

文章编号:1001-6880(2016)12-1971-07

热感赛比斯坦颗粒毒理学实验研究

李慧芳¹, 庞克坚², 唐 辉^{1*}, 张 博¹, 刘新豫¹¹石河子大学药学院新疆特种植物药资源教育部重点实验室,石河子 832000; ²和田维吾尔药业有限责任公司,和田 848200

摘要:观察热感赛比斯坦颗粒对小鼠的急性和大鼠长期毒性反应。将热感赛比斯坦颗粒生药浸膏液干燥,粉碎,以最大浓度及小鼠最大给药体积对小鼠灌胃,进行最大耐受量试验,观察两周之内出现的急性毒性反应。采用 SD 大鼠分别给予 37.50 g/(kg·d)、12.50 g/(kg·d)、3.75 g/(kg·d) 药物灌胃,空白组给予同等体积的蒸馏水,进行长期毒性试验。在给药 30 d、停药 15 d 测定生化、血象指标、脏器系数和各主要脏器病理切片。急性毒性试验测得小鼠最大耐受量为 299.70 g/kg,无死亡现象,解剖后发现小鼠各主要脏器无肉眼可见病变。长期毒性试验给药及恢复期间各组大鼠体重无统计学差异。血液学、血生化及脏器系数检查,给药组与对照组之间个别指标有差异,无毒性意义。主要脏器的病理组织学检查,未见明显病理改变。本研究证明热感赛比斯坦颗粒临床成人拟用给药剂量远低于其毒性剂量,安全性良好。

关键词:热感赛比斯坦颗粒;急性毒性;最大耐受量;长期毒性

中图分类号:R29

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.12.021

Toxicology of Regansaibisitan Particles

LI Hui-fang¹, PANG Ke-jian², TANG Hui^{1*}, ZHANG Bo¹, LIU Xin-yu¹

¹Modernization of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China; ²Xinjiang Uygur Pharmaceutical Limited Liability Company, Hetian 848200, China

Abstract: The purpose of this study was to investigate the acute and chronic toxicity of the Regansaibisitan particles. In order to explore the acute toxic reaction of Regansaibisitan particles in two weeks, the maximum tolerable test was performed as follows: the extract of Regansaibisitan particles, as tested drug, was dried, crushed, and then was given to mice by gavage with two dosages (the maximum volume of mice and the maximum concentration of Regansaibisitan particles in mice). In addition, SD rats were randomized into four groups: three testing groups which were treated with 37.50 g/(kg·d), 12.50 g/(kg·d) and 3.75 g/(kg·d) of Regansaibisitan particles extract, respectively, and one blank control group which was treated with the same volume of distilled water. Subsequently, at 30 days of medication and 15 days of drug withdrawal, the hemogram index, biochemical index, organ coefficient and pathological sections of main organs were detected respectively. As a result, the maximum tolerable dose of mice to the Regansaibisitan particles extract was 299.70 g/kg. In addition, there was no death, no visible lesion of the main organs which were observed via dissection method, and no statistically significant difference on the weight of the rats during the whole experimental process. As for hemogram index, biochemical index and organ coefficient, there were some differences between the testing groups and the control group, but no toxic significance. In terms of pathological sections of major organs, no obvious pathological change was observed. In conclusion, this study demonstrated that clinical dose of Regansaibisitan particles was far less than its toxic dose, illustrating it had reliable safety.

Key words: Regansaibisitan particles; acute toxicity; maximum tolerated dose; chronic toxicity

热感赛比斯坦颗粒(国药准字 Z65020143)由破布木果、大枣、罂粟壳、甘草、蜀葵子、黄瓜子、榅桲子、巴旦仁、罂粟子、西黄蓍胶、甘草浸膏、阿拉伯胶

12 味药材粉碎成粗粉,加水煎煮、滤过,合并滤液,浓缩成稠膏,加糖粉制的成颗粒剂。具有清除异常胆液质,止咳,化痰。用于热性感冒咳嗽,呼吸道感染等功效^[1,2]。为完善该制剂的安全性评价资料,对该药急性毒性及长期毒性进行研究,为该药在临床安全地服务于患者提供有效的参考依据。

收稿日期:2016-07-18 接受日期:2016-09-29

基金项目:国家自然科学基金项目(81260627)

* 通讯作者 Tel:86-993-2057878; E-mail: th_ph@shzu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 动物

健康 SPF 级 KM 种小鼠, 雌雄各半, 40 只, 体重 (20 ± 2) g, 由石河子大学动物实验中心提供, 生产批号 SCXK(新)2011-0004。健康 SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 128 只, 体重 (170 ± 10) g, 由新疆地方病研究所动物中心提供, 许可证号 (SCXK 新 2011-0001), 符合动物实验标准。于试验前一周领取以使其适应环境, 并分笼饲养, 给予自由进食饮水。

