

十枣汤对大鼠的急性毒性

李振岚, 郭思嘉, 姚芳, 张桥, 高明亮, 姚卫峰, 张丽*

(南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/中药资源产业化与方剂创新药物
国家地方联合工程研究中心, 南京 210023)

[摘要] **目的:**研究十枣汤对大鼠的急性毒性反应情况,为临床用药安全和后续毒理药效实验提供参考。**方法:**SPF 级 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,随机分为空白组和十枣汤组,每组 20 只,雌雄各 10 只。采用最大给药量法,十枣汤组在 24 h 内以最大给药体积分别连续 2 次灌胃给予最大浓度十枣汤混悬液 $0.3 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,空白组给予生理盐水,观察大鼠在 14 d 内所产生的毒性反应(死亡、中毒症状)及其严重程度、恢复情况等,同时记录各组动物给药前后的体质量变化和进食情况。14 d 后,处死大鼠,通过测定血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT),门冬氨酸氨基转移酶(AST),尿素氮(BUN),肌酐(SCr),白细胞介素-2(IL-2),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和核转录因子- κ B(NF- κ B)水平,称量各组织质量并计算其脏器系数,苏木素-伊红(HE)染色观察各组织脏器的病理学变化,评价其急性毒性。**结果:**未见大鼠死亡、明显中毒症状和肉眼可见的脏器异常。与空白组比较,十枣汤组体质量和饲料消耗量无统计学差异,大鼠各组织脏器系数均无统计学差异,血清中 ALT,AST,BUN,SCr,IL-2,TNF- α ,NF- κ B 无统计学差异,各组织病理切片亦未见异常现象。**结论:**大鼠经口给予十枣汤的最大给药量为 $12 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,为成人日用剂量的 480 倍,安全性良好,提示十枣汤具有一定的安全范围。

[关键词] 十枣汤;最大给药量;急性毒性;大鼠

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)19-0055-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191121

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190219.1339.011.html>

[网络出版时间] 2019-02-19 16:20

Acute Toxicity of Shizaotang in Rats

LI Zhen-lan, GUO Si-jia, YAO Fang, ZHANG Qiao, GAO Ming-liang, YAO Wei-feng, ZHANG Li*
(*Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China*)

[Abstract] **Objective:** To study the acute toxicity of Shizaotang in rats, in order to provide reference for clinical drug safety and subsequent toxicological efficacy experiments. **Method:** Totally 40 SPF SD rats were randomly divided into control group and Shizaotang group, with 20 rats in each group (10 males and 10 females). By the maximum dose method, the Shizaotang group was given the maximum concentration of Shizaotang suspension $0.3 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for 2 consecutive times in the maximum dosage volume within 24 h, and the control group was given normal saline. The toxicity (death, poisoning symptoms) and its severity and recovery of the rats were observed within 14 days, and the changes in body weight and feeding before and after administration were recorded. After 14 days, the rats were put to death, and serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), urea nitrogen (BUN), creatinine (SCr), and interleukin-2 (IL-2), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and

[收稿日期] 20180911(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81673599,81373972,30973940);江苏省“六大人才高峰”项目(2010-YY-009,2016-YY-026);江苏高校优势学科建设工程项目(ysxk-2014);江苏高校品牌专业建设工程项目(PPZY2015A070)

[第一作者] 李振岚,在读硕士,从事中药炮制与质量标准研究,E-mail:lizhenlan950904@126.com

[通信作者] *张丽,教授,博士生导师,从事中药炮制与质量控制研究,E-mail:zhangli@njucm.edu.cn

nuclear factor- κ B (NF- κ B) levels were measured, each tissue was weighed, and organ coefficients were calculated. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of various organs, and evaluate the acute toxicity. **Result:** No animal death, obvious poisoning symptom, and visible organ abnormality were observed. Compared with the control group, there was no significant change in body weight and food consumption in the drug-administered group. There was no significant difference in the organ coefficients of rats. Serum ALT, AST, BUN, SCr, IL-2, TNF- α , and NF- κ B did not change significantly, and no abnormality was observed in pathological sections of each tissue. **Conclusion:** The maximum oral dosage of Shizaotang in rats is $12 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, which is 480 times of daily dosage for adults, with a good safety. This suggests that Shizaotang has a certain safety range.

