胞增殖抑制的影响 生乌头与制乌头对 AGS 细胞生长的抑制作用呈剂量依赖性,与生乌头组比较,制乌头 0.8, 1.6, 2.0 g·L⁻¹ 组生长抑制率明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。表明生乌头对胃癌 AGS 细胞体外增殖的抑制作用比制乌头更显著,生乌头与制乌头均能明显抑制胃癌 AGS 细胞的体外增殖,对细胞生长抑制作用呈浓度依赖性,即随着浓度的增加,抑制作用加强。相同质量浓度时生乌头的抑制作用较制乌头更强。见表 3。

3.4 对大鼠急性毒性的影响 大鼠给予高剂量药物后,出现打嗝,急促呼吸,流涎,腹式呼吸,剧烈抽搐后死亡,未死亡的大鼠 4~6 h 后出现缓解。解剖死亡大鼠观察,其肝、肾发黑,有明显的中毒迹象,生乌头提取液(生药 3.9 g·kg⁻¹)的 LD₅₀ 是临床剂量的 4 倍,这与文献[24-26]中数据一致,制乌头提取液(生药 21.0 g·kg⁻¹)的 LD₅₀ 是临床剂量的 20 倍,是生

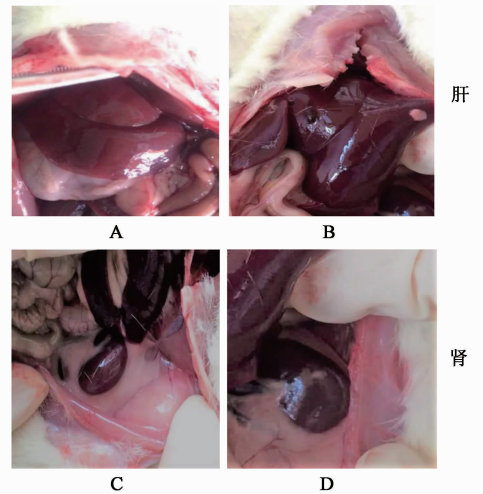
表 3 生乌头与制乌头对 AGS 细胞的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta on proliferation of AGS gastric cancer cells($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	质量浓度/g·L ⁻¹	生长抑制率/%
空白	-	-
生乌头	0.4	84.4 ± 0.026
	0.8	90.8 ± 0.003
	1.6	94.9 ± 0.010
制乌头	2.0	96.1 ± 0.003
	0.4	80.0 ± 0.028
	0.8	86.9 ± 0.009 ²⁾
	1.6	89.2 ± 0.010 ¹⁾
	2.0	92.7 ± 0.005 ²⁾

注:与生乌头组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

乌头提取液的 5 倍,且两组药物 95% 可信限均无重叠,可认为各组 LD₅₀ 有明显差异。见图 2,表 4。



A. 正常大鼠肝组织; B. 中毒大鼠肝组织; C. 正常大鼠肾组织; D. 中毒大鼠肾组织

图 2 正常大鼠肝、肾与中毒大鼠肝、肾比较

Fig.2 Comparison in liver and kidney between normal rat and poisoned rat

4 讨论

生乌头提取液的给药剂量没有与制乌头提取液一致,是由于在实验开始时,均以乌头注射液临床剂量的 1, 3, 6 倍剂量进行灌胃给药时,生乌头提取液中的 6 倍临床剂量出现中毒症状,通过降低剂量观察后,确定其给药剂量为乌头注射液临床剂量的 0.5, 1.0, 1.5 倍,而制乌头提取液的给药剂量不变。在对胃癌 AGS 细胞体外增殖的抑制作用预实验中,以乌头注射液的浓度给药,细胞全部杀死,故后期实验将其进一步稀释成低浓度。急性毒性实验,解剖中毒死亡大鼠,用肉眼观察其脏器的变化虽较为浅显,但仍可明显观察到脏器颜色的变化,实验后续会

表 4 生乌头和制乌头对大鼠急性毒性的影响

Table 4 Effect of Aconiti Radix and Aconiti Radix Cocta on acute toxicity in rats

组别	剂量/g·g ⁻¹	死亡只数	死亡率/%
生乌头	0.025 6	10	100
	0.012 8	9	90
	0.006 4	7	70
	0.001 0	4	40
	0.000 5	2	20
	0.000 25	0	0
制乌头	0.048 0	8	80
	0.040 0	6	60
	0.032 0	4	40
	0.002 56	2	20
	0.012 8	1	10
	0.006 4	0	0

对其脏器进行病理切片及开展乌头注射液尾静脉给药等进一步研究。

本实验结果表明生乌头的镇痛效果明显优于制乌头,虽然生乌头毒性较制乌头的要大,但在可控的安全范围内,低剂量的生乌头提取液即可达到镇痛、减慢心率与抑制胃癌细胞增殖的作用,有效避免了中毒现象的发生。因此,对于胃、肝癌晚期患者疼痛剧烈,建议选用生乌头提取物,即可有效地缓解患者疼痛,而对于一般性疼痛可选用制乌头提取物为原料的制剂进行治疗,这将为课题组下一步乌头类缓控释制剂的研究中处方的选择提供依据。

【参考文献】

[1] 饶冉. 乌头属药用植物研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012,40(29):14227-14230.

