

三叶木通果实对小鼠急性毒性的初步研究

钟彩虹^{1*}, 黄宏文^{1,2}, 韦玉先³, 龚俊杰¹, 姜正旺¹

(1. 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074; 2. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 3. 桂林医学院, 桂林 541004)

摘要: 以三叶木通(*Akebia trifoliata*)果实为试材,选取体重20~23 g的昆明种小鼠作为试验对象,分别研究果皮、果肉、种子对小鼠的急性毒性效应。结果表明,三叶木通果实的果皮、果肉对小鼠无毒,果皮滤液的最大耐受量大于50 g/kg,果肉的最大耐受量大于100 g/kg。而种子与蒸馏水1:1的混悬液却对小鼠有毒,LD₅₀ = 12.83 g/kg。灌胃后,绝大多数小鼠5~10 min内自发活动减少,呈嗜睡状态,1~2 h死亡,死亡前少数有轻度惊厥(后肢向后伸),呼吸先停,随后心跳停止;未死亡小鼠中毒症状持续约3~4 h,随后小鼠的饮食、活动恢复正常。

关键词: 三叶木通; 果实; 小鼠; 急性毒性

中图分类号: Q946-33

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2009)06-0688-04

The Primary Study of Acute Toxicity Induced by Fruits of *Akebia trifoliata* on Mice

ZHONG Cai-Hong^{1*}, HUANG Hong-Wen^{1,2}, WEI Yu-Xian³, GONG Jun-Jie¹, JIANG Zheng-Wang¹

(1. Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; 2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 3. Guilin Medical College, Guilin 541004, China)

Abstract: The fruits of the cultivated *Akebia trifoliata* and the mice (20–30 g) of species ‘Kunming’ were taken as experimental materials. The acute toxicity of pericarp, flesh and seed on these mice were tested respectively. The results indicated that the pericarp and flesh of *Akebia trifoliata* had no toxicity on these mice. The maximum tolerant dosage for the filtered pericarp mixture was 50 g/kg to mice, and the maximum tolerant dosage for the flesh was 100 g/kg to mice. However, the diluted suspended mixture of seeds and distilled water at the ratio of 1:1 was toxic to the mice (LD₅₀ = 12.83 g/kg). Spontaneous activities of most mice reduced and showed somnolent after the suspended seed mixture was given intragastrically for 5 to 10 minutes, and then died within 1 or 2 hours. A few mice showed light convulsions (hind stretched backwards) before death. Their respiration stopped first and the heart-throb ended subsequently. The toxic symptom of the survived mice continued for 3 or 4 hours and the mice could recover to normal diet and action later.

Key words: *Akebia trifoliata*; Fruit; Mice; Acute toxicity

三叶木通[*Akebia trifoliata* (Thunb) Koidz]是木通科木通属的一种野生果树,其植株为缠绕木质藤本,在我国南部、长江流域和西北地区均有分布,其果实口感浓甜(甜糯)、果肉白色晶莹透明,风味独特,富含丰富的营养物质。据测定,每100 g果实中含有蛋白质1.0 g、脂肪0.13 g、淀粉0.52 g、碳水化合物13.6 g、各种可溶性糖8.46 g、钙242 mg、磷20 mg、各种有机酸3.171 g、Vc 18 mg等^[1],各组分含量均高于苹果、柑桔等栽培水果。此外,三叶木通种子脂肪油含量高,用石油醚回流法制得的粗油产率达36.7%,且脂肪酸成分以不饱和脂肪酸为

主,其含量可达70.1%,其中人体必需的亚油酸含量高达29.6%,有广泛的保健作用^[2]。另据多种药书记载,木通科植物干燥果实(预知子)具有舒肝理气、活血止痛、除烦利尿的功效,应用于肝、胃气滞,脘肋胀痛,疝气,痛经,烦渴等症^[3]。据文献报道,皂苷类成分是预知子中的主要成分,其中 α -常春藤皂苷(Saponins Pd),具有保肝、抗肿瘤、止痉、止痛、抗真菌、杀虫等多种药理活性^[4-8]。新鲜果肉还有美白祛斑的功效,据研究,人工栽培条件下的三叶木通果实不同部位的乙醇提取物对酪氨酸酶活性均有一定的抑制作用,其中果肉对酪氨酸酶活性的抑制

