技术与方法 文章编号：0253-3626（2011）04-0447-03

肉桂酸锗毒性研究初探

张 燕[1]，邢德刚[2]

（1. 广州医学院荔湾医院病理科，广州 510170；2. 广东药学院基础医学院生理学教研室，广州 510006）

【摘 要】目的：本实验对肉桂酸锗的毒副作用进行了初步探讨。方法：采用急性毒性试验计算出药物对昆明小鼠的半数致死剂量（Median lethal dose，LD_{50}）和最大耐受量（Maximum tolerance dose，MTD）；通过药理试验连续观察小鼠肢体活动和行为改变等指标，检测血液生化指标和血常规，给药 7 d 后处死小鼠称体重，尸解并取出各脏器，计算脾重指数（Spleen index，SI）和胸腺指数（Thymus index，TI）；经 HE 染色后光镜下观察各个脏器病理形态变化。结果：无法计算出 LD_{50}，说明药物毒性甚小，动物 MTD 可达到 1.2 g/kg 体重；各组血液生化指标和血液常规差异无统计学意义，说明药物无明显肝肾毒性，对血液常规亦无明显影响；各组小鼠体重、SI 和 TI 差异无统计学意义，说明药物对小鼠免疫功能短期内没有明显影响；给药组与对照组比较，各脏器镜下未见明显药物损伤的病理形态变化。结论：肉桂酸锗治疗剂量在短期内无明显毒副作用，这为进一步的抗肿瘤活性研究提供了实验依据。

【关键词】肉桂酸锗；肝毒性；肾毒性；脾重指数；胸腺指数

【中国图书分类法分类号】R979.1 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-10-20

The study of the toxic effects of cinnamon acid germanium

ZHANG Yan, et al

(*Department of Pathology, Liwan Hospital of Guangzhou Medical College*)

【Abstract】*Objective*: To study the toxic effects of cinnamon acid germanium in the experiment. *Methods*: Acute toxicity tests were adopted to calculate the median lethal dose and the maximum tolerated dose of the drugs; and to check mice's biochemical indicators. The various organs were drawn out after mice were killed by pharmacological test, and the spleen and thymus weight indexes were calculated; The organs' pathological changes were observed under ordinary microscope after HE staining. *Results*: LD_{50} could not be calculated, which showed cinnamon acid germanium had little toxicity. The maximum tolerated dose of mice could reached 1.2 g/kg weight. Mice's biochemical indicators had no statistical significance. The spleen and thymus weight indexes in treated group have no statistical significance, This indicated the drugs' immune influence in mice had no significant effect in the short term. Compared with normal saline group and cyclopho-sphamide group, the organs in treated group showed no obvious pathological changes under ordinary microscope. *Conclusion*: The experiment shows that cinnamon acid germanium compounds have no apparent toxic effects. This can provide some experimental evidence for further anti-tumor activity researches and applications.

【Key words】cinnamon acid germanium; hepatotoxicity; renal toxicity; spleen index; thymus index

本实验以锗氯仿和从天然植物肉桂中提取的肉桂酸为原料，合成肉桂酸锗，前期抗肿瘤活性实验已初步证明该类化合物具有良好的抗肿瘤活性[1]，在此基础上，对其治疗剂量的毒副作用进行探讨。

1 材料与方法

1.1 实验对象

动物品系：近交系昆明小鼠，4 周龄，体重（22 ± 1）g，由江西省实验动物中心提供，常规饲养，自由饮水、摄食；受试药物：肉桂酸锗，由化学实验中心合成，以双蒸水配成水溶液，浓度为 6 mg/ml；仪器：OLYMPUS BX-41 型光学显微镜、自动脱水机、石蜡包埋机、AO 石蜡切片机、摊片机、多头显微镜、动物实验的设备等。

1.2 方法

1.2.1 急性毒性试验 采用半数致死剂量（Median lethal dose，LD_{50}）测定法分 2 批（预试验和正式实验）初摸药物毒性，LD_{50} 测定的剂量设置为药物的最高浓度（即 6 mg/ml），给药容积为 0.2 ml/只。健康昆明小鼠 40 只，雌雄各半，采用口服灌胃和腹腔注射 2 种给药途径。给药后观察 7~14 d，观察期间逐日详细记录小鼠的毒性反应情况（外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、摄食、饮水、大小便性状及体重等指标）和死亡动物的分布，及时尸检死亡动物并记录病变情况，若有肉眼可见

