

【 安全性评价 】

活络效灵丹颗粒对大鼠的长期毒性试验研究

吴虓飞¹, 高晓新¹, 高 阳, 胡宇驰*, 曹春然
北京市药品检验所 药物安全评价中心, 北京 100035

摘要: 目的 研究连续 ig 给予活络效灵丹颗粒对 SD 大鼠产生的毒性反应。方法 活络效灵丹颗粒高、中、低剂量 (以生药计 22.75、16.25、9.75 g/kg) 连续 ig 给药 26 周, 整个实验期间观察大鼠的一般状态, 测定体质量和摄食量, 分别于给药 13、26 周及停药恢复 4 周取部分大鼠进行血液学指标、血清生化学指标、脏器系数和组织病理学检查。结果 临床症状观察未见因给药引起的全身毒性反应, 但高、中剂量组大鼠在给药中后期体质量增长缓慢, 高剂量组大鼠在给药初期摄食量下降; 血液学检查中, 活络效灵丹颗粒可使血小板 (PLT) 水平、凝血酶原时间 (PT) 和活化部分凝血活酶时间 (APTT) 增高, 红细胞分布宽度 (RDW) 降低, 原因与该药活血化瘀作用有关; 血清生化学检查中, 活络效灵丹颗粒可降低天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 水平, 增加血糖 (GLU)、总胆红素 (TBIL)、碱性磷酸酶 (ALP) 和总胆固醇 (CHO) 水平; 活络效灵丹颗粒可使肝脏、肾脏和肾上腺系数增高; 停药后上述指标均可恢复至正常范围; 组织病理学检查未见明显病变。结论 活络效灵丹颗粒 (9.75~22.75 g 生药/kg) 对大鼠长期给药, 未见明显毒性反应。

关键词: 活络效灵丹颗粒; 长期毒性; 大鼠; 体质量; 摄食量; 血液学; 血清生化; 脏器系数; 组织病理

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2016)06-0973-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.06.011

Long-term toxicity of Huoluo Xiaoling Dan Granule in rats

WU Xiao-fei, GAO Xiao-xin, GAO yang, HU Yu-chi, CAO Chun-ran

Drug Safety Evaluation Center, Beijing Institute for Drug Control, Beijing 100035, China

Abstract: Objective To investigate the long-term toxicity reaction of Huoluo Xiaoling Dan Granule (HLXLD) in SD rats. **Methods** Rats were randomly divided into four groups: control group; HLXLD low, medium, and high dose (dry herbs: 22.75, 16.25, and 9.75 g/kg) groups, and HLXLD was orally given for 26 weeks. Clinical observation and examination of body weight and food intake were performed during whole experimental stage. The hematology, blood-biochemics, organ coefficient, and pathohistology were also examined at 13 weeks and 26 weeks during the administration, and at 4 weeks after the withdrawal, respectively. **Results** No abnormality was found in all rats in clinical observation, but body weight growth of HLXLD medium and high dose groups was retarded during the mid- and late-stage of administration and the amount of food intake of high dose group decreased at the beginning of the administration. In hematology analysis, HLXLD significantly increased platelet (PLT), prothrombin time (PT), and activated partial thromboplastin time (APTT) and significantly decreased red cell distribution width (RDW), which should be associated with the promoting blood circulation and removing blood stasis effect of HLXLD. In biochemistry analysis, HLXLD significantly decreased aspartate aminotransferase (AST), increased blood glucose (GLU), total bilirubin (TBIL), alkaline phosphatase (ALP), and total cholesterol (CHO) contents. In addition, HLXLD elevated the coefficient of liver, kidney, and adrenal gland. In histopathological observation, HLXLD showed no apparent influence in organs of rats. No delayed toxicity reaction was showed at four weeks after the administration. **Conclusion** HLXLD (9.75 to 22.75 g/kg) shows no obvious toxicity in rats for long-term administration.

收稿日期: 2016-02-04

作者简介: 吴虓飞, 男, 博士, 主管药师, 研究方向为药理毒理学。Tel: 13811999439 E-mail: love_wuxiaofei@163.com

高晓新, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为病理生理学。E-mail: gaioxiaoxin@bidc.org.cn

*通信作者 胡宇驰, 男, 硕士, 副主任药师, 研究方向为药理毒理学。E-mail: huyuchi@bidc.org.cn

Key words: Huoluo Xiaoling Dan Granule; long-term toxicity; rat; body weight; food intake; hematology; serum biochemical; organ coefficient; histopathology

活络效灵丹颗粒是中国中医科学院中医基础理论研究所研制的复方制剂,拟定功能主治为活血化瘀、舒筋活络、消肿止痛,主治关节肿胀、疼痛、活动不利,用于骨性关节炎跌打损伤见上述症状者。目前关于活络效灵丹颗粒的毒理学报道较少,本研究为了进一步了解其临床长期用药的安全性,参照《中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则》的相关规定^[1],严格按照GLP的要求,研究26周重复ig给药活络效灵丹颗粒对大鼠产生的不良反应,明确其毒性反应的症状和严重程度,确定其毒性靶器官,为拟订临床安全剂量、确定临床用药提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与主要试剂

活络效灵丹颗粒,批号121028,由中国中医科学院中医基础理论研究所提供,1g药粉相当于2.97g生药,成人日服用量相当于口服13.2g药粉。方中主要药材组成为赤芍、丹参、羌活、川芎、桂枝、甘草等。

血清生化相关试剂,中生北控生物科技股份有限公司;血液分析相关试剂,日本光电工业株式会社授权上海东湖仪器试剂科技有限责任公司;凝血因子分析相关试剂,美国Instrumentation Laboratory公司;电解质分析相关试剂,英国朗道公司;水合氯醛,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器

OLYMPUS AU400全自动生化仪,日本奥林巴斯公司;Celltae MEK-6318K血细胞分析仪,日本光电工业株式会社;EasyLYte PLUS Na/K/Cl ANALYZER电解质分析仪,美国MEDICA Corporation;ACL ELITE PRO全自动血凝分析仪,美国Instrumentation Laboratory Corporation;Nikon显微镜,日本尼康公司;Leica ASP-200组织脱水机、Leica EG 1150H组织包埋机、Leica RM 2245半自动切片机、Leica H I 1210摊片机、Leica H I 1220烤片机、Leica Auto Stainer XL染色机、Leica DM 3000光学显微镜,均购自德国莱卡公司。

