

水飞蓟宾对 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的保护作用

刘德明¹, 王伟², 王佩贤², 杨婷婷¹, 谭许朋¹, 胡旭光^{1*}

(1. 广东药学院 中药学院, 广州 510006; 2. 安健药物研究院, 广州 510224)

[摘要] **目的:**建立 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤模型并评价水飞蓟宾对 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的治疗作用。**方法:**取健康昆明种小鼠60只,随机分为6组,每组10只,各组分别按0.10,0.20,0.35,0.70,1.32,2.50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ip α -鹅膏毒肽,观察7 d,用改良寇氏法计算 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的LD₅₀和LD₉₀;取健康昆明种小鼠120只,分为0,12,24,36,48,60,72 h组,共6组,采用LD₅₀ α -鹅膏毒肽建立小鼠急性肝损伤的时效关系模型;分别取健康昆明种小鼠120只,各分为6组,每组20只,分别为空白组,模型组,水飞蓟宾预防性或治疗性给药组,采用LD₉₀ α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤模型,死亡率考察水飞蓟宾对肝损伤小鼠的预防与治疗作用,预防组的水飞蓟宾的剂量分别为10,25,50,100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,治疗组的水飞蓟宾的剂量为100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,但分为不同的时间组,即10,20,40,60 min水飞蓟宾给药组,均尾静脉注射给药,观察7 d,并记录小鼠的死亡情况;另取健康昆明种小鼠36只,分为3组,每组12只,分别为空白组、模型组,水飞蓟宾组(100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),观察肝组织中天门冬氨酸氨基转移酶(AST),谷氨酸转氨酶(ALT),丙二醛(MDA)的水平及超氧化物歧化酶(SOD)的活性,并观察肝组织的病理形态的变化。**结果:** α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤LD₅₀和LD₉₀分别是0.36 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和0.50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;ip LD₉₀ α -鹅膏毒肽前60 min,尾静脉注射25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的水飞蓟宾就能保护全部动物,在ip LD₉₀ α -鹅膏毒肽10 min后,尾静脉注射100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的水飞蓟宾几乎保护全部动物,显著降低了死亡率,在40 min后给予水飞蓟宾这种保护作用减弱;与空白组比较,模型组的AST,ALT,MDA的水平明显升高,SOD的活性明显降低($P < 0.01$),与模型组比较,100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 水飞蓟宾能够显著降低LD₅₀ α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的AST,ALT,MDA水平及升高SOD活性,病理图片观察模型组肝小叶结构不清,肝细胞索排列紊乱,肝细胞水肿,部分有空泡样改变,点状坏死,水飞蓟宾组肝组织明显改善。**结论:**水飞蓟宾对 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝的损伤有一定的保护作用。

[关键词] α -鹅膏毒肽;水飞蓟宾;急性肝损伤;保护作用;抗氧化作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0155-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060155

Hepatoprotective Effects of Silibinin on α -amanitin-induced Liver Injury in Mice LIU De-ming¹, WANG Wei², WANG Pei-xian², YANG Ting-ting¹, TAN Xu-peng¹, HU Xu-guang^{1*} (1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Anjian Drug Research Institute, Guangzhou 510224, China)

[Abstract] **Objective:** To set up an acute liver injury mice model by α -amanitin and evaluate the hepatoprotective effect of silibinin. **Method:** Sixty Kunming mice were randomly divided into 6 groups and intraperitoneally injected with α -amanitin at 0.10, 0.20, 0.35, 0.70, 1.32, 2.50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. The LD₅₀ and LD₉₀ of α -amanitin were calculated by the improved karber method. Another 120 Kunming mice were randomly divided into 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 h groups, the time-activity curve was established using LD₅₀ α -amanitin. The preventive and curative effects of silibinin were investigated from mortality, prevention group using LD₉₀ α -amanitin. The preventive experiment included different dosage of silibinin groups (10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). The curative experiment included different time point groups (10, 20, 40, 60 min after intraperitoneal injection of α -amanitin) at silibinin of 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. The death situation of mouse was observed for 7 days. Moreover, 36 Kunming mice were randomly divided into the blank group, the model group, the silibinin

[收稿日期] 20140717(004)

[基金项目] 广东省科技计划项目(2013125)

