

疏风解毒胶囊口服给药 14 d 对幼鼠的毒性作用研究

付合明^{1,2}, 王海荣^{1,2}, 邸志权^{1,2}, 胡金芳^{1,2*}, 申秀萍^{1,2*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

2. 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300301

摘要: 目的 观察 10 日龄健康 SD 大鼠重复 ig 给予疏风解毒胶囊 (SFJD) 后所产生的毒性反应, 为 SFJD 的婴幼儿临床应用提供参考。方法 取 10 日龄健康 SD 大鼠 30 只, 分为 SFJD 组 (4 g/kg) 和对照组, 每天给药 1 次, 连续 14 d。每天观察动物的死亡率及一般体征, 每周 2 次监测动物体质量变化, 观察门齿萌出、张耳、睁眼和腹部出毛的发生时间, 考察幼鼠的自主活动及学习记忆能力; 在给药结束时进行血液学、血清生化检测及血清睾酮、雌二醇、胰岛素样生长因子含量测定, 分析 T、B 淋巴细胞亚群的变化; 并进行系统尸检、脏器质量及系数检查, 测定幼鼠麻醉状态下的体长和尾长。结果 给药后幼鼠出现稀便及药物颜色相关的橙色尿液; 体质量增长前期减缓, 后期改善; 尿密度略增加; 脾脏质量及肝脏、脾脏、肾脏的脏体系数与脏脑系数增加; 有 2 只幼鼠红细胞计数 (RBC) 和网织红细胞数 (Ret) 较对照组显著降低。结论 4 g/kg 的 SFJD ig 给药后, 幼鼠耐受性较好, 临床大剂量长期应用时需关注可能出现的稀便及 RBC、Ret 降低等情况。

关键词: 疏风解毒胶囊; 幼龄大鼠; 重复给药毒性; 安全性评价; 红细胞计数; 网织红细胞数

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)09-2119-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.09.022

Toxicity study of oral administration of Shufeng Jiedu Capsule for 14 d in SD rats during peri-weaning period

FU He-ming^{1,2}, WANG Hai-rong^{1,2}, DI Zhi-quan^{1,2}, HU Jin-fang^{1,2}, SHEN Xiu-ping^{1,2}

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Drug Assessment Co., Ltd., Tianjin 300301, China

2. Tianjin Engineering Research Center of Drug Preclinical Assessment Technology, Tianjin 300301, China

Abstract: Objective To characterize the oral toxicity of Shufeng Jiedu Capsule (SFJD) in SD rats during peri-weaning period, and provide reference for the clinical application of SFJD in infants. **Methods** Ten-day-old healthy SD rats were exposed to 0 and 4 g/kg of SFJD once per day for 14 d via intra-gastric administration. Mortality, general physical signs, body weights, spontaneous motor activity, learning and memory functions, hematology (with T and B lymphocyte subgroups included), serum chemistry, serum testosterone, insulin-like growth factor, organ weights, as well as gross pathological findings were evaluated between the control and exposure group. Physical development indicators such as pinna unfolding, coat growth, incisor eruption, and eyes opening time, were also recorded. The body length and tail length of rats under anesthesia were detected. **Results** After SFJD administration, loose stools and orange colored urine were found in rats, and the color of the urine was related to the color of drugs. The body weight growth rates were decreased compared with the control group. Urine specific gravity was increased in rats. RBC and Ret concentrations were decreased in two of the 16 tested animals. Liver, spleen, and kidney ratios to body and brain weight were increased in rats; The weight of spleen was also increased compared with the control group. **Conclusion** It was well tolerated to peri-weaning rats after the ig administration of 4 g/kg SFJD. The concerns of diarrhea, mild body weight growth rate, as well as RBC and Ret decrease should be noted for long term and high dose usage in infants and toddlers.

Key words: Shufeng Jiedu Capsule; neonatal SD rats; repeated dose toxicity; safety evaluation; RBC; Ret

疏风解毒胶囊 (SFJD) 是由湖南湘西民间老中医向楚贤捐献的百年祖传秘方“祛毒散”演变而来^[1-2],

组方包含虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根和甘草 8 味中药, 具有疏肝解郁、清热

收稿日期: 2018-02-10

基金项目: 国家科技重大新药创制项目 (2015ZX09501004); 天津市科技计划项目 (16PTGCCX00090)