[**Key words**] Shizaotang; maximum dosage; acute toxicity; rats

十枣汤出自《伤寒杂病论》,“病悬饮者,十枣汤主之”,由甘遂、大戟、芫花(熬)、大枣(擘)4味组成,是汉代名医张仲景治疗水结悬饮证的经典方剂。方中甘遂、大戟、芫花均是峻下逐水有毒之药,三药合用峻攻水饮,其性峻烈迅猛,易伤脾胃正气,故重用甘味之大枣以健脾扶正,缓和峻药之毒,使峻下而不伤正。本方主治悬饮及水肿腹胀等胸腹水饮内停证,临床上主要用于治疗恶性胸水、癌性腹水和肝硬化腹水等,效果突出,与西医常规治疗手段结合使用疗效显著^[1-2]。近年来,十枣汤外用贴敷特色疗法应用广泛,能够明显减少毒性反应,且具有给药方便、适应证广、便于携带、利于储存、节省药物等优点。另外十枣汤临床上还可用于治疗胸膜炎、肺系病、妇科病等疾病^[3-8]。

十枣汤虽在泻水逐饮方面效果显著,但芫花、甘遂、大戟的毒性制约其目前在临床的有效应用。近年来对十枣汤组方药味芫花、甘遂、大戟炮制减毒存效方面的研究颇多^[9-11],但目前尚未见有关十枣汤急性毒性的公开报道。为考察该方剂的安全性,故遵照 2005 年原国家食品药品监督管理局公布的《药物研究技术指导原则(2005 年)》^[12]开展相关研究。本实验旨在通过大鼠急性毒性实验对十枣汤进行安全性评价,观察大鼠接受过量供试品所产生的毒性中毒反应,阐明其毒性反应的表现和特点,为后续开展量效关系、作用机制和代谢组学等研究提供参考,并为临床安全用药提供依据。

1 材料

1.1 药物 甘遂购自陕西省天源中草药开发有限公司,批号 20171028,经陕西中医药大学唐于平教授鉴定为大戟科植物甘遂 *Euphorbia kansui* 的干燥块根;京大戟购自安徽亳州药材市场,批号 20170616,经南京中医药大学乐巍副教授鉴定为大戟科植物大戟 *E. pekinensis* 的干燥根;芫花购自河北

省安国市东方红药材贸易有限公司,批号 20180323,经南京中医药大学乐巍副教授鉴定为瑞香科植物芫花 *Daphne genkwa* 的干燥花蕾。熬芫花,取净芫花,置热锅内,用文火加热,炒至变色,取出,晾凉。大枣购自河南亚太食品有限公司,批号 20171225,经南京中医药大学郭盛老师鉴定为鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* 的干燥成熟果实。十枣汤中甘遂、京大戟、芫花各饮片按干燥品计算,甘遂中含大戟二烯醇 0.38%,京大戟中含大戟二烯醇 1.21%,芫花中含芫花素 0.64%,均符合 2015 年版《中国药典》^[13]含量测定项下要求。

1.2 动物 SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,40 只,体质量 180~220 g。由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供,合格证号 SCXK(苏)2017-0001。实验前动物于室内适应环境饲养 3 d,室温 20~25℃,湿度 45%~70%,自然光照。本实验获得南京中医药大学实验动物伦理委员会批准,编号 201811A026。

1.3 仪器与试剂 Infinite M200 Pro 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司);Nikon Ti 型荧光显微镜(日本尼康公司);GHP-9050 型恒温箱(上海精宏实验设备有限公司)。

氯化钠(成都市科隆化学品有限公司,批号 2017091301);4% 多聚甲醛通用型组织固定液(Biosharp 公司,批号 1801199);苏木素(珠海贝索试剂,批号 BA-4097);伊红(珠海贝索试剂,批号 BA-4099);丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),肌酐(SCr),尿素氮(BUN)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号均为 20180523);白细胞介素-2(IL-2),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),核转录因子- κ B(NF- κ B)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(南京金益柏生物科技有限公司,批号均为 20180510)。

