

# 羊栖菜多糖提取物急性毒性实验

曹高忠<sup>1</sup>, 楚生辉<sup>2</sup>, 刘敏<sup>2</sup>

(1. 温州医学院附属第一医院药剂科, 325000; 2. 温州医学院药学院, 325035)

**[摘要]** 目的 通过对羊栖菜多糖提取物的小鼠灌胃急性毒性实验研究, 对其安全性作出初步评价。方法 通过预实验, 判断半数致死量( $LD_{50}$ ), 并据此测定  $LD_{50}$  或最大耐受量( $MTD$ )。结果  $MTD$  结果显示小鼠灌服羊栖菜多糖提取物最大耐受量相当于体质量 60 kg 人临床日用量的 1440 倍。结论 羊栖菜多糖提取物急性毒性很小。

**[关键词]** 羊栖菜多糖提取物; 毒性实验, 急性; 半数致死量; 耐受量, 最大

**[中图分类号]** R282.7; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2009)12-1549-02

羊栖菜 [*Sargassum fusiforme* (Harv.) Setch] 属褐藻门马尾藻科, 为多年生大型海藻, 在我国沿海均有生长, 还分布于日本和朝鲜沿海<sup>[1]</sup>。该藻在《本草纲目》草部水草类海草条中记有软坚散结、利水泄热等功效。目前证实, 羊栖菜富含多糖、蛋白质和多种对人体有益的微量元素, 文献报道羊栖菜提取物, 尤其是羊栖菜多糖具有调节机体免疫功能、抗肿瘤、抗氧化、抗凝血、降血脂、降血糖和促进机体生长发育的作用<sup>[1,2]</sup>。为了判断其急性毒性, 为临床的安全用药提供可靠的参数, 笔者做了以下实验, 现报道如下。

## 1 材料

**1.1 药物** 羊栖菜购自温州市洞头县三丰水产食品有限公司, 由温州医学院中药教研室董建勇教授鉴定为马尾藻科植物羊栖菜 [*Sargassum fusiforme* (Harv.) Setch] 的干燥藻体。羊栖菜多糖提取物样品, 由温州医学院药剂实验室提取(提取温度 85℃、浸提时间 2.6 h, 水料比 28:1, 醇析浓度 80%, 采用苯酚-硫酸法<sup>[3]</sup>测定, 总多糖含量为 11.12%)。用纯化水配成最大给药浓度溶液(含羊栖菜多糖 0.40 g·mL<sup>-1</sup>), 用时摇匀, 并根据要求稀释为系列剂量。

**1.2 动物** NIH 小鼠 200 只, 雌雄各半, 体质量 18~22 g, 5~6 周龄, 购自温州医学院实验动物中心, 动物合格证号: 医动字第 023076 号。每笼 5 只, 雌雄分笼饲养, 观察 1 周, 均健康存活。动物受试环境: 温州医学院实验动物中心, 医学实验动物环境二级标准, 饲料、饮水、垫料均符合《实验动物质量控制标准》。

## 2 方法与结果

**2.1 预实验** NIH 种小鼠 40 只, 禁食不禁水 12 h, 分设实验组与对照组。实验组以最大给药浓度(0.40 g·mL<sup>-1</sup>), 最大剂量(0.04 mL·g<sup>-1</sup>) 一次灌胃, 连续观察 7 d, 记录期间小鼠死亡数和一般情况, 若死亡数 ≥ 30%, 则进行半数致死量( $LD_{50}$ ) 的测定, 若不足以引起死亡, 则测定最大耐受量( $MTD$ )<sup>[4]</sup>。对照组灌胃等量饮用水, 余同给药组。

**2.2  $LD_{50}$  的测定** ① NIH 种小鼠 40 只, 禁食不禁水 12 h, 根据性别、体质量随机分成 4 组, 每组 10 只, 选择组距较大的一系列药物剂量, 分别灌服药物, 观察出现的症状并记录死亡数, 找出引起 0% 及 100% 死亡率剂量的所在范围。② 根据 0% 及 100%

死亡率剂量, 确定组间比值。NIH 种小鼠 60 只, 禁食不禁水 12 h, 根据性别、体质量随机分成 5 组, 雌雄各半, 一次性灌胃, 连续观察 7 d, 详细记录动物毒性反应及死亡情况, 计算  $LD_{50}$  的可信区间, 记录中毒症状、中毒发生时间、持续时间、恢复期等; 死亡动物及时进行尸检, 记录病变情况, 若肉眼变化明显应作病理切片检查。

