DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.17.012
第25卷第17期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 17
1524 2003年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)17-1524-03

昆明山海棠水提液的急性毒性研究

杨录军,余厚勇,黄 萍,袁 健,曹 佳 (第三军医大学预防医学系卫生毒理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 探明昆明山海棠的急性毒性及半数致死剂量(LD_{50}),为临床的安全使用提供依据和资料。方法 THH水提液多剂量小鼠口服,观察小鼠的死亡率和脏器的感官病理改变。结果 雄性的LD_{50}(95%可信限)为79 g/kg(69~89 g/kg),雌性的LD_{50}(95%可信限)为100 g/kg(90~112 g/kg);肉眼未见脏器明显的病理改变。结论 按化学物质的急性毒性分级标准,THH水提液属中等毒级别,临床使用比较安全,具有广阔的应用发展前景。

关键词:昆明山海棠;急性毒性;LD_{50}
中图法分类号:R282.71;R284 文献标识码:A

Study on the acute toxicity of Tripterygium Hypoglaucum (Levl) Hutch solution in mice

YANG Lu-jun, YU Hou-yong, HUANG Ping, YUAN Jian, CAO Jia (Department of Hygiene Toxicology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the acute toxicity and LD_{50} of Tripterygium Hypoglaucum (Levl) Hutch (THH) solution to provide information for safe clinical application. Methods After oral administration of THH solution in mice, the mortality and the physiological and pathological changes were observed. Results The LD_{50} (95% confidence limit) of THH in male and female mice was 79 g/kg (69~89 g/kg) and 100 g/kg (90~112 g/kg), respectively. No marked pathological change of the organs was found. Conclusion According to the standard of grading of acute toxicity, THH solution belongs to the moderate class. Therefore, it is safe in clinical practice and has a wide application.

Key words: Tripterygium Hypoglaucum (Levl) Hutch; acute toxicity; LD_{50}

昆明山海棠[Tripterygium Hypoglaucum (Level) Hutch,简称THH]为卫矛科雷公藤属植物,主要产于我国西南地区,临床上主要用于风湿性关节炎、类风湿性关节炎、红斑狼疮等疾病的治疗[1]。近年来研究发现昆明山海棠具有抗生育作用、诱导染色体畸变、诱导细胞凋亡等作用[2~5]。THH属于有毒中药,中医认为"有大毒",尽管其毒性较雷公藤小,但在临床上应用也局限,其急性毒性资料较少;为了较全面地评价THH的急性毒性,为临床的安全使用提供依据和资料,我室对THH进行了研究。

基金项目:德国联邦教育科学研究技术部(BMBF)基金资助项目;国家自然科学基金资助项目(C30100241);第三军医大学中青年科研基金资助项目(2000-2001)
作者简介:杨录军(1967-),男,河南省辉县人,博士研究生,主要从事遗传毒理学方面的研究,发表论文20余篇。电话:(023)68752295
通信作者:曹 佳,电话:(023)68752271;E-mail:caojia@mail.tmmu.com.cn
收稿日期:2003-05-13;修回日期:2003-07-10

1 材料与方法

1.1 THH和其水提液的制备

去皮THH根茎,购自云南鸿翔中草药有限公司,批号200006。THH 533 g加蒸馏水10.7 L浸泡1 d,文火熬至400 ml,4层医用纱布过滤,文火浓缩至140 ml,终浓度3.80 g/ml(合生药)。然后100 ℃、30 min灭菌。4 ℃保存。溶液静置保存后有沉淀形成,实验前混匀。

1.2 THH水提液的0.22 μm过滤液的制备

按1.1步骤制备的THH水提液,纱布过滤后(不经浓缩),再依次经普通滤纸、0.8 μm滤膜、0.22 μm滤膜过滤,得清亮液体,其浓度为0.77 g/ml(生药质量/所得液体体积)。

