

复方苦味叶下珠胶囊的药效学和毒理学研究

李彩东¹,梁云²,李惠新¹,王聪庆¹ (1.兰州市第二人民医院肝病研究所,甘肃 兰州 730046; 2.兰州市肺科医院药剂科,甘肃 兰州 730046)

摘要:目的 研究复方苦味叶下珠胶囊的药效学和毒理学。方法 对复方苦味叶下珠胶囊保肝、抗病毒、抗肝纤维化作用进行了研究;对制剂的急性毒性和长期毒性进行研究。结果 本制剂具有保肝、抗病毒作用,未见明显急性和长期毒性。结论 本制剂疗效确切,安全性较高。

关键词:复方苦味叶下珠胶囊;药效学;毒理学

中图分类号:R285.5 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)05-0422-03

Pharmacodynamics and toxicology of Fufangkuweiyexiazhu capsules

LI Cai-dong¹, LIANG Yun², LI Hui-xin¹, WANG Cong-qin¹ (1. The Second People's Hospital of Lanzhou, Lanzhou 730046, China; 2. Lanzhou Lung's Hospital, Lanzhou 730046, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the pharmacodynamics and toxicology of Fufangkuweiyexiazhu capsules (FKYC). **METHODS** The indexes of liver function and hepatic fibrosis and the effect of anti-Hepatitis B virus were observed. **RESULTS** The preparation had protective effects on the liver injury and therapeutic effect on hepatic fibrosis and to obvious acute and long-term toxicity was found. **CONCLUSION** FKYC is reliable in therapeutic effect and safe in use. **KEY WORDS:** Fufangkuweiyexiazhu capsules; pharmacodynamics; toxicology

复方苦味叶下珠胶囊 (FKYC)是根据中医药理论,总结多年的临床经验研制而成的纯中药制剂,在临床上主要用于急、慢性乙型肝炎的治疗。我们对复方苦味叶下珠胶囊临床疗效进行过研究^[1]。现对复方苦味叶下珠胶囊的药效学和毒理学研究报道如下。

1 药效学研究

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 NIH品系小鼠,体重(20±2)g,雌雄各半,由卫生部兰州生物制品研究所提供;1d北京雏鸭,由当地饲养场提供;Wistar大鼠,体重(150±20)g,由兰州医学院动物中心提供。

1.1.2 药品与试剂 FKYC原料药粉(兰州市第二人民医院制剂室);乙肝宁冲剂(批号:930649,长沙力芝堂制药厂);秋水仙碱(批号:980610,西双版纳制药厂);G418(Sigma公司);20%小牛血清(兰州生物制品研究所)MEM培养基;鸭乙型肝炎病毒(DHBV)阳性血清和鸭肝HBsAg检测试剂盒(上海医科大学微生物教研室);2.2.15细胞株(北京医科大学附属人民医院传染病研究室);MDA, SOD试剂盒(南京建成生物工程研究所);PC-III, HA及LN(上海海军医学研究所);其他试剂均为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 复方苦味叶下珠胶囊对实验性肝损伤的作用 100只小鼠随机分为5组,FKYC大剂量组(150mg/kg)、小剂量组(50mg/kg)、肝损伤组(CCL₄与D-GaIN)、乙肝宁对照组、生理盐水对照组(NS)。均采用灌胃给药,连续7d,观察血清学

ALT,AST和AKP指标及肝组织HE染色结果。结果显示,FKYC给药组动物的肝功能损害程度和肝组织病理改变与模型结果相比有显著性差异($P<0.01$),FKYC大剂量组优于乙肝宁对照组($P<0.05$),FKYC小剂量组与乙肝宁对照组无显著性差异($P>0.05$)^[2],血清生化检测结果分别见表1和表2。

