

木棉花水提物的急性毒性试验

陈雯玲, 杨 斌, 谢仕源

(广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021)

摘要:目的 对木棉花水提物进行急性毒性试验, 评价木棉花水提物的安全性, 为后续的实验研究确定木棉花水提物用药剂量提供重要的实验依据。方法 选择昆明小鼠 32 只, 按完全随机法分为两组, 即空白组和给药组各 16 只。给药组小鼠给予木棉花水提物最大给药量灌胃给药, 约每 12 h 给药 1 次, 1 天内共给药剂量为 120 g/kg。空白组小鼠给予与给药组等体积生理盐水灌胃, 灌胃的次数同给药组。观察小鼠是否有死亡及其体重变化, 并在给药 14 d 后通过颈椎脱臼将两组小鼠处死, 观察重要脏器的变化。结果 给药期间小鼠无死亡, 仅体重有轻微的波动, 但总体呈增长趋势。两组第 1、5、10、14 天体重分别比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 肉眼观小鼠心、肝、脾、肺、肾、胸腺无明显出血、充血、水肿改变; 两组肝脏、脾脏、胸腺、心脏、肺、左肾、右肾指数比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 木棉花水提物给药剂量为 120 g/kg 时, 无明显毒性。

关键词: 木棉花水提物; 急性毒性试验; 最大给药量

中图分类号: R114

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.07.025

文章编号: 1006-1959(2022)07-0105-04

Acute Toxicity Test of Aqueous Extract of Kapok

CHEN Wen-ling, YANG Bin, XIE Shi-yuan

(College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

Abstract: Objective To evaluate the safety of aqueous extract of Kapok by conducting an acute toxicity test, and to provide an important experimental basis for subsequent experimental studies to determine the dose of aqueous extract of Kapok. **Methods** Thirty-two Kunming mice were divided into two groups according to the complete randomization method, 16 mice in the blank group and 16 mice in the drug-administered group. The mice in the drug-administered group were given the maximum dose of Kapok aqueous extract by gavage, approximately every 12 hours, for a total dose of 120 g/kg in a day, while the mice in the blank group were given the same volume of saline as the drug-administered group by gavage, and the number of gavage was the same as that of the drug-administered group. During the administration period, the mice were observed for death and changes in body weight, and after 14 days of administration, the mice in both groups were sacrificed by cervical dislocation to observe the changes in vital organs. **Results** There was no mortality in the mice during administration, only a slight fluctuation in the body weight of the mice and an overall increasing trend in the mice of the blank combination administration group. There was no significant difference in body weight between the two groups on day 1, 5, 10 and 14 ($P>0.05$). The heart, liver, spleen, lung, kidney and thymus of mice had no obvious bleeding, hyperemia and edema changes in the naked eye. There was no significant difference in liver, spleen, thymus, heart, lung, left kidney and right kidney index between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** No significant toxicity was observed when the aqueous extract of Kapok was administered at a dose of 120 g/kg.

Key words: Kapok aqueous extract; Acute toxicity test; Maximum dose

木棉花(Kapok)又名班枝花、琼枝、攀枝花, 是木棉科植物木棉[Gossampinus malabarica (DC.) Merr.]的花。药性甘、淡、凉, 具有保肝、抗肿瘤的作用, 以及清热、利湿的功效。木棉花主要产于云南、广东等地^[1], 是我国南方地区及东南亚国家民间常用药材^[2]。现代药化、药理研究表明^[3,4], 木棉花富含黄酮、碳水化合物、甾醇、糖苷、生物碱、挥发油、酚类化合物, 其保健价值较高, 并且在安全性方面具有明显的优势, 其应用前景广阔。虽然目前已有文献证明木棉花安全无毒^[3], 但鲜有文献报道木棉花水提物的最大用药剂量。药物需通过药物毒理学研究来确定其安全性, 而急性毒性试验是药物毒理学研究的重要内容之一。本试验探究最大浓度的木棉花水提物是否具有毒性, 为后续的实验研究确定木棉花水提物的用药剂量提供重

