基础研究 文章编号:0253-3626(2009)10-1374-04

青蒿水提物对家兔泌尿系统和消化系统的影响

张会军,王莎莉
(重庆医科大学基础医学院生理教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察青蒿水提物对家兔泌尿系统和消化系统的毒理作用。方法:选取 32 只健康新西兰大白兔,随机分为 4 组:生理盐水组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,分别从耳缘静脉注入 10 mg/kg 的生理盐水、10、100 mg/kg 和 500 mg/kg 的青蒿水提物,连续用药 12 d,(1)比较各组用药后的肝肾功能主要生化指标的变化;(2)观察各组在体十二指肠和结肠与离体小肠平滑肌的功能和组织学表现。结果:(1)各实验组用药后,除高剂量组丙氨酸氨基转移酶(Alanine transaminase,ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(Aspartate transaminase,AST)值有些偏高外,其余各组 ALT、AST、T-BiL,BUN 和 Cr 值未出现统计学意义的改变($P>0.05$)。(2)低、中剂量组十二指肠、结肠和小肠平滑肌功能运动未见明显变化,高剂量组使其运动的幅度、收缩频率和张力有一定程度的增加,但组织学均未见异常改变。结论:青蒿水提物对家兔消化、泌尿系统无明显的不良影响;在较高剂量时对肠功能运动有一定的促进作用。

【关键词】青蒿水提物;兔;泌尿系统;消化系统
【中国图书分类法分类号】R285 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-3-18

Effect of artemisinin extract on the urinary and digestive system in rabbits

ZHANG Hui-jun, et al
(*Department of Physiology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the effect of artemisinin extract on the urinary and digestive system in rabbits. *Methods*: 32 healthy New Zealand white rabbits were randomly divided into four groups: normal saline group, low dose group, the dose and high-dose groups, 10 mg/kg of normal saline, 10, 100 and 500 mg/kg artemisinin extract were injected into ear vein in rabbits with continuous medication for 12 days. Major changes of biochemical indicators of the liver and kidney were observed each group. The smooth muscle function and histology performance of duodenum and colon and small intestine were observed in each group in vitro. *Results*: (1) After treatment, in addition to high-dose group with some high value of ALT and AST, no statistically significant changes of ALT, AST, T-BiL, BUN and Cr values were found in the remaining experimental groups ($P>0.05$). (2)The augment, construction and tension of the duodenum, small intestine and colon smooth muscle movement were increased to the extent in the high dose group and nothing was found in other groups. *Conclusion*: No obvious adverse effects of artemisinin extract were found on the urinary and digestion system in rabbits and the movement of gastrointestinal function was promoted in the higher dose.

【Key words】Artemisinin; Rabbits; Urinary system; Digestive system

近年研究发现,青蒿素及其衍生物不仅具有非常好的抗疟疾作用,而且还有非常明显的抗肿瘤作用[1~3],是当前科研工作者的研究热点与重点,对中药未来的发展具有很好的指导意义。本实验中所用的青蒿水提物就是青蒿素衍生物的一种,通过实验发现也具有一定的抗肿瘤作用,可能具有比较好的应用前景。因此,本文主要就该药对家兔泌尿系统和消化系统的影响作一初步探讨,为青蒿素类药物的进一步研究与发展提供科学的实验数据和理论指导,为中药尤其是青蒿类药物的毒理学研究提供一定的参考。

作者介绍:张会军(1980~),男,硕士,研究方向:中药药理与毒理。现工作单位:西安市胸科医院外科。
通讯作者:王莎莉,女,教授,E-mail:YPWang@public.cta.cq.cn。
基金项目:重庆市科委攻关项目[编号:渝科发计字(2005)50 号文]。

1 材料与方法

1.1 实验药物与动物

青蒿水提物,由重庆医科大学基础研究所分离、鉴定;新西兰大白兔 32 只(重庆医科大学动物中心提供[动物合格证号:SCXK(渝)2002001]),雌雄不限,体重(2.0±0.5)kg。

1.2 主要仪器与设备

全自动血生化检测仪（重庆市第三人民医院提供，型号：OLYMPUS AH600）；BL-410 生物机能实验系统（成都泰盟科技有限公司）；恒温平滑肌槽（型号：HW-400，成都泰盟科技有限公司）。

