

· 论 著 ·

基于药物相互作用研究麦冬皂苷D对麦冬皂苷D'急性和亚急性毒性的影响

徐焕华^{1,2}, 江珍红⁴, 姚泓³, 汤响林³, 王宁宁³, 孙宇婷³, 马增春³, 高月^{1,3}

(江西中医药大学 1. 现代中药制剂教育部重点实验室, 2. 创新药物与高效节能降耗制药设备国家重点实验室, 江西 南昌 330004; 3. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850; 4. 江西省分子中心医学重点实验室, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 基于药物相互作用研究麦冬皂苷D(OPD)对麦冬皂苷D'(OPD')急性和亚急性毒性的影响。方法 ①采用Bliss法测定急性毒性:小鼠分为OPD'单用、OPD+OPD'(OPD和OPD'提前混合)和OPD→OPD'(先注射OPD间隔15 min再注射OPD')组,其中OPD'单用组5个剂量分别为3.127, 6.460, 9.979, 10.245和13.098 mg·kg⁻¹;OPD+OPD'组OPD和OPD' 1:1混合,5个剂量分别为5.711, 6.129, 7.626, 8.712和10.262 mg·kg⁻¹;OPD→OPD'组OPD固定为1.0 mg·kg⁻¹,OPD'5个剂量分别为11.351, 15.551, 22.732, 26.568和30.137 mg·kg⁻¹。单次尾静脉注射,观察给药后14 d内小鼠的行为表征和死亡数。②亚急性毒性试验:SD大鼠随机分为5组,分别为正常对照、OPD单用(0.25 mg·kg⁻¹)、OPD'单用(0.25 mg·kg⁻¹)、OPD+OPD'(各0.25 mg·kg⁻¹)和OPD→OPD'(各0.25 mg·kg⁻¹)组,连续尾静脉注射,每天1次,连续30 d,观察心、肝、脾、肺和肾组织病理变化及血常规、血生化和脏器指数等指标的变化。结果 ①急性毒性试验结果表明,OPD'单用组OPD'的LD₅₀值为7.785 mg·kg⁻¹,OPD+OPD'组为7.706 mg·kg⁻¹,OPD→OPD'组为22.820 mg·kg⁻¹;OPD→OPD'组明显高于OPD'单用组。②亚急性毒性试验结果表明,与正常对照组比较,其他各给药组大鼠体重显著下降($P<0.05$, $P<0.01$),脾指数显著增大($P<0.05$, $P<0.01$);除OPD单用组外,其他给药组肺指数均显著增大($P<0.05$, $P<0.01$),血清葡萄糖和甘油三酯水平显著下降($P<0.05$, $P<0.01$),其余生化指标无显著性差异;各给药组心肌细胞轻度水肿,心肌间质血管淤血,脾红髓淤血,肺泡上皮细胞轻度肿胀,肺泡壁血管不同程度淤血。上述指标OPD+OPD'和OPD→OPD'组与OPD'或OPD单用组比较均无明显变化。结论 在急性毒性试验中,OPD先于OPD'使用可有效降低OPD'毒性;在亚急性毒性试验中未观察到此作用。

关键词: 麦冬皂苷D'; 麦冬皂苷D; 急性毒性; 亚急性毒性

中图分类号: R969.2, R965.3

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2022)05-0370-08

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2022.05.007

本研究集体前期在对麦冬中的活性成分麦冬皂苷D(ophiopogonin D, OPD)与OPD'进行比较研究时发现,互为同分异构体的2个分子在药理活性方面存在明显差异^[1]。检索目前与OPD和OPD'相关的文献,其中OPD占87.7%,且药理研究均表明OPD具有心血管保护作用^[2-6]。与此相反,其同分异构体OPD' 2 μmol·L⁻¹即对细胞产生明显的细胞毒性,细胞存活率仅为41%^[7];动物实

验结果亦表明其具有显著的心脏毒性。因此,应当重视OPD'存在的临床风险。

本研究集体已研究表明,OPD'在体内和体外均具有明显的溶血作用,而OPD仅在体内发生溶血,且两者在体外溶血方面存在药物相互作用^[8]。近来研究报道,OPD'具有促进肿瘤细胞凋亡的作用,或许可应用于治疗某些癌症^[9-10]。但以实际情况看,OPD'抑制肿瘤细胞活性的作用有可能是其细胞毒性,其成药性值得商榷。为此,本研究基于药物相互作用观察OPD对OPD'急性毒性和亚急性毒性的影响,为后续OPD'的药理研究提供参考,也为临床使用参脉注射液提供合理建议。

基金项目: 国家自然科学基金(81703669);国家科技重大专项(2017ZX09301012-007)

