



补骨脂的不同提取物对大鼠毒性的初步研究*

王昭昕 杨莉¹ 卢国彦¹ 王跃飞¹ 张玥^{1,2} 周昆^{1,2}

(1.天津中医药大学中医药研究院,天津 300193)(2.天津中医药大学方剂学教育部重点实验室,天津 300193)

摘要:目的 研究不同提取物的补骨脂大鼠口服给药的毒性,为其临床应用提供安全依据。方法 112只SD大鼠雌雄各半,按性别、体质量随机分为8组:对照组,补骨脂生药组,补骨脂下层渗漉液高、低剂量组,补骨脂上层渗漉液高、低剂量组,补骨脂渗漉药渣高、低剂量组[生药组剂量(生药量)为3 g/kg体质量,其他给药组高、低剂量(生药量)均分别为6和3 g/kg体质量],每组14只。连续给药4周,给药周期结束后,禁食不禁水12 h,取血进行相关血生化指标检测,解剖取脏器称重计算脏器系数并测定肝脏组织中MDA,组织病理学检查。结果 与对照组相比,补骨脂生药组肝脏脏器系数、ALP、MDA显著升高,胸腺脏器系数、T-AOC显著降低;补骨脂下层渗漉液剂量组肝脏脏器系数、T-AOC、ALT显著升高;补骨脂渗漉药渣高剂量组肝脏脏器系数、MDA显著升高而雌性大鼠T-AOC值显著降低,药渣低剂量组并没有明显的肝、肾毒性;补骨脂上层渗漉液组无显著差异。结论 补骨脂上层渗漉液的安全性优于补骨脂下层渗漉液,但基于有效成分测定结果提示,下层渗漉液更合适入药。

关键词:补骨脂;肝毒性;不同提取物

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:1006-6179(2019)03-0006-07

DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2019.03.002

补骨脂是传统中药材,为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L.的干燥成熟果实,含香豆素类、黄酮类和单萜酚类等化合物^[1],具有补肾助阳、纳气平喘、温脾止泻的功能,外用可治牛皮癣、斑秃、银屑病等皮肤病;补骨脂应用广泛,仅药典中收录的含补骨脂的中成药就有30余种,其他标准和临床医师处方中就更多。补骨脂最早见于《雷公炮炙论》云:“性本大燥,毒。”后世医家对补骨脂也有论述,《开宝本草》云:“治五劳七伤,风虚冷,骨髓伤败,肾冷精流及妇人血气堕胎。”但对其毒性记载甚少。近年来,随着医药科学的发展,人们对补骨脂的研究也越来越深入,临床不良反应以及毒性研究的报道也越来越多,补骨脂药材乃至水提物对动物的肝毒性也被不同的实验证实^[2-6],但是中药的提取方式众多,获取的提取物的成分和安全性也会有差别,我们对补骨脂的三种不同提取物进行了口服给药4周的大鼠毒性实验研究,以评价不同提取物的安全性,为后续补骨脂提取工艺的改进和入药的选择提供前期研究基础。

1 材料与方法

1.1 受试样品

补骨脂药材(原药材)、补骨脂生药粉、补骨脂下层渗漉液、补骨脂上层渗漉液、补骨脂渗漉药渣:均为天津中医药大学中医药研究院王跃飞副研究员团队制备提供,产品批号:20120920。

补骨脂生药粉:补骨脂药材直接粉碎,制成的棕色补骨脂生药粉;

补骨脂下层渗漉液(每克提取物折合生药2.66 g):补骨脂原药材经70%乙醇浸泡后渗漉,渗漉液减压回收,静置分层,稠浸膏与环糊精混合制得补骨脂提取物;

补骨脂上层渗漉液(每克提取物折合生药18.43 g):补骨脂原药材经70%乙醇浸泡后渗漉,渗漉液减压回收,静置分层,上层60℃减压烘干,制得渗漉上层干膏提取物。

补骨脂渗漉药渣(每克提取物折合生药

收稿日期:2018-12-10

* 基金项目:国家科技重大专项项目(No.2014ZX09304307-001-005、No.2011ZX09201-201-21)

