

银杏露急性毒性及长期毒性试验

何 翱 陈 仙(浙江义乌 322000 浙江大德制药有限公司)

摘要 目的: 观察小鼠一日内给予较大剂量的银杏露时的急性中毒及死亡情况, 及连续重复给予银杏露对大鼠所产生的毒副作用情况, 为拟定人用安全剂量提供参考。方法: 急性毒性试验为测定小鼠最大给药量方法。长期毒性试验为大鼠连续以银杏露 60、30、15g(生药)/ml 灌胃给药, 观察小鼠各项有利生理、病理指标的方法。结果: 银杏露对小鼠一日内灌胃的最大药量为 240g(生药)/kg。大鼠长期毒性试验结果显示银杏露对大鼠的体重、活动情况、进食量、外表体征、血象、血液生化、脏器系数、病理检查等指标等均无不良影响。结论: 银杏露按拟定临床剂量及疗程服用是安全的。

关键词 银杏露, 急性毒性, 长期毒性

A test of acute toxicity and long-term toxicity of Yinxing lu

He A o, Chen Xiang(Zhejiang Dade pharmaceutical Co. Ltd)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the acute toxicity and death of the mice to which Yinxing Lu was given in much less dose and the toxic effects of the rats to which Yinxing Lu was given in constant dose, in order to offer reference of the safe dose for men. **METHOD:** The acute toxicity test was to determine the maximum dose for the mice. The long-term toxicity test was to investigate all beneficial physiologic and pathologic indexes of the mice to which Yinxing Lu was given intragastrically in 60, 30, 15g(herb)/ml. **RESULTS:** The maximum dose for the mice was 240g(herb)/kg per day. The test results of long-term toxicity in the rats indicated that Yinxing Lu had no harmful effect on the rats in the following indexes: body weight, exercises, food-eating quantity, signs, hemogram, bloodbiochemistry, organs factor, pathologic examination. **CONCLUSION:** It was safe to take Yinxing Lu with the dose described and course of treatment.

KEY WORDS Yinxing Lu acute toxicity, Long-term toxicity

1 试验材料

1.1 药物: 银杏露浸膏, 由浙江大德制药有限公司提供, 批号: 000102, 浓度为 4.0g(生药)/ml。临时以蒸馏水配成所需浓度。

1.2 动物: ICR 小鼠, 体重 20 ± 2 g, 由浙江省实验动物中心提供, 生产合格证号码为浙医实验设施准第 96(001)号。SD 种大鼠 120 只, 雌雄各半, 体重 90~130g, 由浙江省实验动物中心提供。

1.3 试剂: 白蛋白测定试剂盒(BCG 法)、丙氨酸氨基转移酶测定试剂盒(比色法)、门冬氨酸基转移酶测定试剂盒(比色法)、总胆固醇测定试剂盒(COD-PAD 法)、氧化高铁血红蛋白测定试剂(文—齐氏法)、总蛋白测定试剂盒(双缩尿法)、碱性磷酸酶测定试剂盒(K_A 比色法)、肌酐测定试剂盒(比色法)、总胆红素测定试剂盒(重氮法)、尿素氮测定试剂盒(二乙酰—胂法)、葡萄糖测定试剂盒(GOD-PAP 法): 均为宁波市慈城生化试剂厂产品。

1.4 仪器: ZH-1 型血红蛋白测定仪(杭州康恩贝生物工程有限公司)、721 型分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

2 方法及结果

2.1 急性毒性试验: 取体重 20 ± 2 g 小鼠 30 只, 雌雄各半, 禁食 16h 后灌胃给药, 体积为 0.6ml/20g, 各鼠于上午 9:00 及下午 15:30 分二次给药, 然后连续观察 7 天, 记录逐日的

小鼠毒性反应及死亡数。结果全部小鼠均未死亡。银杏露小鼠最大给药量为 0.6ml/20g $\times$ 1000g $\times$ 2 次 $\times$ 4g(生药)/ml: 240g(生药)/kg。

2.2 长期毒性试验: 设三个给药组(60、30、15g(生药)/kg)和一个对照组(给以生理盐水), 每组大鼠 30 只, 雌雄各半。灌胃给药, 1.5ml/100g 体重, 每日一次; 连续给药 2 个月, 停药后继续饲养 2 周作为恢复期观察。给药时观察外观体征和行为活动, 进食量, 粪便性状及体重变化等。给药结束后每组活杀大鼠 20 只, 测定血液生化指标, 取心、肝、脾、肺、肾、脑、肾上腺、胸腺、前列腺、睾丸、子宫及卵巢等脏器称重计算脏器系数并做病理学检查。余下动物停药, 继续观察二周。结果显示, 各组大鼠外观体征、行为活动、进食量、粪便性状及体重变化等各项情况均正常, 大鼠每周体重变化与对照组比较, 经 *t* 检验, 无显著差异。血象及血液生化指标见表 1、表 2、表 3, 脏器系数结果见表 4。

