

参元片的毒理学实验研究

杨庆, 李玉洁, 陈颖, 翁小刚, 朱晓新*
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:** 观察参元片的急性毒性和长期毒性, 评估参元片用药安全性。**方法:** 小鼠 24 h 内 1 次灌胃给药, 测定药物的半数致死量 (LD_{50})。连续观察 14 d, 记录动物外观、行为活动、精神状态、呼吸变化、中毒反应及死亡情况; 存活小鼠每天记录体重及饲料量。参元片 3 个剂量组分别为生药 6.48, 12.96, 32.40 $g \cdot kg^{-1}$, 灌胃给予大鼠, 连续给药 6 个月, 停药恢复 1 个月, 分阶段观察大鼠的一般行为、体重增长、食量消耗、血液学及血液生化学指征、尿常规检查、心电图、系统尸解及组织病理学检查。**结果:** 参元胶囊小鼠 LD_{50} 为生药 97.46 $g \cdot kg^{-1}$, 相当于临床成人日用剂量 (0.171 $g \cdot kg^{-1}$) 的 568 倍。长期毒性实验中, 与同期对照组比较, 参元片低、中、高 3 个剂量组动物行为活动、进食量、心电图等检查均未见异常; 血液学指标、血液生化指标和尿液指标及未发现与供试品有关的异常改变, 病理组织学检查发现参元片中剂量仅肝、肾系数高于对照组, 恢复期时与对照组比较无明显差异, 无迟缓毒性; 高剂量连续给药 6 个月, 肝、肾系数明显高于对照组, 并出现软便。**结论:** 参元片低剂量为安全剂量; 高剂量连续给药可能对肝、肾功能有一定的影响, 建议临床研究予以注意。

[关键词] 参元片; 急性毒性; 长期毒性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0276-07

Experimental Studies on the Toxic Effects of Shenyuan Tablet

YANG Qing, LI Yue-jie, CHEN Ying, WENG Xiao-gang, ZHU Xiao-xin*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the acute and chronic toxicity of Shenyuan tablet. **Method:** Shenyuan tablet was intragastrically administered a time to mice in range of one day. Determine the median lethal dose (LD_{50}). Animal appearance, behavior, mental status, respiratory changes and the number of animals poisoned and die in each group were noted daily for 14 consecutive days. The amount of weight and feed of survived mice were recorded every day. The chronic toxicity was performed in rats, the treatment groups (minimum, middle, maximum dose of Shenyuan tablet.) and control group were made. After continuously feeding rats orally for 6 months, we observed the rats behavior, weight gain, food consumption, blood test, biochemistry test, urine test, electrocardiogram, systematic autopsy and pharmacology test. The above physiological signs were inspected again 1 month after cease of feeding. **Result:** The oral acute toxicity study of Shenyuan tablet. In mice revealed that the maximum dose is 97.46 $g \cdot kg^{-1}$, which was 568 times the maximum recommended human dose in the clinic practice. No significant differences were observed in rat's behaviors, food intake, electrocardiogram and relative examination indexes among the 3 different dosage groups of Shenyuan tablet. Which compared with normal control group. There was no abnormal condition for the results of blood test, biochemistry test, urine test and pharmacology test for the rats. The liver and kidney weight and liver (kidney) /rat weight have significant increase in the group of Shenyuan tablet maximum dose. And the feces are soft. **Conclusion:** The minimum dosage of Shenyuan tablet. is relatively safe. The shenyuan table, especially at high doses, may lead to potential liver and kidney toxic risk,

[收稿日期] 20120803(003)

[基金项目] 国家科技部重大新药创制项目(2009ZX09103441-002)

[第一作者] 杨庆, 主管技师, 中药药理, Tel:010-64015008, E-mail: yangqing1213@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 朱晓新, 博士, 研究员, 中药药理, Tel:01064056154, E-mail: zhuxx59@yahoo.com.cn

so it should be paid attention in clinical studies.

[Key words] Shenyuan tablet; acute toxicity; chronic toxicity

冠心病是最常见的心血管病之一,严重危害着人民的健康和生命,中医药防治冠心病具有独特优势^[1]。参元片的临床疗效确切,有望开发为抗冠心病的中药新药^[2]。为确保参元片服用的安全性,现对其毒理学进行研究,以期为新药的临床研究提供安全依据。

1 材料

1.1 试剂与药品 参元片,0.38 g/片(人参皂苷 Rg₁ 含量不少于 0.4 mg,人参皂苷 Re 含量不少于 4 mg,人参皂苷 Rb₁ 含量不少于 10 mg,延胡索乙素含量不少于 0.08 mg),由中国中医科学院中药研究所提供,批号 20110822。