[2] 李梦然,曲玮,梁敬钰. 乌头属化学成分和药理作用研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22(4):1-6.

[3] 吴超,赵翡翠. 我国乌头属植物研究进展[J]. 新疆医科大学学报, 2011, 34(10): 1153-1157.

[4] 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,2015:39, 236.

[5] 田伟珍,叶海霞. 21 例乌头碱类中药中毒的急救护理[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(12):1901.

[6] 李谦,过立农,郑健,等. 乌头属药用植物的研究进展[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(7): 1129-1149.

[7] 赵翡翠,李杰. 乌头属药用植物中生物碱的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27 (S1):1177-1182.

[8] 王彬辉,冯健,赵燕敏,等. 附子中乌头类生物碱在大鼠体内的药动学研究[J]. 中国药理学杂志,2009,44(18):1412-1415.

[9] 武洁,沈红,朱玲英,等. 液-质联用法同时测定大鼠血浆中的乌头碱、新乌头碱、次乌头碱及其药动学[J].

中国医院药学杂志, 2011,31(14):1162-1166.

[10] 陶长戈,李文军,彭成. 附子总生物碱中乌头碱、新乌头碱、次乌头碱在大鼠体内的药动学研究[J]. 云南中医中药杂志,2011,32(3): 49-52.

[11] 杨蕾,陈裕明,刘启福,等. 川乌饮片急毒及药效学的实验比较[J]. 北京中医药大学学报, 1997,20(2): 20-21.

[12] 李志勇,张硕峰,畅洪昇,等. 不同炮制时间附子饮片双酯型生物碱含量变化与饮片安全的相关性研究[J]. 中国中药杂志,2009, 34(9): 1086-1089.

[13] 付雯雯,薛岩,刘军,等. 乌头注射液对疼痛小鼠的镇痛作用[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(17): 4768-4770.

[14] 黄衍民,李成韶,潘留华,等. 乌头注射液对小鼠的镇痛作用及其药效动力学研究[J]. 中国药理学杂志, 2000,35(9):37-39.

[15] YANG J, Park K S, Yoon J J, et al. Anti-allodynic effect of intrathecal processed *Aconitum jaluense* is associated with the inhibition of microglial activation and P2X7 receptor expression in spinal cord [J]. BMC Complement Alter Med, 2016, 16:214.

[16] 王龙,孟志雄. 乌头注射液联合 FP 方案治疗消化道恶性肿瘤疗效观察[J]. 甘肃医药,2009,28(4): 297-299.

[17] 雷桂华. 乌头注射液联合化疗的临床效果观察[J]. 肿瘤防治杂志,2001,8(3):295-296.

[18] 《中华人民共和国部颁药品标准(中药)》编委会. 中华人民共和国部颁药品标准(中药) [M]. 北京:中国医药出版社, 1998:Z17-Z20.

[19] 杨凤玉,孙海清. 布洛芬分散片的药动学研究[J]. 中国医药导报,2013,10(7):9-10,13.

[20] 曾瑾,罗霞,江南,等. 生川乌水煎液抗肿瘤作用的实验研究[J]. 四川大学学报:自然科学版,2007,44(6):1344-1348.

[21] 丁芸霞,邹玺,吴坚,等. 附子生物碱对人胃癌细胞株 SGC-7901 凋亡及细胞周期的影响[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2013,15(5):915-919.

[22] 张晓迪,吴西霆. 附子提取物抗胃癌 SGC-7901 细胞增殖及诱导癌细胞凋亡实验研究[J]. 浙江中医药大学学报,2011,35(5):665-668.

[23] 顾兵,张政,李玉萍,等. 半数致死量及其计算方法概述[J]. 中国职业医学,2009,36(6):507-508,511.

[24] 孟甄,丁怡,鲁静,等. 生、制乌头总生物碱对心脏功能及其毒性的比较[J]. 中国药理学通报,2004,20(7):801-804.

[25] 刘帅,刘晓艳,李妍,等. 草乌及其炮制品的急性毒性实验研究[J]. 中国药物警戒,2015,12(9):513-516,521.

[26] 刘帅,李妍,李卫飞,等. 乌头类中药毒性及现代毒理学研究进展[J]. 中草药,2016,47(22):4095-4102.

【责任编辑 张丰丰】