

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.03.13

板芪口服液急性毒性及长期毒性试验研究

杨慧, 孙耀贵, 孙娜, 尹伟, 范阔海, 李宏全*

(山西农业大学动物科技学院, 山西太谷 030801)

[收稿日期] 2018-10-08 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 03-0079-07 [中图分类号] S853.7

[摘要] 探讨新兽药板芪口服液的急性毒性与长期毒性, 评价其安全性。小鼠灌服板芪口服液进行急性毒性预试验, 未获得动物的半数致死量, 遂以最大给药剂量(270 g 生药 · kg⁻¹ 体重) 进行急性毒性试验。将 80 只大鼠随机分为板芪口服液低、中、高剂量组和空白对照组, 每组 20 只, 雌雄各半, 进行长期毒性试验。分别以 10 g 生药 · kg⁻¹ 体重(猪临床推荐剂量的 20 倍)、20 g 生药 · kg⁻¹ 体重(猪临床推荐剂量的 40 倍)、40 g 生药 · kg⁻¹ 体重(猪临床推荐剂量的 80 倍) 给大鼠灌服, 对照组灌服等体积蒸馏水, 给药容积为 1 mL · 100 g⁻¹ 体重, 每天 1 次, 连续给药 30 d, 期间观察大鼠外观体征及行为活动。停止给药 24 h 和 15 d 后进行剖检、血液生化检查和病理组织切片观察。结果显示, 板芪口服液急性毒性试验评价为无毒, 长期毒性试验中各剂量组大鼠的观察指标和测定指标与空白对照组相比均无显著差异, 表明板芪口服液安全无毒, 可用于临床试验。

[关键词] 板芪口服液; 急性毒性; 长期毒性

Acute Toxicity and Chronic Toxicity Study of Banqi Oral Liquid

YANG Hui, SUN Yao-gui, SUN Na, YIN Wei, FAN Kuo-hai, LI Hong-quan*

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Shanxi Taigu 030801, China)

Corresponding author: Li Hong-quan, E-mail: livets@163.com

Abstract: To investigate the acute and chronic toxicity as well as to evaluate the safety level of Banqi (oral liquid). For acute pre toxicity test, performed at the maximum dose (270 g/kg) of Banqi were drench to the mice. For chronic toxicity, based and compared to the dose of Banqi (oral liquid) used in pigs, we randomly and equally divided 80 rats into 4 groups into 4 groups (half male and half female), the low-dose (20 times of pig dose i.e. 10 g/kg), medium-dose (40 times i.e. 20 g/kg), high-dose (80 times dose i.e. 40 g/kg) and the control group (equal volume of water). 1 mL · 100 g⁻¹ body weight of Banqi was drenched once a day for 30 days. The clinical signs and behavioral activities of the rats were observed during this period. At 24 h and at 15 d of Banqi oral liquid cessation, body weight, hematology, blood biochemistry and histopathology were performed. The

基金项目: 中兽医现代化与绿色养殖技术研究(2017YFD0501500); “新型中兽药与兽用生物制品创制与示范”专项; 山西省重点研发计划(201603D21109)

作者简介: 杨慧, 硕士生, 从事中药调节动物免疫功能及其分子机制。

通讯作者: 李宏全。E-mail: livets@163.com

Acute toxicity test showed that Banqi (oral liquid) is a non-toxic drug and also has no adverse effects on each dose group in the chronic toxicity test compared with the control. It is indicated that Banqi oral liquid is safe and non-toxic and can be used in clinical trials.

Key words: Banqi oral liquid; acute toxicity; chronic toxicity

病毒性心肌炎是由多种病毒感染引起的,以心肌细胞变性、坏死、间质炎性细胞浸润和纤维渗出为主要改变的心肌疾病。临床上猪瘟、猪脑心肌炎病毒、猪丹毒、猪肺疫、炭疽、口蹄疫等多种病毒与细菌感染仔猪造成了大量死亡,给养殖业带来了巨大的经济损失。现代医学使用抗病毒抑制剂、免疫抑制剂、免疫调节剂来治疗病毒性心肌炎,仅能控制病毒复制、改善血液动力学,并不能全方位的治疗疾病^[1]。中药复方不仅具有价格低廉、不易产生耐药性的特点,还可以从根本和整体上调理机体。

