

苗药了哥王不同炮制品乙醇提取物对小鼠的急性毒性作用比较[△]

冯果^{1,2,3*},李玮^{1,3},何新²,郑传奇¹,冷安碧¹,田小芳¹(1.贵阳中医学院药学院,贵阳 550025;2.天津中医药大学中药学院,天津 300193;3.国家苗药工程技术研究中心,贵阳 550025)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)25-3536-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.25.22

摘要 目的:比较苗药了哥王生品、不同炮制品乙醇提取物对小鼠的急性毒性,为了哥王汗渍法炮制工艺优选及其安全用药提供依据。方法:采用汗渍法对了哥王的饮片炮制30 d得炮制品一,对了哥王粗粉分别炮制14、7 d得炮制品二和炮制品三。以70%乙醇为溶剂,采用渗漉法对了哥王生品及不同炮制品进行提取,并对不同乙醇提取物进行小鼠急性毒性实验。结果:了哥王生品、炮制品一乙醇提取物的半数致死量(LD₅₀)分别为4.05、6.65 g/kg,相当于临床70 kg成人日用量的19、32倍。而了哥王炮制品二、炮制品三乙醇提取物的LD₅₀无法测出;最大耐受量(MTD)分别为20.0、15.0 g/kg,相当于临床70 kg成人日用量的95、71倍;最大给药量(MLD)分别近似为30.0、20.0 g/kg,相当于临床70 kg成人日用量的143、95倍。结论:了哥王炮制品的毒性明显低于生品,且了哥王粗粉炮制14 d后毒性低于炮制7 d。

关键词 了哥王;汗渍法;炮制;急性毒性;小鼠

Comparison of Acute Toxicity Effects of Ethanol Extract from Different Processed Products of Miao Medicine *Wikstroemia indica* on Mice

FENG Guo^{1,2,3}, LI Wei^{1,3}, HE Xin², ZHENG Chuanqi¹, LENG Anbi¹, TIAN Xiaofang¹(1.School of Pharmacy, Guiyang College of TCM, Guiyang 550025, China; 2.School of TCM, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 3.National Engineering and Technology Research Center of Miao Medicine, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To compare the acute toxicity of ethanol extract from raw product and different processed products of *Wikstroemia indica* on mice, and provide basis for optimizing the processing technology of perspiration method for *W. indica* and medication safety. **METHODS:** Perspiration method was used to process the *W. indica* pieces for 30 d to get processed product 1 and process its coarse powder for 14, 7 d to get processed product 2, processed product 3, respectively. Then using 70% ethanol as solvent, percolation method was used to extract the raw *W. indica* and its different processed products, and acute toxicity test was conducted on mice for different ethanol extracts. **RESULTS:** The median lethal dose (LD₅₀) of ethanol extracts from raw *W. indica* and processed product 1 were 4.05 and 6.65 g/kg, equivalent to 19, 32 times of the clinical daily dose of a 70 kg adult, respectively. While the LD₅₀ of ethanol extract from processed product 2 and processed product 3 can not be measured, the maximum tolerated dose (MTD) were measured as 20.0, 15.0 g/kg, equivalent to 95, 71 times of the clinical daily dose of a 70 kg adult, respectively; the maximum dose (MLD) were measured as approximately 30.0, 20.0 g/kg, equivalent to 143, 95 times of the clinical daily dose of a 70 kg adult, respectively. **CONCLUSIONS:** The toxicity of processed products of *W. indica* is obviously lower than that of raw products, and its toxicity after processing the coarse powder for 14 d is lower than that after processing the coarse powder for 7 d.

