

京大戟与红大戟的急性毒性和刺激性比较研究^Δ

李兴华*, 钟丽娟, 王晶晶(中国药科大学中药学院, 南京 211198)

中图分类号 R285;R96 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0208-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.05

摘要 目的:比较京大戟与红大戟的急性毒性和刺激性。方法:分别制备京大戟与红大戟的水提取物、醇提取物,采用改良寇氏法测定各受试物的半数致死量(LD₅₀),比较两者急性毒性;采用家兔眼刺激和皮肤刺激实验,比较两者刺激性。结果:京大戟醇提取物单次灌胃给药对小鼠的LD₅₀为36.91 g/kg,95%的可信区间为33.80~40.31 g/kg,而京大戟水提取物与红大戟醇提取物、水提取物的LD₅₀值难以测出;京大戟醇提取物对家兔眼和破损皮肤有强烈刺激性,水提取物有轻度刺激性,而红大戟的醇提取物和水提取物均无刺激性。结论:京大戟具有一定的急性毒性和刺激性,而红大戟的急性毒性和刺激性均不明显,两者的安全性存在差异。

关键词 京大戟;红大戟;急性毒性;刺激性

Study on Acute Toxicity and Irritation of *Euphorbia pekinensis* and *Knoxia valerianoides*

LI Xing-hua, ZHONG Li-juan, WANG Jing-jing (School of Traditional Chinese Medicine, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the acute toxicity and irritation of *Euphorbia pekinensis* and *Knoxia valerianoides*. METHODS: *E. pekinensis* and *K. valerianoides* were extracted with alcohol or water respectively. LD₅₀ of samples were determined by modified Karber's method to compare the acute toxicity of them; eye and skin irritation test in rabbits were performed to compare irritation of them. RESULTS: The LD₅₀ of alcohol extract from *E. pekinensis* with single i.g. administration was 36.91 g/kg, and 95% CI was 33.80-40.31 g/kg. LD₅₀ of water extract from *E. pekinensis*, alcohol extract and water extract from *K. valerianoides* were difficult to estimate; alcohol extract from *E. pekinensis* showed severe irritation, also water extract showed slight irritation, but alcohol extract and water extract from *K. valerianoides* didn't show irritation. CONCLUSION: *E. pekinensis* showed acute toxicity and irritation, but those of *K. valerianoides* is not significant. There are significant differences in safety of them.

KEY WORDS *Euphorbia pekinensis*; *Knoxia valerianoides*; Acute toxicity; Irritation

2010年版《中国药典》(一部)收载有两种大戟,一种为京大戟,另一种为红大戟,对两者性味、归经、功能与主治以及用法与用量的规定均完全相同^[1]。然而京大戟为大戟科植物大戟 *Euphorbia pekinensis* Rupr.的干燥根,红大戟为茜草科植物红大戟 *Knoxia valerianoides* Thorel et Pitard的干燥块根,两者

的外观性状和内在成分都截然不同^[2]。本研究通过急性毒性实验和家兔眼刺激、皮肤刺激实验,对两者的急性毒性和刺激性进行比较,为其临床的安全与合理用药提供参考。

1 材料 1.1 仪器

变态反应性耳肿有一定治疗效果,表明其对IV型变态反应有一定疗效;对低分子右旋糖酐所致小鼠搔痒反应有抑制作用,表明其对搔痒症状有改善效果;可抑制组胺引起的豚鼠离体回肠收缩,表明其具有拮抗组胺的作用,有明显的抗过敏效果。

参考文献

- [1] 杨新建,王雷.黄芩苷局部皮肤给药对小鼠血管通透性及豚鼠离体回肠收缩的影响[J].中草药,2004,35(7):800.
- [2] 杨新建,王雷,梁颖.黄芩苷滴丸的体内药动学研究[J].中国医院药学杂志,2006,26(4):445.
- [3] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2009:700,714,1 053.
- [4] 陈奇.中药药理实验方法[M].北京:人民卫生出版社,2006:59.
- [5] 吴志华.皮肤性病学[M].广州:广东科技出版社,1997:122.