1.2 动物 SPF 级 Wistar 大鼠 180 只,雌雄各半,体重 70~90 g,动物许可证号 SCXK(京)2006-0009; ICR 小鼠 80 只,体重 18.0~20.0 g。雌雄各半,均由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号 SCXK(京)2006-0009。动物雌雄分笼饲养于中国中医科学院医学实验动物中心,实验设施许可证 SYXK(京)2005-0028。

1.3 仪器 Siemens ADVIA2120 型全自动血液分析仪(德国西门子医疗系统集团);TOSHIBA 40FR 型全自动生化分析仪(日本株式会社三广医疗);Precil C2000-4 型全自动血液分析仪(中国北京普利生公司),EasyLyte plus 型钾/钠/氯分析仪(美国 Medica 公司),Simens Clinitek Status Multistix 10G 型尿液分析仪(德国西门子医疗系统集团),Olympus BX51 型显微镜及图像分析系统(奥林巴斯中国有限公司),ECG-6851K 型心电图机(NIHON KOHDEN COPRAOPRATION Japan)。

1.4 试剂 凝血酶原时间(PT)测定试剂盒:中国上海太阳生物技术有限公司,批号 105160。活化部分凝血活酶时间(APTT)测定试剂盒(白陶土)(凝固法):中国上海太阳生物技术有限公司,批号 111035。总蛋白(TP),批号 GG1108AA01;白蛋白(ALB),批号 GG1103AA01;天冬氨酸转氨酶(AST),IFCC 法,批号 GG1101AA05;丙氨酸转氨酶(ALT),批号 110811AA10;碱性磷酸酶(ALP),批号 110817AA11;γ-谷氨酰转移酶(γ-GT),批号 GG1101AA03T;尿素氮(BUN),批号 SG1103AA04;肌酐(Cre),批号 SG1103AA03;血糖(Glu),批号 XT1101AA01T;总胆红素(Tbil),批号

GG1101BA03;胆固醇(Cho),批号 ZL1101AA02T;甘油三酯(TG),批号 ZL1101AA012;肌酸磷酸激酶(CK),批号 XJ1103AA11,以上试剂均由北京万泰德瑞诊断技术有限公司提供。血清中钠、钾、氯离子浓度,试剂盒均购自美国 Medica 公司,批号 11157/1。

2 方法

2.1 小鼠急性毒性试验^[3-6] 试验前动物禁食 16 h,自由饮水,按体重随机分为 6 组,对照组及参元片生药 64.86,81.68,102.10,127.21,159.02 g·kg⁻¹ 剂量组,每组 10 只,雌雄各半。给药体积 0.4 mL·10 g⁻¹ 体重,1 日 1 次灌胃,对照组给予同体积蒸馏水。给药后观察并记录动物外观、行为活动、精神状态、呼吸变化、中毒反应及死亡情况,连续观察 14 d。如有死亡动物则将动物进行尸解,观察脏器病理改变;实验结束后,将所有动物处死,肉眼观察脏器病理改变。

2.2 大鼠长期毒性试验^[7-10] 6~8 周龄大鼠,雌雄各 80 只,驯养 1 周后随机分为 4 组,每组 40 只。试验分为参元片 3 个剂量组,分别为生药 6.48,12.96,32.40 g·kg⁻¹,分别相当于成人临床日用剂量(生药 12 g·70 kg⁻¹·d⁻¹)的 18.9,37.8,189 倍。另设 1 组空白对照组。将供试品用蒸馏水配制成所需浓度,每天灌胃 1 次,每周给药 6 d,连续给药 6 个月,停药恢复 1 个月。于给药后 3 个月、给药后 6 个月,停药 1 个月对动物一般行为、体重增长、食量消耗、血液学、血液生化检查、尿常规检查、心电图、系统尸解及组织病理学进行检测。

2.3 统计学方法 在不同性别组别中,对饲料消耗量、体重、血液学、血液生化、脏器系数进行方差分析。采用 SPSS 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 小鼠急性试验 参元片在给药后出现死亡,测定参元片小鼠 LD₅₀ 为生药 97.46 g·kg⁻¹,相当于临床成人日用剂量(0.171 g·kg⁻¹)的 568 倍。主要症状为自发活动减少,大便稀便,个别动物出现眼睑闭合,肉眼观察动物脏器未见明显病理变化。

