

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)24-0055-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.24.013



蒺藜生药粉长期毒性实验研究*

尤力都孜·买买提^{1,2}, 阿不都吉力力·阿布都艾尼^{1,2}, 艾西木江·热甫卡提^{1,2}, 窦勤^{1,2}, 李治建^{3Δ}

(1. 新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆维吾尔自治区方剂学重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆维吾尔自治区第二人民医院, 新疆 乌鲁木齐 830049)

摘要:目的 探讨蒺藜生药粉对大鼠的长期毒性。方法 将 120 只 SD 大鼠随机分为对照组(等体积饮用水)及低、中、高剂量组(蒺藜生药粉 2.13, 4.25, 8.50 g/kg), 各 30 只。各组大鼠灌胃给予相应药物或等体积饮用水(15 mL/kg), 每天 1 次, 连续 30 d。观察末次给药后及末次给药 30 d 后大鼠的体质量、一般情况(形态外观、中毒反应症状等); 采用苏木素-伊红染色, 观察肝脏组织病理学变化情况; 检测血液细胞、血液生化、血清电解质、凝血指标变化情况。结果 给药期间各给药组大鼠均未见死亡及明显毒性反应。开始给药至末次给药 30 d 后各给药组大鼠体质量均呈自然增长趋势, 末次给药后及末次给药 30 d 后与对照组比较无明显差异($P > 0.05$)。末次给药后, 各给药组出现不同程度灶状炎性细胞浸润, 且高剂量组可见肝细胞脂肪变性, 末次给药 30 d 后均有不同程度改善。末次给药后与对照组比较, 中剂量组雌性大鼠碱性磷酸酶(ALP)水平明显降低($P < 0.05$); 低剂量组雄性大鼠红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)水平、平均红细胞血红蛋白浓度明显升高, 平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、网织红细胞水平明显降低, 中剂量组雄性大鼠 MCH 明显降低, 高剂量组雄性大鼠 RBC 及 Hb 水平明显升高($P < 0.05$)。末次给药 30 d 后与对照组比较, 高剂量组雌性大鼠 MCV 明显升高, 低、中、高剂量组雌性大鼠 ALP 及中剂量组雌性大鼠 γ -谷氨酰转氨酶水平明显降低($P < 0.05$); 低、高剂量组雄性大鼠淋巴细胞百分比明显升高($P < 0.05$)。结论 长期(≥ 30 d)给予高剂量(≥ 8.50 g/kg)蒺藜生药粉对大鼠具有一定的肝毒性, 但随停药时间的延长大鼠可自行恢复。

关键词: 蒺藜; 生药; 大鼠; 长期毒性实验; 肝毒性

Study on Long - Term Toxicity Test of Tribuli Fructus Crude Powder

Youliduizi MAIMAITI^{1,2}, Abudujilili ABUDUAINI^{1,2}, Aiximujiang REFUKATI^{1,2}, DOU Qin^{1,2}, LI Zhijian³

(1. Institute of Xinjiang Traditional Uyghur Medicine, Urumqi, Xinjiang, China 830011; 2. Laboratory of Traditional Uyghur Medicine Prescription of Xinjiang, Urumqi, Xinjiang, China 830011; 3. The Second People's Hospital of Xinjiang Uyghur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang, China 830049)

Abstract: Objective To investigate the long - term toxicity of Tribuli Fructus crude powder on rats. **Methods** A total of 120 SD rats were selected and randomly divided into the control group (equal volume of drinking water), the low -, medium -, and high - dose groups (2.13, 4.25, 8.50 g / kg of Tribuli Fructus crude powder), with 30 rats in each group. Each group was given corresponding drugs or equal volume of drinking water (15 mL / kg) by gavage, once a day for 30 d. The body weight and general condition (appearance, toxic reaction symptoms and so on) in each group after the last administration and 30 d after the last administration was determined or observed. Hematoxylin - eosin staining method was used to observe pathological changes in liver tissue. The changes in indicators related to blood cells, blood biochemistry, serum electrolytes and coagulation were detected.

Results During the administration, no death or obvious toxic reaction was observed in the low -, medium - and high - dose groups. The body weight in the low -, medium - and high - dose groups showed a normal growth from the start to 30 d after the last administration, and that was similar to that in the control group after the last administration and 30 d after the last administration ($P > 0.05$). After the last administration, different degrees of focal inflammatory cell infiltration were observed in the low -, medium - and high - dose groups, and hepatocellular steatosis was observed in the high - dose group, while the above symptoms in the above groups improved to varying degrees 30 d after the last administration. After the last administration, compared with those in the control group, the alkaline phosphatase (ALP) level of female rats in the medium - dose group was significantly lower ($P < 0.05$); the red blood cell count (RBC), hemoglobin (Hb) level and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) of male rats in the low - dose group were significantly higher, the mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and reticulocyte (RET) level were significantly lower; the MCH of male rats in the medium - dose group was significantly lower; the RBC and Hb level of male rats in the high - dose group were significantly higher ($P < 0.05$). Thirty days after the last administration, compared with those in the control group, the MCV of female rats in the high - dose group was significantly higher, the ALP of female rats in the low -, medium - and high - dose groups and γ - glutamyl transpeptidase

*基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金[2020D01A105]。

第一作者: 尤力都孜·买买提, 女, 大学本科, 高级实验师, 研究方向为药理毒理学, (电子信箱)1453187693@qq.com。

Δ通信作者: 李治建, 男, 博士, 研究员, 研究方向为药理毒理学, (电子信箱)lizhijian0220@sina.com。

(GGT) level of female rats in the medium - dose group were significantly lower ($P < 0.05$); the lymphocyte percentage (LYMPH) of male rats in the low - and high - dose groups was significantly higher ($P < 0.05$). **Conclusion** Long - term administration (≥ 30 d) of high doses of Tribuli Fructus crude powder (≥ 8.50 g / kg) has a certain hepatotoxicity on rats, while the toxic reaction can disappear on its own with the prolongation of drug withdrawal.

