

· 毒理 ·

## 四逆汤组方不同配伍毒效关系研究

杨海润<sup>1,2</sup>, 孙建宁<sup>2</sup>, 张广平<sup>1</sup>, 朱晓光<sup>1</sup>, 张思玉<sup>1</sup>, 解素花<sup>3\*</sup>

(1. 北京中研同仁堂医药研发有限公司, 北京 100079;

2. 北京中医药大学, 北京 100029; 3. 北京同仁堂科技发展股份有限公司, 北京 100079)

**[摘要]** 目的: 从药效和毒性两个方面对于四逆汤处方配伍进行研究, 为四逆汤复方配伍的合理性提供实验依据。方法: 平行比较附子、四逆汤全方、附子配伍甘草、附子配伍干姜对小鼠急性毒性, 测定其半数致死剂量(LD<sub>50</sub>)。开展了附子、四逆汤全方、附子配伍甘草、附子配伍干姜对阿霉素导致大鼠心衰模型影响研究, 观察了受试物对心衰大鼠颈总动脉血流量、心率(HR)、左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室内压力上升的最大速率(+dp/dt<sub>max</sub>)及左室内压力下降的最大速率(-dp/dt<sub>max</sub>)的影响。结果: 急性毒性实验结果显示, 四逆汤处方配伍中附子配伍甘草对附子的减毒作用要优于附子配伍干姜, 在减毒方面甘草起主要作用。四逆汤对阿霉素导致大鼠心衰模型试验结果显示, 四逆汤全方、附子配伍甘草、附子配伍干姜和单用附子药效作用相似, 均是通过增加心率、提高LVSP、增加+dp/dt<sub>max</sub>, 提高颈动脉血液流量起到治疗作用。附子配伍干姜对于附子的药效促进作用优于甘草, 在增加处方药效方面干姜起主要作用。结论: 四逆汤组方中甘草在减低处方的毒性方面起主要作用, 干姜在增强附子药效方面起主要作用, 从药效和毒性两方面阐明四逆汤处方配伍规律的合理性。

**[关键词]** 四逆汤; 配伍; 增效; 减毒

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0266-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013230266

## Study on the Effect and Toxicity of Sini Decoction Formula from the Different Compatibility Prescription

YANG Hai-run<sup>1,2</sup>, SUN Jian-ning<sup>2</sup>, ZHANG Guang-ping<sup>1</sup>, ZHU Xiao-guang<sup>1</sup>, ZHANG Si-yu<sup>1</sup>, XIE Su-hua<sup>3\*</sup>

(1. National Engineering Research Center for R&D of Traditional Chinese Medicine Multi-ingredient Drugs,

Beijing 100079, China; 2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. Tong Ren Tang Technologies Co. Ltd., Beijing 100079, China)

**[Abstract]** **Objective:** To provide rationality of Sini decoction compound compatibility based on the toxicity and efficacy. **Method:** To compare the acute toxicity between the aconite group, Sini decoction group, Aconiti Lateralis Radix Praeparata combined with Glycyrrhizae Radix et Rhizoma group and Aconiti Lateralis Radix Praeparata combined with Zingiberis Rhizoma group, and the median lethal dose (LD<sub>50</sub>) was determined. To study the effect of the four above mentioned groups the rat heart failure model was induced by adriamycin, and the icarotid artery blood flow, heart rate (HR), left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP), left ventricular maximum rate of pressure rise (+dp/dt<sub>max</sub>) and left ventricular minimum rate of pressure drop (-dp/dt<sub>max</sub>) were observed. **Result:** The result of the acute toxicity experiment showed that in Sini decoction prescription, the attenuation of Aconiti Lateralis Radix Praeparata combined with Glycyrrhizae Radix et Rhizoma group was better than Aconiti Lateralis Radix Praeparata combined with Zingiberis Rhizoma. The experimental results on the effects of Sini decoction showed that Sini decoction group, Aconiti Lateralis Radix Praeparata combined with Glycyrrhizae Radix et Rhizoma group, Aconiti Lateralis Radix Praeparata

