

海藻、甘草配伍组合及其复方海藻玉壶汤的急性毒性实验比较研究

李怡文¹, 钟赣生¹, 柳海艳¹, 王茜², 欧丽娜¹

1. 北京中医药大学基础医学院, 北京 100029
2. 河北医科大学中医学院, 石家庄 050091

摘要 比较单味海藻组、生甘草组、炙甘草组、海藻与生甘草合煎组、海藻与炙甘草合煎组、海藻玉壶汤(生甘草)组、海藻玉壶汤(炙甘草)组不同组别的小鼠急性毒性, 进行单味药、反药组合及含反药组合复方的急性毒性观察与评价, 为基于临床的十八反研究提供用药依据。分别制备海藻煎液、生甘草煎液、炙甘草煎液、海藻与生甘草合煎液、海藻与炙甘草合煎液、海藻玉壶汤(生甘草)煎液、海藻玉壶汤(炙甘草)煎液作为不同组别的受试药物, 参照小鼠急性毒性试验方法, 根据预实验结果, 进行单味药、反药组合及含反药组合复方的小鼠急性毒性试验比较研究, 试验数据用 Bliss 法计算半数致死量 LD_{50} 及 $LD_{50(n)}$, 满足 LD_{50} 条件的海藻组、海藻与生甘草合煎液组、海藻与炙甘草合煎液组给药后连续观察 7d, 其余各组连续观察 28d 并记录体重。结果表明, 实验各组对小鼠急性毒性强度为: 海藻组 > 海藻与炙甘草合煎组 > 海藻与生甘草合煎组 > 炙甘草组 > 海藻玉壶汤(炙甘草)组 > 海藻玉壶汤(生甘草)组 > 生甘草组。海藻组 LD_{50} 值为 $35.67\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 海藻与炙甘草合煎组 LD_{50} 值为 $44.29\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 海藻与生甘草合煎组 LD_{50} 值为 $50.98\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 分别相当于临床 70kg 人每 kg 体重日用量的 145.2 倍、182.6 倍和 211.5 倍; 在 $LD_{50(n)}$ 实验中, 炙甘草组连续给药第 8 天死亡数量达到半数, $LD_{50(8)}$ 为 $70.69\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 生甘草组 $LD_{50(19)}$ 为 $82.98\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 海藻玉壶汤(生甘草)组 $LD_{50(7)}$ 为 $79.24\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 海藻玉壶汤(炙甘草)组 $LD_{50(6)}$ 为 $77.49\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。由此得出结论: 海藻煎液、海藻与炙甘草合煎液属小毒范畴, 与文献记载相符。通过反药组合单味及复方的小鼠急性毒性试验比较研究, 有利于为进一步锁定毒性物质基础及后续实验展开提供依据, 亦也为临床安全用药提供依据。

关键词 海藻; 甘草; 配伍; 小鼠; 急性毒性

中图分类号 R285.5

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.34.002

Acute Toxicity of Incompatible Pair of *Sargassum* and *Radix Glycyrrhizae* and Its Compound Haizao Yuhu Decoction in Mice

LI Yiwen¹, ZHONG Gansheng¹, LIU Haiyan¹, WANG Xi², OU Lina¹

1. College of Preclinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
2. College of Traditional Chinese Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050091, China

Abstract To compare the acute toxicity of the decocted water solution of *Sargassum*, *Radix Glycyrrhizae*, the prepared *Radix Glycyrrhizae*, the *Sargassum* with *Radix Glycyrrhizae*, the *Sargassum* with the prepared *Radix Glycyrrhizae*, the Haizao Yuhu decoction (*Radix Glycyrrhizae*) and the Haizao Yuhu decoction (the prepared *Radix Glycyrrhizae*) in mice, the water extraction components of different groups were prepared, and comparisons were made in accordance with the classical acutotoxicity test methods. The LD_{50} of the *Sargassum* water extraction is $35.67\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, the water extraction of the *Sargassum* with the prepared *Radix Glycyrrhizae* is $44.29\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ and the water extraction of the *Sargassum* with the *Radix Glycyrrhizae* is $50.98\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, which are equal to, respectively, 145.2 times, 182.6 times and 211.5 times of 70kg adult's daily dried medicinal herb intake. In the experiment of $LD_{50(n)}$, the death rate of the prepared *Radix Glycyrrhizae* reaches 50% by the end of consecutive 8 days, and its $LD_{50(8)}$ is $70.69\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$. The $LD_{50(19)}$ of the *Radix Glycyrrhizae* is $82.98\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$; the $LD_{50(7)}$ of the Haizao Yuhu decoction (*Radix Glycyrrhizae*) is $79.24\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$; the $LD_{50(6)}$ of the Haizao

收稿日期: 2012-06-19; 修回日期: 2012-09-24

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2011CB505300, 2011CB505306)

