

甘草与昆布配伍对大鼠肝肾功能及血清指标的影响

杨婷婷, 王舒婷, 刘佩华, 徐 炯, 刘晓东, 刘 李*

中国药科大学药学院 药物代谢研究中心, 江苏 南京 210009

摘 要: 目的 考察甘草与昆布配伍对大鼠肝肾功能及血清指标的影响。方法 雄性 SD 大鼠随机分为 4 组, 各组分别 ig 给予甘草提取物 2.8 g/kg(相当于甘草生药材 10.0 g/kg)、昆布提取物 3.8 g/kg(相当于昆布生药材 10.0 g/kg)、甘草-昆布合煎提取物 6.8 g/kg(相当于甘草和昆布生药材各 10.0 g/kg) 和空白溶媒(对照)。连续 ig 给药 17 周后, 检测各组大鼠体质量、脏器系数、血液生化指标、肝切片病理变化以及甘草次酸血药浓度。结果 甘草或昆布单用组较对照组大鼠丙氨酸转氨酶(AST)、天冬氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、胆碱酯酶(CHE)、总胆汁酸(TBA)和总胆红素(TBIL)水平显著降低($P < 0.05$), 而甘草-昆布合用可逆转两药单用对 AST、ALP、CHE、TBA、TBIL 和直接胆红素(DBIL)的降低作用; 甘草-昆布合用组大鼠体内甘草次酸血药浓度和暴露量显著高于甘草单用组。甘草、昆布单用或合用还导致大鼠体内电解质水平失衡, 表现为血清中钠离子(Na^+)、钾离子(K^+)、氯离子(Cl^-)水平显著高于对照组。结论 甘草或昆布单用均具有保肝作用, 甘草-昆布合用导致两药单用时的保肝作用减弱可能是其配伍“相反”原因之一, 其机制可能与两药合用时甘草次酸血药浓度增加有关。

关键词: 昆布; 甘草; 配伍禁忌; 肝功能; 肾功能; 甘草次酸

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)08-1860-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.019

Influence on compatibility of *Glycyrrhiza uralensis* and *Laminaria japonica* on liver and kidney functions and serum indexes in rats

YANG Ting-ting, WANG Shu-ting, LIU Pei-hua, XU Jiong, LIU Xiao-dong, LIU Li

Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract: Objective To evaluate the effects of compatibility of *Glycyrrhiza uralensis* and *Laminaria japonica* on liver and kidney functions as well as serum indexes in rats. **Methods** A total of 24 male SD rats were randomly divided into four groups. Group 1 was served as control and only received vehicle. Group 2 and group 3 were orally dosed of *G. uralensis* extracts (2.8 g/kg) and *L. japonica* extracts (3.8 g/kg) once daily, respectively. Group 4 was orally dosed with 6.8 g/kg of *G. uralensis*-*L. japonica* extracts once daily. The experimental rats were treated corresponding extracts or vehicle for 17 weeks. During the experiment, the weight of rats, organ coefficient, biochemical indexes, and liver histopathological photograms in each group were measured. Meanwhile, plasma glycyrrhetic acid concentration in *G. uralensis* extract group and *G. uralensis*-*L. japonica* extract group were observed. **Results** The water extraction components from *G. uralensis* and *L. japonica* groups could significantly reduce the level of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), cholinesterase (CHE), total bile acid (TBA), and total bilirubin (TBIL) comparing with control group ($P < 0.05$). While the *G. uralensis*-*L. japonica* extracts group could reverse these biochemistry indexes. *G. uralensis*-*L. japonica* extracts markedly increased the plasma concentration and exposure of glycyrrhetic acid. Electrolyte metabolism balance was disordered after long-term treatment of *G. uralensis*, *L. japonica* and *G. uralensis*-*L. japonica* extracts, showing the level of sodium (Na^+), potassium (K^+), and chloride ion (Cl^-) in these three groups were significantly higher than that in control group. **Conclusion** These results indicated that *G. uralensis* or *L. japonica* extracts might have hepatoprotective effects. However, *G. uralensis*-*L. japonica* extracts attenuated the hepatoprotective effects, which might result from the increased plasma concentration of glycyrrhetic acid.

