

- [3] Yang Y J, Wang C M, Yuan Y F, et al. Analgesic sites of total alkaloids in *Papaver nudicaule* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(4): 554-557.
- [4] Wang L M, Chu Y H. Effect of norepinephrinergic system on ipalbidine analgesia [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1996, 31(11): 806-811.
- [5] Xu Q, Jin R L, Wu Y Y. Opioid, calcium, and adrenergic receptor involvement in protopine analgesia [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1993, 14(6): 495-500.
- [6] Zhang H L, Yang Y R, Wang Y, et al. Sites of analgesic action of 3, 15-diacetylbenzoylaconine [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1994, 15(2): 176-180.
- [7] Du X, Gao K B, Wang M C, et al. Study on the analgesic mechanism of the traditional Chinese medicine Qinglongyi [J]. *J Haerbin Med Univ* (哈尔滨医科大学学报), 1996, 30(1): 44-46.

关木通毒性的初步研究

胡世林¹, 张宏启², 陈金泉², 梅全喜³, 高玉桥³, 钟希文³, 吴惠妃³

(1. 香港浸会大学中医药学院, 香港; 2. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700;
3. 广东省中山市中医院, 广东 中山 528400)

关木通为马兜铃科东北马兜铃 *Aristolochia manshuriensis* Kom. 的干燥藤茎, 符合《神农本草经集注》《本草纲目》《和汉药考》(日)“茎有细孔, 两头皆通”的命名依据。近 20 年我国年累计销售量约为 6.4×10^6 kg, 即约有 1 亿人服用, 出口销往日本、东南亚各国的关木通每年约 2×10^4 kg。中国泌尿系统癌症的发病率只占全部肿瘤的 3.5%, 低于 4% 的世界平均水平和西方大多数国家^[1], 可见广泛使用关木通并未增加中国泌尿系统癌症的发病率。

20 世纪 90 年代初比利时减肥药事件, 因“苗条丸”用了含马兜铃酸 (aristolochic acid, AA) 的广防己后, 陆续有关木通对大鼠长期毒性研究的报道^[2,3], 但未见对不同产地关木通进行比较的研究。为全面认识关木通的毒性, 本研究直接从不同产地取样, 根据黄连与关木通配伍出现频率较高的启示, 设计了用黄连醇提取液浸泡关木通的炮制法, 以观察黄连的解毒效果。本实验采用 70% 乙醇回流提取, 旨在保证最大限度提取脂溶性成分 (包括 AA), 因水煎对提取 AA 转移率较低。

1 材料

1.1 实验动物: NIH 小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 由广州动物中心 (广州中医药大学实验动物中心) 提供。SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 180~200 g, 由广东省医学实验动物中心提供。在中山市中医院制剂室动物室饲养, 实验期间自由饮水、摄食, 室内温度控制在 20~26 °C, 湿度 40%~60%, 通风良好, 环境安静, 室内保持 12 h 照明, 12 h 黑暗, 并定期用

紫外光灯消毒。

1.2 药物: 关木通资源开发利用由南往北, 即由秦岭南坡逐渐向长白山推进, 根据这一历史过程, 本实验从关木通最南 (陕西省汉中留坝县)、最北 (吉林省长白县) 和中部 (山西省垣曲县) 产地取样, 经笔者鉴定为马兜铃科植物 *A. manshuriensis* Kom. 的干燥茎, 样品粉碎过 20 目筛, 按以下方法制备供试药液。

1.2.1 汉关木通 (HPLC 测定 AA 质量分数为 1.06%): 用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水分别配成相当于生药 0.4、0.2、0.1 g/mL 作为高、中、低剂量。

1.2.2 汉关木通 (黄连制): 药材先以黄连醇提取液浸泡, 再用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩, 制成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水配成相当于生药 0.2 g/mL 作为试药。

1.2.3 吉林关木通 (HPLC 测定 AA 质量分数为 0.45%): 用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水配成相当于生药 0.1 g/mL。

1.2.4 山西关木通 (HPLC 测定 AA 质量分数为 0.53%): 用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水配成相当于生药 0.1 g/mL 作为试药。

1.2.5 复方: 导赤散 (汉关木通、生地、甘草等) 用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水分别配成相当于关木

收稿日期: 2005-07-29

基金项目: 香港浸会大学资助项目 (FRG/00-01/I-81)

