

• 实验研究 •

四逆汤及其拆方心脏毒性研究

熊永爱¹ 黄勤挽¹ 杨 明^{1,2*}

(1. 成都中医药大学药学院, 四川省成都市温江区柳台大道 1166 号, 611137;

2. 江西中医学院中药制剂教育部重点实验室)

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)资助项目(2009CB522801)

* 通讯作者: 574825214@qq.com, 13870608983

[摘要] 目的 通过比较四逆汤方药不同组合配伍对大鼠心脏的影响, 探讨四逆汤配伍的减毒机制。方法 160 只 SD 大鼠随机分为正常组、生附组、干姜组、炙甘草组、生附+干姜组(3:3)、生附+炙甘草组(3:2)、干姜+炙甘草组(3:2)、生附+干姜+炙甘草组(3:3:2), 每组 20 只, 各组药材提取液的最终浓度均为 1 g/ml, 根据动物体重按 2 ml/kg 给药。采用十二指肠注射给药后, 心电图连续描记 120 min。以给药后出现频发室性早搏作为附子心脏毒性标准, 按 1:0.8 的比例降低/升高给药剂量, 每个剂量使用 1 只动物, 以出现心率异常剂量的上 1 个浓度剂量为开始, 引入序贯表, 连续观察 20 只大鼠的心电图变化, 依据序贯表中各实验组给药剂量及动物心率异常出现时间, 计算各组药物心脏毒性剂量。结果 生附组心脏毒性剂量为 6.25 g/kg, 心率异常时间为 (12.36±1.15) min, 生附+干姜组分别为 4.19 g/kg、(6.18±1.09) min, 与生附组比较, 生附+干姜组可显著缩短大鼠心脏毒性发生时间 ($P<0.05$)。其余各组无明显心脏毒性。结论 四逆汤中生附片与干姜配伍可增大对心脏的毒性作用, 炙甘草可对抗干姜、附子对心脏的毒性作用。

[关键词] 四逆汤; 生附片; 炙甘草; 干姜; 配伍; 心脏毒性

The Cardiac Toxicity of Sini Decoction and Its Disassembled Prescriptions

XIONG Yongai¹, HUANG Qinwan¹, YANG Ming^{1,2}

(1. Chengdu University of TCM, Sichuan Province 611137; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To research the attenuated effect and mechanism of different compositions of Sini Decoction (Counter-flow Cold Decoction) according to their effects on rat hearts. **Methods** Totally 160 SD rats were randomized into the normal group, Shengfu (*Aconiti Radix Lateralis Cruda*) group, Ganjiang (*Zingiberis Rhizoma*) group, Gancao (*Glycyrrhizae Radix*) group, Shengfu + Ganjiang (3:3) group, Shengfu + Gancao (3:2) group, Ganjiang + Gancao (3:2) group and Shengfu + Ganjiang + Gancao (3:3:2) group, with 20 in each. The final concentration of medicinal extract in each group was 1g/ml and was administrated by injection into the duodenum at 2ml/kg based on animal body weight. The tracings of ECG lasted for 120 minutes. The occurrence of frequent premature ventricular contractions after administration was taken as the cardiac toxicity criteria of Fuzi. The dose was reduced or increased at a ratio of 1:0.8 and one rat was used at each dose. The sequential form was introduced according to the former dose when arrhythmia occurred. The changes of ECG in 20 rats were continuously observed. The cardiotoxic dose in each group was calculated according to the sequential form. **Results** The cardiotoxic dose was 6.25 g/kg and arrhythmia time was (12.36±1.15) min in the Shengfu group. The cardiotoxic dose was 4.19 g/kg and arrhythmia time was (6.18±1.09) min in the Shengfu + Ganjiang group. Comparing with the Shengfu group, the occurrence time of cardiac toxicity in the Shengfu + Ganjiang group was significantly shortened ($P<0.05$). There was no obvious cardiac toxicity in other groups. **Conclusion** The composition of Shengfupian and Ganjiang in Sini Decoction can increase the cardiac toxicity but Gancao can fight the cardiac toxicity of Ganjiang and Fuzi.

