

“百消散”毒理学实验观察

★ 李中炼¹ 周明² 刘昌英² 戴黎光² 刘志勇² (1. 江西中医学院 南昌 330006; 2. 江西省劳动卫生职业病防治研究所 南昌 330006)

摘要:目的:对百消散的急性毒性和亚急性毒性进行初步研究。方法:采用最大耐受量测定法及30d连续给药法分别观察其急性毒性和亚急性毒性。结果:急性毒性试验表明,百消散对雌、雄性小鼠急性经口给药LD₅₀分别为10.8 g/kg和9.26 g/kg。亚急性毒性试验结果显示,0.35 g/kg及以上剂量组动物试验一周后活动减少,体重增加缓慢,被毛蓬松无光泽;雌、雄大鼠的体重及增重、食物利用率、脾/体重系数、肾上腺/体重系数、胸腺/体重系数、白细胞总数(WBC)、血红蛋白(HGB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、胆固醇(TC)等检测参数与对照组比较,均有极显著性差异($P < 0.01$);甘油三脂(TG)、肌酐(CRE)与对照组比较差异无显著性($P > 0.05$)。病理组织学检查可见胃粘膜贲门处复层扁平细胞增生明显,表皮角化明显。部分粘膜有炎症反应,表现为炎症细胞浸润,血管扩张。结论:亚急性毒性试验结果显示,百消散可引起动物的体重、肝肾功能、血常规、脏器系数等检测指标的改变,且有一定剂量-反应关系,对此应作进一步研究。

关键词:百消散;急性毒性试验;亚急性毒性试验

中图分类号:R 99 **文献标识码:**A

The toxicity experiment observation of Bai-xiao-san(BXS)

LI Zhong-lian, ZHOU Ming, LIU Chang-ying, DAI Li-guang, LIU Zhi-yong

1. Jiangxi University of Traditional Chinese medicine, Nanchang 330006;

2. Jiangxi Institute of Labor Hygiene and Occupational Medicine, Nanchang 330006

证植物神经功能变化则与热证相反,呈现出副交感神经功能占优势,交感神经功能处于抑制状态。血、尿cGMP含量增加,cGMP/cAMP比值升高^[2]。(2)机体代谢功能:热证基础代谢率偏高,氧消耗量增多,产热增强。虚寒证的表现可能与能量代谢偏低有关^[3]。基因组学实验表明,寒证家系中的虚寒证患者与能量等代谢相关的表达基因存在差异,表明寒证存在能量异常、代谢减慢相应的分子生物学基础^[4]。(3)中枢神经系统功能:热证患者相对于寒证而言,中枢神经系统兴奋性增强。虚热证的形成与中枢兴奋物质、CAS丘脑下部促激素释放因子或其它肽类的增多而5-HT的减少有关^[5]。我们实验中制备的是实寒证与实热证模型,实寒证动物表现出心电活动较弱,自主活动减少,体温较低,体重增加率低,儿茶酚胺含量较低;实热证动物则表现出相反的方面,心电活动较强,自主活动增加,体温较高,儿茶酚胺含量较高,体重增加率亦较低。这与报道是一致的,热证时交感神经兴奋可引起心率加快、血中儿茶酚胺升高,寒证则相反;热证机体代谢功能增强,故体温升高,而寒证体温降低;热证中枢神经系统兴奋性增强,表现为自主活动增加,而寒证自主活动减少。此外,不论是实寒证还是实热证都属于疾

病状态,因此体重均有所减轻。上述指标中哪些可作为寒、热证的生物标记物?有待进一步通过数学挖掘的方法分析多层次、多水平实验和临床的结果,来判断寒热证的可能生物标记物。

参考文献

- [1] 裴兆辉,朱妙章,裴建明,等. 高效液相测定大鼠血浆儿茶酚胺的含量[J]. 心脏杂志,2003,15(1):9—11.
- [2] 杨勇,梁月华,汪长中,等. 虚寒、虚热证大鼠神经、内分泌、免疫与血液流变学的时相性研究[J]. 中医基础医学杂志,2002,8(2):29—32.
- [3] 陆明,严石林,丁维俊,等. 家族性肾阳虚寒证与糖、蛋白、脂质代谢相关性探讨[J]. 现代中西医结合杂志,2005,14(6):701—703.
- [4] 王米渠,杨丽萍,丁维俊,等. 一个寒证家系中发现15个差异表达基因的报告[J]. 中医杂志,2006,47(2):131—133.
- [5] 梁月华,李良. 寒证热证时中枢、内脏、尿内儿茶酚胺及5-羟色胺的变化[J]. 中医杂志,1991,(12):38—40.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006.