作者简介: 李怡文, 博士研究生, 研究方向为中药基础理论, 电子信箱: smilejackie@yahoo.cn; 钟赣生(通信作者), 教授, 博士生导师, 研究方向为中药基础理论, 电子信箱: zhonggansheng@sohu.com

Yuhu decoction (the prepared *Radix Glycyrrhizae*) is $77.49\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$. The acute toxicity of different groups in mice is: *Sargassum* > *Sargassum* with the prepared *Radix Glycyrrhizae* > *Sargassum* with *Radix Glycyrrhizae* > prepared *Radix Glycyrrhizae* > Haizao Yuhu decoction (the prepared *Radix Glycyrrhizae*) > Haizao Yuhu decoction (*Radix Glycyrrhizae*) > *Radix Glycyrrhizae*. However the toxic substances, the toxicity characteristics, and the toxicity mechanism are not yet entirely clear, and they should be further studied.

Keywords *Sargassum*; *Radix Glycyrrhizae*; compatibility; mice; acute toxicity

海藻玉壶汤是临床应用的经典名方,由于方中含有海藻与甘草这对反药组合,在临床应用过程中许多医家多对其有所顾忌。两种药物是否相反,以及相反药物配伍后对于毒性和疗效有何影响,尚未明了。本研究基于临床应用的角度开展十八反的相关研究,选择该方作为载体,进行海藻与甘草反药组合的研究工作。

本实验采用急性毒性实验,初步判断了甘草的不同炮制品、海藻、甘草配伍及其复方制剂的毒性,为进一步深入、系统研究反药配伍的毒效奠定基础,以期为临床安全合理用药提供试验依据。为了能更好地说明单味药、反药配伍以及复方的毒性大小,在实验结果不满足于 LD_{50} 计算条件时,选择连续给药累计半数致死的天数即 $LD_{50(n)}$ 来评价。由于中药材有生品与炮制品之分,以甘草为例,其炮制品种为炙甘草,因此在急毒实验中要分别对两种甘草进行考察。此外,由于本文是基于临床应用研究反药配伍的生物学效应的,海藻玉壶汤中的青皮选择临床常用的醋青皮,半夏选择临床常用的法半夏,处方剂量根据 2010 年版《中华人民共和国药典》一部中对各药的用量规定,选择高限量作为处方用量。

1 材料与amp;方法

1.1 实验动物

昆明种小鼠,SPF 级,体重 18—22g,雌雄各半。由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(京)2006-0009。

1.2 实验药物

生甘草药液、炙甘草药液、海藻药液、生甘草+海藻药液、炙甘草+海藻药液、海藻玉壶汤(炙甘草)药液、海藻玉壶汤(生甘草)药液。

生甘草:产自宁夏灵武,由灵武市美康甘草基地有限责任公司提供,生产批号:100710。经南京中医药大学段金廛教授鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 干燥根和根茎。

炙甘草:产地、批号同生甘草,按照 2010 版《中国药典》炮制标准,由北京中医药大学中药学院炮制教研室杨蕾老师指导完成,其中蜂蜜选用百花牌枣花蜂蜜,由北京百花蜂蜜有限公司提供,批号:20100802。

海藻:产自山东烟台,由安徽丰原铜陵中药饮片有限公司提供,生产批号:皖 Y20050202。经南京中医药大学段金廛教授鉴定为马尾藻科植物海蒿子 *Sargassum pallidum* (Turn.)

C.Ag.的干燥藻体。

法半夏:产自贵州长顺,由安徽丰原铜陵中药饮片厂提供,生产批号:100701。经北京中医药大学基础医学院李伟老师鉴定为天南星科植物半夏 *Pinnellia ternate* (Thunb) Breit 的块茎,经甘草和石灰炮制的炮制品。

贝母:产自浙江潘安,经北京中医药大学基础医学院李伟老师鉴定为百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎。

连翘,产自山西,生产批号:1104047;川芎,产自四川,生产批号:1101017;独活,产自四川,生产批号:1012001;昆布,产自沿海,生产批号:1104062;醋青皮,产自四川,生产批号:1102015;陈皮,产自四川,生产批号:1104063;当归,产自甘肃,生产批号:1012052;海带,产自山东青岛。以上药物均购自北京双桥燕京中药饮片厂。经北京中医药大学基础医学院李伟老师鉴定均为该科属合格的中药饮片。

1.3 药物制备

1.3.1 生甘草煎液的制备

称取生甘草饮片 2000g,煎煮 2 次,加水 10 倍量、8 倍量,每次煎煮 1h,合并滤液,浓缩至 950mL,浓度为 2.1g 生药/mL,4℃冷藏。使用前用无菌水按 1:0.85 的浓度梯度稀释成 5 个剂量,分别给予小鼠灌胃。

