

不同炮制方法对川乌抗痛风性关节炎及心脏毒性作用的影响

叶协滔¹, 钟凌云^{1*}, 杨明^{1*}, 兰泽伦², 张大永²

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 四川新荷花中药饮片股份有限公司, 成都 611731)

[摘要] 目的:研究不同炮制方法对川乌抗痛风性关节炎及心脏毒性的影响,探讨川乌不同炮制方法可能的减毒增效机制。**方法:**抗痛风性关节炎试验中以大鼠膝关节肿胀度、炎症因子[白细胞介素(IL)-1 β , IL-18, 肿瘤坏死因子(TNF)- α]水平、肝脏能量代谢相关酶[Ca²⁺-Mg²⁺-三磷酸腺苷(ATP)酶, Na⁺-K⁺-ATP酶, 琥珀酸脱氢酶(SDH)]活性为指标评价2020年版《中华人民共和国药典》记载的方法(简称“药典法”)蒸制川乌、药典法煮制川乌、建昌帮法制川乌、樟帮法制川乌及生川乌的抗炎作用。心脏毒性试验中以肌酸激酶(CK), 乳酸脱氢酶(LDH)活性和B型脑钠肽(BNP)含量为指标评价川乌及其不同炮制品的心脏毒性强弱。**结果:**在抗痛风性关节炎试验中,与空白组比较,模型组大鼠膝关节明显肿胀($P<0.01$),血清中IL-1 β , IL-18, TNF- α 水平显著升高($P<0.01$), Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性显著下降($P<0.01$)。与模型组比较,生川乌及其炮制品均能减轻大鼠膝关节肿胀,降低血清中IL-1 β , IL-18, TNF- α 水平;药典法蒸制川乌组大鼠肝脏中Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性显著高于模型组($P<0.01$),其他给药组则均无统计学差异。在心脏毒性试验中,与空白组比较,生川乌组和药典法蒸/煮制川乌组CK, LDH活性显著增强, BNP水平显著上升($P<0.01$)。在LDH活性和BNP含量方面,樟帮法和建昌帮法制川乌组显著低于生川乌组($P<0.01$);在CK活性方面,樟帮法制川乌组显著低于生川乌组($P<0.01$)。**结论:**生川乌及其炮制品均具有抗炎效果,但在不同评价指标之间存在一定差异;生川乌及其炮制品在心脏毒性方面存在较大差异,其中建昌帮法和樟帮法制川乌的心脏毒性较弱。

[关键词] 制川乌; 减毒增效; 痛风性关节炎; 心脏毒性; 能量代谢; 炮制; 炎症因子

[中图分类号] R22; R943.1; R28; R96 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)18-0121-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211348

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210331.1714.005.html>

[网络出版日期] 2021-04-01 9:55

Effects of Different Processed Methods on Anti-gouty Arthritis and Cardiotoxicity of Aconiti Radix

YE Xie-tao¹, ZHONG Ling-yun^{1*}, YANG Ming^{1*}, LAN Ze-lun², ZHANG Da-yong²

(1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Sichuan Neautus Traditional Chinese Medicine Co. Ltd., Chengdu 611731, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of different processing methods on the anti-gouty arthritis and cardiotoxicity of Aconiti Radix, and to explore the possible attenuation and synergism mechanism of these different processing methods. **Method:** The swelling degree of knee joint, levels of inflammatory factors [interleukin (IL) -1 β , IL-18, tumor necrosis factor (TNF)- α] and the activities of liver energy metabolism-related enzymes [Ca²⁺-Mg²⁺-adenosine triphosphatase (ATPase), Na⁺-K⁺-ATPase, succinate dehydrogenase (SDH)] in rats with gouty arthritis were used as indicators to evaluate the effects of pharmacopoeia steaming Aconiti Radix, pharmacopoeia boiling Aconiti Radix, Jianchang faction processed Aconiti Radix, Zhang faction processed Aconiti Radix and raw Aconiti Radix. The activity of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase

[收稿日期] 20210106(019)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2018YFC1707201)

[第一作者] 叶协滔,在读硕士,从事中药炮制机制及其药效研究, E-mail: 752494763@qq.com

[通信作者] * 钟凌云,博士,教授,博士生导师,从事中药炮制研究, Tel: 0791-87118939, E-mail: ly1638163@163.com;

