

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.02.018

生川乌与生半夏不同比例配伍对大鼠肾脏毒性的影响

杨坤宝¹, 尹长江¹, 佟继铭¹, 许柳², 张树峰^{1*}

(1. 承德医学院, 河北省承德市上二道河子, 067000; 2. 保定市中医院)

摘要 目的 探讨生川乌与生半夏的配伍比例与大鼠肾脏毒性的关系。方法 按 1:0、4:1、2:1、1:1 比例制作生川乌、生半夏冻干粉。将 50 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、生川乌组、川乌 4 半夏 1 组、川乌 2 半夏 1 组、川乌 1 半夏 1 组, 每组 10 只。保证各给药组大鼠生川乌给药剂量均为 0.8 g/kg 的前提下, 按比例灌胃给予各给药组冻干粉溶液 4 ml/kg, 正常对照组给予等体积生理盐水。灌胃 4 周末次给药后 24 h 及停药 2 周时测定大鼠尿液中微量白蛋白 (mAlb)、转铁蛋白 (TRF) 和血清中尿素氮 (BUN)、肌酐 (SCr)、 β_2 微球蛋白 (β_2 -MG) 含量; 计算肾脏指数并进行形态学观察。结果 给药 4 周后, 除川乌 1 半夏 1 组血清 BUN 外, 各给药组大鼠 mAlb、TRF、BUN、SCr、 β_2 -MG 含量明显高于正常对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 生川乌组、川乌 4 半夏 1 组、川乌 2 半夏 1 组大鼠肾脏指数明显高于正常对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 生川乌组上述检测指标均明显高于其余给药组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 川乌 2 半夏 1 组与川乌 1 半夏 1 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。停药 2 周后, 各组肾脏指数、mAlb、TRF、BUN、SCr、 β_2 -MG 含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 生川乌对大鼠肾脏具有明显毒性, 生川乌配伍不同比例生半夏后其肾脏毒性降低, 且在一定比例范围内毒性随生半夏配伍比例的升高而降低。

关键词 肾脏毒性; 生川乌; 生半夏

南北朝时期陶弘景所著《本草经集注》首载“半夏反乌头”^[1], 后人认为乌头、半夏合用会导致毒性增强, 因而此配伍一直被视作中药配伍禁忌, 并为历代医家所遵循。《中华人民共和国药典》在乌头项下明确规定“川乌及制川乌不宜与半夏、法半夏、姜半夏、清半夏同用”^[2], 但据研究报告, 在《伤寒论》《金匱要略》《备急千金翼方》《外台秘要》《圣济总录》等中医古籍中, 都涉及乌头与半夏配伍药方^[3-4]。本研究通过观察生川乌与生半夏不同比例配伍对大鼠肾脏毒性相关指标的影响, 探讨其配伍比例与大鼠肾脏毒性的关系, 为该药对的配伍应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级 SD 大鼠 50 只, 8 周龄, 雌雄各半, 体重 (200 ± 20) g, 北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 实验动物合格证号 SCXK (京) 2009-0007。试验前在实验室适应 1 周, 实验室温度 (22 ±

2) °C, 相对湿度 55% ~ 60%。

1.2 药物制备

生川乌购自河北光明饮片有限公司汉草饮片厂, 批号: 090212, 产地四川。生半夏购自河北省安国市光明饮片加工厂, 批号: 100101, 产地江西。将生川乌与生半夏按 1:0、4:1、2:1、1:1 配置后, 8 倍蒸馏水浸泡 24 h, 过滤, 药渣再按同样方法浸泡两次, 合并滤液冷冻干燥, 得提取物冻干粉备用。

1.3 实验仪器

5810R 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); AG-245 型电子分析天平 (瑞士 Mettler 公司); MDF-U4086S 超低温冰箱 (日本三洋公司); Excelsior ES 自动组织脱水机 (美国 Thermo 公司); Histocentre 3 组织包埋机 (美国 Thermo 公司); RM2125 轮转式切片机 (德国 Leica 公司); TK-218 型恒温摊片烤片机 (湖北泰维医疗科技有限责任公司); 80i 数字影像处理系统 (日本尼康公司)。

1.4 动物分组与给药

50 只 SD 大鼠采用随机数字表法分为正常对照

基金项目: 河北省教育厅重点项目 (ZD2010132)

