

# 达肝清颗粒对大鼠的长期毒性研究\*

曾春晖<sup>1</sup>, 杨柯<sup>1</sup>, 邓家刚<sup>1</sup>, 杨斌<sup>2</sup>, 徐明光<sup>1</sup>, 李先梅<sup>1</sup>

(1. 广西中医学院广西中药药效研究重点实验室, 南宁 530001; 2. 广西医科大学, 南宁 530021)

**摘要** **目的** 观察达肝清颗粒对大鼠的长期毒性。**方法** 大鼠 80 只, 分为达肝清颗粒高、中、低剂量组(以生药计分别为 170.0, 85.0 和 42.5 g · kg<sup>-1</sup>)及空白对照组, 每组 20 只, 每日灌胃给药 1 次, 空白对照组给予等体积纯化水, 连续给药 90 d。观察大鼠一般状况和给药后 90 d 及恢复期 14 d 结束后血液学、血液生化学、脏器系数及组织病理学变化。**结果** 达肝清颗粒 170.0 g · kg<sup>-1</sup> 组大鼠体质量增长略慢, 但与空白对照组比较差异无统计学意义, 组织病理学检查发现有肝脏灶性中度脂肪变性 8 只和弥漫性中度脂肪变性 1 只, 停药 14 d 后可恢复; 连续给药 90 d 后达肝清颗粒各剂量组血清肌酐含量明显降低( $P < 0.05$ ), 停药后均可恢复。其余各剂量组大鼠体质量、摄食量、生化指标、脏器系数和病理学检查与空白对照组比较, 均差异无统计学意义。**结论** 达肝清颗粒按拟定的临床剂量、给药途径和疗程应用比较安全。

**关键词** 达肝清颗粒; 毒性, 长期; 脂肪变性; 肌酐

中图分类号 R286; R994.38 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)03-0286-03

## Long-term Toxicity of Daganqing Granules in Rats

ZENG Chun-hui<sup>1</sup>, YANG Ke<sup>1</sup>, DENG Jia-gang<sup>1</sup>, YANG Bin<sup>2</sup>, XU Ming-guang<sup>1</sup>, LI Xian-mei<sup>1</sup> (1. Key Laboratory for Pharmacology of Chinese Medicine, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China; 2. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**ABSTRACT Objective** To investigate long-term toxicity of *daganqing* granules in rats. **Methods** The total of 60 Wistar rats were randomly divided into the high, middle and low dose groups, which were treated with *daganqing* granules (170.0, 85.0 and 42.5 g · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> crude drug) by intragastric administration, respectively, once a day for 90 days. The general behaviors and physical status, hematology, blood biochemistry, organs coefficient and histopathological analysis were detected in 90 days and 14 days after drug withdrawn. **Results** No significant difference in body weight was found between treated rats and the blank control despite the rats treated with 170.0 g · kg<sup>-1</sup>. There were focal moderate fatty infiltration developed in eight rats and diffuse moderate fatty infiltration in one rat by histopathological examination. However, these symptoms subsided in 14 days after medication termination. The serum creatinine was significantly reduced after consecutive 90 days' therapy of *daganqing* granules compared with that in the control group ( $P < 0.05$ ), while which were reversed to normal in 14 days after supplements termination. There were no significant differences observed between two other treating groups and the control in the general behaviors and physical status, the hematology, blood biochemistry, organs coefficient and histopathological status. **Conclusion** *Daganqing* granules are safe by intragastric administration at the dosage in clinical range.

**KEY WORDS** *Daganqing* granules; Toxicity, long-term; Fatty infiltration; Creatinine

达肝清颗粒是一个以黄根为主, 辅以黄芪、三七等中药, 根据临床经验方, 吸取现代治疗肝病的科研成果提取制成的中药复方制剂, 具有清热解毒、益气护肝等功效。临床用于治疗乙肝病毒感染, 急、慢性肝损伤等。为观察其长期慢性毒性反应, 笔者根据新药长期毒性实验原则和方法<sup>[1-2]</sup>, 采用大鼠连续灌胃给药 90 d, 检测大鼠给药期间及停药 14 d 后的一般情况、

