

含马兜铃酸中药减毒的研究进展

王潇晗^{1,2}, 张连学^{1,2*}, 郜玉钢^{1,2*}, 臧 埔^{1,2}, 周 瑞^{1,2}

1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

2. 吉林省人参工程技术创新中心, 吉林 长春 130118

摘 要: 含马兜铃酸的植物世界上有 600 余种, 在中国有 65 种被用于治疗疾病。由于发生“马兜铃酸肾病”事件, 1994 年, 法国率先禁售含马兜铃酸的中药, 此后多国陆续对含有马兜铃酸的中草药发出禁令, 可见, 开展对含马兜铃酸中药的去毒和减毒研究非常必要。从炮制、配伍、育种几个方面对含马兜铃酸中药减毒的研究进展进行综述, 以为含马兜铃酸类中药的应用提供理论依据。

关键词: 马兜铃酸; 减毒; 中药; 炮制; 配伍; 育种

中图分类号: R283.21; R282.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)22-3241-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.22.026

Research progress on attenuation of aristolochic acid

WANG Xiao-han^{1,2}, ZHANG Lian-xue^{1,2}, GAO Yu-gang^{1,2}, ZANG Pu^{1,2}, ZHOU Rui^{1,2}

1. College of Traditional Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Technology Innovation Center of Jilin Ginseng Project, Changchun 130118, China

Key words: aristolochic acid; attenuation; Chinese materia medica; processing; compatibility; breeding

马兜铃科植物有 600 余种, 大多含有马兜铃酸^[1]。马兜铃酸 (aristolochic acid) 别名木通甲素 (aristolochine), 是一种含硝基酚类有机酸。20 世纪 60 年代, 马兜铃酸曾被批准作为抗感染和增加白细胞及巨噬细胞功能的药物使用。但随后发现其对人体有肾毒作用, 1964 年, 吴松寒^[2]首先报道含关木通的方剂或成药可导致肾功能损害, 但在当时并未引起重视。1990—1992 年比利时患者服用减肥药 (含中药防己、厚朴) 后, 发生严重的肾损害, 从减肥药中查出马兜铃酸^[3]。1999—2001 年, 英国药物安全委员会 (CSM)、英国药物监控中心、美国药品与食品管理局 (FDA)、澳大利亚药物管理局 (TGA) 等相继宣布对含马兜铃酸的中药及其产品实行无限期禁用^[4-6]; 欧共体药物评价局、加拿大 Health Canada 等也发表文章提醒民众不要使用含有马兜铃科植物的产品^[7]。因此, 如何降低中药中马兜铃酸的量已成为研究热点。本文从炮制、配伍、育种几个

方面对含马兜铃酸中药减毒的研究进展进行综述。

1 炮制

1.1 炒炙

胡芳等^[8]在研究关木通炮制减毒时加入了麦麸和滑石粉进行炒制, 麸炒减毒的效果次于滑石粉炒制的效果; 潘金火等^[9]的研究也证明加入滑石粉进行炒制后马兜铃酸的量降低 30% 以上。在关木通的饮片炮制中, 醋炙、姜炙均能降低其中马兜铃酸 A 的量^[10]。有研究进一步证实了醋炙法对关木通中马兜铃酸 A 的去除效果较显著, 同时对浸出物中其他成分的量影响不大^[11]。在细辛的炮制中, 经碱制后细辛中马兜铃酸 A 的量有明显减少^[12]。王智民^[13]根据马兜铃酸的化学性质, 借鉴传统中药炮制经验, 采用正交试验等方法对关木通的碱制和醋制工艺进行优化, 达到了减毒的目的, 可减少 80% 的马兜铃酸 A。

1.2 蒸煮

潘金火等^[9]报道了通过加入各种试剂提取对关

收稿日期: 2013-09-03

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目 (2011BAI03B010602); 国家自然科学基金资助项目 (31070316); 国家科技重大专项 (2012ZX09304006); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201310193020); 吉林省科技发展规划项目 (20112101, 20110228, 20130102075JC, 20130303094YY)

作者简介: 王潇晗 (1988—), 女, 研究生, 研究方向为分子生物学、中药学。E-mail: xiaohanw@163.com

*通信作者 张连学 E-mail: zlxbooksea@163.com

郜玉钢 E-mail: gaoyugang_2006@163.com

木通饮片中马兜铃酸量的影响,其中石灰水煮、石灰水蒸、甘草汁煮、黑豆汁煮及小苏打水煮等5种样品中马兜铃酸A的量均有显著降低(降低幅度30%以上),其他炮制品中马兜铃酸A的量也有一定程度的降低,但降低幅度差异较大。