作者简介: 胡世林 (1942-), 男, 四川人, 研究员, 博士和研究生导师, 主要研究方向是地道药材和中药资源与质量。

E-mail: hshorse5@163.com

通生药 0.2 g/mL 作为试药。

1.3 仪器: BX-40 型显微镜 (日本 Olympus)、7170A 型全自动生化分析仪 (日本日立)、T500 型电子天平 (常熟市双杰测试仪器厂)。

2 方法

2.1 急性毒性测定: NIH 小鼠, 雌雄各半, 随机分组, 每组 16 只。以关木通醇浸膏配制成适当浓度 ig 给药, 按照常规方法进行急性毒性实验, 以改进寇氏法计算 LD₅₀ 及可信限 ($P=0.95$)。

2.2 慢性毒性

2.2.1 动物分组及给药: 大鼠随机分为 8 组, 每组 16 只, 均为雌雄各半, 均连续 ig 等体积药物 (1 mL/100 g) 8 周。各组均在 0 周和 8 周, 大鼠眼眶后静脉丛取血 (约 1~2 mL), 留取血液标本作血液检测; 在用药后 8 周每组处死 10 只大鼠, 取其脏器 (肝、肾及膀胱) 做病理切片分析。剩余的大鼠从第 9 周开始停止给药, 常规饲养 2 周 (即第 10 周) 处死, 留取血液及脏器 (肝、肾) 标本, 做生化指标和病理切片分析。

2.2.2 血液检测: 采用全自动生化分析仪测定, 指标有谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、总胆红素 (TBIL)、白蛋白 (ALB)、血肌酐 (SCr)、血尿素氮 (BUN)。

2.2.3 肝、肾、膀胱组织形态学检测: 肝、肾及膀胱组织标本用 10% 中性福尔马林与 95% 乙醇 (1:1) 固定, 石蜡包埋, 切成 2 μm 厚的切片, 分别进行 HE 染色, 以作显微镜检查。

2.2.4 定期检测大鼠体重变化: 每 3 天称重 1 次。

2.3 统计学处理: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不同实验组同一时间点的组间差异采用方差分析, Dunnett-*t* 检验。

3 结果

3.1 急性毒性测定结果: 按正式试验最后 3 组计算, 汉中关木通 LD₅₀ 值为 29.2 g/kg, 其 95% 可信限为 (29.2±3.71) g/kg。山西和吉林关木通实验未能求得 LD₅₀ 值, 原因是: 山西样品在剂量 150 g/kg 时的死亡率为 25%, 因而未能做出 100% 不死亡率的数据, 在最大耐受量 200 g/kg 时, 前 3 天没有 1 只小鼠死亡; 而吉林样品 (长白县) 在 33 g/kg 时死亡率已是 100%, 最大耐受剂量 195 g/kg 时, 2 h 即可见有大部分小鼠死亡。两者皆因样品数量不足而未能继续试验, 但从预试验结果, 可以认为吉林关木通毒性比山西大, 同理也可推断汉中关木通的毒性比山西大。三地关木通经 HPLC 法测定, 陕西省留坝县、吉林省长白县、山西省垣曲县关木通中的 AA 质量分数分别为 1.06%、0.53%、0.45%, 由此可见关木通急性毒性的强弱和快慢与 AA 水平并无相关性。文献研究报道吉林柳河关木通 LD₅₀ 为 (15.5±0.6) g/kg, 也证明吉林样品的急性毒性较大, 产地因素对安全性的影响应当引起高度重视。

3.2 慢性毒性实验结果

3.2.1 大鼠的体重变化及大体状况: 各组大鼠在给药期间, 体重变化与正常组相比差异无显著性 ($P>0.05$)。实验期间动物状况: 初期动物有死亡, 但解剖证实是 ig 致死, 并非药物引起。在给药后期各组动物都有竖毛和抬头坐位现象, 高、中剂量组较为明显。

3.2.2 血液生化检验结果: 大鼠 ALT 和 AST 的变化见表 1; ALB 和 TBIL 变化见表 2。结果表明: 给药 8 周后, 汉中关木通高剂量组及复方组 ALT 升高, 汉中关木通高剂量组与正常对照组比较差异显著 ($P<0.05$), 复方组与正常对照组比较差异显著 ($P<0.01$), 但到第 10 周时又有所下降; 其余各组均无明显差异。给药 8 周后, 吉林关木通组、汉中关木通低、中、高剂量组 AST 降低, 与正常对照组

