

柴胡挥发油对大鼠和小鼠的急性毒性研究

孙蓉^{1*}, 王丽², 杨倩², 黄伟², 吕丽莉¹

(1. 山东省中医药研究院药理室, 济南 250014; 2. 山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的: 观察柴胡挥发油对大、小鼠的急性毒性反应, 评价其安全性大小。方法: 分别给大、小鼠 ig 不同剂量的柴胡挥发油, 观察急性毒性反应症状、体征、死亡时间和累计死亡率, 用 Bliss 法分别计算半数致死量(LD₅₀)及其 95% 可信限。结果: 柴胡挥发油给大、小鼠 ig 的急性毒性症状主要有: 烦躁、异步态、心率加快、呼吸急促、连续性抽搐, 柴胡挥发油给大、小鼠 ig 的 LD₅₀ 及其 95% 可信限分别为 2.081(1.759 9~2.461 3) mL · kg⁻¹ 和 3.118(2.872 4~3.391 2) mL · kg⁻¹。结论: ig 柴胡挥发油对大、小鼠 ig 可造成急性毒性损伤, 有必要对柴胡挥发油的致毒成分、毒性机制、作用靶点等进行深入研究, 以期柴胡及其制剂的安全有效应用提供依据。

[关键词] 柴胡挥发油; 急性毒性; 半数致死量

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0154-03

Acute Toxicity of Volatile Oil from *Bupleurum chinense* in Rats and Mice

SUN Rong^{1*}, WANG Li², YANG Qian², HUANG Wei², LV Li-li¹

(1. Shandong Academy of Chinese Medicine, The Pharmacology Department, Jinan 250014, China;

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;)

[Abstract] **Objective:** To observe the acute toxicity of volatile oil from *Bupleurum chinense* in mice and rats and evaluate its safety. **Method:** Ig volatile oil from *B. chinense* of different dosages to mice and rats; the acute toxic symptoms, signs, death time and accumulated death rate were observed and the LD₅₀ was calculated by Bliss method. **Result:** Restlessness, abnormal walking, accelerated heart rate, breathlessness, consecutive convulsion were the main acute toxic symptoms and signs caused by volatile oil from *B. chinense*; the LD₅₀ and its 95% confident limit of volatile oil of *B. chinense* to rats and mice are 2.081(1.759 9-2.461 3) mL · kg⁻¹ and 3.118(2.872 4-3.391 2) mL · kg⁻¹ differently. **Conclusion:** Ig volatile oil from *B. chinense* to rats and mice can cause acute toxic injury to them. The further study on toxic components, toxic mechanisms and toxic targets of volatile oil from *B. chinense* are need to do, so as to offer experimental basement for the safe and effective application of *B. chinense* and its preparation.

[Key words] volatile oil from *Bupleurum chinense*; acute toxicity; half lethal dosage

[收稿日期] 20100416(006)

[基金项目] 山东省科技攻关关键技术研究课题(2007GG2NS02073); 国家自然科学基金项目(30672649); 山东省引进国外智力项目(L20083700336); 山东省科技平台建设项目(2008GG2NS02021)

[通讯作者] * 孙蓉, 研究员, 硕士生导师, 从事中药药理与毒理研究, Tel: 0531-82949843, E-mail: sunrong107@163.com

柴胡始载于《神农本草经》, 原名茈胡, 为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *B. scorzonifolium* Willd. 的干燥根^[1], 按性状不同分别习称“北柴胡”及“南柴胡”。柴胡味苦, 性凉, 归肝、胆、心包络、三焦经, 功能解表退热、疏肝解郁、升举阳气, 用于外感热病、内伤劳热、疟疾、肝气郁结、中气不足等。皂苷类和挥发油是柴胡的主要有效成分, 现代药理研究表明柴胡挥发油具有很好的抗炎^[2]、解热^[3]作用。

柴胡注射液是由伞形科植物北柴胡的干燥根经水蒸气蒸馏制成的灭菌水溶液,柴胡挥发油是其主要有效成分,临床用于治疗感冒流感、上呼吸道感染、肺炎等多种发热症,疗效良好^[4]。随着柴胡注射液在临床的广泛应用,肝损伤、过敏性反应、呼吸道反应等不良反应的报道^[5]也逐年增多。本课题组已经对柴胡及柴胡总皂苷的毒性进行了深入研究,发现柴胡总皂苷是柴胡肝毒性的物质基础之一,但柴胡醇-水提取物和柴胡总皂苷粗提物的毒性反应程度不一致,提示柴胡中还有其他导致肝脏毒性的成分。临床应用柴胡注射液大量不良反应报道的出现也提示柴胡挥发油可能是柴胡的毒性物质基础,但目前尚未见柴胡挥发油的毒性研究报道。据此,本文对 ig 柴胡挥发油对大鼠和小鼠的急性毒性反应进行研究。

1 材料

1.1 动物 健康 KM 小鼠,体重(20±2)g,雌雄各半;健康 Wistar 大鼠,体重(160±10)g,雌雄各半,均购自山东大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(鲁)20030004。

