

# 龙胆泻肝汤中关木通配伍的肾毒性研究

张 娜, 谢 鸣\*

(北京中医药大学方剂学学科, 北京 100029)

[摘要] 目的: 观察龙胆泻肝汤中关木通配伍与大鼠肾损伤的关系。方法: 大鼠随机分为含关木通的龙胆泻肝汤(17.5g/kg)组、龙胆泻肝汤去关木通(11.5g/kg)组、单味关木通(6g/kg)组和正常对照组四组, 前三组分别含关木通 6g/kg 给以相应方药水煎液灌胃, 连续 12 周, 对照组给予等量蒸馏水。于给药第 4、8、12 周分别测定各组大鼠肾功能及尿生化指标。结果: 单味关木通( $6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )和含相同剂量关木通的龙胆泻肝汤连续给大鼠灌胃 12 周, 均见有肾损伤表现, 其中龙胆泻肝汤组损伤较单味关木通组轻; 去关木通的龙胆泻肝汤连续给大鼠灌胃 12 周, 未见肾功能明显损伤。结论: 实验剂量的关木通可引起肾损伤, 龙胆泻肝汤的肾毒性与方中关木通配伍相关, 复方配伍对关木通的肾损伤可能有一定的减毒的作用。

[关键词] 关木通; 龙胆泻肝汤; 肾毒性

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)05-0058-04

## The Nephrotoxicity of Long Dan Xie Gan Decoction and the Relevance with *Aristolochia manshuriensis* Kom in the Decoction

ZHANG Na, XIE Ming

(Department of Formulaology, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[收稿日期] 2005-09-15

[通讯作者] 谢鸣, Tel: (010) 64286992; E-mail: xieming603@263.net

[ **Abstract** ] **Objective:** To observe the renal injury in rats induced by Long Dan Xie Gan decoction(LDXGD) and the compatibility with *Aristolochia manshuriensis* Kom in LDXGD. **Method:** Separate SD rats to four groups at random, and feed respectively LDXGD containing *Aristolochia manshuriensis* Kom (  $17.5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  , containing *Aristolochia manshuriensis* Kom  $6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ), LDXGD removed *Aristolochia manshuriensis* Kom (  $11.5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ), *Aristolochia manshuriensis* Kom (  $6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ) and distilled water for 12 weeks. determine renal functional parameters on 4w, 8w, 12w. **Result:** Both *Aristolochia manshuriensis* Kom (  $6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ) and the LDXGD containing same dose *Aristolochia manshuriensis* Kom induced significantly renal injury in rats during 12 weeks, and the former caused more seriously damage; the LDXGD removed *Aristolochia manshuriensis* Kom didn't induce damage obviously in rats during 12 weeks. **Conclusion:** *Aristolochia manshuriensis* Kom in experimental dosage can induce renal injury, and the real toxicity of LDXGD is correlated with the dose of *Aristolochia manshuriensis* Kom in itself; the compatibility in the complex prescription(LDXGD) relieve possibly the renal toxicity of *Aristolochia manshuriensis* Kom.

[ **Key words** ] *Aristolochia manshuriensis* Kom; Long Dan Xie Gan decoction; Nephrotoxicity

近年来,随着对马兜铃酸肾毒性的发现<sup>[1]</sup>,人们对含有马兜铃酸的中药及其含药复方的安全性提出质疑<sup>[2]</sup>。以往不少龙胆泻肝汤的配方中曾使用过关木通药材,临床有见服用龙胆泻肝丸引起肾损伤的报告<sup>[3~6]</sup>,有研究曾发现一定剂量的单味关木通可引起大鼠的肾损害<sup>[7,8]</sup>,我们先前也观察到龙胆泻肝汤(含关木通  $6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )连续给大鼠灌胃 12 周出现明显的肾脏损伤,但龙胆泻肝汤的肾毒性与其方中配伍关木通的关系尚不清楚。考虑到方剂的中药配伍特性,本文在前期工作基础上,进一步考察了龙胆泻肝汤中关木通配伍与全方肾毒性的关系。

