

刺五加注射液对大鼠长期毒性试验的研究

宋艳春¹, 刘湘梅², 李秀娟², 宋士岳^{2*}

1 牡丹江农管局中心医院, 黑龙江 密山 158300;

2 黑龙江乌苏里江制药有限公司, 黑龙江 虎林 158400

摘要 目的: 观察大鼠连续静脉/腹腔交替注射刺五加注射液产生的毒性反应与靶器官损害的可逆性。**方法:** 通过血液学、血液生物化学和病理组织学检查, 观察注射刺五加注射液对大鼠的毒性反应及程度。**结果:** 连续静脉/腹腔交替注射刺五加注射液 4 周, 动物全部存活, 高、低剂量组动物未见明显毒性反应, 停药后各剂量组均未见迟发性毒性发生。**结论:** 刺五加注射液连续静脉/腹腔交替注射对大鼠体重增长率、各主要器官脏器系数、血细胞和血液生化指标均无显著影响, 病理组织学检查亦未见毒性病理改变, 停药后 2 周亦未见延迟毒性, 即刺五加注射液对大鼠无明显毒性。

关键词 刺五加注射液; 长期毒性; 大鼠

中图分类号: R965.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2010) 01-0001-04

Research of long-term toxicity of Ciwujia Injection in rats

SONG Yan-chun¹, LIU Xiang-mei², LI Xiu-juan², SONG Shi-yue^{2*}

1 Mudanjiang Agricultural Center Hospital Authority, Mishan 158300, China;

2 Heilongjiang Wusulijiang Pharmaceutical CO, Ltd, Hulin 158400, China

Abstract Objective: To observe the toxic reactions and reversibility of target organ damage by alternatively continuous iv and ip injection of Ciwujia Injection (Acanthopanax Injection) in rats. **Methods:** The degree of toxicity was observed in rats by injection of Ciwujia Injection with hematological, blood biochemical and histopathological methods. **Results:** All animals survived after continuous iv and ip injection of Ciwujia Injection for 4 weeks. High-dose and low-dose group animals had no significant toxicity and no delayed toxicity occurred after treatment with various doses. **Conclusion:** Body weight growth rate, organ coefficient of major organs, blood cells and blood biochemical parameters had no significant effect after alternatively continuous iv and ip injection of Ciwujia Injection in rats, histopathological examination are also no toxic pathological changes, no sign of delayed toxicity was examined after three weeks of drug withdrawal, that is, Ciwujia Injection had no significant toxicity.

Key words Ciwujia Injection (Acanthopanax Injection); long-term toxicity; rat

刺五加注射液是从五加科植物刺五加中提取有效成分精制而成, 主要成分有异秦皮定、β-谷甾醇、胡萝卜苷、丁香苷、异秦皮定苷、紫丁香树脂醇苷、琥珀酸、腺苷、多种黄酮类化合物及三萜类化合物。具有扩张血管、增加冠脉血流量、减少心肌耗氧量、改善血液循环、镇静、改善睡眠、增加食欲等作用, 对大脑中动脉栓塞所致脑缺血大鼠具有保护作用^[1]。临床广泛用于治疗和预防短暂性脑

缺血发作、脑动脉硬化、脑血栓形成、脑梗死等, 亦用于冠心病、心绞痛合并神经衰弱和更年期综合征等。刺五加注射液每年有几亿支用于临床, 已经 20 多年未发生严重不良反应。2008 年“刺五加注射液事件”对此品种影响很大, 此事件的主要原因是药物在储存期间受到雨水浸泡, 引起微生物的污染造成不良事件, 与药品质量无关。为证明刺五加注射液使用的安全性, 特参照《中药新药研究指南(药

