

论著·实验研究

双(α-呋喃甲酸)氧钒与六味地黄丸联合使用对正常小鼠一般生殖毒性的实验研究*

冯 莉,杨 琳,王宇春,谢明进,阎世平,范英昌

摘要:[目的] 观察双(α-呋喃甲酸)氧钒(VO-FA)与六味地黄丸联合对正常小鼠生殖毒性的影响。[方法] 设立正常组作对照,高、中、低 3 个剂量的 VO-FA 组,以及 3 个剂量与六味地黄丸联合使用组。雌雄鼠按 1:1 合笼交配,雄鼠交配前连续给药 40 d,雌鼠交配前连续给药 20 d 并继续给药至交配成功后 6 d。观察给药后小鼠的一般状况、体质量以及生殖指标的变化。[结果] 除 VO-FA 高剂量组雌雄鼠活动迟缓外,其余各组机体状况均未见异常。雄鼠生殖指标差异无显著性。雌鼠除 VO-FA 高剂量组,其他各组体质量比正常组明显增加;除 VO-FA 高剂量组交配时间迟缓,孕鼠数少,妊娠率低,其余各组无明显差异;与 VO-FA 高剂量组比较除正常组外各组的妊娠率均有显著性差异。而在胎鼠的生殖指标中,除 VO-FA 高剂量组活胎数目少,各组均无差异。[结论] VO-FA 高剂量组对雌雄鼠的活动能力,雌雄鼠的交配时间长短,孕鼠数目以及胎鼠的活胎数目均有不同程度的影响,对雌雄小鼠一般生殖毒性研究,未见生殖毒性作用。

关键词:双(α-呋喃甲酸)氧钒;六味地黄丸;生殖毒性;实验研究

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:1673-9043(2008)04-0258-03

General reproduction toxicity of Bis oxovanadium(α-furan carboxylato) combining with liuweidihuang pills in normal mice

FENG Li, YANG Lin, WANG Yu-Chun, et al

(Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To observe the reproduction toxicity of the Bis oxovanadium (α-furan carboxylato) (VO-FA) combining with Liuweidihuang Pills (LW) on normal mice. [Methods] Three different doses of VO-FA and three combining LW groups were supplied to normal mice. The female and male mice were gathered in one cage for copulation according to 1:1 proportion. Before copulation, medicine was given to the male continuously for 40 d and the female for 20 d. Medicine was given continuously for another 6d after copulation. The mice general condition, the change of the body weight and the reproduction index were observed. [Results] Besides the lowered activity observed in higher dosage of VO-FA female and male mice, the condition of organism in other group was not abnormal. The reproduction index of the male mice was normal. Besides the group with higher dosage of VO-FA, the body weight in other groups increased obviously compared with the normal group. Except the lower copulation time, and lowered pregnancy number and pregnancy rate in the higher dosage of VO-FA, no significant differences were seen in other groups. Compared with the higher dosage of VO-FA the pregnancy rate in all each groups had significant difference but normal group. In the production index of embryo mice, besides the lower number of living embryo in higher dosage of VO-FA, no significant difference was observed in each group. [Conclusion] The higher dosage of VO-FA has some influence on the activity of female and male mice, copulation time, the number of pregnancy mice as well as the number of living embryo. No obvious reproduction toxic effect was observed in this group in the study on the general reproduction toxicity.

Key words: VO-FA; Liuweidihuang Pills; reproduction toxic effect; experimental study

* 基金项目:天津市高等学校科技发展基金项目(20050306);天津市卫生局中医中西医结合科研课题(07011)。

作者单位:300193 天津中医药大学(冯 莉,杨 琳,王宇春,范英昌)

300071 南开大学(谢明进,阎世平)

作者简介:冯 莉(1966-),女,硕士,副研究员,主要研究方向为生物无机化学、中药化学。

钒是人体必需的微量元素,在细胞的新陈代谢中起着重要的作用^[1]。近期研究表明它能增加胰岛素受体对胰岛素的敏感性,是“胰岛素的促进剂(insulin-enhancing agent)”^[2],可用于治疗和缓解 1、2 型糖尿病^[3-4]。然而,无机钒盐(如 Na₃VO₄, VOSO₄ 等)脂溶性小,不易吸收,毒性较大,限制其进一步的研究利用。因此,选择适当的有机配体,尤其是人体内的小分子氨基酸、低毒的有机羧酸,合成高效低毒的有机钒配合物成为国内外研究的热点^[5-6]。基于此,笔者选择了糠醛在人体中的代谢产物 A2 呋喃甲酸为配体合成的一种新型的钒配合物——双(α-呋喃甲酸)氧钒(VO-FA)作为重点研究的钒配合物,加之六味地黄丸是中医“滋补肾阴”的经典名方,有解毒强身之功效^[7-8]。将两者联合应用,观察其对小鼠生殖系统和生殖功能的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物 Icr 小鼠,雄性(40 只)和雌性(80 只),体质量在 14~15 g,未孕,无生育史。由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)-2002-0003。