1.2 药物

热感赛比斯坦颗粒浸膏液(不含糖粉辅料), 浸膏得率 53%, 由新疆和田维吾尔药业有限责任公司提供, 生产批号 20150122, 批准文号, 国药准字 Z65020143 将浸膏液在 60 ℃条件下烘干, 粉碎成粉末备用。临床给药途径为口服, 一次 1 袋, 一日 3 次, 每袋装 12g, 临床所给成品药中药材与辅料比为 1:9, 所以浸膏应给剂量为临床所给剂量的 1/10, 成人(体重 60 kg)^[3,4]等效剂^[5]量为 0.06 g/kg。

1.3 主要仪器

烘箱 DHG-9145A(上海一恒科学仪器有限公司), 超声 SK5200HP(上海科导超声仪器有限公司), 12 号灌胃针, 电子天平 SL600(上海民桥精科学仪器有限公司), 贝克曼库尔特 AU680 自动生化分析仪, 希森美康 kx-21 三分类血细胞分析仪。

1.4 小鼠急性毒性试验

根据《中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则》^[6]进行急性毒性试验研究, 因无法测出该药半数致死量 LD₅₀ 及最大耐受量(MTD)^[7], 因此以浸膏粉最大浓度 2.5 g/mL 及小鼠最大给药体积 0.4 mL/10 g 对小鼠灌胃^[8], 一日三次进行最大耐受试验, 最大耐受剂量为 299.7 g/kg, 是临床人拟用剂量的 4995 倍。空白组给予同等体积的蒸馏水灌胃。观察指标为外观, 毛发, 行为, 活动, 粪便, 分泌物, 食量, 饮水量等变化及有无死亡。

1.5 大鼠长期毒性试验^[9-12]

1.5.1 分组

取 SD 大鼠, 128 只, 雌雄各半, 体重 170 ± 10 g, 随机分为四组。大鼠分性别分笼饲养, 每笼 8 只。参照指导原则, 高剂量组给药量应等同与最大耐受量, 中剂量组给药量应为最大耐受量的 1/3, 低剂量组应为最大耐受量的 1/10, 由于大鼠给药体积的限制, 给药剂量依次为高剂量组为 37.50 g/(kg · d),

中剂量组为 12.50 g/(kg · d), 低剂量组为 3.75 g/(kg · d)。分别为临床成人拟用量的 625 倍、208 倍、63 倍, 进行长期毒性试验, 空白组给予同等剂量的蒸馏水。

1.5.2 给药及观察检测

试验期间密切观察大鼠一般状况。热感赛比斯坦颗粒临床使用疗程为 3~7d, 根据技术指导原则长毒连续给药观察时间定为 4 周。末次给药后 12~24 h, 每组随机选 16 只大鼠, 采用眼眶采血 3 mL 分别送检做血液学指标及血液生化指标。血液学指标有: 血小板(PLT)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、血红蛋白(HGB)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、淋巴细胞数(W-SCC)、淋巴细胞百分比(W-SCR)、红细胞压积(HCT); 血生化指标有: 碱性磷酸酶(ALP)、谷草转氨酶(AST)、肌酐(CREA)、总蛋白(TP)、丙氨酸转移酶(ALT)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)、尿素氮(BUN)、葡萄糖(GLU)、谷草/谷丙(AST/ALT)、总胆固醇(TC)、总胆红素(TBIL)、白球比(A/G)、甘油三酯(TG)。停药观察 2 周做可逆性观察。采用同样方法取血, 测定血液学指标及生化指标, 病理组织学检查药物对脏器的影响。

1.5.3 数据处理

本实验计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。多组间比较, 方差齐的用 LSD 法, 方差不齐的 Dunnett's T3 法, 两两比较用 t 检验, 全部数据用 SPSS 17.0 统计计算。

2 实验结果

2.1 热感赛比斯坦颗粒对小鼠的急性毒性

给药后动物少动, 约 4 h 后恢复正常, 粪便稍稀软。连续观察 14 d, 每天称取小鼠体重进行比较, 各组比较未见统计学差异, $P > 0.05$ 。观察期间, 小鼠未见异常, 也无死亡。处死后, 肉眼观察心、肝、脾、肺、肾等脏器, 发现与空白组相比, 未见肉眼可见病理性改变。此时小鼠的累积给药量即最大给药量达到 299.70 g/kg 浸膏, 相当于 60 kg 体重的成人临床每日用量的 4995 倍。

