

中药研究

健脾止泻宁颗粒的长期毒性研究

陈 犁 吕珊珊 譙志文 陈晓雪 杨 超 周年华

(重庆希尔安药业有限公司, 重庆, 401121)

摘要 目的:考察健脾止泻宁颗粒(简称JPZX)对大鼠的长期毒性,为其临床安全使用提供实验依据。方法:实验设4组,JPZX高、中、低剂量组分别按187.1 g生药/(kg·d)、119.3 g生药/(kg·d)、51.07 g生药/(kg·d)组,相当于临床拟用量55倍、35倍、15倍,及空白对照组。连续给药92 d及停药14 d,分别检测各组大鼠的一般状况、体质量、血常规、血液生化指标,并对大鼠脏器进行系统观察和组织病理学检查。结果:各剂量组大鼠给药期及恢复期一般状况、血液学、血生化、脏器重量及系数、大体解剖观察与组织病理学检查均未见明显异常改变。结论:JPZX无明显的长期毒性,未发现毒性靶器官,在临床剂量55倍以下有较好的安全性,按临床拟用剂量服用是安全的。

关键词 健脾止泻宁颗粒;大鼠;长期毒性

Study on the Long-term Toxicity of Jianpizhixiening Granule

Chen Li, Lyu Shanshan, Qiao Zhiwen, Chen Xiaoxue, Yang Chao, Zhou Nianhua

(Chongqing Healn Pharmaceutical Co., Ltd, Chongqing 401121, China)

Abstract Objective: To observe the long-term toxicity of Jianpizhixiening granule (JPZX) on rats to provide a scientific experimental basis for clinical treatment. **Methods:** The rats were randomly divided into four groups: a high, medium and low dose group of JPZX with 187.1, 119.3, 51.07 g crude drug · kg⁻¹ · day⁻¹ respectively, equal to 55, 35 and 15 times of clinic dose, and a control group. Parameters were examined, including general condition, body weight, the indexes of hematology, blood biochemistry and the related organ histopathology after successive administration of 92 days and 14 days' recovery. **Results:** In each group, there was no significant changes in the outer appearance and behavior, the indexes of hematology, blood biochemistry, organ weight and coefficient, gross anatomical observation and histopathological examination. **Conclusion:** In the 55 times of clinical dose, JPZX has no significant long-term toxicity, no toxicity target organ and is relatively safe under clinical proposed dose.

Key Words Jianpizhixiening granule; Long-term toxicity; Rats

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.05.049

健脾止泻宁颗粒(以下简称JPZX)处方组成为党参、莲子、白扁豆、黄连、黄芩、金银花、建曲、山楂、车前子(盐炙)和干姜,是重庆希尔安药业股份有限公司按照中药颗粒剂的制剂工艺生产而成,可清热除湿,健脾止泻,临床上用于小儿脾虚湿热所致的腹泻。取得了较好的疗效^[1]。已有研究发现,JPZX具有止泻、调节腹泻所致的电解质紊乱、抗炎、抗病毒、镇痛、助消化、促吸收、调节肠道微生态和增强机体免疫功能的药理作用^[2-6]。毒理学研究是保证临床用药安全的关键,其中长期毒性实验是主要的内容。本研究根据《中华人民共和国药品管理法》规定的长期毒性实验必须执行“药物非临床研究质量管理

规范”,以《中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则》(2005)为依据^[7-9],通过对实验SD大鼠长期重复给予受试药物JPZX干浸膏粉,观察该药物可能引起毒性反应的性质、程度、量效关系及可逆性;推测毒性靶器官或靶组织,为重复给药毒性实验的设计提供参考;为其临床安全应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SD大鼠,SFP级,120只,雌雄各半,体重50~60 g,4~5周龄,由四川省医学科学院实验动物研究所提供,实验动物生产许可证号:SCXK(川)2008-24。大鼠饲养在成都中医药大学药学院

基金项目:重庆市科学技术委员会科技计划项目(编号:cstc2011ggC10003-37)——健脾止泻宁颗粒药理药效再评价研究

作者简介:陈犁(1963.07—),男,大学本科,正高级工程师,重庆希尔安药业有限公司总经理,研究方向:药物研究,Tel:(023)67893740,E-mail:1401228930@qq.com

通信作者:周年华(1979.06—),男,大学本科,高级工程师,重庆研发副总经理,研究方向:中成药新药研发,Tel:(023)67893754,E-mail:244279691@qq.com

实验动物观察室,每笼 5 只。室内光照、湿度、温度标准。大鼠购回后饲养观察 1 周,观察各大鼠的一般外观、行为活动、进食饮水情况、大小便性状,并进行称重。给药前进行 1 次,符合实验要求的大鼠供实验用。