## 1 材料

**1.1 药物** 龙胆泻肝汤处方药味组成参照《方剂学》五版教材所载,所用药材均购自北京市鹤延龄中药饮片公司,经北京中医药大学中药学院生物系刘春生教授鉴定均为正品。(1)龙胆泻肝汤(含关木通方):由关木通 36g、龙胆草 6g、黄芩 9g、栀子 9g、泽泻 12g、车前子 9g、当归 3g、生地黄 9g、柴胡 6g、生甘草 6g 十味药所组成;(2)去关木通的龙胆泻肝汤(去关木通方):由龙胆草 6g、黄芩 9g、栀子 9g、泽泻 12g、车前子 9g、当归 3g、生地黄 9g、柴胡 6g、生甘草 6g 共九味中药所组成;(3)关木通方(关木通方):由单味关木通组成。药液制备:分别用相当于药材量 7 倍体积的冷水浸泡药材 1h,加热至沸,煎煮 30min,倾出药液,残渣再加入 5 倍体积的水,煎煮 20min;合并两次药液,过滤;水浴浓缩,制成 200% 浓度的煎液(含 2g 生药/mL),4℃放置备用。

**1.2 动物** SD 大鼠,雄性,体重  $150\pm 10\text{g}$ , SPF/VAF 级,由北京维通利华实验动物中心提供,动物许可证

号 SCXK(京)2002-0003。

**1.3 试剂** 血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)测定试剂由北京利德曼试剂公司提供;N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)、 $\gamma$ -谷氨酰转移酶( $\gamma$ -GT)、尿蛋白定量试剂盒由南京建成生物工程研究所提供;尿  $\beta_2$ -微球蛋白( $\beta_2$ -MG)放免试剂盒,由中国人民解放军总医院科技开发中心放免研究所提供。

**1.4 主要实验仪器** CX-4 全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司);SN-695B 型智能放免  $\gamma$  测量仪(上海核所日环光电仪器有限公司);WFZ800-D2 型紫外可见分光光度计(北京第二光学仪器厂)。

## 2 方法

**2.1 分组及给药** 大鼠按体重分为龙胆泻肝汤组(A)、龙胆泻肝汤去关木通组(B)、关木通组(C)、正常对照组(N)共四组,每组 10 只。A、B、C 各组大鼠分别按  $17.5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (其中含关木通  $6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,相当于临床成人剂量 40 倍;其余药味相当于临床成人剂量 10 倍)、 $11.5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (相当于临床成人剂量 10 倍)、 $6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (相当于临床成人剂量 40 倍)予以中药龙胆泻肝汤、去关木通的龙胆泻肝汤、单味关木通煎液,每日灌胃 1 次,连续 12 周。正常对照组予以等量蒸馏水。给药期间大鼠自由摄食饮水。

**2.2 指标检测** 分别于灌胃第 4 周、8 周、12 周,代谢笼内留取 24h 尿液;眼眶后静脉丛取血 1mL,37℃水浴 1h 后,离心取血清。测定 Scr(全自动生化分析仪法)、BUN(全自动生化分析仪法)、24h 尿蛋白定量(CBB 法)、尿  $\beta_2$ -MG(放免法)、尿 NAG(比色法)、尿  $\gamma$ -GT(比色法)。

**2.3 统计方法** 数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,

采用 Student-Newmarr-Keuls 检验, 非正态分布资料用非参数统计分析 Kruskal-Waillis 检验。全部数据用 SPSS11.5 统计软件处理。

### 3 结果

**3.1 药液对大鼠血清 Scr、BUN 的影响** 从图 1、图 2 中可以看出, 与正常组(N)相比, A、C 组大鼠血清 Scr、BUN 水平在给药第 4、8、12 周各时间点均显著升高( $P < 0.01$ ), 12 周时的血清 Scr、BUN 水平达最高; B 组大鼠血清 Scr、BUN 水平在上述各个时间点均无明显差异( $P > 0.05$ )。与 C 组相比, A 组大鼠的血清 Scr、BUN 水平在给药第 4、8 周时低于 C 组, 但无显著性差异( $P > 0.05$ ), 给药第 12 周时显著低于 C 组( $P < 0.01$ )。

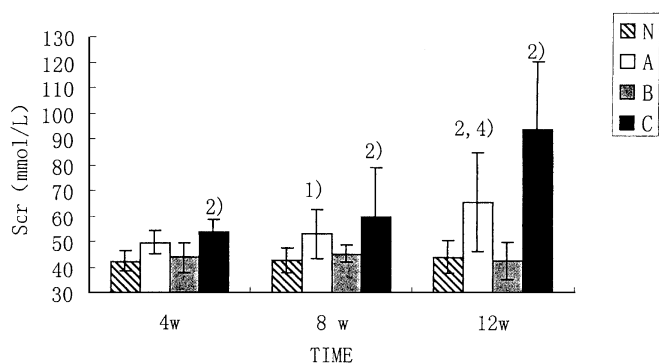


图 1 不同时间点各组大鼠血清 Scr 水平的比较  
与 N 组相比, 1)  $P < 0.05$ ; 2)  $P < 0.01$ ; 与 C 组相比, 3)  $P < 0.05$ , 4)  $P < 0.01$ 。