在马兜铃科药物的炮制过程中,加入碱性溶液后马兜铃酸的量会大幅下降,其他具有碱性功效的辅料在不同炮制方法下均有降低马兜铃酸量的作用。醋炙法也能有效降低马兜铃酸的量,同样可以采取此法降低马兜铃酸的量^[12]。将醋炙与碱制结合起来,能够更有效地去除马兜铃酸,但只能使用碳酸氢钠等碱性较小的溶液,同时对实验中的温度也要加以严格控制,才能获得更好的效果。

2 配伍

《神农本草经》最早总结了中医配伍用药的规律,指出:“有单行者,有相须者,有相使者,有相畏者,有相恶者,有相反者,有相杀者,凡此七情,合和时视之”。配伍既能增强疗效,也可减少毒副作用,因而被广泛采用^[14]。马兜铃科中药多味苦、辛,具有祛风胜湿、活络止痛、行气活血、止咳平喘、清热利水等功效。

2.1 滋阴补血组

关木通与当归、玄参、麦冬和生地等滋阴补血药分别配伍后,马兜铃酸A的量均有不同程度降低,其中关木通与当归配伍后,马兜铃酸A的量降低最多,而且随着配伍当归剂量的增加,减毒效果逐渐增强^[15]。从中医理论上推测,当归性温又有良好补血活血作用,缓解了关木通的寒凉和利水伤阴。赵慧辉等^[16]也证实配伍生地可以明显降低关木通中马兜铃酸A的量。在龙胆泻肝汤拆方对比实验中得到的结果是龙胆泻肝汤全方中马兜铃酸A的量最低,关木通+滋阴组马兜铃酸A的量也有明显降低^[17],所以在方剂配伍理论指导下,通过合理配伍降低关木通的毒性是可行的。

2.2 清热组

利用配伍降低关木通中马兜铃酸A的溶出量是降低肾毒作用的关键。在导赤散的拆方研究中证实淡竹叶与关木通配伍时可有效降低马兜铃酸A的溶出量;其他研究中也同样证实关木通与淡竹叶配伍(1:4),马兜铃酸A的溶出量明显降低,对肾脏的损害作用明显得到抑制^[18-19]。

2.3 甘草组

龙胆泻肝汤拆方对比实验中证实配伍甘草后,

汤剂中马兜铃酸A的量反而增加^[17]。而另有研究^[20]证明,甘草酸制剂(甘利欣^[21])对慢性马兜铃酸肾病患者有延缓病情进展、改善预后的效果,提出甘草酸可能是治疗慢性马兜铃酸肾病的有效药物。甘草有解百毒的作用,甘草酸为甘草有效成分,上述实验表明,甘草减轻关木通毒性的机制可能不是降低配伍方剂中马兜铃酸A的溶出量,而是作用在体内^[22]。

2.4 其他配伍组

殷书梅等^[23]研究发现,复方南星止痛膏(含细辛)中未检测到马兜铃酸,任薇等^[24]研究表明,新生颗粒(含细辛)中也未检测到马兜铃酸。以上均证明中药配伍可以在一定程度上降低马兜铃酸A的溶出量。

中药配伍在中医基础理论的指导下,作为一种减毒增效的方法沿用至今,在用量准确的情况下,配以现代炮制技术可减少中药中的大部分的毒性成分。这方面的研究开展了很多,但仍缺少量化指标及相应的使用规范^[25-29]的研究。

3 育种

不同的地域造就了生物物种的多样性,这种多样性包括动物、植物、微生物的物种多样性,物种的遗传与变异的多样性及生态系统的多样性。在进行育种工作时,可以利用这种多样性,保留药用部分作繁殖材料,通过系统选育,优选出有毒成分低而其他有效成分高的品种。育种相比于栽培或其他减毒方法所需时间长,但只要选育成功则会在一定程度上解决马兜铃酸的毒性问题。

3.1 传统育种

在马兜铃科植物的人工栽培中,地理、气候及栽培方法都会影响药材中有效成分和有毒成分的积累。以细辛为例,北细辛、汉城细辛和华细辛的根及根茎皆为正品细辛,刘雅婧等^[30]研究发现不同产地细辛中,以陕西宁强华细辛地下部分马兜铃酸A的量最高(0.452 8 mg/g),以吉林通化北细辛地上部分马兜铃酸A的量最低(0.008 3 mg/g)。而同一品种北细辛在吉林通化、左家和辽宁清源3地马兜铃酸A的量也有一定差异。以上结果表明3个品种中华细辛的马兜铃酸A量略高,北细辛偏低。有学者在研究中采用水超声处理细辛种子的方法以期除去细辛中的马兜铃酸,经种植后,水超声处理辽细辛种子的马兜铃酸A的量有所减少,但不能彻底除去细辛中的马兜铃酸^[31]。