作者简介:王昭昕(1996—),女,硕士,研究方向:中药药理毒理研究。E-mail:1604145294@qq.com

通信作者:周昆(1978—),男,副研究员,硕士,研究方向:中药毒性和配伍减毒。E-mail:z.k.ken@263.net

1.18 g):补骨脂原药材经 70% 乙醇浸泡后渗漉,渗漉药渣再次水提,60 ℃ 减压烘干,制得渗漉药渣提取物。各受试样品成分含量如下(表 1)。

表 1 受试样品成分含量
Table 1 Contents of the components of the test sample

(样品)	补骨脂素/‰	异补骨脂素/‰	补骨脂苷/‰	异补骨脂苷/‰	补骨脂酚/‰	补骨脂甲素/‰	补骨脂乙素/‰
生药粉	5.01	4.14	14.23	14.23	62.52	2.26	4.37
下层渗漉液	2.69	2.19	—	—	58.72	1.84	3.60
上层渗漉液	0.11	0.09	0.10	0.07	2.25	0.12	0.20
渗漉药渣	1.84	1.61	13.57	9.38	0.85	—	—

1.2 动物及饲养

SPF 级 SD 大鼠 112 只,雌雄各半,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,生产许可证号:SCXK(京)2009-0015。动物饲养于天津中医药大学实验动物中心,使用许可证号:SYXK(津)2014-0002。所用饲料为全价颗粒饲料,天津市华荣实验动物科技有限公司生产。

1.3 试剂与仪器

TBA(总胆汁酸)、CRE(血清肌酐)、TC(总胆固醇)、TG(甘油三酯)、TP(总蛋白)、ALT(天冬氨酸氨基转氨酶)、ALP(碱性磷酸酶)、ALB(白蛋白)、BUN(尿素氮)以及 AST(丙氨酸氨基转换酶)试剂盒均由中生北控生物科技股份有限公司生产。

丙二醛(MDA)测定试剂盒(TBA 法)、总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(比色法)均由南京建成生物工程研究所生产。

离心机(赛默飞,Legend Micro17 型);恒温培养振荡器(上海世平实验设备有限公司,SPH-103B 型);全自动封闭脱水机(Leica,ASP300S 型),切片机(Leica,RM2135 型);显微镜(OLYMPUS,BX51 型);包埋机(天津航空机电公司,BMJ-1 型);多功能酶标仪(Tecan,InfiniteM200 型);全自动生化分析仪(日立,7020 型)。

1.4 方法

具体实验方法参考了文献^[4]中描述的中药长期毒性实验方法。

1.4.1 分组与给药:将大鼠按体质量、性别随机分为 8 组:对照组(对照组与补骨脂水提物与水提药渣的毒性比较研究相同)、补骨脂生药 3 g 生药/kg 剂量组,补骨脂下层渗漉液 6 g 生药/kg、3 g 生药/kg 剂量组,补骨脂上层渗漉液 6 g 生药/kg、3 g 生药/kg 剂量组,补骨脂渗漉药渣 6 g 生药/kg、3 g 生药/kg 剂量组,每组 14 只,连续灌胃给药 4 周,最大

给药剂量为 2015 版药典规定给药剂量的 6 倍。

1.4.2 一般状况观察:给药期间,每周称体质量一次,并根据体质量调整给药剂量;每天给药前后观察动物的毛色、进食、活动等情况。

1.4.3 血清生化检测:给药期结束,动物禁食不禁水 12 h,腹腔注射水合氯醛进行麻醉。由腹主动脉取血,3 000 r/min 离心 10 min,分离得到血清,通过自动生化仪检测 TBA、CRE、TC、TG、TP、ALT、ALP、ALB、BUN、AST。

1.4.4 MDA 和 T-AOC 的含量测定:肝脏加生理盐水研磨制备 10% 的匀浆,用南京建成 T-AOC 和 MDA 试剂盒测定大鼠肝脏中 T-AOC 和 MDA 的含量。

1.4.5 脏器系数及组织病理学检查:剖腹小心摘取心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胸腺称重,计算脏器系数(脏器质量/体质量)。切取大鼠肝脏一叶、左肾于 10% 中性甲醛溶液中固定,固定液为组织体积的 5~10 倍,固定 48 h,石蜡切片,常规 HE 染色,光镜下观察组织病变。

