

本文引用:邓羽丰,罗姝菡,何方婷,武雅婷,肖颖,洪泽慧,裴晓方. 椒目油对SD大鼠灌胃给药的急性毒性研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(1): 27-33.

椒目油对SD大鼠灌胃给药的急性毒性研究

邓羽丰^{1,2}, 罗姝菡^{1,2}, 何方婷^{1,2}, 武雅婷^{1,2}, 肖颖^{1,2}, 洪泽慧^{1,2}, 裴晓方^{1,2*}

1. 四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院, 四川 成都 610041;

2. 食品安全检测与风险评估四川省重点实验室, 四川 成都 610041

[摘要] **目的** 探讨大鼠灌胃椒目油可能出现的急性毒性反应,为后续应用研究提供安全性参考。**方法** 将SD大鼠随机分为溶剂对照组($n=9$)、最低剂量组($n=9$)、低剂量组($n=9$)、中剂量组($n=9$)、高剂量组($n=10$)、最高剂量组($n=10$),溶剂对照组灌胃玉米油,各剂量组椒目油灌胃剂量依次为 0.813 4、1.626 8、3.253 5、6.507 0、13.014 0 g/kg,一次性灌胃给药,观察并记录给药后 14 d 内的毒性反应、体质量和摄食量变化情况。观察期结束后,对仍存活动物进行血液生理指标、血清生化指标、脏器系数及脏器组织病理学检查。**结果** 椒目油灌胃 14 d 后无大鼠死亡,各组大鼠体质量无明显变化($P>0.05$)。与溶剂对照组比较,高剂量组 14 d 进食量增加($P<0.05$);最低剂量组、中剂量组、最高剂量组中性粒细胞百分比(neutrophil percentage, NEUT%)水平下降、淋巴细胞百分比(lymphocytes percentage, LYMPH%)水平上升($P<0.05$);最低剂量组、低剂量组、中剂量组肌酐(creatinine, CREA)水平下降($P<0.01$),左肾系数、右肾系数上升($P<0.05$);中剂量组、最高剂量组淋巴细胞绝对值(lymphocyte, LYMP)水平上升($P<0.05$);最低剂量组心脏系数下降($P<0.05$);高剂量组 CREA 水平下降、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)水平上升($P<0.05$);高剂量组、最高剂量组左肾系数上升($P<0.05$);最高剂量组中性粒细胞绝对值(neutrophil, NEUT)水平下降($P<0.05$)。与最低剂量组相比,低剂量组 NEUT%水平上升、LYMPH%水平下降($P<0.05$),心脏系数上升($P<0.05$);中剂量组、高剂量组 FPG 水平上升($P<0.05$);高剂量组右肾系数下降($P<0.05$);最高剂量组心脏系数上升($P<0.05$)。与低剂量组相比,中剂量组 NEUT%水平下降、LYMPH%水平上升($P<0.05$)、FPG 水平上升($P<0.05$);高剂量组 FPG 水平上升、左肾系数下降($P<0.05$);最高剂量组 NEUT%、NEUT 水平下降($P<0.05$)、LYMPH%水平上升($P<0.05$)。与高剂量组相比,最高剂量组 NEUT%及 NEUT 水平下降、LYMPH%水平上升($P<0.05$)。HE 染色结果显示,溶剂对照组和各剂量组肝脏、脾脏、肾脏、胃未见明显病变。**结论** 单次给予 15 mL/kg 椒目油灌胃未引起大鼠急性毒性反应,安全性较高,提示椒目油具有开发为生物制剂的潜在价值。

[关键词] 椒目油;急性毒性;灌胃给药;SD大鼠;血液生理指标;血清生化指标;脏器系数

[中图分类号]R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.01.005

Acute toxicity of Jiaomu Oil in SD rats by intragastric administration

DENG Yufeng^{1,2}, LUO Shuhan^{1,2}, HE Fangting^{1,2}, WU Yating^{1,2}, XIAO Yin^{1,2}, HONG Zehui^{1,2}, PEI Xiaofang^{1,2*}

1. West China School of Public Health/The Fourth Hospital of West China, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. Sichuan Provincial Key Laboratory of Food Safety Testing and Risk Assessment, Chengdu, Sichuan 610041, China

[Abstract] **Objective** To investigate the possible acute toxicity of Jiaomu Oil in SD rats by intragastric administration, so as to provide safety reference for subsequent application studies. **Methods** SD rats were randomly divided into 6 groups: solvent control group ($n=9$), the lowest ($n=9$), low- ($n=9$), medium- ($n=9$), high- ($n=10$) and the highest dose groups ($n=10$). The solvent group was

