

稳心汤的急性毒理实验研究

段 练 熊兴江 李 军

(中国中医科学院广安门医院心内科, 北京, 100053)

摘要 目的: 稳心汤是治疗冠心病介入术后不稳定性心绞痛的有效方剂。本研究旨在观察稳心汤的急性毒性, 以评估其安全性。方法: 以稳心汤的最大给药浓度(5.2 g/mL)及最大给药体积(0.7 L/20 g·次)予小鼠灌胃, 分别于24 h内分3次灌胃, 连续观察2周。详细记录实验小鼠的外观、行为、一般状态、呼吸、中毒反应及死亡状况; 每天记录存活实验小鼠的体重及饲料量。实验结束后抽血检测肝肾功能。结果: 实验小鼠灌胃稳心汤3次/d, 最大给药量为425 g/kg, 未发现显著的急性毒性反应, 肝肾功能检测亦未有异常异常。结论: 稳心汤具有较好的安全性。

关键词 稳心汤; 急性毒性; 小鼠

Experimental Study of Acute Toxicity of the Wenxin Decoction

Duan Lian, Xiong Xingjiang, Li Jun

(Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

Abstract Objective: Wenxin Decoction is an effective prescription for unstable angina pectoris after coronary heart disease. The aim of this study was to observe the acute toxicity of the decoction to evaluate its safety. **Methods:** The maximum administration volume(5.2 g/mL) and the maximum drug concentration (0.7 mL/20 g each time) were administered to mice by three hours in 24 hours and 2 weeks respectively. The appearance, behavior, general state, respiration, toxic reaction and death status of the experimental mice were recorded in detail. The body weight and feeding rate of the surviving mice were also recorded every day. Liver function was examined by blood test after the treatment. **Results:** No significant acute toxicity reaction was observed 3 times in 1 days in the experimental mice with the maximum dose 425 g/kg. And no abnormality was found in liver and kidney function examine. **Conclusion:** Wenxin decoction is relatively safe.

Key Words Wenxin decoction; Acute toxicity; Mice

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.07.041

冠心病是心血管临床的常见病、多发病, 是致残和死亡的重要原因之一, 已成为全球重大公共卫生问题。近30年来, 随着影像学及导管技术的不断发展, 冠状动脉介入治疗已经成为新的治疗手段, 并被广泛应用于冠心病的临床治疗, 能够较好地改善冠心病患者的不适主诉及远期预后。然而, 介入术后的心绞痛复发、支架内再狭窄、血栓形成等并发症日益受到医学界关注^[1-2]。中医学在冠心病介入术后并发症的防治上具有一定的优势, 大量的研究证实中医药能够改善不稳定性心绞痛患者介入术后的生活质量及中医学证候规律, 促进患者康复^[3-6]。基于课题组10余年的理论与临床研究, 发现胸阳不振、心脉瘀阻是冠心病不稳定性心绞痛介入术后的基本病机^[7]。其中, 阳虚、血瘀在冠心病不稳定性心绞痛疾病中贯穿始终, 而扶阳活血则为其主要治则治法^[8-11]。在临床治疗中, 基于“扶阳活血”治则治法

而成的“稳心汤”是课题组治疗介入术后并发症的基本方剂, 研究发现本方不仅能有效改善心绞痛症状, 改善缺血心电图, 更能显著调节血液流变学、血脂等^[12-14]。本研究旨在观察稳心汤的急性毒性, 以评估其安全性。

1 资料与方法

1.1 实验用药 稳心汤由广安门医院煎药室提供。稳心汤组成: 党参15 g、肉桂3 g、细辛3 g、瓜蒌12 g、赤芍12 g、川芎10 g、莪术9 g、姜黄9 g、大黄8 g(后下)、全蝎9 g、麦冬12 g、山楂15 g、炙甘草6 g。在急性毒性实验研究中, 用0.5%羧甲基纤维素钠水溶液将受试药配成最大给药浓度(5.2 g/mL)。

1.2 实验动物 选取SPF级昆明小鼠(KM小鼠)40只, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 体重19.0~21.0 g, 按体重随机分为2组, 即治疗组与对照组各20只(雌雄各半)。动物雌雄分笼

