海藻玉壶汤中海藻-甘草反药组合加减应用的急性毒性实验研究

刘云翔，柳海艳，钟赣生*，李怡文，张燕，欧丽娜，刘明，赵桐
（北京中医药大学基础医学院，北京 100029）

［摘要］ **目的：**比较海藻玉壶汤（生甘草）组、海藻玉壶汤（炙甘草）组、去海藻（生甘草）组、去海藻（炙甘草）组、去甘草组、去海藻甘草组的小鼠急性毒性，评价海藻-甘草反药组合在复方中应用的毒性。**方法：**灌胃给与不同配伍组合不同剂量的海藻玉壶汤，计算出 LD_{50}，不符合 LD_{50}评价条件的组别，采用连续给药 28 d，即累计半数致死量的方法来进行毒性评价；眼球采血，通过检测小鼠血清肝、肾功能相关指标评价其对小鼠肝、肾系统的影响。**结果：**各给药组均未得出 LD_{50}，海藻玉壶汤（生甘草）组 $LD_{50(16)}$ 为 71.08 $g·kg^{-1}$，药物剂量 21 $g·kg^{-1}$；海藻玉壶汤（炙甘草）组 $LD_{50(3)}$ 为 68.28 $g·kg^{-1}$，剂量 21 $g·kg^{-1}$；去甘草组 $LD_{50(12)}$ 为 55.78 $g·kg^{-1}$，剂量 20 $g·kg^{-1}$；去海藻（生甘草）组 $LD_{50(22)}$ 为 72.27 $g·kg^{-1}$，剂量 21 $g·kg^{-1}$；去海藻甘草组 $LD_{50(21)}$ 为 79.62 $g·kg^{-1}$，剂量 18.1 $g·kg^{-1}$；去海藻（炙甘草）组小鼠连续给药 28 d 仍未达到半数致死量，最大耐受量为生药 80 $g·kg^{-1}$，药物剂量 20 $g·kg^{-1}$；给药各组对小鼠的肝、肾脏功能均未见明显影响。**结论：**给药各组 $LD_{50(n)}$ 均属无毒的范畴，且对小鼠的肝、肾脏功能指标未见明显影响。

［关键词］ 海藻；甘草；反药组合；海藻玉壶汤；急性毒性试验
［中图分类号］ R285.5 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2013)22-0240-06
［doi］ 10.11653/syfj2013220240

Study of Acute Toxicity Test of Imcompatible Pair of Sargassum and Radix Glycyrrhizae in Haizao Yuhu Decoction

LIU Yun-xiang, *LIU Hai-yan*, *ZHONG Gan-sheng* *, *LI Yi-wen*, *ZHANG Yan*, *OU Li-na*, *LIU Ming*, *ZHAO Tong*
(*College of Preclinical Medicine*, *Beijing University of Chinese Medicine*, *Beijing* 100029, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To evaluate the toxicity of imcompatible pair of Sargassum and Radix Glycyrrhizae in mice by comparing the acute toxicity of different Haizao Yuhu decoction groups. **Method**: The mice was given different combination and compatibility of Haizao Yuhu decoction with different doses by intragastric administration, and calculated the LD_{50}. If the group didn't meet the LD_{50} evaluation criteria we would give the drug by continuous intragastic administration for 28 days, ie, we would evaluate the toxity by caculating cumulative median lethal dose. The blood of mice was collected by picking bulb of eye. Detected relevant indicators of liver and kidney function in mice serum to evaluate their influence on liver and kidney. **Result**: The $LD_{50(n)}$ of the Haizao Yuhu decoction (Radix Glycyrrhizae) is 71.08 $g·kg^{-1}$, the $LD_{50(n)}$ of the Haizao Yuhu decoction (the prepared Radix Glycyrrhizae) is 68.28 $g·kg^{-1}$, the $LD_{50(n)}$ of the Haizao Yuhu decoction removed Radix Glycyrrhizae is 55.78 $g·kg^{-1}$, the $LD_{50(n)}$ of the Haizao Yuhu decoction removed Sargassum (Radix Glycyrrhizae) is 72.27 $g·kg^{-1}$, the $LD_{50(n)}$ of the Haizao Yuhu decoction removed Sargassum and Radix Glycyrrhizae is 79.62 $g·kg^{-1}$. The Haizao Yuhu decoction removed Sargassum (the prepared Radix Glycyrrhizae) still didn't reach median lethal dose after