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; *Laminaria japonica* Aresch.; compatibility; liver function; kidney function; glycyrrhetic acid

收稿日期: 2017-11-24

基金项目: 江苏省方剂高技术研究重点实验室/江苏省中药资源产业化过程协同创新中心资助项目 (FJGJS-2015-05); “973” 国家重点基础研究发展计划资助项目 (基于十八反的中药配伍禁忌理论基础研究) 子课题 (藻戟遂芫具战草配伍关系与毒效表征的基础研究, 2011CB505303)

作者简介: 杨婷婷 (1993—), 女, 在读硕士, 研究方向为药动学研究。Tel: 13337709376 E-mail: 13337709376@163.com

***通信作者** 刘 李 Tel: (025)83271006 E-mail: liulee@yeah.net

中药“十八反”是数千年来中医药实践中严格遵循的用药禁忌,“藻戟荒花俱战草”是十八反内容中的一个重要组成部分,具体是指荒花、大戟、甘遂和海藻等中药不宜与甘草配伍。中药“十八反”认为海藻与甘草间存在“反”的作用,已有文献研究表明甘草与海藻合用对大鼠肝肾有毒性作用^[1],基于“十八反”的中药配伍禁忌理论基础研究(“973”计划)也证实甘草与海藻间的毒性相加作用,即表现“反”的特征,毒性靶器官主要是肝和肾^[2]。同时该基础研究也提出功效相似、基原相近、化学成分类型类同的中药,其药性特点、功效取向及其物质基础具有共性特点,也可能存在着类似的配伍禁忌特征与共有规律。昆布 *Laminariae Thallus* 是海带科植物海带 *Laminaria japonica* Aresch. 或翅藻科植物昆布 *Ecklonia kurome* Okam. 的干燥叶状体,性寒味咸,归肝、胃、肾经,具有软坚散结、利水泄热等功效。鉴于昆布在药性、来源和功效方面以及主要化学成分与海藻均非常相似^[3-5],昆布与甘草间也可能存在“相反”作用,故本研究通过考察甘草与昆布配伍对大鼠肾功能及血清指标的影响,探讨甘草与昆布之间是否存在“相反”作用,为临床用药提供参考。

1 材料

1.1 药品与试剂

甘草药材由南京松龄中药饮片有限公司提供,产地甘肃,批号 150907;昆布药材采自山东省威海荣成市;药材经南京中医药大学唐于平教授鉴定,分别为豆科植物乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎、海带科植物海带 *Laminaria japonica* Aresch. 的干燥叶状体。甘草次酸对照品(质量分数 97%,批号 110723-201112,中国食品药品检定研究院);内标氯唑沙宗(质量分数>98%,批号 100364-201302, Sigma-Aldrich 公司);肝素钠(中国食品药品检定研究院);乙腈(Merck 公司);醋酸乙酯(分析纯,南京化学试剂有限公司);实验用超纯水(Milli-Q Gradient A10);其余试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器

Milli-Q Gradient A10 超纯水器(美国 Millipore 公司);Sartorius BSA124S-CW 万分之一天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司);BECKMAN-AU5421 全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司);Sorvall RL6+超高速冷冻离心机(美国 Thermo 公司);岛津 LCMS-2020 液相单四级杆质谱仪(包括 2 个 LC-20ADXR 送液泵、SIL-20A 自动

进样器、DGU-20A3 在线脱气机、CTO-20A 柱温箱、CBM-20A 系统控制、电喷雾离子化接口 ESI 和日本 Shimadzu Labsolutions 质谱工作站);GENIE VORTEX-2 涡旋混合装置(美国 Scientific Industries 公司)。

1.3 动物

24 只雄性 SD 大鼠,体质量 120~140 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(沪)2013-0016。

2 方法

2.1 昆布和甘草提取物的制备

2.1.1 昆布提取物的制备 昆布药材 6 kg 置夹层锅内,加 10 倍量水浸泡 1 h,煎煮 1 h 后,再加等量水,煎煮 1 h,合并药液,100 目滤网滤过,滤液浓缩,真空冷冻干燥得昆布提取物粉末 2.3 kg,产率 38.3%。