**[收稿日期]** 20130530(004)

**[第一作者]** 杨海润, 中药师, 中级工程师, 从事中药药理毒理学研究, Tel:13651166566, E-mail: yanghr43@163.com

**[通讯作者]** \* 解素花, 硕士, 高级工程师, Tel:010-87632655, E-mail: xiesuhua@ tongrentang.com

combined with Zingiberis Rhizoma and the single Aconiti Lateralis Radix Praeparata group had same effects like increasing the LVSP, the  $+ dp/dt_{max}$  and the blood output. The effect of Aconiti Lateralis Radix Praeparata combined with Zingiberis Rhizoma was better than Aconiti Lateralis Radix Praeparata combined with Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Zingiberis Rhizoma plays a main role in it. **Conclusion:** In the prescription compatibility of Sini decoction Glycyrrhizae Radix et Rhizoma plays a main role in the attenuation of toxicity and Zingiberis Rhizoma plays a main role in efficacy, these results illuminate the rationality of Sini decoction compatibility

[**Key words**] Sini decoction; compatibility; effectiveness attenuation; toxicity

四逆汤出自张仲景的《伤寒论》,由附子、干姜、炙甘草 3 味药组成,临床主要用于属“真阳衰微,亡阳厥逆”的急危重症。处方仅三味药物,药专力宏为回阳救逆之代表方<sup>[1]</sup>。方中君药附子大辛大热,具有回阳救逆,补火助阳,散寒止痛之功效;干姜温中散寒,回阳通脉,燥湿消痰,在方中可助附子回阳之功效,为臣药;甘草具有补脾益气,清热解毒,缓急止痛,调和诸药的功效,为佐使药<sup>[2]</sup>。方中君药附子性刚烈迅捷,历代医家及本草著作皆言附子“有毒”、“有大毒”,用之不当,易出现严重的毒副作用<sup>[3-4]</sup>。本实验对于四逆汤进行拆方,从药效和毒性两个方面对于四逆汤处方配伍进行研究,为四逆汤复方配伍的合理性提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 药物** 干姜(产于四川,批号 10010606,购自北京人卫中药饮片厂),炙甘草(产于内蒙,批号 0905200,购自北京人卫中药饮片厂),附子(生片,产于四川,批号 0905058,购自四川新荷花中药饮片有限公司);盐酸阿霉素(批号 1110E1,深圳万乐药业有限公司),地高辛(批号 091104,上海信谊药厂有限公司生产),戊巴比妥钠(批号 WS20090920, Sigma 公司)。

实验药物制备:附子加 6 倍量水浸泡 45 min,水沸腾后第 1 次煎煮 30 min,第 2 次加 5 倍量水,沸腾后煎煮 30 min。4 层纱布过滤,合并 2 次煎液,将滤液水浴(70 ℃)浓缩至所需浓度,置冰箱冷藏保存备用。四逆汤(附子+甘草+干姜 5:2:3)、附子配伍炙甘草(附子:甘草 5:2)、附子配伍干姜(附子:干姜 5:3)配伍比例依据四逆汤,制备方法同附子。

**1.2 动物** ICR 小鼠,体重 19~20 g,由北京华阜康生物科技有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2009-0007;SD 大鼠,体重 180~220 g,由中国食品药品检定研究院提供,许可证号 SCXK(京)2009-0017。

**1.3 饲养条件** 实验动物屏障环境,许可证号 SYXK(京)2008-0004。温度 20~24 ℃,相对湿度为

40%~70%,人工光照,12 h 明暗周期。动物饲料为清洁级鼠饲料。

**1.4 仪器** MP150 型 16 道生理记录仪(美国 BIOPAC 公司);超声血流量计(美国 Transonic)。

## 2 方法<sup>[5-8]</sup>

**2.1 四逆汤不同组方配伍对小鼠急性毒性** ICR 小鼠,适应性喂养 3 d,小鼠禁食不禁水 16 h,动物称重,按体重随机分组。以高于附子全部死亡剂量和低于附子全部存活剂量为剂量范围,组间距 0.8 设置剂量组,每组 10 只。四逆汤全方、附子配伍甘草、附子配伍干姜剂量设置以附子生药量计,剂量设置同单用附子组。动物灌胃给药 1 次,给药均以生药量计,最大体积不超过 40 mL·kg<sup>-1</sup> 体重,给药后密切观察动物的毒性反应情况,记录动物死亡情况,采用 Bliss 方法计算半数致死剂量(LD<sub>50</sub>)。