2.3 病理学检查结果

2.3.1 肉眼观察: 各标本表面及切面未见异常改变。

2.3.2 光学显微镜检查:

各组标本心内膜完整, 心肌纤维和心外膜未见炎症细胞浸润, 心肌间质血管扩张不明显; 肺各组标本均可见个别肺肺泡间隔略增宽、血管扩张、充血、水肿, 伴有少量淋巴细胞、单核细胞及中性白细胞浸润。细支气管周围结缔组织中可见

表 1 银杏露长期毒性血液生化指标变化

组别	性别	动物数	血红蛋白	血小板	红细胞	白细胞	白细胞分类		
			(g/L)	(10 ¹¹ 个/L)	(10 ¹² 个/L)	(10 ³ 个/L)	淋巴	中性	其他
大剂量组	♂	10	148±15	1.83±0.35	6.31±0.83	8.5±2.1	87.8	11.8	0.4
	♀	10	127±7	1.81±0.51	5.53±0.66	7.6±3.6	85.3	14.6	0.1
中剂量组	♂	10	144±10	1.79±0.48	7.12±1.05	7.7±3.0	82.8	16.8	0.4
	♀	10	136±10	1.85±0.48	5.68±0.93	6.9±3.1	83.2	16.3	0.5
个剂量组	♂	10	144±10	1.81±0.72	7.16±0.91	8.6±2.7	86.8	13.0	0.2
	♀	10	131±9	1.81±0.50	6.27±1.22	7.0±2.9	84.4	15.4	0.2
对照组	♂	10	144±11	1.67±0.41	6.44±0.75	9.0±3.3	85.9	13.8	0.3
	♀	10	136±12	1.97±0.54	5.49±1.54	7.1±1.8	83.3	16.4	0.3

经 *t* 检验,与对照组相比,均为 *P* > 0.05

表 2 银杏露长期毒性血液生化指标变化

组别	性别	动物数 (只)	谷—丙转氨酶	谷—草转氨酶	总胆红素	尿素氮	肌肝
			(TU/L)	(TU/L)	(μmol/L)	(mmol/L)	(mg/dl)
对照组	♂	10	41.17±14.93	156.5±58.4	5.27±2.07	7.13±1.32	0.966±1.025
	♀	10	28.34±10.85	92.0±54.6	6.93±2.66	6.05±1.02	0.860±0.952
小剂量组	♂	10	51.68±14.91	213.2±75.9	7.20±2.35	7.91±1.04	1.117±0.811
	♀	10	32.13±4.34	147.7±64.7	5.23±2.90	6.83±2.64	0.755±0.930
中剂量组	♂	10	45.82±13.95	162.0±48.2	4.76±1.99	5.69±3.41	1.464±1.117
	♀	10	25.74±12.03	118.3±49.4	6.59±2.23	7.15±1.45	1.132±0.873
大剂量组	♂	10	30.29±10.13	216.0±87.0	8.23±5.52	5.96±2.01	1.117±1.210
	♀	10	22.20±11.57	127.6±77.6	5.74±2.35	6.55±3.27	1.374±1.164

经 *t* 检验,与对照组相比,均为 *P* > 0.05

表 3 银杏露长期毒性血液生化指标变化

组别	性别	动物数 (只)	血糖	总蛋白	白蛋白	碱性磷酸酶	总胆固醇
			(mmol/L)	(g/L)	(g/L)	(TU/L)	(mmol/L)
对照组	♂	10	5.29±1.42	119.7±20.6	37.9±11.4	97.0±23.9	1.654±0.461
	♀	10	6.68±1.33	119.7±13.5	35.73±9.9	70.8±23.6	2.327±0.814
小剂量组	♂	10	4.11±1.29	129.3±11.1	35.0±7.8	119.9±28.9	2.034±0.132
	♀	10	5.43±1.36	121.8±14.6	34.7±5.2	84.7±44.5	2.044±0.356
中剂量组	♂	10	4.13±1.40	125.3±23.6	34.4±11.9	83.8±23.0	1.451±0.366
	♀	10	5.66±0.87	128.5±19.2	38.2±7.6	52.8±27.1	2.029±0.685
大剂量组	♂	10	4.18±1.32	136.2±20.6	35.6±8.2	79.1±20.0	1.367±0.233
	♀	10	5.60±0.95	126.5±15.3	37.7±9.9	54.0±18.0	2.603±0.468

经 *t* 检验,与对照组相比,均为 *P* > 0.05

表 4 银杏露长期毒性试验大鼠给药 9 周脏器官系数(g/100g 体重, $\bar{x} \pm s$)

