

中药藜芦与蒙药阿格希日嘎的指纹图谱评价及其急性毒性比较

郭晶晶¹, 包温根其其格², 哈斯娜布琪³, 赵红梅¹, 包保全¹, 张 屏^{1*}

1. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特 010110

2. 内蒙古通辽市扎鲁特旗食品药品检验所, 内蒙古 通辽 029100

3. 内蒙古锡林郭勒盟蒙医医院, 内蒙古 锡林浩特 026000

摘要:目的 研究蒙药阿格希日嘎与中药藜芦在化学成分和毒性方面的差异,为蒙药阿格希日嘎质量标准的制定奠定基础。方法 建立藜芦甾体生物碱类和芪类成分的 HPLC 指纹图谱,测定不同来源的 8 批蒙药阿格希日嘎和 6 批中药藜芦,所得色谱图导入“中药指纹图谱相似度评价系统”,建立蒙药阿格希日嘎和中药藜芦指纹图谱共有模式并进行相似度评价。选取藜芦特征色谱峰,包括甾体生物碱类 32 个和芪类 16 个,以各峰面积占总峰面积的百分比为变量,运用 SPSS 20.0 软件进行聚类分析。采用小鼠急性毒性实验法评价蒙药阿格希日嘎和中药藜芦的毒性。结果 建立了藜芦甾体生物碱类和芪类成分的 HPLC 指纹图谱测定方法,得到了蒙药阿格希日嘎和中药藜芦指纹图谱共有模式,各样品与其共有模式之间相似度良好。以甾体生物碱类和芪类成分为指标的聚类分析,均将 14 批药材聚成蒙药阿格希日嘎与中药藜芦 2 大类。蒙药阿格希日嘎比中药藜芦的急性毒性大,LD₅₀ 分别为 0.503 0 和 17.934 3 g/kg。结论 蒙药阿格希日嘎与中药藜芦在功效主治、产地、化学成分和毒性方面具有很大差异,应区分入药并制定蒙药阿格希日嘎质量标准。

关键词: 藜芦; 阿格希日嘎; 甾体生物碱; 芪类; 指纹图谱; 聚类分析; 急性毒性

中图分类号: R286.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)15-3175-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.15.025

Quality differences between Mongolian and traditional Chinese medicine *Veratri Nigri Radix et Rhizoma* by HPLC fingerprint and acute toxicity

GUO Jing-jing¹, BAO Wengenqige², HA Sinabuqi³, ZHAO Hong-mei¹, BAO Bao-quan¹, ZHANG Ping¹

1. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

2. Zhaluteqi Institute for Food and Drug Control, Inner Mongolia, Tongliao 029100, China

3. Xilingol Mongolian medicine hospital, Inner Mongolia, Xilinhot 026000, China

Abstract: Objective To evaluate the quality differences between Mongolian medicine and traditional Chinese medicine (TCM) *Veratri Nigri Radix et Rhizoma* in HPLC fingerprint and acute toxicity, as a fundamental research for quality standazation. **Methods** HPLC fingerprint methods were used to analyze the steroid alkaloids and stilbenes of *Veratri Nigri Radix et Rhizoma* from different origins. A total of 14 batches of crude drugs, including eight Mongolian and six TCM samples, were examined, and their common pattern were established by authoritative software “fingerprint similarity evaluation system”. Characteristic peaks in these fingerprints, including 32 steroid alkaloids and 16 stilbenes, were selected to performing cluster analysis, using SPSS 20.0 software with relative peak area as variables. Through the experiments of acute toxicity in mice, their toxicities were examined. **Results** HPLC fingerprint methods of steroid alkaloids and stilbenes were established for the quality evaluation of *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*, and their common patterns of Mongolian medicines (RMJ, RMZ) and TCMs (RZJ, RZZ) with high similarities between groups were obtained. In clustering analysis, 14 batches of *Veratri Nigri Radix et Rhizoma* were divided into two categories distinctly, as Mongolian medicine and TCM groups. Mongolian medicine showed stronger toxicity than TCM with the LD₅₀ values as 0.503 0 and 17.934 3 g/kg, respectively. **Conclusion** The quality of Mongolian medicine and TCM *Veratri Nigri Radix et Rhizoma* in the aspects of efficacy and indications, producing area, chemical composition and acute toxicity were of significant differences. It is necessary and

收稿日期: 2017-02-18

基金项目: 《中国药典》2015 年版民族药材标准增修订计划(蒙药)项目“蒙药材藜芦质量标准研究”(M55)

作者简介: 郭晶晶(1992—),女,在读研究生,研究方向为药物和生物技术药物的定性定量分析及药品质量标准的制定。

Tel: 15147129656 E-mail: 1063747974@qq.com

*通信作者 张 屏(1977—),女,硕士生导师,教授,研究方向为中(蒙)药药效物质基础及质量控制研究。

Tel: (0471)6653168 E-mail: pingzhang@vip.126.com

emergency to distinguish the two crude drugs, and establish quality standard of Mongolian medicine *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*.

