

在“反药”实验中对动物实验设计的几点看法*

——兼与姚宪章同志商榷

张 余 森

(四川省荣昌畜牧兽医学校中兽医教研组)

中草药配伍禁忌中的“十八反”，在古代的《本草》和现代的中草药学中，都比较普遍地沿用古籍有关的记载。但任何一册药书书籍，又都从未作过任何解释，也无任何明确的结论。因此，为了继承和发扬祖国医药学和兽医学的宝贵遗产，探讨“反药”在配伍后所发生的变化，不少医药学和中兽医学工作者，都付出过不少辛勤劳动，进行了大量的实验研究工作。但是，由于实验设计、观察方法、使用的实验动物和实验条件的不同，因而导致不同的结果。即以“甘草反甘遂”为例，据近年来动物实验的资料报道，就有三种截然不同的结果。如有的报道指出：甘遂与甘草配伍后毒性增强，其毒性增强的程度，随伍用的甘草剂量的加大而增大^[1]；甚至有的实验还证明二药混合后，可以致死豚鼠^[2]；但也有实验报道二药经配伍后，对实验动物的呼吸、心脏、体温、瞳孔反应、胃肠功能都没有产生特别的变化^[3]；也有通过动物实验得出相反的结论：在甘草等于或小于甘遂量时，有时还能解除甘遂的付作用^[4]。为了“古为今用”、“推陈出新”，进一步探求“反药”的实质和避免不必要的重复，如何使这项实验研究工作更有成效，能更好地为临证实践服务，通过学习四川省大足县农业局姚宪章同志在《动物学志杂》1977年第2期上发表的《对反药甘草和芫花的动物实验及利用》(以下简称《实验及利用》)一文，深受启发，收益甚大。但对其中某些问题，有一些不同看法。现就动物实验设计中的有关问题，提出几点不成熟的意见。

一项动物实验工作能否达到比较确实可靠的结论，在于实验前的周密考虑和拟订出尽可能细致、客观和符合临证要求的动物实验设计。特别在有关“反药”的动物实验设计中，以下几个问题，似更应引起我们的注意：

一、实验药物的选定

中草药目前还普遍存在“同名异物”和“同物异名”的现象，因此选定“反药”实验用的药物，必须经过生药的鉴定，而且最好能将目前全国多数地区比较常用的“同名异物”的药物分成若干个不同的药物组，进行比

较实验，从而使实验结果能更符合临证用药实际，更符合科学性。“实验及利用”一文所用之芫花(*Daphne genkwa* Sieb. et Zucc.)乃属瑞香科植物，又名南芫花、药鱼草、芫花条、老鼠花、金腰带，但也有不少地区却采用同科植物黄芫花(*Wikstroemia Chamaedaphne* Meissn.)，又名北芫花、醉鱼草黄芫花、河朔芫花。前者主含芫花黄硷素，后者主含皂甙；前者性温、味苦辛，后者性寒、味苦。二者性味不同，功能有异。故《中药鉴别手册》于该药中特别指出：“两种芫花功用及疗效不尽相同。……作为两种药材使用为宜”^[5]。因此，若不将二者比较进行实验，其结论也就不尽全面了。

又如大戟，多数地区使用茜草科植物红大戟(*Knoxia valerianoides* Thorel)，而我们四川等地则多用大戟科的京大戟(*Euphorbia Pekinensis* Rupr.)，前者主含蒽醌类化合物，多用于解毒疗疮；而后者主含大戟甙，多用以泻水逐饮。此外，有的地区还以豆科植物美丽胡枝子[*Lespedeza formosa* (Vog.) Kochne]和大叶胡枝子(*Lespedeza elavidij* Franch.)入药，甚至个别地区还使用瑞香科所属的狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)等等。因此，在动物实验设计中，不对实验用的药物进行生药鉴定和比较进行实验，则很难得出有科学价值的结论。

