

# 芒果叶提取物芒果苷安全性评价 II :小鼠及犬急性毒性试验

王 勤<sup>1</sup> 郝二伟<sup>1,2</sup> 谭珍媛<sup>3</sup> 王峥屹<sup>4</sup> 邓家刚<sup>1,2</sup>

(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:观察动物 24 h 多次灌胃给予芒果苷的急性毒性。方法:将 40 只 KM 种小鼠随机分为给药组和对照组,6 只 Beagle 犬随机分为给药组和对照组,均以最大耐受量(MTD)法灌胃给药进行毒性试验,给药后均观察 14 d。结果:小鼠给药后,其外观、行为活动、饮食等均未见明显异常,体重增长正常,试验结束时全部存活,大体解剖未见肉眼可见病理变化;犬给药后,均出现一过性灰白色粪便,给药组在给药后次日出现 TBIL 明显升高,发生率为 1/4,但观察结束后又恢复至给药水平,其余外观、血液生化指标等均无明显异常,大体解剖未见肉眼可明显异常。结论:小鼠灌胃给予芒果苷 54 g/kg 未产生明显毒性反应;犬灌胃给予芒果苷 MTD >9.0 g/kg 体重;有 1/4 例动物在给药次日 TBIL 明显升高,提示芒果苷有可能影响 TBIL 代谢,但能自行恢复。

**关键词** 芒果苷;毒性试验;小鼠;犬

## Safety Evaluation of Mangiferin Extracted from Mango Leaf—an Acute Toxicity Test

Wang Qin<sup>1</sup>, Hao Erwei<sup>1,2</sup>, Tan Zhenyuan<sup>3</sup>, Wang Zhengyi<sup>4</sup>, Deng Jiagang<sup>1,2</sup>

(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 acute toxicity of Mangiferin for intragastric administration (I. g) at multiple dose in mice and dogs. **Methods:** Forty KM mice and six Beagle dogs were randomly divided into treatment group and control group. Intragastric administered maxi malad administration dose (MAD) based on approximate lethal dose (ALD) and animals in both groups were observed for 14 days. **Results:** All mice were alive and no abnormality was found in appearance, behavior and diet. In addition, no pathological changes were found after dissection. Grey feces were found once in dogs and the experiment group showed increase of TBIL, with an occurrence rate of 25%, but it restored to normal level after administration. No abnormality was found in blood and biochemical indicators. No physiological abnormality was found after dissection. **Conclusion:** No toxicity symptoms was found after oral administered 54 g/kg of mangiferin. One of four dog's TBIL increased significantly after given mangiferin MTD >9.0 g/kg, but it can restore to normal level.

**Key Words** Mangiferin; Toxicity; Mice; Dogs

中图分类号:R285.5;R99 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.07.048

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<sup>[1-2]</sup>,但目前尚未对见其毒性研究的报道。为观察本品对实验动物产生的急性中毒反应可能主要对应的靶器官,计算新药相对毒性参数和长期毒性、蓄积毒性以及特殊毒性实验剂量选择提供参考,项目组进行了小鼠与犬的灌胃途径给药急性毒性试验研

究,以评价其安全性。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 动物 5 周龄 SPF 级 KM 种小鼠 40 只(雌雄各半),15~17 g,由四川省医学科学院实验动物中心提供[实验动物许可证号:SCXK(川)2004-16]。5~6 个月龄 Beagle 犬,6.75~7.90 kg,由高要市康达实验动物科技有限公司提供[实验动物生产许可证

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-Z1)

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

号:SCXK(粤)2004-0009]。

1.1.2 材料与仪器 芒果苷(广西中医学院提供,批号:20070828,含量:94%),溶媒0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液,每次给药前按本中心标准操作规程(SOP)配药。BS-150M电子天平(上海友声衡器有限公司),TCS-150A电子台称(上海友声衡器有限公司),TM-1024i全自动生化仪(日本TOKYO BOEKI公司),MEK-6318K血液细胞自动分析仪(日本光电公司),TGL-16G台式高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),RM6280C多道生理记录仪(成都仪器厂)。

