

玫瑰茄花萼对铅(Ⅱ)盐的促排作用

许国水 陈文枢

(应用化学系)

摘 要

本文采用小鼠作实验探讨玫瑰茄花萼对铅(Ⅱ)盐的促排效应. 三组小鼠, 每组12只. 1组间日交替喂乙酸铅与玫瑰茄花萼, 2组同法喂乙酸铅与净水, 3组为对照组. 经81天, 采用分光法检其血、骨、毛及粪灰中铅蓄积量, 结果表明1组比2组呈较低铅量蓄积与较高铅量排出, 说明玫瑰茄花萼似乎可供防铅毒.

前 言

众所周知, 铅是极其有害人畜健康的重金属元素之一. Dr. Clair Patterso^[1]对格林兰(Greenland)的积雪中铅含量的长期研究后指出: (1)格林兰的雪中铅含量与年俱增, 尤其从二次大战(时雪中铅含量为 $0.004 \times 10^{-7}\%$), 后急剧增加至1970年为 $0.21 \times 10^{-7}\%$) 25年间增加五十多倍; (2)应认为人类暴露在这样铅含量愈来愈增加的生活环境中是人类染病的潜因; (3)雪中铅含量与工业发展同步增长. 郭方^[2]援引日本对环境污染的估算是日本每年产值增加6%, 污染则增长150—200%. 这有力说明工业的发展给环境带来污染的严重性. 对于疾病, P. W. Thies早就认为应把重点放在疾病的预防, 而不是急性感染的治疗. 如何预防铅害? 探求防铅物是其一. 但想发现新药, 尤其是高等植物药的临床前的试验、评价、鉴定等都需巨额经费与时间. 因而采纳长春新碱的发现者G. H. Svoboda^[3]所使用的筛选植物的标准. 据此, 我们认为玫瑰茄花萼可能具有防铅害的潜在药理作用.

玫瑰茄是锦葵科木槿属植物^[4]. 据文献^[5—7], 玫瑰茄花萼曾被推荐用于治疗心脏与神经系统、高血压与动脉硬化等疾病, 亦可作杀菌驱虫和抗痉弯等药剂. 但其组分之一, 含量高达14—15%^[8]的本槿酸, 有何药理作用却从未见有报导. 因而, 本文就玫瑰茄花萼浸出液对防铅毒作用以小鼠作实验的初步结果作了介绍.

实 验 与 讨 论

1. 材料与主要仪器

本文1986年3月22日收到.

试剂(1)小白鼠:昆明种,由福建医学院动物室供应;(2)玫瑰茄花萼(干):福建省永春县1983年与1984年出产;(3)饲料(小麦):福建省惠安县洛阳粮站一次供应,此外,黄豆与青菜由本校菜店供应;(4)试剂试验:均为A.R.级试剂;(5)无铅水:自制二次蒸馏水;(6)分光光度计:721—型,沪产;(7)红外分光光度计:PERKIN ELMER-983—型,西德产。

2. 玫瑰茄花萼浸出液与常见的金属离子的反应。

将经风干的玫瑰茄花萼100g撕碎后装进内径为2.5—3 cm、长1 m的层析管中,经压实,玻璃液漏斗装无铅水400 mL,使之从层析管的上口逐滴加入,以250 mL的锥形瓶收集其渗滤液,至沥干,约可收集浸出液200 mL,将其封存供下述实验用。

取上述浸出液1 mL于容积5 mL的离心管中,然后逐滴加入每mL含5 mg金属离子的盐溶液0.2—0.5 mL,振荡、搅拌、水浴加热近40℃,观察反应结果。试验结果如表1,表中符号—、↓、↓分别表示不产生沉淀、微混浊、大量沉淀。