作者简介: 徐焕华,博士,讲师,主要从事中药药理与毒理研究。

通信作者: 高月, E-mail: gaoyue@nic.bmi.ac.cn

1 材料与方法

1.1 实验动物、试剂和仪器

SPF 级昆明小鼠 150 只,雌雄各半,体重 18~22 g;SPF 级 SD 大鼠 25 只,雄性,体重 180~220 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号:SCXK(京)2018-0011。动物饲养于军事医学研究院动物保障中心,环境许可证号为 SCXK-(军)2002-003。室温控制在 18~28℃,湿度 40%~80%,12 h 循环照明-黑暗。动物由获得资格认可的人员饲养并自由饮食饮水。伦理审查批号:IACUC-DWZX-2020-684。

OPD 和 OPD' (批号:F059758 和 F581298),上海一飞生物科技有限公司;40% 甲醛溶液(批号:1603062),西陇化工股份有限公司;甲醇,美国 Thermo Fisher 科技有限公司。BS110S 型十万分之一天平,德国 Sartorius 公司;XH-89 型旋涡振荡器,浙江乐成电器厂;ES-502HA 型百分之一天平,中国湘平公司;DM3000 型 LEICA 显微成像系统,德国莱卡公司;XT-2000i 型血细胞分析仪,日本 Sysmex 公司;Cobas c 311 型生化分析仪,瑞士 Roche 公司。

1.2 急性毒性试验

将昆明小鼠随机分为 OPD' 单用、OPD+OPD' (OPD 和 OPD' 提前混合)和 OPD→OPD' (先注射 OPD 间隔 15 min 再注射 OPD') 组。OPD' 单用组 OPD' 5 个剂量分别为 3.127, 6.460, 9.979, 10.245 和 13.098 mg·kg⁻¹;OPD+OPD' 组 OPD 和 OPD' 1:1 混合,5 个剂量分别为 5.711, 6.129, 7.626, 8.712 和 10.262 mg·kg⁻¹;OPD→OPD' 组 OPD 固定为 1.0 mg·kg⁻¹,OPD' 5 个剂量分别为 11.351, 15.551, 22.732, 26.568 和 30.137 mg·kg⁻¹;共 15 组,每组 10 只,单次尾静脉注射 5 mL·kg⁻¹。给药后即刻观察小鼠行为表征,并记录死亡数。14 d 后计算 LD₅₀。对死亡小鼠剖检,记录大体观察结果,部分有明显病变的组织进行组织病理分析。

1.3 亚急性毒性试验

据急性毒性试验结果,亚急性毒性试验主要考察 OPD' 和 OPD 药物之间的相互作用,因此未设梯度剂量。据急性毒性试验 OPD' 的 LD₅₀ 值及体外溶血试验测得的临床允许溶血的限度值(5%)^[8],OPD' 和 OPD 均设为 0.25 mg·kg⁻¹。将 SD 大鼠分为正常对照、OPD、OPD'、OPD+OPD' 和 OPD→OPD' 组,每组 5 只。尾静脉注射给药(1 mL·kg⁻¹),每天 1 次,持续给药 30 d。每天观察并记录大鼠行为表征,间隔 7 d 称量 1 次体重。末次给药前 12 h,

禁食不禁水。待末次给药结束后,记录体重,二氧化碳麻醉处死,取材,记录各脏器重量,并计算脏器指数(脏器重量/体重×100)。将心、肝、脾、肺和肾等组织置 4% 甲醛溶液中固定,石蜡包埋,切片,进行 HE 染色,观察组织病理变化。收集血液,EDTA 抗凝,制备血浆,分析血浆成分。另取部分血液,离心制备血清,测定血清生化指标。

1.4 统计学分析

急性毒性试验采用 Bliss 法计算不同给药组小鼠的 LD₅₀,将各组得到的数据录入 GraphPad Prism 6 软件,经计算得到 LD₅₀ 和 95% 可信限区间。小鼠体重以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SAS 8.2 统计软件先进行组间单因素方差分析,方差齐则采用非配对 *t* 检验进行组间比较。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 OPD' 急性毒性

注射 OPD' 后,OPD' 各剂量组小鼠死亡时间区间在 4 min~1 h,多数小鼠在给药后约 15 min 死亡,但 6.460 和 9.979 mg·kg⁻¹ 组在给药后第 7 天各只有 1 只死亡。给药 14 d 时小鼠死亡数见表 1。小鼠注射给药后立即出现呼吸急促、运动不协调、痉挛、四肢和全身颤抖和震颤、心动过速、心率增加和尿失禁等,推测小鼠死亡原因可能与神经系统有关。死亡小鼠大体解剖均未发现肉眼可见的病理改变(图略)。据各剂量组小鼠死亡数,计算得 OPD' 单用时 LD₅₀ 值为 7.785 mg·kg⁻¹,95% 可信限为 6.814~8.893 mg·kg⁻¹。