Key words: Tribuli Fructus; crude drug; rats; long - term toxicity test; hepatotoxicity

蒺藜为蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 的干燥成熟果实,维吾尔药名为“欧葛日提坎”,是我国中医学(包括维吾尔医学等)和民间医学常用药材。中医学认为,其味辛、苦,性微温,有小毒,归肝经,有平肝解郁、活血祛风功效,可用于明目、止痒,治头痛眩晕、胸胁胀痛、乳闭乳痈、目赤翳障、风疹瘙痒等证^[1]。维吾尔医认为,本品性干热,具有排石、利尿、止咳、抗白癜风、壮阳等功效^[2]。蒺藜含有皂苷类、黄酮类等化合物^[3],现代临床应用和毒理学研究发现其有肝毒性^[4-7]。原国家食品药品监督管理局药品评价中心早在2005年第9期药品不良反应信息通报中便发布了含蒺藜复方(白蚀丸)的(肝损害)药品不良反应信息通报,提示临床应用含蒺藜制剂需重点监测肝肾功能相关指标,但尚无蒺藜安全性评价的文献报道。为此,本研究中依据《药物非临床研究质量管理规范》^[8]、《药物重复给药毒性研究技术指导原则》^[9]等指导原则,利用大鼠进行蒺藜生药粉长期毒性实验,对蒺藜的安全性作出初步评价,为其进一步开展实验研究提供理论基础和科学依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试药与动物

仪器:TC3K - H型电子天平(常熟双杰测试仪器厂,精度为0.01 g);TGL - 5 - A型低速大容量离心机(上海安亭科学仪器厂);XT - 2000iv型全自动血液分析仪(日本Sysmex株式会社);Thrombolyzer Compact X型全自动血凝分析仪(德国Behnk Elektronik GmbH);7100型全自动生化分析仪(日本Hitachi公司);IMS - 972型电解质仪(深圳市希莱恒医用电子有限公司);TP1020型脱水机、RM2245型切片机、DM4000型显微镜(德国Leica公司);KD - BMII型生物组织自动包埋机(浙江金华科迪仪器设备有限公司);KZPG - 1型摊片烤片机(天津天利航空机电有限公司);E7型全自动染色封片机(宁波察微生物科技有限公司)。

试药:蒺藜生药粉(黄绿色粉末,南通飞宇生物科技有限公司,批号为FY200619);天门冬氨酸氨基转移酶(AST,批号为140220011),丙氨酸氨基转移酶(ALT,批号为140120011),碱性磷酸酶(ALP,批号为140320010),尿素(UREA,批号为141320012),肌酐(CREA,批号为141120020),总蛋白(TP,批号为140820007),白蛋白(Alb,批号为148320002),总胆红

素(TBiL,批号为140620009), γ - 谷氨酰转肽酶(GGT,批号为140420006),葡萄糖(GLU,批号为141520012),总胆固醇(TC,批号为141620011),三酰甘油(TG,批号为141720010),磷酸肌酸激酶(CK,批号为142520012)的检测试剂盒,均购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;电解质分析仪A标准液(批号为20191105)、B标准液(批号为20191016),均购自深圳市希莱恒医用电子有限公司;FBA溶血剂(批号为R0507)、丙酮酸激酶(PK)稀释液(批号为G9283),均购自西森美康医用电子(上海)有限公司。

动物:SPF级SD大鼠120只,雌雄各半,体质量(200 ± 20)g,购于新疆医科大学动物实验中心,实验动物生产许可证号SCXK(新)2018 - 0002。在温度 $20 \sim 26$ °C,相对湿度40% ~ 70%,明暗交替(12 h / 12 h)环境下适应性喂养1周。实验获新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所伦理委员会批准(伦理批准编号:nGLP - 2020017),实验设计及实施过程严格遵循3R原则。

1.2 方法

将120只SD大鼠按体质量随机分为对照组(等体积饮用水)及蒺藜生药粉低、中、高剂量组(简称低、中、高剂量组,2.13,4.25,8.50 g / kg),每组30只,雌雄各半。给药剂量按人体推荐(生药)剂量0.17 g / kg计,相当于成人(按体质量60 kg计)日用剂量的12.5,25,50倍。连续灌胃给药30 d,每天1次,给药剂量为15 mL / kg^[9-12]。