要的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级昆明小鼠 32 只, 雌雄各半, 3~4 周龄, 18~22 g。由广西医科大学动物实验中心(许可证号码: SYXK 桂 2020-0003)提供实验动物使用许可证号: SYXK 桂 2020-0004。并分笼饲养于动物房, 饲养环境温度为 24 ℃~26 ℃, 其相对湿度为 50%~60%, 通风性良好, 每日光照尽量控制在 12 h, 昼夜交替。本实验已获得广西医科大学实验动物伦理委员会批准, 各项指标均符合规定。

1.2 材料 木棉花干(广西西林县瑞桂吉纯生态木棉有限公司); 电子天平(梅特勒-托利多上海公司, 型号: AL204/01)

1.3 实验方法 参考《中药、天然药物急性毒性试验技术指导原则》和陈奇《中药药理实验方法学》, 对木棉花水提物进行急性毒性试验研究。

1.3.1 木棉花水提物的制备 用电子天平称取适量木棉花干品, 加 8 倍量蒸馏水浸泡 1 h 后补足至 12 倍量的水, 常压下回流提取 2 次, 2 h/次, 合并 2 次提取液进行减压浓缩至流浸膏, 最终生药量浓度为

作者简介: 陈雯玲(1989.10-), 女, 广西玉林人, 硕士研究生, 主管药师, 主要从事药理学与毒理生物学研究

通讯作者: 杨斌(1964.9-), 男, 广西玉林人, 博士, 教授, 主要从事药理学与毒理生物学研究

1.5 g/ml。

1.3.2 预实验 健康昆明小鼠6只(雌雄各半),给药浓度为含生药量1.5 g/ml,灌胃体积0.4 ml/10 g的木棉花水提物,每24 h对小鼠进行灌胃2次,每次间隔12 h,1 d内的总给药剂量为120 g/kg。给药后观察3 d,并常规饲养。观察小鼠的毒性反应,包括感觉、呼吸、运动、皮毛、眼睑、进食、粪便、死亡等,并对小鼠连续称重7 d。结果发现小鼠在第1次给药后未出现异常,在第2次给药10 min后,活动稍微减少,4 h后部分小鼠排出了干燥、黑硬的粪便;给药第2天小鼠进食相对第1天减少,但之后又快速恢复;给药第3天观察结束时,未发现小鼠有死亡的情况,且反应灵敏,活动正常。表明给予以本实验制得的木棉花水提物以最大给药量120 g/kg时小鼠未出现明显异常和死亡,且无法测得半数致死量(LD₅₀)。因此,本实验采用最大给药量的方法进行试验。

1.3.3 正式实验 最大给药量测定:选用健康小鼠32只,雌雄各半,按完全随机法分为两组,空白组及给药组各16只。适应性生长时间为2 d。给药前禁食12 h,自由饮水。称取给药前小鼠的体重,随后给药。

给药组小鼠每次按照0.4 ml/10 g体积和1.5 g/ml生药浓度给予木棉花水提物灌胃,每24 h对小鼠进行灌胃2次,每次间隔时间控制为12 h,用药剂量合计为120 g/kg。空白组小鼠每次按照0.4 ml/10 g灌胃体积给予生理盐水灌胃,灌胃的次数和给药时间间隔同给药组。给药期间分别于第1、5、10、14天称取小鼠的体重。给药后的小鼠正常饲养14 d后处死小鼠。观察小鼠的活动、精神、摄食、排泄及死亡情况。观察期间出现死亡小鼠及时进行解剖,观察其器官有无异常,并称取空白组和给药组小鼠的心、肝、脾、肺、肾和胸腺的湿重。计算其脏器指数,脏器指数=(脏器湿重/体重)×100%。

1.4 观察指标 观察各组一般状态及毒性表现,包括皮肤、被毛、眼睛、黏膜的改变,以及呼吸、循环、自主和中枢神经系统、躯体运动及行为模式等变化发生时间、严重程度和持续时间,其观察指标出现的症状和涉及的系统,参考《中药、天然药物急性毒性试验技术指导原则》,见表1。脏器观察:所有动物在试验终点时进行大体解剖,包括检查体表及体腔开孔、胸静脉等,及时称量各主要脏器,如:心、肝、脾、肺、肾、胸腺的湿重。