另外，由于因动物实验设计比较完整，观察项目又比较系统、完善，一项实验有时在一个短时期内不可能完成，而必须分阶段进行者，其使用的药物，力求一致，避免发生因采购的地点、时间不同，其生药所含的成分有异而影响实验的结果。对于确需使用不同地区和不同时期采购之药物，使用前都必须重新一一分别进行生药鉴定，决不可未经鉴定，轻率使用，而造成错误的结果。

二、实验动物的选择及应观察的项目

由于实验的目的和要求的不同和因不同的动物具

* 本文蒙我校中兽医教研组郑动才老师审阅，谨此致谢。

有不同的生理特点,所以在不同的动物实验中,就应选用不同的实验动物。一般人医多以青蛙、蟾蜍、小白鼠、天竺鼠、兔、猫、犬和猴等供作实验动物。而在兽医,为了更紧密地结合临证实际,除可选用上述实验动物中的某些动物外,更多地应以猪、羊、牛、马等供作实验对象。不论是作“反药”的实验,或其它的实验,总以选用两种(其中一种最好是反刍动物),或两种以上的与服务对象有关的实验动物为宜。除注意选用不同种类的实验动物外,还必须留意下列各点:

1、动物的健康状况

健康动物对药物的耐受量往往比不健康动物为大。因此,不健康的动物供作实验动物,对实验药物的反应就比较明显,也易于中毒,从而影响结论的判断。健康家畜的瘤胃蠕动,如“牛每2分钟应蠕动2—5次;山羊2—4次”^[6]。而《实验及利用》一文中,前后两次实验所选用的实验动物(从文字上看不出指的是耕牛或山羊),在实验前已测知其瘤胃蠕动每2分钟仅1次,这本来是明显的不健康动物,但仍用于实验,因此,前后两次得出的“由每2分钟1次,增加到2次”和“如瘤胃蠕动由每2分钟1次增加到每2分钟4次,且声音洪亮”的结论,就值得商榷了。显然,用这样的结果来说明“甘草少,芫花多,毒性不大;芫花少,甘草多,则毒性较大,其毒力随着甘草加大而增强”的结论,说服力是不强的,也缺乏科学性。

2、实验动物的数量

在“反药”动物实验中,所选用的实验动物一般均应分组进行。至于每个组应有多少实验动物,应根据可能有的条件而定。一般在同一个组内,至少应有三只或三只以上的实验动物,过少则影响结论的可靠性。而结论的正确与否,又常与实验的科学性有关。在严密设计和精心观察的情况下,实验动物多,可靠性就大。但如果设计不严密,观察不细致,即使一组用几十头、上百头的实验动物,仍然有可能得不出结果,或者得出错误的结论。“实验及利用”的作者,只笼统介绍了“耕牛10余头;山羊20余只”,如何分组实验没有加以说明,而且前后两次实验,也只描述了一只动物的实验结果。因此,这样的实验结果是欠妥的。

3、实验动物的个体大小和体况

一般来说,不同大小的个体对等量药物的反应是不同的;体况差的动物,在进行“反药”实验时,一方面它比较容易发生中毒;另一方面它的反应也很弱,因而它所能表现出来的反应也往往比较不够明显,这些都会使我们观察不出结果来,或得出错误的结论。因此,在进行分组时应把体况、体重、功能状态、神经类型大体相同的动物,分别组合在同一个组,并设对照组。

动物的性别、怀孕、发情对实验药物亦均有不同的反应,分析实验材料时,亦应加以认真考虑。

在“反药”实验设计中,设立哪些观察项目,应作充

分的考虑,并制订尽可能详尽周密的设计,才能保证得出科学的结论。而设立观察项目,又必须注意“中西结合”和把现实可能性结合起来。作不到的,暂时条件还不具备的,不要勉强去作,以免因操作不熟练或仪敏感性能低等因素而影响结论的准确性。

在动物实验设计中,需要观察的项目,以牛为例,在一般的条件下,可以考虑设立如下一些项目:

体温、呼吸、脉搏的测定及心音的变化;饮、食欲的观察和量的计算;咀嚼、反刍、嗝气的记录;胃肠蠕动的记载;