OPD+OPD' 各剂量组给药后小鼠行为反应和死亡时间分布与 OPD' 单用组相似,其中 6.192 和 8.172 mg·kg⁻¹ 组在给药后第 4 天分别有 1 只小鼠死亡。给药 14 d 时小鼠死亡数见表 1。为便于比较,最终剂量以 OPD' 计,根据各组小鼠死亡数,计算得 LD₅₀ 值为 7.706 mg·kg⁻¹,95% 可信限为 6.959~8.534 mg·kg⁻¹。

OPD→OPD' 各剂量组给药后小鼠行为反应和死亡时间分布与 OPD' 和 OPD+OPD' 组一致,其中 26.568 和 30.137 mg·kg⁻¹ 组分别有 1 只小鼠在第 7 天死亡。给药 14 d 时小鼠死亡数见表 1。剂量以 OPD' 计,计算得 LD₅₀ 值为 22.820 mg·kg⁻¹,95% 可信限为 19.86~26.22 mg·kg⁻¹。

2.2 OPD' 亚急性毒性

2.2.1 对体重和脏器系数的影响

由表 2 可见,与正常对照组相比,OPD', OPD,

Tab.1 Acute toxicity of ophiopogonin D' (OPD') in mice

Group	OPD'/mg·kg ⁻¹	OPD/mg·kg ⁻¹	Dead number
OPD'	3.127	0	1
	6.460	0	3
	9.979	0	7
	10.245	0	8
	13.098	0	9
OPD+OPD'	5.711	5.711	1
	6.129	6.129	3
	7.626	7.626	4
	8.712	8.712	7
	10.262	10.262	9
OPD→OPD'	11.351	1.0	1
	15.551	1.0	2
	22.732	1.0	4
	26.568	1.0	7
	30.137	1.0	8

The KM mice were divided into OPD', OPD+OPD' (OPD and OPD' pre-mixed) and OPD→OPD' (OPD injected at 15 min interval before OPD' was injected) groups. The number of dead mice was recorded within 14 d of single tail vein injection. $n=10$.

Tab.2 Effect of OPD and OPD' on body mass and organ indices of rats in sub-acute toxicity test

Group	Body mass/g	Heart index	Liver index	Spleen index	Lung index	Kidney index
Normal control	461±14	0.32±0.02	3.51±0.12	0.18±0.02	0.39±0.03	0.71±0.04
OPD	411±22*	0.32±0.02	3.16±0.16	0.22±0.02*	0.43±0.03	0.65±0.05
OPD'	412±29**	0.32±0.03	3.26±0.16	0.23±0.03*	0.47±0.02*	0.67±0.06
OPD+OPD'	400±24**	0.33±0.03	3.65±0.57	0.27±0.04**	0.54±0.09**	0.73±0.09
OPD→OPD'	394±28**	0.31±0.03	3.16±0.30	0.25±0.04*	0.49±0.04*	0.67±0.05

The SD rats were divided into normal control, OPD, OPD', OPD+OPD' and OPD→OPD' groups. OPD or (and) OPD' (0.25 mg·kg⁻¹) were given to rats by tail vein injection, once a day, for 30 d. Organ index=organ mass(g)/body mass(g)×100. $\bar{x}\pm s$, $n=5$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, compared with normal control group.

OPD+OPD' 和 OPD→OPD' 组大鼠体重均下降 ($P<0.05$, $P<0.01$), 心、肝和肾指数无明显变化, 脾指数增大 ($P<0.05$, $P<0.01$); OPD', OPD+OPD' 和 OPD→OPD' 组肺指数增大 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

OPD+OPD' 和 OPD→OPD' 组与 OPD 或 OPD' 组比较, 体重和以上脏器指数均无显著性差异。

2.2.2 对血常规指标的影响

如表3所示, OPD组大鼠白细胞数较正常对照

Tab.3 Effect of OPD and OPD' on hematological parameters of rats in sub-acute toxicity test

Group	WBC/10 ⁹ L ⁻¹	NEUT/%	LYMPH/%	HCT/%	PLT/10 ⁹ L ⁻¹	HFR/%	MCV/fL	MCHC/g·L ⁻¹	MFR/%
Normal control	5.0±1.0	9.3±2.1	88.6±2.2	42.6±1.3	1010±207	29.3±14.6	53.7±0.8	345±6	18.8±3.6
OPD	3.2±0.7*	14.4±4.2	81.2±4.8*	40.0±3.7	883±214	35.1±8.8	53.2±2.0	338±5	20.3±3.7
OPD'	3.8±0.9	15.1±4.9	81.6±5.3*	42.1±1.9	980±173	36.4±2.1	54.6±1.9	333±6*	17.9±1.7
OPD+OPD'	3.5±1.5	19.2±0.7	73.2±1.3**	39.2±4.9	786±428	37.6±4.9	56.0±1.3*	346±16	17.8±2.3
OPD→OPD'	3.9±1.2	19.0±2.1	75.5±2.9**	41.1±2.1	963±179	38.1±1.9	55.3±0.8**	331±5**	18.1±1.7

See Tab.2 for the rat treatment. WBC: white blood cells; NEUT: neutrophils; LYMPH: lymphocytes; HCT: hematocrit; PLT: platelets; HFR: high fluorescence intensity reticulocytes; MCV: mean red blood cell volume; MCHC: mean red blood cell hemoglobin concentration; MFR: middle fluorescence intensity reticulocytes. $\bar{x}\pm s$, $n=5$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, compared with normal control group.

