



图 5 Lineweaver-Burk 作图 $[Na^+]$ 不同时糖芥苷 G 对 Na^+, K^+-ATP 酶抑制曲线

表 1 不同浓度 ATP 对糖芥苷 G 抑制 Na^+, K^+-ATP 酶活性的影响 $[\mu mol Pi / (mg \cdot h)]$

ATP (mmol/L)	0	0.75	1.5	2.25	3.0	4.5	6.0
糖芥苷 G (1 $\mu mol/L$)	0	261.4	273.3	272.4	266.2	254.4	263.4
哇巴因 (1 $\mu mol/L$)	0	336.2	512.2	526.4	662.2	631.3	563.5

的影响,提示糖芥苷 G 可能主要作用于 Na^+, K^+-ATP 酶作用机制的第一步。

参考文献

- 1 台宝山,等. 药学通报,1982,16(6):325
- 2 常福久,等. 中医药学报,1977,(1):27
- 3 韩晓燕,等. 中国中药杂志,1996,21(5):299
- 4 Bordford M M. Anal Biochem,1979,72:248
- 5 徐友涵,等. 生物化学与生物物理进展,1986,4(1):64
- 6 北京医学院北京中医学院主编. 中草药成分化学. 北京:科学出版社,1980:408

(1999-05-17 收稿)

当归四逆加吴茱萸生姜汤和关木通、八月扎茎短期肾毒性实验研究[△]

天津中医学院(300193) 马红梅* 张伯礼 范英昌 孙静美 李 苓

摘 要 对比进行关木通及其所在的当归四逆加吴茱萸生姜汤旧方和八月扎茎及其所在的当归四逆加吴茱萸生姜汤新方短期小鼠肾毒性实验,每日 ig 1 次,关木通组 9 g/kg、旧方组 30 g/kg、八月扎茎组 9 g/kg 和新方组 30 g/kg,连续 7 d。观察小鼠体重和血红蛋白、肾功能及肾组织学变化。结果发现:关木通组及旧方组的体重、尿蛋白和肾组织均明显异常,与阴性对照组比有显著性差异 ($P < 0.05$),关木通组病变较重;而八月扎茎组及新方组未见明显异常。提示:关木通及其组成的旧方有相同的肾毒性趋向,而八月扎茎及其组成的新方未见肾毒性反应,因而,当归四逆加吴茱萸生姜汤中用木通科八月扎茎可能比用马兜铃科关木通更安全。

关键词 当归四逆加吴茱萸生姜汤 关木通 八月扎茎 肾毒性

中草药安全性日益受到重视,自 1993 年始国际上连续报道中草药肾病^[1~5],1997 年日本又报告多例服用天津当归四逆加吴茱萸生姜汤颗粒剂(代号 KM-38,其中关木通用量 1 g/d)和关木通茶后出现肾损害的病

人^[6,7]。国内也有报道因大量服用关木通导致急性肾衰的病例^[8],但关木通作为当归四逆加吴茱萸生姜汤复方中的非君药成分,在中国药典(九五版)常用剂量(6 g 以下)下使用,以前未见肾毒性的报道。为指导临床安全

* Address: Ma Hongmen, Tianjin College of Traditional Chinese medicine, Tianjin
[△]本课题为天津市自然科学基金资助项目(983609311)

用药,我们初步进行了马兜铃科关木通及其所在的当归四逆加吴茱萸生姜汤旧方短期肾毒性实验^[14],并在此基础上,对比观察了木通科八月扎茎及其所在的当归四逆加吴茱萸生姜汤新方短期肾毒性反应。

1 材料和方法

1.1 药物:当归四逆加吴茱萸生姜汤旧方(每10 g含关木通1 g)和新方(每10 g含八月扎茎1 g,新方中用八月扎茎代替旧方中关木通)颗粒剂由日本力-ヤ株式会社提供,用前以蒸馏水稀释至所需浓度。关木通 *Aristolochia manshuriensis* Kom. 生药由天津中药集团公司第二批发部提供,八月扎茎 *Akebia trifoliata* (Thunb.) Koidz 生药由天津长城医保公司提供,用前以蒸馏水浸泡1 h后煮沸40 min,过滤;药渣加3倍蒸馏水再煮沸30 min,过滤,合并滤液浓缩至所需浓度,过滤分装密封,4℃保存备用。

1.2 动物及分组:选择昆明小鼠100只,体重18~22 g,雌雄各半,由中国医科院实验动物繁育场提供,二级清洁动物,适应性喂养数日后,称重,随机分为5组,每组20只:Ⅰ. 当归四逆加吴茱萸生姜汤旧方组;Ⅱ. 关木通组;Ⅲ. 当归四逆加吴茱萸生姜汤新方组;Ⅳ. 八月扎茎组;Ⅴ. 阴性对照组。

