

鸡血藤提取物对环磷酰胺致白细胞低下大鼠的影响

应 军, 肖百全, 杨 威*, 曾祥腾, 肖 元

广州医药工业研究院, 广东 广州 510240

摘 要: 目的 利用环磷酰胺(CTX)致白细胞低下大鼠模型研究鸡血藤提取物的升白细胞作用, 发现其升白细胞作用的有效部位。方法 采用 CTX (100 mg/kg) 单次 sc 的方法制备大鼠白细胞低下模型, 给药后第 7、9、11 天采集大鼠的血液, 测定白细胞总数及分类, 并进行统计分析。结果 鸡血藤提取物 A (50%乙醇提取, 为总提取物)、B (50%乙醇提取-水洗脱)、C (50%乙醇提取-25%乙醇洗脱) 组均未见明显升白细胞作用, 而鸡血藤提取物 D (50%乙醇提取-70%乙醇洗脱, 总黄酮量大于 55%) 和阳性药利可君均具有明显的升白细胞作用, 且鸡血藤提取物 D 的升白细胞作用具有量效关系, 优于阳性药利可君。结论 鸡血藤提取物 D 可能是鸡血藤升白细胞作用的有效部位, 推测其升白细胞作用的有效物质是总黄酮。

关键词: 鸡血藤提取物; 环磷酰胺; 白细胞低下; 升白细胞作用; 总黄酮

中图分类号: 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)04-0752-04

Effect of *Caulis Spatholobi* extracts on leukopenia induced by cytoxan in rats

YING Jun, XIAO Bai-quan, YANG Wei, ZENG Xiang-teng, XIAO Yuan

Guangzhou Institute of Pharmaceutical Industry, Guangzhou 510240, China

Key words: *Caulis Spatholobi* extracts (CSEs); cytoxan (CTX); leukopenia; leukogenic effect; total flavonoids

目前治疗肿瘤的有效手段主要为手术、放疗以及化疗, 但化疗药物大多有使患者白细胞减少的不良反应, 针对此不良反应虽有不少药物, 但均有不尽人意之处, 如价格贵、升白细胞效果不明显以及不良反应大等。因此, 发现升白细胞作用明显、不良反应小的药物具有重要的意义。鸡血藤为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn 的干燥藤茎, 具有活血、补血、通络的功效^[1]。近年来有关鸡血藤升白细胞作用的临床试验研究有报道, 但其有效部位的升白细胞作用实验研究未见报道, 为此, 本课题组对鸡血藤的系列提取物进行研究, 期望发现升白细胞作用明显的提取物, 预测有效部位, 为鸡血藤的开发提供依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 74 只, 雌雄各半, 体质量 120~150 g, 7~9 周龄, 购于广东省医学实验动物中心动物合格证号: SCXK (粤) 2008-0002。

1.2 药品

鸡血藤提取物由广州医药工业研究院天然药物研究开发中心制备, 鸡血藤提取物均以 0.5% CMC-Na 配制, 分别为鸡血藤提取物 A (50%乙醇提取, 为总提取物)、鸡血藤提取物 B (50%乙醇提取-水洗脱)、鸡血藤提取物 C (50%乙醇提取-25%乙醇洗脱)、鸡血藤提取物 D (50%乙醇提取-70%乙醇洗脱, 总黄酮量大于 55%)。

1.3 主要试剂

利可君 (江苏吉贝尔药业有限公司, 批号 081004), 注射用环磷酰胺 (CTX, 山西普德药业有限公司, 批号 20090901)。

1.4 主要仪器

XT-2000iv 动物专用全自动血液分析仪, 日本 Sysmex。

2 方法

2.1 剂量设计

鸡血藤提取物 A、B、C 剂量分别为 630、220、

收稿日期: 2010-10-11

基金项目: 粤港关键领域重点突破项目“华南创新中药研究开发与技术服务中心(平台)”(2006A35003001)

作者简介: 应 军 (1973—) 男, 副主任药师、院长、党委书记, 主要从事中药新药研发及管理工作。

Tel: (020)84435577 E-mail: yingj@gpc.com.cn

*通讯作者 杨 威 Tel: (020)84241750 E-mail: yangwei0719@163.com

64 mg/kg, 均相当于鸡血藤生药用量 4.05 g/kg (相当于临床成人日用量的 3 倍), 提取物 D 高、中、低剂量分别为 840、280、90 mg/kg, 相当于鸡血藤生药用量 12.15、4.05、1.35 g/kg (相当于临床成人日用量的 9、3、1 倍)。利可君剂量为 16.2 mg/kg (相当于成人临床用量的 3 倍)。