2 方法

2.1 供试品溶液的配制 称取十枣汤中甘遂、大戟、熬芫花粉末(过六号筛)各等分,加入适量十枣汤制成浓稠混悬液,最大质量浓度为 $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (以灌胃器不发生堵塞、不影响正常灌胃为准), $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏。

2.2 预实验 取 SPF 级 SD 大鼠 8 只,雌雄各半,给药前禁食不禁水 16 h。单次灌胃给予大鼠十枣汤混悬液 $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,给药体积为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,观察期 14 d。结果大鼠状况良好,无动物死亡,无法计算十枣汤的半数致死量 (LD_{50}),故正式实验以最大给药量法^[14-17]进行十枣汤的急性毒性实验。

2.3 最大给药量实验 取 SPF 级 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,按随机数字表法分为空白组和十枣汤组,每组 20 只,雌雄各 10 只,给药前禁食不禁水 16 h。空白组给予生理盐水,给药组灌胃给予十枣汤最大质量浓度 $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,给药体积均为 $20 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$,24 h 内灌胃给药 2 次(相当于临床成人用量的 480 倍),间隔时间为 8 h,间隔期间不进食,给药 2 h 后自由饮水和进食,连续观察 14 d。给药后严密观察并记录大鼠的一般状态、活动情况、排泄情况及中毒、死亡情况,同时观察并记录各组大鼠给药前及给药后的体质量变化和进食情况。第 14 天处死大鼠

后,肉眼观察主要脏器是否病变,取大鼠心、肝、脾、肺、肾、胃、肠、脑,用生理盐水冲洗,滤纸吸干脏器表面水分后称其湿重,计算其脏器系数,并取大鼠各脏器组织于 4% 中性多聚甲醛固定液中固定 48 h 后,常规方法脱水、固定、切片,苏木素-伊红(HE)染色,封片后镜下观察病理学组织改变。大鼠取血后,于低速离心机 $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分离血清,测定两组大鼠 ALT, AST, BUN, SCr, IL-2, TNF- α , NF- κ B 含量,测定指标按试剂盒说明书进行。

2.4 统计学方法 运用 SPSS 19.0 软件对实验数据进行处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠一般情况的影响 各组均未出现大鼠死亡情况。空白组雌、雄大鼠的饮水量、摄食量、尿量及粪便等均正常,皮毛颜色正常、有光泽,四肢活动灵活;十枣汤组雌雄大鼠给药后 4 h 内,大鼠喜静卧,自发活动减少,精神萎靡、行动迟缓,毛色无光,进食饮水减少,少数大鼠出现大便溏稀,被毛沾染污物,48 h 后饮食、摄食、活动和粪便恢复正常。第 14 天解剖所有动物,各脏器未见肉眼可见异常。空白组雌、雄大鼠粪便正常,与空白组相比,十枣汤组雌、雄大鼠少数会出现粪便溏稀。见图 1。



A, B. 空白(雌、雄)组; C, D. 十枣汤(雌、雄)组(图 2 同)

图 1 十枣汤急性毒性实验对大鼠粪便的影响

Fig. 1 Fecal condition of rat in acute toxicity test of Shizao Tang

3.2 对大鼠体质量及饲料消耗量的影响 经十枣汤灌胃 14 d 内,与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠体质量无统计学差异,说明在此给药剂量下,药物对大鼠的体质量无明显影响。见表 1。与空白组比较,十枣汤组雌雄大鼠给药当天饲料消耗量明显降低,第 2 天又恢复正常。见表 2。

3.3 对大鼠组织病理形态学的影响 空白组雌、雄大鼠心肌细胞排列有序,细胞着色未见异常,肌纤维之间的距离适中,组织间隙未见异常。与空白组比

较,十枣汤组雌、雄大鼠心脏组织未见明显损伤,没有显著性差异。空白组雌、雄大鼠肝细胞形态大小未见异常,肝细胞呈肝板样放射状排列,汇管区可见胆管和血管管腔。与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠肝组织未见明显损伤,没有显著性差异。空白组雌、雄大鼠视野可见红髓白髓分解清晰,可见淋巴小结生发中心,淋巴细胞及脾小梁,未见异常。与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠脾脏组织未见明显损伤,没有显著性差异。空白组雌、雄大鼠肺泡呈空泡

