

齿瓣石斛提取物对SD大鼠的致畸作用研究

梅松, 陈建国, 刘冬英, 刘臻, 胡志航, 张丽婧, 曲雪峰, 吴月国, 刘骅, 王茵*
(浙江省医学科学院, 杭州 310013)

摘要: **目的** 研究齿瓣石斛对SD大鼠的胚胎毒性与致畸毒性。**方法** 孕SD鼠随机分为4组, 分别为齿瓣石斛4.5(低剂量)、9.0(中剂量)、18.0(高剂量)g/kg剂量组和阴性对照组, 每组大于17只。在受孕的第7~16 d, 每天经口给予受试物, 实验期间记录孕鼠的一般状况、体重, 于受孕第20 d剖检孕鼠, 检查孕鼠的体重及妊娠情况, 胎鼠的体重、身长、尾长与外观、骨骼、内脏的畸形情况。**结果** 各剂量组孕鼠增重、活胎率、吸收胎率、活胎体重、身长及尾长与阴性对照组比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。各剂量组和阴性对照组胎鼠的外观、骨骼及内脏未见畸形。**结论** 在本实验条件下, 未发现齿瓣石斛对SD大鼠的胚胎毒性和致畸毒性。**关键词:** 齿瓣石斛; 胚胎毒性; 致畸毒性

Teratogenic effects of *Dendrobium devonianum* Paxton extract on SD rats

MEI Song, CHEN Jian-Guo, LIU Dong-Ying, LIU Zhen, HU Zhi-Hang, ZHANG Li-Jing,
QU Xue-Feng, WU Yue-Guo, LIU Hua, WANG Yin*

(Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the embryo toxicity and teratogenicity of *Dendrobium devonianum* Paxton in SD rats. **Methods** SD rats successfully impregnated were divided into 4 groups (more than 17 rats per group), including three dosage groups (4.5, 9.0, 18.0 g/kg) and one negative control group. During gestation from 7-16 d, animals were orally gavaged with caulis dendrobii devoniani once daily, clinical manifestations and weight of the pregnant rats were collected during the study. On the 20th day pregnant rats were euthanized and dissected, and the body length, tail length, body weight of the fetus and length of fetus and the appearance, visceral and skeletal malformations of fetus were examined. **Results** No statistically significant differences were found in all the assessed indices (including the weight gain of pregnant rats, average live fetus, absorptive fetus ratio, body length, tail length, and body weight of the fetus) between dosage and control groups ($P>0.05$). **Conclusion** Under the experimental conditions, caulis dendrobii devoniani shows no significant effects on the toxicity of SD pregnant rats, which has no apparent teratogenicity and embryotoxicity.

KEY WORDS: *Dendrobium devonianum* Paxton; embryotoxicity; teratogenicity

基金项目: 浙江省医学支撑学科营养学(11-zc03)、浙江省科技计划项目(2017F30001, 2017C25036, 2019C02028)、浙江省自然科学基金(LQ18H260003, LQ14H260002)

Fund: Supported by Zhejiang Medical Support Discipline of Nutrition (11-zc03), Zhejiang Science and Technology Plan Project (2017F30001, 2017C25036, 2019C02028) and Zhejiang Natural Science Foundation (LQ18H260003, LQ14H260002)

*通讯作者: 王茵, 教授, 主要研究方向为营养与食品卫生。E-mail: wy3333@163.com

*Corresponding author: WANG Yin, Professor, Zhejiang Academy of Medical Science, No.182, Tianmushan Road, Xihu District, Hangzhou 310013, China. E-mail: wy3333@163.com

