

不同提取工艺对炒决明子急性毒性和物质基础的影响

葛俊德^{1,2}, 黄娜娜¹, 郭欣², 孙蓉^{1,3*}

1. 山东大学第二医院, 山东 济南 250033

2. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

3. 山东大学高等医学研究院, 山东 济南 250012

摘要:目的 研究不同提取工艺对炒决明子急性毒性和物质基础的影响, 为炒决明子的临床安全用药提供依据。方法 分别制备炒决明子水提物和醇提物, 用高效液相色谱法测定大黄酚和橙黄决明素含量。预试验结果表明由于受给药体积及浓度的限制, 难以找出炒决明子水提物组和醇提物对小鼠的半数致死量(LD₅₀), 进行最大耐受量(MTD)或最大给药量(MFD)的测定。正常小鼠按性别、体质量随机分成3组: 对照组、炒决明子水提物组、炒决明子醇提物组, 每组20只。水提物组按40.0 mL/kg给药1次, 12 h后无死亡情况, 进行第2次给药。醇提物组按40.0 mL/kg给药1次, 12 h内出现死亡情况, 不进行第2次给药, 对照组小鼠ig相同体积的水。观察小鼠体质量、饮食、饮水, 14 d内可能出现的呼吸频率改变、呼吸困难、动度、对外反应情况、排便异常等, 检测血清天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)水平。结果 制备的炒决明子水提物按生药量计为0.952 g/mL, 大黄酚、橙黄决明素分别占生药的0.145 1%、0.018 5%; 制备的炒决明子醇提物按生药量计为3.950 g/mL, 大黄酚、橙黄决明素分别占生药的0.144 9%、0.024 8%。炒决明子水提物对正常小鼠的MFD为114.96 g/kg, 相当于临床成年人日用量的588倍; 炒决明子醇提物对正常小鼠MTD为178.40 g/kg, 相当于临床成年人日用量的832.5倍。炒决明子水、醇提取物的急毒主要表现为: 出现间歇扭体反应、便溏、呼吸频率减慢、呼吸困难、精神萎靡、俯卧昏睡等, 其中便溏现象尤为明显, 且醇提物>水提物。给药后, 炒决明子水提物组和醇提物组小鼠的ALT、AST、BUN、Cr指标升高, 与对照组比较, 水提物组ALT、BUN、Cr水平呈显著性差异($P<0.01$ 、 0.001), AST未见显著性差异; 醇提物组ALT、BUN、Cr水平呈显著性差异($P<0.001$), AST未呈现显著性差异。结论 大剂量炒决明子水、醇提物对正常小鼠的肝、肾功能均有影响, 其中对肾脏的影响较为严重; 临床应用中, 尽量选用炒决明子水提工艺以保证安全有效。

关键词: 提取工艺; 炒决明子; 急性毒性; 物质基础

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2019)04-0641-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.04.007

Effects of different extraction processes on acute toxicity and material basis of roasted seeds of *Cassia obtusifolia*

GE Junde^{1,2}, HUANG Nana¹, GUO Xin², SUN Rong^{1,3}

1. The Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, China

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

3. Institute of Advanced Medicine, Shandong University, Jinan 250012, China

Abstract: Objective To study the relationship between acute toxicity and material basis of the roasted seeds of *Cassia obtusifolia* by different extraction techniques, and provide a basis for safe clinical use. **Methods** The water extract and alcohol extract of the roasted seeds of *C. obtusifolia* was prepared, the content of chrysophanol and aurantio-obtusin in different extracts was determined by HPLC. Pre-test results showed that it was difficult to find out the LD₅₀ of water extract and alcohol extract in mice due to the limitation of drug volume and concentration, the maximum tolerable dose (MTD) or the maximum dose (MFD) were determined. Normal mice were randomly divided into three groups according to sex and body weight: control group, water extract group and

收稿日期: 2018-09-16

基金项目: 国家公益性行业科研专项(201507004-03); 山东省泰山学者工程专项经费资助(ts201511107)

