

坤泰胶囊浸膏对大鼠的长期毒性研究

李艳青¹, 李瑞霞², 段燕康², 张 萍², 杨素娜², 罗米扬², 洪启梅³, 张红刚³, 张 杰², 魏茂陈^{3*}

1. 河南省中医院, 河南 郑州 450002

2. 上海海天医药科技开发有限公司, 上海 200023

3. 贵阳新天药业股份有限公司, 贵州 贵阳 550000

摘要: 目的 研究坤泰胶囊浸膏连续 ig 给药 6 个月对大鼠的毒性。方法 将 120 只大鼠随机分为 4 组: 药物组大鼠分别 ig 坤泰胶囊浸膏 25.0、12.5、5.0 g/kg, 对照组大鼠 ig 相同体积的蒸馏水。给药 180 d 后, 每组处死动物数的 2/3 ($n=20$), 并对其进行生化检测和病理解剖; 剩余的动物 ($n=10$) 在停药 30 d 后进行可逆性实验检测。结果 坤泰胶囊浸膏对大鼠的生长发育、造血功能和血液生化学指标均无明显的毒性, 对大鼠的心、肝、脾、肺、肾、子宫、卵巢、睾丸、垂体、脑等组织的形态学检查亦未发现有明显损伤性毒性变化。结论 坤泰胶囊长期服用毒性低, 临床用量安全。

关键词: 坤泰胶囊; 大鼠; 长期毒性; 可逆性实验; 安全性评价

中图分类号: R285.53 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)07-1023-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.07.016

Study on long-term toxicity of extracts from Kuntai Capsule on rats

LI Yan-qing¹, LI Rui-xia², DUAN Yan-kang², ZHANG Ping², YANG Su-na², LUO Mi-yang², HONG Qi-mei³, ZHANG Hong-gang³, ZHANG Jie², WEI Mao-chen³

1. He'nan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China

2. Shanghai Haitian Pharmaceutical Science and Technology Co., Ltd., Shanghai 200023, China

3. Guiyang Xintian Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550000, China

Abstract: Objective To observe the property and degree of long-term toxicity of Kuntai and evaluate whether the toxic injury can be prevented or recovered, so as to provide the reference for clinical safe use. **Methods** One hundred and twenty rats were randomly divided into four groups, Kuntai (25.0, 12.5, and 5.0 g/kg) groups and control (ig same volume of distilled water) group for all being treated for 180 d, respectively. Then the rats were sacrificed 2/3 ($n=20$) in each group and the anatomy and pathological biochemical detection were carried on. And the remainings ($n=10$) were sacrificed after 30 d of withdrawal drug to use for the reversible experiment. **Results** There is no significance of the extract from Kuntai Capsule on the growth/hematopoietic function/biochemical criterion of serum or the pathological feature, i.e. toxicity changes with obvious injury in heart, liver, spleen, lung, kidney, uterus, ovaries, testes, the pituitary gland, and brain. **Conclusion** There is very low toxicity of the extract from Kuntai Capsule for the long-term safe use which is benefit in clinic.

Key words: Kuntai Capsule; rats; long-term toxicity; withdrawal drug; safety evaluation

坤泰胶囊主要由熟地黄、黄连、白芍、黄芩、阿胶、茯苓 6 味中药组成, 临床广泛用于治疗围绝经期综合征、卵巢储备功能不足和卵巢低反应相关的不孕, 以及卵巢早衰等病症。现有的大量研究结果表明坤泰胶囊无明显的生殖毒性和胎仔毒性, 但其长期毒性的研究不足。为评价坤泰胶囊长期应用的安全性, 本实验观察坤泰胶囊长期

给药后的大鼠的体质量、主要器官变化、造血功能、各种血液生化指标等方面的改变以及对心、肝、脾、肺、肾、子宫、卵巢、睾丸、垂体、脑等组织的毒性损伤。

1 材料

1.1 受试药物

坤泰胶囊浸膏, 棕褐色, 由重庆市中医院提供,

收稿日期: 2014-12-31

作者简介: 李艳青, 女, 副主任医师。Tel: 18037138087 E-mail: lyq3849@163.com

*通信作者 魏茂陈, 男, 博士, 研究方向为新药研发。Tel: (0854)6298351 E-mail: weimaochen@163.com

批号为960812。每克坤泰胶囊浸膏相当于原生药6.0 g，以蒸馏水溶解配制。

1.2 实验动物

80~100 g 的 Wistar 大鼠 120 只，一级动物(95 医动字 243010521 号)，雌雄各半，由四川省中药研究所实验动物研究室提供。

1.3 生化试剂

10%的甲醛固定溶液、各种生化检测试剂均由重庆医学检验所提供。

2 方法

将 120 只 Wistar 大鼠随机分为 4 组，每组 30 只，药物组 3 组分别 ig 坤泰胶囊浸膏液 25.0、12.5、5.0 g/kg；对照组 ig 相同体积的蒸馏水。每天给药 1 次，每周给药 6 d、停药 1 d，每 10 天根据体质量变化调整给药量，连续给药 6 个月。

