DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.08.034

草乌及其炮制品的急性毒性及药效学实验研究

王钰锟[1],高雅[2],额尼日勒[1],乌日古木乐[1],刘云璐[2],松林[4],图雅[2,3]
(1.内蒙古民族大学蒙医药学院,内蒙古 通辽 028000;2.中国中医科学院医学实验中心,北京 100700;
3.中国中医科学院中医药研究发展中心,北京 100700;4.内蒙古医科大学蒙医药学院,内蒙古 呼和浩特 010110)

摘要:目的 对草乌及其不同炮制品进行药理毒理及药效学研究。方法 通过C57BL/J小鼠的急性毒性实验,测定草乌及不同炮制品的半数致死剂量(LD_{50}),以确定其安全剂量范围,同时,从一般生理状态、血液生化指标以及重要脏器的组织形态学变化等多个角度综合评价毒性效应;通过注射角叉菜胶诱发足跖炎症制备大鼠模型,测量机械痛阈、足跖肿胀度以及血清中炎症因子白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor,TNF-α)水平等指标,比较其抗炎镇痛活性。结果 炮制后的草乌LD_{50}值升高,安全窗变大。血生化指标结果显示,草乌不同炮制品给药后,小鼠血液中的肝酶指标:丙氨酸氨基转移酶(alanine ami notransferase,ALT)、谷胱甘肽氨基转移酶(glutathione aminotransferase,AST)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)和心功能指标肌酸激酶(creatine kinase,CK)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase isoenzymes,CKMB)、血清总蛋白(total Protein,TP)含量升高,与生草乌组相比,低剂量组诃子制草乌和《中华人民共和国药典》制草乌组的毒性降低,但高剂量组仍存在毒性;草乌不同炮制品对肺脏、肾脏、心脏、睾丸和卵巢的毒性作用明显;与角叉菜胶模型组比较,草乌及其炮制品可显著提高机械痛阈,降低角叉菜胶诱导的足肿胀程度及炎症因子IL-6和TNF-α水平。结论 通过急性毒性及抗炎镇痛药效实验验证了草乌炮制减毒存效理论,有效减轻草乌毒性且对角叉菜胶所致大鼠足肿胀炎症模型具有显著改善作用,炮制后的草乌可达到减毒存效的效果。

关键词:草乌;蒙药;中药炮制;毒理;药效学
中图分类号:R285.1 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)08-0164-11

Experimental Study on Acute Toxicity and Pharmacodynamics of Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) and Its Concocted Products

WANG Yukun[1],GAO Ya[2],ENI Rile[1],WURI Gumule[1],LIU Yunlu[2],SONG Lin[4],TU Ya[2,3]
(1. Inner Mongolia Minzu University,Tongliao 028000,Inner Mongolia,China;
2. Experimental Research Center,China Academy of Chinese Medical Sciences,Beijing 100700,China;
3. The Development of Chinese Medicine Research Center,China Academy of Chinese Medical Sciences,Beijing 100700,China;
4. Inner Mongolia Medical University,Hohhot 010110,Inner Mongolia,China)

Abstract:*Objective* Pharmacotoxicological and pharmacodynamic studies on Caowu(Aconiti Kusnezoffii Radix) and its different concoctions. *Methods* The acute toxicity test was conducted in C57BL/J mice to determine the LD_{50} of Caowu(Aconiti Kusnezoffii Radix) and different concoctions to determine the safe dose range,and at the same time,the toxicity effects were evaluated from various perspectives,such as general physiological state,blood biochemical indexes and histomorphological changes of important organs. The rat model of foot and metatarsal inflammation induced by the injection of carrageenan gum was prepared,and its anti-inflammatory and analgesic activities were compared with those of Caowu(Aconiti Kusnezoffii Radix) and different concoctions. It measured the mechanical pain threshold,plantar swelling and the serum levels of inflammatory factors interleukin-6(IL-6) and tumor necrosis factor-α(TNF-α) to compare the anti-inflammatory and analgesic activities. *Results* The LD_{50} value of Caowu(Aconiti Kusnezoffii Radix) was increased after concoction,and the safety window became larger. The results of blood biochemical indices showed that after the administration of different concoctions of Caowu(Aconiti Kusnezoffii Radix),the liver enzyme indices[the levels of alanine ami notransferase(ALT),glutathione aminotransferase(AST),lactate dehydrogenase(LDH),creatine kinase(CK),creatine kinase isoenzymes(CKMB) and total protein(TP)] in the blood of mice

基金项目:国家自然科学基金项目(82360848);中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A04209)
作者简介:王钰锟(2000-),女,山东烟台人,硕士在读,研究方向:民族药物的基础与应用。
通讯作者:图雅(1966-),女(蒙古族),内蒙古赤峰人,教授,博士研究生导师,研究方向:民族药物的基础与应用。E-mail:tuya126@126.com。

were elevated. Compared with that of the raw Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) group, the toxicity was reduced in the low dose Hezi (Chebulae Fructus) - processed Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) group and processed Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) according to *Chinese Pharmacopoeia* group, but the toxicity was still present in the high dose group. The toxic effects of different concoctions of Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) on the lungs, kidneys, heart, testes and ovaries were obvious. Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) and its concoctions significantly increased the mechanical pain threshold and decreased the degree of foot swelling induced by carrageenan as well as the levels of the inflammatory factors IL-6 and TNF-α when compared with the carrageenan model group. *Conclusion* The processed Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) was verified through acute toxicity and anti-inflammatory analgesic efficacy experiments, confirming the theory that processing reduces the toxicity while preserving the efficacy. The results effectively mitigated the toxicity of Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) and significantly improved the carrageenan-induced rat paw swelling inflammation model. The processed Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix) achieved the desired effect of reducing the toxicity while preserving the efficacy.

Keywords: Caowu (Aconiti Kusnezoffii Radix); Mongolian medicine; Chinese herbal medicine processing; toxicology; pharmacodynamics

草乌为毛茛科北乌头 *Aconitum kusnezoffii* Reichb. 的干燥块根，是典型的“毒效双性”特色蒙药。具有杀“粘”、止痛、燥“协日乌素”的功效，临床用于治疗“痛风病”“游痛病”、关节疼痛、偏瘫和心“赫依”等病症，其性热有大毒[1-2]，会导致严重的心脏毒性和神经毒性[3]。毒性成分主要为具有镇痛、消炎和强心等药理作用的双酯型生物碱，其分子结构不稳定，乙酰基加热易水解得到相应的单酯型生物碱，毒性降低 80% ~ 90%，再水解即得到几乎无毒的醇胺类生物碱。因此，临床常采用特殊的炮制工艺或复方配伍，以达减毒存效的目的[4-5]。中医炮制草乌有蒸、煮、黑豆-甘草煮、生姜煮等；蒙医草乌炮制方法有童尿制、酒制、熏制、酸奶泡和诃子汤炮制等[6-7]；诃子是使君子科落叶乔木诃子 *Terminalia chebula* Retz. 或绒毛诃子 *Terminalia chebula* Retz. *var. tomenteila* Kurt. 的干燥成熟果实，为蒙医常用的具备调和体素、祛邪、解毒功效的药材，素有蒙药之王的美称[8-9]。草乌与诃子二者配伍具有显著的抗炎、镇痛和降低草乌心脏毒性等作用[3]。其中诃子汤炮制草乌为蒙医药特色炮制方法，有“诃子可解乌头毒”的中医药配伍解毒理论[10-12]。本文以生草乌、诃子制草乌及《中华人民共和国药典》(2020 版)制草乌为研究对象，通过急性毒性实验获得其 LD_{50} 值；以角叉菜胶诱发大鼠足跖炎症模型为模型，评价其抗炎镇痛作用。比较中医、蒙医在草乌炮制中减毒存效的效果，为草乌的临床安全合理使用提供参考。

