

# 马兜铃酸结构多样性及其复方毒性研究进展

王 勇, 邓晓春

(深圳大学生命科学学院 深圳市微生物基因工程重点实验室, 广东 深圳 518060)

20 世纪 90 年代, 由于长期大量服用含有广防己的减肥药在比利时发生了 100 多例中末期肾病, 原因是广防己中的马兜铃酸具有致癌和致肾间质纤维化毒性。由此提出了所谓的“中草药肾病(Chinese herb nephropathy, CHN)”问题。急性毒性实验表明, 马兜铃酸对大、小鼠 *po* 给药的 LD<sub>50</sub> 分别为 183.9 和 55.9 mg/kg, 静脉给药时分别为 74.0 和 38.4 mg/kg<sup>[1]</sup>, 张小宇等还利用核磁共振技术结合模式识别研究了马兜铃酸的亚急性生化效应<sup>[2]</sup>。以马兜铃酸为主要成分的关木通单次 *po* 10 g 即可引起中毒。基因水平研究表明, 马兜铃酸及其肠内代谢产物马兜铃酸内酰胺 I 都可以与 DNA 形成加合物, 毒性以肾毒性为主, 同时有肝毒性和致癌性。因此, 欧美和新加坡等很多国家相继禁止含马兜铃酸的中药进口和使用。我国虽也取消了广防己和青木香的药用标准, 但其他含马兜铃酸的中药可作为处方药使用。

10 多年来, 随着研究的深入, 即使在最先提出“中草药肾病”的比利时, 也有学者<sup>[3]</sup>认为应该用“马兜铃酸肾病(aristolochic acid nephropathy, ANN)”取代“中草药肾病”。传统中医理论认为适当配伍后可降低马兜铃酸的毒性, 马兜铃酸具有毒性是否等同于含马兜铃酸的中药复方也具有毒性的看法尚需更详细的研究加以证实。本文对马兜铃的结构多样性, 马兜铃酸的结构与毒性相关性和马兜铃酸的中药复方的减毒问题做一综述。

## 1 马兜铃酸的结构多样性与毒性的关系

马兜铃酸(aristolochic acids)主要存在于马兜铃属和细辛属植物中, 是 3,4-二甲氧基-10-硝基-1-菲酸类化合物, 也是天然产物中发现的第 1 类含硝基化合物。与生物碱和黄酮等次级代谢产物类似, 马兜铃酸也表现出了结构的相似性和多样性。马兜铃酸类化合物的结构如图 1、表 1 所示。结构最简单的为马兜铃次酸 I (aristolic acid I), R<sub>1</sub>~R<sub>6</sub> 为 H, 8 位 R<sub>4</sub> 氢被甲氧基取代, 形成马兜铃次酸(aristolic acid), 马兜铃次酸 I 的 R<sub>3</sub> 氢被甲氧基取代形成 aristofolin; 马兜铃次酸 I 的 10 位 R<sub>5</sub> 氢被硝基取代, 为马兜铃酸 II (aristolochic acid II), 它是结构最简单的含硝基菲酸, 其他马兜铃酸都可以看作是由它衍生而来的。马兜铃酸 I 的 R<sub>4</sub> 被甲氧基取代形成马兜铃

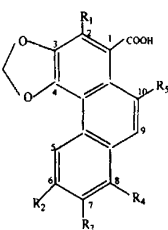


图 1 马兜铃酸的基本骨架  
Fig. 1 Skeleton of aristolochic acid

表 1 马兜铃酸类化合物的结构

Table 1 Structures of compounds of aristolochic acids

| 马兜铃酸                    | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub>   | R <sub>3</sub>   | R <sub>4</sub>   | R <sub>5</sub>  |
|-------------------------|----------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| aristolic acid II       | H              | H                | H                | H                | H               |
| aristolic acid          | H              | H                | H                | OCH <sub>3</sub> | H               |
| aristofolin             | H              | H                | OCH <sub>3</sub> | H                | H               |
| aristolochic acid I     | H              | H                | H                | H                | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid I a   | H              | H                | H                | OCH <sub>3</sub> | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid I a   | H              | H                | H                | OH               | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid III   | H              | OCH <sub>3</sub> | H                | H                | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid III a | H              | OH               | H                | H                | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid VI a  | OH             | H                | H                | OCH <sub>3</sub> | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid IV    | H              | OCH <sub>3</sub> | H                | OCH <sub>3</sub> | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid IV a  | H              | OH               | H                | OCH <sub>3</sub> | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid VI    | H              | H                | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid VI a  | H              | H                | OH               | OCH <sub>3</sub> | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid V a   | H              | OH               | OCH <sub>3</sub> | H                | NO <sub>2</sub> |
| aristolochic acid VII a | H              | H                | OCH <sub>3</sub> | OH               | NO <sub>2</sub> |