［收稿日期］ 20130502(015)
［基金项目］ 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2011CB505300, 2011CB505306)
［第一作者］ 刘云翔，在读硕士，从事"十八反"配伍禁忌基础理论研究，Tel：010-64287006，E-mail：yunxiang0818@yahoo.cn
［通讯作者］ * 钟赣生，硕士，教授，从事中药配伍禁忌本质的研究，Tel：010-64287006，E-mail：zhonggansheng@sohu.com

continuous administration for 28 days, the maximum tolerated dose of this group is 80 g · kg^{-1}; each experimental groups were not showed a significant impact on the liver and kidney functions in mice. **Conclusion**: The $LD_{50(n)}$ of each experimental group belongs to non-toxic category, and each group has no significant impact on the liver and kidney system in mice.

[**Key words**] Sargassum; Radix Glycyrrhizae; imcompatible pair; Haizao Yuhu decoction; acute toxicity

海藻配甘草属于中药“十八反”配伍禁忌范畴,由于二者的相反特性,不宜在方中同用,因此在临床应用中,许多医家为慎重起见避免两药在复方中同用。然就查阅的文献来看,自古至今,不乏二者配伍应用的记载。金·李东垣《兰室秘藏》之“散肿溃坚汤”、明·王肯堂《证治准绳》治瘿瘤之“昆布散”,皆以海藻甘草同用。为丰富中药配伍禁忌理论,探求海藻与甘草能否配伍使用,本实验在前期研究的基础上[1],继续以海藻玉壶汤为载体,探究海藻甘草在复方中的应用,以期通过海藻甘草单味药、反药组合配伍以及二者应用在复方中的毒性大小,对海藻甘草配伍是否具有毒性进行评价。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,SPF 级,体重 18 ~ 22 g,雌雄各半。由斯贝福(北京)实验动物技术有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2011-0004。

1.2 药物 生甘草:宁夏灵武产,批号 100710,经南京中医药大学段金廒教授鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 干燥根和根茎,由灵武市美康甘草基地有限责任公司提供。海藻:山东烟台产,批号(皖)Y20050202,经段金廒教授鉴定为马尾藻科植物海蒿子 *Sargassum pallidum* (Turn.) C. (Aq.)的干燥藻体,由安徽丰原铜陵中药饮片有限公司提供。贝母:浙江潘安产,为百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎;海带:山东青岛产。经北京中医药大学基础医学院实验师李伟鉴定为该科属合格的中药饮片。炙甘草:新疆产,批号 120201,为豆科植物甘草 *G. uralensis* Fisch. 干燥根和根茎,切片,蜜炙;法半夏:贵州长顺产,批号 100701,为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb) Breit. 的块茎,经甘草和石灰炮制的炮制品;以上 2 种药材由安徽丰原铜陵中药饮片有限公司提供。连翘:山西产,批号 1104047,为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实;川芎:四川产,批号 1101017,为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎;独活:四川产,批号 1012001,为伞形科植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. *f. biserrata* Shan et Yuan 的干燥根;昆布:沿海产,批号 1104062,为翅藻科植物昆布 *Ecklonia kurome* Okam. 的叶状体;醋青皮:四川产,批号 1102015,为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥幼果或未成熟果实的果皮;陈皮:四川产,批号 1104063,橘 *Citrus reticulata Blanco* 及其栽培变种的成熟干燥果皮;当归(甘肃产,批号 1012052,为伞形科植物当归 *Aaugellica sinensis*(Oliv) Diels. 的根。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实验师李伟鉴定均为该科属合格的中药饮片。

1.3 试剂 门冬氨酸氨基转移酶(AST, 批号 110241I)、丙氨酸氨基转移酶(ALT, 批号 110121I)、碱性磷酸酶(ALP, 批号 111102J)、肌酐试剂盒(Cr, 批号 208072G)、尿素氮试剂盒(BUN, 批号 208202H),均由北京利德曼生化股份有限公司提供。

1.4 仪器 CX4 PRO 型全自动生化分析仪[贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司]。