1.1.2 药品 JPZX 干浸膏粉(重庆希尔安药业有限公司提供,批号:120701),每克干浸膏粉含 12.16 g 生药。

1.1.3 试剂与仪器 使用 3% CMC-Na 溶液分散本品,沉降性能得到较大改善,性质稳定。相应可通过大鼠灌胃针的最大配制浓度约为 0.51 g/mL。血液生化、血液学指标检测的试剂(上海特康科技有限公司提供)。全自动生化分析仪(上海特康科技有限公司提供,型号:TC6010L);全自动三分群血液分析仪(上海特康科技有限公司,型号:TEK-II MINI);电子分析天平(上海越平科学仪器有限公司,型号:FA1204L);电子称(福州华志科学仪器有限公司,型号:LED-5001,批号:11062);离心机(湖南湘仪实验仪器开发有限公司,型号:TD25-WS 多管架自动平衡);切片机(徕卡 2015,德国);TSJ-Q 型全自动封闭式组织脱水机;BMJ-III 型包埋机;PHY-III 型病理组织漂烘仪(常州市中威医疗仪器有限公司);显微镜 Motic BA400;图像分析软件 Motic Images Advanced。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 SD 大鼠 120 只,随机分为 4 组,空白对照组、JPZX 干浸膏粉高、中、低剂量组,每组 30 只,雌雄各半。

1.2.2 给药方法 JPZX 高剂量组 187.1 g 生药/(kg·d)[相当于 15.39 g 干浸膏/(kg·d)]、中剂量组 119.3 g 生药/(kg·d)、低剂量组 51.07 g 生药/(kg·d),分别相当于临床拟用量 55 倍、35 倍、15 倍,剂量设计符合长期毒性实验^[10]。各组大鼠均按 15 mL/kg 的体积 2 次经口灌胃给予相应浓度的供试品或等体积的溶媒(3% CMC-Na 溶液)。给药当天定义为实验第 1 天。每天观察各组大鼠一般状况。每周停药 1 天,停药当天称量体重,每周测定摄食量;并根据新体重调整相应给药量,连续 92 d。给药 92 d 后,每组各随机处死大鼠 20 只(雌雄各 10 只),停药恢复 14 d,各组处死大鼠 10 只(雌雄各 5 只)。各组大鼠麻醉后腹主动脉采血进行血液学及血生化检测,并施以安乐死后进行大体解剖观察及病理组织学检查。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 一般观察 观察记录给药前 7 d、给药 92

d 和停药恢复 14 d 期间,每日每只动物的一般外观和行为活动,粪便形状、颜色,尿色,外观体征、五官等。每周记录一次体重和饲料消耗情况以观察动物生长情况(饲料消耗量以称重当天每笼大鼠消耗的饲料量表示)。

1.2.3.2 血液生化学检测 给药第 92 天及停药恢复第 14 天时,取空腹大鼠腹主动脉血,分离血清,检测以下指标:谷丙转氨酶,谷草转氨酶,碱性磷酸酶,谷氨酰转移酶,总胆红素,直接胆红素,总蛋白,白蛋白,球蛋白,白球比,尿素氮,肌酐,尿酸,胆固醇,三酰甘油,肌酸激酶,乳酸脱氢酶,羟丁酸脱氢酶,高密度脂蛋白,低密度脂蛋白,胆碱酯酶,葡萄糖, K^+ (钾离子)、 Cl^- (氯离子)、 Na^+ (钠离子)等 25 项血液生化指标。

1.2.3.3 血液学检测 给药第 92 天及停药恢复第 14 天时,取空腹大鼠腹主动脉血,用全自动三分群血液分析仪测定红细胞数,血红蛋白含量,红细胞比积,平均红细胞体积,平均血红蛋白含量,平均血红蛋白浓度,红细胞宽度变异系数,红细胞宽度标准差,血小板数,平均血小板体积,白细胞数,淋巴细胞绝对值,中间细胞绝对值,粒细胞绝对值,淋巴细胞百分比,中间细胞百分比,粒细胞百分比,血小板比积,血小板分布宽度,网织红细胞百分率及凝血酶原时间等 21 项血液学指标。

1.2.3.4 系统尸解 给药第 92 天及停药恢复第 14 天时,按“抓阄法”确定动物号数,分批处死检测。大鼠用戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血后脱颈处死。按本实验室实验动物尸体解剖标准操作规程进行全面系统尸解。肉眼观察主要脏器大小及形状、色泽、质地,有无肉眼可见病变或异常,并取心、肝、脾、肺、肾、脑、胸腺、肾上腺、子宫、卵巢、睾丸、附睾等组织器官称重,计算脏器系数(脏器系数=脏器质量/体质量 $\times 100\%$)。

