

苦参苍术口服液长期毒性试验

高艳艳¹, 王祝义², 王芳², 赵晓峰²

(1. 国家兽用药品工程技术研究中心, 河南洛阳 471003; 2. 河南新正好生物工程有限公司, 郑州 451162)

[收稿日期] 2012-09-24 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2013) 01-0017-03 [中图分类号] S853.74

[摘要] 为了观察苦参苍术口服液对动物的安全性, 采用昆明小鼠进行长期毒性试验, 设苦参苍术口服液高、中、低3个剂量组[6.25 mL/(kg·d)、2.5 mL/(kg·d)、1 mL/(kg·d)], 同时用纯化水作用空白对照组。连续给药28 d, 观察各组小鼠的各项生理、病理指标变化, 停药后继续观察2周。结果苦参苍术口服液中、低剂量组小鼠的各项检查和各项检测指标与空白对照组比较, 均无显著性差异($P > 0.05$); 停药后各组也未见药物延迟性毒性反应。表明苦参苍术口服液长期用药对小鼠无明显毒性, 临床使用剂量1~6.25 mL/(kg·d)服用是安全的。

[关键词] 苦参苍术口服液; 长期毒性; 安全剂量

Long-term Toxicity Test of Kushencangzhu Oral Liquid

GAO Yan-yan¹, WANG Zhu-yi², WANG Fang², ZHAO Xiao-feng²

(1. National Research Center for Veterinary Medicine, Luoyang, Henan 471003, China; 2. Henan Xinzhenhao Bioengineering Co. Ltd, Zhengzhou 451162, China)

Abstract: In order to observe the applied reliability of Kushencangzhu oral liquid, the long-term toxicity experiment was conducted in mouse. Three treatment groups [6.25 mL/(kg·d), 2.5 mL/(kg·d), 1 mL/(kg·d)] of Kushencangzhu oral liquid and control group were divided up. Kushencangzhu oral liquid was administered orally for 28 d. The effects of Kushencangzhu oral liquid on their physiological and pathological indexes were investigated for 2 weeks after drug withdrawal. In the long-term toxicity experiment, no significant pathological difference was found among low-dose group, middle-dose group of Kushencangzhu oral liquid and the control ($P > 0.05$), and toxic reaction was not observed after drug withdrawal. Kushencangzhu oral liquid has no significant toxicity in long-term toxicity test to mouse, which infers that the drawing up dose is safe in clinic.

Key words: Kushencangzhu oral liquid; long-term toxicity; safe dose

苦参苍术口服液是农业部于2012年3月批准的三类新兽药, 由苦参、苍术按照一定配比组合而成。苦参味苦, 性寒, 具有清热燥湿、抗菌消炎、解毒杀虫之功效^[1], 其主要活性成分苦参碱, 对痢疾杆菌、大肠杆菌、变形杆菌及金黄色葡萄球菌均有明显的抑制作用^[2]; 苍术苦温, 有健脾燥湿的功能,

其主要成分挥发油, 可调节胃肠运动, 抑制因脾虚引起的小肠活动, 对抗泄泻^[3], 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌等均有明显的抑制作用^[4]。两者协同作用, 具有较强的抗菌作用, 对畜禽大肠杆菌等细菌感染有很好的疗效, 并能有效消除大肠杆菌的耐药质粒, 减少耐药菌株的产生^[5]。

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划“中兽药现代化技术与开发”(2008BADB4B00)

作者简介: 高艳艳, 硕士, 从事新兽药研发工作。E-mail: hzgyy2010@163.com

为了考察其临床安全性,参照文献[6-8],本试验通过连续 28 d 对小鼠灌胃给药,观察苦参苍术口服液的长期毒性,评价其安全性,为临床用药提供指导。

1 材料和方法

1.1 供试药品及动物 苦参苍术口服液,批号 20080801,规格:100 mL:366 g 生药,洛阳惠中兽药有限公司生产;健康未交配的昆明种小鼠,体重15~20 g,雌雄各半,购自河南省实验动物研究中心,许可证号:SYXK(豫)2005-0012。试验前小鼠雌雄分笼饲养,观察 5 d,室温 20~24 ℃,相对湿度40%~60%。

1.2 仪器及材料 PUS-2018G 型半自动生化分析仪,南京普朗新技术有限公司;XF9080A 动物自动血液细胞分析仪,南京普朗医用设备有限公司;

葡萄糖试剂盒(GLU,批号 090551)、尿素氮试剂盒(BUN,批号 090111)、谷草转氨酶试剂盒(AST,批号 090171),均由中生北控生物科技股份有限公司提供;手术剪、镊子、医用托盘、自封袋、医用橡胶手套、5 mL 离心管。

1.3 给药方案 试验前观察小鼠一般情况并记录,挑选健康活泼的小鼠 120 只进行试验。将全部动物称重,随机分为 4 组,每组 30 只(雌雄各半),给药组设高、中、低 3 个剂量组,即苦参苍术口服液 1 mL 兑水 19 mL、7 mL、2.2 mL,另设对照组,采用灌胃方式给药,每天 1 次,给药体积 0.4 mL/20 g,空白对照组给予同样剂量的纯化水,连续给药 28 d,具体分组及给药情况详见表 1,其中给药期间高剂量组有 2 只小鼠死亡,计为 28 只。