1.3.2 炙甘草煎液的制备

炙甘草煎煮方法同生甘草,得到浓缩液 1000mL,浓度为 2g 生药/mL,4℃冷藏。使用前用无菌水按 1:0.85 的浓度梯度稀释成 5 个剂量。

1.3.3 海藻煎液的制备

称取海藻 2000g,其余煎煮方法同生甘草,得到浓缩液 1000mL,浓度为 2g 生药/mL,4℃冷藏。使用前用无菌水按照 1:0.80 的浓度梯度稀释成 5 个剂量,分别给予小鼠灌胃。

1.3.4 海藻与生甘草混合液的制备

称取生甘草饮片与海藻各 1000g,装入不锈钢桶内,其余煎煮方法同上,得到浓缩液 1000mL,浓度为 2g 生药/mL,4℃冷藏。使用前用无菌水按 1:0.80 的浓度梯度稀释成 5 个剂量,分别给予小鼠灌胃。

1.3.5 海藻与炙甘草混合液的制备

同海藻与生甘草混合液组制备方法(第 1.3.4 节)。

1.3.6 海藻玉壶汤(生甘草)组煎液的制备

称取海藻、贝母、青皮、陈皮、连翘、独活、生甘草、川芎、当归、半夏各 175g、海带 87g,其余煎煮方法同上,得到浓缩液

950mL,浓度为 2.1g 生药/mL,4℃冷藏。使用前用无菌水按照 1:0.85 的浓度梯度稀释成 5 个剂量,分别给予小鼠灌胃。

1.3.7 海藻玉壶汤(生甘草)组煎液的制备

同海藻玉壶汤(生甘草)煎液的制备(同第 1.3.6 节)。

1.4 实验方法

取体重为 18—22g 的昆明种小鼠 80 只,雌雄各半,健康适龄,适应性喂养 3d。随机分组:空白组、生甘草组、炙甘草组、海藻组(H)、海藻+生甘草组(HS)、海藻+炙甘草组(HZ)、海藻玉壶汤(生甘草)组、海藻玉壶汤(炙甘草)组。参照急性毒性试验方法,对以下几组进行预实验,每组 10 只^[1]。实验前动物禁食 8h,以最大浓度、最大体积(0.4mL/10g),给小鼠灌胃 3 次,每隔 6h 一次,连续观察 7d,记录小鼠的行为、活动、摄食量、体重、粪便、死亡量以及中毒反应等情况。给药小鼠死亡率大于 80%,则进行 LD_{50} 实验;若小鼠死亡率小于 80%,则进行小鼠 $LD_{50(n)}$ 实验^[2]。

根据预实验结果,取体重 18—22g 的昆明种小鼠 458 只,雌雄各半。海藻组、海藻+生甘草组、海藻+炙甘草组死亡率大于 80%,需进行 LD_{50} 实验,每个给药组以 1:0.80 的比例进行稀释分为 5 个剂量组,共 15 组,每组 10 只,给药后观察 7d,计算其 LD_{50} ;生甘草组、炙甘草组、海藻玉壶汤(生甘草)组、海藻玉壶汤(炙甘草)组需进行 $LD_{50(n)}$ 实验,每个给药组按 1:0.85 进行稀释,共 21 组,每组 14 只。给试验小鼠进行灌胃给药,给药体积 0.4mL/10g,每天固定时间点(上午 8—9 时)给药一次,连续 28d,给药期间观察试验动物死亡数,观察实验组累计发生一半动物死亡时的天数,计算 $LD_{50(n)}$ 。

特别说明,海藻+炙甘草组按 1:0.80 稀释 5 个剂量后,各个剂量组死亡量较大,后按 1:0.75 进行稀释重新进行试验,求出 LD_{50} 值。

1.5 观察指标

逐日观察动物饮食、饮水情况,密切观察各小鼠体重、异常肌肉运动、瞳孔改变、异常分泌物、大小便异常、眼球、眼睑、呼吸是否异常以及皮肤颜色改变等毒性反应和死亡情况。对濒死动物应及时进行大体解剖,对主要脏器大体病理变化进行肉眼观察,分析死亡原因。

1.6 统计方法

采用 SPSS 13 软件进行数据处理,计量资料多组比较采用方差分析,方差齐选用 LSD,方差不齐选用 Dunnett T3;计数资料采用非参数检验,以 $P < 0.05$ 有显著性差异。采用 Bliss 法,应用 SPSS 软件计算 $LD_{50(n)}$ ^[3]。

2 结果

2.1 海藻煎液、海藻与生(炙)甘草煎液小鼠急性毒性 LD_{50} 实验结果

2.1.1 小鼠中毒症状观察

海藻组、海藻+生甘草组、海藻+炙甘草组给药 20min 后,各个剂量组小鼠均有出现安静、活动减少,即而出现呼吸急

促,最终连续性惊厥、抽搐、呼吸抑制而死亡的情况,部分小鼠出现腹泻、咳嗽等毒性症状,按浓度依次减轻。小鼠最早死亡时间在药后 15min 内,且死亡均发生给药后 24h 之内。对死亡小鼠进行解剖,肉眼观察心、肝、脾、肺、肾等主要脏器的变化,主要为肝脏的毒性,其余脏器肉眼观察未见明显异常。存活小鼠多于给药后 2—4d 症状减轻,72h 后活动、摄食饮水基本恢复正常。给小鼠灌服海藻煎液、海藻与生甘草煎液、海藻与炙甘草煎液不同剂量后,小鼠累积死亡只数-时间情况见图 1—图 3。