* 杨明,博士,教授,博士生导师,从事中药新制剂研究, E-mail: yangming16@126.com

(LDH) and the content of B-type natriuretic peptide (BNP) were used as indexes to evaluate the cardiotoxicity of Aconiti Radix and its different processed products. **Result:** In the anti-gouty arthritis test, compared with the blank group, the knee joint of the model group was significantly swollen ($P<0.01$), the levels of IL-1 β , IL-18, and TNF- α in serum were significantly increased ($P<0.01$), and the Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase activity was significantly decreased ($P<0.01$). Compared with the model group, raw Aconiti Radix and the four processed products could reduce knee joint swelling and decrease IL-1 β , IL-18, and TNF- α levels in serum of rats. The activity of Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase in the liver of rats from the pharmacopoeia steaming Aconiti Radix group was significantly higher than that in the model group ($P<0.01$), and there was no statistical difference in other groups. In the cardiotoxicity test, compared with the blank group, the activities of CK and LDH were significantly increased and the level of BNP was significantly increased in the raw Aconiti Radix group and the pharmacopoeia steaming/boiling Aconiti Radix groups ($P<0.01$). In terms of LDH activity and BNP content, the Zhang faction and Jianchang faction processed Aconiti Radix groups were significantly lower than those in the raw Aconiti Radix group ($P<0.01$). In the CK activity, the Zhang faction processed Aconiti Radix group was significantly lower than that in the raw Aconiti Radix group ($P<0.01$). **Conclusion:** Raw Aconiti Radix and the four processed products have certain anti-inflammatory effects, but there are some differences among different indicators. There are significant differences in cardiotoxicity between the raw products and processed products of Aconiti Radix, and the cardiotoxicity of Jianchang faction and Zhang faction processed products was the weakest.

[Keywords] Aconiti Radix Cocta; attenuation and synergism; gouty arthritis; cardiotoxicity; energy metabolism; processing; inflammatory cytokines

川乌始载于《神农本草经》,属温里药,具有祛风除湿、散寒止痛、温经化瘀的药理作用^[1]。现代研究表明川乌具有抗炎镇痛、抗肿瘤、免疫调节等作用;但也存在较强的毒性,可能会引起心血管毒性、神经毒性、胚胎毒性等,其中心血管毒性最为常见^[2]。目前,已有研究证明川乌中的乌头碱、次乌头碱、新乌头碱等双酯型生物碱可造成心律失常、室性心动过速、心房颤动等问题^[3]。

川乌的传统炮制多采用黑豆、醋、姜、甘草等辅料,自1985年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)开始明确川乌蒸煮工艺后,现代对于其传统炮制方法中不同辅料的应用逐渐减少^[1]。然而,不同辅料和炮制工序可能会对川乌的药效作用产生影响,并能提高其用药安全性。例如,《药性切用》记载:“痹症气实者姜汁炒或生用”,认为姜汁炒制川乌能增强其治疗寒疝攻注的作用;《本草纲目》记载童便浸川乌可治疗一切冷气、去风痰,还能益元气、强精力、固精益髓。

现代研究认为,2020年版《中国药典》所载制川乌的炮制机制为双酯型生物碱加热水解生成单酯型生物碱,单酯型生物碱进一步脱去苯甲酸生成醇胺型生物碱^[4]。在樟帮和建昌帮特色炮制工艺中,习用生姜、甘草、大皂角等辅料与川乌共制,但这些辅料是否会对川乌药效和毒性作用产生影响尚未

得到阐释。因此,本实验拟通过抗痛风性关节炎和心脏毒性试验对比川乌和2020年版《中国药典》记载的方法(简称“药典法”)蒸/煮川乌(不加辅料),以及2008年版《江西省中药饮片炮制规范》记载的樟帮法、建昌帮法制川乌(加辅料)之间的抗炎效果与心脏毒性强弱,为川乌的临床安全用药提供参考。

