

序贯法观察肉桂对马钱子的减毒作用

朱建伟, 闫雪生, 刘瑾

(山东中医药研究院, 济南 250014)

[摘要] 目的: 研究肉桂对马钱子的减毒作用。方法: 单纯马钱子煎液、马钱子肉桂煎液(马桂煎液 1:5), 其中马钱子生药含量都是 20%。用序贯试验测定两种马钱子制剂的 LD_{50} 。比较其毒性。结果: 单纯马钱子 $LD_{50} = (173.161 \pm 18.289) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 马桂煎液 $LD_{50} = (781.345 \pm 214.744) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 马桂煎液从中毒至死亡时间明显延长。结论: 马钱子与肉桂合煎后毒性明显降低。

[关键词] 马钱子; 肉桂; 急性毒性; 序贯实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0245-03

Effect of Cinnamon on Strychnos Studied by Sequential Acute Toxicity Test

ZHU Jian-wei, YAN Xue-sheng, LIU Jin

(Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To study the attenuated effect of cinnamon on strychnos. **Method:** The mice were administrated with strychnos decoction or strychnos-cinnamon decoction (strychnos : cinnamon = 1 : 5) intragastrically. The half lethal dose (LD_{50}) of both decoctions were studied and compared by the sequential acute toxicity test. **Result:** LD_{50} of the two decoction were strychnos decoction = $(173.161 \pm 18.289) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, strychnos-cinnamon decoction = $(781.345 \pm 214.744) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. In addition, the average time from poisoning to death of the mice administrated with strychnos-cinnamon decoction was significantly longer than that of mice with strychnos decoction. **Conclusion:** Cinnamon can reduce the toxicity of strychnos significantly.

[Key words] strychnos; cinnamon; acute toxicity test; sequential method

马钱子是一种高效剧毒中药, 传统医学认为其具有通络止痛、散结消肿之功效, 主要用于风湿痹症^[1]。现代研究证实其有抗炎镇痛、抗血栓、抗心律失常、调节免疫、抗肿瘤等作用^[2], 但因其毒性太大限制了临床应用。近年来许多研究人员试图通过炮制、改变配伍等对马钱子进行增效减毒的研究, 但尚无理想的研究成果。马钱子中毒的病人可以用某些方法解毒, 其中甘草、肉桂解毒成功的报道相对较多^[3-8]。本研究采用序贯法分别进行了单纯马钱子煎液、马钱子肉桂煎液(马桂煎液 1:5)的急性毒性试验, 以探讨肉桂对马钱子毒性的影响。

1 材料

1.1 动物 昆明小鼠, 雌雄各半, 体重 18 ~ 22 g, 购自山东大学实验动物中心, 动物合格证号 SCXK(鲁)20050015。

1.2 药物 马钱子、肉桂购自济南市天仁中药饮片公司, 马钱子购入时已经过沙烫。

单纯马钱子煎液为 20 g 马钱子煎煮 3 次, 每次 20 min, 然后合并 3 次煎液浓缩成 100 mL; 马钱子肉桂混合煎液(马桂煎液)以 1:5 的比例同煎, 煎 3 次, 每次 20 min, 最后合并 3 次煎液, 以马钱子为标准, 浓缩为 20%, 用时根据等容量不等体积浓度的原则稀释成相应质量浓度。

2.2 方法与结果

2.2.1 马钱子煎液 从最高剂量 2 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 开始向下试验, 设计若干个剂量, 组间剂量的等比系数

[收稿日期] 2011-05-03

[第一作者] 朱建伟, 副主任医师, 主要从事药理毒理研究, Tel: 15098833787, E-mail jianwei777@163.com

为 0.75。小鼠按照 20 mL·kg⁻¹ 的容积 ig, 观察给药后的症状表现和死亡情况。如果给药后动物死亡, 就降低 1 个剂量给药 (每只小鼠只给药 1 次); 如果再死, 就继续降低 1 个剂量……直到出现不死的动物。从这只动物开始的前 1 只动物作为正式实验开始, 数据加入统计计算。此后, 继续给药: 如果动物不死, 下 1 只动物就升高 1 个剂量; 如果动物死亡, 下一只动物就降低一个剂量……如此给药至可以得