2.2 热感赛比斯坦颗粒对大鼠的长期毒性

2.2.1 对大鼠一般情况及体重的影响

大鼠灌胃给热感赛比斯坦颗粒 4 周和停药恢复性观察 2 周, 热感赛比斯坦颗粒对大鼠的外观体征、

毛色、行为活动、粪便性状均无明显影响,试验期间未出现动物死亡。统计学数据处理得到,热感赛比斯坦颗粒对各组大鼠每周体重增长变化未出现统计学差异, $P > 0.05$ 。

2.2.2 对大鼠血液学指标的影响

由表1~2可以看出,热感赛比斯坦颗粒对大鼠各试验阶段血常规的影响:

给药期,雄鼠:高剂量组 HCT, RBC 稍高于空白

表1 热感赛比斯坦颗粒给药 30 d 大鼠血象分析($\bar{x} \pm SD, n=6$)

Table 1 Effects of Regansaibisitan particles on hematological indexes after one month medication ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

性别 Sex	分组 Groups	PLT ($\times 10^9/L$)	MCHC (g/L)	HGB (g/L)	MCV (fL)	MCH (pg)
雄鼠 ♂	高剂量 37.5 g/(kg·d)	1091.33 ± 103.78	344.67 ± 7.39	198.83 ± 3.87	55.48 ± 0.97	19.18 ± 0.56
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	999.00 ± 105.14	348.67 ± 5.16	182.83 ± 4.36	56.62 ± 1.06	19.97 ± 0.63
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	852.50 ± 168.71	345.83 ± 4.58	184.17 ± 6.77	55.85 ± 1.27	19.53 ± 0.36
	空白组 Control	876.00 ± 170.42	347.17 ± 5.46	181.17 ± 6.49	55.45 ± 0.55	19.08 ± 0.33
雌鼠 ♀	高剂量 37.5 g/(kg·d)	1296.50 ± 66.60 *	362.83 ± 1.72 **	194.17 ± 3.43 *	57.88 ± 0.35	20.97 ± 0.23 *
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	802.00 ± 255.71	356.33 ± 6.56 **	172.17 ± 6.94	55.48 ± 0.72	20.12 ± 0.64
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	1060.50 ± 124.68	343.33 ± 3.20	163.67 ± 9.93	55.55 ± 0.73 **	19.28 ± 0.41 **
	空白组 Control	1030.67 ± 111.97	349.33 ± 10.52	169.17 ± 6.74	57.78 ± 1.31	20.22 ± 0.86
雄鼠 ♂	分组 Groups	RBC($\times 10^{12}/L$)	WBC($\times 10^9/L$)	WSCC($\times 10^9$)	W-SCR(LY%)	HCT(L/L)
	高剂量 37.5 g/(kg·d)	10.51 ± 0.36 *	5.02 ± 1.09	4.12 ± 0.97	0.81 ± 0.03	0.57 ± 0.02 *
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	9.33 ± 0.24	5.65 ± 1.25	4.62 ± 1.05	0.81 ± 0.03	0.53 ± 0.01
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	9.27 ± 0.38	5.65 ± 1.49	5.15 ± 1.76	0.83 ± 0.05	0.53 ± 0.02
雌鼠 ♀	空白组 Control	9.34 ± 0.31	6.15 ± 1.72	4.85 ± 1.52	0.77 ± 0.03	0.53 ± 0.03
	高剂量 37.5 g/(kg·d)	9.35 ± 0.11 *	5.78 ± 1.42	4.67 ± 1.27	0.83 ± 0.02	0.54 ± 0.01
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	8.51 ± 0.20	5.93 ± 1.47	5.10 ± 1.57	0.86 ± 0.04	0.48 ± 0.01
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	9.39 ± 0.82	3.88 ± 0.38 *	3.13 ± 0.37	0.79 ± 0.02	0.47 ± 0.03
	空白组 Control	8.37 ± 0.32	5.10 ± 1.27	4.28 ± 1.28	0.83 ± 0.07	0.48 ± 0.01

注:与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表2 热感赛比斯坦颗粒恢复期大鼠血象指标($\bar{x} \pm SD, n=6$)

Table 2 Effects of Regansaibisitan particles on hematological indexes after withdrawing medication for 15 days ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

