

基于雷公法结合盐炙法对补骨脂的炮制及肝毒性评价

洪 丽^{1,2}, 王 哲², 汤小涵², 袁海龙^{1,2*}

1. 安徽医科大学空军临床学院, 安徽 合肥 230032

2. 空军特色医学中心 药学部, 北京 100142

摘要: **目的** 基于雷公法结合盐炙法对补骨脂进行炮制减毒并评价补骨脂炮制前后的肝毒性变化。**方法** 建立高效液相色谱法同时测定补骨脂中补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素和补骨脂酚 6 个指标成分的含量; 选取醇浓度、醇浸时间和蒸制时间为考察因素, 以指标成分含量下降率的综合加权评分为指标, 正交试验优化炮制工艺, 并通过小鼠肝毒性实验评价补骨脂炮制前后的肝毒性。**结果** 补骨脂最佳炮制工艺, 按《中国药典》2020 年版盐炙法制备盐补骨脂, 取盐补骨脂适量, 加入 5 倍量 80%乙醇浸泡 24 h, 倒出乙醇并用蒸馏水洗净, 加入 5 倍量蒸馏水, 浸泡 12 h, 倒出蒸馏水并洗净, 置蒸锅内隔水蒸 4 h, 取出晾干; 由该法炮制所得的补骨脂炮制品中毒性成分含量明显下降, 小鼠肝毒性显著降低。**结论** 该炮制方法可明显降低补骨脂的肝毒性, 为临床合理炮制补骨脂提供参考。

关键词: 补骨脂; 雷公法; 盐炙法; 炮制减毒; 正交试验; 肝毒性; 补骨脂素; 异补骨脂素; 新补骨脂异黄酮; 补骨脂甲素; 补骨脂乙素; 补骨脂酚

中图分类号: R286 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)22-6983-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.22.025

Processing of *Psoraleae Fructus* based on combination of Leigong method and salt processed method and its hepatotoxicity evaluation

HONG Li^{1,2}, WANG Zhe², TANG Xiao-han², YUAN Hai-long^{1,2}

1. Air Force Clinical College, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

2. Department of Pharmacy, Air Force Medical Center, Beijing 100142, China

Abstract: Objective Buguzhi (*Psoraleae Fructus*, PF) was processed based on combination of Leigong method and salt processed method, and the hepatotoxicity of PF before and after processing were evaluated. **Methods** An HPLC method was established for simultaneous determination of 6 index components (psoralen, isopsoralen, neobavaisoflavone, bavachin, isobavachalcone and bakuchiol) in PF. With alcohol concentration, alcohol soaking time and steaming time as the investigation factors, the processing technology was optimized by orthogonal test with the comprehensive weighted score of the decrease rate of index components content as the index, and the hepatotoxicity of PF before and after processing was evaluated by hepatotoxicity test in mice. **Results** The optimal processing technology was as follows: the salt-processed PF was prepared according to the Chinese Pharmacopoeia, and then was soaked in 5 times the amounts of 80% medicinal ethanol for 24 h. After removing the medicinal ethanol and washing with distilled water, the PF was further soaked in 5 times the amounts of distilled water for 12 h. After removing the distilled water and washing with fresh distilled water, the PF was steamed in a steamer for 4 h and then air-dried. The content of toxic components in the processed PF were significantly reduced, and hepatotoxicity in mice was significantly reduced. **Conclusion** The processing method can significantly reduce the hepatotoxicity of PF, and provide reference for rational clinical processing of PF.

Key words: *Psoraleae Fructus*; Leigong method; salt processed method; processing attenuation; orthogonal test; hepatotoxicity; psoralen; isopsoralen; neobavaisoflavone; bavachin; isobavachalcone; bakuchiol

补骨脂, 又名破故纸, 是豆科一年生直立草本补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实, 性温, 味辛、苦, 归肾、脾经, 具有温肾助阳、纳气

平喘、温脾止泻的功效, 临床用于治疗肾阳不足、腰膝冷痛、五更泄泻等, 外用治白癜风及斑秃^[1]。现代药理研究表明补骨脂具有抗骨质疏松、抗肿瘤

收稿日期: 2021-05-06

基金项目: 军队后勤目录重点课题 (BKJ15J005)

作者简介: 洪 丽, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: 2385517652@qq.com

