

引用:陈琼芳,林新文,王小青,仇金娥,李林梅,宋太发. 清热散结胶囊干浸膏毒性实验研究[J]. 湖南中医杂志,2022,38(12):151-155.

清热散结胶囊干浸膏毒性实验研究

陈琼芳¹,林新文²,王小青¹,仇金娥³,李林梅³,宋太发³

(1. 湖南省药物安全评价研究中心/新药药效与安全评价湖南省重点实验室,湖南 长沙,410331;

2. 湖南省药品审核查验中心,湖南 长沙,410001;

3. 湖南天济草堂制药股份有限公司,湖南 长沙,410205)

[摘要] 目的:评价清热散结胶囊干浸膏重复给药 4 周对 SD 大鼠的长期毒性。方法:选取检疫合格的 SD 大鼠 120 只,按性别、体质量随机分为溶媒对照组及清热散结胶囊干浸膏低剂量(29.0 g 生药/kg)、中剂量(55.7 g 生药/kg)、高剂量(111.3 g 生药/kg)组,每组各 30 只,按 15 ml/kg 经口灌胃给药,1 次/d,连续给药 4 周,并经 4 周停药恢复,评价受试药物对大鼠体质量、平均摄食量、血液学、凝血、血生化、脏器系数、各阶段主要背景性病理改变及发生情况等指标的影响。结果:清热散结胶囊干浸膏对大鼠体质量、平均摄食量、血液学、凝血、血生化、脏器系数等指标均无明显影响($P>0.05$),组织病理学检查未见与受试药物相关的病理改变。结论:清热散结胶囊干浸膏重复给药 4 周,无明显损害作用剂量(NOAE)为 111.3 g 生药/kg(相当于 60 kg 成人临床拟用剂量的 94 倍,等效剂量的 17 倍),大鼠未见明显毒性反应,可能与处方中千里光的原药材控制以及产品的提取生产工艺有效控制了产品中吡咯里西啶生物碱类有毒成分的含量有关。研究结果显示,清热散结胶囊的 NOAE 剂量与临床拟用量具有较大的间距,提示临床应用时安全范围大,临床使用安全性风险小。

[关键词] 清热散结胶囊;千里光;重复给药;毒性实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2022.12.037

Toxicity of the dry extract of Qingre Sanjie capsules: An experimental study

CHEN Qiongfang¹, LIN Xinwen², WANG Xiaoping¹, QIU Jine³, LI Linmei³, SONG Taifa³

(1. Hunan Province Drug Safety Evaluation and Research Center/Hunan Key Laboratory of Pharmacodynamics and Safety Evaluation of New Drugs, Changsha 410331, Hunan, China;

2. Hunan Drug Inspection Center, Changsha 410001, Hunan, China;

3. Hunan Tianjicaotang Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410205, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the long-term toxicity of the dry extract of Qingre Sanjie capsules after 4 weeks of repeated administration in Sprague-Dawley (SD) rats. Methods: A total of 120 SD rats which passed quarantine inspection were selected, and according to sex and body weight, they were randomly divided into solvent control group, low-dose dry extract group (29.0 g crude drug/kg), middle-dose dry extract group (55.7 g crude drug/kg), and high-dose dry extract group (111.3 g crude drug/kg), with 30 rats in each group. The rats were administered at a dose of 15 ml/kg by gavage, once a day for 4 consecutive weeks, followed by 4 weeks of drug withdrawal and recovery. The test drug was evaluated in terms of its influence on the indicators such as body weight, mean food intake, hematology, coagulation, blood biochemistry, organ coefficient, and background pathological changes in each stage. Results: The dry extract of Qingre Sanjie capsules showed no significant influence on the indicators of body weight, mean food intake, hematology, coagulation,

基金项目: 湖南省自然科学基金科药联合基金项目(2020JJ9016)

