

甜茶的毒理学实验研究

廖曼云 覃国忠

(中国人民解放军第181医院)

摘 要

甜茶 *Rubus suavissimus* S. Lee 为一高甜度、低热能、低毒植物。实验研究证明动物服用安全范围大、对生长发育、造血系统、肝肾功能无妨碍,也未见对动物主要脏器(心、肝、脾、肺、肾、脑)有实质性损害及蓄积中毒反应。甜茶将作为我国新型的天然甜味剂。

广西民间以甜茶 *Rubus suavissimus* S. Lee 叶代茶饮用,谓有补肾、降压、治糖尿病等功效。鉴于国外近年来大力寻求无毒、低热能、高甜度的天然糖料方面对甜叶菊 *Stevia* 作了不少探讨^[1,2],我区甜茶能否作为食糖代用品?能否长期使用?毒副作用如何?为此,进行毒理学实验研究。

材 料

实验所用的样品除水提取物(总提取物)外,尚有甜茶的多种成分:甜茶素,甜茶萜、甜茶酮,后者水溶性差;所试样品均由广西植物研究所化学室提供。

所用的动物为健康的小白鼠(体重18~22克)、大白鼠(体重120~180克)、狗(8~12公斤)等,亚急性毒性试验则选用2月龄的大白鼠(体重65~74克)。均雌雄不拘,试验时不同性别分笼饲养。

方法与结果

一、急性毒理实验及LD₅₀的测定 选用同一性别的小白鼠,大白鼠供试灌胃或腹腔注射,一次给予甜茶各种制剂,观察中毒症状、体重变化及死亡情况,并作病理组织学检查,按简化机率单位法计算LD₅₀。

1、各种甜茶制剂的LD₅₀,结果见表1。

表1 各种甜茶制剂的LD₅₀(小白鼠)

制 剂	给 药 途 径	LD ₅₀ (g/kg)
甜 茶 素	灌 胃	2.413±0.2 (P=0.99)
	腹 腔	0.214±0.02 (P=0.99)
甜茶水提取物	灌 胃	>12克(浸膏)
甜 茶 帖	灌 胃	>200克(相当生药剂量)
甜 茶 黄 酮	灌 胃	>182克(相当生药剂量)

水提取物受调配技术及灌胃容量所限,只得到最大口服量,无法求LD₅₀。大白鼠灌胃所测LD₅₀与小白鼠基本一致。

2、体重变化情况：一次灌胃给予甜茶素一个LD50剂量，观察动物七日内存活及体重变化情况，所得结果见表2及图1。

表2 给动物一次灌胃一个LD50甜茶素七日的体重变化

动物	数量(只)	相当于一个LD50剂量	试验前平均体重(克)	每天平均体重(克)							七日内动物存活数(只)
				1	2	3	4	5	6	7	
小白鼠	10	2.5克/公斤	21 (100)	21 (100)	21.50 (102.3)	22.70 (108)	23.70 (114)	23.10 (110)	25 (119)	26 (123.8)	4/10
大白鼠	10	同上	109 (100)	114 (104)	123 (112)	128 (117)	146 (134)	143 (131)	156 (143)	156 (143)	5/10

* 括号内数字为给甜茶素后体重相当于试验前体重的% (试验前体重为100%)。

上述结果(表2)表明一次经口给药后动物体重的动态变化。动物体重一度下降看来与毒性是有一定关联的。

3、急性中毒症状：动物死亡前主要的中毒症状，灌胃与腹腔注射基本相似，可见自发运动减少，行动迟缓，四肢无力，厌食，严重者呼吸困难，终因呼吸停止、窒息死亡。

中枢兴奋药戊四氮可以缓解，对抗中毒症状，提示大剂量甜茶素造成中毒死亡与呼吸中枢抑制有关。所得结果见表3。

4、组织学检查：组织学检查未见明显形态学变化，但可见心、肝、肾、肺及脑有轻度充血(瘀血)，意味着全身循环不良。

二、亚急性毒性试验：

1、大白鼠的亚急性毒性试验：

选二月龄大白鼠60只，雌雄各半，随机分成3组，即甜茶素1/10LD50组及1/80LD50组，生理盐水对照组，连续给药60天，观察体重、血象及有关生化检查的变化，结束实验时处死动物作病理学检查。结果如下：