*通信作者: 袁海龙, 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药新型给药系统。Tel: (010)66928505 E-mail: yhlpharm@126.com

和抗氧化等药理作用^[2]。然而,近年来临床相继出现了补骨脂及其复方制剂长期或大剂量使用致严重肝损害的案例报道^[3-6],已经引起国内外研究者及药监部门的广泛关注,这在一定程度上限制了补骨脂及其复方制剂的临床应用。因此,探索有效的减毒方法,促进补骨脂及其复方制剂的临床应用及其产业化发展显得尤为重要。

合理炮制是降低中药毒性的有效方法之一,文献报道的补骨脂炮制减毒方法有盐炙法、雷公法、酒焙法、清炒法等,其中以盐炙法为主^[7-8],《中国药典》2020 年版一部收载的补骨脂炮制品为盐补骨脂^[1]。补骨脂盐炙不仅是引药下行、增补肝肾,还能通过除去药物中的燥性达到减毒的目的^[9]。但是,研究发现盐补骨脂仍然具有一定的肝毒性^[10-11],影响其临床应用的安全性。

文献报道,《雷公炮炙论》记载的酒浸水漂法(雷公法)可有效降低补骨脂的潜在肝毒性^[12]。因此,本研究尝试将盐炙法与雷公法结合对补骨脂进行炮制减毒研究,以补骨脂中致毒的关键成分补骨脂酚、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素^[13]及毒效成分补骨脂素和异补骨脂素的含量变化为指标,重点对雷公法进行炮制工艺优化,并初步评价其炮制减毒效果。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AD 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);BT25S 电子天平(十万分之一分析天平,赛多利斯科学仪器有限公司);KQ5200-B 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);TG16-W 高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);Epoch 酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);ASP300S 型全自动封闭脱水机(Leica 公司);RM2135 型切片机(Leica 公司);BX51 型显微镜(OLYMPUS 公司);BMJ-1 型包埋机(天津航空机电公司);S1-M82 型打粉机(九阳股份有限公司);蒸锅(浙江苏泊尔股份有限公司);C21-RT2149 美的电磁炉(广东美的生活电器制造有限公司);药典三号筛(上海楚柏实验室设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

补骨脂(产地河南,购自北京人卫中药饮片有限公司,批号为 20110306)经空军特色医学中心袁海龙主任药师鉴定为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实;对照品补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂

乙素、补骨脂酚(批号分别为 20062812、20061812、20062205、20060805、20121110、20060912,质量分数均 $\geq 98\%$)均购自北京百欧博伟生物技术有限公司;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司,批号分别为 20201206、20201112);食盐(中盐盐业有限公司);4%多聚甲醛溶液(北京索莱宝科技有限公司,批号 20200508);95%药用乙醇(南京润升石化有限公司);乙腈和甲醇(色谱纯, Fisher 公司);甲酸(色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司);其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

昆明小鼠,雄性,SPF 级,体质量(20 ± 2)g,购自北京科宇动物养殖中心,生产许可证号 SCXK(京)2018-0010。动物实验经空军特色医学中心伦理委员会批准,批准号为空特(科研)第 2021-87-PJ01。

2 方法与结果

2.1 补骨脂中指标成分定量分析方法的建立

2.1.1 色谱条件 Diamonsil-C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相乙腈(A)-0.1%甲酸水(B),梯度洗脱,0~12 min, 48%~53%A;12~30 min, 53%~70%A;30~40 min, 70%~85%A;40~45 min, 85%A;45~50 min, 85%~48%A。柱温 30 $^{\circ}$ C;检测波长为 240 nm;体积流量 1.0 mL/min;进样量 10 μ L。

2.1.2 对照品储备液的制备 精密称取对照品补骨脂素 15.00 mg、异补骨脂素 5.80 mg、新补骨脂异黄酮 9.80 mg、补骨脂甲素 8.00 mg、补骨脂乙素 9.00 mg 分别于 10 mL 量瓶中,甲醇定容,制成含 1.50 mg/mL 补骨脂素、580 μ g/mL 异补骨脂素、980 μ g/mL 新补骨脂异黄酮、800 μ g/mL 补骨脂甲素、900 μ g/mL 补骨脂乙素对照品储备液。精密称取补骨脂酚 21.80 mg 于 25 mL 量瓶中,甲醇定容,制成 872 μ g/mL 对照品储备液。