表 1 试验分组和给药剂量

组别	组名	给药剂量 (按原药计算)	药物浓度及剂量
A 组	苦参苍术口服液低剂量组	1 mL/kg/d	1 mL 兑水 19 mL,0.4 mL/20 g/d
B 组	苦参苍术口服液中剂量组	2.5 mL/kg/d	1 mL 兑水 7 mL,0.4 mL/20 g/d
C 组	苦参苍术口服液高剂量组	6.25 mL/kg/d	1 mL 兑水 2.2 mL,0.4 mL/20 g/d
D 组	空白对照组	—	纯化水,0.4 mL/20 g/d

1.4 检测指标

1.4.1 一般观察 试验期间逐日观察并记录动物的外观、行为、粪便的变化。

1.4.2 采食量与增重 每天给料前称取各组给料量,次日给料前称余料,计算当天采食量;每周对全部动物逐只称重 1 次,并记录。

1.4.3 血液学检查 给药结束及停药 2 周,每组抽取 15 只(雌、雄各半)动物,采集非抗凝血,测定其红细胞总数、白细胞总数、血小板总数、血红蛋白含量。

1.4.4 血液生化检测 给药结束及停药 2 周,每组抽取 15 只(雌、雄各半)动物,采集抗凝血,分离血清,用半自动生化分析仪测定其谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、葡萄糖(GLU)含量。

1.4.5 剖检情况 给药结束及停药 2 周后,处死全部动物,进行系统解剖,肉眼观察其组织器官,同时,取其肝、肾、肺、脾、心等脏器进行称重,计算脏器比值,脏器比=脏器重量/体重×100%。

1.5 统计处理 实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS12.11 统计分析软件进行 *t* 检验,比较其组间差异的显著性。

2 结果

2.1 对动物一般情况及体重的影响 给药期间各

组小鼠外观体征、行为活动、粪便性状未见异常,与对照组相比较亦未见明显差异。恢复期观察各组动物的一般情况也未见有明显差异。各剂量组小鼠与对照组相比,各组体重在给药 4 周均有明显增加,其中高剂量在给药期间有 2 只死亡。各组体重增长与空白对照组相比,无显著性差异($P>0.05$),结果见表 2。

表 2 苦参苍术口服液对小鼠体重增长的影响($\bar{x} \pm s$)

不同给药时间	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药前	17.2 ± 2.5	18.3 ± 2.5	17.8 ± 2.1	17.6 ± 2.2
给药 1 周增重	24.3 ± 2.4	25.6 ± 3.5	24.4 ± 2.3	24.0 ± 2.4
给药 2 周增重	28.9 ± 2.8	27.1 ± 1.9	28.6 ± 2.2	27.3 ± 2.0
给药 3 周增重	30.6 ± 3.1	29.7 ± 2.9	31.1 ± 3.6	29.4 ± 3.1
给药 4 周增重	32.4 ± 2.6	33.2 ± 4.2	32.5 ± 2.3	31.6 ± 4.4
停药 1 周	34.4 ± 3.2	35.3 ± 3.7	34.2 ± 3.1	33.2 ± 3.5
停药 2 周	35.1 ± 2.2	36.4 ± 3.9	35.5 ± 3.8	34.0 ± 4.7

2.2 对动物血液学指标的影响 给小鼠连续用药 4 周及停药 2 周血液学指标测定结果表明,各剂量组各项测定指标均在正常范围内,与空白对照组比较均无显著性差异($P>0.05$),结果详见表 3 与表 4。

表 3 给药 4 周各组血液学指标($\bar{x} \pm s, n = 15$)				
项目	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
WBC($10^9/L$)	5.4 ± 1.3	6.2 ± 0.7	6.2 ± 0.9	6.0 ± 1.2
RBC($10^{12}/L$)	9.3 ± 0.7	9.6 ± 1.0	10.4 ± 1.1	9.4 ± 1.5
HGB(g/L)	134 ± 17	141 ± 23	138 ± 19	130 ± 25
PLT($10^9/L$)	254 ± 43	235 ± 52	289 ± 37	261 ± 39

表 4 停药 2 周各组血液学指标($\bar{x} \pm s, n = 15$)				
项目	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
WBC($10^9/L$)	5.4 ± 0.9	5.2 ± 0.6	6.2 ± 0.9	6.0 ± 1.2
RBC($10^{12}/L$)	9.2 ± 1.0	9.1 ± 1.3	10.4 ± 1.1	9.4 ± 1.5
HGB(g/L)	142 ± 11	143 ± 9	134 ± 14	137 ± 16
PLT($10^9/L$)	261 ± 57	247 ± 38	303 ± 42	258 ± 28