表1 FKYC对CCl₄肝损伤小鼠血清ALT,AST及AKP的影响($n=20, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 The effects of FKYC on serum ALT, AST and AKP($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	ALT U/L	AST U/L	AKP 金氏单位
FKYC大剂量组	637.2±73.0*	407.8±52.5** ^{△△}	24.3±5.1* ^{△△}
FKYC小剂量组	697.0±82.6*	498.6±98.9**	24.1±6.2* ^{△△}
乙肝宁组	664.4±94.3*	492.4±83.1*	31.3±7.2*
CCl ₄ 肝损伤组	1066.3±187.8	792.2±180.5	48.3±9.9
NS对照组	240.0±43.6	254.1±53.2	31.3±15.3

注:与损伤组比较,* $P<0.01$,** $P<0.05$;FKYC组与乙肝宁组比较,^{△△} $P<0.05$

Note: Compared with the model group,* $P<0.01$,** $P<0.05$; compared with the positive control group,^{△△} $P<0.05$

1.2.2 复方苦味叶下珠胶囊抗病毒作用 (1)体外对HBsAg的作用:FKYC水提液、醇提液分别加HBsAg阳性血清,37℃孵育1h,然后以反血凝法测定HBsAg滴度,阴性对照为PBS。结果显示,其水提液在1~20g/mL浓度时对HBsAg均

表 2 FKYC对 D-GaLN肝损伤小鼠血清 ALT, AST及 AKP 的影响 (n = 20, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The effects of FKYC on serum ALT, AST and AKP(n = 20, $\bar{x} \pm s$)

组 别	ALT	AST	AKP
	U/L	U/L	金氏单位
FKYC大剂量组	349.7 $\pm$ 93.2 ^{* $\Delta \Delta$}	295.7 $\pm$ 99.0 ^{* Δ}	31.6 $\pm$ 6.6 [*]
FKYC小剂量组	428.0 $\pm$ 74.2 [*]	308.0 $\pm$ 102.3 ^{* Δ}	34.0 $\pm$ 8.2 ^{**}
乙肝宁组	456.5 $\pm$ 72.6 [*]	440.0 $\pm$ 96.4 [*]	39.8 $\pm$ 14.5
D-GaLN肝损伤组	833.3 $\pm$ 160.0	720.0 $\pm$ 234.2	48.0 $\pm$ 15.3
NS正常对照	287.5 $\pm$ 24.1	292.5 $\pm$ 107.8	28.1 $\pm$ 11.9

注:与损伤组比较, * P < 0. 01, ** P < 0. 05; FKYC组与乙肝宁组比较, Δ P < 0. 05, $\Delta \Delta$ P < 0. 05

Note: Compared with the model group, * P < 0. 01, ** P < 0. 05; compared with the positive control group, Δ P < 0. 01, $\Delta \Delta$ P < 0. 05

有灭活作用,醇提液在 3.125 ~ 12.5mg/mL 时对血清 HBsAg 即有抑制作用,当浓度达到 200mg/mL 时,则能完全灭活血清 HBsAg,而 PBS 溶液无此作用。(2)体外抗 HBV 作用:将生长良好的 2.2.15 细胞按 1×10^5 个 /mL 的浓度接种于 24 孔细胞培养板,每孔 1mL,37℃ 5% CO₂ 培养 4d 后,各孔分别换以不同浓度药物的培养基,继续培养 8d(第 4 天时更换相同浓度的药液),并分别收集第 4d 和 8d 的培养上清,应用固相放射免疫法测定上清液中的 HBeAg,并计算 P/N 值和抑制率,以抑制率大于 50% (ID₅₀) 判为有抑制作用。同时用 MTT 法测定药物的细胞毒性,并计算出细胞死亡 50% 时的药物浓度 (CD₅₀),最后用治疗指数 (TI = ID₅₀ / CD₅₀) 判断抗病毒效力。结果表明其治疗指数在 2.32 ~ 4.17 之间,提示 FKYC 能显著抑制 HBeAg 分泌。(3)抗鸭乙肝病毒作用:1d 龄北京雏鸭 40 只,踝静脉注射 DHBV 阳性血清 0.1mL 后,每周采血查 DHBsAg。将感染成功雏鸭随机分为 2 组,每组 10 只。FKYC 组按 100mg/kg·d⁻¹ 给药,对照组给以等量生理盐水,均采用灌胃给药,1 次 /d,连续 5 周。于给药前、给药后 1、2、3、4 和 5 周,自鸭颈静脉取血,分离血清, - 20℃ 保存待测,最后同时表 4 FKYC 对血清肝纤维化和肝功能的影响