1.2 药品 柴胡药材购自河北安国药材市场,经山东中医药大学学生药学教研室生药学专家张芳鉴定为伞形科植物柴胡 *B. Chinense* 的干燥根。称取定量柴胡药材加 12 倍量水浸泡 15 h,用挥发油提取装置加热回流提取 5 h,收集挥发油(含生药 487.387 g·mL⁻¹)置冰箱内备用。用前加等量吐温-80 乳化后加蒸馏水配制成所需浓度药液。

2 方法

参照经典的急性毒性试验方法[半数致死量(LD₅₀)、最大耐受量(MTD)、最大给药量(MLD)],分别给大、小鼠 ig 柴胡挥发油进行急性毒性预试验。预试结果表明:柴胡挥发油给大、小鼠 ig 给药,均可测出 LD₅₀:给大鼠 ig 的最小 LD₁₀₀ 为 3.25 mL·kg⁻¹,最大 LD₀ 为 1.33 mL·kg⁻¹,组间距 r=0.8;给小鼠 ig 的最小 LD₁₀₀ 为 5.00 mL·kg⁻¹,最大 LD₀ 为 1.64 mL·kg⁻¹,组间距 r=0.8。故正式试验进行柴胡挥发油给大、小鼠 ig 的 LD₅₀ 测定。

2.1 柴胡挥发油大鼠急性毒性研究 取禁食 12 h 后的大鼠 60 只,按体重随机分为 6 组,即空白对照组和 5 个柴胡挥发油药物组,每组 10 只大鼠。5 个柴胡挥发油药物组的给药剂量分别为 3.25, 2.60,

2.08, 1.67, 1.33 mL·kg⁻¹,各组大鼠均按 10 mL·kg⁻¹ 体积 ig 给药,空白对照组 ig 给以等体积的蒸馏水。

2.2 柴胡挥发油小鼠急性毒性研究 取上述禁食 12 h 后的小鼠 140 只,按体重随机分为 7 组,即空白对照组和 6 个柴胡挥发油药物组,每组 20 只小鼠。6 个柴胡挥发油药物组的给药剂量分别为 5.00, 4.00, 3.20, 2.56, 2.05, 1.64 mL·kg⁻¹,各组小鼠均按 25 mL·kg⁻¹ 体积给药,空白对照组给以等体积的蒸馏水。

2.3 柴胡挥发油急性毒性试验观察方法 各组给药后每盒(笼)5 只,正常饲养,连续观察 14 d:药后 30 min 内,连续观察;药后 30 min~2 h,每 15 min 观察 1 次;药后 2~4 h,每 30 min 观察 1 次;药后 4~8 h,每 1 h 观察 1 次;药后 8~24 h,每 4 h 观察 1 次;给药后第 2 天起,每天观察 1 次,称取动物体重,记录毛色、精神、动度、进食、饮水等一般情况、中毒症状及死亡情况。死亡动物即时解剖,肉眼观察心、肝、脾、肺、肾等主要脏器有无病变;14 d 观察期结束后将各组存活动物处死、解剖,按照上述同样方法肉眼观察主要脏器大体病理改变。

3 结果

柴胡挥发油 ig 后大鼠、小鼠急性毒性表现相似,药后即刻兴奋、烦躁,继而出现异步态、呼吸急促、心率加快、剧烈抽搐致死。但小鼠出现上述症状的时间较大鼠早且持续时间较大鼠短,小鼠的急性毒性表现出现在药后 15 min~24 h,大鼠主要出现在药后 1~48 h。对死亡动物即时解剖,肉眼观察胃底黏膜均无异常,肝脏体积增大、色暗红、边缘变钝,其他脏器无明显异常。大鼠、小鼠的死亡情况见图 1~2,体重变化情况见图 3~4,根据动物死亡率、Bliss 法分别计算柴胡挥发油给大、小鼠 ig 的 LD₅₀ 及其 95% 可信限分别为 2.081(1.759 9~2.461 3)mL·kg⁻¹ 和 3.118(2.872 4~3.391 2)mL·kg⁻¹。

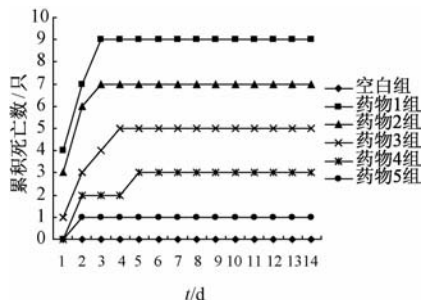


图 1 柴胡挥发油 ig 大鼠 LD₅₀ 试验-时间累积死亡曲线

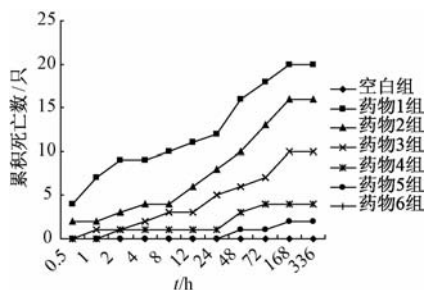


图 2 柴胡挥发油 ig 小鼠 LD₅₀ 实验-时间累积死亡曲线

由图 1~2 可见,柴胡挥发油 ig 后小鼠死亡时间比大鼠早,小鼠最早死亡发生在药后 0.5 h,大部分小鼠死亡集中在药后 72 h 内;大鼠最早死亡时间在药后 2 h,所有死亡均发生在药后 5 d 内。