作者介绍：张 燕（1978-），女，主治医师，硕士，研究方向：肿瘤病理。

基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：30460148）；江西省教育厅科技资助项目[编号：赣教技字（2007）252 号]；广州医学院自然科学青年类科研资助项目（编号：2008A10）。

病变组织时，需进行该组织的病理形态学检查。用孙氏综合法（改良寇氏法）计算 LD_{50}[2,3]。给药后观察 2 周，没有出现动物死亡，无法计算 LD_{50}，说明药物毒性甚小，改用最大耐受量（Maximum tolerance dose，MTD）测定法（安全限度试验）[4]。推算 MTD 的计算方法为：如以最大浓度、最大体积给药都不造成动物死亡，以此量为 MTD。

1.2.2 药理试验 小鼠称体重后随机分成 5 组，每组 10 只：生理盐水组[NS，0.9 mg/10（g·d）]、肉桂酸锗高、中、低 3 个剂量组[RGSZ，0.36、0.72、1.44 mg/10（g·d）]、环磷酰胺组[CTX，1.2 mg/10（g·d）]。其中生理盐水组作空白对照，环磷酰胺组作阳性对照。各组小鼠予口服灌胃给药，每日 1 次，每只 0.2 ml，连续给药 7 d。7 d 后抽取小白鼠血液后经颈椎脱臼处死并称体重，取出胸腺、脾、肝、心、肺及肾，各脏器称重后，用 10%福尔马林液固定。实验重复 3 次。

1.2.3 检测指标

1.2.3.1 检测小鼠血液生化指标及肝肾毒性 天门冬氨酸氨基转换酶（AST）、丙氨酸氨基转换酶（ALT）、AST/ALT、碱性磷酸酶（ALP）、尿素氮（BUN）、总蛋白（TP）、白蛋白（Alb）、血糖（GLU）、总胆红素（T-BIL）、总胆固醇（T-CHO）、尿素（Ur）、肌酐（Cr）、Ur/Cr。

1.2.3.2 检测对小鼠血常规及相关生理常数的影响 白细胞总数、红细胞、血红蛋白、血小板。

1.2.3.3 计算各组脾重指数（Spleen index，SI）和胸腺指数（Thymus index，TI）[5,6] 测定带瘤小鼠 SI：SI= 脾脏重量（mg）/体重（g），结果以 mg/g 体重表示；测定带瘤小鼠 TI：TI = 胸腺重量（mg）/体重（g），结果以 mg/g 体重表示。

1.2.4 统计学处理 所有数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用 SPSS10.0 软件行 t 检验统计分析，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

1.2.5 普通染色 作常规组织脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色，光镜下观察各脏器病理形态变化，是否伴炎细胞浸润，是否出现细胞肿胀变性、坏死等。

2 结 果

2.1 急性毒性试验

给药 7 d 后详细记录小鼠行为活动、呼吸、摄食、饮水、大小便性状及体重、死亡和尸体解剖等客观指标均未发现明显中毒症状。处死小鼠并解剖取材，肉眼观察各脏器表面及重量、质地、颜色均无明显变化。结果显示小鼠灌胃给药 MTD 可达 1.2 g/kg 体重。

2.2 肝肾毒性

测定各组血液生化指标（AST、ALT、AST/ALT、ALP、TP、Alb、BUN、GLU、T-BIL、T-CHO、Ur、Cr、Ur/Cr）和血液常规指标（白细胞总数、红细胞、血红蛋白、血小板）后，结果表明药物无明显肝肾毒性，对血常规及相关生理常数亦无明显影响。