实验室根据临床经验研发的板芪口服液是将板蓝根、丹参、黄芪、黄芩等药材合理配伍而成。单味药材具有凉血消痈、益气养阴、清热解毒、调节免疫等功效,针对病毒性心肌炎也具有良好的治疗效果。其中板蓝根具有良好的抗炎、镇痛及抗病毒的作用^[2];丹参具有凉血消痈之功效,可用于胸痹心痛,其主要成分丹参酮 II A 具有很好抗病毒作用,并可修复心肌损伤^[3];黄芪具有抗病毒及调节免疫的作用^[4],可以改善急性病毒性心肌炎心肌结构的损伤、抗心律失常和保护心肌^[5-6];黄芩具有抗病毒、抗炎和调节免疫损伤的功效^[7]。研究将诸药合理配伍以期对治疗病毒性心肌炎能达到更好的效果。

研究旨在探讨板芪口服液对小鼠急性毒性试验的安全性,对大鼠长期毒性试验中大鼠周增重、血液生化及组织病理学的影响,以及长期毒性试验 2 周恢复期是否具有毒性可逆反应和迟发性反应,为临床提供毒理方面的参考依据。

1 材料与方法

1.1 受试药物 板芪口服液由山西奥信动物药业有限责任公司试生产。规格为 1 g 生药·mL⁻¹,生产批号:20171123。板芪口服液由黄芪、板蓝根、丹参、黄芩等药材分二次煎煮,合并煎煮液滤过,浓缩

至工艺要求密度后滤过灌封。

1.2 实验动物及饲养条件 SD 大鼠,80 只,SPF 级,雌雄各半,体重 60~90 g,昆明系小鼠 60 只,SPF 级,雌雄各半,体重 18~20 g,由北京市海淀兴旺动物养殖场提供,生产许可证号:SCXK(京)2014-0013。每日自由饮水进食,饲养条件良好,符合动物伦理委员会的管理准则。

1.3 实验仪器 全自动血液分析仪(海力孚 HF-3800);AU-400 全自动生化分析仪(海力孚 HF-8004);石蜡包埋机(KD-BM 型,浙江金华益迪医疗设备厂);全自动轮转切片机(RM2265 型,德国徕卡);摊片机(德国徕卡)。

1.4 主要试剂 苏木素染色液、伊红染色液、中性树胶、苦味酸均购自 Solarbio 公司。谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、血糖(GLU)、白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TCH)试剂盒购自长春汇力生物技术有限公。肌酐(CREA)、甘油三酯(TG)购于南京建成生物工程研究所。

1.5 板芪口服液对小鼠急性毒性试验 预试验将板芪口服液煎至最大药物浓度。30 只小鼠,雌雄各半,随机分 3 组,以最大给药容积 24 h 内分 3 次给药,饲养观察一周,小鼠健康活泼,无一死亡。

因无法获得半数致死量,正式试验取健康小鼠 30 只,雌雄各半,称重,以最大给药剂量 270 g 生药·kg⁻¹灌胃。连续观察 7 d,并称量记录;如有死亡立即剖检观察;14 d 后处死,尸检肉眼观察内脏器官有无异常改变。

1.6 板芪口服液对大鼠长期毒性试验 将 80 只大鼠随机分为板芪口服液低、中、高剂量组和空白对照组,每组 20 只,雌雄各半。板芪口服液三个剂量分别为 10、20、40 g 生药/kg 体重,分别相当于猪临床推荐量的 20、40、80 倍,对照组灌服等体积蒸馏

水,给药容积为 $1 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ 体重,连续给药 30 天。每周称重一次,按新的体重调整给药量。停药后 24 h 每组取 14 只大鼠,雌雄各半,进行血液学、血液生化指标检测,并进行系统尸检及主要脏器病理组织学检查。各组剩余大鼠停药后继续观察 2 周,同法进行上述指标的测定和检查。在整个试验阶段每天观察大鼠精神状态、行为、活动、毛色、二便等一般体征。

