

生川乌配伍瓜蒌对大鼠长期毒性实验研究

郭建恩, 佟继铭, 刘丹丹, 张树峰*

(河北省中药研究与开发重点实验室, 河北 承德 067000)

[摘要] **目的:**观察生川乌配伍瓜蒌对大鼠长期毒性的影响,探讨该反药对配伍与毒性的关系。**方法:**SD 大鼠 80 只随机分为生川乌单行(RA)0.3 g·kg⁻¹、生川乌与瓜蒌(1:1)配伍(RAFT)0.3, 0.1 g·kg⁻¹生川乌剂量组、空白对照组,每组 20 只,雌雄各半,连续 ig 给药 30 d,末次给药 24 h 后,腹主动脉取血,取脏器计算脏器指数,检测心肌酸激酶(CK),乳酸脱氢酶(LDH)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST),丙氨酸氨基转移酶(ALT)、肾尿素氮(BUN),血清肌酐(Cr)等生化指标,主要组织器官进行病理学检查。余 1/3 大鼠停药 15 d 后检测相应指标。**结果:**各给药组雌性大鼠肾脏系数高于对照组,胸腺系数低于对照组、红细胞数高于对照组($P < 0.05$),各给药组雌雄大鼠血清 AST,ALT,LDH 及 BUN 水平高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),RA 组及 RAFT 0.3 g·kg⁻¹组雌性大鼠血清 Cr 水平高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);RA 组雌性大鼠 AST,LDH 水平高于 RAFT 0.1 g·kg⁻¹组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);RAFT 0.3 g·kg⁻¹组雌性大鼠 AST,ALT,Cr,LDH 水平及雄性大鼠 AST 水平高于 RAFT 0.1 g·kg⁻¹组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。主要脏器常规 HE 染色,RAFT 0.3 g·kg⁻¹及 RA 组大鼠心、肝、肾均有一定程度损伤。恢复期末,RAFT 及 RA 组雌性大鼠血清 AST,ALT 水平及雄性大鼠血清 ALT 水平高于对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$),RAFT 及 RA 组 AST,ALT 水平差异无统计学意义。**结论:**在所给剂量下,生川乌对大鼠心、肝、肾有明显毒性,RAFT 对大鼠心、肝、肾等器官的毒性与 RA 组比较无明显差异,RA 及 RAFT 对雌性大鼠毒性强于雄性大鼠。

[关键词] 生川乌; 瓜蒌; 配伍; 长期毒性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0273-06

[doi] 10.11653/syjf2013220273

Radix Aconiti Compatibility of Fructus Trichosanthis on Experimental Study of Long-term Toxicity in Rats

GUO Jian-en, TONG Ji-ming, LIU Dan-dan, ZHANG Shu-feng*

(Hebei Province Key Laboratory of Chinese Medicine Research and Development, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** This study tries to approach the long-term toxicity of Radix Aconiti (RA) combined with Fructus Trichosanthis (FT) in rats, and investigate the relationship between compatibility and toxicity about this anti-drugs. **Method:** Eighty male and female SD rats were randomly divided into RA 0.3 g·kg⁻¹, RAFT 0.3, 0.1 g·kg⁻¹ and the contrast groups, each group having 10 male rats and 10 female rats. the rats of the drug administered groups received drugs orally with the water extract of RA and RAFT, the oral volume was 5 mL·kg⁻¹, the rats were administered one time a day for 30 days. 24 hours later after the last time of drug administration, 2/3 of the rats were sampled blood from their abdominal aorta and organs to figure the indexes of organs out, detecting heart creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), liver aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), kidney blood ureanitrogen (BUN), creatinine (Cr) and other biochemical markers, making the pathological examination for Major tissues and organs. The remaining 1/3 rats were detected the corresponding indicator in the same way 15 days later after stopping drug administration. **Result:**

[收稿日期] 20130605(148)

[基金项目] 河北省教育厅重大项目(ZD2010132)