1.3 实验动物

昆明种小鼠110只,体质量18~22 g,由第三军医大学实验动物中心提供。合格证书号:医动质第24501048号。实验期间动物自由摄食和饮水。

1.4 给药途径和方法

经胃肠道途径,按常规方法进行。方法为:给药前,小鼠禁

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

食过夜, 于第 2 天上午灌胃给药; THH 水提液为单次给药方式, THH 水提液的过滤液采取 1 次/d、共 5 次方式给药, 空白对照组以蒸馏水代替。给药体积按 50 ml/kg。给药结束后连续观察 14 d, 并记录小鼠毒性反应和死亡情况; 解剖死亡小鼠, 大体观察脏器的病理变化。

2　结果

2.1　LD_{50} 及 95%可信限

结果显示, 不同剂量 THH 水提液灌胃后各组动物主要表现为: 棕色便腹泻、被毛蓬松无光、活动减少等, 多在 8 h 后发生; 随着剂量增加, 症状加重; 死亡的动物多有这些症状。动物死亡的时间多在灌胃后 1 ~ 8 d, 动物随着摄入剂量的增加, 死亡率越高, 动物死亡时间越短, 高剂量组的动物死亡时间多在 1 ~ 3 d。采用改良寇氏法计算雄性、雌性小鼠的 LD_{50} 及 95% 可信限分别为 78 g/kg (69 ~ 89 g/kg) 和 100 g/kg (90 ~ 112 g/kg)。解剖死亡小鼠及试验终止后存活的小鼠, 均未见明显的脏器有病理改变, 见表 1。

表 1　小鼠灌胃 THH 水提液的急性试验结果

Tab 1　Results of acute testing of THH solution administered orally in mice

Dose (g/kg)	Male			Female		
	n	Death rate(%)	LD_{50} and 95% confidence limit	*n*	Death rate(%)	LD_{50} and 95% confidence limit
0	10	0	—	10	0	—
39	10	0		10	0	
49	10	10		10	0	
61	10	30	78 g/kg	10	10	100 g/kg
77	10	40	(69-	10	20	(90-
96	10	70	89 g/kg)	10	30	112 g/kg)
120	10	90		10	70	
150	10	100		10	100	
LD_{50} and 95% confidence limit in total mice: 89 g/kg (81 ~ 97 g/kg)						

2.2　THH 水提液的 0.22 μm 过滤液的亚急性毒性

动物多次摄入 0.22 μm 过滤液后, 动物未见死亡, 见表 2。解剖死亡小鼠及试验终止后存活的小鼠, 均未见明显的脏器有病理改变。

表 2　小鼠灌胃 THH 水提液的亚急性试验结果

Tab 2　Results of subacute testing of THH solution administered orally in mice

Dose (g/kg)	Taken days(d)	Accumulating dose(g/kg)	Number of mice	Death rate(%)
0	5	0	10	0
25	5	125	10	0
50	5	250	10	0

3　讨论

昆明山海棠与雷公藤同属, 均属有毒中药, 但毒性远小于雷公藤。其药理作用主要有调节免疫功能、抗炎、抗生育等, 在临床上用于治疗类风湿性关节炎、银屑病等疾病。目前学术界对雷公藤的成分、药理和细胞生物学作用机制进行了较深入的研究。然而, 对昆明山海棠的应用和作用机制研究相对较少。近年来, 我室研究发现 THH 及其生物碱能有效诱导肿瘤细胞凋亡[4,5], 这为 THH 应用于临床肿瘤治疗提供了理论基础, 因而有必要进一步了解 THH 的急性毒性作用机制。