3.2 大鼠长期毒性试验

3.2.1 对大鼠一般状况的影响 参元片 3 个剂量组动物给药 6 个月停药恢复 1 个月内,动物未出现死亡,动物一般活动正常、行为活泼、毛发正常、腺体

分泌正常与同期对照组比较均未见明显差别。参元片高剂量雌雄动物均出现软便。

3.2.2 对大鼠进食量的影响 参元片低剂量组动物给药 6 个月停药恢复 1 个月内,雌雄动物进食量与对照组比较无明显差异。参元片中剂量组雌性动物在 12,22,24 周时进食量明显增加(与对照组比较 $P < 0.05$),雄性动物在 11,12,17,19~22,25~26 周时进食量明显增加(与对照组比较 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。参元片高剂量组雌性动物在 7,9~26 周时进食量明显增加(与对照组比较 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。雄性动物在 7,9~17,19~23,25 周时进食量明显增加(与对照组比较 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.2.3 对大鼠体重增长的影响 参元片低、中剂量

组对动物体重无明显影响。参元片高剂量组给药 2~15,17,18,19~26 周时,雌性大鼠体重明显高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。雄性大鼠体重与对照组比无明显差异。恢复期时对动物体重无明显影响。结果见表 1。

3.2.4 对大鼠血液学指标的影响 参元片低剂量在给药 3 个月时雄性动物 LYMPH 明显高于对照组($P < 0.05$),给药 6 个月时 PDW、EOS 明显低于对照组($P < 0.05$),PT 明显高于对照组($P < 0.01$),恢复期时 RET 明显高于对照组($P < 0.05$)。参元片中剂量在给药 3 个月时雄性动物 MONO 明显低于对照组($P < 0.01$),给药 6 个月时 LYM 低于对照组($P < 0.05$),恢复期时 RET 小于对照组。其他指标与

表 1 参元片连续给药 6 个月停药恢复 1 个月对雌性大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$)

时间	对照	参元片低剂量	参元片中剂量	参元片高剂量
给药 1 周	170.3 ± 9.1	162.2 ± 8.8 ²⁾	168.3 ± 10.9	172.7 ± 8.2
给药 2 周	195.4 ± 10.0	191.5 ± 13.9	198.2 ± 12.2	205.2 ± 14.6 ¹⁾
给药 3 周	215.3 ± 10.1	208.6 ± 16.9	215.7 ± 12.9	225.9 ± 16.1 ¹⁾
给药 4 周	230.5 ± 11.4	224.1 ± 17.7	235.4 ± 17.4	241.2 ± 16.0 ¹⁾
给药 5 周	243.1 ± 14.9	237.5 ± 19.8	248.5 ± 16.0	256.4 ± 15.5 ¹⁾
给药 6 周	255.6 ± 14.2	250.8 ± 20.8	263.1 ± 15.4	271.6 ± 18.0 ²⁾
给药 7 周	263.0 ± 15.6	258.4 ± 21.6	270.9 ± 14.2	282.0 ± 19.8 ²⁾
给药 8 周	270.7 ± 15.5	265.3 ± 24.2	278.8 ± 16.0	287.1 ± 20.7 ²⁾
给药 9 周	276.6 ± 14.7	275.6 ± 26.2	285.2 ± 16.2	293.2 ± 22.1 ²⁾
给药 10 周	281.1 ± 17.2	275.3 ± 25.1	289.5 ± 15.8	299.3 ± 21.6 ²⁾
给药 11 周	286.5 ± 16.3	283.1 ± 26.3	293.7 ± 17.8	304.8 ± 19.8 ²⁾
给药 12 周	291.5 ± 18.1	287.4 ± 26.7	304.8 ± 19.7	313.8 ± 22.9 ¹⁾
给药 13 周	294.5 ± 19.6	289.6 ± 29.2	305.0 ± 17.5	315.3 ± 22.0 ²⁾
给药 14 周	300.8 ± 18.1	296.5 ± 26.8	309.5 ± 17.6	321.4 ± 22.3 ¹⁾
给药 15 周	306.0 ± 21.5	302.7 ± 28.9	314.8 ± 17.0	327.1 ± 22.3 ¹⁾
给药 16 周	309.9 ± 18.1	304.4 ± 28.4	314.3 ± 15.7	323.1 ± 22.2
给药 17 周	316.8 ± 20.1	311.7 ± 26.5	323.0 ± 17.5	335.3 ± 25.5 ¹⁾
给药 18 周	318.4 ± 21.5	314.0 ± 27.1	324.4 ± 17.4	337.4 ± 25.2 ¹⁾
给药 19 周	323.8 ± 27.9	318.7 ± 30.4	331.2 ± 22.7	344.0 ± 30.4
给药 20 周	322.4 ± 26.0	318.5 ± 29.5	330.1 ± 19.6	344.5 ± 28.7 ¹⁾
给药 21 周	323.9 ± 28.8	320.8 ± 27.4	334.5 ± 19.0	351.6 ± 28.4 ²⁾
给药 22 周	326.1 ± 25.4	323.1 ± 28.2	341.6 ± 22.1	356.7 ± 28.0 ²⁾
给药 23 周	328.9 ± 27.4	324.2 ± 30.7	337.4 ± 19.6	356.7 ± 31.0 ²⁾
给药 24 周	331.4 ± 26.9	326.8 ± 31.0	340.5 ± 22.4	361.5 ± 31.5 ²⁾
给药 25 周	331.8 ± 26.8	326.0 ± 29.7	339.6 ± 23.5	362.8 ± 35.1 ²⁾
给药 26 周	337.2 ± 29.3	325.1 ± 29.8	341.6 ± 25.7	362.2 ± 34.0 ¹⁾
恢复 1 周	323.8 ± 22.1	333.7 ± 14.8	357.8 ± 20.1	353.5 ± 42.5
恢复 2 周	321.6 ± 19.8	336.0 ± 29.5	355.5 ± 25.5	353.7 ± 42.3
恢复 3 周	326.1 ± 20.6	344.5 ± 39.7	355.1 ± 28.9	356.3 ± 49.3
恢复 4 周	355.4 ± 34.7	349.5 ± 20.9	370.3 ± 37.8	383.5 ± 46.9