## 1.2 方法

1.2.1 分组 按完全随机分为2组,即给药组和对照组雌雄各20只,雌雄各半。

1.2.2 给药方法 小鼠实验<sup>[3-5]</sup>采用最大给药量法进行。选用本品的最大溶解度,常用最大给药容积单次给药。小鼠按SOP检疫合格后,隔夜禁食不禁水,给药组给予芒果苷0.5%羧甲基纤维素钠溶液54 g/kg,为0.4 mL/10 g,对照组给予等体积0.5%羧甲基纤维素钠溶液。各动物均灌胃给药,24 h给药3次,第2次与第1次间隔6 h,第3次于次日早晨给予。给药后即刻,2,4,6 h,第2~14天的上下午,观察动物一般形态外观、行为活动、饮食情况、粪便形状。给药前后第4天,称取动物的体重,并用SPSS 13.0软件单因素方差分析进行 $t$ 检验。观察结束,所有动物均进行尸检,记录病变情况,对肉眼观察有病变的脏器进行病理组织学检查。

犬实验<sup>[6-11]</sup>采用最大给药量法进行。选用本品的最大溶解度,常用最大给药容积多次给药。犬按SOP检疫合格后,随机取4只为给药组,其余2只做为对照组。给药组给予芒果苷0.5%羧甲基纤维素钠溶液0.45 g/mL,为10 mL/kg,对照组给予等体积0.5%羧甲基纤维素钠溶液。各动物均灌胃给药,24 h给药2次,间隔4 h。

1.2.3 检测指标与方法 给药后第2~14天连续观察动物饮食、外观、行为、分泌物、死亡情况和中毒性反应等。首次给药前、给药后1周、观察期结束称取犬体重,各测1次心电图,检测血液学指标和血液生化学指标。观察结束后,所有犬均进行尸检,观察器官体积、颜色、质地等。

1.3 统计学方法 所有数据均采用SPSS 18.0统计软件分析,计量资料以平均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 小鼠实验结果 给药组小鼠给药后外观、行为活动、饮食等均未见明显异常,只是见粪便呈黄色,但其形状、软硬等未见异常,停药次日恢复正常颜色。实验期间给药组小鼠体重与对照组比较差异无统计学意义。见表1。实验终点动物系统尸检全身各脏器均无肉眼可见病理变化。

表1 芒果苷(54 g/kg体重)对小鼠体重的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	性别	给药前	给药第4天	给药第7天	给药第14天
给药组	雄	19.43 $\pm$ 0.83	23.02 $\pm$ 0.88	25.69 $\pm$ 0.84	28.90 $\pm$ 1.01
对照组	雄	19.42 $\pm$ 0.94	22.98 $\pm$ 1.04	25.26 $\pm$ 0.99	28.46 $\pm$ 0.78
给药组	雌	18.36 $\pm$ 0.30	21.27 $\pm$ 1.10	22.70 $\pm$ 1.19	23.84 $\pm$ 1.15
对照组	雌	18.42 $\pm$ 0.27	21.81 $\pm$ 0.96	23.54 $\pm$ 1.13	24.45 $\pm$ 1.78

2.2 犬实验结果 犬给药后出现一过性灰白色粪便;其余外观、饮食、饮水、一般行、分泌物、排泄物连续观察14 d均无异常、无动物死亡。各犬给药9.0 g/kg体重后,其体重、心率、QT间期无明显异常;给药组与对照组各犬血液学指标均无明显异常。各犬给药9.0 g/kg后,给药组01号犬在给药后次日TBIL有明显升高,观察结束后恢复至给药前水平;对照组06号犬恢复期GGT有明显下降,但差异无生物学意义,其他血液生化指标未见明显异常。见表2~6。

表2 芒果苷 Beagle 犬单次给药毒性试验对体重和心电图的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	体重(kg)	心率(次/min)	QT间期(s)
对照组				
给药前	2	7.28 $\pm$ 0.74	137.60 $\pm$ 4.05	225 $\pm$ 13
给药后次日	2	7.68 $\pm$ 1.24	147.56 $\pm$ 4.99	227 $\pm$ 18
观察结束	2	7.83 $\pm$ 1.24	155.59 $\pm$ 32.31	214 $\pm$ 28
给药组				
给药前	4	7.53 $\pm$ 0.44	128.28 $\pm$ 18.62	223 $\pm$ 19
给药后次日	4	8.13 $\pm$ 0.28	138.02 $\pm$ 22.25	224 $\pm$ 15
观察结束	4	8.31 $\pm$ 0.45	143.83 $\pm$ 20.57	208 $\pm$ 16