于末次给药前 24 h 进行血常规检测；末次给药后 1 h，每组分别处死 2/3 动物(即 20 只)，对处死的动物进行生化检测和病理剖解，对所取的脏器和组织进行肉眼观察、称质量，将所取的脏器和组织置于 10%甲醛溶液中固定、常规脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色、光镜检查。送检样本包括：

心、肝、脾、肺、肾、子宫、卵巢、睾丸、肾上腺、甲状腺、胸腺、前列腺、垂体、脑。对每组剩余的动物($n=10$)进行可逆性检查，即停止给药后每天坚持给水、喂食，直到停药 30 d 处死，进行生化、病理检测。

采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计，数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，计量资料用 t 检验。

3 结果

3.1 对大鼠体质量的影响

结果表明，大鼠连续 ig 给予坤泰胶囊 180 d 后，其食欲、生长发育未见明显变化，各组动物体质量在均值上虽有所差异，但经统计学处理，未见显著性差异($P>0.05$)。见表 1。

3.2 对大鼠血常规的影响

结果表明，大鼠连续 ig 给予坤泰胶囊 180 d，其血常规指标无显著变化($P>0.05$)、红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血红蛋白(Hb)、血小板计数(PC)、白细胞分类计数[DC，包括嗜中性粒细胞(N)计数，淋巴细胞(L)计数，嗜酸性粒细胞(E)计数，单核细胞(M)计数]均在正常生理值范围内。见表 2。

表 1 坤泰胶囊连续给药 180 d 对大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=30$)

Table 1 Effect of continuous administration of Kuntai Capsule for 180 d on body weight of rats ($\bar{x} \pm s, n=30$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	给药前 体质量/g	给药后体质量/g					
			30 d	60 d	90 d	120 d	150 d	180 d
对照	—	101.4±11.1	154.8±32.7	261.6±47.0	315.8±64.5	315.6±74.2	361.7±80.2	385.2±82.3
坤泰胶囊	25.0	101.2±12.0	168.9±30.1	262.8±47.8	319.6±64.9	347.5±76.4	350.8±75.0	354.3±79.6
	12.5	101.4±10.1	163.5±23.9	246.0±44.5	316.7±59.8	345.8±66.9	354.9±72.1	359.8±70.0
	5.0	101.6±10.5	156.8±29.6	242.3±44.9	301.5±66.8	331.6±70.8	335.4±80.4	348.6±78.2

表 2 坤泰胶囊连续给药 180 d 对大鼠血常规的影响 ($\bar{x} \pm s, n=30$)

Table 2 Effect of continuous administration of Kuntai Capsule for 180 d on routine blood tests of rats ($\bar{x} \pm s, n=30$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	RBC/ ($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	Hb/ (g·L ⁻¹)	PC/ ($\times 10^{10} \cdot L^{-1}$)	DC/%			
						N	L	E	M
对照	—	6.60±0.40	15.39±4.22	134.7±2.2	52.30±4.09	24.10±9.97	71.30±11.10	4.20±3.01	0.40±0.52
坤泰胶囊	25.0	6.50±0.30	13.97±5.74	131.1±10.8	53.40±11.20	26.80±8.87	68.60±9.29	4.20±0.92	0.40±0.52
	12.5	6.50±0.20	13.38±2.64	134.7±3.3	53.90±4.96	26.90±7.79	67.10±9.55	5.67±2.29	0.30±0.48
	5.0	6.85±0.30	14.30±4.62	132.7±2.5	57.40±9.84	29.80±6.62	63.60±7.40	6.20±4.13	0.30±0.48