2.2 分组及处理

选用 SD 大鼠 74 只, 实验前眼眶静脉丛采血, 测定白细胞数量并进行分类, 根据白细胞总数随机均衡分成 9 组, 即对照组, 模型组, 利可君组以及鸡血藤提取物 A、B、C 组, 鸡血藤提取物 D 高、中、低剂量组, 除对照组为 10 只外其余各组为 8 只, 雌雄各半。除对照组外, 各组大鼠一次性 sc 环磷酸胺 100 mg/kg 进行造模, 对照组 sc 等体积生理盐水; 造模后各实验组均根据设定剂量开始 ig 给药, 每天 1 次, 连续 11 d, 对照组、模型组给予等体积 0.5% CMC-Na。实验过程中第 1、7、9、11 天称大鼠体质量, 并根据体质量调整给药剂量。第 7、9、11 天在给药后约 2 h 采血, 检测血常规。末次采血后腹主动脉放血处死大鼠, 取胸腺、脾脏, 称湿质量, 计算脏器指数。

2.3 统计分析

所有数据均采用 Excel 2003 进行统计分析, 各组进行组间比较之前先进行组间方差分析 (F -test), 当组间方差齐同时, 组间比较采用 Student- t 检验 (非配对的 t 检验) 进行统计; 组间方差不齐时, 采用校正的 Student- t 检验进行统计; 给药后与给药前比较采用配对的 t 检验进行统计处理。

3 结果

3.1 造模前各组大鼠白细胞检测结果

各组白细胞 (WBC) 总数相近, 淋巴细胞 (LY)、

中性粒细胞 (NEUT)、单核细胞 (MONO)、嗜酸性粒细胞 (EO) 及嗜碱性粒细胞 (BASO) 比例也未见统计学差异, 提示实验系统均衡性好, 见表 1。

3.2 给药第 7 天各组大鼠白细胞检测结果

模型组大鼠 WBC 总数远远低于对照组, 分类结果显示比例失调, 尤其 NEUT 比例明显降低, 提示模型成功。与模型组相比, 鸡血藤提取物 A、B、C、D 各组 and 利可君组大鼠 WBC 总数均未见明显差异, 但鸡血藤提取物 C 组、D 各组 NEUT 的比例以及绝对数均有回升的趋势, 优于利可君组, 见表 2。

3.3 给药第 9 天各组大鼠白细胞检测结果

模型组大鼠 WBC 总数仍远远低于对照组, 分类结果显示比例失调。与模型组相比, 鸡血藤提取物 A、B、C、D 各组 and 利可君组大鼠 WBC 总数和分类比例未见统计学意义 ($P>0.05$), 但鸡血藤提取物 D 高、中剂量组 WBC 总数回升的趋势优于其他各组, 见表 3。

3.4 给药第 11 天大鼠白细胞检测结果

模型组大鼠 WBC 总数仍远远低于对照组, 分类结果显示比例失调。与模型组相比, 鸡血藤提取物 A、B、C 组大鼠 WBC 总数和分类比例未见明显差异 ($P>0.05$); 鸡血藤提取物 D 高、中剂量组 WBC 总数明显增加, 具有统计学意义 ($P<0.05$ 、0.01), 提示鸡血藤提取物 D 高、中剂量组 WBC 回升的速度明显高于模型组, 并且有较好的量效关系, 虽然分类结果显示比例仍然失调, 但是 LY、NEUT 绝对数 (总数乘以相应的比例) 仍明显高于模型组, 符合外周血 WBC 组成的特点。利可君组 WBC 总数与模型组相比具有统计学意义 ($P<0.05$), LY、NEUT 绝对数也明显高于模型组, 见表 4。

