

短篇论著

文章编号:1000-5404(2014)19-2048-03

黔产千里光水提取物和醇提取物的急性毒性研究

饶海¹,秦拴梅²,周镁²,黄秀平²,覃容贵² (550003 贵阳,贵阳市云岩区人民医院中医针灸科¹; 550004 贵阳,贵阳医学院药学院²)

[摘要] 目的 探讨黔产千里光水提取物和乙醇提取物对昆明种小鼠的急性毒性反应。方法 通过灌胃给予昆明种小鼠黔产千里光水提取物和不同浓度乙醇提取物,观察并记录黔产千里光对小鼠的毒性反应。利用 SPSS 17.0 统计软件计算其对小鼠的半数致死量(LD₅₀)。结果 黔产千里光水提取物1次灌胃后 LD₅₀为63.46 g/kg;60%乙醇提取物1次灌胃后 LD₅₀为47.88 g/kg;95%乙醇提取物1次灌胃后 LD₅₀为34.56 g/kg;三者95%置信区间分别为57.12~70.70、42.72~54.04、30.63~38.73 g/kg。结论 黔产千里光的水提取物和不同浓度的乙醇提取物单次灌胃对昆明种小鼠有一定的毒性,水提取物的毒性最小,95%乙醇提取物毒性最大。

[关键词] 黔产千里光;急性毒性;半数致死量;置信区间

[中图分类号] R282.71; R285.5; R991

[文献标志码] A

千里光为菊科植物千里光(*S. scandens* Buch. - Ham.)的干燥地上部分,其性味苦、寒,归肺、肝经,其功能与主治为清热解毒、明目、利湿,用于痈肿疮毒,感冒发热,目赤肿痛,泄泻痢疾,皮肤湿疹^[1]。千里光属植物中普遍含肝毒性成分——吡咯里西啶类生物碱(PAs),国外已有文献^[2]报道服用该属植物引起严重肝损伤甚至大量死亡的临床案例。但我国千里光药材及含千里光中成药品种的临床中毒案例少见报道。贵州是我国千里光的主要产区,为了保证用药的安全性,了解黔产千里光的毒性,本研究对其不同溶剂提取物的急性毒性进行实验研究,旨在为临床和生产中选择合理的千里光药材提取方法提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 动物 昆明种小鼠264只,SPF级,体质量18~22g,雌雄各半,购自长沙市开福区东创实验动物科技服务部,合格证号:SCXK(湘)2012-0012。小鼠饲养条件为室温(20±2)℃,相对湿度40%~70%。每天自然光照,小鼠采用专用饲料喂养,自由采食和饮水。实验前小鼠适应性喂养1周,观察小鼠健康状况,选择健康、营养状况良好的小鼠进行实验。

1.1.2 药材 千里光药材购自贵州同仁堂医药公司,经贵阳医学院药学院药用植物学与生药学教研室龙庆德教授鉴定

为药典收载的千里光正品药材。

1.1.3 仪器 电子分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 黔产千里光水提取物和乙醇提取物的急性毒性^[3]

1.2.1.1 样品制备 取干燥千里光药材,分别用15倍量蒸馏水、60%乙醇、95%乙醇回流提取2次,每次2h,冷却,过滤,合并滤液,浓缩成所需浓度。

1.2.1.2 预实验 探索黔产千里光水提取物和不同浓度乙醇提取物灌胃给药的100%致死剂量(D_m),0%致死剂量(D_n)。取84只健康小鼠,分成3组,每组设置7个剂量,每个剂量组4只,雌雄各半,以1:0.1比例设置7个剂量组,实验前对小鼠逐只称量,每只小鼠灌胃量0.2 mL/10 g,以确定正式实验的剂量范围。根据初步实验结果,确定千里光水提物D_m为95.0 g/kg,D_n为38.0 g/kg;60%乙醇提物D_m为75.0 g/kg,D_n为24.0 g/kg;95%乙醇提物D_m为64.0 g/kg,D_n为21.0 g/kg。

1.2.1.3 正式实验 取180只小鼠,适应性饲养7d后,分为18个剂量组,每个剂量组10只,雌雄各半。参照文献^[3]的方法,受试药物的剂量等比级数为1:0.8进行设置。千里光水提物剂量由高到低分别为95.0、76.0、60.8、48.6、38.9、31.1 g/kg;60%乙醇提物剂量为75.0、60.0、48.0、38.4、30.7、24.6 g/kg;95%乙醇提物剂量分别为64.0、51.2、41.0、33.0、26.2、21.0 g/kg。设置阴性对照组,给予等容积的生理盐水。给药后观察记录动物的反应情况并连续观察2周,记录动物毒性反应表现,出现时间及恢复时间、死亡情况(死亡动物及时尸检),观察腹腔内液体状况和实质性器官的病理变化。