1.3 动物

SPF级SD大鼠176只,雌雄各半,体质量110~160g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,

动物合格证号SCXK(京)2012-0003。

2 方法

2.1 长期毒性试验方法

SD大鼠检疫1周后,按体质量随机分为对照组(给予等体积去离子水),活络效灵丹颗粒高、中、低剂量(生药剂量22.75、16.25、9.75g/kg,相当于拟定临床人用剂量的35、25、15倍)组,每组44只。给药体积为10mL/kg,每天给药1次,连续给药26周,停药恢复4周。在整个实验期间观察大鼠临床症状、摄食和体质量增长等。分别在给药13周(每组12只)、给药26周(每组20只)和停药4周(每组12只)检测大鼠血液学(血细胞分析和凝血时间测定)、血清生化和血清电解质、脏器系数指标,并进行脏器组织病理学检查。

2.2 检测指标

取血于血细胞分析仪上测定血液学指标:白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白浓度(HGB)、网织红细胞计数(Ret)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白水平(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、血小板(PLT)、淋巴细胞水平(LY)、单核细胞水平(MO)、中性粒细胞水平(GR)、红细胞分布宽度(RDW)、血小板压积(PCT)、血小板分布宽度(PDW)、平均血小板体积(MPV)。

于血凝分析仪上测定凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)。

取血分离血清(在2~8℃冰箱内放置1~2h,2500r/min离心15min分离血清),于全自动生化分析仪上测定血清生化指标:天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、尿素(Urea)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、血糖(GLU)、三酰甘油(TG)、总胆红素(TBIL)、肌苷(CR)、总胆固醇(CHO)、r-谷氨酰氨基转移酶(GGT)、肌酸激酶(CK)。

于电解质分析仪上测定血清电解质指标:钾离子浓度(K⁺)、钠离子浓度(Na⁺)、氯离子浓度(Cl⁻)。

大鼠ip 4%水合氯醛(10mL/kg)麻醉,放血处死后,主要脏器进行全面尸检,肉眼观察各脏器有无病变异常情况(脏器大小、形态、色泽、质感

的变化, 并注意有无器官充血, 水肿黏连和包块); 取脑、心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、脊髓(颈、胸、腰段)、垂体、食管、胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠、睾丸、附睾、前列腺、精囊腺、子宫、卵巢、膀胱、胸腺、甲状腺、甲状旁腺、唾液腺(颌下腺)、胰腺、气管、主动脉、淋巴结、坐骨神经、胸骨及病变组织进行病理组织学检查, 并称主要脏器的质量, 计算脏器系数。

2.3 统计学分析

使用 SPSS 11.5 软件对数据进行统计分析, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行单因素方差分析, 然后根据方差分析结果, 进行 Dunnett-t 检验, 比较各给药组与对照组数据均数的差异显著性。

3 结果

3.1 对一般症状的影响

给药期间和恢复期, 各组大鼠未见因给予活络效灵丹颗粒引起的毒性反应, 大鼠全部存活, 外观体征、毛发、行为活动、腺体分泌、呼吸、排泄等未见明显异常。

3.2 对体质量和摄食量的影响

给药期间各组大鼠体质量均增长, 但随着给药时间的延长, 体质量增长减缓。雄性大鼠高剂量组在给药 6 个月, 雌性大鼠高、中剂量组在给药 4~6 个月, 体质量增长速度缓慢, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05$), 结果见表 1 和 2。在给药 1 个月内高剂量组大鼠摄食量明显低于对照组, 差异显著 ($P < 0.05$), 结果见表 3 和 4。停药恢复 4 周, 各剂量组大鼠体质量和摄食量与对照组比较, 差异不显著。

表 1 活络效灵丹颗粒对雄性大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	体质量/g							
		给药 0 个月	给药 1 个月	给药 2 个月	给药 3 个月	给药 4 个月	给药 5 个月	给药 6 个月	恢复 1 个月
对照	—	215.7±9.1	386.0±33.4	455.2±47.0	501.6±61.7	536.5±73.5	566.5±77.9	615.1±84.5	636.5±94.9
活络效灵丹颗粒	9.75	219.0±8.5	407.4±33.6	466.4±43.2	534.6±58.4	572.8±66.6	602.3±69.6	624.0±73.4	655.9±82.7
	16.25	215.3±15.2	384.9±30.3	444.4±44.0	479.9±64.1	518.4±64.8	541.9±71.3	563.3±75.2	622.7±73.1
	22.75	219.0±9.2	381.1±31.8	434.7±41.4	473.0±40.5	515.2±44.8	530.2±52.6	545.8±58.7*	637.0±47.3

与对照组比较: * $P < 0.05$, 下同

* $P < 0.05$ vs control group, same as below

表 2 活络效灵丹颗粒对雌性大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of HLXLD on body weight of female rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	体质量/g							
		给药 0 个月	给药 1 个月	给药 2 个月	给药 3 个月	给药 4 个月	给药 5 个月	给药 6 个月	恢复 1 个月
对照	—	178.9±10.2	263.2±16.5	294.8±21.1	309.7±27.1	339.7±30.9	347.9±33.2	361.9±40.7	370.0±37.0
活络效灵丹颗粒	9.75	179.5±11.2	265.4±23.6	291.3±27.0	306.2±27.2	318.2±28.8	323.9±27.8	330.8±29.8	358.0±34.8
	16.25	181.2±9.90	268.9±22.5	288.3±23.9	300.4±29.8	306.4±29.1*	311.0±29.4*	314.4±29.3*	340.6±15.6
	22.75	181.0±10.6	260.3±22.2	280.3±28.0	294.5±30.4	306.5±36.9*	309.6±38.8*	318.7±43.9*	337.4±51.0

表 3 活络效灵丹颗粒对雄性大鼠摄食量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of HLXLD on food intake of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	摄食量/(g·100 g ⁻¹)						
		给药 1 个月	给药 2 个月	给药 3 个月	给药 4 个月	给药 5 个月	给药 6 个月	恢复 1 个月
对照	—	7.5±0.2	5.6±0.2	5.2±0.1	4.7±0.4	4.5±0.4	4.6±0.4	4.2±0.2
活络效灵丹颗粒	9.75	7.3±0.2	5.4±0.1	5.1±0.1	4.4±0.1	4.3±0.1	4.7±0.2	4.5±0.1
	16.25	7.1±0.3	5.5±0.1	5.2±0.2	4.8±0.2	4.5±0.1	4.7±0.3	4.7±0.3
	22.75	6.8±0.4*	5.5±0.2	5.0±0.3	4.6±0.1	4.3±0.2	4.6±0.3	4.3±0.1