注:与同期对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,表 2~3 同。给药 0~13 周 40 只动物,给药 14~26 周 30 只动物,停药恢复 1 个月 10 只动物。

对照组无明显差异。在给药6个月停药恢复1个月时参元片低剂量各项指标与对照组比无明显差异。参元片高剂量在给药3个月时雄性动物PDW明显低于对照组,MPV、MONO明显高于对照组,6个月时雌性动物HCT、PLT、MONO、PT明显高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),在给药6个月时RET明显低于对照组($P < 0.05$),恢复期时RET明显低于对

照组($P < 0.01$)。在给药期间不同时间(药后3个月,6个月和恢复期),与同期对照组比较,部分指标(LYMPH,MONO,RET,EOS,PDW,MPV,HCT,PLT,PT,APTT,MCHC)虽然出现了统计学上的差别,但是改变均在正常参考值范围之内,并且这种改变也没有随给药时间延长给药剂量的增加而加重,故无明确毒理学意义。结果见表2。

表2 参元片连续给药6个月停药恢复1个月对雄性大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

检测指标	时间	对照组	参元片 6.48 g·kg ⁻¹	参元片 12.96 g·kg ⁻¹	参元片 32.40 g·kg ⁻¹
WBC/10 ⁹ /L	3个月	3.5 ± 1.4	4.9 ± 0.9	5.3 ± 1.2	5.3 ± 1.9
	6个月	3.8 ± 1.0	4.0 ± 1.7	4.1 ± 1.2	4.9 ± 1.3
	恢复期	4.0 ± 1.3	3.3 ± 0.4	3.5 ± 0.5	3.7 ± 1.6
RBC/10 ¹² /L	3个月	8.3 ± 0.7	8.2 ± 0.2	8.3 ± 0.4	8.7 ± 0.2
	6个月	8.9 ± 0.4	8.7 ± 0.3	8.7 ± 0.4	9.0 ± 0.3
	恢复期	8.3 ± 0.7	8.6 ± 0.4	8.5 ± 0.4	8.4 ± 0.4
HGB/g·dL ⁻¹	3个月	14.8 ± 1.0	15.0 ± 0.5	15.3 ± 0.8	15.6 ± 0.4
	6个月	15.5 ± 0.6	15.1 ± 0.4	15.1 ± 0.7	15.9 ± 0.4
	恢复期	14.3 ± 1.2	14.9 ± 0.7	14.7 ± 1.0	14.6 ± 0.7
HCT/%	3个月	42.2 ± 2.8	41.9 ± 1.8	42.6 ± 2.7	44.1 ± 1.8
	6个月	42.5 ± 1.8	41.2 ± 1.4	42.2 ± 1.9	44.1 ± 1.0 ¹⁾
	恢复期	40.3 ± 3.4	41.4 ± 2.2	41.5 ± 3.1	40.7 ± 1.9
MCV/fL	3个月	50.8 ± 2.1	51.3 ± 1.4	51.0 ± 1.3	50.5 ± 1.0
	6个月	48.0 ± 1.9	47.6 ± 1.5	48.4 ± 1.0	49.3 ± 1.6
	恢复期	17.8 ± 0.7	18.4 ± 0.5	18.4 ± 0.3	17.9 ± 0.2
MCH/pg	3个月	17.5 ± 0.7	17.4 ± 0.5	17.4 ± 0.4	17.8 ± 0.5
	6个月	17.2 ± 0.6	17.4 ± 0.6	17.4 ± 0.6	17.3 ± 0.6
	恢复期	35.1 ± 0.6	35.8 ± 0.7	36.1 ± 0.9	35.4 ± 0.6
MCHC/g·dL ⁻¹	3个月	36.3 ± 0.4	36.5 ± 0.8	35.9 ± 0.4	36.1 ± 0.5
	6个月	35.5 ± 0.3	35.9 ± 0.4	35.4 ± 0.4	35.8 ± 0.3
	恢复期	12.4 ± 0.7	12.2 ± 0.3	12.1 ± 0.4	12.6 ± 0.4
PLT/10 ⁹ /L	3个月	12.3 ± 0.5	12.2 ± 0.4	12.0 ± 0.3	11.9 ± 0.4
	6个月	12.5 ± 0.3	12.0 ± 0.2	12.0 ± 0.7	12.1 ± 0.5
	恢复期	2.5 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.4 ± 0.2	2.6 ± 0.2
RDW/fL	3个月	2.4 ± 0.2	2.5 ± 0.2	2.5 ± 0.1	2.5 ± 0.1
	6个月	2.5 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.4 ± 0.3	2.5 ± 0.1
	恢复期	1 042.8 ± 216.4	1 193.8 ± 124.3	1 226.0 ± 76.7	1 293.0 ± 36.3
PDW/fL	3个月	53.4 ± 1.2	52.1 ± 1.4	52.7 ± 0.6	44.5 ± 0.3 ²⁾
	6个月	48.1 ± 1.0	47.3 ± 1.3 ¹⁾	48.7 ± 1.6	49.3 ± 1.4 ¹⁾