第一作者: 葛俊德, 男, 硕士研究生, 中药药理与毒理。E-mail: junde_ge@163.com

*通信作者: 孙蓉, 教授, 博士生导师, 主要从事中药药理与毒理研究。E-mail: sunrong107@163.com

alcohol extract group, with 20 mice in each group. In the water extract group, 40.0 mL/kg was administered once, and no death occurred 12 h later, and the second dose was administered. The ethanol extract group was given 40.0 mL/kg once, and death occurred within 12 h, and no second dose was given. The mice in the control group were received the same volume of water by ig. The changes of body weight, diet, drinking water, respiratory frequency, dyspnea, motility, external reaction and abnormal defecation were observed within 14 d. The levels of serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), creatinine (Cr), urea nitrogen (BUN) were detected. **Results** The water extract was 0.952 g/mL according to the amount of crude drugs, chrysophanol and aurantio-obtusin accounted for 0.1451% and 0.0185% in water extract, respectively; The alcohol extract was 3.950 g/mL according to the amount of crude drugs, chrysophanol accounted for 0.1449%, aurantio-obtusin accounted for 0.0248%; The MFD of the roasted seeds of *C. obtusifolia* water extract was 114.96 g/kg for normal mice, which was 588 times of the daily dosage per kilogram of body weight of 70 kg adults. The MTD of roasted seeds of *C. obtusifolia* ethanol extract was 178.40 g/kg for normal mice, which was 832.5 times the daily dosage per kilogram of body weight of 70 kg adults. The acute poison of water and alcohol extract of the roasted seeds of *C. obtusifolia* was mainly manifested as follows: intermittent twisting reaction, loose stool, slow breathing rate, dyspnea, depression, prone to lethargy, etc, the phenomenon of loose stool was particularly obvious, and ethanol extract > water extract. The ALT, BUN, Cr levels increased in aqueous extract group and alcohol extract group. Compared with control group, the aqueous extract group ALT, BUN, Cr levels show very significant difference ($P < 0.01$ and 0.001), AST did not show significant difference. The ALT, BUN and Cr levels of alcohol extract group were supremely significant different ($P < 0.001$), AST was not significantly different. **Conclusion** High dose of water and alcohol extracts of the roasted seeds of *C. obtusifolia* have effects on liver and kidney function of normal mice, among which the effects on kidney are more serious. In clinical application, the water extraction process of the roasted seeds of *C. obtusifolia* should be selected as far as possible to ensure its safety and effectiveness.

Key words: extraction technology; roasted seeds of *Cassia obtusifolia*; acute toxicity; material basis

决明子是豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *Cassia tora* L. 的干燥成熟种子, 炒决明子为决明子清炒炮制品, 其表面绿褐色或暗棕色, 偶见焦斑, 微有香气。2015版《中国药典》记载其具有清热明目、润肠通便的功效, 用于目赤涩痛、羞明多泪、头痛眩晕、目暗不明、大便秘结^[1]。随着血脂宁、复方决明片、清热明目茶等复方制剂的临床应用日益广泛, 也随着我国不良反应监测工作的日益推进和监测管网上报系统的日臻完善, 含决明子类中成药的不良反应报告逐渐增多。在这些复方制剂中既有生决明子也有炒决明子, 提取工艺既有水提也有醇提。本实验室前期针对生决明子的不同提取工艺进行了毒性反应与物质基础对比研究^[2]; 本实验对炒决明子水醇提取工艺样品进行急性毒性研究, 结合前期研究, 以期探明炮制和提取工艺对决明子的物质基础和急毒表达的影响, 为决明子临床安全用药提供参考。

1 材料

1.1 药材与主要试剂

决明子采购于山东百味堂中药饮片有限公司, 批号 180401, 经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 的干燥成熟种子, 据《中国药典》2015年版一部决明子饮片项下规定进行检查, 符合各项规定, 按药典法进行生

决明子水提物中大黄酚和橙黄决明素的检测, 结果分别为 0.075 4% 和 0.015 5%; 按药典法进行生决明子醇提物中大黄酚和橙黄决明素的检测, 结果分别为 0.1394% 和 0.0243%; 按《中国药典》2015年版一部炒决明子的规范进行炒制。

天冬氨酸转氨酶 (AST) 试剂盒, 批号为 20180425; 丙氨酸转氨酶 (ALT) 试剂盒, 批号为 20180503; 肌酐 (Cr) 试剂盒, 批号为 20180331; 尿素氮 (BUN) 试剂盒, 批号为 20180426, 均购自南京建成生物科技有限公司。大黄酚对照品, 批号为 110796-201817; 橙黄决明素对照品, 批号为 1107530-201821, 均购自中国食品药品检定研究院, 经高效液相色谱 (HPLC) 归一化法检测纯度均在 98% 以上。