1.3 统 计 学 处 理

采用SPSS 17.0统计软件计算黔产千里光水提物和不同浓度乙醇提物对小鼠的半数致死剂量(LD₅₀)及置信区间。

[基金项目] 贵州省卫生计生厅县级医院临床科研能力建设(gzwxky2011-1-022)

[通信作者] 覃容贵, E-mail:1346812934@qq.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140807.1555.005.html>(2014-08-07)

2 结果

2.1 中毒表现

灌胃给药后,黔产千里光水提物低剂量组(31.1、38.9 g/kg)小鼠出现自主活动减少,精神萎靡,呼吸微弱,身体蜷缩等症状,1 h后小鼠状态、活动恢复正常,未出现死亡现象。剂量增加48.6~95 g/kg,小鼠表现为鼻翼煽动,张口呼吸,呼吸频率加快,剧烈抽搐,大小便失禁等症状,多数小鼠在30 min内死亡(图1);未死亡的小鼠表现为走路蹒跚,之后自主活动减少,约5 h后逐渐恢复正常。

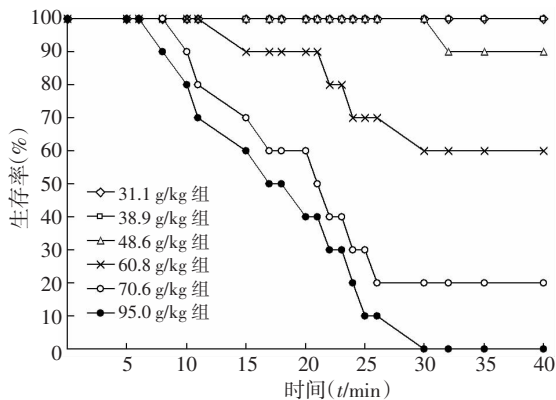


图1 水提取物各剂量组小鼠的生存率曲线

60%乙醇提取物低剂量组(24.6、30.7 g/kg)小鼠出现精神萎靡,自主活动减少,张口呼吸等症状,小鼠在30 min后逐渐恢复正常。剂量增加38.4~75.0 g/kg,小鼠表现为鼻翼煽动,呼吸频率加快,四肢抽搐等症状,多数小鼠在150 min内死亡(图2),未死亡的小鼠多在5 h后慢慢恢复正常。

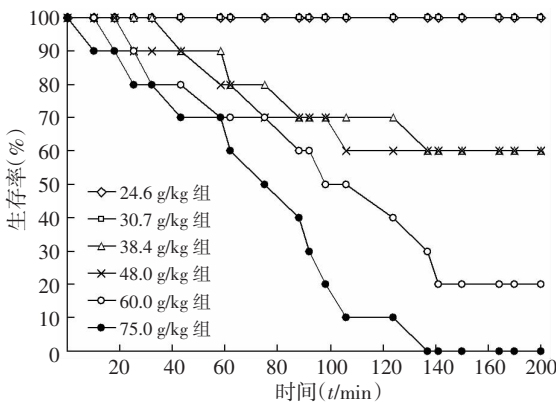


图2 60%乙醇提取物各剂量组小鼠的生存率曲线

95%乙醇提取物低剂量组(21.0 g/kg)小鼠出现自主活动减少症状,小鼠在1 h后逐渐恢复正常,未出现死亡。剂量增加26.2~51.2 g/kg,小鼠表现为张口呼吸,四肢抽搐,腹部痉挛收缩,小便失禁等症状,多数小鼠在1 h内死亡(图3),未死亡的小鼠多在7 h后缓慢恢复状态,但是最高剂量组(64.0 g/kg)小鼠表现为剧烈跳动,全身痉挛,多数小鼠在15 min内死亡。给药24 h后所有存活的小鼠均能自由采食,饮水;自主活动均恢复正常,连续观察2周,未见明显异常表现。实验结束时脱颈椎处死存活小鼠并解剖,肉眼观察小鼠的心、肝、肺、肾等器官,未发现异常变化。