作者简介: 付合明, 男, 研究实习生, 研究方向为药理毒理。Tel: (022)84845247 E-mail: fuhm@tjipr.com

*通信作者 胡金芳, 女, 副研究员, 研究方向为药理毒理。Tel: (022)84845248 E-mail: hujf@tjipr.com

申秀萍, 女, 研究员, 研究方向为药理毒理。Tel: (022)84845266 E-mail: shenxp@tjipr.com

解毒的功效^[3],临床上主要用于治疗各种感染性疾病,如流行性感、支气管炎、肺炎、手足口病、疱疹等^[3-19]。因其显著的临床疗效,近年也开始应用于儿科疾病,发挥其抗病毒、抗细菌、退热、抗炎、调节免疫、止咳、镇静、镇痛等作用。本研究着重考察了 SFJD ig 给药 14 d 对 10 日龄大鼠的毒性反应,为其临床儿科应用提供参考^[20]。

1 材料

1.1 动物

带母鼠 7 日龄 SD 大鼠 3 窝,每窝 10 只,SPF 级,第 1 窝 6 只雄鼠、4 只雌鼠,第 2 窝 5 只雄鼠、5 只雌鼠,第 3 窝 4 只雄鼠、6 只雌鼠。动物由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,生产许可证号 SCXK(京)2016-0011,实验动物质量合格证号 11400700229978。动物均饲养于屏障环境饲养观察室的聚丙烯鼠盒中,用 ⁶⁰Co 辐照的刨花垫料,自由饮用无菌水,光照昼夜明暗(12 h/12 h)交替。大鼠生长繁殖饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供。动物使用方案经天津药物研究院新药评价有限公司实验动物管理和使用委员会(IACUC)审查并批准。

1.2 药物及试剂

SFJD 内容物(粗粉),棕褐色颗粒,气香,味苦,批号 3170514,常温保存,有效期至 2019 年 5 月 13 日,由安徽济人药业有限公司提供。

睾酮、雌二醇(E₂)ELISA 试剂盒(Enzo 公司);胰岛素样生长因子(IGF)ELISA 试剂盒(R&D 公司);尿液检测试纸(桂林优利特医疗电子有限公司);FITC Anti-Rat CD3 抗体(批号 5313668)、PE Anti-Rat CD4 抗体(批号 5217978)、PerCP Anti-CD8a 抗体(批号 6078748)、APC-Cy7 Anti-Rat CD45RA 抗体(批号 6176518)、FITC IgG3 同型对照(批号 5009579)、PE IgG2α 同型对照(批号 5338820)、PerCP IgG1 同型对照(批号 4189730)及 APC-Cy7 IgG1 同型对照(批号 6063688)均为 BD 公司产品。

1.3 仪器

7080 全自动生化分析仪(日本日立公司);EX-180 全自动电解质分析仪(日本常光株式会社);全 ADVIA 2120 自动血液分析仪(西门子公司);ACL9000 血凝分析仪(美国贝克曼库尔特公司);URITEST-500 尿液分析仪(桂林优利特电子集团有限公司);Varioskan Flash 酶标仪(Thermo Fisher Scientific Inc. 公司);数显式游标卡尺(0~150 mm),世达工具(上海)有限公司;FACS Aria II 型流式细胞仪(BD 公司);MG-3 迷宫刺激器(原阳县振华教学仪器厂);ZH-YLS-1C 小动物自主活动记录仪(安徽正华生物仪器设备有限公司)。

2 方法

2.1 剂量设定

SFJD 在治疗成人急性上呼吸道感染时剂量为 1 次 4 粒,每日 3 次,每粒装 0.52 g,依此计算成人日用量为 6.24 g,1 月龄儿童日用量为 0.21 g/kg,3.5 岁儿童日用量为 0.16 g/kg,折算成 10 日龄大鼠日用量为 1.34 g/kg,24 日龄大鼠日用量为 0.77 g/kg。受硅胶 ig 针直径限制,10 日龄幼鼠最大可给药浓度为 0.2 g/mL,为了增加暴露剂量,将 SFJD 给药体积设定为 20 mL/kg,给药剂量为 4 g/kg,相当于 1 月龄婴幼儿至 3.5 岁儿童临床等效剂量的 3~5 倍。对照组 ig 等体积去离子水。

2.2 分组与给药

幼鼠在检疫室适应 3 d,按性别及体质量分为 2 组,分别为对照组(14 只)和 SFJD 组(16 只)。分组方式兼顾不同窝别幼鼠之间差异,具体分组信息见表 1。于出生后第 10 天开始给药,幼鼠每日 ig 给药 1 次,连续给药 14 d。每次给药体积依据最近一次幼鼠体质量计算。