收稿日期: 2010-01-05

* 通讯作者 宋士岳, Tel:13904676043, E-mail:songshiyue@126.com

学、药理学、毒理学》^[2-4]进行大鼠长期毒性试验研究。

1 材料与方法

1.1 受试药物

刺五加注射液(批号 081001, 黑龙江乌苏里江制药有限公司提供): 刺五加总黄酮质量浓度为 5 mg/mL, 规格为 20 mL/支。

1.2 受试药物的配制及给药容量

溶剂: 无热源蒸馏水。取刺五加注射液浓缩至每 1 mL 相当于刺五加注射液 8 mL, 按注射剂要求配制灭菌备用。高剂量: 即给浓缩液 0.5 mL/100 g, 相当于刺五加注射液 40.0 mL/kg; 低剂量: 取浓缩液 0.2 mL, 加无热原蒸馏水至 0.5 mL, 相当于刺五加注射液 16.0 mL/kg。给药容量均为 0.5 mL/100 g 体质量。

1.3 试验动物

Wistar 大鼠, 6 周龄, 体质量 105~135 g。

1.4 试剂与仪器

谷草转氨酶试剂盒, 谷丙转氨酶试剂盒, 由上海荣盛生物技术有限公司生产; 碱性磷酸酶试剂盒, 由北京中生公司生产; 尿素氮试剂盒, 肌酐试剂盒, 上海科华公司生产; 总胆固醇试剂盒, 总蛋白试剂盒, 由中生北控生物科技股份有限公司生产。UV2501PC 紫外分光光度计(日本岛津); 血球计数仪(F-820 日本东亚医用电子株式会社); 显微镜; 离心机; 电动振荡器。

1.5 试验方法^[5-6]

取 105~135 g 健康大鼠 60 只, 雌雄各半, 随机分成刺五加注射液高、低剂量组和空白对照组, 每组 20 只, 雌雄分笼, 每笼 5 只。高、低剂量组和空白对照组分别静脉/腹腔交替注射给予刺五加注射液 16.0、40.0 mL/kg (相当于临床常用量的 16.0、40.0 倍)和等容量生理盐水(NS), 每天 1 次, 连续 28 d。给药期间及给药后每周称取体质量 1 次, 每周根据体质量相应增加饲料和药量, 每天观察并记录大鼠的外观体征、行为活动、饮食、粪便、体质量等情况, 如有中毒反应者, 应取出单笼饲养, 重点观察。发现死亡或濒临死亡的动物应及时尸检。停药后 24 h, 各组分别活杀 2/3 的大鼠, 进行全面、细致的系统尸检, 发现异常器官应重点进行病理组织学检查, 取心、肝、脾、肺、肾、胃、小肠、肾上腺、子宫(雌性)或睾丸(雄性)称重,

计算脏器系数, 取心、肝、脾、肺、肾、胃、大肠、小肠、肾上腺、子宫(雌性)或睾丸(雄性), 用 10% 甲醛溶液固定, 石蜡包埋, HE 镜检^[7]; 同时分别测定血液学(血红蛋白、红细胞计数、白细胞计数、白细胞分类计数)和血液生化学(SGPT、SGOT、ALP、BUN、TP、Crea、T-CHO)指标^[8]。剩余大鼠继续饲养 2 周, 同样进行上述观察和检测。通过上述观察和检测, 以了解大鼠在给药期间的毒性反应及停药后一段时间内的恢复和发展情况。

1.6 统计学分析^[9]

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料采用 *t* 检验进行组间分析。

2 结果

2.1 试验大鼠一般情况

空白对照组大鼠无论在给药期间、给药结束时及恢复期间行为活动、饮食、粪便分泌物、呼吸系统、循环系统、中枢神经系统等均正常, 未见毒性反应发生。毛色光滑贴身, 无松毛、弓背、腹泻等现象, 体质量正常增长; 低剂量组大鼠在饮食、饮水、活动、毛发、呼吸、排泄等方面未见明显异常, 体质量正常增长, 与空白对照组比较, 无显著性差异; 高剂量组大鼠排便正常, 活动、毛发、饮食、呼吸、排泄等正常, 体质量增长, 各周体质量与空白对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$); 停用刺五加注射液后, 各组大鼠体质量、活动、饮食等与空白对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.2 对大鼠脏器系数的影响