酸 I, 被羟基取代形成马兜铃酸 I a; 马兜铃酸 II 的 R<sub>2</sub> 被甲氧基取代形成马兜铃酸 III, 被羟基取代形成马兜铃酸 III a; 马兜铃酸 I 的 R<sub>1</sub> 被羟基取代形成马兜铃酸 VI a; 马兜铃酸 I 的 R<sub>2</sub> 被甲氧基取代形成马兜铃酸 IV, 被羟基取代形成马兜铃酸 IV a; 马兜铃酸 I 的 R<sub>3</sub> 被甲氧基取代形成马兜铃酸 VI, 被羟基取代形成马兜铃酸 VI a。马兜铃酸 III a 的 R<sub>3</sub> 被甲氧基取代形成马兜铃酸 Va, 马兜铃酸 I a 的 R<sub>3</sub> 被甲氧基取代形成马兜铃酸 VII a。从以上分析可以看出, 仅仅是羟基和甲氧基在骨架上不同位置的变化和组合就可以产生多种马兜铃酸衍生物, 而这些变化与它们的毒性密切相关。

马兜铃酸在植物中的分布并不均一, 如表 2 所示, 在不同的马兜铃酸或细辛属植物中, 马兜铃酸的种类差别较大, 经常发现的是马兜铃酸 I。在关木通中还发现了马兜铃酸 B II 甲酯<sup>[1]</sup>, 在管花马兜铃酸中发现了青木香酸和 9,10-二羟基-8-甲氧基-3,4-二甲氧基-1-菲酸-内酯<sup>[10]</sup>, 在大叶马兜铃酸中发现了 Aristofolin-A<sup>[14]</sup>, 在棉毛马兜铃酸中分离出马兜铃酸萜酯 I<sup>[10]</sup>, 在 *Aristolochia pubescens* 中分离出了 3 种马兜铃酸的二萜酯类化合物<sup>[15]</sup>。总之, 马兜铃酸 I 是马兜铃酸中的最主要成分, 但该类化合物在结构上也表现出很大的多样性。

马兜铃酸与脱氧核糖核酸共介结合形成加合物导致肾毒性和致癌性<sup>[16]</sup>, 有结果表明硝基和羧基对加合物的形成是必须的<sup>[17]</sup>。Balachandran 等以 LLC-PK1 细胞株为对象系统地研究了马兜铃酸的化学结构与毒性关系, 发现环状结

收稿日期: 2005-12-22

基金项目: 深圳市科技计划资助项目(200528)

作者简介: 王 勇(1970—), 男, 吉林省四平人, 博士, 副教授, 从事质谱学和中药化学研究。

Tel: (0755)26535432 E-mail: wyong@szu.edu.cn

表 2 部分近年来分离出的马兜铃酸  
Table 2 Some aristolochic acids reported  
in recent research

| 马兜铃酸                                                    | 来源植物                                    | 文献 |
|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----|
| aristolochic acids I、II、IIIa、IV、IVa                     | 木通马兜铃 <i>Aristolochia manshuriensis</i> | 4  |
| aristolochic acid I、aristolochic acids I、II、IIIa、IV、IVa | 木通马兜铃                                   | 5  |
| aristolochic acids IVa、VI                               | 北马兜铃 <i>A. contorta</i>                 | 6  |
| aristolochic acids IIIa、VI、VIIa                         | 北马兜铃                                    | 7  |
| aristolochic acids I、II、IIIa                            | 背蛇生 <i>A. cinnabarina</i>               | 8  |
| aristolochic acids I、II、IIIa、VIIa                       | 管花马兜铃 <i>A. tubiflora</i>               | 9  |
| aristolochic acid I                                     | 绵毛马兜铃 <i>A. manissima</i>               | 10 |
| aristolochic acid I                                     | <i>A. rodriguesii</i>                   | 11 |
| aristolochic acid I                                     | 马蹄香 <i>Saruma henryi</i>                | 12 |
| aristolochic acid I                                     | 长茎金耳环 <i>Asarum longerhizomatosum</i>   | 13 |

