

芒果叶提取物芒果苷安全性评价 I : 安全药理学试验

王 勤¹ 郝二伟^{1,2} 谭珍媛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:观察芒果苷对神经系统、心血管系统和呼吸系统的影响,明确其一般药理活性,为后续毒理试验提供参考。方法:对小鼠一次按 0.24, 1.0, 3.0 g/kg 体重灌胃给予芒果苷后,观察其一般行为表现、姿势、步态、有无流涎、流汗、暴躁、抽搐、肌颤等变化,测定其自主活动次数、协调运动情况和阈下睡眠剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠的影响;对 Beagle 犬一次按 0.1, 0.7, 4.0 g/kg 体重十二指肠给予芒果苷后,观测给药后 180 min 内心电图、血压、呼吸的改变。结果:小鼠一般行为表现、姿势、步态未见有明显改变,也未见有流涎、流汗、暴躁、抽搐、肌颤等现象;自主活动、协调运动情况和戊巴比妥钠阈下睡眠剂量小鼠入睡率均无明显影响。犬心电图、血压、呼吸均无明显变化。结论:在本实验条件下,芒果苷对小鼠精神和神经系统,对犬心血管系统和呼吸系统均无明显影响。

关键词 芒果苷;药理;实验研究

Pharmacological Study of Safety of Mangiferin Extracted from Mango Leaf

Wang Qin¹, Hao Erwei^{1,2}, Tan Zhenyuan³, Wang Zhengyi², 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 observe the effect of mangiferin on nervous system, cardiovascular system and respiratory system, and analyze its general pharmacological effect. Thus providing reference for subsequent toxicological test. **Methods:** The mice were intra-gastric administered mangiferin of 0.24, 1.0 and 3.0 g/kg · bw/. Then changes in its general behavior, posture, gait, salivation, sweating, bruising, and convulsions were recorded. The effects of pentobarbital sodium on mice's sleep were measured. Also, beagle dogs were given mangiferin by duodenum in the dose of 0.1, 0.7, 4.0 g/kg · bw. Changes in electrocardiogram, blood pressure, and respiratory were recorded after administration. **Results:** There was no significant change on the general behavior, posture, salivation, sweating, dryness, convulsions, muscle fibrillation of rats. There was no significant effect on independent activities, coordination of exercise and the sleep rate of mice on the sub-threshold sleep dose of pentobarbital sodium. Similarly, there was no significant change on dog electrocardiogram, blood pressure, and breathing. **Conclusion:** Under the experimental conditions, mangiferin has no significant effect on the mental and nervous system of mice or the cardiovascular system and respiratory system of dog.

Key Words Mangiferin; Pharmacology; Experiment research

中图分类号: R285.5; R93 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.07.047

芒果苷(Mangiferin),又名芒果素、知母宁,为漆树科植物芒果 *Mangiferin indica* L. 叶的主要活性成分。近年来对其药理作用及临床试验均有不少报道^[1-2],但目前尚未对见其毒性研究的报道。安全药理学主要是研究药物在治疗范围内或治疗范围以上的剂量时,潜在的不期望出现的对生理功能的不良影响,即观察药物对中枢神经系统、心血管系统和呼吸系统等的影响^[3-5],本文主要采用小鼠和 Beagle 犬

对芒果苷进行了系统的安全药理学试验,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 KM 小鼠, SPF 级, 360 只, 雌雄各半, 平均体重 (18.0 ± 2.0) g, 由四川省医学科学院实验动物研究所提供, 动物合格证编号为 SCXK(川) 2004-16。Beagle 犬, 普通级, 24 只, 5~6 个月龄, 雌雄各半, 体重 6.0~7.0 g。由广州市医药工业研究所

基金项目: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(CICAR2015-21)

作者简介: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; 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

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

提供,动物合格证编号为 SCXK(粤)2003-0007。动物饲料来源于苏州双狮实验动物饲料科技有限公司。

1.1.2 药物 芒果苷,黄色粉末,纯度≥94%,由广西中医药大学提供,临用前用0.5% CMC-Na 混悬备用;盐酸氯丙嗪片(常州康普药业有限公司),临用前用纯化水配制。