1 材料

352型酶标仪(芬兰 Labsystems Multiskan MS 公司),AC8型洗板机(芬兰 Thermo Labsystems 公司),GNP-9080型培养箱(上海恒勤仪器设备有限公司),MC50型数码成像测量分析系统(广州市明美光电技术有限公司)。尿酸钠盐(MSU,批号U2875-5G)和秋水仙碱(批号C3915)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;琥珀酸脱氢酶(SDH),Ca²⁺-Mg²⁺-三磷酸腺苷(ATP)酶,Na⁺-K⁺-ATP酶,肿瘤坏死因子(TNF)- α ,白细胞介素(IL)-1 β ,IL-18,肌酸激酶(CK),乳酸脱氢酶(LDH),B型脑钠肽(BNP)试剂盒(江西博茵达生物科技有限公司,批号分别为2020007R, 2020013R, 2020014R, 2020019R, 2020023R, 2020034R, 200903R07, 200903R19, 200903R25);BCA蛋白定量试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号PC0020),苏木素-伊红(HE)染色液(北京雷根生物技术有限公司,批号DH0006)。生川乌、甘草、大皂角药材(江西盱江生态科技有限

公司,批号分别为20181011,20181224,20190101),生姜购买自江西南昌湾里井冈山农贸市场,均经江西中医药大学葛菲教授鉴定,分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 的干燥母根,豆科植物胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* 的干燥根和根茎,豆科植物皂荚 *Gleditsia sinensis* 的干燥成熟果实,姜科植物姜 *Zingiber officinale* 的根茎。

痛风性关节炎试验所用64只SPF级雄性SD大鼠,体质量(200 ± 20)g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,合格证号SCXK(沪)2018-0006;心脏毒性试验所用60只SPF级雄性SD大鼠,体质量(200 ± 20)g,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,合格证号SCXK(鲁)2019-0003;自由进食饮水,适应性喂养1周后用于实验。本研究所涉及的动物实验经江西中医药大学研究伦理委员会审查批准,批准号JZLLSC20200009。

2 方法

2.1 川乌各炮制品的制备

2.1.1 药典法蒸制川乌 取净川乌,在水中浸泡2d至内无干心,每天换水2次,取出,加水蒸7h至内无白心,口尝微有麻舌感,取出,70℃烘箱干燥至六成干,切薄片,置烘箱中干燥,即得。

2.1.2 药典法煮制川乌 取净川乌,在水中浸泡2d至内无干心,每天换水2次,取出,加水煮5h至内无白心,口尝微有麻舌感,取出,70℃烘箱干燥至六成干,切薄片,置烘箱中干燥,即得。

2.1.3 建昌帮法制川乌^[5] 取净川乌,在水中浸泡2d至内无干心,每天换水2次,取出晾干,加入生姜汁拌匀,闷润0.5h取出,加水蒸7h至内无白心,口尝微有麻舌感,取出,晾至六成干,切薄片,干燥。每100kg川乌,用生姜25kg。

2.1.4 樟帮法制川乌^[5] 取净川乌,在水中浸泡2d至内无干心,每天换水2次,取出,加生姜、甘草、大皂角,用水煮4h至切开内无白心,再换水煮2h,口尝微有麻舌感,取出,晾至六成干,切薄片,干燥。每100kg川乌,用生姜2kg,甘草5kg,大皂角1kg。

2.2 药液的制备 取各样品适量,分别加10,8倍量水浸泡2次,每次约1h,合并2次浸泡液后煎煮1.5h,提取液经8层纱布过滤收集^[6]。

2.3 抗痛风性关节炎试验 将大鼠随机分为8组,每组8只。分别为模型组、阳性药(秋水仙碱)组、空白组、药典法蒸制川乌组、药典法煮制川乌组、建昌帮法制川乌组、樟帮法制川乌组、生川乌组。秋水仙碱组灌胃给予秋水仙碱($0.8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),其他给药

组灌胃给予相应川乌水提液($0.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,以生药量计),空白组和模型组给予等体积生理盐水,每天1次,连续7d。第5天时,模型组和各给药组大鼠膝关节注射MSU晶体注射液($25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) $200\text{ }\mu\text{L}^{[7]}$,空白组则注射等体积生理盐水。

2.3.1 大鼠膝关节肿胀度测量 分别于造模前、造模后4,6,8,24h采用缚绳法测量大鼠膝关节同一部位的周长,按公式肿胀度=造模后膝关节周长-造模前膝关节周长计算大鼠膝关节肿胀度。

2.3.2 大鼠血清中TNF- α , IL-1 β 和IL-18含量的检测 第7天采用10%水合氯醛麻醉各组大鼠。从腹主动脉抽取血液至真空采集管中,离心(温度4℃,转速3500r $\cdot\text{min}^{-1}$,离心半径10cm)10min后取血清,通过酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测TNF- α , IL-1 β , IL-18的含量。