Key words: *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*; steroid alkaloid; stilbene; HPLC fingerprint; cluster analysis; acute toxicity

蒙药“阿格希日嘎”，中文名藜芦，为百合科植物藜芦 *Veratrum nigrum* L. 的干燥根及根茎；主要分布于内蒙古呼伦贝尔盟、哲里木盟，赤峰和锡林郭勒盟，生于林缘、草甸或山坡林下^[1]；春季抽花茎前采挖，除去苗叶、泥沙，晒干；味苦、辛，性平，效锐、糙、重、浮、稀，有毒；具有泻下、催吐之功效，用于治疗各种“希拉”病、消化不良、铁垢巴达干、剑突痞、痧症、虫症、疫热、胎衣不下、水肿、疮疽等^[2]。“阿格希日嘎”为蒙医寒热症总泻药，广泛用于脉泻、鼻泻、导泻和催吐疗法；内服 1~2 g^[3]。

中药藜芦同样来源于藜芦 *V. nigrum* L. 的干燥根及根茎，春季采挖；商品药材产地包括全国大部分地区，已载入江西、四川、贵州、山西、新疆、山东、湖南等地方药材标准^[4-6]。其味辛、苦，寒，有毒，具有涌吐风痰，杀虫功效，用于中风痰壅、癫痫、疟疾、疥癣、恶疮；内服 0.3~0.6 g；中药藜芦为少常用中药，不宜与人参、沙参、丹参、玄参、苦参、细辛、芍药同用^[7]。

藜芦属植物主要含有甾体生物碱类和芪类成分。甾体生物碱可分为西藜芦碱（cevine）型、介藜芦碱（jervine）型、藜芦胺（veratramine）型、茄次碱（solanidine）型和维藜芦碱（verazine）型，具有降血压、调血脂、抗血栓、抗癌等活性，并具有神经肌肉毒性^[8-9]。西藜芦碱骨架是藜芦抗血栓活性的必需结构，毒性最强^[10]；环靶明（11-去氧芥芬胺，11-deoxojervine）是一种 Hedgehog 信号通路抑制剂，对人类多种肿瘤细胞具有显著抑制作用，在抗肿瘤方

面表现出良好的活性^[11]。芪类化合物的结构母核为二苯乙烯，具有良好的抗氧化活性和清除自由基活性^[12-13]。本实验旨在研究不同产地蒙药阿格希日嘎与中药藜芦 HPLC 指纹图谱和毒性的差异，为蒙药阿格希日嘎的质量控制研究和进一步开发利用奠定基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器与试剂

日立 Chromaster 高效液相色谱系统，配 G1311A 四元泵，G1322A 真空脱气机，Chromaster DAD 5430 二极管阵列检测器，日立公司；Alletech ELSD 3300 蒸发光散射检测器，GCK3308 全自动空气源，Alletech 公司；AB135-S 电子天平（ $d=0.01$ mg），瑞士 Mettler Toledo 公司。藜芦胺（批号 YL-2013010327）、芥芬胺（批号 YL-2013091833）对照品，购自上海一林生物科技有限公司，质量分数均大于 98.0%；氧化白藜芦醇（批号 LP0350-20140301）、白藜芦醇（批号 MUST-12032106）对照品，购自中国食品药品检定研究院，质量分数均大于 98.0%。

1.2 动物

健康昆明种小鼠，雌雄各半，体质量（ 20 ± 2 ）g，北京市中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心，在内蒙古医科大学实验动物中心适应性饲养一周后进行实验。

1.3 药材样品采集与购买

藜芦样品 14 批，其中 8 批为蒙药阿格希日嘎，6 批为中药藜芦（表 1）。蒙药阿格希日嘎均由野外

表 1 14 批藜芦药材样品的详细信息

Table 1 Fourteen batches of *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*

