

香连丸有效成分的急性毒性和 长期毒性实验研究

黄洁瑶, 刘丹宁, 杨璐嘉, 陈德贵, 袁吕江

西南大学药学院, 重庆 400715

摘要: 探索香连丸有效成分(Main Active Components from Xianglian pills, MACXLP)对小鼠的急性毒性及大鼠的长期毒性反应, 包括毒性剂量、毒性反应和可能的毒性靶器官, 为香连丸的临床用药提供科学合理的依据。首先对昆明小鼠 24 h 内一次性灌胃不同剂量的 MACXLP, 观察动物的急性毒性反应、死亡情况、主要脏器的形态学变化, 计算脏器系数和半数致死量(LD_{50})。其次对 SD 大鼠连续灌胃不同剂量(2, 4 和 8 g/kg)的 MACXLP, 空白对照组给予等量的生理盐水, 连续给药 12 周, 恢复 2 周。观察给药期和恢复期大鼠的外观形态、体质量及饮食饮水变化; 腹主动脉取血处死后, 观察主要脏器的形态学变化、计算脏器指数, 检测其血常规和血生化指标。结果表明, 在急性毒性实验中, MACXLP 对小鼠的 LD_{50} 为 18.561 g/kg(以生药量计), 其 95% 置信区间为 15.727~21.691 g/kg。与正常组相比, 小鼠肺的脏器系数显著升高($p < 0.01$)。长期毒性实验中, MACXLP 对大鼠的摄食、饮水和体质量变化影响无统计学意义($p > 0.05$); 血液学检查血小板数目、淋巴细胞百分比显著升高, 单核细胞百分比、中性粒细胞百分比和尿素显著降低($p < 0.05$), 其他血常规和血生化指标差异无统计学意义($p > 0.05$)。病理组织学检查发现肝脏和肺脏有明显病变。得出 MACXLP 单次大剂量或多次高剂量重复给药对肝脏和肺脏均有一定的损害, 其毒性靶器官可能为肝脏和肺脏。

关键词: 香连丸; 有效成分; 急性毒性; 长期毒性; LD_{50}

中图分类号: R992; Q949.783.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2020)08-0033-09

香连丸来源于《太平惠民和剂局方》中的大香连丸, 由萸黄连和木香细粉按 4:1 配伍组成, 为临床常用的治痢名方^[1]。香连丸有效成分(MACXLP)主要包含黄连中的小檗碱、黄连碱、表小檗碱、巴马汀以及木香中的木香烃内酯和去氢木香内酯等。在临床上广泛应用于大肠湿热所致的痢疾、肠炎、细菌性痢疾等胃肠道疾病, 具有清热燥湿、行气止痛的功效。黄连、吴茱萸和木香作为香连丸的原药材, 在单独研究中发现其存在一定的毒性。成方后的香连丸较原药材而言, 是否存在毒性或毒性增大还是减小, 以及毒性作用靶器官及作用机制, 目前都没有系统的报道。本课题组研究了 MACXLP 对抗生素相关性腹泻和非感染性腹泻的影响, 制备的香连丸较市面上已有的香连丸, 其有效成分质量分数变高、适应症增多, 对于其安全性、用药剂量等需要一个更全面的评估。参照“中药、天然药物非临床安全性评价的相关指导原则”对其进行急性毒性和长期毒性实验^[2-3], 并通过病理学指标确定其毒性靶器官, 为香连丸在临床上的安全应用提供合理的科学依据。

收稿日期: 2019-12-04

基金项目: 重庆市科委社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2017shmsA10004); 科技部国家重点研发计划—国家重点研发计划中药现代化专项(2017YFC1702604)。

作者简介: 黄洁瑶(1994—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药学的研究。

通信作者: 袁吕江, 教授, 硕士研究生导师。

1 材料与方法

1.1 实验药物

莨黄连购自康美药业股份有限公司(批号:171002431);木香购自河北省安国市镇宇中药饮片有限公司(批号:20180328),经西南大学药学院李学刚教授鉴定为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* (Decne.) 的干燥根。

1.2 实验动物

昆明小鼠,SPF 级,雌雄各半,18~22 g;购自重庆市中药研究院实验动物研究所,生产许可证号:SCXD(渝)2017-0003,实验动物质量合格证号:0000922. SD 大鼠,SPF 级,雌雄各半,180~220 g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(湘)2014-0011,实验动物质量合格证号:43006700017572. 所有实验动物均饲养于西南大学药学院实验动物中心,使用许可证号:SYXK(渝)2014-0002. 温度 23~25℃,湿度 40%~60%. 动物的饲养和使用均符合中国《实验动物管理条例》. 本研究严格遵循西南大学动物伦理委员会要求(伦理证件编号:002183).

