

藏药仁青常觉临床安全性评价

杨红霞^{1,2}, 张明^{1,2,3}, 耿卢婧^{1,2,3}, 李岑^{1,2}, 斗周才让⁴, 智华⁵, 魏立新^{1,2}, 杜玉枝^{1,2}

(¹中国科学院西北高原生物研究所, 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 西宁 810008;

²中国科学院藏药研究重点实验室, 西宁 810008; ³中国科学院大学, 北京 100049;

⁴青海省藏医院, 西宁 810007; ⁵甘肃省藏医药研究院, 甘肃甘南 747000)

摘要: 目的: 观察藏药仁青常觉的临床安全性。方法: 患者服药15d, 于服药前、服药15d和停药15d分别收集血样、尿样、粪便, 检测血常规、尿常规、肝肾功能, 以及尿液便中铅、砷、汞的含量。结果: 与服药前比较, 服药15d总蛋白、白蛋白水平显著降低 ($P<0.05$), 血肌酐水平、尿液pH值显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 血、尿、便的汞、铅、砷含量显著升高 ($P<0.01$); 与服药15d比较, 停药15d总蛋白、白蛋白、球蛋白和总胆红素水平显著升高 ($P<0.05$), 尿素氮水平、尿液pH值显著降低 ($P<0.05$), 血汞、血铅、血砷、尿砷、便汞和便砷含量显著降低 ($P<0.01$)。结论: 按藏医理论服用仁青常觉, 短期内对肝脏和肾脏部分指标有一定影响, 但停药后均有恢复趋势, 显示仁青常觉临床用药的安全性。

关键词: 仁青常觉; 血常规; 尿常规; 肝功能; 肾功能; 汞; 铅; 砷

基金资助: “十二五”国家科技支撑计划 (No.2012BAI27B05), 青海省重点实验室专项 (No.2017-ZJ-Y08)

Clinical safety evaluation of Tibetan medicine Renqingchangjue

YANG Hong-xia^{1,2}, ZHANG Ming^{1,2,3}, GENG Lu-jing^{1,2,3}, LI Cen^{1,2}, DOUZHOU Cai-rang⁴,
ZHI Hua⁵, WEI Li-xin^{1,2}, DU Yu-zhi^{1,2}

(¹Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Qinghai Key Laboratory of Tibetan Medicine

Pharmacology and Safety Evaluation, Xining 810008, China; ²Key Laboratory of Tibetan Medicine Research,

Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; ³University of Chinese Academy of Sciences,

Beijing 100049, China; ⁴Qinghai Province Tibetan Medicine Hospital, Xining 810007, China;

⁵Gansu Province Tibetan Medicine Academy, Gannan 747000, China)

Abstract: Objective: To observe the clinical safety of Tibetan medicine Renqingchangjue (RQCJ). Methods: The cases of taking the medicine for 15 days, at the time of before, 15th days of taking the medicine, and 15th days after taking the medicine, collect blood, urine and faeces to test blood routine, liver and kidney function, urines routine and the content of mercury, plumbum and arsenic in the blood, urine and faeces sample. Results: At the time of 15th days of taking RQCJ, compared to the before period, the level of total protein and albumin decreased significantly ($P<0.05$), blood creatinine level, urine pH significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$), the content of mercury, plumbum and arsenic in the blood, urine and faeces sample all increased significantly ($P<0.01$); Compared to the 15th days of taking RQCJ, at the 15th days of stop taking RQCJ, the levels of total protein, albumin, globulin, and total bilirubin were significantly increased ($P<0.05$), urea nitrogen level, urine pH value significantly reduced ($P<0.05$), blood mercury, blood plumbum, blood arsenic, urine arsenic, fecal mercury and fecal arsenic content significantly decreased ($P<0.01$). Conclusion: According to the Tibetan theory to take RQCJ have effect on the liver and kidney function index, but they all could recover to the level of before period, these showed the safety of RQCJ clinical medication.