[收稿日期]2022-05-17

[基金项目]四川省科技厅重点研发项目(2020YJ0233)。

[第一作者]邓羽丰,女,硕士研究生,研究方向:微生物、公众健康与检验研究。

[通信作者]*裴晓方,女,硕士,教授,博士研究生导师,E-mail:xfpeiscu@163.com。

administered corn oil by gavage, while the dose groups were given Jiaomu Oil of 0.813 4, 1.626 8, 3.253 5, 6.507 0 and 13.014 0 g/kg respectively by one-time intragastric administration. After the intervention, the toxicity, body weight and food intake of all groups were observed and recorded within 14 d. After the observation, blood physiological indexes, serum biochemical indexes, organ coefficients and organ histopathologic conditions of the surviving rats were examined. **Results** No rats died after 14 d of being given Jiaomu Oil by intragastric administration, and the body weights of each group showed no significant difference ($P>0.05$). Compared with solvent control group, food intake in high-dose group increased on the 14th day ($P<0.05$), neutrophil percentages (NEUT%) decreased and lymphocytes percentages (LYMPH%) increased in the lowest dose, medium-dose and highest dose groups ($P<0.05$). Creatinine (CREA) levels in the lowest dose group, low-dose group and medium-dose group decreased ($P<0.01$), while the left kidney coefficients and the right kidney coefficients increased ($P<0.05$). The lymphocyte (LYMP) levels in the medium-dose group and the highest dose group increased ($P<0.05$). The heart coefficients of the lowest dose group decreased ($P<0.05$). CREA levels were reduced and fasting plasma glucose (FPG) levels increased in high-dose group ($P<0.05$). The coefficients of left kidney in high-dose group and the highest dose group increased ($P<0.05$). The levels of neutrophil (NEUT) in the highest dose group decreased ($P<0.05$). Compared with the lowest dose group, the NEUT% levels in the low-dose group increased, the LYMPH% levels decreased ($P<0.05$), and the heart coefficients increased ($P<0.05$). The levels of FPG in medium-dose group and high-dose group increased ($P<0.05$). The coefficients of the right kidney in high-dose group decreased ($P<0.05$). The heart coefficient of the highest dose group increased ($P<0.05$). Compared with the low-dose group, the NEUT% levels in the medium-dose group decreased, the LYMPH% levels increased ($P<0.05$) and the FPG levels increased ($P<0.05$). The levels of FPG in high-dose group increased and the coefficients of the left kidney decreased ($P<0.05$). NEUT% and NEUT levels were reduced in the highest dose group, while the LYMPH% levels increased ($P<0.05$). Compared with the high-dose group, NEUT% and NEUT levels in the highest dose group decreased, and the LYMPH% levels increased ($P<0.05$). HE staining showed that there were no obvious pathological changes in the liver, spleen, kidney and stomach in the solvent control group and each dose group. **Conclusion** A single intragastric administration of 15 mL/kg Jiaomu Oil does not cause acute toxicity in rats, and the high safety indicates that Jiaomu Oil has potential value as a biological agent.

[**Keywords**] Jiaomu Oil; acute toxicity; intragastric administration; SD rats; blood physiological index; serum biochemical index; organ coefficient

椒目 (*Zanthoxylum bungeanum* seed) 是花椒果皮生产过程中的主要副产物,产量占花椒总产量的 60%~70%^[1],椒目及其提取物的深入研究与开发对花椒的综合利用具有重要意义。椒目味苦、辛,性寒,有小毒,常作为治疗哮喘的传统中药,具有利尿消肿、祛痰平喘之功,主治水肿胀满、痰饮喘逆之症^[2-3]。椒目油是采用压榨、有机溶剂萃取或微波辅助提取等方法,从椒目中获取的植物油^[4]。近年研究发现,椒目油富含多不饱和脂肪酸^[5],其主要成分油酸、亚油酸、亚麻酸的混合含量高达 57.549%~87.907%^[6], α -亚麻酸含量占 17%~24%^[7]。此外,多项研究证实,椒目油具有抗炎^[8]、降血脂^[9]、抗骨质疏松^[10]的功效,是一种亟待开发的具有疾病防治功效的植物油。为论证椒目油灌胃给药的安全性,本研究观察椒目油对 SD 大鼠的急性毒性作用,为椒目油后续研究中安全性评价、剂量设计和毒副反应监测等方面提供基础数据和参考依据。