1.3 实验仪器

电子天平(EL204),梅特勒—托利多仪器有限公司;石蜡切片机(RM2016),上海徕卡显微系统有限公司;显微镜(ECLIPSE Ci-L),上海尼康仪器有限公司;电热恒温水浴锅(HHW-21CU-600B),上海福玛实验设备有限公司;全自动血液细胞分析仪(BC-2800vet),深圳迈瑞生物医疗有限公司;全自动生化分析仪(BK-400),济南鑫贝西生物技术有限公司;超纯水系统(Elix3),美国 Millipore 公司.

1.4 实验方法

1.4.1 MACXLP 的制备及质量分数测定

莨黄连和木香粉末分别用 75%和 95%的乙醇加热回流提取,减压回收乙醇得浸膏. 将莨黄连和木香浸膏按照其生药质量 4:1 混合,冷冻干燥得 MACXLP. 将制备好的 MACXLP 按照《中国药典》2015 版中香连丸的“含量测定”方法^[1],测定有效成分质量分数.

1.4.2 小鼠急性毒性实验

预实验:根据文献和临床用药剂量,找到动物 100%及 0 死亡的剂量.

正式实验:昆明小鼠适应性饲养 1 周,根据体质量按随机数字表法分为空白组和 MACXLP 给药组,共 7 组,每组 10 只. 根据预实验结果,按照公比 $r=1.33$ 计算得到各组剂量分别为 10.00,13.30,17.69,23.53,31.29,41.62 g/kg(本文中所有给药浓度均按生药计). 各小鼠每 10 g 的给药量为 0.4 mL. 实验前禁食不禁水 16 h,灌胃给药 1 次. 对照组给予等量的生理盐水. 给药后立即观察动物的毒性反应情况,包括外观体征、行为活动、精神状态、食欲、大小便及颜色、皮毛、肤色、呼吸以及鼻、眼、口腔、生殖器等有无异常分泌物. 给药后 4 h 内,每小时观察临床体征及死亡情况. 以后每天观察 1 次,每日称量,连续观察 14 d,于第 14 d 处死动物. 对死亡动物进行系统尸检,称取心、肝、脾、肺、肾等重要脏器,计算脏器系数. 观察心、肝、脾、肺、肾等重要脏器有无异常变化,并进行病理组织学检查^[4].

1.4.3 大鼠长期毒性实验

SD 大鼠适应性饲养 1 周,根据体质量按随机数字表法分为空白组,MACXLP 2,4 和 8 g/kg 组,每组 20 只,雌雄各半. 1 d 给药 1 次,每周连续给药 6 d,停药 1 d,连续给药 12 周,空白组给予等量生理盐水. 每天观察动物精神状态、行为活动、毛色、二便等一般体征,每周称量 1 次. 给药结束后,禁食不禁水 16 h,每组取 10 只大鼠处死,进行血液学指标检查、血液生化学指标检查,系统尸检和病理组织学检查. 各组余下动物停药进行可逆性观察 2 周后,同前批动物一样处理^[5].

一般指标观察:实验开始后,每周称 1 次体质量,每天进行一般指标观察:外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、粪便、摄食量和精神状态等.

血液学指标:白细胞数目(WBC)、淋巴细胞百分比(Lymph)、单核细胞百分比(Mon)、中性粒细胞百

分比(*Gran*)、平均红细胞体积(*MVC*)、平均红细胞血红蛋白质量分数(*MCH*)、平均红细胞血红蛋白浓度(*MCHC*)和血小板数目(*PLT*)等。

血生化指标：总胆固醇(*CHO*)、甘油三酯(*TG*)、碱性磷酸酶(*ALP*)、谷草转氨酶(*AST*)、谷丙转氨酶(*ALT*)、总蛋白(*TP*)、白蛋白(*ALB*)、总胆红素(*TBIL*)、尿素(*UREA*)、尿酸(*UA*)和肌酐(*CREA*)等。

系统尸检和病理组织学检查：取心、肝、脾、肺、肾等重要脏器，肉眼观察有无异常，然后进行称量，分别计算脏器系数，并对上述脏器用 10% 福尔马林固定，用于进行病理组织学检查。

1.5 统计学处理

实验数据均以均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析，多样本均数的比较采用单因素方差分析，以 $p < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MACXLP 的提取及质量分数测定

经过提取，从 100 g 香连丸原药材中得到约 21 g MACXLP。然后根据《中国药典》2015 版中香连丸“含量测定”方法测定，MACXLP 中小檗碱质量分数为 18.32%，见图 1。