组明显降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 但尚在正常生理范围; 各组淋巴细胞百分比与正常对照组比较均降低 ($P<0.05$)。OPD+OPD' 和 OPD→OPD' 组与 OPD 或 OPD' 比较, 以上指标均无显著性差异。红细胞及溶血相关指标另文发表^[11]。

2.2.3 对血生化指标的影响

共检测血生化指标 18 项, 其中白蛋白、间接胆红素、碱性磷酸酶、总胆汁酸、肌酸肌酶、尿酸、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白和血清胆碱酯酶等 9 项各给药组与正常对照组比较无显著改变 (数据略)。如表 4 所示, 各给药组谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总蛋白、总胆固醇、总胆红素、尿素氮和肌酐与正常对照组比较无明显变化, 血清葡萄糖和甘油三酯水平均显著下降 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与 OPD 或 OPD' 比较, OPD+OPD' 和 OPD→OPD' 组以上指标均无显著性差异。

2.2.4 对主要脏器组织病理变化的影响

与正常对照组比较, 各给药组肝和肾组织无明显

病理改变 (图略), 心、肺和脾组织具有明显病理改变。

2.2.4.1 对心脏组织病理变化的影响

如图 1 所示, 各组大鼠心肌中层结构正常, 中层纤维排列整齐、横纹清楚, 肌浆丰富, 核圆形或卵圆形, 染色质清晰。各给药组心内膜均出现部分心肌细胞轻度水肿、核周间隙轻度增宽, 灶性或小片状心肌颗粒变性、肌浆凝聚、均质化, 间质血管淤血。OPD+OPD' 组病理改变程度最为明显, 其中 1 例出现灶状心肌细胞坏死、成纤维细胞增生和单核细胞浸润。

2.2.4.2 对脾组织病理变化的影响

如图 2 所示, 各组脾组织结构基本正常, 红、白髓分界较清楚, 脾小体及淋巴细胞等形态结构正常; 各给药组红髓轻度淤血, 其中 OPD→OPD' 组红髓明显淤血, 较 OPD, OPD' 和 OPD+OPD' 组更为明显。各给药组均未见明显出血。

2.2.4.3 对肺组织病理变化的影响

如图 3 所示, 各组肺组织结构基本正常。各给

Tab. 4 Effect of OPD and OPD' on blood biochemical indexes of rats in sub-acute toxicity test

Group	GOT/ U·L ⁻¹	GPT/ U·L ⁻¹	TP/ g·L ⁻¹	TCHL/ mmol·L ⁻¹	TBIL/ μmol·L ⁻¹	BUN/ mmol·L ⁻¹	CREA/ μmol·L ⁻¹	GLU/ mmol·L ⁻¹	TG/ mmol·L ⁻¹
Normal control	45±5	132±8	60.5±1.6	1.70±0.23	0.3±0.17	6.49±0.08	37.8±4.0	9.84±1.62	1.08±0.15
OPD	45±4	129±14	60.7±1.6	1.83±0.33	0.3±0.18	6.56±0.36	44.4±4.0	8.05±0.47*	0.70±0.19**
OPD'	45±7	123±16	60.9±3.1	1.65±0.18	0.1±0.18	6.43±0.30	46.8±2.4	7.03±0.36**	0.72±0.16**
OPD+OPD'	48±5	137±44	60.3±4.6	2.16±0.18	0.3±0.29	7.17±0.37	37.7±8.5	6.12±0.28**	0.54±0.13**
OPD→OPD'	50±8	127±16	60.6±1.4	1.57±0.22	0.2±0.22	6.38±0.30	43.2±4.6	7.11±0.36**	0.62±0.14**

See Tab.2 for the rat treatment. GOT: glutamic oxaloacetic transaminase; GPT: glutamic pyruvic transaminase; TP: total protein; TCHL: total cholesterol; TBIL: total bilirubin; BUN: blood urea nitrogen; CREA: creatinine; GLU: glucose; TG: triglycerides. $\bar{x}\pm s$, $n=5$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, compared with normal control group.