1 实验材料

1.1 实验动物

56 只 SD 雌鼠,SPF 级,8 周龄,体质量(250±30) g,由浙江维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(浙)2019-0001。于四川大学华西第四医院实验动物中心饲养,许可证号:SYXK(川)2018-011,温度(23±3)℃,湿度 40%~70%,颗粒饲料由四川省人民医院实验动物研究所提供。所有动物实验操作程序均通过四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院伦理委员会批准(批准号:Gwl12021054)。

1.2 受试物

将烘干至恒重的红花椒椒目过 40 目筛后粉碎,取粉末转移至滤纸筒中,以正己烷作为溶剂,料液比 1:6,采用索氏提取法于 65℃抽提 8 h,旋转蒸发回收剩余产物,(103±2)℃烘干恒重后获得椒目油,0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后于-80℃备用。

1.3 主要试剂与仪器

椒目(安国市聚药堂药业有限公司,批号:2105001);玉米油(北京索莱宝科技有限公司,货号:C7030)。旋转蒸发器(北京莱伯泰科仪器有限公司,型号:EV311);循环水式真空泵[巩义市英峪予华仪器厂,型号:SHZ-D(Ⅲ)];全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特有限公司,型号:AU480);脱水机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JJ-12J);包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);病理切片机(上海徠卡仪器有限公司,型号:RM2016);正置白光拍照显微镜(日本 Nikon 公司,型号:Eclipse Ci-L)。

2 方法

2.1 动物分组

取健康 SD 雌性大鼠 56 只,随机分为溶剂对照组($n=9$)、最低剂量组($n=9$)、低剂量组($n=9$)、中剂量组($n=9$)、高剂量组($n=10$)、最高剂量组($n=10$)。以玉米油对椒目油原液进行对倍稀释,配制一系列浓度,分别用于最低剂量组(6.25%)、低剂量组(12.5%)、中剂量组(25%)、高剂量组(50%)、最高剂量组(椒目油原液)灌胃,溶剂对照组同时给予等体积玉米油。

2.2 剂量选择和给药方法

椒目油比重为 0.867 6 g/mL,本研究参考谢晓芳^[11]研究方法,每日按照 15 mL/kg 灌胃 1 次,最低剂量组、低剂量组、中剂量组、高剂量组、最高剂量组椒目油剂量分别为 0.813 4、1.626 8、3.253 5、6.507 0、13.014 0 g/kg。灌胃剂量为《中国居民膳食指南(2016)》^[12]推荐每日成年人食用油摄入量 25~30 g 的 1.6~26 倍。观察 14 d,每日称量大鼠体质量。

2.3 大鼠血清肝肾功能相关指标的测定

给药后,观察并记录动物给药后的毒性反应和死亡情况。给药后 2 h 内每 15 min 观察 1 次,2~4 h 内每 30 min 观察 1 次,4~8 h 内每 1 h 观察 1 次,8~24 h 内每 4 h 观察 1 次,之后逐日观察大鼠的精神活动,进食,大小便形态,被毛、四肢活动等,并记录出现的毒性反应表现及其开始和消失的时间。观察 14 d 后,股动脉采血测定各组大鼠血液生理指标,包括中性粒细胞百分比(neutrophil percentage, NEUT%)、淋巴细胞百分比(lymphocytes percentage, LYMPH%)、中性粒细胞绝对值(neutrophil, NEUT)、淋巴细胞绝对值(lymphocyte, LYMP);肝肾功能相关血清生化指标,包括血清总蛋白(total protein, TP)、

谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、AST/ALT、尿素氮(urea nitrogen, UREA)、肌酐(creatinine, CREA)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)。

2.4 脏器系数测定

根据解剖当日称量获得的大鼠体质量和心脏、肝脏、左肾、右肾净重,计算脏器系数^[13]。脏器系数=器官质量(g)/体质量(g)×100%。

2.5 HE 染色

取大鼠脏器,包括肝脏、脾脏、肾脏、胃,用 4% 多聚甲醛固定 24 h 后,经乙醇梯度脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、苏木精和伊红染色、脱水,最后用中性树胶封片。制片完成后由 2 位病理学专家以盲法于每张切片中随机挑选 6 个视野在光学显微镜下进行读片和拍摄。