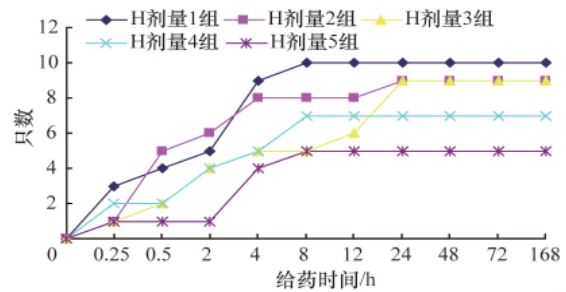


图 1 海藻组不同剂量组小鼠累积死亡只数-时间曲线
Fig. 1 The mortality-time curve for mice with different dosage of *Sargassum*

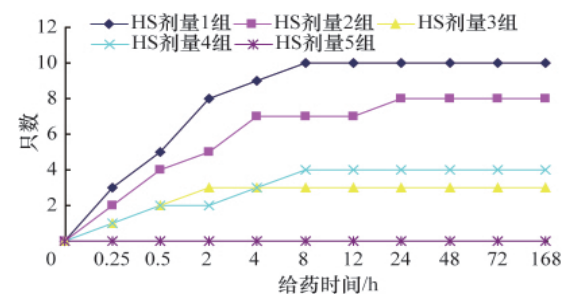


图 2 海藻-生甘草组不同剂量组小鼠累积死亡-时间曲线
Fig. 2 The mortality-time curve for mice with different dosage of *Sargassum* with *Radix Glycyrrhizae*

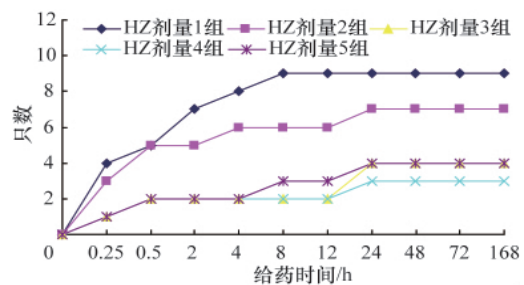


图 3 海藻-炙甘草组不同剂量组小鼠累积死亡-时间曲线
Fig. 3 The mortality-time curve of mice with different dosage of *Sargassum* with prepared *Radix Glycyrrhizae*

2.1.2 小鼠急性毒性 LD_{50} 值测定

根据各剂量组小鼠死亡数量及给药剂量,采用 Bliss 计算法处理。按生药量计算的半数致死量 LD_{50} 值为分别为海藻组 $35.67\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,95%的可信限为 $15.35\text{—}39.74\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。海藻+

炙甘草组 $44.29\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 95%的可信限为 $26.29\text{—}58.94\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$; 海藻+生甘草组 $50.98\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 95%的可信限为 $44.98\text{—}57.98\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。见表 1。

表 1 海藻及海藻与甘草配伍药组小鼠 LD_{50}
Table 1 The results of LD_{50} of *Sargassum* and *Sargassum* with *Radix Glycyrrhizae* (prepared *Radix Glycyrrhizae*) on the acute toxicity in mice

药物	LD_{50} 剂量 / $(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1})$	95%可信区间 / $(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1})$
海藻组	35.67	15.35—39.74
海藻+炙甘草组	44.29	26.29—58.94
海藻+生甘草组	50.98	44.98—57.98

2.2 生(炙)甘草煎液、海藻玉壶汤(生、炙甘草)煎液小鼠 $LD_{50(n)}$ 实验结果

2.2.1 小鼠中毒症状观察

炙甘草组小鼠灌胃后出现活动减少, 呼吸急促等现象, 未死亡小鼠毛发粗糙、无光泽、部分出现腹泻, 肛门污秽, 排尿颜色较黄等情况。解剖炙甘草组死亡小鼠发现, 小鼠腹部呈黑色, 系由于炙甘草过于黏稠, 药液留于肠中时间过久所致。生甘草组、海藻玉壶汤(生甘草)组、海藻玉壶汤(炙甘草)组各个剂量组小鼠死亡状态与急性毒性试验小鼠死亡状态相近, 有的出现腹部胀大, 多由药液阻塞肠道引起的胃胀肠气引起。未死亡的小鼠在毛色、进食、饮水、自主活动等方面较其他组小鼠状态良好。

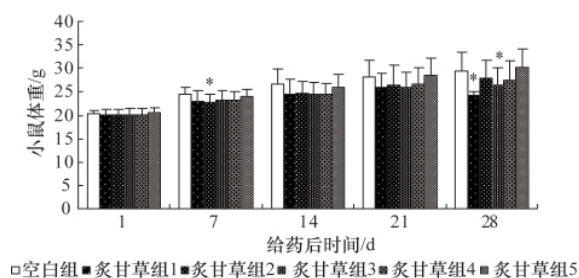


图 4 炙甘草小鼠 $LD_{50(n)}$ 实验体重变化

Fig. 4 The weight change of mice with prepared *Radix Glycyrrhizae*

注: *与空白组比较, $P < 0.05$ 。下同。

Note: *Compared with the control, $P < 0.05$. The same as below.