续表 2

检测指标	时间	对照组	参元片 6.48 g·kg ⁻¹	参元片 12.96 g·kg ⁻¹	参元片 32.40 g·kg ⁻¹
MPV/fL	恢复期	45.8 ± 0.9	45.8 ± 1.2	46.2 ± 0.9	46.2 ± 1.1
	3 个月	6.2 ± 0.2	6.5 ± 0.1	6.3 ± 0.2	7.7 ± 0.2 ¹⁾
	6 个月	6.7 ± 0.2	7.0 ± 0.2	6.8 ± 0.3	6.6 ± 0.3
NEUT/%	恢复期	7.0 ± 0.6	6.9 ± 0.5	7.2 ± 0.3	7.2 ± 0.3
	3 个月	30.3 ± 11.1	18.3 ± 8.1	26.5 ± 9.1	27.3 ± 7.4
	6 个月	24.1 ± 6.5	29.0 ± 11.0	33.6 ± 10.0	30.2 ± 6.1
LYMPH/%	恢复期	28.6 ± 9.2	27.5 ± 7.9	31.7 ± 6.3	33.1 ± 9.4
	3 个月	64.2 ± 11.3	78.7 ± 8.3 ¹⁾	69.6 ± 9.5	67.6 ± 7.8
	6 个月	69.7 ± 7.5	66.4 ± 11.3	59.8 ± 11.0 ¹⁾	64.1 ± 6.2
MONO/%	恢复期	66.1 ± 8.8	67.1 ± 7.4	62.9 ± 6.0	61.8 ± 8.6
	3 个月	0.9 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.4 ± 0.2 ²⁾	2.0 ± 0.3 ²⁾
	6 个月	2.9 ± 0.9	2.0 ± 0.7	2.4 ± 0.8	2.4 ± 0.6
EO/%	恢复期	1.6 ± 0.4	2.0 ± 0.7	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.4
	3 个月	4.4 ± 2.2	1.8 ± 0.4	2.4 ± 0.9	2.7 ± 0.5
	6 个月	3.0 ± 0.7	2.1 ± 0.6 ¹⁾	3.7 ± 1.3	2.9 ± 0.8
PT/s	恢复期	3.3 ± 1.4	3.1 ± 0.7	3.5 ± 1.0	3.1 ± 1.2
	3 个月	13.2 ± 0.9	14.2 ± 0.3	14.2 ± 0.5	14.6 ± 0.4
	6 个月	13.9 ± 0.3	14.4 ± 0.5 ²⁾	13.8 ± 0.5	14.6 ± 0.5 ²⁾
APTT/s	恢复期	15.2 ± 0.5	13.8 ± 0.3	13.9 ± 0.4	15.4 ± 1.0
	3 个月	16.9 ± 3.1	16.5 ± 1.1	17.9 ± 2.0	16.2 ± 0.6
	6 个月	18.1 ± 1.4	18.6 ± 2.0	18.4 ± 1.4	19.4 ± 2.2
RET/%	恢复期	21.6 ± 0.6	20.4 ± 0.9	20.8 ± 0.7	19.4 ± 0.6
	3 个月	2.3 ± 0.2	2.1 ± 0.3	2.5 ± 0.3	2.5 ± 0.2
	6 个月	2.3 ± 0.3	2.4 ± 0.4	2.1 ± 0.4	2.0 ± 0.2 ¹⁾
	恢复期	2.9 ± 0.5	2.4 ± 0.2 ¹⁾	2.1 ± 0.2 ²⁾	1.9 ± 0.1 ²⁾