(1)一般症状：各组动物灌服甜茶素期间食欲正常，未见松毛、萎靡、拉稀便以及侧卧等现象，活动情况与对照组一样，无异常表现。

(2)体重的增长情况：甜茶素对大白鼠体重增长无不良影响，各组间动物普遍体重增加(图2)，无显著差别(表4)。

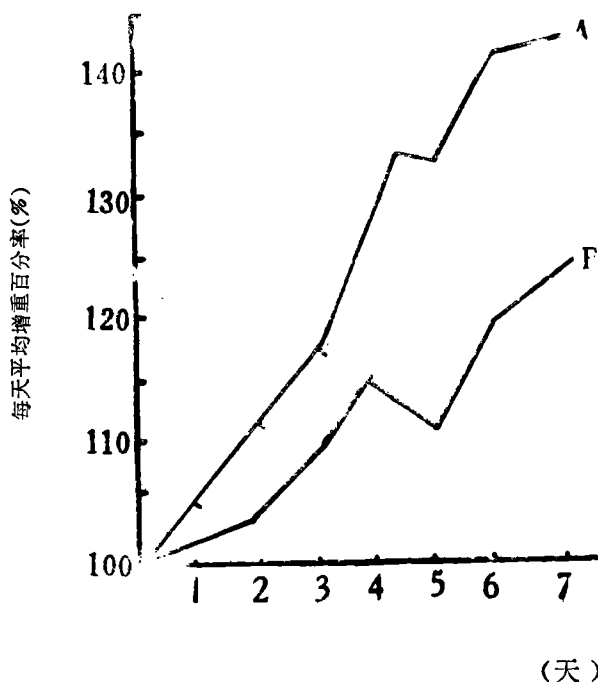


图1 动物一次灌服一个LD50甜茶素七日的体重曲线

A: 大白鼠 B: 小白鼠

表3 戊四氮与甜茶素合用后小白鼠死亡情况

组 别	动物数 (只)	剂 量 与 用 法	中 毒 死 亡 时 间							死 亡 率 %
			10分	30分	1 小 时	2 小 时	6 小 时	12小时	24小时 以上	
单用甜茶素 组	10	2.4克/公斤 (P.O)	2/10	-	-	1/10	4/10	-	-	70%
甜茶素+ 戊四氮	4	同上+1 mg/公斤 (5.c)	-	-	-	-	-	-	1/4	25%
甜茶素+ 戊四氮	4	0.2g/公斤 (i.p)+1 mg/公斤 (s.c)	-	-	-	-	-	-	-	0%
甜 茶 素	10	0.2g/公斤 (i.p)	-	-	-	-	-	1/10	2/10	30%

表4 大白鼠服甜茶素60天体重增长情况

组别	动物数 (只)	试验前 体重(平均) (克)	试验后体重增长均数(克)													
			5天	10天	15天	20天	25天	30天	35天	40天	45天	50天	55天	60天		
< 1 > 1/10 LD ₅₀ 甜茶素	20	70.75 (100)	82.25 (116)	97.50 (137.8)	106 (149.8)	105.75 (149.4)	123.75 (174.9)	142.25 (201.0)	152.50 (215.5)	158 (223.3)	167.63 (236.9)	149.47 (211.2)	155 (219.0)	161 (227.5)		
< 2 > 1/80 LD ₅₀ 甜茶素	20	65.75 (100)	84.25 (128.1)	97.25 (147.9)	105.75 (160.8)	103.75 (157.8)	120.50 (183.3)	138 (209.8)	147.50 (224.3)	157 (238.8)	163.75 (249.0)	149.25 (227)	160.30 (243.8)	163.42 (248.5)		
< 3 > 对照组生理盐水	20	73.50 (100)	89.75 (122.1)	109.75 (149)	117 (159.0)	108.75 (147.9)	118.5 (161.2)	144.25 (196.2)	150.5 (204.7)	168 (228.5)	172 (234)	146.39 (199)	155.83 (211.9)	164.44 (223.6)		