**2.2 四逆汤组方不同配伍对心衰模型大鼠药效学实验** SD 大鼠,适应性喂养 5 d,动物称重,按照体重随机分组为:正常对照组、模型对照组、阳性对照组(地高辛)、四逆汤全方高、低剂量组、附子高、低剂量组、附子配伍甘草高、低剂量组、附子配伍干姜高、低剂量组,每组 8 只动物。除正常对照组外,其余各组动物尾静脉注射盐酸阿霉素注射液 4 mg·kg<sup>-1</sup>, (2 mL·kg<sup>-1</sup>),正常对照组注射等体积生理盐水,7 d 后再注射 1 次。造模当天开始灌胃给予相应药物,连续 14 d,给药体积为 10 mL·kg<sup>-1</sup>,正常对照组和心衰模型组灌胃等体积蒸馏水。末次给药后各组动物称重,用 1.0% 戊巴比妥钠溶液腹腔注射麻醉(5 mL·kg<sup>-1</sup>),动物仰面固定,切开颈部,钝性分离左侧颈总动脉,连接超声血流量计测定血流量;结扎颈总动脉远心端,从近心端插入 millar 导管进入左心室,测量心率(HR)、左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室内压力最大上升速率( $+ dp/dt_{max}$ )、左室内压力最大下降速率( $- dp/dt_{max}$ )。处死大鼠,立即取出心脏并称量,计算脏器指数。

心脏指数 = 全心湿重(g)/大鼠体重(g) × 100%

### 3 结果

**3.1 对小鼠急性毒性的影响** 动物给予附子后活动减少,静卧,出现呼吸困难,喘气,继而出现惊厥甚至死亡。部分动物给药后呕吐白沫,后逐渐呼吸停止至死亡。动物死亡多发生在给药 15 min 到 3 h。四逆汤组方、附子配伍甘草和附子配伍干姜组动物毒性表现与单用附子类似,但同单用附子比较,四逆汤全方、附子配伍甘草和附子配伍干姜可不同程度的提高附子的 LD<sub>50</sub>。见表 1。

**3.2 对心衰模型大鼠药效实验的影响**

**3.2.1 对心衰模型大鼠心室压力的影响** 同对照组比较心衰模型组动物, LVSP, LVEDP, + dp/dt<sub>max</sub> 显著降低 ( $P < 0.05$ )。LVEDP 具有下降趋势,

表 1 四逆汤附子组方不同配伍对附子急性毒性的影响

实验药物	LD <sub>50</sub> g 生药/kg	95% 可信区间 g 生药/kg
附子	19.5	17.9 ~ 21.2
附子 + 干姜(5:3)	21.8	19.8 ~ 24.0
附子 + 甘草(5:2)	25.9	23.9 ~ 28.1
四逆汤全方	24.1	23.1 ~ 26.9

- dp/dt<sub>min</sub> 具有上升趋势。同模型组比较阳性药物地高辛、附子、四逆汤全方、附子配伍干姜和附子配伍甘草各组大鼠 LVP 和 + dp/dt<sub>max</sub> 显著增加 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。对于 LVEDP 和 - dp/dt<sub>max</sub> 具有改善的趋势。见表 2。

表 2 四逆汤组方不同配伍对心衰模型大鼠心率及心室压力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/g/kg	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	+ dp/dt <sub>max</sub> /mmHg·s <sup>-1</sup>	- dp/dt <sub>max</sub> /mmHg·s <sup>-1</sup>
正常对照	-	137.12 ± 19.84	-0.16 ± 3.84	10 058 ± 4 185	-11 404 ± 4 849
心衰模型对照	-	77.18 ± 32.78 <sup>3)</sup>	-2.21 ± 3.78	5 943 ± 2 641 <sup>3)</sup>	-5 844 ± 3 047
地高辛	3.6 × 10 <sup>-5</sup>	124.30 ± 20.24 <sup>6)</sup>	-1.78 ± 2.42	10 976 ± 2 301 <sup>6)</sup>	-20 773 ± 31 412 <sup>4)</sup>
附子	0.42	94.23 ± 23.13	-2.08 ± 2.73	6 012 ± 3 414	-6 876 ± 5 286
	0.21	97.86 ± 24.69	-1.43 ± 2.48	7 489 ± 2 525	-6 099 ± 2 074
四逆汤全方	0.42	112.15 ± 16.37 <sup>5)</sup>	-2.87 ± 3.59	10 072 ± 2 203 <sup>5)</sup>	-10 415 ± 3 241 <sup>5)</sup>
	0.21	103.03 ± 21.08 <sup>4)</sup>	-4.06 ± 1.55	8 943 ± 2 186 <sup>4)</sup>	-8 940 ± 2 949 <sup>4)</sup>
附子 + 甘草	0.42	96.39 ± 31.22	-1.62 ± 4.34	7 160 ± 2 432	-7 822 ± 4 181
	0.21	97.89 ± 18.38	0.56 ± 4.07	7 326 ± 1 538	-7 794 ± 2 054
附子 + 干姜	0.42	114.63 ± 16.01 <sup>5)</sup>	-0.98 ± 4.30	9 250 ± 1 484 <sup>5)</sup>	-10 331 ± 3 775 <sup>4)</sup>
	0.21	94.58 ± 26.58	-1.64 ± 4.33	7 186 ± 1 649	-7 938 ± 3 265