[第一作者] 郭建恩, 硕士, 讲师, 从事中药毒性研究, Tel:0314-2291180, E-mail: keji_1982@163.com

[通讯作者] * 张树峰, 教授, 博士生导师, 从事中药毒性研究, Tel:0314-2291180, E-mail: zsf@cdmc.edu.cn

The kidney index of female rats in every drug administered groups was higher than contrast group's and the thymus index was lower. The RBC were higher than the contrast group ($P < 0.05$). The AST, ALT, LDH and BUN of each drug administered group were higher than the contrast group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the Cr of female rats was higher than the contrast group in RA $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ and RAFT $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The AST, LDH of female rats in RA $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ group were higher than ARTF $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The AST, ALT, Cr, LDH of female rats and the AST of male rats in RAFT $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ group were higher than RAFT $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). A certain extent visceral injury can be seen in heart, liver, and kidney of the rats in RAFT $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ group through main viscera conventional HE dying. The AST, ALT of female rats and the ALT of male rats in RA $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ and RAFT $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ group were higher than contrast group at the end of recovery term. The differences of AST, ALT in AR group and ARTF group were not statistically significant. **Conclusion:** Radix Aconiti has significant toxicity in heart, liver and kidney of rats in the given dose. The long-term toxicity has no obvious difference between RA group and RAFT group in rats, but more harmful in female rats than in male.

[**Key words**] Radix Aconiti; Fructus Trichosanthis; compatibility; long-term toxicity

生川乌具有祛风湿,温经止痛之功效,有大毒。瓜蒌具有清热化痰,宽胸散结,润肠通便^[1]。生川乌与瓜蒌配伍属于中药十八反之一,但对二药反与不反的问题历来争议颇多,有遵而避之者,亦有将二药同用且取得良效者^[2-6],至今尚无定论。本文以生川乌单行(RA)及其与瓜蒌配伍(RAFT)水浸剂为受试药物,以大鼠为试验对象,连续 ig 给药 30 d,观察 RA 及 RAFT 对大鼠血液学、血液生化学指标、肝、肾指数及组织学的影响,探讨生川乌与瓜蒌配伍对生川乌毒性的影响,并为临床用药提供实验依据。

1 材料

1.1 药物 生川乌:产自四川,河北光明饮片有限公司汉草饮片厂生产,批号 090212,购自承德市利医中草药大厅。瓜蒌产自河北,安国市光明饮片加工厂生产,药品批号 080901,购自承德市利医中草药大厅。由河北省中药研究与开发重点实验室赵春颖副研究员鉴定生川乌为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的干燥母根;瓜蒌为葫芦科植物 *Trichosanthes kirilowii* Maxin. 的干燥成熟果实。

1.2 仪器及设备 AG-245 型电子分析天平(瑞士 Mettler 公司);生化自动分析仪(日本, HITACHI Boehringer Mannheim 717 Automatic Analyzer);Excelsior™ ES 自动组织脱水机(美国);Histocentre 3™ 组织包埋机(美国);Leica RM 2125 轮转式切片机(德国);TK-218 型恒温摊片烤片机(湖北泰维医疗科技有限责任公司);尼康 80i 数字影像处理系统(日本)。

1.3 动物 Wistar 大鼠 80 只, SPF 级,雌雄各半,体重 180 ~ 200 g,由天津市山川红实验动物科技有

限公司提供,许可证号 SCXK(津)2009-0001,合格证号 0002721。

1.4 试剂 (AST)试剂盒(20100910), (ALT)试剂盒(20100910), (LDH)试剂盒, (CK)试剂盒(20100910),以上试剂由北京首医临床医学科技中心生产; (BUN)试剂盒(100503), (Cr)试剂盒(100503),以上试剂由浙江伊利康生物技术有限公司生产。

2 方法

2.1 药液制备 取生川乌 50 g,粗粉,加 3 倍水(pH 5),超声混合 10 min,浸泡 12 h,过滤,药渣再加 3 倍水,浸泡 6 h,过滤,合并滤液,将药液 $4\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心,取上清液,加适量 NaHCO_3 调 pH 7.5,冷冻浓缩至 50 mL(生川乌含量为 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)溶液,即生川乌单行水浸剂。另取生川乌与瓜蒌各 50 g,按上述方法制备生川乌配伍瓜蒌水浸剂。