2 方法

2.1 药物制备

2.1.1 海藻玉壶汤(生甘草)组煎液的制备 简称汤(生甘草)组。用天平称取海带 87 g,海藻、贝母、青皮、陈皮、连翘、昆布、独活、生甘草、川芎、当归、半夏各 175 g,加水煎煮,合并 2 次滤液,加热浓缩,至 950 mL,含生药 2.1 g·mL^{-1}。

2.1.2 海藻玉壶汤(炙甘草)组煎液的制备 简称汤(炙甘草)组。用天平称取海带 87 g,其余 11 种药材各 175 g,煎煮方法同 **2.1.1**,得浓缩液 950 mL,含生药 2.1 g·mL^{-1}。

2.1.3 海藻玉壶汤去海藻(生甘草)组煎液的制备 以下简称去海藻(生甘草)组。用天平称取海带 95 g,其余 10 种药材各 190 g,煎煮方法同 **2.1.1**,得到浓缩液 950 mL,含生药 2.1 g·mL^{-1}。

2.1.4 海藻玉壶汤去海藻(炙甘草)组煎液的制备 简称去海藻炙甘草组。用天平称取海带 95 g,

其余 10 种药材各 190 g,煎煮方法同 **2.1.1**,得浓缩液 1 000 mL,含生药 2.0 $g \cdot mL^{-1}$。

2.1.5 海藻玉壶汤去甘草组煎液的制备 简称去甘草组。用天平称海带 95 g,其余 10 种药材各 190 g,煎煮方法同 **2.1.1**,得浓缩液 1 000 mL,含生药 2.0 $g \cdot mL^{-1}$,药物剂量 20 $g \cdot kg^{-1}$。

2.1.6 海藻玉壶汤去甘草、海藻组煎液的制备 简称去海藻甘草组。用天平称海带 105 g,其余 9 种药材各 210 g,煎煮方法同 **2.1.1**,得浓缩液 1 100 mL,含生药 1.81 $g \cdot mL^{-1}$。

2.2 毒性实验

2.2.1 预实验 小鼠 70 只,雌雄各半,适应性喂养 3 d 后,随机分组为:空白组、汤(生甘草)组、汤(炙甘草)组、去海藻(生甘草)组、去海藻(炙甘草)组、去甘草组、去海藻甘草组。参照急性毒性试验方法,对以上分组小鼠进行预实验,每组 10 只。预实验前动物禁食 8 h,以 40 $mL \cdot kg^{-1}$),连续灌胃,3 次/d,每隔 8 h 1 次,连续观察 7 d,记录小鼠的行为、活动、摄食量、体重、粪便、中毒反应等;记录小鼠死亡情况,若给药小鼠死亡率 > 80%,则进行 LD_{50} 实验;若小鼠死亡率 > 0, < 80%,则进行小鼠 $LD_{50(n)}$ 实验。

2.2.2 正式实验 预实验结果显示,各给药组小鼠死亡率均 < 80%,故再进行小鼠 $LD_{50(n)}$ 实验。根据预实验分组,除空白组外,其他各给药组均以一定质量浓度的药物为起点,以 1∶0.85 的比例稀释为 5 个剂量组,共计 31 组,每组 14 只小鼠,雌雄各半,共计 434 只。灌胃给药,给药容积 40 $mL \cdot kg^{-1}$,每天固定时间点(上午 8 ~ 9 时)给药 1 次,连续给药 28 d。给药期间观察实验动物死亡情况,记录受试组小鼠累计发生1/2死亡量的天数,求出 $LD_{50(n)}$。逐日观察动物饮食、毛发、分泌物、排泄物等中毒反应(中毒反应的症状、严重程度、起始时间、持续时间、是否可逆)等。每隔 7 d 称体重 1 次。小鼠禁食 12 h 后,于第 29 日上午摘眼球采血,3 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 15 min,取血清,置于 EP 管中待测生化指标。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 17 软件进行数据处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,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,$P < 0.05$ 为有统计意义。采用 bliss 法计算 $LD_{50(n)}$[2]。