注:与正常对照组比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ ;与模型组比<sup>4)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>6)</sup>  $P < 0.001$  (表 3)。

**3.2.2 对心衰模型大鼠心率和颈动脉血流量的影响** 同对照组比较心衰模型组动物心率和颈动脉血流量显著降低,两者均有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。同模型组比较阳性药物地高辛、附子、四逆汤全方、附子配伍干姜和附子配伍甘草各组大鼠心律和颈动脉血流量显著提高,两者均有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 3。

**3.2.3 对心衰模型大鼠心脏指数的影响** 同对照组体重(389 ± 49) g,心脏指数(0.29 ± 0.02)% 比较,模型动物体重(264 ± 10) g 显著降低,心脏指数(0.36 ± 0.06)% 显著升高,两者均有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。同模型组比较各给药组动物体重及心脏指数均无显著性差异。

表 3 四逆汤组方不同配伍对心衰模型大鼠血流及心率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	心率 /次/min	血流 /mL·min <sup>-1</sup>
正常对照	-	419.17 ± 30.14	7.88 ± 0.67
心衰模型对照	-	289.56 ± 29.89 <sup>3)</sup>	3.79 ± 1.20 <sup>3)</sup>
地高辛	3.6 × 10 <sup>-5</sup>	375.78 ± 60.74 <sup>5)</sup>	5.36 ± 1.23 <sup>4)</sup>
附子	0.42	355.89 ± 57.57 <sup>5)</sup>	4.92 ± 1.15
	0.21	352.70 ± 46.14 <sup>4)</sup>	4.52 ± 0.97
四逆汤全方	0.42	377.77 ± 56.26 <sup>5)</sup>	5.97 ± 0.90 <sup>5)</sup>
	0.21	373.99 ± 38.07 <sup>5)</sup>	5.69 ± 1.42 <sup>5)</sup>
附子 + 甘草	0.42	340.64 ± 64.52 <sup>4)</sup>	5.36 ± 1.18 <sup>4)</sup>
	0.21	352.48 ± 30.67 <sup>4)</sup>	4.35 ± 1.03
附子 + 干姜	0.42	358.22 ± 37.47 <sup>5)</sup>	5.86 ± 1.77 <sup>5)</sup>
	0.21	369.15 ± 69.95 <sup>5)</sup>	5.26 ± 1.27 <sup>4)</sup>

### 4 讨论

四逆汤是回阳救逆的代表方剂,现代药理研究表明,四逆汤具有强心升压作用,对于心肌、胃肠黏

膜和心血管系统具有保护作用<sup>[9]</sup>。对冠心病、心绞痛、动脉硬化、脑梗死等有良好的治疗效果<sup>[10-12]</sup>,近年来以四逆汤为基础方在临床上被大量应用。作为回阳救逆的经典方剂其处方配伍已有文献报道<sup>[13]</sup>,但对四逆汤配伍研究多关注于处方配伍后的药效学作用,从毒理学角度对四逆汤处方配伍研究较少。四逆汤处方中君药附子为有毒中药,主要毒性表现为神经系统反应,使神经先兴奋、后抑制,并直接作用于心脏,产生异常兴奋,可致心率失常,因服用附子和含有附子处方而导致临床不良反应有大量的文献报道<sup>[14-15]</sup>。因而我们对于四逆汤处方配伍从药效学和毒理学两个方面进行研究,不仅观察了处方配伍对药效的影响而且关注了处方配伍后毒性的影响。另外,在实验中除了关注四逆汤组方配伍的药效和毒性外,重点关注了处方中另外两味药物甘草和干姜单独同附子配伍后对于君药附子的毒性和药效的影响,从而阐释四逆汤处方配伍的科学内涵,为四逆汤处方配伍合理性提供依据。