1.7 长期毒性试验主要脏器解剖及组织学观察 分别于末次给药后 24 h 和停药后第 15 d,对试验大鼠进行系统解剖,肉眼观察看有无异常变化。并制作心、肝、脾、肺、肾、睾丸、卵巢、甲状腺、淋巴结、肾上腺、胸腺、十二指肠、空肠、回肠、结肠、直肠的组织切片,进行病理组织学检查,看有无异常变化。

1.8 统计方法 统计方法采用 SPSS 统计软件进行分析,计量资料用均数 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 板芪口服液对小鼠急性毒性试验 小鼠给药后,连续观察 7 d,全部存活,行为及活动正常,未见

不良反应。体重增长(表 1)。

表 1 板芪口服液对小鼠体重的影响

Tab 1 Effect of Banqi (Oral liquid) on the body weight of mice

性别	只数	初始体重/g	终体重/g
雄	15	22.70 \pm 1.27	28.03 \pm 3.21
雌	15	23.31 \pm 0.89	31.32 \pm 2.46

给药观察 14 d 内,无动物死亡。剖检,肉眼观察无病理变化。小鼠最大给药剂量为 $270 \text{ g 生药} \cdot \text{kg}^{-1}$,相当于猪临床推荐剂量($0.5 \text{ g 生药} \cdot \text{kg}^{-1}$)的 540 倍,说明板芪口服液安全评价为无毒。

2.2 板芪口服液对大鼠长期毒性试验 由表 2、3 可知,各给药组雌性和雄性大鼠平均周增重与对照组相比均无显著性差异($P > 0.05$)。末次给药后 24 h 及停药后 15 d,各给药组大鼠的血液学指标和血液生化指标与空白对照组相比无显著性差异,结果见表 4、表 5。

表 2 板芪口服液对雌性大鼠平均周增重的影响

Tab 2 Effect of Banqi oral liquid on the average weight gain of female rats

时间	只数	空白对照组/g	低剂量组/g	中剂量组/g	高剂量组/g
第 1 周	10	10.1 \pm 2.94 ^a	11.68 \pm 2.60 ^a	11.68 \pm 2.61 ^a	11.13 \pm 2.74 ^a
第 2 周	10	12.36 \pm 4.81 ^a	8.49 \pm 5.44 ^a	11.46 \pm 4.82 ^a	11.45 \pm 3.25 ^a
第 3 周	10	9.76 \pm 3.40 ^a	8.35 \pm 4.76 ^a	12.00 \pm 3.26 ^a	7.87 \pm 3.22 ^a
第 4 周	10	19.80 \pm 4.09 ^a	16.01 \pm 5.17 ^a	19.98 \pm 5.24 ^a	16.96 \pm 3.95 ^a
停药 1 周	3	17.16 \pm 2.02 ^a	21.25 \pm 5.74 ^a	19.52 \pm 5.12 ^a	19.80 \pm 6.34 ^a
停药 2 周	3	14.61 \pm 4.35 ^a	14.56 \pm 4.03 ^a	10.05 \pm 3.92 ^a	11.14 \pm 1.50 ^a

同行数据进行方差分析,左上角字母相同表示差异性不显著($P > 0.05$),不同字母表示差异显著($P < 0.05$),下同

表 3 板芪口服液对雄性大鼠平均周增重的影响

Tab 3 Effect of Banqi oral liquid on the average weight gain of male rats

时间	只数	空白对照组/g	低剂量组/g	中剂量组/g	高剂量组/g
第 1 周	10	22.76 \pm 8.48 ^a	18.90 \pm 9.40 ^a	19.37 \pm 9.34 ^a	21.86 \pm 9.02 ^a
第 2 周	10	12.67 \pm 8.26 ^a	17.92 \pm 7.30 ^a	17.79 \pm 8.79 ^a	13.40 \pm 4.89 ^a
第 3 周	10	15.54 \pm 3.10 ^a	14.80 \pm 4.41 ^a	15.28 \pm 5.02 ^a	12.47 \pm 3.82 ^a
第 4 周	10	17.54 \pm 8.52 ^a	21.45 \pm 10.11 ^a	20.32 \pm 5.79 ^a	22.20 \pm 6.56 ^a
停药 1 周	3	24.89 \pm 9.71 ^a	27.62 \pm 6.21 ^a	24.51 \pm 9.44 ^a	23.91 \pm 6.53 ^a
停药 2 周	3	17.74 \pm 4.28 ^a	14.64 \pm 6.22 ^a	13.84 \pm 4.63 ^a	13.20 \pm 4.26 ^a