Key words: Renqingchangjue; Blood routine; Urine routine; Liver function; Kindey function; Mercury; Plumbum; Arsenic

Funding: National Key Technology R&D Program during the ‘Twelfth Five-year’ Plan Period (No.2012BAI27B05), Key Laboratory Special Development Program of Qinghai Province (No.2017-ZJ-Y08)

仁青常觉现收载于2015年版《中华人民共和国药典》，系藏族验方。由珍珠、朱砂、檀香、降香、沉香、诃子、牛黄、人工麝香、西红花、佐太等药味加工制成的丸剂。具有清热解毒，调和滋补的功效。主要用于“龙、赤巴、培根”各病，陈旧性胃炎、溃疡，“木布”病，萎缩性胃炎，各种中毒症；梅毒、麻风、陈旧热病、炭疽、疔痛、干黄水、化脓等^[1]。

小鼠的急性毒性和最大耐受量实验均显示仁青常觉临床剂量的安全性^[2-3]。此外，通过药理实验发现，仁青常觉与化疗药物同用，能提高小鼠机体免疫，有助于化疗的完成^[4]。仁青常觉治疗慢性萎缩性胃炎临床有效率达90%，与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)^[5]。

但仁青常觉中含有藏药中含重金属的代表组分——佐太，由于佐太的临床安全性研究报道较少^[6-8]，因此，含有佐太的传统藏药的临床应用也持续受到关注。本研究对含有佐太的藏药仁青常觉进行临床安全性评价，对临床受试病例的肝功能，肾功能，血常规，尿常规，血、尿和便中铅、砷、汞的含量进行检测，力图通过较为全面的临床观察数据，对临床常用藏药复方制剂仁青常觉进行上市后再评价；同时，对佐太在藏医临床配伍用药中的安全性和科学性进行阐述。

资料与方法

1. 研究对象 2013年2月至2014年11月青海省藏医院、甘肃省藏医药研究院符合藏医诊断消化不良、食欲不振、寒性腹泻、慢性肠炎及肝胆疾病等病症的住院患者130例。其中，青海省藏医院住院患者89例，甘肃省藏医药研究院住院患者41例。

纳入标准：①年龄≥18岁，男女不限；②符合仁青常觉临床适应症；③预计生存期2个月以上的住院者；④知情同意，自愿受试。

排除标准：①正在参加其他临床试验或参加过其他药物临床试验结束未超过1个月者；②过敏体质或对已知本药组成分过敏者；③合并肝、肾、造血及代谢系统疾病者；④妊娠或准备妊娠及哺乳期妇女；⑤肝、肾功能明显异常（即指标高于正常1倍以上）者；⑥法律规定的残疾者；⑦4周内使用过已知对主要脏器有损害的药物者；⑧根据研究者的判断，具有降低入组可能性或使入组复杂化的其他病变或情况，如怀孕、工作环境经常变动、生活环境不稳定等易造成失访的情况。

2. 药品与试剂 仁青常觉：规格：1g/包，青海省藏医院生产（青药制字20110479）。汞标准溶液（1mg/mL，GSB04-1729-2004，国家有色金属及电子材料分析测试中心）；硝酸（MERCK 1.00452.2500 Nitric acid 65% for analysis, max.0.005ng/mL Hg）；重铬酸钾（MERCK K38320565 939 for analysis, max.0.000001%Hg）。Pb标准溶液（1 000μg/mL，国家有色金属及电子材料分析测试中心）；As标准溶液（1 000μg/mL，中国计量科学研究院）；所用试剂均为仪器配套试剂；实验用水为自制超纯水。

3. 仪器 OLYMPUS AU400全自动生化分析仪（日本OLYMPUS），TDZ4-WS低速台式离心机（湖南湘仪实验室仪器开发有限公司），全自动固液相直接测汞仪（意大利Milestone公司）。WHG-630A型流动注射氢化物发生器（北京瀚时制作所）。

4. 方法 将仁青常觉研磨后浸泡于适量温开水或青稞酒中，次日清晨用小勺搅匀冲服，空腹服用，1g/d，服药15d。受试患者在治疗期间不合并服用影响本次试验的其他药物。分别用EDTA-K2真空抗凝采血管抽取受试者服药前、服药15d和停药15d的静脉血进行血常规，血清肝、肾功能指标检测；收集受试者服药前、服药15d和停药15d的尿液和粪便，检测尿常规，并进行血、尿、便中铅、砷、汞含量（浓度）的检测。

5. 统计学方法 采用SPSS 22.0软件进行统计学分析。采用描述性统计分析，检测结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 血常规指标检测结果 见表1。血常规24项指标在服药

表1 130例患者服药前后血常规各指标比较($\bar{x} \pm s$)