1.2.3.5 组织病理学检查标本 JPZX 干浸膏粉大鼠长期毒性给药 92 d 及停药 14 d 药物高、中、低剂量组和空白组各 30 只动物(雌雄各半),分别取心、肝、脾、肺、肾、脑(大脑、小脑、脑干)、垂体、脊髓(颈段、胸段、腰段)、子宫、卵巢、乳腺、甲状腺、甲状旁腺、胸腺、胰腺、肾上腺、胃、十二指肠、回肠、结肠、膀胱、淋巴结、食管、气管、睾丸、附睾、前列腺、坐骨神经、唾液腺(下颌下腺)、胸骨、主动脉。10% 甲醛固定。脱水、修剪、包埋、切片、HE 染色、封片等,最后镜检并显微照像。以上标本均按四川省医学科学院·四川省人民医院实验动物研究所质量监控室病

理组病理检验 SOP 程序进行。

1.3 统计学方法 采用 SPSS for Windows 17.0 软件学软件对数据进行分析。数据资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,单因素方差分析 (ANOVA), Levene 方差齐性检验进行统计学检验,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般观察 给药 92 d 和停药 14 d 期间,空白组及 JPZX 高、中、低剂量组各动物容态、步态均正常,被毛光滑;眼睑无充血水肿,眼结膜无水肿出血点,瞳孔大而圆;外耳无异常分泌物;口腔黏膜红润,无溃疡及出血点;各大鼠生殖系统无异常分泌物,大、小便形状,气味均正常。其中 JPZX 高、中剂量组大便带药色,形状、气味均无异常。

2.2 对大鼠摄食量及体重的影响 给药前 1 周和给药 92 d 期间,大、中、低剂量组大鼠的饲料消耗量分别与空白组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。大鼠体重结果见表 1、2、3、4。表 1 显示给药 92 d 期间,低剂量组雌性大鼠 4 ~ 12 周体重有明显增长 ($P < 0.05$);中剂量组 6 ~ 12 周体重有明显增长 ($P < 0.05$),高剂量组有促进体重增长的趋势,但多数时间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。表 2 结果显示给药 92 d 期间,低剂量组雄性大鼠第 3 周后体重均有明显增长 ($P < 0.05$);由表 3、4 等表可见长期给药 (3 个月)停药 14 d 后,JPZX 中剂量组雄性大鼠的体重有明显促进增长影响 ($P < 0.05$);其余时间点各组体重增长正常 ($P > 0.05$)。

2.3 对血液生化学指标的影响 结果见附表 5、6、7、8。给药 92 d 期结束:表 5 显示,雌性大鼠与空白组比较,低剂量组白蛋白升高、钾降低,高剂量组葡萄糖降低、钠降低,以上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。表 6 显示,雄性大鼠与空白组比较,低剂量组白蛋白升高、总蛋白降低、钾降低,中剂量组三酰甘油降低、高密度脂蛋白降低、葡萄糖降低、钾降低,高剂量组葡萄糖降低,以上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。停药恢复 14 d 结束:表 7 显示,雌性大鼠与同期空白组比较,低剂量组总蛋白降低、球蛋白降低、高密度脂蛋白升高、低密度脂蛋白升高、葡萄糖升高,高剂量组总蛋白降低、球蛋白降低、白球比升高、钾降低,以上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。表 8 显示,雄性大鼠与同期空白组比较,低剂量组总蛋白降低、球蛋白降低、胆固醇降低、高密度脂蛋白升高、钾降低,中剂量组胆固醇降低、钾降低、氯降低,高剂量组总蛋白降低、白蛋白升高、球蛋白降低、白

球比升高、胆固醇降低、高密度脂蛋白升高、葡萄糖降低、钾降低,以上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

除以上指标外,给药结束及恢复期结束,JPZX 各组大鼠天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、肌酸磷酸激酶 (CK)、碱性磷酸酶 (ALP)、尿素 (Urea)、乳酸脱氢酶 (LDH)、肌酐 (Crea)、总胆固醇 (CHOL) 及电解质浓度等各项血生化指标均未见明显异常改变。

综上所述,上述总蛋白、球蛋白、钾、氯、葡萄糖指标变化幅度较小,且在正常参考值范围内;白蛋白、胆固醇、高密度脂蛋白的改变具有一定防治作用。故认为其改变在给药期与恢复期均无明显毒理学意义。

2.4 对血液学的影响 结果见附表 9、10、11、12。给药 92 d 期结束:表 9 结果表明,雌性大鼠与同期空白组比较,低剂量组平均血红蛋白含量升高,中剂量组平均血红蛋白含量升高、平均血红蛋白浓度升高、红细胞宽度标准差降低,高剂量组平均血红蛋白含量升高、平均血红蛋白浓度升高、红细胞宽度标准差降低,以上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。表 10 结果表明,雄性大鼠与空白组比较,高剂量组平均白细胞数降低、中间细胞绝对值降低,以上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。停药恢复 14 d 结束:表 11 结果表明,雌性大鼠与同期空白组比较,低剂量组血小板分布宽度升高,中剂量组平均血红蛋白浓度升高、血小板分布宽度升高,高剂量组平均血红蛋白浓度升高、血小板分布宽度升高,以上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。表 12 结果表明,雄性大鼠与同期空白组比较,低剂量组中间细胞百分比升高、粒细胞百分比降低,中剂量组中间细胞百分比升高、粒细胞百分比降低,高剂量组血小板数升高、淋巴细胞绝对值升高、中间细胞百分比升高、粒细胞百分比降低、血小板比积升高,以上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