## 3 讨论

小鼠选择最大给药量法进行实验,即以芒果苷的最大浓度、小鼠能耐受的最大给药体积,24 h内分3次灌胃给予芒果苷,剂量为54 g/kg,约相当于临床拟用量的1 714倍,结果动物外观、行为活动、饮食情况等均未发现明显异常,给药后仅见粪便呈黄色,但其形状、软硬等未见异常,停药后次日恢复正常颜色分析原因可能是短时间内给予动物大量药物,吸收不全,随粪便排出所致。动物体重增长正常。试验结束果全部动物存活,在体解剖也未见肉眼可见病理变化。说明在本试验条件下,芒果苷对小鼠未

表3 芒果苷 Beagle 犬单次给药毒性试验对血液学指标的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	WBC( $\times 10^9/L$ )	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	HGB(g/L)	HCT(%)	PLT( $\times 10^9/L$ )
对照组						
给药前	2	13.3 $\pm$ 1.7	6.71 $\pm$ 0.78	135.50 $\pm$ 10.61	40.85 $\pm$ 2.62	356 $\pm$ 83
给药后次日	2	12.0 $\pm$ 0.1	6.45 $\pm$ 0.59	136.00 $\pm$ 2.83	39.40 $\pm$ 1.56	355 $\pm$ 93
观察结束	2	15.4 $\pm$ 3.4	6.50 $\pm$ 0.08	135.00 $\pm$ 0.00	40.20 $\pm$ 1.84	362 $\pm$ 6
给药组						
给药前	4	12.9 $\pm$ 1.9	6.67 $\pm$ 0.38	137.00 $\pm$ 11.75	40.48 $\pm$ 3.19	385 $\pm$ 78
给药后次日	4	14.5 $\pm$ 4.4	6.87 $\pm$ 0.29	141.00 $\pm$ 11.49	41.95 $\pm$ 3.44	381 $\pm$ 28
观察结束	4	11.9 $\pm$ 3.5	7.11 $\pm$ 0.43	144.25 $\pm$ 11.09	43.95 $\pm$ 3.20	376 $\pm$ 89

表4 芒果苷 Beagle 犬单次给药毒性试验对血液学指标的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	PCT(%)	MCV(fL)	MCH(g/L)	MCHC(g/L)
对照组					
给药前	2	0.36 $\pm$ 0.08	61.10 $\pm$ 3.25	20.25 $\pm$ 0.78	331.50 $\pm$ 4.95
给药后次日	2	0.35 $\pm$ 0.06	61.25 $\pm$ 3.18	21.15 $\pm$ 1.48	245.50 $\pm$ 6.36
观察结束	2	0.38 $\pm$ 0.03	61.85 $\pm$ 3.61	20.80 $\pm$ 0.28	336.00 $\pm$ 15.56
给药组					
给药前	4	0.40 $\pm$ 0.05	60.70 $\pm$ 2.43	20.55 $\pm$ 0.86	338.25 $\pm$ 3.40
给药后次日	4	0.37 $\pm$ 0.04	61.03 $\pm$ 2.50	20.53 $\pm$ 0.83	336.25 $\pm$ 1.89
观察结束	4	0.39 $\pm$ 0.09	61.80 $\pm$ 2.17	20.28 $\pm$ 0.85	328.00 $\pm$ 1.83

