

Toxicity of Huangyangning Dropping Pills on Rats after Repeated Gastric Administration for 8 Weeks

Wenhua Cheng, Bolin Fan, Yi Song, Hui Tian*

Hubei Provincial Key Laboratory for Application Toxicology, Hubei Center for Disease Control and Prevention, Wuhan Hubei

Email: 317932934@qq.com, *332685060@qq.com

Received: Mar. 2nd, 2019; accepted: Mar. 11th, 2019; published: Mar. 19th, 2019

Abstract

Objective: To observe the toxicity and severity of the body caused by the accumulation of the test products, to provide the reversibility of the organs and damage of the toxic reaction, and to determine the non-toxic dose, so as to provide reference for the formulation of safe dose for human use. **Methods:** The toxicity of Huangyangning Dropping Pills was tested in SPF Wistar rats by repeated intragastric administration for 8 weeks. The experiment was divided into high dose group (dosage is 20 mg/kg.BW according to the crude drug, the same below), medium dose group (dosage is 10 mg/kg.BW), low dose group (dosage is 5 mg/kg.BW) and solvent control group (dosage is 0.5% CMC-Na 10 mg/kg), and another tablet control group (dosage is 10 mg/kg.BW) was set up. After 8 weeks of continuous administration, the drug was discontinued and observed for another two weeks. The three dosage groups and tablet groups were 200, 100, 50 and 100 times of clinical dosage respectively. **Results:** During the administration of Huangyangning tablet and solvent control group, there was no abnormal behavior, activity, coat, feces, weight and food intake in the experimental rats. There was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). The blood and blood biochemical indexes were tested, and the measured values were within the normal range. No abnormalities and naked eye lesions were found in the important organs after autopsy. Histopathological examination showed that there were no significant pathological changes in the important organs of the high dose group and the control group. There was no abnormality in the above indexes after two weeks of withdrawal. **Conclusion:** The safe dose of Huangyangning Dropping Pills for Wistar rats is below 20 mg/kg.

Keywords

Huangyangning Dropping Pills, Toxicity

黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药8周的毒性试验研究

*通讯作者。

程文华, 樊柏林, 宋毅, 田辉*

湖北省疾病预防控制中心, 湖北省应用毒理重点实验室, 湖北 武汉

Email: 317932934@qq.com, *332685060@qq.com

收稿日期: 2019年3月2日; 录用日期: 2019年3月11日; 发布日期: 2019年3月19日

摘要

目的: 观察连续给予供试品后由于积蓄而对机体产生的毒性反应及其严重程度, 提供毒性反应的器官及其损害的可逆性, 确定无毒反应剂量, 为拟定人用安全剂量提供参考。方法: 采用SPF级Wistar大鼠对黄杨宁滴丸反复灌胃给药8周进行毒性试验。试验中分为高剂量组(给药剂量为20 mg/kg.BW按生药计, 下同), 中剂量组(给药剂量为10 mg/kg.BW)、低剂量组(给药剂量为5 mg/kg.BW)和溶媒对照组(给予0.5% CMC-Na 10 mg/kg), 另设片剂对照组(给药剂量为10 mg/kg.BW), 连续给药8周后停药再继续观察二周。三个剂量组及片剂组分别相当临床用量的200、100、50、100倍。结果: 各剂量组及黄杨宁片剂组和溶媒对照组在给药期间, 其试验大鼠行为、活动、被毛、粪便等未见异常, 体重及食量与对照组比较无显著差异($P > 0.05$), 对血液学、血液生化学各指标检测, 其测定值均在正常范围内。尸解后各重要脏器未见异常与肉眼可见病变。经病理组织学检查, 高剂量组与对照组的各重要脏器无明显病变。停药二周后检测上述指标亦无异常。结论: 黄杨宁滴丸对Wistar大鼠给药剂量20 mg/kg以下为安全剂量。

关键词

黄杨宁滴丸, 毒性

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

黄杨宁具有祛风湿、行气活血的功效, 临床主要用于气滞血瘀所致的胸痹心痛、脉结代、冠心病等。临床研究显示, 黄杨宁对多种心律失常、心绞痛、冠心病、心功能不全等心血管疾病具有良好的疗效[1]。黄杨宁是黄杨科植物小叶黄杨及其同属植物中提取精制所得, 为无色针状结晶; 无臭, 味苦, 具有行气活血, 通络止痛之功效。本研究依据《中药新药研究指南》, 观察连续给予黄杨宁滴丸由于积蓄而对机体产生的毒性反应及其严重程度, 提供毒性反应的器官及其损害的可逆性, 确定无毒反应剂量, 为拟定人用安全剂量提供参考。报告如下:

2. 供试品

2.1. 名称

黄杨宁滴丸。

2.2. 批号

030128。

2.3. 性状

无色半透明粒状固体。

2.4. 含量与纯度

环维黄杨星 D 0.5 mg 生药/粒，27 mg/粒。

2.5. 保存条件

4℃冰箱保存。

3. 对照品(溶媒)