1.1.3 试剂与仪器 戊巴比妥钠(国药集团化学试剂有限公司);肝素钠注射液(南京新百药业有限公司);氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司)。多道生理记录仪(成都仪器厂);程控自主活动仪(医科院药物所);电子天平、电子台称(上海友声衡器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠分组、给药及对神经系统的影响观察^[6-11] 芒果苷对小鼠一般行为活动的影响观察:小鼠 80 只,雌雄各半,随机分为 4 组,空白对照组、低、中、高剂量组,每组 20 只,灌胃给药 1 次,给药体积 0.2 mL/10 kg 体重,观察给药后 60 min 及 24 h 小鼠的一般行为表现、姿势、步态、有无流涎、流汗、暴躁、抽搐、肌颤等。

芒果苷对小鼠自主活动的影响观察:小鼠 100 只,雌雄各半,随机分为 5 组,空白对照组、阳性对照组、低、中、高剂量组,每组 20 只,灌胃给药 1 次,给药体积 0.2 mL/10 kg 体重,观察给药后 60 min 放入自主活动箱,每小箱 1 只,适应 5 min 后,记录 10 min 内小鼠自主活动次数。

芒果苷对小鼠协调运动的影响观察:小鼠 80 只,雌雄各半,随机分为 4 组,空白对照组、低、中、高剂量组,每组 20 只,灌胃给药 1 次,给药体积 0.2 mL/10 kg 体重,给药后 60 min 将小鼠放在一根光滑的金属棒顶端,头朝下,让其自然向下爬行,观察小鼠的运动情况。

芒果苷对小鼠戊巴比妥钠阈下睡眠剂量的影响观察:小鼠 80 只,雌雄各半,随机分为 4 组,空白对照组、低、中、高剂量组,每组 20 只,灌胃给药 1 次,给药体积 0.2 mL/10 kg 体重,给药后 60 min 腹腔注射阈下睡眠剂量戊巴比妥钠 30 mg/kg,以 60 min 内

翻正反射消失 1 min 以上作为入睡指标,观察各组入睡只数。

1.2.2 Beagle 犬分组、给药及对神经系统的影响观察^[6-11] 动物分组:Beagle 犬,随机分为 4 组,空白对照组、低、中、高剂量组,每组 6 只,雌雄各半。

心电图、血压、呼吸测定:取犬,静脉注射 3% 戊巴比妥钠溶液 1 mL/kg 麻醉,联接 II 导联,测定心电图;联接呼吸传感器,测定呼吸深度的频率;手术分离股动脉,插入动脉导管,联接压力传感器,测定动脉血压;分离十二指肠,备给药。分析测定心率、P-R 间期、Q-T 间期、Q-Tc、QRS 波、S-T 段偏移量、T 波、收缩压、舒张压、平均压、呼吸深度、呼吸频率。

1.3 统计学方法 小鼠一般行为活动的观察结果用 SPSS 13.0 统计软件进行秩和检验;小鼠入睡率用 χ^2 检验;其余均用 SPSS 13.0 统计软件进行方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一次灌胃给药芒果苷对小鼠神经系统的影响观察 一次灌胃给予 0.24、1.00、3.00 g/kg 芒果苷后,各给药组与空白对照组比较,小鼠的一般行为表现、姿势、步态未见异常、未见流涎、流汗、暴躁、抽搐、肌颤等发生,说明芒果苷对小鼠一般行为无明显影响。小鼠一次灌胃给药 5 mg/kg 的芒果苷后,阳性对照组与空白对照组比较,自主活动次数显著降低,一次灌胃给予 0.24、1.00、3.00 g/kg 后,各给药组与空白对照组比较,10 min 内小鼠活动次数差异无统计学意义($P > 0.05$)。协调运动能力差异无统计学意义($P > 0.05$)。戊巴比妥钠阈下睡眠剂量的入睡率无差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1~3。