2.2 分组及给药 小鼠灌胃给 RA 及 ARPR 水浸剂的 LD_{50} 分别为 $9.26, 7.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (生药)^[7],按文献方法^[8]设计大鼠长期毒性给药剂量。将 80 只 Wistar 大鼠,实验室适应 1 周后,随机分成 RA $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、RAFT $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、RAFT $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以乌头剂量计算)组及空白对照组,每组 20 只,雌雄各半。ig 给药,容积 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,1 次/d,每周给药 7 d,连续给药 30 d,对照组给予等容积水。各组大鼠自由饮食,每周称体重 1 次并相应调整给药量。

2.3 检测标本的获取 试验期间,观察并记录动物一般状况,末次给药 24 h 后,取 2/3 动物,0.04% 水合氯醛 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉,仰卧固定,腹主动脉采血检测血液学及尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、

门冬氨酸氨基转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转氨酶(ALT)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)等。随即解剖大鼠,取心、肝、脾、肺、肾、脑、胸腺、大肠、小肠、子宫、卵巢、睾丸、前列腺等器官,用生理盐水冲洗,滤纸吸干后称重,计算脏器指数(脏器系数=脏器重/体重×100%)。称重后将心、肝、肾等脏器新鲜组织块投入10%中性福尔马林液中,室温条件下固定24h,常规HE染色,在光学显微镜下进行病理组织学检查。余1/3动物在实验室观察15d后,按照上述方法处理。

2.4 数据处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 17.0软件包对数据进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠一般状态的影响 实验期间,各组动物无死亡,大鼠皮毛光泽、活动自如,摄食饮水正常,尿液、粪便外观正常,无大便稀薄、干硬等情况出现;高剂量组动物于灌药后5~10min出现明显活动减少、恶心、呕吐、咳嗽等中毒症状,低剂量组动物症状表现较为轻微,甚至未出现症状。对照组动物未出

现明显症状。出现症状动物于给药后3~5h内恢复正常。给药前、给药期、给药末、恢复期内、恢复期末体重与对照组相比无统计学意义(表略)。

3.2 对大鼠脏器系数的影响 肉眼观察,大鼠脏器组织无异常改变。各给药组雌性大鼠肾脏系数高于对照组($P < 0.05$);胸腺系数低于对照组($P < 0.05$),其他脏器系数与对照组比较差异无统计学意义。雄性大鼠各给药组与对照组比较、配伍各剂量组雌雄大鼠各脏器指数与单行组比较差异无统计学意义。停药15d,给药组大鼠脏器系数与对照组比较,各给药组间比较差异均无统计学意义。结果见表1。

3.3 对大鼠血液学的影响 给药组各项血液学指标与对照组比较,各给药组间比较,差异均无统计学意义。分别分析雌雄大鼠的血液学指标,RA组及RAFT各剂量组雌性大鼠的红细胞数(RBC)高于对照组($P < 0.05$),其他血液常规指标与对照组比较,各给药组间比较,差异无统计学意义。停药15d,RA组及RAFT各剂量组雌雄性大鼠的血液学指标与对照组比较差异无统计学意义。结果见表2,3。

表1 生川乌配伍瓜蒌给药末及恢复期各组雌雄大鼠肾脏及胸腺指数($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	时间/d	肾脏指数		胸腺指数	
			雄性	雌性	雄性	雌性
对照	-	给药30	0.747 ± 0.018	0.596 ± 0.073	0.083 ± 0.027	0.183 ± 0.033
		停药15	0.758 ± 0.030	0.612 ± 0.087	0.088 ± 0.033	0.184 ± 0.020
生川乌单行	0.3	给药30	0.735 ± 0.037	0.747 ± 0.045 ¹⁾	0.087 ± 0.018	0.112 ± 0.018 ¹⁾
		停药15	0.739 ± 0.034	0.658 ± 0.056	0.080 ± 0.018	0.153 ± 0.016
乌瓜配伍1	0.3	给药30	0.739 ± 0.039	0.744 ± 0.047 ¹⁾	0.095 ± 0.016	0.098 ± 0.023 ¹⁾
		停药15	0.723 ± 0.044	0.650 ± 0.080	0.086 ± 0.032	0.144 ± 0.032
乌瓜配伍2	0.1	给药30	0.702 ± 0.013	0.779 ± 0.026 ¹⁾	0.087 ± 0.008	0.135 ± 0.020 ¹⁾
		停药15	0.718 ± 0.031	0.638 ± 0.090	0.084 ± 0.016	0.167 ± 0.023