(收稿日期:2009-10-09)

Abstract: Object: To observe the acute and sub-acute toxic effects of Bai-xiao-san (BXS). Method: we adopted maximally tolerated dosage in acute toxicity tests in mice and successive administration 30d for sub-acute toxicity tests in rats. Result: The acute toxicity showed a dose-dependent increase after oral administration of BXS in mice. The LD₅₀ was observed at 10.8 g/kg and 9.26 g/kg, respectively. sub-acute toxic effects shows that after given dosage above 0.35 g/kg a week, the movement of mice reduced, weight increased slowly, skin showed no smooth. The weight and increased weight, food availability, spleen/body-mass index, adrenal/body-mass index, thymus/body-mass index, WBC, WGB, ALT, TP, ALB, TC had significant difference compared to control group ($P < 0.01$); TG, CRE showed no difference to control group ($P > 0.05$). Accrementation of flat cell was seen through histopathologic examination at gastric mucosa cardia, scarfskin cuticularize obviously, part of membrana mucosa had Inflammatory reaction. Conclusion: The study shows that at common dosage BXS would not cause drug interaction. However, at high dosages it exhibited marked damage to all the major organs of the body.

Key words: Bai-xiao-san (BXS); Acute toxicity; sub-acute toxicity

中药用药多为复方,成份多样,其毒理学研究与西药相比更具有独特性,更为复杂,难度更大。近年来,中药毒理学的研究逐步引起人们的关注。“百消散”为民间组方,主要用于消炎解毒,化瘀消结。为了给临床用药提供安全依据,对其进行了毒理学实验研究。

1 材料和动物

1.1 样品成份及性状 主要成份为山慈姑、五倍子、天葵、金银花、甘草、石菖蒲、松节等,性状为褐色粉末,由生药碾磨后过 200 目筛而成。

1.2 动物 ICR 小鼠 40 只,雌雄各半,体重 18 g ~ 22 g,由上海 BK 实验动物有限公司提供,合格证号为 SCXK(沪)0.23-0002;清洁级 S. D 大鼠 120 只,雌雄各半,雌鼠体重 85 g ~ 115 g,雄鼠体重 95 g ~ 125 g,由上海 BK 实验动物有限公司提供,合格证号为 SCXK(沪)0.23-0002。全价颗粒饲料饲养,环境条件:温度 21 ~ 22℃,相对湿度 55% ~ 60%。

2 方法

2.1 急性毒性试验^[1,2] 小鼠隔夜禁食,采用 24 h 3 次经口灌胃染毒法。按小鼠 10 g 体重给药 0.4 ml 灌胃,观察两周并记录小鼠中毒症状和死亡情况,观察期每周称重一次,至 14 d 观察结束。

2.2 亚急性毒性试验^[1,2] 剂量分组:将大鼠随机分为 5 组,每组 24 只,雌、雄各半。分别设空白对照组(蒸馏水灌胃)、0.2 g/kg 组(相当于每日人推荐用量)、0.35 g/kg 组(相当于每日人推荐用量的 1.75 倍)、0.612 g/kg 组(相当于每日人推荐用量的 3.06 倍)、1.072 g/kg 组(相当于每日人推荐用量的 5.36 倍)。

染毒方法:按 100 g 体重给药 1 ml 灌胃染毒,连续 30 d。每 6 d 称重一次,根据体重变化调整染毒剂量。第 31 d 股动脉取血做血常规、生化指标,测脏体比及做病理学检查。