性别 Sex	分组 Groups	PLT ($\times 10^9/L$)	MCHC (g/L)	HGB (g/L)	MCV (fL)	MCH (pg)
雄鼠 ♂	高剂量 37.5 g/(kg·d)	1015.33 ± 97.04	341.50 ± 4.93	165.50 ± 4.14	58.05 ± 0.47	19.60 ± 0.15
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	960.50 ± 124.55 *	348.83 ± 4.79	162.00 ± 8.81	56.70 ± 0.93	19.63 ± 0.34
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	835.50 ± 67.32 **	344.17 ± 3.06	161.00 ± 3.35	57.30 ± 1.16	19.32 ± 0.43 *
	空白组 Control	1088.33 ± 74.95	346.17 ± 4.07	168.83 ± 9.22	57.15 ± 1.42	19.78 ± 0.28
雌鼠 ♀	高剂量 37.5 g/(kg·d)	996.67 ± 175.33	360.33 ± 2.50	159.33 ± 5.28	58.05 ± 0.48	20.83 ± 0.32
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	1051.67 ± 211.21	360.00 ± 8.22	161.00 ± 5.90 *	57.33 ± 0.34	20.75 ± 0.61
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	1041.67 ± 62.08	346.83 ± 3.66	161.33 ± 3.44 *	56.45 ± 0.39 *	20.07 ± 0.59

性别 Sex	分组 Groups	PLT ($\times 10^9/L$)	MCHC (g/L)	HGB (g/L)	MCV (Fl)	MCH (pg)
	空白组 Control	1019.00 \pm 212.67	359.17 \pm 7.52	155.33 \pm 3.08	58.18 \pm 1.10	20.63 \pm 0.50
	分组 Groups	WBC ($\times 10^9/L$)	RBC ($\times 10^{12}/L$)	WSCC ($\times 10^9$)	HCT (L/L)	W-SCR (LY%)
雄鼠 ♂	高剂量 37.5 g/(kg·d)	9.02 \pm 1.02	8.37 \pm 0.14	7.13 \pm 0.71	0.49 \pm 0.01	0.85 \pm 0.03
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	8.63 \pm 1.53	8.00 \pm 0.41	7.05 \pm 1.18	0.46 \pm 0.02 **	0.81 \pm 0.02
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	6.97 \pm 1.33	8.21 \pm 0.41	6.18 \pm 1.22	0.48 \pm 0.02	0.82 \pm 0.03
	空白组 Control	8.07 \pm 1.96	8.43 \pm 0.53	6.68 \pm 1.78	0.50 \pm 0.03	0.84 \pm 0.02
雌鼠 ♀	高剂量 37.5 g/(kg·d)	5.68 \pm 0.90	7.50 \pm 0.17	4.55 \pm 0.70	0.43 \pm 0.02	0.81 \pm 0.03
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	5.72 \pm 0.73	7.53 \pm 0.44	4.65 \pm 0.63	0.45 \pm 0.02	0.80 \pm 0.02
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	5.82 \pm 0.84	7.80 \pm 0.24 **	4.62 \pm 0.63	0.46 \pm 0.02 *	0.83 \pm 0.03
	空白组 Control	5.75 \pm 1.21	7.20 \pm 0.21	5.22 \pm 1.28	0.43 \pm 0.01	0.83 \pm 0.04

注:与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.2.3 对大鼠血液生化指标的影响

由表 3~4 可以得出,热感赛比斯坦颗粒对大鼠血液生化学指标。

给药期,雄鼠:与空白组相比,高剂量组 GLO, ALB, AST, TG 稍高, GLU 稍低;中剂量组 ALP, TBIL, ALG 值升高,GREA, GLO, AST/ALT 值稍低。低剂量组 ALT, A/G 稍高,GREA, TP, GLO 稍低。雌鼠:与空白组相比,高剂量组 AST, GLO, GLU, TC,

TBIL 值稍高,AST/ALT 稍低。中剂量组 GLO, TC, TG 值稍高, GLU, AST/ALT, A/G 值稍低;低剂量组 TC, TBIL 值稍高, GLU 稍低。以上指标改变无剂量依赖性,为大鼠自身机体差异。恢复期,雄鼠:与空白组相比,高剂量组 GREA, TP, ALB, ALT, GLU 稍高, 中剂量组 GREA, BUN 稍低, 低剂量组 AST/ALT, GLU 稍高。雌鼠:中剂量组 GREA 稍低, TBIL 稍高, 低剂量组 TBIL 稍高, TG 稍低。

表 3 热感赛比斯坦颗粒给药 30d 大鼠生化数据分析 ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

Table 3 Effects of Regansaibisitan particles on blood biochemical indexes after one month medication ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