注:与同期空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

表2 生川乌配伍瓜蒌给药期末及停药15d各组雌性大鼠血液学指标($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	时间 /d	WBC	RBC	Hb	PLT	L	N	L	N
			/×10 ⁹ /L	/×10 ¹² /L	/g·L ⁻¹	/10 ⁹ /L	/%	/%	/×10 ⁹ /L	/×10 ⁹ /L
对照	-	给药30	7.43 ± 1.22	6.90 ± 0.16	125.67 ± 1.78	970.67 ± 81.55	0.72 ± 0.02	0.254 ± 0.01	5.33 ± 0.82	1.86 ± 0.35
		停药15	6.83 ± 1.37	6.98 ± 0.25	133.49 ± 2.03	992.35 ± 73.27	0.72 ± 0.03	0.266 ± 0.02	4.91 ± 0.99	1.68 ± 0.36
生川乌单行	0.3	给药30	5.65 ± 1.35	8.23 ± 0.31 ¹⁾	132.25 ± 2.25	918.00 ± 78.50	0.67 ± 0.03	0.293 ± 0.03	3.77 ± 0.97	1.46 ± 0.31
		停药15	6.11 ± 1.89	7.25 ± 0.26	133.84 ± 1.91	967.20 ± 83.33	0.71 ± 0.02	0.280 ± 0.03	4.19 ± 0.99	1.58 ± 0.31
乌瓜配伍1	0.3	给药30	6.54 ± 1.11	8.28 ± 0.260 ¹⁾	126.40 ± 2.32	972.00 ± 90.80	0.69 ± 0.04	0.262 ± 0.04	4.58 ± 0.78	1.62 ± 0.41
		停药15	6.27 ± 1.39	7.59 ± 0.36	127.73 ± 1.46	963.00 ± 80.46	0.68 ± 0.03	0.28 ± 0.01	4.58 ± 1.11	1.83 ± 0.23
乌瓜配伍2	0.1	给药30	6.24 ± 0.74	8.57 ± 0.16 ¹⁾	133.40 ± 1.68	1084.60 ± 82.56	0.69 ± 0.06	0.28 ± 0.06	4.40 ± 0.80	1.70 ± 0.24
		停药15	5.98 ± 1.07	7.49 ± 0.37	130.50 ± 1.63	1023.78 ± 76.80	0.70 ± 0.04	0.29 ± 0.03	4.39 ± 0.92	1.74 ± 0.38

表 3 生川乌配伍瓜蒌给药期末及停药 15 d 各组雄性大鼠血液学指标 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	时间 /d	WBC /×10 ⁹ /L	RBC /×10 ¹² /L	Hb /g·L ⁻¹	PLT /×10 ⁹ /L	L /%	N /%	L /×10 ⁹ /L	N /×10 ⁹ /L
对照	-	给药 30	6.40 ± 0.96	7.83 ± 0.22	136.20 ± 4.56	970.67 ± 81.55	0.69 ± 0.05	0.29 ± 0.05	4.44 ± 0.83	1.73 ± 0.35
		停药 15	6.51 ± 0.73	7.80 ± 0.32	138.30 ± 5.15	982.45 ± 73.21	0.71 ± 0.05	0.26 ± 0.06	4.68 ± 0.63	1.78 ± 0.21
川乌单行	0.3	给药 30	5.65 ± 0.30	7.91 ± 0.18	137.00 ± 3.50	984.25 ± 109.25	0.73 ± 0.04	0.24 ± 0.03	4.15 ± 0.17	1.32 ± 0.27
		停药 15	5.87 ± 0.38	7.82 ± 0.22	137.30 ± 5.40	1 001.39 ± 77.71	0.73 ± 0.03	0.25 ± 0.04	4.32 ± 0.53	1.56 ± 0.25
乌瓜配伍 1	0.3	给药 30	6.68 ± 0.78	8.11 ± 0.31	139.60 ± 2.32	1 154.80 ± 108.56	0.68 ± 0.05	0.28 ± 0.05	4.66 ± 0.81	1.70 ± 0.25
		停药 15	6.22 ± 0.80	7.98 ± 0.28	140.10 ± 3.20	1 036.45 ± 100.24	0.69 ± 0.03	0.27 ± 0.03	4.56 ± 0.91	1.65 ± 0.36
乌瓜配伍 2	0.1	给药 30	6.10 ± 1.12	8.09 ± 0.24	141.40 ± 3.92	1 045.80 ± 96.24	0.75 ± 0.03	0.22 ± 0.02	4.62 ± 0.87	1.53 ± 0.11
		停药 15	6.24 ± 0.92	7.84 ± 0.32	137.90 ± 3.81	1 023.73 ± 91.24	0.73 ± 0.04	0.24 ± 0.05	4.66 ± 0.63	1.66 ± 0.25