主要观察指标:生长情况及中毒表现;血常规检

查:白细胞总数(WBC)、红细胞总数(RBC)、血红蛋白(Hb);血液生化学检查:血清尿素氮(BUN)、肌酐(CR)、血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、甘油三脂(TG)、胆固醇(TC)、测定;脏器系数和病理组织学检查:染毒结束,股动脉取血后处死动物,取肝、脾、肾、肾上腺、胸腺称重并计算脏器系数。然后将上述脏器用 10% 甲醛固定,HE 染色,进行病理组织学检查。

2.3 数据统计 采用 SPSS 8.0 for windows 统计软件进行统计处理。计量资料用方差分析 Dunnett 或 Dunnett's T3 检验,计数资料用 Nonparametric 检验。

3 结果

3.1 急性毒性试验 小鼠给药后,24 h 出现死亡,4 d 不死者可存活。主要中毒症状:蜷缩不动、被毛蓬松、稀便、肛周污秽、体重下降等。濒死及死亡动物巨检可见胃肠胀气。试验结束处死存活小鼠,巨检未见异常。

百消散对雌、雄性小鼠急性经口 LD₅₀ 分别为 10.8 g/kg 和 9.26 g/kg。

3.2 亚急性毒性试验

3.2.1 生长情况及中毒表现 对照组和 0.2 g/kg 剂量组大鼠生长及活动情况正常,被毛浓密有光泽。1.072 g/kg 剂量组连续给药 6 d 后,动物开始出现食欲减退,活动减少,被毛蓬松无光泽,稀便,肛周污秽,体重增加缓慢或下降甚至出现死亡,雌鼠死亡 2 只,死亡率为 17%。雄鼠死亡 4 只,死亡率为 34%。对濒死和死亡动物解剖发现胃肠胀气。0.35 g/kg 组和 0.612 g/kg 组动物体重也出现滞长现象。

3.2.2 对大鼠体重的影响 0.35 g/kg、0.612 g/kg 和 1.072 g/kg 三个剂量组连续给药 6 d 后开始出现体重增加迟缓现象,雄鼠表现更为明显。至实验结束,以上三个组剂量组雄鼠与对照组比较均有极显著性($P < 0.01$)。而雌鼠 1.072 g/kg 剂量组与对照组比较有极显著性($P < 0.01$)(见表 1)。

表 1 大鼠体重变化(均数±标准差)

性别	剂量组 /g·kg	动物数 /只	体重变化/g					
			始重	6 d	12 d	18 d	24 d	30 d
雌	对照组	12	102.25±5.74	138.75±8.45	164.50±9.79	185.42±11.33	206.08±14.15	220.33±15.73
	0.2	10	102.10±5.53	138.70±6.33	168.70±5.70	195.40±8.06	214.40±9.05	227.30±11.79
	0.35	12	100.58±6.61	136.92±7.25	167.17±7.15	188.17±9.74	205.25±12.25	212.75±12.34
	0.612	12	101.25±4.39	131.58±5.30*	153.25±9.91*	176.08±9.31	210.17±10.62	225.00±15.56
	1.072	10	101.30±5.29	97.40±5.83**	116.20±15.10**	136.00±23.02**	135.60±23.28**	142.50±33.56**
雄	对照组	12	106.92±4.96	159.33±6.33	208.08±6.87	252.67±7.49	293.00±9.84	319.75±15.14
	0.2	11	108.00±5.69	157.28±7.16	208.55±10.55	258.36±13.58	304.64±17.61	326.27±25.43
	0.35	11	103.73±4.69	156.18±5.13	202.18±9.40	241.45±18.31	259.27±21.08*	271.27±20.17**
	0.612	11	107.82±6.95	145.55±7.34**	164.09±20.50**	194.72±21.26**	227.55±26.93**	249.73±27.89**
	1.072	8	103.75±5.04	107.25±10.67**	117.38±16.18**	144.87±25.90**	146.50±29.35**	154.50±31.27**

方差分析 Dunnett 和 Dunnett's T3 检验: ** 各剂量组与对照组比较 $P < 0.01$, * 各剂量组与对照组比较 $P < 0.05$ 。