本结果显示, 不同性别的动物对 THH 的毒性敏感性不同, 雄性动物对 THH 要更敏感些(分别为 78 g/kg 和 100 g/kg)。THH 的急性毒性研究的报道较少, 舒尚义等[6] 报道 THH 酒浸剂的小鼠 LD_{50} 为 35g/kg, 全致死量为 70 g/kg; 陈梓璋等[7] 报道 THH 提取液的 LD_{50} 为 3.9 ~ 6.2 g/kg 之间, 但未指明 THH 提取液的制取方法, 也未指明是水提液、酒浸剂或其它; 伍小燕等[8] 对桂林产 THH 的多个药材部位——全根、全茎、茎皮和去皮茎芯的水提液(其文中称为水煎剂) LD_{50} 值进行了比较, 发现其 LD_{50} 分别为 47 g/kg、104 g/kg、72 g/kg 和 115 g/kg, 全根的毒性最高。本研究中, 将雄性和雌性合并后小鼠 LD_{50} 为 89 g/kg, 与伍小燕的结果较为接近。但是, 从本研究结果看, 不同性别的小鼠的 LD_{50} 值不同, 应分开计算。本研究结果中, 最大耐受剂量为 39 g/kg, 100%死亡的剂量为 150 g/kg。结果的产生差异的原因可能是: ①制备 THH 水提取液的步骤不同, 特别是"过滤"这一步, 不同"过滤"次数和方法会造成药浓度和成分的差异, 如本研究结果显示 0.22 μm 过滤液毒性较小。②THH 生药的性质可能有部分的差异, 如产地、采集季节差异对毒性的影响。

本实验结果还表明, THH 水提液经进一步过滤后(0.22 μm)其毒性降低, 我们还发现 THH 水提液经4 ℃静置后的上清液的毒性也明显降低(数据未列出), 因此, THH 的毒性成分能形成沉淀或粘附在其它的沉淀颗粒物上。舒尚义等[9] 报道 THH 的主要毒性成分是三环氧化物雷藤素甲。进一步探索 THH 水提液的过滤液中的低毒但有效活性的成分用于临床是一个有前途的方向, 如生物碱成分。

THH 所致的动物死亡时间, 不管是雄性还是雌性, 均随着摄入剂量的降低, 动物存活时间延长, 低于一定剂量则动物不死亡, 说明动物可通过机体的生物转化将 THH 的有毒成分进行逐渐解毒并排出体外。

THH 水提液在临床上使用经验显示其毒性和蓄积性较小。文献报道在临床上上千例患者按每日 20 ~ 30 g 的常量服用, 从未发生毒性反应, 更未发生中毒现象; 有些病人由于病至晚期, 迁延过久, 有服药数年者, 亦未发生不良反应; 少数病人恨病吃药, 有每剂服 50 ~ 100 g 者, 亦未发生中毒现象。因此, THH 水提液等粗制剂不象雷公藤那样有"剧毒", 而是毒性较小, 安全范围大, 对内脏也无损害[8]。文献[7] 报道 THH 提取液的蓄积系数为 8.31, 按蓄积系数分级标准属"蓄积毒性极弱"。

THH 虽有一定毒性, 但毒性属中等毒性, 临床使

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

用安全,并且通过结合现代生物技术可提取其低毒高效的药物成分,具有广阔的发展前景。

参考文献:

[1] 高渌纹. 有毒中药的临床精要[M]. 北京:学苑出版社, 2000 90—92.
[2] 陈梓璋, 胡尧碧, 张全梁, 等. 昆明山海棠提取物对雌雄性大小鼠的抗生育作用[J]. 中草药, 1990, 21(9): 24—26.
[3] 马明福, 蔡 敏, 李练兵, 等. 昆明山海棠诱发人精子与淋巴细胞染色体畸变的比较研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2000, 17(4): 297—298.
[4] 曹 佳, Nusse M. 昆明山海棠诱导 Jurkat 等 3 种细胞株发生细胞凋亡[J]. 科学通报, 1999, 44(11): 1169—1173.
[5] 敖 琳, 曹 佳, 孙华明, 等. 昆明山海棠诱导 HL—60 细胞凋亡的初步研究[J]. 中草药, 2001, 32(4): 913—916.
[6] 舒尚义. 昆明山海棠治疗类风湿性关节炎 600 例临床观察[J]. 中草药通讯, 1978, 12(1): 27—28.
[7] 陈梓璋, 胡尧碧, 温志坚, 等. 昆明山海棠提取液的毒理学实验[J]. 生殖与避孕, 1990, 10(4): 56—57.
[8] 伍小燕, 黄莹娟, 周 鸣. 桂林产昆明山海棠总生物碱、微量元素及 LD_{50} 值的测定[J]. 时珍国药研究, 1996, 7(3): 152—153.
[9] 舒尚义. 昆明山海棠的毒性及毒性成分的研究[J]. 云南中医杂志, 1983, 4(6): 43—44.