表 1 十枣汤急性毒性实验对大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Weight change of rats in acute toxicity test of Shizaotang($\bar{x} \pm s, n = 10$)

性别	组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	给药前	药后 1 d	药后 3 d	药后 5 d	药后 7 d	药后 11 d
雄	空白	-	202.1 ± 10.9	188.5 ± 10.2	217.1 ± 11.6	231.1 ± 12.6	243.3 ± 16.6	249.2 ± 19.0
雌		-	202.2 ± 9.8	190.6 ± 8.8	208.7 ± 9.6	213.8 ± 8.1	217.9 ± 10.3	221.9 ± 13.1
雄	十枣汤	12	206.8 ± 9.9	196.3 ± 9.8	212.5 ± 10.4	228.5 ± 9.5	240.1 ± 10.0	250.4 ± 11.5
雌		12	200.2 ± 5.5	189.3 ± 5.7	201.1 ± 11.8	206.5 ± 9.2	211.8 ± 10.6	220.5 ± 8.0

表 2 十枣汤急性毒性实验对大鼠总摄食量的影响

Table 2 Total food intake change of rats in acute toxicity test of Shizaotang

性别	组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	给药前	药后 1 d	药后 3 d	药后 5 d	药后 7 d	药后 11 d	药后 14 d
雄	空白	-	23.6	23.2	24.9	25.9	22.7	20.0	18.5
雌		-	19.6	19.1	20.5	18.1	18.3	16.1	17.3
雄	十枣汤	12	23.1	10.8	27.3	26.2	26.3	20.1	21.5
雌		12	17.7	6.4	22.1	20.3	21.4	17.7	18.3

状,无内容物,肺泡间隔稍增厚,间隔中血管轻度扩张可见红细胞。支气管管壁完好,管腔内无内容物。与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠肺脏组织未见明显损伤,没有显著性差异。空白组雌、雄大鼠肾小球体积,肾球囊腔大小均未见异常,附属肾小管管壁厚度及管腔大小未见病理性改变。与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠肾脏组织未见明显损伤,没有显著性差异。空白组雌、雄大鼠视野下可见胃壁组织结构清晰,由内向外黏膜层结构完整,黏膜下层腺体有序排列结构未见异常,肌层组织结构致密,未见异常,浆膜层可见胃壁营养血管管腔。与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠胃组织未见明显损伤,没有显著性差异。空白组雌、雄大鼠肠皱襞呈指状规则排列,可见散在分布的杯状细胞,黏膜下层可见腺体规则分布,肌层完好。与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠肠组织未见明显损伤,没有显著性差异。空白组雌、雄大鼠脑神经元细胞内核膜核仁清晰,神经元细胞形态较为完整,结构正常,核质清晰,数目较多且排列整齐,有少数胶质细胞。偶见血管及毛细血管,管壁光滑完整,结构清晰。与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠脑组织未见明显损伤,没有显著性差异。各脏器空白组和十枣汤组雌、雄大鼠任选一张病理图片,见图 2,3。

3.4 对大鼠脏器系数的影响 大鼠给予十枣汤灌胃 14 d 后,与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠心、肝、脾、肺、肾、胃、肠、脑脏器系数无统计学差异。见表 3。

3.5 肝功能、肾功能和炎症因子检测结果 大鼠给

予十枣汤灌胃 14 d 后,与空白组比较,十枣汤组雌、雄大鼠血清 ALT, AST, BUN, SCr, IL-2, TNF- α 和 NF- κ B 水平无统计学差异,见表 4,5。

4 讨论

十枣汤作为治疗悬饮的首选方,方中甘遂善泄经隧水湿,大戟善泻脏腑水湿,芫花善攻胸胁癖饮,三药合用峻攻水饮,作用峻猛,故配以大枣缓和其峻烈之性。虽然十枣汤中甘遂、大戟、芫花均能泄水逐饮,具有利尿、抗炎、抗肿瘤、抗生育等作用^[18],且大枣可缓和药性,益气护胃,邪正兼顾,但其均为峻下逐水有毒之药,所以临床上多谨慎使用。