2.1.3 混合对照品储备液的制备 精密量取 1 mL 补骨脂素、2 mL 异补骨脂素、0.5 mL 新补骨脂异黄酮、0.5 mL 补骨脂甲素、0.5 mL 补骨脂乙素、5 mL 补骨脂酚对照品储备液于同一 10 mL 量瓶中,甲醇定容,制成含 150 μ g/mL 补骨脂素、116 μ g/mL 异补骨脂素、49 μ g/mL 新补骨脂异黄酮、40 μ g/mL 补骨脂甲素、45 μ g/mL 补骨脂乙素、436 μ g/mL 补骨脂酚的混合对照品储备液。

2.1.4 供试品溶液的制备 取补骨脂适量粉碎,过三号筛,精密称取粉末 0.1 g,置 25 mL 量瓶中,加

入 20 mL 甲醇，超声提取 30 min，放冷，加甲醇至刻度，摇匀，取适量，15 000 r/min 离心 10 min，取上清液，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液的进样溶液。

2.1.5 阴性对照溶液 以甲醇为阴性对照溶液。

2.1.6 专属性试验 精密吸取阴性对照、混合对照品及供试品溶液各 10 μL ，按“2.1.1”项下色谱条件分别进样，记录色谱图，见图 1。补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚色谱峰均能实现基线分离，分离度均大于 1.5，理论塔板数按补骨脂素峰计均不低于 3000，且阴性对照溶液对测定无干扰。

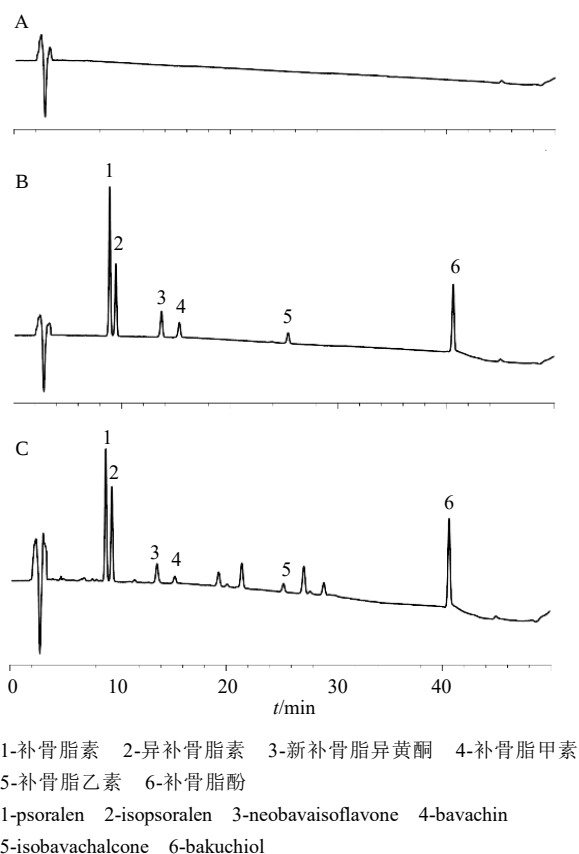


图 1 阴性对照溶液 (A)、混合对照品溶液 (B) 和供试品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of negative reference solution (A)、mixed reference substances (B) and sample (C)

2.1.7 线性关系考察 精密量取混合对照品储备液 5 mL 于 10 mL 量瓶中，用甲醇稀释定容后，再同法逐级稀释，配制一系列浓度梯度的混合对照品溶液，分别取 10 μL 按“2.1.1”项下色谱条件进行分析。以峰面积 (Y) 为纵坐标，对照品浓度 (X) 为横坐标绘制标准曲线，见表 1。结果表明 6 种指

表 1 指标成分的回归方程、相关系数及线性范围

Table 1 Regression equations, correlation coefficients and linear ranges of indicative components

成分	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
补骨脂素	$Y=75\,949X+53\,173$	0.999 9	4.69~150.00
异补骨脂素	$Y=49\,954X+24\,365$	0.999 9	3.63~116.00
新补骨脂异黄酮	$Y=53\,870X+12\,409$	0.999 9	1.53~49.00
补骨脂甲素	$Y=38\,986X+19\,304$	0.999 8	1.25~40.00
补骨脂乙素	$Y=26\,117X+4\,470.1$	0.999 9	1.41~45.00
补骨脂酚	$Y=14\,983X+44\,314$	0.999 9	13.63~436.00