3.2.3 对大鼠血常规的影响 雌鼠 0.612 g/kg、1.072 g/kg 剂量组和雄鼠 1.072mg/kg 剂量组 HGB 均低于对照组,差别有极显著性意义($P < 0.01$)。雌、雄鼠 0.612 g/kg 和 1.072 g/kg 剂量组 WBC 均高于对照组,且差别有极显著性意义($P < 0.01$)。各剂量组与对照组比较 RBC 差异无显著性($P > 0.05$)。(见表 2)

表 2 大鼠血常规检查结果(均数±标准差)

性别	剂量组 /g·kg	动物数 /只	RBC ($\times 10^{12}/L$)	WBC ($\times 10^9/L$)	HGB /g·L
雌	对照组	12	7.11±0.54	9.67±2.04	133.42±7.51
	0.2	10	6.69±0.49	9.09±0.93	133.60±6.29
	0.35	12	7.04±0.42	11.60±3.54	133.42±6.68
	0.612	12	6.93±0.42	14.07±2.11**	117.33±9.21**
	1.072	10	6.31±0.78	13.91±4.62**	117.80±9.15**
雄	对照组	12	7.09±0.44	9.38±2.23	130.83±5.18
	0.2	11	6.93±0.47	11.75±2.57	137.55±7.80
	0.35	11	7.13±0.40	10.59±2.25	136.45±9.67
	0.612	11	7.07±0.42	14.97±4.94**	124.55±12.04
	1.072	8	6.80±0.50	13.58±3.27**	114.00±12.78**

方差分析 Dunnett 和 Dunnett's T3 检验: ** 各剂量组与对照组比较 $P < 0.01$, * 各剂量组与对照组比较 $P < 0.05$ 。

3.2.4 对大鼠肝功能影响 ①ALT 值比较 雌鼠 0.612 g/kg、1.072 g/kg 组及雄鼠 0.35 g/kg、0.612 g/kg 和 1.072 g/kg 组均高于对照组,差异有极显著性($P < 0.01$),且呈剂量-反应关系。②ALB 值比较 雌鼠各剂量组与对照组比较差异无显著性($P > 0.01$);雄鼠 0.612 g/kg 和 1.072 g/kg 组均低于对照组,差异有极显著性($P < 0.01$)。③TP 值比较 雌鼠 1.072 g/kg 剂量组和雄鼠 0.612 g/kg、1.072 g/kg 剂量组均低于对照组,差异有极显著性($P < 0.01$)。(见表 3)。

3.2.5 对大鼠肾功能及血脂影响 ①各剂量组 CR 值与对照组比较,差异无显著性意义($P > 0.05$)。②各剂量组 TG 值与对照组比较,差异无显著性意义($P > 0.05$)。③雌鼠 1.072 g/kg 剂量组 BUN 值高于对照组,差异有极显著性($P < 0.01$)。④雌鼠 0.35 g/kg、0.612 g/kg、1.072 g/kg 组及雄鼠

0.612 g/kg 和 1.072 g/kg 组 TC 值均低于对照组,差异有极显著性意义($P < 0.01$)。(见表 4)

表 3 大鼠血液生化结果(均数±标准差)

性别	剂量组 /mg·kg	动物数 /只	ALT /U·L	ALB /g·L	TP /g·L
雌	对照组	12	44.42±6.26	49.08±2.57	74.48±15.04
	0.2	10	44.60±9.63	51.20±3.26	75.61±8.20
	0.35	12	53.50±17.43	50.72±3.46	67.24±5.80
	0.612	12	67.67±14.45**	48.63±3.93	65.95±11.53
	1.072	10	108.50±16.73**	46.39±5.88	54.39±5.29**
雄	对照组	12	51.08±5.81	45.17±0.94	67.53±7.53
	0.2	11	54.45±8.93	46.82±2.93	72.89±6.84
	0.35	11	70.27±12.54**	46.53±4.35	65.60±5.35
	0.612	11	81.36±9.74**	39.38±4.67**	55.37±5.41**
	1.072	8	100.38±20.06**	37.78±1.57**	51.34±4.70**