* 通讯作者: zsf@cdmc.edu.cn, (0314) 2291111

组、生川乌组、川乌 4 半夏 1 组、川乌 2 半夏 1 组、川乌 1 半夏 1 组，每组 10 只。保证各组大鼠生川乌给药剂量均为 0.8 g/kg 的前提下按比例给予各组大鼠冻干粉溶液 4 ml/kg，正常对照组给予等体积生理盐水，连续灌胃 4 周，停药 2 周。

1.5 检测指标与方法

1.5.1 尿液、血液生化指标 末次给药后 24 h 禁食不禁水，每组采用随机数字表法选取 6 只大鼠，雌雄各半，收集 24 h 尿液，测定微量白蛋白 (mAlb)、转铁蛋白 (TRF) 含量；称重后 10% 水合氯醛 (4 ml/kg) 腹腔注射麻醉大鼠，腹主动脉取血，生化法测定血清中尿素氮 (BUN)、肌酐 (SCr)、 β_2 微球蛋白 (β_2 -MG) 含量。各组剩余 4 只大鼠停药 2 周，同法处理并检测上述指标。

1.5.2 肾脏指数 大鼠处死后取肾脏，剔除多余脂肪和结缔组织，用滤纸吸干组织表面水分，立即称取脏器重量并计算脏器指数。肾脏指数 = 肾脏重量/体重 $\times 100\%$ 。剩余大鼠停药 2 周，同法处理并计算脏器指数。

1.5.3 形态学指标 取肾脏组织，生理盐水冲洗后置于 10% 中性甲醛溶液中固定 12 ~ 24 h，不同浓度乙醇梯度脱水，常规石蜡包埋、切片，片厚 5 μ m，苏木素-伊红 (HE) 染色，中性树脂封片，于 20 倍镜下拍摄图像。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据分析，计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析，多重比较采用 LSD- t 法。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况

给药期间，各组大鼠摄食量无明显变化，各给

药组大鼠给药后 30 min 内出现不同程度的活动减少、呼吸急促、咳嗽、四肢抽搐等中毒症状，其中以生川乌组反应较为明显。生川乌组于第 8 天给药 1 h 后死亡 1 只，立即剖检，见胃内少量残留药液，肉眼观察其肝脏颜色较暗。停药 2 周，大鼠未出现上述中毒症状，精神状态逐渐好转。

2.2 各组大鼠尿液 mAlb 和 TRF 含量比较

表 1 示，给药 4 周，各给药组大鼠尿液 mAlb、TRF 含量均明显高于正常对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，生川乌组明显高于生川乌与生半夏各配伍组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，川乌 2 半夏 1 组与川乌 1 半夏 1 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。停药 2 周，各组大鼠尿液 mAlb ($F = 0.11$, $P > 0.05$)、TRF ($F = 0.27$, $P > 0.05$) 含量差异无统计学意义。

表 1 各组大鼠尿液 mAlb、TRF 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	mAlb (mg/dl)	TRF (ng/ml)
正常对照组	给药 4 周	6	2.12 $\pm$ 0.13	12.17 $\pm$ 2.86
	停药 2 周	4	2.13 $\pm$ 0.18	12.25 $\pm$ 3.30
生川乌组	给药 4 周	6	3.99 $\pm$ 0.14**	31.17 $\pm$ 4.79**
	停药 2 周	3	2.17 $\pm$ 0.18	14.67 $\pm$ 1.53
川乌 4 半夏 1 组	给药 4 周	6	3.09 $\pm$ 0.17** $\Delta\Delta$	24.17 $\pm$ 3.92** $\Delta\Delta$
	停药 2 周	4	2.16 $\pm$ 0.17	12.75 $\pm$ 2.99
川乌 2 半夏 1 组	给药 4 周	6	2.67 $\pm$ 0.17** $\Delta\Delta$	18.33 $\pm$ 5.28** $\Delta\Delta$
	停药 2 周	4	2.19 $\pm$ 0.23	12.25 $\pm$ 4.27
川乌 1 半夏 1 组	给药 4 周	6	2.64 $\pm$ 0.12** $\Delta\Delta$	17.83 $\pm$ 5.49** $\Delta\Delta$
	停药 2 周	4	2.11 $\pm$ 0.19	12.50 $\pm$ 4.12