表1 玫瑰茄花萼浸出液与常见金属离子反应情况

金属离子(5mg/ml)	Ag(I)	Pb(II)	Hg(II)	Cu(II)	Cd(II)	Sn(II)	Fe(III)	Mn(II)
反应结果	—	↓	—	—	—	—	—	—
金属离子(5mg/ml)	Ni(II)	Al(III)	Cr(II)	Zn(II)	Ba(II)	Ca(II)	Mg(II)	
反应结果	—	—	—	—	—	—	—	

表1中表明玫瑰茄花萼浸出液与常见的金属离子的沉淀反应有良好的选择性。与铅(II)离子能形成难溶的白色沉淀,据M. Bachatez^[6]报导,其沉淀形式为 $C_6H_4O_7Pb \cdot H_2O$ 。经我们测定40℃时木槿酸铅在水中的溶解度为 $7.2 \times 10^{-3} g$ 。玫瑰茄花萼浸出液虽也能与银(I)离子产生少量沉淀,但生活用水中含银离子量极微。

3. 木槿酸盐的红外吸收光谱

玫瑰茄花萼浸出液经除去色素后,以乙酸调节浸出液的pH值,在pH为5.5—6.5于水浴上逐滴加入饱和乙酸铅溶液并不断搅拌使之沉淀。沉淀陈化24h后进行过滤。沉淀经重结晶便成为白色针状结晶。结晶在105℃烘干至恒重后移入真空干燥器中干燥34h,以适量溴化钾混和研磨压片进行红外吸光谱检验得其图谱如图1所示。

根据Colthup^[10]特征基团红外吸收图表,对照图1得知,在波数

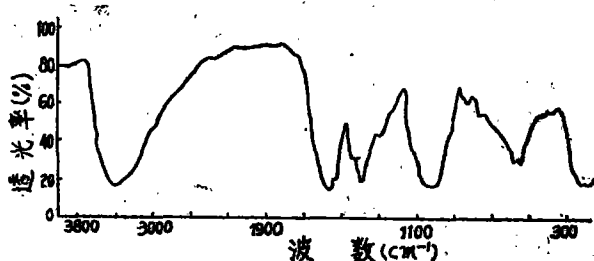


图1 木槿酸铅的红外吸收光谱(KBr压片)

1600cm^{-1} 处有一强吸收峰,相应波数为 3400cm^{-1} 处也有一强吸收峰,说明分子中有羟基存在。因而可初步说明木槿酸分子中羧基已与铅(Ⅱ)离子起成盐反应。

4. 玫瑰茄花萼浸出液对铅(Ⅱ)盐的促排作用

(1) 小鼠分组:

采用随机分组方法,将成长正常,身体健康的小鼠10—13头分为一组,共三组。1组为受铅(Ⅱ)毒后受药组(先给服铅(Ⅱ)盐溶液28天,继之单给服铅(Ⅱ)盐溶液26天,双日给服玫瑰茄花萼浸出液27天,共81天);2组为受铅(Ⅱ)毒组(给服铅(Ⅱ)盐溶液28天,继之单给服铅(Ⅱ)盐溶液26天,双日给服无铅水27天,共81天);3组为对照组(仅给服无铅水81天)。

(2) 药液的浓度及给药方法:

(i) 配制玫瑰茄花萼浸出液中含木槿酸的浓度依据:

(a) 据文献〔6〕墨西哥产玫瑰茄干花萼含木槿酸为15.3%;埃塞俄比亚产者为14.6%;福建省永春县产者经分析结果为14.0—14.1%,故以14%作为估算用料的依据。

(b) 据M. H. Malone^[3]所提出的小鼠法规定固定剂量为0.01, 0.03, 0.10, 0.30, 300mg/kg的吸别。

(c) 据W. B. Esselen和G. M. Sammy^[11]报导,玫瑰茄花萼浸出液作为烹调材料已有三百年以上历史。可见民间用之已久,并未发现有不良(毒)性反应的报导。