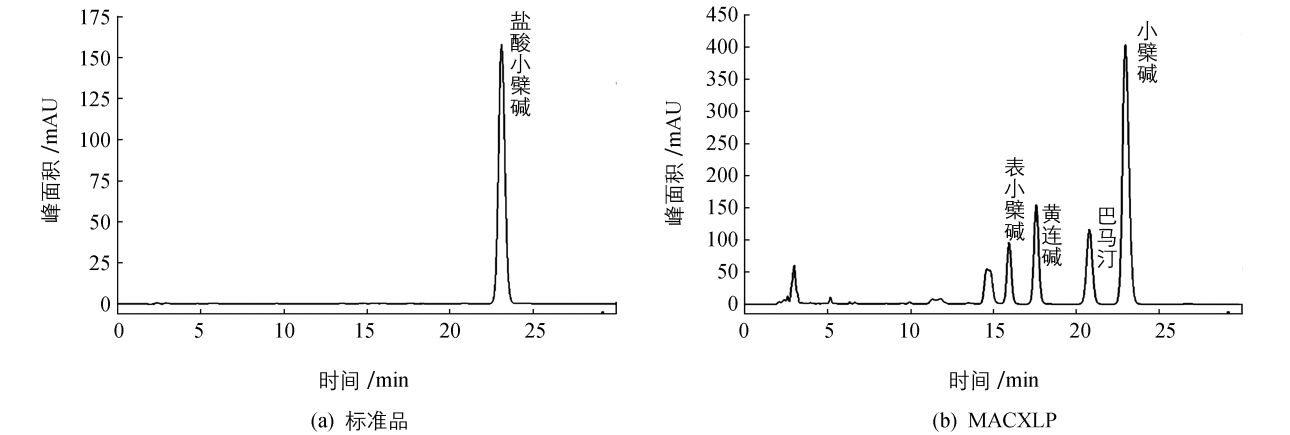


图 1 MACXLP 高效液相色谱图

2.2 急性毒性实验结果

2.2.1 小鼠死亡情况及 LD₅₀ 测定

预实验：动物 100% 和 0 的死亡剂量分别为 41.00 g/kg 和 10.00 g/kg。

正式实验：经过单次灌胃给药后，各组均有不同数量的小鼠死亡，且中毒症状相似，均有行为方式改变、活动减少、蜷缩成团、饮食饮水欠佳，严重者出现痉挛、竖毛、震颤、呼吸抑制、明显腹泻等症状。连续观察 4 h 及恢复观察 14 d 后，统计各组小鼠死亡数及死亡率以及 LD₅₀ (以生药计)，见表 1。

表 1 各组小鼠死亡数、死亡率及 LD₅₀

分组/(g · kg ⁻¹)	动物总数	死亡数	死亡率/%	LD ₅₀ 及 95% 置信区间/(g · kg ⁻¹)
正常组	10	0	0	
10.00	10	1	10	
13.30	10	3	30	18.561
17.69	10	4	40	
23.53	10	7	70	(15.727~21.691)
31.29	10	8	80	
41.62	10	10	100	

2.2.2 对小鼠脏器指数的影响

与正常组相比, 10.00,13.30,17.69,23.53 和 31.29 g/kg MACXLP 组小鼠的心、肝、脾、肺、肾的脏器系数差异无统计学意义($p>0.05$), 41.62 g/kg MACXLP 组小鼠, 肺脏的脏器系数显著升高($p<0.01$), 见表 2.