标成分在一定的浓度范围内线性关系良好。

2.1.8 精密度试验 取“2.1.7”项下中间浓度混合对照品溶液适量，按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果显示补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚峰面积的 RSD 分别为 0.44%、0.60%、0.51%、1.31%、1.37%、0.49%。

2.1.9 稳定性试验 取补骨脂粉末 0.1 g，按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，分别于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h，按“2.1.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚峰面积的 RSD 分别为 0.52%、0.42%、1.10%、1.05%、1.63%、0.87%。

2.1.10 重复性试验 取补骨脂粉末 0.1 g，共 6 份，按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并按标准曲线法计算各指标成分的质量分数。结果显示补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚含量的 RSD 分别为 0.81%、0.81%、1.02%、1.70%、1.60%、0.69%。

2.1.11 加样回收率试验 取补骨脂粉末 0.1 g，共 9 份，分别按指标成分含量的 80%、100%、120% 加入对照品，按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，进样测定并计算加样回收率。结果显示补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚的平均加样回收率分别为 103.46%、105.09%、92.91%、96.55%、100.02%、99.72%，RSD 分别为 0.62%、1.65%、1.90%、1.69%、1.18%、1.44%。

2.2 补骨脂炮制工艺研究

2.2.1 补骨脂盐炙 照《中国药典》2020 年版四部

通则(0213)盐炙法,取净补骨脂药材 100 g,盐水 20 mL(含盐 2 g)闷润 4 h,倾出盐水,在炒药锅中炒制,文火炒至膨胀,崩裂,表面呈黑色或黑褐色,气清香,味微咸,放凉即可,备用。

2.2.2 盐补骨脂雷公法炮制 取同一批次的盐补骨脂适量,对其进行雷公法炮制。在预实验的基础上,结合文献方法^[12],选取醇浓度(A)、醇浸时间(B)和蒸制时间(C)为考察因素,每个因素设置 3 个水平,以补骨脂酚、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂素和异补骨脂素的含量下降率的综合加权评分为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化炮制工艺,因素与水平见表 2。

表 2 正交试验因素与水平

Table 2 Factors and levels of orthogonality			
水平	A/%	B/h	C/h
1	70	12	4
2	80	18	5
3	90	24	6

按 $L_9(3^4)$ 正交表进行补骨脂炮制品的制备,并采用建立的 HPLC 方法测定各炮制品中指标成分的质量分数,计算含量下降率。

下降率=(补骨脂相应成分质量分数-炮制品相应成分质量分数)/补骨脂相应成分质量分数

采用综合加权评分法评价指标成分的变化。根据各成分在补骨脂中的含量高低和毒性强弱^[13],指定补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素和补骨脂酚的权重系数分别为 10%、10%、20%、12%、18%、30%,计算综合加权评分(Y)。

$$Y = Y_1 \times 10\% + Y_2 \times 10\% + Y_3 \times 20\% + Y_4 \times 12\% + Y_5 \times 18\% + Y_6 \times 30\%$$

Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5 、 Y_6 分别为补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素和补骨脂酚的含量下降率

Y 越高,补骨脂毒性成分降低越多,炮制品越优,炮制工艺越好。实验结果见表 3,方差分析结果见表 4。

由表 3 直观分析可知,影响炮制工艺的主次顺序为 $A > B > C$,表 4 方差分析结果表明醇浓度和醇浸时间对炮制工艺影响显著,结合生产成本因素确定最优工艺为 $A_2B_3C_1$ 。即醇浓度 80%,醇浸时间 24 h,蒸制时间 4 h。因此,补骨脂最佳炮制工艺:按《中国药典》盐炙法制备盐补骨脂,取盐补骨脂适量,加入 5 倍量 80%药用乙醇浸泡 24 h,倒出药用乙醇并用蒸馏水洗净,加入 5 倍量蒸馏水,浸泡 12 h,倒出蒸馏水并洗净,置蒸锅内隔水蒸 4 h,取出晾干。