3 结果

3.1 小鼠中毒症状 除空白组外,其余各组小鼠灌胃后均出现活动减少,呼吸急促等现象,尤以高剂量组表现明显。连续灌胃 7 d 后,死亡小鼠或出现腹部胀大,解剖发现小鼠腹部呈黑色,系由药液阻塞肠道所引起。去甘草组、汤(生甘草)组以及汤(炙甘草)组的高剂量组小鼠死亡前 1 ~ 2 d 出现行动迟缓,对外界刺激无反抗,体温明显下降等现象。未死亡小鼠毛发粗糙、无光泽、部分出现腹泻,肛门污秽,排尿颜色较深等情况。

3.2 小鼠体重变化 给药前,各组小鼠与空白组小鼠体重无显著差异。给药 7 d,汤(生甘草)2,5 组,汤(炙甘草)1,2,5 组,去甘草 1,4 组,去海藻生甘草 1 组,(去海藻)炙甘草 2,5 组,(去海藻)甘草 1,3 组比空白组体重有显著下降($P < 0.05$);组内比较发现,去甘草组 1 比 2,3,4,5 组,去海藻(生甘草)1 比 3 组体重下降明显($P < 0.05$)。给药 14 d,汤(生甘草)1,3,4,5 组,汤(炙甘草)1,5 组,去甘草 2 组,去海藻生甘草 1,2 组,去海藻炙甘草 2,3,5 组,去海藻甘草 1,3 组与空白组体重有显著差异($P < 0.05$);组内比较发现,去海藻(生甘草)1 与 3,4,5 组,去海藻(炙甘草)1 与 2 组之间体重有显著差异($P < 0.05$)。给药后 21 d,各剂量组与空白组比较体重均明显降低($P < 0.05$)。组内比较发现,去甘草 2 高于 4,5 组、去海藻(生甘草)1 高于 5 组、去海藻(炙甘草)1 高于 3 组($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 小鼠死亡情况 汤(生甘草)组、汤(炙甘草)组、去甘草组、去海藻(生甘草)组、去海藻甘草组分别在给药后第 16,3,12,22,21 天单组死亡数量达到半数。给药 28 d 后汤(生甘草)1 ~ 5 组剩余小鼠数量分别为 3,7,10,12,12 只;汤(炙甘草)1 ~ 5 组剩余小鼠数量分别为 4,4,10,11,12 只;去甘草 1 ~ 5 组剩余小鼠数量分别为 1,3,4,9,10 只;去海藻(生甘草)1 ~ 5 组剩余小鼠数量分别为 4,7,9,12,10 只;去海藻(炙甘草)1 ~ 5 组剩余小鼠数量分别为 8,9,10,12,12 只;去海藻甘草 1 ~ 5 组剩余小鼠数量分别为 6,13,11,12,13 只。

3.4 $LD_{50(n)}$ 的测定 除汤(炙甘草)去海藻组外,其余各组小鼠连续给药 28 d,死亡数量均达到半数致死量,故计算 $LD_{50(n)}$。去海藻(炙甘草)组小鼠以最大给药量作为最大耐受量,为生药 80 $g \cdot kg^{-1}$。见表 2。

3.5 给药各组对小鼠肝、肾系统毒性

3.5.1 对肝脏的毒性 与空白组相比,给药各组 ALT 均明显降低($P < 0.05$)。组内比较,汤(炙甘草)1 组 AST 低于 2 组,汤(去甘草)1 组 AST 低于 3 组($P < 0.05$)。与空白组比,汤(生甘草)2,5 组,汤(炙甘草)1,3,4,5 组,汤(去甘草)2,5 组,去海藻