表 4 板芪口服液对大鼠血液学指标的影响

Tab 4 Effects of Banqi oral liquid on hematological indexes in rats

指标	时间	只数	对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
血红蛋白(HGB) ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	105.32±13.67 ^a	99.57±6.66 ^a	101.09±4.75 ^a	99.29±9.36 ^a
	停药后 15 d	6	101.68±12.58 ^a	100.88±6.00 ^a	101.35±3.10 ^a	97.25±7.61 ^a
红细胞计数(RBC) ($\times 10^{12} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	7.56±0.90 ^a	7.38±0.32 ^a	7.04±1.08 ^a	7.14±1.38 ^a
	停药后 15 d	6	7.80±0.37 ^a	7.47±0.40 ^a	7.44±0.39 ^a	7.67±0.48 ^a
白细胞计数(WBC) ($\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	7.00±2.47 ^a	6.00±0.54 ^a	6.13±2.10 ^a	5.67±1.75 ^a
	停药后 15 d	6	7.25±1.36 ^a	6.95±0.10 ^a	7.18±0.98 ^a	6.30±0.99 ^a
嗜中性粒细胞 (NEU) (%)	停药后 1 d	14	9.92±1.66 ^a	10.07±0.94	10.64±1.41 ^a	10.54±1.32 ^a
	停药后 15 d	6	9.58±0.80 ^a	9.83±1.21 ^a	10.13±1.48 ^a	10.62±1.03 ^a
嗜酸性粒细胞 (EO) (%)	停药后 1 d	14	1.10±0.11 ^a	1.11±0.07 ^a	1.19±0.18 ^a	1.12±0.13 ^a
	停药后 15 d	6	1.08±0.11 ^a	1.24±0.18 ^a	1.13±0.11 ^a	1.10±0.16 ^a
嗜碱性粒细胞 (BASO) (%)	停药后 1 d	14	0.29±0.04 ^a	0.30±0.03 ^a	0.28±0.04 ^a	0.29±0.04 ^a
	停药后 15 d	6	0.27±0.06 ^a	0.31±0.01 ^a	0.31±0.02 ^a	0.29±0.05 ^a
淋巴细胞计数 (LYM) (%)	停药后 1 d	14	62.84±7.57 ^a	63.74±5.15 ^a	64.42±2.29 ^a	60.41±6.94 ^a
	停药后 15 d	6	63.52±3.90 ^a	65.12±3.67 ^a	63.62±3.22 ^a	61.52±2.53 ^a
单核细胞计数 (MONO) (%)	停药后 1 d	14	5.18±1.72 ^a	5.10±1.37 ^a	4.73±0.58 ^a	4.40±1.60 ^a
	停药后 15 d	6	4.62±0.77 ^a	4.72±0.72 ^a	5.05±0.11 ^a	5.17±1.59 ^a

