

人参茸芝胶囊的急性毒性实验研究

赵岩¹, 妙志岩¹, 郜玉钢^{1*}, 刘双利¹, 杨鹤¹, 张连学^{1*}, 王士杰²

(1. 吉林农业大学中药材学院, 长春 130118; 2. 吉林农业科技学院中药学院, 吉林 132101)

摘要: **目的** 研究人参茸芝胶囊的急性毒性, 评价人参茸芝胶囊的安全性。 **方法** 根据中药、天然药物急性毒性实验技术指导原则, 将 60 只小鼠按体质量随机分为给药组和空白对照组, 禁食不禁水 12 h 后, 给药组将人参茸芝胶囊以最大浓度(2.2 g·mL⁻¹), 最大体积(40 mL·kg⁻¹)灌胃给药, 空白对照组以等容积的蒸馏水灌胃给药, 连续 14 d 观察小鼠体质量、行为活动以及死亡情况。14 d 后处死所有小鼠, 观察小鼠心、肝、肾、脑等脏器是否正常。 **结果** 给药组小鼠无 1 例死亡, 与对照组比较, 给药组小鼠的体质量变化和进食量无显著差异, 行为活动无异常。尸解后未见给药组小鼠的脏器异常。小鼠的人参茸芝胶囊的半数致死量(LD₅₀)未测得, 最大耐受量(MTD)为 88 g·kg⁻¹。 **结论** 从药物急性毒性研究结果来看, 人参茸芝胶囊是一个安全的剂型。

关键词: 人参茸芝胶囊; 半数致死量(LD₅₀); 最大耐受量(MTD)

Acute toxicity test of Ren Shen Rongzhi capsules

ZHAO Yan¹, MIAO Zhi-yan¹, GAO Yu-Gang^{1*}, LIU Shuang-Li¹, YANG He¹,
ZHANG Lian-Xue^{1*}, WANG Shi-Jie²

(1. Chinese Medicine Material College of Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. College of Chinese Medicine, Jilin Academy of Agricultural Science and Technology, Jilin 132101, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the acute toxicity and evaluate the safety of Ren Shen Rongzhi capsule. **Methods** According to the technical guidelines for the acute toxicity experiment on traditional Chinese medicine and natural medicine, 60 mice were randomly divided into treatment group and control group. After fasting but not restraining water for 12 h, Ren Shen Rongzhi capsule at a maximum concentration (2.2 g·mL⁻¹) and maximum capacity (40 mL·kg⁻¹) were given ig in the treatment group, while distilled water to the control group. After administration, mice were free to forage and water for 14 d and the body weight and behavioral events and circumstances of the death were recorded, after 14 d, all animals were killed and autopsied. Then the internal organs were observed, which included heart, liver, kidney, and brain. **Results** The mortality was 0 in the treatment group. Compared with the treatment group, the changes of the food intake and the body weight were not significantly different in the treatment group. The general conditions of animals

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAI03B01)、国家公益性行业科研专项(201303111)、科技部科技人员服务企业项目(2009GJB10031)、吉林省科技发展计划项(20130303094, 20140204013YY, YYZX201258, 20140311050YY)

Fund: Supported by the National Science and Technology Support Program (2011BAI03B01), the National nonprofit industry research and special (201303111), the Ministry of Science and Technology personnel services business project (2009GJB10031) and the Jilin Province Science and Technology Development Programme (20130303094, 20140204013YY, YYZX201258, 20140311050YY)

*通讯作者: 郜玉钢, 教授, 博士, 主要研究方向为中药材加工与产品开发。E-mail: gaoyugang_2006@163.com

张连学, 教授, 博士, 主要研究方向为药用植物栽培与加工。E-mail: zlx863@163.com

*Corresponding author: GAO Yu-Gang, Professor, Chinese Medicine Material College of Jilin Agricultural University, No.2888, Xincheng Street, Nangan District, Changchun 130118, China. E-mail: gaoyugang_2006@163.com

ZHANG Lian-Xue, Professor, Chinese Medicine Material College of Jilin Agricultural University, No.2888, Xincheng Street, Nangan District, Changchun 130118, China. E-mail: zlx863@163.com

were not abnormal in the treatment group. After the gross anatomy, the appearance of organ showed no abnormality. The LD_{50} of mice Renshen Rongzhi capsule could not be measured, the maximum tolerance dosage (MTD) was $88 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. **Conclusion** Based on the medicinal toxic experimental results, Renshen Rongzhi capsule is a kind of safe form.