第一作者: 陈琼芳,女,硕士,助理研究员,研究方向:中药临床前安全性评价

通信作者: 宋太发,男,硕士,副主任中药师,研究方向:新药研发, E-mail: songtaifa@163.com

blood biochemistry, and organ coefficient ($P>0.05$), and histopathological examination showed no pathological changes associated with the test drug. Conclusion: The no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) is 111.3 g crude drug/kg (which is 94 times of the intended dose for adults with a body weight of 60 kg in clinical practice and 17 times of the equivalent dose) for the dry extract of Qingre Sanjie capsules after 4 weeks of repeated administration. No obvious toxicity is observed in rats, which may be associated with the fact that the original medicinal material groundsel in the prescription is properly controlled and that the toxic components pyrrolizidine alkaloids are effectively controlled by the extraction and production processes of the product. Study results show a large gap between the NOAEL dose of Qingre Sanjie capsules and its intended dose in clinical practice, which indicates a large safety range and a low safety risk during clinical application.

[Keywords] Qingre Sanjie capsules; groundsel; repeated administration; toxicity experiment

清热散结胶囊由千里光提取加工而成,千里光为菊科植物,属多年生草本植物,有消炎解毒、散结止痛之功,临床用于治疗急性结膜炎、急性咽喉炎、急性扁桃腺炎、急性肠炎、急性菌痢、上呼吸道感染、急性支气管炎、淋巴结炎、疮疖疼痛、中耳炎、皮炎、湿疹等^[1]。研究显示,千里光对金色葡萄球菌、变形杆菌、炭疽杆菌、伤寒杆菌、溶血性链球菌等均有不同程度的抑制作用^[2]。研究显示,清热散结胶囊可降低乙型溶血性链球菌感染所致的小鼠病死率,延长小鼠平均存活天数,减轻大鼠咽喉部的炎症病变,并降低肺炎链球菌感染的小鼠肺指数,因此具有良好的体内抗菌作用,且对乙型溶血性链球菌感染致急性咽炎模型大鼠具有显著治疗作用^[3]。

本研究采用SD大鼠经口灌服不同剂量清热散结胶囊干浸膏,从大鼠的重复给药毒性实验结果预测其可能引起的临床不良反应,为临床安全用药提供参考。

1 实验材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠120只,雌雄各半,体质量182.0~233.6 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2016-0002,实验动物质量合格证号:No.43004700039379,饲养于湖南省药物安全评价研究中心屏障环境,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2015-0016。动物实验期间环境温度19.9~26.1℃,相对湿度39.6%~76.2%。

1.2 药物及试剂 清热散结胶囊干浸膏(湖南天济草堂制药股份有限公司,批号:170803,含量:14.83 g生药/g干浸膏)。清热散结胶囊的最大配制浓度为0.50 g干浸膏/ml,根据其含量以及大鼠的最大给药体积15 ml/kg,计算得到最大给药量为0.50 g干浸膏/ml×14.83 g生药/g干浸膏×15 ml/kg=111.3 g生药/kg。本次研究以最大给药

量作为高剂量,同时以高剂量的1/2、1/4倍作为中、低剂量,即分别为55.7、29.0 g生药/kg,高、中、低剂量分别相当于成人临床拟用量(按公斤体质量计算,成人平均体质量以60 kg计算)的94、47、24倍(按体表面积计算的17、9、5倍)^[4]。每天给药前将清热散结胶囊干浸膏用0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配制成所需浓度药液。CMC-Na(国药集团化学试剂有限公司,批号:20151215);戊巴比妥钠(德国Merck,批号:20170725)。

1.3 主要仪器 BC-5800型五分类血液细胞分析仪、UA-66型尿液分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司),B203LED型生物显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司),LABOSPECT003型自动生化分析仪(日本HITACHI),PL-1000A型电解质分析仪(南京普朗医疗设备有限公司),CA-530型自动血凝分析仪(日本SYSMEX),PL203型电子天平、PL2002型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

