

盐酸阿比朵尔对大鼠的致畸胎作用

Teratogenicity of Arbidol Hydrochloride in Rats

周一平/陈奇有/陈四艳/杨静华

ZHOU Yi-ping, CHEN Qi-you, CHEN Si-yan, YANG Jing-hua

(湖北省医药工业研究院, 湖北 武汉 430061)

(Hubei Pharmaceutical Industry Research Institute, Wuhan 430061, China)

【摘要】背景与目的: 盐酸阿比朵尔 (Arbidol hydrochloride, Ar) 为防治流行性感冒新药, 为保证临床用药的安全, 观察其对大鼠的致畸作用和胚胎毒性。材料与方法: 将 80 只妊娠 SD 大鼠分为 5 组, 即对照组、Ar 100、330、1 000 mg/(kg·d) 剂量组和水杨酸钠阳性药组, 每组 16 只大鼠。各组大鼠均于妊娠 6~15d 连续灌胃给药, 妊娠 20d 解剖。结果: Ar 高剂量 1 000 mg/(kg·d) 使孕鼠体重增长减慢, 孕期体重净增值减少, 活胎率降低, 胎鼠体重、身长和尾长减小, 胎鼠骨化迟缓率增加, 与对照组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 但未见胎鼠外观、内脏和骨骼畸形。Ar 低和中剂量 [100 mg/(kg·d) 和 330 mg/(kg·d)] 对孕鼠和胎鼠无明显影响。结论: 330 mg/(kg·d) 为孕鼠的安全剂量, 1 000 mg/(kg·d) 在引起孕鼠毒性反应时有一定的胚胎毒作用, 但无致畸胎作用。

【关键词】 盐酸阿比朵尔; 大鼠; 致畸胎作用; 胚胎毒性; 毒理学

中图分类号: R965.3; R978.7

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2006)01-0026-03

【ABSTRACT】 BACKGROUND & AIM: To observe the teratogenicity of Arbidol hydrochloride (Ar) orally administered to rats. MATERIAL AND METHODS: Doses of Ar 100, 330 and 1 000 mg/(kg·d) were given orally to the 6-15 d pregnant rats. The rats were sacrificed on day 20. RESULTS: The reduced parental body weight and number of live fetuses, as well as reduced pup weight and length, delayed ossification were observed in the rats treated with the daily dose of 1 000 mg/(kg·d). Compared with vehicle control group, no external, visceral and skeletal malformations were seen in these infant rats. No adverse effects were observed in the rats treated with the daily doses of 100 and 330 mg/kg. CONCLUSION: Ar 330 mg/kg was a safe dose in pregnant rats and 1 000 mg/kg had embryotoxic but without teratogenic effects in rats.

【KEY WORDS】 Arbidol hydrochloride; rat; teratogenicity; embryo toxicity; toxicology

盐酸阿比朵尔 [Arbidol hydrochloride, 化学名为: 6-溴-4-(二甲氨基)-5-羟基-1-甲基-2-(苯硫甲基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯盐酸盐-水合物, Ar] 为预防和治疗流行性感冒新药, 具有抗流感病毒、干扰素诱导和免疫调节作用。虽然有关本品的药理作用和临床应用已有若干报道^[1-4], 但目前尚未见到毒理学研究的资料。为了解其胚胎毒性和致畸潜力, 为临床应用提供安全性依据, 本研究考察其对大鼠致畸敏感期连续灌胃给药的致畸胎作用。

1 材料与方法

1.1 药物与实验动物

Ar 由本院合成室提供, 含量 99.0%, 难溶于水, 临用前用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMCNa) 配制混悬液给药。阳性对照药水杨酸钠由广州试剂厂生产 (化学纯), 溶解于蒸馏水中给药。性成熟清洁级 SD 大鼠, 雄性 250~300 g, 雌性 180~260 g, 由华中科技大学同济医学院实验动物学部提供 (合格证号: 鄂医动字 19-053)。