1.2 实验动物

SPF 级昆明种小鼠, 雌雄各半, 体质量 18~22 g, 适龄、健康, 购买于山东大学实验动物中心, 实验动物配合饲料 (鼠), 实验动物生产许可证号 SCXK (鲁) 2018-0014。

1.3 主要仪器

LC-2030C HPLC 仪 (日本岛津公司); UV2600 紫外分光光度计 (尤尼柯仪器有限公司, 上海); YP20001 电子天平 (上海上天精密仪器有限公司); HH-S 恒温水浴锅 (北京市永光明医疗仪器厂);

Multiskan Go-1510 全波长酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司, 中国); 精密电子天平(梅特勒·托利多有限公司); PL303 电子天平(瑞士梅特勒托利多有限公司); DDL-5 型低速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂); CY 型电炒药机(南京索特烘箱制造有限公司)。

2 方法

2.1 供试样品的制备

参照相关文献和小鼠急性毒性实验要求^[2-11], 分别对炒决明子的水提物和醇提物样品进行制备。

2.1.1 炒决明子水提物样品制备 取炒决明子药材 200.0 g, 用 5 倍量的水, 先浸泡 1 h, 再加热回流提取 3 次, 每次均为 30 min, 提取液混合, 浓缩, 直至本实验所需浓度(ig 针能抽动的最大浓度)。炒决明子水提物样品浓度按生药量计为 0.952 g/mL。

2.1.2 炒决明子醇提物样品的制备 取炒决明子药材 200.0 g, 用 8 倍量 50% 的乙醇溶剂提取药材, 共加热回流提取 2 次, 每次均为 2 h, 将 2 次的提取液混合, 浓缩, 直至本实验所需浓度。炒决明子醇提物样品浓度按生药量计为 3.950 g/mL。

2.2 炒决明子不同提取物的蒽醌类物质含量测定

参照《中国药典》2015 年版一部决明子项下的炒决明子含量测定方法进行。

2.2.1 对照品溶液的制备 取大黄酚对照品、橙黄决明素对照品适量, 精密称定, 加无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)混合溶液制成含大黄酚 30 $\mu\text{g/mL}$ 、橙黄决明素 20 $\mu\text{g/mL}$ 的混合溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密取炒决明子水提物和醇提物各 2.5 mL, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 2 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 蒸干。加稀盐酸 30 mL 置水浴中加热水解 1 h, 立即冷却, 用三氯甲烷振摇提取 4 次, 每次 30 mL, 合并三氯甲烷液, 回收溶剂至干。残渣用无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)混合溶液溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 含量测定 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(70:30); 室温(23 $^{\circ}\text{C}$); 检测波长为 284 nm。精密量取 20 μL 对照品及供试品分别注入 HPLC 中, 记录峰面积, 进行含量测定。

2.3 炒决明子水、醇提物对正常小鼠的急性毒性实验研究

参照经典的急性毒性[最大耐受量(MTD)、最

大给药量(MFD)、半数致死量(LD₅₀)]实验方法^[3], 进行炒决明子水提物和醇提物的急性毒性实验研究。

2.3.1 炒决明子水、醇提物对正常小鼠的急性毒性预试验 取正常小鼠, 按体质量随机分为对照组、炒决明子水提物组、炒决明子醇提物组, 每组 5 只, 实验前 12 h 禁食不禁水。炒决明子提取物组小鼠按 25 mL/kg ig 给药 1 次(LD₅₀ 实验给药体积规定最大为 25 mL/kg^[2]), 对照组 ig 相同体积的水。观察动物死亡情况, 若不出现死亡即为 LD₀(0% 死亡率), 若全部死亡即为 LD₁₀₀(100% 死亡率), 然后将供试品稀释, 继续寻找最小的 LD₁₀₀ 剂量; 同时摸索组间距 r 值。然后按上述的 LD₀、LD₁₀₀ 和 r 值进行正式急毒实验, 求得 LD₅₀ 即半数致死量。