①括号内数字为体重增长%, 试验前体重为100%; ②*P<0.001(与对照组比较下同); **P<0.01, ***P>0.01以上。

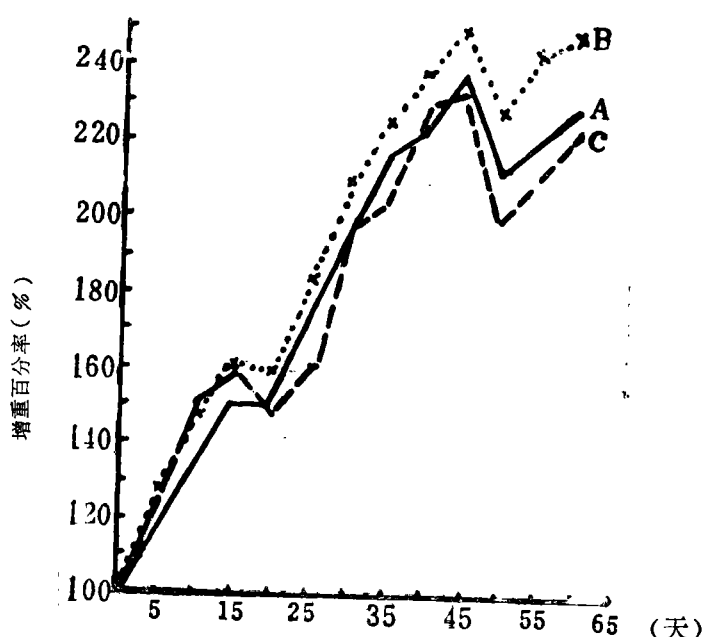


图3 连续灌服甜茶素对大白鼠体重的影响

A. 1/10LD₅₀组; B. 1/80LD₅₀组; C. 生理盐水组

(3) 对血象的影响: 实验前后各组鼠作血象检查结果见表5, 未发现异常; 用药前后自身对比及组间比较差异均不明显。各组数值符合规定的正常范围。

表5 甜茶素对大白鼠血象的影响 (给药60天)

组别	动物 (只)	红细胞数 (万/mm ³)		血红蛋白数 (克%)		白细胞数 (个/mm ³)	
		试验前 (均值±SD)	试验后 (均值±SD)	试前 (均值±SD)	试后 (均值±SD)	试前 (均值±SD)	试后 (均值±SD)
1/10 LD ₅₀ 组	10	382.5±0.45	376.2±0.46	11.2±0.19	※ 11.04±0.32	14.260±0.87	※※ 11,290±1.31
1/80 LD ₅₀ 组	10	379.8±0.17	※ 394.2±0.07	11.04±0.42	※ 11.04±0.29	14.640±1.23	※※ 11,815±1.13
生理盐水组	10	361.8±0.13	▲ 414±0.12	10.95±0.35	11.49±0.15	15,275±0.83	18,225±1.68

①血中成份各正常值参考《食品毒理学》标准; ②打※者示与对照组比较 $P>0.1$ 以上, 打※※者示与对照组比较 $P<0.01$ 以下者; ③打▲者, 指自身前后对比 $P<0.05$ 以下者。

(4) 对血清谷丙转氨酶含量的影响: 连服甜茶素21天, 检查血中SGPT未见明显增加, 按文献^[3]资料大鼠之正常值为 $150\pm 50\mu\%$, 各组鼠均符合标准, 未显示增强SGPT活性的作用, 依此看来对肝细胞无直接损害。

(5) 对血清尿素氮含量的影响: 实验中对灌胃给予1/10LD₅₀甜茶素之大白鼠于给药第二十天取血, 测定血中尿素氮含量。结果未见含量与对照组有明显区别, 提示该剂量下不影响肾脏正常功能。见表7