表 3 正交试验设计与结果

Table 3 Design and results of orthogonal test

序号	A	B	C	D(误差)	质量分数/(mg·g ⁻¹)						Y/%
					补骨脂素	异补骨脂素	新补骨脂异黄酮	补骨脂甲素	补骨脂乙素	补骨脂酚	
1	1	1	1	1	4.955	5.645	1.585	0.646	1.418	35.105	41.67
2	1	2	2	2	4.572	5.062	1.507	0.642	1.345	34.662	44.96
3	1	3	3	3	4.034	4.735	1.397	0.528	1.287	33.339	49.02
4	2	1	2	3	3.872	4.487	1.417	0.622	1.316	29.038	51.42
5	2	2	3	1	3.695	4.362	1.395	0.564	1.281	29.224	52.59
6	2	3	1	2	4.160	4.650	1.218	0.517	1.138	25.439	53.87
7	3	1	3	2	3.730	4.358	1.678	0.723	1.530	31.676	48.49
8	3	2	1	3	4.109	4.639	1.305	0.547	1.137	25.113	53.68
9	3	3	2	1	4.219	4.869	1.233	0.616	1.448	26.640	50.97
K_1	135.65	141.58	149.22	145.23							
K_2	157.88	151.23	147.35	147.32							
K_3	153.14	153.86	150.10	154.12							
R	22.23	12.28	2.75	8.89							

表 4 方差分析

Table 4 Analyses of variance

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	91.393	2	45.697	69.508	<0.05
B	27.871	2	13.935	21.197	<0.05
C	1.315	2	0.657	1.000	>0.05
D	14.404	2	7.202	10.955	—

表 5 验证结果

Table 5 Verification results

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	补骨脂素	异补骨脂素	新补骨脂异黄酮	补骨脂甲素	补骨脂乙素	补骨脂酚
补骨脂	3.605	4.405	4.368	3.138	4.483	66.656
炮制品 1	4.164	4.644	1.221	0.491	1.123	25.323
炮制品 2	4.158	4.652	1.212	0.478	1.140	25.519
炮制品 3	4.165	4.661	1.205	0.502	1.134	25.414

分别下降 72.23%、84.38%、74.75%、61.87%，且平行实验获得的炮制品中指标成分含量基本没有差异，表明该炮制工艺有很好的重复性。

2.3 肝毒性评价

2.3.1 供试药物的制备 取补骨脂炮制品 40 g，加 8 倍量水，浸泡 0.5 h，提取 2 次，每次 1.5 h，合并 2 次提取液后浓缩至 100 mL，即得补骨脂炮制品水提液^[14]。同法制备补骨脂水提液。

2.3.2 分组与给药 小鼠按体质量随机分为 7 组，每组 7 只。对照组 ig 给予等体积蒸馏水，补骨脂炮制品低（1.5 g/kg）、中（3 g/kg）、高（6 g/kg）剂量组，补骨脂低（1.5 g/kg）、中（3 g/kg）、高（6 g/kg）剂量组，每日给药 1 次，连续 ig 给药 7 d。

2.3.3 血清生化检测 小鼠 ig 给药结束后，禁食不禁水过夜，摘眼球取血，室温下 3500 r/min 离

2.2.3 工艺验证 为了进一步验证上述炮制工艺的可行性和稳定性，平行制备 3 份炮制品。按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，照“2.1.1”项下色谱条件进样测定炮制品中指标成分的含量，测定结果见表 5。与补骨脂比较，炮制品中补骨脂素和异补骨脂素的含量分别上升 15.45%、5.61%，新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素和补骨脂酚的含量

心 10 min，分离血清。按照试剂盒说明书测定 ALT、AST，结果见表 6。

2.3.4 肝脏系数及组织病理学检查 剖腹摘取小鼠肝脏，称质量，计算肝脏系数（肝脏系数=肝脏质量/体质量），结果见表 6。切取小鼠一叶肝脏于 4% 多聚甲醛溶液中固定，固定液为组织体积的 5~10 倍，固定 48 h 后，石蜡切片，常规 HE 染色，光镜下观察组织病变（图 2）。

与对照组相比，补骨脂高、中剂量组 ALT 明显升高（ $P<0.01$ ，0.001），补骨脂高、中、低剂量组 AST 显著升高（ $P<0.001$ ），补骨脂高、中剂量组肝系数明显升高（ $P<0.01$ ，0.001），补骨脂炮制品组无显著差异。与对照组相比，补骨脂高、中剂量组肝脏明显炎症细胞浸润，充血；炮制品组肝脏未见明显异常改变。结果表明补骨脂炮制品的肝毒性显著降低。