刺五加注射液给药时和停药后对各脏器指数均无明显影响, 与空白对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 见表 1、2。

2.3 对血液学各指标的影响

刺五加注射液给药和停药后, 大鼠血液学指标均无明显改变, 与空白对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 结果见表 3、4。

2.4 对生化指标的影响

在连续用药 28 d 后, 低剂量组大鼠生化指标与生理盐水对照组无明显差异; 高剂量组大鼠生化指标与生理盐水组比较亦无明显差异, 停药 2 周后, 各组血液生化指标均无明显差异, 结果见表 5、6。

2.5 病理组织学检查

各组大鼠所有被检脏器大小、形态、颜色、光滑度及切面均未见明显异常改变。

表1 刺五加注射液对大鼠脏器系数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Ciwujia Injection on organ coefficient of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	心	肝	脾	肺	肾
空白对照组	0.64±0.02	3.68±0.25	0.37±0.02	0.90±0.12	0.99±0.09
低剂量组	0.68±0.03	3.67±0.24	0.37±0.03	0.93±0.14	1.11±0.07
高剂量组	0.63±0.05	3.61±0.31	0.36±0.05	0.89±0.12	1.12±0.09

表2 停药后刺五加注射液对大鼠脏器系数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Ciwujia Injection on organ coefficient of rats after stopping administration ($\bar{x} \pm s$)

组别	心	肝	脾	肺	肾
空白对照组	0.66±0.05	3.69±0.28	0.38±0.04	0.91±0.13	1.00±0.08
低剂量组	0.65±0.02	3.66±0.25	0.39±0.05	0.93±0.14	1.12±0.07
高剂量组	0.67±0.07	3.66±0.29	0.36±0.02	0.90±0.14	1.10±0.06

表3 刺五加注射液对大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Ciwujia Injection on hematological of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	Hb/(g·L ⁻¹)	RBC/(10 ¹² ·L ⁻¹)	WBC/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	血小板/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	WBC分类(%)	
					L	S
空白对照组	134±11	4.59±0.22	17.6±3.7	194±64	68.8±6.5	25.1±5.1
低剂量组	130±9	4.47±0.21	15.0±2.1	184±47	68.3±6.1	24.8±6.1
高剂量组	129±14	4.28±0.49	15.9±2.5	199±65	68.7±4.9	25.0±7.1

表4 停药后刺五加注射液对大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of Ciwujia Injection on hematological of rats after stopping administration ($\bar{x} \pm s$)

组别	Hb/(g·L ⁻¹)	RBC/(10 ¹² ·L ⁻¹)	WBC/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	血小板/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	WBC分类(%)	
					L	S
空白对照组	135±12	4.79±0.25	18.5±2.7	192±61	69.3±6.7	25.7±5.5
低剂量组	136±11	4.74±0.29	18.0±2.6	188±47	68.8±6.4	25.8±6.7
高剂量组	139±13	4.78±0.39	18.9±2.9	197±63	69.7±6.9	25.6±7.0

表5 刺五加注射液对大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of Ciwujia Injection on blood biochemical indexes of rats($\bar{x} \pm s$)

组别	SGPT/(U·L ⁻¹)	SGOT/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	Crea/(mmol·L ⁻¹)	T-CHO/(mmol·L ⁻¹)
空白对照组	61.7±12.5	114.5±25.7	314.5±71.2	4.25±0.2	65.8±4.8	97.2±5.9	1.9±0.2
低剂量组	64.5±11.7	113.0±38.5	331.4±69.2	4.26±0.3	67.0±5.8	92.6±6.9	1.8±0.3
高剂量组	65.2±11.5	116.0±40.5	350.6±49.7	4.28±0.4	67.5±5.7	95.4±6.4	2.0±0.3

表6 停药后刺五加注射液对大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of Ciwujia Injection on blood biochemical indexes of rats after stopping administration ($\bar{x} \pm s$)