构、取代基组成甚至位置都与毒性关系很大。8 位甲氧基和 10 位硝基是决定毒性的关键因素,马兜铃酸 I 毒性最强,马兜铃酸 II、VIIa、Ia 的毒性依次减弱。对马兜铃酸 I 结构的任何装饰,如加成、消除和置换等都会急剧减小毒性。例如马兜铃酸 III 与 I 结构差别仅在于甲氧基位置不同,但马兜铃酸 III 没有毒性;硝基被还原为氨基也会消失<sup>[18]</sup>;骨架上增加羟基而降低毒性的原因可能是增加了化合物的水溶性。尽管这些是由体外实验得到的结论,但马兜铃酸 I 毒性最强的结论也与化学生态学的有关研究相符合<sup>[19,20]</sup>。而在中药复方的煎煮过程中,有可能发生氧化、还原、分解等化学反应而降低中药的毒性。

## 2 含马兜铃酸中药复方的减毒作用

马兜铃酸 I 具有毒性并不等同于含马兜铃酸的中药经合理配伍后也具有毒性。有学者认为“药之害在医不在药”,马兜铃酸肾病问题的出现在于中西药之间截然不同的理论基础和文化背景<sup>[21,22]</sup>。近年来,有关马兜铃酸在复方中的减毒增效作用已被广泛关注<sup>[23]</sup>。胡世林等<sup>[24]</sup>研究表明,黄连炮制和广防己、黄芪配伍对广防己具有一定的减毒作用,还研究了不同产地的关木通毒性,发现各种关木通中马兜铃酸量无显著差异,但毒性差别明显,认为关木通中其他成分与毒性的强度和作用速度有关,应充分考虑马兜铃属植物的生物多样性<sup>[25]</sup>。即使同为关木通,不同人药形式对关木通中马兜铃酸(I、II、IVa)的量有很大影响<sup>[26]</sup>。中医认为炮制和合理配伍可以降低有毒成分的量,高效液相色谱分析表明经蜂蜜炮制后马兜铃酸量约减少一半<sup>[27]</sup>。王智民等<sup>[28]</sup>确定了以碳酸氢钠浸泡后醋制关木通的炮制方法,有毒成分去除率在 80% 以上。马红梅等<sup>[29]</sup>研究表明关木通与炮制后的附子共煎后马兜铃酸量降低 30% 以上。李春香<sup>[30]</sup>分析对比了导赤散和关木通中的马兜铃酸,在复方中马兜铃酸量降低 50% 以上;丁英钧等<sup>[31]</sup>从病理和成分分析两方面证实龙胆泻肝丸、导赤散(均含有关木通)有降低关木通肾毒性的作用。此外,生地黄、甘草与关木通配伍和醇提都可以减轻关木通的毒性<sup>[32]</sup>。值得注意的是,甘草降低关木通毒性的原因可能不仅在于它可以降低共煎液中马兜铃酸量,也包括甘草酸在体内对马兜铃酸毒性的抑制作用<sup>[33]</sup>。也有报道冠心苏合丸中

马兜铃酸 I 量明显低于龙泻肝丸,但长期服用仍可导致马兜铃酸肾病<sup>[34]</sup>。

## 3 结语

了解马兜铃酸在中药复方中的减毒增效机制可以系统地解释中药配伍的合理性,是中药复方物质基础研究的重要内容。虽然马兜铃酸的结构具有多样性,但马兜铃酸 I 毒性最强,以马兜铃酸 I 为分析依据研究含马兜铃酸的中药复方的减毒增效作用具有合理性。但长期以来,减少马兜铃酸 I 的量(通过改变化学反应途径和反应条件,如硝基的还原,甲氧基、羟基的变化和骨架的断裂等)对毒性的影响均未见报道,常与含马兜铃酸中药配伍的中药、煎煮时间、溶液酸碱性等因素对马兜铃酸量的影响和马兜铃内酰胺及其他马兜铃酸衍生物在煎煮过程中是否变化和如何变化等问题都需要进行深入研究。