(d) 经测定让小鼠随意吮吸水量每日平均值为1.5ml(水)/25g(体重)。

(e) 按质量作用定律,较高剂量有利于铅(Ⅱ)离子与木槿酸成盐反应。

按以上根据采用剂量为300mg/kg,相应地每ml玫瑰茄花萼浸出液应含木槿酸5mg,或相当于应用干的玫瑰茄花萼54mg/25g(小鼠体重)。

(ii) 配制铅(Ⅱ)盐溶液的浓度计算依据:

(a) 按我国卫生部《生活饮用水卫生规程》规定,水中铅含量应不超过0.1mg/l。

(b) 一般成年人(体重约为55—65kg),每天耗水(指饮食)量为2—3kg,则每人每日摄入铅量为0.2—0.3mg,相当于 $4.2 \times 10^{-3}\text{mg/kg/d}$ 的剂量。显然该量尚未包括呼吸道与食物所带入体内的铅量。

小鼠平均体重为25—30g/头,每天每头耗水量为1.5ml,则每头小鼠从饮水中摄入铅量为 $1.5 \times 10^{-4}\text{mg/d}$ 。以此剂量作为安全允许量。

(c) 铅对大鼠的LD-50为0.015g/kg,可作为剂量的参考上限。

(d) 本文旨在探讨铅引起蓄积性中毒的预防途径。

据以上分析,铅(Ⅱ)盐溶液中铅(Ⅱ)离子浓度可选择在 $0 > 0.1—15\text{mg/l}$,而浓度略大于0.1mg/l的剂量属慢性毒性实验,故采用0.6mg/l(相当于LD-50的1/25)作为实验时的铅(Ⅱ)盐(乙酸铅)溶液的浓度。

(iii) 给药(喂液)方法

本实验采用让小鼠随意不定时地吮吸药液,使之酷似小鼠的生活习惯,而液体计量准确性并不受影响。

(3) 小鼠实验期间的生长曲线:

采用感量为0.1g的托盘天平,每隔约一周按规定时间分别称量各组各头小鼠的体重。以

实验开始时体重作为100%来计算与比较实验期间小鼠体重增减情况,结果如图2。

比较各组生长曲线可知,对照组在整个实验过程中体重都保持正增长,受毒后受药组的体重先呈负增长,后交替喂以铅(Ⅱ)盐溶液与玫瑰茄花萼浸出液时转而保持正增长,表明玫瑰茄花萼浸出液抵制了铅(Ⅱ)盐溶液铅毒的影响,受毒组初期呈负增长,在28天后虽剂量不变但单日停药,体重虽短期恢复,但继之总是呈负增长,说明蓄积性中毒现象渐趋明显。

(4)实验过程中小鼠的外观体微观察与反应测量:

在整个实验过程中,每隔约一周按毒理的实验方法^[3]详细测试其外观表征变化与反应,并记录在表2。表中以“○”,“↑”,“↓”与数字分别表示正常增强,下降与比例数。

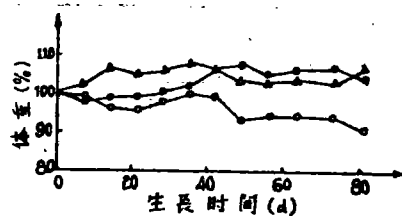


图 2

- 受毒后受药组(I)
- 受毒组(II)
- △——对照组(III)