基金项目: 国家中医药管理局行业专项(编号: 201207001)——“全国中医医疗与临床科研信息共享的推广应用研究”

通信作者: 李军(1971.10—), 男, 医学博士, 主任医师, 研究方向: 主要从事中西医结合心血管疾病防治和研究, Tel: (010) 88001094, E-mail: doctorli1031@163.com

饲养于中国中医科学院广安门医院实验动物中心。实验动物中心观察室的室温保持 20 ~ 25 ℃ ,相对湿度保持 38% ~ 41% ,环境清洁。

1.3 试剂 试剂盒丙氨酸氨基转移酶 (ALT):批号:8799;江莱生物;天门冬氨酸氨基转移酶 (AST):批号:9573;江莱生物;肌酐 (CR)批号:231305;江莱生物;尿素氮 (BUN)批号:7361;江莱生物。

1.4 仪器 全自动生化分析仪 (OLYMPUS AU2700);电子天平 (赛多利斯科学仪器 (北京)有限公司,型号:BSA124S);离心机 (安新县白洋离心机厂,型号:R5 型医用低速冷冻离心机)。

1.5 实验步骤 实验研究之前,所有实验小鼠禁食不禁水,12 h 后,将稳心汤的最大给药量予实验研究的小鼠进行灌胃,即最大给药浓度 (5.2 g/mL) 及最大给药体积 (0.7 mL/20 g · 次),分别于 24 h 内分 3 次进行灌胃。得出最大给药量为 425 g/kg,经计算小鼠的最大耐受量倍数 71.5 (倍),是人用临床剂量 159 g/50 kg,生药的 120 倍左右。每间隔 8 h 即以同样的剂量给药 1 次,一共给药 3 次。对照组给以相同剂量的 0.5% 羧甲基纤维素钠水溶液。连续观察 14 d,细致观察实验研究小鼠的外观、行为、一般状态、呼吸、中毒反应及死亡状况;详细记载实验小鼠的体重及饲料量。实验结束后抽血检测肝肾功能。实验研究中,针对死亡的小鼠,及时进行尸体解剖,肉眼观察脏器病理改变。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理,计量资料的描述用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 *t* 检验。

表 1 补肾降压方对受试动物体重的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	性别	只数	灌胃前体重 (g)	灌胃前体重 (g)
对照组	雌性	10	19.57 ± 0.78	31.34 ± 2.81
	雄性	10	20.45 ± 0.89	34.59 ± 2.87
	合计	20	20.02 ± 0.85	32.91 ± 2.85
给药组	雌性	10	19.80 ± 0.69 *	30.46 ± 2.73 *
	雄性	10	20.29 ± 0.79	33.63 ± 2.85
	合计	20	20.12 ± 0.71	32.12 ± 2.78

注:对照组与给药组 *t* 检验, * *P* < 0.05,给药前 (合计) *P* > 0.05;给药后 (合计) *P* > 0.05。

表 2 给药 2 周后小鼠 ALT、AST、BUN、Cr 的含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	ALT	AST	BUN	Cr
对照组	20	36.47 ± 14.91	59.61 ± 16.32	8.24 ± 0.94	23.81 ± 5.27
给药组	20	40.06 ± 15.86	65.39 ± 18.58	7.91 ± 1.11	25.14 ± 5.19

注:对照组与给药组 *t* 检验,ALT: *P* > 0.05;AST: *P* > 0.05.BUN: *P* > 0.05;Cr: *P* > 0.05。

2 结果

2.1 一般状况 所有实验研究的小鼠经灌胃稳心汤后,无震颤、惊厥、流涎、流泪、流涕、呼吸困难、便秘、腹泻等异常生命体征。小鼠外观皮毛光泽。2 周内实验研究的小鼠无一死亡。观察 2 周后,实验研究的小鼠无显著异常。

2.2 体重 详细记录实验研究的小鼠体重,统计发现,稳心汤对小鼠的体重无影响,差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。见表 1。