除以上指标外,给药结束及恢复期结束,JPZX 各组大鼠红细胞计数 (RBC)、红细胞容积 (HCT)、网织红细胞百分比 (RET%)、血小板计数 (PLT)、凝血酶原时间 (PT) 等各项血液学指标均未见明显异常改变。

综上所述,上述白细胞、粒细胞、淋巴细胞绝对值、中间细胞百分比、血小板数指标变化幅度较小,且在正常参考值范围内;平均血红蛋白浓度、平均血红蛋白含量、红细胞宽度标准差的改变具有一定防治作用。故认为其改变在给药期与恢复期均无明显毒理学意义。

表 1 雌性大鼠给药 92 d 体重变化 (g, ♀, $\bar{x} \pm s$)

时间	空白组 (n = 15)	低剂量组 (n = 15)	中剂量组 (n = 15)	高剂量组 (n = 15)
给药前	71.11 ± 5.29	73.54 ± 6.73	71.99 ± 4.35	71.70 ± 5.74
给药后 1 周	91.29 ± 9.15	94.86 ± 11.58	89.68 ± 10.11	90.17 ± 7.05
给药后 2 周	113.93 ± 14.13	122.45 ± 11.83	114.09 ± 14.90	117.48 ± 11.81
给药后 3 周	136.47 ± 21.31	148.69 ± 13.44	140.91 ± 18.77	140.64 ± 14.58
给药后 4 周	151.59 ± 27.89	169.77 ± 14.34 *	164.59 ± 20.43	162.37 ± 17.72
给药后 5 周	166.79 ± 31.93	187.35 ± 16.41	185.97 ± 21.48	180.86 ± 18.68
给药后 6 周	181.25 ± 33.89	205.75 ± 18.81 *	205.19 ± 21.28 *	193.07 ± 15.95
给药后 7 周	191.69 ± 35.42	218.01 ± 18.96 *	219.51 ± 22.67 *	207.76 ± 17.70
给药后 8 周	202.93 ± 33.53	229.57 ± 19.93 *	231.00 ± 22.88 **	219.85 ± 19.32
给药后 9 周	213.16 ± 29.12	235.63 ± 20.81 *	233.38 ± 22.31 *	220.94 ± 18.31 *
给药后 10 周	224.93 ± 20.77	246.90 ± 22.54 *	247.28 ± 23.48	232.95 ± 17.46
给药后 11 周	232.34 ± 18.70	255.15 ± 24.39 **	254.79 ± 26.05 **	237.60 ± 19.11
给药后 12 周	238.52 ± 18.57	258.71 ± 24.80 **	259.67 ± 25.75 **	244.43 ± 18.95
给药后 13 周	249.44 ± 22.03	264.22 ± 27.62	265.93 ± 25.51	255.54 ± 21.15

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

表 2 雄性大鼠给药 92 d 体重变化 (g, ♂, $\bar{x} \pm s$)

时间	空白组 (n = 15)	低剂量组 (n = 15)	中剂量组 (n = 15)	高剂量组 (n = 15)
给药前	74.62 ± 5.55	73.36 ± 5.63	74.02 ± 7.38	73.49 ± 6.37
给药后 1 周	94.58 ± 9.27	98.10 ± 11.03	97.66 ± 11.26	90.63 ± 8.75
给药后 2 周	120.83 ± 13.02	132.33 ± 14.38	126.83 ± 12.81	118.79 ± 13.46
给药后 3 周	154.21 ± 16.83	172.29 ± 20.18 *	157.61 ± 15.59	146.67 ± 17.25
给药后 4 周	180.59 ± 20.61	201.55 ± 27.18 **	185.63 ± 20.00	172.85 ± 22.02
给药后 5 周	204.96 ± 24.32	230.47 ± 30.69 *	216.64 ± 24.16	200.97 ± 24.37
给药后 6 周	227.73 ± 29.02	262.27 ± 32.60 **	242.15 ± 25.75	223.20 ± 26.65
给药后 7 周	248.56 ± 27.77	293.43 ± 37.70 **	266.73 ± 28.23	242.00 ± 25.62
给药后 8 周	276.21 ± 29.77	325.48 ± 39.82 **	293.41 ± 31.49	272.38 ± 24.15
给药后 9 周	290.99 ± 30.49	329.97 ± 41.95 **	297.39 ± 29.78	281.49 ± 28.45
给药后 10 周	315.40 ± 31.21	352.39 ± 37.83 **	316.17 ± 32.06	298.21 ± 30.62
给药后 11 周	325.46 ± 35.31	363.56 ± 37.46 **	330.83 ± 36.36	316.83 ± 32.52
给药后 12 周	331.02 ± 36.23	368.16 ± 37.02 **	340.06 ± 35.98	326.89 ± 35.33
给药后 13 周	339.37 ± 36.61	378.78 ± 38.62 **	352.49 ± 40.52	342.33 ± 38.34