组别	SGPT/(U·L ⁻¹)	SGOT/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	Crea/(mmol·L ⁻¹)	T-CHO/(mmol·L ⁻¹)
空白对照组	63.5±12.8	121.5±29.9	325.5±70.2	4.34±0.5	68.8±4.9	99.1±6.9	2.2±0.3
低剂量组	66.7±12.7	117.6±35.7	336.4±69.2	4.32±0.2	67.7±5.7	98.6±6.9	2.5±0.3
高剂量组	67.1±12.5	119.5±39.4	341.6±59.7	4.39±0.3	68.6±5.5	99.4±6.8	2.8±0.4

3 结论

刺五加注射液高、低剂量组与生理盐水(空白)对照组比较,连续给药 28 d 过程中,动物饮食、活动、排泄均未见明显异常,无一动物死亡。停药后各组动物在饮食、活动、排泄、精神状态等方面均未见明显差异;脏器系数、血液学检测结果均在正常范围内;病理组织切片无特异性改变,停药后无迟缓性毒性发生。

参考文献:

[1] 谢湘林,刘宏雁,邹洪斌,等.刺五加注射液对大鼠大脑中动脉栓塞所致脑缺血损伤的保护作用[J].中草药,2007,38(10):1544-1546

[2] 中华人民共和国卫生部药政管理局.中药新药研究指南

[S].1994:205-207.

[3] 国家药品监督管理局.药品注册管理办法(附件一)[S].2002.

[4] 国家药品监督管理局.中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则[S].2003.

[5] 袁伯俊,廖明阳,李波.药物毒理学实验方法与技术[M].北京:化学工业出版社,2007.

[6] 袁伯俊.新药非临床安全性研究的实验设计和实施[J].中国新药杂志,2004,13:772-775.

[7] 倪灿荣.免疫组织化学实验技术及应用[M].北京:化学工业出版社,2006.

[8] 王凤学,安邦权.临床生物化学自动分析操作规程[M].北京:人民军医出版社,2006.

[9] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1991.

Chinese Herbal Medicines (CHM) 2010 年征稿与征订启事

我国第一份中药专业的英文期刊——*Chinese Herbal Medicines (CHM)* (《中草药》杂志英文版)经国家新闻出版总署(新出综合[2008]1343号文件)批准,国内统一连续出版号为:CN12-1410/R,已于2009年10月正式创刊。

CHM 由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办,天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编;中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员,天津药物研究院院长汤立达研究员,中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编;天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

办刊宗旨 以高起点、国际化为特点,继承和发扬祖国医药学遗产,报道和反映中草药研究最新进展,宣扬我国中草药的传统特色,加强与世界各国在传统药物研究的经验交流,在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁,促进中药现代化、国际化。

主要栏目 综述与述评、论著、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

读者对象 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM 邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟,组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍(第一届编辑委员会由49位专家组成,其中院士10名,国外编委19名)。吸引国内外高质量的稿件,提高期刊的学术质量;坚持按照国际标准编排,加强刊物规范化和标准化,充分利用计算机、网络技术和英语,加强与国际知名科技期刊的交流合作;充分发挥中医药特色,争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引(SCI),把CHM办成国际知名期刊之一。

欢迎广大作者踊跃投稿! 欢迎广大读者积极订阅!

CHM 网上在线投稿、审稿、查询系统已开通,请登录 www.中草药杂志社.中国/www.tiprpress.com

Chinese Herbal Medicines 编辑部

天津编辑部

地址:天津市南开区鞍山西道308号
 邮编:300193
 E-mail: chm@tiprpress.com
 Tel: +86-22-27474913; 23006821
 Fax: +86-22-23006821
 网址: www.中草药杂志社.中国/www.tiprpress.com

北京编辑部

北京市海淀区马连洼北路151号
 邮编:100193
 E-mail: bjchm@implad.ac.cn
 Tel: +86-10-62894436
 Fax: +86-10-62894436
 网址: www.implad.ac.cn