表 5 板芪口服液对大鼠血液生化指标的影响

Tab 5 Effect of Banqi oral liquid on blood biochemical indexes in rats

指标	时间	只数	对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
谷丙转氨酶(ALT) ($\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	51.05±5.49 ^a	53.12±11.11 ^a	53.95±6.95 ^a	53.06±7.42 ^a
	停药后 15 d	6	63.17±8.86 ^a	54.80±10.85 ^a	57.13±11.50 ^a	66.77±8.94 ^a
谷草转氨酶(AST) ($\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	160.56±15.42 ^a	154.38±11.27 ^a	166.63±24.31 ^a	162.11±21.81 ^a
	停药后 15 d	6	141.82±12.16 ^a	136.45±21.58 ^a	130.15±18.29 ^a	120.28±17.03 ^a
尿素氮(BUN) ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	4.92±1.28 ^a	4.66±0.92 ^a	4.74±1.14 ^a	5.24±1.32 ^a
	停药后 15 d	6	8.22±0.93 ^a	6.64±1.17 ^a	6.60±0.87 ^a	7.23±2.42 ^a
肌酐(CREA) ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	51.49±5.12 ^a	47.62±6.70 ^a	47.77±12.51 ^a	52.55±9.25 ^a
	停药后 15 d	6	42.70±6.97 ^a	36.00±4.68 ^a	38.72±4.84 ^a	40.43±12.65 ^a
血糖(GLU) ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	3.84±1.40 ^a	3.72±1.43 ^a	3.05±0.97 ^a	3.09±0.99 ^a
	停药后 15 d	6	4.90±0.78 ^a	5.77±0.49 ^a	6.10±1.05 ^a	6.42±1.51 ^a
白蛋白(ALB) ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	19.88±2.39 ^a	19.82±1.94 ^a	20.72±1.53 ^a	19.89±1.89 ^a
	停药后 15 d	6	20.88±1.69 ^a	20.68±1.34 ^a	21.02±1.36 ^a	20.74±2.00 ^a
总蛋白(TP) ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	61.14±2.96 ^a	62.29±5.11 ^a	63.17±6.71 ^a	64.50±5.71 ^a
	停药后 15 d	6	56.98±2.10 ^a	54.92±4.03 ^a	60.17±4.21 ^a	58.50±6.35 ^a
总胆固醇 (TCH) ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	3.03±0.21 ^a	2.87±0.28 ^a	2.99±0.32 ^a	3.01±0.35 ^a
	停药后 15 d	6	3.07±0.45 ^a	2.90±0.65 ^a	2.63±0.36 ^a	2.67±0.28 ^a
甘油三酯(TG) ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	停药后 1 d	14	0.92±0.49 ^a	0.87±0.48 ^a	1.09±0.38 ^a	0.84±0.32 ^a
	停药后 15 d	6	0.69±0.23 ^a	0.81±0.16 ^a	0.73±0.29 ^a	0.82±0.25 ^a

2.3 脏器病理解剖及组织学检查 末次给药后 24 h 及停药后 15 d, 对板芪口服液高剂量组大鼠进行系统尸检及 HE 染色, 并与空白对照组进行比较。由图 1 可见 (1) 心肌纤维平行排列, 胞浆染色均匀, 胞核清晰呈椭圆形。(2) 肝小叶结构清晰, 以中央静脉为中心, 肝细胞索和肝血窦向周围呈放射状排列, 胞浆丰富。(3) 脾脏中白髓动脉周围淋巴鞘和脾小体边界清楚, 红髓中脾血窦和脾索结构清晰。(4) 肺泡组织形态、结构清晰, 肺泡无塌陷及破裂, 肺泡充盈适度, 肺泡囊管壁结构完整。(5) 肾脏中肾小体结构完整, 肾小球位于小体中央且结构完整。

由图 2 可见, (1) 睾丸曲精细管排列整齐, 管腔中无脱落的细胞, 支持细胞正常。(2) 卵巢内可见卵巢上皮细胞和卵泡细胞, 细胞形态规则。(3) 甲状腺滤泡结构清晰, 以扁平细胞为主, 滤泡间结缔组织少, 血管丰富。(4) 淋巴结皮质内淋巴小结轮廓清晰, 生发中心明显, 副皮质较宽。(5) 肾上腺皮质与髓质分界明显。皮质部球状带、束状带、网状带的细胞结构正常。(6) 胸腺皮髓界限清楚, 小叶明显, 皮质部成熟的淋巴细胞较多, 髓质部可见明显的胸腺小体。由图 3 可见, 十二指肠、空肠、回肠、结肠、直肠肠绒毛上皮完整, 固有层无损伤, 黏膜下层、肌层未见病变。