1 材料

1.1 药物与试剂

草乌(湖北聚瑞中药饮片有限公司，批号：141001，经内蒙古医科大学蒙医药学院松林教授鉴定为毛茛科植物北乌头 *Aconitum kusnezoffii* Reichb. 的干燥块根)；诃子(济南人和中药饮片有限公司，批号：20140101，经内蒙古医科大学蒙医药学院松林教授鉴定为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 的干燥成熟果实)；角叉菜胶(Sigma，批号：127H1227，规格：25 g/瓶)；阿司匹林(拜耳医药保健有限公司，批号：HJ20160685)；羟甲基纤维素钠(上海麦克林生化科技有限公司，批号：C10599873)；4% 组织细胞固定液(北京索莱宝科技有限公司，批号：P1110)；HE 染色液(武汉市皮诺飞生物科技有限公司，批号：10011028)；乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase，LDH)、心功能指标肌酸激酶(creatine kinase，CK)；肝脏指标：丙氨酸氨基转移酶(alanine ami notransferase，ALT)、谷胱甘肽氨基转移酶(glutathione aminotransferase，AST)、碱性磷酸酶(ALP)、血清总蛋白(total protein，TP)血生化检测试剂盒(北京北检·新创源生物技术有限公司，批号：B2008、B2009、B2010、B2030、B2029、B2028)；白细胞介素-6(interleukin-6，IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor，TNF-α) 检测试剂盒(武汉华美生物工程有限公司，批号：P08025188、P07025187)。

1.2 动物

C57BL/J 小鼠、SD 大鼠，均购于北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号 SCXK(京)2021—0006]。经中国中医科学院医学实验中心动物伦理委员会伦理审核批准(批准号：ERCCACMS21-2111-12)，动物饲养于中国中医科学院中医基础理论研究所，温度维持在 23 ~ 25 ℃，湿度 40% ~ 60%，光-暗周期为 12 h。采用 3R 原则给予人道主义关怀照顾，适应性喂养 3 d 后用于实验。

1.3 仪器

VonFrey 动态足底测痛仪(美国 IITC Life Science 公司，型号：ALMEMO 2309)、足趾容积仪(济南益延科技发展有限公司，型号：YLS-7C)；病理切片机(上海徕卡仪器有限公司)；冻台(武汉俊杰电子有限公司)；组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司)；正置光学显微镜、成像系统(日本尼康)；全自动生化分析仪 TBA40FR(日本东芝有限公司)；酶标仪(美国 BioTek Instruments，Inc. 公司)；冷冻离心机(Eppendorf 公司，型号：Centrifuge 5424 R)；多样品冷冻研磨仪(上海万柏生物科技有限公司，型号：Wonbio-96c)。

2 方法

2.1 急性毒性实验

2.1.1 药物制备 取生草乌药材量 1/2 的诃子，加 10 倍量水煎煮 1 h，4 层纱布过滤，用滤液浸泡生草乌 2 d 再煎煮 8 h，捞出草乌置于方盘中 60 ℃烘干得诃子制草乌[13]。按照 2020 年版《中华人民共和国药典》，取生草乌，大小个分开，用水浸泡至内无干心，取出，加水煮至取大个切开内无白心、口尝微有麻舌感时，取出，晾至六成干后切薄片，干燥得《中华人民共和国药典》制草乌[14]。生草乌、诃子制草乌和《中华人民共和国药

典》制草乌均粉碎过4号筛,临用时用0.5% CMC-Na溶液稀释备用。

2.1.2 实验方法 160只洁净级C57BL/J小鼠,体质量(20±2)g。根据预实验结果得到最小全致死量(minimum lethal dose,Dm)和最大全不致死量(maximum non-lethal dose,Dn),生草乌组Dn=0.067 g/kg,Dm=0.520 g/kg,按照改良寇氏法计算组间 $r=0.6$,分为0.067、0.112、0.188、0.312、0.520 g/kg 5个剂量组;诃子制草乌组Dn=1.302 g/kg,Dm=7.294 g/kg,$r=0.65$,分为1.302、2.003、3.082、4.741、7.294 g/kg 5个剂量组;《中华人民共和国药典》制草乌组Dn=3.453 g/kg,Dm=8.173 g/kg,$r=0.8$,分为3.453、4.283、5.313、6.589、8.173 g/kg 5个剂量组。给药前12 h禁食不禁水,各组小鼠以10 mL/kg剂量灌胃给药,给药2 h后恢复给食,观察14 d,实验结束后观察LD_{50}及置信区间。

2.1.3 检测指标 (1)小鼠一般情况观察:单次给药当天密切观察小鼠状态并记录。各组小鼠灌胃给药后开始观察,连续观察14 d。0~30 min,每10 min观察1次;30 min~2 h,每15 min观察1次;2~4 h,每30 min观察1次;4~8 h,每1 h观察1次;12~24 h,各观察1次;2~14 d,每天观察1次。

(2)毒性反应指标观察:小鼠摄食、饮水、活动、精神状态、毛发、排泄物等情况,重点注意小鼠毒性反应及尸体体征。毒性反应主要表现:出汗、腹泻、口吐白沫、运动不协调、呼吸急促、痉挛、僵直、大小便失禁、抽搐;尸体体征:肺部水肿、胃胀、肠管充盈、心肌肥大、肝脏发黑。同时在给药后第5、10、14天测定小鼠体质量及给药后第3、6、8、10、14天测定小鼠的进食量。

(3)血液生化指标检测:摘除眼球取血后,离心(3000 r/min,10 min)分离血清,分别利用多功能酶标仪和全自动生化分析仪测定血清中的cTnI和心脏指标:ALT、AST、TP、CK-MB、CK、LDH含量。

(4)脏器观察和形态学分析:实验小鼠摘眼球取血后,颈椎脱臼处死小鼠,取心、肝、肺、肾、睾丸、卵巢部位,观察有无病变。样本经4%多聚甲醛固定、包埋,切片染色,在光学显微镜下观察其组织形态学变化。

2.1.4 统计学分析 采用SPSS 23.0软件进行LD_{50}计算和独立样本t检验,数据资料以均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2.2 体内药效学实验

2.2.1 药物 同2.1.1。

2.2.2 实验动物分组、造模与给药 将108只SD清洁级大鼠,体质量160~180 g,随机分为12组,每组9只。按照文献[15]方法,一般采用安全限度的1/10~1/20作为实验剂量。因此,本实验采取LD_{50}的1/5剂量作为高剂量用药组,按照1/10剂量设定中剂量组及1/20剂量设定低剂量组。生草乌低剂量组(0.007 4 g/kg)、生草乌中剂量组(0.014 7 g/kg)、生草乌高剂量组(0.029 4 g/kg);诃子制草乌低剂量组(0.094 8 g/kg)、诃子制草乌中剂量组(0.189 6 g/kg)、诃子制草乌高剂量组(0.379 2 g/kg);《中华人民共和国药典》制草乌低剂量组(0.094 8 g/kg)、《中华人民共和国药典》制草乌中剂量组(0.189 6 g/kg)、《中华人民共和国药典》制草乌高剂量组(0.379 2 g/kg)。同时,设置空白组(NS组)、模型组、阿司匹林组(0.15 g/kg)。每日固定时间按10 mL/kg体积灌胃给药,1次/d,连续7 d。末次给药前标记并测定右后足周长,取两次测量的平均值为准。末次给药1 h后,除空白组外,其余各组于大鼠右后足跖中部皮下注射1%的角叉菜胶30 μL,建立大鼠足肿胀模型[16-17],生理盐水组同法注射生理盐水(30 μL/只)。