到稳定的统计结果。

结果显示: 所有死亡动物在 2 ~ 20 min 内发生抽搐, 平均 11 min, 抽搐后 2 ~ 10 s 内迅速死亡。抽搐时伴急速蹬后腿、肌肉紧张、颤动、呼吸困难, 死前无排尿。如果动物 30 min 内不发生抽搐和死亡, 在短暂静卧后恢复活泼, 不会再出现抽搐和死亡。给药和死亡情况见表 1。

表 1 马钱子煎液的给药和死亡情况 (远离有效实验数据的剂量不列在表中)

剂量 /mg·kg ⁻¹	对数剂量 /logD	各次反应情况 (▲为死, ○为活)	▲	○ (a)	组序 (d)
335.96	2.551	▲			
266.97	2.426	▲ ▲	1	0	-2
200.22	2.301	▲※ ○ ▲ ▲ ▲ ▲ ▲ ▲ ▲	8	1	-1
150.17	2.176	○ ○ ○ ▲ ○ ○ ○ ○	1	7	0
112.63	2.052	○	0	1	-1

说明: 表中※为实验开始计数的第 1 只动物; ▲○以总值较少的为阳性组 (a) 总数相等时随意选择一组为阳性, 本组实验○为阳性; 阳性数出现最多的组为中心组 (X₀); 剂量对数的差为 (I); 组序 (d) 按阳性数较多的方向递增, 反方向则递减, 如双侧相等则随意方向递增递减。

方法同前。

结果显示: 本实验动物多在 5 ~ 22 min 出现抽搐, 但有 1 只在 30 min 才出现抽搐, 出现抽搐后多在 15 ~ 30 s 内死亡, 另有 4 只动物出现短暂抽搐 (持续约 10 秒) 后肌肉松弛, 经较长时间的喘息、呼吸困难、肌肉震颤后才死亡, 4 只动物从出现抽搐到死亡的时间分别是 4, 5, 20 min 和 3.5 h。所有发生抽搐的动物最终会全部死亡, 延期死亡的 4 只动物死前有排尿, 肌肉先紧张后松弛。

给药和死亡情况见表 2。

按照前述方法可得到以下供计算的参数:

$$i = 0.1249, X_0 = 2.875, N = \sum a = 15, A = \sum ad = 4, B = \sum ad^2 = 14$$

$$LD_{50} = \log^{-1} [X_0 - i(A/N - 0.5)] = 781.345$$

$$Sm = i/\sqrt{N} [0.167 + 1.458(NB - A^2)/N^2] = 0.051513$$

$$L_{95} = LD_{50} \pm 4.5LD_{50} \times Sm$$

$$= 781.345 \pm 181.222 = 600.224 \sim 962.467 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$$

合并两种煎液的主要实验数据, 列于表 3。

3 讨论

肉桂可以作为马钱子中毒的解救药物, 但其对于马钱子减毒作用的实验研究未见报道。

序贯法急毒实验^[9] 由于受动物死亡时间等限制, 目前在药物的研究中少用。但它也有很明显的优势: 当对于所研究药物的大致的毒性范围不了解时, 序贯法可以用较少的动物较快速测定其大致半数致死量, 并且可以对每一只动物的中毒症状和死

因此, 按照上述标准有以下供计算的参数:

$$i = 0.1249, X_0 = 2.176, N = \sum a = 9, A = \sum ad = 0, B = \sum ad^2 = 2$$

将上述参数代入下面的公式中, 得到相应的结果:

$$LD_{50} = \log^{-1} [X_0 - i(A/N - 0.5)] = 173.161$$

$$Sm = i/\sqrt{N} [0.167 + 1.458(NB - A^2)/N^2] = 0.0204$$

$$L_{95} = LD_{50} \pm 4.5LD_{50} \times Sm$$

$$= 173.161 \pm 4.5 \times 173.161 \times 0.0204$$

$$= 173.161 \pm 18.289 = 157.265 \sim 189.057 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$$