1 引言

齿瓣石斛为兰科植物齿瓣石斛 (*Dendrobium devonianum* Paxton) 的干燥茎, 又名紫皮石斛、紫皮兰、香棍草、大黄草, 因在秋冬采收季节除去叶鞘膜后其茎多呈紫色而得名, 具有益胃生津、滋阴清热等功效^[1-3]。紫皮石斛最早于1980年鲜品就作为药用, 至20世纪90年代开始出现“紫皮枫斗”。齿瓣石斛为西南各省区石斛药材主要习用品种之一, 为石斛属植物中栽培仅次于铁皮石斛的品种^[4]。目前, 云南龙陵种植的齿瓣石斛已由过去粗放的野生栽培发展到集约化栽培, 由零星种植发展到规模化、规范化种植, 由单家独户的分散经营发展到行业化经营, 并形成产业链, 已成为石斛的主流产品。齿瓣石斛加工成“枫斗”后与铁皮石斛“枫斗”在形态上相似, 市场上常作为铁皮石斛的替代品, 其价格仅次于铁皮石斛^[5]。经研究发现齿瓣石斛野生及种植品富含黏液, 石斛的化学成分主要为多糖^[6,7]、生物碱^[8,9]、菲类、联苕类^[10,11]、酚酸类和黄酮类^[12], 另外还含有少量的微量元素^[13]及氨基酸^[14]、药理作用等方面与铁皮石斛大致相同, 可用于治疗白内障、糖尿病、关节炎、慢性咽炎、肿瘤等疾病, 认为质量类似于铁皮石斛, 有很大的开发空间^[15]。但目前有关齿瓣石斛的毒理学资料相对较少, 仅有急性毒性和亚慢性毒性等研究^[16,17]。本研究采用SD大鼠对其进行了致畸敏感期毒性试验, 为齿瓣石斛的进一步开发应用提供了科学依据。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 受试物

齿瓣石斛干条, 由云南品斛堂生物科技有限公司提供。为便于动物试验, 对受试物进行前处理。样品处理方法为: 原料切成小段; 加10倍量50%乙醇浸泡过夜, 次日回流3h, 如此共2次, 过滤, 2次滤液减压浓缩回收乙醇成浸膏; 齿瓣石斛滤渣再加30倍量水提取4h, 如此共提取2次, 过滤, 2次滤液减压浓缩成浸膏; 合并2次浸膏, 喷雾干燥成干粉, 得率为22%, 提取物干粉经苯酚-浓硫酸法测得粗多糖含量为39.6%。

2.1.2 动物

清洁级SD大鼠110只, 体重180~230g, 其中雌性SD大鼠80只, 雄性大鼠30只, 浙江省实验动物中心提供, 实验动物生产许可证号为SCXK(浙)2014-0001。动物饲养于屏障系统不锈钢笼, 控制光照每日明、暗各12h, 室温20~25℃, 相对湿度40%~70%, 实验动物使用许可证号为SYXK(浙)2011-0166。基础饲料由浙江省实验动物中心提供, 执行标准GB 14924-2010^[18]。

2.2 方法

2.2.1 剂量设计

依据急性毒性试验结果设齿瓣石斛4.5、9.0、18.0g/kg-BW 3个剂量组, 另设一个阴性对照组。受试样品按不同剂量要求分别以1%羧甲基纤维素作溶媒分别配制, 按10mL/kg-BW灌胃容量每天上午给药一次, 阴性对照给予相应容量的1%羧甲基纤维素溶液。

2.2.2 动物分组与观察指标

雌性大鼠与雄性大鼠以2:1比例同笼过夜, 次日早晨阴道涂片见精子者确定为受精鼠, 记录体重并随机分成4组, 每组不少于17只, 受精当天确定为受孕0d。实验大鼠自由进食、饮水, 观察并记录动物的一般表现、行为、中毒体征及死亡等情况。在受孕的第7~16d, 每天经口给予受试物^[19]。并于受孕7、12、16、20d记录体重。于受孕20d处死母鼠, 剖腹取出子宫称重, 检查并记录黄体数、活胎数、吸收胎及死胎数。逐一记录活胎仔的体长、尾长、体重, 检查有无外观畸形。每窝取一半胎鼠浸入95%乙醇中固定2~3周, 淋洗后用1%氢氧化钾透明2~3d, 取出浸入茜素红应用液染色, 定期观察染色效果, 透明后将骨骼标本放入小平皿中, 用透射光源, 在体视显微镜下作整体观察, 然后逐步检查骨骼; 另一半浸入Bouins液(甲醛-乙酸-苦味酸溶液)固定后, 先用自来水冲去固定液, 将胎鼠仰放在石蜡板上, 剪去四肢和尾, 用刀片在头部按要求切5刀以观察头部器官, 再沿腹中线剪开胸、腹腔以观察内脏畸形。

2.2.3 统计学方法

计算各个观察指标的平均数、标准差、发生率等, 数据用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 用SPSS 13.0统计软件包进行分析, 其中计量数据采用ANOVA方差分析, 计数数据采用卡方检验。