表 4 活络效灵丹颗粒对雌性大鼠摄食量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of HLXLD on food intake of femal rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	摄食量/(g·100 g ⁻¹)						
		给药 1 个月	给药 2 个月	给药 3 个月	给药 4 个月	给药 5 个月	给药 6 个月	恢复 1 个月
对照	—	8.1±0.3	6.5±0.3	6.5±0.4	6.0±0.1	5.4±0.2	5.9±0.3	5.3±0.5
活络效灵 丹颗粒	9.75	7.7±0.2	6.1±0.3	6.1±0.3	5.8±0.8	5.1±0.2	5.7±0.2	5.4±0.4
	16.25	7.8±0.4	6.1±0.2	6.2±0.5	5.8±0.6	5.3±0.4	5.8±0.6	5.6±0.2
	22.75	7.2±0.2*	6.2±0.4	6.3±0.3	5.5±0.4	5.3±0.4	5.7±0.6	5.2±0.3

3.3 对血液学指标的影响

给药 13 周, 雄性大鼠中剂量组 PT 显著高于对照组, 差异显著 ($P < 0.05$), 其它各项血液学指标与对照组比较, 差异不显著。雄性大鼠高、低剂量组以及雌性大鼠各剂量组血液学指标与对照组比较, 差异不显著, 结果见表 5 和 6。给药 26 周, 雌性大鼠中剂量组 PLT 和高剂量组 APTT 显著高

于对照组, 高、中剂量组 RDW 显著低于对照组, 差异显著 ($P < 0.05$), 其它各项血液学指标与对照组比较, 差异不显著。雌性大鼠低剂量组以及雄性大鼠各剂量组血液学指标与对照组比较, 差异不显著, 结果见表 7 和 8。停药恢复 4 周后, 各剂量组血液学指标, 与对照组比较, 差异不显著, 结果见表 9 和 10。

表 5 活络效灵丹颗粒给药 13 周结束对雄性大鼠血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Effect of HLXLD on hematology of male rats after 13 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	WBC/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RBC/ (10 ¹² ·L ⁻¹)	HGB/(g·L ⁻¹)	HCT/%	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/ (g·L ⁻¹)	PLT/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RDW/%
		对照	—	11.9±2.2	8.1±0.4	152±7	44.5±2.2	55.1±2.5	18.8±0.9	342±8
活络效灵 丹颗粒	9.75	11.3±3.6	8.0±0.4	151±4	43.8±1.6	54.5±1.6	18.8±0.7	346±5	380±36	12.9±0.3
	16.25	13.1±1.6	7.9±0.5	153±8	44.1±3.2	56.1±3.2	19.5±1.2	347±10	361±54	12.8±0.5
	22.75	13.7±3.2	7.6±0.4	148±3	42.8±1.1	56.5±1.9	19.5±0.6	345±4	428±59	12.9±0.3

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PCT/%	MPV/fL	PDW/%	APTT/s	PT/s	Ret/%	白细胞分类		
								LY/%	MO/%	GR/%
对照	—	0.26±0.04	6.4±0.2	11.9±0.6	12.4±2.1	9.3±0.9	16±1	78.4±5.2	10.5±1.5	11.1±1.9
活络效灵 丹颗粒	9.75	0.24±0.03	6.3±0.3	12.0±0.5	12.9±0.6	10.3±0.7	16±2	77.9±3.8	11.5±1.4	10.6±1.6
	16.25	0.22±0.04	6.4±0.2	12.1±0.3	12.6±1.5	10.7±1.2*	12±0	78.4±7.0	10.3±0.8	11.3±0.9
	22.75	0.27±0.04	6.3±0.2	12.0±0.3	12.2±1.3	9.6±0.9	18±1	75.8±9.4	10.4±1.5	13.8±2.3

表 6 活络效灵丹颗粒给药 13 周结束对雌性大鼠血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Effect of HLXLD on hematology of female rats after 13 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	WBC/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RBC/ (10 ¹² ·L ⁻¹)	HGB/ (g·L ⁻¹)	HCT/%	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/ (g·L ⁻¹)	PLT/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RDW/%
		对照	—	7.8±2.4	7.0±0.4	140±6	40.2±1.6	57.3±1.3	21.0±0.5	366±4
活络效灵 丹颗粒	9.75	7.4±1.9	6.6±0.7	137±8	38.4±2.9	58.7±2.6	21.0±1.1	361±8	352±61	12.2±0.5
	16.25	7.0±2.2	6.5±0.4	135±8	37.8±2.3	58.2±1.9	20.9±0.6	359±6	346±24	12.1±0.5
	22.75	8.0±2.6	6.7±0.1	133±5	37.0±1.3	56.9±1.6	20.4±0.7	358±3	366±45	12.1±0.3

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PCT/%	MPV/fL	PDW/%	APTT/s	PT/s	Ret/%	白细胞分类		
								LY/%	MO/%	GR/%
对照	—	0.23±0.02	6.5±0.2	12.4±0.6	8.1±0.4	7.8±0.6	14±2	79.7±8.5	9.0±1.4	11.3±0.6
活络效灵 丹颗粒	9.75	0.22±0.04	6.4±0.1	12.1±0.4	8.2±0.3	7.7±0.6	15±1	85.7±7.6	8.6±0.9	5.7±0.4
	16.25	0.22±0.02	6.4±0.2	12.2±0.3	8.4±0.5	8.4±1.3	20±2	80.3±6.6	8.1±1.8	11.6±1.1
	22.75	0.23±0.04	6.4±0.3	12.0±0.4	8.2±0.6	8.3±0.8	14±1	80.7±5.5	8.5±1.5	10.6±0.4