指标	服药前	服药15d	停药15d
白细胞数($\times 10^9/L$)	6.08±1.47	5.79±1.44	6.05±1.54
中性粒细胞百分比(%)	59.90±11.06	57.40±10.63	59.89±9.49
淋巴细胞百分比(%)	31.77±9.45	33.66±9.74	32.01±8.69
单核细胞百分比(%)	6.32±1.53	6.49±1.84	6.18±1.56
嗜酸细胞百分比(%)	1.69±1.17	1.92±1.05	1.75±0.98
嗜碱性粒细胞百分比(%)	0.33±0.19	0.38±0.22	0.36±0.26
中性粒细胞绝对值($\times 10^9/L$)	3.73±1.32	3.54±1.59	3.82±1.60
淋巴细胞绝对值($\times 10^9/L$)	0.89±0.72	0.88±0.73	0.85±0.68
单核细胞绝对值($\times 10^9/L$)	1.98±0.90	1.93±0.67	1.94±0.65
嗜酸细胞绝对值($\times 10^9/L$)	0.12±0.09	0.13±0.10	0.12±0.09
嗜碱细胞绝对值($\times 10^9/L$)	0.02±0.02	0.02±0.01	0.02±0.02
红细胞数($\times 10^9/L$)	5.15±0.67	5.03±0.65	5.12±0.59
血红蛋白浓度(g/L)	156.11±19.11	153.27±20.59	154.70±20.39
红细胞压积	0.47±0.08	0.45±0.06	0.46±0.05
平均红细胞体积(fL)	89.52±7.86	89.95±7.34	89.74±5.26
平均红细胞血红蛋白量(pg)	30.32±3.43	30.42±3.13	30.39±2.93
平均红细胞血红蛋白浓度(g/L)	335.17±21.59	335.69±21.27	338.15±19.07
红细胞分布宽度-SD(fL)	45.77±5.43	45.74±5.06	45.28±4.65
红细胞分布宽度-CV(%)	14.35±2.41	14.19±1.69	14.14±1.59
血小板数($\times 10^9/L$)	217.32±57.92	214.82±57.04	216.88±59.34
血小板比积(%)	0.25±0.06	0.23±0.05	0.25±0.06
血小板平均体积(fL)	11.56±1.35	11.52±1.31	11.62±1.40
大血小板比率(%)	36.35±11.47	36.19±10.67	36.92±11.93
血小板分布宽度(fL)	14.52±3.16	14.26±2.98	14.59±3.18

前、服药15d和停药15d虽然有波动,但各指标差异均无统计学意义。

2. 肝功能指标检测结果 见表2。与服药前比较,服药15d总蛋白、白蛋白水平显著降低 ($P<0.05$);与服药15d比较,停药15d总蛋白、白蛋白、球蛋白、总胆红素水平显著升高 ($P<0.05$)。

表2 130例患者服药前后肝功能各指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	服药前	服药15d	停药15d
谷丙转氨酶 (U/L)	33.42±15.97	34.00±18.34	34.14±16.37
谷草转氨酶 (U/L)	29.44±10.91	28.55±10.92	27.92±9.92
总蛋白 (g/L)	77.69±6.13	74.64±6.19*	78.59±5.87 [△]
白蛋白 (g/L)	45.48±4.37	43.76±5.21*	46.37±4.87 [△]
球蛋白 (g/L)	32.25±4.82	31.32±4.78	32.58±4.93 [△]
白球比	1.40±0.23	1.40±0.21	1.43±0.24
总胆红素 (μmol/L)	12.02±5.96	11.70±5.27	13.13±5.93 [△]
直接胆红素 (μmol/L)	3.88±1.57	3.45±1.50	3.81±1.62
间接胆红素 (μmol/L)	7.68±4.55	7.91±4.24	8.67±4.26
胆汁酸 (μmol/L)	3.24±1.50	3.50±2.00	3.48±1.74
碱性磷酸酶 (U/L)	80.22±21.07	81.25±25.34	86.39±30.98
谷氨酰胺转移酶 (U/L)	41.66±14.98	44.91±12.25	45.74±15.57

注:与服药前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与服药15d比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。下表同。

3. 肾功能指标检测结果 见表3。与服药前比较,服药15d、停药15d肌酐水平显著升高 ($P<0.05$);与服药15d比较,停药15d尿素氮水平显著降低 ($P<0.05$)。

表3 130例患者服药前后肾功能主要指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	服药前	服药15d	停药15d
尿素氮 (mmol/L)	5.60±1.44	5.73±1.34	5.40±1.21 [△]
血肌酐 (μmol/L)	66.35±14.02	70.19±12.40*	70.12±13.50*

4. 尿常规指标检测结果 见表4。与服药前比较,服药15d尿液pH值显著升高 ($P<0.01$);与服药15d比较,停药15d尿液pH值显著降低 ($P<0.05$)。尿液比重服药前、服药15d和停药15d没有变化。