2.3.3 肝脏能量代谢相关酶活性检测 各组大鼠取血后取肝脏组织,准确称取一定量肝组织,按质量体积比加入9倍量生理盐水,制成10%匀浆,离心(2500r $\cdot\text{min}^{-1}$,4℃,离心半径8cm)10min,取上清液,按试剂盒说明书操作完成SDH,Na⁺-K⁺-ATP酶, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性检测。

2.3.4 大鼠膝关节滑膜组织形态学观察 取大鼠膝关节固定于4%多聚甲醛溶液内,用20%乙二胺四乙酸(EDTA)溶液脱钙后使用梯度乙醇进行脱水,石蜡包埋,切片后进行HE染色,荧光显微镜下观察膝关节滑膜组织病理形态学变化。

2.4 不同方法制川乌致心脏毒性试验 将SD大鼠随机分为6组,分别为空白组、药典法蒸制川乌组、药典法煮制川乌组、建昌帮法制川乌组、樟帮法制川乌组、生川乌组,每组10只。各给药组灌胃给予相应川乌水提液($0.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,以生药量计),空白组给予等体积生理盐水,每天1次,连续28d。

2.4.1 大鼠血清心脏毒性指标检测 第28天采用10%水合氯醛麻醉各组大鼠。从腹主动脉抽取血液至真空采集管中,离心(3500r $\cdot\text{min}^{-1}$,4℃,离心半径10cm)10min后取血清,通过试剂盒说明书测定CK,LDH活性和BNP含量。

2.4.2 大鼠心脏指数 取大鼠心脏并记录质量,按公式计算。心脏指数=心脏质量/体质量。

2.5 数据分析 数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示,使用GraphPad Prism 8.0.1软件,根据单因素方差分析确定实验结果的差异性, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 肿胀度评价 由表1可知,在4,6,8,24h时,

与空白组比较,模型组大鼠的膝关节显著肿胀($P<0.01$)。与模型组比较,生川乌和4种炮制品均能减轻大鼠膝关节肿胀,建昌帮法制川乌组在6 h时显著低于模型组($P<0.01$);樟帮法制川乌组在6, 8, 24 h时均明显低于模型组($P<0.05, P<0.01$);而药典

法蒸/煮制川乌组则在4, 6, 8, 24 h时均显著低于模型组($P<0.01$)。结果表明生川乌及其不同炮制品均可减轻MSU所致的大鼠膝关节肿胀,然而,川乌经不同方法炮制后起效时间和作用时间存在一定差异。

表1 各组大鼠的膝关节肿胀度($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Swelling degree of knee joint of rat in each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	肿胀度/cm			
		4 h	6 h	8 h	24 h
空白		0.50±0.24	0.53±0.21	0.52±0.18	0.28±0.28
模型		1.97±0.34 ¹⁾	1.91±0.25 ¹⁾	1.30±0.19 ¹⁾	1.05±0.27 ¹⁾
秋水仙碱	0.000 8	1.22±0.36 ²⁾	0.91±0.21 ³⁾	0.73±0.19 ³⁾	0.57±0.16 ²⁾
药典法蒸制川乌	0.3	0.76±0.34 ³⁾	1.15±0.26 ³⁾	0.56±0.34 ³⁾	0.42±0.24 ³⁾
药典法煮制川乌	0.3	0.82±0.21 ³⁾	1.16±0.27 ³⁾	0.55±0.32 ³⁾	0.37±0.24 ³⁾
建昌帮法制川乌	0.3	1.35±0.44	1.15±0.28 ³⁾	0.92±0.28	0.61±0.42
樟帮法制川乌	0.3	1.26±0.45	1.10±0.26 ³⁾	0.75±0.37 ²⁾	0.38±0.16 ³⁾
生川乌	0.3	1.38±0.17 ²⁾	0.83±0.33 ³⁾	0.63±0.42 ²⁾	0.68±0.31

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ (表2,3同)。

3.2 不同方法制川乌对大鼠血清中炎症因子的影响 由表2可知,与空白组相比,模型组大鼠血清中IL-1 β , IL-18, TNF- α 含量显著增加($P<0.01$)。与模型组比较,在IL-18和TNF- α 含量方面,生川乌及4种炮制品组均显著低于模型组($P<0.01$);在IL-1 β 含量方面,药典法煮制川乌组、樟帮法制川乌组和