2.3 一般观察

实验期间每日观察各组幼鼠神态、被毛/皮肤、活动度、粪便及尿液等大体状况,每周记录 2 次体质量,计算体质量增长率。

表 1 实验分组

Table 1 Animal assignment

性别	组别	动物号		
		第 1 窝	第 2 窝	第 3 窝
雄性	对照	1-2、1-3、1-5	2-1、2-4	3-1、3-3
	SFJD	1-1、1-4、1-6	2-2、2-3、2-5	3-2、3-4
雌性	对照	1-8、1-9	2-6、2-8	3-5、3-9、3-10
	SFJD	1-7、1-10	2-7、2-9、2-10	3-6、3-7、3-8

体质量增长率=(本次体质量-前一次体质量)/本次体质量

2.4 生长发育观察

在出生后 10~17 d 观察仔鼠门齿萌出情况, 在出生后 17~23 d 观察张耳情况, 出生后 10~18 d 观察睁眼情况及腹部出毛情况。

2.5 神经发育检查

2.5.1 自主活动测试 于给药第 8 天采用小动物自主活动记录仪记录 5 min 内幼鼠的自主活动次数。

2.5.2 学习记忆功能测试 于给药第 12 天和第 13 天采用 Y 型迷宫刺激器测定幼鼠的学习功能, 次日测定幼鼠的记忆功能。刺激电压设定为 40~50 mV, 每轮记录 5 次的正确次数。

2.6 尿液外观及生化检查

于给药第 14 天, 采集幼鼠的新鲜尿液, 用自动尿液分析仪检测幼鼠的尿液比重 (SG)、pH、尿糖 (GLU)、尿蛋白 (PRO)、尿胆红素 (BIL)、尿胆原 (URO)、酮体 (KET)、潜血 (BLD)、白细胞 (WBC)、抗坏血酸 (Vc) 及亚硝酸盐 (NIT) 等, 同时记录尿液的外观。

2.7 血液学常规检查

末次给药次日, 幼鼠腹主动脉采血, 加入 EDTA-K₂ 抗凝, 4 h 内测定血液学常规指标, 包括红细胞计数 (RBC)、红细胞容积 (HCT)、血红蛋白 (Hb)、平均红细胞容积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白 (MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)、白细胞计数 (WBC) 及其分类百分比 [中性粒细胞 (N)、淋巴细胞 (L)、嗜酸性粒细胞 (E)、单核细胞 (M)]、血小板计数 (PLT)、网织红细胞数 (Ret)。

2.8 血清生化分析

将幼鼠新鲜血液置入带分离胶和促凝剂的真空采血管, 2 h 内 3 000 r/min 离心 10 min, 取上层血清进行血清生化分析, 分析指标包括天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (ALP)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (SCr)、总胆固醇

(TC)、血糖 (GLU)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、总胆红素 (TBIL)、三酰甘油 (TG)、肌酸磷酸激酶 (CK)、 γ -谷氨酰转氨酶 (GGT) 和乳酸脱氢酶 (LDH)。

2.9 淋巴细胞亚群分析

采用“2.7”项下的 EDTA-K₂ 抗凝血检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺及 CD45RA⁺阳性细胞百分比, 并计算 CD4⁺/CD8⁺细胞比例。

2.10 激素检测

采用“2.8”项下分装的血清, 应用 ELISA 试剂盒测定血清中 E₂、睾酮和 IGF 含量。

2.11 系统尸检、脏器系数和组织病理学检查

末次给药次日 ip 20%乌拉坦麻醉幼鼠, 腹主动脉取血后, 施安乐死, 进行剖检。首先对各脏器进行肉眼观察, 摘取心、肝、脾、肾、脑、胸腺、肾上腺、睾丸和附睾/子宫和卵巢等主要脏器, 称量脏器湿质量, 计算脏器系数和脏脑比 (脏脑比=脏器湿质量/脑质量)。肉眼观察各主要脏器体积、颜色、质地等的变化, 均应记录并进行病理组织学检查。

2.12 统计学处理

计量数据进行组间 *t* 检验比较, 计数资料如生长发育指标、达标率等数据采用 SPSS 20.0 软件中的秩和检验 (Kruskal-Wallis Test) 进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 一般观察结果

幼鼠给药后出现橙色尿液及稀便。与对照组相比, 给药组幼鼠体质量在给药第 4、7 天略有降低, 但无显著性差异; 给药第 4、7 天幼鼠体质量增长率具有统计学差异, 但随给药时间延长这种差异逐渐缩小 (表 2)。