表 6 各组小鼠肝脏系数和血清 ALT、AST 测定结果（ $\bar{x} \pm s$ ， $n=6$ ）

Table 6 Determination results of liver coefficient, ALT and AST（ $\bar{x} \pm s$ ， $n=6$ ）

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肝脏系数/%	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
对照	—	5.58±0.17	19.680±5.073	22.139±4.246
炮制品	6.0	6.04±0.32	16.145±6.990	24.661±3.675
	3.0	5.25±0.40	14.082±4.964	25.551±5.938
	1.5	5.37±0.78	14.573±5.131	23.882±2.301
	6.0	6.97±0.27***	42.393±4.760***	64.589±5.287***
补骨脂	3.0	6.52±0.31**	33.003±3.939**	42.305±3.664***
	1.5	5.90±0.29	24.082±2.365	34.085±4.009***

与对照组比较，** $P<0.01$ *** $P<0.001$

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

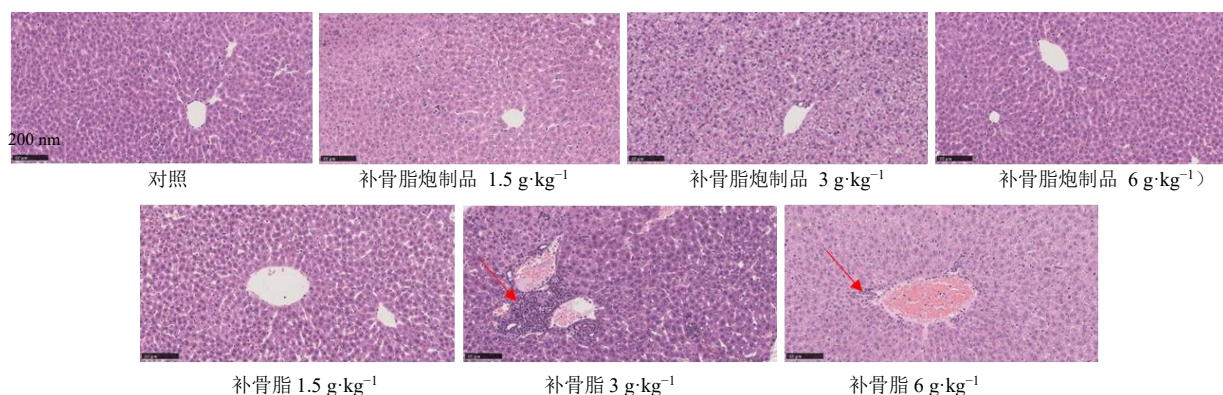


图 2 小鼠肝组织病理形态 (HE, ×200)

Fig. 2 Pathological morphology of liver tissue in mice (HE, ×200)

综上, 基于雷公法结合盐炙法对补骨脂进行炮制, 可明显降低毒性指标成分的含量, 且通过小鼠给药补骨脂肝毒性实验验证, 说明该法可达到炮制减毒目的。

3 讨论

本实验首次将盐炙法和雷公法结合对补骨脂进行炮制减毒, 建立了同时测定补骨脂中 6 种指标成分含量测定的 HPLC。结果表明该炮制方法可显著降低毒性成分的含量。小鼠肝毒性结果显示该炮制方法所得补骨脂与生品给药相同剂量及时间, 补骨脂生品表现出明显的肝损伤, 而补骨脂炮制品未见肝损伤, 表明该炮制方法能够有效降低生补骨脂肝毒性^[14]。

补骨脂炮制品中补骨脂素和异补骨脂素的含量相比补骨脂生品有所提高, 可能在炮制过程中由补骨脂苷和异补骨脂苷转化而来^[15], 使补骨脂素和异补骨脂素的含量保持在有效剂量范围内, 而其余毒性指标成分大大降低, 保障了补骨脂用药的安全性及有效性。炮制品中新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素和补骨脂乙素的含量均显著下降, 可能是由于其都属于二氢黄酮类, 在高温下不稳定, A 环开环发生降解所致, 且在炮制过程中, 加入高浓度的药用乙醇长时间浸泡, 溶于乙醇也使其含量降低。补骨脂酚是一种异戊二烯基酚萜类化合物, 是补骨脂挥发油的主要成分, 易氧化, 且在炮制过程中受热挥发, 是其含量下降的主要原因。