3.4 对大鼠血液生化学的影响 与对照组比较, RA 组及 RAFT 高、低剂量组雌雄大鼠血清 AST, ALT, LDH 及 BUN 水平高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), RA 组及 RAFT 高剂量组雌性大鼠血清 Cr 水平高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

RAFT 高剂量组雌雄大鼠血清生化指标与 AR 组比较差异无统计学意义; RAFT 低剂量组雌性大鼠 AST, LDH 水平低于 AR 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

RAFT 组间比较, 高剂量组雌性大鼠 AST, ALT, Cr, LDH 水平及雄性大鼠 AST 水平高于低剂量组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

停药 15 d, RAFT 组及 RA 组雌性大鼠血清 AST, ALT 水平、RA 组及 RAFT 高剂量组雄性大鼠血清 ALT 水平高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 其他生化指标与对照组比较差异无统计学意义, RA 组及 RAFT 高、低剂量组血清生化指标比较差异无统计学意义。结果见表 4, 5。

表 4 川乌配伍瓜蒌给药期末及停药 15 d 各组雌性大鼠血清生化指标 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	时间 /d	AST/U·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹	Cr/ μ mol·L ⁻¹	CK/U·L ⁻¹	LDH/U·L ⁻¹
对照	-	给药 30	73.67 ± 4.56	42.33 ± 5.11	5.20 ± 1.20	34.00 ± 3.33	213.33 ± 80.44	203.33 ± 23.11
		停药 15	72.53 ± 5.24	43.46 ± 5.50	5.67 ± 1.08	32.32 ± 4.55	210.00 ± 70.45	205.37 ± 25.68
生川乌单行	0.3	给药 30	91.75 ± 6.13 ²⁾	58.00 ± 4.10 ²⁾	7.10 ± 0.80 ²⁾	33.75 ± 4.63 ¹⁾	276.00 ± 54.00	298.25 ± 36.25 ²⁾
		停药 15	82.45 ± 7.28 ²⁾	50.36 ± 3.33 ¹⁾	6.13 ± 0.80	33.00 ± 5.80	226.70 ± 47.90	235.60 ± 28.70
乌瓜配伍 1	0.3	给药 30	94.40 ± 8.32 ²⁾	62.40 ± 7.12 ²⁾	6.78 ± 1.22 ²⁾	38.60 ± 5.92 ²⁾	259.80 ± 77.68	308.80 ± 34.16 ²⁾
		停药 15	83.70 ± 6.13 ²⁾	51.68 ± 4.35 ¹⁾	5.96 ± 1.07	35.70 ± 4.60	230.40 ± 68.80	238.90 ± 41.20
乌瓜配伍 2	0.1	给药 30	81.00 ± 6.80 ^{1, 4, 6)}	55.20 ± 7.44 ^{2, 5)}	6.94 ± 0.61 ²⁾	35.80 ± 4.24 ⁵⁾	236.60 ± 43.52	257.00 ± 45.20 ^{2, 3, 5)}
		停药 15	80.46 ± 5.40 ²⁾	48.46 ± 6.90 ¹⁾	5.94 ± 0.86	33.56 ± 3.35	214.50 ± 58.90	217.20 ± 36.10