3.2 SFJD 对幼鼠生长发育指标的影响

SFJD 组全部幼鼠门齿萌出、张耳、睁眼和腹部出毛达标的时间分别为出生后第 14、19、18、17 天 (图 1), 与对照组基本相当; 在末次给药结束次日, 测定幼鼠麻醉状态下的体长、尾长, 解剖时取

表 2 SFJD 对幼鼠体质量和体质量增长率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of SFJD on body weights and body weight growth rates of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	体质量/g				体质量增长率/%		
		第 1 天	第 4 天	第 7 天	第 11 天	第 4 天	第 7 天	第 11 天
对照	14	14.4±1.9	22.4±3.2	30.7±4.4	39.5±5.3	53.46±6.99	57.77±6.76	58.77±9.52
SFJD	16	15.2±1.8	21.7±2.2	29.7±3.0	39.3±3.8	40.04±7.84**	51.38±6.17*	63.95±8.71

与对照组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01, 下同

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

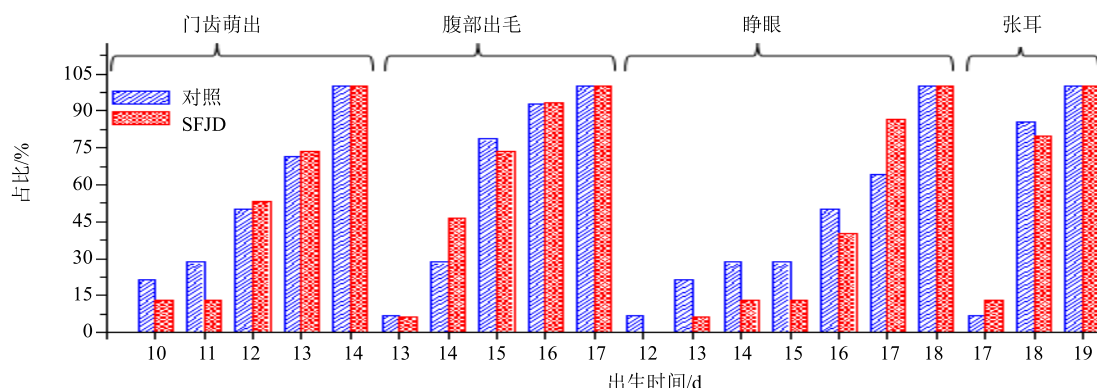


图 1 SFJD 对幼鼠生长发育指标的影响

Fig. 1 Effect of SFJD on physical development landmarks of pre-weaning rats

双侧胫骨并量取长度, 结果表明 SFJD 组幼鼠体长、尾长、左右胫骨长度略短于对照组, 左侧胫骨的长度较对照组虽有统计学意义 ($P < 0.05$), 但变化率仅为 4.2%, 不存在生物学意义 (表 3)。

表 3 SFJD 对幼鼠生长发育指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Effect of SFJD on physical development indicators of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体长/cm	尾长/cm	左侧胫骨 长/mm	右侧胫骨 长/mm
对照	14	19.10±0.70	7.60±0.60	17.81±0.49	17.50±0.48
SFJD	16	18.60±0.80	7.50±0.40	17.05±0.62*	17.07±0.66

3.3 SFJD 对幼鼠神经发育指标的影响

于给药第 8 天采用小动物自主活动记录仪记录幼鼠的自主活动状况, 于给药第 12 天和第 13 天采用 Y 型迷宫刺激器考察幼鼠的学习和记忆功能, 结果表明 SFJD 组幼鼠给药对幼鼠的自主活动和学习记忆无显著影响 (表 4)。

3.4 SFJD 对幼鼠尿液外观和尿液生化指标的影响

于给药第 14 天采集幼鼠的新鲜尿液, 观察尿液外观, 并检测各项尿液生化指标。结果显示, 尿液生化各指标中, 除 SFJD 组幼鼠 SG 较对照组增加外 ($P < 0.05$), 其他各项指标与对照组相比无显著差异 (表 5)。