3.3 对大鼠血液生化指标的影响

结果表明，大鼠连续 ig 给予坤泰胶囊 180 d，血液生化大多数指标未见明显改变($P>0.05$)，虽然坤泰胶囊某些剂量组的个别生化指标与对照组比较

有显著性差异，但所有值均在生理值范围内。见表 3。

3.4 对大鼠主要脏器质量的影响

坤泰胶囊连续给药 180 d 对大鼠主要脏器的质量无明显影响。见表 4。

表 3 坤泰胶囊连续给药 180 d 对大鼠血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 3 Effect of continuous administration of Kuntai Capsule for 180 d on biochemical criterion of serum in rats ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT/ (U·dL ⁻¹)	AST/ (U·dL ⁻¹)	AKP 金氏单位	BUN/ (mmol·L ⁻¹)	TP/ (ng·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)	Cr/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	36.50±2.99	88.10±9.43	59.80±9.50	7.94±1.38	81.0±5.2	39.38±3.83	4.13±0.26	64.88±9.85	1.77±0.26
坤泰胶囊	25.0	31.90±3.96	93.50±9.30	54.40±10.70	7.02±0.90	80.1±5.5	34.66±5.02**	3.50±0.47***	63.47±7.95	1.57±0.35
	12.5	34.60±6.52	95.10±13.70	51.90±13.70*	7.22±0.92	77.1±6.7	38.68±5.67	3.86±0.54	70.00±15.55	1.57±0.27
	5.0	38.50±7.56	95.60±8.70*	54.90±13.30	7.44±0.89	78.1±9.4	38.44±3.01	4.26±0.47	64.26±9.63	1.52±0.22*

与对照组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group, same as below

表 4 坤泰胶囊连续给药 180 d 对大鼠各脏器质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 4 Effect of continuous administration of Kuntai Capsule for 180 d on weight of each organ in rats ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	心		肝		脾		肺		肾	
		绝对质量/g	相对质量/%	绝对质量/g	相对质量/%	绝对质量/g	相对质量/%	绝对质量/g	相对质量/%	绝对质量/g	相对质量/%
对照	—	1.26±0.31	0.332±0.038	13.23±3.18	3.48±0.40	0.98±0.26	0.264±0.079	2.75±0.42	0.738±0.100	2.19±0.52	0.580±0.059
坤泰 胶囊	25.0	1.25±0.21	0.347±0.036	13.08±2.82	3.59±0.31	1.35±0.29**	0.379±0.077**	2.87±0.95	0.803±0.250	2.14±0.42	0.390±0.062***
	12.5	1.32±0.23	0.377±0.055	12.72±3.00	3.57±0.42	1.37±0.50	0.391±0.153	2.65±0.41	0.756±0.158	1.99±0.35	0.560±0.068
	5.0	1.37±0.24	0.385±0.049**	12.90±2.65	3.90±0.38**	1.50±0.46***	0.420±0.099***	2.89±0.38	0.764±0.225	2.02±0.29	0.580±0.132
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	睾丸/ (g·100 g ⁻¹)	子宫和卵巢/ (g·100 g ⁻¹)	脑/ (g·100 g ⁻¹)	肾上腺/ (mg·100 g ⁻¹)	甲状腺/ (g·100 g ⁻¹)	胸腺/ (g·100 g ⁻¹)	前列腺/ (g·100 g ⁻¹)	垂体/ (mg·100 g ⁻¹)		
		(g·100 g ⁻¹)	(g·100 g ⁻¹)	(g·100 g ⁻¹)	(mg·100 g ⁻¹)	(g·100 g ⁻¹)	(g·100 g ⁻¹)	(g·100 g ⁻¹)	(mg·100 g ⁻¹)		
对照	—	1.276±0.200	0.295±0.102	0.488±0.086	18.85±6.74	9.51±3.44	0.095±0.031	0.123±0.040	5.09±3.57		
坤泰 胶囊	25.0	1.227±0.129	0.271±0.028	0.485±0.095	18.47±6.70	7.33±2.81	0.095±0.041	0.106±0.039	2.73±1.65*		
	12.5	1.186±0.347	0.244±0.050	0.525±0.117	23.22±11.71	9.86±4.08	0.092±0.044	0.100±0.028	3.57±1.90		
	5.0	1.256±0.435	0.369±0.107	0.501±0.110	20.63±7.54	8.90±2.23	0.092±0.029	0.212±0.040	5.07±3.97		

