

· 实验研究 ·

甘草制剂治疗百草枯中毒的动物实验观察

Animal study on effect of glycyrrhiza preparation on Paraquat Poisoning

朱桂林¹, 杨佩钢¹, 陈卫平², 施惠平¹, 李毅敏², 陈三凤¹, 史军¹, 陆志义¹, 种影影², 高建波²

ZHU Gui Lin, YANG Pei gang, CHEN Wei ping, SHI Hui ping, LI Yi min, CHEN San feng, SHI Jun, LU Zhi yi, ZHONG Ying ying, GAO Jian bo

(1. 天津市第三医院 天津市职业病防治院, 天津 300250 2. 天津市医药科学研究所, 天津 300000)

摘要: 采用 20% 百草枯以不同剂量使大、小鼠中毒, 分别进行激素、扶正解毒活血排毒 (甘草、黑豆、丹参、大黄制剂)、扶正解毒活血 (甘草、黑豆、丹参制剂)、扶正解毒 (甘草、黑豆制剂) 和中西药结合 (甘草、黑豆、丹参、大黄+激素) 治疗。结果与中毒模型对照组比较, 存活率、生化指标的改善和肺系数的降低、肺病理的减轻, 以扶正解毒活血排毒组和中西药结合组较好 ($P < 0.05$), 其中死亡率、生化指标的改善以中西药结合组最好。

关键词: 中毒; 百草枯; 扶正解毒活血排毒

中图分类号: R139.3 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2008)05-0312-03

百草枯 (Paraquat PQ), 又名对草快, 国内商品名为克芜踪, 为联吡啶类除草剂, 属中等毒性; 化学名 1,1-甲基-4,4-联吡啶阳离子盐, 一般制成二氯化物或二硫酸甲酯; 分子式为 $C_{12}H_{14}N_2Cl_2$, 相对分子量 257.2 纯品为白色结晶, 以阳离子形式存在, 易溶于水, 微溶于乙醇, 300℃左右分解。商品用 20% 克芜踪为蓝色溶液, 在酸性及中性溶液中稳定, 遇碱水解, 对金属有腐蚀性。本品属速效触杀性除草剂, 喷洒后能很快发挥作用, 接触土壤后迅速失活。虽然在常规的农业使用中已经证明了百草枯的安全性, 但是一旦人口服后, 由于尚无特效解毒剂, 有报道临床病死率高达 80%^[1]。我们在辩证论治结合甘草能“解百毒”治疗多种中毒症的基础上, 用以甘草为主的系列方治疗百草枯中毒大鼠, 现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及药品

百草枯, 为 20% 水剂, 深绿色, 先正达南通作物保护有限公司生产, 生产日期: 2004-06-10 批号 NT001563 BA

活性氧测定试剂盒、丙二醛测定试剂盒、肌酐测定试剂盒, 南京建成生物工程研究所产品。地塞米松磷酸钠注射液, 5 mg/ml 生产日期: 2004-12-10 批号: 0412101 有效期至 2006 年 11 月。

甘草 (产于东北)、黑豆、丹参 (产于河北)、大黄 (产于

于四川), 均购于天津第三医院。

扶正解毒活血排毒方水提取液 (甘草、黑豆、丹参、大黄), 浅棕色, 含量 0.82 g 生药/ml 扶正解毒活血方水提取液 (甘草、黑豆、丹参), 浅棕色, 含量 0.75 g 生药/ml 扶正解毒方水提取液 (甘草、黑豆), 含量 0.78 g 生药/ml 均由天津市第三医院提供, 冰箱 6℃ 保存, 取适量药液经水浴加温至 30℃ 供试验用。

1.2 实验方法

1.2.1 小鼠实验 昆明种小鼠, 体重 18~20 g 雌雄兼用, 由北京大学医学部实验动物科学部提供, 许可证编号 SCXK (京) 2002-0001 实验环境温度控制在 22~23℃, 相对湿度 40%, 光照时间 12 h 实验动物使用许可证号 SYXK (津) 2005-0001

1.2.1.1 甘草制剂扶正解毒活血方剂急性毒性试验 将小鼠随机分为对照组和给药组, 雌雄各 10 只, 禁食 (不禁水) 16 h 后, 按 40 ml/kg 灌胃给药 (为小鼠最大给药体积, 相当于 130 g 生药/kg), 对照组灌胃同体积蒸馏水, 观察 14 d 中小鼠状况及体重变化。14 d 中, 给药组小鼠活动正常, 未见兴奋、躁动、惊厥或其他异常现象; 口、鼻、尾等部位颜色红润, 无发绀等异常; 毛发光泽, 摄食饮水和排便未见异常。与对照组比较, 体重增长无统计学意义。