2.3 对免疫功能的影响

计算各组小鼠体重、SI 和 TI，统计结果显示治疗组小鼠体重、SI 和 TI 均无统计学意义，说明药物对小鼠的免疫功能在短期内没有明显影响。

2.4 普通染色后光镜下观察各组脏器组织有如下病理形态变化

治疗组肝组织结构尚完整，肝小叶存在，中央静脉居中，肝细胞索围绕中央静脉呈放射状分布，肝窦丰富，未见肝细胞萎缩、坏死，仅见小部分区域肝细胞呈轻度变性（浊肿），可能与炎症刺激有关（见图 1）；各组脾脏结构完整，红白髓分界清楚，脾小体数量无减少，髓窦扩张充血，符合轻度脾瘀血的病理改变；胸腺：胸腺小叶结构清楚，淋巴组织丰富，未见明显病理改变；支气管和肺泡结构完整，支气管周无明显炎细胞浸润，毛细血管轻度扩张充血（见图 2）；心肌纤维结构基本正常，未见变性坏死及炎细胞浸润（见图 3）；肾小球和肾小管丰富，肾小管轻度浊肿，未见蛋白及管型，未见明显炎细胞浸润，毛细血管形态无异常（见图 4）。上述结果显示，给药组与生理盐水组（空白对照组）、环磷酰胺组（阳性对照组）相比较，各脏器镜下均未见明显病理形态改变。

3 讨 论

肉桂酸是从天然植物肉桂中提取的化学物质，属芳香族脂肪酸，是苯丙氨酸在植物组织内脱氨基的产物，在抗癌作用方面其具有潜在的应用价值。锗是近些年才为人们所注意的抗癌新星，大量动物实验和临床研究证实，有机锗化合物具有广泛预防和治疗肿瘤的作用。

肉桂酸锗是以锗氯仿与肉桂酸为原料，合成的一类新的有机锗化合物，本课题前期研究已证实对荷瘤小鼠具有良好的抗肿瘤活性，并通过反复实验摸索出治疗剂量。本文对肉桂酸锗治疗剂量的毒副作用进行了初步探讨，结果表明在短期内对小鼠没有明显的毒副作用，这为进一步的抗肿瘤活性

表 1 各组小鼠 SI 和 TI（$\bar{x} \pm s$）

组别	小鼠数量	第 1 批		第 2 批		第 3 批	
		SI（%）	TI（%）	SI（%）	TI（%）	SI（%）	TI（%）
NS	10	4.25 ± 0.94	2.98 ± 0.60	7.64 ± 0.54	3.25 ± 0.18	5.72 ± 0.77	2.51 ± 0.11
RGSZ6	10	7.06 ± 0.75	3.67 ± 0.09	7.98 ± 1.18	3.72 ± 0.50	4.91 ± 0.16	3.64 ± 0.21
RGSZ3	10	5.79 ± 0.36	3.47 ± 0.77	8.38 ± 0.39	3.87 ± 0.31	5.16 ± 0.55	4.26 ± 0.08
RGSZ1.5	10	5.54 ± 0.86	3.27 ± 0.86	8.57 ± 0.95	4.87 ± 0.27	6.54 ± 1.01	2.85 ± 0.75
CTX	10	4.71 ± 0.22	2.54 ± 0.16	4.33 ± 0.03	2.24 ± 0.15	8.57 ± 0.95	4.87 ± 0.27