表 1　海藻玉壶汤中不同药物组合对小鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg^{-1}	n	D1/g	n	D7/g	n	D14/g	n	D21/g
空白	0	14	21.25 ± 1.41	14	27.65 ± 2.79	14	29.03 ± 3.62	14	33.42 ± 5.21
汤(生甘草)1	80	14	21.52 ± 1.33	12	26.15 ± 2.80	9	26.24 ± 3.11[1)]	2	24.75 ± 0.35[2)]
汤(生甘草)2	68	14	21.74 ± 1.69	12	25.47 ± 3.01[1)]	9	26.85 ± 2.44	7	25.91 ± 4.21[2)]
汤(生甘草)3	57.8	14	22.05 ± 1.51	13	27.10 ± 1.83	12	25.57 ± 1.44[1)]	12	25.56 ± 3.17[2)]
汤(生甘草)4	49.13	14	22.20 ± 1.33	14	26.27 ± 2.81	13	26.13 ± 3.34[1)]	12	25.20 ± 3.72[2)]
汤(生甘草)5	41.76	14	21.12 ± 1.39	14	24.74 ± 2.74[2)]	14	24.40 ± 2.39[2)]	13	25.49 ± 3.74[2)]
汤(炙甘草)1	80	14	21.42 ± 0.98	4	24.27 ± 2.97[1)]	4	25.47 ± 4.12[1)]	4	25.77 ± 4.44[2)]
汤(炙甘草)2	68	14	21.70 ± 1.57	9	24.46 ± 3.43[2)]	6	26.73 ± 1.88	6	28.70 ± 2.94[2)]
汤(炙甘草)3	57.8	14	21.34 ± 1.52	11	26.11 ± 3.10	11	26.74 ± 3.57	11	26.40 ± 2.49[2)]
汤(炙甘草)4	49.13	14	21.45 ± 1.33	14	25.85 ± 1.88	13	27.38 ± 2.99	11	27.01 ± 3.65[2)]
汤(炙甘草)5	41.76	14	21.46 ± 1.17	12	23.57 ± 3.23[2)]	12	24.67 ± 3.36[2)]	12	26.80 ± 2.73[2)]
去甘草 1	80	14	21.96 ± 0.97	10	23.55 ± 1.02[3)]	2	25.65 ± 0.91	1	32.1
去甘草 2	68	14	22.20 ± 1.47	12	26.69 ± 1.88	8	25.37 ± 2.02[1)]	4	29.02 ± 2.06[2,3)]
去甘草 3	57.8	14	21.95 ± 1.06	14	26.80 ± 1.93	12	26.82 ± 3.29	6	26.46 ± 2.71[2)]
去甘草 4	49.13	12	21.21 ± 2.68	12	24.58 ± 1.66[2)]	12	27.13 ± 0.83	10	23.67 ± 2.63[2)]
去甘草 5	41.76	14	22.15 ± 1.31	13	25.91 ± 2.15	13	27.48 ± 3.24	10	24.33 ± 2.62[2)]
(去海藻)生甘草 1	80	14	20.94 ± 1.22	13	24.50 ± 2.92[2,3)]	13	23.45 ± 2.92[2,3)]	12	23.74 ± 2.86[2,3)]
(去海藻)生甘草 2	68	14	21.15 ± 0.58	14	26.12 ± 3.25	13	25.46 ± 3.23[2)]	9	25.43 ± 2.66[2)]
(去海藻)生甘草 3	57.8	14	21.05 ± 1.46	13	26.90 ± 2.18	13	27.38 ± 3.20	13	25.89 ± 3.68[2)]
(去海藻)生甘草 4	49.13	14	21.87 ± 1.15	14	26.25 ± 3.21	13	26.88 ± 2.57	12	25.22 ± 2.99[2)]
(去海藻)生甘草 5	41.76	12	21.29 ± 1.00	12	26.10 ± 3.07	14	27.00 ± 3.84	14	26.71 ± 3.80[2)]
(去海藻)炙甘草 1	80	14	22.03 ± 1.20	13	25.75 ± 3.05	11	27.04 ± 3.59	11	26.44 ± 3.78[2,3)]
(去海藻)炙甘草 2	68	14	21.88 ± 1.07	12	25.45 ± 2.35[1,3)]	12	24.25 ± 3.58[2)]	11	25.92 ± 4.25[2)]
(去海藻)炙甘草 3	57.8	14	21.62 ± 0.72	14	25.82 ± 1.89	13	25.30 ± 3.37[2)]	13	24.78 ± 3.89[2)]
(去海藻)炙甘草 4	49.13	14	21.50 ± 1.58	14	27.40 ± 2.90	12	28.80 ± 3.73	12	27.15 ± 3.14[2)]
(去海藻)炙甘草 5	41.76	14	21.17 ± 1.39	14	24.44 ± 2.27[2)]	13	25.86 ± 2.62[1)]	12	23.74 ± 4.27[2)]
去海藻甘草 1	80	13	21.86 ± 1.48	11	25.19 ± 2.42[1)]	9	26.25 ± 3.77[1)]	7	24.55 ± 3.07[2)]
去海藻甘草 2	68	14	21.88 ± 0.98	14	26.55 ± 2.33	13	26.93 ± 3.34	13	25.06 ± 3.01[2)]
去海藻甘草 3	57.8	14	21.65 ± 1.31	12	25.60 ± 2.79[1)]	10	25.75 ± 3.50[1)]	10	28.20 ± 4.31[2)]
去海藻甘草 4	49.13	14	20.86 ± 1.61	13	26.59 ± 3.05	13	26.88 ± 3.19	7	24.81 ± 3.12[2)]
去海藻甘草 5	41.76	14	21.27 ± 1.31	13	26.00 ± 2.39	13	27.05 ± 2.83	13	24.79 ± 3.57[2)]