方差分析 Dunnett 和 Dunnett's T3 检验: ** 各剂量组与对照组比较 $P < 0.01$, * 各剂量组与对照组比较 $P < 0.05$ 。

表 4 大鼠血液生化结果(均数±标准差)

性别	剂量组 /mg·kg	动物数 (只)	CR /mmol·L	BUN /mmol·L	TG /mmol·L	TC /mmol·L
雌	对照组	12	73.92±5.55	6.46±0.94	0.56±0.21	2.29±0.68
	0.2	10	73.30±4.45	5.78±0.54	0.49±0.14	2.15±0.52
	0.35	12	71.42±9.46	5.82±0.59	0.53±0.12	1.39±0.13**
	0.612	12	75.25±5.19	6.53±1.11	0.42±0.15	1.51±0.26**
	1.072	10	67.20±10.14	8.77±2.89**	0.40±0.19	0.86±0.27**
雄	对照组	12	68.58±4.40	5.51±0.69	0.65±0.16	1.63±0.27
	0.2	11	70.09±6.85	5.82±0.56	0.67±0.17	1.75±0.31
	0.35	11	70.18±4.56	5.20±0.51	0.60±0.39	1.43±0.34
	0.612	11	70.18±6.52	5.82±1.15	0.49±0.20	1.21±0.19**
	1.072	8	63.75±4.56	6.35±2.90	0.52±0.30	0.87±0.40**

分析 Dunnett 和 Dunnett's T3 检验: ** 各剂量组与对照组比较 $P < 0.01$, * 各剂量组与对照组比较 $P < 0.05$ 。

3.2.6 对大鼠脏器系数的影响 ①肝/体重系数 各剂量组与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。②脾/体重系数 雌鼠 1.072 g/kg 剂量组低于对照组,差异有极显著性($P < 0.01$),其它剂量组及雄鼠各组与对照组比较差异无显著性($P > 0.05$)。③肾/体重系数 各剂量组与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。④肾上腺/体重系数 雌、雄鼠 0.612 g/kg 和 1.072 g/kg 剂量组均高于对照组,差异有极显著性($P < 0.01$)。⑤胸腺/体重系数 雌鼠 1.072 g/kg 剂量组和雄鼠 0.612 g/kg、1.072 g/kg 剂量组均低于对照组,差异有极显著性($P < 0.01$),且呈剂量-反应关系。(见表 5)

表5 大鼠脏器系数(均数±标准差)

性别	剂量组 /mg·kg	动物数 (只)	肝/体系数(%)	脾/体系数(%)	肾/体系数(%)	肾上腺/体系数(%)	胸腺/体系数(%)
雌	对照组	12	4.08±0.21	0.287±0.036	0.812±0.050	0.027±0.004	0.286±0.039
	0.2	10	4.1±0.26	0.283±0.029	0.781±0.070	0.027±0.004	0.279±0.028
	0.35	12	4.23±0.24	0.287±0.022	0.839±0.031	0.028±0.003	0.281±0.090
	0.612	12	4.10±0.27	0.285±0.035	0.774±0.041	0.032±0.004**	0.257±0.046
	1.072	10	4.20±0.61	0.210±0.056**	0.818±0.060	0.036±0.008**	0.120±0.074**
雄	对照组	12	3.96±0.23	0.288±0.027	0.809±0.040	0.015±0.002	0.218±0.033
	0.2	11	4.13±0.30	0.279±0.041	0.793±0.056	0.014±0.002	0.218±0.038
	0.35	11	4.23±0.59	0.285±0.043	0.761±0.041	0.017±0.002	0.215±0.028
	0.612	11	3.89±0.29	0.295±0.032	0.795±0.049	0.022±0.002**	0.182±0.024**
	1.072	8	3.79±0.37	0.245±0.058	0.776±0.097	0.027±0.004**	0.088±0.055**