血液学指标、血液生化指标、脏器系数及组织病理学变化, 为临床应用达肝清颗粒的安全性提供理论依据。

### 1 材料与方法

**1.1 药物、仪器与实验动物** 达肝清颗粒(实验用其缺三七的浸膏, 由广西中医学院第二附属医院制剂科提供, 批号: 20100612), 浸膏浓度 1.34 g · mL<sup>-1</sup>, 相当于生药 8.4 g · mL<sup>-1</sup>。临用时, 浸膏 1 mL 加入三七药粉 0.197 g 混匀。BC-2000 血细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司); Olympus AU600 生化分析仪。Wistar 大鼠, 清洁级, 体质量 110 ~ 150 g, 80 只, 雌雄各半, 购自广西医科大学实验动物中心, 合格证号: SCXK(桂)2009-0002。

**1.2 实验方法** 将大鼠随机分为达肝清颗粒高、中、低剂量组(以生药计分别为 170.0, 85.0 和 42.5 g · kg<sup>-1</sup>, 分别相当于人临床日拟用量的 80, 40,

收稿日期 2011-09-06 修回日期 2011-11-01

基金项目 \* 广西壮族自治区科技厅基金资助项目 (07109004-5Z)

作者简介 曾春晖(1974-), 女, 广西钦州人, 副教授, 硕士生导师, 硕士, 从事中草药炮制与药理研究。电话: 0771-2219854, E-mail: chhzeng@163.com。

通讯作者 杨柯(1975-), 男, 侗族, 广西柳州人, 副教授, 硕士生导师, 硕士, 从事中草药药理学研究。电话: 0771-2279423, E-mail: kyang\_11@126.com。

20 倍) 及空白对照组, 每组 20 只, 雌雄各半, 每日灌胃给药 1 次, 给药容量为  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 空白对照组给予等体积纯化水, 连续进行 90 d。实验期间每隔 7 d 称体质量及记录摄食量 1 次, 根据体质量变化调整给药体积, 并记录动物的一般状况。于给药 90 d 时各组取一半动物(雌、雄各 5 只, 共 40 只), 采血(采血前禁食 12 h) 进行血液学和血液生化学检查, 称取主要脏器质量, 并计算脏器系数。取主要脏器进行组织病理学检查。其余大鼠停药继续观察 14 d 后, 进行相同项目的检查。

**1.3 观察指标** 实验期间观察记录动物外观体征、行为活动、食欲、大小便等一般状况, 摄食量、体质量变化, 分别于给药 90 d 和停药 14 d 取血, 做血液学检查, 包括红细胞计数、血红蛋白、白细胞计数、淋巴细胞比率、粒细胞比率、中间细胞比率、血小板计数和凝血酶原时间等测定; 血液生化学检查, 包括丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶、血清总蛋白、清蛋白、肌酸激酶、肌酐(creatinine, CREA)、尿素氮、总胆红素、血糖、总胆固醇、三酰甘油等测定; 称取心、肝、肾、脾、肺、脑、胸腺、膀胱、肾上腺、子宫、卵巢、睾丸、前列腺等器官的质量, 并计算脏器系数; 取心、肝、肾、脾、肺、脑、胸腺、胰腺、肾上腺、胃、小肠、膀胱、子宫、卵巢、睾丸、前列腺、精囊腺等用 10% 甲醛固定后进行组织病理学检查<sup>[3]</sup>。

**1.4 统计学方法** 计量数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。实验结果采用华西医科大学卫生统计学教研室提供的《中国医学百科全书-2.8 医学统计学》统计软件包(第 2 版)进行统计学处理。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 一般状况及体质量** 空白对照组、达肝清颗粒各剂量组在实验期间活动、大小便、被毛等未见明显异常, 未见呕吐、腹泻、脱毛等反应。各给药剂量组进食量在给药后略比空白对照组减少, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。各组大鼠体质量均见增长, 其中高剂量组增长略慢, 但与空白对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见图 1。

**2.2 血液学检查** 达肝清颗粒各剂量组大鼠给药 90 d 及停药 14 d, 红细胞、白细胞、血小板计数及血红蛋白含量等指标与空白对照组比较, 均差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。