3.1. 名称

0.5%羧甲基纤维素钠。

3.2. 批号

20020403。

3.3. 来源

上海生化试剂厂生产。

3.4. 保存条件

配好后置于 4℃冰箱保存。

4. 药物对照

4.1. 名称

黄杨宁片。

4.2. 批号

021201。

4.3. 来源

芜湖张恒春药业有限公司提供。

4.4. 保存条件

4℃冰箱保存。

5. 研究系统

5.1. 级别、种属和品系

SPF 级 Wistar 大鼠。

5.2. 性别和数量

雌雄各半共 100 只。

5.3. 动物体重

60~90 克。

5.4. 动物来源

湖北省预防医学科学院实验动物中心。

5.5. 动物合格证号

鄂动字第 19-084 号。

5.6. 实验设施合格证号

鄂动字第 19-074 号。

5.7. 研究系统选择理由

大鼠是我国引进最早,使用最广泛,数量最多的品种,其特点是繁殖力强、生长发育快、性格温和、对传染病的抵抗力较强,自发肿瘤发生率低,是比较理想的实验动物之一。

5.8. 标记和识别

每鼠用苦味酸标记鼠号,鼠盒上贴标签写出组别。

5.9. 检疫时间及发现

在屏障环境下运送到 SPF 级观察实验室后观察一周。

5.10. 饲养管理条件

按 SPF 级动物实验室的饲养管理要求来管理。

5.11. 饲料来源

湖北省预防医学科学院实验动物中心灭菌全价营养颗粒饲料。

6. 实验设计

6.1. 实验设计依据

《中药新药研究指南》。

7. 实验方法

7.1. 药物配制

滴丸配制:将 43.2 g 黄杨宁滴丸研磨,边研磨边加入 0.5%羧甲基纤维素钠 400 ml,配制成浓度为 0.108 g/ml (即含 4 mg 生药/ml)的均匀悬混液,此为高剂量组用浓度,将此悬混液依次用 0.5%的羧甲基纤维素钠等倍稀释成 0.054 g/ml(含生药 2 mg/ml)、0.027 g/ml(含生药 1 mg/ml)为中、低剂量组用浓度;

片剂配制:将片剂 400 片(含生药 0.5 mg/片)研磨,边研磨边加入 0.5%羧甲基纤维素钠 200 ml,配制成含生药 1.0 mg/ml 的均匀悬混液。

7.2. 给药途径

经口灌胃给予。

7.3. 给药容量

1.0 ml/100 g.BW; (按大鼠体重计算给药容量)。

7.4. 给药时间

每天上午 9:00~11:00。

7.5. 给药剂量与分组

见表 1。

Table 1. Dosage and grouping table

表 1. 给药剂量与分组表

组别	动物数(只)	给药剂量(mg/kg)
高剂量组	20(♂♀各半)	20 按生药计(相当于人临床剂量 200 倍)
中剂量组	20(♂♀各半)	10 按生药计(相当于人临床剂量 100 倍)
低剂量组	20(♂♀各半)	5 按生药计(相当于人临床剂量 50 倍)
黄杨宁片剂组	20(♂♀各半)	10 按生药计(相当于人临床剂量 100 倍)
溶媒对照组	20(♂♀各半)	0.0 按生药计(相当于人临床剂量 0.0 倍)

8. 检测项目

8.1. 一般观察

外观体征和行为活动、粪便性状、食量及体重变化等,发现中毒反应的动物应取出单笼饲养,发现死亡或濒死动物,应及时尸体检查。

8.2. 血液学指标

红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HB)、白细胞计数(WBC)及分类(DC),血小板(PLT)。所用仪器为 F-820 型血球计数仪。

8.3. 血液生化指标

选取肝功及肾功各二项敏感指标,选取 AST、ALT、BUN、CRE 检测;所用仪器为 SABA-18 型全自动生化分析仪,试剂盒为上海复星长征医学科学有限公司生产。

8.4. 系统尸解

分别对对照组与高剂量组的心、肝、脾、肺、肾等脏器大体解剖,肉眼观察病理改变,并称重,同时计算脏器系数。

8.5. 病理组织学检查

取对照组与高剂量组的部分心、肝、脾、肺、肾等脏器至 10%中性福尔马林液固定,石蜡包埋、H.E 染色、光镜检查,如发现高剂量组有异常再对其它剂量组进行检查。

8.6. 恢复期观察

在末次给药后 24 小时活杀部分动物,检测上述各项指标,留下动物继续观察 2 周,再活杀检查上述指标,了解毒性反应的可逆程度和可能出现的延迟性毒性反应。

9. 统计学处理

数据以 $X \pm SD$ 表示, 各组间数据采用 t 检验。

10. 实验结果

10.1. 一般观察

给药期间, 各剂量组与对照组大鼠, 活动自如, 行为正常, 口鼻眼无分泌物, 呼吸平稳, 肛门与生殖器处无粪污, 且较为洁净, 毛色洁净有光泽, 食欲正常, 吞咽匀称, 粪便成形色正, 软硬度适中, 生长发育正常, 外观显示健康, 无中毒症状表现。

实验结果表明: 各剂量大鼠体重的变化、体重增加百分率的变化、食量的变化与对照组大鼠比较, 均无显著性差异($P > 0.05$), 实验结果见表 2, 表 3, 表 4, 表 5, 表 6。

