



柴桂感寒口服液急性毒性和长期毒性试验

肖蕊, 施君, 谢小东, 韦秀颖, 韦英益*, 胡庭俊*

(广西大学 动物科学技术学院, 南宁 530004)

摘要:【目的】评价柴桂感寒口服液的毒性作用并初步确定其安全范围,为柴桂感寒口服液的兽医临床用药提供参考依据。【方法】选取健康的昆明系小鼠(18.00~22.00 g/只),按1.875、3.750、7.500、15.000和30.000 g/kg的给药剂量设5个处理组,于24 h内分2~3次灌胃给药进行急性毒性试验;另取20只昆明系小鼠,雌雄各半,按60.000 g/kg的剂量灌胃给药进行最大耐受量试验。长期毒性试验则选取健康清洁级SD大鼠80只,随机分为高剂量组(20.000 g/kg)、中剂量组(10.000 g/kg)、低剂量组(5.000 g/kg)和空白对照组(纯化水),每组20只(雌雄各半),给药周期30 d,于停药后第1 d(试验第31 d)和停药后1周(试验第38 d)分别进行眼球采血,用于血常规指标和血清生化指标检测,同时剖检并采集大鼠实质性脏器计算脏器指数及制作石蜡组织切片。【结果】急性毒性试验小鼠灌胃给药后30 min内嗜睡,精神萎靡,但40 min后其生理状态恢复正常,无中毒症状和死亡现象,因而无法计算出半数致死量(LD₅₀)。在最大耐受量试验中,各给药剂量组小鼠也未出现死亡情况,剖检发现其心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胸腺、胃肠、睾丸(♂)、子宫(♀)和卵巢(♀)等脏器均无任何肉眼可见的特征性病理变化,即小鼠对柴桂感寒口服液的最大耐受量大于60.000 g/kg。长期服用柴桂感寒口服液对大鼠的采食量和体重均无不利影响,不会导致大鼠实质性脏器损伤或发生异常变化,对其血常规指标和血清生化指标也无明显影响;石蜡组织切片观察发现各给药剂量组大鼠肝脏、脾脏和肾脏的组织形态结构与空白对照组一致,均未出现异常病理变化。【结论】柴桂感寒口服液无急性毒性作用,长期连续服用也不会产生毒副作用,兽医临床用药安全性高,可用于治疗风寒感冒等病证。

关键词:柴桂感寒口服液;急性毒性;最大耐受量;长期毒性

中图分类号: S853.74

文献标志码: A

文章编号: 2095-1191(2018)11-2327-08

Acute toxicity and long-term toxicity test of Chaigui cold oral liquid

XIAO Rui, SHI Jun, XIE Xiao-dong, WEI Xiu-ying, WEI Ying-yi*, HU Ting-jun*

(College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract:【Objective】The aim of the present study was to evaluate the toxic effects of Chaigui cold oral liquid and to determine its safety range, and provide reference for veterinary clinical use of Chaigui cold oral liquid. 【Method】Twenty healthy Kunming mice (18.00-22.00 g/mouse) were selected for five dose groups in acute toxicity test, and were administered for twice to three times at a dose of 1.875, 3.750, 7.500, 15.000 and 30.000 g/kg in 24 h by intragastric administration. Another 20 Kunming mice in half female and half male were fed with 60.000 g/kg by intragastric administration for the maximum tolerance limit test. The long-term toxicity test selected 80 SD mice of healthy clean grade, randomly divided them into high dose (20.000 g/kg), middle dose (10.000 g/kg), low dose (5.000 g/kg) and blank control (purified water) groups, each group was with 20 mice (half males and half females). The drug administration period was 30 d. On the 1st day after the end of the administration (the 31th day of the test) and one week after the withdrawal (the 38th day of the test), blood was collected from the eye for blood routine index test and serum biochemical indicators test. The mice organs were dissected and collected, the organ index was calculated and the paraffin tissue sections were made. 【Result】In acute toxicity test, the mice were lethargic and listless within 30 min after intragastric administration, but all recovered after 40 min without symptoms of poisoning and death. According to the toxicological evaluation criteria, the median lethal dose (LD₅₀) could not be measured. In the maximum tolerance limit test, no death occurred in the mice in each dose group. The heart, liver, spleen, lung, kidney, thymus, intestines and stomach, testis (♂), uterus (♀) and ovarium (♀) had no visible patho-

投稿日期: 2018-05-14

基金项目: 广西创新驱动发展专项项目(桂科AA17204081-2); 南宁市科学研究与技术开发计划项目(20175031-4)

作者简介: *为通讯作者: 韦英益(1973-), 博士, 副教授, 主要从事动物疾病病理及中兽药研发利用工作, E-mail: weiyinyi99@163.com; 胡庭俊(1965-), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中兽药开发及其药理研究工作, E-mail: tingjunhu@126.com. 肖蕊(1995-), 研究方向为兽医药理与毒理学, E-mail: 2574823463@qq.com

logical changes, which indicated that the maximum tolerance of mice to Chaigui cold oral liquid was greater than 60.000 g/kg. Long-term use of Chaigui cold oral liquid had no adverse effects on the feed intake and body weight of mice, and did not cause abnormal organ damage or abnormal changes in mice, and had no great effect on blood routine indicators and serum biochemical indicators. The histomorphological structure of the liver, spleen and kidney of themice in each dose group was consistent with that of the blank control group according to paraffin tissue sections, and no abnormal pathological changes were observed. 【Conclusion】Chaigui cold oral liquid has no acute toxicity and long-term continuous use of the drug has no sub-chronic toxicity. Its veterinary clinical medications are highly safe and can be widely applied to treat diseases such as cold.