表7 活络效灵丹颗粒给药26周结束对雄性大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 7 Effect of HLXLD on hematology of male rats after 26 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	WBC/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RBC/ (10 ¹² ·L ⁻¹)	HGB/ (g·L ⁻¹)	HCT/%	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/ (g·L ⁻¹)	PLT/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RDW/%	白细胞分类		
											LY/%	MO/%	GR/%
对照	—	8.4±3.2	8.8±0.5	151±7	46.1±2.7	52.6±1.6	17.3±0.6	328±8	441±38	13.6±0.4			
活络效灵丹颗粒	9.75	10.4±1.3	8.4±0.6	145±5	43.9±1.8	52.1±2.2	17.2±0.8	330±5	485±68	13.6±0.4			
	16.25	9.6±2.2	8.2±0.4	144±7	43.8±2.3	53.6±1.2	17.6±0.6	329±8	509±84	13.7±0.4			
	22.75	8.0±3.4	7.9±1.6	140±27	43.1±8.6	54.8±2.1	17.8±0.6	325±7	479±91	13.9±0.4			
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PCT/%	MPV/fL	PDW/%	APTT/s	PT/s	Ret/‰	白细胞分类					
								LY/%	MO/%	GR/%			
对照	—	0.27±0.03	6.3±0.2	11.7±0.4	13.2±2.0	9.9±0.7	7±1	73.3±10.3	9.4±1.7	17.3±1.2			
活络效灵丹颗粒	9.75	0.30±0.05	6.2±0.2	11.7±0.4	12.5±2.3	9.9±0.5	7±0	67.4±10.3	9.6±1.4	23.1±2.1			
	16.25	0.32±0.06	6.3±0.1	11.7±0.4	12.3±1.9	9.4±0.4	6±0	71.7±7.4	8.9±1.1	19.4±1.4			
	22.75	0.29±0.06	6.1±0.2	11.7±0.4	12.8±2.2	9.6±0.5	7±0	74.8±7.6	8.2±1.0	17.0±1.7			

表8 活络效灵丹颗粒给药26周结束对雌性大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 8 Effect of HLXLD on hematology of female rats after 26 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	WBC/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RBC/ (10 ¹² ·L ⁻¹)	HGB/ (g·L ⁻¹)	HCT/%	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/ (g·L ⁻¹)	PLT/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RDW/%	白细胞分类		
											LY/%	MO/%	GR/%
对照	—	4.8±1.5	7.2±0.4	128±11	40.9±2.7	56.7±1.8	17.7±1.1	313±15	374±55	12.7±0.2			
活络效灵丹颗粒	9.75	5.7±2.3	7.2±0.4	126±10	40.7±1.8	56.3±1.6	17.5±1.1	310±21	378±54	12.5±0.3			
	16.25	4.9±1.2	7.2±0.5	127±9	40.6±2.4	56.7±1.8	17.8±1.3	314±17	446±68*	12.4±0.3*			
	22.75	5.9±1.7	7.0±0.4	125±9	39.5±2.6	56.1±0.9	17.8±1.0	316±18	397±74	12.4±0.3*			
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PCT/%	MPV/fL	PDW/%	APTT/s	PT/s	Ret/‰	白细胞分类					
								LY/%	MO/%	GR/%			
对照	—	0.23±0.04	6.3±0.2	12.5±0.6	11.8±1.4	7.6±0.5	5±0	74.4±7.5	9.9±1.5	15.7±1.0			
活络效灵丹颗粒	9.75	0.23±0.03	6.2±0.1	12.0±0.5	12.5±1.1	7.3±0.2	6±1	74.7±9.3	10.0±2.1	15.4±1.4			
	16.25	0.26±0.05	6.3±0.2	12.1±0.4	13.3±1.9	7.8±0.5	7±1	70.5±12.5	9.5±1.8	20.1±2.7			
	22.75	0.24±0.05	6.2±0.1	11.9±0.4	13.9±1.4*	8.0±0.5	6±0	74.8±11.5	8.8±1.7	16.4±1.1			

表9 活络效灵丹颗粒对恢复期雄性大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 9 Effect of HLXLD on hematology of male rats in convalescent period ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	WBC/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RBC/ (10 ¹² ·L ⁻¹)	HGB/ (g·L ⁻¹)	HCT/%	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/ (g·L ⁻¹)	PLT/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RDW/%	白细胞分类		
											LY/%	MO/%	GR/%
对照	—	9.9±2.3	8.1±0.3	141±9	41.6±2.1	51.4±0.9	17.4±0.9	339±19	700±166	13.2±0.7			
活络效灵丹颗粒	9.75	9.3±1.6	8.6±0.2	150±5	44.1±2.0	51.4±3.2	17.5±0.7	340±8	823±115	13.5±0.6			
	16.25	7.6±1.8	8.3±0.5	150±11	43.9±4.0	53.0±2.0	18.1±0.4	342±15	794±63	12.6±0.4			
	22.75	10.3±2.8	8.3±0.7	149±9	43.5±2.8	52.5±1.2	18.0±0.8	344±10	826±82	12.9±0.7			
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PCT/%	MPV/fL	PDW/%	APTT/s	PT/s	Ret/‰	白细胞分类					
								LY/%	MO/%	GR/%			
对照	—	0.16±0.07	2.2±0.5	15.2±0.6	13.7±1.0	8.8±0.1	6±2	55.7±6.2	16.7±5.2	27.6±4.8			
活络效灵丹颗粒	9.75	0.18±0.02	2.2±0.2	15.1±0.8	14.3±1.3	8.4±0.3	6±2	60.1±9.9	13.3±2.9	26.7±7.2			
	16.25	0.17±0.03	2.1±0.3	15.0±0.4	12.9±2.5	8.2±0.5	7±2	58.9±10.8	13.2±2.8	27.9±3.5			
	22.75	0.17±0.02	2.2±0.3	14.8±0.4	14.8±1.7	8.5±0.3	7±2	58.1±8.5	15.8±4.3	26.2±6.4			