预实验结果显示: 炒决明子水提物组和醇提物组 7 d 内小鼠死亡率均未超过 50%, 由于受给药体积及浓度的限制, 难以找出 LD₅₀ 值, 根据小鼠给药后的毒性表现和死亡情况, 改按 40 mL/kg(小鼠最大 ig 体积)进行 ig 给药, 并且一日多次, 进行 MFD 或 MTD 值的测定。

2.3.2 小鼠急性毒性 MFD 实验 取正常小鼠 60 只, 按性别、体质量随机分成 3 组: 对照组、炒决明子水提物组、炒决明子醇提物组, 每组 20 只。实验前 12 h 禁食不禁水, 水提物组按 40.0 mL/kg 给药 1 次, 12 h 后无死亡情况, 进行第 2 次给药。醇提物组按 40.0 mL/kg 给药 1 次, 12 h 内出现死亡情况, 不进行第 2 次给药, 计算各组 1 d 内的给药量; 对照组小鼠 ig 相同体积的水。

2.3.3 小鼠急性毒性表现观察方法 各组小鼠按每组 5 只分笼, 给药后正常饲养并观察, 药后 2 h 内, 每隔 15 min 观察 1 次; 药后 2~4 h 内, 每隔 30 min 观察 1 次; 药后 4~8 h 内, 每隔 1 h 观察 1 次; 药后 8~24 h 内, 每隔 4 h 观察 1 次; 药后 2 d 后, 每隔 1 d 观察 1 次。记录体质量及体质量变化率; 密切观察小鼠的饮食、饮水情况, 以及 14 d 内可能会出现的呼吸频率改变、呼吸困难、活动、对外反应情况、排便异常等毒性反应(表 1)。若出现小鼠死亡的情况, 应立即将死亡小鼠解剖, 肉眼观察其心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、小肠等脏器的病变情况。

体质量变化率=[药后 n d 体质量-药后($n-1$) d 体质量]/药后 n d 体质量

2.4 生化指标检测方法

实验过程中出现死亡的小鼠, 立即取血, 未死亡小鼠实验结束后经眶静脉丛采血, 室温静置 2 h

表1 急性毒性表现评级观察表
Table 1 Acute toxicity performance rating observation table

观察	级别	指征	可能涉及的组织、器官或系统	积分
呼吸频率和呼吸深度改变	0级	呼吸状态正常	—	0
	I级	呼吸困难、费力,呼吸频率减慢	呼吸中枢失常	1
	II级	吸气困难、伴有喘息声	呼吸中枢失常、肺部水肿、呼吸道内有分泌物集聚	2
	III级	呼吸停止:用力呼吸后会伴有短暂的呼吸停止现象	中枢神经系统呼吸中枢异常、心肺功能不全	3
运动功能和运动状态变化	0级	运动状态正常	—	0
	I级	怠动	躯体运动异常	1
	II级	嗜睡,可被外界刺激唤醒而恢复正常活动	中枢神经系统睡眠中枢失常	2
	III级	运动失去协调性、无法控制自身运动或正位反射(翻正反射)消失:动物体处于异常体位时所产生的恢复正常体位的反射消失	中枢神经系统、神经肌肉失常、自主神经失常	3
排便异常	0级	排便正常	—	0
	I级	粪便干燥	自主神经、胃肠动力异常	1
	II级	便秘	自主神经、胃肠动力异常	2
	III级	体液丢失,水样便	自主神经、胃肠动力异常	3

后,离心得血清。按ALT、AST、BUN、Cr试剂盒说明书中的检测方法及操作步骤,测定炒决明子水、醇提取物对小鼠急毒血清中生化指标的影响。

2.5 数据统计和处理

数据采用GraphPad Prism 7统计软件进行处理,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间进行单因素方差分析,根据方差分析结果进行 t -test检验。

3 结果

3.1 含量测定结果

按药典法进行炒决明子水提取物中大黄酚和橙黄决明素的含量检测,分别占生药的0.145 1%和0.018 5%;炒决明子醇提取物中大黄酚和橙黄决明素分别占生药百分含量的0.144 9%和0.024 8%。水、醇提取

