

芒果叶提取物芒果苷安全性评价Ⅲ:长期毒性试验

郝二伟^{1,2} 王勤¹ 谭珍瑗³ 王峥屹⁴ 邓家刚^{1,2}

(1 广西中医药大学广西中药药效研究重点实验室, 南宁, 530200; 2 广西农作物废弃物功能成分研究协同创新中心, 南宁, 530200; 3 广西医科大学, 南宁, 530021; 4 四川天然药物研究所, 成都, 610041)

摘要 目的:通过 Beagle 犬长期灌胃给药,考察芒果苷的长期毒性,为临床安全用药的剂量设计提供参考。方法:芒果苷以 0.2, 1.0, 0 g/kg 剂量灌服给予 Beagle 犬,对照组给予 0.5% CMC-Na。给药 1 次/d,连续 1 个月。测体重、体温 1 次/周,并根据体重调整给药量。于给药前、给药结束和恢复结束时进行眼科检查、心电图分析、尿液分析,并采血进行血液、血液生化学、血液电解质、血凝等检测,给药结束时各组取 4 只犬麻醉后取骨髓涂片检查,然后放血处死,进行系统尸解和组织病理学检查。给药结束后各组剩余 2 只犬停药,常规喂 2 周,进行可逆性和延迟毒性观察。结果:在给药期间,给药犬粪便颜色加深,但粪便形状、排便次数、排便量均正常;其余外观体征、行为活动、腺体分泌、摄食情况等无明显异常。芒果苷连续给予 Beagle 犬 1 个月:犬体重增长正常,各给药组在各时点对对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);犬心率 G 波、PR 间期、QRS 间期、QT 间期、ST 段偏移量均正常,各给药组在各时点与对照组比较,心率差异无统计学意义($P > 0.05$);血液学各指标均正常;血液生化学各指标均正常。无论给药前,还是给药后,各犬左右两眼曲光介质透明度、视网膜、血管、视乳头均基本正常,未见有供试品引起的明显改变。芒果苷连续给予 Beagle 犬 1 个月,与对照组比较,给药犬骨髓增生活跃,粒系细胞与红系有核细胞比例正常,粒系及红系各阶段细胞比例未见异常,淋巴系和巨核细胞系亦无特殊,属正常骨髓象;各给药组在各时点与对照组比较,骨髓各类细胞均无明显异常。芒果苷连续给予 Beagle 犬 1 个月及停药恢复 2 周,与对照组比较,给药犬脏器重量及系数基本正常,各给药组在各时点与对照组比较,高剂量组在给药结束时睾丸和附睾重量和系数均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:芒果苷连续给药 1 个月和停药恢复 2 周,各给药组均有一些散在病变发生,但病变特征没有共性,也未见有剂量-毒性关系,且部分改变也见于对照组,未发现在供试品剂量范围,因供试品导致的 Beagle 犬的特征病变和毒性靶器官,给药剂量与药时曲线下面积呈正相关,长期经口给予芒果苷于 Beagle 犬体内显露无蓄积倾向。Beagle 犬安全剂量上限范围为 4 g/kg,为人临床拟推荐剂量的 127 倍。因此,按临床拟推荐剂量用药应是比较安全的。

关键词 芒果苷;长期毒性;大鼠

Safety Evaluation of Mangiferin Extracted from Mango Leaf—Long-term Toxicity Test

Hao Erwei^{1,2}, Wang Qin¹, Tan Zhenyuan³, Wang Zhengyi⁴, Deng Jiagang^{1,2}

(1 Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Nanning 530200, China; 2 Guangxi Collaborative Innovation Center for Functional Ingredients Study of Agricultural Residues, Nanning 530200, China; 3 Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530021, China; 4 Sichuan Institute of Natural Medicine, Chengdu 610041, China)

Abstract Objective: To study long-term toxicity of mangiferin and to provide reference for the safety dose of clinical drugs. **Methods:** Mangiferin was given to Beagle dogs at a dose of 0.2 g/kg, 1 g/kg and 4 g/kg. The control group was given 0.5% CMC-Na once a day, lasting 1 month. To measure body weight once a week, body temperature 1 times, and adjust the dosage according to body weight. The blood, blood biochemistry, blood electrolytes, blood clotting and other tests were performed at the end of administration. Also, the blood samples were collected at the end of the administration. After given anesthesia, take bone marrow smear, and then bleeding dogs to death for autopsy and histopathological examination. At the end of the administration, the remaining 2 dogs in each group were routinely fed for 2 weeks to observe reversibility and delayed toxicity. **Results:** During the period, the color of the dogs was deepened, but their stool shape, defecation frequency and defecation volume were normal. Other signs including behavioral activities, glandular secretion and feeding did not change obviously. **Results:** Showed that there was no significant difference between the control group and the experiment group at each time point. The dog heart rate G wave, PR interval, QRS interval, QT interval, ST segment offset were normal. At each time point, compared with the control group, heart rate were of no significant differ-

基金项目:广西国际科技合作项目(桂科合 1347004-16);广西重点实验室建设项目(15-140-31);广西农作物废弃物功能成分研究协同创新中心建设(CICAR2015-Z1)

作者简介:郝二伟(1980.04—),男,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:中药药效筛选及中药基础理论研究,E-mail:ewhao@163.com;王勤(1957.06—),男,硕士,教授,硕士研究生导师,研究方向:中药药理学研究,E-mail:wq@gxtcmu.edu.cn

通信作者:邓家刚(1953.07—),男,学士,教授,博士研究生导师,研究方向:中药药效筛选及中药基础理论研究,E-mail:dengjg53@126.com

ence, hematology indicators were normal and blood biochemical indicators were normal in the treatment groups. Before and after treatment, eyes light media transparency, retina, blood vessels, optic papilla are basically normal in all groups, and no significant changes was caused by the test sample. Mangiferins were given to Beagle dogs for 1 month, and compared with the control group, the bone marrow hyperplasia was active, the proportion of granulocytes and erythroid nucleated cells, the proportion of granulocytes and erythrocytes, megakaryocyte cell line are all normal. Compared with the control group, bone marrow cells were with no significant abnormalities in all treatment group. Mangiferins were given Beagle dogs for 1 month and recovered for 2 weeks. Compared with the control group, the weight and coefficient of the organs in the treatment group were normal at each time point. The weight and coefficient of testes and epididymis were significantly higher than those of the control group at the end of the experiment ($P < 0.05$).