1.3 观察指标

1)每日观察大鼠的一般形态外观、行为活动、饮食情况、分泌物、排泄物等,以及其给药期间中毒反应(如有)的症状、起始时间、严重程度、持续时间、是否可逆,并填写一般状态观察记录表。2)每4 d测定大鼠体质量1次,并调整给药剂量,记录体质量平均值。3)分别于末次给药后及末次给药30 d后检测大鼠血液细胞指标[红细胞计数(RBC)、红细胞比容(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、血红蛋白(Hb)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、血小板计数(PLT)、白细胞计数(WBC)及淋巴细胞(LYMPH)、中性粒细胞(NEUT)、单核细胞计数(MONO)、嗜酸性粒细胞(EO)、嗜碱性粒细胞(BASO)、网织红细胞(RET)的百分比],血液生化指标[TP, Alb, TBiL, AST, ALT, ALP, GGT, CK, CREA, UREA, GLU, TC, TG],血清电解质[钾、钠、氯离子(K^+ , Na^+ , Cl^-)],凝血指标[凝血酶原

时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(Fib)]。4)以苏木素-伊红(HE)染色,观察肝脏组织病理学变化,以组织病理学观察正常计为-,改变较轻、较重、严重分别计为+,++,+++。

1.4 统计学处理

采用SPSS 20.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

给药组(低、中、高剂量)大鼠给药期间及末次给药30 d后一般形态外观行为活动等均未见异常,且均未见死亡及明显毒性反应。

2.2 体质量

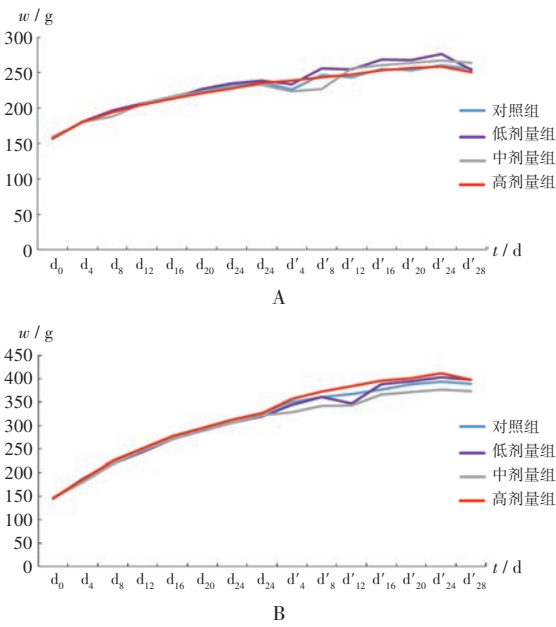
实验期间,各组大鼠体质量均呈自然增长趋势。且与对照组比较,低、中、高剂量组大鼠末次给药及末次给药30 d后;体质量变化均无显著差异($P > 0.05$)。结果见图1(d为用药天数,d'为停药天数)。

2.3 肝脏组织病理学

结果见表1(其中A期指末次给药后,B期指末次给药30 d后;表2至表8同)和图2、图3。末次给药后,低、中、高剂量组肝脏组织均可见灶状炎性细胞浸润,但低剂量组病变范围小,病理改变较轻,且低、中剂量组均未见肝细胞脂肪变性,高剂量组可见大量肝细胞脂肪变性。末次给药30 d后,低、中剂量组肝脏组织病变程度明显较给药期减轻,未见脂肪变性;高剂量组可见少量炎性细胞浸润及少量脂肪细胞,有可逆性。

2.4 血液细胞指标

与对照组比较,雌鼠末次给药30 d后高剂量组MCV显著升高;雄鼠末次给药后低、高剂量组RBC,Hb水平均显著升高,低剂量组MCHC显著升高,MCV,RET



A. 雌鼠 B. 雄鼠
图1 大鼠体质量变化情况
A. Female rats B. Male rats

Fig. 1 Changes in body mass of rats

表1 各组大鼠肝脏组织病理变化程度(n=30)

组别	剂量 (g/kg)	A期		B期	
		灶状炎性细胞浸润	脂肪变性	灶状炎性细胞浸润	脂肪变性
对照组		-	-	-	-
低剂量组	2.13	+	-	+	-
中剂量组	4.25	++	-	+	-
高剂量组	8.50	++	+++	+	+

水平显著降低,低、中剂量组MCH显著降低($P < 0.05$),且末次给药30 d后低、高剂量组LYMPH显著升高($P < 0.05$)。详见表2和表3。

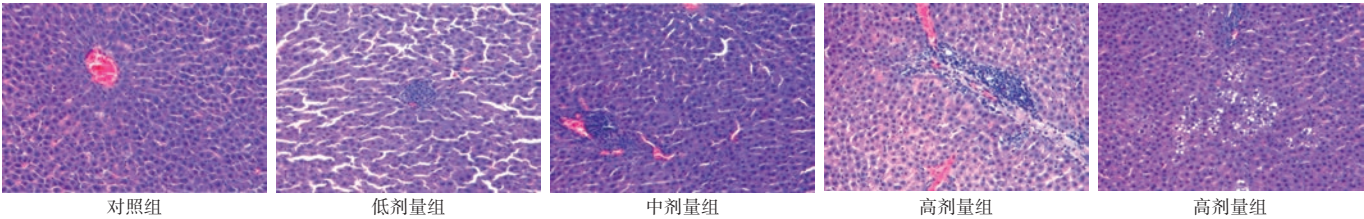


图2 末次给药后大鼠肝脏组织病理形态变化(HE, × 20)

Fig. 2 Pathomorphological changes of liver tissue after the last administration (HE, × 20)

