

参芝通络胶囊对大鼠长期毒性的实验研究

沈 立, 李洪水

四川省中医药科学院, 四川 成都 610041

摘要: **目的** 考察参芝通络胶囊对大鼠的长期毒性, 为临床用药提供依据。**方法** SD 大鼠随机分为对照组和参芝通络胶囊高、中、低剂量组 (4、2、1 g/kg)。ig 给药 13 周, 除观察一般状况外, 检测体质量、血液学指标、血液生化指标, 解剖计算内脏系数并进行病理组织学检查。剩余大鼠停止给药, 恢复 2 周后进行上述相同指标检测。**结果** 参芝通络胶囊各剂量组对大鼠一般状况、体质量、血液学指标、血液生化指标、内脏系数和病理组织学无明显影响, 恢复期大鼠上述各指标与对照组比较无明显差异。**结论** 在确定的临床使用剂量下, 参芝通络胶囊长期服用无明显毒性。

关键词: 参芝通络胶囊; 大鼠; 长期毒性

中图分类号: R965.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2012)06-0447-04

Long term toxicity in rats of Shenzhi Tongluo Capsule

SHEN Li, LI Hong-shui

Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract: **Objective** To observe the long term toxicity in rats of Shenzhi Tongluo Capsule (STC) and to provide the science foundation for clinical administration. **Methods** Sprague-Dawley rats were randomly divided into four experimental groups: control, high-, mid-, and low-dose STC (4, 2, and 1 g/kg) groups, and ig administered continuously for 13 weeks. The general conditions were observed and the related indexes were detected, such as body weight, hematological indexes, and blood biochemical indexes. The rats were dissected, the visceral coefficients of body was calculated and the histopathologic examination was performed. The administration to the remaining rats was stopped for recovering for two weeks. The recovery conditions of rats were observed and the above indexes were detected. **Results** There was no significant effect of STC at different doses on the general conditions, body weight, hematological and blood biochemical indexes, the visceral coefficients of body, and histopathologic examination. There was no obvious difference in the above indexes of recovered rats compared with the control group. **Conclusion** STC in certain clinical dose has no toxicity for long term use.

Key words: Shenzhi Tongluo Capsule (STC); rat; long term toxicity

中医认为痛风属“风湿热痹”范畴, 多由风、湿、热邪阻滞经络, 致经络气血不通、热瘀互结, 阻滞局部经络而发病^[1]。参芝通络方针对邪盛为标、正虚为本, 以健脾除湿为主, 加以补气温肾、活血通络, 促使脾肾功能增强, 机体气、血、精、液运转正常, 达到治疗痛风目的。本方来源为四川民间祖传秘方, 由党参、白术、灵芝、山药等 14 味中药组成, 原以汤剂使用 20 余年。临床研究证明, 参芝通络方具有调血脂、血压, 调节内分泌作用, 对于痛风伴有高血脂、高血压的患者, 效果更为显著, 是目前临床治疗痛风的较为理想的方剂。四川省中医药科学院将此方改良为参芝通络胶囊剂并申报医院制剂 (批件号 zjl2008010), 本课题

组通过考察参芝通络胶囊剂对大鼠的长期毒性, 对其安全性进行初步评价, 为临床用药提供依据。

1 材料

1.1 动物

SD 大鼠, 80~110 g, 120 只, 雌雄各半, 由四川省实验动物研究所提供, 合格证号 SCXK (川) 2003-002。试验环境符合实验设施屏障系统标准, 许可证号 057。实验室温控制为 18~22 ℃, 湿度控制在 50%~60%。

1.2 药物与试剂

参芝通络胶囊 (STC), 由四川省中医药科学院中医研究所研制, 批号 050512; 检测试剂盒均为市售, 由四川省迈克科技有限责任公司生产。

收稿日期: 2012-09-05

作者简介: 沈 立, 助理研究员, 从事中药新药开发。E-mail: shenli0505@126.com

1.3 仪器

瑞士梅特勒-托利多 AB204—E 型精密电子天平; 北京松上技术有限公司 A—6 半自动生化分析仪; 南京普朗医用设备有限公司 XF9030 型自动血液细胞分析仪。