1.2 药物及试剂 双(α-呋喃甲酸)氧钒(VO-FA),由南开大学实验室合成并提供,含钒量 17.61%,用生理盐水配置成适宜浓度,现配现用;六味地黄丸,购于天津中医药大学保康医院,由天津同仁堂制造的水蜜丸用蒸馏水溶解为一定浓度的药汁。

1.3 给药剂量 正常组小鼠给予等量生理盐水,VO-FA 高、中、低剂量组分别给予 20、10、5 mgVO/kg 的 VO-FA,六味地黄丸按体表面积换算成人剂量给予六味地黄丸水溶剂 0.156 g/kg,联合治疗组将 VO-FA 高、中、低剂量分别与六味地黄丸同时溶解,体积保持一致,各组药物均在使用前用蒸馏水配置,现用现配,超声助溶。

1.4 实验分组 小鼠按体质量随机分为正常对照组(N 组)、VO-FA 高剂量组(H 组)、VO-FA 中剂量组(M 组)、VO-FA 低剂量组(L 组),六味地黄丸联合 VO-FA 高剂量组(H+LW 组),六味地黄丸联合 VO-FA 中剂量组(M+LH 组),六味地黄丸联合 VO-FA 低剂量组(L+LW 组)。

1.5 实验方法 雄鼠交配前连续灌胃给药 40 d,雌鼠交配前连续灌胃给 20 d,均 1 次/d,20 mL/kg 体质量。按 1:2 比例合笼交配。发现阴栓之日定为受孕第“0”天,雌鼠连续给药至交配成功后 6 d(多器官形成期)。观察给药不同剂量组雌、雄小鼠的一般状况、体

质量变化。雄鼠交配后即处死,检测相关指标。雌鼠于交配成功后第 14 天处死,解剖观察胎鼠情况及相关指标。

1.6 观察指标 雄鼠:给药期间死亡数及一般健康情况、辜体比。生育率=有生育能力的雄鼠数/用于交配的雄鼠数×100%。辜体比=辜丸质量/体质量。辜丸用体积分数为 15%的甲醛液固定,常规石蜡包埋,5 μm 切片,HE 染色,光学显微镜下观察形态学变化。雌鼠:死亡数及一般健康情况、窝质量、交配率和妊娠率。交配率=交配成功数/同笼动物数×100%。妊娠率=孕鼠数/交配成功雌鼠数×100%。胎鼠:活胎数、死胎数、有无外观畸形。

1.7 统计学处理 统计学分析 采用 SPSS11.5 软件进行分析,数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,率的比较采用的是两组间 χ^2 检验。

2 结果

2.1 雄鼠在实验期间观察指标的变化情况 给药期间未见死亡。与正常组相比各组雄性小鼠毛色光亮,摄食、饮水、排泄及活动均正常。部分高剂量组小鼠活动迟缓。各组雄鼠给药后体质量与正常对照组比较,差异无显著性。雄鼠生育率各组间比较,差异无显著性。雄鼠辜质量,辜体比各组比较,均无显著性差异,见表 1。

表 1 各组雄鼠的生殖指标变化情况($\bar{x} \pm s$) g

组别	体质量	辜质量	辜体比
N	28.03±0.723	0.444±0.123	1.579×10 ⁻² ±4.070×10 ⁻³
L	31.87±2.771	0.617±0.208	1.919×10 ⁻² ±5.725×10 ⁻³
M	30.02±2.751	0.649±0.243	2.161×10 ⁻² ±7.451×10 ⁻³
H	33.80±0.794	0.218±0.027	6.449×10 ⁻³ ±6.563×10 ⁻⁴
L+LW	21.03±3.086	0.520±0.069	1.684×10 ⁻² ±2.266×10 ⁻³
M+LW	32.05±4.050	0.611±0.204	1.856×10 ⁻² ±4.020×10 ⁻³
H+LW	31.02±2.734	0.569±0.160	1.857×10 ⁻² ±5.225×10 ⁻³

2.2 雌鼠在实验期间观察指标的变化情况 给药期间未见死亡,与正常组相比各组雌性小鼠毛色光亮,摄食、饮水、排泄及活动均正常。部分高剂量组小鼠活动迟缓。各组雌鼠给药后体质量与正常组比较,除 VO-FA 高剂量组无差异,其他各组体质量与正常组相比明显增加。除 VO-FA 高剂量组交配时间迟缓,孕鼠数少,妊娠率低,其余各组无明显差异。除正常组外各组的妊娠率与 VO-FA 高剂量组比较均有显著性差异,见表 2。

2.3 胎鼠 活胎数、胎鼠质量、胎鼠活胎率,除 VO-FA 高剂量组活胎数目少,与正常组相比其余各组差

表 2 各组雌鼠的生殖指标的变化情况($\bar{x}\pm s$)

组别	体质量(g)	交配成功数(只)	妊娠率(%)
N	25.67±4.057	8	37.5
L	33.60±6.613*	8	62.5 [#]
M	35.02±4.512*	9	100.0 [#]
H	27.48±3.833	12	25.0
L+LW	34.39±3.876*	9	88.9 [#]
M+LW	32.30±4.893*	7	71.4 [#]
H+LW	34.67±6.253*	7	85.7 [#]