编号	采集地或购买地（产地）	品种鉴定	分类	获得方式	收集日期
S1	内蒙古赤峰市高格斯台罕乌拉国家级自然保护区	<i>V. nigrum</i>	蒙药阿格希日嘎	采集并制作	2014-07-06
S2	内蒙古呼和浩特和林县南天门林场 6 月	<i>V. nigrum</i>	蒙药阿格希日嘎	采集并制作	2014-06-08
S3	内蒙古呼和浩特和林县南天门林场 7 月	<i>V. nigrum</i>	蒙药阿格希日嘎	采集并制作	2014-07-06
S4	内蒙古呼和浩特和林县南天门林场 9 月	<i>V. nigrum</i>	蒙药阿格希日嘎	采集并制作	2014-09-08
S5	内蒙古呼伦贝尔市维纳河自然保护区	<i>V. nigrum</i>	蒙药阿格希日嘎	采集并制作	2015-07-04
S6	内蒙古赤峰市巴林右旗赛罕乌拉国家级自然保护区	<i>V. nigrum</i>	蒙药阿格希日嘎	采集并制作	2013-08-20
S7	内蒙古通辽市扎鲁特旗罕山自然保护区	<i>V. nigrum</i>	蒙药阿格希日嘎	采集并制作	2013-07-20
S8	内蒙古锡盟蓝旗桑根达莱乌赫尔沁敖包	<i>V. nigrum</i>	蒙药阿格希日嘎	采集并制作	2013-08-21
S9	安国药材市场	<i>V. nigrum</i>	中药藜芦	购买	2014-01-20
S10	内蒙古呼伦贝尔市蒙医医院	<i>V. nigrum</i>	中药藜芦	购买	2013-11-12
S11	沈阳金义药材商行	<i>V. nigrum</i>	中药藜芦	购买	2014-04-05
S12	沈阳康如意药材有限公司	<i>V. nigrum</i>	中药藜芦	购买	2014-04-05
S13	安国药材市场	<i>V. nigrum</i>	中药藜芦	购买	2013-11-12
S14	安国药材市场	<i>V. nigrum</i>	中药藜芦	购买	2013-12-02

实地采集并制作, 中药藜芦样品购买于安国药材市场、药材公司和医院药房, 两者均由内蒙古医科大学包保全教授鉴定为百合科植物藜芦 *Veratrum nigrum* L. 的干燥根及根茎, 模式标本存放于内蒙古医科大学药学院标本室。

2 方法与结果

2.1 甾体生物碱类指纹图谱测定方法

2.1.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 乙腈 (A) -0.1%三乙胺和 0.1%甲酸水溶液 (B) 为流动相; 线性梯度洗脱 0~6 min, 5%~20% A; 6~40 min, 20%~35% A; 40~45 min, 35%~100% A; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 25 ℃; 进样量 10 μL; 蒸发光散射检测器, 漂移管温度为 98 ℃, 载气体积流量 2.2 mL/min。

2.1.2 对照品溶液的制备 取芥芬胺和藜芦胺对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成含芥芬胺和藜芦胺各 1.0 mg/mL 的混合对照品溶液, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品粉末约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入浓氨试液 2 mL, 浸润 1 h, 加三氯甲烷-甲醇 (4:1) 混合溶液 40 mL, 置水浴中加热回流 2 h, 放冷, 滤过, 洗涤药渣 2~3 次, 合并滤液并定容于 50 mL 量瓶中; 精密量取 10 mL, 蒸干, 残渣加甲醇溶解定容于 5 mL 量瓶中, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2 茛菪类成分指纹图谱测定方法

2.2.1 色谱条件 上述色谱柱, 乙腈 (A) -水 (B) 为流动相, 线性梯度洗脱 0~5 min, 5%~10% A; 5~20 min, 10%~15% A; 20~40 min, 15%~40% A; 40~45 min, 40%~95% A; 检测波长 306 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 40 ℃; 进样量 10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取氧化白藜芦醇和白藜芦醇对照品适量, 精密测定, 加甲醇制成含氧化白藜芦醇和白藜芦醇各 0.1 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50%乙醇 25 mL, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 用稀乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 重复性试验 取同一批样品 (S14), 按“2.1.3”和“2.2.3”项下方法分别制备甾体生物碱类和茛菪类供试品溶液各 6 份, 按各自色谱条件进行分析。甾体生物碱类和茛菪类指纹图谱分别以芥

芬胺 ($t_R=29.8$ min) 和氧化白藜芦醇 ($t_R=12.9$ min) 为参比峰, 计算主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果各色谱峰相对保留时间的 RSD<0.8%, 相对峰面积的 RSD<2.9%, 表明重复性良好。

