

苦豆子提取物急性毒性的测定及 对实验性肝损伤的影响

杨巧丽*, 黄 华, 王 雪, 刘 燕

(新疆维吾尔自治区药物研究所药理室, 新疆 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的: 测定苦豆子提取物(AL)小鼠灌胃给药的半数致死量,并初步考察其对实验性肝损伤的影响。方法:采用改良寇式法计算半数致死量及95%可信限;以D-氨基半乳糖(GaLN)腹腔注射建立化学性肝损伤模型,以卡介苗加脂多糖小鼠尾静脉注射建立免疫性肝损伤模型,检测小鼠血清转氨酶水平并取其肝脏做组织病理学检查。结果:AL小鼠灌胃给药1次的LD₅₀为689.8 mg·kg⁻¹,其95%可信限为607~788 mg·kg⁻¹;AL能够显著降低两种肝损伤模型小鼠的血清转氨酶水平,减轻肝细胞病变。结论:苦豆子提取物对实验性肝损伤具有一定的保护作用。

[关键词] 苦豆子;半数致死量;肝损伤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)12-0068-03

Studies on Acute Toxicity and Effects on Liver Impairment of *Sophora alopecuroides*

YANG Qiao-li*, HUNG Hua, WANG Xue, LIU Yan

(Department of Pharmacology, Xinjiang Institute of Materia Medica, Wulumuqi 830004, China)

[Abstract] Objective: To observe the protective effects of *Sophora alopecuroides* (AL) on acute toxicity and liver impairment. Methods: LD₅₀ and 95% confidence ig in mice were determined after giving AL. Two experimental liver-impairment models were respectively established with GaLN ip, BCG+ LPS iv in mice. The levels of ALT and AST in serum were assayed and liver pathological injury were examined respectively. Results: LD₅₀ of AL was 689.8 mg·kg⁻¹ by oral administration, and 95% confidence in mice was (607~788) mg·kg⁻¹. Compared with the model control group, AL can significantly decrease the level of ALT and AST in mice serum of two liver-impairment models and alleviate pathological changes in liver cell. Conclusions: AL has obvious effect for protecting liver.

[Key words] AL; median lethal dose (LD₅₀); liver-impairment

苦豆子 (*Sophora alopecuroides*) 是豆科 (Leguminosae) 槐属多年生草本植物,是传统的维吾尔药材。该植物味苦性寒,具有清热解毒、抗菌消炎、止痛杀虫、平喘止咳等功效。苦豆子的主要化学

成分有生物碱、黄酮类、有机酸、氨基酸、蛋白质和糖类^[1-3]。本文对苦豆子提取物的急性毒性进行测定并初步考察其对实验性肝损伤的影响。

1 材料

1.1 样品 苦豆子提取物(AL)深棕色浸膏,苦豆子种子(本室于2006年秋季采自新疆阿勒泰地区北屯镇)粉碎后经水提、醇沉、大孔树脂纯化等工序制备,收率为5.6%。总生物碱含量为58.48%,总黄酮含量为16.33%,临用前用蒸馏水配制成所需浓度的溶液备用。博尔泰力苦参素胶囊,宁夏博尔泰力药业

[收稿日期] 2008-05-19

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科学研究和技术开发项目“创新药物研究与开发”(20053312003)

[通讯作者] * 杨巧丽, Tel: (0991) 2322783; E-mail: qiaoliyang1006@yahoo.com.cn

股份有限公司,成人每日剂量(0.6~0.9)g,国药准字 H20020044,批号:20030901。

1.2 动物 ICR 小鼠,昆明小鼠,雌雄各半,体重 18~22 g。由新疆医科大学医学实验动物中心提供,动物合格证号:SYXK(新)2003-0001。

1.3 试剂及器材 卡介苗(BCG),中国药品生物制品检定所;脂多糖(LPS),美国 Sigma 产品;D-氨基半乳糖(GaIN, D-半乳糖),重庆医科大学生物医学工程研究室;ALT,AST 试剂盒,南京建成生物技术公司。SABA 全自动生化分析仪,意大利。