**2.3  $MTD$  的测定** NIH 种小鼠 60 只, 禁食不禁水 12 h, 根据性别、体质量随机分成 3 组, 雌雄各半, 每组 20 只。分设对照组、实验 1 组、实验 2 组。对照组给予同量饮用水; 实验组以最大给药浓度(0.40 g·mL<sup>-1</sup>), 最大剂量(0.04 mL·g<sup>-1</sup>) 灌胃, 其中实验 1 组灌胃每日 2 次, 折合成多糖给药量为 24 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。实验 2 组灌胃每日 3 次, 折合成多糖给药量为 36 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。连续观察 7 d, 详细记录对照组、实验组动物每天反应及体质量变化、摄食量变化和死亡情况。实验结束时, 将全部动物处死, 解剖, 肉眼检查主要脏器组织病变情况, 计算  $MTD$ <sup>[4]</sup>。

**2.4 结果** 在预实验中小鼠无一死亡, 测不出  $LD_{50}$ , 故测定  $MTD$ 。以最大给药浓度、最大给药剂量分别灌胃给药, 实验观察发现, 第 2 次灌胃后部分小鼠出现自主活动减少、静卧不动、闭目、反应迟钝等反应, 第 3 次灌胃后, 部分小鼠出现倦缩及活动减少, 但无竖毛懒动、抽搐、翻倒等异常情况, 1~3 h 后活动如常, 整个过程中没有出现惊厥、抽搐。连续观察 7 d, 小鼠灌胃后在摄食、饮水、大便、尿液及精神、四肢活动和体质量方面, 结果见表 1, 2。可知, 给药组体质量增加比对照组略少( $P > 0.05$ )。3 d 内给药组食量明显减少( $P < 0.05$ ), 5 d 内食量渐趋正常( $P > 0.05$ ), 7 d 后食量恢复正常( $P > 0.05$ )。分析原因, 除满负荷灌胃操作刺激外, 药物本身也会在短时间内影响小鼠食欲。这提示, 羊栖菜多糖提取物对小鼠胃肠道可能有一定的不良影响, 需要在长期毒性实验中做进一步观察。7 d 后处死动物并解剖, 肉眼观察心、肝、脾、肺、肾等主要脏器, 外观未见异常改变。实验表明, 小鼠灌胃羊栖菜多糖  $MTD$  为 36 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 按羊栖菜多糖提取物临床日用量计算(60 kg 成人每次 0.5 g, tid),  $MTD$  相当于 60 kg 人临床日用量的 1440 倍, 说明羊栖菜多糖提取物急性毒性很小。

羊栖菜多糖提取物急性毒性实验小鼠反应情况: 3 组小鼠四肢活动、精神、毛发、饮水、大便、尿液均正常, 无一死亡。

## 3 讨论

急性毒性实验是在 1 d 内单次或多次(2 或 3 次)对动物给

**[收稿日期]** 2009-01-18 **[修回日期]** 2009-07-06

**[作者简介]** 曹高忠(1967-), 男, 浙江瑞安人, 副主任药师, 学士, 主要从事医院药学工作。电话: 0577-81955252, E-mail: wzcgzh@163.com。

表1 羊栖菜多糖提取物急性毒性实验小鼠体质量变化

g,  $\bar{x} \pm s$ 

组别	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup> )	小鼠		实验前	第1天	第3天	第5天	第7天
		性别	只					
实验1组	24	雌	10	20.46 ± 1.36	20.51 ± 1.52 <sup>*1</sup>	21.44 ± 1.46 <sup>*1</sup>	23.83 ± 1.52 <sup>*1</sup>	24.97 ± 1.73 <sup>*1</sup>
		雄	10	21.59 ± 1.58	21.41 ± 1.31 <sup>*1</sup>	22.06 ± 1.35 <sup>*1</sup>	23.29 ± 1.67 <sup>*1</sup>	24.67 ± 1.38 <sup>*1</sup>
实验2组	36	雌	10	21.89 ± 1.16	21.64 ± 1.44 <sup>*1</sup>	22.09 ± 1.72 <sup>*1</sup>	23.54 ± 1.61 <sup>*1</sup>	25.11 ± 1.71 <sup>*1</sup>
		雄	10	21.97 ± 1.37	21.82 ± 1.46 <sup>*1</sup>	22.54 ± 1.29 <sup>*1</sup>	23.98 ± 1.73 <sup>*1</sup>	25.11 ± 1.76 <sup>*1</sup>
对照组	-	雌	10	21.23 ± 1.95	21.56 ± 1.39	22.97 ± 1.56	24.02 ± 1.51	25.64 ± 1.63
		雄	10	20.84 ± 1.32	20.76 ± 1.64	22.54 ± 1.61	24.03 ± 1.48	25.02 ± 1.56