建昌帮法制川乌组明显低于模型组($P<0.05, P<0.01$),药典法蒸制川乌组、生川乌组与模型组比较有下调趋势,但差异无统计学意义。结果表明川乌及其不同炮制品可在一定程度上抑制MSU所致痛风性关节炎大鼠炎症因子的生成,但在不同指标间存在一定差异。

表2 不同方法制川乌对大鼠血清中炎症因子水平的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Effect of different methods of Aconiti Radix Cocta on inflammatory factor levels in rat serum ($\bar{x}\pm s, n=8$)

$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	TNF- α	IL-18	IL-1 β
空白		349.55±28.84	140.04±10.80	37.56±3.60
模型		470.29±15.04 ¹⁾	183.68±7.70 ¹⁾	45.74±3.17 ¹⁾
秋水仙碱	0.000 8	372.64±42.17 ³⁾	152.69±16.33 ²⁾	36.81±4.38 ³⁾
药典法蒸制川乌	0.3	369.74±21.71 ³⁾	150.10±14.59 ³⁾	40.53±5.07
药典法煮制川乌	0.3	388.35±48.50 ³⁾	148.35±18.26 ³⁾	37.60±3.07 ³⁾
建昌帮法制川乌	0.3	370.80±44.33 ³⁾	149.62±10.17 ³⁾	38.01±4.04 ²⁾
樟帮法制川乌	0.3	375.94±26.02 ³⁾	159.68±8.89 ³⁾	36.58±2.60 ³⁾
生川乌	0.3	371.59±24.35 ³⁾	150.95±16.87 ³⁾	40.22±4.14

3.3 不同方法制川乌对大鼠肝脏能量代谢相关酶的影响 由表3可知,与空白组比较,模型组大鼠肝脏中Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性显著降低($P<0.01$),Na⁺-K⁺-ATP酶和SDH活性则无统计学差异。与模型组比较,仅药典法蒸制川乌组给药后大鼠肝脏中Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性显著增加($P<0.01$),其他给药组则均无统计学差异。

3.4 膝关节滑膜病理观察 由HE染色结果可知,

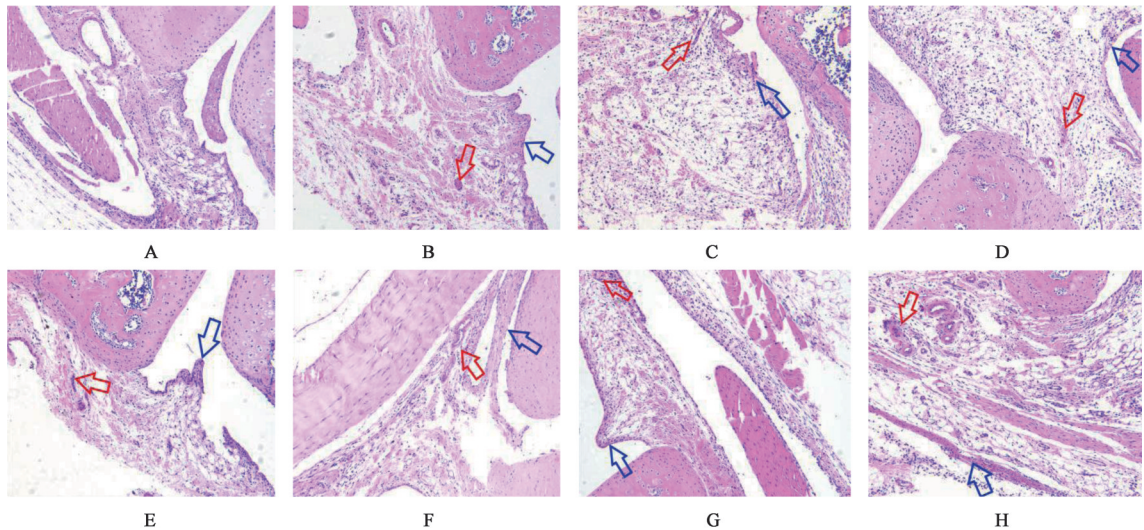
空白组大鼠滑膜边界完整,关节面光滑,关节间隙大小正常,关节囊结构完整,关节腔两面滑膜软骨结构光滑完整,层次分明,没有软骨侵蚀或剥落;模型组大鼠滑膜组织边界不清,外层滑膜细胞结构不完整,滑膜组织增厚,关节间隙变窄,被增生的滑膜组织等填充,可见大量炎症细胞浸润,关节软骨及关节面严重破坏,骨实质侵蚀,结构紊乱;生川乌组与药典法蒸/煮制川乌组大鼠滑膜边界尚完整,滑膜