Conclusion: Mangiferin was administered continuously for 1 week and stopped for 2 weeks. There were some scattered lesions in the treatment group, but the lesion was not common and no dose-toxicity relationship was observed. In the control group, it was found that the dose and the target organ of Beagle dogs caused by the test product were positively correlated with the area under the curve, and the long-term oral administration of mangiferin showed a tendency to accumulate in Beagle dogs. The Beagle dogs have a maximum dose limit of 4 g / kg, which is 127 times higher than the clinical recommended dose. Therefore, clinical recommended dose should be safe.

Key Words Mangiferin; Long-term Toxicity; Rat

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.07.049

芒果苷 (Mangiferin) 是芒果叶 (*Mangifera indica* L.) 中的主要活性成分, 是一种天然多酚类化合物, 具有广泛的药理活性, 主要集中在抗炎、解热、镇咳、免疫调节、抗病毒、及抗肿瘤作用等方面^[1-7]。对于芒果苷的毒性研究一直未见报道, 课题组对芒果苷的毒性进行了系统的评价, 本文主要介绍芒果苷长期毒性评价的结果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 Beagle 犬, 普通组, 雌雄各半, 年龄 5~6 个月, 体重 6.00~7.55 kg; 供应单位: 广东省高要市康达实验动物科技有限公司; 质量合格证号: 粤检证字 2005A030; 生产许可证号: SCXK(粤)2004-0009。

1.1.2 药物 芒果苷, 广西中医药大学提供, 纯度 94%, 批号: 20070828。

1.1.3 试剂与仪器 血液生化试剂, 由利德曼科技有限公司提供; 血象试剂, 由上海东湖仪器试剂科技有限责任公司提供。血凝试剂, 由西安交大开元生物科技开发有限公司提供; 电解质试剂, 由深圳航创医疗设备有限公司提供; 尿试剂由拜耳诊断生产有限公司提供。全自动生化仪 (日本 TOKYO BOEKI 公司); 血液细胞自动分析仪 (日本光电公司); 血凝仪 (培康医疗电子有限公司); 电解质仪 (深圳航创医疗设备有限公司); 多道生理记录仪 (成都仪器厂); 尿分析仪 (拜耳公司)。

1.2 方法^[8-15]

1.2.1 动物分组与给药 Beagle 犬按体重、性别随

机分为 4 组, 每组 6 只, 雌雄各半, 分别为对照组及芒果苷低、中、高剂量组。芒果苷配制成不同浓度药液后, 按 0.2, 1, 4 g/kg 剂量灌服给予 Beagle 犬, 对照组给予 0.5% CMC-Na, 给药 1 次/d, 连续 1 个月。

1.2.2 观测指标与方法 一般症状、体重观察: 每日观察 Beagle 犬外观体征、行为活动、腺体分泌、粪便情况、摄食量等。观察期 2 次, 开始给药后每周测定体重 1 次。

心电图: 首次给药前 (观察适应期) 测 2 次, 给药结束和恢复结束时各测 1 次, 共计 4 次。检测心率、T 波振幅、P-R 间期、QRS 间期、Q-T 间期、S-T 偏移量。

血液学指标: 首次给药前 (观察适应期) 测 2 次, 给药结束和恢复结束时各测 1 次, 共计 4 次。检测红细胞 (RBC)、白细胞及分类 (WBC, DC)、血小板 (PLT)、血小板压积 (PCT)、血红蛋白 (HGB)、血细胞压积 (HCT)、平均红细胞体积 (MCV)、平均血红蛋白量 (MCH)、平均血红蛋白浓度 (MCHC)、网织红细胞 (Ret)、中性粒细胞 (N)、淋巴细胞 (L)、嗜酸性粒细胞 (E)、嗜碱性粒细胞 (B)、单核细胞 (M)、凝血酶原时间 (PT)。

血液生化学指标: 首次给药前 (观察适应期) 测 2 次, 给药结束和恢复结束时各测 1 次, 共计 4 次。检测两氨基酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、血糖 (GLU)、尿素氮 (Urea)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、总胆红素 (TBIL)、肌酐 (Crea)、总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、肌酸激酶 (CK)、 γ -谷氨酰转移酶 (GGT)、钾

离子浓度 (K⁺)、钠离子浓度 (Na⁺)、氯离子浓度 (Cl⁻)。

眼科检查:首次给药前(观察适应期)测2次,给药结束和恢复结束时各测1次,共计4次。检测眼睛分泌物、视网膜、视网膜血管、视神经乳头、曲光介质透明度。

骨髓检查:活体抽取犬骨髓涂片染色镜检。给药结束和恢复结束时各测1次,共计2次。检测巨核细胞系、粒细胞系、单核细胞系、红细胞系、有核细胞增生程度、巨核细胞数。

脏器重量及脏器系数:给药结束和恢复结束时各测1次,共计2次。检测脑、心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胸腺、睾丸、附睾、卵巢、子宫。

组织病理学检查:给药结束和恢复结束时各测1次,共计2次。检测脑、视神经、垂体、心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、脊髓、胸腺、胃、胰腺、大肠和小肠、膀胱、淋巴结、甲状旁腺、坐骨神经、唾液腺、主动脉、睾丸、附睾、前列腺、卵巢、子宫、乳腺、气管、咽、喉、支气管、食管、胸骨、胆囊、眼等脏器病理变化。