表 1 各组大鼠 ALT 和 AST 变化

Table 1 Changes of ALT and AST of rats in every groups

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	0 周 (n=16)		8 周 (n=12)		10 周 (n=6)	
		ALT/(U · L ⁻¹)	AST/(U · L ⁻¹)	ALT/(U · L ⁻¹)	AST/(U · L ⁻¹)	ALT/(U · L ⁻¹)	AST/(U · L ⁻¹)
正常对照	—	57.9±12.7	201.6±43.1	40.5±8.7	237.7±46.6	32.7±3.1	37.7±3.9
复方	2	61.9±13.1	192.3±39.5	59.2±16.3**	220.6±27.2	32.9±2.0	44.7±8.4
汉中关木通 (黄连制)	2	56.6±9.6	226.8±51.2	42.9±12.3	213.1±32.3	32.5±2.7	39.6±13.6
山西关木通	1	57.9±12.2	225.8±40.5	40.7±7.8	219.5±28.2	33.3±1.9	42.8±16.7
吉林关木通	2	48.9±8.9	201.4±44.3	36.6±7.3	196.7±34.1*	32.9±3.0	55.8±31.7
汉中关木通	1	55.2±8.5	191.7±30.6	34.3±7.8	173.4±23.9*	37.1±13.5	43.9±11.1
	2	58.5±9.5	191.5±24.6	37.0±8.6	154.9±29.0*	32.8±2.9	39.0±6.6
	4	49.6±15.1	163.1±22.8	53.8±14.0*	138.7±18.3*	31.7±1.6	45.2±9.3

与正常对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs normal control group

表 2 各组大鼠 TBIL 和 ALB 变化

Table 2 Changes of TBIL and ALB of rats in every groups

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	0 周 (n=16)		8 周 (n=12)		10 周 (n=6)	
		ALB/(g · L ⁻¹)	TBIL/(μmol · L ⁻¹)	ALB/(g · L ⁻¹)	TBIL/(μmol · L ⁻¹)	ALB/(g · L ⁻¹)	TBIL/(μmol · L ⁻¹)
正常对照	—	31.0±3.4	1.0±0.4	32.7± 3.1	1.1±0.6	31.2±2.2	1.1±0.1
复方	2	30.0±3.1	1.1±0.9	32.9± 2.0	1.2±0.5	32.2±1.3	1.3±0.4
汉关木通(黄连制)	2	29.9±1.7	1.0±0.8	32.5± 2.7	1.2±0.3	33.7±2.1	1.1±0.2
山西关木通	1	29.2±3.0	1.0±0.5	33.3± 1.9	1.3±0.4	32.8±2.2	1.8±1.5
吉林关木通	2	30.0±3.4	1.1±0.6	32.9± 3.0	1.1±0.5	33.8±2.0	2.4±1.9
汉关木通	1	30.3±2.7	1.2±0.6	37.1±13.5	1.4±0.4	33.5±3.1	1.2±0.8
	2	30.4±1.4	1.3±0.6	32.8± 2.9	0.9±0.5	32.8±2.2	1.7±0.3
	4	31.0±2.2	1.1±0.7	31.7± 1.6	1.1±0.6	33.7±1.5	1.1±0.2

比较差异显著。各个时间段,各组与正常对照组比较,ALB 均无显著差异。各个时间段 TBIL,各组与正常对照组比较差异均无显著性;各给药组第 8 周与 0 周相比差异也无显著性。

3.2.3 大鼠 BUN 和 SCr 的测定结果:见表 3。结果表明,各组 BUN、SCr 与正常对照组比较差异均无显著性;各给药组第 8 周与 0 周相比差异也无显著性。

