

薏苡茎、叶提取物的急性毒性

李津¹, 覃永长¹, 李桂勇², 蓝秋宁², 霍汉彬², 黄锁义^{3*}

(1. 右江民族医学院 科技处实验动物中心, 贵州 百色 533000;

2. 右江民族医学院 基础医学院, 贵州 百色 533000; 3. 右江民族医学院 药学院, 贵州 百色 533000)

[摘要] **目的:**探讨薏苡茎、叶的水提物和乙醇提物对小鼠的急性毒性反应,测定半数致死量 LD₅₀及最大耐受量(MTD)。**方法:**实验前禁食不禁水 16 h,SPF 级 KM 小鼠 74 只,雌雄各半,分提取物组和空白对照组;灌胃,定时密切观察,记录毒性反应和死亡情况。若有小鼠死亡,则将死亡小鼠解剖,肉眼观察心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、小肠等脏器变化,14 d 观察期结束后,将每组存活的小鼠处死进行解剖,按照上述同样方法对主要脏器大体病理变化进行肉眼观察。**结果:**小鼠未出现明显的中毒症状,亦未出现死亡。**结论:**小鼠对薏苡的叶水提物(叶水提),叶乙醇提物(叶醇提),茎水提物(茎水提),茎乙醇提物(茎醇提)的最大耐受量分别是 42.08,34.80,39.52,32.64 g·kg⁻¹,均 >5 g·kg⁻¹,由此可见叶水提、叶醇提、茎水提、茎醇提在季度试验提示该药是较安全的。

[关键词] 薏苡茎叶;急性毒性;最大耐受量

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)05-0178-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015050178

Acute Toxicity Test of Extracts from Stalks and Leaves of Coix LI Jin¹, QIN Yong-chang¹, LI Gui-yong², LAN Qiu-ning², HUO Han-bin², HUANG Suo-yi^{3*} (1. Laboratory Animal Center of Science and Technology Department, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China; 2. College of Basic Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China; 3. College of Pharmacy, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China)

[Abstract] **Objective:** The aim of this article was to explore the acute toxicity of water extracts and alcohol extracts from stalks and leaves of Coix on mice so as to determine the median lethal dose (LD₅₀) and the maximum tolerated dose (MTD). **Method:** Seventy-four KM mice (half male and half female) of grade SPF were divided into extract group and control group. After fasted for 16 hours before experiment, all the mice were fed by gavage. The toxic reaction and death were observed. If the mice died, it will be dissected to observe the changes of heart, liver, spleen, lung, kidney, brain, stomach, small intestine and other organs by eyes. After the observation for 14 days, the survivals in each group were killed, and then dissected. Then we examined their main pathological changes in organs by eyes as mentioned above. **Result:** No obvious symptoms of poisoning were discovered on these mice, neither death. **Conclusion:** The maximum tolera dose of SPF KM mice to the water extracts and the alcohol extracts from leaves of Coix, and to the water extract and alcohol extracts from stalks of Coix, were 42.08, 34.80, 39.52, 32.64 g·kg⁻¹, respectively, with all greater than 5 g·kg⁻¹. According to the quarter experiment, the water and alcohol extracts from leaves and stalks of Coix are nontoxic.

[Key words] leaves and stalks of Coix; acute toxicity; the maximum tolerated dose

[收稿日期] 20140716(015)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360684);广西自然科学基金项目(2011GXNSFA018046);广西中医药科技专项(GZKZ 10-128);广西医学科学实验中心开放基金专项(KFJJ2011-04);广西教育厅课题(201106LX425);广西中医药管理局课题(gzcc1047)

[第一作者] 李津, 硕士, 助理研究员, 从事实验动物繁殖育种与疾病预防工作, Tel:0776-2299008, E-mail:502632940@qq.com

[通讯作者] * 黄锁义, 教授, 硕士生导师, 从事天然药物化学、中草药与植物化学、食品卫生等研究工作, Tel:0776-2850590, E-mail:huangsuoyi@163.com

薏苡为禾本科黍亚科蜀黍族植物,它的干燥成熟种仁称为薏苡仁,常作为中药和食材,味甘,性微寒^[1]。我国薏苡资源丰富,而广西是中国薏苡的主产区^[2],广西壮药薏苡资源最丰富,为广西的优势中药资源,具有广阔的医药应用开发前景。

