

## “973”专题——确有疗效的有毒中药科学应用关键问题的基础研究

## 药性理论指导的附子配伍减毒试验研究

张广平<sup>1</sup> 朱晓光<sup>1</sup> 杨海润<sup>1</sup> 张思玉<sup>1</sup> 叶祖光<sup>2</sup>

(1 中药复方新药开发国家工程研究中心,北京,100075; 2 中国中医科学院,北京,100700)

**摘要** 目的:以附子为研究对象,试验研究基于药性理论的附子配伍减毒的科学性,以探讨附子配伍减毒的新途径。方法:对以寒制热、以甘缓毒、以柔克刚、调正抑毒等四种附子配伍减毒理论进行验证性的毒理学试验,在试验中采用急性毒性和心脏毒性相结合的试验方法。结果:附子配伍寒性药物具有配伍减毒作用,和其他三种配伍减毒相比较,以寒制热的配伍减毒作用最强。结论:以药性理论为指导的配伍减毒可以使有毒中药配伍减毒一种新的思路和方法。

**关键词** 药性理论;配伍减毒;附子

## Research on Reducing Fuzi' toxicity under Guidance of Theory of Medicinal Nature

Zhang Guangping<sup>1</sup>, Ye Zuguang<sup>2</sup>

(1 State Research Center for New TCM medicinal formula, Beijing 100075, China;

2 China Academy of Chinese Medicinal Sciences, Beijing 100700, China)

**Abstract Objective:** In accordance with the theory of medicinal nature, we explored new ways of reducing toxicity of Fuzing by combining it with other medicinal herbs. **Methods:** By conducting toxicological experiments (acute toxicity in combination with cardiac toxicity), we tested four combination theories, i. e. using cold medicinal to inhibit hot medicinal, using sweet medicinal to relieve toxicity, using soft medicinal to curb tough medicinal, modifying toxicity. **Results:** Compared with combining with medicinal of sweet, or soft, or modifying nature, the combination with cold medicinal proved to be most significant at reducing Fuzi' toxicity. **Conclusion:** The theory of medicinal nature provides a new thinking and method to reduce Chinese medicine's toxicity.

**Key Words** Theory of medicinal nature; Reducing toxicity by medicinal combination; Fuzi

中图分类号:R229;R285.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.02.001

附子为毛茛科植物乌头(*Aconitum carmichaeli* Debx.)的子根的加工品,味辛、甘,性温、大热,有毒,入心、脾、肾经,始载于《神农本草经》,被誉为“回阳救逆第一品药”。附子为药典“有毒”中药,临床常见的不良反应为心律失常<sup>[1]</sup>。我国古代先贤应用附子积累了丰富的配伍减毒的经验,如附子相杀、相畏配伍减毒理论已经被现代研究证实具有一定的科学性<sup>[2]</sup>。除了上述相杀相畏配伍减毒之外,通过对含附子方剂的文献学研究,发现用于附子配伍减毒的药性理论大致有四种<sup>[3]</sup>:以寒制热、以甘缓毒、以柔克刚、调正抑毒。本实验的宗旨则是基于上述中药药性理论进行附子配伍减毒的研究。

## 1 实验材料

药材:附子(黑顺片),产地,四川;大枣,产地,山东;木通,产地,四川;栀子,产地,江西;大黄,产地,四川;黄芩,产地,河北;黄连,产地,四川。

均购自北京仁卫饮片厂。

实验药物的制备:附子加 10 倍量水浸泡 45 min,水沸腾后第 1 次煎煮 30 min,第 2 次加 6 倍量水,水沸后煎煮 30 min。4 层纱布过滤,合并 2 次煎液,将滤液水浴(70℃)浓缩后置冰箱冷藏保存备用。附子与其他各药物不同比例(3:1,1:1,1:3)煎剂制备方法同附子。

仪器:16 道生理记录仪:美国 BIOPAC 公司生产。

实验动物:ICR 小鼠,SPF 级,18~22 g;SD 大鼠,SPF 级,230~250 g,动物合格证号:SCXK(京)2006-0008,购自北京大学医学部。动物房实验设施为屏障系统,温度 20~24℃,相对湿度为 40%~70%,人工光照,12 h 明暗周期。为大、小鼠标准颗粒饲料。

## 2 实验方法

2.1 不同配伍比例药物对附子急性毒性影响 ICR 小鼠,体重 18~22 g,雌雄各半,适应性观察 3 d。小鼠

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)课题:有毒中药配伍减毒原理和方法学研究(编号:2009CB522806)