1.3 统计学方法 心电图、血液学检查、血液生化检查、脏器重量及脏器系数等用SPSS统计软件分析,组间比较采用方差分析,尿液指标采用秩和检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 芒果苷对 Beagle 犬一般症状、体重的影响 在

给药期间,给药犬粪便颜色加深,但粪便形状、排便次数、排便量均正常。其余外观体征、行为活动、腺体分泌、摄食情况等无明显异常。芒果苷连续给予 Beagle 1 犬 1 个月,犬体重增长正常,各给药组在各时点对对照组比较,差异均无统计学意义(P>0.05)。

2.2 芒果苷对 Beagle 犬心电图的影响 芒果苷连续给予 Beagle 犬 1 个月,犬心率 G 波、PR 间期、QRS 间期、QT 间期、ST 段偏移量均正常,各给药组在各时点与对照组比较,心率差异均无统计学意义(P>0.05)。见表 1。

2.3 芒果苷对 Beagle 犬血液学的影响 芒果苷连续给予 1 个月,各血液学各指标均正常;给药组在各时点与对照组比较,差异均无统计学意义(P>0.05)。见表 2~4。

2.4 芒果苷对 Beagle 犬血液生化学的影响 芒果苷连续给予 1 个月,与对照犬比较,血液生化学各指标均正常;各给药组在各时点与对照组比较,差异均无统计学意义(P>0.05)。见表 5~7。

2.5 芒果苷对 Beagle 犬眼科检查的影响 无论给药前,还是给药后,各犬左右两眼曲光介质透明度、视网膜、血管、视乳头均基本正常,未见有供试品引起的明显改变。停药恢复 2 星期后,也未见以上各指标有明显改变。

2.6 芒果苷对 Beagle 犬骨髓检查的影响 芒果苷

表 1 芒果苷对 Beagle 犬心电图的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	心率(次/min)	T波(mV)	PR间期(ms)	QRS间期(ms)	QT间期(ms)	ST段偏移量(mV)
空白对照组							
观察期第1次	6	129.39±26.33	0.32±0.11	73±8	83±11	227±33	0.03±0.01
观察期第2次	6	132.10±31.71	0.21±0.08	73±11	84±15	255±28	0.03±0.02
给药结束	6	130.73±35.39	0.25±0.13	74±8	86±6	247±51	0.04±0.02
恢复结束	2	141.65±19.27	0.21±0.06	79±4	71±18	211±18	0.05±0.03
低剂量组							
观察期第1次	6	144.90±29.77	0.29±0.11	80±12	83±22	245±28	0.04±0.01
观察期第2次	6	144.82±17.35	0.26±0.14	74±15	84±10	255±53	0.05±0.02
给药结束	6	133.09±15.87	0.20±0.11	73±17	86±16	255±29	0.07±0.04
恢复结束	2	167.70±1.53	0.16±0.06	86±4	74±9	212±14	0.04±0.01
中剂量组							
观察期第1次	6	123.71±14.37	0.21±0.06	79±14	76±11	258±34	0.03±0.02
观察期第2次	6	145.51±9.68	0.13±0.03	76±9	74±11	237±33	0.03±0.02
给药结束	6	128.76±21.96	0.13±0.05	75±5	73±12	244±52	0.04±0.03
恢复结束	2	14.06±19.66	0.10±0.04	88±9	60±2	220±3	0.04±0.00
高剂量组							
观察期第1次	6	136.86±20.93	0.20±0.17	87±15	74±17	235±52	0.05±0.02
观察期第2次	6	121.48±14.00	0.20±0.12	77±7	72±13	234±42	0.04±0.03
给药结束	6	120.21±28.23	0.13±0.05	81±13	76±7	252±30	0.04±0.02
恢复结束	2	161.80±23.72	0.12±0.05	88±8	62±1	198±6	0.03±0.01

表2 芒果苷对 Beagle 犬血液学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	白细胞(WBC) ($1 \times 10^9/L$)	红细胞(RBC) ($1 \times 10^{12}/L$)	血红蛋白(HGB) (g/L)	血细胞压积(HCT) (%)	血小板(PLT) ($\times 10^9/L$)
空白对照组						
观察期第1次	6	12.9 ± 4.2	6.63 ± 0.53	136 ± 11	40.9 ± 3.7	390 ± 130
观察期第2次	6	14.4 ± 3.1	6.42 ± 0.51	133 ± 11	39.9 ± 3.5	370 ± 96
给药结束	6	11.5 ± 1.3	7.40 ± 0.52	158 ± 10	45.1 ± 2.6	376 ± 86
恢复结束	2	16.0 ± 8.0	7.23 ± 0.37	154 ± 1	44.2 ± 0.0	352 ± 257
低剂量组						
观察期第1次	6	13.4 ± 2.1	6.37 ± 0.25	130 ± 7	38.9 ± 2.0	437 ± 97
观察期第2次	6	13.2 ± 3.2	6.31 ± 0.36	130 ± 6	38.6 ± 1.5	477 ± 65
给药结束	6	12.4 ± 5.1	7.08 ± 0.42	150 ± 6	42.9 ± 2.1	455 ± 85
恢复结束	2	12.3 ± 0.6	6.96 ± 1.05	149 ± 11	42.7 ± 5.7	506 ± 144
中剂量组						
观察期第1次	6	10.8 ± 1.5	6.35 ± 0.56	130 ± 15	38.7 ± 4.6	344 ± 90
观察期第2次	6	13.0 ± 2.8	6.15 ± 0.34	126 ± 9	37.7 ± 2.8	370 ± 93
给药结束	6	9.7 ± 1.4	7.09 ± 0.73	152 ± 16	43.4 ± 5.0	383 ± 66
恢复结束	2	11.1 ± 6.2	6.95 ± 0.21	152 ± 11	43.5 ± 4.2	347 ± 161
高剂量组						
观察期第1次	6	12.9 ± 3.7	6.47 ± 0.20	130 ± 6	39.0 ± 1.6	444 ± 97
观察期第2次	6	10.9 ± 1.7	6.26 ± 0.24	126 ± 5	38.0 ± 1.8	437 ± 146
给药结束	6	9.9 ± 1.7	7.06 ± 0.40	150 ± 8	43.3 ± 2.5	442 ± 84
恢复结束	2	10.5 ± 3.7	6.64 ± 0.44	146 ± 12	40.9 ± 3.5	477 ± 28