1.5 统计方法

采用 Spss 17.0 软件进行单因素方差分析进行统计学处理^[7],以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$,为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对大鼠一般情况和体质量的影响

给药期间,大鼠进食、活动情况正常,毛色无异,各组动物均无死亡。补骨脂不同提取物灌胃给药 4 周对大鼠体质量的影响如下(表 2,表 3):与对照组相比,雄性大鼠下层渗漉液高剂量组在第 2 周体质量显著降低;雌性大鼠渗漉药渣高剂量组第 4 周的体质量显著升高,其他组无显著变化。

表 2 不同提取物的补骨脂对雄性大鼠体质量的影响

Table 2 Effects of Psoralen from different extractions on Body Weight of Male Rats

组别	剂量 g 生药/kg	n	第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
对照	—	7	161. 5±20. 5	203. 0±27. 3	231. 4±32. 4	261. 0±38. 3	284. 3±42. 8
生药	3	7	154. 1±19. 8	201. 8±23. 9	232. 3±28. 1	243. 0±31. 7	274. 3±41. 6
下层渗漉液	6	7	166. 7±14. 8	193. 4±13. 1	200. 5±12. 0 *	238. 3±13. 6	248. 4±15. 4
	3	7	151. 2±11. 1	204. 4±12. 4	239. 8±18. 6	259. 3±20. 8	285. 9±24. 7
上层渗漉液	6	7	163. 2±17. 9	198. 9±13. 7	232. 5±13. 4	258. 4±12. 7	280. 9±16. 2
	3	7	162. 4±19. 8	203. 2±16. 5	218. 5±18. 8	260. 1±26. 0	281. 6±29. 5
渗漉药渣	6	7	161. 3±14. 4	201. 3±23. 1	223. 7±29. 6	245. 8±39. 9	268. 7±44. 0
	3	7	155. 9±11. 8	215. 9±14. 1	243. 4±17. 4	271. 4±15. 9	298. 6±19. 0

注:与对照组比较,**P*<0.05

Note: **P*<0.05 vs control group

表 3 不同提取物的补骨脂对雌性大鼠体质量的影响

Table 3 Effects of Psoralen from different extractions on Body Weight of Female Rats

组别	剂量 g 生药/kg	n	第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
对照	—	7	158. 6±14. 8	175. 7±16. 8	188. 6±20. 0	197. 4±19. 8	207. 7±20. 9
生药	3	7	154. 1±12. 4	171. 9± 9. 9	193. 7± 7. 8	204. 8± 6. 9	214. 0± 8. 3
下层渗漉液	6	7	148. 2± 7. 32	165. 8± 6. 0	182. 3± 7. 9	191. 2±10. 3	198. 9±13. 7
	3	7	149. 6± 9. 9	167. 1±10. 3	183. 4± 7. 2	197. 9± 9. 2	210. 4±11. 8
上层渗漉液	6	7	142. 2±18. 9	172. 9±15. 5	182. 9±11. 0	198. 0±15. 2	203. 2±13. 4
	3	7	154. 2±10. 9	174. 1±10. 0	191. 3±12. 4	200. 8±10. 3	211. 1±10. 5
渗漉药渣	6	7	150. 7±16. 6	176. 2±16. 0	192. 2±16. 3	212. 7±19. 4	231. 3±17. 1 *
	3	7	149. 6± 9. 7	159. 8± 7. 1	175. 7± 8. 2	190. 2± 7. 7	198. 5± 6. 6

注:与对照组比较,**P*<0.05

Note: **P*<0.05 vs control group

2.2 对大鼠血清生化影响

与对照组比较,雄性大鼠生药组 ALT、ALP、TBA、T-CHO、ALB 显著降低;下层渗漉液高剂量组 ALT、BUN 显著升高,T-CHO、ALB 显著降低;下层渗漉液低剂量组 TBA、TG、T-CHO 显著降低;渗漉药渣低剂量组 ALT、TBA、ALB 显著降低;上层渗漉液高、低剂量组、渗漉药渣高剂量组无显著性差异。雌性大鼠生药低剂量组 ALP 显著升高;下层渗漉液高剂量组 BUN 显著升高,ALB 显著降低;下层渗漉液低剂量组 ALT 显著升高,CRE 显著降低;上层渗漉液高剂量组 BUN 显著升高;渗漉药渣高剂量组 ALT、