2 方法与结果

2.1 急性毒性测定

2.1.1 预试 取昆明种小鼠 30 只,按体重、性别随机分为 5 组,每组 6 只。选择组距较大的一系列剂量,按组 ig 样品溶液,观察出现的症状并记录死亡数,找出样品引起动物 0% (Dn) 和 100% (Dm) 死亡的剂量。

2.1.2 LD₅₀的测定^[45] 取昆明小鼠 60 只,按体重、性别随机分为 6 组,每组 10 只。根据预试验结果,苦豆子提取物最高剂量组定为 1 054 mg·kg⁻¹,最低剂量组定为 346 mg·kg⁻¹,组间剂量比为 0.80。将样品用蒸馏水配制成所需浓度的混悬液,以 20 mL·kg⁻¹体重给小鼠 ig 1 次。灌胃前禁食 12 h,给药后即观察动物反应情况。统计 14 d 内各组动物死亡数并算出死亡率,用改进寇氏法进行统计学处理,计算其 LD₅₀及其 95%的可信限。结果见表 1。

表 1 苦豆子提取物各组小鼠用药、死亡情况及有关计算(n=10)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	lgd(x)	死亡数 (n)	死亡率 (p)	p ²
1	346	2.539	0	0	0
2	432	2.635	1	0.1	0.01
3	540	2.732	2	0.2	0.04
4	675	2.829	5	0.5	0.25
5	844	2.926	7	0.7	0.49
6	1 054	3.023	9	0.9	0.81

注:ΣP=2.4 ΣP²=1.6

由表 1 可知, $x_m = 3.023$, $i = \lg d_4 - \lg d_3 = \lg d_3 - \lg d_2 = 0.097$, 代入有关公式计算 $LD_{50} = 689.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, LD_{50} 的 95% 可信限为 607~788 mg·kg⁻¹。 x_m : 最大剂量组剂量的对数值, i : 相邻两组剂量对数值之差。

2.2 对 D-氨基半乳糖(GaIN)致小鼠急性肝损伤的影响^[67] 取 ICR 小鼠 60 只,随机分为 6 组,空白对照组,模型组,阳性药苦参素胶囊(103 mg·kg⁻¹), AL 小,中,大剂量组(2.5, 5, 10 mg·kg⁻¹), ig, 1 次/d,连续 7 d,空白组与模型组 ig 等量蒸馏水。除空白组外于给药第 6 d,均 ip 10% GaIN 无菌生理盐水溶液, GaIN 的剂量为 0.8 g·kg⁻¹,于第 7 天给药后 2 h,各组小鼠摘眼球取血,测定血清 ALT,AST 水平,并取肝脏作组织病理学检查,数据采用 Spss11.0 进行统计学处理,结果见表 2。

表 2 AL 对氨基半乳糖致小鼠急性肝损伤的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	ALT (U·L ⁻¹)	AST (U·L ⁻¹)
空白对照组	—	36.8 ± 9.5 ²⁾	147.3 ± 16.5 ²⁾
模型组	—	102.7 ± 24.3	273.0 ± 70.3
苦参素胶囊	103	143.8 ± 29.9 ¹⁾	241.0 ± 62.2
苦豆子提取物	2.5	95.9 ± 37.2	247.3 ± 80.2
	5	77.5 ± 36.1	193.8 ± 71.6 ¹⁾
	10	69.0 ± 28.5 ¹⁾	244.1 ± 37.0

注:与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(下同)

由表 2 可见,模型组小鼠血清 ALT,AST 水平显著提高,说明造模成功。AL 大剂量可明显降低模型小鼠的 ALT 水平,AL 中剂量可明显降低模型小鼠的 AST 水平。AL 的降酶作用优于苦参素胶囊。