2.1.2 甘草提取物的制备 甘草药材 6 kg 置夹层锅内,操作步骤同昆布提取物,最终得干粉 1.7 kg,产率 28%。甘草提取物中含有甘草苷 0.701%、异甘草苷 0.250%、甘草素 0.048%、甘草酸 4.850%。

2.1.3 甘草-昆布合煎提取物的制备 甘草药材 6 kg 加昆布药材 6 kg 置夹层锅内,操作步骤同昆布提取物制备,最终得到提取物 4.1 kg,产率 34%。甘草-昆布合煎提取物中甘草苷 0.311%、异甘草苷 0.095%、甘草素 0.022%、甘草酸 1.810%。给药前,用 0.25%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液配制混悬液。

2.2 分组及给药

健康雄性 SD 大鼠在室温(23±2)℃、湿度(50±20)%、明暗周期设定为 12 h 昼夜切换的条件下饲养。大鼠适应性饲养 1 周,按体质量随机分成 4 组,每组 6 只,即对照组、甘草单用组、昆布单用组、甘草-昆布合用组。各给药组准确称取甘草提取物、昆布提取物、甘草-昆布合煎提取物,分别分散于 0.25% CMC-Na 溶液中,分别 ig 给予甘草提取物 2.8 g/kg(相当于甘草生药材 10.0 g/kg,按提取产率 28%计算)、昆布提取物 3.8 g/kg(相当于昆布生药材 10.0 g/kg,按提取产率 38%计算)、甘草-昆布合煎提取物 6.8 g/kg(相当于甘草和昆布生药材各 10.0 g/kg,按提取产率 34%计算),对照组 ig 等量 0.25% CMC-Na 溶液。大鼠每天 ig 给药 1 次,连续给药 17 周。

2.3 肝肾毒性相关指标的测定

各组大鼠末次给药前禁食、不禁水 12 h,于末次给药 2 h 后乙醚麻醉状态下,股动脉放血处死,制备血清,用 BECKMAN-AU5421 全自动生化分析仪测定各

项生化指标(肝功能、肾功能、电解质、血脂相关指标);取心、肝、脾、肾、胰腺和胸腺,称质量后测定脏器系数(脏器系数=脏器质量/体质量)。取部分肝脏组织,置于 10%福尔马林溶液中用于病理切片检查。

2.4 甘草次酸体内药动学分析

于末次给药前 1 周进行甘草单用组及甘草-昆布合用组甘草次酸在大鼠体内的药动学实验。在给药后 0.5、0.75、1、2、3、4、6、8、12、24 h 大鼠眼眶采血,取血于肝素处理的试管中。血样在 8 000 r/min 离心 5 min 后得到血浆样品,保存于-20 ℃以待分析。样品处理方法:取 100 μ L 待测血浆于洁净试管中,加内标 10 μ L(氯唑沙宗 1 μ g/mL)和 1 mol/L 盐酸 10 μ L 混匀后,加 1 mL 醋酸乙酯,振荡 10 min,10 000 r/min 离心 5 min,取上层有机层 900 μ L,氮气吹干,100 μ L 甲醇溶解残渣,振荡 10 min,18 000 r/min 离心 10 min,取上清 5 μ L 进样。色谱条件:Shim-pack C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 2.0 mm, 4.6 μ m);柱温 40 ℃;流动相为水-乙腈,体积流量为 0.2 mL/min。采用 68%乙腈等度洗脱方式测定大鼠血浆样品中甘草次酸的质量浓度。

2.5 统计学方法

应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间数据差异采用 students-*t* 检验,3 组及以上数据间两两比较采用方差分析(ANOVA)后的 Post-hoc 检验。