2.2.3 大鼠足肿胀度测定 造模前1 d将每只大鼠左、右后足用记号笔做标记,造模前、造模后1、3和5 h采用足趾容积测定仪测量大鼠左、右后足足容积,综合两后足容积值作为每只大鼠的足趾容积去评价其肿胀程度。

2.2.4 动态足底测痛仪测定痛阈 采用动态足底测痛仪测定引起大鼠压力痛缩腿反射的阈值作为痛阈指标。大鼠于测定基础痛阈前两天进行适应性痛阈检测,保证测试环境安静,室温25 ℃,分别于造模前、造模后1、3和5 h检测大鼠患侧足跖机械痛阈。检测时,将大鼠置于塑料板隔开的单独空间内,底部是铁制网格结构。安静30 min后,用针尖对准位置自动发力,以2.5 g/s递增,当大鼠自觉疼痛产生缩腿反射时自动弹开。最大刺激量为50 g,以保证大鼠不受伤害。引起大鼠压力痛缩腿反射的力量记为该次痛阈。每5 min测1次,各测5次,取平均值为机械痛阈。

2.2.5 大鼠足跖组织中IL-6、TNF-α检测 注射角叉菜胶5 h后,将大鼠麻醉处死,剪取每只大鼠足拓100 mg,剪碎,匀浆,离心,取上清。按照试剂盒说明书测定其中IL-6、TNF-α的含量。

2.2.6 统计学处理 数据表示为$\bar{x}\pm s$,应用Graphpad统计软件进行单因素方差分析和t检验,$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 急性毒性实验

3.1.1 一般情况 实验结果显示,小鼠给药不同浓度的草乌及其不同炮制品后,在120 min内小鼠出现出汗、腹泻、口吐白沫、运动不协调、呼吸急促、痉挛、僵直、大小便失禁及抽搐等系列中毒反应症状。

3.1.2 草乌不同炮制品小鼠生理状态及LD_{50}结果 草乌不同炮制品小鼠生理状态及LD_{50}结果见表1。

3.1.3 血生化指标 与空白组比较,生草乌组浓度为0.312、0.520 g/kg,诃子制草乌组浓度为3.082、4.741、7.294 g/kg,《中华人民共和国药典》制草乌组浓度为5.313、6.589、8.173 g/kg的ALT水平升高($P<0.05$,$P<0.01$);生草乌组浓度为0.312、0.520 g/kg,诃子制草乌组浓度为4.741、7.294 g/kg,《中华人民共和国药典》制草乌组浓度为6.589、8.173 g/kg的AST水平升高($P<0.05$,$P<0.01$);草乌组浓度为0.188、0.312、0.520 g/kg,诃子制草乌组浓度为4.741、7.294 g/kg,《中华人民共和国药典》制草乌组浓度为8.173 g/kg的TP水平升高($P<0.05$,$P<0.01$);生草乌组浓度为0.312、0.520 g/kg,诃子制草乌组浓度为4.741、7.294 g/kg,《中华人民共和国药典》制草乌组浓度为8.173 g/kg的LDH水平升高($P<$

0.05，$P<0.01$，$P<0.001$）；生草乌组浓度为 0.520 g/kg，诃子制草乌组浓度为 7.294 g/kg 的 CK 水平升高（$P<0.05$）；生草乌组浓度为 0.312、0.520 g/kg，诃子制草乌组浓度为 7.294 g/kg，《中华人民共和国药典》制草乌组浓度为 8.173 g/kg 的 CKMB 水平升高（$P<0.05$，$P<0.001$，$P<0.001$），结果见表 2。

3.1.4 重要脏器组织形态学 与空白组小鼠对比，草乌及其炮制品给药后，小鼠各脏器（肺、肝、肾、心、卵巢、睾丸）组织出现了严重损伤，说明具有较强的毒性。

肺脏组织中可见肺泡腔和肺间质内有大量炎性细胞浸润，且病变区肺泡结构不规整，肺泡腔扩张或萎缩、消失，呈现肺实变；可见肺间隔增厚，部分有融合现象，其周围区域肺泡变大、变形；部分肺泡腔内有不同程度的出血、水肿；肝脏组织中，肝细胞有轻度水肿，且大小不一，排列不整齐，肝小叶结构丢失，肝血窦变窄，存在异型染色的肝细胞，纤维间隔增宽；肾脏组织中可见肾小球结构紊乱、萎缩，其基底膜不均匀地增厚，肾小管呈现片状坏死，且肾小囊囊腔变小，上皮细胞排列紊乱，可见水肿变性、脱落，足突细胞大量融合；心脏组织中可见心肌细胞肿胀，横纹消失，同时伴有变性和坏死，且心肌纤维排列紊乱或断裂、呈现波浪形状，纤维的间距增宽，间质呈水肿和充血状态；雄性小鼠睾丸组织在可见睾丸内曲细精管排列疏松且紊乱，可见管腔内上皮细胞成团脱落，并且曲细精管之间的间质细胞数量明显减少，呈现弥散状分布，生精细胞数量显著减少，管腔中的成熟精子数量明显减少；雌性小鼠卵巢组织中可见多呈囊性扩张卵泡，卵泡内的卵母细胞和卵丘消失，颗粒细胞排列疏松、呈现 2～3 层，且正常形态各级细胞少见，黄体组织数目较少，结果见插页ⅩⅩⅧ图 1－插页ⅩⅩⅩ图 3。

3.2 药效学实验

3.2.1 草乌及其炮制品对正常大鼠和角叉菜胶致炎大鼠机械痛阈值的影响 与造模前对比，造模 1、3、5 h 后机械痛阈显著降低，其中造模 5 h 时机械痛阈最低，造模成功[18]，结果见图 4。与空白组相比，灌胃给予不同剂量的草乌及其炮制品和阿司匹林均对正常大鼠痛阈值没有显著性影响，模型组大鼠足肿胀度明显增加（$P<0.01$）。造模后 1～5 h，与模型组比较，阿司匹林组、生草乌中、高剂量组、诃子制草乌中、高剂量组、《中

表 1 草乌不同炮制品急性毒性实验 LD_{50} 检测结果（$n=10$）

药物	剂量/（g/kg）	小鼠/（只）	死亡/（只）	小鼠生理状态	LD_{50} 及 95% 置信限度/（g/kg）
生草乌	0.067	10	0	小鼠运动协调，72 h 后恢复正常，观察 14 d 无其他异常现象发生	0.263（0.207～0.345）
	0.112	10	1	小鼠出汗、腹泻较轻	
	0.188	10	1	小鼠出汗、腹泻	
	0.312	10	6	小鼠痉挛、抽搐较轻	
	0.520	10	10	口吐白沫、痉挛、抽搐，自主活动明显减少，最后死亡	
诃子汤制草乌	1.302	10	1	小鼠运动协调，72 h 后恢复正常，观察 14 d 无其他异常现象发生	3.386
	2.003	10	4	小鼠出汗、腹泻较轻	
	3.082	10	4	小鼠出汗、腹泻	
	4.741	10	4	小鼠痉挛、抽搐较轻	
	7.294	10	10	口吐白沫、痉挛、抽搐，自主活动明显减少，最后死亡	
《中华人民共和国药典》制草乌	3.453	10	0	小鼠运动协调，72 h 后恢复正常，观察 14 d 无其他异常现象发生	5.322（4.671～6.055）
	4.283	10	3	小鼠出汗、腹泻较轻	
	5.313	10	6	小鼠出汗、腹泻	
	6.589	10	6	小鼠痉挛、抽搐较轻	
	8.173	10	10	口吐白沫、痉挛、抽搐，自由活动明显减少，最后死亡	