(收稿日期:2012-02-06 修回日期:2012-06-19)

表4 黄芩素滴丸对豚鼠离体肠管的影响

Tab 4 Effects of Baicalin dripping pills on isolated intestine of guinea pig

组别	终浓度	n	收缩幅度,mm	收缩抑制率,%
模型组		8	47.5±4.2	
黄芩素滴丸高剂量组	0.27 mg/ml	8	23.0±7.7*	51.5**
黄芩素滴丸中剂量组	0.13 mg/ml	8	36.0±4.9*	24.2*
黄芩素滴丸低剂量组	0.07 mg/ml	8	41.6±3.9	12.4
苯海拉明组	3.3 μg/ml	8	23.6±7.2	50.3

与模型组比较: *P<0.05, **P<0.01
vs.model group: *P<0.05, **P<0.01

黄芩素滴丸不溶于水,但与PEG4000混合制备成固体分散物后可增加其水溶性,因此将黄芩素与PEG4000制成滴丸剂可增加其体内吸收,提高治疗效果。

黄芩素滴丸ig给药,对2,4-二硝基氯苯所致小鼠迟发型

Δ 基金项目:中国药科大学人才引进启动基金项目(No.2111153)

* 讲师,博士。研究方向:中药学。E-mail:lixh@cpu.edu.cn

BS211型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; RE2000型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);手术剪、眼科镊、灭菌刀片、量尺、保鲜膜、无刺激胶布等均购自中国药科大学物资供应中心。

1.2 药品

京大戟和红大戟均购于安徽亳州中药材公司第二中药批发部,经中国药科大学药教研室张勉教授分别鉴定为大戟科植物大戟的干燥根和茜草科植物红大戟的干燥块根。

1.3 动物

清洁级ICR种小鼠100只,♀♂兼半,体质量18~22g;新西兰种家兔32只,♂,体质量2.0~2.5g,均由南通大学实验动物中心提供[动物使用许可证号:SCXK(苏)2008-0010]。

2 方法

2.1 提取物的制备

称取京大戟厚片50g,用水300ml煎煮30min,滤过,滤渣再用水200ml煎煮30min,合并煎液,减压浓缩至每1ml药液含1g药物,即得京大戟水提物。另称取京大戟厚片50g,用乙醇300ml回流1h,滤过,滤渣再用乙醇200ml回流1h,合并滤液,减压浓缩至每1ml药液含1g药物,即得京大戟醇提物。同法制备红大戟水、醇提物。

2.2 各提取物的急性毒性实验^[8]

实验分为京大戟水提物、京大戟醇提物、红大戟水提物、红大戟醇提物组。根据孙氏改良寇氏综合计算法,首先进行预实验,找出引起0与100%死亡率剂量的所在范围(D_n , D_m)。在 D_n 和 D_m 范围内,选择5个剂量,各分为5个亚组,每组10只小鼠,组间剂量比值为1:0.8,按0.04ml/g一次性ig给药,观察一次给药后14d内动物死亡情况,按照孙氏改良寇氏法公式计算半数致死量(LD₅₀)。另取10只正常小鼠作空白对照。

2.3 各提取物的刺激性实验

2.3.1 眼刺激性实验 取健康家兔16只,随机均分为4组,分别给予京大戟水提物、京大戟醇提物、红大戟水提物和红大戟醇提物。实验时轻轻拉开家兔的上下眼睑,使成杯状,将相应药液和对照溶液(0.9%氯化钠注射液)分别滴加至家兔左眼、右眼中,每只眼给药0.1ml。给药后使兔眼被动闭合10s,让药液和眼充分接触,2min后用40ml生理盐水冲洗眼睛至眼中无任何异物,随后观察兔眼情况1.5~3h,并拍照记录家兔眼刺激的反应情况。按文献^[9]进行受试物对眼刺激性评分,根据无刺激性(0~3分)、轻度刺激性(4~8分)、中度刺激性(9~12分)和强度刺激性(13~16分)的标准对受试物的眼刺激性作出评价。

2.3.2 皮肤刺激性实验 取健康家兔16只,随机均分为京大戟水提物、京大戟醇提物、红大戟水提物、红大戟醇提物组。实验前24h,于家兔背部脊柱两侧分别剪毛、备皮,面积各3cm×3cm。涂受试物前,在2.5cm×2.5cm的去毛皮肤上,用75%酒精清洁、消毒暴露皮肤,待酒精挥发后,用灭菌刀片在皮区内划一个“#”形的破损伤口,不伤及真皮,以渗血为度。实验时分别取受试物1.0ml,直接均匀涂抹在2.5cm×2.5cm的一侧去毛破损皮肤上,然后用一层保鲜膜覆盖,再用无刺激胶布固定;另一侧去毛破损皮肤直接均匀涂抹对照溶液(0.9%氯化钠注射液)作为空白对照。敷贴时间为4h。实验结束后用温水除去残留受试物。分别于除去受试物后1、24、48h观察皮肤局部反应,并拍照记录家兔破损皮肤刺激的反应情况。每次观察受试皮肤有无红斑和水肿形成,按文献^[9]进行评分,并分别按时间点将4只动物的评分相加,除以动物数,获得不