注：与空白组比较[1)] $P<0.05$，[2)] $P<0.01$；与组内其他剂量比较[3)] $P<0.05$(表 3 同)。

表 2　给药各组小鼠 $LD_{50(n)}$

组别	LD_{50}(n) /d	LD_{50}(n)剂量 /g·kg^{-1}	95%可信区间 下限	95%可信区间 上限
壶汤(生甘草)	LD_{50}(16)	71.08	64.01	85.20
壶汤(炙甘草)	LD_{50}(3)	68.28	61.26	79.87
去甘草	LD_{50}(12)	55.78	46.97	61.99
去海藻(生甘草)	LD_{50}(22)	72.27	61.17	130.02
去海藻甘草	LD_{50}(21)	79.62	65.04	253.55

(生甘草)2,3,4 组，去海藻(炙甘草)1,2,3,5 组，去海藻甘草 1,2,3 组 AST 均明显降低($P<0.05$)。组内比较汤(炙甘草)1 组 AST 高于与 4 组($P<0.05$)。与空白组比，去海藻(炙甘草)2 组和去海藻甘草 2 组 ALP 明显升高($P<0.05$)。见表 3。

3.5.2　对肾脏系统的毒性　与空白组相比，汤(生甘草)5 组，汤(去甘草)3 组，去海藻(生甘草)3,4 组，去海藻甘草 3 组 Cr 明显降低($P<0.05$)。与空

白组相比,除汤(炙甘草)组 1,2 组,去海藻(炙甘草)2,4 组,去海藻甘草 1 组外,其余各剂量组 BUN 明显降低($P<0.05$)。组内比较,汤(生甘草)1 组与 3,4,5 组,汤(去甘草)1 组与 3,4,5 组,去海藻(炙甘草)1 组与 3 组 BUN 有显著差异($P<0.05$)。见表 3。

表 3 海藻玉壶汤中不同药理组合对小鼠肝脏、肾脏功能的影响($\bar{x}\pm s$)

