复方杠板归胶囊对雌性大鼠的长期毒性研究*

胡 颖[1]，何 静[2]，叶 兰[1**]，张 晴[1]，李诚秀[1]，黄能慧[1]
(1. 贵阳医学院 药理学教研室，贵州 贵阳 550004；2. 金宇药业有限公司，贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的**：观察复方杠板归胶囊对大鼠的长期毒性。**方法**：120 只 Wistar 雌性大鼠随机分为高、中、低剂量给药组及对照组，每组 30 只；给药组每日灌胃 1 次，每周给药 6 d，连续 27 周，对照组灌胃等容积蒸馏水；观察大鼠的一般状况、体重、摄食量、饮水量，检查给药 13、27 周及停药后 4 周时大鼠的血液学、血液生化学、凝血功能、脏器系数、解剖学及病理组织学改变。**结果**：复方杠板归胶囊各组动物一般状况良好，体重增长，脏器系数、血常规、血液生化指标、解剖学和主要脏器检查均正常。**结论**：复方杠板归胶囊在临床剂量范围内毒性小，使用安全。

[关键词] 杠板归；大鼠，Wistar；毒性试验，慢性
[中图分类号] R287.4 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2011)03-0292-04

A Study on Long-term Toxicity of Compound Smartweed Herb Capsule to Rats

HU Ying[1], HE Jing[2], YE Lan[1*], ZHANG Qing[1], LI Chengxiu[1], HUANG Nenghui[1]
(*1. Department of Pharmacology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Cuizhou, China;*
2. Guizhou Jinyu Pharmaceutical Company Ltd., Guiyang 550004, Cuizhou, China)

[**Abstract**] **Objective**: To study the long-term toxicity of compound smartweed herb capsule (FFGBG) to rats. **Methods**: One hundred and twenty female Wistar rats were randomly divided into four groups (30 in each group): high, moderate, low dosage groups (group H, M, L) and control group (group C). Experimental groups were orally given FFGBG, and group C was given distilled water instead. The experiment was carried out for 27 consecutive weeks. General conditions, body weight, food intake and water intake of rats were observed. Haematological and biochemistry parameters, coagulation function, organ coefficient, and histomorphological changes of rats were determined in 13 and 27 weeks of the experiment, and in 4 weeks after drug withdrawal. **Results**: All the indexes mentioned above were normal in groups H, M and L. **Conclusions**: The toxicity of FFGBG is low when it is used in its clinical range, and it is safe.

[**Key words**] *polygonum perfoliatum*; rats, Wistar; toxicity tests, chronic

复方杠板归胶囊(FFGBG)处方来源于贵州民间苗族经验方，由多味贵州地方特色药材经现代制药技术研制而成，具有清热解毒、活血化淤、渗湿散结、消炎止痛之功效，用于治疗多种妇科炎症。为观察 FFGBG 长期用药可能出现的慢性毒性反应，2009 年 9 月～2010 年 5 月，根据中药新药长期毒性实验方法和指导原则[1～6]，观察了雌性大鼠连续灌胃给药 27 周及停药后 4 周的毒性反应情况，为临床应用 FFGBG 的安全性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物、药物、主要仪器和试剂

1.1.1 实验动物 Wistar 大鼠 120 只(雌性)，100

* [基金项目]贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目[黔科合中药字(2010)5010 号]，贵阳医学院科研基金(K2007－93)。
** 通讯作者 E-mail：frogyl 266@163.com

~154 g(5~8 周龄),合格证号 SCXK(渝)2007-0006,由贵阳医学院实验动物中心提供。试验动物进入清洁实验室后分笼饲养,每笼 2 只,饲养 1 周,观察动物活动、进食、大小便均无异常后开始试验。动物室光照充足,通风和空调设备良好,室温 18~25 ℃,相对湿度 65%~75%,实验室按常规定期消毒。

1.1.2 FFGBG　内容物为棕褐色颗粒,每粒重 0.48 g(含生药 3.83 g),成人每日服用量为 5.76 g(相当于生药 45.96 g),成人以 70 kg 计,即成人日用量为 0.082 g/kg(生药 0.66 g/kg),批号 20090208,由贵州金宇药业有限公司提供。

