

红鳍圆鲀鱼肝油的药用研究

高 辉 翟新第 徐克舒 楊友森

(青岛市医药科学研究所)

提要 红鳍圆鲀 (*Spheroides rubripes*) 盛产于我国沿海一带, 其肝含油量高达 52—67.05%, 维生素 A 含量也较丰富(530—2535 国际单位/克), 但因其肝脏含有河豚毒素, 过去其油仅作照明、制造肥皂等工业用。

根据河豚毒素易溶于水, 不溶于脂肪油, 更易溶于热水, 遇碱易破坏的特性制成甲种和乙种红鳍圆鲀鱼肝油, 通过小白鼠、大白鼠的急性、亚急性毒性观察和对狗、小白鼠、大白鼠、青蛙的一般药理实验证明如此制成的鱼肝油无明显的毒性反应。

红鳍圆鲀 (*Spheroides rubripes*) 又名黑魃魃、黑腊头、虎河豚。盛产于我国沿海一带, 其他如朝鲜、日本、越南以及南洋群岛等地亦有所产。其肝肥大 (约占全鱼体重的 10—15%) 含油量很高 (约占全肝重的 52—67.05%)^[1], 维生素 A 含量也较丰富 (530—2535 国际单位/克)^[2]。但因其肝内含有河豚毒素 (tetrodotoxin), 误食可引起中毒致命^[3-5], 故其肝油的应用仅限于照明、制造肥皂等工业方面。1960 年以来侯文璞及青岛医学院药理学教研组、青岛市药品检验所^[6] 等曾先后对虫纹圆鲀鱼肝油 (维生素 A 含量 960—4100 国际单位/克) 的医用问题进行过研究。但对红鳍圆鲀鱼肝油的药用研究, 迄今未见有文献报导, 为了更好地寻求药用鱼肝油的原料来源, 因此我们对其毒性及一般药理作用进行了以下的试验研究。

实 验 材 料

1. 红鳍圆鲀鱼肝油(加碱处理): 肝样用绞肉机绞碎后置铁锅中, 以 0.75% 肝样重的氢氧化钠和肝样等重的水混和, 加热煮沸 4 小时, 并时常搅拌。于停止加热后用分液漏斗将粗油分出, 再以温水洗涤二次, 然后用离心机除去水分和悬浮杂质即得。简称甲种红鳍圆鲀鱼肝油。

2. 红鳍圆鲀鱼肝油(未加碱处理): 取鲜肝用磨乳机磨成糊状, 置搪瓷桶内水浴加热 80°C 1 小时, 然后用离心机除去水分和蛋白等杂质, 并如上法用温水洗涤两次即得。简称乙种红鳍圆鲀鱼肝油。

3. 普通药用鱼肝油: 内含鲨鱼肝油 80%, 老板鱼肝油 20%, 维生素 A 2500 国际单位/克。

4. 豆油: 一般食用豆油。

5. 普通动物饼干: 取小麦面、玉米面、豆饼、高粱面、鱼粉、食盐、骨粉、麸皮等混合原料 100 克, 搅匀过筛, 加水适量, 压制成饼, 晒干备用。

取上述混合原料,按每 100 克分别加入甲种或乙种红鳍圆鲑鱼肝油 2 毫升、4 毫升、6 毫升,普通药用鱼肝油 6 毫升,压制成饼,依次简称甲₁、甲₂、甲₃、乙₁、乙₂、乙₃动物饼干和药用鱼肝油动物饼干。

6. 甲种红鳍圆鲑鱼肝油洗液和乙种红鳍圆鲑鱼肝油洗液:依文献^[7]取红鳍圆鲑鱼肝油 100 毫升,加蒸馏水 50 毫升,加热至 80℃ 半小时,分出水层,依上重复一次,将两次洗液合并,过滤即得(1 毫升洗液 ⇌ 1 毫升红鳍圆鲑鱼肝油)。

7. 普通药用鱼肝油洗液:制备方法同红鳍圆鲑鱼肝油洗液。

8. 河豚毒素液:取红鳍圆鲑鲜肝 500 克,分别加入 0.6% 和 0.9% 的氯化钠溶液 500 毫升,于水浴上加热至 80℃ 半小时,过滤除去杂质,分别加入 0.6% 和 0.9% 氯化钠溶液至 500 毫升即得(1 毫升河豚毒素液 ⇌ 1 克鲜肝)。