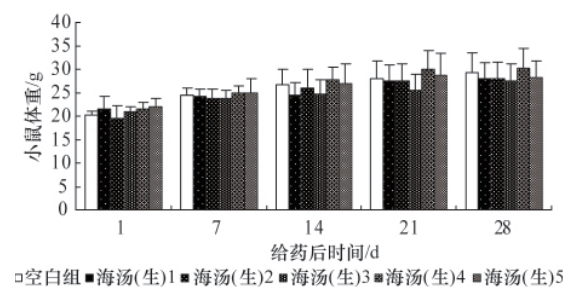


图 6 海藻玉壶汤(生甘草)小鼠 $LD_{50(n)}$ 实验体重变化

Fig. 6 The weight change of mice with Haizao Yuhu decoction (*Radix Glycyrrhizae*)

2.2.2 $LD_{50(n)}$ 实验小鼠死亡数量及 $LD_{50(n)}$ 值的测定

根据预实验的结果, 各个给药组连续给药 28d, 记录累计到达半数死亡量的天数及 28d 后存活小鼠只数。生甘草组、炙甘草组、海藻玉壶汤(生甘草)组、海藻玉壶汤(炙甘草)组分别在给药后第 19、8、7、6 天, 单组死亡数量达到半数。给药 28d 后炙甘草剂量(1—5)组剩余只数分别为 2、3、6、7、8; 生甘草剂量(1—5)组剩余小鼠数分别为 7、11、14、13、14; 海藻玉壶汤生甘草剂量(1—5)组剩余小鼠数分别为 7、8、10、11、11; 海藻玉壶汤炙甘草剂量(1—5)组剩余小鼠数分别为 6、9、7、12、12。以下各组药物 $LD_{50(n)}$ 结果见表 2。

表 2 生(炙)甘草煎液、海藻玉壶汤(生、炙甘草)煎液组小鼠的 $LD_{50(n)}$ 值

Table 2 The results of $LD_{50(n)}$ of *Radix Glycyrrhizae*, prepared *Radix Glycyrrhizae*, Haizao Yuhu decoction (*Radix Glycyrrhizae*), Haizao Yuhu decoction (prepared *Radix Glycyrrhizae*) on the acute toxicity in mice

药物	$LD_{50(n)}$ 天数	$LD_{50(n)}$ 剂量 / $(\text{g}\cdot\text{生药}\cdot\text{kg}^{-1})$	95%可信区间 / $(\text{g}\cdot\text{生药}\cdot\text{kg}^{-1})$	
			下限	上限
生甘草组	$LD_{50(19)}$	82.98	77.22	100.55
炙甘草组	$LD_{50(8)}$	70.69	63.27	87.56
海藻玉壶汤(生甘草)组	$LD_{50(7)}$	79.24	65.22	148.7
海藻玉壶汤(炙甘草)组	$LD_{50(6)}$	77.49	67.36	119.9

2.2.3 给药各药组小鼠体重变化情况

受试小鼠体重自身差异曲线见图 4—图 7 和表 3。给药

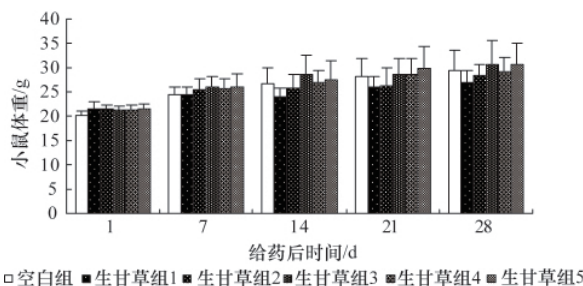


图 5 生甘草小鼠 $LD_{50(n)}$ 实验体重变化

Fig. 5 The weight change of mice with *Radix Glycyrrhizae*

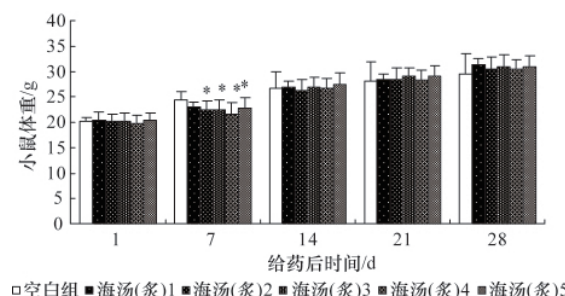


图 7 海藻玉壶汤(炙甘草)小鼠 $LD_{50(n)}$ 实验体重变化

Fig. 7 The weight change of mice with Haizao Yuhu decoction (prepared *Radix Glycyrrhizae*)