表4 130例患者服药前后尿常规主要指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	服药前	服药15d	停药15d
pH值	6.49±1.01	6.82±0.86**	6.56±0.92 [△]
比重	1.01±0.01	1.01±0.01	1.01±0.01

5. 汞代谢检测结果 见表5。与服药前比较,服药15d血尿便汞含量均显著升高 ($P<0.01$)。与服药15d比较,停药15d血尿、便汞含量显著降低 ($P<0.01$)。

6. 铅代谢检测结果 见表6。与服药前比较,服药15d血尿便铅含量显著升高 ($P<0.01$)。与服药15d比较,停药15d血铅含量显著降低 ($P<0.01$)。

表5 130例患者服药前后血尿便汞含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	服药前	服药15d	停药15d
血汞 (μg/L)	1.01±0.91	1.21±0.44**	0.94±0.15 ^{△△}
尿汞 (μg/L)	1.32±1.13	1.55±0.67**	1.38±0.83
便汞 (mg/kg)	12.65±3.30	122.86±25.05**	37.70±14.01* ^{△△}

表6 130例患者服药前后血尿便铅含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	服药前	服药15d	停药15d
血铅 (μg/L)	82.44±58.11	100.55±68.04**	83.70±60.12 ^{△△}
尿铅 (μg/L)	145.72±118.38	176.09±112.71**	176.51±106.99**
便铅 (mg/kg)	22.92±12.37	34.23±16.81**	26.30±15.55

7. 砷代谢检测结果 见表7。与服药前比较,服药15d血尿便砷含量均显著升高 ($P<0.01$)。与服药15d比较,停药15d血尿便砷含量显著降低 ($P<0.01$)。

表7 130例患者服药前后血尿便砷含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	服药前	服药15d	停药15d
血砷 (μg/L)	21.97±8.98	36.24±14.46**	29.10±10.99** ^{△△}
尿砷 (μg/L)	19.53±12.01	49.50±20.63**	19.49±11.96 ^{△△}
便砷 (mg/kg)	0.83±0.53	15.73±9.49**	1.45±1.16 ^{△△}

讨论

临床实验观察过程中,服用仁青常觉患者的胃病症状有所改善;同时,实验期间的血常规检测数据均在正常范围内。血清蛋白具有维持血液正常胶体渗透压,调节被运输物质的生理作用、免疫作用以及营养作用等功能^[9]。肝脏功能严重损害时,蛋白质合成减少,且以白蛋白的下降最为显著^[9-10]。白蛋白检测值结合球蛋白和总蛋白的检测值能反映肝细胞蛋白合成代谢功能出现异常。本研究中服药15d肝功能检测显示的总蛋白、球蛋白和白蛋白检测值均略有降低,停药15d恢复,提示仁青常觉服药期间对机体的免疫功能有一定的抑制作用。

作为评价肾小球滤过功能和肾脏损伤的经典指标^[11-12],血肌酐和尿素氮二者的综合检测,能反映肾脏是否存在损伤^[13-14]。本研究结果显示,服用仁青常觉后,血肌酐呈现升高的趋势,尿素氮在服药15d和停药15d后有明显变化。同时,尿常规pH值可反映肾小管液酸碱水平,从而进一步反映慢性肾脏疾病^[15-16]。本研究中尿pH值在服药15d增加,停药15d恢复。结合血肌酐和尿素氮在临床观察期间的检测变化,提示仁青常觉对患者肾脏功能存在影响。

对血液、尿液和粪便中铅、砷、汞的检查显示,除尿铅、尿汞和便铅在停药后短期内没有显著降低外,其余指标在服药中显著升高,停药15d显著降低,说明药物中重金属在服药期间可通过尿液、粪便大量排出体外,服药期间重金属含量的增加可以在停药后的一定时间内恢复正常。服药期间药物中重金属所