Keywords Sini Decoction; Shengfupian; Gancao; Ganjiang; composition; cardiac toxicity

附子为毛茛科植物乌头的子根加工品, 味辛、甘, 性大热, 有毒; 甘草为豆科植物甘草、光果甘草或胀果甘草的根及根茎, 性甘、平; 干姜为姜科植物姜的干燥根茎, 味辛, 性热。附子配伍炙甘草、干姜是

其“减毒存效”的一个范例, 经典方剂当属四逆汤, 方中附子为君, 干姜为臣, 炙甘草为佐使。炙甘草性温, 与辛热之附子为伍, 有合化阳气之功, 起到佐助的作用; 炙甘草味甘性缓, 其在方中可起到缓和附子

峻烈之性和解其毒性的作用^[1]。本文拟以四逆汤拆方配伍组合对大鼠心脏毒性进行系统对比研究,旨在探索附子配伍干姜、炙甘草的心脏毒性变化规律,为四逆汤临床安全用药、防止心脏毒性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体重(200±20)g,由成都达硕生物科技有限公司提供,实验动物合格证号:SCXK(111)2008-24。

1.2 药物及制备

生附片,由四川江油中坝附子科技发展有限公司提供,批号:20110106;干姜(批号:20110825)、炙甘草(批号:20110917)由四川科伦药业有限公司提供,经鉴定所购药材均符合《中华人民共和国药典》标准。取生附片 100 g 加 10 倍量水煎煮 90 min,4 层纱布过滤,将滤液置旋转蒸发仪减压浓缩至 100 ml,即药液浓度为 1 g/ml,浓缩后于冰箱冷藏,保存备用。干姜、炙甘草、干姜+炙甘草(3:2)、生附片+炙甘草(3:2)、生附片+干姜(3:3)、生附片+炙甘草+干姜(3:3:2)的制备方法同生附片的制备,各组药材提取液的最终浓度均为 1 g/ml。

1.3 主要仪器、试剂

BL-420 生物机能实验系统(型号:BL-420E⁺,成都泰盟生物科技有限公司),皮下针式电极(成都泰盟科技有限公司),R501B 旋转蒸发仪(型号:HD-230,上海申顺生物科技有限公司)。乌拉坦(批号:20100809,上海抚生生物技术有限公司)。

1.4 动物筛选及分组

实验前禁食不禁水 16 h,然后按 1 ml/kg 剂量腹腔注射 20% 乌拉坦溶液麻醉,背位固定,连接皮下针式电极用 BL-420 生物机能实验系统测定二导联心电图,连续观察 10 min,心电图有异常者弃用,选用心电图正常动物进行实验。筛选合格的 SD 大鼠 160 只按体重随机单位组设计分为正常组、生附组、干姜组、炙甘草组、生附+干姜+炙甘草组、生附+干姜组、生附+炙甘草组、干姜+炙甘草组,每组 20 只。

1.5 给药方法

根据动物体重,按 2 ml/kg 剂量计算各组的给药量,然后沿大鼠腹中线剖开腹腔,暴露十二指肠,用眼科剪于胃和十二指肠相接处剪一小口,用灌胃针注射给予药物。每只动物给药 1 次,自给药完开

始计时,采用生物机能仪连续描记心电图 120 min。参照正常心电图,以给药后出现频发性室性早搏作为附子心脏毒性标准,记为阳性(+),未出现记为阴性(-),每个剂量使用动物 1 只,按 1:0.8 的比例降低/升高给药剂量,以出现质变的剂量的上 1 个浓度剂量为开始,引入序贯表,连续观察 20 只大鼠的心电图变化,建立序贯表。

1.6 观察指标及方法

根据 BL-420 生物机能实验系统记录的动物心电图,分析各组 SD 大鼠心率、阵发性室性早搏等异常情况。依据序贯表中各实验组给药剂量及动物心率异常出现时间,计算各组药物心脏毒性剂量^[2]。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间采用单因素方差分析,方差齐者组间进行 LSD 检验,方差不齐者进行 Tamhane's T^2 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠心电图情况比较

图 1 示,与正常组大鼠心电图比较,生附组和生附+干姜组大鼠给药后心电图发生明显异常,主要表现在心率(HR)明显加快,T 波值增大,阵发性室性早搏,QRS 波群宽大畸形,QT 间期明显延长、QTc 明显延长,PR 间期明显缩短。其余各组大鼠在观察时间范围内未出现明显异常。

2.2 各组大鼠药物心脏毒性剂量比较

表 1 示,生附组和生附+干姜组大鼠具有明显的心脏毒性,并且生附+干姜组心脏毒性剂量小于生附组,说明干姜配伍生附片增大了生附片固有心脏毒性。炙甘草组和干姜组对大鼠心脏无明显影响;生附+炙甘草组、生附+干姜+炙甘草组、干姜+炙甘草组对大鼠心脏无明显影响,表明炙甘草可显著对抗生附片、生附片配伍干姜对实验性大鼠的心脏毒性。

表 1 各组大鼠药物心脏毒性剂量、心率异常时间比较

组别	鼠数	心脏毒性剂量 (g/kg)	心率异常出现 时间(min)
正常组	20	—	—
生附组	20	6.52	12.36±1.51
干姜组	20	—	—
炙甘草组	20	—	—
生附+干姜组	20	4.19	6.18±1.09*
生附+炙甘草组	20	—	—
生附+干姜+炙甘草组	20	—	—
干姜+炙甘草组	20	—	—