2.3.2 精密度试验 取同一批样品 (S14), 按“2.1.3”和“2.2.3”项制备甾体生物碱类和茛菪类供试品溶液, 在各自的色谱条件下连续进样 6 次。结果各色谱峰相对保留时间的 RSD<1.2%, 相对峰面积的 RSD<2.6%, 表明精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 取同一批样品 (S14), 按“2.1.3”和“2.2.3”项制备甾体生物碱类和茛菪类供试品溶液, 在各自的色谱条件下, 于 0、2、4、6、8 和 12 h 进样分析。结果各色谱峰相对保留时间的 RSD<1.2%, 相对峰面积的 RSD<1.9%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.4 共有模式的建立与相似度评价

2.4.1 14 批藜芦样品指纹图谱的总体评价

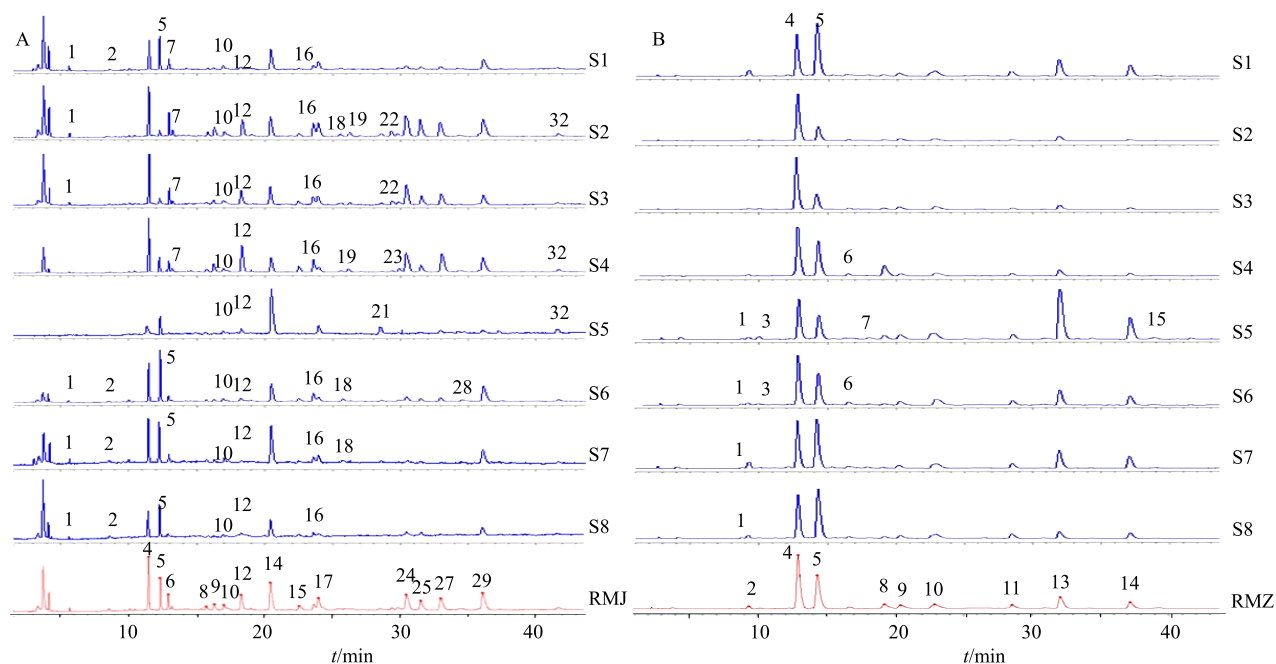
(1) 甾体生物碱类成分指纹图谱的评价: 取样品 (S1~S14) 甾体生物碱类供试品溶液, 按“2.1.1”项色谱条件进行测定, 记录色谱图, 结果 14 批指纹图谱差异较大, 表现为共有峰少、主峰峰面积变化大 (图 1-A、2-A)。对 14 批样品指纹图谱中特征色谱峰 (峰面积占总峰面积 1%以上, 0~5 min 除外), 按照出峰时间顺序进行编号, 得到 32 个色谱峰, 14 批指纹图谱中共有峰仅有 3 个 (5、10 和 12 号峰)。将 14 批指纹图谱导入国家药典委员会“中药指纹图谱相似度评价系统”进行相似度评价, 结果各批次间相似度差异较大, 在 0.043~0.989。

(2) 茛菪类成分指纹图谱的评价: 取样品 (S1~S14) 茛菪类供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件进行测定, 结果所得指纹图谱差异较大 (图 1-B、2-B)。对茛菪类指纹图谱中特征峰进行编号, 得到 16 个色谱峰, 其中共有峰 7 个 (4、5、9~11、13 和 14 号峰), 组间相似度在 0.178~0.997。

结果表明, 14 批样品质量差异较大, 组间相似度低, 无法建立统一的 HPLC 指纹图谱质量评价体系; 应适当分组后, 再生成 HPLC 指纹图谱共有模式, 之后进行相似度评价。