收稿日期: 2005-01-17; 修订日期: 2005-06-28

基金项目: “九五”国家攻关项目 (No. 96-902-01-22)

作者简介: 周一平 (1954-), 女, 安徽省绩溪人, 高级工程师, 湖北省有突出贡献中青年专家。从事新药毒理学研究。Tel: 86-27-88849935, E-mail: zhouyiping@tom.com

1.2 动物分组及给药 将大鼠按雌雄 5:2 比例进行交配,次日晨阴道涂片镜检,查到精子或发现阴栓为妊娠 0 d。将受精鼠按完全随机化分组分为 5 组,即对照组、Ar 100、330、1 000 mg/(kg·d)剂量组和阳性药水杨酸钠组,每组 16 只。Ar 各剂量组按上述剂量给药,水杨酸钠组按 250 mg/(kg·d)剂量给药。各组动物均于妊娠 6~15 d 连续灌胃给药 10 d,对照组给 0.5% CMCNa。

1.3 观察指标 每日观察记录孕鼠一般症状,并称取妊娠 0、7、10、13、16 d 和 20 d 孕鼠体重。妊娠 20 d 将孕鼠颈椎脱位处死,记录黄体数、着床数、活胎数、死胎数和吸收胎数,称取子宫重和活胎重。计算体重净增值(净增值=妊娠 20 d 孕鼠体重-妊娠 0 d 体重-怀孕子宫重)。测量活胎身长和尾长,检查活胎有无外观异常,鉴定活胎性别。将剖检活胎的 1/2 置 Bouin 氏液中固定,余下 1/2 活胎置 95% 乙醇中固定。经 Bouin 氏液固定 1 周以上的胎鼠,行大体徒手切片进行内脏检查。将乙醇固定 4 d 的胎鼠,取出内脏,经 KOH 透明,茜素红染色制备骨骼标本,在解剖镜下进行骨骼系统检查。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 11.0 软件进行数据处理。孕鼠体重、胎鼠体重、身长和尾长用方差分析进行;孕鼠不良反应率、胎鼠活胎率、吸收胎率、死胎率、畸

形率和骨化迟缓率用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 对孕鼠一般状况及体重的影响 给药期间,Ar 中、低剂量组动物一般状况良好,未见异常症状和体征。Ar 高剂量组 16 例孕鼠有 9 例(56%)脱毛,4 例(25%)阴道出血,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$ 和 0.05)。水杨酸钠组 16 例孕鼠有 8 例(50%)阴道出血,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

Ar 100 mg/kg(低剂量)、330 mg/kg(中剂量)组动物孕期体重均值及净增值与对照组比较差异无统计学意义;1 000 mg/kg(高剂量)组妊娠 13 d、16 d 和 20 d 体重明显低于对照组($P < 0.01$ 和 0.05),且孕鼠体重净增值明显低于对照组($P < 0.01$)。水杨酸钠组妊娠 20 d 体重明显低于对照组($P < 0.05$),但孕鼠体重净增值与对照组比较差异无统计学意义,见表 1。

2.2 对母鼠生殖能力的影响 Ar 低和中剂量组孕鼠着床数、活胎数、吸收胎数和死胎数与对照组比较差异无统计学意义;高剂量组和水杨酸钠组活胎数低于对照组,吸收胎数高于对照组($P < 0.01$),见表 2。

表 1 盐酸阿比朵尔对孕鼠体重的影响

Table 1 The effects of Arbidol hydrochloride on body weight of pregnant rats(g, $\bar{x} \pm s$)

Groups	Pregnant rat(n)	0 d	7 d	10 d	13 d	16 d	20 d	Weight gain
Control	16	204 ± 15	228 ± 15	238 ± 15	248 ± 17	272 ± 25	299 ± 24	39 ± 15
100 mg · kg ⁻¹	15	211 ± 20	223 ± 20	231 ± 19	240 ± 21	265 ± 28	301 ± 30	35 ± 28
330 mg · kg ⁻¹	15	213 ± 20	232 ± 21	243 ± 20	248 ± 21	267 ± 26	298 ± 28	28 ± 20
1 000 mg · kg ⁻¹	16	211 ± 19	221 ± 23	225 ± 21	223 ± 28 **	237 ± 27 **	279 ± 25 *	20 ± 18 **
Salicylate-Na	16	206 ± 21	220 ± 19	226 ± 19	246 ± 25	252 ± 34	269 ± 37 *	39 ± 20