补骨脂生品经过盐炙法炮制再雷公法炮制, 最终得到补骨脂炮制品, 实验测得中间炮制品盐补骨脂中指标成分补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚的含量

分别为 7.824、10.030、3.078、1.502、2.772、47.208 mg/g, 与生品比较, 毒效成分补骨脂素和异补骨脂素的含量分别上升 117.03%、127.70%, 说明盐炙法能够增强补骨脂温肾助阳、补肾纳气的功效^[16]; 毒性成分新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚的含量分别下降 29.53%、52.14%、38.17%、29.18%, 说明盐炙法具有炮制减毒的作用^[17]。但研究已证明盐补骨脂的毒性仍然存在, 所以本实验对盐补骨脂进行雷公法再炮制, 由结果可知, 与生品相比, 最终炮制品中补骨脂素和异补骨脂素的含量略微上升, 而新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚的含量大大降低, 说明该炮制方法可保障补骨脂的有效性安全性。

本实验通过合理炮制选择性减少毒性指标成分的含量, 在一定程度上降低了补骨脂的毒性, 由于中药成分的复杂性, 实验仅以 6 个毒性指标成分评价炮制减毒工艺存在一定的局限性, 有关补骨脂更多毒性物质基础还有待进一步深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 195.
- [2] 杨阔, 高茸, 马亚中, 等. 补骨脂素药理作用及肝毒性机制的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 289-298.
- [3] 张守学, 赵玉斌, 孟云辉. 含补骨脂中药汤剂致严重急性药物性肝损伤 1 例 [J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(25): 127-128.
- [4] 李珊, 王秀娟, 庄伟, 等. 39 例仙灵骨葆胶囊不良反应/事件分析 [J]. 中国药师, 2019, 22(6): 1068-1071.
- [5] 周学士, 尹翠兰, 陆忠华, 等. 骨康胶囊引起严重肝损害 2 例及经验教训 [J]. 实用肝脏病杂志, 2017, 20(2): 250-251.

- [6] 杨莉, 王昭昕, 卢国彦, 等. 补骨脂水提药渣大鼠三个月卡毒性试验研究 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(6): 1128-1134.
- [7] 叶斌斌, 敖楠楠, 姜明月, 等. 补骨脂酒制工艺的优化 [J]. 中成药, 2019, 41(1): 182-185.
- [8] 郭兆娟, 张晶璇, 涂灿, 等. 关于中药潜在肝毒性若干问题的思考 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(11): 5399-5402.
- [9] 刘巧, 郭延丽, 董泰玮, 等. 补骨脂肝损伤机制及减毒方法研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(11): 233-239.
- [10] 赵潇, 蔡涛涛, 郭欣, 等. 盐补骨脂水提物对不同性别大鼠的长期毒性研究 [J]. 中国药物警戒, 2021, 18(5): 438-443.
- [11] 王月清, 何登明. 盐补骨脂致药物性肝损伤 1 例并文献复习 [J]. 实用医药杂志, 2018, 35(8): 724-725.
- [12] 宋迪, 陈帅帅, 李朋彦, 等. 补骨脂潜在肝毒性的修制减毒方法研究: 酒浸水漂法 [J]. 药学报, 2020, 55(2): 276-282.
- [13] 李佳妍, 刘欣欣, 宁青, 等. 基于斑马鱼模型的补骨脂毒性相关成分群的高效辨识研究 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 129-136.
- [14] 郭兆娟, 张晶璇, 康倩君, 等. 补骨脂对大鼠、小鼠肝毒性的比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(22): 16-25.
- [15] 吕彬, 谭旺晓, 刘潇, 等. 补骨脂“雷公炮制法”减毒的科学内涵 [J]. 天津中医药, 2020, 37(9): 976-983.
- [16] 汪小莉, 江瑜, 范兰兰, 等. 新安医家陈嘉谟“入盐走肾脏”的现代研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1336-1342.
- [17] 吴育, 许妍, 吴丽, 等. 补骨脂临床不良反应报道、毒性研究及减毒思考 [J/OL]. 中药药理与临床: [2021-08-18].<https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyy1>. 2021 0609. 009.

[责任编辑 时圣明]