

文章编号:1001-6880(2014)Suppl-0125-03

消渴通脉胶囊原料对小鼠灌胃给药的急性毒性研究

李寅超¹,石金金¹,杨景华²,富显祖¹,何永侠¹,陈富君²,赵新年²,张雁冰^{1*}¹郑州大学药学院,郑州 450001; ²河南省新四方制药有限公司,周口 466000

摘要:本文主要目的是为了观察消渴通脉胶囊原料灌胃给药的小鼠急性毒性反应。经预试确定按最大给药量法设计试验,小鼠40只,♀♂各半,随机分为给药组和阴性对照组。给药组小鼠单次灌胃给予18.75 g/kg的消渴通脉胶囊原料,阴性对照组给予等容量的蒸馏水,给药容量均为30 mL/kg,24 h内每隔6 h连续给药3次,累积剂量为56.25 g/kg。给药后自由饮飮饮水,连续14 d观察小鼠体质量、行为活动以及死亡情况。给药组小鼠观察期间内体质量及一般状况无明显异常变化,无死亡例数。试验结果显示,在本试验条件下,消渴通脉胶囊原料的最大给药量为56.25 g/kg,相当于原生药203.85 g,该剂量相当于人临床剂量的102倍。

关键词:消渴通脉胶囊原料;急性毒性;小鼠

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

Study on Acute Toxicity of Xiaoke Tongmai Capsule Crude Drug in Mice

LI Yin-chao¹, SHI Jin-jin¹, YANG Jing-hua², FU Xian-zu¹, HE Yong-xia¹,
CHEN Fu-jun², ZHAO Xin-nian², ZHANG Yan-bing^{1*}¹College of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;²The new Quartet Pharmaceutical Corporation, Zhoukou 466000, China

Abstract: To study the effect of Xiaoke Tongmai capsule crude drug on acute toxicity in mice after intragastric administration. The maximum quantity was determined according to the design of pilot test. Forty mice were randomly divided into the treatment group and negative control group. For the treatment group, Xiaoke Tongmai capsule crude drug, with 18.75 g/kg as maximum drug dose and 30 mL/kg as maximum drug volume, is administrated three times in 24 h, while for the negative control group, distilled water is adopted. The accumulated dose was 56.25 g/kg. After administration, mice were free to forage and drink for 2 weeks, and the bodyweight, behavior and death were recorded. No abnormality in bodyweight and behavioral activity was observed in the treatment group. No death was discovered. Under this experimental condition, the dose of 56.25 g/kg is the maximum dose of Xiaoke Tongmai capsule crude drug. It was about 203.85 g crude drug and 102 times of the clinic dose.

Key words: acute toxicity test; maximum dose; Xiaoke Tongmai capsule crude drug

消渴通脉胶囊是河南省新四方制药有限公司已在上市的消渴通脉口服液基础上的改进制剂。消渴通脉口服液在治疗消渴病气阴两虚兼血瘀证的方面疗效独特。为了了解新制剂的安全性,我们对消渴通脉胶囊的小鼠急性毒性进行了试验研究。

1 材料

消渴通脉胶囊原料(下文简称“胶囊原料”),黑褐色粉末,由河南省新四方制药有限公司提供,批号20100320,每g原料相当于原生药3.624 g,拟临床剂量为生药2 g/kg,密封保存,临用前用蒸馏水配成

相应浓度的溶液;KM小鼠(SPF级)72只,♀♂各半,体质量为(20 ± 2)g,购自河南省实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(豫)2005-0001;小鼠用全价颗粒饲料(经Co⁶⁰照射灭菌)和动物垫料均购自河南省实验动物中心。饲养环境为郑州大学药学院动物房IVC饲养室,实验动物使用许可证号:SYXK(豫)2007-0009。