第一作者:张广平,助理研究员,研究方向:中药药理毒理,Tel:(010)87632551,E-mail:iamzg@163.com

通信作者:叶祖光,研究员,药理毒理专家,Tel:(010)87632551,E-mail:yezuguang@sina.com

禁食 16 h,按照设计的剂量给药 1 次,给药体积 0.4 mL/10 g 体重。给药当天,尤其是给药后 4 h 密切观察动物的毒性反应情况(如一般表现、呼吸、活动及有无惊厥等)、中毒症状发生的时间、持续时间、恢复情况,记录所观察到的变化,采用 Bliss 法计算半数致死剂量(LD<sub>50</sub>)。

2.2 不同配伍比例甘草对附子心脏毒性的影响 SD 大鼠,体重 230~250 g,雌雄各半。大鼠在实验前禁食不禁水 16 h,称重,3%戊巴比妥腹腔注射麻醉(30 mg/kg 体重),动物仰面固定,使用 MedLab 生物信号采集系统记录动物心电图状况,正向电极插入动物右上肢,负向电极插入动物左下肢,底线接右下肢,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下一步实验。动物腹部 75%乙醇消毒,打开动物腹腔,从胃幽门部进针,十二指肠注射给药,2 mL/100 g 体重。药后,使用 MedLab 生物信号采集系统连续观察 60 min,以心脏出现各类型的心律失常为心脏中毒的观察指标。

3 实验结果

3.1 附子配伍各药物后对附子急性毒性和心脏毒性表现影响 单用附子急性毒性,小鼠灌胃给药后,动物精神萎靡,中毒动物出现喘气,继而呼吸停止死亡;部分动物出现惊厥。给药后 20 min 动物开始出现死亡,存活动物在给药后 12 h 恢复正常饮水和进食。附子配伍各药物组的动物中毒表现特征同单用附子。附子对大鼠的心脏毒性主要表现为异常的 QRS 波。心律失常主要发生在给药后 20~45 min 之间。附子配伍各药物的合煎液心脏毒性表现的与单用附子相似。

3.2 附子配伍各药物后对附子 LD<sub>50</sub>的影响 以寒制热选择附子配伍大黄;附子配伍黄芩、黄连;附子配伍栀子;附子配伍木通观察配伍前后对附子毒性的影响。

实验结果:同单用附子比较,附子配伍各药后能够不同程度的增加附子的半数致死剂量,附子配伍大黄、黄芩三种不同比例由于给浓度的限制未能够测出 LD<sub>50</sub>。附子配伍黄连、栀子、木通在配伍药物高比例时减毒明显。心脏毒性与急性毒性具有良好的一致性。大黄、黄芩、黄连、栀子、木通能够提高附子急性毒性的 LD<sub>50</sub>和心脏毒性的 TD<sub>50</sub>,提示具有拮抗附子毒性的作用。对附子的减毒作用:大黄>黄芩>木通>栀子>黄连。结果见表 1。

3.3 以甘缓毒 选择附子配伍甘草;附子配伍大枣通观察配伍前后对附子毒性的影响。

实验结果:之前研究结果显示<sup>[4]</sup>,附子配伍甘草有明显的减毒作用,且减毒作用与甘草比例有一定的关

系。附子配伍大枣后对附子的毒性没有明显影响。心脏毒性与急性毒性具有良好的一致性。结果见表 2。

表 1 附子配伍各药 LD<sub>50</sub>和 TD<sub>50</sub>

| 配伍药物    | 配伍比例  | LD <sub>50</sub> | TD <sub>50</sub> |
|---------|-------|------------------|------------------|
|         |       | g(生药)/kg         | g(生药)/kg         |
| 附子      |       | 31.9             | 6.4              |
| 附子 + 大黄 | (3:1) | 未测出 >56          | 未测出 >14.8        |
|         | (1:1) | 未测出 >55          | 未测出 >13.2        |
|         | (1:3) | 未测出 >28          | 未测出 >5.6         |
| 附子 + 黄芩 | (3:1) | 未测出 >62.5        | 未测出 >12.5        |
|         | (1:1) | 未测出 >62.5        | 未测出 >10.0        |
|         | (1:3) | 未测出 >40          | 未测出 >8           |
| 附子 + 黄连 | (3:1) | 35.8             | 6.6              |
|         | (1:1) | 37.5             | 6.6              |
|         | (1:3) | 未测出 >28          | 未测出 >7           |
| 附子 + 木通 | (3:1) | 76.7             | 8                |
|         | (1:1) | 未测出 >32          | 未测出 >10          |
|         | (1:3) | 未测出 >40          | 未测出 >5           |
| 附子 + 栀子 | (3:1) | 35.8             | 5.3              |
|         | (1:1) | 39.9             | 5.6              |
|         | (1:3) | 未测出              | 未测出 >5           |