AST 显著降低,TBA、T-CHO、BUN 显著升高;渗漉药渣低剂量组 TP 显著升高(表 4,表 5)。

2.3 对大鼠肝脏 MDA 和 T-AOC 的影响

与对照组比较,雄性大鼠生药低剂量组,渗漉药渣高剂量组 MDA 显著升高;下层渗漉液高、低剂量组,渗漉药渣低剂量组 T-AOC 显著升高。雌性大鼠生药低剂量组,渗漉药渣高剂量组 MDA 显著升高,T-AOC 显著降低;下层渗漉液高剂量组 T-AOC 显著降低;渗漉药渣低剂量组 MDA 显著降低,T-AOC 显著降低(见表 6,表 7)。

表 4 不同提取物的补骨脂对雄性大鼠血清生化指标的影响(一)

Table 4 Effects of Psoralen from different extractions on serum biochemical parameters in Male Rats(1)

组别	剂量 g 生药/kg	n	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	ALP/(U/L)	TBA/(μmol/L)	TG/(mmol/L)
对照	—	7	35. 33±6. 65	99. 83±24. 37	172. 00±36. 69	27. 50±19. 87	0. 53±0. 29
生药	3	7	27. 86±4. 26 *	88. 00±13. 64	122. 43±27. 23 *	4. 00±2. 45 **	0. 33±0. 12
下层渗漉液	6	7	61. 57±23. 15 *	112. 71±19. 28	210. 14±110. 69	21. 86±14. 28	0. 39±0. 16
	3	7	33. 29±5. 62	98. 29±18. 20	188. 57±33. 60	9. 57±4. 28 *	0. 27±0. 05 *
上层渗漉液	6	7	34. 57±6. 19	78. 57±7. 68	180. 29±17. 09	21. 43±8. 30	0. 48±0. 26
	3	7	33. 29±4. 39	86. 14±9. 19	161. 14±32. 41	20. 29±12. 83	0. 62±0. 41
渗漉药渣	6	7	29. 67±11. 16	89. 17±17. 65	156. 50±24. 06	20. 67±20. 74	0. 44±0. 30
	3	7	27. 00±3. 32 *	88. 14±10. 21	142. 57±26. 81	7. 71±3. 90 *	0. 35±0. 14

注:与对照组比较,**P*<0.05,***P*<0.01

Note: **P*<0.05,***P*<0.01 vs control group

表 4 不同提取物的补骨脂对雄性大鼠血清生化指标的影响 (二)

Table 4 Effects of Psoralen from different extractions on serum biochemical parameters in Male Rats(2)							
组别	剂量 g 生药/kg	n	T-CHO/(mmol/L)	BUN/(μmol/L)	CRE/(μmol/L)	TP/(g/L)	ALB/(g/L)
对照	—	7	1. 77±0. 24	8. 66±1. 67	26. 50±3. 33	60. 97±2. 44	33. 65±0. 84
生药	3	7	1. 26±0. 21 **	8. 69±1. 89	28. 57±3. 95	62. 51±3. 40	31. 46±0. 95 **
下层渗漉液	6	7	1. 05±0. 31 ***	11. 70±1. 80 **	26. 14±2. 91	61. 37±4. 93	31. 70±1. 93 *
	3	7	1. 42±0. 18 *	7. 89±0. 54	25. 57±4. 31	60. 85±2. 18	32. 44±1. 17
上层渗漉液	6	7	1. 67±0. 36	9. 02±1. 20	25. 57±1. 90	60. 74±2. 56	32. 59±0. 98
	3	7	2. 03±0. 51	8. 20±1. 14	27. 00±3. 60	59. 13±1. 80	32. 36±1. 29
渗漉药渣	6	7	1. 52±0. 28	10. 02±2. 11	24. 83±2. 56	62. 23±2. 59	32. 72±0. 66
	3	7	1. 45±0. 31	9. 80±1. 48	29. 86±5. 64	62. 40±3. 80	31. 47±0. 97 **

注:与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$
Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs control group

表 5 不同提取物的补骨脂对雌性大鼠血清生化指标的影响 (一)