中医临床常通过炮制来降低药物毒性,十枣汤原方中指出芫花需经“熬”法炮制,《新修本草》^[19]称芫花“有小毒,用之微熬,不可近眼”,《黄帝素问宣明论方》^[20]曰:“芫花慢火炒变色,仲景乡俗异语,云炒作熬,下凡言熬者,皆干炒也。”故将芫花微炒入药。虽然 2015 年版《中国药典》对于甘遂、大戟标注了内服需醋炙,但十枣汤原方中甘遂、大戟并未明确指出是否需经过炮制,但为观察其最大急性毒性,此次采用生品入药。药理学研究表明十枣汤可以抗肿瘤,在延长生存期、减缓胸腹水和改善肺纤维化等方面作用显著,但其毒性仍是影响临床使用的关键因素^[21-23]。急性毒性实验是评价单次或 24 h 内多次累积给药后动物表现出的毒性反应,是实验评价药物安全性的第一步。因预实验无法测出 LD₅₀,最大耐受量(MTD),故采用最大给药量法考察十枣汤对大鼠的急性毒性反应。

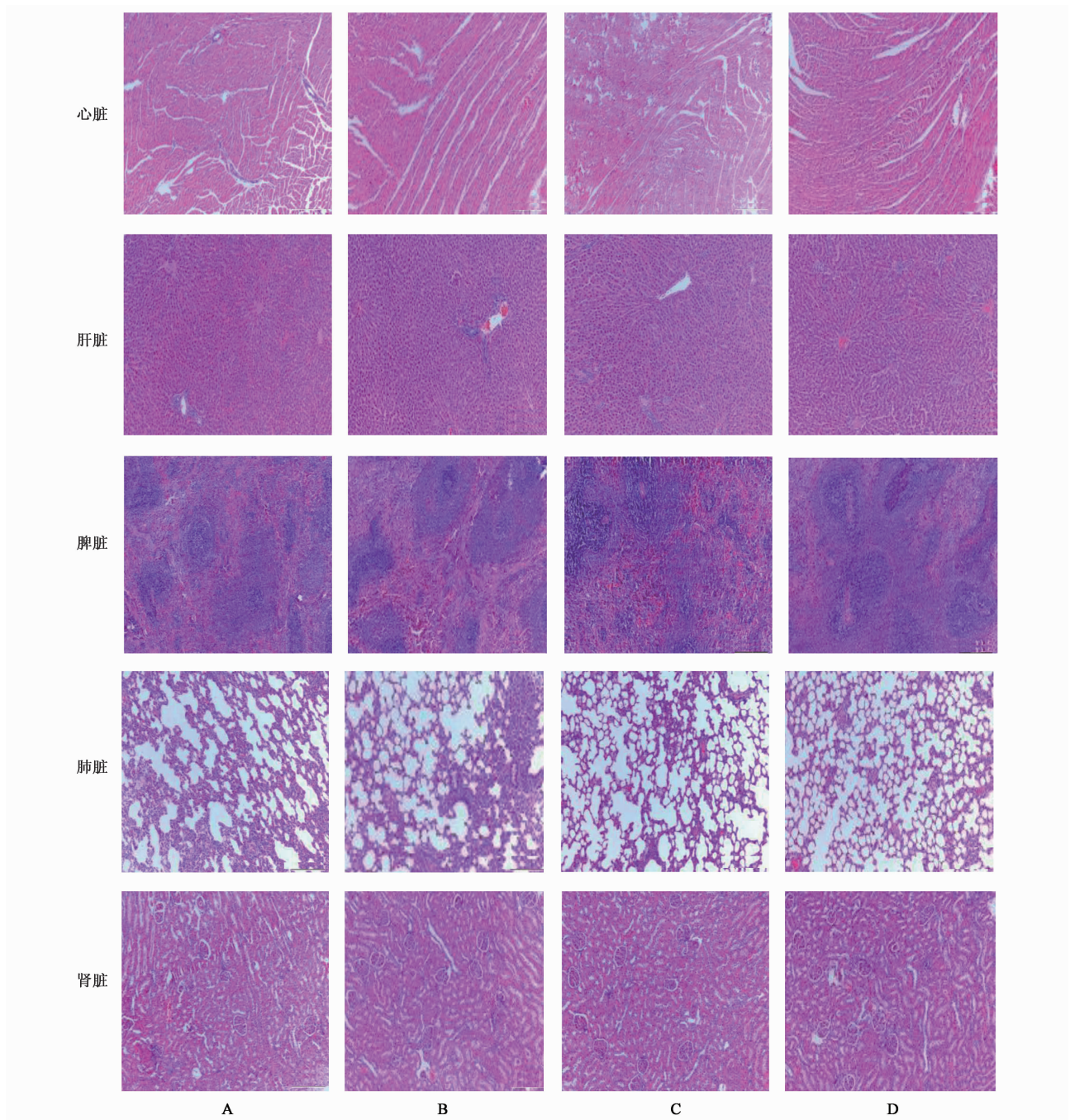


图 2 十枣汤对大鼠心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏病理形态的影响(HE, ×100)

Fig. 2 Pathological section of heart, liver, spleen, lungs and kidneys of rat with Shizaotang (HE, ×100)

表 3 十枣汤急性毒性实验对大鼠脏器系数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Organ coefficient of rats in acute toxicity test of Shizaotang ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

性别	组别	剂量/g·kg ⁻¹	心	肝	脾	肺	肾	胃	肠	脑
雄	空白	-	0.32 ± 0.03	2.87 ± 0.31	0.18 ± 0.03	0.50 ± 0.05	0.72 ± 0.13	0.54 ± 0.07	2.46 ± 0.54	0.70 ± 0.07
雌		-	0.32 ± 0.03	2.83 ± 0.15	0.21 ± 0.04	0.50 ± 0.06	0.61 ± 0.03	0.57 ± 0.11	2.67 ± 0.21	0.74 ± 0.08
雄	十枣汤	12	0.30 ± 0.02	2.73 ± 0.17	0.20 ± 0.05	0.48 ± 0.03	0.72 ± 0.09	0.53 ± 0.03	2.32 ± 0.16	0.75 ± 0.03
雌		12	0.30 ± 0.02	3.10 ± 0.47	0.24 ± 0.06	0.61 ± 0.16	0.65 ± 0.07	0.55 ± 0.03	2.50 ± 0.26	0.78 ± 0.09