注:与同期空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与同期 RA 组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与同期 RAFT 高剂量组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ 。

表 5 川乌配伍瓜蒌给药期末及停药 15 d 各组雄性大鼠血清生化指标 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	时间 /d	AST/U·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹	Cr/ μ mol·L ⁻¹	CK/U·L ⁻¹	LDH/U·L ⁻¹
对照	-	给药 30	79.60 ± 7.92	38.80 ± 5.24	5.72 ± 0.34	31.80 ± 4.96	344.80 ± 37.36	279.00 ± 58.40
		停药 15	77.60 ± 6.78	36.60 ± 6.36	5.85 ± 1.40	33.60 ± 5.10	353.30 ± 40.00	283.60 ± 46.54
生川乌单行	0.3	给药 30	93.80 ± 9.76 ²⁾	56.20 ± 6.32 ²⁾	7.08 ± 0.38 ²⁾	35.80 ± 4.96	388.40 ± 64.08	368.60 ± 64.32 ²⁾
		停药 15	82.45 ± 5.30	43.40 ± 4.23 ¹⁾	6.10 ± 1.00	34.80 ± 5.10	362.50 ± 67.00	301.60 ± 55.45
乌瓜配伍 1	0.3	给药 30	99.40 ± 6.88 ²⁾	52.20 ± 7.36 ²⁾	6.80 ± 0.72 ²⁾	35.60 ± 4.32	403.60 ± 44.56	380.20 ± 43.44 ²⁾
		停药 15	84.70 ± 5.68	45.10 ± 4.69 ¹⁾	6.34 ± 0.80	33.70 ± 5.13	364.20 ± 54.66	316.80 ± 50.15
乌瓜配伍 2	0.1	给药 30	90.40 ± 4.08 ^{2, 3)}	50.80 ± 6.08 ²⁾	6.92 ± 0.37 ²⁾	34.60 ± 4.32	391.00 ± 57.60	334.60 ± 53.92 ¹⁾
		停药 15	83.40 ± 5.05	41.33 ± 5.60	6.46 ± 0.69	33.40 ± 4.46	358.70 ± 48.80	297.40 ± 62.36

注:与同期空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与同期 RAFT 高剂量组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

3.5 对大鼠脏器组织病理形态学的影响 主要脏器常规 HE 染色,镜下观察,对照组大鼠主要内脏器官心、肝、肾、肺、脾等无明显的病理改变。单行组及配伍高剂量组大鼠的心、肝、肾等组织有一定程度的损伤,表现为心脏组织局部肌纤维消失,伴炎细胞浸润;肝脏组织小叶基本正常,肝血窦变小,较多肝细胞水肿,胞浆染色变浅,细胞核深染,可见双核肝细

胞,小叶中部分肝细胞坏死,汇管区可见慢性炎细胞浸润;肾脏组织表现为肾小管扭曲不规则,小管间质可见蛋白样水肿液,局部炎细胞浸润。配伍低剂量组大鼠主要脏器损伤较轻或未见明显损伤。停药 15 d,单行及配伍高剂量组大鼠肝脏组织仍存在一定损伤,但较停药初为轻。心、肾组织则未见明显异常改变。见图 1。