1.1.3 仪器和试剂　希森美康 XT-1800i 全自动血液分析仪(日本),希森美康全自动凝血分析仪(日本),奥林巴斯 Au-60 全自动生化分析仪(日本),奥林巴斯显微镜(日本),METTLERAE240 型电子天平(日本)。生化检测试剂为日本奥林巴斯公司原装试剂,血液学指标分析试剂和凝血试剂均为日本希森美康公司原装产品。

1.2 动物分组及给药

取大鼠随机分为 4 组,每组 30 只。低、中、高 FFGBG 给药组剂量分别为 0.82、2.05、4.1 g/(kg·d)(相当于临床成人用量的 10、25 和 50 倍),对照组给予等容积蒸馏水。各组每日上午 8:00~9:00 时灌胃 1 次,灌胃容积为 10 ml/(kg·d),连续 27 周,每周给药 6 d。第 13 周末及 27 周末,每组各取 8 只及 15 只动物处死,进行检查,其余动物停药后继续饲养 4 周处死并观察。

1.3 观察指标

1.3.1 一般情况　记录各组动物存活期的外观体征和行为活动情况、精神状况、进食、大小便及口、鼻、眼和被毛等情况。每周观察 1 次体重、进食量和进水量,并按体重变化调整给药量。

1.3.2 血液学指标　给药 13 周、27 周及停药 4 周后处死动物取血,检测白细胞计数(WBC)、中性粒细胞百分率(NEUT%)、淋巴细胞百分率(LYMPH%)、单核细胞百分率(MONO%)、嗜酸性粒细胞百分率(EOS%)、嗜碱性粒细胞百分率(BASO%)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞容积(HCT)、红细胞平均体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白量(MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板计数(PLT)、网织红细胞计数(RETIC)。

1.3.3 凝血指标　凝血酶原时间(PT)、部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)。

1.3.4 血液生化学指标　钾离子浓度(K^+)、钠离子浓度(Na^+)、氯离子浓度(Cl^-)、血糖(GLU)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHOL)、尿素氮(BUN)、肌酐(CREA)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(AKP)、磷酸肌酸激酶(CK)、总胆红素(TBIL)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、白蛋白/球蛋白(A/G)。

1.3.5 肉眼尸检及脏器系数　每批动物处死后,进行肉眼尸检,并计算脑、心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胸腺、子宫、卵巢等脏器系数。

1.3.6 病理组织学检查　取高剂量组和对照组动物的心、主动脉、肺、气管、食管、脑(大脑、小脑及脑干)、垂体、肝、脾、胃、小肠和大肠、胰腺、胸腺、肾上腺、甲状腺、甲状旁腺、唾液腺、淋巴结、坐骨神经、脊髓(颈、胸、腰段)、骨髓、膀胱、乳腺、卵巢、肾、子宫等脏器,10% 甲醛固定,常规石蜡包埋切片,HE 染色,光镜下进行组织学检查。保存中、低剂量组的上述脏器组织备查。

1.4 统计学处理

实验数据均用 SPSS 13.0 软件进行方差分析、非参数检验及统计学处理。

2 结果

2.1 动物一般情况

在整个试验期内各组大鼠未发现动物的行为活动、饮食、呼吸、大小便和被毛色泽等情况有任何异常,未见呕吐、流涎、流泪、呼吸困难等症状,无动物死亡。各给药组动物给药后,生长发育良好,体重增长,进食量、进水量正常,与对照组比较差异无显著性($P>0.05$)。见图 1~图 3。