3.5 SFJD 对幼鼠血液学常规指标的影响

于给药第 14 天次日取幼鼠的 EDTA 抗凝血进行血液学常规检查, 结果发现 SFJD 组幼鼠所有指标与对照组相比均无统计学差异, 但 SFJD 组幼鼠 3-2 雄性 (RBC $2.88 \times 10^{12}/L$, Ret 0.00) 和 2-9 雌性 (RBC $1.33 \times 10^{12}/L$, Ret $0.34 \times 10^9/L$) 的 RBC 和 Ret 明显低于对照组 (RBC $4.88 \times 10^{12}/L$, Ret $0.86 \times 10^9/L$), 提示 SFJD 可能会使部分幼鼠 RBC 和 Ret 降低, 其他血液学指标与对照组相当 (表 6)。

3.6 SFJD 对幼鼠血清生化指标的影响

于给药第 14 天次日检测幼鼠的血清生化指标, 结果表明 SFJD 组幼鼠血清生化各指标与对照组相比未见明显差异 (表 7)。

3.7 SFJD 对幼鼠淋巴细胞亚群的影响

于给药第 14 天次日取幼鼠的 EDTA 抗凝血, 经处理、荧光抗体标记后, 采用流式细胞术进行淋巴细胞亚群测定, 结果表明 SFJD 组幼鼠 14 d 对幼鼠的 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺、CD45RA⁺ 阳性细胞及 CD4/CD8 比例无显著影响, 结果见表 8。

3.8 SFJD 对幼鼠血清激素水平的影响

于给药第 14 天次日留存的幼鼠血清, ELISA 法检测血清中睾酮、E₂ 和 IGF, 结果表明给药动物血清中各激素含量与对照组相比较, 无明显差异 (表 9)。

表 4 SFJD 对幼鼠自主活动及学习记忆功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Effect of SFJD on spontaneous learning, memory, and motor activity of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	学习功能		记忆功能		自主活动次数
		正确次数	正确率/%	正确次数	正确率/%	
对照	14	10.8±2.9	71.7±19.5	12.3±3.0	82.2±19.8	83±20
SFJD	16	10.6±2.8	70.6±18.5	12.3±2.8	81.7±18.5	70±28

表 5 SFJD 对幼鼠尿液生化指标的影响 (动物数)

Table 5 Effect of SFJD on urinalysis data of pre-weaning rats (number of animals)

组别	n	颜色		白细胞			酮体			葡萄糖	
		正常颜色	橙色	—	15 cell·μL ⁻¹	70 cell·μL ⁻¹	—	0.5 mmol·L ⁻¹	1.5 mmol·L ⁻¹	—	+
对照	14	14	0	11	2	1	12	2	0	14	0
SFJD	16	0	16	9	6	1	14	0	2	16	0

组别	n	亚硝酸		维生素 C			蛋白				
		—	+	—	0.6 mmol·L ⁻¹	1.4 mmol·L ⁻¹	2.8 mmol·L ⁻¹	—	0.15 g·L ⁻¹	0.3 g·L ⁻¹	1.0 g·L ⁻¹
对照	14	12	2	10	0	3	1	6	3	3	1
SFJD	16	16	0	11	0	3	2	9	3	3	1

组别	n	SG					pH 值				
		1.010	1.015	1.020	1.025	1.030	5.0	6.5	7.0	7.5	8.0
对照	14	4	5	3	2	0	0	0	3	8	3
SFJD	16	0	0	5	6	5	1	5	3	5	2

组别	n	尿胆原			胆红素		隐血	
		—	33 μmol·L ⁻¹	66 μmol·L ⁻¹	—	8.6 μmol·L ⁻¹	—	+
对照	14	4	7	3	11	3	14	0
SFJD	16	3	9	4	16	0	16	0

表 6 SFJD 对幼鼠血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of SFJD on hematology data of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	N/%	L/%	M/%	E/%	RBC/($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	Hb/(g·L ⁻¹)
对照	14	5.72±2.11	16.3±4.7	79.3±6.9	3.4±2.4	0.3±0.1	4.88±0.26	91±8
SFJD	16	3.54±1.73	16.5±5.3	79.1±6.0	3.2±0.6	0.2±0.1	3.60±1.49	65±26

组别	n	HCT/%	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/(g·L ⁻¹)	PLT/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	Ret/($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)
对照	14	29.7±2.2	60.9±2.4	18.7±1.1	308±8	1 403±227	0.86±0.12
SFJD	16	21.7±9.0	61.1±5.1	18.1±1.4	297±15	1 711±795	0.97±0.76

表 7 SFJD 对幼鼠血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Effect of SFJD on serum chemistry data of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	SCr/(μmol·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	GGT/(U·L ⁻¹)
对照	14	24.7±2.3	173.8±21.5	246.8±44.3	4.52±0.89	44.4±2.8	40.3±2.7	1.6±0.3
SFJD	16	23.5±4.1	161.5±9.1	301.5±32.5	4.36±0.78	45.9±2.2	41.6±1.8	1.8±0.2