表1 急性毒性试验的一般观察结果与可能涉及的组织、器官、系统

观察指标	症状	涉及系统
呼吸	呼吸困难(腹式呼吸、气喘)、呼吸暂停、紫绀、呼吸急促、鼻流液	中枢神经系统(CNS)、肺、心脏
肌肉运动	嗜睡减轻或加重、扶正缺失、感觉缺乏、全身僵硬、共济失调、异常运动、俯卧、震颤、肌束抽搐	CNS、躯体肌肉、感觉、神经肌肉、自主性
痉挛	阵挛、强直、强直性阵挛、昏厥、角弓反张	CNS、神经肌肉、自主性、呼吸
反射	角膜、翻正、牵张、对光、惊跳反射	CNS、感觉、自主性、神经肌肉
眼症状	流泪、瞳孔缩小/散大、眼球突出、上睑下垂、浑浊、虹膜炎、结膜炎、血泪症、瞬膜松弛	自主性、刺激性
心血管症状	心动过缓、心动过速、心律不齐、血管舒张、血管收缩	CNS、自主性、心脏、肺
流涎	过多	自主性
立毛	被毛粗糙	自主性
痛觉丧失	反应降低	CNS、感觉
肌肉状态	张力减退、张力亢进	自主性
胃肠	软便、腹泻、呕吐、多尿、鼻液溢	CNS、自主性、感觉、胃肠运动性、肾
皮肤	水肿、红斑	组织损害、刺激性

2 结果

2.1 一般观察情况 每次给药10 min左右对试验小鼠进行观察,发现小鼠活动相对稍减,4 h后随即恢复正常。在给药的第二天,小鼠的食量明显下降,随后又呈增长趋势;且无腹泻等情况,其活动、呼吸均为正常。给药后小鼠外观毛色依然光亮,无焦躁不安或精神萎靡的状况出现;无竖毛,分泌物也未出现异常,无凸眼和扭体等反应;摄食、饮水均正常。观

察期间小鼠未出现死亡的情况。

2.2 木棉花水提物对急性毒性试验小鼠体重的影响 给药期间两组小鼠的体重虽均稍有波动,但总体均呈增长的趋势。两组第1、5、10、14天体重分别比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表2、图1。

2.3 肉眼观察解剖情况 给药14 d后将小鼠通过颈椎脱臼术处死,随后对小鼠进行大体解剖,并用肉眼观察小鼠的心、肝、脾、肺、肾、胸腺,结果显示,未出

现出血、充血、水肿改变,见图 2。脏、肺、左肾、右肾指数比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3、图 3。

2.4 两组脏器指数比较 两组肝脏、脾脏、胸腺、心

表 2 木棉花水提取物对急性毒性试验小鼠体重的影响 ($n=16, \bar{x} \pm s$)

组别	给药前	第 1 天	第 5 天	第 10 天	第 14 天
空白组	21.08±0.77	25.81±2.17	28.76±2.02	31.23±4.28	32.76±4.72
给药组	21.35±0.98	24.71±1.06	28.96±2.01	31.57±2.95	33.41±3.75