同时时间点的皮肤刺激反应级数。取其最高皮肤刺激反应级数,根据无刺激性(0~0.49分)、轻度刺激性(0.5~2.99分)、中度刺激性(3.0~5.99分)和强度刺激性(6.0~8.0分)的标准对受试物的皮肤刺激性作出评价。

3 结果

3.1 各提取物的急性毒性实验

在急性毒性预实验中,京大戟水提物与红大戟水提物、醇提物组未见小鼠死亡,推测这3组的急性毒性不明显,LD₅₀值难以测出,而京大戟醇提物存在一定的急性毒性。对其进行急性毒性正式实验,测得单次ig给药对小鼠的LD₅₀为36.91g/kg,95%的可信区间为33.80~40.31g/kg。给药30min后小鼠出现中毒现象:精神萎靡、活动量减少、对外界的敏感性减弱、缓慢抽搐、呼吸急促、步态异常、身体发抖、厌食等,随后正位反射消失、闭眼,直到死亡。对死亡小鼠及时尸检,肉眼未见心、肝、脾、肺、肾等主要脏器的异常改变,但十二指肠至空肠肿胀,疑似有出血。没有死亡的受试小鼠也有部分出现以上现象,48h后基本可恢复正常。根据以上现象初步推断京大戟醇提物可能作用于受试小鼠的消化、拟交感神经、中枢神经和自主神经系统,具体的作用机制还有待进一步研究。京大戟醇提物ig给药后小鼠的LD₅₀见表1。

表1 京大戟醇提物ig给药后小鼠的LD₅₀

Tab 1 LD₅₀ of alcohol extract from *E. pekinensis* in mice after i.g. administration

剂量, g/kg	n	死亡小鼠, 只	死亡率, %	LD ₅₀ 与95%可信区间
60.0	10	10	100	LD ₅₀ =36.91 g/kg
48.0	10	9	90	95%的可信区间为
38.4	10	7	70	33.80~40.31 g/kg
30.7	10	1	10	
24.6	10	0	0	
空白对照	10	0	0	

3.2 各提取物的眼刺激性实验

红大戟水提物和红大戟醇提物对家兔双眼均无刺激性,而京大戟水提物具有轻度刺激性,京大戟醇提物具有强烈刺激性。京大戟与红大戟各提取物对家兔眼刺激评分的比较见表2。

表2 京大戟与红大戟各提取物对家兔眼刺激评分的比较(只)

Tab 2 Comparison of eye irritation score of the extracts of *E. pekinensis* and *K. valerianoides* (number)

组别	n	角膜	虹膜	结膜		综合评分	等级评价
				充血	水肿		
空白对照组	4	0	0	0	0	0.00	无刺激性
京大戟水提物组	4	4	4	5	7	6.25	轻度刺激性
京大戟醇提物组	4	14	6	10	12	14.50	强度刺激性
红大戟水提物组	4	0	0	0	0	0.00	无刺激性
红大戟醇提物组	4	0	0	0	0	0.00	无刺激性

3.3 各提取物的皮肤刺激性实验

空白对照组、红大戟水提物和红大戟醇提物对家兔破损皮肤均无刺激性,京大戟水提物对家兔破损皮肤具有中度刺激性,可见中度红斑和轻微水肿,而京大戟醇提物对家兔破损皮肤具有强度刺激性,可见重度红斑、焦痂形成和中度水肿。京大戟与红大戟各提取物对家兔破损皮肤刺激评分的比较见表3。

4 讨论

本研究在进行对家兔破损皮肤刺激性实验的同时,也开展了对完整皮肤的刺激性实验。结果显示,两种大戟提取物对家兔完整皮肤的刺激性均不明显,故正文部分对此从略。

通过对小鼠的急性毒性实验和对家兔的眼及皮肤刺激性

水飞蓟素对大鼠体内他莫昔芬药动学的影响

祁英杰*, 闫小玉, 高文娟, 周艳, 陈晓辉, 毕开顺, 戴荣华[#](沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

中图分类号 R285;R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0210-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.06