收稿日期:2008-12-29,修回日期:2009-04-15。

基金项目:武汉市科技攻关项目(200820422173)资助。

作者简介:钟彩虹(1968-),女,副研究员,主要从事园艺植物资源研究与开发工作。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: zhongch@wbcas.cn)。

作用最佳,以中等浓度(200 $\mu\text{g/mL}$)为例,三叶木通果肉提取物对酪氨酸酶活性的抑制率为54.60%,而1.0 mmol/L (270 $\mu\text{g/mL}$)熊果苷的抑制率为59.70%^[9]。三叶木通的种子、茎、叶、根均可入药,可治关节炎、骨髓炎等症,并具有防治肝癌的作用^[10]。

由于三叶木通果实具有良好的食用品质和丰富的营养,近年来国内相关单位正在对三叶木通进行系统的驯化利用研究,以期开发成新型水果^[11]。但由于三叶木通的干燥藤茎和果实(预知子)为传统的中药材,其商品名与“关木通”、“川木通”统称为“木通”,在木通临床应用中出现很多中毒案例,所以关于中药材木通(主要是关木通、川木通及木通科木通的干燥藤茎)毒性的研究和报道较多,证实主要是含有马兜铃酸的关木通或其他药品所致,但是未见有关于木通科的三叶木通新鲜果实各部分毒性的报道。我们通过研究栽培条件下三叶木通果实各部位(果皮、果肉、种子)对小鼠的急性毒性,以期三叶木通果实资源的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用三叶木通(*Akebia trifoliata*)果实采自中国科学院武汉植物园的三叶木通驯化育种圃,为自选优株所结果实。

实验小鼠由桂林医学院实验动物中心提供,昆明种,体重20~23 g。饲养室温度为21℃±3℃。

1.2 毒性测定方法

参照徐淑云^[12]和吕圭源^[13]等的毒性测定方法并加以改进。

1.2.1 样品的处理

果皮处理:将果皮剪碎,置于捣碎机中捣碎,按1:1的比例加入蒸馏水,搅匀后,用双层纱布过滤,滤液置三角烧瓶内,冰箱保存。滤液1 mL含果皮0.5 g。

果肉处理:将果皮剥开取出果肉,置于两层无菌纱布中加压挤(戴医用手套)出果肉(去籽),置三角烧瓶内,冰箱保存。

种子处理:三叶木通种子1 g加蒸馏水1 mL,用捣碎机捣碎,制成1:1的混悬液,按所需剂量再配成不同的浓度,小鼠灌胃时,再用乳钵研磨1次。

1.2.2 急性毒性的测定

果皮急性毒性 预试验:取20~22 g小鼠4只,0.5 mL/10 g灌胃给药,之后连续3 d观察小鼠的反应。

最大耐受量测定:鉴于果皮滤液不宜浓缩,以果皮滤液最大限量0.5 mL/10 g灌胃给药,未见小鼠死亡。因此决定做最大耐受量(MTD)测定。取20~23 g小鼠20只,雌雄各半,试验前禁食12 h,以0.5 mL/10 g灌胃给药,24 h内给药2次,日用量为50 g/kg。连续7 d观察小鼠的毒性表现。

果肉急性毒性 预试验:取20~22 g小鼠10只,0.5 mL/10 g灌胃给药,之后连续3 d观察小鼠的反应。

果肉的MTD测定:鉴于果肉不宜浓缩,以果肉原汁最大限量0.5 mL/10 g灌胃给药,未见小鼠死亡。因此,只能做MTD测定。取20~23 g小鼠20只,雌雄各半,试验前禁食12 h,以0.5 mL/10 g灌胃给药,24 h内给药2次,日用量为100.0 g/kg。连续7 d观察动物的毒性表现。