近年来,国内外对于薏苡的相关研究主要集中在薏苡仁,陆蕴等^[3]研究发现薏苡仁油对 KM 小鼠的 S180 肉瘤抑制率达到 30% 以上;据米金霞等^[4]报道,薏苡仁具有抗肿瘤、免疫调节、降血糖、降压、抗病毒等多种功效,不仅增强了肿瘤细胞的敏感性和放、化疗药物的毒性,而且能直接杀伤癌细胞、诱导细胞凋亡、抑制血管生成,可用于鼻咽癌、肺癌、胃癌、肝癌、肾癌等癌症;从薏苡仁中提取的抗肿瘤制剂康莱特注射液(KLT)被诸多研究表明具有抑制多种肿瘤效果^[5]。然而,对于薏苡非种子部位的药理作用的相关研究却报道不多,吴伯侯^[6]发现薏苡茎可防治麻疹、湿疹等;王振洪^[7]认为薏苡叶中所含的生物碱,有清热利湿、健脾杀虫、暖胃益气、舒肝活血等作用;有关薏苡叶、薏苡茎的相关毒性作用未见相关报道,严重限制了薏苡的深度开发和利用。因此,对广西壮药薏苡叶、茎的水提取物和乙醇提取物进行毒性实验研究,通过对 SPF 昆明种小鼠灌胃给药,观察其急性毒性反应,为薏苡叶、茎的进一步开发利用提供参考。

1 材料

1.1 仪器 RE-3000A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),ALPHA1-2/LD-Puls 型冷冻干燥机(德国 CHRIST),FA1104 型电子分析天平(上海天平仪器厂),DHG-9070A 型电热恒温旋风干燥箱(上海精密设备有限公司),HHS-21-4 型电热式恒温水浴锅(江苏金坛宏凯仪器厂),SHB-III 型循环水真空抽气泵(上海嘉鹏科技有限公司)。

1.2 药品 广西壮药薏苡茎、叶(购自广西百色市西林县,经右江民族医学院民族医学教研室覃道光副教授鉴定为禾本科黍亚科蜀黍族植物薏苡 *Coix lacryma-jobi var mayuen* 的茎和叶),广西壮药薏苡叶水提取物(叶水提)、薏苡叶乙醇提取物(叶醇提)、薏苡茎水提取物(茎水提)和薏苡茎乙醇提取物(茎醇提)4种提取物均由本课题组提取制备成浸膏,其余试剂均为分析纯。

薏苡茎、叶水提取物浸膏和乙醇提取物浸膏的制备:将新鲜的薏苡茎、叶分别用清水洗净,阴干,茎叶分别粉碎至粉末保存。称取薏苡茎、叶干粉各 100 g,按料液比 1:10 分别加入蒸馏水、乙醇溶剂,

按下法进行提取。恒温水浴加热回流提取 2 次,每次 2 h,抽滤,合并滤液,用旋转蒸发仪减压浓缩,最后将浓缩液冷冻干燥,制备成浸膏,使用时配制所需浓度即可。薏苡茎多糖含量为 11.34%^[8],薏苡叶多糖含量为 22.75%^[9]。

1.3 动物 SPF 级昆明种小鼠,体重 18~22 g,雌雄各半。由右江民族医学院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(桂)2012-0003。

2 方法

2.1 预试验

2.1.1 分组 预分组:取 24 只小鼠,雌雄各半,分开称重。12 只雄性小鼠按体重相近原则将小鼠分为平均分成①,②,③组,每组 4 只,分别用苦味酸做好标志并记下相应体重。12 只雌性小鼠预分组方法同上。

正式分组:在 12 只雄性小鼠的①,②,③组中每组随机抽出 1 只,组成 1 个任意组,如此再重复 3 次,则随机组成 4 个含有各种体重的实验组,每组 3 只雄性小鼠;分别是叶水提、叶醇提、茎水提、茎醇提组,该分组方法使 4 个实验组的雄性小鼠的平均体重及体重分布尽可能趋于一致。12 只雌性小鼠正式分组方法同上。由此组成 A,B,C,D 4 个实验组,每组 6 只,雌雄各 3 只。

2.1.2 预试验方法 各组小鼠禁食不禁水 16 h,给予灌胃可承受的体积 0.8 mL/20 g 体重,叶水提、叶醇提、茎水提、茎醇提的最大质量浓度分别为 526,435,494,408 g·L⁻¹,2 次/d,每次间隔 4 h,常规喂养,连续观察 7 d,此期间小鼠生命健康状况良好,无死亡。因无法测出该 4 种提取物的半数致死量(LD₅₀),故进行 4 种提取物的最大耐受量(MTD)的测定。

2.2 最大耐受量 取小鼠 50 只,雌雄各半,按预试验分组方法分成 5 组:叶水提组、叶醇提组、茎水提组、茎醇提组和空白组,每组 10 只,雌雄各 5 只。实验前小鼠禁饲供水 16 h,叶水提组、叶醇提组、茎水提组、茎醇提组分别以 526,435,494,408 g·L⁻¹(以最高质量浓度)的药液质量浓度,0.8 mL/20 g 体重(最大容量)灌胃给药,2 次/d,每次间隔 4 h,空白对照组同法给与生理盐水。给药后连续观察 14 d。