Key words: Chaigui cold oral liquid; acute toxicity; maximum tolerance dose; long-term toxicity

0 引言

【研究意义】鸡风寒感冒通常是因气候突变而引起,发病鸡群主要表现为流涕、咳嗽、呼吸困难或精神萎靡(吴永银等,2014),尤其在雏鸡的病期短且死亡率高,给家禽养殖业带来巨大损失。随着抗生素的禁用和生物制剂的发展,使得中兽药已成为治疗禽病的首选药物,但在中兽药研究领域至今未见关于柴桂制剂治疗家禽风寒感冒的报道,因此研究及明确柴桂感寒口服液的药理毒理学特性,对于满足家禽临床用药需求及促进家禽产业健康发展具有重要意义。【前人研究进展】柴桂感寒口服液组方源自张仲景的《伤寒论》柴胡桂枝干姜汤,由柴胡、桂枝、黄芩、干姜、天花粉、牡蛎和炙甘草等七味中药组成,按照现代药理学的协同药效作用,其具有疏肝胆郁滞、温通扶阳和化痰开结等功效(畅洪昇和张桂珍,2001)。目前,柴桂方剂及其制剂的临床应用已有较多报道。郭玉成等(2008)通过建立大鼠的酵母菌致热模型,证实柴桂制剂能在给药3 h后显著降低致热大鼠体温。陶方泽(2009)通过对柴胡桂枝干姜汤进行类方考证和药效述评,结果表明柴胡桂枝干姜汤主治的疾病可达23种,尤其是祛邪补虚作用明显。温小兰等(2013)研究发现,柴桂退热颗粒和利巴韦林联用能有效抑制小儿急性上呼吸道感染疾病,其治愈率达68.42%。谢胜等(2013)研究表明,柴胡桂枝干姜汤联合背俞指针疗法治疗脾虚型失眠效果显著,其治愈率高达95.6%。王勇和刘晓锋(2014)通过(小儿)柴桂退热糖浆的药效学试验,发现10倍稀释剂量柴桂退热糖浆即具有体外抗甲型流感病毒的作用,灌服剂量为6.60 g/kg时能有效降低发热大鼠体温。王芳等(2014)研究证实,2.00 g/kg剂量的柴桂安神胶囊即能有效延长大鼠的睡眠时间,提高入睡率。付思为和徐强(2018)将柴胡桂枝干姜汤应用于临床慢性心力衰竭治疗,发现该方剂疗效确切,能有效缓解病症。【本研究切入点】柴桂感寒口服液是本课题组针对鸡风寒感冒研制而成,对自然发病

雏鸡用药3~5 d后其流涕、发热等临床症状明显减轻,精神状态恢复,给药11 d后病鸡恢复正常体征,药效明显,但针对柴桂感寒口服液的毒理学研究目前尚无文献报道。【拟解决的关键问题】开展柴桂感寒口服液的急性毒性和长期毒性试验,评价药物的毒性作用并初步确定其安全范围,为柴桂感寒口服液的兽医临床用药提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

柴桂感寒口服液(100.00 mL/瓶)由河南牧翔动物药业有限公司生产,批号20170301,规格1.44 g/mL;昆明系小鼠(18.00~22.00 g/只)和SD大鼠(90.00~120.00 g/只)均购自广西医科大学实验动物中心,雌雄各半。主要仪器设备:AB104-L分析天平(瑞士梅特勒)、DK-98-II型电热恒温水浴箱、Aida TD-5A台式低速离心机、尼康YS100生物显微镜、日本希森美康XT-2000i血球分析仪、全自动生化分析仪、徕卡组织切片机和明美病理系统等。

1.2 急性毒性试验

1.2.1 预试验 取20只健康小鼠随机分成5组,每组4只,雌雄各半。按不同给药浓度设A(1.875 g/kg)、B(3.750 g/kg)、C(7.500 g/kg)、D(15.000 g/kg)、E(30.000 g/kg)5个剂量组,换算剂量组给药量分别为1.30、2.60、5.21、10.42和20.83 mL/kg,给药前禁食12 h,不限饮水;于试验开始当天(24 h内)分2~3次进行灌胃给药,连续观察7 d,详细记录小鼠的增重、饮食、饮水变化及是否有异常行为表现。观察期结束后将全部小鼠颈椎脱臼处死,剖检观察小鼠心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胃肠、睾丸(♂)、子宫(♀)和卵巢(♀)等器官有无异常变化。如预试验中出现小鼠死亡,记录死亡数并找出致死剂量,随后进行正式试验。

1.2.2 正式试验 由于预试验中受试动物死亡率为0,故将每组试验动物数量增至10只,并设1次重复试验。剂量分组设计及试验方法与预试验同,观察

指标与预试验保持一致。

1.3 最大耐受试验

随机选取小鼠20只(给药体重均按20.00 g/只计),按60.000 g/kg的剂量进行灌胃给药。给药后24 h内每隔1 h观察小鼠生理状态1次,记录是否有中毒反应或出现异常行为。给药后连续观察7 d,保持饲养条件不变,并记录小鼠的饮食、精神状态、自主活动和粪便情况等。观察期结束后将全部试验小鼠颈椎脱臼处死,剖检观察小鼠心脏、肝脏、脾脏等实质性脏器有无异常变化。

1.4 长期毒性试验

选取健康清洁级SD大鼠80只,随机分为高剂量组(20.000 g/kg)、中剂量组(10.000 g/kg)、低剂量组(5.000 g/kg)和空白对照组(纯化水),每组20只,雌雄各半,分笼饲养;药物剂量设计参考急性毒性试验和最大耐受试验结果。根据《兽药30天和90天喂养试验指导原则》,各给药剂量组连续给药30 d。通过饮水方式给药,每组大鼠每日饮水量均为200.00 mL。试验期间每天观察大鼠的一般健康状况,同时记录饮水投入量和饮水剩余量,按周时间段测量记录大鼠体重、投入饲料量和剩余饲料量,并计算平均增重、增重率、饲料利用率。

增重(g)=试验后体重(g)-试验前体重(g)

增重率(%)=增重(g)/试验前体重(g)×100

饲料利用率(%)=增重(g)/饲料消耗量(g)×100

于停药后第1 d(试验第31 d)及停药后1周(试验第38 d),禁食12 h,不限饮水,每次每组随机选取10只大鼠,经眼球采血进行血液学和血液生化学检查;采血后颈椎脱臼处死,进行系统剖检和病理学检查并记录观察结果,采集心脏、肝脏、脾脏等实质性脏器称重,计算各脏器指数。脏器指数=脏器重(mg)/体重(g)。称重后采用10%福尔马林固定,制作病理组织切片进行病理学检查。