与对照组比较, <sup>\*1</sup>P > 0.05

表2 羊栖菜多糖提取物急性毒性实验小鼠摄食量变化

g,  $\bar{x} \pm s$ 

组别	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup> )	小鼠		实验前	第1天	第3天	第5天	第7天
		性别	只					
实验1组	24	雌	10	3.5 ± 0.6	3.0 ± 0.6 <sup>*1</sup>	3.2 ± 0.6 <sup>*1</sup>	3.5 ± 0.6 <sup>*2</sup>	3.5 ± 0.6 <sup>*2</sup>
		雄	10	3.4 ± 0.4	3.1 ± 0.7 <sup>*1</sup>	3.2 ± 0.4 <sup>*1</sup>	3.6 ± 0.3 <sup>*2</sup>	3.5 ± 0.5 <sup>*2</sup>
实验2组	36	雌	10	3.5 ± 0.7	3.1 ± 0.4 <sup>*1</sup>	3.2 ± 0.5 <sup>*1</sup>	3.5 ± 0.5 <sup>*2</sup>	3.6 ± 0.6 <sup>*2</sup>
		雄	10	3.6 ± 0.4	3.0 ± 0.5 <sup>*1</sup>	3.3 ± 0.5 <sup>*1</sup>	3.6 ± 0.4 <sup>*2</sup>	3.5 ± 0.5 <sup>*2</sup>
对照组	-	雌	10	13.5 ± 0.6	3.5 ± 0.5	3.6 ± 0.4	3.5 ± 0.5	3.6 ± 0.6
		雄	10	3.6 ± 0.5	3.4 ± 0.5	3.5 ± 0.4	3.5 ± 0.4	3.6 ± 0.5

与对照组比较, <sup>\*1</sup>P < 0.05, <sup>\*2</sup>P > 0.05

药后,在7 d内,连续观察动物所产生的毒性反应及死亡情况。急性毒性实验中如受试药物引起动物死亡,应测定药物毒性反应与剂量的关系,通常进行LD<sub>50</sub>测定,当受试药物测不出LD<sub>50</sub>时,可以做1次或1 d内数次给药的最大给药量实验(一般在最大给药浓度时,给予最大剂量,最多给药次数),来考察动物的急性毒性情况。笔者在测不出LD<sub>50</sub>的情况下,为了充分证实羊栖菜多糖提取物的急性毒性,进行了1 d给药2或3次的最大给药量实验,MTD相当于成人临床日用量的1 440倍,结果表明动物完全能耐受,未出现任何毒性反应,表明羊栖菜多糖提取物急性毒性很小。但急性毒性实验仅1次或数次给药,观察时间较短,仅7 d,故还应结合长期毒性实验的毒性表现及多种检查

结果综合分析评价其毒性。

[DOI] 10.3870/yydb.2009.12.008

## [参考文献]

- [1] 李波,许时婴.羊栖菜的研究进展[J].食品研究与开发,2003,24(3):23-25.
- [2] 王勤,宁淮梅,林之川.羊栖菜多糖提取工艺的研究[J].食品工业,2007,12(6):11-12.
- [3] 张喆迩,刘雪莲,许剑锋,等.羊栖菜硫酸多糖的提取工艺与最佳提取条件[J].食品工业科技,2008,29(11):192-193.
- [4] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,1991:156.

《中国医院药学杂志》系中国科协主管、中国药学会主办的综合性医院药学专业性学术核心期刊,该刊为湖北省优秀期刊,2008年中国科协精品科技期刊,主要面向全国医院药学工作者、医务人员和广大药学工作者,主要介绍国内外医院药学创新性成果、药学先进技术、临床合理用药、中西药制剂、药剂科的科学管理与改革、药学基础知识及理论等。

该刊为半月刊,大16开,每期为80页,定价12.00元,全年288.00元。每月15,30号出版,国内邮发代号:38-50,国外代号:M65-38。欢迎广大读者订阅。

该刊现已开通网上在线投稿,欢迎广大作者踊跃投稿(网址: <http://www.zgyyxx.com>)。编辑部地址:武汉市胜利街155号,邮政编码:430014;电话:027-82836596,82809190;传真:027-82836596;E-mail:pharmacy@vip.163.com。

《药学服务与研究》杂志由第二军医大学主管和主办,为中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊,收录于多家国内外大型数据库和文摘类期刊。该刊读者对象为从事医药卫生工作的中高级科研、医疗、教学、管理、生产、营销机构的人员和高等医药院校的师生。该刊为双月刊,双月月末出版。大16开,正文80页,国际标准连续出版物号ISSN1671-2838,国内统一连续出版物号CN31-1877/R,邮发代号4-706,国外发行代号BM3731。2010年每册定价12.00元,全年72.00元,联系地址:上海市长海路168号《药学服务与研究》杂志社,邮编:200433。电话:021-65519829(兼传真),021-81873734;网址: [www.pcarjournal.net.cn](http://www.pcarjournal.net.cn); E-mail: PharmCR@163.com, PharmCR@yahoo.com.cn。