2.6 统计学方法

实验数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用 SPSS 23.0 进行统计分析,满足正态分布且方差齐的多组数据采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验,若方差不齐,则采用 Tamhane 检验;如果不符合正态分布,则采用非参数 Kruskal-Wallis 检验,组间两两比较采用 LSD 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般观察

给予椒目油灌胃后无动物死亡,观察期内各组动物外观、行为、排便、呼吸、腺体分泌等均无异常。

3.2 各组大鼠体质量比较

各给药组体质量与溶剂对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),观察时间与灌胃干预之间无交互作用($P>0.05$)。详见表 1。

3.3 各组大鼠进食量比较

与溶剂对照组比较,14 d 时,高剂量组进食量增加($P<0.05$);其余各组间进食量比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 2。

3.4 各组大鼠血液生理指标比较

与溶剂对照组比较,最低剂量组、中剂量组、最高剂量组 NEUT%水平下降、LYMPH%水平上升($P<0.05$),最高剂量组 NEUT 水平下降($P<0.05$),中剂量组、最高剂量组 LYMP 水平上升($P<0.05$)。与最低剂量组相比,低剂量组 NEUT%水平上升、LYMPH%水平下降($P<0.05$)。与低剂量组相比,中剂量组、最

表 1 各组大鼠体质量变化($\bar{x}\pm s, g$)

组别	n	1 d	4 d	9 d	14 d
溶剂对照组	9	245.80±17.07	263.43±16.28	268.02±22.53	254.58±20.05
最低剂量组	9	252.04±21.26	263.30±17.25	273.01±20.51	256.92±20.01
低剂量组	9	253.22±14.33	265.67±18.13	273.18±19.10	256.32±18.61
中剂量组	9	254.33±14.99	265.23±12.48	278.09±15.81	262.59±15.40
高剂量组	10	259.10±15.64	264.93±19.43	273.77±22.23	258.87±21.69
最高剂量组	10	257.26±12.36	271.68±16.33	277.73±19.27	258.50±11.76

表 2 各组大鼠进食量变化($\bar{x}\pm s, g$)

组别	n	1 d	4 d	9 d	14 d
溶剂对照组	9	80.65±5.44	125.35±48.44	104.40±29.56	100.50±22.77
最低剂量组	9	88.30±27.01	109.60±17.25	116.85±8.84	102.65±13.36
低剂量组	9	82.00±8.34	87.55±14.21	119.95±2.62	107.55±14.35
中剂量组	9	97.85±19.45	101.80±24.61	134.65±7.71	131.75±5.87
高剂量组	10	185.85±98.36	145.30±50.49	163.30±49.92	146.10±7.35*
最高剂量组	10	110.50±32.81	128.85±16.05	126.45±1.06	118.30±7.50

注:与溶剂对照组比较,* $P<0.05$ 。

高剂量组 NEUT%水平下降、LYMPH%水平上升($P<0.05$),最高剂量组 NEUT 水平下降($P<0.05$)。与高剂量组相比,最高剂量组 NEUT%及 NEUT 水平下降、LYMPH%水平上升($P<0.05$)。详见表 3。

3.5 各组大鼠血清生化指标比较

与溶剂对照组比较,最低剂量组、低剂量组、中剂量组、高剂量组 CREA 水平下降($P<0.01$),高剂量组 FPG 水平上升($P<0.01$)。与最低剂量组相比,中

剂量组、高剂量组 FPG 水平上升($P<0.05$)。与低剂量组相比,中剂量组、高剂量组 FPG 水平上升($P<0.05$)。各组大鼠肝脏功能相关血清生化指标变化两两比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 4~5。

3.6 各组大鼠脏器系数比较

与溶剂对照组比较,最低剂量组心脏系数下降($P<0.05$),最高剂量组肝脏系数上升($P<0.05$),最低剂量组、低剂量组、中剂量组、高剂量组、最高剂量组

表 3 各组大鼠血液生理指标变化($\bar{x}\pm s$)

组别	n	NEUT%	LYMPH%	NEUT/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	LYMP/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)
溶剂对照组	9	22.64±5.51	66.79±6.04	1.57±0.92	4.33±1.23
最低剂量组	9	15.13±5.29*	74.61±5.73*	1.21±1.02	5.49±2.00
低剂量组	9	21.83±6.60 [#]	67.06±6.52 [#]	1.62±0.73	5.03±1.51
中剂量组	9	14.91±6.68* [△]	76.36±7.94** ^{△△}	1.21±0.81	6.24±1.78*
高剂量组	10	17.75±9.99	70.30±10.52	1.40±0.82	5.67±1.38
最高剂量组	10	9.25±5.31** ^{△△&&}	79.07±8.68** ^{△△&}	0.65±0.49* ^{△&}	6.12±2.78*