2 方法

2.1 预试验

2.1.1 首次预试

取经检疫合格的16只SPF级小鼠(♀♂各半)。按体质量随机分为4个剂量组^[1,2],每组4只

(♀♂各半),禁食(不禁水)8 h 后灌胃(ig)给药。以药液的粘滞度能勉强通过灌胃针头的浓度 0.625 g/mL 为最大给药浓度,各组小鼠胶囊原料给药剂量依次为 18.75, 9.36, 4.68 g/kg, 剂量等比级数为 1:0.5, 阴性对照组给予等容量蒸馏水。给药容量为 30 mL/kg。各组均于上午 9 时左右 ig1 次, 共 1 d。给药即刻及给药后 5、15、30、60、120、240、360 min 各观察 1 次动物的毒性反应, 濒死动物进行剖检。自给药后次日开始连续 6 d 每日定时对动物观察 1 次并称取体质量。记录小鼠在给药后的异常反应、死亡数、死亡时间和剖检情况, 可能情况下判断小鼠在给药后异常反应出现到恢复接近正常的时间。观察期结束对存活动物进行剖检, 肉眼观察心、肝、脾、肺、肾等主要脏器有无异常改变, 发现异常即行病理学检查, 并结合中毒症状分析靶器官。

结果显示, 各组小鼠无 1 例死亡, 一般状况观察也未见明显的毒性反应, 系统剖检肉眼观察各主要脏器未见明显异常改变。表明消渴通脉胶囊原料以最大浓度、最大给药剂量和给药容量单次给药未表现出毒性反应。为了更进一步暴露消渴通脉胶囊的急性毒性情况, 又进行了二次预试。

2.1.2 二次预试

取经检疫合格的 8 只 SPF 级小鼠(♀♂各半)。按体质量随机分为 2 组^[1,2], 即给药组和阴性对照组, 每组 4 只(♀♂各半), 禁食(不禁水)8 h 后给药。给药组单次给药剂量为 18.75 g/kg, 阴性对照组给予等容量蒸馏水。给药容量为 30 mL/kg。各组均于 24 h 内每隔 6 h 连续 ig 给药 2 次。观察方法、检测指标及试验结束时的大体剖检同首次预试。

结果显示, 各组小鼠一般状况观察也未见明显的毒性反应, 剖检各组小鼠主要脏器如心、肝、脾、肺、肾等经肉眼观察未见明显异常改变, 无死亡例数。表明消渴通脉胶囊原料以最大浓度、最大给药剂量和给药容量 24 h 内给药 2 次, 仍未表现出明显的毒性反应。接着又进行了三次预试。

2.1.3 三次预试

取经检疫合格的 8 只 SPF 级小鼠(♀♂各半)。动物分组、单次给药剂量、给药容量以及观察指标、检测方法及试验结束时的大体剖检等与二次预试相同。所不同的是 24 h 内的给药频率改为每隔 6 h 连续 ig 给药 3 次。

结果显示, 各组小鼠一般状况观察未发现明显的毒性反应, 系统剖检肉眼观察各主要脏器未见明

显异常改变。各组小鼠无死亡例数。按照《中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则》(指导原则编号:[Z] GPT2-1) 的要求^[3], 正式试验采用最大给药量进行试验, 以末次预试所用剂量 18.75 g/kg, 30 mL/kg 为最大给药量, 且 24 h 内连续给药 3 次, 即胶囊原料给药总剂量为 56.25 g/kg。

2.2 正式试验(最大给药量法)

取经检疫合格的 40 只 SPF 级小鼠(♀♂各半), 按体质量随机分为给药组(1 组)和阴性对照组(2 组), 每组 20 只(♀♂各半), 禁食(不禁水)8 h 后给药。1 组小鼠胶囊原料单次给药剂量为 18.75 g/kg, 2 组给予等容量的蒸馏水。给药容量为 30 mL/kg。各组均于 24 h 内每隔 6 h 连续 ig 给药 3 次。

动物给药后的观察指标、方法及试验结束时的大体剖检等与三次预试相同, 所不同的是观察期限为连续观察 14 d。

2.3 统计学处理

试验数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 动物体质量组间比较用 t 检验, 运用 SPSS15.0 统计软件处理。