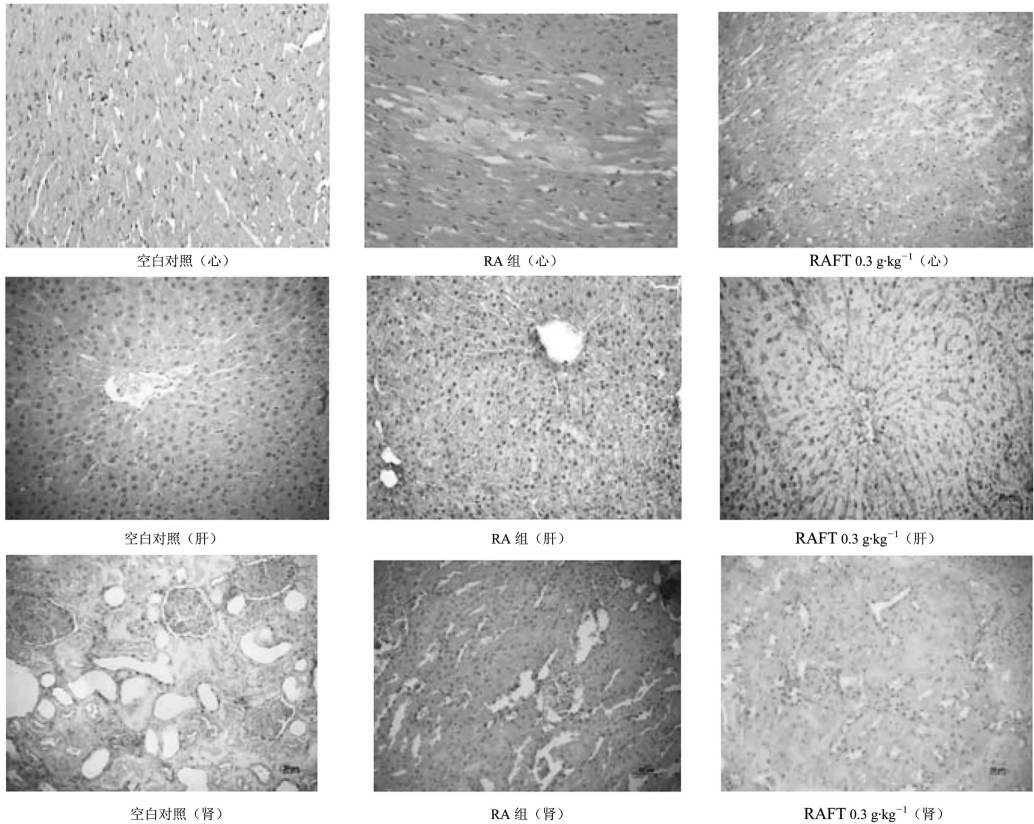


图 1 RA 及 RAFT 给药 30 d 对大鼠心肝肾组织形态学的影响(HE, ×200)

4 讨论

乌头为大毒之品,一般以炮制品入药,而炮制的目的为减轻其毒性,保留药用价值,瓜蒌则无毒。但乌头与瓜蒌为何相反,古代文献语焉不详^[9]。近年来,学者们从物质基础、药效学、临床应用等方面进行了卓有成效的研究^[10-14]。然而,总结这些文献,因为受试药物、动物品种、试验环境及方法等各方面因素不同,试验结果不尽一致,至今尚无定论。本实验比较生川乌与瓜蒌按 1:1 配伍和生川乌单行水浸剂的毒性,探讨二者配伍对生川乌毒性的影响。

实验设定乌瓜配伍高低剂量组及生川乌单行组,其中,高剂量组生川乌剂量与生川乌单行组相同,以比较配伍对毒性的影响,同时,设定配伍低剂

量组以便定量观察药物毒性与剂量的关系。分别观察给药 30 d 及停药 15 d 大鼠检测脏器指数、血清生化化学(AST, ALT, LDH, CK, BUN, Cr)、病理组织学等,脏器指数是反映药物对脏器影响,尤其是毒性的重要指标,血清生化检测项目反应药物对心、肝、肾等功能的影响,与大体标本形态学及显微镜下形态结构的变化相互印证,可以确定药物毒性作用的靶器官,以及其毒性的可逆性。

实验结果显示,给药组雌雄大鼠血清 AST, ALT, LDH 及 BUN 水平高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明药物对大鼠心、肝、肾等器官功能产生了一定的毒性;配伍组间比较,高剂量组雌性大鼠 AST, ALT, Cr, LDH 水平及雄性大鼠 AST 水平高于低剂量组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),说明药物对大鼠毒

性随剂量的增加而增强,有一定剂量依赖关系。在生川乌给药剂量相同条件下,配伍组雌雄大鼠血清生化指标与单行组比较差异无统计学意义,说明二者配伍对心、肝、肾的毒性无明显影响;单行组及配伍高剂量组雌性大鼠血清 Cr 水平高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),单行组与高配伍组比较差异无统计学意义,说明药物对雌性大鼠肾脏损伤更为明显,与脏器指数统计结果一致,同时,也在一定程度说明受试药对雌性动物毒性更为明显,与文献报道一致^[15]。