KEYWORDS *Wikstroemia indica*; Perspiration method; Processing; Acute toxicity; Mice

了哥王为瑞香科植物南岭茺花[*Wikstroemia indica* (L.)C.A. Mey.]的根和根皮,其性寒,味苦、微辛,具有清热解毒、消肿散结、止痛等功效,可用于治疗瘰疬、脓肿、

风湿痛、百日咳、跌打损伤等^[1]。现代研究表明,了哥王具有抗菌、镇痛、抗炎、抗病毒、抗肿瘤等药理作用^[2-4],临床主要用于治疗急性扁桃体炎、慢性支气管炎、肝炎、肝硬化、肾炎、肢体疼痛等,还可用于治疗多种癌症,如乳腺癌、恶性淋巴瘤、肺癌及各种体表癌等^[5-11],为苗族地区常用苗药。然而,该药虽疗效确切,但毒性较大,《生草药性备要》《广西中药志》《南宁市药物志》中均有关于其“大毒”或“有毒”的记载,中毒症状主要为呕吐、腹痛、腹泻和皮肤过敏等。

[△] 基金项目:国家中医药管理局中医药部门公共卫生服务项目(No.国中医药科技中药便函[2015]132号);国家级大学生创新创业训练计划项目(No. 201610662025);贵阳中医学院基金项目(No.贵中医科院内[2016]40号);贵州省高校工程技术研究中心建设项目(No.黔教合KY字[2012]021号)

* 副教授,博士。研究方向:中药新制剂新技术、中药药动力学。
E-mail: 453989352@qq.com

本课题组前期对了哥王不同溶剂提取物进行了初步的急性毒性研究,其乙醇提取物、石油醚提取物和乙酸乙酯提取物均有较大毒性^[12]。此外,本课题组前期还对了哥王炮制工艺进行了初步考察^[5,13],发现原“汗渍法”炮制周期太长,炮制一批药材需要30 d,且其炮制品的毒性仍然不小。本课题组推测其原因可能是“汗渍法”炮制所用药材为较厚的饮片,炮制过程中炮制液很难渗入饮片内部,因而减毒效果不好。故本课题组对了哥王的炮制工艺进行了进一步优化,将了哥王药材由原来的饮片改成粗粉,再对其进行不同时间的炮制,得到不同炮制品,并对其不同炮制品进行小鼠急性毒性的比较研究,以期为了哥王炮制工艺的优选、炮制机制的研究以及临床安全用药提供依据。

1 材料

1.1 仪器

FA2004 电子分析天平(上海衡平仪器仪表厂);RE52-99 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);JA2003 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);180×1000 自动渗漉管(北京六一仪器厂)。

1.2 药材与试剂

了哥王药材购自广西壮族自治区玉林市玉州区玉林银丰国际中药港(批号:20160115),经贵阳中医学院李玮副教授鉴定其为瑞香科茛菪花属植物了哥王[*Wikstroemia indica* (L.)C.A. Mey.]的根;所有试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF级KM小鼠190只,♀♂各半,体质量(20±2)g,购自湖南长沙市天勤生物技术有限公司,动物合格证号:43006700010081。小鼠饲养于12 h光照/12 h黑暗、温度为(25±1)℃、相对湿度为(50±10)%的动物房中,饲养期间给予标准饲料和饮用水。

2 方法

2.1 了哥王生品乙醇提取物及不同炮制品乙醇提取物的制备

2.1.1 了哥王生品乙醇提取物的制备 取了哥王生品药材饮片5 kg,以70%乙醇为溶剂,渗漉量为14倍药材量,以渗漉速度为5 mL/(min·kg)进行渗漉提取。提取液回收乙醇至无醇味,采用低压真空浓缩干燥法(温度60℃,真空度0.07~0.08 MPa)进行浓缩、干燥、粉碎成细粉,得了哥王生品乙醇提取物(简称为了哥王生品,干浸膏平均得率为10.08%)。

2.1.2 了哥王汗渍法炮制品一乙醇提取物的制备 取了哥王生品药材饮片5 kg,每天喷入1%人工汗液(含L-组氨酸盐酸盐0.5 g/L、氯化钠5 g/L、二水合磷酸二氢钠2.2 g/L,用0.05 mol/L氢氧化钠调节pH至5.5后即得),拌匀,闷润,待吸尽后置于(37±0.5)℃的烘箱内烘24

h。每100 kg了哥王用人工汗液30 kg,如此反复炮制30 d,即得了哥王汗渍法炮制品药材一。取了哥王汗渍法炮制品药材一,用“2.1.1”项下渗漉法提取,得了哥王炮制品一乙醇提取物(简称为了哥王炮制品一)。

