

甘草减轻黄药子对大鼠肾毒性的实验研究

范金晶 华碧春 刘 娇 黄智峰

摘 要 **目的** 观察大鼠经黄药子或黄药子配伍甘草灌胃后,肾脏功能及肾脏组织病理学的改变。**方法** 用黄药子水煎液、黄药子配伍甘草水煎液以及生理盐水,分别给大鼠连续灌胃 35 天,观察各组大鼠肾功能及肾组织形态学变化。**结果** 黄药子组具有导致大鼠肾功能及肾脏形态学病变的作用;黄药子配伍甘草对大鼠造成的肾功能及肾脏形态学损伤均较黄药子组轻。**结论** 甘草具有减低黄药子肾毒性的作用。

关键词 黄药子 甘草 肾/病理学

[中图分类号] R9 [文献标识码] A

Experimental Study of Rhizoma Dioscoreae Bulbiferae Concerted Radix Glycyrrhiza Reducing Renal Toxicity in Rats. Fan Jinjing, Hua Bichun, Liu Jiao, et al. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fujian 350122, China

Abstract Objective To observe rats after fed with rhizoma dioscoreae bulbiferae or rhizoma dioscoreae bulbiferae concerted radix glycyrrhiza, the changes of renal function and renal pathology. **Methods** The rats were administrated with Decoction of rhizoma dioscoreae bulbiferae and rhizoma dioscoreae bulbiferae concerted radix glycyrrhiza, normal saline for 35 days, to observe the changes of renal function and renal morphology. **Results** Rhizoma dioscoreae bulbiferae has resulted to pathological changes in rat renal function and renal morphology. And these changes in rhizoma dioscoreae bulbiferae concerted radix glycyrrhiza group were less than rhizoma dioscoreae bulbiferae group. **Conclusion** Radix glycyrrhiza can reduce the renal toxicity of rhizoma dioscoreae bulbiferae.

Key words Rhizoma dioscoreae bulbiferae; Radix glycyrrhiza; Kidney/pathology

黄药子为薯蓣科薯蓣属植物黄独 (*Dioscorea bulbifera* L.) 的块茎,首载于唐代孙思邈《千金月令》。其性味苦、辛、凉,入心、肝经,有解毒消肿、化痰散结、凉血止血的功效,用于癰瘤瘰癧、喉痹、吐血、衄血、咯血等^[1,2]。黄药子的毒性主要是对肝肾组织的损害,表现为胃纳减退、乏力、上腹部饱胀、恶心及肝脾肿大和黄疸等,严重者会出现肝肾衰竭甚至死亡^[3,4]。中国药典收录的中药甘草的原植物为乌拉尔甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)、胀果甘草 (*G. inflata* Bat.) 和光果甘草 (*G. glabra* L.) 的干燥根和根茎^[5]。其性味甘平,具有补脾益气、清热解毒、缓急止痛、调和诸药的功效。如张仲景应用乌头类药物,常用甘草和蜜久煎以减毒,如《金匱要略》乌头汤(《中风历节病脉证并治第五》第十条)、乌头桂枝汤(《腹满寒疝宿食病脉证治第十》第十九条)等,《伤寒论》中四逆汤等,均有配甘草以缓和乌头、附子之峻烈毒性。历代文献记载和长期临床实践表明,甘味药甘草是调和诸药、缓

和药性、降低药物毒性的首选药。因此,本次实验将基于中药药性“甘能缓”理论,通过将黄药子配伍甘草,初步考察甘草是否能降低黄药子对大鼠的肾毒性。

材料与方法

1. 药物:黄药子购自福建回春医药连锁有限公司(批号:120724,产地四川),经福建中医药大学卢伟教授鉴定为薯蓣科植物黄独 *Dioscorea bulbifera* L. 的干燥根茎;甘草购自福建回春医药连锁有限公司(批号:12030506,产地甘肃),经福建中医药大学卢伟教授鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎。

2. 动物:无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 的 SD 雄性大鼠 60 只,体重 200 ± 20 g (购自上海斯莱克实验动物有限责任公司),实验动物许可证号:SCXK(沪)2012-0002。

3. 主要试剂及仪器:肌酐试剂盒购自南京建成生物工程研究所(批号:20130322),尿素氮试剂盒购自南京建成生物工程研究所(批号:20130319)。YB-6LF 生物组织石蜡包埋机(中国),DM4000B 生物显微镜(德国)。

4. 黄药子水煎液的制备:取黄药子饮片适量,置适宜大小烧杯中,加入 10 倍量水浸泡 30min,置电炉上煎煮 1h,药液经纱布过滤至干净的烧杯中待用,药渣再加入 8 倍量水继续煎煮 1h,合并煎液,置离心机以 3000r/min 离心,除去药渣,浓缩至 1g/ml,备用。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81274105)