摘要 目的:研究水飞蓟素对大鼠体内他莫昔芬药动学的影响。方法:色谱柱为Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-20 mmol/L K₂HPO₄水溶液(70:30, V:V, 磷酸调pH值至3.0),流速为1.0 ml/min,柱温为45 ℃,检测波长λ_{ex}=260 nm, λ_{em}=375 nm。对照组大鼠灌胃他莫昔芬丙二醇溶液(15 mg/kg),实验组大鼠在灌胃水飞蓟素水溶液(70 mg/kg)30 min后灌胃他莫昔芬丙二醇溶液(15 mg/kg)。测定不同时间2组大鼠血药浓度,以DAS 2.1.1版药动学程序软件计算药动学参数。结果:与对照组比较,实验组的c_{max}显著增加(P<0.05),AUC_{0-36 h}和AUC_{0-∞}分别增加了52.7%~80.1%和56.4%~82.1%(P=0.005),CL/F降低了29.5%~41.3%(P=0.005),而t_{1/2}和t_{max}没有显著性差异。结论:水飞蓟素对大鼠体内他莫昔芬的药动学有显著影响,临床上二者合用时应注意潜在的药物相互作用。

关键词 他莫昔芬;水飞蓟素;药动学;高效液相色谱法

Effects of Silymarin on Pharmacokinetics of Tamoxifen in Rats

QI Ying-jie, YAN Xiao-yu, GAO Wen-juan, ZHOU Yan, CHEN Xiao-hui, BI Kai-shun, DAI Rong-hua (School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of silymarin on pharmacokinetics of tamoxifen in rats. METHODS: The analysis was performed on a Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)column, with the acetonitrile-20 mmol/L K₂HPO₄(70:30, V:V, phosphoric acid to adjust the pH value to 3)as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min, Column temperature was 45 ℃, and the detective wave length were λ_{ex}=260 nm, λ_{em}=375 nm. Control group was given tamoxifen propylene glycol solution intragastrically (15 mg/kg); trial group was given silymarin solution 70 mg/kg, and received tamoxifen propylene glycol solution 15 mg/kg intragastrically 30 min later. Blood concentration of tamoxifen was determined by HPLC. The data were calculated by DAS2.0 software. RESULTS: Compared with control group, c_{max} of tamoxifen in trial group was increased significantly(P<0.05), AUC_{0-36 h} and AUC_{0-∞} of tamoxifen was increased by 52.7%-80.1% and 56.4%-82.1%(P=0.005), respectively; CL/F of tamoxifen was decreased by 29.5%-41.3%(P=0.005), and no change of t_{max} and t_{1/2} was observed. CONCLUSIONS: There is significant effect of silymarin on tamoxifen in rats. Great importance should be attached to drug interaction during combined use of them in the clinic.

KEY WORDS Tamoxifen; Silymarin; Pharmacokinetics; HPLC

表3 京大戟与红大戟各提取物对家兔破损皮肤刺激评分的比较

Tab 3 Comparison of skin irritation score of the extracts of *E. peginensis* and *K. valerianoides*

组别	n	红斑,只	水肿,只	反应级数	等级评价
空白对照组	4	0	0	0	无刺激性
京大戟水提取物组	4	8	4	3.0	中度刺激性
京大戟醇提取物组	4	14	12	6.5	强度刺激性
红大戟水提取物组	4	0	0	0	无刺激性
红大戟醇提取物组	4	0	0	0	无刺激性

实验,结果显示京大戟具有一定的急性毒性和眼、皮肤刺激性,这不仅证明了《本草纲目》中“其根辛苦,戟人咽喉”的认识^[6],也支持了《中国药典》对其“有毒”的规定。而红大戟的急性毒性和刺激性均不明显,故对于《中国药典》对其“有小毒”的规定还有待深入研究。

本研究结果表明,京大戟具有一定的急性毒性和刺激性,

* 硕士研究生。研究方向:药动学。电话:024-23986259。
E-mail:princessqyj@sina.com

[#] 通信作者:副教授,博士。研究方向:药动学。电话:024-23986259。E-mail:ronghuadai@sina.com

而红大戟的急性毒性和刺激性均不明显,两者的安全性存在差异。因此,为了保证两种大戟在临床用药的安全,有必要将其区别对待,不可混淆。至于两者在泻下和逐水等药效方面的异同,还有待今后进一步的比较研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:209,140.
- [2] 南京中医药大学.中药大辞典[M].2版.上海:上海科学技术出版社,2006:144,1384.
- [3] 《中药、天然药物急性毒性实验技术指导原则》课题研究组.中药、天然药物急性毒性实验技术指导原则[S].北京:国家食品药品监督管理局,2005.
- [4] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2001:234.
- [5] 曾明辉,谭正怀,陈璐,等.消瘿洁肤乳膏皮肤用药安全性实验研究[J].中国药房,2010,21(45):4256.
- [6] 李时珍.本草纲目[M].北京:人民卫生出版社,1991:1131.
(收稿日期:2012-02-15 修回日期:2012-06-27)