Table 5 Effects of Psoralen from different extractions on serum biochemical parameters in Female Rats(1)							
组别	剂量 g 生药/kg	n	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	ALP/(U/L)	TBA/(μmol/L)	TG/(mmol/L)
对照	—	7	31. 71±3. 45	94. 42±10. 26	86. 14±23. 08	14. 14± 5. 34	0. 40±0. 15
生药	3	7	28. 83±6. 59	87. 50±15. 23	143. 67±55. 65 *	14. 00±11. 40	0. 40±0. 18
下层渗漉液	6	7	33. 86±5. 30	90. 71±14. 75	96. 29±22. 45	16. 43± 8. 66	0. 39±0. 14
	3	7	40. 86±10. 09 *	97. 57± 8. 42	96. 71±25. 56	14. 86± 9. 60	0. 27±0. 06
上层渗漉液	6	7	33. 67±5. 05	89. 50±11. 08	105. 50±41. 96	17. 67±14. 35	0. 33±0. 08
	3	7	30. 57±3. 26	98. 57± 9. 96	81. 00±18. 08	13. 29± 3. 77	0. 40±0. 09
渗漉药渣	6	7	23. 83±3. 71 **	74. 17± 8. 04 **	94. 00±26. 10	32. 00±17. 20 *	0. 46±0. 19
	3	7	38. 67±13. 92	83. 83±10. 74	111. 33±51. 47	26. 00±18. 51	0. 41±0. 10

注:与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$
Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group

表 5 不同提取物的补骨脂对雌性大鼠血清生化指标的影响 (二)

Table 5 Effects of Psoralen from different extractions on serum biochemical parameters in Female Rats (2)							
组别	剂量 g 生药/kg	n	T-CHO/(mmol/L)	BUN/(μmol/L)	CRE/(μmol/L)	TP/(g/L)	ALB/(g/L)
对照	—	7	1. 50±0. 57	8. 90±0. 69	30. 71±1. 60	63. 16±2. 51	34. 24±0. 99
生药	3	7	1. 33±0. 70	8. 41±1. 35	28. 00±4. 43	65. 20±4. 05	33. 78±1. 37
下层渗漉液	6	7	1. 29±0. 46	11. 56±2. 38 *	28. 43±3. 78	60. 96±1. 98	32. 80±0. 90 *
	3	7	1. 54±0. 46	8. 67±1. 52	26. 71±2. 56 **	63. 69±2. 59	33. 20±1. 91
上层渗漉液	6	7	1. 90±0. 41	9. 85±0. 79 *	31. 33±0. 82	62. 42±2. 83	33. 98±1. 83
	3	7	1. 93±0. 40	9. 11±1. 32	29. 71±1. 80	57. 24±11. 43	33. 63±0. 95
渗漉药渣	6	7	2. 31±0. 52 *	10. 67±1. 73 *	28. 50±3. 39	65. 92±3. 39	34. 52±1. 57
	3	7	2. 11±0. 40	9. 61±0. 75	28. 67±3. 01	66. 82±1. 58 *	34. 32±0. 76

注:与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$
Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group

表 6 不同提取物的补骨脂对雄性大鼠 MDA 的影响

Table 6 Effects of Psoralen from different extractions on MDA in Male Rats				
组别	剂量 g 生药/kg	n	MDA/ (nmol/mgprot)	T-AOC 含量/ (U/mgprot)
对照	—	7	0. 94±0. 37	0. 11±0. 06
生药	3	7	2. 77±0. 98 ***	0. 12±0. 04
下层渗漉液	6	7	1. 11±0. 41	0. 27±0. 04 ***
	3	7	1. 06±0. 38	0. 19±0. 08 *
上层渗漉液	6	7	0. 77±0. 14	0. 16±0. 05
	3	7	0. 67±0. 11	0. 12±0. 05
渗漉药渣	6	7	1. 98±0. 70 **	0. 14±0. 04
	3	7	1. 06±0. 26	0. 18±0. 07 *

注:与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$
Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs control group