注:与溶剂对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与最低剂量组比较,[#] $P<0.05$;与低剂量组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与高剂量组比较,[&] $P<0.05$,^{&&} $P<0.01$ 。

表 4 各组大鼠肾脏功能相关血清生化指标变化($\bar{x}\pm s$)

组别	n	UREA/($mmol \cdot L^{-1}$)	CREA/($\mu mol \cdot L^{-1}$)	FPG/($mmol \cdot L^{-1}$)
溶剂对照组	9	7.95±2.00	32.26±4.44	5.69±0.44
最低剂量组	9	6.97±1.18	26.58±3.17**	5.57±0.30
低剂量组	9	7.01±1.05	27.48±3.48**	5.64±0.46
中剂量组	9	7.92±1.52	26.40±1.52**	6.07±0.34 ^{#△}
高剂量组	10	7.56±1.49	27.87±2.16**	6.40±0.49** ^{#△△}
最高剂量组	10	7.72±1.75	27.64±3.04	5.87±0.57

注:与溶剂对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与最低剂量组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与低剂量组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。

表5 各组大鼠肝脏功能相关血清生化指标变化($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TP/(g·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	AST/ALT
溶剂对照组	9	66.41±2.62	25.56±3.43	136.67±17.77	5.41±0.78
最低剂量组	9	65.63±2.52	28.44±8.43	148.67±21.81	5.46±0.96
低剂量组	9	68.98±5.16	23.78±4.18	140.78±26.60	5.94±0.78
中剂量组	9	66.86±3.74	26.00±4.56	129.00±28.01	5.06±1.30
高剂量组	10	66.11±4.82	24.20±5.55	124.80±18.28	5.28±0.81
最高剂量组	10	68.26±4.21	25.00±4.32	129.00±21.86	5.27±1.19

表6 各组大鼠心脏、肝脏、肾脏系数变化($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	n	心脏	肝脏	左肾	右肾
溶剂对照组	9	0.39±0.06	2.76±0.19	0.35±0.02	0.37±0.02
最低剂量组	9	0.34±0.03*	2.92±0.16	0.39±0.02*	0.41±0.03*
低剂量组	9	0.39±0.04 [#]	2.89±0.20	0.40±0.02*	0.40±0.02*
中剂量组	9	0.37±0.04	2.88±0.16	0.39±0.01*	0.40±0.02*
高剂量组	10	0.37±0.04	2.89±0.24	0.38±0.02* [△]	0.38±0.03 [#]
最高剂量组	10	0.39±0.02 [#]	3.00±0.14*	0.39±0.03*	0.39±0.03

注:与溶剂对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与最低剂量组比较,[#] $P<0.05$;与低剂量组比较,[△] $P<0.05$ 。

左肾系数上升($P<0.05$),最低剂量组、低剂量组、中剂量组右肾系数上升($P<0.05$)。与最低剂量组相比,低剂量组及最高剂量组心脏系数上升、高剂量组右肾系数下降($P<0.05$)。与低剂量组相比,高剂量组左肾系数下降($P<0.05$)。详见表6。

3.7 各组大鼠大体解剖及组织病理学变化

实验结束后对所有动物进行大体解剖检查,各组动物被毛光滑,各脏器组织结构未见明显异常。各组大鼠肝脏组织可见肝细胞脂肪变性、细胞质内存在体积微小的圆形空泡,局部血管周围见少量炎性细胞浸润;脾脏病理切片视野内白髓形状不规则,细胞排列疏松,细胞间距增宽;肾脏出现少量的肾小管上皮细胞坏死脱落、胞核固缩深染、胞质嗜酸性增强,未见明显的炎性改变;胃出现中等量胃腺扩张、管腔形状不规则、上皮扁平化,黏膜肌层见少量炎性细胞浸润。各剂量组与溶剂对照组脏器组织病变发生率均较低,且基本一致。详见图1~4。

4 讨论

椒目作为花椒生产中的主要副产物,现已被贵州、四川、陕西等多个省份的中药材地方标准收载^[14]。近年来,椒目不断被研究和开发,多数研究都集中于椒目油,天然产物或药用植物在安全性未经过科学