2.1.3 了哥王汗渍法炮制品二、炮制品三乙醇提取物的制备 分别取了哥王生品药材饮片5 kg,粉碎成粗粉,每天喷入1%人工汗液,分别按“2.1.2”项下方法反复炮制14、7 d,得了哥王汗渍法炮制品药材二、炮制品药材三。再分别取了哥王汗渍法炮制品药材二、炮制品药材三,用“2.1.1”项下渗漉法提取,得了哥王炮制品二、炮制品三的乙醇提取物(分别简称为了哥王炮制品二、炮制品三)。

2.2 了哥王生品、不同炮制品对小鼠的急性毒性研究

参照经典的急性毒性[半数致死量(LD₅₀)、最大耐受量(MTD)、最大给药量(MLD)]实验方法^[14],考察了哥王生品、不同炮制品对小鼠的急性毒性作用。

2.2.1 了哥王生品、炮制品一对小鼠的LD₅₀急性毒性实验 取小鼠130只,♀♂各半,随机分为13组,每组10只,分别为空白组、了哥王生品1~6组(给药剂量分别为9.00、6.30、4.41、3.10、2.16、1.15 g/kg)、了哥王炮制品一1~6组(给药剂量分别为10.50、7.88、5.52、3.86、2.70、1.89 g/kg)。实验前禁食不禁水12 h后,各给药组小鼠按20 mL/kg ig相应药物1次,计算单日内给药量;空白组小鼠ig等体积的1.0%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)蒸馏水混悬液。给药后,各组小鼠正常饲养;给药后2 h内,每15 min左右观察1次小鼠中毒表现;给药后2~4 h之内,每30 min观察1次小鼠中毒表现;给药后4~8 h之内,每1 h观察1次小鼠中毒表现;给药后8~24 h之内,每4 h观察1次小鼠中毒表现。从给药后第2天起,每天观察1次小鼠中毒表现;每隔1天称取1次存活小鼠体质量,观察小鼠的活动、进食、饮水情况,连续14 d。并每天观察小鼠是否有异常肌肉运动、对外反应、瞳孔改变、眼球凸出、眼睑下垂、呼吸异常、异常分泌物、大小便异常、毛色及皮肤颜色改变等毒性反应和死亡情况。若有小鼠死亡,则记录小鼠死亡时间,并即时解剖死亡小鼠,肉眼观察其心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、小肠等脏器的病理改变。14 d观察期结束后,次日将各组存活小鼠处死并进行解剖,按照上述方法对主要脏器的病理变化进行肉眼观察。

2.2.2 了哥王炮制品二和炮制品三对小鼠的MTD、MLD急性毒性实验 因预实验发现无法求出了哥王炮制品二和炮制品三的LD₅₀值,故对其进行MTD、MLD急性毒性实验。取小鼠60只,按体质量和性别随机分为空白组、了哥王炮制品二组和了哥王炮制品三组,每组20只,♀♂各半。将各组乙醇提取物用1.0% CMC-Na配制成混悬液,实验前小鼠禁食不禁水12 h后,按最大给药

剂量 15 g/kg、最大给药体积 40 mL/kg ig 给药 1 次或多次, 计算小鼠单日内的累积给药剂量; 空白组小鼠 ig 等体积的 1.0% CMC-Na 混悬液, 进行 MTD、MLD 急性毒性实验。给药后连续观察 14 d, 记录小鼠死亡及毒性反应症状。死亡小鼠即刻进行尸检, 肉眼观察其主要脏器变化。每天称定存活小鼠的体质量, 于实验第 15 天将存活小鼠处死并进行解剖。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件对各组数据进行统计处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。急性毒性实验 LD₅₀ 值的分析统计采用 Bliss 法。