2.3 对动物血液生化学指标的影响 给小鼠连续用药 4 周后,苦参苍术口服液高、中、低剂量组和空白对照组相比,结果表明,给药 4 周,高剂量有 3 只小鼠尿素氮高于正常范围,低剂量组、中剂量组的各项指标均在正常范围内,与对照组比较均无显著性差异($P > 0.05$);停药 2 周,各组的各项指标均在正常范围内,与对照组比较均无显著性差异($P > 0.05$);未见明显的血液生化学改变。结果见表 5 与表 6。

表 5 给药 4 周各组血液生化学指标($\bar{x} \pm s, n = 15$)				
项目	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
AST(U/L)	92.7 ± 14.6	82.4 ± 13.8	93.2 ± 30.8	70.6 ± 13.8
BUN(mmol/L)	9.70 ± 1.00	9.03 ± 1.17	10.05 ± 0.85	12.23 ± 1.55
GLU(mmol/L)	7.07 ± 2.06	6.72 ± 1.54	6.25 ± 1.05	6.83 ± 1.35

表 6 停药 2 周各组血液生化学指标($\bar{x} \pm s, n = 15$)				
项目	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
AST(IU/L)	63.0 ± 12.6	71.4 ± 20.1	71.7 ± 16.0	64.0 ± 11.2
BUN(mmol/L)	9.87 ± 1.83	9.09 ± 1.62	10.48 ± 1.05	11.54 ± 1.05
GLU(mmol/L)	6.66 ± 1.63	7.27 ± 1.65	6.15 ± 1.70	6.53 ± 1.60

2.4 病理剖检及对动物脏器系数的影响 给药期间高剂量组有 2 只小鼠死亡,剖检发现脾脏有肿大,其他无异常。试验结束后,分别处死各组试验动物,经解剖后肉眼观察,给药组与对照组均未见异常,表明长期给小鼠灌服苦参苍术口服液对小鼠的内脏器官的形态及质地无明显的影响;取出试验小鼠主要脏器(心、肝、肺、脾、肾)称重,各剂量组脏器系数与对照组相比较未见明显差异($P > 0.05$),结果表明给小鼠长期使用苦参苍术口服液低剂量、中剂量对小鼠的主要脏器无明显影响,各主要脏器经肉眼观察未见异常。结果见表 7。

表 7 苦参苍术口服液对主要脏器重量系数的影响($\bar{x} \pm s$)					(g/10 g 体重)
组别		空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
脏器系数	心	0.052 ± 0.010	0.056 ± 0.011	0.055 ± 0.014	0.060 ± 0.013
	肝	0.451 ± 0.062	0.453 ± 0.058	0.475 ± 0.079	0.470 ± 0.061
	脾	0.046 ± 0.022	0.053 ± 0.022	0.065 ± 0.033	0.050 ± 0.025
	肺	0.070 ± 0.018	0.069 ± 0.021	0.075 ± 0.012	0.071 ± 0.021
	肾	0.136 ± 0.031	0.136 ± 0.024	0.138 ± 0.028	0.140 ± 0.028

3 讨 论

苦参苍术口服液 1 mL/(kg · d)、2.5 mL/(kg · d)、6.25 mL/(kg · d),分别相当于家禽临床日用药量的 5、10、25 倍,连续给小鼠灌胃给药 4 周及停药 2 周,与空白对照组比较,除高剂量组两只外,低剂量组、中剂量组小鼠的一般状况、体重、主要脏器系数无明显差异;血液学指标、血液生化学指标检查,各剂量组的检测项目与空白对照组比较,均无显著性差异。病理剖检表明主要脏器的组织形态学正常,未见毒性反应。表明苦参苍术口服液长期用药对小鼠无明显毒性,临床拟用剂量每升饮水中添加 1 mL,连续用药 5 d 是安全性。

参考文献:

[1] 刘梅,刘雪英,程建峰.苦参碱的药理研究进展[J].中国中

药杂志,2003,28(9):801-804.

[2] 王思芦,杨柳,邓黎军.苦参与 TMP 对仔猪黄痢病原菌的联合抑菌试验[J].安徽农业科学,2008,36(29):12718-12719.

[3] 杨凌,欧阳臻,韩丽,等.茅苍术挥发油提取方法的比较研究[J].时珍国医国药,2007,18(5):1078-1079.

[4] 陈炎明,陈静,俞桂新.苍术化学成分和药理活性研究进展[J].上海中医药大学学报,2006,20(4):95-98.

[5] 王兴旺,胡勇,宋伟舟,等.苍术对鸡大肠杆菌耐药质粒消除作用的研究[J].重庆工学院学报,2006,20(2).

[6] 谢秀琼.中药新制剂开发与应用[M].北京:人民卫生出版社,2002.542-553.

[7] 关建红,薛征,任晋斌.豨莶草水煎醇沉剂口服小鼠急性毒性[J].中国中药杂志,2005,30(21):1712-1713.

[8] 徐叔云,卞如谦,陈修.药理实验方法学[M].第3版.北京:人民卫生出版社,2002.67.

(责任编辑:陈希)