1.3 给药与观测:按成人剂量扩大20倍计算,每日ig 1次,各组进药量依次为Ⅰ组30 g/kg体重,Ⅱ组9 g/kg体重,Ⅲ组30 g/kg体重,Ⅳ组9 g/kg体重,Ⅴ组等量蒸馏水。连续7 d,每日观察1次。7 d后称重,代谢取尿,取血杀检,观测:①给药前后体重差值(ΔW):用德国GMBH1401CMP7-2型电子称;②给药后血红蛋白值(HGB):电阻法,美国Gouter T-540型血细胞计数仪;③给药后肾功能变化:两点法测血肌酐(SCR)、尿素氮(BUN),终点法测血尿酸(UA),以上用瑞士Roche公司CoBAS MIRA plus型全自动生化分析仪;放免法测血尿 β_2 微球蛋白(β_2 -MG):用北京核仪器厂FT-630G型 γ -计数器;化学比色法测尿N-乙酰- β -氨基葡萄糖

苷酶(NAG):用西德Merke TBA全自动生化分析仪;干化学法测尿常规(RT)包括尿糖(GLU)、尿蛋白(PRO):用日本第一化学株式会社MA-4210型尿分析仪;④给药后肾脏组织学改变:光镜检查肾小球及间质-小管病变等。

1.4 死亡报告:尸检验证阴性对照组有1只小鼠因ig不当致气胸死亡。

1.5 统计学处理:采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 体重和血红蛋白:结果见表1。连续ig 7 d,Ⅱ组体重明显减轻, $\Delta W = (-0.11 \pm 0.88)$ g,与阴性对照组比,有非常显著性差异, $P < 0.01$;Ⅰ组体重增长缓慢, $\Delta W = (1.81 \pm 1.08)$ g,低于阴性对照组, $P < 0.05$ 。Ⅳ和Ⅲ组体重均呈正常上升变化,与阴性对照组比, $P > 0.05$ 。血红蛋白在正常范围, $P > 0.05$ 。

表1 体重和血红蛋白测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	$\Delta W(g)$	HGB(g/L)
Ⅰ	20	$1.81 \pm 1.08^*$	158.81 ± 11.87
Ⅱ	20	$-0.11 \pm 0.88^\Delta$	138.49 ± 29.72
Ⅲ	20	3.64 ± 1.25	153.12 ± 7.75
Ⅳ	20	4.05 ± 1.68	137.38 ± 21.37
Ⅴ	19	3.23 ± 1.68	154.03 ± 8.59

与阴性对照(Ⅴ)相比: * $P < 0.05$; 与各组比: $^\Delta P < 0.01$

2.2 肾功能:结果见表2。连续ig 7 d,关木通组尿蛋白为 (0.70 ± 0.00) g/L,明显高于阴性对照组, $P < 0.01$ 。各组血肌酐在正常范围,其中Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ组高于阴性对照, $P < 0.05$ 。Ⅱ组出糖尿,但与其他组比, $P > 0.05$ 。Ⅰ和Ⅲ组尿素氮明显低于阴性对照组和Ⅱ组。各组血尿酸、血尿 β_2 -MG、尿NAG无显著差别, $P > 0.05$ 。

2.3 肾组织学改变:光镜下,Ⅰ和Ⅱ组均可见近端肾小管上皮细胞变性、坏死、脱落,肾间质出血、瘀血、水肿,并有炎性细胞浸润;肾小球内皮细胞肿胀。其中Ⅱ组病变较重。Ⅲ和Ⅳ组、阴性对照组肾小球及间质小管未见明显异常。

3 讨论

表 2 肾功能测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血				尿			
		SCR($\mu\text{mol/L}$)	BUN(mmol/L)	UA($\mu\text{mol/L}$)	β_2 -MG(mg/L)	PRO(g/L)	β_2 -MG(mg/L)	NAG(U/L)	GLU(mmol/L)
I	20	44.84 $\pm$ 5.81*	2.96 $\pm$ 0.52 Δ	269.69 $\pm$ 61.06	0.032 $\pm$ 0.033	0.0013 $\pm$ 0.0010	4.00 $\pm$ 4.24	0	0.15 $\pm$ 0.21
II	20	45.65 $\pm$ 6.27*	6.20 $\pm$ 1.95	289.93 $\pm$ 46.61	0.008 $\pm$ 0.010	0.0004 $\pm$ 0.0007	8.00 $\pm$ 4.24	5.55 $\pm$ 7.85	0.70 $\pm$ 0.00 Δ
III	20	47.10 $\pm$ 8.46*	5.26 $\pm$ 0.62*	293.72 $\pm$ 76.22	0.014 $\pm$ 0.024	0.0022 $\pm$ 0.0012	8.50 $\pm$ 6.36	0	0
IV	20	37.28 $\pm$ 3.77	6.24 $\pm$ 0.50	214.94 $\pm$ 57.05	0.020 $\pm$ 0.024	0	10.00 $\pm$ 1.41	0	0
V	19	34.10 $\pm$ 5.79	6.64 $\pm$ 1.54	234.80 $\pm$ 53.94	0.011 $\pm$ 0.0169	0.0006 $\pm$ 0.0007	2.00 $\pm$ 1.41	0	0