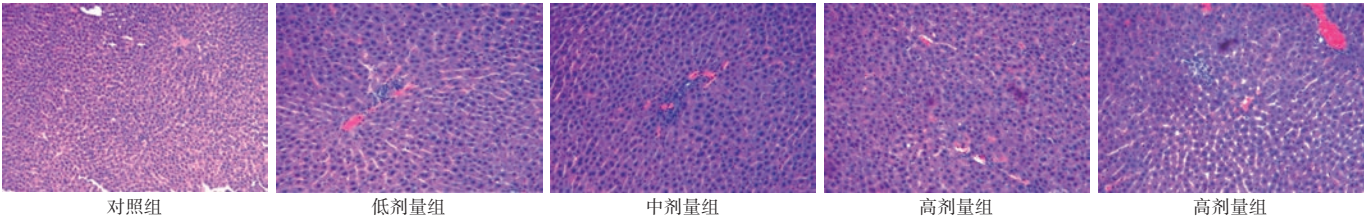


图3 末次给药30 d后大鼠肝脏组织病理形态变化(HE, × 20)

Fig. 3 Pathomorphological changes of liver tissue 30 d after the last administration (HE, × 20)

表 2 各组雌性大鼠血液细胞指标比较($\bar{X} \pm s$)
Tab. 2 Comparison of blood cell indicators of female rats in each group ($\bar{X} \pm s$)

指标	对照组		低剂量组		中剂量组		高剂量组	
	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)
RBC($\times 10^{12}/L$)	7.46 $\pm$ 0.29	7.76 $\pm$ 0.28	7.65 $\pm$ 0.43	7.50 $\pm$ 0.32	7.58 $\pm$ 0.34	7.59 $\pm$ 0.34	7.63 $\pm$ 0.43	7.51 $\pm$ 0.54
HCT(%)	38.2 $\pm$ 1.3	39.3 $\pm$ 0.9	38.7 $\pm$ 2.2	39.2 $\pm$ 0.8	38.8 $\pm$ 1.6	38.5 $\pm$ 1.6	39.0 $\pm$ 2.5	40.1 $\pm$ 2.7
MCV(fL)	51.3 $\pm$ 1.6	50.6 $\pm$ 1.2	50.6 $\pm$ 2.1	52.3 $\pm$ 2.4	51.2 $\pm$ 1.0	50.7 $\pm$ 1.2	51.1 $\pm$ 1.7	53.4 $\pm$ 1.4*
Hb(g/L)	149 $\pm$ 7	145 $\pm$ 5	149 $\pm$ 8	144 $\pm$ 4	148 $\pm$ 7	142 $\pm$ 7	151 $\pm$ 10	147 $\pm$ 11
MCH(pg)	19.9 $\pm$ 0.7	18.7 $\pm$ 0.4	19.5 $\pm$ 0.5	19.2 $\pm$ 0.8	19.5 $\pm$ 0.5	18.7 $\pm$ 0.5	19.8 $\pm$ 0.4	19.6 $\pm$ 0.4
MCHC(g/L)	389 $\pm$ 8	370 $\pm$ 5	386 $\pm$ 9	367 $\pm$ 3	382 $\pm$ 8	369 $\pm$ 4	387 $\pm$ 9	367 $\pm$ 6
PLT($\times 10^9/L$)	1 271 $\pm$ 144	1 208 $\pm$ 70	1 200 $\pm$ 144	1 164 $\pm$ 101	1 246 $\pm$ 152	1 124 $\pm$ 93	1 241 $\pm$ 122	1 196 $\pm$ 122
WBC($\times 10^9/L$)	3.60 $\pm$ 1.24	5.19 $\pm$ 3.04	3.46 $\pm$ 0.76	3.01 $\pm$ 1.05	3.70 $\pm$ 0.96	3.20 $\pm$ 1.62	3.49 $\pm$ 0.54	3.28 $\pm$ 0.99
LYMPH(%)	82.9 $\pm$ 5.0	86.9 $\pm$ 1.8	84.5 $\pm$ 3.0	87.4 $\pm$ 2.6	85.0 $\pm$ 3.9	85.3 $\pm$ 5.5	83.6 $\pm$ 4.6	80.8 $\pm$ 6.0
NEUT(%)	14.1 $\pm$ 4.5	10.1 $\pm$ 1.6	12.6 $\pm$ 3.4	10.3 $\pm$ 3.0	11.8 $\pm$ 3.6	11.9 $\pm$ 5.0	13.5 $\pm$ 4.1	16.5 $\pm$ 5.5
MONO(%)	1.6 $\pm$ 0.7	1.9 $\pm$ 0.8	1.6 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.6	2.0 $\pm$ 0.7	1.3 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.2
EO(%)	1.4 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.6	0.9 $\pm$ 0.7	1.3 $\pm$ 0.5	1.5 $\pm$ 0.5	1.2 $\pm$ 0.5	1.3 $\pm$ 0.6
BASO(%)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
RET(%)	3.11 $\pm$ 0.51	2.48 $\pm$ 0.62	2.60 $\pm$ 0.48	2.62 $\pm$ 0.74	3.19 $\pm$ 0.82	2.86 $\pm$ 0.54	3.10 $\pm$ 0.58	3.12 $\pm$ 0.61

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。表 3、表 4 同。
Note:Compared with those in the control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ (for Tab. 2 - 4).