1.3 实验方法

1.3.1 泌尿系统实验 选取 32 只健康新西兰大白兔，随机分为 4 组：生理盐水组、低剂量组、中剂量组和高剂量组，分别从耳缘静脉注入 10 mg/kg 的生理盐水、10、100 mg/kg 和 500 mg/kg 的青蒿水提物，连续用药 12 d。各组兔实验第 12 d 分别从家兔的颈外静脉采血，送重庆市第三人民医院检验科检测丙氨酸氨基转移酶（Alanine transaminace，ALT），天门冬氨酸氨基转移酶（Aspartate transaminase，AST），总胆红素（Total bilirubin，T-BiL），血尿素氮（Blood urea nitrogen，BUN）和血清肌酐（Crea，Cr）值。待消化系统实验结束后处死动物，并立即取其肝肾标本常规固定，制作组织学切片观察。

1.3.2 消化系统实验 实验分组同上，在体实验结束后，在取肝肾标本的同时取十二指肠、结肠和小肠平滑肌的标本组织学切片观察。

1.3.2.1 兔在体十二指肠结肠运动实验[4] 20% 乌拉坦（5 ml/kg）静脉麻醉家兔，暴露胃肠，分别在十二指肠与结肠起始部全层缝合一针，线的另一端固定在张力换能器的应变梁上，调节描记装置（调零），待收缩平稳，先记录一段用药前收缩曲线，然后耳缘静脉给药青蒿水提物（剂量分别为 10、100 mg/kg 和 500 mg/kg），连续记录十二指肠和结肠的运动。从记录 10 min 后开始给药，每次给药的间隔时间 60 min。十二指肠和结肠收缩活动的观察指标为：①平均收缩张力的大小（幅度）/单位时间；②收缩活动的频率；③平均基础张力（基线）/单位时间。

1.3.2.2 兔离体平滑肌实验 常规制备长约 2～3 cm 的肠段，将其两端分别用细线结扎，一端固定于通气管的钩上，另一端垂直固定在张力换能器上，适当调节换能器高度。打开 BL-410 生物机能实验系统，记录出稳定的肠自发运动 10 min 后，按照 10、100、500、1 ml/kg 的标准即 10、100、500 mg/ml，根据所加台氏液体积 10 ml，分别计算出青蒿水提物的有效浓度为 1、10 mg/ml 和 50 mg/ml 加入台氏液中，给药后每次记录 3 min；每次记录后，冲洗肠段 3 次，更换台氏液，待自发性节律恢复后再加下一次药。观察指标：离体肠段在 38℃台氏液中的收缩频率、幅度和张力。

1.4 统计方法

实验全部数据采用 SPSS11.5 版统计软件包处理，计量资料用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示；实验各组间均采用 t 检验，以 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 肝肾生化指标检测

各组用药后 ALT，AST，T-BiL，BUN 和 Cr 值差异无统计学意义（$P>0.05$；表 1）。

2.2 形态学观察

2.2.1 大体形态 肝脏的形态正常，质地软，被膜完整，色泽红润，有弹性；肾脏被膜完整，质地较硬，色泽潮红，有弹性，与对照组兔比较，未发现有明显的异常。

2.2.2 组织学观察 各组青蒿水提物未对肝肾组织造成明显的不良影响，高剂量组肝小叶呈多边形或不规则形，相邻肝小叶间结缔组织较少，肝细胞索和门管区未见异常（图 1A）。肾脏中皮质内可见正

表 1 青蒿水提物对家兔肝肾主要生化指标的影响

观察指标	生理盐水组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
ALT(U/L)	34.24 ± 4.50	40.53 ± 5.12	39.57 ± 16.05	48.83 ± 7.91*
AST(U/L)	59.27 ± 19.28	64.57 ± 21.42	52.83 ± 10.91	84.58 ± 16.51*
T-BiL(μ mol/L)	0.36 ± 0.15	0.43 ± 0.14	0.38 ± 0.26	0.60 ± 0.67
BUN(μ mol/L)	5.61 ± 1.29	5.82 ± 1.16	4.84 ± 0.76	4.57 ± 0.59
Cr(μ mol/L)	117.9 ± 20.58	122.1 ± 20.64	115.57 ± 18.88	110.67 ± 6.19