物中大黄酚含量差别不大,橙黄决明素含量相差较大,醇提取物中的橙黄决明素含量大于水提取物。

3.2 炒决明子水、醇提取物对正常小鼠急性毒性实验结果

3.2.1 炒决明子水提取物组对正常小鼠急性毒性MFD实验结果 一日内ig给予小鼠炒决明子水提取物2次,按含生药量计算为114.96 g/kg,相当于临床70 kg成年人日用量的588倍,未出现死亡现象。

3.2.2 炒决明子水提取物组小鼠体质量变化 炒决明子水提取物组小鼠体质量与对照组比较未出现显著性差异,药后7 d,药物组存活小鼠体质量增长与对照组比较基本一致。结果见图1。

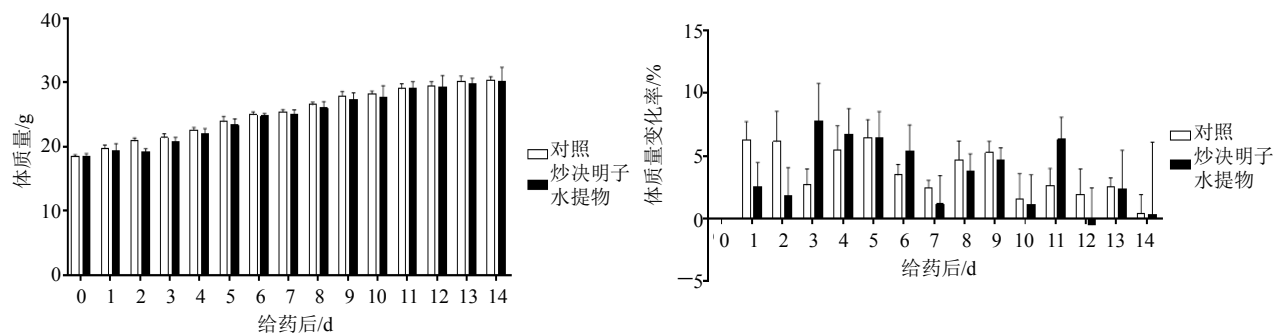


图1 炒决明子水提取物组MFD实验小鼠体质量变化($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Fig. 1 Changes of weight of experimental mice with MFD in water extract group of roasted seeds of *C. obtusifolia* ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

3.2.3 炒决明子醇提物组对正常小鼠急性毒性MTD实验结果 一日内给予小鼠决明子醇提取物1次,按含生药量计算为178.40 g/kg,相当于临床70 kg成年人日用量的823.5倍,死亡率为5%。

3.2.4 炒决明子醇提物组小鼠体质量变化 给予炒决明子醇提取物的小鼠体质量与对照组比较未出现显著性差异,药后第2~5天炒决明子醇提物组小鼠体质量与对照组比较上差异较明显,药后7 d炒决明子醇提物组的存活小鼠的体质量增长与对照组比较基本一致,结果见图2。

3.2.5 小鼠急性毒性表现观察情况 对照组小鼠未见明显急性毒性反应。炒决明子水提物给药后3只小鼠出现明显毒性反应,其余17只小鼠反应基本正常,依据表1观察指征积分标准进行统计,不良反应症状的总积分为20。炒决明子醇提物给药后小鼠均出现便溏、怠动、腹卧昏睡等现象,同时伴有走路不稳、心率加速、呼吸急促等症状。死亡1只小鼠,死亡小鼠解剖后肉眼观察,重要脏器并未出现

明显异常。依据表1的观察指征积分标准进行统计,不良反应症状的总积分为175。

炒决明子水提物、醇提物组小鼠急毒症状发生率和急毒表现积分见表3、4。其中醇提物急毒表现平均积分显著高于水提物组($P<0.001$)。

3.2.6 小鼠急性毒性反应随时间变化情况 炒决明子水提物组小鼠,一次给药后2 h 45 min,出现呼吸困难、嗜睡等毒性反应症状,并于一次给药21 h后症状消失。二次给药后,出现轻微扭体反应、便溏、吸气困难、运动失调等毒性反应症状,并于二次给药后9 h消失(炒决明子水提物组中因为一次给药后12 h进行二次给药,此时一次给药毒性症状并未完全消失,因此无法记录第二次给药毒性反应出现的时间)。

炒决明子醇提物组小鼠,一次给药后70 min,出现剧烈扭体反应、便溏、呼吸和运动频率失调等毒性反应,组中1只小鼠于药后6 h,出现正位反射消失、呼吸停止的毒性反应症状,并死亡,其余小鼠于