1.5 统计分析

试验数据采用SPSS 19.0进行单因素方差分析(One-way ANOVA)和Duncan's多重比较。

2 结果与分析

2.1 急性毒性试验结果

预试验小鼠死亡率为0,24 h内也未出现中毒现象。在正式试验中,各剂量组小鼠在给药后30 min内嗜睡,精神萎靡,但40 min后其生理状态恢复正常,24 h内未出现中毒症状,行为活动正常、采食无异常、粪便正常、体重正常增长,与预试验结果一致。剖检小鼠观察发现,其心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胸腺、肠胃等主要脏器均无异常变化。此外,以不同剂量柴桂感寒口服液灌胃给药后,小鼠体重仍呈增长趋势(表1),各剂量组小鼠平均增重5.46~7.80 g/只,增重率23.46%~34.00%,组间差异均不显著($P>0.05$,下同)。依据中药急性毒性剂量分级标准,可判定柴桂感寒口服液对试验小鼠无毒。由于试验过程中未见小鼠死亡,无法计算柴桂感寒口服液的半数致死量(LD₅₀),而需进行最大耐受量试验以检验其安全性。

2.2 最大耐受量试验结果

在最大耐受量试验期间,各给药剂量组小鼠也未出现死亡情况。临床观察发现,灌胃给药后30 min内小鼠精神萎靡,呼吸缓慢,但30 min后其精神和生理状态逐渐恢复,饮饲正常;24 h内小鼠未出现中毒症状。连续观察7 d,均无中毒症状和死亡现象出现,所有小鼠的呼吸、可视黏膜和被毛等体征均无异常,饮饲、排便等生理行为正常;给药后第8 d剖检观察,发现小鼠的心脏、肝脏、脾脏等实质性脏器均无任何肉眼可见的特征性病理变化。根据药物毒理学评价标准判定,当药物LD₅₀>5 g/kg时,该药物属于实际无毒性物质。本研究中柴桂感寒口服液最大耐受

表 2 急性毒性试验下柴桂感寒口服液对小鼠增重的影响

Table 2 Effects of Chaigui cold oral liquid on weight gain of mice in acute toxicity test

试验 Test	组别 Group	初始体重(g/只) Initial weight(g/mouse)	终末体重(g/只) Final weight(g/mouse)	平均增重(g/只) Average weight gain(g/mouse)	增重率(%) Weight gain rate
预试验 Pretest	A	22.79±0.80	28.13±0.88	5.35±0.92	23.54±4.47
	B	23.90±1.22	29.09±1.35	5.18±1.99	21.97±9.21
	C	23.81±0.53	29.81±1.34	6.00±0.98	25.18±3.90
	D	22.66±1.41	28.68±1.63	6.02±1.13	26.72±5.60
	E	23.25±1.11	29.33±1.92	6.08±1.49	26.18±6.58
正式试验 Formal test	A	23.29±0.95	28.74±1.13	5.46±0.70	23.46±3.28
	B	22.98±0.21	30.78±1.03	7.80±1.22	34.00±5.57
	C	24.20±0.86	30.43±1.99	6.23±1.25	25.66±4.48
	D	23.81±0.55	30.51±0.93	6.71±1.20	28.25±5.57
	E	23.39±1.66	29.39±3.03	6.00±1.72	25.54±6.40

量试验的口服剂量达60.000 g/kg,小鼠仍健康存活,表明柴桂感寒口服液的安全性很高。

2.3 长期毒性试验结果

2.3.1 临床表现 试验期间,大鼠生理活动无异常,粪便正常,饮饲情况与空白对照组一致。由图1可看出,试验第1~4周各处理组大鼠的采食量呈稳步

上升趋势,至试验第4周时采食量最大。由图2可看出,各处理组大鼠体重均随日龄的增加而逐渐增加,且各药物剂量组与空白对照组间无显著差异。说明长期服用柴桂感寒口服液对大鼠的采食量和体重均无不利影响。

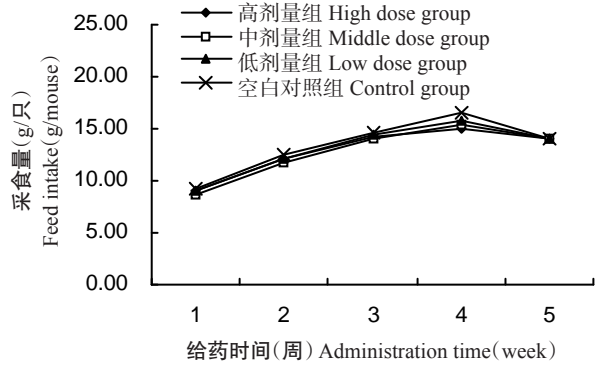
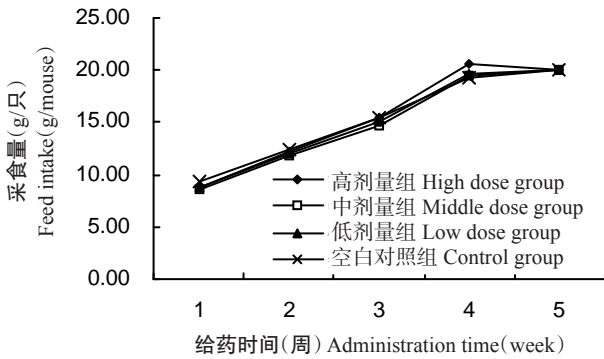


图 1 长期毒性试验下柴桂感寒口服液对雄性(左)和雌性(右)大鼠采食量的影响

Fig.1 Effects of Chaigui cold oral liquid on feed intake of male(left) and female(right) mice in long-term toxicity test