2.2 对大鼠血液学指标的影响

见表 1。在用药后 13 周,低剂量组雌性大鼠的 EOS(%)、MCV、MCH 较对照组增多,RBC、HGB、HCT 较对照组减少;中剂量组大鼠的 LYMPH(%)、MCHC、PT 较对照组减少;高剂量组大鼠 LYMPH(%)、RBC、MCHC 较对照组减少,EOS(%)、MCV、MCH 较对照组增多($P<0.01$ 或 $P<0.05$),但其变异均在正常范围内。给药后 27 周,高剂量组大鼠 EOS(%)较对照组增多($P<0.01$),但其变异在正常范围内。停药后 4 周见低剂量组大鼠的 WBC、RBC、HGB、HCT(%)较对照组减少;中剂量组大鼠 WBC 及 BASO(%)较对照

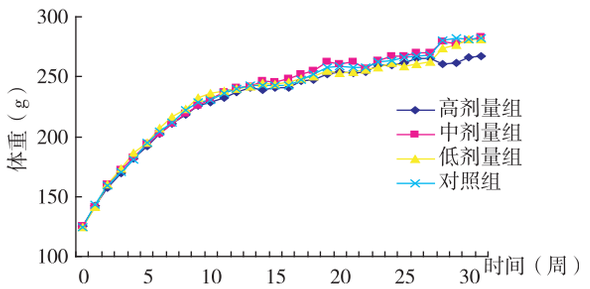


图 1 FFGBG 对大鼠体重的影响

Fig. 1 Curves of rat body weight changes during and after treatment of FFGBG

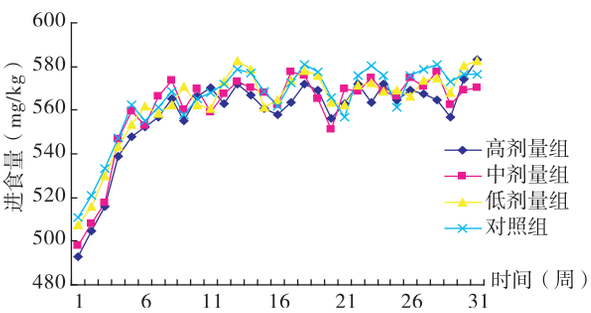


图 2 FFGBG 对大鼠进食量的影响

Fig. 2 Curves of rat food intake changes during and after treatment of FFGBG

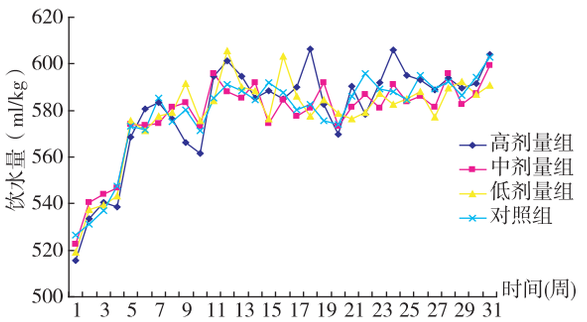


图 3 FFGBG 对大鼠饮水量的影响

Fig. 3 Curves of rat water intake changes during and after treatment of FFGBG

组减少；高剂量组大鼠 WBC 较对照组减少，MCHC、RETIC 较对照组增加（$P<0.01$ 或 $P<0.05$），但其变异均在正常范围内。其余的低、中、高剂量给药组大鼠在用药后 13 周、27 周及停药后 4 周的各项指标无异常改变（$P>0.05$）。

2.3 对大鼠凝血功能的影响

见表 1。用药后 13 周，中剂量组大鼠的 PT 较对照组缩短（$P<0.05$），但其变异在正常范围内。各给药组在各给药期及停药期其它凝血功能检测结果与对照组比较差异无显著性（$P>0.05$）。