2 方法

2.1 动物分组

经一周观察的健康 SD 大鼠, 按体质量随机分为 4 组, 每组 30 只, 雌雄各半。称质量后按性别分笼喂养, 每笼最多 5 只。

2.2 剂量设计

参芝通络胶囊, 临床拟定用量一次 3 粒, 一日 3 次, 每粒含原药 0.31 g, 即临床拟定量为 2.79 g/d, 按成人一般体质量约 60 kg 计算, 人用日拟定剂量是 46.5 mg/kg。为便于大鼠 ig 及不同剂量需要, 分别用蒸馏水配制成不同质量浓度 (0.4、0.2、0.1 g/mL) 的药液备用。试验时, 不同剂量组大鼠 ig 相同体积的上述药液。高、中、低剂量组给药剂量分别为 4、2、1 g/kg, 对照组给予同体积蒸馏水。

2.3 给药和观察方法

于每日 9:00 时左右, 各组均以 10 mL/kg ig 给药, 并正常给予饲料及饮水, 每周连续给药 6 d, 共计 13 周。每天观察大鼠一般状况, 每周称体质量一次。于给药后 13 周, 每组各取 20 只大鼠, 雌雄各半, 取大鼠眼眶静脉血检测血液学及血液生化学指标, 并活杀进行系统尸解和病理组织学检查: 取心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胸腺、子宫、卵巢或睾丸、前列腺等各脏器称质量, 计算脏器系数; 取大鼠的胸腺、肝、脾、肾、心、肺、脑、甲状腺、肾上腺、胃、子宫、卵巢或睾丸、前列腺等 14 种脏器按病理检验 SOP 程序进行脱水、修剪、包埋、切

片、HE 染色、封片等, 最后镜检。余下的各组大鼠, 停药继续观察两周后再活杀剖检, 作以上指标检查, 对毒性反应器官重点观察, 以了解毒性反应的可逆程度和可能出现的延迟性毒性。

2.4 观察指标

观察指标包括一般表现, 包括行为活动、皮毛、粪便性状、进食状况及体质量变化等; 血液学指标, 眼眶静脉取血, 用 XF9030 型自动血液细胞分析仪检测白细胞 (WBC)、红细胞 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、血细胞比容 (HCT)、平均红细胞体积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白含量 (MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)、血小板 (PLT); 血液生化学指标, 眼眶静脉取血, 用 A-6 半自动生化分析仪检测白蛋白 (ALB)、CREAT、总蛋白 (T.PROT)、碱性磷酸酶 (ALP)、总胆固醇 (TC)、谷氨酸 (GLU)、天冬氨酸转氨酶 (ASAT)、丙氨酸氨基转换酶 (ALAT)、血尿素氮 (BUN)、胆红素 (BIL)、总胆红素 (T.BIL)、谷氨酰胺转移酶 (GGT); 大鼠尸解和病理组织学检查。

2.5 统计学方法

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS13.0 软件进行分析, 计量资料采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 一般状况及体质量影响