表 1 甘草、昆布单用及合用对大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effects of *G. uralensis*, *L. japonica*, and *G. uralensis*-*L. japonica* extract on organ coefficient ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	脏器系数/%					
		心脏	肝脏	肾脏	脾脏	胰腺	胸腺
对照	—	0.30 $\pm$ 0.02	2.39 $\pm$ 0.14	0.58 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.08	0.03 $\pm$ 0.02
甘草单用	2.8	0.30 $\pm$ 0.01	2.43 $\pm$ 0.15	0.58 $\pm$ 0.04	0.16 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.10	0.05 $\pm$ 0.02
昆布单用	3.8	0.29 $\pm$ 0.04	2.33 $\pm$ 0.14	0.59 $\pm$ 0.05	0.14 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.07	0.04 $\pm$ 0.03
甘草-昆布合用	6.8	0.26 $\pm$ 0.02*	2.43 $\pm$ 0.08	0.58 $\pm$ 0.04	0.17 $\pm$ 0.04	0.22 $\pm$ 0.08	0.05 $\pm$ 0.02

与对照组比较: **P*<0.05

**P*<0.05 vs control group

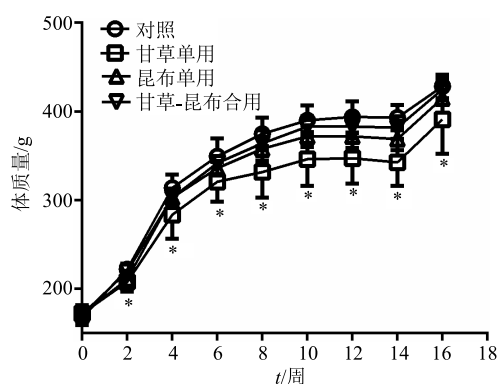
3.2 对大鼠肝功能指标的影响

与对照组比较,甘草或昆布单用均能降低大鼠丙氨酸转氨酶(AST)、天冬氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、胆碱酯酶(CHE)、总胆汁酸(TBA)、总胆红素(TBIL)和直接胆红素(DBIL)水平,对 γ -谷氨酰转移酶(GGT)、亮氨酸氨肽酶(LAP)、腺苷脱氨酶(ADA)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLOB)、白蛋白/球蛋白(A/G)

3 结果

3.1 对大鼠体质量和脏器系数的影响

连续给药或空白溶媒 17 周后,对照组大鼠体质量增长明显,各给药组大鼠体质量增长相对缓慢。甘草单用组大鼠体质量显著低于对照组(图 1),提示甘草长期给药对大鼠体质量增长有抑制作用。甘草或昆布单用对大鼠心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胰腺和胸腺的脏器系数没有影响。甘草-昆布合用仅对大鼠心脏的脏器系数有降低作用,对其他各脏器系数没有影响,见表 1。



与对照组比较: **P*<0.05

**P*<0.05 vs control group

图 1 甘草、昆布单用及合用对大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effects of *G. uralensis*, *L. japonica*, and *G. uralensis*-*L. japonica* extract on body weight of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

和载脂蛋白 B(Apo B)水平均无影响,见表 2。甘草单用和甘草-昆布合用较对照组可显著增加 C 反应蛋白(CRP)水平,昆布单用对 CRP 无影响。甘草-昆布合用可显著降低 ALT 和 TBIL 水平。提示甘草或昆布单用及合用改变肝功能指标。

大鼠肝组织经 HE 染色,光镜($\times 200$)下观察肝组织切片病理改变,甘草或昆布单用及合用组大鼠肝小叶结构正常,肝细胞无变性、坏死等损伤性

改变, 汇管区未见炎性细胞浸润和纤维组织增生。结果表明甘草或昆布单用以及合用对肝脏形态学没有影响, 见图 2。

3.3 对大鼠肾功能指标的影响

甘草或昆布单用及合用对大鼠血清肌酐 (Scr)、尿酸 (UA)、尿素 (UREA) 水平没有影响, 见表 3。表明甘草、昆布单用及合用对大鼠肾功能无影响。

3.4 对大鼠电解质水平的影响

长期给予甘草、昆布提取物和合煎提取物导致大鼠体内电解质代谢失衡, 主要表现为钠离子 (Na^+)、钾离子 (K^+)、氯离子 (Cl^-) 水平在甘草、昆布单用组大鼠中显著高于对照组, 甘草-昆布合用组大鼠体内 Na^+ 、 Cl^- 浓度升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 但 K^+ 浓度变化不显著, 见表 4。