表 1 芒果苷对小鼠自主活动的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	自主活动(次/10 min)
空白对照组	20	304 ± 50
阳性对照组 5 mg/kg 体重	20	58 ± 46 **
低剂量组 0.24 g/kg 体重	20	344 ± 68
中剂量组 1.0 g/kg 体重	20	344 ± 56
高剂量组 3.0 g/kg 体重	20	319 ± 81

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$ 。

表 2 芒果苷对小鼠协调运动的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	协调运动分类计数(只)						
		<0.5	≥0.5 <1.0	≥1.0 <1.5	≥1.5 <2.0	≥2.0 <2.5	≥2.5 <3.0	=3.0
空白对照组	20	16	4	0	0	0	0	0
低剂量组 0.24 g/kg 体重	20	11	9	0	0	0	0	0
中剂量组 1.0 g/kg 体重	20	11	9	0	0	0	0	0
高剂量组 3.0 g/kg 体重	20	11	8	1	0	0	0	0

表 3 芒果苷对小鼠戊巴比妥钠阈下睡眠剂量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	入睡只数	未睡只数	入睡率(%)
空白对照组	20	2	18	10
低剂量组 0.24 g/kg 体重	20	2	18	10
中剂量组 1.0 g/kg 体重	20	1	19	5
高剂量组 3.0 g/kg 体重	20	0	20	0

表 4 芒果苷对 Beagle 犬心电图的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	心率(次/min)	T 波(mV)	P-R 间期(ms)	QRS 间期(ms)	Q-T 间期(ms)	ST 偏移量(mV)
空白对照组						
给药前	195.23 ± 17.16	0.23 ± 0.08	78 ± 7	66 ± 6	218 ± 15	0.04 ± 0.03
给药后 30 min	185.81 ± 20.77	0.30 ± 0.09	81 ± 7	67 ± 7	228 ± 22	0.03 ± 0.02
给药后 60 min	177.26 ± 21.68	0.30 ± 0.10	81 ± 6	66 ± 8	239 ± 22	0.03 ± 0.03
给药后 120 min	191.55 ± 16.04	0.34 ± 0.18	79 ± 7	65 ± 5	220 ± 15	0.04 ± 0.01
给药后 180 min	201.40 ± 28.24	0.34 ± 0.14	77 ± 7	66 ± 5	190 ± 54	0.04 ± 0.01
低剂量组						
给药前	206.35 ± 17.33	0.19 ± 0.07	76 ± 12	70 ± 16	210 ± 23	0.06 ± 0.02
给药后 30 min	206.76 ± 24.30	0.21 ± 0.09	74 ± 8	71 ± 19	212 ± 35	0.06 ± 0.04
给药后 60 min	201.95 ± 32.08	0.20 ± 0.09	75 ± 9	71 ± 19	214 ± 41	0.04 ± 0.04
给药后 120 min	195.46 ± 41.93	0.20 ± 0.09	78 ± 10	69 ± 12	224 ± 49	0.06 ± 0.02
给药后 180 min	201.95 ± 42.20	0.20 ± 0.13	79 ± 9	67 ± 5	209 ± 48	0.06 ± 0.02
中剂量组						
给药前	198.31 ± 11.90	0.25 ± 0.14	80 ± 10	67 ± 9	221 ± 11	0.07 ± 0.06
给药后 30 min	195.24 ± 21.01	0.31 ± 0.15	76 ± 7	70 ± 11	224 ± 21	0.07 ± 0.04
给药后 60 min	188.11 ± 24.13	0.31 ± 0.16	75 ± 6	73 ± 10	225 ± 17	0.08 ± 0.05
给药后 120 min	202.56 ± 21.87	0.33 ± 0.15	74 ± 8	70 ± 12	223 ± 32	0.08 ± 0.03
给药后 180 min	207.54 ± 24.25	0.31 ± 0.16	72 ± 7	68 ± 11	207 ± 23	0.08 ± 0.03
高剂量						
给药前	188.07 ± 26.16	0.22 ± 0.11	81 ± 9	69 ± 7	211 ± 11	0.03 ± 0.01
给药后 30 min	195.64 ± 17.50	0.24 ± 0.08	80 ± 11	66 ± 9	215 ± 24	0.03 ± 0.02
给药后 60 min	185.31 ± 31.25	0.25 ± 0.05	82 ± 7	67 ± 4	228 ± 36	0.05 ± 0.03
给药后 120 min	176.08 ± 40.33	0.27 ± 0.07	86 ± 10	68 ± 5	244 ± 44	0.05 ± 0.03
给药后 180 min	197.38 ± 42.46	0.29 ± 0.08	84 ± 12	64 ± 6	225 ± 46	0.05 ± 0.03