3 结果

3.1 了哥王生品、炮制品一对小鼠的急性毒性实验结果

3.1.1 小鼠毒性症状观察结果 了哥王生品组小鼠 ig 给药后 10 min 左右, 部分小鼠出现活动少、闭眼、蜷缩成团、不动、惊厥、抽搐、呼吸困难等中毒症状, 第 1 天给药后的 1.0~2.5 h 之间, 小鼠死亡数较多, 且死亡数存在一定的剂量依赖性。了哥王炮制品一组小鼠给药后 10~20 min 内相继有小鼠出现活动少、闭眼、蜷缩成团、不动、惊厥、抽搐、呼吸困难等中毒症状, 死亡数减少。对死亡小鼠及时解剖观察, 发现给药后第 1 天内死亡的小鼠无明显的胃肠道胀气、充血、水肿等情况发生, 其皮肤和肝的颜色较深, 有淤血状, 部分死亡小鼠胸腔有积水,

心、脾、肺、肾等脏器未见明显异常; 给药后第 2 天内死亡的小鼠胃肠道颜色加深, 稍带黄色, 且可见胃肠道胀气, 肺可见部分小黑斑, 心、肾、脾等脏器未见明显异常; 给药多天后死亡的小鼠体形偏小。了哥王生品、炮制品一对小鼠急性毒性的症状谱见表 1。

表 1 了哥王生品、炮制品一对小鼠急性毒性的症状谱
Tab 1 Symptom spectrums of acute toxicity of raw *W. indica* and processed product 1 on mice

组别	剂量, g/kg	毒性症状谱	发生时间, h
空白组		无	
了哥王生品 1 组	9.00	闭眼、蜷缩成团、不动、惊厥、抽搐、呼吸困难、有死亡	0.2~8
了哥王生品 2 组	6.30	闭眼、蜷缩成团、不动、惊厥、抽搐、呼吸困难、有死亡	0.2~8
了哥王生品 3 组	4.41	闭眼、蜷缩成团、不动、惊厥、抽搐、呼吸困难、有死亡	0.3~8
了哥王生品 4 组	3.10	闭眼、蜷缩成团、不动、轻微抽搐、有死亡	0.3~6
了哥王生品 5 组	2.16	闭眼、蜷缩成团、不动、轻微抽搐、有死亡	0.4~6
了哥王生品 6 组	1.15	闭眼、蜷缩成团、不动、轻微抽搐、有死亡	0.4~6
了哥王炮制品 1 组	10.50	闭眼、蜷缩成团、不动、惊厥、抽搐、呼吸困难、有死亡	0.2~8
了哥王炮制品 2 组	7.88	闭眼、蜷缩成团、不动、惊厥、抽搐、呼吸困难、有死亡	0.2~8
了哥王炮制品 3 组	5.52	闭眼、蜷缩成团、不动、惊厥、抽搐、呼吸困难、有死亡	0.3~8
了哥王炮制品 4 组	3.86	闭眼、蜷缩成团、不动、轻微抽搐、有死亡	0.3~6
了哥王炮制品 5 组	2.70	闭眼、蜷缩成团、不动、轻微抽搐、有死亡	0.4~6
了哥王炮制品 6 组	1.89	闭眼、蜷缩成团、不动、轻微抽搐、有死亡	0.4~6

3.1.2 小鼠体质量测定结果 空白组小鼠的体质量随着给药时间的延长呈稳定增长趋势, 了哥王生品、炮制品一组小鼠体质量的增长均受到一定的抑制。分析小鼠自身体质量差异变化, 发现了哥王生品组、炮制品一组小鼠自身体质量差异变化较大, 特别是高剂量组小鼠给药后第 1 周内负增长现象, 结果见表 2、图 1。