表3 芒果苷对 Beagle 犬血液学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	血小板压积 (PCT)(%)	平均血细胞体积 (MCV)(fL)	平均血红蛋白量 (MCH)(pg)	平均血红蛋白浓度 (MCHC)(g/L)	网织红细胞 (Ret)(%)
空白对照组						
观察期第1次	6	0.32 ± 0.09	61.8 ± 2.9	20.5 ± 1.0	332 ± 4	0.42 ± 0.20
观察期第2次	6	0.31 ± 0.03	62.1 ± 2.5	20.7 ± 0.9	333 ± 6	0.41 ± 0.09
给药结束	6	0.31 ± 0.04	61.0 ± 2.2	21.4 ± 1.0	349 ± 8	0.40 ± 0.23
恢复结束	2	0.26 ± 0.11	61.2 ± 3.1	21.4 ± 0.9	349 ± 4	0.33 ± 0.04
低剂量组						
观察期第1次	6	0.38 ± 0.10	61.1 ± 1.7	20.4 ± 0.6	334 ± 3	0.49 ± 0.17
观察期第2次	6	0.38 ± 0.08	61.2 ± 2.0	20.6 ± 0.7	337 ± 3	0.40 ± 0.06
给药结束	6	0.38 ± 0.11	60.7 ± 1.6	21.2 ± 0.5	350 ± 4	0.25 ± 0.09
恢复结束	2	0.45 ± 0.17	61.4 ± 1.1	21.5 ± 1.7	350 ± 22	0.40 ± 0.21
中剂量组						
观察期第1次	6	0.32 ± 0.05	60.9 ± 3.0	20.4 ± 0.9	334 ± 3	0.63 ± 0.29
观察期第2次	6	0.34 ± 0.05	61.3 ± 2.6	20.5 ± 0.9	335 ± 3	0.58 ± 0.13
给药结束	6	0.35 ± 0.03	61.2 ± 2.3	21.5 ± 0.9	350 ± 5	0.37 ± 0.16
恢复结束	2	0.30 ± 0.10	62.6 ± 4.2	21.8 ± 0.9	349 ± 10	0.25 ± 0.00
高剂量组						
观察期第1次	6	0.34 ± 0.10	60.3 ± 1.1	20.1 ± 0.4	333 ± 3	0.54 ± 0.29
观察期第2次	6	0.33 ± 0.11	60.6 ± 1.0	20.1 ± 0.3	332 ± 2	0.53 ± 0.33
给药结束	6	0.32 ± 0.07	61.4 ± 1.1	21.3 ± 0.4	347 ± 5	0.42 ± 0.10
恢复结束	2	0.31 ± 0.04	61.6 ± 1.2	21.9 ± 0.4	356 ± 1	0.20 ± 0.00

连续给予 Beagle 犬 1 个月,与对照组比较,给药犬骨髓增生活跃,粒系细胞与红系有核细胞比例正常,粒系及红系各阶段细胞比例未见异常,淋巴系和巨核细胞系亦无特殊,属正常骨髓象;各给药组在各时点与对照组比较,骨髓各类细胞均无明显异常。见表 8~9。

2.7 芒果苷对 Beagle 犬脏器重量及脏器系数的影

响 芒果苷连续给予 Beagle 犬 1 个月及停药恢复 2 周,与对照组比较,给药犬脏器系数基本正常;各给药组在各时点与对照组比较,高剂量组在给药结束时睾丸和附睾系数明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),其余各组与对照组比较,异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 10~11。

表4 芒果苷对 Beagle 犬血液学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	中性粒细胞 (N)(%)	淋巴细胞 (L)(%)	嗜酸性粒细胞 (E)(%)	嗜碱性粒细胞 (B)(%)	单核细胞 (M)(%)	凝血酶原时间 (PT)(s)
空白对照组							
观察期第1次	6	62 ± 11	36 ± 11	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1	11.1 ± 3.4
观察期第2次	6	67 ± 11	32 ± 11	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	9.8 ± 2.1
给药结束	6	70 ± 5	28 ± 4	0 ± 1	0 ± 0	1 ± 1	15.5 ± 7.6
恢复结束	2	76 ± 1	23 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 0	13.7 ± 0.9
低剂量组							
观察期第1次	6	69 ± 6	29 ± 7	0 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	9.3 ± 1.8
观察期第2次	6	68 ± 6	30 ± 6	1 ± 1	0 ± 0	2 ± 1	10.0 ± 1.3
给药结束	6	71 ± 6	28 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0	10.0 ± 1.7
恢复结束	2	67 ± 6	32 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1	13.3 ± 6.9
中剂量组							
观察期第1次	6	64 ± 6	34 ± 6	0 ± 1	0 ± 0	2 ± 0	11.0 ± 3.0
观察期第2次	6	66 ± 4	32 ± 5	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 0	10.3 ± 2.5
给药结束	6	67 ± 4	32 ± 5	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1	15.2 ± 5.8
恢复结束	2	69 ± 1	30 ± 2	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 0	11.9 ± 3.5
高剂量组							
观察期第1次	6	71 ± 9	27 ± 9	0 ± 1	0 ± 0	2 ± 1	9.4 ± 1.3
观察期第2次	6	70 ± 8	28 ± 8	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1	9.6 ± 1.0
给药结束	6	70 ± 7	29 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1	12.9 ± 3.9
恢复结束	2	71 ± 4	28 ± 4	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1	10.8 ± 1.4