表 2 甘草、昆布单用及合用对大鼠肝功能相关指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 2 Effects of *G. uralensis*, *L. japonica*, and *G. uralensis-L. japonica* extract on related index of liver function in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	GGT/ (U·L ⁻¹)	CHE/ (kU·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	DBIL/ (μmol·L ⁻¹)	TBA/ (μmol·L ⁻¹)
对照	—	52.90±6.68	164.43±19.33	117.75±23.22	0.78±0.40	0.28±0.08	2.42±0.26	1.53±0.25	63.92±17.74
甘草单用	2.8	43.26±5.09*	111.83±12.23**	90.07±20.46*	1.00±0.20	0.17±0.05**	1.60±0.49**	1.17±0.39	13.62±2.41**
昆布单用	3.8	45.70±3.17*	144.07±7.69*	91.98±8.13*	1.07±0.20	0.17±0.05**	1.10±0.39**	0.72±0.36**	29.08±6.06**
甘草-昆布合用	6.8	53.17±8.86	137.92±14.61*	104.03±20.34	1.22±0.32	0.22±0.04	1.75±0.50*	1.30±0.38	43.08±19.88

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	LAP/ (μmol·L ⁻¹)	ADA/ (μmol·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLOB/ (g·L ⁻¹)	(A/G)/ (g·L ⁻¹)	Apo B/ (g·L ⁻¹)	CRP/ (mg·L ⁻¹)
对照	—	85.12±5.77	7.58±3.01	69.95±1.88	38.73±0.70	31.22±1.80	1.25±0.08	0.01±0.01	2.15±0.48
甘草单用	2.8	83.05±6.59	8.87±10.30	70.02±2.34	39.20±0.83	30.75±1.76	1.28±0.07	0.01±0.00	2.67±0.28*
昆布单用	3.8	81.20±2.96	5.03±1.70	69.22±2.09	39.18±1.03	30.03±1.25	1.31±0.04	0.01±0.00	2.08±0.29
甘草-昆布合用	6.8	80.08±6.52	6.87±3.82	70.27±1.23	39.35±1.10	30.92±0.74	1.28±0.05	0.01±0.01	2.73±0.24*

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group, same as below

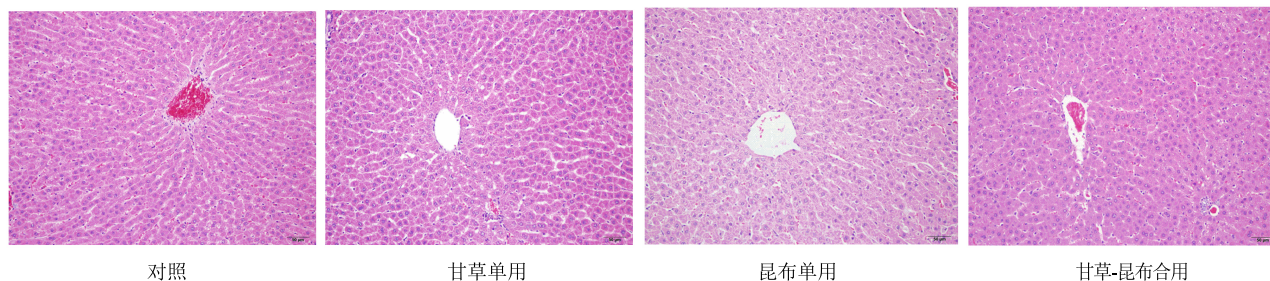


图 2 HE 染色观察各组大鼠肝组织切片病理改变 (×200)

Fig. 2 Liver histopathological photomicrographs of rats in each group by HE staining (×200)

表 3 甘草、昆布单用及合用对大鼠肾功能指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 3 Effects of *G. uralensis*, *L. japonica*, and *G. uralensis-L. japonica* extract on index of kidney function in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	Scr/(μmol·L ⁻¹)	UA/(μmol·L ⁻¹)	UREA/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	25.17±3.87	123.33±39.38	6.33±0.43
甘草单用	2.8	25.33±3.20	89.33±12.93	5.93±0.65
昆布单用	3.8	21.67±2.73	94.83±17.97	5.92±0.25
甘草-昆布合用	6.8	24.67±4.13	100.33±24.27	5.67±0.69