## References:

- [1] Mengs U. Acute toxicity of aristolochic acid in rodents [J]. *Arch Toxicol*, 1987, 59: 328-331.
- [2] Zhang X Y, Wu H F, Pei F K. Studies on subacute biochemical effects of Aristolochic acid using <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy combined with pattern recognition [J]. *Chem J Chin Univ*, 2005, 26(6): 991-996.
- [3] Cosyns J P. Aristolochic acid and 'Chinese Herbs Nephropathy' [J]. *Drug Safe*, 2003, 26(1): 33-48.
- [4] Lou F C, Peng G P, Wang Y, et al. Studies on the chemical components of *Aristolochia manshuriensis* Kom. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(8): 588-593.
- [5] Wang Y, Pan J X, Gao J J, et al. The antitumor constituents from stems of *Aristolochia manshuriensis* [J]. *J Beijing Med Univ* (北京医科大学学报), 2000, 32(1): 18-21.
- [6] Chen Y G, Yu L L. Studies on the chemical constituents of *Aristolochia contorta* [J]. *J Yunnan Normal Univ* (云南师范大学学报), 2005, 25(3): 41-44.
- [7] Tan H G, Liu Y Q. Chemical components of *Aristolochia contorta* Beg. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1994, 19(11): 677-678.
- [8] Li H, Sakagami Y J, Marumo S, et al. Constituents of *Aristolochia cinnabarina* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1995, 37(9): 745-748.
- [9] Peng G P, Lou F C, Zhao S X, et al. Studies on the chemical components of *Aristolochia tubiflora* Dunn. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(7): 521-525.
- [10] Peng G P, Lou F C, Wang Y, et al. A sesquiterpene ester of aristolochic acid from *Aristolochia mallissima* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1996, 31(6): 446-450.
- [11] Junior S F P, Conserva L M, Correa M S S, et al. Constituents of *Aristolochia* species [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2002, 30: 701-703.
- [12] Peng Q, Zhao H, Zhang G Z. Pharmacognostic identification of *Saruma henryi* and differentiation of *Asarum sieboldii* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(2): 277-280.
- [13] Zhang S X, Tadato T, Seiichi Y. Studies on chemical constituents from radix and rhizome of *Asarum longerhizomatosum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 297-299.
- [14] Wu T S, Leu Y L, Chan Y Y. Aristofolin-A, a denitro-aristolochic acid glycoside and other constituents from *Aristolochia kaempferi* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(8): 2509-2510.
- [15] Nascimento I R, Lopes L M X. Diterpene esters of aristolochic acids from *Aristolochia pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 63: 953-957.
- [16] Pfau W, Schmeiser H H, Wiessler M. Aristolochic acid binds covalently to the exocyclic amino group of purine nucleotides in DNA [J]. *Carcinogenesis*, 1990, 11: 313-319.
- [17] Kohara A, Suzuki T, Honma M, et al. Mutagenicity of aristolochic acid in the lambda/lacZ transgenic mouse [J]. *Mutation Res*, 2002, 515: 63-72.
- [18] Balachandran P, Wei F, Lin RC, et al. Structure activity relationships of aristolochic acid analogues: toxicity in cul-

- tured renal epithelial cells [J]. *Kidney Int*, 2005, 67(5): 1797-1805.
- [19] Nishida R, Fukami H. Ecological adaptation of an Aristolochiaceae-feeding swallowtail butterfly, *Atrophaneura alcinous*, to aristolochic acid [J]. *J Chem Ecol*, 1989, 15(11): 2549-2563.
- [20] Wu T S, Leu Y L, Chan Y Y. Aristolochic acids as a defensive substance for the aristolochiaceae plant-feeding swallowtail butterfly, *pachliopta aristolochiae interpositus* [J]. *J Chin Chem Soc*, 2000, 47: 221-226.
- [21] Lu G Z, Jia Q. The harm of Chinese medicine results from medical doctors instead of medicine proper [J]. *World Sci Technol: Mod Tradit Chin Med Mater Med* (世界科学技术: 中医中药现代化), 2003, 5(3): 72-74.
- [22] Yang J P, Jia Q. An approach to aristolochic acid event from cultural point of view. [J]. *World Sci Technol: Mod Tradit Chin Med Mater Med* (世界科学技术: 中医中药现代化), 2003, 5(6): 72-73.
- [23] Hu S L, Hu Y C, Zhang H Q. Aristolochic acid and Chinese herbal medicines containing aristolochic acid [J]. *World Sci Technol: Mod Tradit Chin Med Mater Med* (世界科学技术: 中医中药现代化), 2003, 5(6): 68-71.
- [24] Hu S L, Zhang Q H, Chen J Q, et al. Studies on the toxicity of *Aristolochic Fangchi* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2003, 26(4): 274-277.
- [25] Hu S L, Zhang Q H, Chen K, et al. Studies on the toxicity of *Aristolochic manshuriensis* (Guanmutong) [J]. *Toxicity*, 2004, 198: 195-201.
- [26] Zhang C Y, Wang X, Shang M Y, et al. Affection of different preparations on the content of toxic constituents in traditional Chinese medicines, exemplified with *Caulis Aristolochiae manshuriensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(11): 835-838.
- [27] Zhang D F, Zhang J L, Huang C. Studies on the chemical constituents before and after *Aristolochia contorta* Ege. processing [J]. *J Jiangxi Univ Tradit Chin Med* (江西中医学院学报), 2004, 16(2): 59.
- [28] Wang Z M, You L S, Jiang X, et al. Methodological studies on selectively removing toxins in *Aristolochiae manshuriensis* by Chinese processing techniques [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(16): 1243-1246.
- [29] Ma H M, Guo J H, Zhang A L, et al. Studies on the detoxification action of processed aconite to *Aristolochia manshuriensis* Kom. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 319-320.
- [30] Li CX, Ding L Y, Wang W Z, et al. The experimental study of mouse acute nephrotoxicity of Daochi San [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 2005, 11(4): 288-289.
- [31] Ding Y J, Wang Y T, Li C X, et al. Nephrotoxicity of caulis aristolochiane manshuriensis and determinations of its toxicity component [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2004, 20(9): 1079-1080.
- [32] 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.
- [33] Zhu S, Liu J, Chen L, et al. Chemopreventive effect of five drugs on renal interstitial fibrosis induced by an aristolochic acid containing Chinese herb in rats [J]. *Am J Nephrol*, 2005, 25(1): 23-29.
- [34] Li X M, Zhao J R, Su T, et al. An analysis of the clinical and pathological characteristics of Guanxinsuhewan associated tubulointerstitial [J]. *Chin J Pract Int Med* (中国实用内科杂志), 2005, 25(5): 419-421.