表 1 消渴通脉胶囊原料灌胃给药的小鼠死亡分布情况($n = 20$)

Table 1 Distribution of Xiaoke Tongmai capsule crude drug extract on mice death($n = 20$)

天数(d) Day	死亡例数(只) Number of death	
	1 组 First group	2 组 Second group
0	0	0
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0
14	0	0

3 结果

一般状况观察结果显示,给药组小鼠在给药后5 min,出现活动减少或静卧,约给药后120 min逐渐恢复,给药当天动物肛周污秽,大便稀呈药色,外观检查口、鼻未见异常分泌物;第2 d后小鼠活动、粪便等均未见异常,与阴性对照组比较无明显差异;且14 d内无小鼠死亡及其他异常状况发生。试验结束所有存活动物处死后进行尸检各主要脏器(心、

肝、脾、肺、肾)经肉眼观察未见明显异常改变,与阴性对照组比较无明显差异。胶囊原料 ig 给药的小鼠死亡分布情况见表 1。

体质量统计结果显示,给药前,对比 1 组和 2 组小鼠体质量差异无统计学意义($P > 0.05$);在给药后 7 d 和 14 d,1 组小鼠体质量与 2 组比较有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但给药组与阴性对照组小鼠体质量均呈增长趋势,说明胶囊原料对小鼠的体质量增加稍有影响。结果见表 2 和图 1。

表 2 消渴通脉胶囊原料对小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 2 Effect of Xiao ke Tongmai capsule crude drug extract on the body-weight of mice($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别 Group	剂量 Does (g/kg)	给药前体重 The body-weight before administration (g)	给药后体重(g) The body-weight after administration		
			3 d	7 d	14 d
1	56.25	20.11 ± 0.75	24.78 ± 1.21	27.16 ± 1.45 * *	29.57 ± 3.08 *
2	等容量蒸馏水	19.64 ± 0.74	24.32 ± 1.80	29.36 ± 2.93	32.18 ± 4.36

注:与阴性对照组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

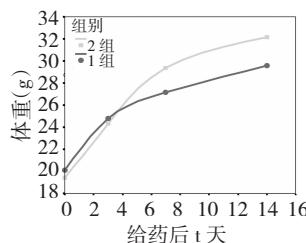


图 1 小鼠体质量变化曲线图

Fig. 1 The variety of mice body-weight

4 讨论

由河南省新四方制药有限公司生产的消渴通脉口服液主要成份为黄芪、地黄、白芍、麦冬、葛根、丹参、水蛭、黄芩、黄连、玄参、川芎、川牛膝,具有益气养阴清热,活血化瘀通络之功能,在临床治疗消渴病,气阴两虚,兼血瘀症方面有较好效果。然而液体制剂体积较大,携带、运输和储存都不方便,而制成胶囊则可以很好地避免上述缺点,还可以掩盖药物

的不良嗅味,提高药物稳定性,液态药物固体化后以个数计量,服药方便。但尚需了解改进剂型的安全性,故进行消渴通脉胶囊安全性的研究。

在本试验条件下,消渴通脉胶囊对小鼠的一般状况影响不明显,小鼠未出现死亡等明显的毒性反应,最大给药累积量为 56.25 g/kg,相当于原生药 203.85 g,该剂量相当于人临床常用剂量的 102 倍,说明本胶囊无明显毒性反应,安全性好。

参考文献

- 1 Xu SY(徐叔云), Bian RL(卞如濂), Chen X(陈修). Experimental Methodology of Pharmacology(药理实验方法学). Beijing: People's Medical Publishing House, 2002. 227-229.
- 2 Li YK(李仪奎). Experimental Methodology of TCM Pharmacology(中医药理实验方法学). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006. 1001-1007.
- 3 中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则(SFDA 文件,[Z] GPT2-1), 2004. 7.