表 3 不同方法制川乌对大鼠肝脏能量代谢相关酶活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Effect of different methods of Aconiti Radix Cocta on energy metabolism-related enzymes in rat liver ($\bar{x}\pm s, n=8$)					U·L ⁻¹
组别	剂量/g·kg ⁻¹	Na ⁺ -K ⁺ -ATP 酶	Ca ²⁺ -Mg ²⁺ -ATP 酶	SDH	
空白		0.038±0.006	0.047±0.002	0.075±0.012	
模型		0.033±0.005	0.036±0.004 ¹⁾	0.065±0.008	
秋水仙碱	0.000 8	0.036±0.005	0.043±0.006	0.073±0.012	
药典法蒸制川乌	0.3	0.046±0.005	0.052±0.005 ³⁾	0.083±0.014	
药典法煮制川乌	0.3	0.040±0.007	0.038±0.004	0.071±0.018	
建昌帮法制川乌	0.3	0.034±0.006	0.040±0.005	0.077±0.011	
樟帮法制川乌	0.3	0.039±0.008	0.044±0.005	0.072±0.012	
生川乌	0.3	0.037±0.006	0.042±0.009	0.066±0.013	

细胞少量增生,排列稍紊乱,有较多炎性细胞浸润;樟帮法和建昌帮法制川乌组滑膜边界完整,滑膜细胞增生,细胞层数增多,排列稍紊乱,有少量炎性细

胞浸润。说明经生川乌及其不同炮制品给药后,可以不同程度地改善 MSU 所致大鼠滑膜组织损伤,见图 1。



A. 空白组;B. 模型组;C. 秋水仙碱组;D. 药典法蒸制川乌组;E. 药典法煮制川乌组;F. 建昌帮法制川乌组;G. 樟帮法制川乌组;H. 生川乌组;红色箭头表示炎性细胞浸润;蓝色箭头表示滑膜细胞增生

图 1 各组大鼠膝关节滑膜组织病理切片 (HE,×100)

Fig. 1 Pathological section of synovial tissue of knee joint of rats in each group (HE,×100)

3.5 不同方法制川乌对大鼠心脏毒性的影响 由表 4 可知,与空白组比较,各给药组心脏指数均无统计学差异。在心脏毒性指标方面,与空白组比较,生川乌组、药典法蒸/煮制川乌组的 CK 和 LDH 活性显著增加,BNP 含量显著上升($P<0.01$);与生川乌组比较,在 LDH 活性和 BNP 含量方面,樟帮法和建昌帮法制川乌组均显著降低($P<0.01$);在 CK 活性方面,与生川乌组比较,樟帮法制川乌组显著降低($P<0.01$)。总之,各组 CK 活性排序为药典法蒸制川乌组>生川乌组>药典法煮制川乌组>建昌帮法制川乌组>樟帮法制川乌组>空白组;各组 LDH 活性和 BNP 含量排序则为生川乌组>药典法蒸制川乌组>

药典法煮制川乌组>建昌帮法制川乌组>樟帮法制川乌组>空白组。

4 讨论

川乌有毒,但临床较为常用,其具有祛风除湿、散寒止痛、温经化瘀的药效,民间时有因炮制不当而中毒的事故。川乌的毒性靶器官主要是心血管系统和神经系统。川乌的心血管中毒症状表现为多种类型心律失常,尤其是严重的室性心律失常是致死的主要原因之一^[8]。痛性关节炎属于中医“痹症”范畴,多由饮食不节,损伤脾胃,使脾失健运而痰浊内生,阻滞筋骨经脉,复与内生瘀血胶结或外受风寒湿邪,郁而生热,致骨节肿痛生畸、赤肿