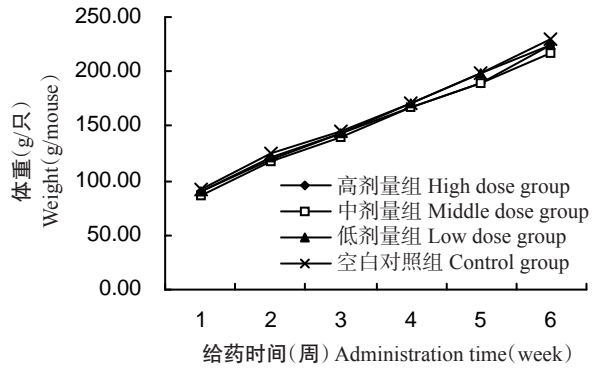
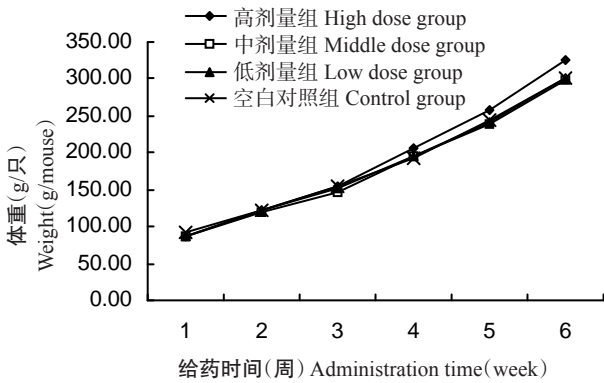


图 2 长期毒性试验下柴桂感寒口服液对雄性(左)和雌性(右)大鼠体重增重的影响

Fig.2 Effects of Chaigui cold oral liquid on weight gain of of male(left) and female(right) mice in long-term toxicity test

2.3.2 脏器指数 剖检观察发现,各药物剂量组大鼠心脏、肝脏、脾脏、肺脏和肾脏等脏器表面光泽,颜色均匀,质地紧密富有弹性,形态无异常,无明显的肉眼可见病变。停药后第1 d(试验第31 d),各药物剂量组大鼠的脏器指数与空白对照组间无显著差异,且均在正常生理范围内;停药后1周(试验第38 d),除高剂量组雄性大鼠的睾丸指数显著小于空白对照组($P<0.05$,下同)外,其他脏器指数与空白对照组间也无显著差异(表3)。说明长期服用柴桂感寒口服液不会导致大鼠实质脏器损伤或发生异常变化。

2.3.3 血常规指标 停药后第1 d(试验第31 d),仅中剂量组雄性大鼠的白细胞数显著低于对照组,其他血常规指标与空白对照组间均无显著差异(表4)。停药后1周(试验第38 d),中剂量组雌性大鼠的白细胞和淋巴细胞数显著高于空白对照组,高、低剂

量组雌性大鼠的单核细胞数显著低于空白对照组,但均在正常生理范围内(詹纯列等,2004);各药物剂量组雄性大鼠的血常规指标与空白对照组相比均无显著差异。可见,长期服用柴桂感寒口服液对大鼠血常规指标无明显影响。

2.3.4 血清生化指标 停药后第1 d(试验第31 d),各给药剂量组大鼠的血清生化指标与空白对照组间均无显著差异(表5);停药后1周(试验第38 d),除低剂量组雄性大鼠的血糖显著低于空白对照组外,其他血清生化指标与空白对照组间也无显著差异。说明长期服用柴桂感寒口服液对大鼠血清生化指标无明显影响。

2.3.5 脏器组织形态结构 取各处理组大鼠的主要脏器(肝脏、脾脏和肾脏),以10%福尔马林固定后制作石蜡组织切片,于光学显微镜观察,发现各给药剂量组大鼠的肝脏、脾脏和肾脏石蜡组织切片未见

表 3 长期毒性试验下柴桂感寒口服液对SD大鼠实质性脏器指数的影响

Table 3 Effects of Chaigui cold oral liquid on parenchyma organ indexes in SD mice in long-term toxicity test

时间 Time	脏器 Organ	性别 Gender	高剂量组 High dose group	中剂量组 Middle dose group	低剂量组 Low dose group	空白对照组 Control group
第31 d Day 31	心脏 Heart	♂	3.81±0.28	3.71±0.28	4.12±0.42	3.70±0.23
		♀	3.81±0.19	3.98±0.57	3.76±0.34	4.07±0.43
	肝脏 Liver	♂	30.08±3.19	31.63±3.59	31.48±2.28	28.24±2.11
		♀	33.88±3.10	27.56±4.40	28.29±1.98	32.45±5.27
	脾脏 Spleen	♂	1.90±0.45	2.06±0.40	2.07±0.21	1.86±0.24
		♀	2.09±0.19	2.19±0.49	2.37±0.99	1.99±0.23
	肺脏 Lung	♂	4.82±0.37	5.04±0.54	4.71±0.41	4.40±1.08
		♀	5.64±0.79	5.04±0.83	5.05±0.24	5.92±0.79
	肾脏 Kidney	♂	7.77±1.24	7.63±0.64	7.64±0.60	7.63±0.70
		♀	7.62±0.35	7.60±1.54	6.45±1.96	7.44±0.83
胃 Stomach	♂	8.84±1.47	8.95±1.64	9.40±1.39	9.40±1.39	
	♀	9.68±3.20	8.54±1.14	7.20±1.32	7.93±1.73	
肠道 Intestines	♂	64.44±11.54	64.62±5.79	65.58±16.00	63.02±3.26	
	♀	55.32±12.14	60.02±11.92	58.42±6.33	65.18±9.62	
第38 d Day 38	睾丸 Testicle	♂	12.02±0.70	12.12±0.62	12.36±1.44	12.72±1.00
	子宫+卵巢 Uterine+ovaries	♀	3.82±1.13	4.34±0.73	3.98±0.80	3.24±0.63
		♂	3.55±0.98	3.52±0.21	3.45±0.34	3.65±0.47
	心脏 Heart	♀	3.69±0.53	3.70±0.29	3.90±0.58	3.81±0.45
		♂	33.11±1.98	31.95±2.72	32.71±2.83	32.16±1.23
	肝脏 Liver	♀	27.94±3.20	29.60±2.41	31.25±2.75	29.41±2.26
		♂	1.86±0.17	1.75±0.17	2.07±0.21	2.07±0.43
	脾脏 Spleen	♀	1.93±0.37	2.04±0.10	2.27±0.91	1.90±0.25
		♂	4.26±0.47	4.52±0.57	4.35±0.36	5.04±1.10
	肺脏 Lung	♀	4.37±0.29	4.75±0.38	4.51±0.24	4.74±0.44
♂		6.84±0.30	7.14±0.57	6.87±0.17	7.35±0.36	
肾脏 Kidney	♀	6.69±0.88	6.69±0.58	7.13±0.43	6.82±0.64	
	♂	8.76±1.72	7.88±0.82	8.68±1.45	8.63±0.71	
胃 Stomach	♀	8.43±0.86	8.17±0.89	7.59±1.18	7.78±1.74	
	♂	64.41±8.66	66.25±8.74	66.98±8.01	66.91±7.93	
肠道 Intestines	♀	61.07±4.78	64.88±11.63	58.12±4.52	66.33±6.21	
	♂	9.69±0.35*	10.43±0.70	9.85±0.43	10.49±0.56	
子宫+卵巢 Uterine+ovaries	♀	3.10±0.74	2.95±0.19	3.42±0.49	3.02±0.85	