2 实验方法

2.1 动物分组 根据相关标准操作规程,按性别、体质量采用区段随机方法将实验大鼠分为4组,分别为溶媒对照组、清热散结胶囊低剂量组、清热散结胶囊中剂量组、清热散结胶囊高剂量组,每组各30只,实验剂量及分组设计具体见表1。

表1 实验剂量及分组设计

组别	剂量 (g生药/kg)	浓度 (g干浸膏/ml)	浓度 (g生药/ml)	体积 (ml/kg)	相当于临床剂量倍数	
					按公斤 体质量计	按体表 面积计
溶媒对照组	-	-	-	15	-	-
清热散结胶囊低剂量组	29.0	0.13	1.93	15	24	5
清热散结胶囊中剂量组	55.7	0.25	3.71	15	47	9
清热散结胶囊高剂量组	111.3	0.50	7.42	15	94	17

注:每克清热散结胶囊干浸膏含14.83 g生药;临床剂量倍数人体质量按60 kg计算。

2.2 给药方法 各给药组大鼠按15 ml/kg经口灌

胃给予相应药液,1 次/d,连续 4 周,溶媒对照组按相同方法灌胃给予等体积 0.5%CMC-Na。

2.3 观察指标 每天观察给药后动物外观、行为活动、呼吸、分泌物、排泄物、死亡情况(死亡时间、濒死前反应)等,并及时记录;每周称量体质量 1 次,每周进行 1 次摄食量计算。于给药 4 周后(给药末期)从各组中选取 20 只,雌雄各半,腹腔注射 2%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,腹腔主动脉采血,取 1.0~2.0 ml 采用 EDTA-K2 抗凝,用于检测血液学指标;取 1.8~0.2 ml 全血,用柠檬酸钠抗凝,用于检测凝血指标;取 3.0~5.0 ml 全血不进行抗凝,3000rpm 离心后取血清,进行天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、尿素氮(BUN)、总胆固醇(CHO)、葡萄糖(GLU)、总胆红素(TBIL)、肌酐(CRE)、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、肌酸磷酸激酶(CK)、三酰甘油(TG)、 γ -谷氨酰基转移酶(GGT)的检测。采集完血液样本后,对各组大鼠予以放血处死,进行系统解剖,并取脑、心脏、肝脏、脾脏、肾脏、肾上腺、胸腺、睾丸/卵巢、附睾/子宫进行脏器称重,肉眼观察后放入 10%甲醛中性缓冲液中固定,石蜡包埋,切片,并采用苏木素-伊红(HE)染色,光学显微镜下观察各脏器的组织病理改变。剩余每组 10 只大鼠停药继续饲养观察 4 周后(恢复期),按前述方法检查血液学、凝血、生化指标和解剖并做病理组织学检查。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 16.0 进行统计分析,体质量、摄食量、血液学指标、凝血指标、生化指标及脏器系数等计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,系统解剖及组织病理学采用定性指标判断结果。用单因素方差分析(ANOVA)和非参数检验进行统计分析,评价时考虑统计学差异和生物学意义。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 一般状态 实验期间清热散结胶囊各剂量组大鼠在给药期及停药恢复期其外观体征、行为活动、呼吸、分泌物、粪便及大鼠一般状况均未受到明显影响,且整个实验期间均未出现大鼠死亡。

3.2 各组不同时间阶段体质量及平均摄食量比较 实验期间各给药组大鼠体质量及平均摄食量与同期溶媒对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。(见表 2、3)

表 2 各组不同时间阶段体质量比较($\bar{x}\pm s$,g)