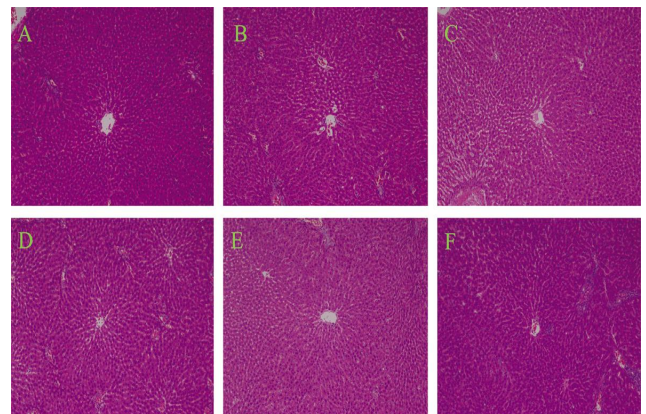


图1 各组大鼠肝脏病理切片(HE,×100)

注:A.溶剂对照组;B.最低剂量组;C.低剂量组;D.中剂量组;E.高剂量组;F.最高剂量组。

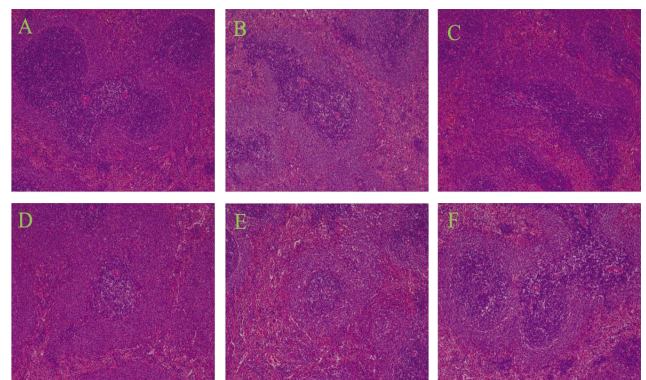


图2 各组大鼠脾脏病理切片(HE,×100)

注:A.溶剂对照组;B.最低剂量组;C.低剂量组;D.中剂量组;E.高剂量组;F.最高剂量组。

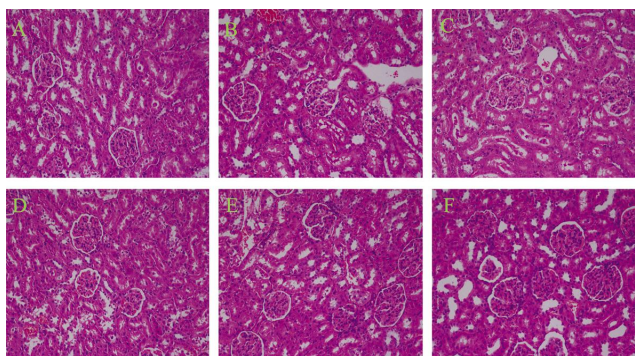


图3 各组大鼠肾脏病理切片(HE,×100)

注:A.溶剂对照组;B.最低剂量组;C.低剂量组;D.中剂量组;E.高剂量组;F.最高剂量组。

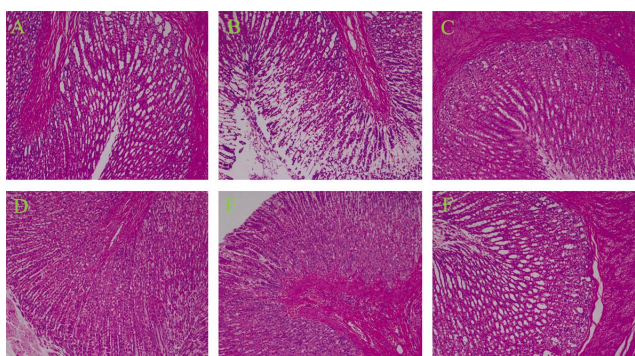


图4 各组大鼠胃病理切片(HE,×100)

注:A.溶剂对照组;B.最低剂量组;C.低剂量组;D.中剂量组;E.高剂量组;F.最高剂量组。

实验研究评估之前,进行疾病防治研究存在着较高的未知安全风险。为评价椒目油灌胃给药的安全性,为后续椒目油开发利用提供安全性评价和剂量设置依据,本研究采用SD大鼠进行急性毒性实验,观察椒目油对SD大鼠的急性毒性作用。