3 结果与分析

3.1 一般观察结果

试验期间, 各组孕鼠摄食、饮水未见异常, 体重增长正常, 未见中毒表现和体征, 也无死亡。

3.2 齿瓣石斛提取物对孕鼠体重增长的影响

各剂量组孕鼠体重增长状况良好, 受孕大鼠0、7、12、16、20d体重及增重与阴性对照组比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 结果见表1。

3.3 齿瓣石斛提取物对孕鼠生殖功能的影响

如表2所示, 各剂量组孕鼠的着床、吸收胎、活胎、死胎、着床前死亡率等指标与阴性对照组相近, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。

3.4 齿瓣石斛提取物对胎鼠生长发育的影响

如表3所示, 各剂量组胎鼠的身长、尾长和体重3个指标与阴性对照组比较无统计学意义($P>0.05$)。

表6 齿瓣石斛提取物对胎鼠内脏畸形的影响
Table 6 Effect of caulis dendrobii devoniani extract on fetal visceral malformation

剂量 (g/kg)	受检胎鼠数	内脏畸形率(百分比)/%			
		鼻腔充血	脑室充血	肾脏萎缩	上腭裂
0.0	91	0	0	0	0
4.5	97	0	0	0	0
9.0	88	0	0	0	0
18.0	95	0	0	0	0

4 讨论与结论

齿瓣石斛过去没有药用的记载, 据调查, 云南省大量收购齿瓣石斛始于20世纪80年代末90年代初^[20], 并发现其多糖含量高于铁皮石斛^[15]。齿瓣石斛药理研究较少, 但是其在医疗保健中的作用经过多年的市场考验, 已经得到公认。但有关齿瓣石斛的毒理学实验资料较少, 特别是有关致畸作用的研究。希望通过本研究的安全性评价进一步扩大其市场。

齿瓣石斛提取物的大鼠致畸试验, 未见受孕大鼠出现中毒症状, 对其体重增长、受孕率、活胎率、吸收胎和死胎率、着床前死亡率及窝平均活胎数等均无明显损害性影响。阴性对照组和各剂量组对胎鼠的胸骨缺失及凶门增大指标无明显影响($P>0.05$), 也未观察到胎鼠有外观畸形和内脏畸形。各剂量组胎鼠的体重、身长、尾长和阴性对照组比较, 差异均无统计学意义。

齿瓣石斛提取物大鼠致畸试验中, 齿瓣石斛提取物4.5、9.0、18.0 g/kg·BW 剂量组, 未观察到对大鼠的生殖毒性作用, 对胎鼠生长发育无明显影响。齿瓣石斛提取物在本实验条件下对SD大鼠无致畸效应。

参考文献

- [1] 冉懋雄, 刘家保. 云南龙陵紫皮石斛产业发展的思考与建议[J]. 中国现代中药, 2010, 12(2): 11-13.
Ran MX, Liu JB. Thoughts and suggestions on the development of dendrobium candidum industry in Longling, Yunnan province [J]. Mod Chin Med, 2010, 12(2): 11-13.
- [2] 起建凌, 杨生超, 卢迎春. 龙陵县紫皮石斛产业化发展研究[J]. 云南农业大学学报, 2013, 7(4): 1-5.
Qi JL, Yang SC, Lu YC. Study on the industrialization development of scutellaria in Longling county [J]. J Yunnan Agric Univ, 2013, 7(4): 1-5.
- [3] 云南省食品药品监督管理局. 云南省中药材标准: 第七册[M]. 云南: 云南出版集团公司云南科技出版社, 2005.
Yunnan Food and Drug Administration. Yunnan Chinese herbal medicine standards: Volume 7 [M]. Yunnan: Yunnan Publishing Group Corporation Yunnan Science and Technology Press, 2005.
- [4] 王洪云, 李铭, 郝俊杰, 等. 齿瓣石斛研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2014, 23(11): 2732-2735.