[第一作者] 刘德明,在读硕士,从事新药药效与安全性评价,E-mail:scmyxs@hotmail.com

[通讯作者] *旭光,博士,副教授,从事新药药效与安全性评价,Tel:020-39352180,E-mail:hxguang21@163.com

treatment group ($100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$). The activities of aspartate aminotransferase (AST), alanine transaminase (ALT), and level of malonaldehyde (MDA) were detected. Pathological changes of hepatic specimens were observed. **Result:** The LD_{50} and LD_{90} of α -amanitin toxic peptides on acute liver injury in mice was $0.36 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ and $0.50 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. Preventive treatment with silibinin raised the survival rate of mice. Silibinin of $10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ could protect 70%, $25 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ could protect all animals against the action of α -amanitin 60 min before administration of LD_{90} α -amanitin. Curative treatment with silibinin was very effective when administered 10 min after administration of LD_{90} α -amanitin. The anti- α -amanitin effect diminished when silibinin was 40 min after administration of LD_{90} α -amanitin. Compared with the blank group, levels of AST, ALT, MDA increased, SOD activity decreased significantly in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, silibinin could significantly decrease serum ALT and AST levels, increase SOD after administration of LD_{50} α -amanitin. From the observation of pathological picture, it showed the structure of hepatic lobule was unclear, hepatic cell cords disordered, liver cell edema, part of vacuolar changed, spotty necrosis of liver tissue in the model group. Silibinin could improve the above pathological changes significantly. **Conclusion:** Silibinin has a good effect in treating the α -amanitin-induced acute liver injury.

[**Key words**] α -amanitin; silibinin; acute liver injury; hepatoprotective effect; antioxidant

野生菌营养丰富风味独特,深受人们的喜爱,采食相当普遍。有些致命毒蕈的形态、气味等与可食用蘑菇极为相似,误食毒蕈中毒常有发生^[1]。在严重的蘑菇中毒中,鹅膏毒肽中毒是最主要的,引起鹅膏毒肽中毒的蘑菇有 3 个菌属:鹅膏菌属,盔孢伞属和环柄菇属,大部分致死蘑菇属于鹅膏菌属,有 90% 的死亡事件与之有关^[2]。鹅膏菌中含 2 种主要毒素: α -鹅膏毒肽和鬼笔毒肽。鬼笔毒肽只存在于鹅膏菌属,口服吸收极少,不引起中毒^[3]。 α -鹅膏毒肽中毒有较长潜伏期(6~12 h)和 3 个临床阶段:肠胃期阶段(12~24 h),包括霍乱样腹泻,呕吐,腹痛和脱水;肝脏毒害期(24~48 h),肝脏损害,某些生化指标的改变,预示不可逆凝血病将会发生;肝肾综合征(4~7 d),会发生出血,抽搐,急性肝衰竭,昏迷和死亡^[4]。水飞蓟宾是水飞蓟的提取物,在四氯化碳、D-氨基半乳糖等急性肝损伤模型中都显示出了很好地疗效^[5-6]。水飞蓟素近年来开始在欧盟国家用于毒蕈中毒的治疗,收到了较好的疗效^[7]。本研究通过建立 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤模型并评价水飞蓟宾对 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的治疗作用以及可能的机制。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,SPF 级,体重(20 ± 2) g,雌雄各半,广州中医药大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2013-0020。

1.2 药物及试剂 α -鹅膏毒肽(美国 Sigma 公司,批号 043K0461),注射用水飞蓟宾(安健药物研究院,批号 20140319),天冬氨酸转氨酶(glutamic-

oxaloacetic transaminase,AST,批号 140321),丙氨酸转氨酶(glutamate pyruvate transaminase,ALT,批号 140321),丙二醛(malondialdehyde,MDA,批号 131223),超氧化物歧化酶(superoxidase dismutase,SOD,批号 140223),以上试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 仪器 AMS18 型全自动生化仪(奥普森公司),UV2450 型紫外分光光度计(日本岛津公司),AUW120 型分析天平(日本岛津公司),2-16P 型高速低温离心机(美国 Sigma 公司)。