分组	n	ALT/U·L^{-1}	AST/U·L^{-1}	ALP/U·L^{-1}	Cr/μmol·L^{-1}	BUN/mmol·L^{-1}
空白	14	86.36±11.44	134.10±24.35	115.71±26.98	54.52±22.67	6.97±0.83
汤(生甘草)1	1	73	149	79	41.65	4.46[3)]
汤(生甘草)2	5	67.40±11.23[1)]	116.20±16.02	103.80±46.92	30.40±13.90	5.81±0.57[1)]
汤(生甘草)3	8	69.63±8.95[1)]	98.50±9.35[1)]	129.38±50.49	31.03±6.84	5.71±0.93[1)]
汤(生甘草)4	9	68.25±14.27[1)]	115.22±24.07	140.44±49.79	35.27±12.38	5.44±0.54[1)]
汤(生甘草)5	10	58.30±10.12[1)]	100.90±20.70[1)]	120.00±28.58	18.95±10.91[1)]	5.97±0.72[1)]
汤(炙甘草)1	4	57.75±5.85[1)]	101.75±23.93[1,3)]	101.00±37.48	31.06±19.65	6.78±0.66
汤(炙甘草)2	3	55.50±2.12[1)]	124.00±49.49	119.50±14.84	22.45±23.04	5.98±0.43
汤(炙甘草)3	5	53.00±5.88[1)]	95.80±18.14[1)]	114.20±31.61	19.74±13.95	5.6±0.36[1)]
汤(炙甘草)4	5	52.40±6.02[1)]	87.00±11.48[1)]	146.00±21.85	35.54±7.93	6.07±0.42[1)]
汤(炙甘草)5	8	56.63±7.50[1)]	104.00±9.71[1)]	107.50±21.23	29.44±11.58	5.99±0.62[1)]
汤(去甘草)1	1	60	92	122	24.32	6.06[3)]
汤(去甘草)2	4	55.75±3.09[1)]	98.75±15.32[1)]	115.50±23.89	26.19±16.25	5.83±0.63[1)]
汤(去甘草)3	3	63.33±12.42[1)]	110.67±32.74	90.67±51.08	19.53±2.45[1)]	5.70±0.61[1)]
汤(去甘草)4	9	62.67±8.87[1)]	126.17±26.20	102.67±25.51	31.79±13.85	5.42±0.75[1)]
汤(去甘草)5	6	65.83±14.87[1)]	100.80±12.39[1)]	117.50±39.24	25.84±3.03	5.60±0.52[1)]
去海藻(生甘草)1	5	65.20±7.69[1)]	119.00±42.76	126.00±34.03	26.24±16.58	5.03±0.56[1)]
去海藻(生甘草)2	7	59.29±10.81[1)]	98.86±23.57[1)]	107.43±30.81	27.56±13.35	5.30±0.69[1)]
去海藻(生甘草)3	9	67.13±14.01[1)]	113.20±23.05[1)]	116.30±32.66	20.30±7.03[1)]	6.19±0.63[1)]
去海藻(生甘草)4	12	62.56±5.12[1)]	111.20±14.79[1)]	105.00±21.63	18.82±9.28[1)]	6.48±0.44
去海藻(生甘草)5	12	65.67±19.71[1)]	114.8±48.33	94.20±37.28	19.92±12.16	5.91±0.78[1)]
去海藻(炙甘草)1	8	59.00±8.28[1)]	87.88±42.14[1)]	115.25±34.04	29.10±5.49	5.97±0.79[1)]
去海藻(炙甘草)2	9	63.63±11.25[1)]	105.00±23.91[1)]	155.63±24.16[1)]	24.97±8.92	6.59±0.92
去海藻(炙甘草)3	10	61.60±10.99[1)]	104.90±28.262[1)]	111.80±41.98	30.42±17.31	5.26±0.96[1)]
去海藻(炙甘草)4	12	61.25±2.81[1)]	133.33±28.32	126.00±39.09	25.18±9.88	5.92±0.432[1)]
去海藻(炙甘草)5	12	61.90±9.89[1)]	97.80±10.74[1)]	112.13±18.04	25.40±8.78	5.42±0.88[1)]
去海藻甘草 1	6	63.17±10.22[1)]	107.50±21.99[1)]	113.67±49.58	23.09±12.76	6.64±0.47
去海藻甘草 2	13	61.90±12.01[1)]	92.30±13.013[1)]	158.00±47.88[1)]	29.99±20.65	5.98±0.82[1)]
去海藻甘草 3	11	61.60±9.59[1)]	108.20±24.47[1)]	121.10±29.54	20.78±8.14[1)]	5.88±0.435[1)]
去海藻甘草 4	4	58.50±7.18[1)]	120.50±14.27	125.75±28.18	38.03±34.27	5.67±0.95[1)]
去海藻甘草 5	8	60.50±6.02[1)]	114.38±23.16	99.13±27.84	27.12±16.38	5.50±0.18[1)]

4 讨论

海藻,其性咸寒,功能消痰软坚、利水消肿;甘草,性平味甘,具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛,调和诸药之效[3],二者配伍应用属于中医“十八反”的范畴。海藻玉壶汤作为治疗瘿瘤瘰疬之古代名方一直被沿用至今,医家在遵循原方药物配伍原则的基础上,辨证论治,将其广泛运用于临床各科,在治疗疾病中发挥了重要作用且疗效甚佳[4]。如今海藻玉壶汤不仅用于治疗甲状腺瘤、单纯性甲状腺肿大以及甲状腺囊肿等疾病的早期增生阶段,还用于乳腺增生、乳腺炎、子宫肌瘤、胸水、胸膜炎等多种疾病[6]。