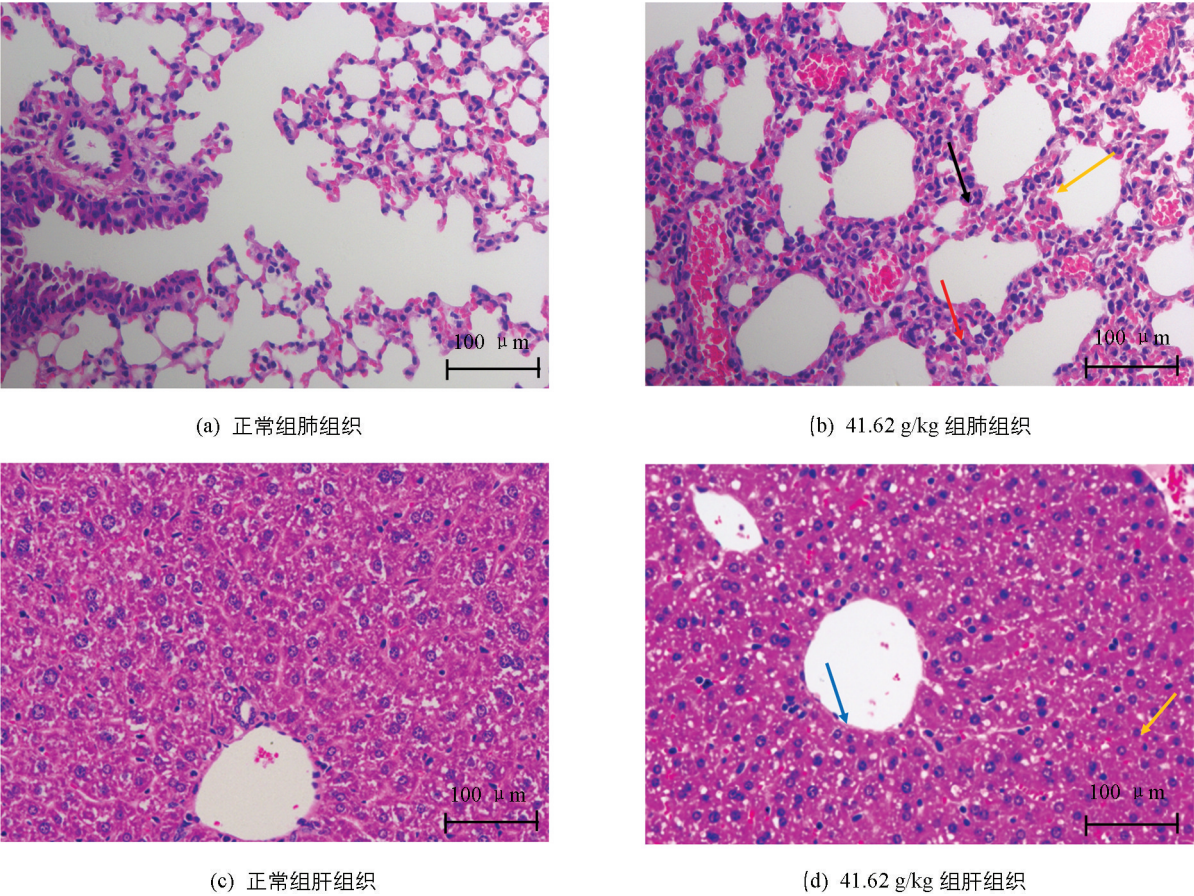
表 2 MACXLP 对各组小鼠脏器指数的影响($\bar{x}\pm SD, n=10$)

分组/ (g·kg ⁻¹)	脏器指数/%				
	心	肝	脾	肺	肾
正常组	0.50±0.02	5.65±0.43	0.36±0.04	0.64±0.02	1.54±0.29
10.00	0.62±0.12	5.26±0.52	0.31±0.04	0.73±0.13	1.41±0.22
13.30	0.59±0.06	5.49±0.47	0.34±0.03	0.71±0.21	1.33±0.14
17.69	0.57±0.07	5.19±0.82	0.31±0.10	0.88±0.25	1.50±0.18
23.53	0.60±0.15	5.82±0.72	0.36±0.12	0.78±0.04	1.63±0.24
31.29	0.58±0.11	5.60±0.39	0.35±0.09	0.99±0.22	1.50±0.17
41.62	0.59±0.08	5.88±0.63	0.37±0.06	1.14±0.28**	1.60±0.13

注: 与正常组相比, ** 表示 $p<0.01$, 差异有统计学意义.

2.2.3 对小鼠主要脏器组织形态学的影响

单次给药后, 对死亡的小鼠立即进行解剖, 肉眼观察发现肺、肝和脾的颜色加深, 肠胀气, 其他脏器未见明显病变. 恢复观察 14 d 后, 对各剂量存活的小鼠进行解剖, 观察脏器未见明显病变. 死亡小鼠病理组织学检查结果见图 2, 41.62 g/kg 组小鼠的肺组织部分肺泡腔实变, 腔内具有大量炎性细胞浸润, 并且伴有局灶性肺出血, 表现出肺轻度炎症; 肝组织肝索不清, 伴有炎性细胞浸润, 表现为肝轻度炎症.



黑色箭头表示肺泡腔实变, 红色箭头表示肺出血, 黄色箭头表示炎性细胞浸润, 蓝色箭头表示肝索不清.

图 2 急性毒性实验中正常组和 41.62 g/kg 组死亡小鼠脏器组织病理学图

2.3 长期毒性实验结果

2.3.1 动物死亡情况及一般生理指标

MACXLP 连续给药 12 周及恢复 2 周, 均无大鼠死亡。各组大鼠体质量每周均有一定增长, 2 g/kg MACXLP 组大鼠体质量与正常组基本一致, 两者增长速度均略高于 4 g/kg 和 8 g/kg MACXLP 组, 但差异无统计学意义($p>0.05$), 见图 3。与空白组相比, 2,4 和 8 g/kg MACXLP 组大鼠的动物皮肤、毛发、眼睛、呼吸、四肢活动、摄食、饮水、尿液以及粪便等均无明显异常变化。

2.3.2 对大鼠脏器系数的影响

连续给药 12 周和恢复 2 周, 与空白组相比, 2,4 和 8 g/kg MACXLP 组心、肝、脾、肺、肾的脏器系数差异无统计学意义($p>0.05$), 见表 3。

表 3 MACXLP 对各组大鼠脏器指数的影响($\bar{x} \pm SD, n=10$)