组别	n	ALB/(g·L ⁻¹)	GLU/(mmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)
对照	14	19.8±1.5	5.41±1.01	2.11±0.18	1.48±0.46	0.85±0.21	902.1±162.4	1 591.7±303.5
SFJD	16	20.4±1.4	4.99±0.98	2.27±0.25	1.78±0.31	1.07±0.62	740.7±84.9	1 535.7±218.1

表 8 SFJD 对幼鼠淋巴细胞亚群的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 8 Effect of SFJD on lymphocyte subgroups of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ /%	CD8 ⁺ /%	CD4 ⁺ /%	CD45RA ⁺ /%	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照	14	36.7±9.1	10.7±2.1	24.5±6.7	28.8±7.0	2.26±0.22
SFJD	16	39.0±7.0	9.6±2.7	28.4±4.4	24.0±3.9	3.12±0.79

表 9 SFJD 对幼鼠血清睾酮、E₂ 和 IGF 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 9 Effect of SFJD on serum testosterone, E₂, and IGF of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	睾酮/(pg·mL ⁻¹)	IGF/(ng·mL ⁻¹)	E ₂ /(pg·mL ⁻¹)
对照	14	16 228±4 381	358.9±64.2	873.5±569.2
SFJD	16	11428±2 419	341.6±26.0	371.5±176.3

3.9 SFJD 对幼鼠脏器质量及脏器系数的影响

3.9.1 系统尸检 在给药期结束的剖杀中, 所有幼鼠毛顺, 有光泽, 营养状况良好; 颅腔内未见积水, 脑膜未见出血, 脑实质未见水肿; 胸、腹膜光滑, 未见粘连, 胸、腹腔内未见积液; 被检心、肺、肝、肾、脾、胸腺、肾上腺、甲状腺、胰腺、性腺、胃肠道、淋巴结等形态、颜色、位置等正常, 未见明显肉眼可见的病理改变。

3.9.2 主要脏器质量和脏器系数

(1) 脏器质量: SFJD 给药 14 d, 给药组动物脾

脏较对照组显著增大 ($P < 0.05$), 增大率为 22.5%。结果见表 10。

(2) 脏器系数: SFJD 给药 14 d, 与对照组相比, 给药组动物的肝、脾和肾的脏器系数较对照组显著增大 ($P < 0.01$), 增大率分别为 12.0%、25.3%和 11.5%。结果见表 10。

(3) 脏脑比: SFJD 给药 14 d, 给药组动物的肝、脾和肾的脏脑比较对照组显著增大 ($P < 0.01$), 增大率分别为 15.0%、28.8%和 14.4%。结果见表 11。

表 10 SFJD 对幼鼠脏器质量及脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 10 Effect of SFJD on organ weights and organ/BW ratios of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体质量/g	心脏		肝脏		脾脏	
			质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)	质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)	质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)
对照	14	46.5 ± 3.1	0.271 ± 0.027	5.820 ± 0.488	1.547 ± 0.149	33.210 ± 1.430	0.178 ± 0.025	3.816 ± 0.421
SFJD	16	45.3 ± 4.4	0.286 ± 0.040	6.319 ± 0.585	1.685 ± 0.202	37.197 ± 2.197**	0.218 ± 0.042*	4.783 ± 0.612**

组别	n	肾脏		脑		肾上腺		胸腺	
		质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)	质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)	质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)	质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)
对照	14	0.583 ± 0.062	12.523 ± 0.767	1.424 ± 0.067	30.705 ± 1.909	0.018 ± 0.005	0.395 ± 0.087	0.153 ± 0.032	3.266 ± 0.568
SFJD	16	0.632 ± 0.072	13.960 ± 0.832**	1.346 ± 0.059	29.889 ± 1.973	0.018 ± 0.005	0.394 ± 0.122	0.145 ± 0.040	3.189 ± 0.688

组别	n	睾丸		附睾		子宫		卵巢	
		质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)	质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)	质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)	质量/g	脏器系数/ (mg·g ⁻¹)
对照	14	0.240 ± 0.020	5.198 ± 0.481	0.078 ± 0.010	1.685 ± 0.214	0.049 ± 0.013	1.045 ± 0.243	0.038 ± 0.011	0.806 ± 0.205
SFJD	16	0.236 ± 0.035	5.035 ± 0.515	0.075 ± 0.016	1.618 ± 0.370	0.041 ± 0.006	0.932 ± 0.197	0.035 ± 0.007	0.817 ± 0.231