(编辑 汪勤俭)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2003)17-1526-02

Graves 病患者心率变异性分析

Analysis of heart rate variation in patients with Graves disease

肖 蓉, 黄和银, 周泽华, 谷明军 (重庆市涪陵中心医院, 重庆 408000)

Graves 病是危害人类健康的常见病,血液中过多的甲状腺激素和儿茶酚协同作用可加强后者在神经、心血管和胃肠道等脏器的兴奋和刺激,此外,甲状腺激素对心肌、肝脏和肠道也有直接刺激作用,但是否可能存在对自主神经的直接损伤作用及其损伤程度怎样值得进一步探讨,而 HRS 的功率谱分析为患者提供了一种安全、简便、灵敏、非侵袭性宜量检测 ANSF 的方法。

Freeman 等[1] 对 ANSF 传统检测方法与心率功率谱分析法进行了对比,指出传统方法对 ANSF 的早期改变不敏感,需受检者主动参与配合,难于标准化;而传统时域测定法虽较方便、简单,但灵敏度及特异性较低,难以反映交感和迷走神经间的平衡关系,因而,全面提取和利用 HRS 的功率谱特征,能对一些疾病具有诊断和预测价值[2],特别是对自主神经系统的定量评价独具特色。

1 研究对象和方法

1.1 研究系统和指标

采用《CAHR-Ⅱ型计算机化心动周期信号混沌分析系统》[2]。功率谱指标含总功率 TFP(0.002 8~0.5 Hz,增高↑或降低↓示 ANSF 障碍)、超低频段功率 PVV(0.002 8~0.04 Hz,↑或↓示交感神经功能亢进或降低)、高频段功率 PHV(0.14~0.5 Hz,↑或↓示迷走神经功能亢进或降低),PVV 与 PHV 之比值 RVH 为平衡参数(↑或↓示 ANSF 不平衡)等。若四个功率谱指标中其中有一个以上的数值异常,则提示心 ANSF 障碍;若一个数值异常,则提示可疑改变;并将交感或迷走神经功能受损定义为轻度 AN,交感和迷走神经功能同时受损定义为重度 AN。

1.2 研究对象

1.2.1 正常对照组 共 30 例,为体检正常者。其中男性 9 例,女性 21 例。

1.2.2 Graves 病组 共 24 例(男 7 例,女 17 例,年龄 27~55 岁),经临床确诊为未完全控制的 Graves 病(FT_3/FT_4 增高,TSH 降低,TSH 受体抗体阳性),病程 1 月至 1 年,未服用β-受体阻滞剂。

1.2.3 正常值参考组 为健康自愿受试者 260 人(男 125 人,女 135 人,年龄 14~70 岁),将 10 岁至 70 岁按每 10 年一个年龄段划分为 6 个年龄段,各年龄段功率谱正常值参考范围采用百分位数法确定,可信区间双侧 95%。

1.3 研究方法

受检者于 8:30~10:30 仰卧位测试,测试前休息 15 min,在安静松弛状态下进行。将受检者的 CM5 导联心电信号经放大器放大后进行采样。采样耗时 8 min。采样结束后自动进行心动周期提取,分离出 512 个心动周期进行功率谱分析,通过人机对话确认无异常干扰后,自动打印输出图形和参数。将每个 Graves 病患者的功率谱分析结果与同年龄段的正常参考值相比较,得出结果判断,进行损害程度评价。

1.4 统计学分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用方差分析。

2 结果

表 1 示 Graves 病患者与对照组功率谱指标数值间的关系,两组数据相比较均具有显著性差异。

在 24 例 Graves 病患者中,功率谱指标均正常的有 3 例,占

(下转 1530 页)

作者简介: 肖 蓉(1963—),女,重庆涪陵市人,主治医师,主要从事内分泌方面的研究,发表论文 10 余篇。电话: (023) 72220740

收稿日期: 2003-03-13; 修回日期: 2003-05-27

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net