通过探讨中药“十八反”配伍的致毒或增毒机制[7-8],甘草单用能明显诱导 CYP2E1 酶活性,与海藻合用对 CYP2E1 酶活性的诱导作用明显减弱[9]。那么,海藻与甘草在复方中同用是否会产生毒性?单味海藻或单味甘草在复方中使用是否也会产生毒性?去除海藻甘草这对反药组合,方中毒性是否消失?结合实验结果进行了以下分析。

在前期的急性毒性实验研究中,作者比较了海藻甘草单味药、反药组合及含反药组合复方的急性毒性观察与评价,结果显示,实验各组 $LD_{50(n)}$ 大小依次为: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[1]。由于研究反药能否同用的现实目的是为了指导临床应用,指导医生安全合理使用药物来治疗疾病,所以现今科学研究还需考虑到反药在复方中同用这一重要方面。因此,作者在前期研究的基础上,加减甘草海藻反药组合,进行了后续的实验研究。

本次实验通过 Bliss 法计算出的累计半数死亡的结果显示,给药各组 $LD_{50(n)}$ 大小依次为:去海藻甘草组 > 去海藻(生甘草)组 > 汤(生甘草)组 > 汤(炙甘草)组 > 去甘草组。由此可以看出,海藻甘草这一反药组合会对全方中的 $LD_{50(n)}$ 产生一定影响,当海藻单独与方中的其他药物配伍时,$LD_{50(n)}$ 最小,甘草的加入使全方 $LD_{50(n)}$ 有升高的趋势,其中生甘草作用优于炙甘草,故推测复方中所含的甘草可能发挥了调和药性的作用。而海藻甘草二者同时去除后,$LD_{50(n)}$ 明显高于二者配伍或其中一者存在于方中,说明海藻玉壶汤中加减海藻、甘草会影响到 $LD_{50(n)}$。

在肝细胞损害、坏死、甚至细胞变性时,细胞膜通透性增加的情况下都会导致肝细胞内的 ALT 和 AST 进入细胞间质液和血液循环,ALT,AST 作为肝细胞内酶,在氨基酸的合成与分解代谢中起重要作用[10],当肝组织受到损伤或各种原因导致细胞膜通透性增加时,ALT 和 AST 大量释放到血液中,使血清中这 2 种酶的活性显著增高[11]。本次实验结果表明,给药各组 ALT,AST 活性并未升高,反而明显低于空白组,该现象与文献报道相反。血清中 BUN,Cr 的浓度与肾功能有密切的关系,当肾实质受损害时,由于肾小球滤过率降低,致使血中浓度增加。实验各组对以上 2 项指标检测虽有统计学意义,但其浓度均低于正常组,提示在本实验条件下,对给药各组小鼠肾功能无明显影响。该结论与肝功能的结果类似,其原因还有待进一步探讨。

[参考文献]

[1] 李怡文,钟赣生,柳海艳,等.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[J].科技导报,2012,30(34):18.

[2] 周一平.用 SPSS 软件计算新药的 LD_{50}[J].药学进展,2003,27(5):314.

[3] 钟赣生.中药学[M].北京:中国中医药出版社,2012:314.

[4] 蒋辰雪,范欣生,李芸,等.1949-2009 年海藻、甘草同方配伍临床应用文献分析[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(19):329.

[5] 谢鸣.方剂学[M].北京:人民卫生出版社,2010:433.

[6] 李怡文,钟赣生,王茜,等.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,2011,27(4):317.

[7] 景欣悦,彭蕴茹,王新敏,等.基于药物代谢酶探讨中药“十八反”配伍致毒/增毒机制[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(7):281.

[8] 宿树兰,段金廒,李文林,等.基于物质基础探讨中药“十八反”配伍致毒/增毒机制[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(1):123.

[9] 丁选胜,阚毓铭,黄建强,等.海藻、甘草及其相伍用对小鼠肝药酶的影响[J].南京中医药大学学报,2002,18(1):33.

[10] 夏小方,周光耀.保肝汤对大鼠酒精性肝损伤治疗的实验研究[J].中华中医药学刊,2010,28(5):1095.

[11] 尹家乐,李心,张士侠,等.白首乌 C21 甾体醋苷对小鼠急性四氯化碳肝损伤的保护作用[J].安徽医药,2007,11(3):195.

[责任编辑　李玉洁]