表 2 了哥王生品、炮制品一组小鼠体质量的测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Determination results of body mass of mice in raw *W. indica* and processed product 1 groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量, g/kg	体质量, g							
		1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
空白组		23.10 ± 2.54	24.15 ± 2.76	24.95 ± 2.01	25.75 ± 2.32	26.39 ± 3.05	26.76 ± 2.28	27.72 ± 4.15	28.54 ± 3.26
了哥王生品 1 组	9.00	23.51 ± 0.94	21.51 ± 0.24*	22.09 ± 0.91*	22.47 ± 3.78*	23.34 ± 2.56*	24.58 ± 1.42*	25.37 ± 0.57*	25.98 ± 0.35*
了哥王生品 2 组	6.30	22.30 ± 4.25	22.00 ± 1.12*	22.14 ± 1.67*	19.73 ± 1.07**	20.55 ± 1.45**	22.34 ± 1.97**	22.99 ± 1.29**	23.09 ± 1.79**
了哥王生品 3 组	4.41	23.79 ± 3.58	20.74 ± 5.38*	22.96 ± 4.81*	24.44 ± 3.47	25.72 ± 4.29	26.14 ± 3.83	25.96 ± 4.00	26.97 ± 4.52
了哥王生品 4 组	3.10	23.31 ± 3.03	23.40 ± 2.68	23.46 ± 3.33	20.95 ± 2.84*	25.30 ± 4.00	24.96 ± 3.70	25.40 ± 3.82	25.59 ± 4.62*
了哥王生品 5 组	2.16	23.01 ± 4.40	24.57 ± 4.59	23.35 ± 4.40	24.83 ± 4.91	26.04 ± 5.04	26.77 ± 5.33	25.92 ± 5.35	27.69 ± 6.07
了哥王生品 6 组	1.15	23.07 ± 3.00	23.64 ± 3.57	24.64 ± 4.32	24.82 ± 3.79	25.30 ± 3.79	25.54 ± 3.84	25.31 ± 3.73	25.93 ± 3.95*
了哥王炮制品 1 组	10.50	21.13 ± 2.94	20.73 ± 2.06*	23.90 ± 1.78	27.02 ± 1.58	28.13 ± 1.12	27.99 ± 2.02	26.79 ± 1.33	27.50 ± 1.48
了哥王炮制品 2 组	7.88	21.45 ± 2.34	20.35 ± 2.05*	21.87 ± 2.37	23.69 ± 2.07	24.25 ± 2.17	24.51 ± 2.59	23.73 ± 2.26*	24.20 ± 2.35*
了哥王炮制品 3 组	5.52	21.16 ± 2.05	19.90 ± 2.52*	21.87 ± 4.09	22.84 ± 4.93	23.54 ± 5.22	25.16 ± 4.60	25.00 ± 5.07*	25.77 ± 4.36*
了哥王炮制品 4 组	3.86	21.94 ± 2.24	20.33 ± 1.97*	22.55 ± 3.11	24.52 ± 3.50	25.31 ± 3.82	25.89 ± 4.02	25.17 ± 4.13*	25.86 ± 4.03*
了哥王炮制品 5 组	2.70	21.20 ± 2.52	21.43 ± 3.60	24.02 ± 4.00	24.95 ± 4.63	25.22 ± 5.16	25.67 ± 5.92	24.85 ± 6.18*	25.18 ± 6.11*
了哥王炮制品 6 组	1.89	21.77 ± 2.00	20.87 ± 1.96*	23.22 ± 1.56	24.72 ± 2.73	25.03 ± 2.98	25.68 ± 3.83	25.32 ± 4.29*	25.56 ± 4.18*

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.1.3 小鼠急性毒性的 LD₅₀ 测定结果 了哥王生品组小鼠的给药剂量小于了哥王炮制品一组, 但小鼠死亡率高于炮制品一组。生品 LD₅₀ 为 4.05 g/kg, 95% 置信区间为 2.70~6.10 g/kg; 炮制品一 LD₅₀ 为 6.65 g/kg, 95% 置信区间为 2.82~15.69 g/kg。了哥王生品、炮制品一对小鼠的 LD₅₀ 测定结果见表 3, 小鼠生存率-时间曲线见图 2。

3.2 了哥王炮制品二、炮制品三对小鼠的 MTD、MLD 急性毒性实验结果

3.2.1 小鼠体质量测定结果 空白组小鼠的体质量随着给药时间的延长呈稳定增长趋势; 了哥王炮制品二、炮制品三组小鼠体质量的增长均受到一定抑制, 且了哥王炮制品三对小鼠体质量抑制程度高于了哥王炮制品二, 结