2 方法

2.1 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的 LD_{50} 和 LD_{90} 取小鼠 60 只,随机分为 6 组,每组 10 只。各组分别按 0.10,0.20,0.35,0.70,1.32,2.50 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ *ip* α -鹅膏毒肽,按照 20 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ 给予 α -鹅膏毒肽。观察 7 d,记录小鼠死亡情况,用改良寇氏法(Karber)计算 α -鹅膏毒肽小鼠 LD_{50} 和 LD_{90} 。

2.2 LD_{50} α -鹅膏毒肽建立小鼠急性肝损伤的时效关系模型 取小鼠 120 只,*ip* LD_{50} α -鹅膏毒肽,按照 20 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ 给予 α -鹅膏毒肽。分别在 0,12,24,36,48,60,72 h 各取 10 只小鼠,眼球取血,分离血清,用全自动生化仪测定血清中 AST,ALT。取血后,处死动物,称取小鼠肝脏右叶 0.5 g,制成 10% 肝匀浆,按试剂盒说明书的要求测定肝组织匀浆中 SOD,MDA。

2.3 水飞蓟宾对 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的预防和治疗作用研究

2.3.1 水飞蓟宾对 LD_{90} α -鹅膏毒肽所致小鼠急性

肝损伤的预防作用 取小鼠 120 只,分为 6 组,每组 20 只,分别为空白组,模型组,10,25,50,100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 水飞蓟宾预防性给药组。各给药组尾静脉给予相应剂量的水飞蓟宾,按照 10 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ 给予水飞蓟宾,模型组给予相应剂量的 0.9% 氯化钠注射液,1 h 后,各组 *ip* LD₉₀ α -鹅膏毒肽,按照 20 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ 给予 α -鹅膏毒肽。观察并记录小鼠的死亡情况,连续 7 d。

2.3.2 水飞蓟宾对 LD₉₀ α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的治疗作用 取小鼠 120 只,分为 6 组,每组 20 只,分别为空白组,模型组,10,20,40,60 min 水飞蓟宾给药组。各组 *ip* LD₉₀ α -鹅膏毒肽,按照 20 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ 给予 α -鹅膏毒肽,各给药组在给予 α -鹅膏毒肽后相应时间尾静脉注射 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 水飞蓟宾,按照 10 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ 给药,模型组给予相应剂量的 0.9% 氯化钠注射液。观察并记录小鼠的死亡情况,连续 7 d。

2.3.3 水飞蓟宾对 LD₅₀ α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝脏损伤的治疗作用 取小鼠 36 只,分为 3 组,每组 12 只,分别为空白组、模型组,水飞蓟宾给药组。各组 *ip* LD₉₀ α -鹅膏毒肽,20 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$,空白组给予相应剂量的 0.9% 氯化钠注射液,10 min 后,给药组尾静脉注射 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 水飞蓟宾,按照 10 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ 给药,空白组和模型组给予相应剂量的 0.9% 氯化钠注射液。造模 36 h 后,眼球取血,分离血清,用全自动生化仪测定血清中 AST,ALT。取血后,处死动物,称取各组小鼠肝脏右叶 0.5 g,制成 10% 肝匀浆,按试剂盒说明书的要求测定肝组织匀浆中 SOD,MDA。取其余肝组织,10% 多聚甲醛固定,石蜡切片和 HE 染色,光学显微

镜下观察病理变化。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较,方差齐则按 *t* 检验统计,方差不齐按秩和检验,计数资料按卡方检验进行,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的 LD₅₀ 和 LD₉₀ α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的 LD₅₀ 为 0.36 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,95% 可信区间是 0.34 ~ 0.46 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,LD₉₀ 为 0.50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,95% 可信区间是 0.44 ~ 0.78 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。见表 1。

表 1 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的 LD₅₀ 和 LD₉₀

Table 1 LD₅₀ and LD₉₀ of α -amanitin-induced liver injury in mice

剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	死亡动物/只	死亡率/%
0.10	0	0
0.20	0	0
0.23	1	10
0.35	3	30
0.53	9	90
0.80	10	100

3.2 LD₅₀ α -鹅膏毒肽建立小鼠急性肝损伤的时效关系模型 *ip* LD₅₀ α -鹅膏毒肽后,AST 与 ALT 迅速升高,在 36 h 达到峰值 ($P < 0.05, P < 0.01$),之后开始下降,在 72 h 时恢复正常。SOD 的下降和 MDA 的升高表示 α -鹅膏毒肽对肝脏损伤与破坏其抗氧化系统关系密切。见表 2。