2.4.2 蒙药阿格希日嘎共有模式的建立及相似度评价

(1) 蒙药阿格希日嘎甾体生物碱类指纹图谱: 样品 (S1~S8) 均为蒙药阿格希日嘎, 指纹图谱中

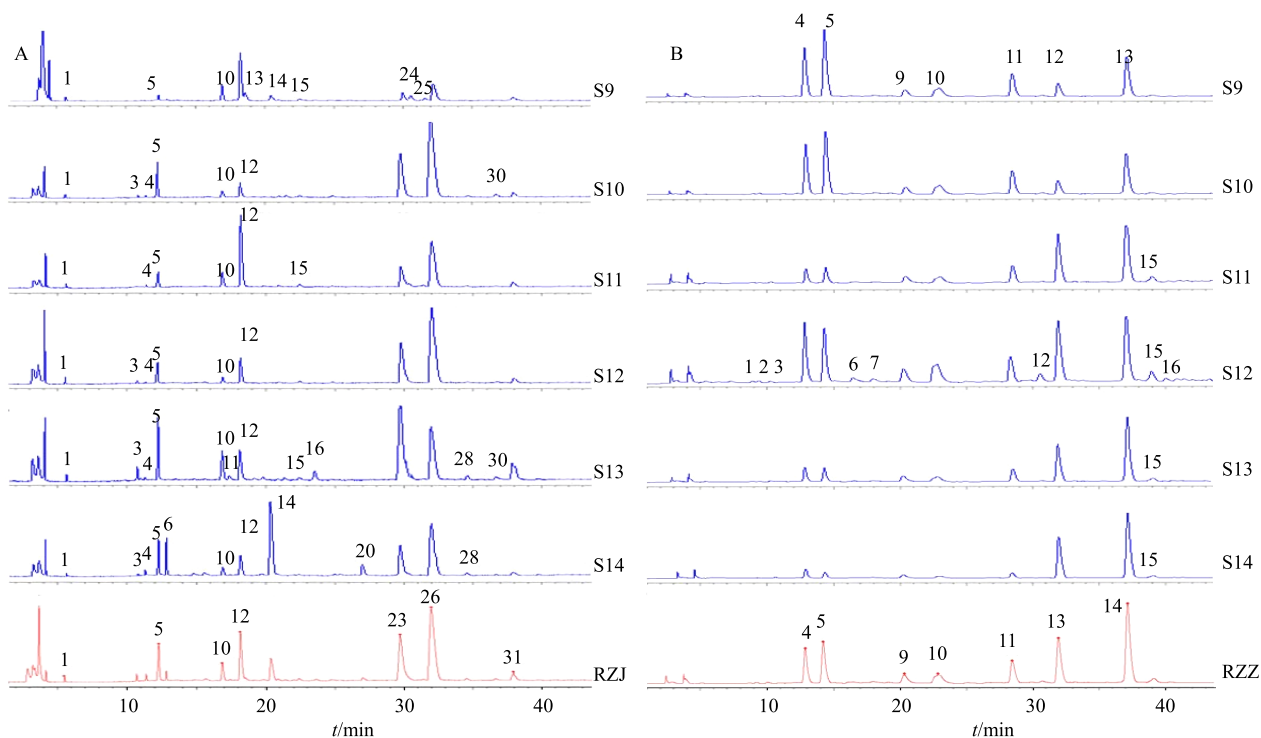


4-氧化白藜芦醇 5-白藜芦醇 RMJ、RMZ 分别为蒙药阿格希日嘎甾体生物碱类和芪类指纹图谱共有模式

4-oxyresveratrol 5-resveratrol RMJ、RMZ were common pattern of steroid alkaloid and stilbene in Mongolian *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*

图1 蒙药阿格希日嘎样品甾体生物碱类 (A) 和芪类 (B) HPLC 指纹图谱及其共有模式

Fig. 1 HPLC and common pattern of steroid alkaloid (A) and stilbene (B) in Mongolian medicine *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*



23-芥芬胺 26-藜芦胺 4-氧化白藜芦醇 5-白藜芦醇 RZJ、RZZ 分别为中药藜芦甾体生物碱类和芪类指纹图谱共有模式

23-jervine 26-veratramine 4-oxyresveratrol 5-resveratrol RZJ、RZZ were common pattern of steroid alkaloid and stilbene in TCM *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*

图2 中药藜芦甾体生物碱类 (A) 和芪类 (B) HPLC 指纹图谱及其共有模式

Fig. 2 HPLC and common pattern of steroid alkaloid (A) and stilbene (B) in TCM *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*