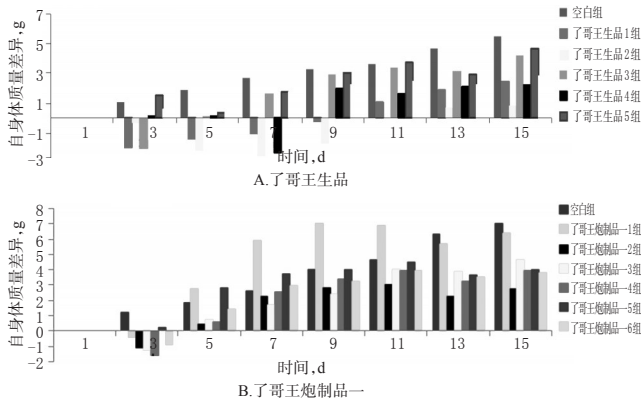


图1 了哥王生品、炮制品一不同剂量组小鼠自身体质量差异的变化

Fig 1 Changes of body mass differences of mice in raw *W. indica* and processed product 1 groups with different doses

果见表4、图3。

表3 了哥王生品、炮制品一的LD₅₀测定结果

Tab 3 Determination results of LD₅₀ for raw *W. indica* and processed product 1

组别	剂量, g/kg	总动物只数	死亡动物只数	死亡率, %	LD ₅₀ (95%置信区间), g/kg
了哥王生品1组	9.00	10	8	80	
了哥王生品2组	6.30	10	8	80	
了哥王生品3组	4.41	10	5	50	4.05(2.70~6.10)
了哥王生品4组	3.10	10	3	30	
了哥王生品5组	2.16	10	2	20	
了哥王生品6组	1.15	10	1	10	
了哥王炮制品一1组	10.50	10	7	70	
了哥王炮制品一2组	7.88	10	5	50	
了哥王炮制品一3组	5.52	10	5	50	6.65(2.82~15.69)
了哥王炮制品一4组	3.86	10	2	20	
了哥王炮制品一5组	2.70	10	3	30	
了哥王炮制品一6组	1.89	10	1	10	

3.2.2 小鼠急性毒性的MTD、MLD测定结果 了哥王炮制品二按最大给药体积40 mL/kg给药,当剂量达到20.0 g/kg时小鼠发生闭眼、蜷缩成团、不动等中毒症状,

表4 了哥王炮制品二、炮制品三组小鼠体质量的测定结果($\bar{x} \pm s, n=20$)

Tab 4 Determination results of body mass of mice in *W. indica* processed product 2 and processed product 3 groups ($\bar{x} \pm s, n=20$)

组别	剂量, g/kg	体质量, g							
		1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
空白组		21.80 ± 2.07	21.58 ± 2.23	23.16 ± 2.09	23.97 ± 2.34	24.63 ± 2.24	25.66 ± 3.14	26.38 ± 3.27	27.72 ± 3.22
了哥王炮制品二组	30.0	20.81 ± 2.95	20.49 ± 2.85*	20.06 ± 3.36*	21.23 ± 4.34*	23.16 ± 3.87	24.12 ± 3.42	24.32 ± 3.40	26.11 ± 3.35
了哥王炮制品三组	30.0	21.80 ± 4.51	22.59 ± 4.17	20.10 ± 2.19*	21.48 ± 1.39*	22.15 ± 1.00*	22.28 ± 1.53**	22.55 ± 1.64**	23.30 ± 1.82**

注:与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

本文以了哥王生品组和空白组作为对照组,对其原“汗渍法”工艺所得炮制品一及改进工艺后所得了哥王炮制品二、炮制品三进行了急性毒性的比较研究。预实验结果表明,了哥王生品、炮制品一可测出LD₅₀,故在本研究中进行了了哥王生品、炮制品一的LD₅₀急性毒性实