注:与正常组相比,* $P<0.05$;与单纯高剂量组相比,[#] $P<0.05$ 。

异均无显著性,见表 3。

表 3 各组胎鼠的指标变化情况($\bar{x}\pm s$)

组别	总胎数(只)	活胎数(只)	活胎率(%)	胎鼠质量(%)
N	36	35	97.2	19.78±2.515 2
L	53	51	96.2	35.31±4.627 6
M	86	82	95.3	44.00±3.256 5
H	31	29	93.5	18.33±2.368 8
L+LW	72	71	98.6	35.22±2.455 2
M+LW	51	48	94.1	30.14±2.400 9
H+LW	55	53	96.4	40.93±6.041 6

2.4 雄鼠睾丸形态学观察 经 HE 染色,镜下观察,正常组睾丸组织未见异常改变,曲细精管内精子发生完全,各级生精细胞排列规则,致密,层次清晰可见;VO-FA 高、中、低剂量组以及六味地黄丸联合 VO-FA 高、中、低剂量组的睾丸病理切片,可见曲细精管退化变性,管腔内生殖上皮变薄,精子数目明显减少,各级生精细胞排列疏松。并且 VO-FA 剂量组随着给药剂量的加大病变趋势明显。

3 讨论

钒作为人体的必需微量元素,其类胰岛素样降糖作用是当前研究中引人注目的生物学作用之一,然而其毒性也不容忽视,有文献报道^[9-10],金属钒毒性较低,然而无机钒盐,随着钒价态越高,毒性越大,其毒性除急性中毒表现外,还有生殖毒性、胚胎毒性、致畸毒性等。笔者选择了糠醛在人体中的代谢产物 A2 呋喃甲酸为配体合成的一种新型的钒配合物——双(α -呋喃甲酸)氧钒(VO-FA)作为重点研究的钒配合物,其毒性小,加上六味地黄丸有解毒强身之功效。

通过实验研究表明,各剂量 VO-FA 组及各剂量 VO-FA 和中药六味地黄联合应用组对雌雄鼠均未出现急性中毒现象。除部分 VO-FA 高剂量组雌

雄鼠活动迟缓外,其余各组机体状况均未见异常。各组雄鼠在体质量、生育率、辜体比均无差异,雌鼠除 VO-FA 高剂量组体质量与正常组无差异,其他各组体质量比正常组明显增加;除 VO-FA 高剂量组交配时间迟缓,孕鼠数少,妊娠率低,其余各组无明显差异;妊娠率比较发现,除正常组外各组均比 VO-FA 高剂量组受孕率高。而在孕鼠的活胎数、胎鼠质量、胎鼠活胎率,除 VO-FA 高剂量组活胎数目少,各组差异均无显著性。

上述结果表明单纯的 VO-FA 高剂量组虽然并未出现急性中毒现象,但对于雌雄鼠的活动能力,雌雄鼠的交配时间长短,交配成功数目,妊娠率以及胎鼠的活胎数目均有不同程度的影响,相比之下 VO-FA 高剂量和六味地黄丸联合应用组并未出现任何异常现象。此外其余各剂量组对雌雄小鼠一般生殖毒性研究,未见明显的生殖毒性作用。

参考文献:

- [1] Nielsen FH. Metal Ions in Biological Systems: Vanadium and Its Role in Life[M]. New York: Marcel Dekker, 1995: 31543-31545.
- [2] Cam MC, Brownsey RW, McNeill JH. Mechanisms of vanadium action: insulin-mimetic or insulin-enhancing agent? [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2000, 78(10): 829-847.
- [3] Thompson KH, McNeill JH, Orvig C. Vanadium compounds as insulin mimics [J]. Chem Rev, 1999, 99(9): 2561-2572.
- [4] Brichard SM, Henquin JC. The role of vanadium in the management of diabetes [J]. Trends Pharmacol Sci, 1995, 16(8): 265-270.
- [5] Goldwasser I, Gefel D, Gershonov E, et al. Insulin-like effects of vanadium: basic and clinical implications [J]. J Inorg Biochem, 2000, 80(1-2): 21-25.
- [6] Rangel M, Tamura A, Fukushima C, et al. In vitro study of the insulin-like action of vanadyl-pyrone and -pyridinone complexes with a VO(O4) coordination mode [J]. J Biol Inorg Chem, 2001, 6(2): 128-132.
- [7] 曹建恒. 六味地黄丸对 2 型糖尿病患者红细胞免疫功能调节的影响 [J]. 新中医, 2005, 36(3): 45-46.
- [8] 梁萍, 齐作鹏. 六味地黄丸对糖尿病大鼠坐骨神经山梨醇含量的影响 [J]. 中成药, 2001, 10(23): 731-734.
- [9] 文香兰, 沈桂月, 文永植. 钒毒性的研究进展 [J]. 广东微量元素科学, 1997, 4(10): 9-10.
- [10] 赵云玲, 孙瑞芳, 李华洲, 等. 钒络合物的毒性实验 [J]. 山东医药工业, 2003, 22(2): 53-55.

(收稿日期: 2008-08-18)