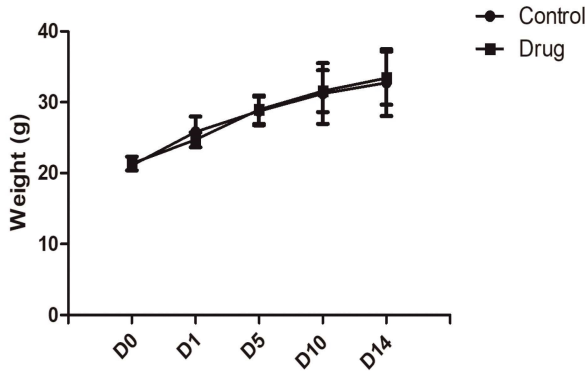


图 1 木棉花水提取物对急性毒性试验小鼠体重的影响

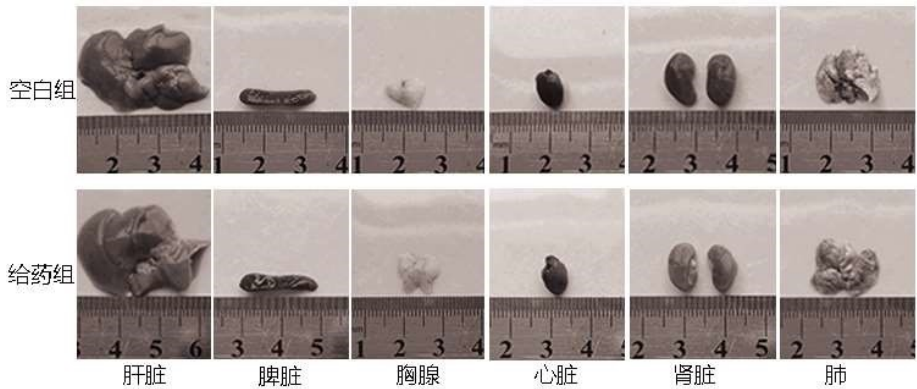


图 2 木棉花水提取物对急性毒性试验雌性小鼠脏器的影响

表 3 木棉花水提取物对急性毒性试验小鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	肝脏指数	脾脏指数	胸腺指数	心脏指数	肺指数	左肾指数	右肾指数
空白组	16	4.20±0.26	0.40±0.04	0.46±0.14	0.52±0.04	0.66±0.07	0.54±0.06	0.55±0.06
给药组	16	4.22±0.18	0.41±0.06	0.46±0.11	0.53±0.04	0.67±0.06	0.55±0.07	0.56±0.07

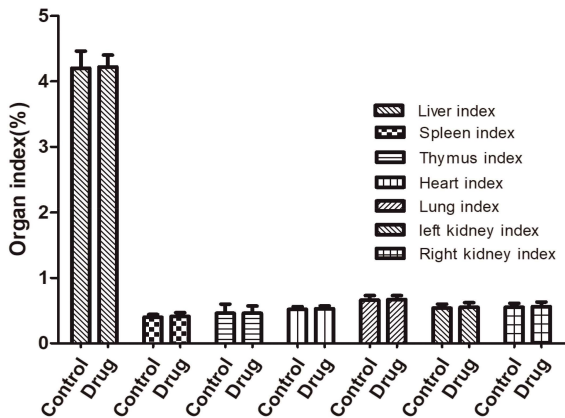


图 3 木棉花水提取物对急性毒性试验雌性小鼠脏器指数的影响

3 讨论

木棉花茶广泛用于民间,我国居民常将其晾干后泡水服用或煲汤食用。广东等地生产的五花茶凉茶,由木棉花与金银花、菊花、鸡蛋花、槐花配制而成,深受消费者喜爱^[5]。在我国南方木棉花最先主要作为中药材使用,逐渐发展到药用与食用并重,具有清热解毒,祛风除湿等功效,可治疗发热、痢疾、腹泻和慢性炎症等^[6]。不仅如此,现代药理学研究表明,木棉花具有多种药理活性,如抗氧化^[7]、降糖^[8]、抗炎镇痛^[9]、保护肾脏^[10]、抗焦虑^[11]、保护肝脏^[12,13]、抗癌^[14]、护胃^[15]、心脏保护^[16,17]、抗衰老^[18]等作用。由此可见,木棉花不仅具有较高的营养价值和保健作用,还具有一定的药效。因此,木棉花的药用价值显而易见,故探究木棉花的药物安全性作用显得尤为重要。本试验通过最大给药量的方法探究最大浓度的木棉花水提物是否具有毒性。在给药的第2天,小鼠的食量明显下降,随后又呈增长趋势,其他观察指标无明显异常,故食量下降推测为小鼠适应的过程。在观察小鼠体重变化过程中,通过对空白组和给药组小鼠体重进行分析,结果显示两组不同时间体重比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明木棉花水提物对小鼠体重变化无影响。给药14 d后,将小鼠大体解剖后用肉眼观察重要脏器,结果未出现出血、充血、水肿改变,说明肉眼观察木棉花水提物对小鼠的脏器无影响。两组肝脏、脾脏、胸腺、心脏、肺、左肾、右肾指数比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明木棉花水提物最大给药剂量的情况下小鼠脏器指数无明显改变。试验过程中无小鼠死亡,无法测得半数致死量,说明本试验中的木棉花水提物,在给予小鼠灌胃剂量为120 g/kg时无明显毒性。冯丁山等^[9]将10 g新鲜的木棉花,制成1 g的木棉花干粉,通过急性毒性试验,得出在其试验剂量范围内对雌、雄小鼠的急性经口最大耐受量(MTD)均 $>80.00\text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$,为实际无毒,从而证明木棉花对试验动物未见明显毒副作用。本研究结果与上述研究结果基本一致。