表 2 LD₅₀ α -鹅膏毒肽对小鼠 AST,ALT,SOD 和 MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of LD₅₀ with α -amanitin on AST, ALT, SOD and MDA in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别/h	AST/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$
0	154.32 \pm 16.78	55.28 \pm 9.56	351.78 \pm 22.67	2.87 \pm 0.92
12	220.49 \pm 27.86 ¹⁾	208.12 \pm 20.42 ²⁾	320.11 \pm 18.92	5.23 \pm 0.68 ²⁾
24	414.14 \pm 48.72 ²⁾	578.13 \pm 89.65 ²⁾	270.18 \pm 12.91 ¹⁾	4.89 \pm 0.71 ¹⁾
36	1 090.63 \pm 158.54 ²⁾	1 269.21 \pm 187.81 ²⁾	231.33 \pm 15.32 ¹⁾	5.86 \pm 1.05 ²⁾
48	300.43 \pm 65.05 ¹⁾	289.6 \pm 50.6 ²⁾	254.67 \pm 17.53 ¹⁾	5.28 \pm 0.79 ²⁾
60	242.39 \pm 60.09 ¹⁾	108.6 \pm 29.19 ¹⁾	247.17 \pm 23.84 ¹⁾	5.71 \pm 0.83 ²⁾
72	186.44 \pm 53.55	50.22 \pm 17.98	208.70 \pm 13.63 ²⁾	5.67 \pm 1.09 ²⁾

注:与 0 h 组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 对 α -鹅膏毒肽致小鼠急性肝损伤的预防和治疗

3.3.1 预防性给药对 LD₉₀ α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的预防作用 小鼠 *ip* LD₉₀ α -鹅膏毒肽

后,导致 90% 的动物死亡 ($P < 0.01$),当水飞蓟宾的剂量达到 25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的时候就能够完全防止动物死亡 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 水飞蓟宾预防性给药对 LD₉₀α-鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤死亡率的影响 (n = 20)

Table 3 Protective treatment effect of silibin on mortality of LD₉₀ with α-amanitin-induced liver injury in mice (n = 20)

组别	剂量/μg·g ⁻¹	死亡动物/只	死亡率/%
空白		0	0
模型		18 ²⁾	90
水飞蓟宾	10	6 ⁴⁾	30
	25	0 ⁴⁾	0
	50	0 ⁴⁾	0
	100	0 ⁴⁾	0

注:与空白组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01; 与模型组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01(表 4~5 同)。

3.3.2 水飞蓟宾治疗性给药对 LD₉₀α-鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的治疗作用 在小鼠 ip LD₉₀α-鹅膏毒肽后 10 min 尾静脉注射水飞蓟宾几乎完全防止动物死亡 (P < 0.01)。如果在 ip LD₉₀α-鹅膏毒肽后 20 min 尾静脉注射水飞蓟宾,这种保护作用减弱 (P < 0.01)。若在中毒 40 min 后用水飞蓟素则无保护作用。见表 4。

3.3.3 水飞蓟宾对 LD₅₀α-鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的治疗作用 与模型组比较,水飞蓟宾能够

表 4 水飞蓟宾治疗性给药对 LD₉₀α-鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤死亡率的影响 (n = 20)

Table 4 Curative treatment effect of silibin on mortality of LD₉₀ with α-amanitin-induced liver injury in mice (n = 20)

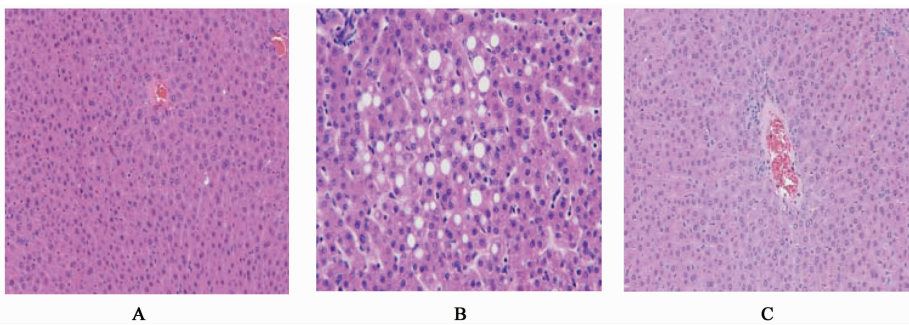
组别	剂量 /mg·g ⁻¹	造模后时间 /min	死亡动物 /只	死亡率 /%
空白	-	60	0	0
模型	-	60	18 ²⁾	90
水飞蓟宾	10	10	2 ⁴⁾	10
	25	20	6 ⁴⁾	30
	50	40	17	85
	100	60	18	90