对给药期 (0~13 周) 和恢复期 (14~15 周) 内参芝通络胶囊用药组及对照组大鼠进行观察, 各组大鼠均无死亡, 活动正常, 行为活泼, 毛发光润, 粪便排泄正常。参芝通络胶囊各剂量组大鼠在 15 周内体质量增长情况基本一致, 与对照组比较, 无显著差异 ($P > 0.05$), 见表 1、2, 各组动物摄食量正常, 无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 1 参芝通络胶囊对雄性大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of STC on body weight of male rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	第0周	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周	第7周
对照	—	96.7±4.9	106.1±7.0	120.7±9.0	136.3±9.5	153.9±10.5	172.0±9.9	189.9±9.9	207.3±11.7
参芝通络胶囊	4	96.9±3.6	105.9±5.5	120.9±6.5	138.1±8.7	157.2±9.2	175.6±9.5	193.7±10.1	213.2±11.1
	2	95.3±2.8	103.4±5.4	118.0±8.7	138.1±12.4	157.3±13.9	176.6±14.5	198.0±17.0	218.9±17.8
	1	95.7±3.2	104.4±4.6	118.3±5.8	135.5±7.8	155.4±9.5	175.2±11.0	195.7±12.8	216.9±15.8
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	第8周	第9周	第10周	第11周	第12周	第13周	第14周	第15周
对照	—	227.2±13.9	246.8±13.1	266.4±12.5	287.3±14.0	308.0±14.8	327.2±14.6	342.8±10.9	361.2±11.4
参芝通络胶囊	4	233.6±12.4	253.3±13.5	274.7±12.8	295.7±12.6	316.9±10.9	336.4±10.1	359.4±10.9	373.8±12.7
	2	238.9±17.3	259.0±17.6	279.9±19.2	300.5±22.6	322.1±22.0	343.1±23.4	346.8±31.5	365.2±27.0
	1	239.5±16.8	260.3±16.8	281.4±17.1	303.1±19.3	326.6±20.1	349.0±20.6	363.0±21.6	377.2±23.4

表2 参芝通络胶囊对雌性大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Effect of STC on body weight of female rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	第0周	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周	第7周
对照	—	95.3±4.4	102.3±5.6	112.5±6.6	125.0±6.7	138.0±7.2	154.1±7.5	171.0±9.3	184.8±10.2
参芝通络胶囊	4	95.7±4.3	102.9±5.9	113.5±7.0	126.4±7.5	141.4±8.6	157.9±10.2	174.5±11.6	191.3±14.5
	2	97.6±3.8	106.1±3.7	120.8±4.7	137.5±4.9	155.1±5.9	173.4±7.9	189.4±8.9	205.9±10.6
	1	96.0±3.9	105.5±6.3	120.3±8.6	138.1±9.8	156.2±10.6	173.9±12.1	191.9±11.6	208.9±12.4
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	第8周	第9周	第10周	第11周	第12周	第13周	第14周	第15周
对照	—	200.0±10.7	216.4±12.2	232.3±12.7	248.4±14.0	265.7±13.8	283.4±18.3	303.2±30.2	317.2±30.5
参芝通络胶囊	4	206.7±16.3	223.0±17.1	239.7±18.5	255.7±19.7	272.3±19.9	289.5±19.3	289.2±7.0	305.0±8.0
	2	224.1±12.3	242.1±13.3	259.8±14.5	276.9±15.2	295.3±16.2	313.0±16.8	337.8±12.5	354.6±9.4
	1	227.9±13.0	246.4±14.3	267.3±15.0	285.7±15.7	303.1±17.4	322.8±19.2	333.0±19.8	359.0±22.5

3.2 对大鼠血常规及血液生化指标的影响

参芝通络胶囊各组大鼠 WBC、RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、MCHC、PLT 等血常规指标未见异常, 经与对照组比较无显著差异 ($P>0.05$), 见表3。ALB、CREAT、TPROT、ALP、TC、GLU、