3.2 分子育种

近年来,国内外学者开始将分子生物学应用于中药的育种栽培中,与传统育种相比,分子育种具有周期短的特点,成功后将会从根本上阻断马兜铃酸的合成。杨瑞仪等^[32]研究在源头上阻断马兜铃酸的合成,避免各种中间产物的积累,以马兜铃酸生物合成途径的第1个酶编码基因——酪氨酸脱羧酶基因(tyrDC)为靶基因,构建基因打靶载体对 tyrDC 进行基因敲除,现在已克隆出马兜铃的 tyrDC 基因,并进行了序列分析。

Schutte 等^[33]在研究马兜铃酸的生物合成时,对于其合成途径中的碳硫走向、关键酶、部分中间产物进行了阐述和探讨。tyrDC 是连接初生代谢与各种苯丙异喹啉生物碱类化合物代谢的第1个酶,是决定生物碱合成途径后续产物基本分子骨架及反应产物积累速率的关键酶和限速酶,是连接初生代谢和次生代谢的桥梁,决定了代谢途径的碳流走向^[34]。马兜铃酸生物合成的最初前体为酪氨酸,其首先在 tyrDC 催化下脱羧生成酪胺并转变成 4-羟基酚乙醛,然后经去甲茛菪素、千金藤碱等一系列中间产物,最终合成马兜铃酸^[33]。目前,虽有马兜铃中 tyrDC 的基因序列可供下一步实验使用,但如从酪氨酸处开始阻断马兜铃酸的合成,同时也会阻碍其他化合物的合成,对植物体本身的生长发育有何影响尚未清楚。如能弄清楚马兜铃酸合成的最后一步所需的关键酶基因,以此作为去除马兜铃酸的突破口,即可避免基因沉默或敲除对植物体本身的伤害。

4 展望

含马兜铃酸的植物被广泛应用于临床,在中国,关木通、马兜铃、广防己、厚朴、细辛等含马兜铃酸的中药就有 60 余种,中成药 200 余种^[1]。但自从发生“马兜铃酸肾病”事件以后,1994 年,法国率先禁售含马兜铃酸的中药,此后英国、比利时、澳大利亚、奥地利、西班牙、美国、埃及等多国亦陆续对含有马兜铃酸的中药发出禁令。可见,开展对含马兜铃酸中药的去毒和减毒研究非常必要,也将成为研究热点。

综合含马兜铃酸中药去毒和减毒方法,分子育种法较其他方法更有优势,所以开展马兜铃酸生物合成关键酶基因研究^[32],即通过基因敲除和基因沉默等技术阻断马兜铃酸生物合成途径,从源头上提高马兜铃酸类中药的安全性。tyrDC 是马兜铃酸生物合成途径中第1个关键酶基因,如把该基因敲除,

可阻碍马兜铃酸的合成,减少马兜铃酸的量;也可以对马兜铃酸生物合成最后1个关键酶进行敲除,可减少马兜铃酸的量,而不影响其他药用成分的合成,是最经济可靠的方法,效果会更好。因此,筛选和确定马兜铃酸生物合成最后1个关键酶基因是有价值的工作。相信通过努力,必将实现含马兜铃酸中药的减毒和去毒的目的,从而扩大其应用范围和使用量,满足患者的需要。