2.3 观察指标 观察给药后小鼠的毛皮光滑感,饮食,大小便,眼、鼻分泌物,黏膜,呼吸等一般状况;观察小鼠的活动情况及自主神经反应,如发声、举尾、震颤、抽搐、觅食等^[10]。于灌胃给药后 0.25,0.5,0.75,1,1.25,1.5,1.75,2,2.5,3,3.5,4,5,6,7,8,12,16,20,24 h 共 20 个时间点观察以上指标。药后

第 2 天起,每天固定时间观察 1 次,称取体重;第 14 天后,处死小鼠,取心肝、脾、肺、肾主要脏器进行肉眼观察。若有小鼠死亡,则将死亡小鼠解剖,肉眼观察心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、小肠等脏器的改变。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 做 ANOVA 统计学处理,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠一般状况 A, B, C, D 4 个实验组:第 1 次给药后,多数小鼠活动减少、静卧、闭眼、对外反应迟钝,精神不振,背毛耸立。1 h 后,有个别小鼠开始饮水,嗅饲料;1.5 h 时,小鼠活动增多,开始搬运饲料;1.75 h,小鼠开始吃饲料,大部分小鼠渐渐恢复正常。第 2 次给药后半数小鼠活动减少、喜静卧、但对外略有反应,精神不振,背毛不顺无光;30 min 后,刺激小鼠有反应,活动增加,个别在笼内攀爬,嗅食嗅水;60 min 后,小鼠可进食饮水,并逐渐恢复正常。2 次给药后小鼠均未出现翻滚、挣扎、振颤、步

态不稳的现象,也未见流涎、流血、流泪、流鼻涕、呼吸困难、腹泻、便秘、眼屎分泌以及毛色糙乱等异常现象,在之后 14 d 的定时观察时间内,小鼠活动自如,反应正常,皮毛光泽,毛色净白,饮食及大小便正常,体重增长正常。

空白组:小鼠在 1 ~ 14 d 观察时间内,小鼠活动自如,反应正常;皮毛光泽,毛色净白,饮食及大小便正常,正常生长,未见任何异常状态。

3.2 小鼠死亡情况 从给药后即时起至 14 d 观察时间内,空白组、提取物组的 50 只小鼠全部存活,各组小鼠无 1 例死亡。

3.3 小鼠体重的变化 第 1 天各组小鼠体重具有显著性差异:茎水提组的雄性小鼠与其他组比较均有显著性差异;叶水提组的雌性小鼠与叶醇提组的雌性小鼠、茎醇提的雌性小鼠体重差异显著;叶醇提组的雌性小鼠与茎水提组的雌性小鼠、空白组的雌性小鼠体重差异显著。第 2 ~ 14 天的时间段各组差异性不显著。空白组小鼠体重正常增长见表 1。

表 1 薏苡叶、茎不同提取物对小鼠给药后体重变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Extracts from stalks and leaves of coix of SPF KM mice weight change after treatment ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量 /g·L ⁻¹	性别	小鼠每日体重/g				
			1 d	3 d	7 d	10 d	14 d
叶水提	526	♂	17.88 ± 0.32	21.53 ± 0.65	23.40 ± 1.02	24.12 ± 1.08	25.61 ± 0.98
		♀	18.57 ± 0.27	21.73 ± 0.54	24.94 ± 0.79	25.94 ± 1.03	27.44 ± 1.48
叶醇提	435	♂	17.82 ± 0.30	21.30 ± 0.69	23.03 ± 1.16	23.70 ± 1.34	24.81 ± 1.48
		♀	17.42 ± 0.33 ¹⁾	21.12 ± 0.71	23.33 ± 1.25	23.86 ± 1.28	25.21 ± 0.95
茎水提	494	♂	19.40 ± 0.11 ¹⁾	22.50 ± 0.57	24.38 ± 0.91	25.21 ± 1.07	25.70 ± 1.15
		♀	18.17 ± 0.45	21.87 ± 0.73	24.12 ± 1.06	25.41 ± 1.34	26.57 ± 1.36
茎醇提	408	♂	17.84 ± 0.30	21.57 ± 0.85	23.10 ± 1.12	23.87 ± 1.23	25.19 ± 1.33
		♀	17.56 ± 0.23 ¹⁾	20.84 ± 0.71	23.20 ± 1.37	23.65 ± 1.24	25.24 ± 0.98
生理盐水	-	♂	17.93 ± 0.17	21.24 ± 0.73	23.00 ± 1.23	23.54 ± 1.23	24.87 ± 0.89
		♀	18.26 ± 0.23	22.21 ± 0.40	24.97 ± 0.53	25.89 ± 0.75	26.92 ± 0.76