3.5 对大鼠血脂的影响

甘草、昆布单用及合用均可一定程度降低大鼠血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平, 甘草-昆布合用组 TC

水平显著降低 ($P < 0.05$), 甘草、昆布单用及合用对大鼠高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平无明显影响, 提示甘草单用、昆布单用及甘草-昆布合用相较于对照组有一定的调血脂作用 (表 5)。

表 4 甘草、昆布单用及合用对大鼠血清 Ca^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 、 Cl^{-} 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 4 Effects of *G. uralensis*, *L. japonica*, and *G. uralensis-L. japonica* extract on serum levels of Ca^{2+} , K^{+} , Na^{+} , and Cl^{-} in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	Ca^{2+} /(mmol·L ⁻¹)	K^{+} /(mmol·L ⁻¹)	Na^{+} /(mmol·L ⁻¹)	Cl^{-} /(mmol·L ⁻¹)
对照	—	2.81±0.02	6.56±0.20	142.67±1.94	102.43±0.99
甘草单用	2.8	2.82±0.05	7.13±0.30**	144.62±0.77*	105.58±1.19**
昆布单用	3.8	2.76±0.05*	7.01±0.07**	149.67±0.58**	112.12±1.55**
甘草-昆布合用	6.8	2.80±0.04	6.82±0.19	149.72±2.02**	110.45±2.05**

表 5 甘草、昆布单用及合用对大鼠血脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 5 Effects of *G. uralensis*, *L. japonica*, and *G. uralensis-L. japonica* extract on blood lipid levels of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	0.61±0.13	1.36±0.10	0.97±0.11	0.27±0.05
甘草单用	2.8	0.60±0.15	1.27±0.28	0.99±0.20	0.22±0.05
昆布单用	3.8	0.46±0.19	1.19±0.17	0.86±0.14	0.25±0.05
甘草-昆布合用	6.8	0.59±0.12	1.16±0.11*	0.88±0.09	0.23±0.05

3.6 甘草单用与甘草-昆布合用组甘草次酸在大鼠体内药动学分析

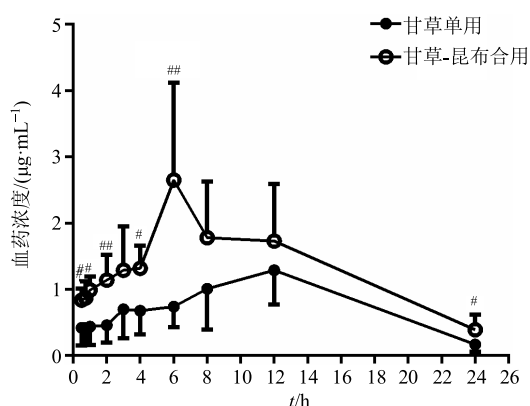
甘草单用与甘草-昆布合用组甘草次酸在大鼠体内血药浓度时间曲线见图 3, 用 Phoenix WinNonlin 6.1 非房室模型计算分析药动学参数。研究结果发现甘草-昆布合用显著提高大鼠血浆中甘草次酸的暴露水平, 缩短达峰时间 ($t_{\max}$), 甘草单用与甘草-昆布合用组甘草次酸主要药动学参数: $t_{\max}$ 分别为 (10.86±1.95)、(6.40±0.89) h, 合用组与单用组比较差异显著 ($P<0.01$); 达峰浓度 ($C_{\max}$) 分别为 (1.34±0.55)、(2.68±1.44) $\mu\text{g/mL}$, 合用组与单用组比较差异显

著 ($P<0.05$); 曲线下面积 ($\text{AUC}_{0-24\text{ h}}$) 分别为 (18.57±7.77)、(32.86±10.07) $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, 合用组与单用组比较差异显著 ($P<0.05$)。