Nonparametric test 检验,各剂量组脏器系数与对照组比较,各剂量组与对照组比较** $P<0.01$ 。* $P<0.05$ 。

3.2.7 对大鼠食物利用率的影响 食物利用率比较,雌鼠 1.072 g/kg 剂量组及雄鼠、0.612 g/kg、1.072 g/kg 剂量组均低于对照组,差别有极显著性($P<0.01$)。(见表6)

表6 食物利用率(均数±标准差)

性别	剂量组 /mg·kg	动物数 (只)	体重增重/g	食物摄入量/g	食物利用率(%)
雌	对照组	12	118.08±13.12	562	21.02±2.34
	0.2	10	125.20±9.87	608	20.59±1.64
	0.35	12	112.17±11.21	567	19.79±1.97
	0.612	12	123.75±17.85	577	21.43±3.10
	1.072	10	41.20±30.51**	340	12.36±8.58**
雄	对照组	12	212.83±17.63	716	28.89±3.68
	0.2	11	218.27±25.90	771	28.31±3.35
	0.35	11	167.55±21.10**	664	25.45±3.21
	0.612	11	141.91±24.70**	625	22.73±3.94**
	1.072	8	50.75±28.72**	367	13.81±7.83**

Nonparametric test 检验,各剂量组脏器系数与对照组比较,各剂量组与对照组比较** $P<0.01$ 。* $P<0.05$ 。

3.2.8 病理学检查 实验结束,处死存活动物,巨检可见 0.612 g/kg、1.072 g/kg 剂量组大鼠胃、肠胀气,胃壁、肠壁变薄。病理组织学检查见胃粘膜贲门处复层扁平细胞增生明显,表皮角化明显。部分粘膜有炎症反应,表现为炎症细胞浸润,血管扩张。对照组及其它剂量组大体解剖肉眼观察未见异常。对高剂量组肝、肾、胃、肠、子宫、睾丸进行病理组织学检查,未见明显病理改变。

4 讨论

急性毒性试验表明,百消散对雌、雄性小鼠急性经口 LD50 分别为 10.8 g/kg 和 9.26 g/kg。

亚急性毒性试验结果显示:0.2 g/kg 剂量组(相当于每日人推荐用量)未观察到大鼠的毒性反应,动物生长及活动情况正常,被毛浓密有光泽,且

体重及其它各项检测指标与对照组比较差异均无显著性($P>0.05$)。0.35 g/kg 及以上剂量组动物试验一周后活动减少,体重增加缓慢,被毛蓬松无光泽;6d 后至实验结束体重与对照组比较差异有极显著性($P<0.01$);大鼠增重及食物利用率比较均低于对照组,差别有极显著性($P<0.01$);脾/体重系数、肾上腺/体重系数和胸腺/体重系数与对照组比较差异有极显著性($P<0.01$);白细胞总数(WBC)均高于对照组($P<0.01$);血红蛋白(HGB)低于对照组($P<0.01$);丙氨酸氨基转移酶(ALT)明显高于对照组($P<0.01$);总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、胆固醇(TC)低于对照组($P<0.01$);雌鼠尿素氮(BUN)高于对照组($P<0.01$)。甘油三脂(TG)、肌酐(CRE)与对照组比较差异无显著性($P>0.05$)。病理组织学检查见胃粘膜贲门处复层扁平细胞增生明显,表皮角化明显。部分粘膜有炎症反应,表现为炎症细胞浸润,血管扩张。

百消散可引起动物的体重、肝肾功能、血常规、脏器系数等检测指标的改变,且有一定剂量-反应关系,对此应作进一步研究。

参考文献

[1] Prieur D. J., Young D. M., Davis R. D., et. al. Procedures for pre-clinical toxicologic evaluation of cancer chemotherapeutic agents, protocols of the laboratory of toxicology. Cancer Chemoth Rep. 1973,4:1-28.

[2] Ghosh M. N. Toxicity studies. In: Ghosh M. N. (Ed.), Fundamentals of Experimental Pharmacology. Scientific Book Agency, Calcutta, India, 1984, pp. 153-158.

(收稿日期:2009-11-18)