表 2 附子配伍各药 LD<sub>50</sub>和 TD<sub>50</sub>

| 配伍药物    | 配伍比例  | LD <sub>50</sub> | TD <sub>50</sub> |
|---------|-------|------------------|------------------|
|         |       | g(生药)/kg         | g(生药)/kg         |
| 附子      |       | 15.7             | 5.3              |
| 附子 + 大枣 | (3:1) | 17.5             | 6.2              |
|         | (1:1) | 18               | 5.7              |
|         | (1:3) | 18.8             | 6.1              |

3.4 以柔克刚 选择附子配伍地黄(熟地黄、生地黄);附子配伍山药;附子配伍白芍通观察配伍前后对附子毒性的影响。

实验结果:单用附子配伍山药急性毒性 LD<sub>50</sub>升高,但是对心脏毒性没有明显影响。附子配伍生地黄、熟地黄、白芍后对其毒性没有明显影响,结果见表 3。

表 3 附子配伍各药 LD<sub>50</sub>和 TD<sub>50</sub>

| 配伍药物     | 配伍比例  | LD <sub>50</sub> | TD <sub>50</sub> |
|----------|-------|------------------|------------------|
|          |       | g(生药)/kg         | g(生药)/kg         |
| 附子       |       | 12               | 4.3              |
| 附子 + 山药  | (3:1) | 14.5             | 4.4              |
|          | (1:1) | 17.3             | 4.7              |
|          | (1:3) | 19.6             | 5                |
| 附子 + 生地黄 | (3:1) | 11.6             | 3.9              |
|          | (1:1) | 13.7             | 4.8              |
|          | (1:3) | 14.7             | 4.8              |
| 附子 + 熟地黄 | (3:1) | 13               | 4                |
|          | (1:1) | 13.2             | 4.3              |
|          | (1:3) | 12.6             | 4.8              |
| 附子 + 白芍  | (3:1) | 10.7             | 4                |
|          | (1:1) | 12               | 4.1              |
|          | (1:3) | 14.6             | 4.1              |

3.5 调正抑毒 选择附子配伍人参;附子配伍黄芪;附子配伍白术;附子配伍茯苓通观察配伍前后对附子毒性的影响。

实验结果:同单用附子比较,附子配伍人参能够增加半数致死剂量和半数中毒剂量。附子配伍白术、茯苓对附子毒性没有明显影响。心脏毒性与急性毒性具有良好的一致性。结果见表 4。

表 4 附子配伍各药 LD<sub>50</sub> 和 TD<sub>50</sub>

| 配伍药物    | 配伍比例  | LD <sub>50</sub><br>g(生药)/kg | TD <sub>50</sub><br>g(生药)/kg |
|---------|-------|------------------------------|------------------------------|
| 附子      |       | 9.7                          | 3.9                          |
| 附子 + 人参 | (3:1) | 11.4                         | 4.2                          |
|         | (1:1) | 11.2                         | 5.4                          |
|         | (1:3) | 15.9                         | 5.9                          |
| 附子 + 白术 | (3:1) | 10.1                         | 4                            |
|         | (1:1) | 11.2                         | 4.3                          |
|         | (1:3) | 11.4                         | 4.2                          |
| 附子 + 茯苓 | (3:1) | 13                           | 4                            |
|         | (1:1) | 13.2                         | 4.3                          |
|         | (1:3) | 12.6                         | 4.8                          |

#### 4 讨论

本实验以附子为研究对象,通过方剂配伍中两味或多味药物之间药性功能、作用特点等方面相互对立、相互统一、相制相用的配伍关系,从而达到纠偏减毒的作用,探讨以药性理论为指导的有毒中药配伍减毒的研究思路。