作者单位:350122 福州,福建中医药大学药学院

通讯作者:华碧春,教授,硕士生导师,电子信箱:1625399195@qq.com

com

5. 黄药子配伍甘草水煎液的制备:取黄药子(与黄药子组等量)按 1:2 比例加入甘草,如上法制备,浓缩至 1g/ml,备用。

6. 动物分组及给药方法:将 60 只大鼠随机分为 3 组,黄药子组每日给药量为 9g/kg,灌胃给药,(按黄药子生药量计算)黄药子药液,黄药子配伍甘草组(以下简称配伍组)每日给药量为 27g/kg,灌胃给药,配伍药液,空白对照组(以下简称对照组)给予同体积生理盐水,连续给药 35 天。

7. 标本采集与指标检测:黄药子组、配伍组和对照组于灌胃给药后,于第 28 天和第 35 天,分别禁食 12h 后,麻醉、腹腔采血和取肾脏,每组各 10 只。分别采用按试剂盒说明书方法测定血清中的肌酐、尿素氮。肾组织用 4% 多聚甲醛固

定,乙醇脱水,石蜡包埋,切片进行苏木精-伊红染色,并用光镜观察肾组织病变。

8. 统计学方法:数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,结果采用 SPSS18.0 统计分析软件进行数据处理,多组间均数两两比较用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 生化指标的变化:甘草对黄药子致肾损伤大鼠血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)的含量影响,见表 1。

表 1 黄药子配伍甘草对大鼠肾脏的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	BUN(μmol/L)		Cr(μmol/L)	
	28 天	35 天	28 天	35 天
对照组	11.38 ± 0.98	11.83 ± 1.47	55.03 ± 6.18	47.34 ± 5.12
黄药子组	14.18 ± 1.23 **	15.12 ± 2.17 **	59.02 ± 6.10 *	69.76 ± 6.61 **
配伍组	12.01 ± 1.81	13.10 ± 2.38	54.94 ± 4.59	57.70 ± 3.32

与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

由表 1 可知,黄药子组大鼠血清中 BUN、Cr 的含量与对照组比均有显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明黄药子可造成肾脏损伤。经给予甘草配伍黄药子后,BUN、Cr 的含量有所降低,说明甘草对黄药子致肾损伤有一定的保护作用。

2. 肾脏组织病理学变化:通过使用光镜(10 × 20 倍镜头)对各组大鼠的肾脏组织进行观察,对照组大鼠的肾小球及肾小管结构均无异常(图 1A)。黄药子组大鼠在给予黄药子 28 天后,可见肾小球肿大,毛

细血管腔开放,并出现局灶性近端小管上皮细胞轻微肿胀(图 1B)。35 天时可见肾小球呈弥漫性肿大,毛细血管腔均开放,并且出现广泛性近端小管上皮细胞颗粒变性、细胞肿胀(图 1C),而配伍组给予黄药子 28 天后,可见局灶性肾小球毛细血管腔少部分开放,肾小管形态未见明显变化(图 1D)。35 天时可见肾小球肿大,其毛细血管腔部分开放,近端小管上皮细胞出现轻微肿胀(图 1E)。

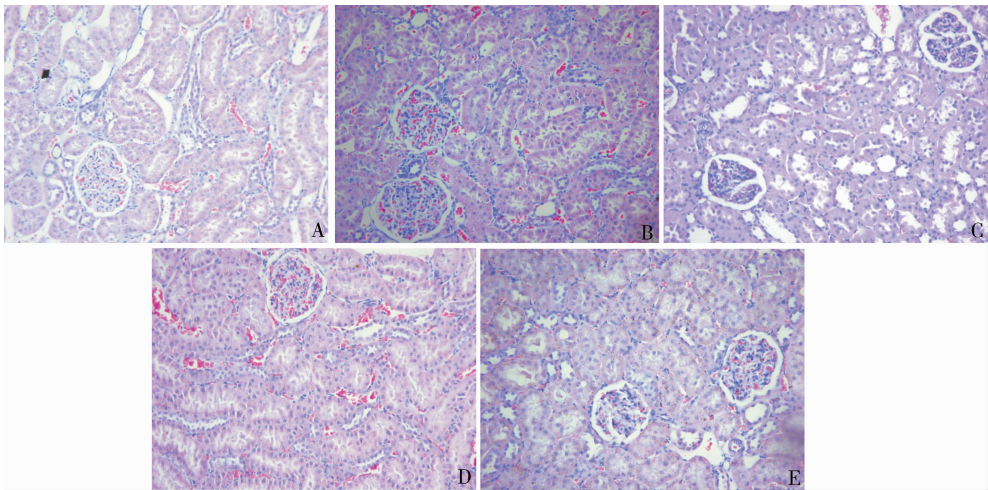


图 1 各组大鼠分别给药第 28 和第 35 天肾脏组织的病理变化(×200)