表5 芒果苷对 Beagle 犬血液生化学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	丙氨酸转氨酶 (ALT)(IU/L)	天门冬氨酸转氨酶 (AST)(IU/L)	总蛋白 (TP)(g/L)	白蛋白 (ALB)(g/L)	总胆固醇 (TC)(mmol/L)
空白对照组						
观察期第1次	6	27.67 ± 2.92	33.84 ± 3.40	59.82 ± 3.11	33.19 ± 1.66	6.50 ± 1.50
观察期第2次	6	28.15 ± 1.66	35.60 ± 3.42	54.19 ± 2.11	31.56 ± 1.61	6.33 ± 1.43
给药结束	6	31.62 ± 2.49	36.15 ± 9.54	59.87 ± 3.41	33.30 ± 1.70	6.48 ± 1.22
恢复结束	2	36.11 ± 5.75	32.96 ± 3.10	55.68 ± 3.97	30.34 ± 1.57	4.82 ± 0.70
低剂量组						
观察期第1次	6	31.86 ± 5.21	33.12 ± 1.44	59.29 ± 2.18	32.28 ± 0.92	6.96 ± 0.51
观察期第2次	6	38.04 ± 15.52	45.05 ± 21.28	55.10 ± 2.01	31.55 ± 0.96	6.90 ± 0.74
给药结束	6	33.80 ± 6.77	33.35 ± 4.60	59.48 ± 2.20	33.25 ± 1.14	6.83 ± 0.62
恢复结束	2	39.72 ± 7.25	34.62 ± 7.69	57.62 ± 1.02	31.80 ± 2.66	7.29 ± 0.42
中剂量组						
观察期第1次	6	29.71 ± 2.27	33.58 ± 6.39	57.75 ± 2.13	32.70 ± 0.95	6.52 ± 0.76
观察期第2次	6	31.48 ± 3.82	38.39 ± 8.32	53.92 ± 1.09	31.75 ± 0.82	6.07 ± 0.43
给药结束	6	32.20 ± 2.20	32.60 ± 3.92	58.00 ± 1.80	32.51 ± 1.10	6.22 ± 0.87
恢复结束	2	34.34 ± 2.06	34.61 ± 2.47	58.22 ± 2.06	33.78 ± 0.91	6.42 ± 1.04
高剂量组						
观察期第1次	6	33.81 ± 8.90	32.00 ± 5.51	59.20 ± 2.13	32.04 ± 2.21	6.72 ± 1.80
观察期第2次	6	33.15 ± 5.30	36.10 ± 6.92	54.56 ± 3.14	30.06 ± 2.55	6.35 ± 2.06
给药结束	6	34.82 ± 5.77	37.19 ± 6.25	58.29 ± 2.24	31.32 ± 2.22	4.85 ± 0.64
恢复结束	2	30.49 ± 3.38	37.53 ± 1.32	53.00 ± 1.90	31.22 ± 2.52	4.98 ± 0.79

表6 芒果苷对 Beagle 犬血液生化学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	血糖 (GLU)(mmol/L)	谷氨酰转氨酶 (GGT)(IU/L)	总胆红素 (T-bil)(μmol/L)	碱性磷酸酶 (ALP)(IU/L)	三酰甘油 (TG)(mmol/L)
空白对照组						
观察期第1次	6	5.09 ± 0.44	3.30 ± 0.89	4.48 ± 0.35	164.14 ± 35.22	0.60 ± 0.12
观察期第2次	6	4.73 ± 0.47	2.83 ± 1.47	4.41 ± 0.90	144.60 ± 56.35	0.68 ± 0.20
给药结束	6	5.07 ± 0.60	7.71 ± 2.21	6.14 ± 1.86	167.84 ± 35.91	0.48 ± 0.16

续表6 芒果苷对 Beagle 犬血液生化学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	血糖 (GLU) (mmol/L)	谷氨酰转氨酶 (GGT) (IU/L)	总胆红素 (T-bil) (μ mol/L)	碱性磷酸酶 (ALP) (IU/L)	三酰甘油 (TG) (mmol/L)
恢复结束 低剂量组	2	5.21 \pm 0.17	8.25 \pm 2.18	4.26 \pm 0.00	159.80 \pm 53.46	0.67 \pm 0.25
观察期第1次	6	5.42 \pm 0.41	3.20 \pm 1.03	4.13 \pm 0.49	156.03 \pm 23.20	0.66 \pm 0.15
观察期第2次	6	5.31 \pm 0.56	3.61 \pm 1.20	4.64 \pm 1.07	169.04 \pm 35.21	0.84 \pm 0.26
给药结束	6	5.56 \pm 0.36	5.93 \pm 1.81	4.57 \pm 0.26	153.96 \pm 29.41	0.60 \pm 0.10
恢复结束 中剂量组	2	5.79 \pm 0.47	6.72 \pm 0.86	4.93 \pm 0.59	118.65 \pm 40.97	0.83 \pm 0.17
观察期第1次	6	5.49 \pm 0.44	3.39 \pm 1.67	4.21 \pm 0.60	171.09 \pm 25.74	0.66 \pm 0.17
观察期第2次	6	5.21 \pm 0.74	3.95 \pm 1.37	4.06 \pm 0.61	180.42 \pm 32.77	0.72 \pm 0.16
给药结束	6	5.41 \pm 0.77	6.07 \pm 2.18	5.55 \pm 1.30	187.42 \pm 27.09	0.58 \pm 0.09
恢复结束 高剂量组	2	5.40 \pm 0.95	9.50 \pm 3.78	4.90 \pm 0.04	211.17 \pm 21.61	0.83 \pm 0.18
观察期第1次	6	5.60 \pm 0.37	3.11 \pm 1.41	4.36 \pm 0.46	179.76 \pm 36.86	0.70 \pm 0.20
观察期第2次	6	5.26 \pm 0.25	4.34 \pm 2.14	4.06 \pm 1.11	171.56 \pm 44.33	0.73 \pm 0.15
给药结束	6	5.28 \pm 0.35	6.56 \pm 2.12	5.01 \pm 0.49	161.99 \pm 40.89	0.58 \pm 0.19
恢复结束	2	5.90 \pm 0.35	8.81 \pm 2.40	5.86 \pm 2.13	148.69 \pm 20.89	0.98 \pm 0.02