表5 芒果苷 Beagle 犬单次给药毒性试验对血液生化指标的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	TC(mmol/L)	GLU(mmol/L)	GGT(IU/L)
对照组								
给药前	2	0.36 $\pm$ 0.08	61.10 $\pm$ 3.25	20.25 $\pm$ 0.78	331.50 $\pm$ 4.95	5.56 $\pm$ 1.48	5.55 $\pm$ 0.59	4.54 $\pm$ 0.25
给药后次日	2	0.35 $\pm$ 0.06	61.25 $\pm$ 3.18	21.15 $\pm$ 1.48	245.50 $\pm$ 6.36	5.72 $\pm$ 1.07	5.55 $\pm$ 0.27	6.04 $\pm$ 0.53
观察结束	2	0.38 $\pm$ 0.03	61.85 $\pm$ 3.61	20.80 $\pm$ 0.28	336.00 $\pm$ 15.56	5.45 $\pm$ 0.95	4.25 $\pm$ 0.07	3.54 $\pm$ 4.41
给药组								
给药前	4	0.40 $\pm$ 0.05	60.70 $\pm$ 2.43	20.55 $\pm$ 0.86	338.25 $\pm$ 3.40	7.25 $\pm$ 1.62	5.70 $\pm$ 0.84	4.09 $\pm$ 1.93
给药后次日	4	0.37 $\pm$ 0.04	61.03 $\pm$ 2.50	20.53 $\pm$ 0.83	336.25 $\pm$ 1.89	7.38 $\pm$ 1.94	5.49 $\pm$ 0.80	4.91 $\pm$ 1.73
观察结束	4	0.39 $\pm$ 0.09	61.80 $\pm$ 2.17	20.28 $\pm$ 0.85	328.00 $\pm$ 1.83	6.82 $\pm$ 1.56	4.05 $\pm$ 0.93	3.87 $\pm$ 1.56

表6 芒果苷 Beagle 犬单次给药毒性试验对血液生化指标的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	TBIL(mol/L)	ALP(IU/L)	TG(mmol/L)	CREA(mol/L)	UREA(mmol/L)	CK(IU/L)
对照组							
给药前	2	6.15 $\pm$ 0.92	149.37 $\pm$ 69.47	0.66 $\pm$ 0.21	114.00 $\pm$ 9.14	3.54 $\pm$ 1.51	179.71 $\pm$ 27.48
给药后次日	2	3.60 $\pm$ 0.30	161.49 $\pm$ 51.07	0.65 $\pm$ 0.03	106.53 $\pm$ 5.53	3.75 $\pm$ 0.52	184.05 $\pm$ 38.65
观察结束	2	4.34 $\pm$ 0.25	161.99 $\pm$ 84.46	0.72 $\pm$ 0.11	105.17 $\pm$ 0.67	3.03 $\pm$ 0.15	234.00 $\pm$ 2.04
给药组							
给药前	4	6.16 $\pm$ 3.17	178.20 $\pm$ 21.10	0.58 $\pm$ 0.28	107.88 $\pm$ 7.55	3.27 $\pm$ 1.26	206.65 $\pm$ 14.17
给药后次日	4	11.21 $\pm$ 4.98	208.25 $\pm$ 36.36	1.09 $\pm$ 0.32	111.67 $\pm$ 6.60	6.02 $\pm$ 2.24	191.88 $\pm$ 51.90
观察结束	4	4.89 $\pm$ 1.20	181.46 $\pm$ 36.68	0.83 $\pm$ 0.28	104.82 $\pm$ 11.62	3.94 $\pm$ 1.24	276.00 $\pm$ 72.72

产生明显的毒性反应,最大给药量为 54 g/kg。

犬 24 h 内 2 次灌胃,共给予芒果苷 9.0 g/kg 体重后,全部给药犬粪便颜色为灰白色,但为一过性,且与芒果苷颜色相近;连续 14 d 观察结束后大体解剖结果表明,给药犬胃肠道未见有明显异常,故粪便颜色的改变考虑为未吸收的芒果苷引起。另外,给药组 1 只在给药后次日 TBIL 有明显升高,但观察结

束后又恢复至给药前水平,说明 TBIL 的改变能够自行恢复,连续 14 d 观察结束后大体解剖结果表明,给药犬肝胆未见有明显异常。表明芒果苷可能影响 TBIL 的代谢,但能够恢复。其余外观、饮食、饮水、一般活动、分泌物、排泄物、体重变化、心电图、血液生化指标、血液学指标均无明显变化;14 d 观  
(下接第 1678 页)

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-κB(P65)与 IκBα 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)