* 表示与生理盐水组比较 $P<0.01$；* 表示与生理盐水组比较 $P<0.05$。

表 2 青蒿水提物对家兔在体肠运动频率的影响（n=8）

组别	剂量(mg/kg)	运动频率（次 /min）			
		用药前	用药后 60 min	用药后 120 min	用药后 180 min
生理盐水组	10	30.00 ± 10.17	30.00 ± 10.17	31.00 ± 9.85	30.50 ± 11.02
低剂量组	10	30.63 ± 6.00	32.43 ± 12.50	31.25 ± 8.7	31.34 ± 10.23
中剂量组	100	30.75 ± 13.14	36.50 ± 15.8	34.56 ± 11.3	33.86 ± 13.12
高剂量组	500	29.50 ± 15.75	39.88 ± 3.52*△	36.82 ± 7.24*△	32.61 ± 14.03△

* 表示与生理盐水组比较差异有统计学意义（$P<0.05$）；△表示与用药前比较差异有统计学意义（$P<0.05$）

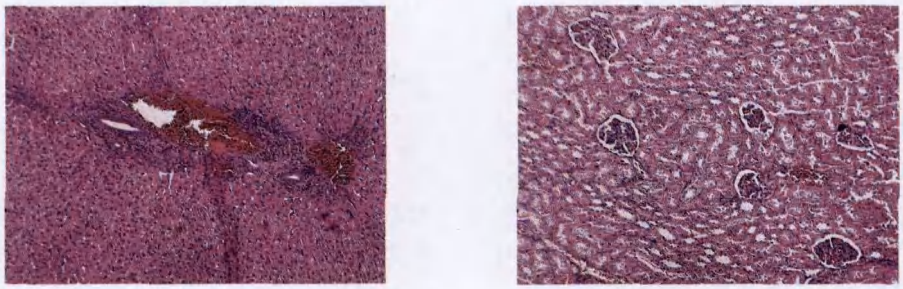
表 3 青蒿水提物对家兔在体肠运动幅度的影响(n=8)

组别	剂量(mg/kg)	运动振幅(mV)			
		用药前	用药后 60 min	用药后 120 min	用药后 180 min
对照组	10	3.81 ± 2.07	3.93 ± 1.63	3.91 ± 1.85	3.84 ± 1.76
低剂量组	10	3.28 ± 1.78	3.66 ± 1.28	3.54 ± 1.47	3.49 ± 1.63
中剂量组	100	3.62 ± 2.20	3.84 ± 1.78	3.98 ± 1.86	3.73 ± 2.17
高剂量组	500	3.11 ± 4.41	9.49 ± 4.27*△	8.14 ± 3.86*△	6.54 ± 4.15*△

*表示高剂量组与其它 3 组比较差异有统计学意义(P<0.05);△表示与用药前比较差异有统计学意义(P<0.05)

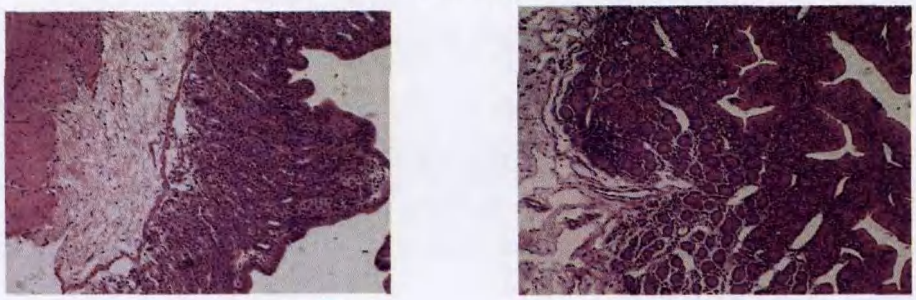
表 4 青蒿水提物对离体平滑肌运动的影响(n=8)