表 10 活络效灵丹颗粒对恢复期大鼠血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 10 Effect of HLXLD on hematology of female rats in convalescent period ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	WBC/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	RBC/ (10 ¹² ·L ⁻¹)	HGB/ (g·L ⁻¹)	HCT/%	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/ (g·L ⁻¹)	PLT/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)			RDW/%
									LY/%	MO/%	GR/%	
对照	—	7.2±2.7	7.4±0.5	142±6	40.7±2.3	54.8±1.9	19.2±0.9	350±9	440±44			12.4±0.2
活络效灵丹颗粒	9.75	5.6±1.2	7.6±0.7	145±10	42.0±3.5	55.6±1.4	19.2±0.7	346±8	434±84			12.3±0.5
	16.25	6.2±1.7	7.5±0.7	144±11	41.3±3.5	54.9±1.4	24.2±2.1	349±8	422±67			12.5±0.3
	22.75	5.3±2.5	6.8±1.3	130±23	37.6±7.1	55.1±1.3	19.0±0.7	345±11	389±39			12.2±0.2
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PCT/%	MPV/fL	PDW/%	APTT/s	PT/s	Ret/‰	白细胞分类				
								LY/%	MO/%	GR/%		
对照	—	0.28±0.03	6.5±0.2	12.5±0.5	12.7±1.9	8.2±0.4	5±2	71.6±13.4	11.2±2.7			17.2±2.2
活络效灵丹颗粒	9.75	0.27±0.06	6.4±0.4	12.5±0.2	13.8±1.2	8.2±0.4	6±2	67.4±13.4	10.7±2.0			21.9±2.8
	16.25	0.27±0.05	6.4±0.3	12.3±0.5	13.0±0.9	8.1±0.5	7±2	67.3±13.9	11.0±1.6			21.7±2.7
	22.75	0.24±0.09	6.6±0.7	12.5±0.6	12.4±0.9	8.3±0.9	6±2	67.8±15.6	10.8±1.2			21.5±3.1

3.4 对血清生化学指标的影响

给药 13 周, 雄性大鼠中、高剂量组 AST 水平显著降低; 高剂量组 ALP 水平显著增高, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05$), 其它各项血清生化学指标与对照组比较, 差异不显著。雄性大鼠低剂量组以及雌性大鼠各剂量组血清生化学指标与对照组比较, 差异不显著, 见表 11 和 12。给药 26 周, 雄性大鼠高、中、低剂量组 AST 水平显著降低; 高剂量组

TBIL 和 ALP 水平以及中剂量组 CHO 水平显著增高, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05$), 其它各项血清生化学指标与对照组比较, 差异不显著, 见表 13。雌性大鼠中剂量组 GLU 水平显著增高, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05$), 其它各项血清生化学指标及高、低剂量组血清生化学指标与对照组比较, 差异不显著, 见表 14。停药恢复 4 周后, 各剂量组血清生化学指标, 与对照组比较, 差异不显著, 见表 15 和 16。

表 11 活络效灵丹颗粒给药 13 周结束对雄性大鼠血清生化学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 11 Effect of HLXLD on blood-biochemics of male rats after 13 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	Urea/ (mmol·L ⁻¹)	Cre/ (μmol·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
活络效灵丹颗粒	9.75	35±9	80±9	61.4±2.9	33.5±2.3	1.0±0.4	6.03±1.06	75.4±4.1	9.02±2.67
	16.25	36±5	77±15*	61.8±2.8	35.2±1.8	1.0±0.4	5.81±0.67	77.7±2.3	9.01±0.86
	22.75	31±5	74±12*	62.1±3.0	36.6±1.6	1.3±0.4	6.43±1.76	79.7±7.1	8.83±1.78
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	CHO/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)	
									对照
活络效灵丹颗粒	9.75	584±149	95.1±33.3	1.77±0.40	0.60±0.18	143.5±3.8	4.92±0.20	101.6±1.8	
	16.25	743±176	118.3±24.5	1.89±0.45	0.65±0.10	143.8±4.0	5.15±0.31	100.3±1.0	
	22.75	597±160	145.6±46.9*	2.33±0.57	0.67±0.15	145.1±4.5	5.18±0.36	100.2±1.2	

表 12 活络效灵丹颗粒给药 13 周结束对雌性大鼠血清生化学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 12 Effect of HLXLD on blood-biochemics of female rats after 13 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	Urea/ (mmol·L ⁻¹)	Cre/ (μmol·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
活络效灵丹颗粒	9.75	36±2	69±9	63.4±2.9	35.5±2.3	0.9±0.4	6.18±1.06	79.4±4.1	9.52±2.67
	16.25	28±5	76±15	62.8±2.8	37.2±1.8	0.8±0.4	5.85±0.67	78.7±2.3	9.21±0.86
	22.75	29±3	69±12	63.1±3.0	36.6±1.6	0.9±0.4	6.32±1.76	81.7±7.1	9.93±1.78
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	CK/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	CHO/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)	
									对照
活络效灵丹颗粒	9.75	436±119	49.7±5.7	2.44±0.41	0.79±0.20	144.0±1.7	4.87±1.12	100.7±1.2	
	16.25	778±139	63.2±7.6	2.62±0.41	0.71±0.10	146.0±0.7	4.67±0.40	101.9±2.6	
	22.75	413±135	62.6±10.3	2.31±0.46	0.85±0.09	143.9±1.1	4.51±0.38	101.6±1.3	

表 13 活络效灵丹颗粒给药 26 周结束对雄性大鼠血清生化学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 13 Effect of HLXLD on blood-biochemics of male rats after 26 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	Urea/ (mmol·L ⁻¹)	Cre/ (μmol·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	51±25	122±35	60.4±3.8	34.0±1.9	2.2±0.2	5.79±0.93	75.4±7.4	10.05±2.10
活络效灵 丹颗粒	9.75	39±10	91±34*	61.1±4.4	34.6±2.2	2.2±0.2	5.54±1.10	80.9±6.3	10.20±1.87
	16.25	46±12	77±13*	62.9±5.0	35.8±2.5	2.4±0.5	5.34±0.75	80.3±6.2	10.66±1.63
	22.75	62±19	76±12*	65.8±7.4	36.7±2.5	3.2±0.5*	5.47±0.84	79.0±7.7	9.61±0.35
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	CK/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	CHO/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)	
对照	—	693±89	78.8±20.3	1.51±0.34	0.50±0.07	137.2±3.8	5.76±1.57	100.5±1.3	
活络效灵 丹颗粒	9.75	866±97	95.3±19.2	1.90±0.30	0.48±0.02	139.8±5.6	5.43±1.08	99.8±1.9	
	16.25	556±53	108.0±28.7	2.10±0.45*	0.46±0.05	137.2±2.5	6.11±2.29	99.9±2.5	
	22.75	454±66	136±18.2*	1.92±0.38	0.36±0.13	137.8±2.6	8.11±1.31	99.2±2.7	