分组/ (g · kg ⁻¹)		脏器指数/%				
		心	肝	脾	肺	肾
正常组	给药 12 周	0.30±0.04	2.36±0.34	0.18±0.03	0.56±0.10	0.55±0.05
	恢复 2 周	0.29±0.02	2.12±0.17	0.16±0.03	0.51±0.08	0.50±0.05
2 g/kg 组	给药 12 周	0.31±0.04	2.20±0.09	0.16±0.02	0.50±0.07	0.55±0.04
	恢复 2 周	0.27±0.06	2.06±0.30	0.17±0.04	0.45±0.08	0.52±0.08
4 g/kg 组	给药 12 周	0.30±0.02	2.29±0.35	0.16±0.03	0.55±0.12	0.55±0.06
	恢复 2 周	0.30±0.04	2.28±0.23	0.17±0.02	0.55±0.07	0.54±0.04
8 g/kg 组	给药 12 周	0.32±0.02	2.27±0.20	0.16±0.02	0.58±0.08	0.55±0.05
	恢复 2 周	0.31±0.05	2.29±0.25	0.18±0.04	0.52±0.08	0.58±0.04

2.3.3 对大鼠血常规指标的影响

连续给药 12 周和恢复期 2 周大鼠血常规检测结果见表 4。与空白组相比, 连续给药 12 周, 除 8 g/kg MACXLP 组大鼠的 *PLT* 显著升高($p<0.05$)外, 其他指标差异无统计学意义($p>0.05$); 恢复 2 周后, 8 g/kg MACXLP 组大鼠的 *Lymph* 显著升高, *Mon* 和 *Gran* 明显降低($p<0.05$), 其他指标差异无统计学意义($p>0.05$)。

表 4 MACXLP 对大鼠血常规的影响($\bar{x} \pm SD, n=10$)

组别	时间	正常组	2 g/kg 组	4 g/kg 组	8 g/kg 组
<i>WBC</i> /(10 ⁹ · L)	给药 12 周	2.10±0.75	2.54±0.88	2.37±0.89	2.60±0.78
	恢复 2 周	2.19±0.46	1.85±0.66	2.00±0.71	1.82±0.33
<i>Lymph</i> /%	给药 12 周	81.48±3.27	83.10±3.92	82.88±5.81	85.30±4.82
	恢复 2 周	75.35±4.77	77.59±4.28	79.81±3.91	81.30±3.64*
<i>Mon</i> /%	给药 12 周	2.52±0.49	2.50±0.56	1.99±0.46	2.13±0.58
	恢复 2 周	2.75±0.73	2.45±0.74	2.61±0.48	2.14±0.33*
<i>Gran</i> /%	给药 12 周	15.74±2.53	14.27±3.40	14.23±3.29	13.79±4.14
	恢复 2 周	22.57±5.05	19.96±3.72	17.58±3.58	16.56±3.39*
<i>MCV</i> /fL	给药 12 周	58.67±1.24	59.55±1.53	60.13±1.51	59.31±1.61
	恢复 2 周	58.17±2.89	58.82±1.31	58.41±1.17	58.92±2.95

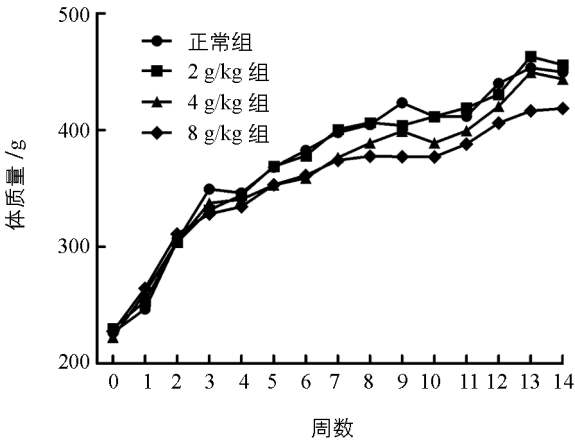


图 3 长期毒性各组大鼠体质量

续表 4

组别	时间	正常组	2 g/kg 组	4 g/kg 组	8 g/kg 组
<i>MCH</i> /pg	给药 12 周	17.51±0.73	17.65±0.35	18.10±0.37	17.67±0.71
	恢复 2 周	17.84±0.85	17.95±0.39	18.34±0.64	18.03±0.95
<i>MCHC</i> /(g·L ⁻¹)	给药 12 周	295.88±5.79	297.10±5.76	301.44±7.88	295.78±8.33
	恢复 2 周	308.89±4.65	306.12±5.74	311.57±4.76	307.20±4.57
<i>PLT</i> /(10 ⁹ ·L)	给药 12 周	1 008.33±78.40	1 076.83±108.26	1 097.83±86.50	1 100.86±99.34*
	恢复 2 周	1 106.00±164.61	1 224.86±138.11	1 190.14±140.88	1 117.14±98.60