表7 芒果苷对 Beagle 犬血液生化学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	肌酐 (Crea) (μ mol/L)	尿素氮 (Urea) (mmol/L)	肌酸激酶 (CK) (IU/L)	钾离子浓度 (K ⁺) (mmol/L)	钠离子浓度 (Na ⁺) (mmol/L)	氯离子浓度 (Cl ⁻) (mmol/L)
空白对照组							
观察期第1次	6	103.85 \pm 13.30	2.59 \pm 0.55	190.84 \pm 29.40	4.91 \pm 0.14	148.7 \pm 4.7	110.9 \pm 6.2
观察期第2次	6	93.35 \pm 8.02	2.72 \pm 0.47	172.83 \pm 35.73	5.06 \pm 0.21	150.2 \pm 1.6	110.1 \pm 5.0
给药结束	6	120.36 \pm 11.27	3.05 \pm 1.16	241.01 \pm 188.77	5.19 \pm 0.26	148.2 \pm 1.1	104.0 \pm 1.1
恢复结束 低剂量组	2	113.69 \pm 11.70	2.50 \pm 0.38	170.87 \pm 17.75	4.91 \pm 0.34	151.3 \pm 1.4	103.6 \pm 2.3
观察期第1次	6	92.89 \pm 8.72	2.17 \pm 0.84	202.29 \pm 49.94	4.63 \pm 0.21	149.5 \pm 1.3	112.4 \pm 0.6
观察期第2次	6	88.80 \pm 9.57	2.54 \pm 0.72	223.53 \pm 108.83	4.90 \pm 0.18	150.8 \pm 0.8	108.1 \pm 5.2
给药结束	6	111.63 \pm 11.41	2.73 \pm 1.11	182.83 \pm 44.58	5.09 \pm 0.26	149.0 \pm 1.7	103.5 \pm 0.8
恢复结束 中剂量组	2	124.64 \pm 12.49	5.07 \pm 2.87	224.58 \pm 71.22	4.75 \pm 0.07	150.0 \pm 1.3	102.5 \pm 0.7
观察期第1次	6	96.72 \pm 9.52	2.65 \pm 0.55	185.11 \pm 59.18	4.71 \pm 0.16	149.0 \pm 1.5	112.1 \pm 1.5
观察期第2次	6	89.33 \pm 8.75	2.47 \pm 0.37	204.95 \pm 99.02	4.91 \pm 0.18	150.6 \pm 1.1	113.0 \pm 1.6
给药结束	6	115.98 \pm 5.08	2.79 \pm 0.48	179.62 \pm 48.18	5.12 \pm 0.32	147.4 \pm 1.1	102.6 \pm 2.8
恢复结束 高剂量组	2	122.55 \pm 4.74	4.22 \pm 0.35	164.85 \pm 3.05	5.00 \pm 0.06	150.0 \pm 0.5	102.5 \pm 0.7
观察期第1次	6	97.97 \pm 21.26	3.07 \pm 2.05	171.65 \pm 38.04	4.69 \pm 0.24	150.0 \pm 1.3	112.4 \pm 1.2
观察期第2次	6	92.59 \pm 24.56	3.81 \pm 3.38	193.22 \pm 45.89	5.00 \pm 0.11	150.7 \pm 1.3	113.5 \pm 0.6
给药结束	6	109.20 \pm 12.36	2.92 \pm 0.44	223.12 \pm 43.60	5.06 \pm 0.17	147.4 \pm 1.2	104.4 \pm 1.0
恢复结束	2	101.37 \pm 5.37	2.78 \pm 0.47	211.11 \pm 14.65	4.84 \pm 0.03	149.7 \pm 0.9	101.7 \pm 0.4

表8 芒果苷对 Beagle 犬骨髓检查的影响(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	原粒	早幼粒	中幼粒	晚幼粒	杆幼粒	嗜酸
空白对照组							
给药结束	4	0.2 \pm 0.3	1.8 \pm 0.5	4.6 \pm 1.2	8.5 \pm 2.7	43.8 \pm 1.3	0.0 \pm 0.0
恢复结束 低剂量组	2	0.0 \pm 0.0	1.0 \pm 0.7	4.5 \pm 2.1	10.8 \pm 0.4	39.2 \pm 2.5	0.2 \pm 0.4
给药结束	4	0.1 \pm 0.2	1.8 \pm 0.3	4.6 \pm 0.9	8.9 \pm 1.1	42.0 \pm 3.0	0.4 \pm 0.2
恢复结束 中剂量组	2	0.2 \pm 0.4	1.2 \pm 1.1	5.2 \pm 0.4	10.2 \pm 1.1	39.5 \pm 1.4	0.0 \pm 0.0
给药结束	4	0.0 \pm 0.0	1.6 \pm 0.5	4.4 \pm 0.9	8.2 \pm 0.6	41.2 \pm 4.1	0.1 \pm 0.2
恢复结束 高剂量组	2	0.2 \pm 0.4	2.2 \pm 0.4	4.0 \pm 0.7	10.8 \pm 0.4	41.5 \pm 2.1	0.2 \pm 0.4
给药结束	4	0.1 \pm 0.2	1.1 \pm 0.2	4.9 \pm 0.8	8.4 \pm 2.0	41.0 \pm 2.2	0.1 \pm 0.2
恢复结束	2	0.0 \pm 0.0	2.0 \pm 0.0	4.8 \pm 1.8	10.8 \pm 1.1	41 \pm 0.7	0.2 \pm 0.4