参考文献

- [1] 蔡少青. 含马兜铃酸中药的综合研究 [A] // 中华中医药学会第十届中药鉴定学术会议论文集 [C]. 西安: 中华中医药学会, 2010.
- [2] 吴松寒. 木通所致急性肾毒性功能衰竭二例报告 [J]. 江苏中医, 1964(10): 12-13.
- [3] 胡士林. 论马兜铃酸与含马兜铃酸的中药 [J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2003, 5(6): 68-71.
- [4] Medicine Control Agency of United Kingdom (UK MCA). UK MCA to ban certain herbals [J]. *Scrip*, 2001, 2611: 4.
- [5] 饶向荣, 李 深, 李秀英, 等. 对美国 FDA 关于马兜铃中草药肾损害的两个通告分析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2001, 8(2): 82.
- [6] 王根群, 曹 晶, 马晓慧, 等. 浅谈美国 FDA 对植物药制剂临床前毒理研究的要求 [J]. 中草药, 2013, 44(1): 116-119.
- [7] 姜廷良. 关于马兜铃属某些植物和马兜铃酸的致癌性问题 [J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(7): 73-75.
- [8] 胡 芳, 潘金火. 关木通及其炮制品中马兜铃酸 A 的含量变化 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3): 672-673.
- [9] 潘金火, 严国俊, 宋 娟. 关木通不同炮制品中马兜铃酸 A 的含量测定及其对大鼠肾功能的急性损伤试验 [J]. 中药材, 2010, 33(8): 1228-1233.
- [10] 阳国平, 袁 洪, 阎宏伟. 炮制及提取方法对关木通中马兜铃酸 A 含量的影响 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2005, 30(4): 477-478.
- [11] 曹 蕊, 王 铮, 张春红, 等. RP-HPLC 法测定不同方法炮制关木通中马兜铃酸 A 的含量 [J]. 亚太传统医药, 2009, 5(7): 28-30.
- [12] 刘雅婧. 细辛中马兜铃酸的炮制脱毒研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
- [13] 王智民, 由丽双, 姜 旭, 等. 利用炮制技术去除关木通毒性成分的方法学研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(16): 1243-1246.
- [14] 陶 丽, 陆 茵, 王爱云, 等. 试论组方中药的药性配伍 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2107-2110.
- [15] 全世建, 丁 洁, 王红丹. 配伍滋阴养血中药对关木通

- 马兜铃酸 A 含量的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2009, 36(10): 1766-1767.
- [16] 赵慧辉, 刘养清, 侯娜. 配伍生地对关木通中马兜铃酸 A 含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(5): 451-452.
- [17] 全世建, 丁洁, 王红丹. 不同中药配伍对关木通毒性成分马兜铃酸 A 含量的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(6): 502-505.
- [18] 李春香, 丁里玉, 李国川, 等. 配伍减低关木通中马兜铃酸 A 溶出量的研究 [J]. 河北医科大学学报, 2006, 27(5): 354-357.
- [19] 王亮, 丁里玉, 丁芳, 等. 不同剂量竹叶对关木通中马兜铃酸 A 溶出量的影响实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2681-2682.
- [20] 王会玲, 张金元, 黄健. 甘草酸对慢性马兜铃酸肾病大鼠尿蛋白与尿酶排泄及肾功能的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2006, 40(2): 52-54.
- [21] 曹丽云, 陈继雄, 刘云海. 甘利欣静点及小剂量激素治疗马兜铃酸肾病的临床观察 [J]. 基层医学论坛, 2006, 10(1): 32-33.
- [22] 刘卉, 陈乐天, 恽菲, 等. 甘草吸收代谢特征与机制及其配伍用药相互影响研究与思考 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1443-1447.
- [23] 殷书梅, 王宓, 林新艳, 等. UPLC 法测定复方南星止痛膏中马兜铃酸 A 的含量 [J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(5): 396-397.
- [24] 任薇, 李少华, 龙彦纲, 等. HPLC 法检查新生颗粒中马兜铃酸 A 的含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(1): 67-69.
- [25] 杨明, 伍振峰, 王雅琪, 等. 中药制药装备技术升级的政策、现状与途径分析 [J]. 中草药, 2013, 44(3): 247-252.
- [26] 张铁军. 中药质量认识与重量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 1-9.
- [27] 顾利红, 毕福钧, 陈藹. 不同来源救必应药材的质量评价 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 622-625.
- [28] 夏爱军, 张海, 贾静, 等. 虎杖多指标成分测定及质量控制方法研究 [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1761-1765.
- [29] 谭玉柱, 董婷婷, 赵高琼, 等. 基于“一测多评”法对大黄地上部位提取物的质量控制研究 [J]. 中草药, 2013, 44(9): 1190-1194.
- [30] 刘雅婧, 李春杰, 周英亮, 等. 不同产地细辛中有效成分与马兜铃酸 I 含量差异比较 [J]. 中国执业药师, 2010, 7(12): 29-33.
- [31] 孙秀岩, 孙启时, 贾凌云. HPLC 法测定种子经处理后种植的辽细辛中马兜铃酸 A 的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(4): 299-302.
- [32] 杨瑞仪, 曾庆平. 马兜铃酪氨酸脱羧酶基因克隆、测序及同源性分析 [J]. 广州中医药大学学报, 2005, 22(2): 152-159.
- [33] Schutte H R, Orban U, Mothes K. Biosynthesis of aristolochic acid [J]. *Eur J Biochem*, 1967, 1: 70-72.
- [34] 张继星, 于寒松, 王惠然, 等. 高山红景天酪醇生物合成途径的探讨 [J]. 内蒙古民族大学学报: 自然科学版, 2007, 22(5): 540-542.