共有峰 14 个 (4~6、8~10、12、14、15、17、24、25、27 和 29 号峰), 特有峰 11 个 (1、2、7、16、18、19、21~23、28 和 32 号峰); 各批样品均未检测到藜芦胺, 仅 S4 样品检测到少量芥芬胺, 而芥芬胺和藜芦胺为中药藜芦中的主要生物碱^[14-15]; 指纹图谱组间相似度在 0.603~0.963; 利用“中药指纹图谱相似度评价系统”软件, 采用平均数法^[16-17], 生成蒙药阿格希日嘎甾体生物碱类指纹图谱共有模式 RMJ, 结果各样品与 RMJ 之间的相似度, 除 S5 (0.741) 外, 均在 0.824 以上 (表 2)。

(2) 蒙药阿格希日嘎芪类指纹图谱: 蒙药阿格希日嘎 (S1~S8) 芪类指纹图谱中共有峰 9 个 (2、4、5、8~11、13 和 14 号峰), 特有峰 5 个 (1、3、6、7 和 15 号峰)。平均数法生成蒙药阿格希日嘎芪类指纹图谱共有模式 RMZ, 结果各样品与 RMZ 之间的相似度, 除 S5 (0.720) 外, 均在 0.923 以上 (表 2)。

结果表明, 建立的蒙药阿格希日嘎甾体生物碱类和芪类成分的共有模式 RMJ 和 RMZ 与蒙药阿格希日嘎各样品相似度良好, 可用于鉴别蒙药阿格希日嘎; 内蒙东部呼伦贝尔盟产区的阿格希日嘎 (S5) 与其他产地蒙药阿格希日嘎质量差异较大。

2.4.3 中药藜芦共有模式的建立及其相似度评价

(1) 中药藜芦甾体生物碱类指纹图谱: 样品 (S9~S14) 均为中药藜芦, 指纹图谱中共有峰 7 个 (1、5、10、12、23、26 和 31 号峰), 特有峰 13 个 (3、4、6、11、13~16、20、24、25、28 和 30 号

峰)。平均数法生成中药藜芦甾体生物碱类指纹图谱共有模式 RZJ, 结果各样品与 RZJ 的相似度在 0.856~0.954 (表 3)。

(2) 中药藜芦芪类指纹图谱: 中药藜芦 (S9~S14) 芪类指纹图谱中共有峰 7 个 (4、5、9~11、13 和 14 号峰), 特有峰 8 个 (1~3、6、7、12、15 和 16 号峰)。平均数法生成中药藜芦芪类指纹图谱共有模式 RZZ, 结果各样品与 RZZ 的相似度在 0.842~0.979 (表 3)。结果表明, 建立的中药藜芦甾体生物碱类和芪类成分的共有模式 RZJ 和 RZZ 与中药藜芦各样品相似度良好, 可用于鉴别中药藜芦。

表 3 中药藜芦各样品与其共有模式之间的相似度评价
Table 3 Similarity evaluation between samples and common patterns

共有模式	相似系数					
	S9	S10	S11	S12	S13	S14
RZJ	0.906	0.945	0.885	0.954	0.856	0.906
RZZ	0.842	0.958	0.960	0.967	0.922	0.979

2.5 14 批药材指纹图谱聚类分析

对 14 批药材指纹图谱进行聚类分析^[18], 以“2.4.1”项下的特征色谱峰的峰面积占比为变量, 运用 SPSS 20.0 统计分析软件, 采用欧氏距离法进行聚类, 结果见图 3。藜芦甾体生物碱类的聚类分析将 14 批藜芦样品分为 2 类, 分别为蒙药阿格希日嘎 (S1~S8) 和中药藜芦 (S9~S14)。藜芦芪类指纹图谱也聚为 2 类, 蒙药阿格希日嘎 (S1~S4、S6~S8) 和中药藜芦 (S9~S14), 但内蒙东部呼伦贝尔盟产区的阿格希日嘎样品 (S5) 芪类的聚类分析谱与中药藜芦距离较近。结果表明, 藜芦药材根据其甾体生物碱类和芪类成分的分布和质量分数的差异, 可显著地分为 2 类, 即蒙药阿格希日嘎和中药藜芦, 蒙药阿格希日嘎中呼伦贝尔产区样品质量差异较大。

表 2 蒙药阿格希日嘎各样品与其共有模式之间的相似度评价
Table 2 Similarity evaluation between samples and common patterns