表示与空白对照组相比差异显著($P<0.05$)。表4和表5同 represented significant difference compared with control group($P<0.05$). The same was applied in Table 4 and Table 5

表 4 长期毒性试验下柴桂感寒口服液对SD大鼠血常规指标的影响

Table 4 Effects of Chaigui cold oral liquid on hematological indexes in SD mice in long-term toxicity test

时间 Time	指标 Index	性别 Gender	高剂量组 High dose group	中剂量组 Middle dose group	低剂量组 Low dose group	空白对照组 Control group
第31 d Day 31	血红蛋白(g/L)	♂	151.40±4.16	150.00±6.48	148.00±4.64	146.00±0.11
		♀	144.20±7.98	142.20±8.41	143.00±12.65	147.60±5.37
	红细胞($\times 10^{12}/L$)	♂	7.82±0.16	7.75±0.23	7.88±0.33	7.73±0.13
		♀	7.73±0.39	7.59±0.35	7.69±0.52	7.74±0.37
	白细胞($\times 10^9/L$)	♂	14.55±1.29	13.45±2.26*	15.17±2.66	16.33±1.09
		♀	8.64±1.38	10.99±1.64	9.00±2.31	10.21±1.38
	中性粒细胞($\times 10^9/L$)	♂	1.75±0.29	1.94±0.90	1.96±0.59	2.25±0.42
		♀	1.28±0.57	1.07±0.25	1.20±0.64	1.44±0.36
	嗜碱性粒细胞($\times 10^9/L$)	♂	0.01±0.01	0.00±0.01	0.01±0.01	0.01±0.00
		♀	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
嗜酸性粒细胞($\times 10^9/L$)	♂	0.11±0.03	0.09±0.03	0.09±0.04	0.10±0.10	
	♀	0.11±0.03	0.10±0.03	0.09±0.04	0.13±0.05	
淋巴细胞($\times 10^9/L$)	♂	12.41±1.08	11.10±2.36	12.76±2.40	13.05±1.10	
	♀	7.10±1.13	9.66±1.44	7.56±1.82	8.34±1.30	
单核细胞($\times 10^9/L$)	♂	0.26±0.07	0.33±0.11	0.36±0.11	0.35±0.11	
	♀	0.18±0.08	0.16±0.06	0.15±0.02	0.19±0.05	
第38 d Day 38	血红蛋白(g/L)	♂	145.80±8.87	140.60±26.82	149.80±5.02	155.40±8.38
		♀	134.60±5.35	151.60±9.53	143.80±3.49	142.80±8.29
	红细胞($\times 10^{12}/L$)	♂	7.49±0.50	7.68±0.73	7.78±0.58	8.12±0.34
		♀	7.02±1.27	7.86±0.46	7.50±0.24	7.55±0.28
	白细胞($\times 10^9/L$)	♂	10.79±3.91	10.96±1.50	9.05±1.24	12.02±4.08
		♀	7.52±2.87	10.42±1.24*	8.75±0.92	7.43±2.14
	中性粒细胞($\times 10^9/L$)	♂	0.74±0.15	1.51±0.54	1.15±0.47	1.11±0.33
		♀	1.01±0.60	1.01±0.21	1.00±0.33	1.00±0.27
	嗜碱性粒细胞($\times 10^9/L$)	♂	0.00±0.01	0.00±0.01	0.00±0.00	0.00±0.01
		♀	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
嗜酸性粒细胞($\times 10^9/L$)	♂	0.06±0.03	0.12±0.09	0.05±0.03	0.11±0.05	
	♀	0.08±0.03	0.12±0.04	0.11±0.15	0.09±0.02	
淋巴细胞($\times 10^9/L$)	♂	9.87±3.84	9.13±1.04	7.75±0.85	10.26±3.69	
	♀	6.19±2.35	9.02±0.83*	7.42±0.90	6.00±2.31	
单核细胞($\times 10^9/L$)	♂	0.11±0.05	0.19±0.07	0.11±0.04	0.12±0.06	
	♀	0.12±0.03*	0.17±0.05	0.12±0.04*	0.19±0.07	

表 5 长期毒性试验下柴桂感寒口服液对SD大鼠血清生化指标的影响

Table 5 Effects of Chaigui cold oral liquid on blood biochemical indexes in SD mice in long-term toxicity test