性别 Sex	分组 Groups	ALP (U/L)	AST (U/L)	CREA ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	TP (g/L)	ALT (U/L)	ALB (g/L)	GLO (mmol/L)
雄鼠 ♂								
	高剂量 37.5 g/(kg·d)	167.83 \pm 16.53	196.00 \pm 82.48 *	75.00 \pm 7.77	69.82 \pm 4.37	47.50 \pm 14.07	38.02 \pm 1.58 *	34.00 \pm 2.28 *
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	133.67 \pm 17.29 *	144.17 \pm 34.32	73.50 \pm 5.09 *	63.25 \pm 1.66	48.33 \pm 19.70	34.33 \pm 1.28	29.40 \pm 0.91 *
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	137.67 \pm 15.24	123.67 \pm 36.45	70.33 \pm 3.88 *	59.20 \pm 3.25 *	41.00 \pm 6.07 *	33.63 \pm 1.60	26.32 \pm 1.67 **
	空白组 Control	152.83 \pm 8.33	119.17 \pm 11.58	100.00 \pm 16.20	66.30 \pm 1.66	30.67 \pm 3.93	34.60 \pm 1.39	31.70 \pm 0.91
雌鼠 ♀								
	高剂量 37.5 g/(kg·d)	91.33 \pm 9.75	126.33 \pm 31.13 *	82.50 \pm 5.39	65.83 \pm 3.90	49.17 \pm 8.47	33.47 \pm 1.71	32.48 \pm 2.50 **
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	67.83 \pm 13.57	105.17 \pm 35.40	76.67 \pm 4.50	67.77 \pm 2.54	30.33 \pm 14.50	34.90 \pm 1.50	32.87 \pm 2.34 **
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	117.50 \pm 21.70	124.33 \pm 35.11	74.50 \pm 8.89	65.60 \pm 2.64	33.50 \pm 5.68	33.22 \pm 1.12	31.83 \pm 1.80
	空白组 Control	77.67 \pm 8.33	123.83 \pm 30.06	79.33 \pm 10.56	64.20 \pm 3.74	25.00 \pm 4.00	34.48 \pm 1.15	28.53 \pm 2.59
分组 Groups								
	BUN (mmol/L)	GLU (mmol/L)	AST/ALT	TC (mmol/L)	TBIL ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	A/G	TG (mmol/L)	
雄鼠 ♂								
	高剂量 37.5 g/(kg·d)	12.51 \pm 0.75	5.27 \pm 0.98 **	3.84 \pm 0.42	2.33 \pm 0.39	1.27 \pm 0.47	1.10 \pm 0.06	0.83 \pm 0.17 **
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	12.18 \pm 0.66	6.73 \pm 1.06	2.82 \pm 0.66 **	1.81 \pm 0.14	1.50 \pm 0.40 *	1.20 \pm 0.03 *	0.58 \pm 0.08

性别 Sex	分组 Groups	ALP(U/L)	AST(U/L)	CREA(μmol/L)	TP(g/L)	ALT(U/L)	ALB(g/L)	GLO(mmol/L)
雌鼠♀	低剂量 3.75 g/(kg·d)	10.26 ± 0.79	6.42 ± 1.02	3.83 ± 0.60	1.44 ± 0.16	1.28 ± 0.19	1.20 ± 0.07 **	0.47 ± 0.14
	空白组 Control	13.23 ± 4.32	7.23 ± 0.39	4.12 ± 0.45	1.79 ± 0.13	1.05 ± 0.26	1.12 ± 0.03	0.46 ± 0.12
	高剂量 37.5 g/(kg·d)	11.37 ± 1.00	10.40 ± 1.07 *	2.76 ± 0.36 **	2.33 ± 0.12 **	1.15 ± 0.39 *	1.08 ± 0.04	0.46 ± 0.10
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	9.30 ± 1.36	5.55 ± 1.07 **	2.88 ± 0.81 **	2.48 ± 0.27 **	0.63 ± 0.22	1.03 ± 0.05 **	0.56 ± 0.07 **
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	12.87 ± 2.71	5.87 ± 1.01 *	3.89 ± 0.92	2.89 ± 0.19 **	1.23 ± 0.28 *	1.11 ± 0.08	0.36 ± 0.05
	空白组 Control	11.32 ± 2.13	8.17 ± 2.16	4.77 ± 0.78	2.04 ± 0.33	0.30 ± 0.13	1.15 ± 0.07	0.43 ± 0.07

注:与空白组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01。

Note: Compared with blank control group, * P < 0.05, ** P < 0.01.