表 3 各组雄性大鼠血液细胞指标比较($\bar{X} \pm s$)
Tab. 3 Comparison of blood cell indicators of male rats in each group ($\bar{X} \pm s$)

指标	对照组		低剂量组		中剂量组		高剂量组	
	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)
RBC($\times 10^{12}/L$)	7.54 $\pm$ 0.37	7.98 $\pm$ 0.30	8.10 $\pm$ 0.41**	8.26 $\pm$ 0.40	7.78 $\pm$ 0.35	8.10 $\pm$ 0.23	7.96 $\pm$ 0.37*	8.37 $\pm$ 0.79
HCT(%)	40.2 $\pm$ 1.2	39.2 $\pm$ 1.4	40.7 $\pm$ 0.9	40.9 $\pm$ 0.9	40.3 $\pm$ 1.0	39.9 $\pm$ 0.9	41.0 $\pm$ 0.9	40.5 $\pm$ 2.6
MCV(fL)	53.4 $\pm$ 2.3	49.1 $\pm$ 0.7	50.4 $\pm$ 2.6*	49.5 $\pm$ 1.8	51.8 $\pm$ 1.9	49.3 $\pm$ 1.1	51.6 $\pm$ 1.9	48.6 $\pm$ 1.9
Hb(g/L)	152 $\pm$ 4	148 $\pm$ 4	156 $\pm$ 4*	154 $\pm$ 4	152 $\pm$ 4	149 $\pm$ 3	157 $\pm$ 5*	152 $\pm$ 10
MCH(pg)	20.2 $\pm$ 0.8	18.6 $\pm$ 0.2	19.3 $\pm$ 0.9**	18.6 $\pm$ 0.4	19.5 $\pm$ 0.6*	18.4 $\pm$ 0.5	19.8 $\pm$ 0.5	18.2 $\pm$ 0.7
MCHC(g/L)	379 $\pm$ 6	378 $\pm$ 7	383 $\pm$ 4*	377 $\pm$ 7	376 $\pm$ 4	373 $\pm$ 4	383 $\pm$ 7	375 $\pm$ 2
PLT($\times 10^9/L$)	1208 $\pm$ 108	1160 $\pm$ 123	1188 $\pm$ 125	1170 $\pm$ 77	1219 $\pm$ 122	1120 $\pm$ 37	1178 $\pm$ 82	1195 $\pm$ 126
WBC($\times 10^9/L$)	4.80 $\pm$ 1.62	3.46 $\pm$ 0.49	4.78 $\pm$ 1.03	4.15 $\pm$ 1.59	4.70 $\pm$ 0.97	3.88 $\pm$ 1.28	4.86 $\pm$ 1.06	4.09 $\pm$ 0.36
LYMPH(%)	81.1 $\pm$ 3.4	70.1 $\pm$ 4.7	82.3 $\pm$ 3.6	75.8 $\pm$ 2.7*	81.4 $\pm$ 2.8	70.8 $\pm$ 4.0	80.1 $\pm$ 6.1	76.4 $\pm$ 1.8*
NEUT(%)	16.5 $\pm$ 3.1	26.7 $\pm$ 4.7	15.3 $\pm$ 3.1	21.3 $\pm$ 2.9	15.7 $\pm$ 2.7	25.9 $\pm$ 4.3	17.2 $\pm$ 6.0	21.0 $\pm$ 2.3
MONO(%)	1.6 $\pm$ 1.0	2.3 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.6	1.7 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 0.7	1.6 $\pm$ 0.6	1.4 $\pm$ 0.4
EO(%)	0.9 $\pm$ 0.4	0.9 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.5
BASO(%)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
RET(%)	3.94 $\pm$ 0.76	3.77 $\pm$ 0.85	3.27 $\pm$ 0.55*	3.49 $\pm$ 0.19	4.14 $\pm$ 0.54	3.36 $\pm$ 0.29	3.97 $\pm$ 0.64	3.10 $\pm$ 0.75

2.5 血生化指标

与对照组比较,雌鼠末次给药后中剂量组 ALP 水平显著降低($P < 0.05$);末次给药 30 d 后,低、中、高剂量组 ALP 水平均显著降低,中剂量组 GGT 水平显著降低($P < 0.05$)。且雄鼠各剂量组各时间各血液生化指标无显著变化($P > 0.05$)。详见表 4、表 5。

2.6 血清电解质及凝血指标

与对照组比较,末次给药后及末次给药 30 d 后,低、中、高剂量组雌鼠、雄鼠各电解质及凝血指标均无

显著变化($P > 0.05$)。详见表 6 至表 9。

3 讨论

随着国家对中药产业及现代化研发力度的加大,中药用药安全性也备受关注,加强药物安全性研究,预测药物对人体产生的不良反应、判断药物毒性损伤的靶器官、推测药物安全剂量对临床用药具有重要指导意义^[13]。长期毒性实验是药物安全性评价的主要内容之一,是临床试验的主要依据。

本研究结果显示,与对照组比较,末次给药后各剂

表 4 各组雌性大鼠血液生化指标比较($\bar{X} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of blood biochemical indicators of female rats in each group ($\bar{X} \pm s$)