表 4 不同方法制川乌对大鼠心脏毒性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Effect of different methods of Aconiti Radix Cocta on cardiotoxicity in rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	心脏指数	CK/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	LDH/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	BNP/ $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
空白		0.290±0.018	44.04±13.35	2.74±0.77	332.97±77.44
药典法蒸制川乌	0.3	0.299±0.032	100.16±12.79 ¹⁾	5.20±0.67 ¹⁾	540.67±75.27 ¹⁾
药典法煮制川乌	0.3	0.293±0.015	85.46±12.65 ¹⁾	4.31±0.57 ¹⁾	458.02±55.58 ^{1,2)}
建昌帮法制川乌	0.3	0.288±0.014	78.01±16.26 ¹⁾	3.59±0.49 ³⁾	413.07±85.00 ³⁾
樟帮法制川乌	0.3	0.299±0.023	59.97±16.54 ³⁾	3.56±0.49 ³⁾	406.56±59.75 ³⁾
生川乌	0.3	0.293±0.015	99.79±16.13 ¹⁾	5.30±0.90 ¹⁾	579.94±88.88 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与生川乌组比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ 。

焮热^[9],与川乌临床症状类似。同时,川乌味辛、苦,性热,属温里药。研究表明热性中药可能通过影响能量代谢的某些环节来治疗相关疾病^[10]。因此,本研究通过对比不同川乌炮制品抗痛风性关节炎相关炎症因子水平、肝脏能量代谢相关酶活性,以及对心脏毒性强弱的影响来阐明不同炮制方法减毒增效的科学内涵。

2020年版《中国药典》中制川乌用量 1.5~3 g,以体质量 60 kg 成人日服制川乌 3 g 计,根据人与实验动物之间药物剂量换算关系^[11],大鼠与人每 1 kg 体质量剂量折算系数为 6.25,计算大鼠每日常规给药剂量约 0.3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。本研究在抗痛风性关节炎试验和心脏毒性试验中所用剂量一致,旨在探讨川乌经炮制后在合理的药用剂量范围内,长期给药是否会引起心脏毒性,进而比较不同炮制方法的减毒效果。结果表明生川乌及其不同炮制品均存在抗炎作用,但不同炮制品的心脏毒性强弱并不一致,说明选择合理的炮制方法对川乌的临床应用十分重要。

IL-1 β , IL-18 和 TNF- α 等是参与痛风性关节炎的主要细胞因子,可用来客观表征机体中炎症严重程度^[12]。生川乌与 4 种炮制品均可在不同程度上减轻痛风性关节炎模型大鼠膝关节的肿胀,可在一定程度上抑制 MSU 所致痛风性关节炎大鼠炎症因子的生成,但在不同指标间存在一定差异。ATP 的急剧变化可能是痛风性关节炎发生的第 2 个致病信号^[13]。SDH 活性反映三羧酸循环强弱和细胞线粒体内 ATP 生成状况;Na⁺-K⁺-ATP 酶活性反映细胞内 ATP 分解状况;Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶可通过消耗 ATP 维持胞质和肌浆网之间 Ca²⁺的平衡,静息状态下可占到肌肉能耗的 30%~70%^[14]。本文研究发现,与模型组比较,药典法蒸制川乌显著增强大鼠肝脏中 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶的活性,生川乌及其他炮制品则无显著性差异。说明药典法蒸制川乌可通过增强肝脏

Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶的活性来加快 ATP 的分解,从而促进机体能量代谢达到抗痛风性关节炎的效果。

CK 和 LDH 广泛存在于心肌细胞中,当心肌细胞受损时,心肌酶释放入血,使血液中 CK 和 LDH 的活性增高,造成心肌细胞代谢紊乱。BNP 是一种心脏神经激素,主要存在于心室肌内,因此正常人循环血液中仅有低水平的 BNP。心功能障碍时极大激活机体利钠肽系统,心室负荷增加导致 BNP 释放,其在血中的水平可以很好地反映心脏受损程度^[15]。表明 CK 和 LDH 活性越强,BNP 含量越高,心脏毒性越大。本文研究发现,各组大鼠灌胃给药 28 d 后,各组的 CK,LDH 活性和 BNP 含量存在一定差异,但樟帮法和建昌帮法制川乌在降低心脏毒性方面效果较好。