注:与同期对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3.2.5 对大鼠血液生化指标的影响 参元片低剂量在给药 3 个月时雌性动物 TG 明显低于对照组 ($P < 0.05$), 给药 6 个月时 CRE、BUN、CK 明显低于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 恢复期时 BUN、TBIL 明显高于对照组 ($P < 0.05$)。参元片中剂量在给药 3 个月时雄性动物 TG、Glu 明显低于对照组 ($P < 0.01$), 给药 6 个月时 AST、CRE、Tbil、CK 明显低于对照组 ($P < 0.05$), CHO、TP 明显高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。参元片高剂量在给药 3 个月时雌性动物 TP 明显高于对照组 ($P < 0.05$), ALT、AST、CRE、BUN、TG、CK 明显低于对照组, 恢复期时 CK 明显低于对照组 ($P < 0.01$)。在给药期间不同时间(药后 3 个月, 6 个月和恢复期), 与同期对照组比较, 部分指标虽然出现了统计学上的差别, 但是

改变均在正常参考值范围之内, 并且这种改变也没有随给药时间延长给药剂量的增加而加重, 故无明确毒理学意义。结果见表 3。

3.2.6 尿液检查 参元片低剂量连续给药 6 个月停药恢复 1 个月尿液指标尿比重、pH、尿量、饮水量与对照组比较无明显差异。尿中各项指标 GLU、BIL、KET、BLO、PRO、URO、NIT、WBC 与对照组比较无明显差异, 参元片中剂量、高剂量在给药 6 个月时尿量明显增加(与对照组比较 $P < 0.01$), 高剂量组在给药 6 个月时 pH 明显低于对照组 ($P < 0.05$)。其他各项指标与同期对照组比较无明显差异。

3.2.7 对大鼠心电图的影响 参元片低剂量连续给药 6 个月停药恢复期内未见异常心电图, HR 与对照组比较无显著差别。

表3 参元片连续给药6个月停药恢复1个月对雌性大鼠血液生化的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