注：与正常组相比，* 表示 $p<0.05$ ，差异有统计学意义。

2.3.4 对大鼠血生化指标的影响

连续给药 12 周和恢复 2 周大鼠血生化检测结果见表 5。与空白组相比，恢复 2 周后，除 2 g/kg MACXLP 组 UREA 明显降低($p<0.05$)外，其他肝功能指标、肾功能指标和血脂指标差异均无统计学意义($p>0.05$)。

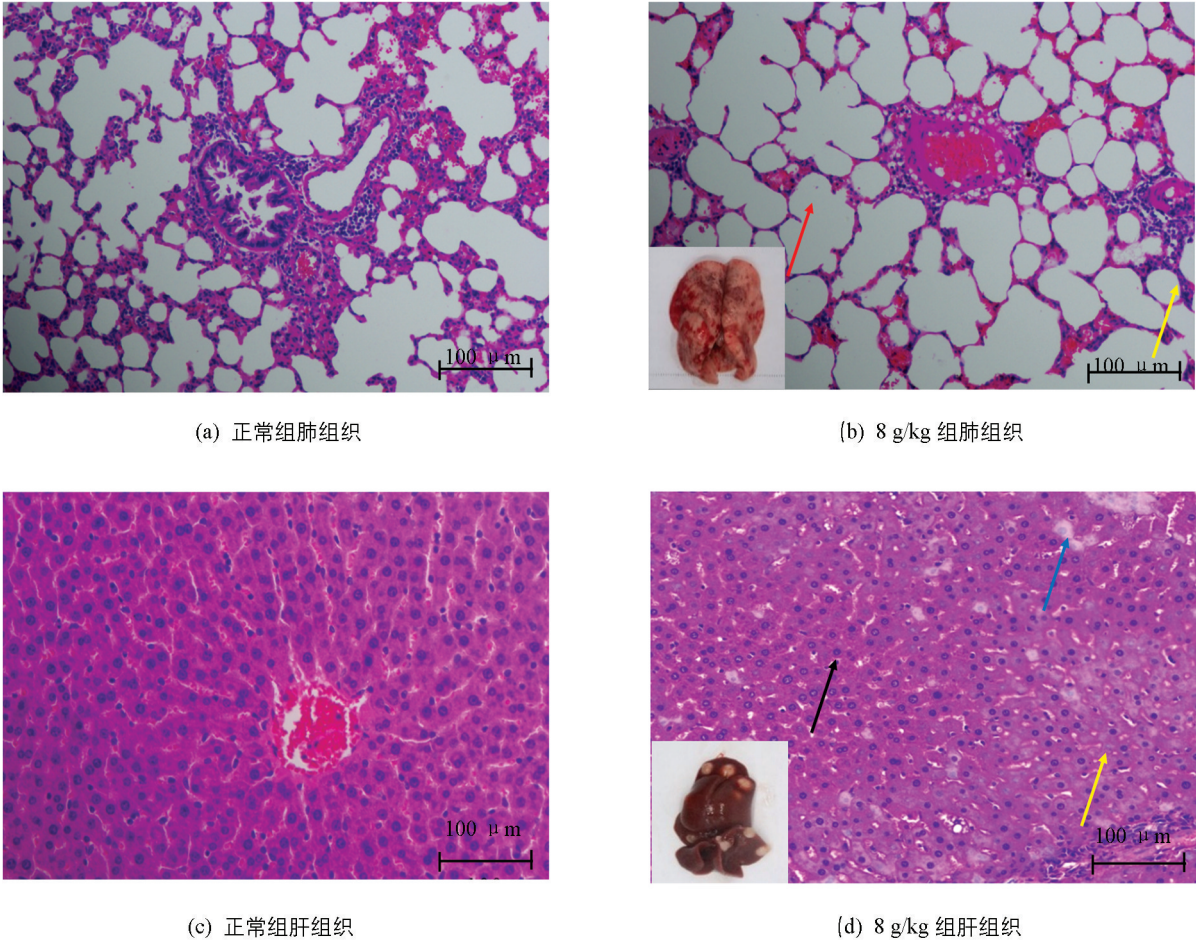
表 5 MACXLP 对大鼠血生化指标的影响($\bar{x}\pm SD$ ， $n=10$)