表 3 炙甘草、生甘草及海藻玉壶汤(生、炙甘草)对小鼠急性毒性 $LD_{50(m)}$ 实验体重变化的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 The effects of *Radix Glycyrrhizae*, the prepared *Radix Glycyrrhizae*, Haizao Yuhu decoction on the weights of mice

分组	剂量 /(g·kg ⁻¹)	n	给药前体重/g	n	D7 体重/g	n	D14 体重/g	n	D21 体重/g	n	D28 体重/g
空白组	蒸馏水	14	20.28±0.73	14	24.44±1.61	14	26.59±3.30	14	28.10±3.74	14	29.43±4.03
炙甘草组 1	80.0	14	20.10±1.09	7	22.84±2.37	6	24.51±3.21	4	25.95±2.94	2	24.30±0.70*
炙甘草组 2	68.0	14	20.03±1.14	10	22.74±1.66*	6	24.55±2.59	4	26.32±4.28	3	27.80±3.98
炙甘草组 3	57.8	14	20.12±1.27	13	23.05±2.18	10	24.39±2.56	8	25.88±3.38	6	26.27±3.76*
炙甘草组 4	49.1	14	20.16±1.25	12	23.18±1.78	12	24.44±2.34	11	26.66±3.35	7	27.48±3.98
炙甘草组 5	41.8	14	20.54±1.02	11	23.98±1.63	9	26.01±2.76	9	28.58±3.69	8	30.24±3.83
生甘草组 1	84.0	14	21.50±1.31	9	24.34±1.72	8	24.05±1.86	7	26.05±2.01	7	26.91±2.38
生甘草组 2	71.4	14	21.36±0.86	14	25.31±2.39	13	25.83±2.77	13	26.21±3.68	11	28.24±2.37
生甘草组 3	60.7	14	21.32±0.84	14	25.94±2.28	14	28.44±4.14	13	28.61±3.19	14	30.65±4.98
生甘草组 4	51.6	14	21.30±1.01	13	25.67±2.00	13	26.93±2.25	13	28.63±3.15	13	29.18±2.91
生甘草组 5	43.8	14	21.49±1.06	14	25.97±2.28	14	27.52±3.93	14	29.82±4.52	14	30.69±4.36
海汤(生)1	84.0	14	21.50±2.61	10	24.31±1.48	7	24.52±2.61	7	27.52±3.39	7	27.98±3.45
海汤(生)2	71.4	14	19.47±2.66	11	23.78±1.89	9	25.98±4.02	9	27.55±3.50	8	28.03±3.44
海汤(生)3	60.7	14	20.95±1.01	12	23.76±1.77	10	24.70±3.02	10	25.56±3.24	10	27.58±3.51
海汤(生)4	51.6	14	21.55±1.41	12	25.00±1.49	11	27.71±2.75	11	29.93±4.06	11	30.21±4.12
海汤(生)5	43.8	14	22.00±1.71	13	24.80±3.12	12	26.98±4.04	12	28.69±4.58	11	28.17±3.56
海汤(炙)1	84.0	14	20.46±1.53	7	23.04±0.90	6	26.91±1.09	6	28.58±0.88	6	31.25±1.32
海汤(炙)2	71.4	14	20.16±1.46	10	22.33±1.94*	9	26.25±2.23	9	28.48±2.28	9	30.45±2.41
海汤(炙)3	60.7	14	20.22±1.64	12	22.33±2.06*	7	26.90±2.04	7	29.11±1.63	7	30.98±2.27
海汤(炙)4	51.6	14	19.88±1.52	12	21.64±2.10*	12	26.61±2.13	12	28.30±1.92	12	30.59±1.82
海汤(炙)5	43.8	14	20.40±1.56	13	22.73±2.10*	12	27.43±2.21	12	29.03±2.00	12	30.92±2.14

前,各组小鼠较空白组小鼠体重无显著性差异($P>0.05$)。在给药后第 7 天(D7)时,炙甘草剂量 2 组、海藻玉壶汤(炙甘草)剂量 2、3、4、5 组较其他各组体重显著降低($P<0.05$);给药后第 14 天(D14),21 天(D21)时,各给药组、各剂量组组间与空白组无显著性差异;给药后第 28 天(D28)时,仅炙甘草 1 组、3 组较空白组相比体重显著降低($P<0.05$),其余各剂量组至给药后 28d 与空白组比较均无显著性差异。