表9 芒果苷对 Beagle 犬骨髓检查的影响 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	原红	早幼红	中幼红	晚幼红	淋巴	单核
空白对照组							
给药结束	4	0.2 ± 0.3	3.0 ± 0.7	14.1 ± 1.0	13.9 ± 0.9	8.1 ± 0.6	1.6 ± 0.5
恢复结束	2	0.0 ± 0.0	1.5 ± 1.4	17.8 ± 0.4	15.2 ± 1.1	7.8 ± 1.1	1.8 ± 0.4
低剂量组							
给药结束	4	0.2 ± 0.3	2.6 ± 0.2	15.8 ± 1.8	13.4 ± 1.9	8.4 ± 0.8	1.5 ± 0.7
恢复结束	2	0.2 ± 0.4	1.8 ± 0.4	17.0 ± 0.7	15.5 ± 1.4	7.2 ± 1.8	1.8 ± 0.4
中剂量组							
给药结束	4	0.2 ± 0.3	2.6 ± 1.0	15.9 ± 3.1	15.4 ± 0.6	8.2 ± 0.6	1.5 ± 0.4
恢复结束	2	0.2 ± 0.4	1.5 ± 0.7	15.8 ± 1.8	13.0 ± 2.1	8.5 ± 1.4	1.5 ± 0.7
高剂量组							
给药结束	4	0.1 ± 0.2	2.9 ± 0.6	16.8 ± 0.6	14.8 ± 1.2	8.1 ± 0.5	1.5 ± 0.4
恢复结束	2	0.0 ± 0.0	2.8 ± 0.4	15.8 ± 1.8	13.5 ± 2.8	7.8 ± 0.4	1.5 ± 0.0

表10 芒果苷对 Beagle 犬脏器重量的影响 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	脑	胸腺	心脏	肝脏	脾脏	肺脏
空白对照组							
给药结束	4	84.0 ± 5.1	5.43 ± 1.52	58.6 ± 3.3	229.1 ± 18.9	16.7 ± 2.5	68.6 ± 8.7
恢复结束	2	83.3 ± 5.5	3.00 ± 2.62	59.3 ± 5.2	264.4 ± 33.2	17.7 ± 4.0	68.1 ± 4.7
低剂量组							
给药结束	4	82.9 ± 6.5	5.42 ± 2.44	56.3 ± 8.0	240.0 ± 11.1	16.5 ± 2.1	68.1 ± 5.0
恢复结束	2	78.4 ± 4.5	1.74 ± 0.52	55.7 ± 0.5	255.1 ± 35.1	15.3 ± 2.5	64.6 ± 11.7
中剂量组							
给药结束	4	81.1 ± 5.6	3.91 ± 1.57	59.2 ± 5.6	210.1 ± 16.6	19.8 ± 6.1	71.0 ± 7.7
恢复结束	2	79.1 ± 0.6	2.39 ± 0.91	53.0 ± 3.6	243.7 ± 26.9	18.4 ± 5.4	66.6 ± 7.4
高剂量组							
给药结束	4	83.8 ± 5.3	2.81 ± 1.29	57.1 ± 5.3	206.8 ± 20.2	18.1 ± 2.0	67.9 ± 6.5
恢复结束	2	89.9 ± 6.2	2.16 ± 0.75	51.6 ± 1.7	260.2 ± 27.3	13.3 ± 2.3	59.5 ± 6.0

表11 芒果苷对 Beagle 犬脏器重量的影响 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	肾脏	肾上腺	睾丸	附睾	卵巢	子宫
空白对照组							
给药结束	4(其中生殖系统 n=2)	37.3 ± 2.4	1.18 ± 0.08	4.92 ± 0.21	1.03 ± 0.01	1.13 ± 0.08	1.26 ± 0.27
恢复结束	2(其中生殖系统 n=1)	39.5 ± 2.8	1.02 ± 0.01	7.36	1.64	1	1.21
低剂量组							
给药结束	4(其中生殖系统 n=2)	38.8 ± 2.1	1.23 ± 0.21	5.49 ± 0.18	1.38 ± 0.28	1.15 ± 0.08	0.88 ± 0.28
恢复结束	2(其中生殖系统 n=1)	39.7 ± 0.7	1.21 ± 0.09	5.35	1.25	1.2	1
中剂量组							
给药结束	4(其中生殖系统 n=2)	39.6 ± 4.2	1.16 ± 0.03	4.35 ± 0.87	0.85 ± 0.04	1.13 ± 0.10	0.94 ± 0.50
恢复结束	2(其中生殖系统 n=1)	36.1 ± 2.1	1.23 ± 0.06	4.74	1.17	1.09	1.15
高剂量组							
给药结束	4(其中生殖系统 n=2)	37.3 ± 4.3	1.24 ± 0.06	8.73 ± 1.65	1.75 ± 0.17	0.89 ± 0.33	1.70 ± 0.25
恢复结束	2(其中生殖系统 n=1)	41.5 ± 0.1	1.43 ± 0.11	5.46	1.3	0.84	0.87

3 讨论

Beagle 犬连续给予芒果苷 1 个月或停药恢复 2 周, 笼旁观察见给药犬粪便颜色加深, 但停药后即恢复正常。给药结束时, 高剂量组睾丸和附睾脏器重量和脏器系数均明显高于对照组; 病理检查发现, 给药结束时所有雄性犬睾丸发育良好, 曲细精管生上皮细胞并未见明显异形性; 但高剂量组部分睾丸曲