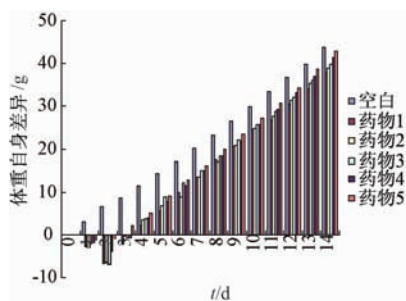


图 3 柴胡挥发油 ig 大鼠 LD₅₀ 实验体重自身差异

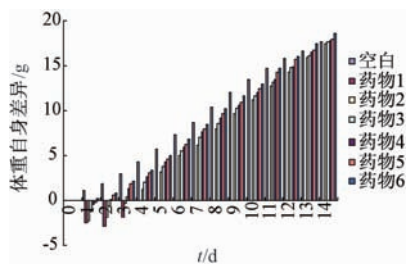


图 4 柴胡挥发油 ig 小鼠 LD₅₀ 实验体重自身差异

由图 3,4 可见,柴胡挥发油 ig 对大、小鼠体重的影响趋势基本一致,药后 2 d 内大、小鼠体重均呈下降趋势;药后第 1 天药物 1,2,4 组大鼠体重与对照组相比呈显著性差异;药后第 2 天各药物大鼠体重均明显降低,其中 1~4 组与对照组比均呈极显著性差异,药物 5 组与对照组比较呈非常显著性差异;药后第 3 天各药物组体重增长仍低于对照组,与对照组比较分别呈一定的显著性差异;药后第 4 天起大鼠体重增长增加,药后第 7 天体重增长与正常对照组比较基本一致,经过统计学处理均无显著性差异。给药后 4 d 内小鼠体重增长明显低于对照组,各药物组体重与对照组比较均呈不同程度的显著性差异,药后第 5 天开始小鼠体重明显增长,药后第 8 天

各药物组小鼠体重增长趋势与正常对照组比较基本一致,经过统计学处理均无显著性差异。

4 讨论

柴胡注射液是我国上市最早的中药注射液,自其进入临床应用以来取得了良好的疗效,同时也出现了一些不良反应,据其制备工艺分析与其中所含的柴胡挥发油有关。本文对柴胡挥发油给大、小鼠 ig 的急性毒性进行了研究,结果显示:柴胡挥发油 ig 对大、小鼠的急性毒性反应症状大体相同,毒性发生时间和维持时间上稍有差异。柴胡挥发油的急性毒性症状主要有烦躁、异步态、心率加快、呼吸急促及连续性抽搐,小鼠毒性发生时间较早、维持时间较短;柴胡挥发油对大、小鼠体重均有一定影响,一般在给药后 2 d 内体重降低比较明显;柴胡挥发油给大、小鼠 ig 的 LD₅₀ 及其 95% 可信限分别为 2.081 (1.759 9~2.461 3) mL · kg⁻¹ 和 3.118 (2.872 4~3.391 2) mL · kg⁻¹。对死亡动物即时解剖肉眼可见部分肝脏有体积增大、色暗红等大体病理变化。上述结果表明柴胡挥发油给大、小鼠 ig 可能导致呼吸系统、中枢神经系统及自主神经系统等多系统功能障碍,并可能致肝脏毒性损伤。

柴胡挥发油对大鼠和小鼠的急性毒性研究结果可以为柴胡注射液制备工艺改进及其临床应用提供一定的实验依据,同时有必要对柴胡挥发油的主要致毒成分、毒性作用靶点、作用机制等进行深入研究,以期为柴胡注射液及柴胡挥发油其他制剂在临床上安全、有效应用提供实验依据,提醒临床医生既不可因其通治百病而孟浪投之,也不可拘泥于“柴胡劫肝阴”而因噎废食。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:178.
- [2] 谢东浩,贾晓斌,蔡宝昌,等.北柴胡及春柴胡挥发油的抗炎镇痛作用的实验研究[J].药学与临床研究,2007,15(2):108.
- [3] 王洋,曾凡波,张丽敏,等.柴胡挥发油透皮贴剂对家兔发热的解热作用研究[J].医药导报,2008,27(7):789.
- [4] 夏新华,莫美霞.近十年柴胡注射液的研究概况[J].中成药,1992,14(9):36.
- [5] 胡琴策,季静岳,胡明灿.43 例柴胡注射液不良反应分析[J].中国中医药信息杂志,2001,8(5):38

[责任编辑 邹晓翠]