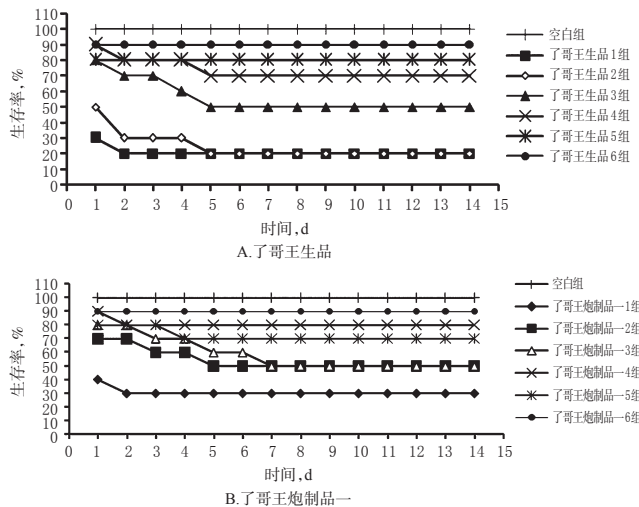


图2 了哥王生品、炮制品一对小鼠LD₅₀急性毒性实验的生存率-时间曲线图

Fig 2 Survival rate-time curves of LD₅₀ acute toxicity test in mice in raw *W. indica* and processed product 1 groups

但没有小鼠死亡;当给药剂量达30.0 g/kg时有3只小鼠死亡(死亡率为15%)。可见了哥王炮制品二的MTD为20.0 g/kg,MLD近似为30.0 g/kg。而了哥王炮制品三以最大给药剂量15.0 g/kg(最大质量浓度)和最大给药体积40 mL/kg给药后小鼠有闭眼、蜷缩成团、不动的中毒症状,但没有死亡;当剂量达到20.0 g/kg时,有1只小鼠死亡;当给药剂量达到30.0 g/kg时,有6只小鼠死亡(死亡率为30%)。可见了哥王炮制品三的MTD为15.0 g/kg,MLD近似为20.0 g/kg。当给药剂量达30.0 g/kg时,了哥王炮制品二组、炮制品三组小鼠均出现毒性症状,均有小鼠死亡,但了哥王炮制品三组小鼠的死亡数大于了哥王炮制品二组,可见了哥王炮制品三毒性大于了哥王炮制品二。小鼠生存率-时间曲线见图4。

验。结果了哥王生品的LD₅₀为4.05 g/kg,95%置信区间为2.70~6.10 g/kg;了哥王炮制品一的LD₅₀值为6.65 g/kg,95%置信区间为2.82~15.69 g/kg,分别相当于临床70 kg成人日用量的19、32倍。而了哥王炮制品二、炮制品三的毒性较小,当最高给药剂量达15 g/kg时,均没有出现小鼠死亡。受给药浓度限制,测不出LD₅₀,但因有

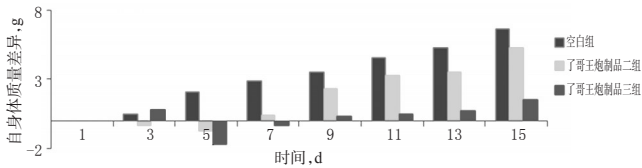


图3 了哥王炮制品二、炮制品三组小鼠自身体重差异的变化

Fig 3 Changes of body mass of mice in *W. indica* processed product 2 and processed product 3 groups

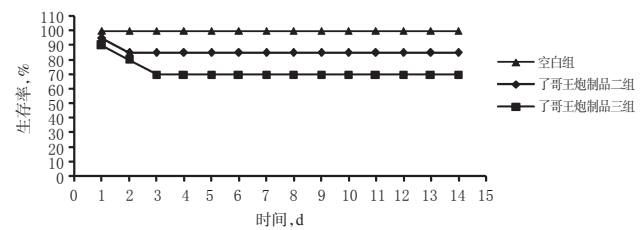


图4 了哥王炮制品二、炮制品三对小鼠MTD、MLD急性毒性实验的生存率-时间曲线图

Fig 4 Survival rate-time curves of MTD, MLD acute toxicity test in mice in *W. indica* processed product 2 and processed product 3 groups

少数小鼠ig给药后有中毒症状,故对炮制品二和炮制品三进行了MTD、MLD急性毒性实验。结果显示,了哥王炮制品二的MTD为20 g/kg,MLD近似为30 g/kg,分别相当于临床70 kg成人日用量的95、143倍;了哥王炮制品三的MTD为15 g/kg,MLD近似为20 g/kg,分别相当于临床70 kg成人日用量的71、95倍。可见,了哥王生品及不同炮制品的毒性大小顺序为:生品>了哥王炮制品一>了哥王炮制品三>了哥王炮制品二。结果表明,了哥王生品的毒性比炮制品大,说明“汗渍法”炮制了哥王能有效降低其毒性;在炮制品中,了哥王炮制品一的毒性比了哥王炮制品三的毒性大,说明在采用“汗渍法”炮制了哥王时将药材饮片粉碎成粗粉后减毒效果更好;了哥王炮制品二的毒性又要比了哥王炮制品三略小,说明在采用“汗渍法”炮制了哥王时,炮制时间为14 d时其减毒效果更好。