注：mAlb，微量白蛋白；TRF，转铁蛋白；与正常对照组同时时间比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与生川乌组同时时间比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 各组大鼠血清 BUN、SCr、 β_2 -MG 含量比较

表 2 示，给药 4 周，除川乌 1 半夏 1 组大鼠血清 BUN 外，其他各组各项指标含量均明显高于正

表 2 各组大鼠血清 BUN、SCr、 β_2 -MG 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	BUN (mmol/L)	SCr (μ mol/L)	β_2 -MG (mg/L)
正常对照组	给药 4 周	6	6.92 $\pm$ 0.74	42.67 $\pm$ 5.61	0.26 $\pm$ 0.04
	停药 2 周	4	6.89 $\pm$ 0.19	42.50 $\pm$ 7.00	0.26 $\pm$ 0.04
生川乌组	给药 4 周	6	13.98 $\pm$ 1.82**	80.33 $\pm$ 4.32**	0.60 $\pm$ 0.07**
	停药 2 周	3	7.04 $\pm$ 0.66	44.33 $\pm$ 4.51	0.28 $\pm$ 0.05
川乌 4 半夏 1 组	给药 4 周	6	12.28 $\pm$ 1.01** Δ	70.83 $\pm$ 5.12** Δ	0.48 $\pm$ 0.05** $\Delta\Delta$
	停药 2 周	4	6.97 $\pm$ 0.25	42.25 $\pm$ 5.91	0.26 $\pm$ 0.06
川乌 2 半夏 1 组	给药 4 周	6	8.36 $\pm$ 0.77** $\Delta\Delta$	60.50 $\pm$ 9.93** $\Delta\Delta$	0.36 $\pm$ 0.06** $\Delta\Delta$
	停药 2 周	4	6.99 $\pm$ 0.16	42.00 $\pm$ 7.07	0.27 $\pm$ 0.04
川乌 1 半夏 1 组	给药 4 周	6	7.32 $\pm$ 0.45 $\Delta\Delta$	59.33 $\pm$ 8.21** $\Delta\Delta$	0.36 $\pm$ 0.03** $\Delta\Delta$
	停药 2 周	4	6.96 $\pm$ 0.14	42.00 $\pm$ 4.97	0.26 $\pm$ 0.05

注：BUN，尿素氮；SCr，肌酐； β_2 -MG， β_2 微球蛋白；与正常对照组同时时间比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与生川乌组同时时间比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$

常对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 生川乌组各项指标均明显高于生川乌与生半夏各配伍组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 川乌 2 半夏 1 组与川乌 1 半夏 1 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。停药 2 周, 各组大鼠血清 BUN、SCr、 $\beta 2$ -MG 含量差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 各组大鼠肾脏指数比较

表 3 示, 给药 4 周, 生川乌组、川乌 4 半夏 1 组、川乌 2 半夏 1 组大鼠肾脏指数明显高于正常对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 生川乌组明显高于生川乌与生半夏各配伍组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 川乌 2 半夏 1 组与川乌 1 半夏 1 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。停药 2 周, 各组肾脏指数比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 各组大鼠肾脏指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	肾脏指数
正常对照组	给药 4 周	6	0.65 ± 0.09
	停药 2 周	4	0.68 ± 0.10
生川乌组	给药 4 周	6	$0.99 \pm 0.01^{**}$
	停药 2 周	3	0.78 ± 0.11
川乌 4 半夏 1 组	给药 4 周	6	$0.88 \pm 0.05^{**\Delta}$
	停药 2 周	4	0.77 ± 0.07
川乌 2 半夏 1 组	给药 4 周	6	$0.75 \pm 0.03^{*\Delta\Delta}$
	停药 2 周	4	0.69 ± 0.13
川乌 1 半夏 1 组	给药 4 周	6	$0.72 \pm 0.14^{\Delta\Delta}$
	停药 2 周	4	0.78 ± 0.04

注: 与正常对照组同时时间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与生川乌组同时时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.5 各组大鼠肾脏肉眼观察

给药 4 周, 正常对照组大鼠肾脏未见异常; 生川乌组、川乌 4 半夏 1 组肾脏明显肿大, 颜色较深, 肾盂内有出血; 川乌 2 半夏 1 组、川乌 1 半夏 1 组肾脏肿大, 颜色较深。停药 2 周, 正常对照组肾脏未见明显异常; 生川乌组肾脏颜色较深, 其中 1 只大鼠肾盂内有出血; 其余各组肾脏未见明显异常。