Table 2. Effect of repeated intragastric administration of Huangyangning Dropping Pills on body weight change (♀) $\bar{x} \pm SD$, $n = 10$

表 2. 黄杨宁滴丸反复灌胃给药八周的体重变化的影响(♀) $\bar{x} \pm SD$, $n = 10$

组别	剂量(mg/kg.BW)	给药前(g)	第一周(g)	第二周(g)	第三周(g)	第四周(g)
溶媒对照组	0.0	82 ± 7.2	108 ± 9.5	126 ± 10.9	148 ± 10.6	165 ± 10.5
低剂量组	5.0	80 ± 9.9	107 ± 10.6	124 ± 7.4	145 ± 6.9	164 ± 8.2
中剂量组	10.0	82 ± 8.0	112 ± 10.2	132 ± 11.3	150 ± 10.1	171 ± 9.8
高剂量组	20.0	81 ± 6.4	113 ± 6.1	135 ± 7.1	151 ± 7.1	172 ± 9.2
片剂对照组	10.0	82 ± 9.2	112 ± 12.7	137 ± 8.0	156 ± 7.2	173 ± 6.2
组别	剂量(mg/kg.BW)	第五周(g)	第六周(g)	第七周(g)	第八周(g)	
溶媒对照组	0.0	178 ± 11.8	192 ± 11.6	194 ± 10.5	202 ± 12.5	
低剂量组	5.0	177 ± 8.5	192 ± 9.7	195 ± 11.4	202 ± 10.5	
中剂量组	10.0	182 ± 8.8	194 ± 8.7	201 ± 9.8	208 ± 7.4	
高剂量组	20.0	178 ± 11.0	197 ± 7.7	202 ± 8.5	210 ± 9.5	
片剂对照组	10.0	187 ± 5.9	201 ± 4.1	203 ± 3.6	211 ± 5.6	

Table 3. Effect of repeated intragastric administration of Huangyangning Dropping Pills on body weight change (♂) $\bar{x} \pm SD$, $n = 10$

表 3. 黄杨宁滴丸反复灌胃给药八周的体重变化的影响(♂) $\bar{x} \pm SD$, $n = 10$

组别	剂量(mg/kg.BW)	给药前(g)	第一周(g)	第二周(g)	第三周(g)	第四周(g)
溶媒对照组	0.0	91 ± 5.0	126 ± 5.8	155 ± 8.9	181 ± 9.5	209 ± 9.5
低剂量组	5.0	91 ± 9.3	127 ± 11.7	158 ± 14.1	177 ± 15.3	201 ± 15.3
中剂量组	10.0	91 ± 8.5	130 ± 11.4	161 ± 14.7	189 ± 19.6	213 ± 21.7
高剂量组	20.0	92 ± 6.7	114 ± 11.4	163 ± 15.7	185 ± 16.9	211 ± 22.5
片剂对照组	10.0	92 ± 6.7	134 ± 11.4	163 ± 15.7	185 ± 16.9	209 ± 18.4
组别	剂量(mg/kg.BW)	第五周(g)	第六周(g)	第七周(g)	第八周(g)	
溶媒对照组	0.0	231 ± 9.8	259 ± 12.2	267 ± 15.3	280 ± 16.2	
低剂量组	5.0	234 ± 14.5	263 ± 17.7	271 ± 14.8	281 ± 12.9	
中剂量组	10.0	241 ± 22.7	262 ± 24.5	271 ± 26.5	285 ± 26.6	
高剂量组	20.0	240 ± 27.2	266 ± 28.8	271 ± 31.0	281 ± 30.6	
片剂对照组	10.0	244 ± 12.2	269 ± 14.1	273 ± 14.2	285 ± 14.4	

Table 4. Changes of weight gain of Huangyangning dropping pills after repeated intragastric administration for eight weeks (♀)
 $\bar{x} \pm SD, n = 10$ **表 4.** 黄杨宁滴丸反复灌胃给药八周的体重增加的变化(♀) $\bar{x} \pm SD, n = 10$

组别	剂量(mg/kg.BW)	第一周(g)	第二周(g)	第三周(g)	第四周(g)
溶媒对照组	0.0	26 ± 3.1	19 ± 3.2	22 ± 4.3	17 ± 2.0
低剂量组	5.0	27 ± 3.4	17 ± 6.7	21 ± 3.4	19 ± 3.4
中剂量组	10.0	29 ± 4.7	21 ± 3.7	18 ± 4.4	21 ± 3.7
高剂量组	20.0	33 ± 3.7	22 ± 3.5	16 ± 3.1	22 ± 3.6
片剂对照组	10.0	30 ± 9.1	25 ± 8.6	18 ± 5.3	18 ± 4.9
组别	剂量(mg/kg.BW)	第五周(g)	第六周(g)	第七周(g)	第八周(g)
溶媒对照组	0.0	13 ± 4.8	14 ± 4.6	2 ± 3.0	8 ± 4.8
低剂量组	5.0	13 ± 4.7	15 ± 4.6	4 ± 2.9	7 ± 4.3
中剂量组	10.0	11 ± 2.6	11 ± 3.9	7 ± 4.3	7 ± 4.1
高剂量组	20.0	6 ± 4.3	19 ± 7.7	5 ± 4.8	8 ± 3.9
片剂对照组	10.0	14 ± 2.3	13 ± 3.7	3 ± 3.0	8 ± 2.8