表 7 不同提取物的补骨脂对雌性大鼠 MDA 的影响

Table7 Effects of Psoralen from different extractions on MDA in Female Rats				
组别	剂量 g 生药/kg	n	MDA/ (nmol/mgprot)	T-AOC 含量/ (U/mgprot)
对照	—	7	1. 56±0. 34	0. 32±0. 05
生药	3	7	3. 51±0. 83 ***	0. 22±0. 06 **
下层渗漉液	6	7	1. 40±0. 90	0. 21±0. 04 ***
	3	7	2. 33±1. 12	0. 34±0. 10
上层渗漉液	6	7	1. 98±0. 38	0. 32±0. 05
	3	7	1. 70±0. 38	0. 27±0. 10
渗漉药渣	6	7	3. 18±0. 79 ***	0. 21±0. 04 ***
	3	7	0. 98±0. 26 **	0. 18±0. 04 ***

注:与对照组比较, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$
Note: ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs control group

2.4 对大鼠脏器系数及组织病理学的影响

与对照组相比,雄性大鼠生药低剂量组胸腺系数显著降低而肝、肾系数显著升高;下层渗漉液高剂量组,渗漉药渣高、低剂量组肝、肾系数显著升高而胸腺系数显著降低。雌性大鼠下层渗漉液低剂量组,渗漉药渣低剂量组肝、肾系数显著升高而胸腺系数显著降低;生药低剂量组,渗漉药渣高剂量组肝、

肾系数显著升高;下层渗漉液高剂量组肝系数显著升高而胸腺系数显著降低;上层渗漉液低剂量组肝系数显著升高,其他各组的值比较差异不具有统计学意义(见表 8,表 9)。

光镜下观察,给药组大鼠的肝脏、肾脏和生殖器官未见明显的组织病变,与对照组无明显差别。

表 8 不同提取物的补骨脂对雄性大鼠脏器系数的影响

Table 8 Effects of Psoralen from different extractions on organ coefficient in Male Rats

组别	剂量/(g 生药/kg)	n	心	肝	脾	肾	胸腺
对照	—	7	0.304±0.046	2.780±0.718	0.193±0.037	0.620±0.114	0.172±0.058
生药	3	7	0.318±0.024	4.239±0.380 *	0.172±0.022	0.764±0.080 *	0.111±0.022 *
下层渗漉液	6	7	0.322±0.042	4.050±0.185 ***	0.183±0.028	0.746±0.072 *	0.118±0.036
	3	7	0.327±0.026	3.354±0.221	0.200±0.033	0.719±0.045	0.129±0.024
上层渗漉液	6	7	0.313±0.011	2.870±0.175	0.177±0.016	0.688±0.044	0.119±0.027
	3	7	0.315±0.027	2.864±0.229	0.211±0.034	0.659±0.100	0.167±0.053
渗漉药渣	6	7	0.317±0.050	4.695±0.841 **	0.175±0.040	0.755±0.086 *	0.123±0.017
	3	7	0.327±0.019	4.190±0.393 ** *	0.189±0.013	0.765±0.070 *	0.156±0.076

注:与对照组比较,**P*<0.05,***P*<0.01,****P*<0.001

Note: **P*<0.05, ***P*<0.01, ****P*<0.001 vs control group

表 9 不同提取物的补骨脂对雌性大鼠脏器系数的影响

Table 9 Effects of Psoralen from different extractions on organ coefficient in Female Rats

组别	剂量/(g 生药/kg)	n	心	肝	脾	肾	胸腺
对照	—	7	0.366±0.031	3.096±0.119	0.234±0.029	0.707±0.037	0.207±0.039
生药	3	7	0.385±0.024	5.093±0.214 ***	0.237±0.021	0.822±0.051 ***	0.192±0.025
下层渗漉液	6	7	0.348±0.010	4.268±0.254 ***	0.211±0.033	0.821±0.146	0.155±0.017 **
	3	7	0.379±0.016	3.838±0.267 ***	0.231±0.023	0.815±0.070 **	0.170±0.015 *
上层渗漉液	6	7	0.364±0.026	2.987±0.135	0.206±0.028	0.717±0.031	0.189±0.046
	3	7	0.410±0.098	3.307±0.182 *	0.244±0.064	0.745±0.038	0.222±0.066
渗漉药渣	6	7	0.387±0.046	4.935±0.376 ***	0.243±0.023	0.897±0.075 ***	0.181±0.038
	3	7	0.403±0.033	3.869±0.336 ***	0.239±0.035	0.839±0.068 ***	0.149±0.017 **