阶段	时间 [周(W)]	只数 (只)	溶媒对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药期末	W ₀	30	209.6 $\pm$ 18.0	210.4 $\pm$ 17.8	207.5 $\pm$ 17.0	206.9 $\pm$ 17.0
	W ₁	30	252.4 $\pm$ 40.5	254.3 $\pm$ 37.9	254.7 $\pm$ 39.5	251.6 $\pm$ 35.6
	W ₂	30	289.3 $\pm$ 60.8	287.9 $\pm$ 58.7	290.2 $\pm$ 57.5	288.2 $\pm$ 51.5
	W ₃	30	321.5 $\pm$ 80.3	319.7 $\pm$ 75.2	318.8 $\pm$ 73.1	317.8 $\pm$ 67.8
	W ₄	30	341.4 $\pm$ 91.9	337.8 $\pm$ 85.9	341.8 $\pm$ 85.1	333.7 $\pm$ 75.8
恢复期末	W ₅	10	367.2 $\pm$ 110.3	376.7 $\pm$ 105.5	369.1 $\pm$ 112.3	358.8 $\pm$ 101.5
	W ₆	10	385.2 $\pm$ 124.8	392.4 $\pm$ 115.2	386.2 $\pm$ 118.3	379.7 $\pm$ 113.7
	W ₇	10	399.8 $\pm$ 137.8	406.1 $\pm$ 121.0	395.6 $\pm$ 127.1	389.3 $\pm$ 119.5
	W ₈	10	405.6 $\pm$ 139.2	414.9 $\pm$ 125.3	403.8 $\pm$ 129.2	399.4 $\pm$ 118.5

表 3 各组不同时间阶段摄食量比较($\bar{x}\pm s$,g/(d $\cdot$ 只))

阶段	时间 [周(W)]	只数 (只)	溶媒对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药期末	W ₁	30	21.9 $\pm$ 4.7	22.4 $\pm$ 4.8	22.9 $\pm$ 5.1	23.3 $\pm$ 4.5
	W ₂	30	24.4 $\pm$ 5.8	24.4 $\pm$ 5.5	24.8 $\pm$ 6.5	25.2 $\pm$ 5.4
	W ₃	30	24.3 $\pm$ 6.2	23.8 $\pm$ 5.8	24.5 $\pm$ 5.9	24.8 $\pm$ 5.6
	W ₄	30	22.0 $\pm$ 5.8	22.0 $\pm$ 5.7	22.5 $\pm$ 5.7	22.3 $\pm$ 5.0
恢复期末	W ₅	10	24.3 $\pm$ 7.9	26.5 $\pm$ 7.4	25.4 $\pm$ 8.6	25.0 $\pm$ 7.6
	W ₆	10	24.7 $\pm$ 9.7	25.4 $\pm$ 7.0	24.9 $\pm$ 7.7	24.9 $\pm$ 8.2
	W ₇	10	22.5 $\pm$ 9.2	23.3 $\pm$ 6.4	22.6 $\pm$ 7.1	23.0 $\pm$ 8.0
	W ₈	10	19.7 $\pm$ 7.1	21.3 $\pm$ 4.9	20.3 $\pm$ 6.1	20.5 $\pm$ 5.4

3.3 各组不同时间阶段血液学指标比较 给药期末清热散结胶囊高剂量组 HGB,中、高剂量组 MCHC 明显低于同期溶媒对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。恢复期末清热散结胶囊高剂量组 MCHC 低于同期溶媒对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。(见表 4)

3.4 各组不同时间阶段凝血指标比较 清热散结胶囊各剂量组与同期溶媒对照组比较,各项凝血指标比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),提示清热散结胶囊对大鼠凝血指标无明显影响。(见表 5)

3.5 各组不同时间阶段生化指标比较 给药期末,清热散结胶囊高剂量组 AST、CHO、CK 明显低于同期溶媒对照组($P<0.05$)。恢复期末,清热散结胶囊中剂量组 TP 明显低于同期溶媒对照组($P<0.05$)。(见表 6)

3.6 各组不同时间阶段脏器系数比较 给药期末清热散结胶囊低、中、高剂量组肝脏、肾脏系数均明显高于同期溶媒对照组,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。恢复期末清热散结胶囊高剂量组肾脏系数明显高于同期溶媒对照组($P<0.01$)。(见表 7)