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

表 3 雌性大鼠恢复期体重变化 (g, ♀, $\bar{x} \pm s$)

时间	空白组 (n = 5)	低剂量组 (n = 5)	中剂量组 (n = 5)	高剂量组 (n = 5)
给药后 14 周	240.92 ± 11.24	261.36 ± 19.27	275.44 ± 25.84	260.94 ± 18.65
给药后 15 周	241.48 ± 9.19	259.80 ± 19.51	273.04 ± 23.07	257.56 ± 19.30

表 4 雄性大鼠恢复期体重变化 (g, ♂, $\bar{x} \pm s$)

时间	空白组 (n = 5)	低剂量组 (n = 5)	中剂量组 (n = 5)	高剂量组 (n = 5)
给药后 14 周	349.72 ± 34.55	390.52 ± 47.36	399.34 ± 29.29 **	338.84 ± 56.53
给药后 15 周	357.46 ± 36.09	398.64 ± 47.35	413.40 ± 28.72 *	349.64 ± 59.29

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

表 5 雌性大鼠给药 92 d 血液生化检测 ($\bar{x} \pm s$, ♀, n = 10)

指标 (单位)	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
白蛋白 (g/L)	5.64 ± 1.34	6.81 ± 1.58 *	6.12 ± 1.39	5.14 ± 1.51
葡萄糖 (mmol/L)	8.60 ± 2.20	9.89 ± 3.11	9.01 ± 3.11	6.18 ± 1.27 *
钾 (mmol/L)	6.04 ± 0.32	5.63 ± 0.23 *	5.81 ± 0.55	5.95 ± 0.37
钠 (mmol/L)	140.65 ± 0.85	140.79 ± 1.20	139.73 ± 0.85	138.81 ± 2.73 *

注:与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

表 6 雄性大鼠给药 92 天血液生化学检测($\bar{x} \pm s, \delta, n = 10$)

指标(单位)	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
总蛋白(g/L)	56.77 ± 8.39	39.84 ± 9.57 * *	58.67 ± 10.78	66.52 ± 12.07
白蛋白(g/L)	5.22 ± 0.82	6.45 ± 1.04 *	4.80 ± 0.81	5.21 ± 1.01
球蛋白(g/L)	51.55 ± 8.50	33.39 ± 10.01 *	53.87 ± 10.51	61.21 ± 12.51
白球比	0.11 ± 0.03	0.21 ± 0.08 *	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.03
三酰甘油(mmol/L)	0.73 ± 0.19	0.57 ± 0.21	0.45 ± 0.11 *	0.80 ± 0.37
高密度脂蛋白(mmol/L)	0.62 ± 0.18	0.46 ± 0.07	0.31 ± 0.28 *	0.59 ± 0.34
胆碱酯酶(M/L)	946.40 ± 220.98	893.00 ± 334.90	1164.90 ± 533.65	928.00 ± 111.23
葡萄糖(mmol/L)	9.74 ± 2.03	11.38 ± 3.30	6.99 ± 2.02 *	7.23 ± 1.70 *
钾(mmol/L)	6.32 ± 0.36	5.96 ± 0.20 *	5.88 ± 0.31 * *	6.09 ± 0.19

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; * * $P < 0.01$ 。

表 7 雌性大鼠恢复期血液生化学检测($\bar{x} \pm s, \varphi, n = 5$)

指标(单位)	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
总蛋白(g/L)	96.84 ± 10.96	71.10 ± 7.42 * *	88.56 ± 4.76	64.90 ± 7.08 * *
白蛋白(g/L)	13.26 ± 1.87	13.10 ± 1.50	11.50 ± 1.15	13.36 ± 3.70
球蛋白(g/L)	83.58 ± 12.73	58.00 ± 6.12 * *	77.06 ± 5.18	51.54 ± 7.23 * *
白球比	0.16 ± 0.05	0.23 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.27 ± 0.09 *
高密度脂蛋白(mmol/L)	0.19 ± 0.05	1.18 ± 0.09 * *	0.63 ± 0.23	0.73 ± 0.49
低密度脂蛋白(mmol/L)	1.01 ± 0.23	4.34 ± 3.52 * *	0.26 ± 0.01	0.58 ± 0.41
胆碱酯酶(M/L)	865.40 ± 168.46	859.40 ± 147.20	891.80 ± 132.68	955.80 ± 93.66
葡萄糖(mmol/L)	5.33 ± 1.10	12.10 ± 5.80 *	10.11 ± 3.91	8.59 ± 2.70
钾(mmol/L)	6.10 ± 0.16	5.90 ± 0.21	5.87 ± 0.22	5.50 ± 0.34 *