致的机体血液中重金属的增加是否对药物的疗效有积极作用需要更进一步的观察。

综上所述,服用仁青常觉对实验中所检测指标均没有明显不可逆的损伤性不良反应,药物中重金属也可通过尿液和粪便大量排出体外,机体内重金属含量可在停药后短时间内恢复到服药前。这些检测结果均显示短期服用仁青常觉的安全性。对于临床用仁青常觉上市后的安全性再评价,可使人们在科学检测观察技术的基础上,逐步认识含重金属传统藏药,从而为藏医药的发展起到积极推动的作用。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.北京:中国医药科技出版社,2015:669
- [2] 马文俊,孙雪梅,李宝文,等.藏药仁青常觉的毒理学实验研究.亚太传统医药,2013,9(2):15-17
- [3] 陈乐.仁青常觉安全性评价以及相伴毒代动力学研究.成都:成都中医药大学,2011
- [4] 吴洪革,邵成雷,付素心.藏药仁青常觉联合环磷酰胺治疗白血病的实验研究.中国民族民间医药,2014,23(15):21-22
- [5] 斗周才让,才让卓玛,杨忠措,等.藏药仁青常觉治疗慢性萎缩性胃炎30例.中国民族医药杂志,2010,16(11):4-5
- [6] 李向阳,冯伟力,马祁生,等.藏药佐太中的汞在大鼠体内吸收和排泄的初步研究.时珍国医国药,2010,21(2):290
- [7] 久美彭措.藏药中重金属毒性的实验研究.成都:全国藏医药学术研讨会,1999:199
- [8] 杨宝寿,江吉村,降拥,等.藏药“佐塔”中汞的作用特点和安全性评价研究.西藏研究,2004(1):74-80
- [9] 李晶.血清总蛋白测定方法及临床意义.中国现代药物应用,2012,6(9):28-29
- [10] 张英霞,张云.血清白蛋白的功能及应用.海南大学学报自然科学版,2007,25(3):315-320
- [11] 张宏,王旭昀,刘美奇,等.血肌酐升高的病因病机分析及中医药治疗.吉林中医药,2014,34(12):1195-1197
- [12] 朱旭明,郁昊达,张健,等.血肌酐、尿素氮及白细胞计数在原发性高血压中的意义.国际检验医学杂志,2011,32(15):1749-1750
- [13] 黄晓玲,高云华.急性肾衰时血肌酐、尿素氮与肾血流参数变化关系的实验研究.中国超声医学杂志,2000,16(8):564-567
- [14] 石凯峰,张宁,柳诗意,等.补肾活血方通过调节Bcl-2/Bax凋亡相关蛋白对慢性肾脏病大鼠血管钙化的影响.中华中医药杂志,2017,32(5):2188-2193
- [15] 李光,冉鹏,杨旭希,等.尿pH值与慢性肾脏疾病患者对比剂肾病的关系.岭南心血管病杂志,2014,20(6):744-747
- [16] 李士梅.临床肾脏病学.上海:上海科学技术出版社,1986:66

(收稿日期:2018年1月11日)

· 研究报告 ·

肺肾气虚哮喘病证结合模型的建立与评价

厉蓓¹, 高越¹, 孙婧², 罗清莉², 魏颖², 张红英², 董竞成²

(¹浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院综合病区, 杭州 310006; ²复旦大学中西医结合研究院, 复旦大学附属华山医院中西医结合科, 上海 200040)

摘要: 目的: 建立并评价肺肾气虚哮喘病证结合模型。方法: 在卵蛋白反复激发建立肺气虚哮喘模型的基础上, 结合啮齿类动物之间的社交应激模拟“恐伤肾”建立肺肾气虚哮喘模型, 观察一般状况、行为学、下丘脑-垂体-肾上腺轴功能、气道高反应、气道炎症等指标。结果: 与正常组比较, 肾气虚、肺肾气虚哮喘组在旷场试验中自主活动明显减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 肺气虚哮喘组、肺肾气虚哮喘组存在明显气道高反应 ($P < 0.05$); 肺肾气虚哮喘组BALF中白细胞介素(IL)-4、IL-5、IL-13与TNF- α 水平明显高于肺气虚哮喘组 ($P < 0.05$)。与正常组、肺气虚哮喘组比较, 肺肾气虚哮喘组血清皮质酮水平显著升高 ($P < 0.01$), 肺组织病理提示气道炎症更加明显。结论: 卵蛋白反复激发结合“恐伤肾”建立的肺肾气虚哮喘模型, 具有类似肺肾气虚的生物学表征改变, 又表现出气道高反应、气道炎症等类似人类哮喘的病生理特征, 是研究补肾益气中药药理合适动物模型。

关键词: 社交应激; 恐伤肾; 肺肾气虚; 哮喘; 动物模型

基金资助: 国家自然科学基金项目(No.81774074), 上海市高峰学科建设项目(No.20150407), 浙江省中医药管理局项目(No.2015ZA124)

通讯作者: 董竞成, 上海市静安区乌鲁木齐中路12号复旦大学中西医结合研究院, 复旦大学附属华山医院中西医结合科
邮编: 200040, 电话: 021-52888301, E-mail: jcdong2004@126.com