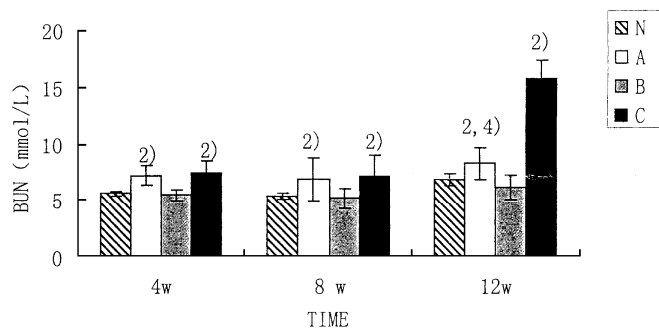


图 2 不同时间点各组大鼠血清 BUN 水平的比较  
与 N 组相比, 1)  $P < 0.05$ , 2)  $P < 0.01$ ; 与 C 组相比, 3)  $P < 0.05$ , 4)  $P < 0.01$ 。

### 3.2 不同药液对大鼠尿蛋白和尿 $\beta_2$ -MG 的影响

从图 3 中可以看出, 与正常组(N)相比, A 组大鼠尿蛋白水平在给药第 4 周时无明显差异( $P > 0.05$ ), 在给药第 8、12 周时均有升高(分别为  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); B 组大鼠尿蛋白水平在各个时间点均无明显差异( $P > 0.05$ ); C 组大鼠尿蛋白水平在给药第 4 周时无明显差异( $P > 0.05$ ), 在给药第 8、12 周时显著升高( $P < 0.01$ ); 与 C 组相比, A 组大鼠尿蛋白水平各个时间点均低于 C 组, 但无统计学意义( $P >$

0.05)。从图 4 中可以看出, 与正常组(N)相比, A 组大鼠尿  $\beta_2$ -MG 水平在给药第 4 周时升高( $P < 0.01$ ), 第 8 周最高( $P < 0.05$ ), 第 12 周时有所下降( $P > 0.05$ ); B 组大鼠尿  $\beta_2$ -MG 水平在各个时间点均无明显差异( $P > 0.05$ ); C 组大鼠尿  $\beta_2$ -MG 水平在各个时间点均高于 N 组( $P < 0.01$ ), 第 8 周最高; 与 C 组相比, A 组尿  $\beta_2$ -MG 水平在各个时间点均低于 C 组, 第 8、12 周时具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

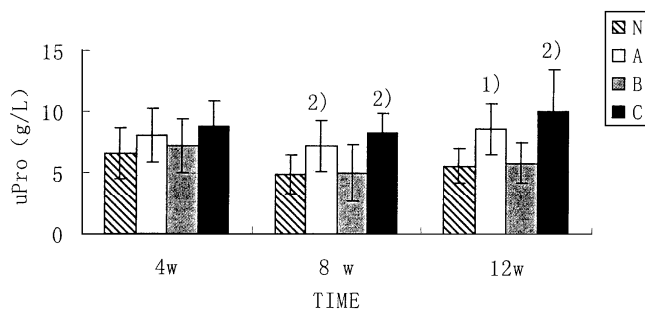


图 3 不同时间点各组大鼠尿蛋白水平的比较  
与 N 组相比, 1)  $P < 0.05$ , 2)  $P < 0.01$ ; 与 A 组相比, 3)  $P < 0.05$ , 4)  $P < 0.01$ 。

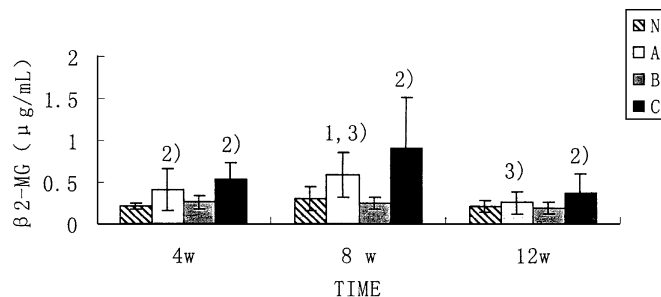


图 4 不同时间点各组大鼠尿  $\beta_2$ -MG 水平的比较  
与 N 组相比, 1)  $P < 0.05$ , 2)  $P < 0.01$ ; 与 A 组相比, 3)  $P < 0.05$ , 4)  $P < 0.01$ 。