表 14 活络效灵丹颗粒给药 26 周结束对雌性大鼠血清生化学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 14 Effect of HLXLD on blood-biochemics of female rats after 26 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	Urea/ (mmol·L ⁻¹)	Cre/ (μmol·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	40±9	109±28	64.4±3.7	37.2±1.9	2.3±0.4	5.30±0.70	81.2±5.0	8.52±1.05
活络效灵 丹颗粒	9.75	36±14	79±22	64.1±3.3	38.0±2.6	2.3±0.4	4.98±1.27	82.7±5.6	9.08±1.21
	16.25	68±11	102±30	70.5±6.4	40.3±2.8	2.4±0.3	5.24±0.83	83.0±5.2	11.90±1.90*
	22.75	48±4	88±10	66.2±4.2	38.6±2.0	2.1±0.4	5.10±1.12	78.4±6.1	9.11±1.45
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	CHO/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)	
对照	—	631±117	41.0±13.7	2.13±0.33	0.43±0.15	137.4±6.6	4.38±0.43	102.8±1.6	
活络效灵 丹颗粒	9.75	445±122	54.3±17.7	2.16±0.50	0.53±0.27	144.7±9.5	4.51±0.44	101.1±1.3	
	16.25	411±145	48.2±19.0	2.46±0.67	0.47±0.15	141.0±10.2	4.81±0.12	100.8±2.2	
	22.75	498±90	52.0±18.7	2.64±0.46	0.48±0.23	139.8±7.3	4.49±0.63	101.3±1.2	

表 15 活络效灵丹颗粒对恢复期雄性大鼠血清生化学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 15 Effect of HLXLD on blood-biochemics of male rats in convalescent period ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	Urea/ (mmol·L ⁻¹)	Cre/ (μmol·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	36±3	98±24	58.6±12.8	33.2±4.0	3.3±0.5	6.0±0.7	78.4±5.6	10.27±2.31
活络效灵 丹颗粒	9.75	30±3	90±11	65.5±5.4	35.2±1.3	3.1±0.3	5.5±0.7	77.6±4.1	10.55±1.37
	16.25	33±5	86±21	59.2±12.4	33.6±4.0	3.1±0.3	5.7±0.9	75.6±5.4	10.48±0.94
	22.75	32±9	92±23	63.6±6.5	34.2±2.6	3.1±0.4	5.8±0.5	81.1±4.1	10.26±2.17
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	CK/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	CHO/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)	
对照	—	262±57	77.4±12.3	1.89±0.46	0.79±0.50	140.8±6.2	4.78±0.26	103.0±1.7	
活络效灵 丹颗粒	9.75	263±48	86.2±21.3	1.86±0.26	0.96±0.66	140.1±4.8	5.02±0.47	101.4±1.4	
	16.25	248±71	82.9±9.1	1.75±0.34	0.81±0.31	135.1±3.3	5.21±0.27	101.8±1.4	
	22.75	355±38	93.7±21.8	1.85±0.26	0.41±0.16	138.7±2.9	5.06±0.35	102.2±1.1	

表 16 活络效灵丹颗粒对恢复期雌性大鼠血清生化学指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 16 Effect of HLXLD on blood-biochemics of female rats in convalescent period ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	Urea/ (mmol·L ⁻¹)	Cre/ (μmol·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	36±10	109±16	70.7±3.2	39.6±1.8	3.6±0.3	6.01±0.71	85.4±3.4	9.57±0.88
活络效灵 丹颗粒	9.75	31±11	93±27	71.8±4.8	41.4±2.4	3.0±0.5	5.47±0.95	84.3±4.1	11.11±4.20
	16.25	41±9	98±26	72.1±5.4	39.6±2.4	3.4±0.7	6.16±0.45	81.9±5.6	10.02±0.79
	22.75	37±11	92±14	71.8±3.3	40.4±3.2	3.2±0.4	6.33±0.32	80.5±6.3	10.84±1.26
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	CK/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	CHO/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)	
对照	—	189±11	45.7±15.2	2.00±0.36	0.54±0.07	140.3±5.1	4.22±0.18	101.9±1.9	
活络效灵 丹颗粒	9.75	255±49	46.1±10.7	2.42±0.68	0.54±0.09	140.3±4.9	5.06±0.92	101.0±2.8	
	16.25	386±47	38.4±9.0	2.17±0.45	0.47±0.11	140.9±5.0	4.68±0.41	101.2±0.8	
	22.75	219±65	33.6±8.4	1.99±0.48	0.50±0.12	141.7±3.9	4.50±0.43	100.8±2.2	

3.5 脏器系数检查

给药 13 周, 高剂量组肝脏和肾脏系数明显增高, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05$), 其它各项脏器系数以及中、低剂量组脏器系数指标与对照组比较, 差异不显著, 结果见表 17 和 18。给药 26 周, 高、中剂量组肝脏和肾脏系数明显增高 ($P < 0.05$), 高剂量组肾上腺系数明显增高 ($P < 0.05$), 其它各项脏器系数以及低剂量组脏器系数指标与对照组比较, 差异不显著, 结果见

表 19 和 20。停药恢复 4 周后, 各剂量组脏器系数指标, 与对照组比较, 差异不显著, 结果见表 21 和 22。

3.6 组织病理学检查

给药 13、26 周及恢复期剖检大鼠, 各脏器的形态、大小、色泽均未发现肉眼可见的变化。高、中、低剂量组主要脏器组织未见与给药有关的病理性损伤; 停药恢复 4 周, 各剂量组主要脏器组织也未见迟发性病理性改变。