组别	时间	正常组	2 g/kg 组	4 g/kg 组	8 g/kg 组
<i>ALT</i> /(U·L ⁻¹)	给药 12 周	41.46±5.91	36.09±7.06	36.67±4.27	34.41±6.26
	恢复 2 周	39.71±7.35	32.41±3.88	39.20±15.08	40.58±6.52
<i>AST</i> /(U·L ⁻¹)	给药 12 周	155.48±22.50	140.40±27.54	140.36±22.30	142.51±22.69
	恢复 2 周	159.27±37.21	138.65±27.51	151.52±19.06	138.94±28.13
<i>ALB</i> /(g·L ⁻¹)	给药 12 周	39.50±2.78	39.31±3.11	38.73±2.93	38.39±3.09
	恢复 2 周	35.88±2.33	34.84±2.31	36.97±1.81	36.76±2.17
<i>TP</i> /(g·L ⁻¹)	给药 12 周	60.22±6.55	59.70±4.32	60.89±3.99	60.93±5.35
	恢复 2 周	57.62±4.99	54.20±5.16	61.29±3.13	57.84±5.58
<i>TBIL</i> /(μmol·L ⁻¹)	给药 12 周	4.825±2.16	3.66±2.74	3.90±1.49	4.10±2.42
	恢复 2 周	6.11±2.94	4.78±2.23	7.99±3.27	7.08±3.49
<i>CERA</i> /(mmol·L ⁻¹)	给药 12 周	106.99±6.58	107.93±8.15	109.62±3.40	106.83±9.51
	恢复 2 周	107.05±8.84	93.34±8.04	101.21±5.12	103.86±7.22
<i>UA</i> /(μmol·L ⁻¹)	给药 12 周	88.00±31.42	87.10±33.01	92.25±38.08	85.86±16.67
	恢复 2 周	65.80±19.84	54.38±12.55	58.86±9.69	63.17±17.95
<i>UREA</i> /(mmol·L ⁻¹)	给药 12 周	7.16±0.80	6.67±0.89	7.76±0.84	7.29±0.95
	恢复 2 周	6.32±0.96	6.01±0.75*	6.63±0.86	6.71±0.93
<i>ALP</i> /(U·L ⁻¹)	给药 12 周	74.89±20.80	71.50±34.86	72.67±36.61	89.80±33.14
	恢复 2 周	63.60±23.11	60.00 ±28.17	60.78±22.07	65.56±23.57
<i>CHO</i> /(mmol·L ⁻¹)	给药 12 周	2.18±0.17	1.99±0.34	2.13±0.59	2.03±0.69
	恢复 2 周	1.92±0.40	2.05±0.29	2.15±0.27	1.98±0.29
<i>TG</i> /(mmol·L ⁻¹)	给药 12 周	0.71±0.31	0.53±0.15	0.45±0.22	0.49±0.22
	恢复 2 周	0.51±0.17	0.66±0.25	0.44±0.10	0.53±0.15

注：与正常组相比，* 表示 $p<0.05$ ，差异有统计学意义。

2.3.5 对大鼠脏器形态学和组织学的影响

连续给药 12 周和恢复 2 周后, 取大鼠的心、肝、脾、肺、肾等脏器, 肉眼观察到 8 g/kg 组大鼠的肺脏和肝脏有明显病变, 见图 4.



红色箭头表示肺泡腔实变, 蓝色箭头表示肝细胞水肿, 黄色箭头表示炎性细胞浸润, 黑色箭头表示细胞坏死.

图 4 长期毒性实验中正常组和 8 g/kg 组小鼠脏器组织病理学图

病理切片显示正常组大鼠的肺细支气管、肺泡结构正常, 肺泡内未见渗出及炎性细胞浸润; 肝小叶、中央静脉、汇管区结构正常, 肝细胞未见变性坏死, 肝窦未见淤血和胆汁. 8 g/kg 组大鼠肺组织结构不明显, 肺泡壁血管充血, 肺泡腔实变, 局部伴有大量炎性细胞浸润; 肝组织中出现肝细胞大片坏死, 周边部残存的肝细胞水肿, 并且肝小叶内炎细胞呈造性浸润. 其余各组脏器均无明显病变, 在显微镜下观察心肌结构形态正常, 无炎性细胞浸润, 肌纤维横纹存在, 未见断裂溶解; 脾小体分布结构正常, 脾小体内小动脉形态正常, 脾窦未见淤血; 肾小球、肾小囊形态结构正常, 肾小囊未见沉积物, 肾小管未见冠心, 上皮细胞未见肿胀变性.

3 讨 论

香连丸是治疗肠炎、腹泻的传统方剂, 临床使用广泛, 但相关毒理研究资料缺乏. 本研究参照“中药、天然药物非临床安全性评价的相关指导原则”, 对 MACXLP 的急性毒性和长期毒性进行了系统研究. 结果

显示,MACXLP 小鼠口服的 LD_{50} 为 18.561 g/kg(以生药计),大约为临床用药剂量的 62 倍,说明香连丸属于低毒类药物,且目前推荐的临床用药剂量比较安全.长期毒性实验发现 PLT , $Lymph$ 升高, Mon , $Gran$ 降低,提示其可能存在一定的溶血毒性.病理组织学检查发现肝脏和肺脏有明显病变.因此,临床实践中若长期或高剂量用药需密切监测溶血、肝和肺的损伤情况.