3 讨论

配伍是中医药的优势和特色所在,中医配伍用药的实质在于“组分合和”,即通过组分在数量上产生变化,起到功效上相同或不同,或是产生新的组分,起到增(减)效减(增)毒作用;再者是各组分通过多层次、多途径、多靶点之协同整合,起到增(减)效减(增)毒的作用^[4]。海藻反甘草是中医临床长期以来遵循的用药原则。

海藻,其性咸寒,功能消痰软坚,利水消肿。《神农本草经》言:“主癭瘤气,颈下核,破散结气,癭瘤症瘕坚气,腹中上下鸣,下十二水肿。”《本草便读》载:“海藻,咸寒润下之品,软坚行水,是其本功,一切瘰疬癭瘤顽痰胶结之证,皆可用之。然咸走血,多食咸则血脉凝涩,生气日削,致成废疾不起者多矣。”。现代医学认为富碘中药海藻为治疗单纯性甲状腺肿的常用中药药物。甘草,性平味甘,具有和中缓急,润肺,解毒,

调和诸药之效。《神农本草经》中记载:“主五脏六腑寒热邪气,坚筋骨,长肌肉,倍力,金疮肿,解毒”。乃中医处方中常用中药。既往文献确有报道海藻、甘草二者配伍比例为 3:1 和 1:3 时能使肝脏对药物的代谢功能降低,表现出一定的毒性^[5]。那么海藻与甘草配伍是否产生毒性,结合实验结果进行了以下分析。

本文结果表明,海藻煎液、海藻与炙甘草煎液、海藻与生甘草煎液具备进行 LD_{50} 的条件(预实验中以最大浓度、最大体积的生药给小鼠灌服,小鼠死亡率 $>80\%$), LD_{50} 结果分别 35.67,44.29 和 50.98g·kg⁻¹·d⁻¹,其中海藻煎液、海藻与炙甘草煎液组属小毒范畴,海藻与生甘草煎液组属无毒范畴。有学者对海蒿子、羊栖菜等 7 种海藻进行急性毒性试验,结果显示 7 种海藻的种海藻的 $LD_{50}>40g/kg$,按药典规定海藻 1 日最大用量为 12g,以人体重 60kg 计,相当于人体每日用药量的 166 倍,毒性极小,为安全用药提供了理论依据^[6],本实验中海藻的 LD_{50} 为 35.67g·kg⁻¹·d⁻¹,与文献结果相近。海藻组小鼠的中毒原因可能与海藻中含有大量的碘和钠有关。碘服用过量,中毒可表现出口腔黏膜呈棕色,上腹痛、恶心、呕吐、腹泻、大便带血,惊厥乃至昏迷、休克等症状,主要损伤到泌尿系统,最后发展为急性肾功衰竭^[7]。此外,海藻味咸,含有丰富的钠盐,一次性大量服用可能会导致高钠血症。高血钠主要是由于血钠浓度过高造成的高渗状态,使细胞内水份被析

出,从而细胞失水,特别是脑细胞失水,可造成一系列神经系统症状,如烦躁、嗜睡、腱反射亢进、肌张力增高,后期出现抽搐、惊厥、昏迷,与实验小鼠死亡症状相似。

未做出 LD_{50} 的生甘草组、炙甘草组、海藻玉壶汤(生甘草)组及海藻玉壶汤(炙甘草)组采用 $LD_{50(n)}$ 方法评价其毒性(预实验中以最大浓度、最大体积生药给小鼠灌服,小鼠死亡率 > 80%,则进行 LD_{50} 实验;若小于 < 80%,则进行 $LD_{50(n)}$ 实验)。结果显示,炙甘草组的 $LD_{50(8)}$ 数值最低,为 $70.69\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,小鼠死亡数量较多,究其原因可能与炙甘草煎液浓度过大,质地黏稠,导致小鼠难以吸收,胃肠胀气有关。有文献报道显示,甘草及其制剂长期大量用药能够引起不良反应,该不良反应多是由于甘草提取物甘草甜素制剂所致^[8]。然而,对于本实验中炙甘草表现出死亡数量较大是由于药液浓度还是甘草毒性,尚不明确,还有后续试验进行验证。生甘草煎液组 $LD_{50(19)}$ 为 $82.98\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,未出现炙甘草组小鼠明显胃肠胀气现象。