口色、脉象、津液、粪、尿的直接观察和测定。

在有实验室设备的条件下,还可设立下列项目:

尿液检查:包括尿量、透明度、颜色、气味、粘稠度、比重以及尿液的化学性质(包括pH、蛋白质、蛋白胨、葡萄糖、血液及血红蛋白、酮体、胆色素、尿兰母等)。在必要时也可检查尿沉渣,特别是尿中的有机物,如上皮细胞、白血球、红血球及尿管柱等。

粪便检查:除一般应设立粪便形状、硬度、颜色(要注意实验前给予相同的饲料和饮水)、气味等外,尤应作潜血试验和粪胆素的检查。

血液检查:应设立血沉、血红蛋白、血硷储、血钙、红、白细胞计数、白血球分类计数、胆红质的测定等。

此外,条件许可时,特别在某些药物对肝脏损害严重时,可设立肝功能检查的项目。

由于“反药”的实验内容极为广泛,而每次实验的目的又各不相同。因此,具体设立哪些主要观察项目,应根据不同实验药物和不同的实验目的而定。如“藻戟遂芫俱战草”一组,其中的大戟、甘遂、芫花均属峻泻逐水药,它们的主要药理作用,均为泻下、利尿,对消化和泌尿系统的影响较大。因此,设立观察项目,似应把粪、尿和消化、泌尿系统的检查作为重点。又如“半蒺藜攻乌”一组,乌头系辛温有大毒之品,其药理作用有强心、镇痛、抗炎、兴奋垂体——肾上腺皮质系统的功能,因此,对该组“反药”的实验,其观察项目,似应把循环、泌尿系统和血液的检查作为观察的重点。

另外,探讨“反药”的实质,往往不是经过一、二次实验即可完成,而是需要进行多次。而每次的实验内容和目的都应既有所联系,又有所区别。为此,每次实验的观察项目均应有所侧重,不能一般化。

三、实验动物的药用剂量

在进行“反药”的动物实验中,药物的剂量,应根据不同种类的动物,在基本符合临证实际的情况下,划分成若干个剂量组。《实验及利用》的作者,在划分剂量组时,组与组之间用药剂量悬殊过大,而且所用之剂量与临证实际用药量差距更为悬殊。按芫花为有毒之峻下逐水药,据《兽医中医学》规定的剂量,“马和牛3钱至5钱;羊和猪5分至2钱”^[7](1钱折合为3.125

克),故芫花一次极量,牛也不过5钱(即15.625克),而“实验及利用”在该项实验设计中,牛的一次剂量用兔的最高剂量(20克)的30倍,即600克,因而,根据这个剂量得出之结论,不论其正确与否,对临证实际用药有何指导意义呢?再从《实验及利用》的两次实验来看,不论采用哪种剂量组的“反药”,好像对耕牛和山羊的影响都不很大,但作者在“体会”中却下了“在芫花多,甘草少的情况下,毒力很小;相反,在芫花少,甘草多的情况下,毒力却较大,其毒力随甘草的量加大而增强”的结论,似嫌证据不足。

在“反药”动物实验设计中,如何划分剂量组较为恰当?笔者认为:为了紧密联系临证实际,更好地为临证用“反药”提供科学的依据,实验动物的药用剂量,应根据实验动物的不同,分成若干个剂量组。其最低剂量组的药用剂量,可略高于实验药物的有效治疗量,而最高剂量组,其药用剂量可达于极量或略高于极量,其它的剂量组可介于二者之间。这样得出的“反”或“不反”的结论,才能给临证用“反药”,提供科学的依据。

在划分剂量组时,设立合理的对照组也是很必要的。因为只有通过对照,才能较准确地判明“反药”是否相“反”。对照组可以采用组间对照。即实验组用某一个剂量,而对照组则只用实验组中的其中一味药,尤应以已知毒性较大的药物(如芫花、乌头之类),用同样的剂量作对照。条件许可时,两味药均分别作对照才好。