表 4 各组不同时间阶段血液学指标比较($\bar{x}\pm s$)

阶段	只数(只)	检测指标	溶媒对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药期末	20	WBC($\times 10^9/L$)	3.8±1.4	3.5±1.4	3.7±1.7	4.3±2.0
	20	Neu(%)	20.8±3.1	21.3±2.8	22.5±3.8	21.7±2.8
	20	Lym(%)	71.3±2.6	70.8±2.3	71.0±4.1	70.0±2.8
	20	Mon(%)	7.9±2.3	7.8±2.3	6.6±2.3	8.3±2.7
	20	Eos(%)	0.2±0.4	0.2±0.4	0	0.1±0.3
	20	Bas(%)	0	0	0	0
	20	RBC($\times 10^{12}/L$)	7.5±0.4	7.4±0.4	7.7±0.5	7.3±0.5
	20	HGB(g/L)	138.0±6.0	137.0±6.0	140.0±6.0	131.0±7.0 ^a
	20	HCT(%)	41.3±2.2	41.2±2.0	42.5±2.0	40.0±2.7
	20	MCV(fL)	55.1±1.6	55.7±2.2	55.2±1.8	55.1±1.5
	20	MCH(pg)	18.4±0.6	18.5±0.7	18.1±0.6	18.1±0.6
	20	MCHC(g/L)	334.0±7.0	332.0±6.0	329.0±5.0 ^b	329.0±6.0 ^b
	20	PLT($\times 10^9/L$)	971.0±123.0	940.0±110.0	957.0±95.0	937.0±100.0
	20	RET(%)	1.4±0.4	1.2±0.5	1.4±0.4	1.5±0.4
恢复期末	10	WBC($\times 10^9/L$)	3.8±1.0	3.8±1.1	3.3±1.1	3.3±1.4
	10	Neu(%)	22.3±4.1	22.1±4.5	22.8±3.4	22.7±3.5
	10	Lym(%)	69.0±3.1	69.9±4.8	68.1±4.2	70.1±1.4
	10	Mon(%)	8.5±2.6	7.9±3.2	8.8±3.6	7.0±2.4
	10	Eos(%)	0.2±0.4	0.1±0.3	0.3±0.5	0.2±0.4
	10	Bas(%)	0	0	0	0
	10	RBC($\times 10^{12}/L$)	8.4±0.7	8.2±0.6	8.1±0.6	8.3±0.7
	10	HGB(g/L)	147.0±9.0	144.0±6.0	144.0±8.0	146.0±9.0
	10	HCT(%)	44.0±3.5	43.4±2.6	43.2±2.8	44.2±3.0
	10	MCV(fL)	52.7±0.7	53.0±1.5	53.3±1.2	53.5±2.1
	10	MCH(pg)	17.7±0.3	17.6±0.7	17.8±0.5	17.7±0.6
	10	MCHC(g/L)	335.0±7.0	332.0±7.0	333.0±5.0	330.0±4.0 ^b
	10	PLT($\times 10^9/L$)	934.0±150.0	877.0±96.0	940.0±112.0	899.0±66.0
	10	RET(%)	1.3±0.5	1.3±0.3	1.4±0.4	1.2±0.5

注:与溶媒对照组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$ 。

表 5 各组不同时间阶段凝血指标比较($\bar{x}\pm s$)

阶段	只数(只)	检测指标	溶媒对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药期末	20	PT(s)	15.8±1.2	16.1±0.7	15.9±0.6	16.3±0.5
	20	APTT(s)	13.0±3.9	11.9±1.4	12.2±1.8	11.4±1.5
	20	Fbg(g/L)	2.2±0.2	2.1±0.1	2.1±0.2	2.2±0.2
恢复期末	10	PT(s)	16.1±0.6	16.5±1.1	16.4±0.5	16.7±0.7
	10	APTT(s)	13.6±2.6	12.3±1.6	13.1±2.4	13.3±1.6
	10	Fbg(g/L)	2.1±0.2	2.1±0.2	2.1±0.2	2.0±0.3