本研究关于SD大鼠进食量的结果显示,灌胃给椒目油之后,高剂量组、最高剂量组单日进食量较其他剂量组有明显增加,其中高剂量组大鼠单日进食量波动较大。刘少阳等^[15]在苹果籽油的毒理学实验中也发现大鼠实验各剂量组动物食物利用率均高于阴性对照组,并指出这可能与动物摄入油脂量有关,但具体情况有待进一步研究。许小红等^[16]在对白芍党参安全性毒理学评价中发现高剂量组雌性动物的总进食量高于阴性对照组,认为进食量的改变为非有害效应,无毒理学意义。另外,本实验期间观察到高剂量组大鼠存在啃咬饲料的情况,可能为造成高剂量组大鼠饲料消耗量增多的原因之一。综上可知,仅靠进食量的改变尚不能说明椒目油对SD大鼠具有毒性作用。

本研究分析血液学结果发现,椒目油干预能够

引起大鼠外周血NEUT%、NEUT水平下降,LYMP、LYMPH%水平上升,但其毒理学意义尚不明确。中性粒细胞、淋巴细胞水平在一定程度上可反应机体的生理状况。黄洁瑶等^[17]在香连丸长期毒性实验研究中指出,香连丸可降低SD大鼠外周血单核细胞百分比、NEUT,升高LYMPH%,且大鼠肝脏和肺脏有明显病变,表明香连丸可能存在一定的溶血毒性。而在本研究中,仅最低剂量组、中剂量组、最高剂量组与溶剂对照组NEUT%、NEUT、LYMPH%、LYMP差异具有统计学意义,指标之间存在一定的剂量效应关系,但绝对值差异较小。此外,其余血常规指标各组间差异无统计学意义,病理组织学检查肝脏、脾脏、肾脏、胃器官均未见明显病变,尚不能认为椒目油对SD大鼠具有毒性作用。

椒目油是否对SD大鼠外周血中性粒细胞、淋巴细胞水平产生影响仍然值得关注。研究表明,椒目油促进哮喘动物模型肺组织中嗜酸性粒细胞的凋亡,抑制嗜酸性粒细胞等炎性细胞的浸润是其发挥抗哮喘作用的主要机制^[18-20]。金赛红^[21]在椒目油对炎症细胞的作用及机制研究中提出,椒目油可以抑制卵清蛋白诱导的小鼠外周血嗜酸性粒细胞增高,而对中性粒细胞、淋巴细胞水平无影响。在椒目油对动物外周血指标的影响方面,以上研究结果与本研究结果差异较大,这可能是由于本研究椒目油干预次数较少、观察时间较短造成的。但以上研究仅关注于椒目油对哮喘的防治作用且多为早期研究,明确椒目油能否影响中性粒细胞、淋巴细胞水平可为椒目油调节慢性炎症反应和外周免疫,进而发挥防治慢性疾病的作用研究提供基础。

CREA主要由肌酸代谢和肉类食物体内代谢后产生,是肾功能评价的重要指标之一^[22]。本研究发现椒目油降低了大鼠血清CREA水平,但由于CREA降低并无明确的毒理学意义^[23],且其他相关指标未出现明显改变,该结果并不能明确椒目油对大鼠肾脏功能的毒性作用。魏月媛等^[24]在对火麻仁油安全性的毒理学评价中也发现极个别脏器质量和脏体比指标与对照组有显著性差异,认为数值相差不大,且无明显剂量-反应关系,出现波动属正常现象。本研究结果中大鼠肾脏功能相关指标改变的绝对值差异也较小,且无剂量效应关系。此外,我们分析大鼠脏器系数增加可能是由于单次给予大剂量椒目油引起的。乔玉峰等^[25]在研究中指出,给予高剂量且成分

复杂的中药复方灌胃干预,可造成肝脏、肾脏代谢负荷增大,而引起动物肝脏、肾脏质量可逆性增加。本研究以椒目油为供试品,其成分复杂且单次给药量大,因此,椒目油对大鼠肾脏的影响可能并非毒性作用。由于大鼠肾脏功能相关指标改变绝对值差异较小、毒理学意义不明且无剂量效应关系,同时,本研究观察时间短,未能明确观察到指标改变是否为可逆,结合组织病理学切片检查肝脏、脾脏等器官均未见明显病变,因此,尚不能认为椒目油对SD大鼠具有肾脏毒性作用。