四、实验药物的制备及投药途径

中草药由于所含化学成分极为复杂,有的可溶于水而提取其有效成分;但有的则难溶于水,而溶于酒精、氯仿、乙醚等有机溶剂中;有的还需要用特殊的提取方法,才能获得有效成分。因此,用于动物实验的药物,有必要根据不同情况,采用不同的制备方法和投药途径,方可达到应有的作用。吉林省中医中药研究所崔珉等的《大戟、芫花、甘遂反甘草的初步实验研究》^[1]一文中,所用之芫花,经生药鉴定为南芫花,主含芫花黄酮素、芹黄砒素、苯甲酸及刺激性油状物质等有效成份,它们不易溶于水,而易溶于有机溶剂中,故曾用酒精浸制,经腹腔注射给药。而“实验及利用”的作者,同样用的是南芫花(文稿如此,但未说明是否经生药鉴定过),而却用的是煎剂,且系经口灌服,但二者结论却几乎一致,这就值得作进一步的探讨了。

投药途径在动物实验设计中也为重要。因为它不仅关系到药物的吸收速度,而且也关系到剂量的准

确性。有的药物因在消化道吸收不良,经口灌服其反应往往不很稳定,而且剂量要相应加大,才能达到预期的目的;有的药物在胃肠吸收后,经过肝脏时又常被破坏,经口灌服效果往往也不好。

腹腔给药也可因某些药物具有强烈刺激性,进入腹腔后,刺激腹膜反射地抑制某些功能的活动,从而也会造成实验中的错觉。

上述各种投药途径,又都各具优点,因此何种给药方法好;应结合临证实际,在实验设计中,认真加以考虑。

鉴于中草药的应用,目前还比较普遍采用煎剂,而且多是经口灌服,所以在动物实验设计中,只要实验用的药物能溶于水,吸收也比较好者,都尽可能使用煎剂或酞剂,经口给药。由于“猪为六畜之首”,养猪必然要有一个很大的发展,而猪灌药又比较困难,常易发生危险,从剂型改革的角度考虑,用注射方法给药又似属必行,应大力加以提倡和推广。但应根据需要和可能,不宜强求一致。

在给实验动物灌药时,操作时易使药液外溢而影响剂量的准确性;同时要注意不让药液呛入气管,造成异物性肺炎。药液不能过凉、过热,以防刺激消化道粘膜而造成病理反应。

为了进一步贯彻“百花齐放、百家争鸣”的方针,通过学习姚宪章同志的文章,对有关“反药”的动物实验设计中的几个问题,提出了上述几点粗浅看法,其中主观、片面和错误之处,希望能得到姚宪章同志和其它同志的批评、指正。

参 考 文 献

- [1] 崔珉等 1966 大戟、芫花、甘遂反甘草的初步实验研究。中医杂志(1): 39。
- [2] 天津市第一中心医院药房 1966 中草十八反的初步研究。天津医药杂志(9): 687—690。
- [3] 李安域等 1959 中葶芫花、大戟、海藻、甘遂与甘草配伍禁忌的初步试验。青医学报(2): 1—2。
- [4] 中山医学院《中药临床应用》编写组 1975 中药临床应用。广东人民出版社。
- [5] 北京药品生物制品检定所等 1972 中药鉴别手册(第一册)。科学出版社。
- [6] 于幼等 1976 实用兽医诊疗学。黑龙江人民出版社。
- [7] 中国农业科学院中兽医研究所 1959 兽医中医学。农业出版社。
- [8] 中国医学科学院药物研究所 1972 中草药有效成分的研究(第二分册)。人民卫生出版社。

更 本刊上期35页“云豹”作者“邵杏邨”;改为“邓杏邨”;40页“宁夏盐池滩羊选育科研小组”改为“宁夏盐池滩羊选育场科研小组”;42页左栏表4下2行“三代”改为“三级”;
正 43页左栏倒数15行“1929”改为“1829”。