时间 Time	指标 Index	性别 Gender	高剂量组 High dose group	中剂量组 Middle dose group	低剂量组 Low dose group	空白对照组 Control group	
第31 d Day 31	谷丙转氨酶(U/L)	♂	51.20±11.03	54.20±7.19	47.00±5.87	51.60±21.00	
	ALT	♀	41.00±7.07	43.40±5.08	43.80±7.98	34.00±11.90	
	谷草转氨酶(U/L)	♂	194.80±31.81	190.40±54.94	175.80±11.80	197.60±44.16	
	AST	♀	203.80±50.69	183.00±27.34	198.40±29.10	188.60±28.74	
	尿素氮 (mmol/L)	♂	3.58±0.34	4.19±0.84	3.66±0.44	3.75±0.72	
	BUN	♀	5.02±0.92	5.10±0.65	5.31±0.33	5.99±1.10	
	肌酐(μmol/L)	♂	29.20±3.11	29.80±5.63	27.60±3.36	30.40±1.67	
	CREAT	♀	32.80±3.42	34.20±4.92	33.40±4.83	37.20±3.77	
	血糖(mmol/L)	♂	3.84±1.34	4.07±0.85	4.47±0.30	4.65±1.58	
	GLU	♀	2.66±0.77	2.57±0.24	2.97±0.49	2.73±0.44	
	总蛋白(g/L)	♂	56.94±1.79	55.70±3.66	56.26±3.89	57.20±1.80	
	TP	♀	61.70±2.33	59.92±4.11	60.90±3.26	60.26±3.54	
	白蛋白(g/L)	♂	42.02±1.17	41.98±2.99	41.68±2.20	41.40±0.48	
	ALB	♀	47.08±1.06	46.02±2.80	45.68±2.13	44.54±2.25	
	总胆固醇(mmol/L)	♂	2.11±0.23	2.06±0.14	2.15±0.20	1.87±0.35	
	CHO	♀	1.98±0.36	2.00±0.12	1.75±0.35	1.80±0.30	
	第38 d Day 38	甘油三酯(mmol/L)	♂	0.84±0.26	0.85±0.09	1.00±0.14	0.70±0.31
		TG	♀	0.95±0.29	0.89±0.12	0.71±0.05	0.87±0.19
谷丙转氨酶(U/L)		♂	49.40±2.30	56.40±3.97	66.00±15.98	60.40±15.47	
ALT		♀	38.60±6.43	40.40±5.64	42.20±9.88	42.80±5.17	
谷草转氨酶(U/L)		♂	125.40±13.07	120.40±12.74	154.00±28.60	144.00±18.15	
AST		♀	125.00±24.77	121.20±17.33	126.20±13.10	132.80±13.85	
尿素氮 (mmol/L)		♂	4.83±0.93	5.07±0.79	4.79±1.06	5.20±0.95	
BUN		♀	6.10±0.32	5.87±0.97	6.58±0.36	5.99±0.66	
肌酐(μmol/L)		♂	29.40±3.91	33.40±6.95	29.60±4.04	31.40±3.91	
CREAT		♀	38.80±4.02	38.60±3.65	39.40±3.65	35.00±2.74	
血糖(mmol/L)		♂	6.50±0.71	6.16±0.20	5.42±0.79*	7.12±1.62	
GLU		♀	4.27±0.74	4.74±0.59	5.21±0.51	4.81±0.70	
总蛋白(g/L)		♂	57.34±2.17	58.70±2.46	57.36±0.82	57.06±1.95	
TP		♀	62.54±2.64	61.50±4.50	63.74±1.34	63.12±1.77	
白蛋白(g/L)		♂	57.34±2.17	58.70±2.46	57.36±0.82	57.06±1.95	
ALB		♀	31.80±1.55	31.84±2.21	32.30±2.01	32.30±0.79	
总胆固醇(mmol/L)		♂	1.84±0.33	1.96±0.05	1.73±0.14	1.84±0.34	
CHO		♀	1.81±0.21	1.70±0.25	1.73±0.10	1.79±0.20	
甘油三酯(mmol/L)	♂	0.94±0.38	1.08±0.52	1.08±0.21	1.19±0.13		
TG	♀	0.94±0.02	0.87±0.30	0.93±0.06	1.10±0.26		

异常病理变化(图3)。在大鼠肝脏石蜡组织切片中,肝细胞排列紧密,肝小叶结构完整,无异常变化;脾脏组织切片中红髓区和白髓区界限清晰,小梁结构无异常;大鼠肾脏组织结构完整,肾小球体积形态无异常变化且肾小管上皮细胞排列规律。说明长期服用柴桂感寒口服液不会对大鼠主要脏器产生毒副作用而造成其组织形态结构损伤。

3 讨论

柴桂方剂具有发汗解表、清里退热等多重功效(沈存思等,2016),尤其对治疗中医中的外感内伤效果显著(张智华,2008)。柴胡桂枝干姜汤在临床上应用较广泛,通常作为治疗流感和上呼吸道疾病的特效药(林怀德,2012),对临床上腹泻、胃胀等肝胆、脾胃病证也有一定疗效(徐维浓和陈明,2015)。郭起岳等(2016)研究证实,柴桂颗粒制剂对大鼠无长

期毒性作用,即大鼠各项血液指标及脏器指数等检查均未显示出药物毒性。本研究的急性毒性试验结果表明,即使柴桂感寒口服液的给药剂量高达20.83 mL/kg,也未造成试验小鼠出现中毒症状和死亡现象,且连续观察7 d发现小鼠的饮饲和增重均表现正常,剖检观察,小鼠的心脏、肝脏、脾脏等实质性脏器均无异常变化;在最大耐受量试验中,柴桂感寒口服液的口服剂量达60.000 g/kg,小鼠仍健康存活,其呼吸、可视黏膜和被毛等体征均无异常,药后剖检观察发现小鼠的实质性脏器均无任何肉眼可见的特征性病理变化。可见,柴桂感寒口服液对小鼠无毒性作用,兽医临床用药安全性高。

长期毒性试验的目的是观察连续重复给予受试药物对动物产生的毒性反应,包括出现的症状和严重程度,毒副反应的靶器官及其恢复和发展情况,进而确定无毒反应剂量,为临床安全用药提供参考