共有模式	相似系数							
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
RMJ	0.891	0.957	0.967	0.942	0.741	0.932	0.905	0.824
RMZ	0.923	0.951	0.945	0.981	0.720	0.991	0.951	0.944

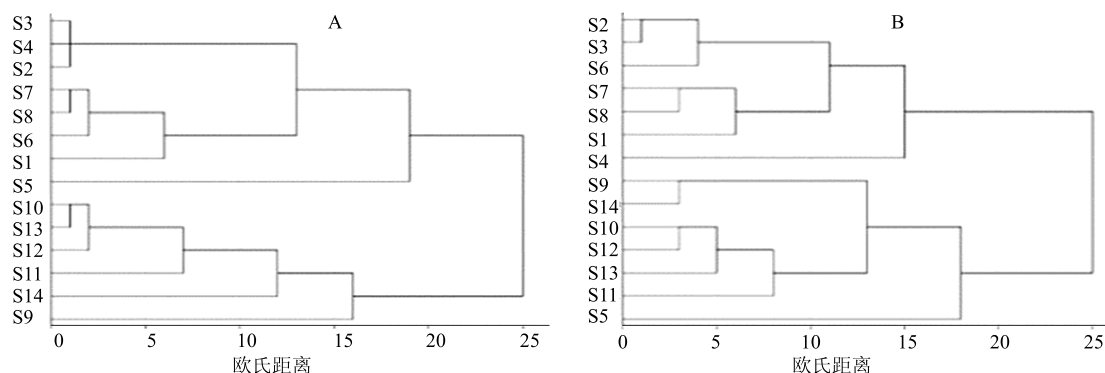


图 3 14 批药材甾体生物碱类 (A) 和芪类 (B) 聚类分析

Fig. 3 Dendrogram of 14 batches of steroid alkaloid (A) and stilbene (B) in *Veratri Nigri Radix et Rhizoma*

2.6 蒙药阿格希日嘎与中药藜芦急性毒性实验

2.6.1 水提组分样品的制备 依据“2.4”项,选取与共有模式相似度较高的样品 S2 和 S14 分别代表蒙药阿格希日嘎和中药藜芦,进行急性毒性研究。分别取样品粗粉 25 g, 8 倍量水回流提取 3 次,每次 1 h,合并提取液,减压浓缩至浸膏,用蒸馏水配制成所需浓度,备用。

2.6.2 小鼠急性毒性实验方法^[19-20] 首先进行预试验,取禁食 12 h 小鼠,按体质量随机分为 3 组,分别为蒙药阿格希日嘎组、中药藜芦组和水对照组,每组 5 只。药物组按 20 mL/kg 体质量 ig 给药 1 次,水对照组 ig 等体积的水。根据小鼠死亡情况调整给药浓度,分别找出各样品 LD₁₀₀、LD₀ 和相应的剂量组间距(*r*)值。

取小鼠 150 只,按体质量和性别随机分组,每组 10 只。依据预试验结果,将蒙药阿格希日嘎分为 8 个剂量组(2.00、1.30、0.85、0.55、0.36、0.20、0.15、0.10 g/kg),中药藜芦分为 6 个剂量(45.00、33.75、25.31、18.98、14.23、10.67 g/kg)和一个对照组进行急性毒性实验,观察 7 d,记录急性毒性症状,统计小鼠死亡分布,计算半数致死剂量(LD₅₀)值。

2.6.3 藜芦水提物小鼠急性毒性 LD₅₀ 实验结果

(1) 小鼠急性毒性 LD₅₀: 蒙药阿格希日嘎最大给药剂量 LD₁₀₀ 为 2.0 g/kg,最小给药剂量 LD₀ 为 0.10 g/kg,各剂量组间距 *r* 值为 0.65; 8 个剂量组的死亡率分别为 100%、90%、80%、60%、30%、20%、0、0; Bliss 法计算,按生药量计,LD₅₀ 为 0.503 0 g/kg,95%的可信限为(0.485 2±0.057 6) g/kg。

中药藜芦最大给药剂量 LD₁₀₀ 为 45 g/kg,最小给药剂量 LD₀ 为 14 g/kg,各剂量 *r* 值为 0.75; 6 个剂量组的死亡率分别为 100%、100%、90%、80%、60%、0; Bliss 法计算,按生药量计,LD₅₀ 为 17.934 3 g/kg,95%的可信限为(18.363 0±3.964 2) g/kg。