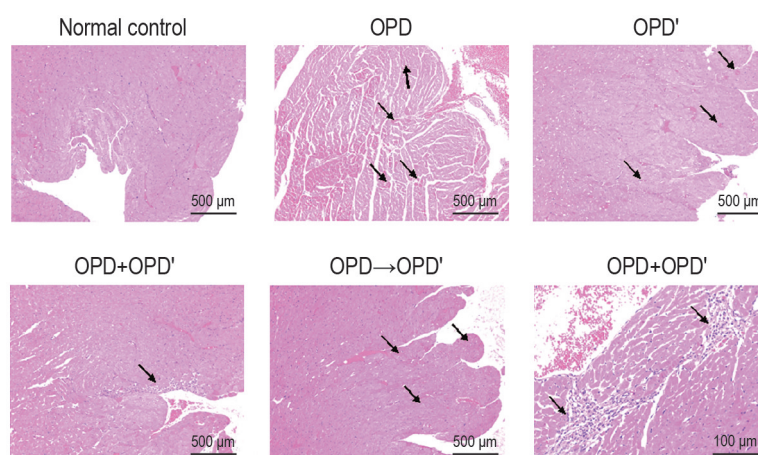


Fig.1 Effect of OPD and OPD' on morphological changes of heart tissue of rats in sub-acute toxicity test. See Tab.2 for the rat treatment. The arrows represented sarcoplasmic condensation and homogenization in OPD group, mesenchymal blood stasis in OPD' group, focal myocardial cell necrosis and interstitial blood stasis in OPD+OPD' group, myocardial cells were slightly edematous and the perinuclear space was slightly widened in OPD→OPD' group, and focal cardiomyocyte necrosis, fibroblast proliferation and monocyte infiltration in OPD+OPD' group.

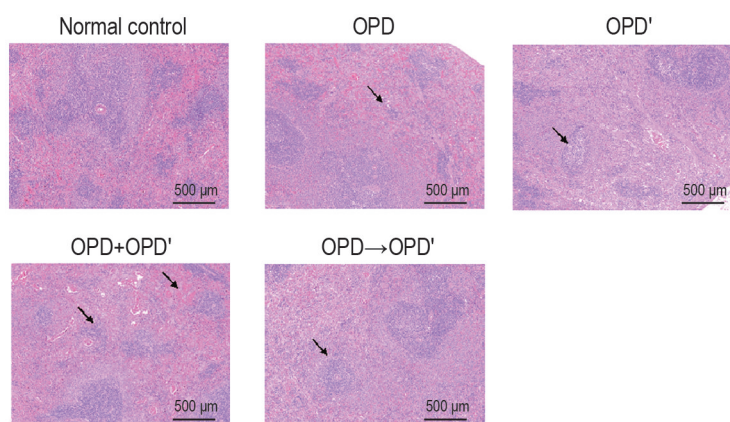


Fig.2 Effect of OPD and OPD' on morphology of spleens of rats in sub-acute toxicity test. See Tab.2 for the rat treatment. The arrows represented mild congestion of red pulps in OPD group, mild congestion of red pulps in OPD' group, severe congestion of red pulps in OPD+OPD' group, and mild congestion of red pulps in OPD→OPD' group.

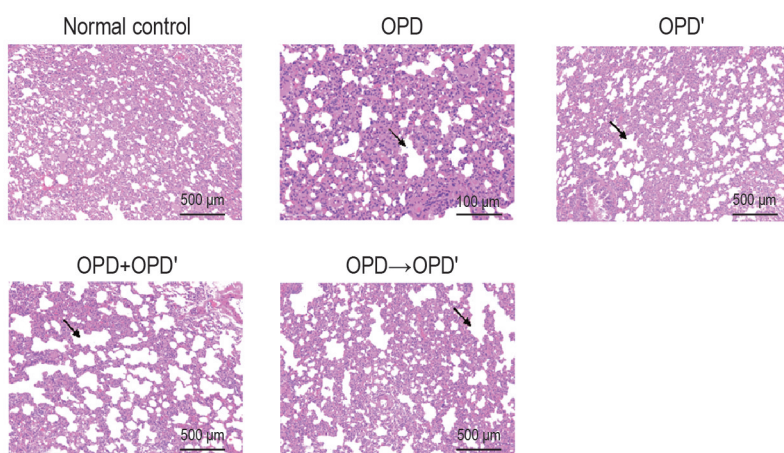


Fig.3 Effect of OPD and OPD' on morphological changes in lung tissues of rats in sub-acute toxicity test. See Tab.2 for the rat treatment. The arrows represented blood vessels of alveolar walls were congested and alveolar septum was widened in OPD→OPD' group.