Compared with control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 盐酸阿比朵尔对孕鼠生殖能力的影响

Table 2 The effects of Arbidol hydrochloride on gestation index of pregnant rats

Groups	Pregnant rats (n)	No. of implantation	No. of living fetus ($\times 10^{-2}$)	No. of absorptive embryo ($\times 10^{-2}$)	No. of dead fetus ($\times 10^{-2}$)
Control	16	160	150 (93.8)	10 (6.2)	0
100 mg · kg ⁻¹	15	150	145 (96.7)	3 (2.0)	2 (1.3)
330 mg · kg ⁻¹	15	154	148 (96.1)	3 (2.6)	3 (2.0)
1 000 mg · kg ⁻¹	16	162	136 (84.0) **	26 (16.0) **	0
Salicylate-Na	16	152	64 (42.1) **	87 (57.2) **	1 (0.7)

Compared with control, ** $P < 0.01$.

2.3 对胎鼠外观发育的影响 Ar 低、中剂量组胎鼠体重、身长和尾长与对照组比较均无明显影响,高剂量组和水杨酸钠组胎鼠体重、身长和尾长均明显低于对照组($P < 0.01$,见表 3)。Ar 低和中剂量组胎鼠未见外观畸形,Ar 高剂量组 136 例胎鼠有 1 例(发生率为 0.7%)对照组 150 例胎鼠有 2 例(发生率为 1.3%)出现开眼性畸形。水杨酸钠组 10 窝 64 例胎鼠有 9 窝 30 例

胎鼠出现露脑、单鼻道、开(无)眼、脊裂、腹裂、下颌变形和勾尾等严重畸形,26 例发生几种畸形同时存在,畸形胎鼠率为 46.9%,有畸胎孕鼠数为 90%,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.4 对胎鼠内脏发育的影响 Ar 低剂量组胎鼠未见内脏畸形,Ar 中剂量组 70 例胎鼠有 2 例(发生率为 2.8%)、高剂量组 69 例胎鼠有 1 例(发生率为



1.4%) 和对照组 75 例胎鼠有 2 例 (发生率为 2.7%) 出现内脏畸形。水杨酸钠组 29 例胎鼠中有 25 例出现露脑、脑室空腔、无眼、嗅球发育不良, 右位心、脊裂、腹裂和肾积水等多种畸形, 20 例是几种畸形并存, 其畸形率达 86.2%, 明显高于对照组 ($P < 0.01$)。

2.5 对胎鼠骨骼发育的影响 Ar 各剂量组胎鼠均未见骨骼畸形。水杨酸钠组出现额骨缺损, 顶、枕骨裂, 椎骨裂, 肋骨变形及数目异常等多种畸形, 其中 24 例是几种畸形并存, 其胎鼠骨骼畸形率达 88.6%, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。Ar 低、中剂量组胎鼠骨化程度与对照组比较差异无统计学意义; Ar

高剂量组胎鼠骨化迟缓率与对照组比较明显增高 ($P < 0.01$)。水杨酸钠组胎鼠骨化迟缓率达 100%, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 4。

表 4 盐酸阿比朵尔对胎鼠骨骼发育的影响

Table 4 The effects of Arbidol hydrochloride on the skeleton of fetuses

Groups	Fetuses (n)	Anomalies fetuses		Delayed ossification fetuses	
		n	($\times 10^{-2}$)	n	($\times 10^{-2}$)
Control	75	0	0	20	26.7
100 mg · kg ⁻¹	75	0	0	15	20.0
330 mg · kg ⁻¹	77	0	0	31	40.2
1 000 mg · kg ⁻¹	67	1	1.5	50 ^{**}	74.6
Salicylate-Na	35	31 ^{**}	88.6 ^{**}	35 ^{**}	100

Compared with control, ** $P < 0.01$.