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; * * $P < 0.01$ 。

表 8 雄性大鼠恢复期血液生化学检测($\bar{x} \pm s, \delta, n = 5$)

指标(单位)	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
总蛋白(g/L)	78.56 ± 7.15	60.82 ± 18.25 * *	90.86 ± 8.08	60.90 ± 5.81 * *
白蛋白(g/L)	11.20 ± 3.63	9.34 ± 1.39	12.36 ± 4.14	16.96 ± 4.00 *
球蛋白(g/L)	67.36 ± 7.06	51.48 ± 17.33 * *	78.50 ± 7.11	43.94 ± 5.45 *
白球比	0.17 ± 0.06	0.19 ± 0.03	0.16 ± 0.06	0.40 ± 0.12 * *
胆固醇(mmol/L)	2.85 ± 0.45	1.46 ± 0.83 * *	1.59 ± 0.79 * *	1.64 ± 0.73 * *
高密度脂蛋白(mmol/L)	0.44 ± 0.42	1.48 ± 0.20 * *	0.76 ± 0.36	1.11 ± 0.67 *
低密度脂蛋白(mmol/L)	0.93 ± 0.09	1.65 ± 0.57	1.03 ± 0.86	1.47 ± 1.11
胆碱酯酶(M/L)	941.00 ± 212.91	1 068.40 ± 226.97	1 046.20 ± 151.94	990.20 ± 112.03
葡萄糖(mmol/L)	14.65 ± 8.25	9.68 ± 3.63	10.27 ± 2.05	8.08 ± 1.20 *
钾(mmol/L)	6.37 ± 0.28	5.62 ± 0.23 *	5.88 ± 0.28 *	5.79 ± 0.38 *
钠(mmol/L)	140.37 ± 1.19	140.95 ± 1.24	140.56 ± 0.75	139.47 ± 0.76
氯(mmol/L)	112.67 ± 2.09	110.83 ± 1.43	107.54 ± 2.05 *	110.37 ± 0.65

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; * * $P < 0.01$ 。

表 9 雌性大鼠给药 92 d 血液学指标检测($\bar{x} \pm s, \varphi, n = 10$)

指标(单位)	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
平均血红蛋白含量(pg)	23.75 ± 1.04	25.25 ± 1.92 *	26.60 ± 1.66 * *	26.12 ± 1.56 * *
平均血红蛋白浓度(g/L)	514.70 ± 23.13	535.20 ± 36.79	566.90 ± 30.82 *	564.70 ± 39.70 * *
红细胞宽度标准差(fL)	44.42 ± 16.00	40.40 ± 25.12	27.88 ± 23.63 *	25.19 ± 12.54 *

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; * * $P < 0.01$ 。

表 10 雄性大鼠给药 92 d 血液学指标检测($\bar{x} \pm s, \delta, n = 10$)

指标(单位)	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
白细胞数(10E9/L)	10.97 ± 6.27	8.85 ± 4.32	8.30 ± 3.47	6.89 ± 2.16 *
中间细胞绝对值(10E9/L)	0.64 ± 0.24	0.55 ± 0.19	0.60 ± 0.25	0.44 ± 0.16 *

注:与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

表 11 雌性大鼠恢复期血液学指标检测($\bar{x} \pm s, \text{♀}, n = 10$)

指标(单位)	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
平均血红蛋白浓度(g/L)	557.00 ± 28.74	587.60 ± 19.24	624.60 ± 39.61 **	605.60 ± 26.24 *
血小板分布宽度(%)	23.60 ± 1.74	26.54 ± 3.09 **	26.20 ± 1.41 *	25.84 ± 1.26 *

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;** $P < 0.01$ 。

表 12 雄性大鼠恢复期血液学指标检测($\bar{x} \pm s, \text{♂}, n = 10$)

指标(单位)	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
血小板数($10^9/\text{L}$)	531.20 ± 59.42	600.80 ± 82.29	618.20 ± 80.35	663.00 ± 78.07 *
淋巴细胞绝对值($10^9/\text{L}$)	1.22 ± 0.23	1.48 ± 0.25	1.66 ± 0.56	1.72 ± 0.44 *
中间细胞百分比(%)	11.34 ± 1.81	15.38 ± 2.09 **	15.62 ± 1.97 **	15.56 ± 1.16 **
粒细胞百分比(%)	71.48 ± 2.48	63.74 ± 4.61 **	63.46 ± 2.82 **	62.20 ± 3.22 **
血小板比积(L/L)	0.41 ± 0.05	0.47 ± 0.06	0.47 ± 0.05	0.51 ± 0.06 **