表 6 各组不同时间阶段凝血指标的比较($\bar{x}\pm s$)

阶段	只数(只)	检测指标	溶媒对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药期末	20	ALT(U/L)	44.0±8.0	43.0±11.0	43.0±10.0	41.0±13.0
	20	AST(U/L)	100.0±15.0	90.0±22.0	93.0±16.0	85.0±19.0 ^a
	20	ALB(g/L)	41.4±2.0	40.6±2.5	40.4±2.2	40.5±1.8
	20	ALP(U/L)	137.0±56.0	134.0±42.0	136.0±56.0	127.0±51.0
	20	TP(g/L)	56.0±2.0	55.0±3.0	54.0±3.0	54.0±3.0
	20	GGT(U/L)	1.0±1.0	1	1	1.0±1.0
	20	TBIL($\mu\text{mol/L}$)	0.4±0.2	0.3±0.2	0.4±0.3	0.5±0.3

续上表

阶段	只数(只)	检测指标	溶媒对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
	20	BUN(mmol/L)	6.5±1.1	6.4±1.3	6.5±1.3	6.6±1.4
	20	CRE($\mu\text{mol/L}$)	27.3±5.3	25.3±3.8	24.4±3.1	24.6±4.6
	20	GLU(mmol/L)	6.2±0.4	6.0±0.4	6.1±0.4	6.0±0.4
	20	TG(mmol/L)	0.5±0.2	0.5±0.3	0.4±0.2	0.5±0.2
	20	CHO(mmol/L)	1.9±0.3	1.9±0.4	1.8±0.4	1.7±0.2 ^a
	20	CK(U/L)	636.0±187.0	561.0±253.0	568.0±156.0	479.0±189.0 ^a
恢复期末	10	ALT(U/L)	41.0±10.0	44.0±8.0	41.0±6.0	40.0±9.0
	10	AST(U/L)	95.0±22.0	80.0±16.0	87.0±15.0	88.0±26.0
	10	ALB(g/L)	43.9±4.4	43.1±3.8	42.3±4.0	43.4±5.1
	10	ALP(U/L)	91.0±28.0	104.0±31.0	90.0±29.0	82.0±28.0
	10	TP(g/L)	59.0±4.0	58.0±4.0	56.0±4.0 ^a	58.0±5.0
	10	GGT(U/L)	0	0	0	0
	10	TBIL($\mu\text{mol/L}$)	0.4±0.2	0.5±0.3	0.6±0.2	0.4±0.2
	10	BUN(mmol/L)	7.8±1.8	7.8±1.3	7.1±0.9	8.2±1.2
	10	CRE($\mu\text{mol/L}$)	34.4±7.1	31.9±3.8	32.1±4.7	34.6±4.9
	10	GLU(mmol/L)	6.5±0.4	6.4±0.4	7.1±2.0	6.6±0.5
	10	TG(mmol/L)	0.8±0.4	1.0±0.4	1.0±0.5	1.0±0.2
	10	CHO(mmol/L)	2.0±0.4	2.0±0.3	1.9±0.4	1.8±0.3
	10	CK(U/L)	630.0±214.0	468.0±229.0	575.0±264.0	562.0±318.0

注:与溶媒对照组比较,^a $P<0.05$ 。

表 7 各组不同时间阶段脏器系数比较($\bar{x}\pm s$)