现代研究表明,川乌中双酯型生物碱加热水解生成毒性更小的单酯型生物碱和醇胺型生物碱。与药典法制川乌相比,建昌帮法制川乌炮制过程中加入了姜汁闷润,樟帮法制川乌则在煮制过程中加入了生姜、甘草等辅料。孙思邈在《备急千金要方》中提出:“甘草解百药毒……有人中乌头、巴豆毒,甘草入腹即定”。《本草纲目》也有“生姜解半夏、南星、乌头、附子及乌兽肉毒”的记载^[1]。传统中医药古籍也为阐明江西特色方法炮制川乌后毒性减弱的科学内涵提供了一定的文献支撑。有学者发现生姜中的姜醇、姜酮可以中和乌头碱的分解产物,解除乌头碱的毒性,从而减轻心肌损害的程度^[16]。甘草中的酸性成分可与生物碱络合成盐沉淀,在体内代谢过程中甘草成分可加快生物碱体内代谢和直接拮抗生物碱的毒性作用等 3 个方面来降低川乌毒性^[17]。表明樟帮法及建昌帮法制川乌中添加的生姜、甘草等辅料在减少其毒副作用方面具有一定的科学依据。

综上所述,川乌生品有毒,炮制后可降低其毒性并保存药效。但炮制方法的不同可能对其减毒

增效的影响有所不同。本研究通过对比生川乌、药典法蒸/煮制川乌、樟帮法及建昌帮法制川乌的抗痛风性关节炎疗效和心脏毒性2个方面发现,生品与不同炮制品均具有较好的抗炎效果,但樟帮法及建昌帮法制川乌在降低心脏毒性的同时,保留了较好的药效,推测其炮制过程中加入的生姜、甘草等辅料可能是其毒性减弱的关键因素,后续将对这些辅料的炮制解毒作用机制开展深入研究。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] 叶协滔,钟凌云,张大永,等. 川乌的多物料、多流程炮制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(18):202-209.
- [2] 李双,黎锐,曾勇,等. 川乌的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2433-2443.
- [3] 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.
- [4] 易剑平,迟玉明,李东影,等. 絮凝法去除川乌炮制废水中生物碱类成分的可行性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(4):134-139.
- [5] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药饮片炮制规范[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2009:23.
- [6] WANG X J, WANG H Y, ZHANG A H, et al. Metabolomics study on the toxicity of aconite root and its processed products using ultraperformance liquid-chromatography/electrospray-ionization synapt high-definition mass spectrometry coupled with pattern recognition approach and ingenuity pathways analysis [J]. J Proteome Res, 2012, 11(2):1284-1301.
- [7] WANG Y M, BI C H, PANG W T, et al. Plasma metabolic profiling analysis of gout party on acute gout

arthritis rats based on UHPLC-Q-TOF/MS combined with multivariate statistical analysis[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(22):5753.

- [8] 孙凤姣,张译丹,吴锦,等. 生川乌醇提物致心、脑毒性的表现及其对血管内皮的影响[J]. 中草药, 2017, 48(6):1178-1182.
- [9] 李雯,戴晓云,柯新桥. 当归拈痛汤合宣痹汤加减治疗湿热蕴结型急性痛风性关节炎的临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(14):117-122.
- [10] 黄丽萍,余日跃,彭淑红,等. 热药吴茱萸对利血平所致虚寒证大鼠肝脏能量代谢相关机制的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(20):3539-3543.
- [11] 吴婷婷,屈会化,胡丽娜,等. 基于树鼩体表面积的树鼩与人类及其它实验动物等效剂量换算系数的测算[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(1):203-205.
- [12] 刘淑娟,丁焕发,徐晓辰,等. 急性痛风性关节炎患者血清 IL-1 β 、IL-6、IL-18 及 TNF- α 水平的研究[J]. 中国医药指南, 2016, 14(16):3-5.
- [13] TAO J H, CHENG M, TANG J P, et al. Single nucleotide polymorphisms associated with P2X7R function regulate the onset of gouty arthritis[J]. PLoS One, 2017, 12(8):e0181685.
- [14] 史红专,严晓芦,郭巧生,等. 不同光强下种植的紫花地丁对清热作用的影响[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(16):3812-3818.
- [15] 冯群,李晓宇,栾永福,等. 附子水提物单次给药对小鼠心脏“量-时-毒”关系研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(5):927-932.
- [16] 覃骊兰. 生姜减毒作用的探讨[J]. 广西中医药, 2011, 34(1):25-26.
- [17] 马丽娜,叶祖光,张广平. 从体外成分变化-体内代谢-生物效应拮抗解析附子甘草配伍减毒作用机制[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(19):4165-4170.

【责任编辑 刘德文】