表 4 热感赛比斯坦颗粒恢复期大鼠生化数据分析 ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

Table 4 Effects of Regansaibisitan particles on blood biochemical indexes after withdrawing medication for 15 days ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

性别 Sex	分组 Groups	ALP(U/L)	AST(U/L)	CREA(μmol/L)	TP(g/L)	ALT(U/L)	ALB(g/L)	GLO(mmol/L)
雄鼠♂	高剂量 37.5 g/(kg·d)	137.40 ± 15.73	119.33 ± 15.93	68.67 ± 2.88 **	60.92 ± 1.98 *	32.93 ± 0.55 **	28.30 ± 1.58	36.33 ± 2.66 **
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	139.93 ± 15.67	106.17 ± 25.65	57.33 ± 1.37 *	60.02 ± 1.73	31.75 ± 0.65	28.27 ± 1.63	34.00 ± 9.78
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	113.83 ± 19.63	132.83 ± 31.21	64.83 ± 4.92	60.40 ± 1.35	31.60 ± 0.60	28.80 ± 1.46	27.50 ± 4.59
	空白组 Control	118.67 ± 12.45	118.00 ± 23.66	62.17 ± 4.62	58.67 ± 1.80	31.37 ± 0.35	27.13 ± 1.51	28.33 ± 2.42
	高剂量 37.5 g/(kg·d)	61.33 ± 9.16	122.67 ± 20.01	72.33 ± 3.61	63.02 ± 1.78	34.17 ± 1.24	29.65 ± 0.85	24.83 ± 1.94
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	65.67 ± 8.24	169.83 ± 20.23	68.00 ± 1.10 *	61.65 ± 1.56	32.43 ± 0.58	28.78 ± 1.27	18.17 ± 2.79
雌鼠♀	低剂量 3.75 g/(kg·d)	69.50 ± 6.66	177.33 ± 17.69	68.50 ± 2.35	61.67 ± 1.25	33.10 ± 0.75	29.73 ± 1.14	24.17 ± 2.04
	空白组 Control	57.67 ± 16.56	158.00 ± 34.69	72.17 ± 4.22	62.05 ± 0.92	33.45 ± 0.76	29.17 ± 0.68	21.83 ± 1.17
	性別 Sex	分組 Groups	BUN (mmol/L)	GLU (mmol/L)	AST/ALT	TC (mmol/L)	TBIL (μmol/L)	A/G
	雄鼠♂	高剂量 37.5 g/(kg·d)	6.79 ± 0.23	3.56 ± 0.40	4.05 ± 0.87 **	1.58 ± 0.19	1.53 ± 0.14	1.16 ± 0.07
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	5.30 ± 0.54 **	2.80 ± 1.01	1.55 ± 0.35	1.07 ± 0.39	1.58 ± 0.15	1.16 ± 0.07	0.58 ± 0.09
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	6.68 ± 0.55	4.48 ± 0.63 *	3.73 ± 0.97 **	1.73 ± 0.43	1.55 ± 0.10	1.14 ± 0.04	0.61 ± 0.06
雌鼠♀	空白组 Control	6.48 ± 0.87	3.59 ± 0.49	1.28 ± 0.63	1.45 ± 0.16	1.53 ± 0.17	1.17 ± 0.06	0.67 ± 0.05
	高剂量 37.5 g/(kg·d)	8.06 ± 1.39	5.11 ± 0.55	2.53 ± 1.53	0.82 ± 0.22	2.01 ± 0.06	1.13 ± 0.05	0.52 ± 0.06
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	7.09 ± 0.71	9.77 ± 0.93	1.90 ± 0.42	1.65 ± 0.15 **	1.85 ± 0.21	1.13 ± 0.03	0.57 ± 0.06
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	8.76 ± 1.19	7.02 ± 0.99	1.90 ± 0.27	1.75 ± 0.54 **	2.00 ± 0.27	1.11 ± 0.05	0.50 ± 0.03 *
	空白组 Control	7.91 ± 0.77	7.30 ± 1.67	1.28 ± 0.81	1.08 ± 0.28	1.88 ± 0.10	1.13 ± 0.02	0.56 ± 0.02

注:与空白组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01。

Note: Compared with blank control group, * P < 0.05, ** P < 0.01.

2.2.4 对大鼠脏器指数的影响

由表5~6可以看出热感赛比斯坦颗粒对大鼠脏器指数的影响。

给药期,雄鼠:肾脏高、中、低剂量组均高于空白组,但三各剂量组之间无差异。心脏,高、低剂量组高于空白组。雌鼠:肝脏高、中、低剂量组均低于空白组,肾脏,低剂量组高于空白组,胸腺,低剂量组低于空白组。

恢复期,雄鼠各剂量组与空白组无显著性差异。雌鼠:肝脏高、中剂量组稍低于空白组。

给药期雄鼠肾脏脏器系数与空白组有显著性差异,结合生化指标和HE染色切片,排除脏器水肿病变等原因所致脏器肿大,且恢复期各组均恢复正常,与空白组无差异。雌鼠各给药组肝脏系数均降低,无病理性改变及萎缩或退行性变化,可能与给药组雌鼠体重增长过快有关。