### 3.3 药液对大鼠尿 NAG、 $\gamma$ -GT 的影响

从图 5、图 6 中可以看出, 与正常组(N)相比, A 组大鼠尿 NAG、 $\gamma$ -GT 活性水平在各个时间点均明显升高( $P < 0.01$ ), 第 8 周时最高, 第 12 周有所降低; B 组大鼠尿 NAG、 $\gamma$ -GT 活性水平在各个时间点无明显差异( $P > 0.05$ ); C 组大鼠尿 NAG、 $\gamma$ -GT 活性水平在各个时间点均明显升高( $P < 0.01$ ), 尿 NAG 活性水平随着用药时间的延长持续上升, 第 12 周时最高, 而尿  $\gamma$ -GT 活性水平第 8 周时最高, 第 12 周时显著降低; 与 C 组相比, A 组大鼠尿 NAG、 $\gamma$ -GT 活性水平在各个时间点几乎显著低于 C 组( $P < 0.01$ ), 只有在用药第 12 周时尿  $\gamma$ -GT 活性水平两组间无明显差异( $P > 0.05$ )。

### 4 讨论

我们在先前的研究曾观察到含关木通  $6g \cdot kg^{-1}$  的龙胆泻肝汤( $17.5g \cdot kg^{-1}$ )连续给大鼠用药 12 周,

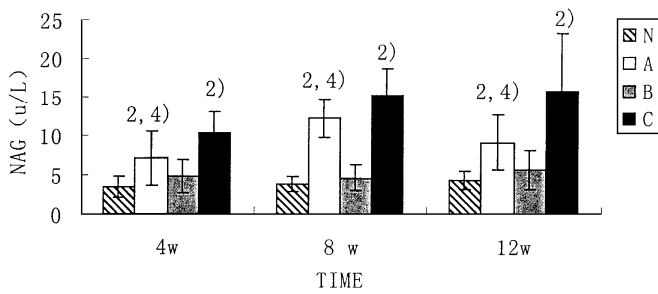


图 5 不同时间点各组大鼠尿 NAG 水平的比较  
与 N 组相比, 1)  $P < 0.05$ , 2)  $P < 0.01$ ;  
与 A 组相比, 3)  $P < 0.05$ , 4)  $P < 0.01$ 。

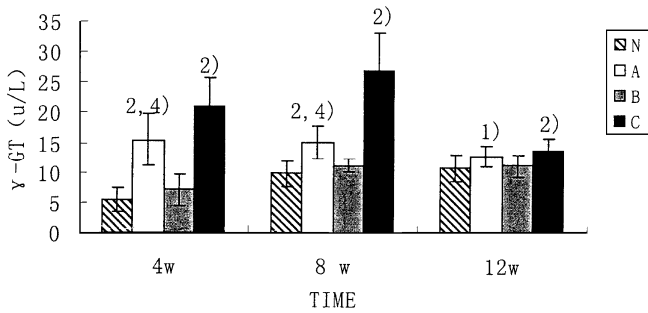


图 6 不同时间点各组大鼠尿  $\gamma$ -GT 水平的比较  
与 N 组相比, 1)  $P < 0.05$ , 2)  $P < 0.01$ ; 与 A 组相比,  
3)  $P < 0.05$ , 4)  $P < 0.01$ 。

给药第 4 周可出现肾脏明显的损伤。本实验在该肾毒剂量条件下, 比较观察了单味关木通、龙胆泻肝汤去关木通和含关木通的龙胆泻肝汤不同给药时间点的反映肾损伤的尿、血有关指标。实验发现单味关木通药液 ( $6g \cdot kg^{-1}$ ) 和含等量关木通的龙胆泻肝汤 ( $17.5g \cdot kg^{-1}$ ) 给药第 4 周时均可见大鼠尿中 NAG、 $\gamma$ -GT 活性、 $\beta_2$ -MG 含量、血清 BUN 与 Scr 水平显著升高, 同时随着给药时间的延长, 上述指标持续升高, 而不含关木通的龙胆泻肝汤 ( $11.5g \cdot kg^{-1}$ ) 灌胃的大鼠血、尿中则未出现以上指标的改变。结果表明, 实验剂量下的单味关木通和含有关木通的龙胆泻肝汤连续给药一定时间具有明显的肾毒性, 其肾毒性大小与给药时间相关; 同时, 龙胆泻肝汤的肾毒性与关木通的使用有关。