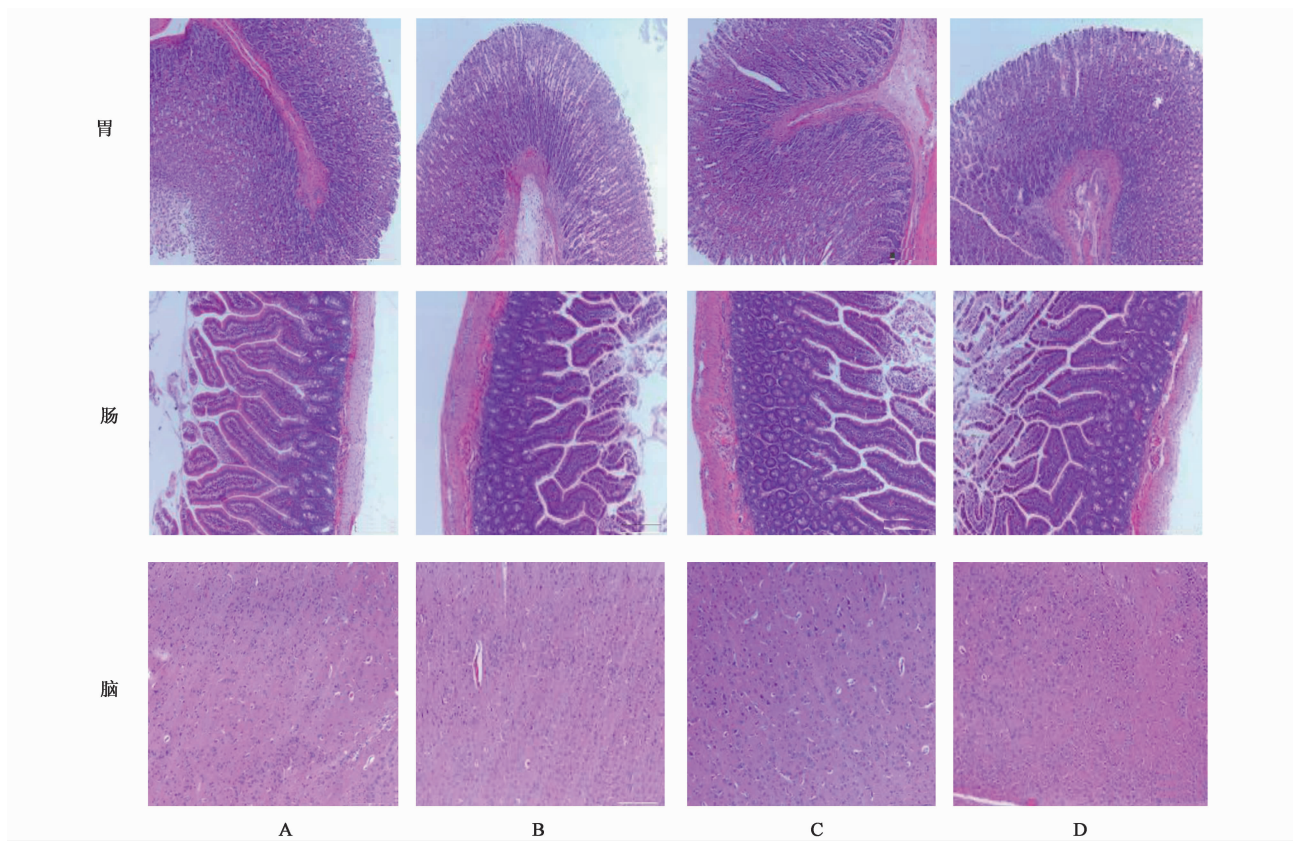


图 3 十枣汤对大鼠胃、肠、脑病理形态的影响(HE, ×100)

Fig. 3 Pathological section of stomach, intestine and brain of rat with Shizaotang (HE, ×100)

表 4 十枣汤对大鼠血清 ALT, AST, SCr and BUN 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Determination of serum ALT, AST, SCr and BUN contents in rats with Shizaotang ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

性别	组别	剂量/g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹	SCr/μmol·L ⁻¹
雄	空白	-	18.00 ± 3.65	16.66 ± 5.45	10.42 ± 1.65	36.91 ± 8.93
雌		-	21.33 ± 4.37	16.70 ± 3.85	10.00 ± 1.06	40.70 ± 4.36
雄	十枣汤	12	21.37 ± 4.74	18.51 ± 4.53	9.77 ± 1.12	36.86 ± 3.21
雌		12	21.48 ± 1.92	18.24 ± 5.24	9.68 ± 0.56	36.49 ± 7.14

表 5 十枣汤对大鼠血清 IL-2, TNF-α, NF-κB 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Determination of serum IL-2, TNF-α and NF-κB contents in rats with Shizaotang ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

性别	组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-2	TNF-α	NF-κB
雄	空白	-	763.65 ± 165.22	182.52 ± 32.72	559.11 ± 104.17
雌		-	761.97 ± 122.32	168.24 ± 30.23	547.26 ± 145.90
雄	十枣汤	12	776.83 ± 111.78	171.50 ± 40.21	533.73 ± 136.24
雌		12	768.52 ± 110.34	156.34 ± 33.07	533.71 ± 101.21

本研究中,以最大浓度十枣汤混悬液 24 h 内分 2 次给大鼠灌胃给药,即在最大给药量 12 g·kg⁻¹ 剂量下,未见动物死亡和明显的毒性反应,14 d 后动物大体解剖及主要脏器肉眼观察未发现异常,大鼠生理状况良好,体质量和饲料消耗量无明显变化,各