Tab 4 The effects of FKYC on serum liver function and hepatic fibrosis

分组	HA(μ g/L)	LN(μ g/L)	PC-III(μ g/L)	ALT(U/L)
A 组	267.26 $\pm$ 48.18 [*]	18.81 $\pm$ 1.64 [*]	17.08 $\pm$ 3.74 [*]	41.24 $\pm$ 9.36 [*]
B 组	926.84 $\pm$ 82.80	41.02 $\pm$ 8.01	27.08 $\pm$ 7.42	474.82 $\pm$ 132.60
C 组	315.92 $\pm$ 60.72 [*]	32.42 $\pm$ 6.23 [*]	19.30 $\pm$ 5.57 [*]	200.71 $\pm$ 71.02 [*]
D 组	319.67 $\pm$ 104.45 [*]	46.25 $\pm$ 4.95 ^{Δ Δ}	22.35 $\pm$ 6.11 ^{**}	193.33 $\pm$ 89.99 [*]
E 组	326.12 $\pm$ 61.83 [*]	40.06 $\pm$ 9.6 ^{Δ Δ}	26.77 $\pm$ 3.86 ^{Δ}	292.00 $\pm$ 94.36 ^{Δ Δ}

注:与 B 组比较, * P < 0. 01, ** P < 0. 05; 与 C 组比较, Δ P < 0. 01, $\Delta \Delta$ P < 0. 05

Note: Compared with B group, * P < 0. 01, ** P < 0. 05; compared with C group, Δ P < 0. 01, $\Delta \Delta$ P < 0. 05

2 毒理学研究

2.1 实验材料

FKYC 原料药粉,用蒸馏水配制成混悬液(每 1mL 混悬液相当于生药总量 3g);昆明种小鼠,体重 (20 $\pm$ 2) g; Wistar 大鼠,体重 (90 $\pm$ 10) g,雌雄各半。均由甘肃省医学科学院动物研究室提供。

用斑点酶联免疫法测定 DHBsAg。结果显示,给药 1 周后,治疗组除 1 只仍为强阳性外,其余强度减弱,2 周后 2 只阴转,3 周后 5 只阴转,4 周时 7 只阴转,到第 5 周时均为阴性。而对照组 10 只 1 ~ 5 周仍为阳性。在 26 周时,治疗组仍为阴性,而对照组除 2 只外,其余 8 只 DHBsAg 自然转阴。治疗组鸭血清 DHBsAg 与空白对照组结果相比有显著性差异 (P < 0. 01),具体见表 3。

表 3 FKYC 对鸭肝 DHBsAg 的影响

Tab 3 The effects of FKYC on duck DHBsAg

组 别	n	DHBsAg 转阴 (只)				
		1 周	2 周	3 周	4 周	5 周
FKYC 组	10	0	3	5	7	10 [*]
NS 对照组	10	0	0	0	0	0