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;** $P < 0.01$ 。

2.5 系统尸解、脏器重量和脏器系数 连续灌胃给药 92 d 和停药恢复 14 d 后,对各组大鼠实施麻醉腹主动脉取血脱颈处死,进行详细的解剖观察。肉眼观察心脏、肝脏、脾脏、肺、肾脏、生殖脏器、胃肠道等各脏器,其大小、形态、颜色或质地均未见与供试品相关的异常改变。给药结束及恢复期结束,与同期对照组比较,JPZX 各组大鼠心脏、肝脏、脾脏、胸腺、肺、肾脏、卵巢、子宫、睾丸、附睾等脏器的绝对重量、脏器系数未见明显改变,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.6 组织病理学检查结果 肺脏:间质性肺炎(给药 92 d 对照组雌性 1 只、对照组雄性 1 只、低剂量组雌性 1 只)。肺脓肿:(给药 92 d 对照组雄性 3 只、中剂量组雌性 2 只、高剂量组雄性 1 只,停药 14 d 低剂量组雄性 1 只、中剂量组雌性 1 只、中剂量组雄性 1 只);心脏:心肌炎(低剂量组雄性 1 只);胸腺:胸腺萎缩,胸腺免疫细胞减少(低剂量组雄性 1 只)。各组随机发生的间质性肺炎、肺脓肿、心肌炎均属于实验动物自发性病变,为非特异性病变,病变散在于对照组及各药物组,无统计学意义;胸腺萎缩,胸腺免疫细胞减少,本实验只发生 1 例,是否为药物一起还有待进一步研究。JPZX 92 d 长期毒性实验高、中、低剂量组对大鼠连续给药 92 d 及停药恢复 14 d,所检脏器未见由药物引起的明显组织形态、结构异常。

3 讨论

JPZX 是儿科用药。儿童患者正处于生长发育过程,各脏器功能以及酶系统、免疫中枢系统发育不完善,药效学和药物代谢动力学有其自身规律^[11]。美国 FDA^[12]和欧洲药品评价局(EMA)^[13]均已发布有关儿科药物非临床安全评价的指导原则,其中

明确提出有些药物对儿童特殊发育时期的影响难以在临床试验中发现,因此有必要开展幼龄动物的非临床安全评价。本实验通过对幼龄大鼠长期重复给予受试药物 JPZX 干浸膏粉,描述大鼠重复接受受试药物后的毒性特征,1) 预测受试物可能引起的临床不良反应,包括不良反应的性质、程度、剂量—反应和时间—反应的关系,可逆性等;2) 推测受试物重复给药的临床毒性靶器官或靶组织;3) 预测临床实验的起始剂量和重复用药的安全剂量范围;4) 提示临床实验中应重点检测的指标;5) 为临床实验中的解毒或解救措施提供参考信息。

本实验模拟 3~4 岁儿童,4~5 周龄 SD 大鼠连续 92 d 经口灌胃给予 187.1 g 生药/(kg·d)[相当于 15.39 g 干浸膏/(kg·d)]、119.3 g 生药/(kg·d)、51.07 g 生药/(kg·d)的 JPZX,分别相当于临床拟用量 55 倍、35 倍、15 倍,各组大鼠一般状况、血液学、血生化、脏器重量及系数、大体解剖观察与组织病理学检查均未见明显异常改变。实验大鼠停药 14 d,进行恢复期观察及检测,结果未见延迟性不良反应。血液生化和血液学测定有少部分指标与正常对照组比较,显示有统计学意义,但是从专业角度分析,认为没有毒理学意义^[14]。各组少数样本随机发生的间质性肺炎、肺脓肿、心肌炎均属于实验动物自发性病变,为非特异性病变,病变散在于对照组及各药物组,考虑为自发性病变;胸腺萎缩,胸腺免疫细胞减少,本实验只发生 1 例,是否为药物一起还有待进一步研究。

综上所述,本实验条件下,大鼠连续 92 d 经口灌胃给予 JPZX 的无毒性反应剂量(NOEL)为 187.1 g 生药/(kg·d)(临床拟用量的 55 倍),提示 JPZX 用于临床是安全的。