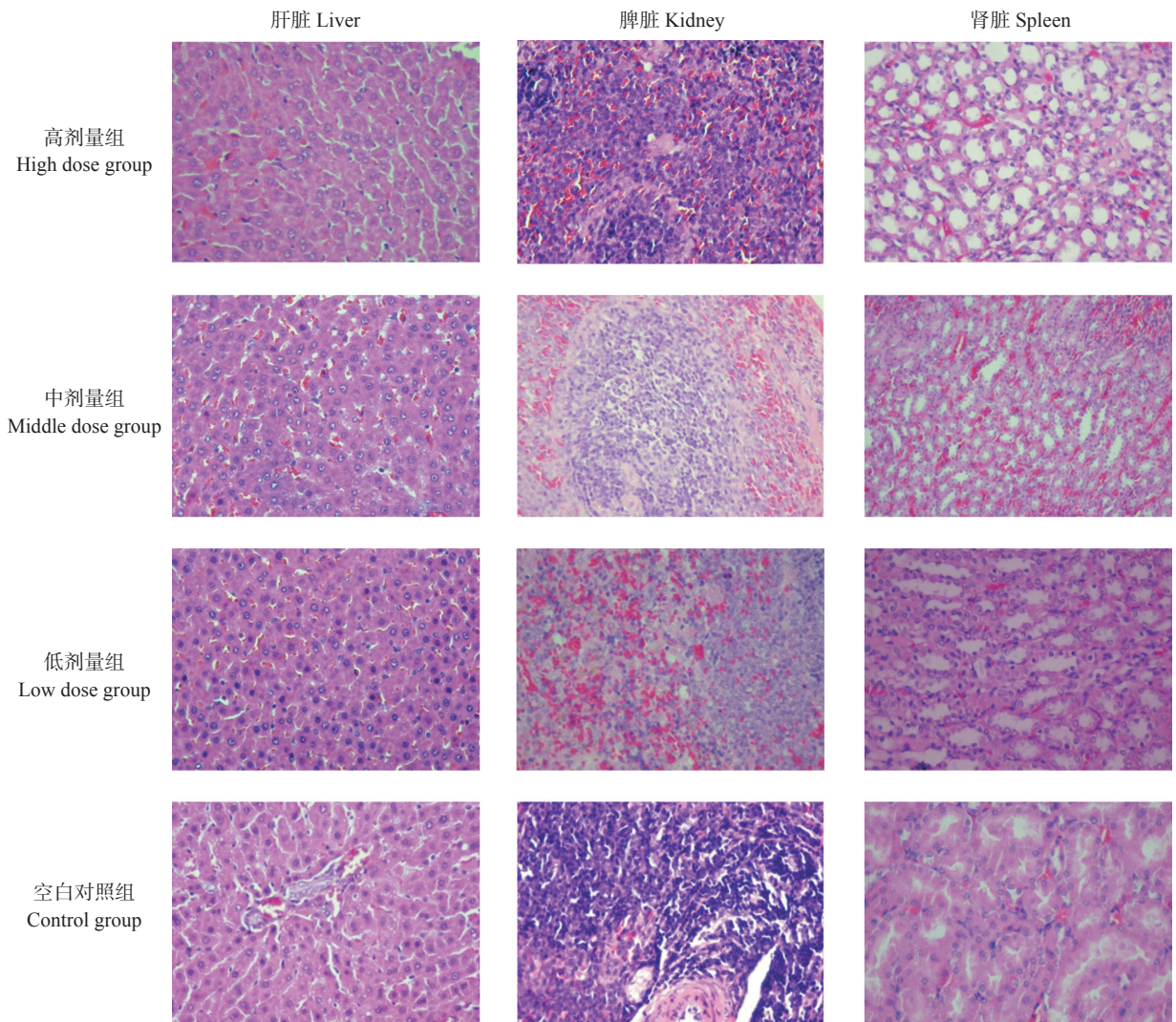


图3 柴桂感寒口服液对大鼠肝脏、脾脏和肾脏组织形态学的影响(HE染色,×400倍)

Fig.3 Effects of Chaigui cold oral liquid on morphology of liver, kidney and spleen in SD mice(HE staining,×400 times)

(刘静等,2018;赵留涛等,2018)。本研究的长期毒性试验结果表明,长期服用柴桂感寒口服液对大鼠的采食量和体重均无不利影响,于停药后第1 d(试验第31 d)和停药后1周(试验第38 d)分别采血和剖解观察,发现长期服用柴桂感寒口服液不会导致大鼠实质性脏器损伤或发生异常变化,对大鼠血常规指标和血清生化指标也无明显影响。停药后继续观察1周发现,各给药剂量组大鼠的摄食量与空白对照组相比无异常,大鼠体重呈稳步上升趋势,符合其正常生长规律,且高剂量组大鼠的增重率明显高于空白对照组,可能是柴桂感寒口服液中含有温中散寒的干姜等中药,具有调理脾胃和促进胃液分泌的功能。从长期服用柴桂感寒口服液对大鼠血常规指标和血清生化指标均无明显影响可初步判断,受试物对大鼠的肝脏和肾脏无靶器官毒性作用;结合剖检及石蜡组织切片观察,确定各给药剂量组大鼠的肝脏、脾脏和肾脏均未出现异常病理变化,进一步证实

柴桂感寒口服液无药物毒性或毒性极低,即兽医临床用药安全性高。

4 结论

柴桂感寒口服液无急性毒性作用,长期连续服用也不会产生毒副作用,兽医临床用药安全性高,可用于治疗风寒感冒等病证。

参考文献:

- 畅洪昇,张桂珍. 2001.《伤寒论》柴胡桂枝干姜汤方证辨要[J]. 山东中医药大学学报,25(1):40-42. [Chang H S, Zhang G Z. 2001. Identification of the prescription of Chaihu and cinnamon branch dried ginger soup in *Treatise on Typhoid Fever*[J]. Journal of Shandong University of Traditional Chinese Medicine,25(1):40-42.]
- 付思为,徐强. 2018. 柴胡桂枝干姜汤治疗慢性心力衰竭探析[J]. 山东中医药大学学报,42(3):221-222. [Fu S W, Xu Q. 2018. Analysis of Chaihu Guizhi Ganjiang decoction in treating chronic heart failure[J]. Journal of Shan-