表5 热感赛比斯坦颗粒给药30d大鼠脏器系数数据分析($\bar{x} \pm SD, n=6$)

Table 5 Effects of Regansaibisitan particles on organ coefficient indexes after one month medication ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

性别 Sex	分组 Groups	肝脏 * 10 ⁻² Liver	肾脏 * 10 ⁻² Kidney	肺脏 * 10 ⁻² Lung	心脏 * 10 ⁻² Heart	脾脏 * 10 ⁻² Spleen	胸腺 * 10 ⁻² Thymus	睾丸 * 10 ⁻² Testis
雄鼠 ♂	高剂量 37.5 g/(kg·d)	2.49 ± 0.18	0.77 ± 0.05 **	0.50 ± 0.02	0.31 ± 0.02 *	0.18 ± 0.01	0.12 ± 0.04	1.48 ± 0.09
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	2.41 ± 0.11	0.74 ± 0.04 **	0.54 ± 0.03	0.30 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.12 ± 0.01	1.36 ± 0.08
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	2.49 ± 0.05	0.73 ± 0.03 **	0.52 ± 0.03 *	0.31 ± 0.03 *	0.21 ± 0.03	0.14 ± 0.04	1.56 ± 0.06
	空白组 Control	2.37 ± 0.07	0.67 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.14 ± 0.03	1.29 ± 0.06
雌鼠 ♀	高剂量 37.5 g/(kg·d)	2.37 ± 0.16 **	0.60 ± 0.02	0.50 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.51 ± 0.06
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	2.58 ± 0.19 *	0.58 ± 0.03	0.51 ± 0.04	0.31 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.56 ± 0.18
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	2.54 ± 0.16 *	0.64 ± 0.04 **	0.52 ± 0.04	0.32 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.12 ± 0.01 **	0.30 ± 0.06
	空白组 Control	2.82 ± 0.17	0.58 ± 0.03	0.51 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.52 ± 0.11

注:与空白组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01。

Note: Compared with blank control group, * P < 0.05, ** P < 0.01.

表6 热感赛比斯坦颗粒恢复期大鼠脏器系数数据分析($\bar{x} \pm SD, n=6$)

Table 6 Effects of Regansailbisitan particles on organ coefficient indexes after withdrawing medication for 15 days ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

性别 Sex	分组 Groups	肝脏 * 10 ⁻² Liver	肾脏 * 10 ⁻² Kidney	肺脏 * 10 ⁻² Lung	心脏 * 10 ⁻² Heart	脾脏 * 10 ⁻² Spleen	胸腺 * 10 ⁻² Thymus	睾丸 * 10 ⁻² Testis
雄鼠 ♂	高剂量 37.5 g/(kg·d)	2.30 ± 0.10	0.66 ± 0.05	0.50 ± 0.02	0.29 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.15 ± 0.03	1.26 ± 0.07
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	2.41 ± 0.27	0.69 ± 0.06	0.51 ± 0.03	0.30 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.16 ± 0.02	1.35 ± 0.09
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	2.39 ± 0.07	0.64 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.30 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.14 ± 0.02	1.36 ± 0.07
	空白组 Control	2.41 ± 0.12	0.68 ± 0.03	0.51 ± 0.03	0.29 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.14 ± 0.02	1.30 ± 0.11
雌鼠 ♀	高剂量 37.5 g/(kg·d)	2.45 ± 0.14 *	0.59 ± 0.03	0.54 ± 0.03	0.32 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.15 ± 0.03	0.53 ± 0.07
	中剂量 12.50 g/(kg·d)	2.35 ± 0.07 **	0.58 ± 0.01	0.56 ± 0.03	0.33 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.39 ± 0.02
	低剂量 3.75 g/(kg·d)	2.50 ± 0.21	0.61 ± 0.02	0.58 ± 0.04	0.32 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.18 ± 0.03	0.35 ± 0.05
	空白组 Control	2.67 ± 0.12	0.60 ± 0.03	0.56 ± 0.05	0.33 ± 0.01	0.21 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.44 ± 0.08

注:与空白组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01。

Note: Compared with blank control group, * P < 0.05, ** P < 0.01.