4 讨论

传统中药专注于草本间的配伍, 经常以复方的形式联合用药, 这种治疗形式显示出潜在的临床益处, 但也存在着可能被低估的风险。以“十八反”海藻反甘草为例, 临床上有将二者合用治疗甲状腺疾病、乳腺增生及肿瘤, 所使用的多为海藻玉壶汤的加减方剂^[6]。但也有许多临床前实验表明海藻与甘草合用具有增毒作用^[7]。基于中药“十八反”的中药配伍禁忌理论基础研究(“973”计划)提出: 功效相似、基原相近、化学成分类型类同的中药, 可能存在着共同的配伍禁忌特征与共有规律的假设。甘草与昆布也可能存在着类似的配伍禁忌特征, 因此在本研究中重点考察甘草与昆布配伍对大鼠肝、肾功能及血清指标的影响。

本研究结果发现甘草单用或昆布单用均可以显著降低大鼠 TBA、ALT、AST 水平, 与文献报道相一致。有研究表明甘草可显著降低 α -萘异硫氰酸酯诱导的胆汁淤积性肝损伤小鼠的 ALT、AST、ALP 水平, 降低血浆胆汁酸、鹅去氧胆酸、石胆酸浓度^[8]; 甘草提取物可以恢复肝损伤导致的多种胆汁酸盐紊乱^[9-10]。此外, 侯庆华等^[11]对糖尿病大鼠 8 周后, 发现大鼠的肝脏 AST 及 ALT 水平显著下降 ($P<0.05$ 、 0.01), 以上结果提示甘草或昆布单用具有一定的保肝作用, 但甘草-昆布合用会减弱两药单用的保肝作用。其原因可能与合用组



与甘草单用组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$

$P<0.05$ ## $P<0.01$ vs *G. uralensis* group

图 3 甘草单用与甘草-昆布合用组大鼠甘草次酸血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Fig. 3 Plasma concentrations of glycyrrhetinic acid following oral administration of *G. uralensis* extract or *G. uralensis-L. japonica* extract ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

给药后体内甘草次酸血药浓度增加有关。如文献报道甘草次酸可加重氯氮平诱导的肝损伤,且高浓度的甘草次酸本身也具有肝细胞毒性^[12]。

甘草、昆布单用或合用对肾功能指标 Scr、UA、UREA 没有影响,但前期有报道表明昆布单煎及昆布-甘草合煎提取物连续给药 6 d 可造成大鼠肾脏肾小球体积增大,呈弥漫性病变等损伤^[13]。出现此差异的原因可能与该研究所用剂量(16.5 g/kg)高于本实验给药剂量(生药材 10 g/kg)有关。

本研究还发现甘草或昆布单用组大鼠血中 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 水平显著高于对照组,合用组的 Na^+ 和 Cl^- 水平也显著升高($P < 0.01$)。也有研究表明分别含有甘草酸和甘草次酸的鱼食喂养虹鳟鱼对其 Na^+ 和 Cl^- 水平影响不同。给予甘草酸可以提高鱼鳃的 Na^+ 、 K^+ -ATP、 H^+ -ATP 活性,给予 18 β -甘草次酸(18 β -GA)则会降低 Na^+ 、 K^+ -ATP 活性。其中喂食 18 β -GA 的虹鳟鱼 Na^+ 、 Cl^- 水平相对于对照组而言有所上升但无显著性差异^[14]。昆布也会导致电解质紊乱^[15]。以上结果提示甘草、昆布单用或合用可能会导致水盐代谢平衡失调。

本实验还观察到长期给药后,甘草-昆布合用组可以显著降低大鼠 TC 水平($P < 0.05$)。Sun 等^[6]研究发现甘草次酸可以减少酒精性脂肪肝小鼠体质量的增加、减少血脂水平;甘草黄酮可调节 2 型糖尿病大鼠血脂代谢紊乱^[17]。昆布提取物可降低高脂血症大鼠的 TC 和 TG^[18]。可以促进实验性高脂血症大鼠 TC、LDL 和 TG 的分解代谢,抑制羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMG-CR)的活性而减少胆固醇的合成,影响 LDL-C 的合成^[9]。昆布寡糖可降低糖尿病大鼠血中 TC、TG 水平($P < 0.05$)^[11]。与本实验结果类似。