3.5 对大鼠主要脏器组织形态学的影响

结果表明, 对照组 ($n=20$) 有 3 只动物肝细胞浊肿、胞浆疏松, 有 2 只动物汇管区慢性炎细胞浸润; 坤泰胶囊 25.0 g/kg 组 ($n=20$) 有 2 只动物肝细胞浊肿、1 只动物汇管区慢性炎细胞浸润, 以上病变均为一级实验动物常见病理变化, 非药物毒性所致。其余脏器 (心、脾、肝、肺、肾、睾丸、卵巢、肾上腺、甲状腺、胸腺、前列腺、垂体、脑) 以及坤泰胶囊其他剂量组各脏器均未见明显的病理改变, 说明坤泰胶囊毒性较低。

3.6 恢复性实验结果

结果见表 5~7。另外, 对照组和坤泰胶囊各剂量组大鼠的心、肝、脾、肺、肾、子宫、卵巢、睾丸等主要脏器结构清楚, 主要脏器的组织形态学未见药物所致的病理变化。

4 讨论

本实验结果表明, 对照组和坤泰胶囊各剂量组

的血常规、血液生化学等指标均在正常生理值范围内, 对主要脏器的形态学观察未见明显的病理改变。在本研究中, 坤泰胶囊经过动物长期毒性实验表明, 以坤泰胶囊 25.0、12.5、5.0 g/kg (分别相当于临床日剂量的 50、25 和 5 倍) 对大鼠连续 ig 180 d, 对大鼠的生长发育 (体质量增长)、造血功能、血液生化学均无明显的毒性影响; 对大鼠的心、肝、脾、肺、肾等主要脏器的质量 (绝对质量、相对质量) 除个别脏器和对照组有显著性差异外, 均无明显影响, 并对上述主要脏器的组织形态学检查亦未发现有明显损伤性毒性变化, 说明坤泰胶囊长期服用毒性较低, 临床用量安全。

此外有很多研究^[1-8]是在验证坤泰胶囊治疗更年期综合征等疾病的临床疗效的同时, 观察了其不良反应的发生情况, 结果均表明坤泰胶囊的临床不良反应发生率, 无明显毒副作用。还有一些研究^[9-10]着眼于坤泰胶囊的生殖毒性, 对其进行了实验

表5 坤泰胶囊连续给药 180 d 停药 30 d 对大鼠血常规的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 5 Effect of continuous administration of Kuntai Capsule for 180 d and 30 d withdrawal drug on blood routine of rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	RBC/ (×10 ¹² ·L ⁻¹)	WBC/ (×10 ⁹ ·L ⁻¹)	Hb/ (g·L ⁻¹)	PC/ (×10 ¹⁰ ·L ⁻¹)	DC/%			
						N	L	E	M
对照	—	6.54±0.40	13.90±1.33	130.5±2.2	51.86±3.14	25.60±7.58	71.60±7.45	4.10±1.28	0.50±0.70
坤泰胶囊	25.0	6.51±0.30	14.10±5.14	129.7±2.5	51.45±2.80	25.70±2.71	70.80±4.42	4.10±1.28	0.40±0.69
	12.5	6.60±0.40	13.50±2.26	131.7±3.3	51.45±2.16	25.20±5.13	69.60±4.83	5.90±1.37	0.30±0.48
	5.0	6.75±0.30	13.20±1.31	132.5±2.5	53.24±10.57	26.30±3.12	69.60±4.01	4.20±1.13	0.30±0.48

表6 坤泰胶囊连续给药 180 d 停药 30 d 对大鼠血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 6 Effect of continuous administration of Kuntai Capsule for 180 d and 30 d withdrawal drug on biochemical criterion of serum in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT/ (U·dL ⁻¹)	AST/ (U·dL ⁻¹)	AKP 金氏单位	BUN/ (mmol·L ⁻¹)	TP/ (mg·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)	Cr/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)
		(U·dL ⁻¹)	(U·dL ⁻¹)	金氏单位	(mmol·L ⁻¹)	(mg·L ⁻¹)	(g·L ⁻¹)	(mmol·L ⁻¹)	(mmol·L ⁻¹)	(mmol·L ⁻¹)
对照	—	36.12±1.51	90.77±3.13	50.76±2.78	6.83±0.30	75.3±3.3	36.0±1.3	3.91±0.12	62.30±1.59	1.670±0.069
坤泰胶囊	25.0	36.13±1.72	90.48±3.31	50.14±2.68	6.83±0.22	75.4±2.5	35.7±1.1	3.90±0.10	62.20±1.23	1.670±0.117
	12.5	35.94±1.45	90.46±3.59	51.63±2.73	6.90±0.21	71.2±5.2**	35.9±1.0	3.93±0.09	63.60±1.85	1.690±0.084
	5.0	36.54±0.89	90.62±3.06	51.28±2.78	6.83±0.20	72.0±3.5***	36.0±1.1	3.93±0.12	62.30±2.21	1.720±0.101