**2.3 血液生化学检查** 连续给药 90 d 后达肝清颗粒各剂量组血清 CREA 含量明显降低( $P < 0.05$ ), 停药后均可恢复, 结果见表 1。给药 90 d 及停药 14 d 后, 血

清中丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶、血清总蛋白、清蛋白、肌酸激酶、尿素氮、总胆红素、血糖、总胆固醇、三酰甘油等指标与空白对照组比较均差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。

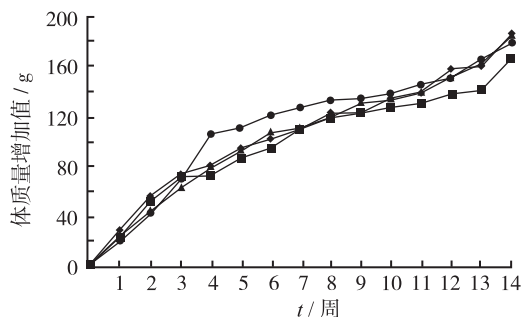


图 1 连续给予达肝清颗粒 90 d 及停药 14 d 后对大鼠体质量的影响

- 空白对照组;
- 达肝清颗粒高剂量组;
- ▲— 达肝清颗粒中剂量组;
- 达肝清颗粒低剂量组

Fig. 1 Body weight of rats after 90-days administration with daganqing granules or 14 days after drug withdrawal

- blank control group;
- high dose daganqing granules group;
- ▲— high middle daganqing granules group;
- high low daganqing granules group

表 1 达肝清颗粒长期给药对大鼠血清 CREA 含量的影响

Tab. 1 Effect of long-term administration with daganqing granules on serum CREA level of rats  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	大鼠/只	给药 90 d	停药 14 d
达肝清颗粒			
高剂量组	10	54.1 $\pm$ 5.74 <sup>*1</sup>	73.85 $\pm$ 5.60
中剂量组	10	53.3 $\pm$ 5.67 <sup>*1</sup>	85.62 $\pm$ 19.14
低剂量组	10	55.7 $\pm$ 6.54 <sup>*1</sup>	69.54 $\pm$ 5.28
空白对照组	10	62.3 $\pm$ 15.10	78.81 $\pm$ 12.28

与空白对照组比较,  $t_{\text{高}} = 2.270$ ,  $t_{\text{中}} = 2.495$ ,  $t_{\text{低}} = 1.794$ , <sup>\*1</sup> $P < 0.05$

Compared with the blank control group,  $t_{\text{H}} = 2.270$ ,  $t_{\text{M}} = 2.495$ ,  $t_{\text{L}} = 1.794$ , <sup>\*1</sup> $P < 0.05$

**2.4 脏器系数及组织学检查** 大鼠连续给药 90 d 及在停药 14 d, 各给药组的心、肝、肾、脾、肺、脑、胸腺、肾上腺、子宫、卵巢、睾丸、前列腺等脏器系数与空白对照组比较均差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ ); 大鼠连续给药 90 d 组织病理学检查发现, 高剂量组动物连续给药 90 d 时, 有 8 只大鼠出现肝脏灶性中度脂肪变性, 1 只大鼠出现弥漫性中度脂肪变性, 但停药后可自行恢复, 其余器官病理学改变与空白对照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。达肝清颗粒高剂量组 14 d 恢复期及

给药 90 d 中剂量和低剂量组织病理学检查与空白对照组差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

### 3 讨论

慢性乙肝属于中医学黄疸、胁痛、胆胀、积聚等范畴,系外感湿热疫毒侵入人体,在人体正气不足基础上邪毒得以侵于血分所致。其病机特点为正气不足,毒淤阻络。治疗宜扶正祛邪、活血化淤<sup>[4]</sup>。达肝清颗粒方中黄根祛淤生新,可解慢性乙肝之经络淤阻,且能较好地保护肝脏巨噬细胞的巨噬功能,抑制肝纤维化的形成;其他药物或补气升阳,或清热解毒,有改善免疫功能,清除病毒的药理作用。本实验结果显示,达肝清颗粒各剂量组在实验期间活动、大小便、被毛等未见明显异常,未见呕吐、腹泻、脱毛等反应;各组大鼠体质量均增长,其中高剂量组增长略慢,但与空白对照组比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。血液学检查各指标与空白对照组比较均差异无统计学意义。各剂量组连续给药 90 d 时,血液生化检查结果表明,血清中 CREA 含量与空白对照组比较均明显降低 ( $P<0.05$ ),但在停