实验方法与结果

(一) 急性毒性实验

实验用两性健康小白鼠 70 只,体重 17—20 克。随机将动物分成 7 组,每组雌雄各半。其中六组给以甲种或乙种红鳍圆鲑鱼肝油,按 11、22、33 毫升/公斤灌胃投入,另一组为实验对照组,以 33 毫升蒸馏水同法投入。每 4 小时给药一次,共三次,给药后次日观察 48 小时。然后将动物全部拉断颈椎处死,对脑、心、肝、脾、肾等主要内脏器官进行了肉眼检查和病理切片检查。此外并用同剂量的普通药用鱼肝油和豆油进行了对比实验。

结果,在实验观察期间给 22、33 毫升/公斤组,在第一次给药后 24 小时,大便变稀并带有淡黄色的油滴,此时动物除有不时地舔弄臀部,很少其他活动,然 48 小时后全部动物自动恢复。对比实验中同剂量的普通药用鱼肝油组、豆油组也同样发现有上述情况,并自动恢复。但给 11 毫升/公斤组(包括甲种和乙种红鳍圆鲑肝油、普通药用鱼肝油、豆油组)与对照组比较则无显著差异。上述所有各组全部动物解剖后肉眼检查和病理切片检查也未发现有明显的不同。

(二) 亚急性毒性实验

另取健康大白鼠(40—60 克)80 只,随机分为 8 组,每组 10 只,雌雄各半,其中 6 组为实验组,自食不同剂量的甲种或乙种红鳍圆鲑鱼肝油动物饼干。一组为自食药用鱼肝油动物饼干的对照组,并以自食普通动物饼干的一组为空白对照组。实验开始后每隔两天记录耗食量一次,每周称体重一次,共八周。并于第四周和第八周末分别拉断颈椎处死每组的两只和全部,对脑、心、肝、脾、肾等主要内脏器官进行了肉眼检查和病理切片检查。

结果无论甲₁、甲₂、甲₃动物饼干组或乙₁、乙₂、乙₃动物饼干组与药用鱼肝油动物饼干对照组或普通动物饼干的空白对照组比较,其动物的体重增加虽有波动(见图 1、图 2),但经统计处理皆无显著差异($P > 0.05$),各组动物的体重增加量与耗食量之间存有密切的关系(见表 1)。