种子急性毒性 半致死剂量(LD₅₀)测定:用配好的种子溶液按0.5 mL/10 g灌胃给药,一次性灌胃后连续7 d观察动物中毒及死亡情况。结果按Bliss计算:

$$\text{LD}_{50} = \log^{-1}[\chi_m - i(\sum P - 0.5) + 1/4(1 - P_m - P_n)]$$

χ_m 表示对数剂量, P 、 P_m 、 P_n 表示死亡率, i 表示公比, $i = \log 1/0.8 = 0.097$ 。

2 结果与分析

2.1 果皮的急性毒性

急性毒性预试验表明,灌胃后3 d,小鼠无一死亡,饮食和活动等均正常,未观察到毒性表现。而最大耐受量测定表明,灌胃后7 d,20只小鼠无一死亡,动物的饮食、活动、毛发及体重增长等均正常。未观察到动物的毒性表现,果皮滤液的最大耐受量 ≥ 50 g/kg。

2.2 果肉的急性毒性

果肉灌胃后3 d,小鼠无一死亡,饮食和活动等均正常,未观察到毒性表现。而最大耐受量测定表明,小鼠灌胃后7 d,20只小鼠无一死亡,动物的饮食、活动、毛发及体重增长等均正常,未观察到动物的毒性表现,果肉的最大耐受量 ≥ 100.0 g/kg。

2.3 种子的急性毒性

用配置好的种子溶液给小鼠灌胃后,绝大多数小鼠5~10 min内自发活动减少,呈嗜睡状态,1~2 h死亡,死亡前少数动物有轻度惊厥(后肢向后伸),呼吸先停,随后心跳停止。未死亡小鼠中毒症状的持续时间约3~4 h,中毒症状逐渐消失后,存活小鼠的饮食、活动恢复正常(见表1、表2)。再经7 d观察,存活小鼠无其他异常表现。

表 1 三叶木通种子 1:1 混悬液不同剂量灌胃给药后 7 d 小鼠的死亡情况

Table 1 Mortality of mice after the diluted suspended mixture of seeds and distilled water at the ratio of 1:1 was given intragastrically at seven days

动物数(只) Mice Num.	剂量(g/kg) Dose	对数剂量($x = \log D$) Logarithmic dose	死亡率(P) Mortality rate	机率单位(Y) Unit of ratio	死亡率平方(P^2) Square of mortality rate	公比(i) Public ratio
10	20	1.301	1.00	—	1.0000	$i = \log 1/0.8 = 0.097$
10	16	1.204	0.70	5.524	0.4900	
10	12.8	1.107	0.60	5.253	0.3600	
10	10.24	1.010	0.20	4.158	0.0400	
10	8.19	0.913	0.00	—	0.0000	

表 2 三叶木通种子 1:1 混悬液不同剂量灌胃给药后 7 d 动物的临床症状

Table 2 Clinic symptom of mice after the diluted suspended mixture of seeds and distilled water at the ratio of 1:1 was given intragastrically at seven days

毒性反应 程度(级) Degree of toxicity reaction	自发活动 Spontaneous activity		异常肌肉运动 Unconventional muscle exercise			对外界反应 Reaction to enviroment		瞳孔 Pupil		分泌物 Secretion	
	增多 Increase	减少 Reduce	抽搐 Twitch	麻痹 Numbness	异常步态 Abnomal gait	过敏 Allergy	冷漠 Apartness	扩大 Enlarge	缩小 Dwindle	流涎 Salivate	流泪 Weep
I	0	5		0	3	0	4	0	0	0	0
II		8			5		8				
III			3		9		10				
IV		25			20		20				

毒性反应 程度(级) Degree of toxicity reaction	粪便 Dejecta		肤色 Complexion			眼 Eye		呼吸 Breath		
	稀便 Loose stools	便秘 Constipation	色泽异常 Abnormal color	苍白 Pallor	紫绀 Cyanosis	充血 Engorgement	眼球凸出 Eyeball bulge	眼睑下垂 Eyelid sag	兴奋 Excitation	抑制 Restriction
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II	5									10
III										5
IV										25

注:表内的阿拉伯数字为出现各级反应的动物数。毒性反应等级:I级(最轻)、IV级(最重)。

Notes: The figure of table indicates animal number of each grade. Degree of toxicity reaction: I-class is the slightest, IV-class is the most serious.