表 17 活络效灵丹颗粒给药 13 周结束对雄性大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 17 Effect of HLXLD on organ indexes of male rats after 13 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	心/(g·kg ⁻¹)	肝/(g·kg ⁻¹)	脾/(g·kg ⁻¹)	肺/(g·kg ⁻¹)	脑/(g·kg ⁻¹)	胸腺/(g·kg ⁻¹)
对照	—	3.0±0.3	26.7±1.2	1.5±0.4	3.0±0.3	4.3±0.6	0.5±0.2
活络效灵 丹颗粒	9.75	3.3±0.2	29.0±2.1	1.4±0.5	3.1±0.1	4.7±0.3	0.5±0.1
	16.25	3.3±0.4	29.1±1.5	1.4±0.2	3.0±0.2	4.5±0.5	0.7±0.1
	22.75	3.3±0.4	33.0±1.6*	1.4±0.4	3.2±0.3	4.7±0.4	0.6±0.2
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	精囊腺/(g·kg ⁻¹)	前列腺/(g·kg ⁻¹)	睾丸/(g·kg ⁻¹)	附睾/(g·kg ⁻¹)	肾/(g·kg ⁻¹)	肾上腺/(mg·kg ⁻¹)
对照	—	3.7±0.8	3.3±0.5	3.4±0.4	1.3±0.2	3.0±0.2	69.1±8.1
活络效灵 丹颗粒	9.75	3.4±0.7	3.6±0.3	3.7±0.3	1.4±0.1	3.5±0.5	72.3±7.7
	16.25	3.8±0.5	3.2±0.2	3.6±0.3	1.5±0.2	3.4±0.2	66.4±9.0
	22.75	3.8±0.6	3.7±0.7	3.7±0.4	1.4±0.1	3.8±0.4*	73.2±10.0

表 18 活络效灵丹颗粒给药 13 周结束对雌性大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 18 Effect of HLXLD on organ index of female rats after 13 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	心/(g·kg ⁻¹)	肝/(g·kg ⁻¹)	脾/(g·kg ⁻¹)	肺/(g·kg ⁻¹)	脑/(g·kg ⁻¹)
对照	—	3.6±0.2	26.5±1.7	1.7±0.3	3.9±0.2	6.6±0.4
活络效灵 丹颗粒	9.75	3.7±0.3	31.6±3.3	1.6±0.3	4.0±0.2	7.1±0.4
	16.25	3.9±0.3	32.5±1.8	1.8±0.1	4.1±0.1	7.3±0.3
	22.75	3.7±0.5	35.3±2.1*	2.0±0.2	3.8±0.3	7.1±0.6
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胸腺/(g·kg ⁻¹)	子宫/(g·kg ⁻¹)	卵巢/(mg·kg ⁻¹)	肾/(g·kg ⁻¹)	肾上腺/(mg·kg ⁻¹)
对照	—	1.1±0.1	1.6±0.2	159.7±29.8	3.1±0.3	119.1±7.6
活络效灵 丹颗粒	9.75	1.0±0.1	1.6±0.4	140.1±15.1	3.5±0.4	122.0±6.9
	16.25	1.0±0.1	1.9±0.6	145.0±17.6	3.6±0.5	117.9±8.5
	22.75	0.8±0.1	1.8±0.2	147.3±16.4	3.9±0.3*	116.4±11.1

表 19 活络效灵丹颗粒给药 26 周结束对雄性大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 19 Effect of HLXLD on organ index of male rats after 13 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	心/(g·kg ⁻¹)	肝/(g·kg ⁻¹)	脾/(g·kg ⁻¹)	肺/(g·kg ⁻¹)	脑/(g·kg ⁻¹)	胸腺/(g·kg ⁻¹)
对照	—	3.0±0.1	24.9±1.8	1.3±0.2	2.8±0.5	3.8±0.5	0.4±0.1
活络效灵 丹颗粒	9.75	3.1±0.6	28.5±2.5	1.4±0.2	2.6±0.7	3.8±0.5	0.3±0.1
	16.25	3.0±0.3	32.6±3.1*	1.4±0.2	2.8±0.3	4.2±0.5	0.3±0.1
	22.75	3.3±0.4	35.3±3.4*	1.5±0.3	3.0±0.3	4.2±0.4	0.3±0.1
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	精囊腺/(g·kg ⁻¹)	前列腺/(g·kg ⁻¹)	睾丸/(g·kg ⁻¹)	附睾/(g·kg ⁻¹)	肾/(g·kg ⁻¹)	肾上腺/(mg·kg ⁻¹)
对照	—	3.2±0.6	2.7±0.5	2.6±0.3	1.2±0.1	3.0±0.2	50.0±8.0
活络效灵 丹颗粒	9.75	3.1±0.9	2.6±0.5	3.0±0.3	1.2±0.2	3.2±0.3	52.0±13.0
	16.25	3.3±0.5	3.0±0.2	3.0±0.8	1.2±0.2	3.6±0.2*	55.1±11.0
	22.75	3.4±0.6	2.6±0.7	2.9±0.4	1.4±0.2	3.8±0.3*	62.0±12.0*

表 20 活络效灵丹颗粒给药 26 周结束对雌性大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 20 Effect of HLXLD on organ index of female rats after 13 week administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	心/(g·kg ⁻¹)	肝/(g·kg ⁻¹)	脾/(g·kg ⁻¹)	肺/(g·kg ⁻¹)	脑/(g·kg ⁻¹)
对照	—	3.2±0.2	25.3±1.3	1.6±0.2	3.6±0.6	6.1±0.7
活络效灵 丹颗粒	9.75	3.5±0.5	30.9±3.3	1.6±0.2	3.8±0.5	6.4±0.5
	16.25	3.7±0.3	34.3±3.2*	1.8±0.3	3.8±0.4	6.8±0.6
	22.75	3.6±0.3	38.8±6.6*	1.8±0.2	3.6±0.3	6.7±0.5
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胸腺/(g·kg ⁻¹)	子宫/(g·kg ⁻¹)	卵巢/(mg·kg ⁻¹)	肾/(g·kg ⁻¹)	肾上腺/(mg·kg ⁻¹)
对照	—	0.5±0.1	2.0±0.6	122.1±38.6	3.1±0.3	113.3±11.5
活络效灵 丹颗粒	9.75	0.8±0.2	1.8±0.4	136.1±20.9	3.5±0.2	111.7±12.4
	16.25	0.5±0.1	2.0±0.4	115.8±23.6	3.7±0.4*	125.0±13.1
	22.75	0.5±0.1	2.2±0.7	128.6±29.1	3.6±0.4*	130.1±11.4*