## 洋蓟叶提取物的生物活性研究

王天轶<sup>1</sup>, 王云志<sup>2</sup>

(1. 解放军白求恩国际和平医院, 河北 石家庄 050082; 2. 河北医科大学 新药研发办公室, 河北 石家庄 050017)

洋蓟别名朝鲜蓟、菊蓟、菜蓟、法国百合、荷花百合, 学名 *Cynara scolymus* L., 为菊科菜蓟属多年生草本植物, 原产地中海沿岸, 目前欧美和非洲部分地区种植较多。19 世纪由法国传入我国上海, 目前我国在上海、浙江、湖南、云南等地有栽培, 在台湾省有较大面积种植。

洋蓟有较高营养价值, 是一种保健蔬菜, 常制成罐头, 每 100 g 花苞可食部分中含蛋白质 2.8 g、脂肪 0.2 g、糖 9.9 g、VA160NP 单位、VB<sub>1</sub> 0.06 mg、VB<sub>2</sub> 0.08 mg、VC 11 mg、钙 51 mg, 还含有菜蓟黄酮化合物及天门冬酰胺等对人体有益成分。洋蓟叶提取物 (artichoke leaves extract, ALE) 具有较高药用价值, 在欧洲一些国家应用治疗消化不良和肝脏病, 其含有的主要酚类成分有单或双咖啡酰奎宁酸, 如绿原酸、洋蓟苷或称奎尼酸-1,5-双咖啡酸酯、咖啡酸和 3', 4', 5', 7-四羟基黄酮-7-O-葡萄糖苷。洋蓟叶提取物具有多种生物活性, 国内对其药用研究较少, 本文拟对国外 ALE 的研究作一综述, 以引起同仁关注。

### 1 对消化系统作用

1.1 治疗消化不良: Holtmann 等<sup>[1]</sup> 在一项双盲、安慰剂对

照、随机临床试验中, 随机给予 247 名功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 患者 ALE 片剂或安慰剂, 根据每周消化不良发作次数评分, 将总分值作为主要评测指标。对其中的 244 名 (129 名积极治疗, 115 名安慰剂) 数据进行统计分析。用 ALE 片剂治疗 6 周后的症状改善明显好于安慰组 ( $P < 0.01$ )。与安慰剂治疗比较, 生活质量得分有显著改善 ( $P < 0.01$ )。ALE 对功能性消化不良的症状缓解和病人生产质量改善比安慰剂效果显著。在一项开放式研究中, 每天随机给予志愿受试者 320 mg (低剂量) 或 640 mg (高剂量) ALE, 516 名中 454 名完成了研究, 结果表明, 两剂量组与基线比较, 各种消化不良的症状都有明显改善, 消化不良总分平均减少 40%, 但两组间没有明显的差别<sup>[2]</sup>。

1.2 治疗肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS): 国外报道人群中 22% 患有肠易激综合征 (IBS), 特征表现为腹痛及大便习惯改变, 其发病机制迄今尚不清楚, 治疗亦存在一定困难。由于 ALE 对 FD 的良好治疗作用, 因此, 研究者期望应用 ALE 能够改善 IBS 症状。ALE 治疗 6 周后, 症状明显减轻, 总体效果良好, 96% 的病的治疗效果好于或