注:与生附组比较,* $P<0.05$

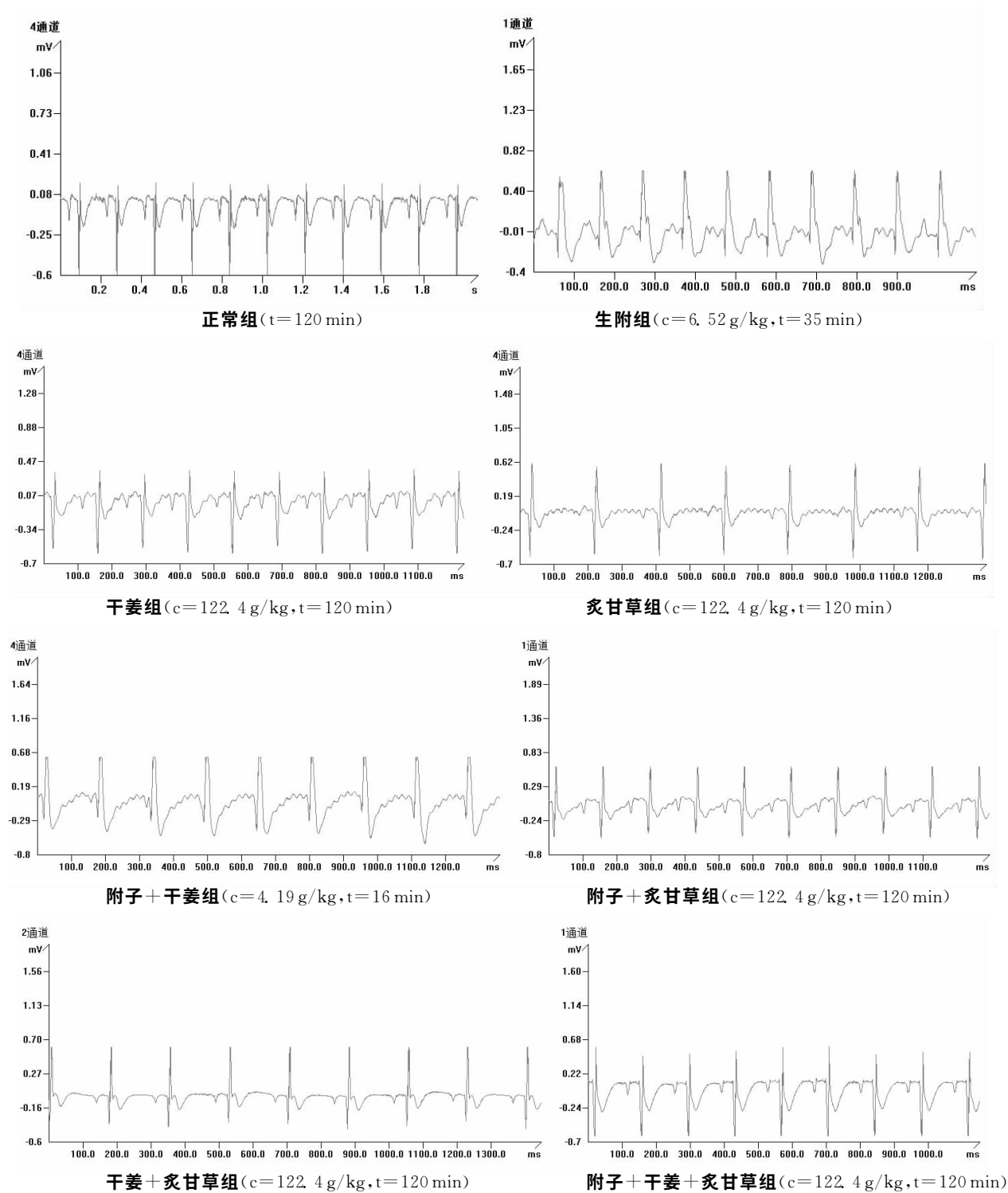


图 1 各组大鼠心电图结果
注：括号内 c 为给药量，t 为给药时间

2.3 各组大鼠心率异常出现时间比较

表 1 示，与生附组比较，生附+干姜组可显著缩短大鼠心脏毒性发生时间 ($P<0.05$)，说明生附片配伍干姜可增强毒性，更易诱发心率异常。干姜组、炙甘草组、生附+炙甘草组、干姜+炙甘草组、生