表 3 各组大鼠 BUN 和 SCr 变化

Table 3 Changes of BUN and SCr of rats in every groups

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	0 周 (n=16)		8 周 (n=12)		10 周 (n=6)	
		BUN/(μmol · L ⁻¹)	SCr/(μmol · L ⁻¹)	BUN/(μmol · L ⁻¹)	SCr/(μmol · L ⁻¹)	BUN/(μmol · L ⁻¹)	SCr/(μmol · L ⁻¹)
正常对照	—	8.1±2.5	85.1±8.6	7.8±1.3	75.4±11.4	7.4±0.4	74.5±9.2
复方	2	7.7±1.8	79.3±4.6	8.6±2.4	78.8± 9.9	6.7±0.7	72.5±5.9
汉关木通(黄连制)	2	6.7±0.8	79.9±5.8	7.7±1.0	72.9± 5.7	7.1±1.0	70.4±3.9
山西关木通	1	6.9±0.9	81.2±5.7	7.7±1.2	74.8± 6.3	6.7±1.3	73.7±5.4
吉林关木通	2	6.3±1.0	78.2±2.3	7.5±0.7	70.2± 7.2	6.1±0.3	69.2±8.5
汉关木通	1	6.0±0.7	82.2±7.0	7.7±1.0	69.8± 5.0	6.7±1.0	71.0±6.1
	2	7.0±1.0	81.2±2.9	8.1±1.9	73.6± 8.8	7.3±1.0	72.4±8.3
	4	6.1±0.8	83.0±6.8	8.5±3.8	79.0±17.0	7.3±1.1	76.5±4.0

4 讨论

《图经本草》记载木通产于汉中,笔者 2002 年在陕西汉中地区药材市场调查发现,当地产销的正是采自留坝县的关木通,而且未见有其他科属的“木通”销售。汉中是古代药材的重要产区之一,当地所用关木通,应该是历史的延续,但是《秦岭植物志》和《秦巴山天然药物志》均未记载留坝和汉中分布和生产关木通,这说明标本采集、植物区系研究和药源调查有时会遗漏某些重要的信息,现在很少有人知道汉中分布并使用关木通,甚至误以为关木通只产在东北,实际上东北关木通资源开发利用较晚,冠以“关”字是为了有别于毛茛科的川木通。

本实验中汉关木通中剂量组、黄连炮制组以及复方组的剂量都为相当于关木通生药 2 g/kg,汉关木通(黄连制)组肾间质炎在 10 例标本中仅见 1 例,与对照组相同,而汉关木通中剂量组 10

3.2.4 病理检查结果:见表 4 和 5。由表 4 可见,汉关木通中剂量组 10 例中有 1 例为肝组织带状坏死,尚不能肯定其对 SD 大鼠有肝损伤作用。对照组和给药各组均可引起肾小管上皮细胞内水肿,可能因脏器标本固定欠佳所致,肾间质炎、透明管型形成及肾小管再生属于病理性改变。汉关木通中剂量组有 1 例表现为膀胱上皮乳头瘤样增生,可能与给药有关。

例标本中就有 6 例,经 Ridit 分析,汉关木通(黄连制)组发生率有明显降低(P<0.05),这与广防己长期毒性实验中配伍黄连有类似的趋势^[4]。复方组(导赤散)到后期,每次换垫料都发现该组的垫料比其他组的湿,可能揭示经过配伍后利尿、导赤作用增强。这些现象和线索,值得进一步研究以探明中医学中复方配伍的科学性,至少在发展基础理论上具有重要意义。

在广防己长期毒性实验^[4]过程中,曾以牡丹江市宁安县药材公司的关木通(AA 质量分数为 0.61%,剂量是 7.5 g/kg)对比进行实验,16 只大鼠给药后 7 d 开始,45 d 内有 12 只相继死亡。动物死亡前,多异常消瘦,不愿意动,行动时也步履蹒跚,而且有异常臭味。宁安与长白县都属于长白山区,两地样品所含 AA 接近,之所以长期毒性有如此大的悬殊,可能与剂量有关,其他研究者用 1~4 g/kg

表 4 大鼠肝、肾、膀胱病理改变
Table 4 Pathological changes of liver, kidney, and urinary bladder of rats