药组部分肺泡上皮细胞轻度肿胀,核周间隙增宽,部分细胞核染色质浓缩深染,肺泡壁血管不同程度淤血,单核细胞稍增多,导致肺泡隔轻至中度增宽,其中OPD,OPD+OPD'和OPD→OPD'组病理改变较OPD'组较轻。

3 讨论

因OPD'和OPD均存在水溶性差的问题,特别是OPD',因此在药液制备时加入不同比例的甲醇作为溶剂。急性毒性预试验结果表明,控制甲醇含量<20%不会引起小鼠死亡。在亚急性毒性试验中,因给药浓度小且持续时间长,药液制备时可适当添加乙醇促溶,但乙醇含量不得>15%。依据《保健食品检验与评价技术规范》(2003年版)的评价要求,该含量在用于毒理学试验中是一个可被接受的溶剂剂量。

关于OPD'和OPD之间的药物相互作用,据本课题组研究结果,可从3个方面互为印证。①本研究急性毒性试验结果表明,与OPD'单用相比,当OPD'和OPD提前混合使用时LD₅₀量效曲线无变化,而当先注射OPD、间隔15 min再注射OPD'时LD₅₀量效曲线明显右移。在亚急性毒性试验中未见该现象,可能与亚急性毒性的重复给药密切相关。②体外溶血实验结果^[8]与急性毒性试验结果一致。与OPD'单用相比,当OPD'和OPD提前混合使用时,其发生溶血的剂量更低,程度更高;然而当先注射OPD、间隔15 min再注射OPD'时,溶血发生的剂量升高,程度降低,提示OPD可减轻OPD'的溶血作用。③本课题组王佳等^[12]实验结果表明,OPD干预内质网应激能减轻OPD'所致心肌细胞损伤。但不同的是,该研究中采取的是共处理模式,并未考察间隔给药,且结果也提示两者之间存在药物相

互作用。

一般来说,药物相互作用可能与两者作用在同一个靶标有关^[13-14]。因此,本课题组利用分子模拟技术,以 OPD' 寻靶,再辅以 OPD 验证,找到了 10 个两者共同的靶标^[11],其中 Q9NPD5 可能与溶血存在一定的关联性^[15-16]。本研究结果表明,在急性毒性试验中,小鼠死亡集中在给药后 30 min 内,大体解剖观察未见脏器肉眼可见的变化。但在亚急性毒性试验中所呈现出来的异常结果,如体重降低、脾指数和肺指数增大、心肌细胞轻度水肿和间质血管淤血、脾红髓淤血、肺泡上皮细胞轻度肿胀及肺泡壁血管不同程度淤血等均与溶血相关。基于 Q9NPD5 靶标的深入研究或许可揭示两者在溶血方面的相互作用机制^[17-18]。但两者之间的药物相互作用应不止于此,还有待更深入研究。

关于亚急性毒性试验剂量的设置,本课题组任思嘉等^[19]在研究 OPD' 的心脏毒性时使用的剂量为 0.5、1.0 和 2.0 mg·kg⁻¹,本研究设置的剂量为 0.25 mg·kg⁻¹。该剂量设置的依据主要是急性毒性试验结果的 LD₅₀ 值;其次是体外溶血试验测得的临床允许溶血的限度值(5%),该限度值下,OPD' 的浓度为 5 mg·L⁻¹^[11]。根据动物体重换算,本研究亚急性毒性试验设置 OPD' 的剂量为 0.25 mg·kg⁻¹。

本研究亚急性毒性试验的血生化结果表明,各给药组血糖和血脂与正常对照组比较均显著降低,提示 OPD' 和 OPD 均具有降低血糖和血脂的作用。OPD 用于代谢综合征的治疗已有报道^[20],表明 OPD 能通过调整肠道菌群结构进而改善高脂饮食诱导的代谢综合征,但关于 OPD' 的类似研究还未见报道。本课题组首次发现 OPD' 具有降低血糖和血脂的药理活性,为后续研究 OPD' 药理活性提供参考。

笔者前期对收集到的国内市场生产的每厂家各 3 批次的参脉注射液进行溶血作用检测,结果均符合药典规定,未发生溶血。但对收集样品中 OPD' 含量的测定结果显示,不同企业中 OPD' 含量差异巨大^[21],个别企业 OPD' 含量按临床使用最大剂量计算,已触及亚急性毒性试验中采用的临床允许的溶血限度值(5 mg·L⁻¹)。因此,基于本研究结果,建议明示制剂中 OPD' 的含量并予以控制,以在保证安全剂量范围的前提下选择临床用药剂量。

参考文献:

[1] Asano T, Murayama T, Hirai Y, *et al.* Comparative

studies on the constituents of ophiopogon tuber and its congeners. VIII. Studies on the glycosides of the subterranean part of *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawler cv. Nanus [J]. *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 1993, 41(3): 566-570.