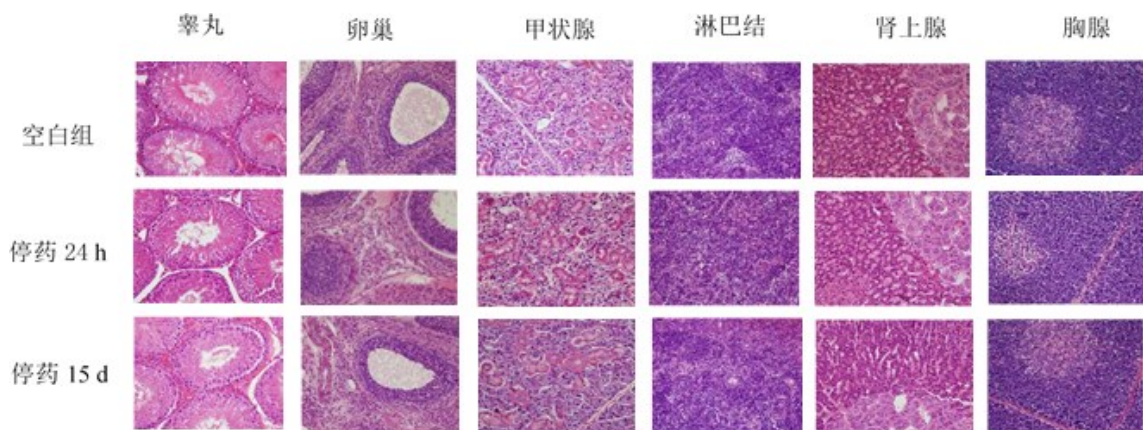


图 1 大鼠主要脏器组织切片 (HE×400)

Fig 1 The main organs of rats histopathology (HE×400)

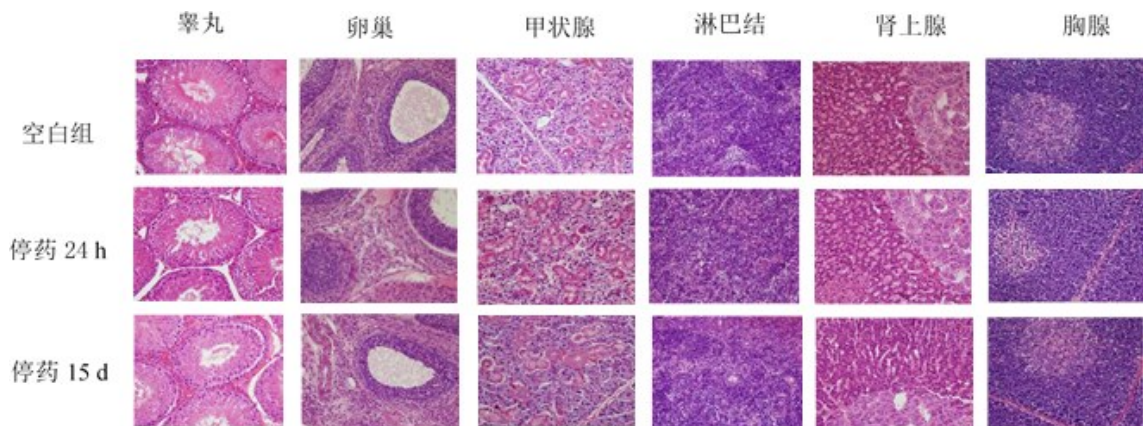


图 2 大鼠脏器组织病理学 (HE×400)

Fig 2 The organs of rats histopathology (HE×400)

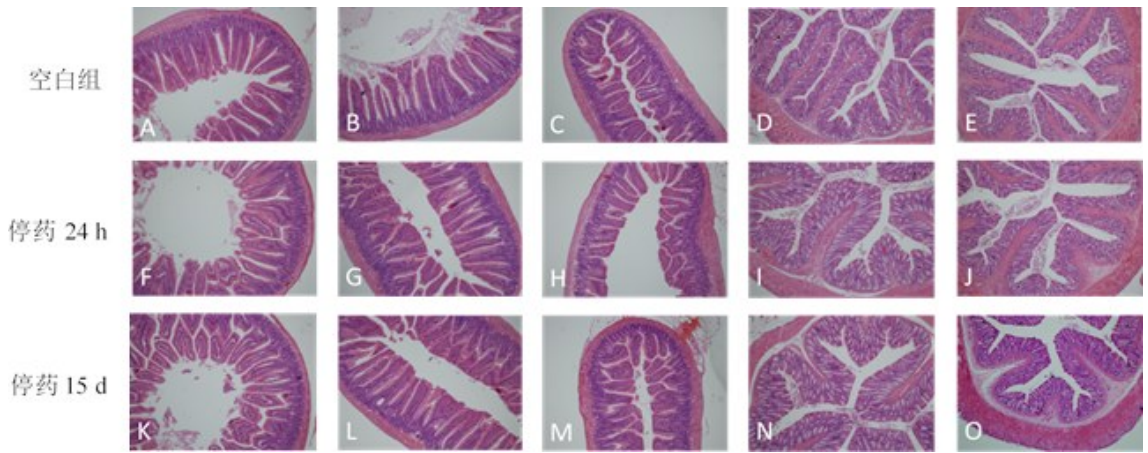


图 3 大鼠肠道组织切片 (HE×100)