表 2 草乌不同炮制品对 C57 小鼠血生化指标的影响（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）

分组	浓度/（g/kg）	ALT	AST	TP	LDH	CK	CK－MB
空白		30.05±4.18	108.29±17.49	51.88±2.49	305.86±67.12	9.88±3.40	127.50±19.03
生草乌	0.068	33.06±2.48	107.94±10.88	54.04±2.70	360.54±50.42	7.75±2.55	85.13±26.24
	0.112	32.64±3.29	109.06±12.20	53.43±2.82	333.55±27.49	8.63±1.19	97.63±22.94
	0.188	39.73±5.39	127.43±18.05	58.45±2.46**	318.41±97.49	10.50±2.98	98.25±22.06
	0.312	43.49±9.88**	171.25±36.73*	58.66±2.58**	851.91±112.23***	11.63±2.72	194.50±60.16*
	0.520	44.25±6.07**	187.26±23.28**	58.49±3.39**	637.84±48.49***	18.38±4.87*	223.13±55.07***
诃子制草乌	1.302	35.41±2.36	115.14±12.02	55.28±3.76	473.75±125.51	12.88±3.14	134.88±31.32
	2.003	37.98±10.36	156.05±44.93	56.70±5.91	499.84±205.14	15.50±5.35	124.38±38.55
	3.082	42.95±3.02*	172.10±33.81*	56.85±1.96	456.20±160.41	17.75±7.94	136.13±33.40
	4.741	42.76±15.43*	171.34±63.25*	57.06±5.50*	517.08±252.04*	14.75±9.48	145.88±79.18
	7.294	45.13±5.99**	186.65±43.84**	58.84±3.76**	658.43±173.84***	19.88±10.12*	217.00±36.10**
《中华人民共和国药典》制草乌	3.453	32.80±10.29	131.30±44.77	55.65±2.58	322.18±132.53	8.75±1.75	147.88±56.84
	4.283	37.78±10.56	157.29±72.73	53.39±2.00	421.30±270.58	11.63±6.39	125.25±18.82
	5.313	41.90±4.45*	150.83±42.62	53.33±4.08	475.63±108.55	11.13±3.72	158.13±57.93
	6.589	42.40±5.69*	171.59±37.33*	55.99±3.39	509.73±162.06	15.38±5.40	185.00±37.23
	8.173	45.15±7.42**	183.21±41.43**	58.36±4.88**	574.45±56.54**	16.88±10.18	191.38±54.51*

注：*与空白组相比，$P<0.05$；**与空白组相比，$P<0.01$；***与空白组相比，$P<0.001$。

华人民共和国药典》制草乌中、高剂量组的大鼠足肿胀度显著降低($P<0.05$,$P<0.01$,$P<0.001$)。致炎后 1 ~ 5 h,同组不同剂量间比较,生草乌高剂量组大鼠机械痛阈高于生草乌中剂量组($P<0.001$),高于生草乌低剂量组($P<0.05$);诃子制草乌高剂量组大鼠机械痛阈高于诃子制草乌中剂量组高于低剂量组($P<0.001$);《中华人民共和国药典》制草乌高剂量组大鼠机械痛阈高于《中华人民共和国药典》制草乌中剂量组($P<0.05$,$P<0.001$)高于低剂量组,《中华人民共和国药典》制草乌低剂量组差异无统计学意义,生草乌、诃子制草乌、《中华人民共和国药典》制草乌 3 种不同给药方式均可降低大鼠机械痛阈值,这提示草乌及其炮制品有良好的镇痛作用,见插页 XXXI 图 5。

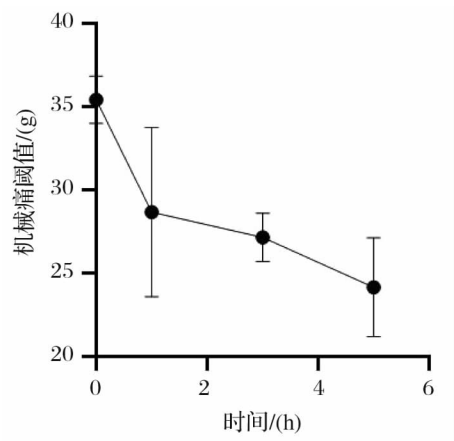


图 4 造模 0、1、3、5 h 大鼠机械痛阈值($n=6$,$\bar{x}\pm s$)

3.2.2 草乌及其炮制品对正常大鼠和角叉菜胶致炎大鼠足肿胀度的影响 造模 3 h 时大鼠足跖肿胀最严重,见图 6。与空白组相比,灌胃给予不同剂量的草乌及其炮制品和阿司匹林均对正常大鼠的足肿胀度没有显著性影响,模型组大鼠足肿胀度明显增加($P<0.001$)。致炎后 1 ~ 5 h,与模型组比较,阿司匹林组、生草乌高剂量组、生草乌低剂量组、诃子制草乌高剂量组、诃子制草乌中剂量组、《中华人民共和国药典》制草乌高剂量组、《中华人民共和国药典》制草乌中剂量组、《中华人民共和国药典》低剂量组的大鼠足肿胀度显著降低($P<0.05$,$P<0.01$,$P<0.001$)。致炎后 1 ~ 5 h,同组不同剂量间比较,生草乌高剂量组大鼠足肿胀度低于生草乌中、低剂量组($P<0.01$);诃子制草乌高剂量组大鼠足肿胀度($P<0.01$)低于诃子制草乌中剂量组($P<0.05$)低于诃子制草乌低剂量组($P<0.05$);《中华人民共和国药典》制草乌高剂量组($P<0.01$)大鼠足肿胀度低于《中华人民共和国药典》制草乌中、低剂量组($P<0.05$)。生草乌、诃子制草乌、《中华人民共和国药典》制草乌 3 种不同给药方式均可降低大鼠足肿胀度,这提示草乌及其炮制品有良好的抗炎作用,结果见插页 XXXI 图 7。

3.3 草乌及其炮制品对角叉菜胶致炎大鼠足跖组织中 IL - 6 和 TNF - α 水平的影响

与空白组比较,模型组大鼠足跖组织中 TNF - α、IL - 6 水平显著升高($P<0.05$,$P<0.01$)。与模型组比较,生草乌组可显著降低 TNF - α、IL - 6 水平($P<0.05$,$P<0.01$);《中华人民共和国药典》制草乌组可显著降低 TNF - α 水平($P<0.05$);诃子制草乌组有降低趋势,但差异无统计学意义,结果见插页 XXXII 图 8。

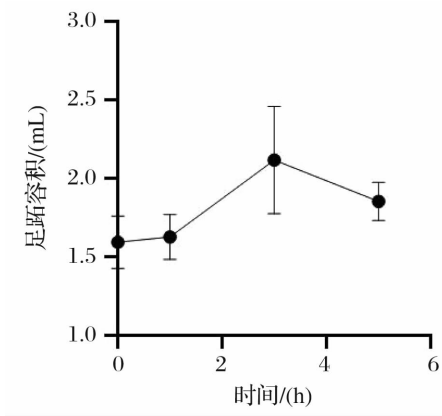


图 6 造模 0、1、3、5 h 大鼠足跖肿胀度($n=6$,$\bar{x}\pm s$)