2.3 肝肾功能 2 周后摘眼球取血,离心,取血清,检测生化中的 ALT、AST、BUN、Cr,经统计发现,差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。见表 2。

3 讨论

稳心汤由如下药物组成:党参 15 g、肉桂 3 g、麦冬 12 g、细辛 3 g、赤芍 15 g、川芎 10 g、莪术 9 g、姜黄 9 g、全蝎 9 g、山楂 15 g、大黄 6 g 后下、炙甘草 6 g。方中党参补益心气、养血生津,肉桂温阳补肾、散寒通经,麦冬养阴生津。上药合用,共奏温阳散寒、益气滋阴之功,为扶正治本之法。川芎、赤芍、山楂活血化瘀、行气通阳,莪术、片姜黄破血行气,通经止痛,全蝎通络散结,细辛散寒止痛、温化痰饮,大黄通肠解毒、逐瘀通经,瓜蒌清热化痰、利气宽胸,上药合用,共奏理血行气、通经止痛、通阳化痰之功,为祛邪治标之法。炙甘草补中益气、调和诸药。纵观全方,攻补兼施、标本兼治、寒热并用,具有温阳益气、活血化瘀、化痰通络之功,方证对应,临床使用,颇多效验。

但稳心汤的临床用药安全性需要进一步的探究。急性毒性试验是目前评价临床试验用药安全性的证据之一。本实验为稳心汤系列研究的一部分。旨在研究稳心汤的急性毒理作用,了解其对生存状况、肝肾功能的损害。为将来进入临床运用提供依据,为以后的临床给药做出很好的指导。在本研究中,以稳心汤的最大给药浓度 (5.2 g/mL) 及最大给药体积 (0.7 mL/20 g · 次) 给予实验研究的小鼠进行灌胃,得出最大给药量为 425 g/kg,经计算小鼠的最大耐受量倍数 71.5 (倍),是人用临床剂量 159 g/50 kg 生药的 120 倍左右。在本研究中,灌胃给药期间,治疗组与对照组在饮水及摄入量方面差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。另外,我们观察了大鼠的体重及生长状况,并无致死致伤的情况出现,雌性与雄性分别观察,也并无差异。我们又进一步检测了实验研究小鼠的血生化,发现对照组与给药组在肝肾功能方面差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。研究提

示,大剂量稳心汤对实验研究的小鼠肝脏和肾脏没有显著影响。综上可知,稳心汤具有较好的安全性,这进一步为临床运用稳心汤治疗冠心病介入术后阳虚血瘀证提供了重要的临床与实验研究基础,为揭示中医学方证对应的科学内涵提供依据^[15]。

参考文献

- [1]段练,熊兴江,王阶. 冠心病的治疗性血管新生与活血化瘀[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(11):1561-1566.
- [2]王阶,李敏,刘咏梅,等. miRNA 在冠心病治疗中的作用及与中药的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(22):1-5.
- [3]褚福永,王阶,孙晓伟,等. 血府逐瘀胶囊改善不稳定型心绞痛介入术后血瘀证患者近期生活质量的随机双盲对照试验[J]. 中西医结合学报,2009,7(8):729-735.
- [4]褚福永,王阶,邢雁伟,等. 论证候动态演变规律的复杂性及研究思路[J]. 中医杂志,2009,50(10):936-938.
- [5]褚福永,王阶,姚魁武,等. 冠心病不稳定型心绞痛中医辨证分型与血脂及冠脉造影结果的相关性研究[J]. 北京中医药,2009,28(12):918-921.
- [6]褚福永,刘巍,刘红旭. 益气逐瘀方对心肌梗死大鼠心肌损伤标志物及 miR-24 基因表达的影响[J]. 北京中医药,2015,34(3):187-189.