表 11 SFJD 对幼鼠脏脑比的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 11 Effect of SFJD on organ/brain ratios of pre-weaning rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	脏脑比				
		心脏	肝脏	脾脏	肾脏	肾上腺
对照	14	0.190 ± 0.015	1.087 ± 0.101	0.125 ± 0.018	0.410 ± 0.042	0.013 ± 0.003
SFJD	16	0.212 ± 0.022	1.249 ± 0.100**	0.161 ± 0.027**	0.469 ± 0.038**	0.013 ± 0.004

组别	n	脏脑比				
		胸腺	睾丸	附睾	子宫	卵巢
对照	14	0.107 ± 0.024	0.169 ± 0.018	0.055 ± 0.008	0.035 ± 0.011	0.027 ± 0.008
SFJD	16	0.108 ± 0.028	0.172 ± 0.020	0.055 ± 0.012	0.031 ± 0.005	0.027 ± 0.006

4 讨论

吴启富^[21]对应用 SFJD 治疗儿科疾病的进展进行了综述, 得出其在单独/联合治疗上呼吸道感染、咽结膜热、疱疹性咽峡炎、急性扁桃体炎、流感、反复呼吸道感染、急性支气管炎、肺炎、流行性腮

腺炎及手足口病等疾病中优于常规治疗方案; 由于中药制剂的特殊性, 许多中药在上市前均未进行临床前幼龄动物的安全性评价, 也未见有相关报道。实验动物与人类一样, 幼龄动物多数脏器系统尚未发育完全, 对毒性的易感性与成年动物也存在

差异^[22-23], 药物对幼龄动物作用的研究须考虑到动物模型和拟用人群年龄及器官成熟度的一致性^[20,24]。本研究选择 10 日龄大鼠作为考察对象, 对 SFJD 进行安全性评价, 该年龄段大鼠器官成熟度相当于 1 月龄~3.5 岁幼儿^[25]。

实验结果表明幼鼠给药后第 4、7 天的体质量增长率具有显著差异, 但随给药时间延长, 给药组幼鼠体质量增长率逐渐升高, 给药后第 11 天与对照组相比已无显著差异, 这或许与动物药物耐受有关, 临床应用时应予以关注; 幼鼠药后第 4、7 天体质量及体质量增长率的变化或许与稀便有关, 与 SFJD 临床使用存在腹泻不良反应的报道一致^[21]。但是体质量的降低没有改变幼鼠包括门齿萌出、张耳、睁眼、腹部出毛、体长、尾长及双侧胫骨长度等生长发育指标, 自主活动、学习和记忆功能也未见明显变化。

幼鼠给药后出现药物颜色相关的橙色尿液, 且 SG 略增加, 上述症状临床中未见报道, 尿液颜色的变化可能与药物浓度较高有关, 也可能与幼鼠以母乳为主有关, 不能模拟临床中幼儿母乳加饮水的喂养方式。

部分幼鼠 RBC 和 Ret 显著降低, 发生率为 1/8, 临床尚未见报道, 提醒临床大剂量长期应用时应予以关注; 血液学其他指标及血清生化、血清激素水平及 T、B 淋巴细胞亚群无显著改变。

幼鼠肝脏、脾脏、肾脏系数增加, 系统尸检未见明显异常。中药复方成分复杂且给药量较大, 长期使用时, 通常会增加主要代谢及排泄器官的负荷, 引起这些脏器的代偿性增大^[26]。由于本实验中幼鼠血清生化指标肝、肾相关功能酶无显著性变化, 血液学中白细胞及分类、淋巴细胞亚群均未见显著改变, 本研究机构尚未有大量该年龄段动物脏器质量的历史数据作参考, 不能完全排除药物对脏器的影响, 故在临床应用中需关注上述脏器的组织病理学改变。

综上所述, 10 日龄大鼠 ig 给予 4 g/kg 的 SFJD 14 d, 相当于 1 月龄婴幼儿至 3.5 岁儿童临床等效剂量的 3~5 倍, 总体耐受性较好, 无性别差异。临床大剂量长期应用时需关注可能出现的稀便、尿液橙染以及 RBC 和 Ret 降低等情况。