表 1 FFGBG 对雌性大鼠血液学及凝血指标的影响

Tab. 1 Effects of FFGBG on haematology and coagulation parameters in female rats

时间	指标	对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药第 13 周末（$n=8$）	LYMPH(%)	78.70±4.85	71.93±8.72	62.74±17.64(1)	68.08±6.76(2)
	EOS(%)	2.85±2.03	7.83±4.24(2)	7.35±8.77	8.28±2.98(2)
	RBC(10^{12}/L)	8.68±0.50	7.62±0.47(2)	8.10±0.65	8.07±0.23(1)
	HGB(g/L)	158.50±7.56	146.88±7.99(2)	151.88±10.22	153.63±5.90
	HCT(%)	45.96±2.32	42.83±2.15(2)	44.98±2.97	45.58±1.60
	MCV(fL)	52.98±1.77	55.96±2.20(2)	55.61±2.99	56.48±1.91(2)
	MCH(pg)	18.28±0.51	19.19±0.55(2)	18.79±0.89	19.06±0.70(1)
	MCHC(g/L)	344.75±6.27	343.13±6.24	337.63±3.42(1)	337.13±5.57(1)
	PT(s)	9.41±0.81	9.01±0.54	8.56±0.16(1)	9.03±0.44
给药第 27 周末（$n=15$）	EOS(%)	2.31±1.30	3.32±2.83	3.11±3.04	4.31±3.01(1)
停药第 4 周末（$n=7$）	WBC(10^9/L)	10.92±2.39	7.52±2.15(1)	6.19±1.67(2)	6.78±0.64(2)
	BASO(%)	0.09±0.07	0.03±0.05	0.01±0.04(1)	0.04±0.08
	RBC(10^{12}/L)	8.05±0.47	7.36±0.28(2)	7.48±0.94	7.93±0.29
	HGB(g/L)	155.57±6.97	146.00±7.12(1)	143.43±18.93	151.43±6.65
	HCT(%)	43.23±1.76	40.67±2.13(1)	39.69±4.83	41.17±1.86
	MCHC(g/L)	359.86±3.29	359.00±5.51	360.86±10.88	367.71±5.71(2)
	RETIC(10^9/L)	169.47±14.80	121.95±86.27	189.90±57.50	208.70±24.88(2)

注：表中所列数据仅为有统计学意义的指标。与对照组比较，(1) $P<0.05$，(2) $P<0.01$。

2.4　对大鼠血液生化指标的影响

见表 2。用药后 13 周低剂量组大鼠 CREA 较对照组减少，中剂量组大鼠 ALT 较对照组减少，高剂量组大鼠 TG、CREA、ALT、AST 较对照组减少，TBIL 较对照组增加（$P<0.01$ 或 $P<0.05$），但其变异均在正常范围内。给药后 27 周，低剂量组大鼠 TG 较对照组减少，中剂量组大鼠 CREA 较对照组减少，低、中剂量组 TP、ALB、GLB 较对照组增加，高剂量组 TP、GLB 较对照组增加（$P<0.01$ 或 $P<0.05$），但其变异均在正常范围内。停药后 4 周低剂量组大鼠 CHOL 较对照组大鼠升高，中剂量组大鼠血液 Cl^- 较对照组升高，K^+、CREA、TBIL 较对照组减少，高剂量组大鼠 A/G 较对照组升高（$P<0.01$ 或 $P<0.05$），但其值在正常值范围内波动。其余各组动物在用药后 13 周、27 周及停药后 4 周的各项指标均无异常改变（$P>0.05$）。

表 2　FFGBG 对雌性大鼠血液生化指标的影响

Tab. 2　Effects of FFGBG on biochemistry parameters in female rats.