4 讨论

急性毒性是指在 1 日内 1 次或多次应用受试药给予动物后短期内所产生的毒性反应包括一般行为和外观改变、大体形态变化以及死亡情况。它是预测药物安全性的重要手段,通过急性毒性实验可了解药物的毒性反应和毒性程度[19]。急性毒性实验结果显示,草乌及其炮制品的 LD_{50} 大小为:《中华人民共和国药典》制草乌 5.322 g/kg > 诃子制草乌 3.386 g/kg > 生草乌 0.263 g/kg,《中华人民共和国药典》法炮制草乌和诃子炮制草乌都可有效减轻草乌毒性,扩大其使用安全窗。血生化指标结果显示,草乌不同炮制品给药后,小鼠血液中的肝酶指标(ALT、AST、LDH)和心功能指标(CK、CKMB)、总蛋白(TP)含量升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),与生草乌组相比,低剂量组诃子制草乌和《中华人民共和国药典》制草乌组的毒性降低,但高剂量组仍存在毒性,临床上应谨慎使用。血生化指标结果与心脏组织病理结果中心肌细胞肿胀、变性和坏死及心肌纤维排列紊乱或断裂、间质水肿、充血;肝脏组织中肝细胞排列紊乱,可见灶性或片状坏死等器质性改变和肝功能受损的形态学损伤结果相一致,草乌对其余多脏器(肺、肾、卵巢、睾丸)均有明显毒性作用。与文献报道草乌临床毒性反应表现在心血管系统、神经系统、消化系统等,其中以心脏毒性为主的结论[20-21]基本一致。

角叉菜胶是一种从海藻中提取的含硫酸多糖[22],角叉菜胶致大鼠足肿胀模型是一个常用于评价或筛选药物抗炎作用的经典急性炎症模型,当给大鼠足跖内注射角叉菜胶时能使大鼠局部毛细血管扩张、血管通透性增高、渗出、水肿等一系列类似于人体急性炎症的反应,故该模型在药物评价中应用非常广泛[17,23-24]。药效学实验应用角叉菜胶诱导大鼠足肿胀致炎模型,通过测定机械痛阈,发现草乌及其炮制品能够提高角叉菜胶致炎大鼠的机械痛阈;通过对大鼠足肿胀度的测定,发现草乌及其炮制品能够减轻角叉菜胶所致大鼠急性足肿胀;促炎细胞因子是炎症反应最早产生的介质之一,TNF - α 是一种重要的促炎细胞因子,它能够通过激活免疫细胞、增强血管通透性

以及诱导炎症反应等方式,参与免疫细胞的活化和炎症介质的产生[25-27];IL-6 在炎症过程中能够调节免疫细胞的增殖和分化,并参与维持炎症反应的持续性[28]。在正常生理条件下,IL-6 和 TNF-α 含量非常低,但在疾病状态下,它的含量显著增加[29]。通过对大鼠足跖组织中 IL-6 和 TNF-α 炎症因子含量的测定,发现草乌及其炮制品能够降低足跖组织中的炎症因子的含量。以上研究表明草乌及其炮制品可降低大鼠的机械痛阈值,减轻大鼠的足肿胀,减少炎症因子 IL-6 和 TNF-α 的分泌,提示生草乌、诃子制草乌和《中华人民共和国药典》制草乌皆具有抗炎镇痛作用,其中生草乌 >《中华人民共和国药典》制草乌 > 诃子制草乌,推测效果可能与具有镇痛、消炎和强心等药理作用的双酯型生物碱的含量有关。诃子法炮制草乌和《中华人民共和国药典》法炮制草乌均加热煎煮,这使得分子结构不稳定的双酯型生物碱中的乙酰基水解得到相应的单酯型生物碱,镇痛、消炎效果降低[30-31],其深入的抗炎镇痛机制尚需进一步研究来证实。

本文在蒙医药“诃子可解乌头毒”和配伍解毒理论的指导下,采用急性毒性及抗炎镇痛药效实验验证了草乌炮制减毒存效理论,为临床上草乌炮制品的使用提供安全性和有效性的科学依据,也为有毒民族药的炮制减毒研究提供参考。

参考文献

[1] 国家中医药管理局,中华本草编委会. 中华本草:蒙药卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004.
[2] 李建良, 梁慧, 蔡淑珍, 等. 基于网络药理学探讨蒙药诃子解草乌心脏毒的机制研究[J]. 药学学报, 2018, 53(10): 1670-1679.
[3] 朱俊宣, 张东, 邬国栋. 草乌-诃子药对化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2023, 32(12): 48-51.
[4] 蔡宝昌, 聂春嬉, 难波恒雄, 等. 草乌炮制方法的研究[J]. 中国医药学报, 1990(3): 30-32, 82.
[5] 敖登其木格, 张小峰, 特格喜白音, 等. 草乌叶生物碱成分及其抗炎活性研究[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(10): 140-145, 后插 1.
[6] 胡德力根, 白梅荣, 胡伊力格其, 等. 草乌在蒙药中的应用区别于中药的特色研究[J]. 中国民族医药杂志, 2024, 30(9): 51-54.
[7] 高雅, 额尼日勒, 廖翠平, 等. 基于非靶向代谢组学探究草乌不同炮制品抗类风湿性关节炎的机制[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(5): 2456-2463.
[8] 李晗, 张广平, 陈腾飞, 等. 蒙药诃子配伍草乌的减毒增效机制研究进展[J]. 世界中医药, 2021, 16(24): 3701-3707.
[9] 图布新, 姜艳丽, 乌日汉, 等. 基于非靶向代谢组学的诃子解草乌心脏毒性机制分析[J]. 亚太传统医药, 2023, 19(10): 16-21.
[10] 杨畅, 李飞, 侯跃飞, 等. 诃子草乌配伍与诃子制草乌水煎液中生物碱含量的比较——诃子制草乌炮制原理探讨Ⅱ[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 130-132.
[11] 刘爽, 张晓菲, 苗鑫, 等. 蒙药“诃子解草乌毒”的配伍比例研究[J]. 中国药房, 2019, 30(11): 1519-1524.
[12] 刘闯, 田颖颖, 赵新月, 等. 草乌炮制研究概况[J]. 中国中医药图书情报杂志, 2024, 48(2): 260-264.
[13] 梁慧, 李建良, 杨玉娇, 等. 蒙药诃子对乌头碱所致大鼠心律失常的影响[J]. 中国民族医药杂志, 2017, 23(11): 75-77.
[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 248.
[15] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
[16] 孙韬, 王春霞, 李东海, 等. C57BL/6J 小鼠急性足肿胀炎症模型的建立及指标评价[J]. 重庆医科大学学报, 2016, 41(2): 175-178.
[17] 肖百全, 朱少璇, 杨威, 等. 角叉菜胶致大鼠足肿胀模型探讨及其机制研究[J]. 中国实用医药, 2008, 3(23): 63-65.
[18] 孙晶, 邵晓梅, 方芳, 等. 角叉菜胶致急性痛雄性大鼠机械痛阈与局部血流量的相关性[J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(10): 67-72.
[19] 白梅荣, 图雅, 巴根那, 等. 草乌不同药用部位的急性毒性实验研究[J]. 中国现代中药, 2009, 11(11): 28-29, 53.
[20] 高雅, 郭文勇, 廖翠平, 等. 草乌的研究进展及质量标志物预测[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(1): 139-147.
[21] 乌尼日, 包勒朝鲁. 草乌化学成分、药理作用、毒性及蒙医学毒性控制方法概述[J]. 中医药导报, 2024, 30(1): 93-99.
[22] PRAJAPATI V D, MAHERIYA P M, JANI G K, et al. Carrageenan: a natural seaweed polysaccharide and its applications[J]. Carbohydr Polym, 2014, 105: 97-112.
[23] MEHRZADI S, KHALILI H, FATEMI I, et al. Zingerone mitigates carrageenan-induced inflammation through antioxidant and anti-inflammatory activities[J]. Inflammation, 2021, 44(1): 186-193.
[24] MIYAKE S, HIGUCHI H, HONDA-WAKASUGI Y, et al. Locally injected ivabradine inhibits carrageenan-induced pain and inflammatory responses *via* hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channels[J]. PLoS One, 2019, 14(5): e0217209.
[25] 谢海伦, 石汉平. 炎症研究现状与进展[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2024, 11(1): 9-19.
[26] VAN LOO G, BERTRAND M J M. Death by TNF: a road to inflammation[J]. Nat Rev Immunol, 2023, 23(5): 289-303.
[27] DOSTERT C, GRUSDAT M, LETELLIER E, et al. The TNF family of ligands and receptors: communication modules in the immune system and beyond[J]. Physiol Rev, 2019, 99(1): 115-160.
[28] TANAKA T, NARAZAKI M, KISHIMOTO T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2014, 6(10): a016295.
[29] 杨欢, 程笑, 王月华, 等. 秦皮甲素对角叉菜胶致小鼠足肿胀及炎症的作用[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(20): 2319-2322.
[30] 张贵鑫. 蒙药草乌炮制规范及质量控制体系构建[D]. 长春: 吉林农业大学, 2022.
[31] 支美汝, 韩舒, 刘凯洋, 等. 生草乌和诃子制草乌细胞毒性及抗炎作用的比较研究[J]. 中国药房, 2020, 31(22): 2701-2705.