表7 坤泰胶囊连续给药 180 d 停药 30 d 对大鼠各脏器质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 7 Effect of continuous administration of Kuntai Capsule for 180 d and 30 d withdrawal drug on weigh of each organ in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	心		肝		脾		肺	
		绝对质量/g	相对质量/%	绝对质量/g	相对质量/%	绝对质量/g	相对质量/%	绝对质量/g	相对质量/%
对照	—	1.29±0.15	0.306±0.054	11.83±1.92	2.76±0.33	1.03±0.20	0.24±0.05	3.17±0.58	0.624±0.233
坤泰胶囊	25.0	1.29±0.33	0.336±0.037*	13.04±4.00	3.37±0.44**	1.26±0.35	0.33±0.06	2.89±0.56	0.775±0.167
	12.5	1.42±0.25	0.365±0.059	12.19±2.11	3.09±0.27*	1.56±0.42**	0.41±0.12	3.56±1.12	0.913±0.271*
	5.0	1.38±0.26	0.355±0.051	12.65±2.83	3.20±0.31**	1.67±0.38***	0.43±0.07	3.09±0.66	0.827±0.283
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	肾		睾丸/%	子宫和卵巢/%	脑/%	肾上腺/ (mg·100 g ⁻¹)		
		绝对质量/g	相对质量/%						
对照	—	2.44±0.27	0.58±0.09	1.277±0.108	0.249±0.034	0.39±0.08	18.05±6.51		
坤泰胶囊	25.0	2.42±0.54	0.64±0.06	1.314±0.401	0.256±0.039	0.49±0.13	20.22±7.47		
	12.5	2.49±0.42	0.64±0.09	1.275±0.316	0.241±0.149	0.48±0.08*	16.50±2.95		
	5.0	2.41±0.63	0.62±0.15	1.328±0.200	0.293±0.075*	0.49±0.12*	19.37±6.98		

证, 龚立等^[9]评价了 SD 怀孕大鼠在致畸敏感期(怀孕第 6~15 天)给予坤泰胶囊溶液, 对 SD 大鼠的母体毒性、胚胎-胎仔毒性和致畸性, 结果发现, 孕鼠及胚胎、胎仔发育的各观察指标未见明显异常, 与对照组比较无显著差异。说明在其实验条件下, 坤泰胶囊未见明显的母体毒性与胚胎和胎儿发育毒性。总之, 坤泰胶囊的临床用量是安全的, 无明显的毒副作用。

参考文献

- [1] 李木子. 坤泰胶囊对女性子宫切除术后围绝经期症状的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2522-2525.
- [2] 陈建美, 徐凤秋. 坤泰胶囊治疗绝经期综合征合并子宫肌瘤 40 例临床分析 [J]. 中国药物与临床, 2013, 13(4): 511-512.
- [3] 李存存, 王晶晶, 陈 潮. 坤泰胶囊与激素替代疗法治疗更年期综合征有效性和安全性比较的 Meta 分析 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(9): 1183-1190.

- [4] 张庆云, 王继伟, 余金明. 坤泰胶囊与雌激素治疗绝经综合征有效性与安全性的荟萃分析 [J]. 中华医学杂志, 2013, 93(43): 3445-3449.
- [5] 季颖, 阮祥燕, 熊晓燕, 等. 坤泰胶囊对更年期妇女性生活质量的影响 [J]. 中医杂志, 2004, 45(3): 206-207.
- [6] 张婧, 龚莉莉, 张绍芬, 等. 坤泰胶囊对绝经早期妇女生活质量及乳房胀痛、阴道流血的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(11): 972-976.
- [7] 史党民, 孙国珍. 坤泰胶囊治疗女性更年期失眠伴有焦虑及抑郁的临床观察 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3531-3533.
- [8] 王红英, 支聪聪, 赵春兰, 等. 坤泰胶囊对子宫切除术后妇女卵巢功能及围绝经期症状的影响 [J]. 医学研究与教育, 2013, 30(6): 22-25.
- [9] 龚立, 刘昆, 张云, 等. 坤泰胶囊对大鼠胚胎和胎仔的发育毒性研究 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(5): 337-342.
- [10] 王玮, 张云, 刘昆, 等. 坤泰胶囊对 SD 大鼠生育力和早期胚胎毒性的研究 [J]. 中成药, 2012, 34(10): 1869-1873.