Fig 3 Intestinal histopathology in rats (HE×100)

3 讨论与结论

试验根据兽药研究技术指导原则^[8]探究板芪口服液的安全性。初步预试验中将板芪口服液浓缩至最大浓度 6 g/mL, 此时药物无沉淀且恰好能通过 12 号灌胃针。小鼠 24 h 内经口多次给药达最大容积, 一般 0.8~1 mL, 观察小鼠一周, 除第 1 天小鼠灌胃后出现短暂不适, 活动减少以外, 未见动物中毒与死亡。因受小鼠给药容积与药物浓度的限制, 无法测定 LD₅₀, 因此, 以最大给药量 (MTD) 进行试验^[9]。本试验小鼠最大给药剂量为 270 g 生药·kg⁻¹ 体重, 相当于猪临床推荐剂量 (0.5 g 生药·kg⁻¹ 体重) 的 540 倍, 急性毒性试验中安全评价为无毒。

长期毒性试验是通过临床表现、血液学、血清生化、病理组织切片来考察灌胃药物对大鼠持续给药的毒性。血液学指标反映机体内环境及造血功能的变化, 血清生化指标检验机体生理成分、代谢情况及重要器官的功能状态, 其中肾功能及肝功能的变化是考察药物是否存在蓄积毒性。本试验结果显示板芪口服液各剂量组血液学与血清生化结果均在正常参考值范围内, 与空白组相比无显著差异。长期毒性试验 2 周恢复期结果表明板芪口服液没有出现毒性可逆反应和迟发性反应。板芪口服液治疗的靶器官为心脏, 从病理切片来看高剂量组并未对大鼠心脏造成伤害, 对其它主要脏器、免疫器官、生殖器官及肠道也未造成损害, 由此说明

板芪口服液安全无毒, 可用于临床试验。

另一方面, 由于中医辨证施治的灵活性导致临床用药的千差万别, 使得防治病毒性心肌炎病的单味有效药物筛选较为困难, 且单味中药组成成分复杂, 有效成分的确定和分离提取困难, 严重影响药物的开发与应用。多数单味中药的实验研究是通过调节白细胞介素水平^[10]、氧化应激损伤及影响 NF-κB 信号通路^[11], 起到治疗病毒性心肌炎的作用。而中药复方制剂则是从降低心肌酶水平, 改善心肌细胞的病理损伤, 调节免疫等方面进行。马丽等^[12]发现益心康能够降低心肌酶水平, 减轻细胞病变, 保护心肌。何伟等^[13]认为益气活血中药复方可从细胞免疫、体液免疫及红细胞免疫等方面起到双向调节作用。中医药整体调节治疗的优势, 是西医单一化学合成药及中药单体成分难以达到的。同时, 中药复方因制备较为简单, 价格低廉, 药物毒性低, 安全性高, 在临床上受到广泛关注。实验室研发的板芪口服液根据临床经验组方改进, 将具有凉血消痈、益气养阴、清热解毒、调节免疫, 尤其对治疗病毒性心肌炎有良好作用的单味药材科学配伍, 经过毒理试验证明其安全性, 为之后的药理及临床试验奠定基础。

参考文献:

[1] 范增光, 袁野, 皇甫海全, 等. 中医药治疗病毒性心肌炎的

- 研究进展[J]. 中国中医急症, 2016, 25(8):1555-1557.
- Fan Z G, Yuan Y, HuangPu H Q, *et al.* Research Progress in Treatment of Viral Myocarditis with Traditional Chinese Medicine [J]. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2016, 25(8):1555-1557.
- [2] 侯宪邦. 板蓝根潜在药效成分发现及其作用机制的研究[D]. 南京中医药大学, 2017.
- Hou X B, Research of the Potential Pharmacodynamic Ingredients of Radix Isatidis and Mechanism [D]. Nanjing University of Chinese Medicine, 2017.
- [3] 李博, 朱平先, 许顶立. 丹参酮 II A 对自身免疫性心肌炎作用机制的研究进展[J]. 实用临床医学, 2017, 18(6):97-99.
- Li B, Zhu P X, Xu D L. Research Progress in Action Mechanisms of Tanshinone II A on Autoimmune Myocarditis [J]. Practical Clinical Medicine, 2017, 18(6):97-99.
- [4] 杜晋平, 薛翼鹏, 张文杰, 等. 黄芪多糖对动物作用机制的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2013(15):000030-32.
- Du J P, Xue Y P, Zhang W J, *et al.* Study on the Mechanism of Action of Astragalus Polysaccharides on Animals [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2013(15):000030-32.
- [5] 刘爽, 刘晓玲, 张勇, 等. 黄芪多糖对 CVB3 感染的心肌细胞和心肌的保护作用研究[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2015(4):1407-1411.
- Liu S, Liu X L, Zhang Y, *et al.* Studied Protective Effect of Astragalus Polysaccharide on Myocardial Cell and Myocardium that were Infected by CVB3 [J]. Chinese Journal of Molecular Cardiology, 2015(4):1407-1411.
- [6] 刘灏, 呼日乐巴特, 熊英, 等. 黄芪总黄酮对病毒性心肌炎小鼠心律失常与内质网应激因子的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2018, 34(1).
- Liu H, Hurile B T, Xiong Y, *et al.* Effects of total flavonoids of astragalus on arrhythmia, endoplasmic reticulum stress in mice with viral myocarditis [J]. Chinese Journal of Applied Physiology, 2018, 34(1).
- [7] 丁婵, 褚秀玲, 苏建青, 等. 黄芩苷抗病毒作用研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2016(2):27-29.
- Ding C, Chu X L, Su J Q, *et al.* Advances in antiviral effects of baicalin [J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 2016(2):27-29.
- [8] 农业部兽药评审中心. 兽药研究技术指导原则汇编[M]. 化学工业出版社, 2012.
- Veterinary Drug Assessment of Ministry of Agriculture. Veterinary Drug Test Regulation Assemble [M]. Chemical Industry Press, 2012.
- [9] 姜玲玲, 陈鸿宇, 史开志, 等. 一种新兽用止泻中药复方制剂对大鼠的急性及亚慢性毒性试验[J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(11):3073-3079.
- Jiang L L, Chen H Y, Shi K Z, *et al.* Acute and Sub-chronic Toxicity Test on Rats of a New Kind of Antidiarrheal Chinese Herbal Medicine Compound Preparation for Livestock [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2016, 43(11):3073-3079.
- [10] 刘明怀. 黄芪注射液对病毒性心肌炎 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的影响[J]. 实用中医药杂志, 2006, 22(6):329-330.
- Liu M H, Effect on TNF- α , IL-1 and IL-6 of Viral Myocarditis Treated by Radix Astragali Injection [J]. Journal of Practical Traditional Chinese Medicine, 2006, 22(6):329-330.
- [11] 桂俊. 黄芪治疗病毒性心肌炎的分子机制[D]. 复旦大学, 2013.
- Gui J, The Molecular Mechanism for Astragalus in the Treatment of Viral Myocarditis [D]. Fudan University, 2013.
- [12] 马丽, 史业东, 陈苏宁. 益心康对体外心肌细胞感染柯萨奇病毒 B₃ 影响的实验研究[J]. 实用药物与临床, 2011, 14(4):279-280.
- Ma L, Shi Y D, Chen S N, Effect of Yixinkang soup on cardiocytes of suckling rats infected by CVB 3 virus [J]. Practical Pharmacy And Clinical Remedies, 2011, 14(4):279-280.
- [13] 何伟. 益气活血中药复方治疗 CVB₃ 病毒性心肌炎的实验研究[D]. 辽宁中医药大学, 2009.
- He W, Experimental study on the treatment of CVB₃ viral myocarditis with YiqihuoXue Chinese herbal compound [D]. Liaoning University of Chinese Medicine, 2009.

(编辑:陈希)