1.2.1.2 百草枯中毒小鼠的模型建立 新鲜配制的 6 种浓度百草枯溶液, 均按 20 ml/kg 分别为提前禁食 15 h (不禁水) 的 6 组小鼠灌胃染毒, 随后正常喂养 15 d 观察小鼠反应情况。按改良寇氏法计算百草枯小鼠经口染毒的半数致死量 (LD_{50})。染毒当日, 高剂量组小鼠逐渐表现活动较少; 第二天, 开始出现鼠尾发绀和小鼠死亡。经统计处理, 百草枯小鼠经口染毒的 LD_{50} 为 95.59 mg/kg 其 95% 可信限为 87.73~104.15 mg/kg^[2,3]。

1.2.1.3 甘草制剂扶正解毒活血排毒系列方剂对百草枯中毒小鼠死亡率的影响实验 将实验小鼠分为 7 组。第 1 组, 正常对照组 (不染毒不治疗); 第 2 组, 模型对照组 (染毒不治疗); 第 3 组, 激素治疗 (染毒治疗); 第 4 组, 扶正解毒活血排毒组 (染毒治疗) (扶正解毒活血排毒方: 甘草、黑豆、丹参、大黄水煎浓缩, 灌胃); 第 5 组, 扶正解毒活血组 (染毒治疗) (甘草、黑豆、丹参水煎浓缩, 灌胃); 第 6 组, 扶正解毒组 (染毒治疗) (甘草、黑豆水煎浓缩, 灌胃); 第 7 组, 中西药结合组 (染毒治疗) (用药同 3 组+4 组)。参考百草枯急性毒性试验结果, 除正常对照组外, 其余各组小鼠均灌

收稿日期: 2008-05-29 修回日期: 2008-08-05

基金项目: 天津市卫生局中医、中西医结合项目基金 (编号: 03031)

作者简介: 朱桂林 (1950-), 男, 中医副主任医师, 主要从事职业中毒临床工作。

胃给予百草枯 160 mg/kg 30 min后, 激素治疗组给予地塞米松 0.8 mg/kg 其余各组分别给药20 ml/kg 每天 2次, 连续 7 d 停药后继续饲养观察 7 d

1.2.2 大鼠实验 SD大鼠, 体重 320~350 g 实验动物提供、实验环境温度、相对湿度、光照时间同小鼠实验, 实验动物使用许可证号 SYXK(津) 2005-0001

将实验大鼠按小鼠实验分组方式分为 7组, 每组大鼠 10只, 雌雄各半。将大鼠禁食(不禁水) 12 h后, 除正常对照组外, 其余各组大鼠均一次灌胃给予百草枯 40 mg/kg 30 min后激素治疗组每天 0.8 mg/kg给药, 其余各组分别灌胃给药 20 ml/kg 每天 2次, 间隔 6 h连续 5 d 末次给药后 1 h 将大鼠用戊巴比妥钠 45 mg/kg ip注射麻醉, 腹主动脉取血, 做血清活性氧、丙二醛和肌酐测定; 取大鼠肺测定肺重, 并计算肺系数: 肺湿重(g)/体重(g) × 100%; 将肺用福尔马林固定, 进行病理组织学分析。

1.3 统计学方法

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS11.0进行多组间方差分析。

2 结果

2.1 甘草制剂系列方对百草枯中毒小鼠死亡率的影响

从小鼠灌胃给予百草枯染毒后第 2天开始, 小鼠陆续发生死亡。各给药组小鼠死亡发生时间有不同程度推迟, 第 6天以后不再发生新的死亡, 7 d中各组小鼠发生死亡情况见表 1 与模型对照组比照, 扶正解毒活血排毒组和中西药结合组小鼠死亡明显减少 (P<0.05)。

表 1 不同组别百草枯中毒小鼠死亡情况

组别	染毒天数						总死亡率 (%)
	2	3	4	5	6	7	
正常对照							
模型对照	1	2	3	4	3		86.6
地塞米松	1	2	2	2	3		66.6
扶正解毒活血排毒		1	2	2	2		46.6*
扶正解毒活血		1	2	3	3		60
扶正解毒		2	1	3	3		60
中西药结合		2	1	1	2		40*

与模型对照组比较, * P<0.05

2.2 甘草制剂系列方对百草枯中毒大鼠生化指标的影响

与正常对照组比较, 模型对照组大鼠的血清肌酐、丙二醛及活性氧各生化指标均明显升高。与模型对照组比较, 各给药治疗组血清肌酐、丙二醛及活性氧均有不同程度降低; 其中扶正解毒活血排毒组及地塞米松组血清肌酐、活性氧浓度明显降低 (P<0.05), 扶正解毒活血排毒组血清丙二醛明显降低 (P<0.01); 中西药结合组作用更强, 差异有统计学意义, P<0.05 结果见表 2