检测指标	时间	对照组	参元片 6.48 g·kg ⁻¹	参元片 12.96 g·kg ⁻¹	参元片 32.40 g·kg ⁻¹
ALT/U·L ⁻¹	3个月	40.6 ± 5.4	73.2 ± 29.7 ²⁾	35.6 ± 8.8	36.2 ± 8.0
	6个月	44.1 ± 14.7	34.6 ± 5.8	30.4 ± 7.8	27.8 ± 3.8 ²⁾
	恢复期	32.2 ± 9.8	34.2 ± 9.5	37.0 ± 22.0	30.8 ± 9.1
AST/U·L ⁻¹	3个月	91.6 ± 16.6	141.6 ± 31.3 ²⁾	92.2 ± 18.1	80.6 ± 13.5
	6个月	81.9 ± 16.6	62.2 ± 4.5 ¹⁾	59.3 ± 4.8 ¹⁾	60.9 ± 7.2 ¹⁾
	恢复期	81.4 ± 9.3	81.2 ± 12.6	83.8 ± 24.2	73.6 ± 12.1
CRE/mmol·L ⁻¹	3个月	28.6 ± 4.7	27.4 ± 0.9	27.2 ± 2.9	28.4 ± 2.5
	6个月	36.8 ± 5.4	30.3 ± 4.8 ²⁾	32.7 ± 3.0 ¹⁾	27.9 ± 2.9 ²⁾
	恢复期	32.0 ± 4.2	31.8 ± 3.6	31.4 ± 28.2	28.2 ± 4.4
BUN/mmol·L ⁻¹	3个月	7.5 ± 0.6	6.9 ± 0.3	7.6 ± 0.8	8.3 ± 2.0
	6个月	8.8 ± 1.6	6.8 ± 0.8 ¹⁾	8.6 ± 1.7	5.6 ± 1.2 ¹⁾
	恢复期	5.5 ± 0.6	7.1 ± 1.2 ¹⁾	6.2 ± 0.6	5.1 ± 1.0
ALP/U·L ⁻¹	3个月	33.4 ± 19.7	33.4 ± 2.2	37.1 ± 4.6	34.7 ± 4.0
	6个月	31.8 ± 7.6	35.2 ± 9.4	36.9 ± 6.6	43.0 ± 11.0
	恢复期	22.9 ± 10.3	20.0 ± 4.6	25.4 ± 5.6	20.5 ± 12.6
GLU/mmol·L ⁻¹	3个月	9.4 ± 1.9	8.0 ± 1.9	6.6 ± 0.6 ²⁾	7.6 ± 1.1
	6个月	7.6 ± 0.7	6.8 ± 0.4	6.8 ± 0.5	6.2 ± 0.6
	恢复期	6.1 ± 0.9	5.4 ± 0.4	6.2 ± 0.5	5.7 ± 0.4
CHO/mmol·L ⁻¹	3个月	1.9 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.8 ± 0.4	2.1 ± 0.4
	6个月	2.1 ± 0.4	2.2 ± 0.4	2.5 ± 0.4 *	2.3 ± 0.5
	恢复期	4.2 ± 0.6	4.2 ± 0.3	4.6 ± 0.5	4.7 ± 1.5
TG/mmol·L ⁻¹	3个月	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.1 ¹⁾	0.5 ± 0.1 ¹⁾	0.5 ± 0.2
	6个月	0.8 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1 ¹⁾	0.6 ± 0.1 ²⁾
	恢复期	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.2
TP/g·L ⁻¹	3个月	55.0 ± 2.0	54.2 ± 2.8	56.7 ± 3.5	60.8 ± 2.5 ¹⁾
	6个月	59.5 ± 3.8	62.5 ± 2.3	65.2 ± 3.8 ²⁾	61.8 ± 2.9
	恢复期	54.4 ± 4.8	56.6 ± 2.2	54.4 ± 1.0	52.2 ± 5.4
ALB/g·L ⁻¹	3个月	35.3 ± 1.8	34.4 ± 2.9	35.3 ± 2.6	38.3 ± 2.2
	6个月	36.4 ± 2.6	39.0 ± 1.4	39.9 ± 2.3	37.3 ± 2.0
	恢复期	32.6 ± 3.6	33.2 ± 1.6	31.3 ± 0.7	30.1 ± 2.7
T-Bil/μmol·L ⁻¹	3个月	3.9 ± 1.6	2.7 ± 0.2	3.3 ± 0.8	4.0 ± 1.0
	6个月	5.9 ± 1.2	5.7 ± 1.4	4.4 ± 0.6 ¹⁾	5.1 ± 0.5
	恢复期	1.4 ± 0.9	2.8 ± 0.9 ¹⁾	1.7 ± 0.5	1.4 ± 1.3
CK/U·L ⁻¹	3个月	445.6 ± 98.3	528.4 ± 243.4	525.8 ± 284.2	371.8 ± 211.8
	6个月	116.4 ± 39.6	79.0 ± 25.7 ²⁾	67.4 ± 25.0 ²⁾	84.2 ± 28.1 ¹⁾
	恢复期	331.4 ± 120.9	289.6 ± 70.8	246.8 ± 70.9	202.4 ± 103.6 ¹⁾
γ-GT/U·L ⁻¹	3个月	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.3	0.9 ± 0.5
	6个月	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.3	0.8 ± 0.3
	恢复期	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.3
Na ⁺ /mmol·L ⁻¹	3个月	137.6 ± 2.3	137.3 ± 0.7	139.8 ± 1.9	138.7 ± 1.4
	6个月	142.6 ± 1.0	144.0 ± 1.9	142.6 ± 2.1	142.2 ± 1.6
	恢复期	136.5 ± 8.3	136.4 ± 4.8	137.3 ± 7.2	135.6 ± 7.2
K ⁺ /mmol·L ⁻¹	3个月	5.2 ± 1.1	5.0 ± 0.9	4.1 ± 0.7	4.9 ± 0.9
	6个月	5.1 ± 0.9	5.2 ± 0.5	4.8 ± 0.5	5.6 ± 0.5
	恢复期	4.4 ± 0.3	4.3 ± 0.4	4.3 ± 0.4	4.5 ± 0.7
Cl ⁻ /mmol·L ⁻¹	3个月	111.5 ± 0.8	111.5 ± 0.3	110.4 ± 1.1	113.0 ± 1.7
	6个月	108.2 ± 1.5	108.3 ± 1.4	107.1 ± 1.9	108.3 ± 0.9
	恢复期	100.5 ± 7.1	100.1 ± 4.4	101.0 ± 6.1	99.3 ± 5.3

注:与同期对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。动物总数:给药0~13周40只动物,给药14~26周30只动物,停药恢复1个月10只动物。