2.6 各组大鼠肾脏形态学观察

给药 4 周, 光镜下正常对照组大鼠肾脏组织结构正常; 生川乌组肾小管管腔不规则, 上皮细胞水肿, 部分坏死脱落, 间质有出血, 且有明显炎细胞浸润, 肾脏组织呈肺泡样改变; 川乌 4 半夏 1 组部分肾球囊间隙增宽, 肾小管上皮细胞体积增大, 部分肾小管上皮细胞坏死、脱落, 间质有炎细胞浸润; 川乌 2 半夏 1 组肾小管管腔不规则, 上皮细胞染色加深, 间质有炎细胞浸润, 间质血管壁局部增厚; 川乌 1 半夏 1 组肾脏组织未见明显病理改变。停药 2 周, 各组肾脏组织未见明显病理改变。

3 讨论

近年来, 中草药毒性问题倍受关注。肾脏是参与人体药物排泄的主要器官, 所以研究中草药肾脏毒性显得尤为重要。现代药理研究发现, 合理的乌头、半夏配伍对某些疾病有较好的治疗效果^[7-8]。本实验研究显示, 除川乌 1 半夏 1 组外, 其余各给药组大鼠肾脏指数均明显增大, 且以生川乌组增大最为明显, 配伍不同比例生半夏后, 各组肾脏指数逐渐减小, 但仍明显高于正常对照组, 说明生川乌与不同比例生半夏配伍可引起肾脏充血、肿胀, 但随配伍生半夏比例的增加, 二者合用的肾脏毒性逐渐降低。此外, 除川乌 1 半夏 1 组血清 BUN 含量与正常对照组无明显差异外, 其余各给药组尿液 mAlb、TRF 和血清 BUN、SCr、 $\beta 2$ -MG 含量均明显升高, 提示生川乌与不同比例生半夏配伍可产生明显肾脏毒性, 但随配伍生半夏比例的增加, 其肾脏毒性逐渐降低。光镜下观察肾脏组织形态学改变亦提示, 生川乌可引起明显肾脏损伤, 但配伍不同比例生半夏后, 镜下观察肾脏组织损伤有所减轻。停药 2 周, 各给药组尿液、血清学指标均与正常对照组无明显差异, 结合光镜观察与肾脏指数计算结果, 提示停药 2 周肾脏毒性基本消退。此外本实验同期研究显示, 各组大鼠给药 4 周及停药 2 周时体重增长率差异均无统计学意义^[9]。

分析《国家基本药物中成药制剂品种目录》(2004 年版) 发现, 其中收载含十八反配伍的中成药品种以半夏、白芍与乌头类药物的配伍使用率较高, 且半夏与乌头在方中的配比多为 1 : 1^[10]。同时对中药成方制剂进行分析, 发现含“十八反”药对的成方制剂以川乌、草乌、半夏配伍使用率较高, 三者配方中的配比多为 1 : 1 : 1^[11]。此外, 在对中药十八反的现代临床应用进行数据分析时发现, 在复方配伍应用时, 乌头与半夏的计量分布以 1 : 1 应用最多^[12]。本研究将生川乌配生半夏 2 : 1 组与 1 : 1 组进行比较, 结果显示两组大鼠的尿液和血清学指标、肾脏指数及病理形态学改变等方面均未发现明显差异, 提示当生川乌与生半夏配伍达到一定比例时, 生半夏对生川乌致大鼠肾脏毒性的影响不再增强。该研究结果与上述中成药制剂中生川乌与生半夏配伍比例(1 : 1) 相吻合。

综上所述, 生川乌对大鼠肾脏具有明显毒性, 生川乌配伍不同比例生半夏后其肾脏毒性降低, 且在一定比例范围内, 毒性随配伍比例的升高而降

低, 即生半夏对生川乌大鼠肾脏毒性有拮抗作用。

参考文献

- [1] 神农本草经 [M]. 黄夷, 辑. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 366-367.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 37-38.
- [3] 陈馥馨. 782 个含十八反十九畏内服成药方组成与主治分析 [J]. 中国医药学报, 1987, 2(2): 26-28.
- [4] 周健, 虞舜. “十八反”不反 [J]. 光明中医, 2009, 24(10): 1983-1985.
- [5] 黄燕妮. 对十八反的认识和体会 [J]. 广东医学, 1996, 17(7): 479-480.
- [6] 刘月禅. 对十八反的认识 [J]. 广州医学院学报, 1994, 22(2): 72-73.
- [7] 侯苏林, 黄引. 川乌半夏配伍在骨伤科疾病中的应用