Table 5. Changes of weight gain of Huangyangning dropping pills after repeated intragastric administration for eight weeks (♂)
 $\bar{x} \pm SD, n = 10$ **表 5.** 黄杨宁滴丸反复灌胃给药八周的体重增加的变化(♂) $\bar{x} \pm SD, n = 10$

组别	剂量(mg/kg.BW)	第一周(g)	第二周(g)	第三周(g)	第四周(g)
溶媒对照组	0.0	35 ± 2.1	29 ± 5.1	26 ± 4.2	28 ± 1.6
低剂量组	5.0	37 ± 6.0	31 ± 3.5	18 ± 4.0	25 ± 4.7
中剂量组	10.0	39 ± 7.3	31 ± 5.7	28 ± 9.9	24 ± 6.8
高剂量组	20.0	42 ± 7.0	28 ± 4.8	22 ± 5.1	26 ± 7.9
片剂对照组	10.0	42 ± 7.0	28 ± 4.8	22 ± 5.1	24 ± 6.8
组别	剂量(mg/kg.BW)	第五周(g)	第六周(g)	第七周(g)	第八周(g)
溶媒对照组	0.0	22 ± 9.1	28 ± 7.4	7 ± 6.0	14 ± 2.8
低剂量组	5.0	32 ± 6.4	30 ± 6.5	8 ± 6.1	10 ± 6.7
中剂量组	10.0	28 ± 5.9	21 ± 4.0	9 ± 5.2	14 ± 6.2
高剂量组	20.0	29 ± 7.2	26 ± 4.3	5 ± 3.7	10 ± 4.9
片剂对照组	10.0	36 ± 22.4	25 ± 2.3	4 ± 2.3	12 ± 2.6

Table 6. (a) Effects of Huangyangning dropping pills on feeding quantity in rats after repeated gastric administration for eight weeks (♀) $\bar{x} \pm SD, n = 10$; (b) Effects of Huangyangning dropping pills on feeding quantity in rats after repeated gastric administration for eight weeks (♂) $\bar{x} \pm SD, n = 10$

表 6. (a) 黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药八周对摄食量的影响(♀) $\bar{x} \pm SD, n = 10$; (b) 黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药八周对摄食量的影响(♂) $\bar{x} \pm SD, n = 10$

(a)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	第一周(g)	第二周(g)	第三周(g)	第四周(g)
溶媒对照组	0.0	110 ± 9.6	120 ± 11.7	123 ± 5.7	123 ± 6.2
低剂量组	5.0	109 ± 10.6	130 ± 11.9	124 ± 5.6	122 ± 11.6
中剂量组	10.0	112 ± 10.3	124 ± 7.3	125 ± 5.2	132 ± 6.5
高剂量组	20.0	121 ± 6.6	122 ± 8.4	118 ± 6.3	120 ± 6.4
片剂对照组	10.0	113 ± 12.8	118 ± 9.4	119 ± 5.9	120 ± 6.4
组别	剂量(mg/kg.BW)	第五周(g)	第六周(g)	第七周(g)	第八周(g)
溶媒对照组	0.0	112 ± 5.5	167 ± 13.3	122 ± 7.9	122 ± 5.9
低剂量组	5.0	109 ± 5.0	160 ± 11.7	111 ± 9.7	122 ± 11.6
中剂量组	10.0	108 ± 4.9	162 ± 15.6	125 ± 7.6	126 ± 4.7
高剂量组	20.0	113 ± 7.0	165 ± 9.8	113 ± 6.3	120 ± 6.4
片剂对照组	10.0	113 ± 6.5	168 ± 6.0	118 ± 5.5	120 ± 6.4
(b)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	第一周	第二周	第三周	第四周
溶媒对照组	0.0	131 ± 6.0	134 ± 14.4	126 ± 3.3	146 ± 3.7
低剂量组	5.0	133 ± 13.7	141 ± 12.3	124 ± 10.5	139 ± 12.3
中剂量组	10.0	131 ± 12.6	141 ± 12.6	130 ± 8.1	130 ± 12.0
高剂量组	20.0	134 ± 7.2	128 ± 17.6	127 ± 10.9	136 ± 11.9
片剂对照组	10.0	134 ± 6.9	128 ± 17.6	127 ± 10.9	136 ± 11.9
组别	剂量(mg/kg.BW)	第五周(g)	第六周(g)	第七周(g)	第八周(g)
溶媒对照组	0.0	168 ± 8.3	191 ± 9.3	126 ± 3.3	146 ± 3.7
低剂量组	5.0	133 ± 13.7	198 ± 11.5	124 ± 10.5	139 ± 12.3
中剂量组	10.0	131 ± 12.6	188 ± 24.2	130 ± 8.1	130 ± 12.0
高剂量组	20.0	134 ± 7.2	217 ± 26.8	127 ± 10.9	136 ± 11.9
片剂对照组	10.0	134 ± 4.8	193 ± 10.9	127 ± 10.9	136 ± 11.9