指标	对照组		低剂量组		中剂量组		高剂量组	
	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)
TP(g/L)	51.2 $\pm$ 3.4	57.6 $\pm$ 3.3	53.2 $\pm$ 3.8	55.9 $\pm$ 4.2	52.1 $\pm$ 4.0	52.0 $\pm$ 3.4	52.1 $\pm$ 2.7	58.1 $\pm$ 2.7
Alb(g/L)	30.8 $\pm$ 2.2	34.3 $\pm$ 1.5	32.0 $\pm$ 2.4	33.8 $\pm$ 2.3	31.2 $\pm$ 2.5	31.4 $\pm$ 1.9	31.2 $\pm$ 1.6	34.9 $\pm$ 2.0
TBiL(μ mol/L)	0.7 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.3	1.1 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.5	1.0 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.1
AST(U/L)	96.8 $\pm$ 17.9	84.6 $\pm$ 7.7	96.3 $\pm$ 25.6	97.4 $\pm$ 19.9	98.4 $\pm$ 16.9	88.8 $\pm$ 18.8	108.2 $\pm$ 18.9	84.4 $\pm$ 13.7
ALT(U/L)	57.4 $\pm$ 10.5	77.4 $\pm$ 14.5	53.1 $\pm$ 14.7	52.4 $\pm$ 11.6	51.3 $\pm$ 13.2	62.2 $\pm$ 19.2	55.4 $\pm$ 9.3	64.0 $\pm$ 7.4
ALP(U/L)	179.5 $\pm$ 47.9	215.6 $\pm$ 79.6	145.7 $\pm$ 46.2	70.0 $\pm$ 11.6***	133.0 $\pm$ 23.8*	113.0 $\pm$ 33.7**	191.4 $\pm$ 54.3	99.6 $\pm$ 43.3**
GGT(U/L)	0.48 $\pm$ 0.28	0.82 $\pm$ 0.38	0.44 $\pm$ 0.24	0.50 $\pm$ 0.15	0.53 $\pm$ 0.32	0.35 $\pm$ 0.25**	0.55 $\pm$ 0.28	0.52 $\pm$ 0.12
CK(U/L)	500 $\pm$ 236	342 $\pm$ 138	413 $\pm$ 193	450 $\pm$ 281	506 $\pm$ 224	361 $\pm$ 168	579 $\pm$ 234	332 $\pm$ 140
CREA(μ mol/L)	27.6 $\pm$ 2.9	32.5 $\pm$ 2.4	29.3 $\pm$ 3.5	32.4 $\pm$ 3.9	29.3 $\pm$ 2.5	31.1 $\pm$ 2.3	28.3 $\pm$ 2.3	34.6 $\pm$ 2.6
UREA(mmol/L)	7.3 $\pm$ 2.0	6.7 $\pm$ 0.8	7.5 $\pm$ 1.2	6.4 $\pm$ 0.8	6.34 $\pm$ 1.2	6.7 $\pm$ 1.1	7.3 $\pm$ 0.8	6.5 $\pm$ 0.5
GLU(mmol/L)	7.17 $\pm$ 0.49	7.78 $\pm$ 0.66	7.03 $\pm$ 0.53	7.62 $\pm$ 0.67	7.21 $\pm$ 0.55	7.66 $\pm$ 0.32	7.36 $\pm$ 0.53	7.68 $\pm$ 0.53
TC(mmol/L)	1.56 $\pm$ 0.44	1.54 $\pm$ 0.33	1.65 $\pm$ 0.44	1.65 $\pm$ 0.20	1.36 $\pm$ 0.30	1.75 $\pm$ 0.23	1.43 $\pm$ 0.32	1.59 $\pm$ 0.21
TG(mmol/L)	0.35 $\pm$ 0.08	0.46 $\pm$ 0.10	0.47 $\pm$ 0.31	0.42 $\pm$ 0.16	0.38 $\pm$ 0.15	0.10 $\pm$ 0.04	0.39 $\pm$ 0.10	0.46 $\pm$ 0.08

表 5 各组雄性大鼠血液生化指标比较($\bar{X} \pm s$)

Tab. 5 Comparison of blood biochemical indicators of male rats in each group ($\bar{X} \pm s$)