在本研究进行生品和了哥王炮制品一LD₅₀测定的正式实验前,本课题组进行了急性毒性预实验。预实验结果显示,了哥王生品、炮制品一的最小全死量(LD₀)分别为9.0、10.50 g/kg,最大全不死量分别为1.15、1.89 g/kg,相邻两组剂量间比值(*r*)分别为0.7、0.75,故将其分组进行急性毒性实验时,其两组的剂量不一样。另外,在对于了哥王“汗渍法”炮制工艺及炮制“减毒”研究的同时,本课题组也对其炮制前后物质基础变化进行了研究。结果表明,炮制后了哥王的主要有效成分含量不仅没有下降,而且还有一定的上升,而其毒性成分含

量下降显著。“汗渍法”炮制了哥王具有“增效减毒”的作用,这部分研究内容将在后期进行报道。

综上所述,了哥王炮制品的毒性明显低于生品,且不同炮制品的毒性不同,采用“汗渍法”对于了哥王粗粉炮制14 d后其毒性最小。本研究为苗药了哥王“汗渍法”炮制工艺的研究和临床用药的安全性提供了一定的依据,也为了了哥王的毒性及炮制“增效减毒”机制研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 张庆荣,夏光成.有毒中草药彩色图鉴[M]. 2版.天津:天津科技翻译出版公司,2006:131.
- [2] 浙江植物志编委会.浙江植物志:第四卷[M].杭州:浙江科学技术出版社,1999:255-256.
- [3] Shao M, Huang XJ, Liu JS, *et al.* A new cytotoxic biflavonoid from the rhizome of *Wikstroemia indica*[J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(12): 1417-1422.
- [4] Huang WH, Zhou GX, Wang GC, *et al.* A new biflavonoid with antiviral activity from the roots of *Wikstroemia indica* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2012, 14 (4): 401-406.
- [5] 张金娟,熊英,李玮,等.了哥王炮制前后的药效比较研究[J].时珍国医国药,2015,26(5):1118-1120.
- [6] 邵萌,黄晓君,孙学刚,等.了哥王根茎中的酚性成分及其抗肿瘤活性研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(6): 851-855,875.
- [7] 颜红,夏新华,王挥,等.西瑞香素对人肝癌HepG2细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响[J].湖南中医药大学学报,2013,33(9):41-43.
- [8] Lu CL, Zhu L, Piao JH, *et al.* Chemical compositions extracted from *Wikstroemia indica* and their multiple activities[J]. *Pharm Biol*, 2012, 50(2): 225-231.
- [9] 姜洪芳,白雪,牛慧彦,等.西瑞香素对肺癌A549细胞侵袭及迁移能力的影响[J].实用药物与临床,2016,19(2): 131-134.
- [10] 段志富,陈建伟,李祥.伞形科药用植物中香豆素类成分及其药理作用研究现状[J].中国药房,2008,19(3): 223-225.
- [11] Wang LY, Unehara T, Kitanaka S. Anti-inflammatory activity of new guaiane type sesquiterpene from *Wikstroemia indica*[J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(1): 137-139.
- [12] 张金娟,熊英,张贵林,等.了哥王提取物及其不同提取部位的急性毒性研究[J].时珍国医国药,2011,22(11): 2829-2830.
- [13] 王建科,李玮,郭建民,等.不同炮制方法对于了哥王中总黄酮含量的影响[J].贵阳中医学院学报,2011,33(1):17-19.
- [14] 徐叔云,卞如濂.药理实验方法学[M]. 3版.北京:人民卫生出版社,2002:227-229.

(收稿日期:2017-01-23 修回日期:2017-05-22)

(编辑:林 静)