同时为了消除动物的性别差异,原始体重,体重增加量和耗食量是按雌、雄鼠分别统计的,发现各组的雄鼠平均体重增加量和耗食量绝大部分是大于同组的雌鼠(见表 1)。

实验期间,甲₁组、甲₂组、药用鱼肝油动物饼干组和普通动物饼干的空白对照组依次死

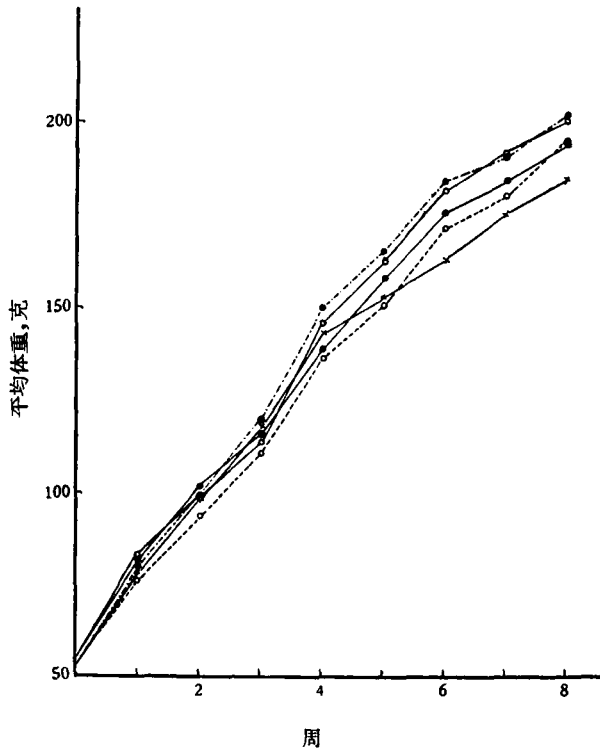


图1 大白鼠亚急性毒性实验中体重变化

●---● 甲₁; x---x 甲₂; ○---○ 甲₃;
○---○ 药用鱼肝油; ●---● 空白对照。

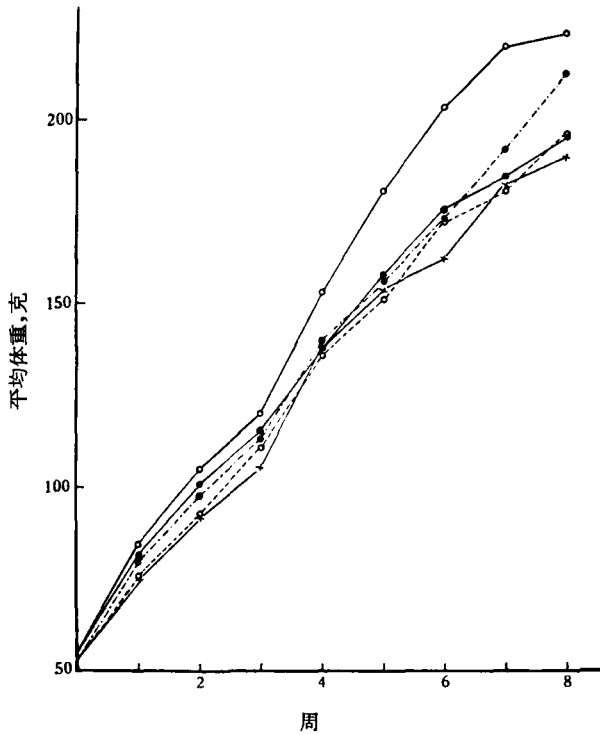


图2 大白鼠亚急性毒性实验中的体重变化

●---● 乙₁; x---x 乙₂; ○---○ 乙₃;
○---○ 药用鱼肝油; ●---● 空白对照。

表 1 大白鼠亚急性毒性实验体重增加、耗食量和二者之间的关系

组 别	动物数	性 别	原始体重 ($\bar{x} \pm s$)	增加体重 ($\bar{x} \pm s$)	耗 食 量 ($\bar{x} \pm s$)	耗食量与体重增加 的关系(P 值)
甲 ₁	5	♂	54.5±4.4	177 ±48.5	930 ±199	0.01>P>0.005
	5	♀	51.6±5.9	130 ±21.9	836 ± 70	
甲 ₂	5	♂	52.6±6.3	129.6±38	738 ± 58	0.01>P>0.005
	5	♀	56.6±4.0	144 ±17.7	862 ± 91	
甲 ₃	5	♂	57 ±3.3	206.3±17	716.5± 30	0.025>P>0.01
	5	♀	53.4±6.0	127.3±79	802 ± 45	
乙 ₁	5	♂	54.2±4.0	183.7±40	921.5±133	0.025>P>0.01
	5	♀	51.8±7.0	113.3±11	771.5± 66	
乙 ₂	5	♂	49.4±5.3	159 ±38	917 ±120	0.025>P>0.01
	5	♀	54.8±4.9	108.7± 7.9	755 ± 84	
乙 ₃	5	♂	57.4±4.3	167.5±50	938.8±142	0.025>P>0.01
	5	♀	54.8±4.6	119.2±18	850 ±171	
药用鱼肝油	5	♂	51.2±4.9	183.5±26	883 ± 11	0.025>P>0.01
	5	♀	55.6±6.0	117.3±13	787.6± 95	
空白对照	5	♂	55.6±6.5	182 ±37	980 ±215	0.025>P>0.01
	5	♀	53.8±6.8	107.7±13	799 ± 78	

[注] 甲₁、甲₂、药用鱼肝油、空白对照组依次死亡 1(♂)、2(♂♀各 1)、3(♂2 ♀1)、1(♂)均未记在内。

亡动物 1、2、3、1 只，死亡后立即解剖检查，所有死亡动物肺部皆有脓疡，其余各部组织正常。实验期满后将上述各动物拉断颈椎处死，解剖后行肉眼检查和病理切片检查，皆未发现明显的毒性反应。