10.2. 对血液学指标的影响

在末次给药后 24 小时实验大鼠取血样检测血红蛋白(HB)、血小板(PLT)、红细胞计数(RBC), 白细胞计数(WBC)及分类(DC)。实验结果表明: 各剂量组实验大鼠的血液学指标与对照组实验大鼠的血液学指标比较, 无显著性差异($P > 0.05$), 实验结果见表 7。

Table 7. (a) Effects of Huangyangning dropping pills on hematological indicators in rats after repeated gastric administration for eight weeks (♀) $\bar{x} \pm SD, n = 6$; (b) Effects of Huangyangning dropping pills on hematological indicators in rats after repeated gastric administration for eight weeks (♂) $\bar{x} \pm SD, n = 6$

表 7. (a) 黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药八周对血液学指标的影响(♀) $\bar{x} \pm SD, n = 6$; (b) 黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药八周对血液学指标的影响(♂) $\bar{x} \pm SD, n = 6$

(a)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	WBC ($10^9/l$)	RBC ($10^{12}/l$)	HB (g/l)	PLT ($10^9/l$)
溶媒对照组	0.0	19.0 ± 3.04	6.9 ± 0.67	144 ± 12.2	995 ± 284.8
低剂量组	5.0	19.0 ± 2.40	7.4 ± 0.26	159 ± 35.7	1050 ± 77.2
中剂量组	10.0	16.8 ± 3.3	6.9 ± 0.80	132 ± 17.4	973 ± 226.4
高剂量组	20.0	22.0 ± 2.40	6.8 ± 0.64	137 ± 9.4	1224 ± 225
片剂对照组	10.0	16.4 ± 2.54	6.7 ± 1.10	142 ± 6.4	945 ± 89.4
组别	剂量(mg/kg.BW)	淋巴细胞	中性粒细胞		
溶媒对照组	0.0	66.1±4.81	33.9±4.81		
低剂量组	5.0	63.6±5.76	36.4±5.76		
中剂量组	10.0	69.3±7.05	30.7±7.05		
高剂量组	20.0	57.2±11.81	42.8±11.81		
片剂对照组	10.0	69.3±7.46	30.7±7.46		
(b)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	WBC ($10^9/l$)	RBC ($10^{12}/l$)	HB (g/l)	PLT ($10^9/l$)
溶媒对照组	0.0	21.4 ± 2.9	7.3 ± 1.03	147±9.5	1113±98.2
低剂量组	5.0	23.8 ± 3.39	7.4 ± 0.84	146±8.3	1060±159.2
中剂量组	10.0	21.0 ± 3.44	6.8 ± 0.75	140±14.3	960±235.4
高剂量组	20.0	21.6 ± 2.80	7.2 ± 1.05	145±13.1	952±293.3
片剂对照组	10.0	19.1 ± 2.86	7.2 ± 1.03	145±14.1	1118±194.3
组别	剂量(mg/kg.BW)	淋巴细胞	中性粒细胞		
溶媒对照组	0.0	65.9 ± 4.85	34.1 ± 4.58		
低剂量组	5.0	62.3 ± 15.49	37.7 ± 15.49		
中剂量组	10.0	55.9 ± 6.63	44.2 ± 6.63		
高剂量组	20.0	65.3 ± 5.44	34.7 ± 5.44		
片剂对照组	10.0	66.4 ± 4.05	33.6 ± 4.05		

10.3. 对血液生化指标的影响

在末次给药后 24 小时取实验大鼠血样检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、尿素氮(BUN)、肌肝(CRE)。实验结果表明:各剂量实验大鼠的血液生化指标均在正常值范围内,与对照组实验大鼠的血液生化值比较,无显著性差异($P > 0.05$)。实验结果见表 8。

Table 8. (a) Effects of Huangyangning dropping pills on blood biochemical indexes in rats after repeated gastric administration for eight weeks (♀) $\bar{x} \pm SD, n = 6$; (b) Effects of Huangyangning dropping pills on blood biochemical indexes in rats after repeated gastric administration for eight weeks (♂) $\bar{x} \pm SD, n = 6$

表 8. 黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药八周对血液生化指标的影响(♀) $\bar{x} \pm SD, n = 6$; (b) 黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药八周对血液生化指标的影响(♂) $\bar{x} \pm SD, n = 6$

(a)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mmol/L)	CRE (umol/L)
溶媒对照组	0.0	47.2 ± 4.3	262.2 ± 31.0	5.76 ± 0.44	46.6 ± 2.6
低剂量组	5.0	42.0 ± 6.0	230.1 ± 54.6	6.2 ± 0.7	49.3 ± 4.0
中剂量组	10.0	44.3 ± 6.8	226.2 ± 60.4	6.8 ± 1.6	46.1 ± 2.8
高剂量组	20.0	46.8 ± 6.3	259.4 ± 40.1	6.0 ± 0.3	47.4 ± 2.9
片剂对照组	10.0	50.7 ± 8.6	257.7 ± 63.1	5.7 ± 2.8	46.3 ± 3.8
(b)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mmol/L)	CRE (umol/L)
溶媒对照组	0.0	43.7 ± 8.2	193.6 ± 29.2	6.5 ± 0.4	46.5 ± 2.6
低剂量组	5.0	39.1 ± 6.6	216.9 ± 38.3	6.0 ± 0.8	47.3 ± 3.9
中剂量组	10.0	40.1 ± 4.0	209.4 ± 35.9	6.3 ± 0.5	46.3 ± 2.0
高剂量组	20.0	46.3 ± 4.7	205.6 ± 41.3	6.5 ± 0.8	45.1 ± 3.7
片剂对照组	10.0	33.2 ± 25.3	232.1 ± 53.2	5.8 ± 2.8	45 ± 1.8