参考文献

- [1] 任庆伟. 疏风解毒胶囊联合抗生素治疗慢性支气管炎急性加重期临床观察 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(8): 1571-1573.
- [2] 叶祥庆, 曾德志, 罗世芳, 等. 疏风解毒胶囊治疗感冒

- 风热证临床观察 [J]. 安徽医药, 2013, 17(4): 664-666.
- [3] 刘 静, 马 莉, 陆 洁, 等. 疏风解毒胶囊解热作用机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2040-2043.
- [4] 欧 强, 宁惠明. 疏风解毒胶囊在临床疾病治疗中的应用 [J]. 世界中医药, 2017, 12(10): 2539-2542.
- [5] 郭姗姗, 金亚宏, 王意忠, 等. 疏风解毒颗粒防治手足口病的体内药效学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 206-209.
- [6] 陈冰泽. 疏风解毒胶囊治疗小儿手足口病 56 例疗效观察 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2013, 5(6): 539-540.
- [7] 黄敬之, 林 楚. 疏风解毒胶囊与蓝芩口服液治疗小儿手足口病疗效比较 [J]. 福建中医药, 2015, 46(5): 70-71.
- [8] 李裕昌, 吕 波, 吴赞开, 等. 疏风解毒胶囊外泡内服治疗肠道病毒 71 型小儿手足口病疗效观察 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(7): 1430-1432.
- [9] 张文忠. 疏风解毒胶囊联合利巴韦林治疗手口病的临床效果观察 [J]. 中国当代医药, 2016, 23(31): 110-112.
- [10] 朱伟峰. 疏风解毒胶囊联合干扰素及利巴韦林治疗小儿手足口病临床观察 [J]. 北京中医药, 2016, 35(10): 979-998.
- [11] 毕明远, 冯伟伟. 热毒宁注射液联合疏风解毒胶囊治疗小儿上呼吸道感染的临床疗效观察 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2015, 23(7): 118-120.
- [12] 李 文. 疏风解毒胶囊治疗小儿急性上呼吸道感染的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(9): 1140-1143.
- [13] 周小凤, 王小军. 疏风解毒胶囊治疗小儿急性病毒性上呼吸道感染风热证临床观察 [J]. 北京中医药, 2016, 35(1): 84-86.
- [14] 陈 宏, 苏玉明, 栾俊琦. 疏风解毒胶囊治疗小儿急性上呼吸道感染临床疗效观察 [J]. 世界中西医结合杂志, 2016, 11(5): 716-718.
- [15] 田淑霞, 徐志英, 肖 琼. 疏风解毒胶囊治疗小儿急性上呼吸道感染的临床观察 [J]. 中外女性健康研究, 2016, 16: 166-168.
- [16] 谢宏基, 吴建辉. 疏风解毒胶囊联合更昔洛韦注射液治疗小儿咽结膜热临床观察 [J]. 新中医, 2016, 48(2): 159-160.
- [17] 刘呈祥. 疏风解毒胶囊治疗小儿疱疹性咽峡炎 37 例 [J]. 河南中医, 2015, 35(7): 1695-1696.
- [18] 杨梅莲. 疏风解毒胶囊治疗小儿疱疹性咽峡炎 123 例疗效观察 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(12): 2364-2365.
- [19] 赵 扬, 谢志宏, 葛蒙梁, 等. 疏风解毒胶囊治疗带状疱疹的临床评价 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(2): 198-199.
- [20] 赵志远. 疏风解毒胶囊治疗小儿急性扁桃体炎 58 例 [J]. 河南中医, 2015, 35(7): 1690-1692.

- [21] Guideline for Industry: Nonclinical Safety Evaluation of Pediatric Drug Products [S]. 2006.
- [22] 吴启富. 疏风解毒胶囊治疗儿科疾病临床应用进展 [J]. 中国中医急症, 2017, 26(9): 1616-1618.
- [23] Mach J, Huizer-Pajkos A, Mitchell S J, *et al.* The effect of ageing on isoniazid pharmacokinetics and hepatotoxicity in Fischer 344 rats [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2016, 30(1): 23-34.
- [24] Baldrick P. Juvenile animal testing in drug development-is it useful [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2010, 57(2/3): 291-299.
- [25] Duarte D M, Silva-Lima B. Juvenile animal studies in the development of pediatric medicines: Experience from European medicines and pediatric investigation plans [J]. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2011, 92(4): 353-358.
- [26] Buelke-Sam J. Comparative schedules of development in rats and humans: Implications for developmental neurotoxicity testing [A] // *Toxicological Sciences* [C]. Oxford: Oxford Univ' Press, 2003.