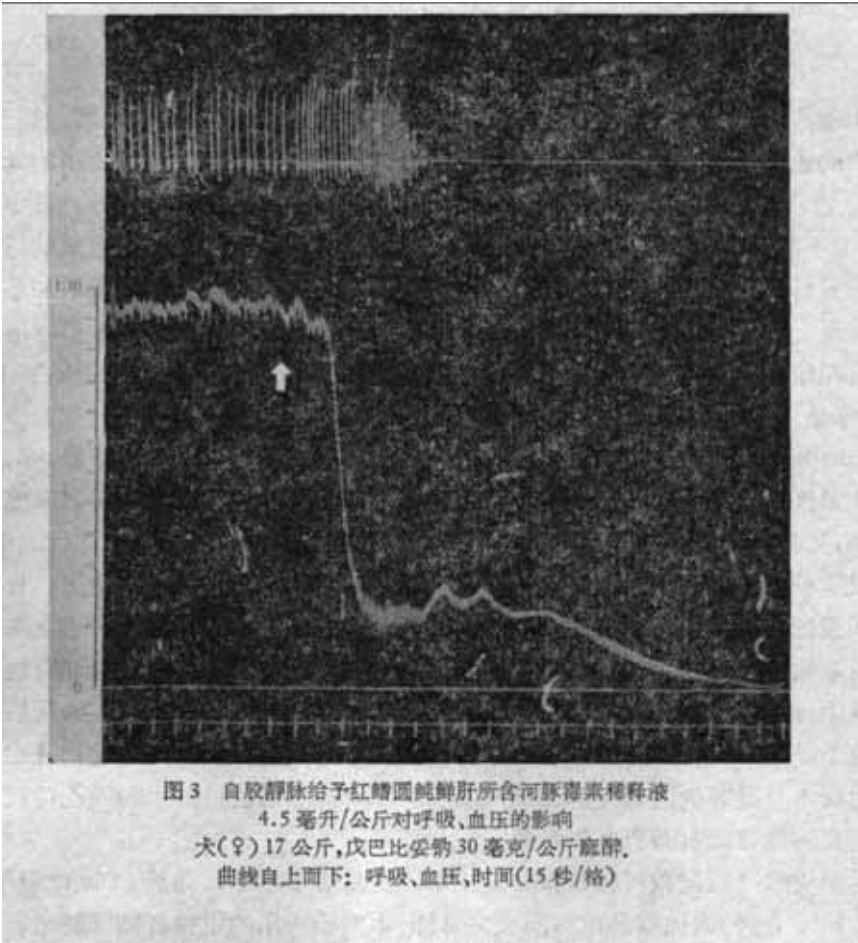
(三) 一般药理试验

1. 对麻醉狗血压呼吸的影响 狗五只(14、15、12、16、19 公斤)，雌雄兼有，以戊巴比妥钠 30 毫克/公斤麻醉后，以水银检压计描记颈动脉血压，以气管套管接玛琍气鼓描记呼吸、自股静脉分别给予甲种或乙种红鳍圆鲑鱼肝油洗液 10 毫升/公斤，以同剂量的普通药用鱼肝油洗液作对照。最后并用河豚毒素稀液(取河豚毒素液 1 毫升加生理盐水至 250 毫升)10 毫升/公斤，进行了对比实验。

结果无论甲种红鳍圆鲑鱼肝油洗液，乙种红鳍圆鲑鱼肝油洗液或普通药用鱼肝油洗液，其血压在 30 分钟内皆无变化，只在 60 分钟左右时个别狗的血压上升或下降 5—10 毫米汞柱，同时呼吸亦无明显变化，但给予河豚毒素稀液后，半分钟内血压急骤下降，一分钟内呼吸停止，五分钟内血压下降到零(见图 3)，心跳停止，动物死亡。

2. 大白鼠、小白鼠睡眠实验 取小白鼠(20—25 克)40 只，随机分为 4 组，雌雄各半，其中 3 组分别腹腔注射甲种红鳍圆鲑鱼肝油洗液 10 毫升，20 毫升，30 毫升/公斤，另外一组腹腔注射戊巴比妥钠 40 毫克/公斤作为对照，以动物的翻正反射为药物睡眠的观察指标，以动物停止活动，眼睑下垂，并能安静侧卧时作为动物入睡时间，由入睡至动物重新出现翻正反射为睡眠时间。实验时室温 18—20℃。

另取大白鼠(150—200 克)20 只，雌雄各半，随机分为 4 组，按上述同样方法进行了



试验。

结果小白鼠或大白鼠给红鳍圆鲃鱼肝油洗液后,观察2小时,活动正常,无一睡眠。而戊巴比妥钠对照组情况则不同,小白鼠入睡潜伏期最快的仅2分钟,最慢的也只有10分钟,大白鼠相应的为6分钟至12分钟。其中仅有一只大白鼠给药后引起倦态,未能入睡,并于28分钟后完全恢复自由活动。因而实验组与对照组比较有显著差异($P < 0.001$)。