时间	项目	对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药第 13 周末后（$n=8$）	TG（mmol/L）	0.67 ± 0.12	0.67 ± 0.20	0.65 ± 0.15	0.52 ± 0.03$^{(2)}$
	CREA（μmol/L）	37.46 ± 6.33	30.89 ± 2.50$^{(1)}$	40.85 ± 28.76	30.38 ± 3.95$^{(1)}$
	ALT（U/L）	43.75 ± 5.65	41.13 ± 13.29	33.38 ± 8.86$^{(1)}$	31.75 ± 5.78$^{(2)}$
	AST（IU/L）	137.00 ± 32.18	137.75 ± 37.45	125.75 ± 23.27	94.00 ± 10.74$^{(2)}$
	TBIL（mmol/L）	1.96 ± 1.23	2.35 ± 0.94	2.51 ± 0.97	3.36 ± 0.49$^{(1)}$
给药第 27 周末（$n=15$）	TG（mmol/L）	0.34 ± 0.16	0.12 ± 0.04$^{(2)}$	0.26 ± 0.25	0.25 ± 0.18
	CREA（μmol/L）	33.73 ± 4.53	31.99 ± 3.87	30.19 ± 3.20$^{(1)}$	32.17 ± 4.04
	TP（g/L）	73.99 ± 6.03	83.09 ± 7.98$^{(2)}$	80.31 ± 4.84$^{(2)}$	79.65 ± 5.82$^{(1)}$
	ALB（g/L）	37.63 ± 4.25	43.47 ± 3.08$^{(2)}$	40.53 ± 3.06$^{(1)}$	40.16 ± 3.45
	GLB（g/L）	36.36 ± 3.22	41.42 ± 2.70$^{(2)}$	39.78 ± 2.56$^{(2)}$	39.49 ± 2.71$^{(2)}$
停药第 4 周末（$n=7$）	K（mmol/L）	6.17 ± 0.25	6.08 ± 0.44	5.83 ± 0.18$^{(1)}$	6.28 ± 0.30
	Cl（mmol/L）	106.79 ± 1.93	107.93 ± 1.54	110.74 ± 0.90$^{(2)}$	107.37 ± 2.12
	CHOL（mmol/L）	1.94 ± 0.58	2.74 ± 0.65$^{(1)}$	2.48 ± 0.51	2.22 ± 0.62
	CREA（umol/L）	34.74 ± 2.04	33.49 ± 2.43	32.03 ± 1.61$^{(1)}$	35.46 ± 3.51
	TBIL（mmol/L）	4.07 ± 0.59	3.69 ± 0.86	3.30 ± 0.29$^{(2)}$	3.91 ± 0.71
	A/G	0.79 ± 0.04	0.86 ± 0.08	0.83 ± 0.10	0.90 ± 0.05$^{(2)}$

注：表中所列数据仅为有统计学意义的指标。与对照组比较，$^{(1)}P<0.05$，$^{(2)}P<0.01$。

2.6　对大鼠脏器系数、解剖学和病理组织学的影响

各给药组脏器系数与对照组比较差异无显著性（$P>0.05$）。肉眼观察见各主要脏器表面光滑，无粘连，色泽正常，未见充血、肿胀、出血、坏死，胃肠无扩张，肠壁无水肿、出血、溃疡等异常现象。病理组织学检查各剂量组组织结构与对照组比较均无退变、坏死、炎症反应或异常增生变化，停药 4 周的各项检查也未见迟发性毒性反应。

3　讨论

FFGBG 的成人推荐用量为 0.082 g/（kg · d）（即生药 0.65 g/kg）。急性毒性试验表明，FFGBG 毒性较低，小鼠的最大给药量达 32.8 g/（kg · d），大鼠的最大给药量达 16.4 g/（kg · d），分别相当于成人用量的 400 倍和 200 倍，根据中药新药长期毒性试验技术指导原则，长期毒性的高剂量组应不低于推荐临床人用有效剂量的 50 倍，中剂量组不低于药效学的高剂量组，故长期毒性的高剂量组设计为 4.1 g/kg（相当于临床用量的 50 倍），中剂量为 2.05 g/kg（相当于临床用量的 25 倍），低剂量为 0.82 g/kg（相当于临床用量的 10 倍）。本实验以 3 个剂量连续给大鼠灌胃 26 周，进行长期毒性试验。研究结果表明，FFGBG 各剂量组动物生长状态良好，体重增长，饮水量、摄食量正常，血液学指标、血液生化和凝血指标变化均在正常值范围内，体内各主要脏器未见药物引起的病理学改变，恢复期各项指标正常，未见迟发性毒性反应。综合实验结果，提示 FFGBG 在临床剂量范围内毒性小，使用安全。

4　参考文献

[1] 国家食品药品监督管理局. 药物研究技术指导原则[S]. 北京：中国医药科技出版社，2005：95.