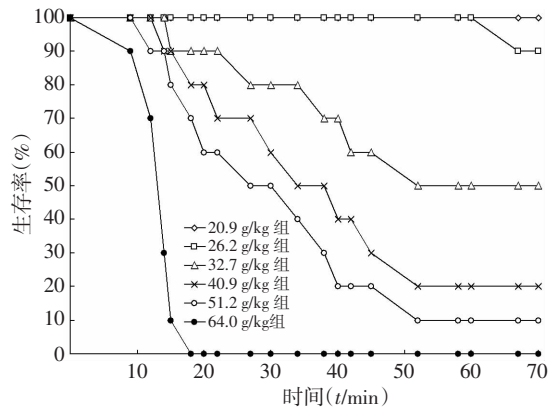


图3 95%乙醇提取物各剂量组小鼠的生存率曲线

2.2 LD₅₀及LD₅₀95%置信区间

通过预实验和正式实验,运用SPSS 17.0统计软件计算LD₅₀及其95%的置信区间,结果见表1。千里光水提取物回归方程 $y(\text{Probit}) = -22.199 + 12.316x$,60%乙醇提取物回归方程 $y = -16.540 + 9.842x$,95%乙醇提取物回归方程 $y = -22.199 + 12.316x$ 。根据LD₅₀,判断千里光提取物的毒性强弱顺序如下:95%乙醇提取物 > 60%乙醇提取物 > 水提取物。

表1 黔产千里光水提取物和乙醇提取物对小鼠的急性毒性(n=10)

药物	死亡数(只)	LD ₅₀ (g/kg)	95%置信区间(g/kg)
水提取物	95.0 g/kg 组	10	63.46
	76.0 g/kg 组	8	57.12 ~ 70.70
	60.8 g/kg 组	4	
	48.6 g/kg 组	1	
	38.9 g/kg 组	0	
	31.1 g/kg 组	0	
60%乙醇提取物	75.0 g/kg 组	10	47.88
	60.0 g/kg 组	8	42.72 ~ 54.04
	48.0 g/kg 组	4	
	38.4 g/kg 组	4	
	30.7 g/kg 组	0	
	24.6 g/kg 组	0	
95%乙醇提取物	64.0 g/kg 组	10	34.56
	51.2 g/kg 组	9	30.63 ~ 38.73
	40.9 g/kg 组	8	
	32.7 g/kg 组	5	
	26.2 g/kg 组	1	
	20.9 g/kg 组	0	

3 讨论

本实验通过对黔产千里光不同提取物急性毒性的比较研究,发现黔产千里光不同溶剂提取物均有一定毒性,提取物的毒性强弱顺序如下:95%乙醇提取物 > 60%乙醇提取物 > 水提取物;前期研究结果表明千里光不同提取物中总生物碱含量排序为水提取物 > 95%乙醇提取物 > 60%乙醇提取物^[4]。水提物中总生物碱含量高,毒性却较小,是因为PAs易溶于乙醇,微溶于水^[5],所以千里光水提取物中所含的高毒性的PAs较少,说明传统水煎入药的方法较为安全。95%乙醇提取物毒性大于60%乙醇提取物,是因为PA在高浓度的乙醇中溶出更多,因而毒性更大。药典规定千里光药材的用法为外用适量,煎水熏洗,而以千里光

组方的中成药品种均为口服用药,临床上以千里光组方的中成药品种中内服制剂有19种,已被批准为OTC药物的品种有12种^[2]。已有报道表明千里光单味药材及其复方具有一定毒性,赵雍等^[6]研究表明千里光单味药及其复方千柏鼻炎片均具有胚胎毒性,主要表现为大鼠胎仔骨骼发育异常等。根据本实验结果,建议含千里光的复方内服制剂中千里光以传统水提物入药,不以醇提物入药,可能提高复方制剂的安全性。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2010年版一部[S]. 北京:

- 中国医药科技出版社, 2010; 32.
- [2] 梁爱华, 叶祖光. 千里光属植物的毒性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(2): 93-97.
- [3] 唐大轩, 熊静悦, 梁娅君, 等. 川楝子对大鼠完全急性毒性作用研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(10): 2387-2389.
- [4] 饶海, 周镁, 秦拴梅, 等. 黔产千里光提取物总生物碱的含量测定及抗菌作用研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(14): 6207-6209.
- [5] 吴斌, 吴立军. 千里光属植物的化学成分研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(2): 97-100.
- [6] 赵雍, 梁爱华, 刘婷, 等. 千里光、千柏鼻炎片和总生物碱大鼠胚胎毒性研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(3): 373-377.