综上所述,甘草或昆布单用具有保肝作用,不改变肾脏功能指标,但会造成电解质紊乱。甘草和昆布合用导致的两药单用保肝作用减弱可能是配伍“相反”的原因之一。其机制可能与两药合用后体内甘草次酸血药浓度增加有关。同时也还需要对昆布、甘草不同配伍比例,不同病理生理情况下配伍进行更深入的研究,从而为甘草和昆布配伍的临床应用提供参考依据。

参考文献

- [1] 田莉. 复方甘草酸苷片的研制及体外代谢研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2008.
- [2] 曹琰. 基于“十八反”的中药配伍禁忌理论基础研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [3] Park H K, Kim I H, Kim J, *et al.* Induction of apoptosis by laminarin, regulating the insulin-like growth factor-IR

- signaling pathways in HT-29 human colon cells [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30(4): 734-738.
- [4] Wang W, Wu X, Wang L, *et al.* Stereoselective property of 20(S)-protopanaxadiol ocotillol type epimers affects its absorption and also the inhibition of P-glycoprotein [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98887.
- [5] Zhou L, Yang J, Zhang X, *et al.* Effect of phospholipid on absorption of diammonium glycyrrhizinate [J]. *Acta Pharm Sin*, 2008, 43(1): 71-75.
- [6] 樊东升. “十八反”和“十九畏”部分药物临床应用安全性观察 [J]. *中国药物与临床*, 2010, 10(6): 715-716.
- [7] 纪美琳, 许瑞, 王梦, 等. 海藻、甘草单用及配伍不同比例对小鼠急性毒性的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2012, 28(5): 452-456.
- [8] 沈淑娇, 张志荣, 张林林, 等. 甘草水煎液对 α -萘异硫氰酸酯诱导的肝内胆汁淤积性损伤的防治及其机理研究 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2016, 21(12): 1321-1327.
- [9] Gong H, Zhang B, Yan M, *et al.* A protective mechanism of licorice (*Glycyrrhiza uralensis*): Isoliquiritigenin stimulates detoxification system via Nrf2 activation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 162: 134-139.
- [10] Wang H, Fang Z Z, Meng R, *et al.* Glycyrrhizin and glycyrrhetinic acid inhibits alpha-naphthyl isothiocyanate-induced liver injury and bile acid cycle disruption [J]. *Toxicology*, 2017, 386: 133-142.
- [11] 侯庆华, 宋文东. 昆布寡糖对 2 型糖尿病大鼠肝脏的保护作用 [J]. *中国海洋药物*, 2011, 30(3): 60-64.
- [12] Jia L L, Zhong Z Y, Li F, *et al.* The aggravation of clozapine-induced hepatotoxicity by glycyrrhetinic acid in rats [J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 124(4): 468-479.
- [13] 孙润彬, 俞晓忆, 毛勇, 等. 甘草-昆布合用对 SD 大鼠基础代谢干扰的代谢组学研究 [J]. *药学学报*, 2015, 50(3): 312-318.
- [14] Chen C C, Kolosov D, Kelly S P. Effect of the liquorice root derivatives on salt and water balance in a teleost fish, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol*, 2015, 180: 86-97.
- [15] Cheng B, Hung C T, Chiu W. Herbal medicine and anaesthesia [J]. *Hong Kong Med J*, 2002, 8(2): 123-130.
- [16] Sun X, Duan X, Wang C, *et al.* Protective effects of glycyrrhizic acid against non-alcoholic fatty liver disease in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 806: 75-82.
- [17] 冯亚娟, 胡滨青, 周建华. 甘草黄酮对糖尿病大鼠血糖、血脂水平及抗氧化能力的影响 [J]. *山东医药*, 2016, 56(3): 23-25.
- [18] 王慧铭, 孙炜, 黄素霞, 等. 昆布多糖对大鼠减肥及降血脂作用的实验研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2008 (1): 16-19.
- [19] 徐新颖. 昆布在实验性高脂血症中降血脂和抗氧化作用的研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2011.