海藻玉壶汤(生甘草)煎液组 $LD_{50(7)}$ 为 $79.24\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,海藻玉壶汤(炙甘草)煎液组 $LD_{50(6)}$ 为 $77.49\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。这两组小鼠亦未出现明显胃肠胀气现象。海藻玉壶汤是古代治疗瘰疬的名方,临床文献^[9]报道可以用于治疗各种甲状腺肿大的疾病,如缺碘性甲状腺肿大、甲状腺功能亢进、桥本甲状腺炎、甲状腺肿瘤等等,以及一些妇科、男科、皮肤科和消化系统疾病,这些都是含有反药配伍的海藻玉壶汤主治的临床疾病。由于海藻含碘甚丰,在治疗甲亢时,可在短时间内抑制甲状腺激素的释放,随着甲状腺对碘化物的抑制作用产生适应而出现逸脱现象,可使甲状腺激素的合成重新加速,甲状腺内激素的积存与日俱增,且大量释放入血,从而引起甲亢复发,症状反跳,故现在一般不主张使用富碘中药海藻治疗甲亢^[10]。在古代,由于诊疗手段较为落后,甲亢病人亦表现为颈前喉结两旁结块肿大的瘰疬特征,是否由于使用了富碘中药海藻治疗甲状腺功能亢进型的瘰疬导致甲亢危象,而错使古代医家认为是海藻与甘草相反的结果?抑或是有学者提出的观点,即藻类本身无毒,由于海藻生在近海区域,服用被有毒鱼卵(河豚)污染的海藻很易染毒,若此种被污染的海藻再与甘草伍用,很自然就将产生毒性反应归咎于“海藻反甘草”。因此,海藻与甘草是否相反,还需结合下一步实验研究进行综合分析。

4 结论

根据实验结果,各组急性毒性强度依次为海藻组 > 海藻与炙甘草配伍组 > 海藻与生甘草配伍组 > 炙甘草煎液组 > 海藻玉壶汤(炙甘草)组 > 海藻玉壶汤(生甘草)组 > 生甘草煎液组。复方海藻玉壶汤(生甘草)组与海藻玉壶汤(炙甘草)组均未表现出明显毒性,且采用原方中生甘草配伍的海藻玉壶汤毒性最小,应用较为安全。海藻煎液具有小毒,其毒性部位是否在肝脏、产生毒性的物质基础是什么?都有待于我们进一步深入研究。

参考文献 (References)

- [1] 徐叔云. 药理试验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1992, 201-206.
Xu Shuyun. Methodology of pharmacological experiment [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1992, 201-206.
- [2] 黄伟, 赵燕, 孙蓉. 吴茱萸不同组分对小鼠急性毒性试验比较研究[J]. 中国药物警戒, 2010(3): 129-134.
Huang Wei, Zhao Yan, Sun Rong. Chinese Journal of Pharmacovigilance, 2010(3): 129-134.
- [3] 周一平. 用 SPSS 软件计算新药的 LD50[J]. 药学进展, 2003(5): 314-316.
Zhou Yiping. Development of Pharmaceutice, 2003(5): 314-316.
- [4] 王律韵, 杨洁红, 张宇燕, 等. 附子与甘草配伍减毒增效的物质基础初探[J]. 中国中医急症, 2011(2): 526-530.
Wang Luyun, Yang Jiehong, Zhang Yuyan, et al. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2011(2): 526-530.
- [5] 许立, 孙晓进, 王志刚, 等. 甘草海藻及其相伍用对小鼠肝药酶的影响[J]. 辽宁中医杂志, 1998, 25(2): 84-85.
Xu Li, Sun Xiaojin, Wang Zhigang. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 1998, 25(2): 84-85.
- [6] 崔征, 李玉山, 肇文荣, 等. 中药海藻及数种同属植物的药理作用[J]. 中国海洋药物, 1997(3): 5-8.
Cui Zheng, Li Yushan, Zhao Wenrong, et al. Chinese Journal of Marine Drugs, 1997(3): 5-8.
- [7] 斯尔格灵. 急性碘中毒一例报告[J]. 临床误诊误治, 2004, 17(3): 215-216.
Sier Geling. Clinical Misdiagnosis & Mitherapy, 2004, 17(3): 215-216.
- [8] 王冬梅, 王小娟, 郑清莲, 等. 甘草及其制剂的不良不良反应[J]. 中国药房, 2004, 15(1): 44-45.
Wang Dongmei, Wang Xiaojuan, Zheng Qinglian, et al. China Pharmacy, 2004, 15(1): 44-45.
- [9] 李怡文, 钟赣生, 王茜. 含反药配伍的海藻玉壶汤临床应用分析[J]. 南京中医药大学学报: 自然科学报, 2011, 27(4): 317-321.
Li Yiwen, Zhong Gansheng, Wang Xi. Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine: Natural Science Edition, 2011, 27(4): 317-321.
- [10] 阮积惠. 海藻主要药用成分的研究和展望 [J]. 东海海洋, 2001, 19(2): 1-9.
Ruan Jihui. Donghai Marine Science, 2001, 19(2): 1-9.

(责任编辑 吴晓丽)

《科技导报》“研究论文”栏目征稿

“研究论文”栏目专门发表自然科学、工程技术领域具有创新性的研究论文, 要求学术价值显著、实验数据完整、具有原始性和创造性, 同时应重点突出、文字精炼、引证及数据准确、图表清晰, 并附中、英文摘要以及作者姓名、所在单位、通信地址、关键词等信息。在线投稿: www.kjdb.org。