ASAT、ALAT、BUN、BIL、TBIL、GGT 血液生化指标未见异常, 经与对照组比较差异无显著性 ($P>0.05$), 见表4。

3.3 对大鼠脏器的影响

对各组大鼠进行系统解剖, 肉眼检查均无明显

表3 参芝通络胶囊对大鼠血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n=20$)Table 3 Effect of STC on hematological indexes of rats ($\bar{x} \pm s, n=20$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	RBC/($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	HGB/(g·L ⁻¹)	HCT/($\times 10^{-21} \cdot L^{-1}$)	MCV/fL	MCH/pg
对照	—	8.61±0.92	4.71±0.63	124.56±6.17	15.71±1.77	35.56±4.48	27.13±3.87
参芝通络胶囊	4	8.26±1.12	4.76±0.70	123.40±7.48	16.57±2.56	34.33±6.07	25.77±3.52
	2	8.28±1.07	4.45±0.70	126.65±6.21	17.70±3.52	39.13±8.18	31.31±6.54
	1	8.57±1.05	4.72±0.77	127.85±7.04	17.42±2.05	37.79±6.72	27.48±5.21
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MCHC/(g·L ⁻¹)	PLT/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	L/%	N/%	M/%	
对照	—	771.78±104.22	482.33±40.33	78.96±3.95	6.99±1.98	13.97±2.44	
参芝通络胶囊	4	773.94±115.43	452.25±74.00	79.82±6.64	5.96±2.57	12.62±4.31	
	2	775.2±126.58	481.15±96.22	79.51±8.30	6.51±3.01	13.97±5.59	
	1	727.4±101.08	464.20±100.10	76.86±5.71	7.44±2.22	15.21±3.62	

表4 参芝通络胶囊对大鼠血液生化学指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of STC on blood biochemical indexes of rats

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	ALB/(g·L ⁻¹)	CREAT/($\mu\text{mol} \cdot L^{-1}$)	TPROT/(g·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	GLU/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	37.79±3.71	137.84±7.87	76.67±6.56	45.15±8.52	1.96±0.27	4.30±0.84
参芝通络胶囊	4	36.62±5.29	136.21±7.40	75.79±5.22	45.15±9.90	1.97±0.25	4.37±0.84
	2	37.52±4.43	138.91±7.88	75.58±7.06	45.70±10.26	1.97±0.23	4.26±0.79
	1	36.84±5.47	138.99±8.30	77.22±7.41	43.65±10.56	1.90±0.27	4.27±0.84
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	ASAT/(U·L ⁻¹)	ALAT/(U·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	BIL/($\mu\text{mol} \cdot L^{-1}$)	TBIL/($\mu\text{mol} \cdot L^{-1}$)	GGT/(U·L ⁻¹)
对照	—	120.26±20.60	65.25±13.37	7.65±1.33	3.95±0.99	38.84±1.77	26.82±6.11
参芝通络胶囊	4	119.72±26.48	67.50±12.88	7.69±1.06	3.99±0.91	38.57±1.00	24.75±5.36
	2	117.70±19.43	66.20±13.41	7.75±1.24	4.19±0.94	39.56±1.47	25.50±7.56
	1	121.68±27.08	67.45±14.46	7.66±0.93	4.01±1.06	38.81±1.02	26.01±6.73

异常。对主要脏器称质量,测定脏器系数,结果参芝通络胶囊各组大鼠脏器系数无明显差异,与对照组比较差异无显著性,见表5、表6。脏器外观大小、

形态、颜色、光滑度和切面无明显异常,镜检未见充血、坏死、增生、炎细胞浸润等组织病理学改变及药物毒性反应,与对照组比较无显著差异。

表5 参芝通络胶囊对雄性大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 5 Effect of STC on visceral coefficients of male rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肝	心	脾	肺	肾	脑
对照	—	3.434 3±0.291 9	0.395 1±0.065 0	0.111 9±0.017 9	0.471 4±0.082 2	0.551 6±0.111 4	0.522 9±0.059 2
参芝通络胶囊	4	3.257 2±0.262 3	0.362 5±0.057 8	0.231 0±0.029 1	0.634 1±0.105 2	0.558 3±0.035 9	0.495 8±0.054 7
	2	3.222 3±0.214 3	0.332 5±0.048 3	0.221 6±0.027 5	0.559 1±0.090 7	0.500 1±0.084 1	0.517 5±0.044 9
	1	3.293 7±0.091 3	0.359 8±0.048 2	0.222 3±0.010 5	0.573 8±0.179 9	0.543 5±0.043 1	0.444 6±0.029 9
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胸腺	肾上腺	甲状腺	前列腺	睾丸	
对照	—	0.077 5±0.010 1	0.014 9±0.002 5	0.008 4±0.002 7	0.201 6±0.019 8	1.462 5±0.157 0	
参芝通络胶囊	4	0.066 8±0.020 3	0.015 8±0.003 8	0.008 8±0.002 3	0.172 5±0.029 2	1.634 9±0.368 7	
	2	0.069 8±0.013 3	0.015 9±0.001 5	0.008 6±0.002 1	0.187 3±0.020 8	1.398 0±0.134 2	
	1	0.075 7±0.024 2	0.015 7±0.003 0	0.007 4±0.001 8	0.191 1±0.020 3	1.737 8±0.122 2	