2.2 一次灌胃给药芒果苷对 Beagle 犬神经系统的影响 Beagle 犬十二指肠给予芒果苷 0.1 g/10 kg 体重, 0.7 g/10 kg 体重, 4.0 g/10 kg 体重, 后 180 min 内, 无论是各组给药前后自身比较, 还是各给药组与对照组平行比较, 心率、T 波、P-R 间期、QRS 间期、Q-T 间期、ST 偏移量均未见有明显改变。见表 4。动脉收缩压、舒张压、平均压均未见有明显改变。见表 5。呼吸频率、深度均未见明显改变。见表 6。

3 讨论

研究发现, 小鼠腹腔注射芒果苷 50 ~ 100 mg/kg 剂量, 30 min 后出现明显的震颤、竖毛、强迫撕打和自主活动增加等中枢兴奋作用, 本次研究采用口服给药未发现这一现象, 且一次灌胃给予小鼠 0.24 ~ 3.0 g/kg 的芒果苷后, 对小鼠神经系统无明显影响^[11]。

此外, 一次灌胃给予 Beagle 犬 60 ~ 120 min 后, 高剂量组与低剂量组分别有一只的心率相应变慢, 在 180 min 时有所恢复; 所有 Beagle 犬在 180 min 内, Q-T 间期和 QTc 均未见明显改变。经查阅国内外有关芒果苷的研究文献, 也未见有对 Q-T 间期和 QTc 影响的报道, 但我们认为芒果苷有可能延长 Q-T 间期, 减慢心率, 只是这种改变表现可以自己恢复。给药后, 所有 Beagle 犬呼吸频率、呼吸深度均有不同程度的波动, 但对照组各犬也有较明显波动, 且给药 180 min 内, 各组给药前后自身比较、各给药组与对照组平行比较, 呼吸频率、呼吸深度均未见明显改变, 加之麻醉对呼吸频率、呼吸深度均有一定影响, 在实际操作中, 由于个体差异的存在, 无法做到使各犬麻醉深度完全一致, 因此, 不能确定犬呼吸频率、呼吸深度的改变是由芒果苷引起的。因此, 在进行芒果苷临床试验中, 应注意观察受试者心电图的

变化。

表 5 芒果苷对 Beagle 犬动脉血压的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	平均压(mmHg)
空白对照组			
给药前	157.77 ± 17.16	111.77 ± 11.78	127.10 ± 13.49
给药后 30 min	167.23 ± 21.00	116.73 ± 15.30	133.56 ± 17.10
给药后 60 min	163.80 ± 22.81	117.74 ± 15.20	133.10 ± 17.50
给药后 120 min	168.27 ± 17.22	122.43 ± 7.07	137.71 ± 9.55
给药后 180 min	168.09 ± 12.23	122.46 ± 8.27	137.67 ± 8.51
低剂量组			
给药前	131.75 ± 55.46	110.96 ± 11.07	127.89 ± 14.19
给药后 30 min	172.24 ± 28.80	120.16 ± 10.88	137.52 ± 16.69
给药后 60 min	171.79 ± 17.40	120.78 ± 11.23	137.78 ± 12.71
给药后 120 min	172.56 ± 23.90	119.94 ± 15.12	137.53 ± 17.81
给药后 180 min	172.19 ± 17.90	125.66 ± 15.36	141.17 ± 14.73
中剂量组			
给药前	170.10 ± 22.80	115.39 ± 15.24	133.63 ± 17.31
给药后 30 min	172.90 ± 18.54	120.65 ± 9.79	138.07 ± 11.57
给药后 60 min	169.27 ± 20.13	122.76 ± 6.70	137.60 ± 10.78
给药后 120 min	166.51 ± 13.05	126.54 ± 5.79	139.87 ± 7.11
给药后 180 min	178.76 ± 13.31	130.51 ± 8.44	146.59 ± 7.89
高剂量			
给药前	155.43 ± 6.04	104.81 ± 5.46	121.68 ± 4.86
给药后 30 min	168.30 ± 8.89	115.47 ± 6.00	133.08 ± 5.76
给药后 60 min	167.03 ± 15.14	114.68 ± 12.01	132.13 ± 12.88
给药后 120 min	160.25 ± 20.50	114.46 ± 16.17	129.72 ± 17.43
给药后 180 min	167.26 ± 17.96	120.27 ± 18.88	135.90 ± 17.82