注:与对照组比较, * P < 0. 01

Note: Compared with NS group, * P < 0. 01

1.2.3 复方苦味叶下珠胶囊抗肝纤维化的作用 将 70 只 Wistar 大鼠随机分为正常对照组 (NS)、肝纤维化模型组、FKYC 大剂量组 (1.5g/kg)、FKYC 小剂量组 (0.5g/kg) 和秋水仙碱对照组 (0.14mg/kg) 五组。除正常对照组腹腔注射生理盐水外,其余各组大鼠首次腹腔注射分析纯 CC₄ 3mL/kg,以后每次用 40% CC₄ 油剂 3mL/kg 腹腔注射,每周注射 2 次,共 10 周,人工造成大鼠肝纤维化模型。除对照组和模型组外,各组在造模的同时,分别给予不同品种和剂量的药物进行保护:珠子肝泰高剂量组每次按 1.5g/kg;珠子肝泰低剂量组按 0.5g/kg;秋水仙碱组 0.14mg/kg,均灌胃给药,每周 2 次,共 10 周。末次给药 24h 后,乙醚麻醉,采血观察肝功能和肝纤维化指标,同时取肝脏组织作病理观察。结果显示,动物肝纤维化血清指标 (PC-III, IV-C, HA),肝组织中 SOD 和 MDA 及肝组织网状纤维染色,给药组与模型相比结果有显著性差异 (P < 0. 01),高剂量组 (1.5mg/kg) 部分指标优于秋水仙碱组 (P < 0. 05),小剂量组 (0.5g/kg) 与秋水仙碱组无显著性差异 (P > 0. 05)^[3],见表 4。

2.2 实验结果

2.2.1 急性毒性试验 将 60 只小鼠随机分为 3 组,每组 20 只。3 组小鼠在实验室饲养 3d 后,然后按 50mL/kg 分别灌胃不同浓度的药物溶液 (相当于原生药 90, 120, 150 g/kg),12h 后重复给药 1 次,观察一周,记录小鼠活动及死亡情况。小鼠每日给药的最大剂量是 3g/mL,则小鼠 1d 的最大耐受

量是 300g/kg,相当于临床成人用量的 800 倍。给药后观察 15 d,三组小鼠均未见异常行为,饮食活动正常,体重增加,未见死亡。

2.2.2 长期毒性试验 80 只 Wistar 大鼠随机分为 4 组。给药组每日按 4, 12, 20 g/kg 灌胃给药,每周 6 次,连续 90 d。对照组给等量生理盐水。在整个用药过程中和停药间,观察大鼠饮食、活动、大小便等均无异常改变。用药后 45, 90 d 及停药后 30 d,各组大鼠体重均有增长,血象、肝肾功能检测值均正常,三个剂量组与对照组各检测指标比较,无显著性差异 ($P > 0.05$)。大鼠的心、肝、脾、肾等脏器官解剖观察均无异常,也无明显病理改变。

3 讨论

复方苦味叶下珠胶囊的药效学研究表明,它对动物急性肝损伤有明显的保护作用,有防治肝纤维化作用,在体外能够抑制 HBsAg 活性,通过对 2.2.15 细胞试验证明具有抗乙肝病毒作用,对人工感染的鸭乙型肝炎病毒有明显的清除作

用。

在复方苦味叶下珠胶囊的急性毒性试验中发现,给小鼠灌服药物的最大耐受量可达 300 g/kg,相当于成人临床用量的 800 倍,未见小鼠死亡。在长期毒性试验中,3 个剂量组大鼠的一般情况、体重、血液学指标、血清生化指标及病理检查结果与对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。可见,复方苦味叶下珠胶囊无毒性,临床应用安全、可靠。

参考文献

- [1] 陈义,任进余,胡振华.复方虫草珍珠胶囊治疗病毒性肝炎临床研究[J].中西医结合肝病杂志,1995,5(增刊):1.
- [2] 李彩东,吴斌,陈义.复方苦味叶下珠对小鼠急性肝损伤的防护作用[J].中西医结合肝病杂志,1998,增刊(下):42.
- [3] 李彩东,陈义,王聪庆.珠子肝泰胶囊对大鼠肝纤维化的作用[J].中西医结合肝病杂志,2000,10(5):29

收稿日期:2004-07-28