注:与对照组比较,**P*<0.05,***P*<0.01,****P*<0.001

Note: **P*<0.05, ***P*<0.01, ****P*<0.001 vs control group

3 讨论

本实验为研究不同提取物补骨脂大鼠口服给药毒性,分别设立对照组、补骨脂生药组,补骨脂下层渗漉液低、高剂量组,补骨脂上层渗漉液低、高剂量组,补骨脂渗漉药渣低、高剂量组。实验所需补骨脂生药和不同提取物的最大给药量为 2015 版药典规定的 6 倍。实验结果表明:与对照组相比,补骨脂生药组肝脏脏器系数、ALP、MDA 明显升高,胸腺脏器系数、T-AOC 显著降低,再次证明补骨脂生药给药 4 周即对大鼠肝脏有一定的损伤。补骨脂下层渗漉液组肝脏脏器系数、T-AOC、ALT 也显著升高,表明补骨脂下层渗漉液也对肝脏有一定的损伤,但雄性大

鼠 T-AOC 值明显升高;补骨脂渗漉药渣高剂量组肝脏脏器系数、MDA 显著升高而雌性大鼠 T-AOC 值显著降低;表明补骨脂渗漉药渣高剂量给药 4 周对肝脏有一定的损伤,而渗漉药渣低剂量组并没有肝、肾毒性指标出现显著性,表现出较好的剂量相关性;补骨脂上层渗漉液没有明显毒性。总结实验结果也显示三种不同提取物中渗漉药渣的肝毒性最大,其次为下层渗漉液,上层渗漉液的安全性最高。

对三个不同提取物中有效成分的含量测定结果显示,补骨脂上层渗漉液中有效成分的含量极少,其中含量最多的补骨脂酚也只有 2.26%,渗漉药渣中含有较多的补骨脂苷和异补骨脂苷,而补骨脂酚含量极少仅 0.58%,因此二者不适合用作药用;而下层渗漉液中没有检测到补骨脂苷和异补骨脂苷,补

骨脂素、异补骨脂素的含量也不多,但补骨脂酚的含量高达 58.72%,有研究认为,补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素是补骨脂中的主要毒性成分^[4]。白茹玉等^[8]研究结果表明,大剂量补骨脂素给予小鼠时,引起药物急性毒性反应;异补骨脂素可引起 HepG2 细胞内胆汁酸升高和细胞毒性^[9];还有研究表明异补骨脂素和补骨脂素对小鼠肝功能有一定影响^[10];补骨脂乙素可抑制 Tca8113 细胞的增殖并诱导细胞凋亡^[11]。同时,已有研究证实补骨脂素和异补骨脂素对小鼠骨质疏松有较好的治疗作用^[12],刘颖等^[13]的研究表明,补骨脂对维甲酸诱导的大鼠骨质疏松有治疗作用。而补骨脂酚是毒性相对较小有效成分,有抗菌、抗肿瘤、降糖降血脂、抗氧化、消炎、雌激素样等作用^[14-18]。综上,下层渗漉液更合适入药。当然,这一结论尚需更多的药效和安全性评价研究来支持。

参 考 文 献

- [1] 梁建军,徐亚莉,田树喜,等.补骨脂研究现状及前景[J].河北中医,2013,35(12):1904-1906.
- [2] Nam S W, Baek J T, Dong S L, *et al.* A case of acute cholestatic hepatitis associated with the seeds of (Boh-Gol-Zhee) [J]. Clin Toxicol, 2005, 43(6):589-591.
- [3] 谭沛,赵超,周昆,等.补骨脂灌胃 30 天对大鼠肝毒性的实验研究[J].新疆中医药,2010,28(2):11-13.
- [4] 周昆,代志,柳占彪,等.补骨脂水提取物引起的大鼠肝损害[J].天津中医药大学学报,2013,32(4):221-224.
- [5] 毕亚男,李震,卢国彦,等.补骨脂水提取物对小鼠的肝毒性及