参考文献

- [1] 高银辉, 张磊. 健脾止泻宁颗粒治疗小儿迁延性腹泻病(脾虚湿热证)60 例[J]. 中国药业, 2016, 25(4): 127-128.
- [2] 邹福琛. 健脾止泻宁颗粒合云南白药治疗溃疡性结肠炎 36 例[J]. 中国中医急症, 2012, 21(8): 1324-1325.
- [3] 朱艳萍, 孙兴荣, 滕永华, 等. 健脾止泻宁颗粒治疗轮状病毒肠炎 39 例[J]. 医药前沿, 2014, 4(24): 337-338.
- [4] 陈欢, 谯志文, 杨发龙, 等. 健脾止泻宁颗粒对肠道微生态的影响[A]. 中华中医药学会中药实验药理分会 2014 年学术年会论文摘要汇编[C]. 太原: 2013.
- [5] 任香怡, 吕姗姗, 张荫杰, 等. 健脾止泻宁颗粒对免疫功能的影响[A]. 中华中医药学会中药实验药理分会 2014 年学术年会论文摘要汇编[C]. 太原: 2013.
- [6] 周年华, 吕姗姗, 谯志文, 等. 健脾止泻宁颗粒止泻作用的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2016, 11(2): 190-195.
- [7] 王治乔, 袁伯俊. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 1997: 89-102.
- [8] 国家食品药品监督管理局新药审评中心. 中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则[S]. 北京: 2005.
- [9] 国家食品药品监督管理局. 局令第 2 号《药物非临床研究质量管理规范》[Z]. 北京: 2003. 09. 01.
- [10] 袁伯俊, 顾长虹. 新药长期毒性实验的剂量设计[J]. 国外医学药学分册, 1997, 24(2): 97-101.
- [11] 林小芳, 湖里娅, 缪小红. 浅谈儿科安全用药管理[J]. 中医药管理杂志, 2014, 22(10): 1701.
- [12] US FDA, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry, nonclinical safety evaluation of pediatric drug products. Rockville, MD; US Department of Health and Human Services[Z]. February 2006.
- [13] European Medicines Evaluation Agency (EMA), Committee for Human Medicinal Products (CHMP). Guideline on the need for nonclinical testing in juvenile animals on human pharmaceuticals for pediatric indications[Z]. January 2008.
- [14] 张兰, 杨凯, 刘娇. 软坚消癭颗粒长期毒性实验对大鼠血液学及血液生化学的研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2016, 11(3): 410-415.

(2016-06-14 收稿 责任编辑: 王明)

世界中联丝绸之路城市联盟成立大会暨中医药 一带一路合作论坛在乌克兰基辅举行

当地时间 2017 年 4 月 25 日, 世界中医药学会联合会丝绸之路城市联盟成立大会暨中医药一带一路合作论坛于乌克兰基辅举行。丝绸之路城市联盟荣誉理事长、原中国卫生部张文康部长, 世界中联桑滨生秘书长, 乌克兰国立医学科学院 Dmitro I. Zabolotnyi 副主席, 丝绸之路城市联盟理事长、泰国普密泰国王基金会谢玛丽主席等出席了会议并发表致辞。会议由丝路联盟副秘书长、乌克兰东方医学协会伟达理副主席主持。

丝绸之路城市联盟荣誉理事长、原中国卫生部张文康部长指出, 中医药是中国人民在长期生产生活和与疾病斗争中逐步形成并不断发展的医学科学体系。在中国, 中医药仍受广大人民群众所热爱, 所应用, 有一整套中医药服务体系, 随着世界各国的文化交流, 中医药逐步被世界各国人民认知接受。近年来, 中医药文化交流将更加蓬勃发展。他表示, 世界中联丝绸之路城市联盟、乌克兰东方医学协会、乌克兰医学科学院共同举办的中医药一带一路论坛, 将推进“一带一路”城市之间在卫生健康领域里的交流与合作, 为建设“健康丝绸之路”做出应有的贡献。

桑滨生秘书长表示, 去年中国颁布了《中医药法》《中医药发展战略规划》和《中医药发展一带一路规划》, 这一系列政策法规的出台, 不仅对中国的中医药发展提供了有力保障, 也必将对世界中医药的交流与合作产生积极影响。世界

中联作为国际性学术组织, 将在助力“中医药一带一路”发展方面, 发挥积极而应有的作用。乌克兰是“一带一路”沿线的重要国家, 中乌两国近年来开展的卫生合作日益紧密。在这种国际国内形势大好的前提下, 世界中联丝绸之路城市联盟今天在乌克兰基辅市成立, 这正体现了我们助力中国“一带一路”的战略部署和对《中医药“一带一路”发展规划(2016-2020 年)》的落实, 也具体展现了我们结合世界中医药发展的扎实工作。国际平台与国内战略相互对接, 相信中医药必将有巨大的发展前景。希望世界中联丝绸之路城市联盟能借助世界中联的国际平台, “城市合作”以及“外交平台”为抓手和重要渠道, 用开放的思路快速发展联盟、壮大联盟。积极发挥丝绸之路城市之间的协同作用, 站在国际视野上保护中医药、发展中医药。

世界中联国际联络部王晶主任宣读了《关于同意设立“世界中联丝绸之路城市联盟”并召开成立大会的批复》。

乌克兰国立医学科学院 Dmitro I. Zabolotnyi 副主席表示, 欢迎中医药在乌克兰发展, 希望中乌两国在卫生领域开展更多的合作, 互助共赢。

丝绸之路城市联盟理事长、泰国普密泰国王基金会谢玛丽主席表示, 将以丝路联盟为平台, 为中医药在泰国及世界的发展做实事, 并愿为今年 10 月于泰国曼谷举行的第十四届世界中医药大会尽地主之谊。