A. 对照组;B. 黄药子组(第 28 天);C. 黄药子组(第 35 天);D. 配伍组(第 28 天);E. 配伍组(第 35 天)

讨 论

有毒中药采用配伍的方法以降低其毒性而用之于临床,是历代医家所推崇的。早在《神农本草经》所创立的“七情合和”理论中则有“有毒宜制,可用相畏相杀者”的论述,并被后代医家作为中药配伍减毒的主要理论依据,即运用一种药物以减轻或消除另一种药物的毒性或不良反应。近年来临床中有关黄药子毒性的报道很多,黄药子对肾脏毒性机制黄药子所含成分直接作用于肾小球,导致部分肾小球出现淤血、增大,系膜细胞增多,个别小球壁层细胞重大等病理改变,其损害程度与用药剂量和持续时间联系密切^[6]。杨辉等^[7]在实验中观察到,小鼠的肾脏近、远曲小管均出现上皮肿胀、内膜脱落、形成特殊的蛋白管型等上皮细胞损伤,与常见的肾毒性中草药直接损害肾小管所呈现的上皮细胞损伤特征性地仅限于近曲小管不同,类似于急性肾缺血引起的急性肾小管坏死,其损伤程度随药剂量的增加和服药时间的延长而增长,与小鼠肝损伤的程度呈正比,提示黄药子对小鼠肝脏的毒性除了对肾小球和肾小管的直接细胞毒性以外,还包括严重实质性肝损伤所导致的急性肾小管损伤。

在传统中医药中认为黄药子毒性产生的原因是由于黄药子药性苦寒,攻散之性较强,易耗正气,易引起肝肾阴虚、痰瘀互阻之证。甘草可缓和黄药子苦寒、攻散之性,补脾益气、清热解毒,可扶助正气、保肝利胆,祛痰止咳又可缓解痰瘀之症^[8]。药理和临床研究表明,甘草的解毒功能,主要是甘草酸分解的葡萄糖醛酸与毒素发生反应的结果^[9]。同时,甘草甜素对毒物有吸附作用,其解毒作用与吸附率呈正比。与此同时,研究表明,甘草甜素有解毒、抗炎、抗癌、抑制艾滋病毒复制作用,对于食物中毒、药物中毒等都有良好的解毒能力,解毒机制为甘草甜素对毒物有吸附作用,甘草甜素水解产物葡萄糖醛酸能与毒物结合,以及甘草甜素有肾上腺皮质激素样作用,增强肝脏的解毒能力等方面因素综合作用的结果^[10]。所以本次实验研究通过黄药子配伍甘草,来考察甘草降低黄药子的肾脏不良反应。

为了减少激素水平干扰,本实验仅选用雄性大鼠进行肾毒性实验研究,雌性和雄性在本实验中是否存在差异性,尚无文献报道,有待于今后的实验证实。

黄药子采用临床成人用药最大剂量换算成的大鼠相应用量,并根据前期实验研究结果^[11],表明黄药子与甘草(1:2)的配伍比例减毒效果最优,所以甘草的用量是黄药子的 2 倍。在本实验的生化指标检验中,结果显示灌胃 28 天之后,黄药子已经对大鼠肾脏产生毒性作用。当黄药子配伍甘草后,毒性作用是有所降低的。在光镜观察中,结果显示黄药子所含成分会作用于肾小球和肾小管,导致部分肾小球出现肿胀以及肾小管上皮细胞肿大、变性。黄药子配伍甘草后,肾脏形态学的病变相对减轻。

综上所述,本实验从生化检验和病理形态学两方面考察分析了甘草是否能降低黄药子的肾毒性,结果显示甘草具有降低黄药子肾毒性的作用。在中医理论的指导下,中药黄药子通过配伍甘草,其肾毒性是可以减轻的。然而,中医药配伍减毒理论内涵丰富,甘草缓和黄药子的药性以及其配伍减毒机制究竟通过哪种具体的途径达到减毒功效,值得我们进一步深入研究,为临床合理用药提供更有力的科学依据。

参考文献

- 1 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(精选本下册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1998:2103-2107
- 2 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编(上册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:796-798
- 3 李国进. 黄药子在治疗亚急性甲状腺炎中的作用[J]. 天津中医药,2003,20(2):9
- 4 张利平,周慧萍. 黄药子致死亡 1 例[J]. 医药导报,2009,28(8):1097
- 5 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:1023-1024
- 6 李俊萱,于海食,宋雨婷,等. 黄药子的现代研究进展[J]. 中国医药指南,2013,11(26):52-55
- 7 杨辉,牟极征,杨承,等. 黄药子对小鼠毒性的研究[J]. 中国药师,2009,12(6):706-709
- 8 华碧春,胡娟,王瑞国,等. 甘草降低黄药子致小鼠肝毒性的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志,2011,6(1):24-27
- 9 朱秀萍. 甘草及其衍生物的临床应用[J]. 航空航天医药,2010,21(4):580-581
- 10 刘清华. 甘草的化学成分和药理作用的概述[J]. 中国中医药现代远程教育,2011,9(14):84
- 11 华碧春,胡娟,王瑞国,等. 甘草降低黄药子致小鼠肝毒性的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志,2011,6(1):24-27

(收稿日期:2014-02-20)

(修回日期:2014-03-30)