（下转第 297 页）

周血管扩张、心室的前负荷降低，三是心肌收缩力减弱。异丙酚心血管抑制反应在老年人和休克病人尤其显著。循环系统保持相对稳定有赖于机体神经、体液的综合调节，其中压力感受敏感性（baroreflex sensitivity BRS）作为一种负反馈调节起着十分重要的作用[7]。BRS 反映血压改变时压力感受反射系统对血流动力学的调节功能，反映心血管中枢稳定血压的能力。

颈动脉窦和主动脉弓压力感受器反射在心输出量、外周阻力和血量等发生突然变化的情况下，对动脉血压进行快速的调节，是动脉血压维持稳态的重要神经反射机制。当动脉血压突然升高时，反射性引起心迷走神经紧张加强，心交感神经紧张和交感神经缩血管紧张减弱，导致心率减慢，心输出量减少，外周血管阻力降低，使动脉血压下降。当动脉血压降低时，则反射性使动脉血压升高。因此，压力感觉性反射的活动水平直接影响动脉血压调节水平，重调后平均血压高低和动脉血压波动的幅度，对维持器官灌流量的稳定和防止血压过高具有重要意义。

本实验 BRS 检测结果表明，靶控输注异丙酚后 BRS 值低于基础值，差异有统计学差异（$P < 0.05$）。临床上靶控异丙酚后可使血压下降，心率不升高反而减慢，这可能与异丙酚抑制了压力感受器对低血压的反射能力有关。

临床上应用异丙酚对 BRS 的抑制作用，在某些情况下如对于心肌缺血、冠心病等病人来说不会因血压降低而代偿性的心率增快，不增加心肌耗氧量，对患者来说有一定的好处。但对于老年人、术中失血或休克时，因麻醉药物对 BRS 的抑制，颈动脉和主动脉压力感受性反射的调节作用减弱，可使血压进一步下降，对机体是不利的。

综上所述，临床常用靶控浓度的异丙酚会明显抑制 BRS，影响动脉血压自身调节，该试验结果为合理的使用异丙酚，最大限度的维持患者在围术期血流动力学的稳定提供了理论依据。

4　参考文献

[1] La－Rovere MT，Specchia G，Mortara A，et al. Baroreflex sensitivity，clinical correlates，and cardiovascular mortality among patients with a first myocardial infarction，a prospective study[J]. Circulation，1988(78)：816－824.

[2] Head GA. Spontaneous baroreflex sensitivity：toward an ideal index of cardiovascular risk[J]. J Hypertens，2002(20)：829－831.

[3] Rocchiccioli. Attenuation of the baroreceptor reflex by propofol anesthesia in the rat[J]. J Cardiovasc Pharmacol，1989(14)：631－635.

[4] Smyth HS. Reflex regulation of arterial pressure during sleep in man：aquantitative method of assessing baroreflex sensitivity[J]. Cir Res，1969(24)：109－121.

[5] 王荣宁，郭曲练，孙灿林. Narcotrend 和 BIS 用于老年人丙泊酚靶控输注麻醉深度的观察[J]. 实用临床医药杂志，2010(3)：34－35.

[6] 过伟，胡毅平，吴硕雄，等. 多沙普伦复合艾司洛尔对老年高血压患者全麻拔管期血液动力学的影响[J]. 实用临床医药杂志，2009(23)：22－24.

[7] Borars EJ，Murray A. Effect on baroreflex sensitivity measurement when different protocol are used to induce regular changes in beat－to－beat intervals and systolic pressure[J]. Physiol Meas，2004(25)：523－528.

（2011－05－20 收稿）

（上接第 295 页）

[2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京：人民卫生出版社，2006：110－111.

[3] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京：人民卫生出版社，2002：231－232.

[4] 国家食品药品监督管理局药品评审中心. 中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则[S]. 药品技术评审论坛，2004(4)：25.

[5] 袁伯俊，王治乔. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京：军事医学科学出版社，1997：11.

[6] 袁伯俊，顾长虹. 新药长期毒性实验的剂量设计[J]. 国外医学药学分册，1997(2)：102.

（2011－03－02 收稿，2011－03－28 修回）