草乌及其炮制品的急性毒性及药效学实验研究

(正文见 164 – 169 页)

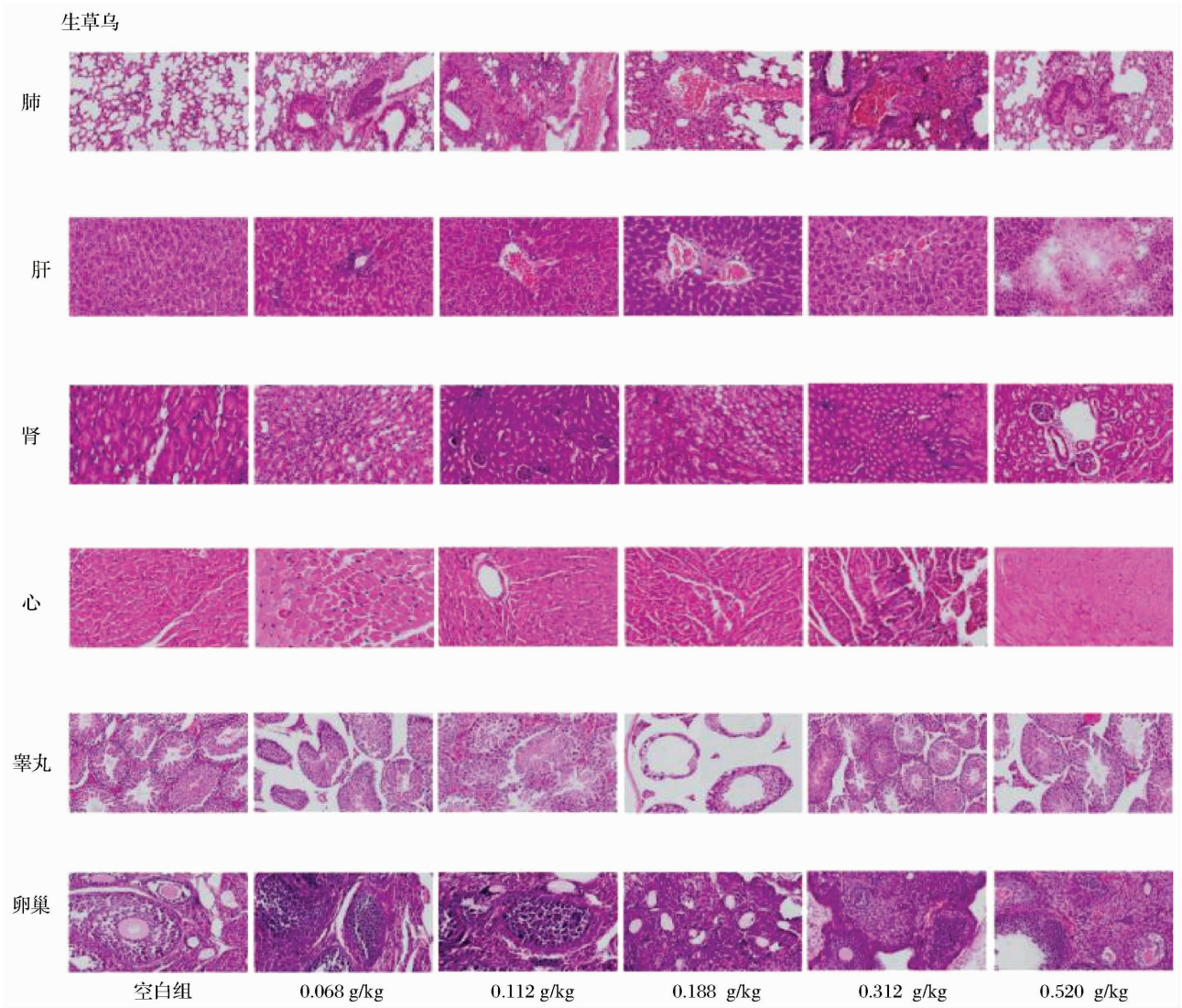


图 1 生草乌对小鼠各脏器组织病理的影响($n = 8$, $\bar{x} \pm s$)(HE, ×200)