3. 青蛙神经肌肉标本实验 取青蛙75只,破坏其大脑与脊髓后制备神经肌肉标本^[8],先以任氏溶液浸润10分钟,实验前给予轻微机械刺激,选取反应正常的标本,再随机分别以甲种和乙种红鳍圆鲃鱼肝油洗液,普通药用鱼肝油洗液,0.6%氯化钠溶液和河豚毒素稀释液(取河豚毒素液1毫升加0.6%氯化钠溶液至100毫升)浸润15分钟,置于肌槽内,连接记纹鼓上,以感应电板电源电压6伏特,沿线伸长10公分,每分钟刺激一次共10次,记录收缩于记纹鼓上。如此,上述各洗液,溶液和稀释液各观察了15例标本。

结果不论甲种、乙种红鳍圆鲃鱼肝油洗液,普通药用鱼肝油洗液或0.6%氯化钠溶液皆相同,对肌肉神经标本全呈阳性反应,而无箭毒样抑制反应。但河豚毒素液则不同,虽然稀释了100倍,15例标本中除2例呈阳性反应外,其余13例皆呈箭毒样抑制性阴性反应。

討 論

由上述实验证明,这种加热(加氢氧化钠或不加氢氧化钠)制成的红鳍圆鲑鱼肝油,在上述动物的急性、亚急性毒性观察,与药用鱼肝油对照组和空白对照组比较均无明显的毒性反应。至于给大剂量组小白鼠,其大便中的带油现象,是由于实验时一日中给油量过大,消化道不能及时吸收引起腹泻所致。在大白鼠的亚急性实验,如把进食量与体重增加联系起来看,同时把平均数与统计结果互相对照,可以看出大白鼠的体重增加是与进食量有密切关系(见表1)。同时甲种或乙种动物饼干组的动物在实验期间体重净增数与药用鱼肝油对照组或空白对照组比较皆无显著差异($P>0.05$),但从图上来看略有上升或下降,这可能是由于样本较小或动物个体差异所致。

Takahashi^[9]曾指出河豚毒素中毒时血压可因血管舒缩中枢麻痹而下降,呼吸缓慢,瞳孔散大,最终由于呼吸中枢麻痹而死亡。此外还有报导认为河豚毒素可以麻痹中枢神经系统,并有强烈箭毒样作用。但本文用甲种或乙种红鳍圆鲑鱼肝油洗液进行的小白鼠、大白鼠睡眠实验和青蛙神经肌肉标本等药理实验均无上述现象。但必须指出,日人石原氏试验证明河豚毒素使用致死量的7/10以上始能引起血压下降,本实验所用之洗液是否因含河豚毒素浓度较低,在上述药理实验中反应不出来,但在狗的血压呼吸和青蛙肌肉神经标本实验中,虽然将河豚毒素液分别稀释了250倍和100倍,仍然使狗在给药后半分钟内血压急骤下降,1分钟内呼吸停止,5分钟内血压下降到零,心跳停止,动物死亡;使青蛙神经肌肉标本呈显著的箭毒样抑制反应(见图3),因而以此推理,甲种或乙种红鳍圆鲑鱼肝油中若含河豚毒素也是极其微量的。

同时,文献[11]记载河豚毒素易溶于水,更易溶于热水,遇热(100℃以下4小时,200℃以上10分钟)或强碱易破坏而失去毒性,本实验所用的甲种红鳍圆鲑鱼肝油在制造过程中曾加0.75%的氢氧化钠煮沸4小时,并用温水洗涤二次;同样乙种红鳍圆鲑鱼肝油亦加热80℃1小时,亦用温水洗涤二次,如此反复处理,可使该两种油样所含河豚毒素除去无余也是可能的。