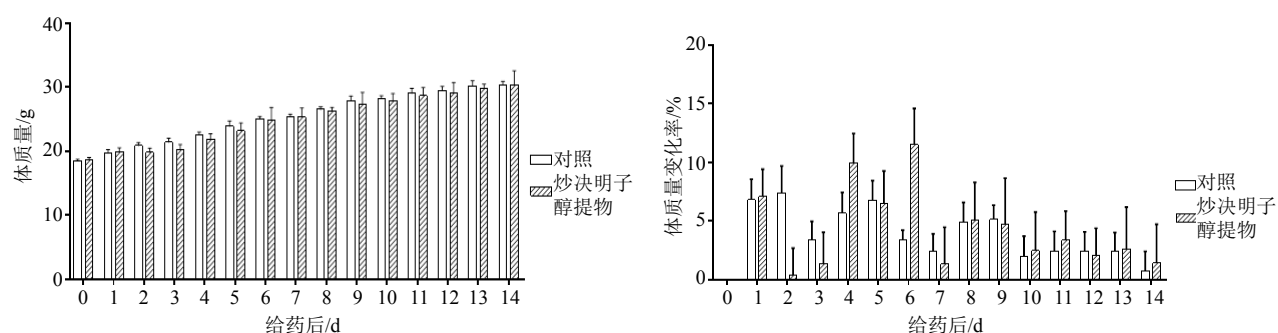


图2 炒决明子醇提物组MTD实验体质量变化($\bar{x} \pm s$)

Fig. 2 Weight variation of MTD in alcohol extraction group of roasted seeds of *C. obtusifolia* ($\bar{x} \pm s$)

表3 小鼠急毒症状发生率($n=20$)

Table3 Percentage of acute toxic symptoms in mice ($n=20$)

组别	呼吸频率和呼吸深度改变/%				运动功能和运动状态变化/%				排便异常/%			
	0级	I级	II级	III级	0级	I级	II级	III级	0级	I级	II级	III级
炒决明子水提物	80	5	15	0	80	5	15	0	80	10	10	0
炒决明子醇提物	0	0	15	85	0	0	5	95	0	0	5	95

表4 小鼠急毒表现平均积分表($\bar{x} \pm s, n=20$)

Table 4 Mice acute poison performance list ($\bar{x} \pm s, n=20$)

组别	呼吸频率和呼吸深度改变积分	运动功能和运动状态变化积分	排便异常
炒决明子水提物	1.75±0.43	1.75±0.43	1.50±0.50
炒决明子醇提物	2.85±0.36***	2.95±0.22***	2.95±0.22

与炒决明子水提物比较:*** $P<0.001$

*** $P<0.001$ vs water extract of roasted seed of *C. obtusifolia*

药后15 h毒性反应症状消失。

给药后,炒决明子水提物组和醇提物组小鼠的ALT、AST、BUN、Cr指标升高,与对照组比较,水提物组ALT、Cr水平呈非常显著性差异($P<0.01$),AST未呈现显著性差异,BUN水平呈现极为显著性差异($P<0.001$);炒决明子醇提物组ALT、BUN、Cr

3.3 对小鼠血液生化指标的影响

水平均出现极为显著性差异($P<0.001$),AST未呈现显著性差异。结果表明,炒决明子水、醇提物对正常小鼠的肝、肾功能均有影响,其中对肾脏的影响较为严重。见表5。

表5 炒决明子不同提取物对急性毒性小鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

Table5 Effects of different extracts of Fried semen cassia on blood biochemical indexes of acute toxic mice ($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

组别	ALT/(IU·L ⁻¹)	AST/(IU·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	Cr/(μmol·L ⁻¹)
对照	52.71±4.09	97.30±25.16	6.96±0.22	23.76±9.72
炒决明子水提物	104.31±56.44**	127.02±62.06	8.88±0.92***	46.24±18.85**
炒决明子醇提物	141.03±63.65***	148.46±94.00	9.97±1.88***	79.66±29.49***