显著降低 AST 和 ALT 活性 (P < 0.01),同时也能够降低 MDA 含量和升高 SOD 活性 (P < 0.05, P < 0.01),见表 5。小鼠肝脏病理切片进一步证明了水飞蓟宾的保护作用,空白组肝小叶结构完整,中央静脉清晰,肝细胞索排列有序整齐;模型组肝小叶结构不清,肝细胞索排列紊乱,肝细胞水肿,部分有空泡样改变,点状坏死。水飞蓟宾给药组能够明显减轻上述 α-鹅膏毒肽导致的肝脏病变,作用尤为突出,几乎和空白组一致。见图 1。

表 5 水飞蓟宾对 LD₅₀α-鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤 AST,ALT,SOD 和 MDA 的影响 (x̄ ± s, n = 10)

Table 5 Effects of silibin on AST,ALT,SOD and MDA of LD₅₀ with α-amanitin-induced liver injury in mice (x̄ ± s, n = 10)

组别	剂量/μg·g ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹	MDA/μmol·g ⁻¹
空白	-	160.52 ± 18.63	58.39 ± 11.72	366.54 ± 20.18	2.93 ± 0.91
模型	-	891.53 ± 112.06 ²⁾	1 172.08 ± 214.17 ²⁾	221.43 ± 26.30 ¹⁾	6.21 ± 1.37 ²⁾
水飞蓟宾	100	247.93 ± 68.11 ⁴⁾	189.58 ± 52.74 ⁴⁾	317.45 ± 17.52 ³⁾	3.48 ± 0.84 ³⁾



A. 空白组;B. 模型组;C. 水飞蓟宾 100 μg·g⁻¹组

图 1 水飞蓟宾对 LD₅₀α-鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的影响 (HE, ×400)

Fig.1 Effect of silibin on mortality of LD₅₀ with α-amanitin-induced liver injury in mice(HE, ×400)

4 讨论

α-鹅膏毒肽中毒的确切机制目前尚不十分清楚,然而越来越多的研究表明 α-鹅膏毒肽中毒的机制可能是 α-鹅膏毒肽结合于真核细胞 RNA 聚合酶

II 上,抑制转录^[8]。Bushnell 等研究表明 α-鹅膏毒肽结合于 RNA 聚合酶 II 的 R2P1 亚基的桥螺旋下方^[9]。Wang 等进一步表明 RNA 聚合酶 II 的 R2P1 亚基的桥螺旋下方的启动环 (trigger loop) 上的组氨

酸残基 His1085 是 α -鹅膏毒肽的作用位点^[10]。然而临床上对误食毒覃中毒的治疗依然没有合适的药物。在中毒初期,主要采用清洗肠胃和促肾排泄;中毒中后期,只能采取血液灌流、置换血浆、肝脏移植的方法。Francoise Enjabert 等研究 20 年来临床治疗毒覃中毒资料发现 *N*-乙酰半胱氨酸、硫辛酸和水飞蓟宾有可能是治疗 α -鹅膏毒肽最有希望的药物^[11]。然而, Tri T C 等研究表明 *N*-乙酰半胱氨酸和硫辛酸并不能降低中毒小鼠血清 ALT 与 AST, 在病理切片上与模型组也未有明显区别^[12-13]。