阶段	只数(只)	检测指标	溶媒对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
给药期末	20	脑	0.636±0.142	0.648±0.150	0.637±0.142	0.650±0.120
	20	心脏	0.351±0.025	0.354±0.033	0.367±0.027	0.355±0.033
	20	肝脏	2.960±0.183	3.133±0.205 ^a	3.168±0.234 ^b	3.207±0.207 ^b
	20	肾脏	0.725±0.053	0.779±0.048 ^b	0.791±0.056 ^b	0.843±0.066 ^b
	20	肾上腺	0.022±0.008	0.022±0.008	0.023±0.008	0.023±0.007
	20	胸腺	0.161±0.035	0.159±0.028	0.157±0.031	0.155±0.028
	20	脾脏	0.230±0.032	0.241±0.030	0.242±0.052	0.225±0.030
恢复期末	10	脑	0.560±0.162	0.535±0.136	0.555±0.150	0.573±0.154
	10	心脏	0.320±0.029	0.350±0.032	0.328±0.029	0.351±0.036
	10	肝脏	2.742±0.200	2.849±0.266	2.853±0.240	2.888±0.210
	10	肾脏	0.621±0.036	0.643±0.034	0.651±0.028	0.693±0.053 ^b
	10	肾上腺	0.016±0.006	0.016±0.006	0.017±0.009	0.018±0.007
	10	胸腺	0.123±0.029	0.112±0.029	0.110±0.024	0.115±0.030
	10	脾脏	0.204±0.019	0.226±0.022	0.214±0.036	0.214±0.041

注:与溶媒对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$ 。

3.7 不同时间阶段主要背景性病理改变及发生情况与各组组织病理学检查 对给药期末、恢复期末解剖的大鼠各组织脏器按消化、泌尿、生殖、内分泌、呼吸、循环、中枢系统进行肉眼观察,主要观察各组织脏器的大小、颜色、形态、粘连、淤血、溃疡、积液、异常肿物、胀气情况。结果表明,各组大鼠均未见明显病理改变(见表 8)。对给药末期和恢复期末各组大鼠的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏等 30 种脏器采用福尔

马林固定,石蜡包埋和切片,并进行 HE 染色,显微镜下观察各组织脏器的病理改变。结果显示,各组均未见与受试物相关的组织病理学改变。(见图 1)

表 8 不同时间阶段主要背景性病理改变及发生情况(只数)

阶段	主要病理改变	溶媒对照组	清热散结胶囊高剂量组
给药期末	肝脏局灶性小坏死灶	1	1
	前列腺腺泡间质炎症细胞浸润	1	1
恢复期末	肝脏局灶性小坏死灶	1	0
	前列腺腺泡间质炎症细胞浸润	1	1

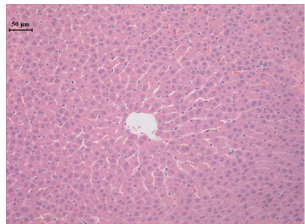


图 1-1 溶媒对照组(1F01 号大鼠)肝脏。给药 4 周,HE 染色(×200)。肝细胞索排列有序,肝细胞未见变性、坏死,肝窦未见淤血。

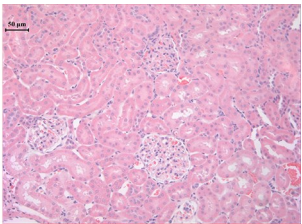


图 1-2 溶媒对照组(1F01 号大鼠)肾脏。给药 4 周,HE 染色(×200)。肾脏皮质、髓质结构清晰,肾单位形态结构正常,间质未见炎症细胞浸润。

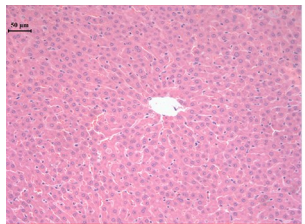


图 1-3 高剂量组(4F01 号大鼠)肝脏。给药 4 周,HE 染色(×200)。肝细胞索排列有序,肝细胞未见变性、坏死,肝窦未见淤血。

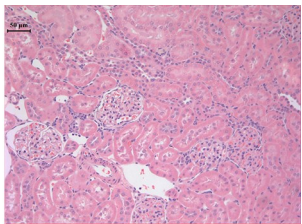


图 1-4 高剂量组(4F01 号大鼠)肾脏。给药 4 周,HE 染色(×200)。肾脏皮质、髓质结构清晰,肾单位形态结构正常,间质未见炎症细胞浸润。

图 1 各组组织病理学改变

4 讨 论

清热散结胶囊是以单味药千里光制成,千里光具有清热解毒、散结止痛、利湿的功效,同时有较好的抗菌作用,对金黄色葡萄球菌有较强的抑制效果,其作用机制可能与抑制细菌的 DNA、RNA、蛋白质和肽聚糖的合成^[3,5-6]有关。