附+炙甘草+干姜组大鼠在 2h 观察时间范围内未出现心率异常，表明炙甘草可显著对抗生附片、生附片配伍干姜对实验性大鼠的心脏毒性。

3 讨论

附子为“回阳救逆第一要药”，其物质基础在于

附子具有强心作用成分,附子强心成分多为水溶性^[3-5],主要包括乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、杰斯乌头碱等^[6]。但对于正常人或实验动物,此类生物碱具有严重心脏毒副作用,主要表现在引起心律失常和抑制呼吸,其机理包括直接作用及中枢作用两方面。对心脏的毒性以频发性室性期前收缩最常见,且为多源性。其导致心律失常的主要原因是作为钠通道激动剂,使钠通道易于激活导致后除极和快速性心律失常,这是其正性肌力作用的机制^[7-9]。另有研究发现乌头碱还具有明显的钙通道阻滞作用,可能与其导致心律失常有关^[10]。另一方面,乌头碱对神经系统的影响首先兴奋—麻痹感觉神经,其次是兴奋胆碱能神经和呼吸中枢,出现一系列胆碱能神经M样和N样症状,最终因呼吸麻痹和中枢抑制导致死亡^[11]。

中医理论认为,附子性大热,忌用于脉数、身热等证,而干姜亦性热,归心经,干姜与附子同行属中医“热热配伍”。本研究显示,干姜自身对心脏并无毒性,但与生附片配伍可显著增强对正常大鼠的心脏毒性,其毒副作用强于生附片本身,主要表现在加速了生附片对心脏的毒副作用,缩短了心率紊乱发生时间,从物质基础角度来说,可能是干姜相伍附子,增大了乌头类生物碱的溶出率。但对于“亡阳证”,强心类乌头碱的溶出率增大就能加速“回阳救逆”,用于临床各类心力衰竭的治疗^[12-13]。

而炙甘草与附子、干姜同行可明显对抗其对正常大鼠的心脏毒副作用。现代研究表明,炙甘草对抗附子心脏毒性的物质基础在于炙甘草酸、炙甘草黄酮中和了乌头类生物碱或与之形成了络合物,而且这种对抗作用胜于干姜对附子中生物碱的促溶作用^[14-15]。配伍之后四逆汤的毒性大大降低,全方的毒性明显低于单味药及两两组合配伍,显示了复方配伍的又一特性,充分体现出中医的整体观,关于四逆汤配伍的内在规律和作用机理还有待进一步深入研究。

参考文献

- [1]王瑞,展晓日,乔延江,等. 附子总碱提取物的急性毒性实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8): 102-103.
- [2]周子渝. 基于附子“成分-药材-饮片-复方”毒性变化规律的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [3]黄勤挽,周子渝,刘荣华,等. 附子炮制历史沿革研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 269-271.
- [4]张帆,葛亮,哈木拉提·吾甫尔,等. 麻黄附子甘草汤的不同配伍方式对其毒性成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 83-85.
- [5]张广平,解素花,朱晓光,等. 附子甘草配伍减毒增效/存效实验研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 14(6): 31-34.
- [6]沈红,朱玲英,姚楠,等. 甘草与附子配伍对乌头碱、新乌头碱、次乌头碱大鼠药动学的影响[J]. 中药材, 2011, 6(8): 134-139.
- [7]陈建萍,谭炳炎,吴伟康,等. 四逆汤中附子甘草配伍规律研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 16-17.
- [8]杨明,刘小彬,黄庆德. 附子甘草配伍减毒增效机理探析[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(4): 197-198.
- [9]裴妙荣,王世民. 四逆汤中甘草对附子解毒作用的相关性分析[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(1): 50-52.
- [10]张盼盼,魏文跃,李岑,等. 附子理中丸中乌头碱类毒性成分的富集及检测[J]. 华西药学杂志, 2012, 5(11): 134-139.
- [11]沈红,朱玲英,姚楠,等. 甘草与附子配伍对乌头碱、新乌头碱、次乌头碱大鼠药动学的影响[J]. 中药材, 2011, 6(3): 46-51.
- [12]唐劲松. 附子、干姜组分配伍治疗心力衰竭作用机理研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2008.
- [13]王胜林,董耀荣. 附子水煎液对心梗后心力衰竭大鼠心室重构的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(增刊): 243-245.
- [14]裴妙荣,闫润红,王世民,等. 四逆汤配伍作用的化学及药效学研究[J]. 中药药理与临床, 1996(3): 10-13.
- [15]章津铭. 基于毒(效)组分“体外沉积、体内缓释”环节的附子—甘草配伍减毒作用机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.

(收稿日期: 2013-05-23; 修回日期: 2013-09-07)

[编辑: 邓 媛]

欢迎投稿

欢迎订阅