注:与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.4 症状分析 空白组、4 种提取物的急性毒性实验的各项观察指标未见明显毒性反应,亦未能涉及相应的组织、器官、系统。第 14 天解剖所见肝脏颜色、大小、质地表面均正常,无坏死灶、结节、肿瘤等病变;脾脏大小、形状、表面、质地、切面均正常,无结节、肿大等病变;肾脏大小、表面、质地、颜色、切面均正常,无结节、肿大、肿瘤等异常;胃大小、形状正常,胃黏膜无出血、坏死,胃壁无出血点,胃内容物性状正常。

3.5 最大耐受量 小鼠对薏苡的叶水提物、叶醇提

物、茎水提物、茎醇提物的最大耐受量分别是 42.08, 34.80, 39.52, 32.64 g·kg⁻¹。

4 讨论

小鼠用 4 种提取物 1 日 2 次以最大浓度、最大体积给予小鼠灌胃,小鼠能正常活动、饮食,精神状态良好,体重增加正常,小鼠未出现死亡现象。第 14 天小鼠处死后经剖检观察脏器未见异常。小鼠对叶水提、叶醇提、茎水提、茎醇提的最大耐受量分别是 42.08, 34.80, 39.52, 32.64 g·kg⁻¹, 均 > 5 g·kg⁻¹,由此可见叶水提、叶醇提、茎水提、茎醇提在季

度试验提示该药是较安全的^[11],可以认为临床用药安全。

[参考文献]

[1] 徐利国. 薏苡的拉丁名讨论[J]. 四川中草药研究, 1994(36):62-63.
[2] 陈成斌,梁云涛,徐志健,等. 广西薏苡种质资源考察报告[J]. 西南农业学报,2008,21(3):792-797.
[3] 陆蕴,张仲苗,章荣华. 薏苡仁油抗肿瘤作用研究[J]. 中药药理与临床,1999,15(6):21-23.
[4] 米金霞,汤家铭,张婷. 几种天然抗肿瘤药物的研究前景[J]. 癌变·畸变·突变,2008,20(3):245-246.
[5] 黄美欧,刘涛,袁平. 中药康莱特联合化疗药物治疗中晚期肺癌疗效观察[J]. 中国误诊学杂志,2006,6(2):251-252.

[6] 吴伯侯. 薏苡秸秆保健床垫:中国,CN101133914A [P]. 2008-03-05.
[7] 王振鸿. 薏苡的药用价值[J]. 农村实用技术,2004(12):56-57.
[8] 谢燕飞,覃冬,潘廷敏,等. 广西壮药薏苡茎多糖的提取及抗氧化性研究[J]. 中国处方药,2012,10(2):43-48.
[9] 余珊,司珂珂,尤萍,等. 广西壮药薏苡叶多糖的提取及体外抗氧化性研究[J]. 食品工业,2012,33(10):57-59.
[10] 孙江桥. 肠康片的急性毒性实验研究[C]. 广州:第十三届中南地区实验动物科技交流会,2013.
[11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB15193.3-2003 急性毒性实验[S]. 北京:中国标准出版社,2003:21.

[责任编辑 邹晓翠]

《中国当代医药》杂志 欢迎订阅 欢迎投稿

《中国当代医药》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管,中国保健协会、当代创新(北京)医药科学研究院主办的医药卫生专业期刊,本刊已被美国化学文摘(CA)数据库、万方数据数字化期刊群、中国核心期刊(遴选)数据库、中国知网、中国学术期刊网络出版总库、中文科技期刊数据库全文收录,系中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊。现为旬刊,国内刊号:CN11-5786/R,国际刊号:ISSN 1674-4721,邮发代号:2-515,定价:每期20元,通过本刊发行部订阅全年36期杂志优惠价为540元。

主要栏目:综述、论著、实验研究、临床研究、药理与毒理、药品鉴定、药物与临床、新药评价、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、中医中药、护理研究、制剂与技术、医药教育、调查研究、工作探讨等50多个栏目。对省、部级以上部门立项的科研论文以及本刊订户的论文予以优先刊登。本刊订户凭订书单复印件投稿,同等条件优先录用。欢迎各医药单位、院校、厂家刊登广告。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-602 邮编:100025
投稿热线:010-59679076 59679077 发行热线:010-59679533 传真:010-59679056
投稿邮箱:ddy@vip.163.com 网址:www.dangdaiyiyao.com