表 3 盐酸阿比朵尔对胎鼠生长的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The effects of Arbidol hydrochloride on the fetuses growth ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Pregnant rats (n)	Living fetus	Body weight (g)	Body length (cm)	Tail length (cm)
Control	16	150	3.8 ± 0.7	3.87 ± 0.21	1.52 ± 0.10
100 mg · kg ⁻¹	15	142	3.8 ± 0.7	3.84 ± 0.26	1.47 ± 0.12
330 mg · kg ⁻¹	15	147	3.4 ± 0.8	3.74 ± 0.33	1.45 ± 0.11
1 000 mg · kg ⁻¹	16	136	3.1 ± 0.5 ^{**}	3.52 ± 0.24 ^{**}	1.32 ± 0.11 ^{**}
Salicylate-Na	16	64	1.9 ± 0.5 ^{**}	2.68 ± 0.40 ^{**}	1.15 ± 0.20 ^{**}

Compared with control, ** $P < 0.01$.

3 讨论

结果显示 Ar 高剂量 [1 000 mg/(kg · d)] 组除孕鼠体重均值明显低于对照组外, 体重净增值 (减去胎鼠后的体重) 亦明显低于对照组, 表明孕鼠体重低于对照组是由于孕鼠自身体重增加的减缓所致。而且在上述剂量下, 半数以上的孕鼠发生掉毛, 均表明该剂量出现了对母鼠的毒性反应。同时高剂量组活胎率明显低于对照组, 胎鼠体重、身长和尾长亦明显低于对照组, 胎鼠骨化迟缓率明显高于对照组, 表明在引起母鼠毒性反应时具有非特异性胚胎毒作用。高剂量组胎鼠外观和内脏的畸形发生率仅为 0.7% 和 1.4%, 与对照组比较差异均无统计学意义; 而高剂量组胎鼠骨骼未见畸形, 表明本品无致畸胎作用。Ar 低和中剂量 (100 和 330 mg/(kg · d)) 对孕鼠和胎鼠各项指标均无明显影响, 表明 330 mg/(kg · d) 为本品对大鼠的安全剂量。按经典剂量^[5] 给药的阳性药水杨酸钠表现了特异性致畸胎及胚胎毒作用, 表明所选用的动物对致畸剂反应敏感, 试验结果是可靠的。

Ar 在临床上用于预防流行性感冒的日剂量为

100 ~ 200 mg, 用于治疗的日剂量通常为 600 mg^[1, 3], 本研究表明其相当于临床用量的 3 ~ 10 倍为安全剂量, 100 ~ 300 倍虽有胚胎毒作用, 但仍无致畸胎作用。从而为其临床应用的安全性提供了实验依据。

参考文献:

- [1] 王孟昭, 蔡柏蕾, 李龙芸, 等. 阿比朵尔治疗流行性感动的随机、双盲、安慰剂对照、多中心临床研究 [J]. 中国医学科学院学报, 2004, 26(3): 289 - 293.
- [2] 靳玉琴, 孙 飞, 张淑琴, 等. 盐酸阿比朵尔抗流感病毒感染的药效学研究 [J]. 中国药理学通报, 2004, 20(10): 1 150 - 1 152.
- [3] Shumilov VI, Shuster AM, Lobastov SP, et al. Efficacy of Arbidol in prophylaxis and treatment of acute respiratory viral infections in servicemen [J]. Voenn Med Zh, 2002, 323(9): 51 - 53.
- [4] Glushkov RG, Gus' kova TA, Krylova LI, et al. Mechanisms of Arbidole's Immunomodulating action [J]. Vestn Ross Akad Med Nauk, 1999, (3): 36 - 40.
- [5] Shepasd TH. Catalog of Teratogenic Agents [M]. 3rd Ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 1980. 294 - 297.