表 1 造模前各组大鼠外周血白细胞情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Results of peripheral blood WBC before administration with CTX in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	NEUT/%	LY/%	MONO/%	EO/%	BASO/%
对照	—	10.07 $\pm$ 2.94	11.96 $\pm$ 2.60	82.87 $\pm$ 3.04	3.57 $\pm$ 0.81	1.53 $\pm$ 1.55	0.07 $\pm$ 0.05
模型	—	9.92 $\pm$ 2.21	11.15 $\pm$ 3.54	82.36 $\pm$ 4.85	3.76 $\pm$ 1.65	2.69 $\pm$ 2.18	0.04 $\pm$ 0.05
利可君	16.2	10.00 $\pm$ 1.76	9.20 $\pm$ 3.39	85.39 $\pm$ 5.34	3.18 $\pm$ 0.91	2.18 $\pm$ 2.45	0.06 $\pm$ 0.05
鸡血藤提取物 A	630	9.99 $\pm$ 1.68	9.68 $\pm$ 1.25	85.76 $\pm$ 2.37	3.44 $\pm$ 1.12	1.69 $\pm$ 0.42	0.04 $\pm$ 0.05
鸡血藤提取物 B	220	10.01 $\pm$ 1.69	11.69 $\pm$ 4.03	83.28 $\pm$ 4.27	4.05 $\pm$ 0.70	1.94 $\pm$ 0.51	0.05 $\pm$ 0.05
鸡血藤提取物 C	64	9.97 $\pm$ 1.62	12.01 $\pm$ 5.70	82.94 $\pm$ 8.95	2.98 $\pm$ 1.13	2.04 $\pm$ 2.76	0.04 $\pm$ 0.05
鸡血藤提取物 D	840	9.98 $\pm$ 1.58	10.38 $\pm$ 3.15	85.19 $\pm$ 4.40	3.44 $\pm$ 1.16	1.96 $\pm$ 0.52	0.04 $\pm$ 0.05
	280	9.93 $\pm$ 1.40	11.78 $\pm$ 4.86	82.44 $\pm$ 7.49	3.53 $\pm$ 0.81	2.21 $\pm$ 3.64	0.05 $\pm$ 0.05
	90	9.90 $\pm$ 1.37	10.73 $\pm$ 2.43	83.81 $\pm$ 3.11	2.90 $\pm$ 0.73	2.55 $\pm$ 3.01	0.04 $\pm$ 0.04

表2 给药第7天鸡血藤提取物对白细胞低下大鼠外周血白细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 2 Effect of CSEs on peripheral blood WBC in leukopenic rats on day 7 of administration ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	NEUT/%	LY/%	MONO/%	EO/%	BASO/%
对照	—	8.04±1.97	14.93±3.86	78.43±4.45	4.95±1.65	1.64±0.98	0.05±0.08
模型	—	2.19±0.87**	2.80±3.04**	79.24±9.25	17.13±7.18**	0.35±0.34**	0.49±0.60
利可君	16.2	1.53±0.45**	1.75±1.52*	74.72±12.99*	15.48±6.32*	0.60±0.73	0.80±0.53*
鸡血藤提取物 A	630	1.68±0.57**	2.62±3.01**	76.28±5.48	20.16±3.86**	0.54±0.33**	0.40±0.38
鸡血藤提取物 B	220	2.21±1.00**	2.57±2.82**	79.99±7.91	14.17±3.99**	0.37±0.62*	0.53±0.29**
鸡血藤提取物 C	64	2.45±1.07**	4.52±4.09**	74.78±9.19	19.50±5.65**	0.60±0.46*	0.60±0.58
鸡血藤提取物 D	840	1.64±0.61**	5.13±6.56**	76.97±14.76	15.05±6.84*	2.18±4.10	0.67±0.67
	280	1.85±0.80**	3.48±3.63**	79.15±5.72	16.45±4.86**	0.57±0.38**	0.35±0.43
	90	1.90±0.75**	4.29±2.77**	77.34±3.05	17.67±3.37**	0.33±0.41**	0.37±0.37

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group表3 给药第9天鸡血藤提取物对白细胞低下大鼠外周血白细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 3 Effect of CSEs on peripheral blood WBC in leukopenic rats on day 9 of administration ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	NEUT/%	LY/%	MONO/%	EO/%	BASO/%
对照	—	10.63±2.14	12.75±3.03	81.41±3.22	4.41±1.03	1.39±0.45	0.04±0.05
模型	—	3.59±0.65**	14.80±6.12	69.06±7.77**	12.91±4.77**	2.95±4.74	0.28±0.12**
利可君	16.2	4.22±1.37**	12.81±5.13	69.37±7.04*	15.53±4.51**	2.06±2.64*	0.23±0.16*
鸡血藤提取物 A	630	3.80±1.21**	15.63±6.41	66.73±7.07**	15.04±3.10**	2.41±4.27	0.20±0.14*
鸡血藤提取物 B	220	4.08±1.03**	13.04±5.01	69.93±6.12**	14.76±3.78**	2.06±4.99	0.21±0.15*
鸡血藤提取物 C	64	4.08±1.41**	22.40±9.78*	64.30±8.49**	12.49±2.09**	0.63±0.83*	0.19±0.15*
鸡血藤提取物 D	840	4.85±1.53**	23.17±15.41	59.85±13.48*	16.42±3.17**	0.32±0.46**	0.26±0.10**
	280	4.57±3.14**	14.30±12.36	70.37±6.82**	12.70±7.96	0.65±0.21**	0.35±0.45
	90	3.55±0.86**	15.00±3.21	67.90±8.82**	14.89±3.69**	3.27±6.61	0.13±0.15 [#]