- Wang HY, Li M, Hao JJ, et al. Research progress of *Dendrobium serrata* [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2014, 23(11): 2732-2735.
- [5] 明兴加, 张明, 陶文静. 名贵中药齿瓣石斛的开发前景[J]. 重庆中草药研究, 2006, 54(2): 51-54.
Ming XJ, Zhang M, Tao WJ. The development prospect of valuable Chinese medicine *Dendrobium candidum* [J]. Chongqing J Res Chin Drugs Herbs, 2006, 54(2): 51-54.
- [6] Zha XQ, Luo JP, Luo SZ, et al. Structure identification of a new immunostimulating polysaccharide from the stems of *Dendrobium huoshanense* [J]. Carbohydr Polym, 2007, 69(1): 86-93.
- [7] Wei W, Feng L, Bao WR, et al. Structure characterization and immunomodulating effects of polysaccharides isolated from *Dendrobium officinale* [J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(4): 881-889.
- [8] Biz M, Wang ZT, Xu LS. Chemical constituents of *Dendrobium moniliforme* [J]. Acta Bot Sin, 2004, 46(1): 124.
- [9] Wang YH, Avula B, Abe N, et al. Tandem mass spectrometry for structural identification of sesquiterpene alkaloids from the stems of *Dendrobium nobile* using LC-QToF [J]. Planta Med, 2016, 82(7): 662-670.
- [10] Yang L, Wang ZT, Xu LS. Simultaneous determination of phenols (bibenzyl, phenanthrene, and fluorenone) in *Dendrobium species* by high performance liquid chromatography with diode array detection [J]. J Chromatogr A, 2006, 11(4): 230.
- [11] Chen XJ, Mei WL, Cai CH, et al. Four new bibenzyl derivatives from *Dendrobium sinense* [J]. Phytochem Lett, 2014, 9: 107-112.
- [12] 李燕, 王春兰, 王芳菲. 铁皮石斛中的酚酸类及二氢黄酮类成分[J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(13): 975.
Li Y, Wang CL, Wang FF. Phenolic acids and dihydroflavonoids in *Dendrobium candidum* [J]. Chin Pharm J, 2010, 45(13): 975.
- [13] 金鹏程, 丁永丽. 齿瓣石斛中微量元素含量及浸出特性[J]. 江苏农业科学, 2012, 4: 292.
Jin PC, Ding YL. Trace element content and leaching characteristics of *Dendrobium nobile* [J]. Jiangsu Agric Sci, 2012, 4: 292.
- [14] 郑志新, 李昆. 云南龙陵齿瓣石斛化学成分分析测定及栽培方式选择[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(4): 1426.
Zheng ZX, Li K. Determination of chemical constituents and selection of cultivation methods for *Dendrobium nobile* in Yunnan Longling [J]. J Anhui Agric Sci, 2008, 36(4): 1426.
- [15] 李满飞, 徐国钧, 平田义正, 等. 重要石斛类多糖的含量测定[J]. 中草药, 1990, 21(10): 10-12.
Li MF, Xu GJ, Ping TYZ, et al. Determination of the content of important *Dendrobium* polysaccharides [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 1990, 21(10): 10-12.
- [16] 吴月国, 王茵, 梅松, 等. 齿瓣石斛提取物的急性毒性和遗传毒性[J]. 中成药, 2017, 39(6): 1281-1284.
Wu YG, Wang Y, Mei S, et al. Acute toxicity and genotoxicity of *Dendrobium nobile* extract [J]. Chin Tradit Patent Med, 2017, 39(6): 1281-1284.
- [17] 吴月国, 刘臻, 王茵, 等. 齿瓣石斛对大鼠的亚慢性毒性[J]. 中成药, 2018, 56(11): 2551-2553.
Wu YG, Liu Z, Wang Y, et al. Subchronic toxicity of *Dendrobium candidum* to rats [J]. Chin Tradit Patent Med, 2018, 56(11): 2551-2553.
- [18] GB 14924-2010 实验动物 配合饲料营养成分国家标准[S].
GB 14924-2010 National laboratory animals standard-Nutrients for

formula feeds [S].

[19] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[M]. 北京: 中国标准出版社, 2003.

Ministry of Health of the People's Republic. Technical specification for health food inspection and evaluation [M]. Beijing: China Standards Press, 2003.

[20] 包雪声, 顺庆生, 陈立钻. 中国药用石斛彩色图谱[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 2001.

Bao XS, Shun QS, Chen LZ. Chinese medical sarcophagus color map [M]. Shanghai: Shanghai Medical University Press, 2001.

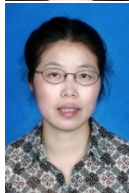
(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



梅 松, 助理研究员, 主要研究方向为营养与食品卫生。

E-mail: 80216200@qq.com



王 茵, 教授, 主要研究方向为营养与食品卫生。

E-mail: wy3333@163.com