组别	幅度(mV)		频率		张力(mV)	
	用药前	用药后	用药前	用药后	用药前	用药后
对照组	1.06 ± 0.46	1.05 ± 0.88	0.20 ± 0.05	0.20 ± 0.05	0.58 ± 0.19	0.60 ± 0.31
低剂量组	1.07 ± 0.37	1.05 ± 0.27	0.22 ± 0.05	0.23 ± 0.06	0.60 ± 0.24	0.62 ± 0.18
中剂量组	1.21 ± 0.28	1.25 ± 0.35	0.26 ± 0.08	0.37 ± 0.07	0.58 ± 0.21	0.72 ± 0.26
高剂量组	1.17 ± 0.52	1.43 ± 0.76	0.24 ± 0.07	0.35 ± 0.06	0.63 ± 0.18	0.84 ± 0.32



A. 肝脏(HE × 40)　　B. 肾脏(HE × 40)

图 1 高剂量组青蒿水提物 12 d 后肝肾组织学观察



A. 十二指肠(HE × 20)　　B. 结肠(HE × 20)

图 2 青蒿水提物对家兔十二指肠和结肠的影响

常的大小不等、形状不一的小管断面和呈球形的肾小体,髓质内的髓袢和集合小管及其上皮细胞亦未见异常(图 1B)。

2.3 青蒿水提物对家兔十二指肠、结肠运动的影响

2.3.1 在体十二指肠、结肠运动 随青蒿水提物剂量的增加,家兔十二指肠、结肠运动频率和幅度有增加的趋势(表 2~3)。

2.3.2 离体十二指肠、结肠平滑肌实验 青蒿水提物对家兔离体十二指肠、结肠运动无明显影响(表 4)。

2.3.3 青蒿水提物对十二指肠和结肠的组织学影响 肠壁各层结构规则,层次清楚,集合淋巴组织和孤立淋巴滤泡正常,淋巴管内皮细胞正常,因此青蒿水提物未对家兔十二指肠和结肠产生明显的不良影响(图 2)。

3 讨 论

青蒿素及其衍生物是我国科学工作者研究开发的具有自主知识产权的一类抗疟疾新药,由于青蒿素类药具有抗疟疾、抗肿瘤、抗孕、抗纤维化、抗

血吸虫、抗心律失常等广泛的药理作用[6-8]并且有安全、高效、无耐药性等优点，备受国内外学者关注。青蒿水提物是我们从青蒿植物中采用特殊方法提取的一种水溶性的青蒿素衍生物，我们的实验证实，它在体内外具有明显的抗白血病[9]和肺癌作用，这与 Sun WC 等[10]许多作者研究发现的青蒿及其衍生物对鼠白血病细胞株 P38，人类肝癌细胞系 SMMC-7721，人类胃癌细胞株 SGC-7901 有明显的抑制作用的研究结果相似。同时我们也观察了青蒿水提物对机体毒理作用。

本实验通过连续注射 12 d 10、100 mg/kg 和 500 mg/kg 的青蒿水提物，其最大剂量为药理实验高剂量的 50 倍，观察消化系统在体、离体记录小肠、结肠运动及其组织学变化和肝肾主要生化指标：ALT，AST，T-BiL，BUN，Cr 值，来评价青蒿水提物对消化和泌尿系统的毒理作用。

我们研究首次观察到，青蒿水提物在较高剂量时对家兔在体十二指肠、结肠运动频率和幅度有增加的趋势。但青蒿水提物在中、低剂量时和对离体十二指肠、结肠平滑肌实验，其运动频率和幅度却未见明显的异常改变。组织学显示，十二指肠粘膜上的皱折有大量绒毛，绒毛外的柱状上皮细胞和微绒毛结构清楚，整齐规则；结肠的集合淋巴组织、孤立淋巴滤泡及淋巴管内皮细胞均表现正常。因此，本实验证实青蒿水提物在较大剂量时对家兔在体十二指肠、结肠运动有促进小肠、结肠运动的作用，而对离体和组织学结构无影响。