2.3 对 BCG 加 LPS 致小鼠免疫性肝损伤的影响

取 ICR 小鼠 60 只,分组及给药剂量同 2.2, ig, 1 次/d,连续 10 d,空白组与模型组 ig 等量蒸馏水。除空白组外,其它各组在首次给药前 1 d 均尾 iv 10 mg·mL⁻¹的 BCG 无菌生理盐水溶液,0.2 mL/只,于给药第 10 天再尾 iv 37.5 μg·mL⁻¹ LPS 无菌生理盐水溶液,0.2 mL/只,12 h 后各组小鼠取血,测定血清 ALT,AST 水平,并取肝脏作组织病理学检查。数据采用 Spss11.0 进行统计学处理,结果见表 3。

由表 3 可见,模型组小鼠,血清 ALT,AST 水平显著提高,说明造模成功。AL 中,大剂量均可显著降低模型小鼠的 ALT,AST 水平。AL 小剂量可显著降低模型小鼠 ALT 水平。阳性药苦参素胶囊也可显著降低模型小鼠 ALT,AST 水平。

2.4 组织病理学检测 处死小鼠取肝脏用 10% 甲醛固定,石蜡包埋切片,HE 染色,光镜下观察 10 个肝小叶的肝细胞损伤程度^[8]。组织病理学观察结果

表 3 苦豆子提取物对 BCG 加 LPS 致小鼠免疫性肝损伤的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	ALT ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	AST ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)
空白对照组	—	34.2 ± 8.8 ²⁾	163 ± 20.9 ²⁾
模型组	—	402.0 ± 170.4	590.2 ± 106.2
苦参素胶囊	103	172.3 ± 112.0 ²⁾	350.1 ± 178.6 ²⁾
苦豆子提取物	2.5	161.0 ± 58.4 ²⁾	578.1 ± 133.4
	5	140.8 ± 50.5 ²⁾	378.3 ± 72.6 ²⁾
	10	146.1 ± 62.6 ²⁾	359.5 ± 50.0 ²⁾

表明: 正常对照组肝组织结构正常, 肝细胞未见浊肿、变性及坏死等形态学改变, 汇管区也无急慢性炎细胞浸润。两种实验性肝损伤模型组表现为程度、范围不一的肝细胞损伤, 如肝组织中可见肝细胞广泛肿胀, 部分肝细胞脂肪变性, 少量肝细胞气球样变。较多的肝细胞片状坏死, 严重处呈桥状坏死的改变, 坏死区可见较多的急慢性炎细胞浸润。3 个剂量的 AL 给药组肝损伤程度和范围均有所改善。

3 小结

本实验研究得出苦豆子提取物 ig 给药 1 次对小鼠的 LD₅₀ 689.8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 95% 的可信限为 (607~788) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 苦豆子提取物以 2.5, 5, 10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3 个剂量(约为其 LD₅₀ 的 1/280, 1/140, 1/70) 灌胃给药

可明显降低两种肝损伤小鼠血清中 ALT, AST 水平, 并改善肝细胞炎性浸润及坏死, AL 在预防化学性肝损伤和免疫性肝损伤方面均有一定的作用。其作用机理还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 杨家新, 喻志芳. 苦豆子的研究进展[J]. 天津药学, 1998, 1(1): 43-46.
- [2] 牟新利, 王武宝, 廖立新, 等. 中药苦豆子化学成分及生理活性的研究进展[J]. 新疆师范大学学报, 2005, (24): 45-50.
- [3] 李爱华, 孙兆军. 苦豆子资源开发现状及前景初探[J]. 宁夏大学学报(自然科学版), 2000, (21): 354-357.
- [4] 祝清芬, 候传香. 替莫唑胺的小鼠急性毒性试验[J]. 药品评价, 2005, 2(3): 194-195.
- [5] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 112-119.
- [6] 黄华, 哈木拉提, 杨丽丽, 等. 苦豆子生物碱保肝降酶和免疫调节作用研究[J]. 中药药理与临床 2005; 21(2): 16-19.
- [7] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 1346-1349.
- [8] 严尚学, 黄德武, 陈凤芹, 等. 龙胆泻肝颗粒的保肝利胆作用研究[J]. 安徽医科大学学报, 2005, 40(4): 327-329.