参考文献

[1]Sarkar A,Sreenivasan Y,Ramesh G T,et al. Beta-D-Glucoside sup- presses tumor necrosis factor-induced activation of nuclear transcrip- tion 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]邓学兵,王金萍,马兴旺,等. 归芪饮安全药理学试验研究[J]. 中 国动物保健,2011(10):11-15.

[4]王玉珠,王海学,王庆利. 新药临床试验前安全药理学研究的发 展过程[J]. 中国临床药理学杂志,2011,27(7):557-560.

[5]张国红,刘本银,张聚民,等. 蒲黄注射液的安全药理学试验研究 [J]. 中国牧业通讯,2009(6):35-37.

[6]国家食品药品监督管理局药品评审中心. ZGPT1-1 中药、天然药

表 6 芒果苷对 Beagle 犬呼吸频率 及深度的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	呼吸频率(次/min)	呼吸深度
空白对照组		
给药前	10 ± 3	26.21 ± 11.97
给药后 30 min	14 ± 5	21.59 ± 5.59
给药后 60 min	16 ± 6	21.71 ± 9.71
给药后 120 min	21 ± 6	23.18 ± 7.35
给药后 180 min	24 ± 6	28.80 ± 10.06
低剂量组		
给药前	13 ± 6	35.43 ± 11.11
给药后 30 min	16 ± 5	32.63 ± 14.20
给药后 60 min	16 ± 6	33.47 ± 20.84
给药后 120 min	16 ± 12	28.56 ± 13.06
给药后 180 min	17 ± 10	31.27 ± 7.25
中剂量组		
给药前	13 ± 4	35.14 ± 19.21
给药后 30 min	16 ± 6	27.42 ± 13.12
给药后 60 min	16 ± 7	26.16 ± 11.12
给药后 120 min	19 ± 7	29.02 ± 11.83
给药后 180 min	19 ± 5	29.07 ± 12.13
高剂量		
给药前	10 ± 5	36.03 ± 9.23
给药后 30 min	14 ± 8	36.49 ± 10.86
给药后 60 min	16 ± 10	34.60 ± 9.71
给药后 120 min	15 ± 10	29.27 ± 4.53
给药后 180 min	18 ± 9	26.69 ± 6.76

物一般药理学研究技术指导原则 [S]. 北京:中国标准出版社, 2005.

[7]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.

[8]徐叔云,如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生 出版社,2002:801-813.

[9]黄芳华. 中药新药一般药理学研究技术要求和常见问题分析 [J]. 中国中药杂志. 2007,32(1):82-84.

[10]彭代银,刘青云,戴敏,等. 茵风轮总苷的一般药理学试验研究 [J]. 安徽医药,2005,9(7):486-488.

[11]邓家刚,郑作文,曾春晖. 芒果苷的药效学实验研究[J]. 中医药 学刊,2002,20(6):302-303.

(2017-05-12 收稿 责任编辑:杨觉雄)