10.4. 系统尸解

在末次给药后 24 小时各剂量组与对照组均活杀 2/3 实验大鼠并对其系统尸解,检验结果表明:各剂量组与对照组的心、肝、脾、肺、肾等重要脏器其形态、大小、质地、颜色均无异常,肉眼均未观察到可见明显病变。

10.5. 病理组织学检查

取高剂量组与对照组实验大鼠的心、肝、脾、肺、肾等重要脏器,标本在 10%中性福尔马林溶液固定、石蜡包埋、H.E 染色,光镜检查并摄影,病理组织学检查表明:高剂量组各重要脏器均未见发现由该药物引起的病变(详见病理组织学图片)。

10.6. 脏器系数

在系统解剖时,取各剂量组与对照组的重要脏器称重,并计算脏器系数。实验结果见表 9。

Table 9. (a) Effects of Huangyangning dropping pills on visceral coefficient (g/100g body weight) of rats after repeated gastric administration for eight weeks (♀) $\bar{x} \pm SD, n = 6$; (b) Effects of Huangyangning dropping pills on visceral coefficient (g/100g body weight) of rats after repeated gastric administration for eight weeks (♂) $\bar{x} \pm SD, n = 6$

表 9. 黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药八周脏器系数(g/100g 体重)的影响(♀) $\bar{x} \pm SD, n = 6$; (b) 黄杨宁滴丸对大鼠反复灌胃给药八周脏器系数(g/100g 体重)的影响(♂) $\bar{x} \pm SD, n = 6$

(a)						
组别	剂量(g/kg.BW)	心脏系数	肝脏系数	脾脏系数	肺脏系数	肾脏系数
溶媒对照组	0.0	0.42 ± 0.04	3.29 ± 0.31	0.29 ± 0.02	0.64 ± 0.15	0.75 ± 0.08
低剂量组	5.0	0.39 ± 0.06	3.22 ± 0.31	0.25 ± 0.02	0.54 ± 0.02	0.68 ± 0.08
中剂量组	10.0	0.41 ± 0.04	3.27 ± 0.24	0.29 ± 0.03	0.62 ± 0.10	0.71 ± 0.12
高剂量组	20.0	0.40 ± 0.05	3.45 ± 0.16	0.30 ± 0.03	0.64 ± 0.18	0.72 ± 0.02
片剂对照组	10.0	0.40 ± 0.04	3.06 ± 0.27	0.26 ± 0.03	0.51 ± 0.04	0.66 ± 0.05
(b)						
组别	剂量(g/kg.BW)	心脏系数	肝脏系数	脾脏系数	肺脏系数	肾脏系数
溶媒对照组	0.0	0.38 ± 0.04	3.08 ± 0.41	0.23 ± 0.03	0.54 ± 0.02	0.70 ± 0.08
低剂量组	5.0	0.35 ± 0.04	2.98 ± 0.18	0.22 ± 0.02	0.55 ± 0.09	0.68 ± 0.08
中剂量组	10.0	0.38 ± 0.02	2.93 ± 0.09	0.22 ± 0.01	0.53 ± 0.07	0.67 ± 0.03
高剂量组	20.0	0.39 ± 0.04	3.09 ± 0.12	0.24 ± 0.02	0.53 ± 0.03	0.67 ± 0.05
片剂对照组	10.0	0.37 ± 0.05	3.08 ± 0.18	0.22 ± 0.03	0.54 ± 0.11	0.67 ± 0.08

10.7. 恢复性观察

余下 1/3 实验大鼠，停药后继续观察 2 周，然后活杀实验大鼠，检查上述各项指标，实验结果见表 10、表 11、表 12、表 13。

Table 10. (a) Effect of Huangyangning dropping pills on weight change in rats two weeks after drug stopping (♀) $\bar{x} \pm SD, n = 4$; (b) Effects of Huangyangning dropping pills on weight change in rats two weeks after drug stopping (♂) $\bar{x} \pm SD, n = 4$

表 10. (a) 黄杨宁滴丸对大鼠停药二周后体重变化的影响(♀) $\bar{x} \pm SD, n = 4$; (b) 黄杨宁滴丸对大鼠停药二周后体重变化的影响(♂) $\bar{x} \pm SD, n = 4$

(a)			
组别	剂量(mg/kg.BW)	第九周	第十周
溶媒对照组	0.0	208 ± 5.0	212 ± 6.0
低剂量组	5.0	206 ± 6.1	209 ± 5.6
中剂量组	10.0	215 ± 3.8	223 ± 8.8
高剂量组	20.0	217 ± 7.6	223 ± 8.3
片剂对照组	10.0	217 ± 3.6	224 ± 6.2