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	8周			停药2周		
		肝 (n=10)	肾 (n=10)	膀胱 (n=10)	肝 (n=4~6)	肾 (n=4~8)	膀胱 (n=4~6)
正常对照	—	未见 损伤	5/10 中度肾小管上皮细胞内水肿, 5/10 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 1/10 轻度肾间质炎	未见 损伤	未见 损伤	4/4 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 1/4 轻度肾间质炎	未见 损伤
复方	2	未见 损伤	8/10 中度肾小管上皮细胞内水肿, 2/10 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 3/10 轻度肾间质炎, 1/10 肾小管再生	未见 损伤	未见 损伤	6/6 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 1/6 轻度肾间质炎	未见 损伤
汉关木通 (黄连制)	2	未见 损伤	3/10 中度肾小管上皮细胞内水肿, 7/10 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 1/10 轻度肾间质炎	未见 损伤	未见 损伤	5/5 轻度肾小管上皮细胞内水肿	未见 损伤
山西关木通	1	未见 损伤	3/10 中度肾小管上皮细胞内水肿, 7/10 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 1/10 轻 度肾间质炎, 1/10 肾小管再生	未见 损伤	未见 损伤	6/6 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 2/6 轻度肾间质炎	未见 损伤
吉林关木通	2	未见 损伤	5/10 中度肾小管上皮细胞内水肿, 5/10 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 2/10 轻度肾间质炎	未见 损伤	未见 损伤	5/6 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 1/6 中度肾小管上皮细胞内水 肿, 1/6 轻度肾间质炎	未见 损伤
汉关木通	1	未见 损伤	9/10 中度肾小管上皮细胞内水肿, 1/10 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 2/10 轻度肾间质炎, 1/10 肾小管再生	未见 损伤	未见 损伤	8/8 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 3/8 轻度肾间质炎	未见 损伤
	2	1/10 组织 带状坏死	5/10 中度肾小管上皮细胞内水肿, 5/10 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 6/10 轻 度肾间质炎, 2/10 肾小管再生, 1/10 透明管型形成	1/10 黏膜 呈乳头瘤 样增生	未见 损伤	4/5 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 1/5 中度肾小管上皮细胞内水 肿, 1/5 轻度肾间质炎	未见 损伤
	4	未见 损伤	3/10 中度肾小管上皮细胞内水肿, 7/10 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 3/10 轻 度肾间质炎, 2/10 肾小管再生	未见 损伤	未见 损伤	4/4 轻度肾小管上皮细胞内水肿, 3/4 轻度肾间质炎	未见 损伤

表 5 大鼠肾间质炎程度比较 (Ridit 分析)
Table 5 Comparison of interstitial nephritis in rats (Ridit analysis)

组别	8周 (n=10)				10周 (n=4~6)			
	重度	中度	轻度	无	重度	中度	轻度	无
正常对照	0	0	1	9	0	0	1	3
汉关木通 (2 g/kg)	0	0	6*	4*	0	0	1	4
汉关木通 (黄连制)	0	0	1 [△]	9 [△]	0	0	0	5
复方	0	0	3	7	0	0	1	5

与正常对照组比较: *P<0.05; 与汉关木通中剂量 (2 g/kg) 组比较: [△]P<0.05

*P<0.05 vs normal control group; [△]P<0.05 vs Hanzhong Guanmutong (2 g/kg) group

实验^[5,6]也未发现病理和生化方面的改变,表明剂量超过 4 g/kg,毒性急增。

References:

[1] Li Y M. Exploration of the cause of nephrosis in Belgians and carcinogenicity of Chinese herbs [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2002, 22 (2): 142-145.
[2] Huang Y X, Jiang H H, Wang H, et al. The experimental study of the chinese traditional medicine Akebia stem's kidney toxicity and resist its toxicity [J]. *Chin J Integr Tradit West Nephrol* (中国中西医结合肾病杂志), 2001, 2 (10): 566-568.

[3] Qiu Q, Liu Z H. Experimental observation of acute kidney damage induced by *Aristolochia manshuriensis* in rats [J]. *Chin J Nephrol Dialy Transpl* (肾脏病与透析肾移植杂志), 1999, 8 (1): 16-18.
[4] Hu S L, Zhang H Q, Chan K, et al. A study on chronic toxicity of *Aristolochia fangchi* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2003, 26 (A): 274-277.
[5] Cui T G, Wang H Y. Study of the influence on renal function and interstitial structure of rats with *Aristolochia manshuriensis* in pharmacopeia official dose [J]. *Chin J Nephrol* (中华肾脏病杂志), 2000, 16 (2): 106-109.
[6] Zhang W P. Comparative study on diuresis and toxicity of three kinds of *Aristolochia manshuriensis* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1989, 24 (10): 594-596.

欢迎订阅《中草药》杂志 2004 年增刊

为了加速中药现代化进程,促进中药产业的技术创新,我部编辑出版了以“新技术在中药现代化中的应用”为主要内容的增刊。该增刊共收载论文 120 篇,总字数约 50 万字,每本定价 60 元,另加 5.00 元邮费。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅,款到寄刊。

编辑部地址:天津市南开区鞍山西道 308 号 邮编:300193 网址:www.tjpr.com

电话:(022) 27474913 23006821 传真:(022) 23006821 E-mail: zcyzbbjb@tjpr.com