精管内可见条形的精子生成, 而对照组、低剂量组、中剂量组睾丸曲精管内看不到条形的精子生成; 恢复结束时各组镜下未见睾丸组织结构有明显异常; 无论是给药结束时还是恢复结束时, 镜下均未见附睾组织结构有异常改变。恢复结束时低剂量组 1 例脾脏囊性病变, 低倍镜下见脾脏局部被膜下有数个囊肿, 囊腔内充满红色浆液, 高倍镜下见囊肿壁有正

常脾索构成。恢复期结束时低剂量组 1 例肾脏镜下观察见局部肾间质增生,慢性炎性细胞浸润,部分肾小管扩张,诊断为局灶性间质肾炎。其余体重、体温、眼科检查、血液学、血液生化学、心电图、尿液、骨髓等指标未见有供试品引起的异常变化。

芒果苷连续给药 1 个月和停药恢复 2 周,各给药组均有一些散在病变发生,但病变特征没有共性,也未见有剂量-毒性关系,且部分改变也见于对照组,未发现在供试品剂量范围,因供试品导致的 Beagle 犬的特征病变和毒性靶器官,给药剂量与药时曲线下面积呈正相关,长期经口给予芒果苷于 Beagle 犬体内显示无蓄积倾向。Beagle 犬安全剂量上限范围为 4 g/kg,此剂量为人临床拟推荐剂量的 127 倍。因此,按临床拟推荐剂量用药应是比较安全的。

参考文献

- [1] 杨海光,方莲花,杜冠华. 芒果苷的药理作用研究进展[J]. 中国药理学通报,2016,32(1):5-8.
- [2] 卫智权,阎莉,邓家刚,等. 芒果苷调控单核细胞 NF- κ B(P65)与 I κ B α 表达对慢性支气管炎大鼠的保护作用[J]. 药学报,2014,49(5):596-601.
- [3] 郝二伟,邓家刚,杜正彩,等. 平性活血化瘀药对寒、热 2 种血瘀证双向适用的实验研究 II[J]. 中国中药杂志,2013,38(4):605-610.

(上接第 1670 页)

察期内未见动物死亡,观察结束后大体解剖均无肉眼可见的改变。本次实验对本品后续毒性实验具有一定的参考价值,对临床应用亦具有一定的参考价值。

参考文献

- [1] Sarkar A, Sreenivasan Y, Ramesh G T, et al. Beta-D-Glucoside suppresses tumor necrosis factor-induced activation of nuclear transcription factor kappaB but potentiates apoptosis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(32):33768.
- [2] 蒋杰,李明,向继洲. 知母宁抗流感病毒作用研究[J]. 中国药师, 2004, 7(5):335.
- [3] 国家食品药品监督管理局. 药物非临床研究质量管理规范[J]. 中国医药导刊, 2003, 5(5):364-366.
- [4] 王治乔,袁伯俊. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京:军事医学科学出版社,1997:117-151.
- [5] 陈奇. 中药药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:

- [4] 卫智权,阎莉,邓家刚,等. 芒果苷对脂多糖诱导的慢性炎症大鼠 MAPK 通路及血清细胞因子的影响[J]. 中草药,2013,44(1):52-58.
 - [5] 任晓光,李东伟,何彩梅,等. 芒果苷药理活性研究进展[J]. 中成药,2011,33(5):860-863.
 - [6] 邓家刚,郑作文,郝二伟,等. 芒果苷片治疗急性支气管炎的药效学研究[J]. 中成药,2010,32(2):300-303.
 - [7] 赵磊,彭雪晶,夏鹏飞,等. 桉柳化学成分研究[J]. 中药材,2014,37(1):61-63.
 - [8] 袁伯俊,王治乔. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京:军事医学科学出版社,1997:43.
 - [9] 徐叔云,卞如濂. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:231.
 - [10] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:82,260.
 - [11] 艾国,王德文,黄正明,等. 金丝桃苷对 Beagle 犬的长期毒性研究[J]. 中国新药杂志,2015,24(14):1641-1647.
 - [12] 李欣,李斌,赵涛,等. 单缬螺复方对 Beagle 犬的长期毒性研究[J]. 药物评价研究,2014,37(1):47-52.
 - [13] 胡正芳,柳燕,李除夕,等. 南五味子软胶囊对 Beagle 犬的长期毒性研究[J]. 中药药理与临床,2013,29(3):97-100.
 - [14] 黄晓舞,梅世昌,李外. 银杏内酯 B 注射液对 Beagle 犬的长期毒性研究[J]. 中国药房,2008,19(30):2338-2341.
 - [15] 杨解人,丁伯平,陈国祥,等. 丹参葡萄糖注射液对 Beagle 犬的长期毒性研究[J]. 皖南医学院学报,2005,24(1):14-19.
- (2017-05-12 收稿 责任编辑:杨觉雄)

528-534.

- [6] 蒋文燕,何永亮,杨锋,等. 益母草注射液小鼠急性毒性和 Beagle 犬重复给药毒性试验研究[J]. 四川动物,2016,35(6):871-878.
 - [7] 李健,李茹冰,张强,等. 盐酸椒苯酰胺对大鼠和 Beagle 犬的急性毒性实验研究[J]. 中国药房,2016,27(10):1315-1318.
 - [8] 鲁湘鄂,关业枝,郭起岳,等. 喘平滴丸对 Beagle 犬的急性毒性和长期毒性实验研究[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(15):1536-1538.
 - [9] 宋健平,范华倩,茹丽,等. Beagle 犬单次灌胃哌啶的急性毒性[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2013,27(3):524.
 - [10] 李伟,齐卫红,刘运强,等. 喜炎平注射液在 Beagle 犬的急性毒性和长期毒性研究[J]. 中国临床药理学杂志,2013,29(1):51-53.
 - [11] 齐卫红,李欣,沈连忠,等. Beagle 犬经口给予六神丸急性毒性研究[J]. 毒理学杂志,2007,21(4):303-304.
- (2017-05-12 收稿 责任编辑:杨觉雄)