红鳍圆鲑鱼肝油在制造过程中,加碱处理还是不加碱处理,加热温度80℃或100℃,加热时间1小时还是4小时的问题,本文通过甲种红鳍圆鲑鱼肝油(加碱处理)和乙种红鳍圆鲑鱼肝油(未加碱处理)两种不同方法来源油样的上述动物实验观察(小白鼠、大白鼠睡眠实验只用甲种红鳍圆鲑鱼肝油)表明;加碱处理和不加碱处理并无可观察出的差异。因而可以推断,除去河豚毒素的关键是加热后的温水洗涤和分离过程中水分除去无余。但河豚毒素是一种很毒的物质,中毒后目前尚无较理想的救治方法,故作者认为甲种红鳍圆鲑鱼肝油的制造方法是比较理想的,这样可使河豚毒素在加热和加碱处理过程中,大部或全部受到破坏,残余部分在洗涤过程中除净。至于油样在制造过程中,加碱或不加碱对维生素A的含量影响问题,目前尚无结论可据,一般说鱼肝油在加碱处理过程中维生素A可能会受到一定影响的,但本文用同一来源的红鳍圆鲑鱼鲜肝分别加碱和不加碱处理制得的油样,进行了条件相同,方法一致维生素A含量测定^[12],结果加碱处理的油样含量为923国际单位/克,不加碱处理的油样为758国际单位/克。中国药典^[12]在维生素A测定项下也规定加碱(氢氧化钾)处理,因而可以推断油样在加碱处理过程中维生素A的含量

虽可能有某些影响,但加碱皂化后可以使杂质减少纯度提高,有利于维生素 A 的含量测定。

总之,如上制成的红鳍圆鲀鱼肝油经以上实验初步证明;并无可测出的明显的毒性反应,其维生素 A 含量虽随季节而变化(3—5 月份含量最高,6—8 月份最低),但从全年平均含量(1535 国际单位/克)来看是符合中国药典^[13]的规定(1500 国际单位/克)的,同时在制造方法上实验也证明,加热加碱处理即可有利于消除毒素,又影响维生素 A 含量不大,因而是值得认真对待的一药用鱼肝油来源。

致谢 水产部海洋水产研究所水产加工研究室侯文璞、王先振等同志在实验中协助,并供给部分油样和成分含量测定;山东省青岛水产公司加工厂化验室韩枝春、李淑美等同志协助测定部分油样维生素 A 的含量,特此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] 水产部长江水产研究所: 河豚鱼及其综合利用, 1963, 70 页, 农业出版社。
- [2] 中华人民共和国水产部海洋水产研究所水产加工研究室: 内部联系。
- [3] 伊博恩: 河豚中毒之毒理及治疗, 中华医学杂志, 1943, (5), 29。
- [4] 陈康頔: 河豚(鲀)中毒, 内科学报, 1950, (7), 533。
- [5] 河豚鱼中毒 5 例报告, 山东医刊, 1961, (3), 26。
- [6] 侯文璞: 虫纹圆鲀鱼肝油的医用问题, 黄海水产研究所丛刊, 1961, (1), 76。
- [7] 水产部长江水产研究所: 河豚鱼及其综合利用, 1963, 75 页, 农业出版社。
- [8] 王筠默: 实验药理学教程, 1952, 99 页, 新医书局出版。
- [9] 刘立肇: 毒物分析, 1960, 427, 上海科学技术出版社。
- [10] Fühner 著, 徐佐夏译: 毒理学, 1954, 257 页, 上海医学出版社。
- [11] 水产部长江水产研究所: 河豚鱼及其综合利用, 1963, 32—33 页, 农业出版社。
- [12] 中华人民共和国药典, 1963 年版二部, 附录 46 页测定法(1)。
- [13] 中华人民共和国药典, 1963 年版二部, 386 页。

The Medical Assays on *Spheroides rubripes* Liver Oil

KAO-HWI, JAI SEIN-DI, HSU KE-SU

AND YOUNG YOU-SEN

(Institute of Materia Medica and Medicina, Tsingtao)

ABSTRACT

Spheroides rubripes is most commonly found along the sea coasts of China and it may also be found in Korea, Japan and Vietnam. It's liver contains oil from fifty-two to sixty-seven per cent by weight and the oil is very rich in Vitamin A (530—2535 Iu/Gm).

Spheroides rubripes liver oil has been merely used for making soap and other industrial purposes, because it contains a commonly known toxin, called tetrodotoxin. However, the tetrodotoxin is completely soluble in water and is readily soluble in hot water and is hydrolyzed in alkaline solutions. Thus the oil can be prepared free from tetrodotoxin.

In this study, the oil is proved to be nontoxic by a series of acute and subacute toxicity tests in mice and rats. Pharmacological studies of the oil in dogs, mice, rats, and frogs have been made and it is proved that there is no untoward symptoms and signs which indicate toxic reactions.