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs control group

4 讨论

生决明子味甘、苦、咸,微寒,归肝、大肠经,长于清肝热,润肠燥。炒制之后能缓和寒泻之性,有平肝养肾的功效^[12],临床上主要用于治疗羞明多泪,目赤涩痛,头痛眩晕,目暗不明,大便秘结等。决明子广泛应用于现代治疗青光眼、眼结膜炎、便秘、高血脂、高血压等疾病。由于决明子被列为药食两用品种,会出现超剂量、长疗程用药现象,以及联合用药错误等,使其不良反应不易被发现和认知。

实验室前期对生决明子进行了相关研究,研究结果为:生决明子水提物对正常小鼠的MFD为76.6 g/kg,相当于临床70 kg成年人日用量的357.6倍;生决明子醇提物对正常小鼠MTD为159.6 g/kg,相当于临床70 kg成年人日用量的774.8倍^[2]。结果提示,在生决明子中醇提物的毒性大于水提物。本实验以炒决明子为研究对象,研究不同提取工艺对其急性毒性和物质基础之间的影响。

中医理论中记载,决明子炒制之后寒泻、润凉之性大为缓和,清泻肝火、润肠通便之力减弱^[13]。炒决明子的水提物和醇提物对正常小鼠的急性毒性实验结果显示:给小鼠ig炒决明子水提物,在一定时间内无死亡现象,经MFD实验考察,炒决明子水提物对正常小鼠的MFD为114.96 g/kg,相当于临床70 kg的成人日剂量588倍;给小鼠ig炒决明子醇提物后,在一定时间内实验小鼠出现1只死亡,经MTD实验考察,炒决明子醇提物对正常小鼠MTD为178.40 g/kg,相当于临床70 kg的成人每千克体质量日用量的832.5倍。炒决明子的水提物组和醇提物

组相对于对照组均出现毒性升高现象,出现精神萎靡、怠动、便溏、俯卧昏睡等现象,其中小鼠的便溏现象尤为明显,且醇提物>水提物。生化指标检测显示,炒决明子水、醇提取物对小鼠的肝、肾功能均有显著性影响,其中对肾脏的影响最为显著。

在毒性方面,决明子炒制之后毒性降低,即炒决明子毒性小于生决明子。含量测定分析可得,炒决明子不同提取工艺大黄酚和橙黄决明素的含量均大于生决明子;炒决明子醇提物中的橙黄决明素含量大于水提物,醇提物急性毒性大于水提物,橙黄决明素与急性毒性相关是否相关有待进一步研究。提取工艺方面,不论是升决明子还是炒决明子,水提工艺样品的毒性均小于醇提工艺。

决明子炒制后,毒性下降,有效物质溶出增多,且不论是生决明子还是炒决明子,水提工艺较醇提工艺更为安全;建议在临床应用中,结合病证分析和用药疗程,尽量选用炒决明子水提工艺以保证安全有效。

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [2] 黄娜娜,孙 蓉. 决明子不同提取方式对正常小鼠的急性毒性比较研究[J]. 中国药物警戒, 2016, 13(11): 641-644, 650.
- [3] 徐叔云,卞如濂. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 227-229.
- [4] 张加雄,万 丽,胡轶娟,等. 决明子降血脂有效部位的研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(6): 904-905.
- [5] 刘伟民,江 滨,曾元儿,等. 决明子总蒽醌的水提和醇提工艺比较研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(9): 2270-

- 2271.
- [6] 项昭保, 金光辉, 王光利. 决明子有效成分提取工艺和药理作用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(2): 387-391.
- [7] 尚冀宁. 决明子化学成分及提取方法研究 [J]. 科技创新导报, 2013, (20): 134-135.
- [8] 张治雄, 梁永锋. 决明子化学成分的分离与鉴定 [J]. 中国药房, 2012, 23(19): 1782-1783.
- [9] 黄娜娜, 窦立雯, 孙 蓉. 基于功效及物质基础的决明子药理与毒理作用研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2016, 13(5): 282-285.
- [10] 李桂柳, 肖永庆, 李 丽, 等. 炒决明子化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(1): 54-56.
- [11] 高 钦, 许惠琴, 陈建伟, 等. 不同炮制的决明子保肝及润肠通便作用研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2007, (3): 194-196.
- [12] 李桂柳, 肖永庆, 张 村, 等. 决明子炒制前后2类成分的含量比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(11): 1364-1367.
- [13] 赵 岩. 决明子炮制前后化学成分变化研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2516-2518.