药后均可自行恢复;其余指标与空白对照组比较均差异无统计学意义。各剂量组动物的脏器系数与空白对照组比较均差异无统计学意义;病理学检查发现,高剂量组动物连续给药 90 d 时,有大鼠出现肝脏中度脂肪变性,但停药后可自行恢复;高剂量组(除肝脏外)以及中、低剂量组动物各检查脏器均未见异常。

达肝清颗粒对大鼠长期毒性实验结果表明,按拟定的临床剂量、给药途径和疗程应用是较安全的。

#### 参考文献

- [1] 中药、天然药物长期毒性实验技术指导原则[S]. 中华人民共和国食品药品监督管理局,2005:1-16.
- [2] 王治桥,袁伯俊. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京:军事医学科学院出版社,1997:47.
- [3] 陈奇. 中药药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:119-120.
- [4] 曹艺. 慢性乙型肝炎的中医辨证治疗进展[J]. 中医药导报,2007,7(4):91-93.

DOI 10.3870/yydb.2012.03.005

## 菝葜抗炎活性部位的血清药物化学研究\*

谢长<sup>1</sup>,沈婵娟<sup>1</sup>,陈树和<sup>1,2</sup>,叶晓川<sup>1</sup>,邹鹏程<sup>3</sup>,刘焱文<sup>1</sup>

(1. 湖北中医药大学中药资源与中药复方教育部重点实验室,武汉 430061;2. 湖北省中医院药学部,武汉 430061;3. 湖北福人药业股份有限公司产品科研部,湖北咸宁 437000)

**摘要** 目的 对菝葜抗炎活性部位进行血清药物化学研究,探讨菝葜药效物质基础。方法 建立菝葜提取物高效液相色谱(HPLC)分析法,通过 HPLC 图分析比较空白血清、含药血清、菝葜提取物的成分的差异,确定菝葜提取物大鼠灌胃后血中移行成分。结果 在菝葜提取物含药血清中发现了 45 种入血成分,其中 25 种为原型成分,20 种可能为原型成分的代谢产物。结论 45 种入血成分可能是菝葜的体内直接作用物质,对其进行深入研究将有助于阐明菝葜的药效物质基础及药效机制。

**关键词** 菝葜;抗炎活性部位;血清药物化学;色谱法,高效液相

中图分类号 R282.71;R284

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)03-0288-04

### Study on Serum Pharmacochimistry of Anti-inflammatory Active Site in *Smilax china* L.

XIE Chang<sup>1</sup>, SHEN Chan-juan<sup>1</sup>, CHEN Shu-he<sup>1,2</sup>, YE Xiao-chuan<sup>1</sup>, ZOU Peng-cheng<sup>3</sup>, LIU Yan-wen<sup>1</sup> (1. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resource and Compound Prescription, Hubei University of TCM, Ministry of Education, Wuhan 430061, China; 2. Department of Pharmacy, the Hubei TCM Hospital, Wuhan 430061, China; 3. Department of Product Research, the Hubei Furen Pharmacy, Xianning 437000, China)

**ABSTRACT Objective** To explore the bioactive constituents of anti-inflammatory active site of *Smilax china* L. for providing evidence for serum pharmacochimistry research. **Methods** The blood migrating constituents of *Smilax china* L. were determined by comparing the HPLC fingerprints of the aqueous extracts, drug contained sera and blank sera. **Results** Forty-five compounds absorbed in blood were detected, including twenty-five prototype constituents of *Smilax china* L. and twenty metabolites. **Conclusion** These forty-five constituents in blood could be bioactive components of *Smilax china* L., further studies on which could be useful to clarify the bioactive constituents and mechanisms of action of *Smilax china* L.

**KEY WORDS** *Smilax china* L.; Anti-inflammatory active site; Serum pharmacochimistry; HPLC