2.2 马桂煎液 与单纯马钱子煎液一样, 从最高剂量 2 000 mg·kg⁻¹ 开始向下试验, 设计若干个剂量, 组间剂量的比例系数为 0.75。小鼠按照 20 mL·kg⁻¹ 的容积 ig, 观察动物的症状和死亡情况。如果动物 30 min 内抽搐或死亡 (因为根据马钱子煎液的试验情况, 动物一旦发生抽搐就不可能存活, 为节约时间, 即使个别不马上死的也暂时按照死亡对待, 事实上, 发生抽搐的动物以后确实全部死亡), 就给下 1 个剂量, 如果再死, 就继续给再下 1 个剂量……直到出现不死的动物。统计

表2 马桂煎液的给药和动物死亡情况(远离有效实验数据的剂量不列在表中)

剂量 /mg·kg ⁻¹	对数剂量 /logD	各次反应情况(▲为死,○为活)	▲	○(a)	组序(d)
1 333	3.124	▲ ▲ ▲ ▲	3	0	-2
1 000	3.000	▲ ▲ ▲ ▲ ▲ ○ ▲ ○ ▲ ○ ▲	8	3	-1
750	2.875	※○ ▲ ○ ○ ▲ ○ ○ ▲ ○ ○ ▲	3	7	0
562.5	2.750	▲ ○ ▲ ○ ○	2	3	1
421.8	2.625	○ ○	0	2	2

表3 两种煎液的主要实验数据比较

组别	LD ₅₀ /mg·kg ⁻¹	L ₉₅ /mg·kg ⁻¹	抽搐发生时间/min	抽搐后死亡时间/s
马钱子煎液	173.161	154.872 ~ 191.450	2 ~ 20	2 ~ 10(平均4.6 s)
马桂煎液	781.245	600.224 ~ 962.466	5 ~ 30	15 ~ 210(平均210 s)

亡时间进行细致观察。

结果显示,肉桂与马钱子同煎可以大幅度地降低马钱子的毒性,效果非常明显。肉桂可以使马钱子的LD₅₀增加4.512倍。(此结果与后来用常规法测得的LD₅₀接近:马钱子煎液(185.39 ± 27.86)mg·kg⁻¹,马桂煎液694.70 ± 92.33)mg·kg⁻¹。

同时,我们还观察到,肉桂配伍马钱子后,动物的死亡前症状和死亡时间出现较大差异,部分动物发生抽搐以后不立即死亡,而是静卧不动,同时有轻度抽搐、呼吸困难和轻微的肌肉震颤,其死亡时间距离发生抽搐的时间最长可达3.5 h,死前有括约肌(排尿)和骨骼肌松弛现象。而单纯马钱子中毒的死亡前症状比较一致,从出现症状到死亡常在10 s以内,没有排尿现象。提示肉桂与马钱子合煎以后,其中毒机制也发生改变。但具体机制尚需进一步的研究。

国医国药,2002,13(11):697.

[2] 魏宁,张松伟. 马钱子的研究进展[J]. 航空军医,2004,32(3):131.

[3] 李全,朱海,黄涛,等. 马钱子的毒理学实验研究[J]. 中医正骨,2002,14(3):829.

[4] 赵珍东,黄兆胜. 马钱子毒副作用研究进展[J]. 国医论坛,2003,18(1):50

[5] 尚彩红. 马钱子中毒及中毒的防治[J]. 临床医学,1999,19(12):50.

[6] 熊平,黄兆胜,蒋灵芝. 马钱子性味及其中毒解救的考释[J]. 中医药学刊,2003,21(9):1489.

[7] 李林. 马钱子药效和减毒研究概述[J]. 亚太传统医药,2007,(5):20.

[8] 李书印. 肉桂解救马钱子中毒1例[J]. 实用中医内科杂志,2000,14(1):29.

[9] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:405.

[参考文献]

[责任编辑 何伟]

[1] 姜静岩,路绪文,张喜旺. 马钱子的临床应用[J]. 时珍