- dong University of Traditional Chinese Medicine, 42(3): 221-222.]
- 郭起岳,左俊岭,刘诗怡,王林,茹丽,刘婵,关业枝,徐勤,王琪. 2016. 银翘柴桂颗粒毒理学研究[J]. 中南药学, 14(1):32-39. [Guo Q Y, Zuo J L, Liu S Y, Wang L, Ru L, Liu C, Guan Y Z, Xu Q, Wang Q. 2016. Toxicity on Yin-qiao Chaigui granule[J]. Central South Pharmacy, 14(1): 32-39.]
- 郭玉成,赵玉堂,李静华,李晓军,贾春华. 2008. 柴桂合方解热作用的药效研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 14(12):946-947. [Guo Y C, Zhao Y T, Li J H, Li X J, Jia C H. 2008. Study on the effect of the antipyretic effect of Chaigui combined formula[J]. Journal of Basic Chinese Medicine, 14(12):946-947.]
- 林怀德. 2012. 寒温并用复方治疗流感的临床与实验研究[D]. 广州:广州中医药大学. [Lin H D. 2012. Cold temperature and clinical study of compound treatment of influenza[D]. Guangzhou:Guangzhou University of Chinese Medicine.]
- 刘静,刘欣,魏丽娟,宋婷婷,瞿红颖,贾兴,耿智霞,魏占勇,史万玉. 2018. 柴黄口服液长期毒性试验研究[J]. 中国兽药杂志, 52(2):36-42. [Liu J, Liu X, Wei L J, Song T T, Qu H Y, Jia X, Geng Z X, Wei Z Y, Shi W Y. 2018. Chaihuang oral liquid long-term toxicity test research[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 52(2):36-42.]
- 沈存思,尹庆锋,王蔚,徐建亚,谢彤,汪受传,单进军. 2016. 6种中药口服液抗炎、镇痛、解热作用比较实验研究[J]. 世界中医药, 11(9):1663-1666. [Shen C S, Yin Q F, Wang W, Xu J Y, Xie T, Wang S C, Shan J J. 2016. Comparative study of six kinds of chinese medicinal oral liquid on anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effect[J]. The world Chinese medicine, 11(9):1663-1666.]
- 陶方泽. 2009. 小柴胡汤类方证治规律研究[D]. 南京:南京中医药大学. [Tao F Z. 2009. Systemic research for Xiaochaihu Tang and its add or subtract soups about their law in differentiation and treatment[D]. Nanjing:Nanjing University of Chinese Medicine.]
- 王芳,刘子冬,张星,钟颖,刘玉林. 2014. 柴桂安神胶囊治疗失眠的药效学研究[J]. 西北药学杂志, 29(3):270-272. [Wang F, Liu Z D, Zhang X, Zhong Y, Liu Y L. 2014. Pharmacodynamic study of Chaigui Anshen capsule in treating insomnia[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 29(3):270-272.]
- 王勇,刘晓锋. 2014. 小儿柴桂退热糖浆药效学研究[J]. 医药导报, 33(7):878-881. [Wang Y, Liu X F. 2014. Pharmacodynamic study of children Chaigui fever syrup[J]. Herald of Medicine, 33(7):878-881.]
- 温小兰,邱卫东,邱跃华. 2013. 柴桂退热颗粒与利巴韦林治疗小儿急性上呼吸道感染分析[J]. 吉林医学, 34(15):2924-2925. [Wen X L, Qiu W D, Qiu Y H. 2013. Analysis of Chaigui's antipyretic granule and ribavirin in treating acute upper respiratory tract infection in children[J]. Jilin Medical Journal, 34(15):2924-2925.]
- 吴永银,玉梅,周如军. 2014. 枇杷汤对鸡感冒的治疗试验[J]. 贵州畜牧兽医, 38(1):38-39. [Wu Y Y, Yu M, Zhou R J. 2014. Study on the treatment of chicken cold by loquat soup[J]. Guizhou Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 38(1):38-39.]
- 谢胜,覃婧,周晓玲,黄文兴. 2013. 柴胡桂枝干姜汤联合背俞指针灸法治疗肝郁脾虚型失眠45例[J]. 辽宁中医杂志, 40(9):1844-1845. [Xie S, Qin J, Zhou X L, Huang W X. 2013. Chaihu Guizhi Ganjiang formula combined with Back-Shu point therapy in treatment of liver stagnation and spleen deficiency type of insomnia: Clinical observation of 45 cases[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 40(9):1844-1845.]
- 徐维浓,陈明. 2015. 柴胡桂枝干姜汤证之解读与运用[J]. 中华中医药杂志, 30(9):3142-3144. [Xu W N, Chen M. 2015. Explanation and application of Chaihu Guizhi Ganjiang decoction syndrome[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 30(9):3142-3144.]
- 詹纯列,肖育华,李新春,杨传红,赖晃文,王捷. 2004. 普通级、SPF级SD、Wistar大鼠血液生化常值的测定与比较[J]. 中国比较医学杂志, 14(2):94-97. [Zhan C L, Xiao Y H, Li X C, Yang C H, Lai H W, Wang J. 2004. Comparison of normal values of blood examination in conventional, SPF SD and Wistar rats[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 14(2):94-97.]
- 张智华. 2008. 《伤寒论》柴胡类方“药对”研究[D]. 武汉:湖北中医学院. [Zhang Z H. 2008. Study on TCM compatibility of Chaihu (Bupleuri) decoction family in *Treatise on Exogenous Febrile Diseases*[D]. Wuhan:Hubei College of Traditional Chinese Medicine.]
- 赵留涛,吴洪银,吴冠连,陈五常,徐洪德,袁之润,吴春丽. 2018. 北芪五加颗粒长期毒性试验研究[J]. 动物医学进展, 39(9):58-62. [Zhao L T, Wu H Y, Wu G L, Chen W C, Xu H D, Yuan Z R, Wu C L. 2018. Experimental study on long-term toxicity of Beiqi Wujia granules[J]. Progress in Veterinary Medicine, 39(9):58-62.]

(责任编辑 兰宗宝)