指标	对照组		低剂量组		中剂量组		高剂量组	
	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)
TP(g/L)	50.5 $\pm$ 2.2	50.6 $\pm$ 0.9	50.2 $\pm$ 2.4	50.4 $\pm$ 1.8	50.8 $\pm$ 2.8	50.9 $\pm$ 1.8	51.0 $\pm$ 2.9	52.4 $\pm$ 2.4
Alb(g/L)	30.0 $\pm$ 1.2	30.2 $\pm$ 0.4	30.0 $\pm$ 0.9	30.0 $\pm$ 1.0	30.1 $\pm$ 1.2	30.5 $\pm$ 1.1	30.1 $\pm$ 1.3	31.0 $\pm$ 1.1
TBiL(μ mol/L)	0.7 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.3	0.6 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.3
AST(U/L)	107.2 $\pm$ 21.1	124.8 $\pm$ 22.6	118.3 $\pm$ 20.2	124.4 $\pm$ 32.4	115.9 $\pm$ 12.1	138.2 $\pm$ 22.3	135.6 $\pm$ 31.5	131.0 $\pm$ 19.0
ALT(U/L)	58.7 $\pm$ 10.8	64.8 $\pm$ 9.9	58.1 $\pm$ 9.6	61.6 $\pm$ 7.5	65.5 $\pm$ 16.6	69.0 $\pm$ 11.1	61.0 $\pm$ 12.9	62.4 $\pm$ 7.6
ALP(U/L)	327.1 $\pm$ 26.0	211.2 $\pm$ 32.0	325.2 $\pm$ 38.1	279.2 $\pm$ 80.2	317.4 $\pm$ 70.2	224.4 $\pm$ 37.3	311.1 $\pm$ 60.3	274.3 $\pm$ 49.1
GGT(U/L)	0.53 $\pm$ 0.25	0.61 $\pm$ 0.37	0.39 $\pm$ 0.16	1.61 $\pm$ 2.63	0.49 $\pm$ 0.44	0.37 $\pm$ 0.23	0.48 $\pm$ 0.29	0.27 $\pm$ 0.15
CK(U/L)	703 $\pm$ 236	733 $\pm$ 188	676 $\pm$ 215	749 $\pm$ 200	697 $\pm$ 169	843 $\pm$ 228	773 $\pm$ 273	876 $\pm$ 298
CREA(μ mol/L)	22.7 $\pm$ 3.0	31.8 $\pm$ 4.8	22.5 $\pm$ 2.8	29.9 $\pm$ 3.9	23.8 $\pm$ 3.8	29.2 $\pm$ 3.9	24.2 $\pm$ 2.9	28.3 $\pm$ 4.5
UREA(mmol/L)	5.7 $\pm$ 1.1	6.6 $\pm$ 0.8	6.0 $\pm$ 1.5	6.6 $\pm$ 1.0	6.3 $\pm$ 0.9	6.5 $\pm$ 1.1	6.1 $\pm$ 0.9	7.5 $\pm$ 1.9
GLU(mmol/L)	6.78 $\pm$ 0.50	6.39 $\pm$ 0.46	6.73 $\pm$ 0.59	7.03 $\pm$ 0.39	6.29 $\pm$ 1.39	6.58 $\pm$ 0.57	6.91 $\pm$ 0.61	7.64 $\pm$ 1.09
TC(mmol/L)	1.42 $\pm$ 0.18	1.41 $\pm$ 0.11	1.30 $\pm$ 0.20	1.45 $\pm$ 0.18	1.36 $\pm$ 0.16	1.24 $\pm$ 0.11	1.46 $\pm$ 0.25	1.57 $\pm$ 0.33
TG(mmol/L)	0.43 $\pm$ 0.13	0.57 $\pm$ 0.33	0.401 $\pm$ 0.13	0.52 $\pm$ 0.11	0.59 $\pm$ 0.24	0.36 $\pm$ 0.09	0.48 $\pm$ 0.19	0.54 $\pm$ 0.37

表 6 各组雌性大鼠血清电解质指标比较($\bar{X} \pm s$,mmol/L)

Tab. 6 Comparison of serum electrolyte indicators of female rats in each group ($\bar{X} \pm s$,mmol/L)

指标	对照组		低剂量组		中剂量组		高剂量组	
	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)
K ⁺	3.85 $\pm$ 0.21	3.89 $\pm$ 0.36	3.84 $\pm$ 0.24	3.75 $\pm$ 0.07	3.84 $\pm$ 0.30	3.78 $\pm$ 0.11	3.85 $\pm$ 0.15	3.83 $\pm$ 0.31
Na ⁺	138 $\pm$ 2	142 $\pm$ 1	139 $\pm$ 1	142 $\pm$ 2	138 $\pm$ 1	143 $\pm$ 1	137 $\pm$ 1	143 $\pm$ 1
Cl ⁻	104 $\pm$ 2	106 $\pm$ 1	105 $\pm$ 2	107 $\pm$ 4	104 $\pm$ 2	106 $\pm$ 2	103 $\pm$ 1	107 $\pm$ 1

量组雌鼠各血液细胞指标均无显著变化;雄鼠中低剂量组血液细胞指标 RBC, HGB, MCHC, MCV, RET, MCH, 中剂量组 MCH, 高剂量组 RBC, HGB 等均有显著变化。但上述改变均未见剂量相关性,且末次给药 30 d 后,虽有个别指标(LYMPH, MCV)显著升高,但均在正常范围内,且无剂量相关性,故认为该变化无生物学意义。血液生化指标,与对照组比较,末次给药后中剂量组雌鼠 ALP,以及末次给药 30 d 后低、中、高剂量组雌鼠 ALP,中剂量组雌鼠 GGT 等均有显著变化,但这些变化亦未见量效关系,无毒理学意义。肝脏组织病理学检查

表 7 各组雄性大鼠血清电解质指标比较($\bar{X} \pm s, \text{mmol/L}$)

Tab. 7 Comparison of serum electrolyte indicators of male rats in each group ($\bar{X} \pm s, \text{mmol/L}$)

指标	对照组		低剂量组		中剂量组		高剂量组	
	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)
K ⁺	4.04 ± 0.28	4.30 ± 0.22	3.95 ± 0.20	4.15 ± 0.25	4.17 ± 0.22	4.19 ± 0.16	4.16 ± 0.17	4.30 ± 0.18
Na ⁺	139 ± 1	144 ± 2	139 ± 2	143 ± 2	139 ± 2	144 ± 1	139 ± 1	143 ± 2
Cl ⁻	105 ± 2	108 ± 1	105 ± 2	106 ± 2	106 ± 1	106 ± 2	105 ± 2	106 ± 2

表 8 各组雌性大鼠凝血指标比较($\bar{X} \pm s$)

Tab. 8 Comparison of coagulation indicators of female rats in each group ($\bar{X} \pm s$)