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: $\#P<0.05$ * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; $\#P<0.05$ vs model group表4 给药第11天鸡血藤提取物对白细胞低下大鼠外周血白细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 4 Effect of CSEs on peripheral blood WBC in leukopenic rats on day 11 of administration ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	NEUT/%	LY/%	MONO/%	EO/%	BASO/%
对照	—	8.30±2.16	14.94±4.52	79.57±5.24	3.86±1.25	1.63±0.97	0.00±0.00
模型	—	4.64±1.40**	37.05±8.80**	55.53±8.49**	5.34±1.01*	2.05±1.79	0.04±0.07
利可君	16.2	6.43±2.15 [#]	40.27±9.74**	53.30±9.32**	5.34±1.08**	0.87±0.84	0.13±0.14*
鸡血藤提取物 A	630	4.12±1.89**	36.75±8.98**	56.48±7.56**	6.03±2.11*	0.67±0.23*	0.07±0.12
鸡血藤提取物 B	220	5.31±1.69**	31.40±8.72**	61.67±8.70**	5.51±1.72*	1.21±0.78	0.20±0.18**
鸡血藤提取物 C	64	5.54±2.03*	36.29±6.69**	56.04±6.57**	4.96±1.13	2.30±2.63	0.14±0.12**
鸡血藤提取物 D	840	7.54±3.02 ^{##}	35.51±7.43**	56.18±7.30**	6.83±1.96**	1.01±1.39	0.48±1.02
	280	6.16±2.28 [#]	37.27±8.91**	56.83±7.53**	4.70±1.54	1.11±0.38	0.09±0.11*
	90	5.18±2.35**	38.36±12.74**	55.88±11.79**	4.58±2.13	1.09±0.77	0.10±0.12*

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: $\#P<0.05$ $\#P<0.01$ * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; $\#P<0.05$ $\#P<0.01$ vs model group

4 讨论

恶性肿瘤患者化疗后,由于化疗药物的细胞毒作用,机体造血多能干细胞亦受到不同程度的杀伤,造成骨髓功能低下,三系血细胞生成减少,其中以白细胞生成的抑制为最甚^[3]。鸡血藤,性味苦甘、苦泄温通、甘温补益、入血分、走经络,具有补血活血之功效,同时,其归属肝经。通过调节肝经的功能以助血滋生^[2-3,5],临床报道^[3]其具有对抗化疗药物引起的白细胞降低的功效。

CTX是临床常见的化疗药,其在杀伤肿瘤细胞的同时,也会对人体产生不同程度的不良反应,其中最主要的是骨髓抑制和免疫功能低下,造成白细胞减少症^[4]。因此本研究采用CTX制备大鼠白细胞低下模型,结果表明,本研究模型制备成功,较好地反映了该模型血液学的特点,尤其本研究采用动物专用血球分析仪进行检测分析,增加了数据的科学性和可靠性。

本研究结果表明鸡血藤提取物D有较好的升高CTX致白细胞低下大鼠的白细胞的功效,并且具有量效关系。提示鸡血藤提取物D(50%乙醇提取,

70%乙醇洗脱,总黄酮量大于55%)是鸡血藤升白细胞作用的有效部位,可以推测其有效物质是总黄酮。从本研究结果还可以看出,鸡血藤提取物D的效果优于市售药品利可君,同时鸡血藤价格低、服用简单、无明显不良反应^[3],临床报道其防治白细胞下降有较好的疗效^[3],提示鸡血藤可以广泛应用,本研究结果与临床报道吻合,因此,将本研究发现的鸡血藤升白细胞作用的有效部位进行研究和开发具有重要的意义。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 邓家刚,梁宁,林启云. 鸡血藤总黄酮对血虚模型小鼠造血功能的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(7): 1055-1056.
- [3] 梁耀君,胡冀. 鸡血藤防治肿瘤化疗后白细胞减少的临床研究 [J]. 辽宁中医杂志, 1998, 25(5): 227-228.
- [4] 马骏,刘兴国,张朋,等. 升白胶囊对环磷酰胺所致小鼠白细胞减少症影响的研究 [J]. 甘肃中医学院学报, 2010, 27(2): 20-22.
- [5] 陈晓军. 鸡血藤的药理作用研究综述 [J]. 中国民族民间医药, 2009, 18(13): 3-5.