四逆汤处方不同配伍急性毒性研究结果显示,同单用附子比较,四逆汤全方、附子配伍甘草和附子配伍干姜均可不同程度的提高附子的半数致死剂量,具有一定的解毒作用。就处方中甘草和干姜而言,附子配伍甘草的减毒作用要优于附子配伍干姜,其  $LD_{50}$  和四逆汤全方接近,而附子配伍干姜对于附子毒性影响较小。研究结果提示,四逆汤处方配伍中配伍甘草能够降低附子毒性,这与文献报道一致<sup>[16]</sup>。其原因可能是甘草配伍附子合煎液能够降低附子毒性成分的煎出<sup>[17]</sup>。相对于甘草,干姜对于附子毒性影响非常有限。

四逆汤处方不同配伍的药效试验观察了四逆汤不同配伍对于阿霉素导致的大鼠心衰模型的影响,结果显示,四逆汤全方、附子配伍甘草、附子配伍干姜和单用附子药效作用相似,均是通过增加心率、提高 LVP、增加  $+dp/dt_{max}$ , 提高血液输出量起到治疗作用。同单用附子比较附子配伍干姜能够提高 LVP 和增加  $+dp/dt_{max}$ , 而附子配伍甘草 LVP 和  $+dp/dt_{max}$  与单用附子接近。LVP 和  $+dp/dt_{max}$  是反应心脏功能的主要指标,就药效学而言,四逆汤处方配伍干姜对于附子增效起到了主要作用。四逆汤全方配伍在提高心率、促进颈总动脉血流、提高 LVP、增加  $+dp/dt_{max}$ 、降低  $-dp/dt_{max}$  方面要优于附子干姜和附子甘草配伍,体现出配伍的合理性,也充分体现出中药复方配伍的复杂性。以上研究结果说明,四逆汤在处方配伍中充分考虑处方的有效性和安全性,

配伍干姜是在促进附子的药效作用起到主要作用,而配伍甘草在降低处方的毒性方面起到主要作用。正如《证治要诀》云:“附子无干姜不热,得甘草则性缓”。

#### [参考文献]

- [1] 曹瑞竹,祝捷. 四逆汤配伍规律的实验研究[J]. 河南中医, 2009, 29(9): 920.
- [2] 王晓林. 中药方剂“四逆汤”分析[J]. 中医中药, 2010, 6, 7(16): 104.
- [3] 陈学习,彭成. 附子毒性控制的多因素探析[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(4): 343.
- [4] 刘玉,唐雪春. 附子应用安全性的研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(5): 56.
- [5] 杨辉,吴伟康. 四逆汤对大鼠心力衰竭血流动力学的影响及其部分机制探讨[J]. 中国热带医学, 2006, 3(15): 182.
- [6] 成忠煌,胡雪峰,彭敏,等. 阿霉素诱导大鼠慢性心力衰竭模型给药剂量和频率的优化[J]. 湖北中医杂志, 2011, 33(4): 9.
- [7] 高传玉,雷健,罗兵,等. 实验性心力衰竭大鼠模型的建立及评价[J]. 中国老年学杂志, 2007, 27(18): 1760.
- [8] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版,北京:人民卫生出版社, 2005: 1170.
- [9] 刘颖,吴伟康,陈晨,等. 四逆汤预防性给药抗心肌细胞凋亡的作用机制探讨[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(15): 1269.
- [10] 窦有业,杜蓉. 四逆汤的临床应用与实验研究进展[J]. 医药导报, 2008, 27(1): 74.
- [11] 闫旭. 四逆汤研究现状与展望[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(12): 70.
- [12] 朱晓俊. 四逆汤合生脉散治疗患慢性心律失常 37 例[J]. 浙江中医杂志, 2008, 43(1): 6.
- [13] 吕英. 四逆汤防治疾病的理论与临床研究[J]. 中药与临床, 2010, 1(4): 40.
- [14] 杨世雷. 附子的毒性及应用[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(3): 76.
- [15] 张宽民,任文生,王彩玲. 附子中毒 38 例临床分析[J]. 内科急危重症杂志, 2005, 11(4): 187.
- [16] 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, 20(2): 248.
- [17] 徐珊珊,陈长勋,高建平. 甘草与附子配伍减毒的有效成分及作用环节研究[J]. 中成药, 2006, 28(4): 526.

[责任编辑 聂淑琴]