与阴性对照(V)相比: * $P < 0.05$; 与各组比: $\Delta P < 0.01$

1997年以来,日本关西地区出现因服用了天津当归四逆加吴茱萸生姜汤颗粒剂KM-38而多发中草药肾病的状况^[6,7]。其临床特征是患者主诉全身倦怠、口渴、多饮、多尿、食欲不振、体重减少、时有发热等;化验检查出现贫血、肾性糖尿、肾小管性蛋白尿、尿潜血、低钙血症、高磷酸盐尿、氨基酸尿、低钾、低磷、低尿酸血症、尿 β_2 -MG及NAG增高;肾功能异常主要是血肌酐上升,尿素氮异常,最终发展为肾功能衰竭。肾活检病理特征是:近端肾小管上皮细胞显著变性、萎缩、坏死,伴间质纤维化,肾小球病变轻微或基本正常。综上所述,诊断为Fanconi综合症。

当归四逆加吴茱萸生姜汤在《伤寒论》中治疗手足厥寒,脉细欲绝,内有久寒者。方中通草经考证为木通科木通,现又称八月扎茎,主要含木通皂苷和多量钾盐,古代本草记载无毒,现亦已证明木通皂苷口服毒性较小^[9~11]。日本临床用本方颗粒剂KM-38治疗虚寒型头部、手足、四肢、下腹、腰部逆冷疼痛。方中所用木通为马兜铃科关木通,其主要成分是马兜铃酸(aristolochic acid, AA),研究表明:AA对家兔、山羊、大鼠、小鼠和人体均有毒性作用,特别对啮齿类动物有强致癌作用;药代动力学研究提示:AA在人体内有蓄积;AA对肾脏的损害存在量-毒依赖关系,主要特征是肾小管坏死^[12]。德国学者Mengs还在组织学和实验室研究相结合的基础上,观察不同剂量AA的肾毒性,证实其组织学表现为肾小管上皮细胞坏死;功能上血肌酐和尿素氮上升同时伴尿糖、尿蛋白、尿

NAG、 γ -谷氨酰胺转移酶、苹果酸脱氢酶相应增加^[13]。国内也有报道过超量服用单味药关木通引起中毒反应并致死亡的案例,其中最重要的表现为肾损害^[8]。但关木通作为当归四逆加吴茱萸生姜汤复方中的非君药组分,在《中国药典》(九五版)常用剂量下使用,以前未见中毒报道。

我们的实验结果显示:关木通及其所在复方当归四逆加吴茱萸生姜汤旧方均有相同的肾毒性趋向,实验中旧方内关木通中毒剂量相当临床成人用量20 g/d,为至今已报道的文献中关木通中毒的最低剂量。而八月扎茎及其所在的复方当归四逆加吴茱萸生姜汤新方未见肾毒性反应,提示:当归四逆加吴茱萸生姜汤中用木通科八月扎茎可能比用马兜铃科关木通更安全。

参考文献

- 1 Izumotani T, *et al.* Nephron, 1993, 65: 137
- 2 Vanherweghem J L, *et al.* Lancet, 1993, 341: 387
- 3 Cosyns J P, *et al.* Kidney Int, 1994, 45: 1680
- 4 Van Ypersele de Strihou C, *et al.* Nephrol Dial Transplant, 1995, 10: 157
- 5 Wu M S, *et al.* Nephrol Dial Transplant, 1996, 11: 867
- 6 田中敬雄, 他. 日本腎臟學會誌, 1997, 39(4): 438
- 7 黒川清. 日本腎臟學會誌, 1997, 39(7): vi
- 8 丁 涛. 中草药不良反应及防治. 北京: 中国中医药出版社, 1992: 292
- 9 谢宗万. 中药通报, 1986, 11(5): 13
- 10 王伯涛. 浙江中医杂志, 1984, 19(12): 561
- 11 王浴生主编. 中药药理与应用. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 141, 173
- 12 曾美怡, 等. 中药新药与临床药理, 1995, 6(2): 48
- 13 Mengs U, *et al.* Arch Toxicol, 1993, 67: 307
- 14 马红梅, 等. 中药新药与临床药理, 1999, 10(5): 37

(1999-03-16 收稿)