- [7]王阶,熊兴江,何庆勇,等. 方证对应内涵及原则探讨[J]. 中医杂志,2009,50(3):197-199.
- [8]马晓昌,尹太英,陈可冀,等. 冠心病中医辨证分型与冠状动脉造影所见相关性比较研究[J]. 中国中西医结合杂志,2001,21(9):654-656.
- [9]高嘉良,李军,王阶. “扶阳活血法”在冠心病不稳定型心绞痛治疗中的运用[J]. 中国中药杂志,2016,41(3):59-62.
- [10]沈金玲. 温法治疗老年冠心病探析[J]. 中医研究,2008,21(6):6-8.
- [11]李柳骥,严季澜. 试论扶阳在心绞痛治疗中的地位及含义[J]. 中华中医药杂志,2009,24(7):840-842.
- [12]李军,张振鹏,熊兴江,等. 稳心汤治疗不稳定型心绞痛的随机对照研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(4):154-158.
- [13]宋祥和,李军,李长生. 稳心汤对不稳定型心绞痛病人高敏 C 反应蛋白及 D-二聚体的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2008,6(6):635-637.
- [14]李军,程广清,李长生. 稳心汤对不稳定型心绞痛患者血浆 Fib、IL-6、IL-8 的影响[J]. 山东中医杂志,2005,24(11):650-651.
- [15]王阶,熊兴江. 方证对应特征探讨[J]. 中医杂志,2010,51(3):200-203.

(2016-03-10 收稿 责任编辑:张文婷)

(上接第 1307 页)

- [8]Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Cohen R, et al. Targeting the TGF β pathway for cancer therapy[J]. Pharmacol Ther, 2015, 147:22-31.
- [9]彭素芳,王胜军,陈建国,等. 胃癌患者外周血 Th17 和 Treg 细胞的特异性转录因子与相关细胞因子的检测及临床意义[J]. 中华肿瘤杂志,2010,32(3):185-189.
- [10]孟欣颖,马健,江晨,等. 胃癌组织中 IL-17、IL-6 和 TGF- β 1 的表达及其临床意义[J]. 胃肠病学,2011,16(10):593-596.
- [11]沈卫东,刘鹏飞,刘兵团,等. TGF- β 1 和 Smad2 在胃癌中的表达及意义[J]. 世界华人消化杂志,2012,20(14):1238-1241.
- [12]Yuan XL, Chen L, Zhang TT, et al. Gastric cancer cells induce human CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells through the production of TGF- β 1[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(15):2019-2027.
- [13]陈颖,陈曲波. Th17 细胞在炎症疾病中的作用[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(12):1176-1177,1180.
- [14]Korn T, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-17 and Th17 cells[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27:485-517.
- [15]李必一,王若雨,赵勇. IL-17 在肿瘤发生发展中的作用及其临床意义[J]. 中国医药生物技术,2016,11(1):64-68.
- [16]Zhang B, Rong G, Wei H, et al. The prevalence of Th17 cells in patients with gastric cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 374(3):533-537.
- [17]Su Z, Sun Y, Zhu H, et al. Th17 cell expansion in gastric cancer may

contribute to cancer development and metastasis[J]. Immunol Res, 2014, 58(1):118-124.

- [18]Meng XY, Zhou CH, Ma J, et al. Expression of interleukin-17 and its clinical significance in gastric cancer patients[J]. Med Oncol, 2012, 29(5):3024-3028.
- [19]Saito H, Yamada Y, Takaya S, et al. Clinical relevance of the number of interleukin-17-producing CD8⁺ T cells in patients with gastric cancer[J]. Surg Today, 2015, 45(11):1429-1435.
- [20]Zeng Y, Zhang Q, Wang H, et al. Prognostic significance of interleukin-17 in solid tumors: a meta-analysis[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(7):10515-10536.
- [21]Jiang YX, Li PA, Yang SW, et al. Increased chemokine receptor IL-17RA expression is associated with poor survival in gastric cancer patients[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(6):7002-7008.
- [22]He D, Li H, Yusuf N, et al. IL-17 promotes tumor development through the induction of tumor promoting microenvironments at tumor sites and myeloid-derived suppressor cells[J]. J Immunol, 2010, 184(5):2281-2288.
- [23]Martin-Orozco N, Muranski P, Chung Y, et al. T helper 17 cells promote cytotoxic T cell activation in tumor immunity[J]. Immunity, 2009, 31(5):787-798.

(2016-01-15 收稿 责任编辑:王明)