本研究取清热散结胶囊 111.3、55.7、29.0 g 生药/kg[约相当于人临床拟用剂量按公斤体质量计算的 94、47、24 倍(以成人体质量 60 kg 计算)],经口灌胃给予大鼠,1 次/d,连续给药 4 周。对大鼠进行体质量、摄食量、活动、外周血象、肝肾生化功能检查、脏器解剖检查、相关组织病理学切片检查,结果显示,均未发现因药物引起的毒性反应。对停药

4 周的恢复期大鼠观察上述指标,亦未见药物引起的迟发性毒性反应。本实验未发生大鼠死亡,给药期末及恢复期末解剖的溶媒对照组及各给药组大鼠送检器官组织的颜色、大小、质地均未见明显异常。大鼠脑、肾上腺、心脏的脏器系数在部分组别、时间节点与性别中与同期溶媒对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),但生物学意义可能不大。肝脏、肾脏给药后脏器系数高于同期溶媒对照组,但变化幅度不大,结合病理检查结果及体质量数据,认为该变化可能由大鼠个体差异导致,无毒理学意义。

组织病理学检查发现给药期末和恢复期末大鼠肝脏局灶性小坏死灶、前列腺腺泡间质炎症细胞浸润,但各期病变发生的大鼠数较少,且清热散结胶囊高剂量组与同期溶媒对照组相比,病变数量与病变程度未见明显差异,因此判定为自发性病变,与清热散结胶囊无关。

综上,在本实验条件下,SD 大鼠经口灌服给予清热散结胶囊 4 周,无明显损害作用剂量(NOEL)为 111.3 g 生药/kg(相当于 60 kg 成人临床拟用剂量的 94 倍,等效剂量的 17 倍),未见明显毒性反应。有文献报道清热散结胶囊中的不饱和生物碱可能存在一定肝脏毒性^[7],但本次研究未见与千里光相关的毒性反应,可能与处方中千里光的原药材控制以及产品的提取工艺有效控制了产品中吡咯里西啶生物碱类有毒成分的含量有关。本次研究结果显示,清热散结胶囊的 NOEL 剂量与临床拟用量具有较大的间距,提示临床应用时安全范围大,临床使用安全性风险小。

参考文献

[1] 郑焕珍,吴彪. 清热散结片治疗儿童肠系膜淋巴结炎 50 例疗效观察[J]. 中国实用医药,2012,7(8):166-167.

[2] 陆雪群,陈冲达,龚梁. 清热散结片对流行性角结膜炎的中医证候疗效及泪液蛋白影响分析[J]. 中华中医药学刊,2019,37(2):457-459.

[3] 孟凡君,张雪君,谢卫东. 中草药千里光研究进展[J]. 东北农业大学学报,2010,41(9):156-160.

[4] 孙静,高英杰,宋太发,等. 清热散结胶囊对细菌性呼吸道感染模型的作用研究[J]. 中国药物警戒,2020,17(8):449-454.

[5] 笪红远,韩玲,王庆利. 对《药物重复给药毒性研究技术指导原则》的解读[J]. 中国临床药理学杂志,2014,30(8):744-745.

[6] 张文平,张文书,王小丽,等. 千里光抗金黄色葡萄球菌作用机制的血清药理学研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(7):1629-1630.

[7] 梁爱华,叶祖光. 千里光属植物的毒性研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(2):93-97.