表 2 小鼠的外观表征与反应现象记录

项 目	活动性			前肢抓力			后腿蹬力			毛光泽性			鼠尾痛觉反应		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
时	当天	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	7	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	14	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	21	○	○	○	↓ 2/10	↓ 3/10	○	↓ 3/10	↓ 2/10	○	○	○	↓ 2/10	↓ 1/10	○
	28	○	○	○	↓ 1/10	↓ 2/10	○	↓ 1/10	↓ 3/10	○	○	○	↓ 1/10	↓ 2/10	○
间	35	○	↓ 3/10	○	○	↓ 3/10	○	○	↓ 3/10	○	○	○	○	↓ 4/10	○
	24	○	↓ 3/10	○	○	↓ 4/10	○	○	↓ 4/10	○	○	○	○	↓ 4/10	○
	49	○	↓ 3/10	○	○	↓ 4/10	○	○	↓ 4/10	○	○	○	○	↓ 5/01	○
	56	○	↓ 5/10	○	○	↓ 5/10	○	○	↓ 5/10	○	○	○	○	↓ 5/10	○
	64	○	↓ 6/10	○	○	↓ 5/10	○	○	↓ 5/10	○	○	○	○	↓ 6/10	○
	73	○	↓ 7/10	○	○	↓ 5/10	○	○	↓ 6/10	○	○	○	○	↓ 6/10	○
	81	○	↓ 7/10	○	○	↓ 6/10	○	○	↓ 6/10	○	○	○	○	↓ 6/10	○

续表 2 小鼠的外观表征与反应现象记录

项 目	大 便			齿 龈 边 缘			食 欲			五 官			阴 茎 阴 道		
组 别	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
时	当天	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	7	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	14	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	21	○	○	○	兰线1/10	兰线1/10	○	↓2/10	↓1/10	○	○	○	○	○	○
	28	○	○	○	○	兰线1/10	○	↓4/10	↓3/10	○	○	○	○	○	○
间	35	软3/10	○	○	○	兰线2/10	○	↓1/10	↓2/10	○	○	○	○	○	○
	42	软6/10	○	○	○	兰线2/10	○	○	↓3/10	○	○	○	○	○	○
	49	软7/10	○	○	○	兰线3/10	○	○	↓3/10	○	○	○	○	○	○
	56	软7/10	○	○	○	兰线3/10	○	○	↓4/10	○	○	○	○	○	○
	64	软8/10	○	○	○	兰线3/10	○	○	↓4/10	○	○	○	○	○	○
	73	软10/10	○	○	○	兰线3/10	○	○	↓4/10	○	○	○	○	○	○
	81	软10/10	○	○	○	兰线4/10	○	○	↓5/10	○	○	○	○	○	○

表 2 说明小鼠受铅(Ⅱ)盐毒性引起的异常现象是食欲减弱、活动体力下降、前后肢抓力与蹬力减弱、齿龈边缘有若隐若现的暗灰兰线、鼠尾神经敏感性反应下降,服用玫瑰茄花萼浸出液有助于克服铅毒的影响。

实验进入第56天后相继出现死亡,先后分别为Ⅰ、Ⅱ组各2头、Ⅲ组3头死亡小鼠均未作尸检。

(5) 小鼠的骨、血、毛、粪中含铅量的测定:

(i) 灰分的准备:

(a) 血灰的制备:以眶后静脉取血法取血,经烘干、灼烧、灰化至恒重。

(b) 毛灰的制备:剪尽小鼠毛,先后经丙酮、温皂水无铅水充分洗涤后烘干、灼烧灰化至恒重。

(c) 骨灰的制备:将经取血、剪毛、除去内脏的小鼠尸体进行充分漂洗后、烘干、灼烧、灰化至恒重。

(d) 粪灰的制备:将收集的鼠粪经烘干、灼烧、灰化至恒重。

(ii) 小鼠有关灰分中含铅量的测定:

按上述制备的灰分,用双硫宗法、以沪产721-型分光光度计在波长510nm处检验各灰分中铅含量。测定结果如表3。表中“—”表示因量微采用本方法无法检出。

表3 玫瑰茄花萼浸出液对铅(Ⅱ)促排情况

组别	8d中每头小鼠平均摄入铅量		体内铅蓄积量					粪灰铅含量 (%)	排出率 (%)
	0.6g(铅)/ 1铅(Ⅱ) 溶液 (ml)	铅重 (mg)	总铅量(mg)	分布(%)					
				骨	血	毛	占鼠体总重 %		
I	87.20	52.32×10^{-3}	19.51×10^{-3}	99.71	0.23	0.014	7.8×10^{-5}	3.6×10^{-4}	62.71
Ⅱ	81.00	48.60×10^{-3}	36.55×10^{-3}	99.97	0.004	0.024	14.6×10^{-5}	0.29×10^{-4}	24.79
Ⅲ	○	○	4.59×10^{-3}	99.86	—	0.028	1.8×10^{-5}	0.054×10^{-4}	