综上所述,木棉花干水提物最大给药剂量的情况下,口服无明显毒性作用。

参考文献:

- [1]南京中医药大学.中药大辞典(第2版)[M].上海:上海科学技术出版社,2006:496-497.
- [2]Hait M, Goswami J. Physicochemical and phytochemical status

on flower of *Bombax ceiba* [J]. Journal of Medicinal Plants Studies, 2017, 5(3): 189-192.

- [3]王新,李丹,李斌.中药及天然产物单分子组分抗肿瘤免疫机理[J].自然杂志,2019,41(4):255-260.

- [4]冯丁山,林卫华,黄业宇,等.木棉花对大鼠致畸实验研究[J].毒理学志,2018,32(5):387-389.

- [5]包文龙,冯俊华,劳成景,等.木棉花提取物对酪氨酸酶抑制作用的研究[J].广州化工,2020,48(14):100-102.

- [6]冯丁山,林卫华,黄业宇,等.木棉花干粉的毒理学安全性评价[J].现代食品科技,2018(12):252-257,110.

- [7]王雅丽.木棉花和紫花地丁中活性成分的结构和含量及抗 α -葡萄糖苷酶和抗氧化活性研究[D].呼和浩特:内蒙古大学,2018.

- [8]Xu GK, Qin XY, Wang GK, et al. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of standard ethanol extract of *Bombax ceiba* leaves in high-fat-diet-and streptozotocin-induced Type 2 diabetic rats [J]. Chin J Nat Med, 2017, 15(3): 168-177.

- [9]刘金泳,邱素君,陈芳超,等.木棉花水提取物抗炎镇痛作用的实验研究[J].广州医药,2018,49(1):5-8.

- [10]Xu GK, Sun CY, Qin XY, et al. Effects of ethanol extract of *Bombax ceiba* leaves and its main constituent mangiferin on diabetic nephropathy in mice [J]. Chin J Nat Med, 2017, 15(8): 597-605.

- [11]Alsayari A, Ghazwani M, Almaghaslah D, et al. *Bombax ceiba*: A Potential Anti-Anxiety Drug [J]. Pharmacognosy Journal, 2018, 10(4): 712-714.

- [12]张梦玲,刘美珍,杨斌.基于网络药理学探讨木棉花对肝损伤的作用机制[J].中国民族民间医药,2020,29(20):19-25.

- [13]Arafa AF, Foda DS, Mahmoud AH, et al. *Bombax ceiba* flowers extract ameliorates hepatosteatosis induced by ethanol and relatively moderate fat diet in rats [J]. Toxicol Rep, 2019, 30(6): 401-408.

- [14]唐微艳.木棉花水提取物对人肺癌NCI-H460细胞体内外抑制作用及机制研究[D].南宁:广西医科大学,2019.

- [15]贺丹.姚梅龄应用焦膜理论治疗胃胀验案浅析[J].中医临床研究,2017,9(33):27-28.

- [16]卢秋玉,苏金妹,唐爱存,等.木棉花总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国现代应用药学,2020,37(6): 664-668.

- [17]白颖璐,张金芳,沙子瑭,等.基于网络药理学和分子对接分析八味三香散治疗慢性心力衰竭的潜在分子机制[J].中国中药杂志,2021,46(10):2392-2402.

- [18]张小雪,李青容,刘敏宜,等.木棉花超氧化物歧化酶分离工艺的研究[J].汕头大学学报(自然科学版),2019,34(2):52-61.

收稿日期:2021-11-16;修回日期:2021-12-20

编辑/肖婷婷