文献报道,黄连 50%乙醇提取物的小鼠 LD_{50} 为 2.95 g/kg^[6],木香灌胃给药小鼠 LD_{50} 为 5.87 g/kg,腹腔注射 LD_{50} 为 0.29 g/kg^[7];与单味药材相比,MACXLP 的小鼠 LD_{50} 大大提升,这表明经配伍得到的 MACXLP 急性毒性明显降低,再次证明香连丸组方的科学合理.贾鹰珏等^[8]研究表明,黄连作用于小鼠的毒性靶器官主要为肝、肺、肾等;Lu 等^[9]研究发现香连丸有效成分主要分布在肝脏,且质量分数远高于其他脏器,提示香连丸可能有一定的肝毒性.急性毒性和长期毒性实验的组织病理学检查发现,死亡小鼠和 8 g/kg 组大鼠的肺组织和肝组织均有明显病变,说明单次超大剂量给药和长期高剂量给药,会对小鼠的肝脏和肺脏造成一定的损伤,这与目前的文献研究相符合.因此,我们推测 MACXLP 的主要毒性靶器官为肺脏和肝脏,但具体的毒性作用机制还有待进一步研究.

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,2015.

[2] 中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则课题研究组. 中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则:GPT2-1 [S]. 国家食品药品监督管理局,2005:1-9.

[3] 中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则课题研究组. 中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则:GPT3-1 [S]. 国家食品药品监督管理局,2005:1-9.

[4] 肖亚平,陈玉宝,周莹,等. 化瘀消肿酒急性毒性、长期毒性、皮肤刺激性和过敏性研究 [J]. 中国药理学通报,2017,33(7):1035-1036.

[5] 鲁增辉,王志坚,石蕊. 氮氮对稀有鮡鲫胚胎和幼鱼的急性毒性研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版),2014,36(1):47-52.

[6] MA B L, MA Y M, SHI R, et al. Identification of the Toxic Constituents in Rhizoma Coptidis [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 128(2):357-364.

[7] 李茹柳,黄习文,李卫民,等. 厚朴丸方中单味药木香药效学和急性毒性研究 [J]. 中药药理与临床,2009(2):82-84.

[8] 贾鹰珏,李国辉,张平. 黄连及黄连解毒汤对小鼠的急性毒性实验研究 [J]. 中国药学杂志,2011,46(18):1399-1404.

[9] LU M, CHU Z X, WANG L Y, et al. Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Four Major Bioactive Components in Rats after Oral Administration of Xianglian Pill [J]. Biomedical Chromatography, 2020, 34(3):e4770.

Study on Acute and Sub-chronic Oral Toxicity of Main Active Components of Xianglian Pills

HUANG Jie-yao, LIU Dan-ning, YANG Lu-jia,
CHEN De-gui, YUAN Lyu-jiang

School of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: To investigate the acute and sub-chronic toxicities of main active components of Xianglian pills (MACXLP), including toxic dose, toxic reaction and possible toxic target organs, so as to provide a scientific information for the clinical use of Xianglian pills. Kunming mice were orally given MACXLP at different doses once within 24 hours and their acute toxicity response and death were observed. The dead mice were dissected immediately and their organ morphology and histomorphology were examined. Their organ indices and LD_{50} were calculated. In a sub-chronic toxicity test, SD rats were intragastrically administered MACXLP at 2, 4 and 8 g/kg for 12 successive weeks and made to recover for 2 weeks. Physiological saline of the same volume was given in the blank control group. The changes in the appearance, body mass, diet and drinking water of the rats during the experimental period were recorded. Blood was taken from the abdominal aorta, and then the rats were sacrificed. The morphology and histopathology of their organs, organ indices, blood routine and biochemical indicators were investigated. In the acute toxicity test, the LD_{50} of MACXLP was 18.561 g/kg (calculated by crude medicine), and the 95% confidence interval was $15.727 \text{ g/kg} \leq LD_{50} \leq 21.691 \text{ g/kg}$. Compared with the normal group, the organ indices of the lung were significantly increased ($p < 0.01$) after MACXLP administration. In the sub-chronic toxicity test, MACXLP showed no significant effect on body mass, and food and water intake ($p > 0.05$). MACXLP administration increased platelet count (PLT) and lymphocyte and decreased monocytes, neutrophils and urea (UREA) significantly ($p < 0.05$), and other blood routine and biochemical indicators remained unchanged. Histopathological examination revealed that lesions in liver and lungs occurred. Taking these results collectively, the toxicity profile of MACXLP is low and the currently recommended dose for XLP is relatively safe. Overdose administration, however, may pose risks of liver and lung damage.

Key words: Xianglian pill; active component; acute toxicity; sub-chronic toxicity; LD_{50}