指标	对照组		低剂量组		中剂量组		高剂量组	
	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)
PT(s)	17.2 ± 1.1	16.6 ± 0.8	17.0 ± 0.6	16.4 ± 0.4	16.9 ± 0.7	16.3 ± 1.1	17.2 ± 0.6	16.0 ± 1.3
APTT(s)	17.8 ± 1.4	16.0 ± 2.3	18.4 ± 1.2	16.6 ± 1.5	17.8 ± 0.8	14.9 ± 1.7	18.0 ± 1.4	17.4 ± 3.2
TT(s)	37.6 ± 3.7	34.0 ± 4.7	39.4 ± 3.3	34.3 ± 3.6	37.0 ± 2.5	34.9 ± 5.2	37.4 ± 4.2	32.9 ± 3.9
Fib(g/L)	1.40 ± 0.08	1.56 ± 0.08	1.43 ± 0.10	1.55 ± 0.12	1.46 ± 0.14	1.51 ± 0.13	1.46 ± 0.09	1.60 ± 0.16

表 9 各组雄性大鼠凝血指标比较($\bar{X} \pm s$)

Tab. 9 Comparison of coagulation indicators of male rats in each group ($\bar{X} \pm s$)

指标	对照组		低剂量组		中剂量组		高剂量组	
	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)	A 期($n=10$)	B 期($n=5$)
PT(s)	20.8 ± 1.6	18.1 ± 1.0	20.4 ± 2.0	17.6 ± 0.6	20.6 ± 1.6	17.6 ± 1.5	20.3 ± 1.9	17.2 ± 2.2
APTT(s)	18.6 ± 1.2	19.7 ± 1.1	19.6 ± 1.1	20.0 ± 1.2	18.8 ± 0.8	19.2 ± 3.0	19.4 ± 1.3	19.0 ± 4.4
TT(s)	32.5 ± 1.5	34.1 ± 1.2	34.5 ± 3.1	35.0 ± 0.9	33.9 ± 1.6	39.5 ± 5.7	35.4 ± 4.2	36.3 ± 5.6
Fib(g/L)	1.61 ± 0.11	1.73 ± 0.07	1.59 ± 0.05	1.74 ± 0.16	1.60 ± 0.08	1.76 ± 0.15	1.59 ± 0.10	1.79 ± 0.10

可见,低、中剂量组灶状炎性细胞浸润,高剂量组灶状炎性细胞浸润及大量肝细胞脂肪变性;末次给药 30 d 后,低、中剂量组病变程度比给药期明显减轻,未见肝细胞脂肪变性;高剂量组可见少量炎性细胞浸润及少量脂肪细胞,其脏器损伤基本恢复。

综上所述,本研究结果显示,长期(≥ 30 d)给予高剂量(≥ 8.5 g/kg)的蒺藜生药粉会对大鼠肝脏组织产生一定的毒性作用,但停药后肝毒性可能自行消失。提示临床使用蒺藜生药粉应注意用药时长及密切监测肝脏组织的各项指标变化。同时,对于蒺藜肝毒性的定性、定量及相关物质基础还需进一步深入研究。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:367.

[2] 茹克亚·萨迪克,吾布力卡斯木·买买提. 维医常用药材(修订本)[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:271-273.

[3] 马生堂,蒯俊萍,余伯阳. 植物中皂苷类成分的毒性研究近况[J]. 药学进展,2012,36(3):110-115.

[4] RYAN M, LAZAR I, NADASDY GM, et al. Acute kidney injury and hyperbilirubinemia in a young male after ingestion of Tribulus terrestris[J]. Clin Nephrol, 2015, 83(3): 177-183.

[5] AHMED S, KHAN RA, FERROZ Z. Assessment of sub-chronic, hematological and histopathological toxicities of a herbal

combination[J]. Pak J Pharm Sci, 2015, 28(6): 2153-2160.

[6] 向丽华,陈燕萍,张智,等. 24 味有毒中药长期毒性实验对大鼠脏器指数的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(1): 35-36.

[7] 曲福丹,李欢欢,王云浩,等. 蒺藜炒制对长期给药大鼠肝肾毒性的影响[J]. 山东中医杂志, 2016, 35(4): 347-349.

[8] 国家食品药品监督管理总局. 药物非临床研究质量管理规范(总局令第 34 号)[A/OL]. (2017-07-27)[2023-03-13]. https://www.gov.cn/gongbao/content/2017/content_5241929.htm.

[9] 国家食品药品监督管理总局. 药物重复给药毒性研究技术指导原则[A/OL]. (2014-05-13)[2023-03-13]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqgtgtg/20140513120001448.html>.

[10] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学[M]. 第 4 版. 北京:人民卫生出版社,2010:393-406.

[11] 袁伯俊,廖明阳,李波. 药物毒理学实验方法与技术[M]. 北京:化学工业出版社,2007:212-231.

[12] 热比姑丽·依斯拉木,阿布都吉力力·阿布都艾尼,冷英莉,等. 尿通卡克乃其片大鼠长期毒性实验的血液指标变化[J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(8): 59-65.

[13] 刘玉明,蒋定文,李珂娴,等. 银参胶囊的急性毒性和长期毒性实验考察[J]. 中国药师, 2020, 23(7): 1457-1460.

(收稿日期:2023-04-26;修回日期:2023-07-15)