(2) 小鼠急性毒性症状观察情况: 各组 ig 给药 1~7 min 后,几乎所有小鼠均出现不同程度的毒性反应。较低剂量组的不良反应多为活动减少、精神不振;高剂量组多为烦躁、耸毛、全身抖动、蜷缩、抽搐、大小便失禁,继而全身抽搐而死亡。存活小鼠在给药后 2~6 h 不良反应消失,恢复正常。7 d 后处死存活小鼠及对照组小鼠,解剖肉眼观察脏器后发现给予藜芦水煎液小鼠的肝脏颜色比较深黑,胃肠道肿胀。对照组小鼠无上述现象,说明藜芦对

肝脏及胃肠道有毒性作用。

3 讨论

蒙药阿格希日嘎与中药藜芦来源于同种植物的同一药用部位,采收期也相同,但两者产地和临床应用有很大区别。蒙药阿格希日嘎分布于内蒙大部分地区,为蒙药中“寒热证总泻药”,在蒙医临床中具有不可替代的地位。蒙药阿格希日嘎应用时多为采集自制,商品药材较少见,尚无质量标准收载。本研究 2013—2015 年,采集自制不同产地的蒙药阿格希日嘎样品 8 批,与市场购买的中药藜芦样品 6 批进行比较研究,发现蒙药阿格希日嘎与中药藜芦在化学成分组成和急性毒性上有很大区别。甾体生物碱类和萜类均为 2 种藜芦药材的主要化学成分,但 HPLC 指纹图谱中蒙药阿格希日嘎与中药藜芦的共有峰和相似度差异较大。蒙药阿格希日嘎主要色谱峰较中药藜芦的出峰较早,保留时间较短,可能是由于蒙药阿格希日嘎多含糖苷取代的甾体生物碱类和萜类成分,这可能与其生长于干旱、高寒地区有关。蒙药阿格希日嘎比中药藜芦急性毒性较大,由于蒙药阿格希日嘎多炮制后入药,需要进一步研究蒙药阿格希日嘎的炮制方法和用药剂量与毒性之间的关系。总之,蒙药阿格希日嘎与中药藜芦质量差异很大,建议蒙药阿格希日嘎与中药藜芦在临床应用中应区分入药,亟待制定蒙药阿格希日嘎的质量控制方法,并进行存放时间、生长年限和炮制方法等方面的深入研究。

参考文献

- [1] 朱亚民. 内蒙古植物药志 [M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1989.
- [2] 中华本草编委会·国家中医药管理局. 中华本草·蒙药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004.
- [3] 中国医学百科全书编委会·蒙医学编辑委员会. 中国医学百科全书·蒙医学分册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992.
- [4] 黎跃成. 药材标准品种大全: 国标、部标及各省、市、自治区药材标准品种大全 [M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2001.
- [5] 山东省中药材标准 [S]. 2002.
- [6] 湖南省中药材标准 [S]. 2009.
- [7] 南京中医药大学. 中药大辞典: 下册 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [8] 梁光义. 藜芦属植物中生物碱的研究概况 [J]. 药学学报, 1984, 19(4): 309-320.
- [9] 赵瑜, 陆国才, 张卫东, 等. 藜芦甾体生物碱药理毒理学研究进展 [J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4): 310-311.

- [10] 宋其玲, 王世盛, 李悦青, 等. 藜芦生物碱抗血栓作用及构效关系研究 [J]. 中药材, 2014, 37(11): 2034-2038.
- [11] 寇 耀. Hedgehog 信号通路对人胃癌 SGC-7901 细胞体外血管形成的调控 [J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 36(2): 230-234.
- [12] 赵 霞, 陆 阳, 陈泽乃. 白藜芦醇的化学药理学研究进展 [J]. 中草药, 1998, 29(12): 837-839.
- [13] 赵伟杰, 手冢康弘, 菊池彻. 乌苏里藜芦中芪类化合物的化学研究 [J]. 中国药物化学杂志, 1998, 8(1): 35-37.
- [14] 杨 亮, 王宇光, 梁乾德, 等. 藜芦与人参配比毒性与生物碱类成分变化的相关性研究 [J]. 中草药, 2012, 43(8): 1574-1579.
- [15] 张 盛, 周剑侠, 寿清耀, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定藜芦中的介藜芦碱和藜芦胺 [J]. 色谱, 2008, 26(1): 56-59.
- [16] 方雯雯, 成守玲, 陈培胜, 等. 白芷药材-饮片-提取物及配方颗粒的 HPLC 特征图谱相关性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3211-3214.
- [17] 钟 可, 王文全, 靳风云, 等. 知母的 HPLC-ELSD 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2747-2749.
- [18] 刘布鸣, 刘偲翔, 林 霄, 等. 十大功劳 HPLC 指纹图谱及聚类分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 95-99.
- [19] 徐叔云. 药理试验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1992.
- [20] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.