- [2] 黄小燕,王宇光,王怡,等. 麦冬皂苷 D 通过上调 CYP2J2/EETs 抗 Ang II 诱导的内皮细胞凋亡[J]. 中国中药杂志 (*China Journal of Chinese Materia Medica*), 2018, 43(2): 377-384.
- [3] 王宇光,周涛,油文亭,等. 银杏内酯 B, 麦冬皂苷 D 激活 PXR 对心血管细胞损伤的干预作用 [C]//中国毒理学会. 2015 年(第 5 届)药物毒理学年会,海口, 2015-06-29.
- [4] Huang XY, Wang YG, Zhang ZY, *et al.* Ophiopogonin D and EETs ameliorate Ang II -induced inflammatory responses via activating PPAR α in HUVECs [J]. *Biochem Biophys Res Co*, 2017, 490(2) : 123-133.
- [5] You WT, Zhou T, Ma ZC, *et al.* Ophiopogonin D maintains Ca²⁺ homeostasis in rat cardiomyocytes *in vitro* by upregulating CYP2J3/EETs and suppressing ER stress [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(3): 368-381.
- [6] 油文亭. 麦冬皂苷 D 通过 CYP2J3/EETs 系统发挥心肌保护作用的分子机制[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2016.
- [7] 任思嘉,徐焕华,李明,等. 麦冬皂苷 D' 对大鼠心肌细胞 H9c2 的细胞毒性[J]. 中国药理学与毒理学杂志 (*Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*), 2017, 31(4): 325-331.
- [8] Xu HH, Jiang ZH, Sun YT, *et al.* Differences in the hemolytic behavior of two isomers in *Ophiopogon japonicus in vitro* and *in vivo* and their risk warnings [J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 8870656 [2021-10-13]. <http://doi.org/10.1155/2020/8870656>.
- [9] Lu ZL, Wang H, Zhu MX, *et al.* Ophiopogonin D', a natural product from Radix Ophiopogonis, induces *in vitro* and *in vivo* RIPK1-dependent and caspase-independent apoptotic death in androgen-independent human prostate cancer cells [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2018, 30(9): 432 [2021-10-13]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00432>.
- [10] Lu ZL, Wu CP, Zhu MX, *et al.* Ophiopogonin D' induces RIPK1-dependent necroptosis in androgen-dependent LNCaP prostate cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(2): 439-447.
- [11] Xu HH, Jiang ZH, Huang CS, *et al.* Global metabolomic and lipidomic analysis reveals the potential mechanisms of hemolysis effect of ophiopogonin D and ophiopogonin D' *in vivo*[J]. *Chin Med*, 2021, 16 (1): 1-13.
- [12] 王佳,王宁宁,葛运炫,等. 麦冬皂苷 D 干预内质网应激减轻麦冬皂苷 D' 所致心肌细胞损伤 [J]. 中国中药杂志

- (*China Journal of Chinese Materia Medica*), 2019, 44 (9): 1876-1881.
- [13] Campos AI, Zampieri M. Metabolomics-driven exploration of the chemical drug space to predict combination antimicrobial therapies [J]. *Mol Cell*, 2019, 74 (6):1291-1303.
- [14] Hwang C, Lai MT, Hazuda D. Rational design of doravirine: from bench to patients [J]. *ACS Infect Dis*, 2020, 6(1): 64-73.
- [15] Zhang W, Xiong XM, Chen L, *et al*. Hepatic uptake mechanism of ophiopogonin D mediated by organic anion transporting polypeptides [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2017, 42(4): 669-676.
- [16] 张文. 基于OATPs/oatps介导的麦冬皂苷D肝脏转运的分子学机制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2014.
- [17] Oswald S. Organic anion transporting polypeptide (OATP) transporter expression, localization and function in the human intestine [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 195: 39-53.
- [18] Van de Steeg E, Stranecky V, Hartmannova H, *et al*. Complete OATP1B1 and OATP1B3 deficiency causes human Rotor syndrome by interrupting conjugated bilirubin reuptake into the liver [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(2): 519-528.
- [19] 任思嘉. 麦冬皂苷D'致心脏毒性的发现及其机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2018.
- [20] Chen SY, Li X, Liu L, *et al*. Ophiopogonin D alleviates high-fat diet-induced metabolic syndrome and changes the structure of gut microbiota in mice [J]. *FASEB J: Exp Biol*, 2018, 32(3): 1139-1153.
- [21] 姚泓, 卢建秋, 徐焕华, 等. 建立UPLC-MS/MS方法测定麦冬皂苷D和麦冬皂苷D'及临床风险评估[J]. *药物评价研究 (Drug Evaluation Research)*, 2019, 42(6): 1135-1140.