表 21 活络效灵丹颗粒对恢复期雄性大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 21 Effect of HLXLD on organ index of male rats in convalescent period ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	心/(g·kg ⁻¹)	肝/(g·kg ⁻¹)	脾/(g·kg ⁻¹)	肺/(g·kg ⁻¹)	脑/(g·kg ⁻¹)	胸腺/(g·kg ⁻¹)
对照	—	2.8±0.2	25.6±1.9	1.5±0.2	2.5±0.4	3.7±0.6	0.3±0.1
活络效灵 丹颗粒	9.75	2.9±0.3	27.5±3.0	1.4±0.3	2.6±0.2	3.6±0.5	0.3±0.1
	16.25	3.1±0.3	28.7±1.9	1.4±0.2	2.8±0.3	3.9±0.4	0.3±0.1
	22.75	3.0±0.2	26.5±2.4	1.6±0.6	2.8±0.3	3.9±0.4	0.3±0.1
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	精囊腺/ (g·kg ⁻¹)	前列腺/ (g·kg ⁻¹)	睾丸/ (g·kg ⁻¹)	附睾/ (g·kg ⁻¹)	肾/(g·kg ⁻¹)	肾上腺/(mg·kg ⁻¹)
对照	—	3.0±0.6	2.8±0.7	2.8±0.4	1.1±0.2	2.8±0.4	49.4±5.7
活络效灵 丹颗粒	9.75	2.8±0.8	3.1±0.6	2.9±0.3	1.1±0.2	2.9±0.2	45.0±8.6
	16.25	3.2±0.5	3.0±0.5	3.0±0.3	1.2±0.2	3.0±0.3	53.2±6.4
	22.75	3.3±0.6	3.2±0.3	3.0±0.2	1.2±0.2	3.1±0.2	55.5±9.0

表 22 活络效灵丹颗粒对恢复期雌性大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 22 Effect of HLXLD on organ index of female male rats in convalescent period ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	心/(g·kg ⁻¹)	肝/(g·kg ⁻¹)	脾/(g·kg ⁻¹)	肺/(g·kg ⁻¹)	脑/(g·kg ⁻¹)
对照	—	3.1±0.3	24.7±1.7	1.6±0.2	3.9±0.6	6.0±0.8
活络效灵丹颗粒	9.75	3.5±0.3	28.9±4.1	1.7±0.3	3.8±0.6	6.0±0.4
	16.25	3.4±0.3	26.9±2.2	1.5±0.2	3.8±0.2	6.3±0.3
	22.75	3.6±0.5	27.7±3.3	1.5±0.2	3.8±0.5	6.3±0.1
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胸腺/(g·kg ⁻¹)	子宫/(g·kg ⁻¹)	卵巢/(mg·kg ⁻¹)	肾/(g·kg ⁻¹)	肾上腺/(mg·kg ⁻¹)
对照	—	0.4±0.1	1.8±0.4	142.4±31.5	3.0±0.2	108.4±8.9
活络效灵丹颗粒	9.75	0.4±0.1	2.1±0.7	146.4±23.1	3.4±0.4	121.4±9.4
	16.25	0.5±0.1	1.8±0.4	129.7±31.2	3.3±0.4	128.1±12.0
	22.75	0.4±0.1	2.0±0.6	116.0±22.6	3.2±0.3	115.2±11.3

4 讨论

本实验通过大鼠 ig 给予活络效灵丹颗粒 26 周长期毒性试验研究, 对这种治疗骨性关节炎跌打损伤的新药进行安全性评价, 为临床试验剂量及观察指标提供参考。本品使用说明规定人每日口服生药量为 39.2 g, 则人日服用剂量为 0.65 g 生药/kg。为充分暴露本品毒性, 给药高剂量组按最大药物浓度和最大给药体积来设置, 给药中、低剂量组通过降低药物浓度来设置, 则大鼠给药的高、中、低剂量分别为 22.75、16.25、9.75 g 生药/kg, 此剂量相当于人用剂量的 35、25、15 倍。

临床症状观察未见因给予活络效灵丹颗粒引起的全身毒性反应, 但高、中剂量组大鼠在给药中后期体质量增长缓慢, 活络效灵丹颗粒可能具有减轻动物体质量的副作用, 恢复期各组大鼠体质量未见延迟性变化。高剂量组大鼠在给药初期摄食量下降, 可能是由于药物剂量过高, 给药初期大鼠尚未适应, 从而进食减少, 随后摄食恢复正常。血液学检测中除 PLT、PT、APTT 和 RDW 外, 活络效灵丹颗粒对其它指标并无明显影响, 其中 PLT、PT、APTT 和 RDW 变化明显与活络效灵丹颗粒方中成分(丹参、赤芍)活血化瘀的药理作用有关^[2-4], 并非药物毒性作用。血清生化学检测中除 AST、GLU、TBIL、ALP 和 CHO 外, 活络效灵丹颗粒对其它指标无明显影响。上述指标虽有统计学意义, 但无剂量依赖关系, 且异常数值基本在正常范围内波动。此外, 从停药 4 周的数据可见, 这些指标的改变均可逆, 故认为无毒理学意义。

本研究中活络效灵丹颗粒可使肝脏、肾脏和肾上腺系数增高, 但组织病理学检查未见明显病变。其原因可能是体质量增长缓慢使上述脏器系数值相应增高, 并非药物的毒性。樊莹等研究表明^[5], 与活络效灵丹颗粒相似的加减活络效灵丹, 在 2.30g/kg 剂量下, 连续 42 d ig 大鼠, 也未见明显毒副作用。

长期毒性研究是新药临床前安评的重要内容之一, 大剂量长时间重复给药, 预测药物可能对人体产生的不良反应, 判断药物毒性靶器官, 推测长期用药的安全范围, 对临床用药具有重要指导意义。在本试验条件下, 连续 ig 给予活络效灵丹颗粒(9.75 g 生药/kg~22.75 g 生药/kg) 26 周后, 未见明显毒性反应。

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则 [S]. 2005. 37.
- [2] 郭丽嫫, 郑定容. 复方丹参滴丸对冠心病患者 PT、APTT、FIB 的影响 [J]. 中医中药, 2009, 6(18): 87-88.
- [3] 王琳琳, 丁安伟. 赤芍总苷对大鼠血瘀证模型的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(6): 552-554.
- [4] 张雪梅, 骞秀芳. 术竭异位安胶囊对大鼠的长期毒性实验研究 [J]. 中国药物警戒, 2014, 11(3): 129-133.
- [5] 樊莹, 劳力行, 张瑞星等. 加减活络效灵丹的临床前安全性评价 [J]. 中西医结合学报, 2010, 8(5): 438-447.