- 胆汁酸转运的影响[J].药物评价研究,2015,38(3):267-270.
- [6] 彭莉,张林,李品,等.潜在毒性中药探讨[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(2):227-234.
- [7] 牟文波,李慧,安会苹,等.幼年 SD 大鼠生化指标背景数据的建立和结果分析[J].中国药物警戒,2017,14(11):641-645.
- [8] 白茹玉,张盼阳,毕亚男,等.补骨脂素和异补骨脂素的急性毒性和相互作用[J].药物评价研究,2018,41(6):1068-1072.
- [9] 周昆,毕亚男,史红.异补骨脂素抑制 MRP2、MRP3 所致的 HepG2 细胞内胆汁酸蓄积和毒性[J].中国药理学通报,2015,31(8):1112-1116.
- [10] Wang X, Lou Y J, Wang M X, *et al.* Furocoumarins affect hepatic cytochrome P450 and renal organic ion transporters in mice [J]. Toxicol Lett, 2012, 209(1):67-77.
- [11] 史毅,金晓红,吴伟忠,等.补骨脂乙素对舌鳞状细胞癌 Tca8113 细胞增殖的抑制作用和凋亡诱导作用及其机制[J].吉林大学学报(医学版),2016,42(4):725-730.
- [12] 渠海波,张朝.骨质疏松的研究进展[J].包头医学院学报,2013,29(3):119-121.
- [13] 刘颖,袁晓美,毕亚男,等.补骨脂对维甲酸诱导的大鼠骨质疏松的治疗[J].实验动物科学,2018,35(1):44-47.
- [14] 于悦,王亚静,皮佳鑫,等.补骨脂酚研究进展[J].山东中医药大学学报,2013,37(2):174-176+177+178.
- [15] 关丽杰,赵礼慧,邵双,等.补骨脂抑菌活性成分分析及鉴定[J].中国生物防治学报,2013,29(4):655-660.
- [16] 苗琳,马尚伟,樊官伟,等.补骨脂酚拮抗 AR 转录活性抑制雄激素诱导的前列腺癌细胞 LNCaP 的增殖[J].天津中医药,2013,30(5):291-293.
- [17] 柴丽娟,王安红,徐金虎,等.补骨脂 4 种组分对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞炎症因子的影响[J].中药新药与临床药理,2013,24(4):360-363.
- [18] 寿清耀,杨荣平,王宾豪,等.补骨脂雌激素样作用的有效成分研究[J].中药新药与临床药理,2007,(6):425-427.

Preliminary Study on Toxicity of Psoralen from Different Extractions in Rats

WANG Zhaoxin¹, YANG Li¹, LU Guoyan¹, WANG Yuefei¹, ZHANG Yue^{1,2}, ZHOU Kun^{1,2}

(1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

(2. Key Laboratory of Prescriptions, Ministry of Education, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

Abstract: Objective To study the toxicity of oral administration of rats in different extractions of psoralen, and provide a safe basis for its clinical application. **Method** One hundred and twelve SD rats were divided into 8 groups according to gender and body weight: control group, psoralen drug group, high and low dose group of osmotic lower osmosis, high osmium osmium permeation, In the low-dose group, the high-and low-dose group of psoralen osmosis drug slag (the dose of the crude drug group was 3 g/kg (raw dose), and the high and low doses of other drug-administered groups were 6 and 3 g/kg, respectively. (raw dose)), 14 in each group. After 4 weeks of continuous administration, after the end of the drug-administered period, the rats were fasted for 12 hours, and blood was taken for blood biochemical indicators. The organ was weighed and the organ coefficient was calculated and the MDA in the liver tissue was determined. Histopathological examination was performed. **Result** Compared with the control group, the liver organ coefficient, ALP and MDA of the psoralen crude drug group were significantly increased, the thymus organ coefficient and T-AOC were significantly decreased; the visceral osmosis liquid lower layer extract group was characterized by liver organ coefficient, T-AOC and ALT were significantly increased; the liver organ coefficient and MDA of the high-dose group of psoralen and sputum slag were significantly increased while the T-AOC value of female rats was significantly decreased, while the low-dose group of drug residue did not have liver or kidney. The toxicity index was significant; there was no significant difference in the upper layer of psoralen permeation. **Conclusion** The safety of the upper osmotic liquid of psoralen is better than that of the lower osmotic liquid of psoralen. However, based on the result of the determination of active ingredients, the lower layer of osmotic solution is more suitable for the drug site.

Key words: Psoralen; hepatotoxicity; different extractions