表6 甜茶素对大白鼠血清谷丙转氨酶之影响(灌胃21天)

组 别	动 物 数 (只)	SGPT (均值±SD, 单位%)	与对照组比较显著性测验 (大测验)
1/10LD ₅₀ 组	5	169.6±23.6	P>0.2
1/80LD ₅₀ 组	5	119.0±15.7	P>0.2
生理盐水组	5	140.6±11.2	

表7 大白鼠经灌服甜茶素21天血中尿素氮含量测定

组 别	动物数 (只)	血中尿素氮含量 (均值±SD, mg%)		与对照组比较显著性 测验(大测验)
1/10 LD ₅₀ 组	5	试验前 16.78±2.35	试验后 8.8±0.67	P>0.5
生理盐水组	5	10.64±1.43	9.7±0.53	—

(6)病理镜检所见:大白鼠连续灌服60天,组织镜检各组均见心、肾等呈现浊肿和炎性细胞浸润,多数动物的肝脏存在寄生虫(囊虫)感染(见表8)。影响毒性试验结果的因

表8 灌服甜茶素60天,大白鼠病理学检查结果

组 别		心 脏					肝 脏	肾 脏
		浊 肿	炎性浸润	灶性坏死	边缘膜炎 细胞浸润	心内膜炎		
1/10 LD ₅₀	到期处死 (6只动物)	5	0	0	0	1	浊肿6 寄生虫感染1 灶性坏死1	浊 肿4 慢性肾炎3
	停药后68天处死 (3只)	0	2	0	0	0	寄生虫感染3	炎性浸润1
1/80 LD ₅₀	到期处死 (5只)	5	0	0	0	0	浊肿5 寄生虫感染1只	浊肿3, 慢 性炎症3
	停药后68天处死 (6只)	1	1 (轻度)	0	0	0	浊肿1 寄生虫感染2 周边坏死1	慢性炎症1
对 照 组 (生理盐水)	到期处死 (6只)	4	0	1	1	0	浊肿5 灶性坏死3 寄生虫感染3	浊肿4 炎性浸润2
	停药后68天处死 (7只)	0	1	0	0	0	炎性浸润6 寄生虫感染6	炎性浸润4只

胃、小肠镜检结果,三组均未见明显病理的改变。

素是多方面的^[4]，本试验的动物在健康状况（有寄生虫）、饲养条件、气候等方面，严格说来存在不足；可能由于营养与环境的因素造成甜茶组与对照组均出现上述改变，而与甜茶素之毒性关系不大。况且组织镜检未见细胞实质性改变，一半动物停药68天后，喂饲条件有所改善，则各内脏细胞水肿等现象也大有改善，可以支持上述推论。

2、狗的亚急性毒性试验

三只狗，连续经口给予相当人用最大量25倍的甜茶水提物三周，未见任何不良反应，食欲、活动均正常，体重平均增加2公斤，试验前后血象、肝功、肾功能测定均未见异常变化。

三、蓄积性试验 依照文献^[3]记载方法，给予试验小白鼠1/10LD₅₀甜茶素灌胃，一个月后，再给一个LD₅₀的甜茶素（灌胃），看动物死亡数是否超过50%，以判断其有无蓄积性，为制定卫生标准提供安全依据。结果见表9。

表9 甜茶素蓄积性试验结果（结束时观察七日内死亡情况）

21只鼠存活情况	死亡时间	一天	二天	三天	四天	五天	六天	七天	死亡率%
死亡数（只）		8	1	1	1	—	—	—	52
存活数（只）		13	12	11	10	10	10	10	

在实验过程中，未见动物有任何毒副反应，饮食、活动，饮水均正常，体重普遍增加。

四、对动物生育力之影响 亚急性试验后的各组大白鼠，及服用1/10LD₅₀的甜茶素一月之小白鼠，随机挑选若干，雌雄按2：1搭配合笼，继续给雌雄鼠口服甜茶素至试验结束，结果表明，甜茶素并不影响大白鼠、小白鼠之生育力，各组受孕率、活产率均达100%，存鼠中未发现有小头、唇裂、短肢、短尾或并趾等畸形。