表6 参芝通络胶囊对雌性大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 6 Effect of STC on visceral coefficients of female rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肝	心	脾	肺	肾	脑
对照	—	3.958 3±0.386 8	0.419 3±0.111 7	0.273 3±0.031 2	0.675 7±0.058 4	0.601 1±0.046 4	0.520 0±0.075 4
参芝通络胶囊	4	3.667 2±0.433 2	0.367 0±0.055 5	0.256 2±0.050 7	0.684 9±0.085 4	0.609 4±0.064 6	0.493 4±0.055 1
	2	3.600 4±0.308 2	0.364 9±0.052 8	0.237 1±0.051 3	0.618 0±0.124 9	0.548 4±0.047 8	0.517 1±0.049 5
	1	3.511 5±0.433 6	0.347 1±0.084 3	0.229 8±0.039 5	0.635 9±0.087 9	0.554 0±0.040 5	0.492 5±0.065 2
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胸腺	肾上腺	甲状腺	卵巢	子宫	
对照	—	0.095 9±0.044 4	0.015 2±0.009 3	0.008 2±0.002 5	0.171 4±0.029 6	0.060 8±0.003 6	
参芝通络胶囊	4	0.068 4±0.012 0	0.016 9±0.005 0	0.008 0±0.002 3	0.178 8±0.022 6	0.057 8±0.005 7	
	2	0.057 7±0.008 1	0.016 2±0.002 3	0.006 9±0.001 2	0.177 9±0.012 9	0.056 8±0.006 2	
	1	0.069 0±0.010 3	0.015 6±0.002 0	0.006 7±0.001 0	0.164 8±0.023 5	0.052 6±0.009 0	

4 讨论

目前抗痛风临床治疗主要以秋水仙碱、非甾体类抗炎药、激素、促进尿酸排泄药和抑制尿酸合成药为主,常见不良反应有皮疹、肠胃刺激、骨髓抑制、肝及神经系统毒性等^[2]。中药治疗痛风性关节炎不良反应少,治疗手段多样,可以根据痛风的不同阶段灵活运用,但目前临床上还存在很多问题值得重视。规范中医辨证分型、完善科研设计、制定具体的临床疗效评价标准、加强药理机制的研究,对提高病人的依从性,开发治疗痛风中成药具有重要意义。

本实验对参芝通络胶囊的安全性进行初步评价,依据国家食品药品监督管理局2005年7月颁发的《中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则》以及大鼠灌胃可承受的最大给药体积、配制药液可

通过灌胃针的最大浓度设计给药剂量,在长期毒性考察中,大鼠13周灌胃给药的大、中、小剂量组分别相当于拟定临床剂量的86、43、22倍,整个试验期(15周)内,参芝通络胶囊对大鼠的活动无明显影响,体质量、血常规、血液生化学指标、脏器病理解剖学及病理组织学检查、脏器指数与对照组比较均无明显差异,也未见明显药物性损害。证明临床剂量口服安全范围大,且在确定的临床使用剂量下,长期服用无明显毒性,为参芝通络胶囊的进一步开发提供实验依据。

参考文献

- [1] 陈俊,肖万泽,赵映前. 从内湿致痹角度浅析痛风的分型论治[J]. 湖南中医杂志, 2012, (3): 48-50.
- [2] 青玉凤,周京国. 痛风发病机制及药物治疗研究现状及展望[J]. 中华临床医师杂志, 2012, 6(10): 129-133.