2.3 对肺系数的影响

与正常对照组比较, 模型对照组大鼠肺系数均有不同程度提高, 但差异无统计学意义。与模型对照组比较, 除激素组外, 其余各给药组肺系数有不同程度降低, 以扶正解毒活

血排毒组和扶正解毒组、中西药结合组(雌)肺系数的降低差异有统计学意义 (P<0.05)。结果见表 3

表 2 对大鼠血清肌酐、丙二醛及活性氧的影响 (n=10)

组别	肌酐 (μmol/L)	丙二醛 (nmol/L)	活性氧 (μmol/L)
正常对照	151.0±9.4***	4.80±1.86**	1147.4±181.5***
模型对照	192.8±16.1	8.02±1.90	1764.1±181.8
地塞米松	175.8±13.3	6.15±2.08	1500.5±194.6*
扶正解毒活血排毒	172.9±15.8*	5.12±1.35**	1494.2±156.4*
扶正解毒活血	175.1±24.0	5.62±1.81*	1585.5±221.3
扶正解毒	181.4±14.0	5.99±1.76	1611.4±274.0
中西药结合	171.9±14.0*	4.90±1.11**	1459.7±286.1*

对正常对照组比较, * P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

表 3 各组药物对大鼠肺系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	雌性	雄性
正常对照	0.574±0.056	0.497±0.019
模型对照	0.584±0.057	0.522±0.029
地塞米松	0.578±0.073	0.552±0.058
扶正解毒活血排毒	0.541±0.098	0.467±0.036*
扶正解毒活血	0.532±0.066	0.481±0.073
扶正解毒	0.505±0.045	0.465±0.068*
中西药结合	0.476±0.074*	0.543±0.049

与模型对照组比较, * P<0.05

2.4 肺组织病理观察

各组大鼠肺组织病理观察结果见表 4

表 4 肺组织病理观察

组别	肺泡壁 增厚	毛细血 管扩张	充血	红细胞 渗出	炎细胞 浸润
正常对照	—	—	—	—	—
模型对照	+++	+++	+++	+++	+++
地塞米松	++	+++	+++	++	++
扶正解毒活血排毒	+	++	++	++	+
扶正解毒活血	++	++	++	++	++
扶正解毒	++	+++	+++	+++	++
中西药结合	++	+++	++	++	++

注: —, 未见病理改变; +, 轻度病理改变, ++, 中度病理改变; +++, 重度病理改变。

3 讨论

百草枯有强烈的刺激性和腐蚀性, 经口、皮肤均可致中毒, 死亡率较高。百草枯进入体内后, 可生成大量的活性氧自由基, 从而引起组织的氧化性损伤。尤其肺泡细胞对百草枯具有主动摄取和蓄积特性, 以肺损伤最重。严重者导致肺纤维化死亡, 并可引起心、肝、肾等多脏器功能损伤或衰竭^[1-3]。

百草枯中毒一般于病程的 2~3 d开始进行性加重, 7~10 d稳定。根据我们的实验条件和周期, 实验观察为 7 d

中医治病求本, 本病源于中毒, 毒损气血, 故解毒扶正首选甘草, 辅以黑豆。气血受损, 血淤毒聚, 用丹参、大黄

活血排毒，以减毒活血，共奏扶正解毒活血排毒之功。现代药研证明，上四味药均有清除氧自由基的作用^[3 8~10]。

我们的实验显示，中药扶正解毒活血排毒和中西药结合组能明显提高百草枯中毒大鼠氧自由基的清除率、降低血肌酐含量、降低死亡率（ $P<0.05$ ），实验结果显示中西药结合组更好，但与中药组差异无统计学意义。中药扶正解毒活血排毒方使百草枯中毒大鼠肺组织病理改变明显减轻，肺系数明显降低（ $P<0.05$ ）。

本实验中激素组没有显示最佳效果，实验动物的激素用量是 0.8 mg/kg ，可能与激素的用量有关。如再加大剂量可能会有不同的实验结果，有待于再实验证实。

由于目前百草枯中毒机制尚不完全清楚^[4]，百草枯在体内的代谢过程及其对机体的损伤尚未全知，因此，重视“解百毒”的研究有其现实意义。甘草是中医“解百毒”的主药，后世医家无不遵循^[5]。目前已知甘草中有“葡萄糖醛酸”的“广谱解毒”因素，对 30 多种毒物有解毒作用^[6]。中医本草学认为甘草“和百药，解百毒”、“入十二经”、“主五脏六腑寒热邪气，坚筋骨、长肌肉、倍力”^[7]。