(收稿:2014-04-16;修回:2014-05-30)

(编辑 王小寒)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2014)19-2050-04

1例发热伴血小板减少综合征病例报告并误诊分析

董琴晖, 朱健 (317000 浙江台州, 台州医院肿瘤内科)

[关键词] 发热伴血小板减少; 新型布尼亚病毒
[中图分类号] R442.8 [文献标志码] B

1 临床资料

患者, 女性, 46岁, 既往体健。因“发热5d, 腹痛2d”于2014年4月20日入院。患者于入院前5d无明显诱因下出现发热, 伴畏寒, 体温最高39.2℃, 无咳嗽、咳痰, 无胸闷气促。入院前2d出现腹痛, 左下腹为主, 程度一般, 无腹泻、血便, 无恶心、呕吐。4月19日至我院急诊查血常规提示: 查白细胞计数: $1.0 \times 10^9/L$, 红细胞计数: $4.3 \times 10^{12}/L$, 血红蛋白: 127 g/L, 血小板计数: $39 \times 10^9/L$ 。钙: 2.06 mmol/L, 活化部分凝血活酶时间: 63.3 s, 霉菌检查(+), 胸部CT: 未见明显异常。B超示: 肝胆脾胰肾未见明显异常。急诊科予禁食、补液, “头孢他啶、左氧氟沙星”抗感染治疗1d, 症状无明显好转, 转入血液科收住院。入院诊断: (1) 感染性发热; (2) 白细胞、血小板减少待查; 继发性血二系减少? 急性白血病? 骨髓增生异常综合征? (3) 腹痛待查: 急性腹膜炎? 肠功能紊乱? 入院后4月21日予进一步骨髓穿刺术, 同时完善三大常规、血培养、痰培养、肥达氏试验+外斐氏试验、抗核抗体、免疫系列、T细胞亚群、流行性出血热、Torch系列、EB病毒、大便培养及乙肝三系、肝炎系列等检查。治疗上予以亚胺培南西司他汀针(泰能)、氟康唑胶囊抗感染以及解痉止痛等对症治疗。4月22日患者出现口鼻活动性出血, 骨髓报告示: 骨髓有核细胞减少, 有组织细胞12%, 有噬血现象。血常规提示: 白细胞计数: $1.0 \times 10^9/L$, 红细胞计数: $3.52 \times 10^{12}/L$, 血红蛋白: 111 g/L, 血小板计数: $18 \times 10^9/L$, 生化系列示: 丙氨酸氨基转移酶: 179 U/L, 天门冬氨酸氨基转移酶: 533 U/L, 钙: 1.88 mmol/L, 余项未见明显异常。

血气分析示: 氧分压: 58 mmHg, 氧饱和度: 89%, 二氧化碳分压: 37 mmHg, pH: 7.43。白细胞分化抗原示: CD34: 31.6%, HLA-DR: 62.8%, CD13: 60.7%, CD33: 60.3%, 单纯疱疹病毒II型抗体IgM阳性。各类病原体检测、抗核抗体系列、免疫系列、肥达氏试验、外斐氏试验均为阴性。肺部CT检查示: 双肺感染。急诊全腹部CT未见明显异常。病情加重, 予转入我院ICU。4月22日追问病史, 家属告知患者起病前1周曾在野外采茶5d左右, 并告知一同伴也有类似“发热、血小板减少”病史, 亦于4月22日送外院诊治, 遂予再次查体发现患者左侧踝部有叮咬痕迹。给予止血、制酸、护肝、禁食、胃肠减压、输注血浆、输注血小板、氧疗等治疗, 同时予加用万古霉素针100万U每12小时1次静滴覆盖阳性菌, 多西环素片0.1g, 2次/d鼻饲兼顾立克次体感染。4月23日复查血常规示: 白细胞计数: $2.8 \times 10^9/L$, 血红蛋白: 98 g/L, 血小板计数: $26 \times 10^9/L$, 凝血功能示: 活化部分凝血活酶时间: 111.4 s, 予以输血小板、血浆, 4月23日8点左右患者出现神志不清, 心率下降, 予气管插管, 套管内可吸出少许鲜红色血液, 口腔及鼻腔内吸出血凝块, 听诊两肺可闻及明显湿啰音, 经积极抢救无效, 患者于4月23日11点10分宣布临床死亡。死亡原因考虑: 急性肺损伤, 多脏器功能衰竭, 弥散性血管内凝血。4月24日台州市疾控中心电话告知, 患者外周血新型布尼亚病毒核酸监测为阳性。最后诊断为: 发热伴血小板减少综合征(severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS)(新型布尼亚病毒感染)。

2 讨论

SFTS俗称蜱虫病, 是近年来发现的临床表现为发热、血小板和白细胞减少, 最终部分患者死于多器官功能衰竭的一类疾病。最早是在约4年前, 我国发现了一种属于布尼亚病毒科白蛉病毒属的新型病毒, 并命名为新型布尼亚病毒^[1-2]。认为此病毒是蜱虫病的主要致病因子^[1,3]。

(下转2054页)

[通信作者] 董琴晖, 电话: (0576) 85199182, E-mail: ximen1987@126.com
[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140916.1725.005.html> (2014-09-16)