病理组织学检测结果显示,生川乌单行组及配伍高剂量组大鼠的心、肝、肾等组织有一定程度的损伤,表现为心脏组织局部肌纤维消失,伴炎细胞浸润;肝血窦变小,较多肝细胞水肿,胞浆染色变浅,细胞核深染,可见双核肝细胞,小叶中部分肝细胞坏死,汇管区可见慢性炎细胞浸润;肾脏组织肾小管扭曲不规则,小管间质可见蛋白样水肿液,局部炎细胞浸润。说明乌瓜配伍高剂量组对大鼠心、肝、肾等脏器组织造成了较明显的损伤,而配伍低剂量组大鼠主要脏器损伤较轻或未见明显损伤。

停药 15 d,配伍组及单行组雌性大鼠血清 AST, ALT 水平及生川乌单行组雄性大鼠血清 ALT 水平高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其他生化指标与对照组比较差异无统计学意义,生川乌单行组及配伍高、低剂量组血清生化指标比较差异无统计学意义,各给药组大鼠其他脏器病理组织学检测未见明显异常,说明单行及配伍高剂量对大鼠肝脏组织损伤尚未恢复。

以上结果说明,生川乌连续给药对大鼠心、肝、肾功能及组织存在一定毒性,其中,对心、肾损伤,停药 15 d 可基本恢复;对肝脏损伤持续时间较长,且停药 15 d 尚未恢复。对生川乌毒性的敏感性有性别差异,对雌性大鼠的毒性更为明显,机制有待进一步研究。生川乌配伍瓜蒌毒性无明显影响。

[参考文献]

- [1] 高学敏. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000:658.
- [2] 张国江,李桂林. 乌头与瓜蒌、半夏同用治疗心绞痛的体会[J]. 河北中医药学报, 2009, 24(1):46.
- [3] 于海艳,金东明. 金东明教授治疗顽固性惊悸验案[J]. 吉林中医药, 2010, 30(11):979.
- [4] 徐太生,金东明. 金东明教授伍用乌附蒌治疗顽固性痛经验案[J]. 吉林中医药, 2011, 31(7):673.
- [5] 华浩明,范欣生,姚映芷,等. 十八反古今临床应用述要[J]. 南京中医药大学学报, 2010, 26(2):85.
- [6] 陈生平,赵根生. 附子配伍半夏、瓜蒌、贝母的应用观察[J]. 现代中医药, 2007, 27(4):60.
- [7] 郭建恩,樊金铭,刘丹丹,等. 生川乌配伍全瓜蒌对小鼠急性毒性的影响[J]. 承德医学院学报, 2012, 29(4):349.
- [8] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则(第二稿)(指导原则编号[Z]GPT 3-1).
- [9] 代培良,崔风云. 浅谈十八反[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(2):113.
- [10] 张颖,高建联,苗明三. 中药“十八反”现代研究及分析[J]. 中医研究, 2010, 23(2):11.
- [11] 马鸿雁,李楠,杨明. 乌头碱水解实验和热力学研究[J]. 成都中医药大学学报, 2005, 28(3):57.
- [12] 刘文龙,宋凤瑞,刘志强,等. 川乌与半夏、瓜蒌、贝母、白芷、白及配伍禁忌的化学研究[J]. 化学学报, 2010, 68(9):889.
- [13] 翁小刚,聂淑琴,黄璐琦. HPLC 测“半蒌贝菝菖攻乌”中乌头与其他诸药合煎前后次乌头碱的含量变化[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(1):57.
- [14] 马瑜红,李玲,阮耀,等. 附子与瓜蒌配伍对大鼠心、肝、肾脏的毒性作用[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(22):4399.
- [15] 关天增,孙顺霖,常洪志,等. 半蒌贝菝菖攻乌的实验研究[J]. 河南中医药学刊, 1994, 9(5):28.

[责任编辑 蔡仲德]