(b)			
组别	剂量(mg/kg.BW)	第九周	第十周
溶媒对照组	0.0	284 ± 17.9	297 ± 18.0
低剂量组	5.0	288 ± 11.0	295 ± 10.6
中剂量组	10.0	312 ± 30.0	329 ± 34.4
高剂量组	20.0	312 ± 33.3	332 ± 36.2
片剂对照组	10.0	294 ± 16.5	300 ± 14.8

Table 11. (a) Effects of Huangyangning dropping pills on hematological indicators in rats two weeks after stopping drugs (♀) $\bar{x} \pm SD$, $n = 4$; (b) Effects of Huangyangning dropping pills on hematological indicators in rats two weeks after stopping drugs (♂) $\bar{x} \pm SD$, $n = 4$

表 11. (a) 黄杨宁滴丸对大鼠停药二周血液学指标的影响(♀) $\bar{x} \pm SD$, $n = 4$; (b) 黄杨宁滴丸对大鼠停药二周血液学指标的影响(♂) $\bar{x} \pm SD$, $n = 4$

(a)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	WBC ($10^9/l$)	RBC ($10^{12}/l$)	HB (g/l)	PLT ($10^9/l$)
溶媒对照组	0.0	21.8 ± 3.7	6.6 ± 0.8	148 ± 7.0	1106 ± 245.2
低剂量组	5.0	19.4 ± 2.1	7.0 ± 0.8	139 ± 7.6	801 ± 281.1
中剂量组	10.0	20.2 ± 2.6	6.5 ± 1.1	139 ± 7.9	884 ± 216.1
高剂量组	20.0	25.0 ± 1.9	7.0 ± 0.5	141.8 ± 11.8	1011 ± 247.4
片剂对照组	10.0	21.0 ± 3.2	6.7 ± 0.2	142.8 ± 12.1	1082 ± 148.2

组别	剂量(mg/kg.BW)	淋巴细胞	中性粒细胞
溶媒对照组	0.0	63.4 ± 5.7	36.6 ± 5.7
低剂量组	5.0	63.2 ± 6.4	36.8 ± 6.4
中剂量组	10.0	57.8 ± 3.7	42.2 ± 3.7
高剂量组	20.0	64.2 ± 9.6	35.8 ± 9.6
片剂对照组	10.0	56.9 ± 12.3	43.1 ± 12.3

(b)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	WBC ($10^9/l$)	RBC ($10^{12}/l$)	HB (g/l)	PLT ($10^9/l$)
溶媒对照组	0.0	21.2 ± 1.9	6.6 ± 0.5	140.8 ± 5.6	772 ± 110.9
低剂量组	5.0	22.6 ± 2.7	6.7 ± 0.6	138.5 ± 5.7	842 ± 72.7
中剂量组	10.0	23.9 ± 2.6	6.8 ± 0.7	132.3 ± 9.1	893 ± 149.3
高剂量组	20.0	22.9 ± 1.8	6.59 ± 0.52	144.5 ± 3.9	740 ± 154.3
片剂对照组	10.0	21.0 ± 3.0	7.0 ± 0.6	138.0 ± 3.9	774 ± 59.2

组别	剂量(mg/kg.BW)	淋巴细胞	中性粒细胞
溶媒对照组	0.0	65.0 ± 5.1	35.0 ± 5.1
低剂量组	5.0	61.1 ± 7.0	38.9 ± 7.0
中剂量组	10.0	57.8 ± 14.1	42.3 ± 14.1
高剂量组	20.0	57.4 ± 14.3	42.6 ± 14.3
片剂对照组	10.0	62.8 ± 4.4	37.2 ± 4.4

Table 12. (a) Effects of Huangyangning dropping pills on blood biochemical indexes in rats two weeks after stopping drugs (♀) $\bar{x} \pm SD, n = 4$; (b) Effects of Huangyangning dropping pills on blood biochemical indexes in rats two weeks after stopping drugs (♂) $\bar{x} \pm SD, n = 4$

表 12. (a) 黄杨宁滴丸对大鼠停药二周血液生化指标的影响(♀) $\bar{x} \pm SD, n = 4$; (b) 黄杨宁滴丸对大鼠停药二周对血液生化指标的影响(♂) $\bar{x} \pm SD, n = 4$

(a)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mmol/L)	CRE (umol/L)
溶媒对照组	0.0	46.60 ± 8.40	215.6 ± 45.4	5.92 ± 0.55	46.48 ± 3.87
低剂量组	5.0	42.20 ± 5.90	187.0 ± 11.7	6.00 ± 0.30	46.73 ± 2.75
中剂量组	10.0	43.95 ± 7.14	195.5 ± 44.0	6.07 ± 0.55	45.60 ± 2.28
高剂量组	20.0	46.30 ± 2.04	242.2 ± 57.7	6.29 ± 0.17	43.75 ± 3.88
片剂对照组	10.0	52.40 ± 8.09	272.2 ± 80.2	6.28 ± 0.52	47.95 ± 2.34
(b)					
组别	剂量(mg/kg.BW)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mmol/L)	CRE (umol/L)
溶媒对照组	0.0	44.20 ± 7.75	202.8 ± 48.2	6.51 ± 0.66	47.98 ± 5.71
低剂量组	5.0	37.20 ± 5.06	201.0 ± 35.9	5.99 ± 0.62	48.28 ± 3.36
中剂量组	10.0	42.43 ± 4.30	208.3 ± 43.3	6.35 ± 0.39	38.28 ± 15.4
高剂量组	20.0	46.83 ± 5.07	192.3 ± 10.1	6.26 ± 0.59	45.15 ± 3.95
片剂对照组	10.0	47.63 ± 4.20	224.7 ± 38.7	6.86 ± 0.20	44.93 ± 1.47