组织脏器指数没有显著性差异,血清中 ALT, AST, BUN, CRE, IL-2, TNF-α, NF-κB 没有明显变化,各组组织病理切片亦未见异常现象。

《注解伤寒论》^[24] 中十枣汤的使用剂量记述为“芫花(熬)、甘遂、大戟等分,强人服一钱匕”,根据

《经方学用解读》中甘遂、大戟、芫花等分为末强人服一钱匕(约1.5 g~1.8 g)^[25]。现十枣汤临床日用剂量按照1.5 g计算,上述实验给药剂量为60 kg成人日用剂量的480倍。另有研究指出十枣汤3味药物用药总量的常用量范围为2~4 g^[18],按临床日用剂量3 g计算,上述实验给药剂量为60 kg成人日用剂量的240倍,在这样的剂量下仍未发现明显的急性毒性作用,说明十枣汤经配伍后,按拟定临床日剂量口服可能是安全的。安全性评价是综合性评价,本实验仅从急性毒性实验角度出发,后续还需结合长期毒性实验进行进一步的验证,以全面保证临床用药的安全性。

[参考文献]

[1] 李振岚,张桥,楼坚伟,等.十枣汤研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(17):221-226.

[2] 邓甜甜,韩晓春,马山,等.十枣汤临床应用综述[J].河南中医,2018,38(9):1303-1306.

[3] 刘济,韩媛媛.十枣汤联合顺铂,IL-2胸腔灌注治疗恶性胸水30例临床研究[J].亚太传统医药,2017,13(14):156-157.

[4] 颜昭君,杨胜利.中药离子导入联合顺铂腹腔注射治疗癌性腹水28例[J].国医论坛,2017,32(2):51-52.

[5] 张迎春,宋霆.十枣汤联合当归补血汤治疗肝硬化顽固性腹水的效果[J].青岛大学医学院学报,2011,47(3):265-266.

[6] 郭晓勇.辩证应用“十枣汤”配合西药治疗渗出性胸膜炎32例[J].临床医药文献电子杂志,2015,2(1):29-30.

[7] 王燕青.十枣汤治疗肺系病体悟[J].中医药通报,2017,16(4):13-15,24.

[8] 米海霞,马大正.马大正经方治疗带下病经验[J].江西中医药大学学报,2015,27(6):23-24.

[9] 张桥,曹亮亮,楼坚伟,等.甘遂醋炙对正常及癌性腹水模型大鼠毒性的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(17):1-6.

[10] 曹雨诞,张楷承,张丽,等.醋制降低京大戟对正常小鼠胃肠道氧化损伤的初步研究[J].中国药理学通

报,2017,33(2):291-293.

[11] 代光秀.醋炙对芫花毒性和药效影响的实验研究[J].中华中医药学刊,2012,30(12):2766-2767.

[12] 国家食品药品监督管理局.药物研究技术指导原则(2005年)[M].北京:中国医药科技出版社,2006:209-216.

[13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:88,159,225-226.

[14] 赵琳琳,李盖,赵媛,等.大黄甘草汤胶囊剂急性毒性及药效学实验研究[J].中草药,2018,49(4):866-869,873.

[15] 徐文龙,孙位军,王张,等.藏药七十味珍珠丸的大鼠急性毒性实验研究[J].中国医药导报,2016,13(35):4-7.

[16] 孙位军,周熙,王张,等.光核桃仁油对实验鼠与兔的急性毒性实验[J].中国医药导报,2017,14(21):18-24.

[17] 白春霞,孙国娟,谢萍,等.复方金铃四逆四物失笑散的毒理学实验[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(16):163-167.

[18] 马浔.十枣汤的临床用量及相关问题研究[D].北京:北京中医药大学,2018.

[19] 苏敬.新修本草.上卷[M].合肥:安徽科学技术出版社,1981:250.

[20] 刘完素.黄帝素问宣明论方[M].北京:中国中医药出版社,2007:62.

[21] 贺军,李航森,罗云,等.十枣汤对荷瘤小鼠p53突变及内皮素表达的影响[J].湖北中医药大学学报,2012,14(2):17-19.

[22] 李航森,肖曼丽.十枣汤对抑制小鼠艾氏腹水的实验研究[J].中医药临床杂志,2012,24(8):771-773.

[23] 宋启兰,王燕青,王宁.十枣汤对肺纤维化大鼠血清TNF- α 和TGF- β_1 浓度的影响[J].中国中医药现代远程教育,2014,12(8):157-159.

[24] 成无己.注解伤寒论.卷四[M].北京:商务印书馆,1955:127.

[25] 王付.经方学用解读[M].北京:人民军医出版社,2016:438.

[责任编辑 张丰丰]