2.2.5 病理学检查

给药期及恢复期大鼠主要脏器心、肝、脾、肺、肾、胸腺、子宫、睾丸的肉眼和HE染色组织学检查,

给药组及对照组各脏器均未见因药物毒性引起的明显病理改变。

各组大鼠脏器(心、肝、脾、肺、肾、胸腺、睾丸、

子宫),作大体肉眼观察和病理组织学检查。各给药组大鼠与空白组比较,给药期:心脏:各动物心脏结构清晰,肌纤维未见变性坏死或断裂,心内外膜以及间质未见明显改变。肝脏:各组动物小叶结构清楚,细胞状态正常,未见变性及坏死。脾脏:各动物脾脏被膜完整,红白髓连结构清楚。肾脏:各组动物皮质髓质界限清楚,肾小球清晰可见,髓质及乳头部未见明显病变。肺泡:各组大部肺小叶结构清楚,肺泡大小形态正常,细小支气管粘膜完整清楚,少数均可见细小支气管周围或肺间质有炎性细胞浸润,血管充血。胸腺:各小叶结构清晰可见。睾丸:各阶段精细胞都同时存在,雄鼠中、低剂量组曲细精管内,次级精母细胞略有增加。子宫:细胞及腺体结构完整,形态清晰可见,未见炎症及坏死。恢复期各脏器检查结果与给药期无明显区别。

3 结论

对热感赛比斯坦颗粒浸膏液干燥粉碎,溶解后对大鼠灌胃给药,急性毒性试验测得小鼠最大耐受量为 299.70 g/kg,相当于 60 kg 体重的成人临床每日用量的 4995 倍,小鼠无死亡现象,各主要脏器肉眼可见病变。长期毒性试验中高剂量组为 37.50 g/(kg·d),中剂量组为 12.50 g/(kg·d),低剂量组为 3.75 g/(kg·d)。分别为临床成人拟用量的 625 倍、208 倍、63 倍。连续灌胃四周,大鼠的一般状况良好,体重增长正常;血液学检查、血液生化学检查及脏器系数检查,给药组与对照组之间个别指标有显著性差异,但无脏器水肿病变等原因所致脏器肿大,也无病理性改变及萎缩或退行性变化。可能因该药浸膏中糖分含量较高,有一定促进动物脏器及体重增长的作用,无毒性意义。主要脏器的病理组织学检查,未见因药物毒性引起的明显病理改变。以上结果表明,热感赛比斯坦颗粒按临床拟用的剂量、途径及疗程使用是安全的。

参考文献

- 1 China Pharmacopoeia Committee (国家药典委员会). Chinese Pharmacopoeia, Ver 2015 (中国药典 2015 版). Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2015. Vol I:80.
- 2 Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health. P R China. Part of Uighur Medicine (中华人民共和国卫生部药品标准. 维吾尔药分册), 1998. 177.
- 3 Wei HY (魏鸿雁), Dou Q (窦勤), Ma XL (马晓玲), et al. Chronic toxicity of *Alhagi pseudoalhagi* (MB) Desv. extract in rats. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26: 1829-1834.
- 4 Zhao JN (赵晋宁), Xie YM (谢雁鸣), Zhang WJ (张文军), et al. Acute toxicity test of total flavonoids from Rhizome of Drynariae. *Herald Med* (医药导报), 2005, 24(1): 12-14.
- 5 Huang JH (黄继汉), Huang XH (黄晓晖), Chen ZY (陈志扬), et al. The equivalent dose conversion between animals and between animals and human body in pharmacological test. *Chin J Clin Pharm Therap* (中国临床药理学与治疗学), 2004, 9: 1069-1072.
- 6 Chinese medicine, natural medicine acute toxicity of guiding principle subject study group. Traditional Chinese medicine, natural medicine acute toxicity of guiding principles: the second draft. Beijing: the State Food and Drug Administration (国家食品药品监管局), 2004: 1-9.
- 7 Huang FH (黄芳华), Wang QL (王庆利) Interpretation of guidance on single dose toxicity study for pharmaceuticals. *J Chin Med* (中国新药杂志), 2015, 24: 386-399.
- 8 Tong W (童文), Yang X (杨晓), Hu SQ (胡尚钦), et al. Toxicological safety evaluation of total flavones extract from white safflower variety. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 202-209.
- 9 Zhou ZC (周宗灿). The 3 Edition of the Toxicology Tutorial. Beijing: Peking University Medical Press (北京大学医学出版社), 2006. 387-388.
- 10 Research Group on the long-term toxicity of traditional Chinese medicine and natural medicine research group. The guiding principles of long term toxicity of traditional Chinese medicine and natural medicine M. Beijing: State Food and Drug Administration (国家食品药品监管局), 2005: 1-12.
- 11 Liu JX (刘建雄), Wu QH (吴清和), Fang XF (方燮帆), et al. Study on the toxicology of Shaxi herbal tea. *Chin Herbal Med* (中药材), 2006, 29: 1077-1079.
- 12 Zhao JG (赵建国), Liu LY (刘玲艳), Zhu YY (朱颖越), et al. Research on emergency toxicology of total saponin in Silktree Albizia Bark. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2010, 22: 582-586.