3.2.8 系统尸解 参元片低剂量组给药 6 个月停药恢复 1 个月时,各项脏器系数与对照组比较无显著差别。无迟缓毒性。参元片中剂量连续给药 6 个月停药恢复期内,给药 6 个月时动物肝(雌、雄)、肾(雌)、卵巢(雌)系数高于正常对照组($P < 0.05$),其它各项脏器系数与对照组比较无显著差别。参元片中剂量组给药 6 个月停药恢复 1 个月时,各项脏器系数与对照组比较无显著差别。无迟缓毒性。参元片高剂量连续给药 6 个月停药恢复期内,在给药 3 个月时,心系数(雄)高于对照组($P < 0.05$),给药 6 个月时肾上腺系数(雄)明显高于对照组($P < 0.05$)。给药 3 个月、6 个月时动物肝系数(雌、雄)、肾系数(雄)高于正常对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),恢复期时肾系数、心系数(雌)明显高于对照组($P < 0.05$)。其他各项脏器系数与对照组比较无显著差别。

3.2.9 病理学观察 长期给药观察大鼠心脏、肝脏、脾脏、肺及支气管、肾、大脑、小脑、膀胱、脊髓、坐骨神经、胸骨、脑垂体、颌下腺、胸腺、腹腔肠系膜淋巴结、甲状腺、腺、前胃及腺胃、卵巢和子宫(雌性)、睾丸及附睾(雄性)、前列腺结构。剖检观察及病理学镜检未见毒副作用引起的病理组织学改变。参元片对大鼠经口给药 3 个月、6 个月及停药 1 个月后,高剂量组动物的各脏器组织未见与受试药毒性有关的病变。

4 讨论

毒理学研究可为临床试验用药提供科学的依据,是新药的安全性评价的必要手段,有助于确保临床用药安全。参元片急性毒性实验结果表明,参元片小鼠 LD_{50} 为生药 $97.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,相当于临床成人日用剂量(生药 $0.171 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)的 90.24 倍。长期毒性实验中发现,参元片低剂量组在给药 6 个月停药恢复 1 个月内,动物未出现死亡,动物一般活动正常、行为活泼、毛发正常、腺体分泌,进食量及体重增长、血液学、血清生化、尿液指标、心电图、脏器系数及病理组织学检查与同期对照组比未见明显毒副作用。无明显的迟缓毒性。参元片中剂量组动物给药 6 个月停药恢复 1 个月内,血液学检测、血液生化检测、尿常规检查、心电图检查、动物行为活动正常,系统尸解及病理组织学检查各项指标与正常对照组比

无显著差别;给药 11 周后进食量明显增加,6 个月时动物肝(雌、雄)、肾(雌)、卵巢(雌)系数高于正常对照组,恢复期时各项脏器系数与对照组比较无显著差别,无迟缓毒性。参元片高剂量于给药后雌雄动物均出现软便。于第 7 周后动物进食量明显增加。雌性物给药 2 周后体重明显高于对照组。在给药 3 个月时,心系数(雄)高于对照组,给药 6 个月时肾上腺系数(雄)明显高于对照组。给药 3 个月、6 个月时动物肝系数(雌、雄)、肾系数(雄)高于正常对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),恢复期时肾系数、心系数(雌)明显高于对照组($P < 0.05$)。其他各项检测指标与同期对照组比较无明显差异。

本研究表明,参元片低剂量连续给药 6 个月,各项检测指标未显示有明显毒副作用,为安全剂量;参元片中剂量仅肝肾系数高于对照组,恢复期时与对照组比较无明显差异,无迟缓毒性;高剂量连续给药 6 个月肝、肾系数明显高于对照组,并出现软便,建议临床研究予以注意。

[参考文献]

- [1] 阳晶晶,严洁,常小荣,等.中医药防治冠心病[J].中国急症杂志,2005,5(21):759.
- [2] 刘玉梅,章军,匙峰,等.参元片的提取工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(10):18.
- [3] 国家食品药品监督管理局.中药、天然药长期毒性研究技术指导原则[S].2005:3.
- [4] 国家食品药品监督管理局.药品注册管理办法[S].2007.
- [5] 国家食品药品监督管理局.药物非临床研究质量管理规范[S].2003.
- [6] 国家食品药品监督管理局.中药、天然药急性毒性研究技术指导原则[S].2005.
- [7] 中华人民共和国卫生部药政管理局.中药新药研究指南[S].1993.
- [8] 徐叔云,卞如濂,陈修,等.药理实验方法学(第3版),北京:人民卫生出版社[M].2002:226.
- [9] 中华人民共和国卫生部药政管理局,新药(西药)临床前研究指导原则[S].1993.
- [10] 陈奇.中药药理研究方法学,北京:人民卫生出版社[M].1993:112.

[责任编辑 李玉洁]