综上所述,SD大鼠1日内灌胃不同浓度的椒目油,观察期结束后,各生化指标和组织病理学检查未见明显毒性异常,根据本研究结果可认为椒目油对SD大鼠无急性毒性作用。此外,椒目油若作为防治慢性疾病的食物来源补充剂被开发,为确定其口服安全剂量,还应进行亚急性灌胃毒性、长期毒性试验研究。

参考文献

- [1] 慕钰文,黄玉龙,张辉元.花椒籽不同溶剂提取物的活性成分及抗氧化性比较[J].包装与食品机械,2021,39(3):21-26.
- [2] 彭曦乐,颜昕宇.基于关联规则分析椒目在肠腑疾病中的配伍规律[J].医学食疗与健康,2022,20(1):27-32.
- [3] 吕选民,常钰曼.柴草瓜果篇 第72讲 椒目[J].中国乡村医药,2021,28(15):47-48.
- [4] 段耀钢.花椒籽油的开发利用研究[J].西部皮革,2020,42(16):84.
- [5] 高 珊.花椒籽中多不饱和脂肪酸的提取工艺研究[J].现代食品,2020(21):105-107,114.
- [6] 于豪杰,吕斌杰,秦 召,等.花椒籽仁油及其脱脂粕中氨基酸的分析[J].食品科技,2019,44(12):233-240.
- [7] 张 静,杨平荣,海 娟,等.椒目质量标准研究[J].兰州大学学报(医学版),2020,46(6):34-40.
- [8] 侯 静.椒目油抗炎、抗喉癌作用机制研究[D].太原:山西医科大学,2021.
- [9] 年 婧,景军强,赵重博,等.椒目仁油微波-超声辅助提取工艺优化及降血脂活性研究[J].成都中医药大学学报,2021,44(4):54-61.
- [10] HE F T, LUO S H, LIU S J, et al. Zanthoxylum bungeanum seed oil inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis by suppressing ERK/c-JUN/NFATc1 pathway and regulating cell cycle arrest in RAW264.7 cells[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2022, 289: 115094.
- [11] 谢晓芳.附子心脏毒作用机制研究[D].成都:成都中医药大学,2012.
- [12] 杨月欣,张环美.《中国居民膳食指南(2016)》简介[J].营养学报,2016,38(3):209-217.
- [13] 农雅萍,朱露露,陈思雨,等.隔姜灸对肝郁脾虚型功能性胃肠病大鼠血清代谢组学的影响[J].湖南中医药大学学报,2022,42(10):1695-1704.
- [14] 陈舒忆,唐 艺,赵应梅,等.贵州椒目的质量标准研究[J].微量元素与健康研究,2021,38(2):34,37.
- [15] 刘少阳,丁秀玲.压榨法制备苹果籽油及其毒理学[J].食品工业,2021,42(1):339-342.
- [16] 许小红,王炯蓉,张东城,等.白芍党参安全性毒理学评价[J].毒理学杂志,2022,36(1):91-95.
- [17] 黄洁瑶,刘丹宁,杨璐嘉,等.香连丸有效成分的急性毒性和长期毒性实验研究[J].西南大学学报(自然科学版),2020,42(8):33-41.
- [18] 王俊琴,王胜春,赵慧平,等.椒目油 A2 对哮喘小鼠肺组织嗜酸性粒细胞凋亡的影响[J].中国新药杂志,2010,19(23):2174-2180.
- [19] 王小翠,刘一鸣.椒目油对哮喘大鼠血清总 IgE、IL-13 水平及肺组织 Fas/FasL 表达的影响[J].西部医学,2009,21(4):543-546.
- [20] 谢柏梅.椒目油对豚鼠哮喘模型肥大细胞和类胰蛋白酶的影响[D].西安:第四军医大学,2007.
- [21] 金赛红.椒目油对炎症细胞的作用及其机理分析[D].杭州:浙江大学,2002.
- [22] 李 榕,王 亮,钱豪英,等.肌酐作为生物标志物在疾病诊断及药物评价方面的研究进展[J].药物评价研究,2021,44(9):2007-2012.
- [23] 查 青,陈燕妮,史海龙,等.土贝母急性毒性实验研究[J].辽宁中医药大学学报,2021,23(4):41-46.
- [24] 魏月媛,李 理.火麻仁油安全性的毒理学评价[J].食品与机械,2016,32(3):4-11,108.
- [25] 乔玉峰,李明花,牛天增,等.芪精升白颗粒灌胃急毒和长毒试验研究[J].时珍国医国药,2017,28(8):1872-1875.

(本文编辑 周 旦)