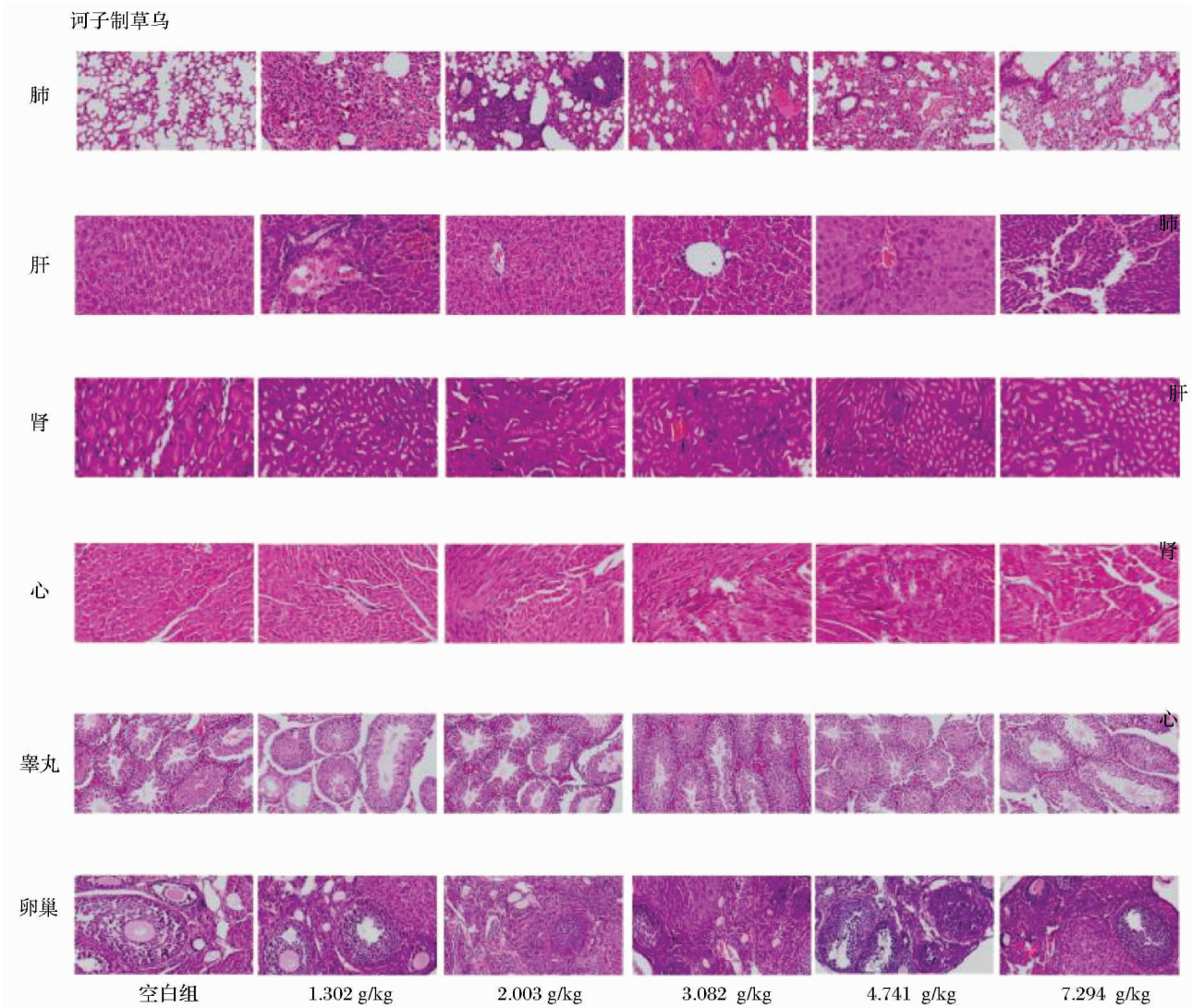


图2 诃子制草乌对小鼠各脏器组织病理的影响($n=8$, $\bar{x}\pm s$)(HE, ×200)

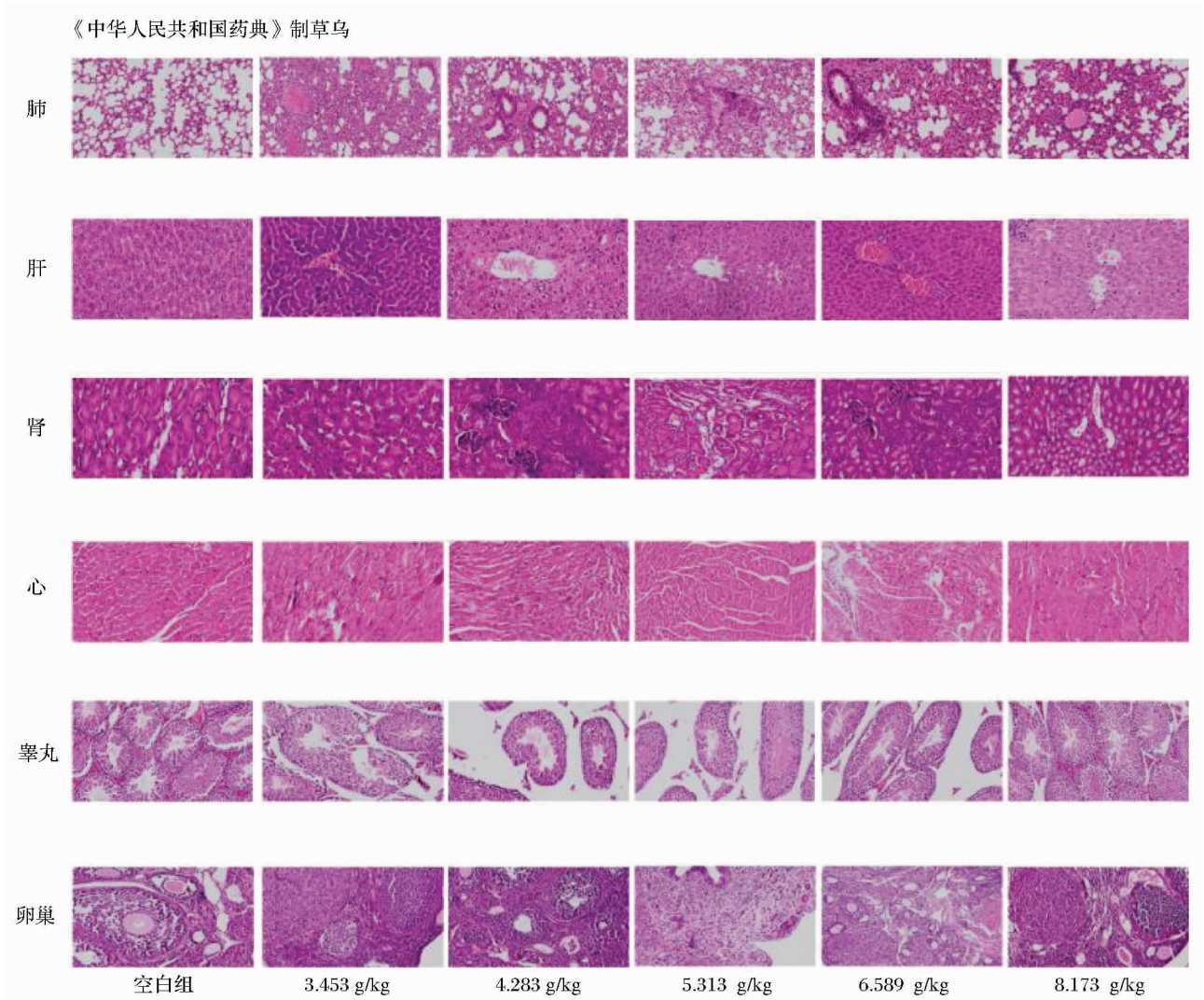
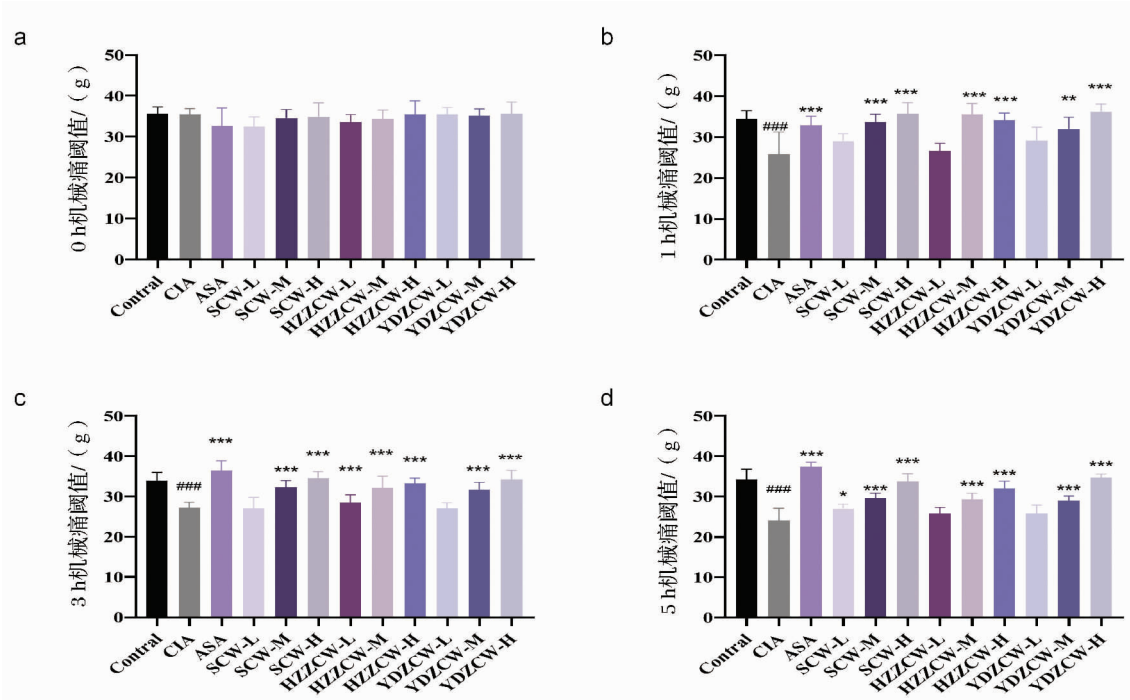
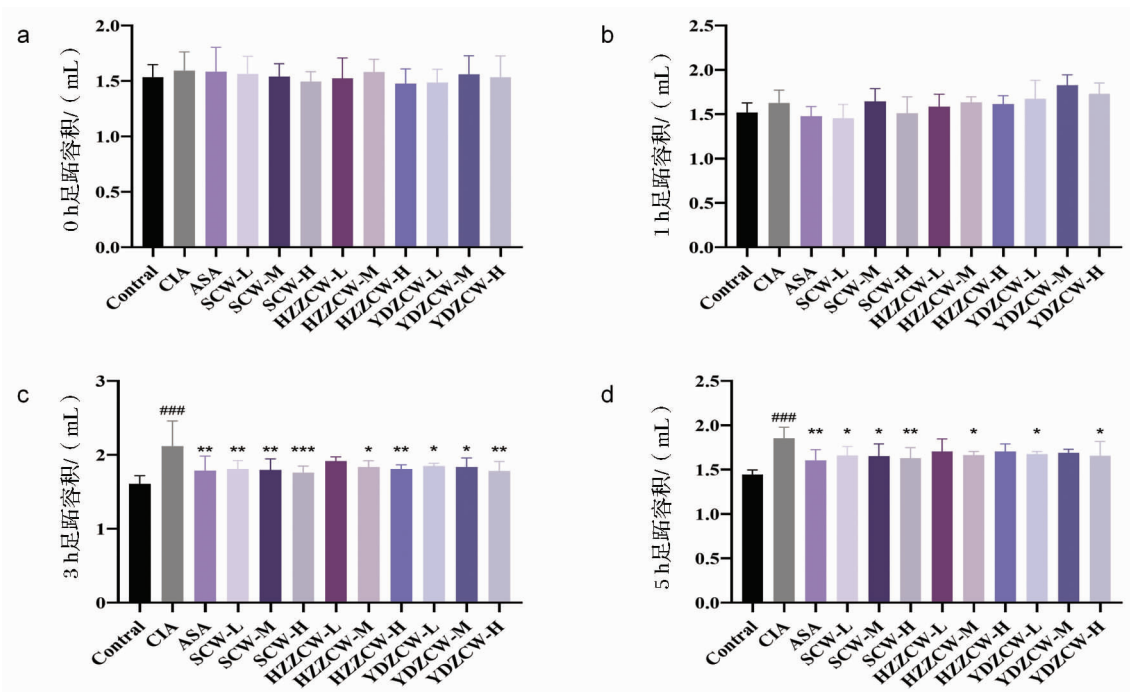