ALT 主要存在于肝细胞液中，当肝细胞受到不同程度损害或有炎症时，肝细胞膜通透性增加，ALT 就会通过肝细胞膜漏出到血液中，所以血 ALT 是反映肝功能的灵敏指标。AST 主要存在线粒体中，只有肝细胞受到严重破坏，线粒体也因之受到损伤，血液中 AST 才会升高。T-BiL 是由血清中来源于衰老红细胞被破坏后产生出来的血红蛋白衍化而成，主要由直接胆红素和间接胆红素构成，用于诊断肝胆疾病。BUN 能反映肾小球的滤过功能；Cr 既能反映肾小球的滤过功能又能反映肾小管的重吸收功能，当肾实质受到不同程度损害时，血中 BUN 和 Cr 就会升高。所以，ALT、AST、T-BiL 和 BUN、Cr 是检测肝肾功能的重要指标[11]。本实验研究显示当青蒿水提物的用药范围在低、中剂量时，兔的 ALT、AST、T-BiL 指标均在正常范围，提示对肝功能无明显损害。但在使用高剂量的青蒿水提物时，ALT 和 AST 值升高，T-BiL 正常范围，提示：在大剂量使用青蒿水提物时，可能对兔肝功能有损害，这与 Batty[12]的研究是相一致的。从组织学观察，无论是低剂量还是高剂量肝小叶均呈多边形或不规则形，排列整齐，肝细胞索和门管区未见异常。同样，在低、中剂量或高剂量的肾脏组织学中，肾实质内有大量的球形肾小体和肾小管、集合管构成，其细胞结构未见明显异常，说明青蒿水提物在实验观察期内的确对肾功能未产生明显的不良反应。

杨耀芳[13]综述了青蒿素及其衍生物的毒理作用，即用多种动物、多种途径给予青蒿素，连续给药 3~7 d，剂量 100~1 600 mg/kg，当剂量为临床用量的 70 倍时，未见犬、猫、大鼠等的肝肾功能有异常变化，这与我们的实验结果一致。因此可以初步认为青蒿水提物可能是一种比较安全的新型药物，值得从药理、毒理等方面深入研究。

参 考 文 献

[1] 邓定安.有抗肿瘤活性的青蒿 B 衍生物[J].药学学报，1992，87(4)：317-320.

[2] Efferth T，Dunstan H，Sauerbrey A，et al. Theanti-malarial artesunate is also active against cancer[J].Int J Oncol，2001，18(4)：767-773.

[3] Singh N P. Lai H. Selective toxicity of dihydroartemisinin and holotransferrin toward human breast cancer cells[J]. Life Science，2001，70(1)：49-56.

[4] 胡还忠.医学机能学实验教材[M].武汉：湖北科学技术出版社，2004，104.

[5] Ma C F，Wang H H，Xin L U，et al.Analysis of Artemisia annua L. volatile oil by comprehensive twodimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry[J]. J Chromatoqr A，2007，1150(1-2)：50-53.

[6] 谢 军，陈卫昌. 青蒿素及其衍生物抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国基层医药，2007，14(2)：320-321.

[7] 钱海洪，胡义德. 青蒿素类药物抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志，2006，13(11)：867-869.

[8] 曹培国，王肇炎. 青蒿素及其衍生物的抗肿瘤作用[J]. 肿瘤防治杂志，2006，11(6)：666-668.

[9] 周生伟，王莎莉，王亚平.青蒿酸对人红白血病 K562 细胞增殖抑制的体外研究[J].重庆医科大学学报，2006，31(2)：159-162.

[10] Sun W C，Han J X，Yang W Y，et al.Antitumor activities of 4 derivatives of artemisic acid and artemisinin B in vitro[J]. Zhongguo Yao Li Xue Bao，1992，13(6)：541-543.

[11] 陈文彬.诊断学[M].北京：人民卫生出版社，2002.404.

[12] Batty K T，Le A T，Ilett K F，et al.A pharmacokinetic and pharmaco dynamic study of Artesunate for vivax malaria[J]. Am J Trop Med Hyg，1998，59(5)：823-827.

[13] 杨耀芳.青蒿素及其衍生物的药理作用和临床应用[J].中国临床药学杂志，2003，12(4)：253-257.

（责任编辑：关蕴良）