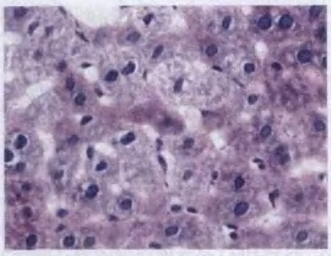


图 1 给药组部分肝细胞轻度变性（HE 染色，40×10）

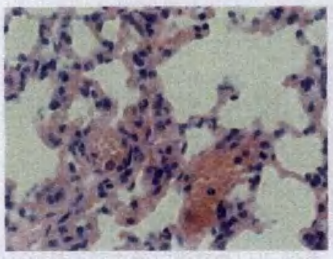


图 2 给药组肺毛细血管扩张充血（HE 染色，40×10）

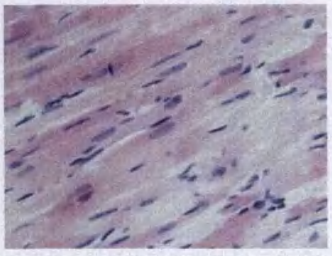


图 3 给药组部分心肌纤维轻度变性（HE 染色，40×10）

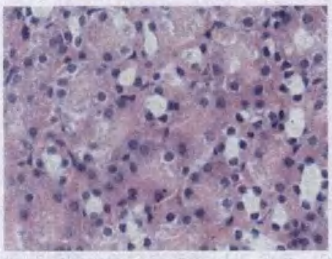


图 4 给药组肾小管轻度变性（HE 染色，40×10）

机制研究及其开发应用提供了一定依据。

参 考 文 献

[1] 陈晓东，万益群，黄芳华，等.抗癌药物肉桂酸锗氮桥环化合物的制备与分析.分析化学的成就与挑战[M].重庆：西南师范大学出版社，2000.131.

[2] 冯少华，张春红，廖惠芳.苦参颗粒与苦参煎剂药效及毒性的对比性研究[J].中华中医药学刊，2007，25（08）：1602-1603.

[3] 李 华，聂芳红，陈进东，等.千里光抗菌有效部位化学成分及其急性毒性研究[J].中国兽医医药杂志，2008，29（1）：30-32.

[4] 甘露双，孙 磊，王 多，等.人参细粉与超微颗粒的急性毒性实验－半数致死量（LD_{50}）与最大耐受量（MTD）的测定[J].海南医学院学报，2009，15（1）：20-21.

[5] 梁 锐，李俊莲，李艳彦，等.军蛭煎剂对小鼠胸腺、脾脏重量指数及组织结构影响的实验研究[J].山西中医学院学报，2008，9（6）：17-18.

[6] 黄海平，刘翠华.黄芪对小鼠免疫功能作用的实验研究[J].内蒙古中医药，2008，27（6）：44.

（责任编辑：冉明会）

文后参考文献条目的编排格式及示例

a.专著、论文集、学位论文、报告

[序号]主要责任者.文献题名[文献类型标识].出版地：出版者，出版年.起止页码（任选）.

[1]刘国钧，陈绍业，王凤翥.图书馆目录[M].北京：高等教育出版社，1957.15-18.

[2]辛希孟.信息技术与信息服务国际研讨会论文集：A 集[C].北京：中国社会科学出版社，1994.

[3]张筑生.微分半动力系统的不变集[D].北京：北京大学数学系数学研究所，1983.

[4]冯西桥.板反应堆压力管道与压力容器的 LBB 分析[R].北京：清华大学核能技术设计研究院，1997.

b.期刊文章

[序号]主要责任者.文献题名[J].刊名，年，卷（期）：起止页码.

[5]何龄修.读顾城《南明史》[J].中国史研究，1998，（3）：167-173.

c.论文集中的析出文献

[序号]析出文献主要责任者.析出文献题名[A].原文献主要责任者（任选）.原文献题名[C].出版地：出版者，出版年.析出文献起止页码.

[6]钟文发.非线性规划在可燃毒物配置中的应用[A].赵玮.运筹学的理论与应用——中国运筹学会第五届大会论文集[C].西安：西安电子科技大学出版社，1996.468-471.

d.报纸文献

[序号]主要责任者.文献题名[N].报纸名，出版日期（版次）.

[7]谢希德.创造学习的新思路[N].人民日报，1998-12-25（10）.

e.国际、国家标准

[8]GB/T 16159-1996，汉语拼音正词法基本规则.

f.专利

[9] 姜锡洲. 一种温热外敷药制备方案 [P]. 中国专利：881056073，1989-07-26.

g.电子文献

[序号]主要责任者.电子文献题名[电子文献及载体类型标识].电子文献的出处或可获得地址，发表或更新日期/引用日期（任选）.

[11]王明亮.关于中国学术期刊标准化数据库系统工程的进展[EB/OL].http://www.cajcd.edu.cn/pub/wml.txt/980810-2.html，1998-08-16/1998-10-04.

[12]万锦堃.中国大学学报论文文摘（1983-1993）.英文版[DB/CD].北京：中国大百科全书出版社，1996.

h.各种未定义类型的文献

[序号]主要责任者.文献题名[Z].出版地：出版者，出版年.

本刊编辑部