表10 大白鼠、小白鼠服用甜茶素后对生育的影响观察

组 别	雌鼠 (只)	生 育 情 况					仔鼠有无畸形	仔鼠二个月内 存活率%
		受 孕 率	活 产 率	仔鼠存活率 (出生四日)	仔 鼠 只 数	均重(克)		
小白鼠服1/10LD ₅₀ 甜茶素×30天	3	3/3	3/3	100	17	2.3	未见	100
大白鼠1/80 LD ₅₀ 甜茶素×60天	6	6/6	4/6*	100	19	5.4	未见	100
大白鼠服生理盐水 ×60天	2	2/2	2/2	100	5	6.1	未见	100

*本组6只母鼠，其中2只于实验观察一个月内未生育，故未统计在内，实际一个月以后亦产仔鼠数只。

五、抗微生物活性试验 甜茶素水溶液以0.01%、0.1%、1%、2%、4%、6%浓度对绿脓杆菌，大肠杆菌、产硷杆菌、金黄色葡萄球菌作培养（纸片法），均无抑制细菌作用。

讨论与小结

本文的毒性实验结果表明甜茶及其主要成分甜茶素毒性低、安全性大、几无蓄积性。我们认为,对于糖尿病患者、肥胖者,可用来代替蔗糖。民间有使用甜茶水提液代替蔗糖的传统,并认为对于支气管炎患者代茶饮用,有“舒畅”气道,减轻咳嗽的功效。我们曾在离体的豚鼠支气管实验中观察到甜茶有一定舒张支气管的作用。今后宜对甜茶及甜茶素的药理作用及其医疗用途作进一步的探讨。

通过以上的实验观察,对甜茶、甜茶素的毒理学特性可以得出以下的几点认识:

1、甜茶素经口 $LD_{50} = 2413 \pm 200$ 毫克/公斤(小白鼠)。按“食品急性毒性分级标准”^[1],属于低毒物质。

2、亚急性毒性实验结果表明,给大白鼠、狗连续(21~60天)灌服甜茶素及甜茶水提取物,未见血象、肝功能、肾功能的明显影响。

组织镜检,未见实验动物的主要脏器(心、肝、肾)有明显的实质性损害。

3、蓄积性实验结果:受试动物死亡率52%,接近规定限度,可以认为几无蓄积性。

4、对生育影响的实验结果表明,受试动物(大白鼠、小白鼠)在所试剂量下,生育功能未受影响;受孕率、活产数与对照组无明显差异;且无致畸作用,仔鼠生长发育正常。

参 考 文 献

- (1) 片山修等,中国农科院国外引种室译,1976:甜叶菊的研究及其利用(下册)。
- (2) 中国医学科学院卫生研究所主编,1977:食品毒理,人民卫生出版社。
- (3) 张家铨,1980:新药的毒性观察,药学通报15(10):27-29。
- (4) Inglett, G. E, ed, 1974: Symposium: Sweeteners, 136-137 Table 11, 1
- (5) 湖南医学院卫生学教研组编,1979:卫生毒理实验方法,人民卫生出版社。
- (6) Abc, K. Sonobe, M, 1977: New Food Industry, 19(1): 67-72。

A STUDY OF TOXICOLOGICAL EXPERIMENT ON SWEET TEA

Liao Man-yun and Qin Guo-zhong

(NO. 181 Hospital of PLA)

ABSTRACT Sweet tea, *Rubus suavissimus* S. Lee, is a non-toxic, low calorie plant with high degree of sweetness. Experiments showed that it was safe for animals to take and do no harm to their hemopoiesis, liver or kidneys. It did not hinder the growth of the animals under experiment. No accumulative poisoning have been found. It will certainly be a new source of sweetener in our country.