Effect of ophiopogonin D on acute and sub-acute toxicity of ophiopogonin D' based on drug interactions

XU Huan-hua^{1,2}, JIANG Zhen-hong⁴, YAO Hong³, TANG Xiang-lin³, WANG Ning-ning³,
SUN Yu-ting³, MA Zeng-chun³, GAO Yue^{1,3}

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, 2. State Key Laboratory of Innovative Medicine and High Efficiency and Energy Saving Pharmaceutical Equipment, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 3. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China; 4. Jiangxi Province Key Laboratory of Molecular Medicine, Nanchang 330006, China)

Abstract: OBJECTIVE To study the effect of ophiopogonin D (OPD) on the acute and sub-acute toxicity of ophiopogonin D' (OPD'). **METHODS** ① The acute toxicity was determined with the Bliss method. The mice were divided into OPD', OPD+OPD' (OPD and OPD' were pre-mixed) and OPD→OPD' (OPD was injected 15 min before OPD') groups. Five doses of OPD' 3.127, 6.460, 9.979, 10.245 and 13.098 mg·kg⁻¹ were set in the OPD' group. The doses of OPD and OPD' were set at 1:1 and 5 doses of 5.711, 6.129, 7.626, 8.712 and 10.262 mg·kg⁻¹ were set in the OPD+OPD' group. The doses of OPD' were 11.351, 15.551, 22.732, 26.568 and 30.137 mg·kg⁻¹, and OPD was fixed at 1.0 mg·kg⁻¹ in the OPD→OPD' group. Behavioral changes and number of dead mice were observed and recorded within 14 d of single tail vein injection. ② In the sub-acute toxicity study, 5 groups, namely normal control, OPD (0.25 mg·kg⁻¹), OPD' (0.25 mg·kg⁻¹), OPD+OPD' (0.25 mg·kg⁻¹+0.25 mg·kg⁻¹) and OPD→OPD' (0.25 mg·kg⁻¹→0.25 mg·kg⁻¹) groups, were set and given once a day by tail vein injection for 30 consecutive days. Pathological changes of the heart, liver, spleen, lung, and kidney tissues, changes in blood routine, blood biochemistry indexes, and organ indexes were observed and recorded. **RESULTS** ① In the acute toxicity test, the LD₅₀ value of OPD' was 7.785 mg·kg⁻¹ in the OPD' group; 7.706 mg·kg⁻¹ in the OPD+OPD' group, and 22.820 mg·kg⁻¹ in the OPD→OPD' group, which were significantly higher than that in the OPD' group. ② In the sub-acute toxicity test, compared with the normal

control group, the body mass of each treatment group was significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$), spleen indexes were significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$), lung indexes of the other treatment groups increased significantly ($P<0.05$, $P<0.01$) except the OPD group, glucose and triglycerides of each treatment group decreased significantly ($P<0.05$, $P<0.01$), but the rest of the biochemical indicators were not significantly different. There was mild edema of cardiomyocytes and congestion of interstitial blood vessels, congestion of red pulps in the spleen, mild swelling of alveolar epithelial cells, and congestion of blood vessels in alveolar walls to varying degrees in each drug treatment group. These indexes in OPD+OPD' and OPD→OPD' groups were not significantly different from those of the OPD' or OPD group. **CONCLUSION** In the acute toxicity test, OPD pre-treatment can effectively reduce the toxicity of OPD', which is not observed in the sub-acute toxicity study.

Key words: ophiopogonin D'; ophiopogonin D; acute toxicity; sub-acute toxicity

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (81703669); and National Science and Technology Major Project of China (2017ZX09301012-007)

Corresponding author: GAO Yue, E-mail: gaoyue@nic.bmi.ac.cn

(收稿日期: 2021-10-30 接受日期: 2022-05-16)

(本文编辑: 齐春会)

欢迎投稿 欢迎订阅

《中国药理学与毒理学杂志》是由中国药理学会、中国毒理学会和军事医学科学院毒物药物研究所共同主办的高级学术性刊物,1986年创刊,2016年由双月刊改为月刊。被北大图书馆评为药学专业中文核心期刊(中文核心期刊要目总览),同时还是中国核心科技期刊、中国学术核心期刊和中国生物医学核心期刊等。本刊被美国《化学文摘》(CA)等十余家数据库收录。

《中国药理学与毒理学杂志》设有前沿论坛、论著、实验方法和综述栏目。读者对象主要为从事药理学、毒理学、药学、医学和生物基础科学研究的工作者。中英文稿件兼收,更欢迎英文稿件。

遵照上级部门有关规定,本刊目前暂停收稿件处理费和版面费。

本刊全年12期,每期定价20.00元。国内外公开发行,国内邮发代号:82-140,国外邮发代号:BM-1051。本刊主要通过邮局订阅,也可以联系编辑部商谈杂志订阅事宜。

地址:北京市海淀区太平路27号毒物药物研究所《中国药理学与毒理学杂志》编辑部

邮编:100850

电话:(010)66930636,(010)66931617

E-mail: cjpt518@163.com

网址: http://202.38.153.236:81/Jweb_cjpt