有研究曾观察到, 单味关木通以每日  $60g \cdot kg^{-1}$  的剂量连续灌胃 5d, 可引起大鼠发生急性肾功能衰竭, 大鼠的主要功能改变为: 氮质血症、低渗尿、蛋白尿、糖尿、尿 NAG 升高, 组织形态学改变主要表现为: 急性肾小管坏死, 以皮髓交界区小管损伤为主<sup>[7]</sup>, 但每日  $4g \cdot kg^{-1}$  连续灌胃 60d 未见到大鼠尿和血生化指标的明显改变, 但肾间质出现纤维化改变<sup>[8]</sup>。本次实验观察到, 单味关木通以每日  $6g \cdot kg^{-1}$  的剂量给药第 4 周时可引起大鼠肾脏的明显损伤, 提示关木通大剂量短期使用或小剂量长期使用均有

肾毒性。有报道每日  $4g \cdot kg^{-1}$  的关木通水煎液连续灌胃 12 周, 可引起大鼠肾功能和肾组织的明显损伤, 而含等量木通的龙胆泻肝丸的水煎液给药 12 周时的大鼠尿和血生化未见明显改变, 肾脏出现病理损伤, 但较关木通水煎液组为轻<sup>[9]</sup>。本实验中也观察到, 含关木通的龙胆泻肝汤方在给药第 4、8 周的血、尿多数指标较之等剂量的单味关木通组低, 在给药第 12 周时, 诸指标显著减低, 表明含龙胆泻肝汤方较等量单味关木通的肾毒性低, 提示龙胆泻肝汤方中的其他药味与关木通配伍可能存在一定的减毒作用。

本实验中发现, 反映肾功能的血 Scr 和 BUN 随给药时间呈现递进性的升高, 这与肾脏的持续损伤和功能减低一致。但给药第 4 周时尿 NAG、 $\gamma$ -GT 活性、 $\beta_2$ -MG 含量升高, 尿液中尿蛋白总量未见明显升高; 给药第 12 周, 反映肾滤过和小管损伤的尿蛋白、 $\beta_2$ -MG 和尿 NAG、 $\gamma$ -GT 反见下降, 推测可能与早期肾近曲小管上皮细胞损伤, 溶酶体漏出, 肾小管重吸收功能降低, 肾小球滤过功能下降, 但肾小球滤膜的完整性尚未完全破坏; 之后随着给药时间的延长, 肾小管损伤严重, 近曲小管上皮细胞中的酶总量消耗而漏出减少, 有效肾单位减少引起肾小球滤过总量减少以及大鼠尿量增加导致的尿液稀释等有关。

### [参考文献]

- [1] Jackson L, Kofman S, Weiss A, et al. Aristolochic acid(NSC-50413): phase I clinical study[J]. Cancer Chemother Rep, 1964, 42(1): 35-37.
- [2] Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C, et al. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs [J]. Lancet, 1993, 341(8842): 387-391.
- [3] 张印, 窦永起. 龙胆泻肝丸引起肾毒性 1 例[J]. 中国中药杂志. 2002, 27(8): 633.
- [4] 张青, 于永洋. 龙胆泻肝丸致慢性肾损害 31 例[J]. 山东中医杂志. 2002, 21(12): 427.
- [5] 杨春林, 霍敏英. 龙胆泻肝丸导致肾功能衰竭 2 例[J]. 药物不良反应杂志. 2003, 2: 110-111.
- [6] 李庆, 杨素珍. 龙胆泻肝丸致慢性肾衰竭病例报告[J]. 中国中西医结合急救杂志. 2003, (10) 6: 383.
- [7] 裘奇, 刘志红. 木通所致大鼠急性肾损伤的实验观察 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志. 1999, 8(1): 51-53.
- [8] 蔡浙毅, 周锦明, 葛缘仁. 木通引起肾损伤的实验研究 [J]. 中华肾脏病杂志. 2001, 17(4): 263-264.
- [9] 丁英钧, 许庆友, 李春香. 复方配伍减轻关木通肾毒性的实验研究[J]. 中药药理与临床. 2004, 20(3): 04-06.