- [8]. 江西中医药, 2005, 36(4): 32.
- [9] 祝瑞德. 乌头伍半夏治疗风寒湿痹症的临床应用 [J]. 浙江中医杂志, 2010, 45(7): 530.
- [10] 许柳, 修继铭, 杨慧波, 等. 生川乌配伍不同比例生半夏对大鼠心肌毒性的影响 [J]. 中医杂志, 2013, 54(12): 1043-1046.
- [11] 王茜, 钟赣生, 刘佳, 等. 《国家基本药物中成药制剂品种目录》(2004 年版) 中含反药配伍成方制剂的收载情况及其配伍规律研究 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(5): 1082-1086.
- [12] 王茜, 钟赣生, 刘佳, 等. 卫生部药品标准中药成方制剂中含反药药对成方制剂收载情况与分析 [J]. 科技导报, 2011, 29(2): 59-64.
- [13] 李文林, 程茜, 唐于平, 等. 含十八反药对半夏与乌头类复方的组方配伍特点分析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(6): 94-97.

Impact on Renal Toxicity with the Compatibility of Different Proportions of Raw Chuanwu (*Aconitum carmichaelii*) and Raw Banxia (*Pinellia ternata*)

YANG Kunbao¹, YIN Changjiang¹, TONG Jiming¹, XU Liu², ZHANG Shufeng¹

(1. Chengde Medical University, Hebei province, 067000; 2. Baoding Chinese Medicine Hospital)

ABSTRACT Objective To discuss the impact on renal toxicity with the compatibility of raw Chuanwu (*Aconitum carmichaelii*, 川乌) and raw Banxia (*Pinellia ternata*, 半夏) and its relation with different proportions. **Methods** Raw Chuanwu (*Aconitum carmichaelii*, 川乌) and raw Banxia (*Pinellia ternata*, 半夏) mixed lyophilized powders with the proportion of 1 : 0, 4 : 1, 2 : 1, and 1 : 1 were made. Fifty SD rats were randomly divided into control group, Chuanwu group, Chuanwu-4 Banxia-1 group, Chuanwu-2 Banxia-1 group, and Chuanwu-1 Banxia-1 group, with 10 in each. In addition to being given the same amount of Chuanwu (0.8 g/kg), each group was administered with the solution (4 ml/kg) of mixed lyophilized powder in the correspondence set proportion, and the control group received an equal volume of normal saline. Levels of microalbumin (mAlb) and transferring (TRF) in urine and blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr), and β 2-microglobulin (β 2-MG) were tested 24 h after last administration of 4 weeks gavage and 2 weeks after withdrawal. Renal index was calculated and morphology was observed. **Results** After 4 weeks of administration, levels of mAlb, TRF, BUN, SCr, and β 2-MG in each treatment group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), except for the serum level of BUN in the Chuanwu-1 Banxia-1 group. The renal index in Chuanwu group, Chuanwu-4 Banxia-1 group, and Chuanwu-2 Banxia-1 group were significantly higher than that the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The above indicators in Chuanwu group were significantly higher than those in other treatment groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and there were no significant differences in indicators between the Chuanwu-2 Banxia-1 group and the Chuanwu-1 Banxia-1 group ($P > 0.05$). Two weeks after drug withdrawal, there were no statistical differences in renal index, levels of mAlb, TRF, BUN, SCr, and β 2-MG among groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Raw Chuanwu (*Aconitum carmichaelii*, 川乌) has obvious renal toxicity, but with the compatibility of different proportions of raw Banxia (*Pinellia ternata*, 半夏), the toxicity is alleviated. Also, within a certain range, renal toxicity decreased with the proportion of raw Banxia (*Pinellia ternata*, 半夏) escalating.

Keywords renal toxicity; raw Chuanwu (*Aconitum carmichaelii*, 川乌); raw Banxia (*Pinellia ternata*, 半夏)

(收稿日期: 2014-03-21; 修回日期: 2014-08-10)

编辑: 焦爽