本研究通过测定小鼠 AST, ALT, SOD, MDA 与观察小鼠肝脏病例切片, 成功建立了 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤模型, 本研究中所观察到 LD₅₀ 的损伤程度 Tri T C, Floersheim G L 文章中一致^[11,14]。Tri T C, Floersheim G 等研究表明水飞蓟宾在 48 h 并不能有效的解救动物, 其中与本研究中最大不同之处在于 Tri T C, Floersheim G L 在给予 α -鹅膏毒肽两小时后给予动物水飞蓟宾, 而本研究预防性给药与治疗性给药实验表明: 预防性给药中 25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的水飞蓟宾就能够保护全部动物, 而在治疗给药中, 在 *ip* LD₉₀ α -鹅膏毒肽 10 min 后, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的水飞蓟宾几乎保护全部动物, 显著降低了死亡率, 在 40 min 后给予水飞蓟宾这种保护作用减弱。本研究能够很好的解释 Tri T C, Floersheim G L 等研究的结果, 同时也提醒笔者在临床中 α -鹅膏毒肽中毒时, 要尽早接受到有效治疗, 能够显著的降低死亡率。

本研究结果表明 α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤 LD₅₀ 和 LD₉₀ 分别是 0.36, 0.50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。水飞蓟宾能够显著降低 LD₅₀ α -鹅膏毒肽所致小鼠急性肝损伤的 AST, ALT, MDA 和升高 SOD 活性, 从病理切片看, 模型组肝小叶结构不清, 肝细胞索排列紊乱, 肝细胞水肿, 部分有空泡样改变, 点状坏死。水飞蓟宾给药组能够明显减轻上述 α -鹅膏毒肽导致的肝脏病变, 作用尤为突出, 几乎和空白组一致。水飞蓟宾能够从多方面解救 α -鹅膏毒肽中毒小鼠, 并有望成为临床毒蘑菇中毒治疗药物。

[参考文献]

[1] 陈作红. 2000 年以来有毒蘑菇研究新进展[J]. 菌物学报, 2014, 33(3): 493-516.
[2] Hauffe T, Mayer F, Kupferschmidt H. Poisoning with Amanita mushrooms[J]. Praxis (Bern 1994), 2013,

102(25):1507-1515.

[3] Schenk-Jaeger K M, Rauber-Luthy C, Bodmer M, et al. Mushroom poisoning: a study on circumstances of exposure and patterns of toxicity[J]. Eur J Intern Med, 2012, 23(4): e85-e91.
[4] Trabulus S, Altiparmak M R. Clinical features and outcome of patients with amatoxin-containing mushroom poisoning[J]. Clin Toxicol (Phila), 2011, 49(4): 303-310.
[5] 李秋影, 李欣欣, 莫红梅, 等. 水飞蓟宾及卵磷脂抗小鼠急性肝损伤研究[C]. 天津: 中国药学会. 2010.
[6] 万华, 席宏丽, 陶迎红, 等. 水飞蓟宾葡甲胺片治疗非酒精性脂肪性肝炎[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 157-161.
[7] Wellington K, Jarvis B. Silymarin: a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders[J]. Bio Drugs, 2001, 15(7): 465-489.
[8] Lindell T J, Weinberg F, Morris P W, et al. Specific inhibition of nuclear RNA polymerase II by alpha-amanitin[J]. Science, 1970, 170(3956): 447-449.
[9] Bushnell D A, Cramer P, Kornberg R D. Structural basis of transcription: alpha-amanitin-RNA polymerase II cocrystal at 2.8 Å resolution[J]. Proc Natl Acad Sci, 2002, 99(3): 1218-1222.
[10] Wang D, Bushnell D A, Westover K D, et al. Structural basis of transcription: role of the trigger loop in substrate specificity and catalysis[J]. Cell, 2006, 127(5): 941-954.
[11] Enjabert F, Rapior S, Nouguiet-Soule J, et al. Treatment of amatoxin poisoning: 20-year retrospective analysis[J]. J Toxicol Clin Toxicol, 2002, 40(6): 715-757.
[12] Tong T C, Hernandez M, Richardson W R, et al. Comparative treatment of alpha-amanitin poisoning with *N*-acetylcysteine, benzylpenicillin, cimetidine, thiocetic acid, and silybin in a murine model[J]. Ann Emerg Med, 2007, 50(3): 282-288.
[13] 陈永顺, 吴珍. 水飞蓟宾明胶微球在大鼠体内的药动学及组织分布[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 128-131.
[14] Floersheim G L. Antagonistic effects against single lethal doses of Amanita phalloides [J]. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol, 1976, 293(2): 171-174.

[责任编辑 周冰冰]