上述古今对甘草解百毒的认识似可以概括为广谱解毒和调节、提高人体自身解毒排毒能力两个方面，这两个方面可能是对“百草枯”中毒大鼠有治疗意义的因素。其复方的作

用机制，还需要进一步研究。

参考文献：

- [1] 王志祥，段玉玲，马福来，等. 急性百草枯中毒致多器官功能衰竭的发病机理及临床治疗 [J]. 中国综合临床，2002 18（7）：616-617
- [2] 韩冬明，王清华，孙道明，等. 百草枯中毒 14例肺部 X射线与 CT表现 [J]. 郑州大学学报（医学版），2004 39（1）：162-163.
- [3] 徐艳，曲婷婷. 甘草消除氧自由基的体外研究 [J]. 食品研究与开发 2006 27（8）：63-66
- [4] 王麦德，王超，胡晓华，等. 血液灌流救治急性百草枯中毒的临床观察 [J]. 中华内科杂志，2004 43（7）：537-538
- [5] 吕春霞. 甘草临床应用概况 [J]. 内蒙古中医学，2003 18（5）：308-309.
- [6] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海：上海科学技术出版社，1985 567.
- [7] 清·杨炎 辑. 神农本草 [M]. 北京：中医古籍出版社，1982 34.
- [8] 杨卫东，朱鸿良. 丹参的氧自由基清除作用 [J]. 中国药理学通报，1990 6（2）：118-121
- [9] 龙盛京，钱莹. 几种黑色与淡色食物抗活性氧致死的比较研究 [J]. 营养学报，1997 4 23-25
- [10] 吴生满. 大黄提取物对氧自由基的清除效果研究 [J]. 青海大学学报，2006 2 56-57.

沙棘油和五味子乙素对镉致大鼠急性肝损伤的影响

Effect of Fructus Hippophae Oil and Schizandrin B on acute hepatic injury by cadmium in rats

王飞，徐兆发^{*}，冯雪英，关坤，徐斌，邓宇

WANG Fei, XU Zhao fa^{*}, FENG Xue Ying, GUAN Kun, XU Bin, DENG Yu

（中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室，辽宁 沈阳 110001）

摘要：将实验用 Wistar 大鼠 32 只，按体重随机分为 4 组，第 1 组为对照组，第 2 组为单纯染镉组，第 3 组和第 4 组为沙棘油（SBO）和五味子乙素（Sch B）预处理组，测定血清乳酸脱氢酶（LDH）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）活性，肝丙二醛（MDA）、谷胱甘肽（GSH）含量及谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）、超氧化物歧化酶（SOD）活性。与对照组比较，单纯染镉组的血清 LDH、ALT 活性及肝 MDA、GSH 含量显著升高，肝 GSH-Px、SOD 活性显著降低（ $P<0.01$ ）。与单纯染镉组比较，SBO 干预组的血清 LDH、ALT 活性、肝 MDA、GSH 含量显著降低，GSH-Px、SOD 活性显著升高（ $P<0.01$ ）；Sch B 干预组的血清 LDH、ALT 活性及肝 MDA、GSH 含量明显降低（ $P<0.01$ ），GSH-Px 活性升高，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。提示 SBO 和 Sch B 对镉急性肝氧化损伤具有一定的拮抗作用。

关键词：镉；沙棘油；五味子乙素；肝损伤

中图分类号：O614.242 R595 文献标识码：B

文章编号：1002-221X(2008)05-0314-03

镉是环境中广泛存在的重金属毒物之一，急性镉暴露可以损害机体多种靶器官组织，如肾脏和肝脏等。镉对肝、肾的损害与氧化损伤、氧化应激密切相关^[1]。沙棘油（Sea Buckthorn Oil SBO）内含维生素 E、脂肪酸、脂类、黄酮和酚类以及 β -胡萝卜素等多种生物活性物质，具有抗氧化、抗放射、抗炎、抗过敏等作用^[2]。五味子乙素（Schizandrin B Sch B）是中药五味子的有效成分之一，其显著的抗氧化活性早已有报道^[3]。本实验研究的主要目的是通过观察 SBO 和 Sch B 预处理对镉急性肝损伤的影响，为镉中毒的发病机制和防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组及染毒

由中国医科大学实验动物中心提供 Wistar 大鼠 32 只，体重（ 180 ± 10 ）g，雌雄各半。正式实验前适应性喂饲 7 d，按体重随机分为 4 组，每组 8 只。第 1 组为对照组，第 2 组为单纯染镉组，两组均先灌胃 0.9% 生理盐水，第 3、4 组为干预

收稿日期：2008-04-15 修回日期：2008-06-27

作者简介：王飞（1984-），女，硕士研究生，研究方向：重金属中毒及防治。

^{*}：通讯作者，教授，博士生导师。