收集和整理含有附子方剂,统计出与附子常用的配伍药物,从中药药性的角度对数据进行分析,结合历代本草及方论中有关附子配伍的阐述,确定附子药性配伍规律:以寒制热,寒热者,阴阳之化也,以寒制热是中医阴阳对立制约理论指导药物配伍的重要原则。附子辛热燥烈,易伤阴劫液,配以寒凉降泄之品,寒凉以制燥烈之偏,降泄以导热毒外出,可达减毒之效。常用配伍大黄、黄芩、黄连、栀子、木通。以甘缓毒,甘味药具有缓急、缓和的作用,可调和药性,缓急解毒。附子燥热峻猛毒烈,配伍甘润之品可收和药缓急制毒之效。常用配伍甘草、大枣。以柔克刚,附子通行十二经脉,善扶五脏之阳,为通脉止痛,助阳散寒之良药,但其性燥烈辛热,用之不当,每能耗散阴津,产生流弊,不仅于病无益,反使正气愈伤,病情愈为复杂,所谓“寒病未已,热病复起”。对素体阴津不足或津血已伤之患者,尤须慎重。配以地黄、山药、白芍等甘润阴柔之品,则可纠弊防偏。调正抑毒,附子辛热走散,固然可以温阳逐寒,但因其刚燥辛烈,若恣情直往,或反复使用,每易耗散正气,使机体耐毒排毒能力减弱而更易中毒;而对元阳欲脱之证,适用大辛大热,则有暴散虚阳之虞。配

伍甘补扶弱之品如人参、黄芪、甘草等,可调正固本以制其毒。即《神农本草经集注》所谓:“世方动用附子,皆须甘草或人参……相配者,正以制其毒故也。”配伍人参、甘草、白术、茯苓,可奏调正抑毒之功<sup>[3]</sup>。

在实验中采用急性毒性和附子毒性靶器官心脏毒性等两种毒性试验方法评价附子配伍各药物后对附子毒性的影响。在以寒制热、以甘缓毒、以柔克刚和调正抑毒等四种基于药性理论的配伍减毒试验中,附子配伍大黄、黄芩、黄连、栀子、木通等几味寒性中药均有一定的减毒作用,其中以大黄和黄芩的减毒作用最强;以甘缓毒的配伍减毒试验中,在受试的两味药物中,只有甘草具有明显的减毒作用<sup>[4]</sup>,而另一味甘味中药大枣没有明显减毒作用;在以柔克刚的配伍减毒试验中,在附子配伍地黄(熟地黄和生地黄)、山药和白芍等滋阴药物中,仅有山药在急性毒性中具有减毒作用,而其他药物均没有明显的减毒作用;在扶正抑毒的试验中,附子配伍人参、白术和茯苓的试验中,附子配伍人参具有一定减毒作用,其他皆无减毒作用。比较上述四种配伍减毒的实验结果,以寒制热配伍理论指导下的附子配伍减毒作用最强,这不仅表现在减毒作用的效能上,而且还表现在受试药出行阳性结果的比例上,以寒制热均优于其他三种配伍类型。这一研究结果可能对附子的临床安全用药具有一定的参考意义。此外,在上述配伍减毒的试验中,多数结果表明附子配伍各药物的急性毒性和心脏毒性两种实验结果有较好的一致性,这说明这些具有减毒作用的配伍中药可能是通过拮抗附子心脏的毒性或者保护心脏而达到配伍减毒作用的,例如黄芩拮抗附子心脏毒性,最近有人报道黄芩的有效成分黄芩苷具有明显的心脏保护作用<sup>[5]</sup>。

如前所述,附子配伍寒性药物具有减毒作用,但其减毒的同时是否对附子药效也有影响(减毒存效)以及附子配伍寒性药物减毒的机理有待于下一步研究。

#### 参考文献

- [1] 朱林平. 附子毒性研究概况[J]. 江西中医药, 2004, 25(6): 54.
- [2] 张广平, 解素花, 朱晓光, 等. 附子相杀、相畏惧配伍减毒的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(15): 2215 - 2217.
- [3] 王均宁, 张成博, 鲍捷, 等. 基于方剂组成统计分析的附子减毒配伍规律探讨[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(5): 23 - 26.
- [4] 解素花, 张广平, 孙桂波, 等. 附子甘草不同配伍比例配伍减毒实验研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(15): 2210 - 2213.
- [5] Wei - Tien Chang, Jing Li, Matthew S. Vanden Hoek, Xiangdong Zhu, Chang - Qing Li, Hsien - Hao Huang, Chin - Wang Hsu, Qiang Zhong, Juan Li, Sy - Jou Chen, Terry L. Vanden Hoek and Zuo - Hui Shao[J]. Am J Chin Med, 2013, 41(2): 315 - 318.