脏器	动物数	性别	大剂量组	中剂量组	小剂量组	对照组
心	10	♂	0.390±0.032	0.401±0.034	0.411±0.064	0.381±0.053
	10	♀	0.468±0.055	0.442±0.032	0.431±0.058	0.425±0.046
肝	10	♂	3.017±0.265	2.878±0.172	3.104±0.412	2.918±0.215
	10	♀	3.182±0.191	3.092±0.138	2.842±0.290	3.025±0.194
脾	10	♂	0.222±0.023	0.231±0.032	0.240±0.024	0.219±0.024
	10	♀	0.288±0.029	0.262±0.021	0.274±0.066	0.260±0.033
肺	10	♂	0.659±0.178	0.634±0.132	0.573±0.170	0.641±0.099
	10	♀	0.753±0.156	0.704±0.148	0.718±0.163	0.721±0.095
肾	10	♂	0.909±0.062	0.907±0.076	0.876±0.110	0.881±0.065
	10	♀	0.907±0.050	0.877±0.035	0.859±0.111	0.862±0.055
脑	10	♂	0.622±0.069	0.596±0.115	0.492±0.155	0.589±0.045
	10	♀	0.787±0.082	0.773±0.081	0.769±0.092	0.793±0.082
肾上腺	10	♂	21.9±6.1	24.5±6.6	23.0±5.9	20.0±5.8
	10	♀	41.4±8.2	47.7±8.9	39.4±6.8	40.1±13.2
(mg/100g)						
胸腺	10	♂	0.140±0.019	0.106±0.024	0.118±0.035	0.121±0.034
	10	♀	0.159±0.033	0.151±0.039	0.138±0.041	0.170±0.044
子宫/ 前列腺	10	♂	0.153±0.071	0.162±0.062	0.140±0.075	0.122±0.036
	10	♀	0.248±0.083	0.278±0.096	0.225±0.070	0.260±0.093
卵巢/ 睾丸	10	♂	1.026±0.130	1.001±0.165	0.957±0.137	0.952±0.110
	10	♀	0.069±0.013	0.072±0.013	0.063±0.013	0.064±0.021

经 *t* 检验,与对照组相比,均为 *P* > 0.05

少量上述炎症细胞。各级支气粘膜完整无缺, 炎性渗出物不明显; 肝小叶结构基本正常, 未见肝细胞变性、坏死。中央静脉及肝窦扩张不明显, 汇管区未见炎症细胞浸润; 脾各组脾红、白髓分界清楚。脾小体无萎缩, 未见炎症细胞浸润; 肾小球大小正常, 毛细血管球充血、扩张不明显, 且未见球内细胞增生及炎症细胞浸润, 间质无异常改变; 脑膜及脑实质血管扩张、充血不明显, 脑实质无异常改变; 睾丸曲细精管结构完全正常, 未见精小管萎缩、生殖细胞减少及炎症细胞浸润; 卵巢滤泡结构正常, 未见炎症和坏死; 前列腺、子宫、胸腺及肾上腺未见异常改变。

病理诊断: 各组除个别鼠轻度间质性肺炎外, 心、肝、脾、肺、肾、脑、肾上腺、胸腺、前列腺、睾丸、子宫及卵巢未见特殊性改变, 四组无明显差异。

3 讨论

3.1 银杏露的小鼠灌胃最大给药量为 $240\text{g}(\text{生药})/\text{kg}$ 。成人每日用量按最大剂量 60ml 计相当于 $60\text{ml} \times 1.1905\text{g}(\text{生药})/\text{ml}/\text{日}/\text{人} = 71.43(\text{生药})/\text{日}/\text{人}$, 以人体重 70kg 计, 相当于 $71.43 \div 70 = 1.02\text{g}(\text{生药})/\text{kg}$ 。按公斤体重计算, 小鼠口服最大给药量相当于 70kg 成人每日用量的 $240 \div 1.02 = 235$ 倍。

3.2 银杏露以 $60\text{g}(\text{生药})/\text{kg}$ 、 $30\text{g}(\text{生药})/\text{kg}$ 、 $15\text{g}(\text{生药})/\text{kg}$ (以人体重 70kg 计算, 相当于拟用临床剂量的 88.2 、 44.1 、 22 倍) 三个剂量连续灌胃给药 9 周, 对照组给以等体积生理盐水, 对大鼠的体重、活动情况、进食量、外表体征等均无不良影响; 血液学、血液生化指标检测结果表明, 给药组与对照组的血象、血清总蛋白、白蛋白、肌酐、尿素氮、血糖、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、胆固醇及总胆红素等指标无明显差异; 活杀剖检后各主要脏器系数给药组与对照组之间也无明显差异; 病理检查结果显示, 各组大鼠的主要脏器均无明显病变发生。说明银杏露按拟定临床剂量及疗程服用是安全的。

收稿日期: 2001-11-28