图 3 《中华人民共和国药典》制草乌对小鼠各脏器组织病理的影响($n=8$, $\bar{x} \pm s$)(HE, ×200)



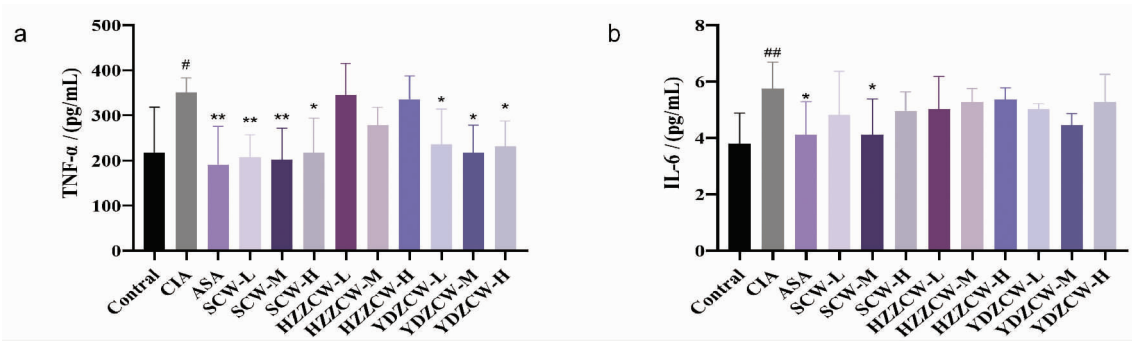
注：Control. 空白组；CIA. 模型组；ASA. 阿司匹林组；SCW. 生草乌组；HZZCW. 诃子制草乌组；YDZCW.《中华人民共和国药典》制草乌组。＊与模型组比较，$P<0.05$；＊＊与模型组比较，$P<0.01$；＊＊＊与模型组比较，$P<0.001$；###与空白组比较，$P<0.001$。

图 5 草乌及其炮制品对角叉菜胶致炎大鼠造模 0、1、3、5 h 痛阈值的影响（a、造模前；b、造模 1 h；c、造模 3 h；d、造模 5 h）（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）



注：Control. 空白组；CIA. 模型组；ASA. 阿司匹林组；SCW. 生草乌组；HZZCW. 诃子制草乌组；YDZCW.《中华人民共和国药典》制草乌组。a、造模前；b、造模 1 h；c、造模 3 h；d、造模 5 h。＊与模型组比较，$P<0.05$；＊＊与模型组比较，$P<0.01$；＊＊＊与模型组比较，$P<0.001$；###与空白组比较，$P<0.001$。

图 7 草乌及其炮制品对角叉菜胶致炎大鼠造模 0、1、3、5 h 足肿胀度的影响（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）



注：Control. 空白组；CIA. 模型组；ASA. 阿司匹林组；SCW. 生草乌组；HZZCW. 诃子制草乌组；YDZCW.《中华人民共和国药典》制草乌组。＊与模型组比较，$P<0.05$；＊＊与模型组比较，$P<0.01$；＊＊＊与模型组比较，$P<0.001$；#与空白组比较，$P<0.05$；##与空白组比较，$P<0.01$。

图 8　草乌及其炮制品对角叉菜胶致炎大鼠足跖组织中 TNF－α 和 IL－6 水平的影响（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

经典名方归脾汤现代应用和药理作用研究进展及其质量标志物预测分析

（正文见 116－125 页）



图 1　归脾汤的药理作用及分子机制