表3说明铅绝大多数以某种形式蓄积于骨骼中。I-Ⅱ组实验过程摄入铅量虽相近,但因I组服了玫瑰茄花萼浸出液,结果排出率可从24.79%提高到62.71%,几达2.5倍,而蓄积(滞留于体内)量仅约为Ⅱ组的一半。Ⅲ组体内铅量可视来自食物与胎体内的铅。

小 结

(1) 玫瑰茄花萼浸出液对铅(Ⅱ)盐有促排作用。间日剂量(以含木槿酸计)达300mg/kg时,对铅(Ⅱ)盐的促排率约可提高一倍。对经四周受铅(Ⅱ)盐剂量日达LD-50的1/25的铅慢性中毒初期反应有改善作用;对50天左右受铅(Ⅱ)盐平均日剂量达LD-50的1/50的生活环境的小鼠有维护作用。

(2) 显然,玫瑰茄花萼浸出液对铅(Ⅱ)盐的促排作用机理,尤其铅以何种形式排出体外尚须进一步探讨。但未判明之前亦可将玫瑰茄花萼浸出液作为一种保健饮料,对铅害污染严重的都市市民的健康也许是有益的。

致谢:本系黄进所同志代测红外吸收光谱,特此感谢。

参 考 文 献

- [1] W.W.Meinke, Taylor, J.K.Analytical Chemistry; Key to Progress on National Problems Nat.Bur.stand. (u,s) Washington, (1971).80
- [2] 郭方, 加强环境化学研究, 中国环境化学, 1, 1(1982), 2.
- [3] Wagner, H.and Wolff, P.编, 中国科学院上海药物研究所译, 生物活性天然产物, 科学出版社, (1981), 11, 28.
- [4] 中国科学院植物研究所主编, 中国高等植物图鉴(第三册), 科学出版社, (1972), 818.
- [5] Sharaf, A., C.A., 57(1962), 8656.
- [6] C.R.de villegas, C.A., 52(1958)6636.
- [7] Kerharo, J., C.A., 86(1977), 34170.
- [8] Busson, J., et al, C.A., 54(1960)19989.
- [9] Bachatez., M.C.A., 43(1949)7644.
- [10] Pecsok, Sields, Cairns, Mcwilliam, Modern Methods of Chemical Analysis, Second Editions, John Wiley & Sons, Inc., New York, (1976), 174—175.
- [11] Esselen, W.B. and Sammy, G.M., Roselle, a Natural Red Colorant for Food? Food Prod.Dev., 7, (1973).80—82
- [12] 工业毒理实验方法编写组编, 工业毒理实验方法, 上海科学出版社(1979)。

The Effect of Hibiscus Sabdariffa L. on Lead(II)

Excretion in Mices

Xu Guoshui Chen Wenshu

Abstract

The sepal of Hibiscus Sabdariffa L.(H.S.L)Shows an effect of promoting the excretion of lead(II).It is confirmed by an experiment on mices.A group of 12 mices,were given lead acetate in solution the first day and then followed by the eluant of H.S.L,the next day.Another group of 12 mices were given lead acetate the first day as well, but followed by common water the next day as a control.A routine was kept on as such until the 81th day,then, the accumulation of lead in the ashes of their blood, bones and hairs and the excretion of lead in the ashes of their excrements were examined with spectrophotometry.

The results reveal a lower accumulation and a higher excretion of lead in the first group than in the second group.It seems that H.S.L.may serve as a suitable beverage for the prevention of lead poisoning.