按 Bliss 计算, $LD_{50} = 12.83 \text{ g/kg}$, 95% 可信限 = $(11.52 \pm 14.28) \text{ g/kg}$ 。

3 讨论

对小鼠的急性毒性试验表明,三叶木通果实的果皮、果肉对小鼠无毒,果皮滤液的最大耐受量大于 50 g/kg ,果肉的最大耐受量大于 100 g/kg ,而种子 1:1 混悬液却对小鼠有毒,灌胃 5~10 min 内小鼠自发活动减少,呈嗜睡状态,当剂量较大时,1~2 h 死亡, LD_{50} 为 12.83 g/kg 。小于致死剂量时,小鼠被灌入混悬液时同样有部分出现中毒症状,持续 3~4 h,恢复后,动物的饮食、活动正常。

三叶木通的果肉无毒,完全可食用或用于加工美白祛斑的保健饮料。鉴于种子有毒,在综合利用开发过程中,可向多方向发展:一是作加工型保健水果开发,培育少籽皮薄型的新品种,主要利用果肉作保健饮料,果皮制干后可生产中药材“预知子”;二是作鲜食水果开发,采用杂交或分子育种等先进方

法培育无籽皮薄、可食率高的鲜食型新品种,开发成新型保健鲜食水果;三是作药材开发,培育生长量大、抗逆性强、果实皮厚籽少的新品种,生产木通或预知子,加速三叶木通的开发利用。

在预知子的干制过程中,宜去除种子。但这是是否影响药效,还需深入研究。

三叶木通果实种子致小鼠死亡的成分及其致毒机理,如是否导致神经系统或消化系统出现紊乱,有待进一步研究。

致谢:本研究得到了桂林医学院药理教研室的唐祖年、梁荣感两位老师及学生陆金兴的帮助,及武汉植物园王圣梅、徐丽云两位同志的大力支持。

参考文献:

- [1] 李金光,李嘉瑞. 三叶木通果实生物学特征及营养成分的研究[J]. 广西植物, 1991, 11(2): 189-192.
- [2] 彭涤非,王中炎. 三叶木通种子脂肪酸成分的 GC-MS 分析[J]. 植物资源与环境学报, 2006, 15(4): 71-72.
- [3] 方元平,陈树思. 三叶木通的开发利用[J]. 资源开发与市场,

- 2000,16(6): 362.
- [4] Jiang J W, Xiao Q X. Plant Amedica Component Handbook(植物药效成分手册)[M]. Beijing: People Public Health Publishing Company, 1986: 920-921.
- [5] Shi J Z, Liu G T. Effect of alpha-hederin and sapindoside B on hepatic microsomal cytochrome P-450 in mice[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1996, 17(3): 264-266.
- [6] Won S H, Lee J H. Kalopanaxsaponin A is a basic saponin structure for the anti-tumor activity of hederagenin monodesmosides[J]. *Planta Med*, 2001, 67(2): 118-121.
- [7] Trute A, Gross J, Mutschler E, et al. *In vitro* antispasmodic compounds of the dry extract obtained from *Hedera helix* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(2): 125-129.
- [8] Choi J, Huh K. Antinociceptive and anti-rheumatoidal effects of kalopanax pictus extract and its saponin components in experimental animals[J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79(2): 199-204.
- [9] 彭涤非, 钟彩虹, 周海燕, 曾斌, 王中炎. 三叶木通果实对酪氨酸酶活性的抑制作用研究[J]. *武汉植物学研究*, 2008, 26(2): 183-185.
- [10] 金有景. 抗癌食药草本[M]. 北京: 中国食品出版社, 1989: 191-198.
- [11] 钟彩虹, 卜范文, 王中炎. 三叶木通实生后代果实生物学特性研究[C]. //中国园艺学会. 中国园艺学会第十届会员代表大会暨学术讨论会论文集. 长沙: 中国重要会议论文全文数据库, 2005: 167.
- [12] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 226-228.
- [13] 吕圭源, 王一涛. 中药新产品开发学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 140, 367-368.