Table 13. (a) Effects of Huangyangning dropping pills on visceral coefficient (g/100g body weight) of rats two weeks after stopping drugs (♀) $\bar{x} \pm SD, n = 4$; (b) Effects of Huangyangning dropping pills on visceral coefficient (g/100g body weight) of rats two weeks after stopping drugs (♂) $\bar{x} \pm SD, n = 4$

表 13. (a) 黄杨宁滴丸对大鼠停药二周脏器系数(g/100g 体重)的影响(♀) $\bar{x} \pm SD, n = 4$; (b) 黄杨宁滴丸对大鼠停药二周脏器系数(g/100g 体重)的影响(♂) $\bar{x} \pm SD, n = 4$

(a)						
组别	剂量(g/kg.BW)	心脏	肝脏	脾脏	肺脏	肾脏
溶媒对照组	0.0	0.42 ± 0.01	2.99 ± 0.06	0.27 ± 0.02	0.59 ± 0.14	0.72 ± 0.07
低剂量组	5.0	0.39 ± 0.03	2.83 ± 0.02	0.22 ± 0.00	0.59 ± 0.01	0.70 ± 0.03
中剂量组	10.0	0.43 ± 0.02	2.89 ± 0.13	0.24 ± 0.02	0.53 ± 0.04	0.76 ± 0.04
高剂量组	20.0	0.40 ± 0.02	2.81 ± 0.14	0.28 ± 0.03	0.56 ± 0.03	0.67 ± 0.03
片剂对照组	10.0	0.41 ± 0.01	2.94 ± 0.26	0.28 ± 0.01	0.54 ± 0.03	0.69 ± 0.03
(b)						
组别	剂量(g/kg.BW)	心脏	肝脏	脾脏	肺脏	肾脏
溶媒对照组	0.0	0.37 ± 0.03	2.77 ± 0.26	0.21 ± 0.02	0.48 ± 0.03	0.59 ± 0.16
低剂量组	5.0	0.39 ± 0.02	2.76 ± 0.16	0.22 ± 0.03	0.51 ± 0.02	0.78 ± 0.09
中剂量组	10.0	0.35 ± 0.03	2.71 ± 0.06	0.20 ± 0.03	0.48 ± 0.02	0.71 ± 0.04
高剂量组	20.0	0.35 ± 0.04	2.75 ± 0.23	0.19 ± 0.01	0.46 ± 0.08	0.66 ± 0.03
片剂对照组	10.0	0.38 ± 0.07	2.78 ± 0.17	0.21 ± 0.03	0.48 ± 0.11	0.63 ± 0.03

11. 结论

有报道显示黄杨宁具有加强心肌收缩力, 强心的作用, 但强心作用并不是通过细胞膜上的 B: 受体而发挥的, 可能与抑制心肌细胞膜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 活力有关[2]。已有研究发现黄杨宁长期给药会产生肝毒性, 对肝功能有一定影响[3]。黄杨宁已有药效学研究报告, 其具有扩张血管、促进血液循环的作用, 与血管内皮细胞释放 NO 有关[4]。

本次实验结果表明: 黄杨宁滴丸对 SPF 级 Wistar 品系大鼠反复给药 8 周, 在给药期间, 实验大鼠生长发育良好, 体重增加, 食欲良好, 无可见毒性。血液学指标, 血液生化指标、脏器系数等均无异常。经病理组织学检查结果表明, 高剂量组各主要脏器均未发现由药物引起的病理学改变。实验大鼠经停药观察 2 周后, 检测上述指标均无异常。

综上所述, 黄杨宁滴丸对大鼠给药剂量 20 mg/kg (按生药计) 以下为安全剂量。

参考文献

- [1] 张开山, 吴义元. 黄杨宁片临床应用概述[J]. 基层中药杂志, 2000, 14(4): 52.
- [2] 温业绍, 周念辉, 胡式冷, 等. 环维黄杨星 D 对心肌的正性肌力效应和细胞膜 $\text{N}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 活力的抑制作用[J]. 生理学报, 1982, 34(3): 295.
- [3] 梁秉文, 张朝位. 黄杨碱与心脑血管疾病[M]. 北京: 蓝天出版社, 2000: 202.
- [4] Vacca, G., Battaglia, A., Brunelleschi, S., Grossini, E., Mary, D.A., Molinari, C. and Viano, I. (1997) Hemodynamic Effects of the Intravenous Administration of Cyclovirobuxine D [Correction of Cyclovirobuxine D] in Anesthetized Pigs. *Life Sciences*, **61**, PL255-PL261.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2160-441X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: pi@hanspub.org