KEY WORDS: Renshen Rongzhi capsule; median lethal doses; maximum tolerance dosage

1 引言

人参茸芝胶囊是本课题组以人参、鹿茸、灵芝孢子粉、大蒜素为主要原料研制的、具有抗疲劳功效的复方,其中,人参具有复脉固脱、大补元气、补脾益肺、生津养血、安神益智等功效^[1],鹿茸具有壮肾阳、益精血、强筋骨、调冲任、托疮毒的功能^[2],灵芝具有扶正固本、延年益寿之功效^[3],大蒜素具有抗疲劳、降胆固醇、护肝、预防心血管疾病、降血压等生理学作用^[4]。前期实验^[5]证实了人参茸芝胶囊具有抗疲劳作用。为对该制剂的安全性做出客观、科学的评价,为临床合理安全应用提供更有力的依据,本实验参照急性毒性实验^[6-9]方法,进行人参茸芝胶囊灌的小鼠急性毒性实验。

2 材料与方法

2.1 实验材料

人参、鹿茸经吉林农业大学中药材学院张连学教授鉴定,粉碎过 80 目筛,灵芝孢子粉购于吉林大药房,实验前用蒸馏水混悬做灌胃用。

KM SPF 级小鼠,年龄 5~7 周龄,雌雄各半,体重 18~22 g,购自长春市生物制品研究所有限责任公司,许可证号: SCXK(吉)2011-0003;小鼠分性别饲养于空调室内,室温(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度(70 ± 5)%,喂标准颗粒饲料,自由饮水和摄食。

2.2 实验方法

2.2.1 预实验

按照急性毒性实验要求先进行毒性实验预实验预测本品的半数致死量(LD_{50})^[10-12],取体重 18~22 g 小鼠 20 只,标记,随机分为空白组和给药组,每组雌、雄各半,动物适应饲养 3 d 后,禁食不禁水 12 h 后,给药组以本品可供灌胃的最大浓度($2.2 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$),小鼠灌胃可承受的最大体积($40 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$),一次性灌胃给药(相当于成人临床用量的 146.7 倍),给药后自由进食和饮水,对照组给予等容积的蒸馏水,连续观

察 7 d。给药当日小鼠活动减少,精神状态及摄食正常,1 周之内,未见小鼠死亡及其他异常行为发生,处死后尸检观察各鼠主要脏器(心、肝、脾、肾),未发现任何异常改变。

2.2.2 最大耐受量测定^[13,14]

KM SPF 级小鼠 40 只,按体质量随机分为人参茸芝胶囊空白组和给药组,每组雌、雄各半,禁食不禁水 12 h 后,给药组以本品可供灌胃的最大浓度($2.2 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$),小鼠灌胃可承受的最大体积($40 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$),灌胃给药 1 d,24 h 内给药 3 次(相当于成人临床用量的 440.1 倍),给药间隔时间 4 h,间隔期间不供食,末次给药 4 h 后自由进食和饮水,对照组给予等容积的蒸馏水,连续观察 2 周,详细记录小鼠每天摄食量、体质量、饮水及死亡等情况。第 14 d 将小鼠用颈椎脱臼致死法处死,比较各组小鼠体重以及肝脏、脾脏与体重的比值。

2.2.3 观察指标

给药前及给药后,测量小鼠体质量,测量加入饲料及剩余量,计算差值。观察给药后所有小鼠的外在表现,包括行为活动、精神状态、皮肤黏膜、毛发色泽、粪便性状、颜色,各组小鼠主要脏器的外观形态,存活情况及毒性反应等。毒性反应重点观察症状、程度,毒性反应起始时间、持续时间及恢复时间等。

2.2.4 统计方法

采用 SPSS13.0 统计学软件,计量资料数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。各组间采用 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 预实验测定结果

小鼠灌胃给予人参茸芝胶囊混悬液后,立即观察,给药组和对照组小鼠活动均减少,20 min 后恢复正常,其间无竖毛懒动,抽搐等异常现象,给药组的小鼠大便稍黑且软,这可能由于大剂量给予深色药物产生。在其余的观察期间,每天观察 2 次(早上 9:00,下午 18:00),结果发现给药组和空白组小鼠皮毛光

滑、眼、鼻、口腔未见异常分泌物,无运动失调、姿态异常、举尾、痉挛、惊厥等神经系统反应,呼吸、饮水、尿液、翻正反射及自主行为均正常。观察7 d内,无小鼠死亡。处死后解剖观察其心、肝、脾、肺、肾,均无特殊改变。我们记录了小鼠每天的饮食和体质量的变化情况,具体结果见图1、图2、图3。由图可知,小鼠的体质量均增长,可见此药对小鼠并无明显的毒副作用。

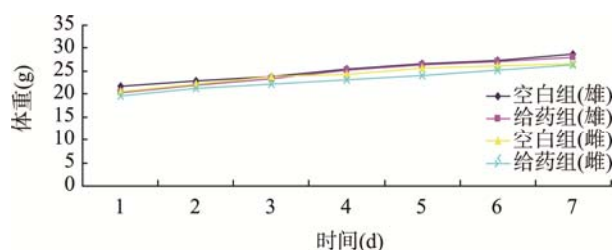


图1 给药后小鼠体重变化

Fig. 1 Weight changes of mice after the treatment

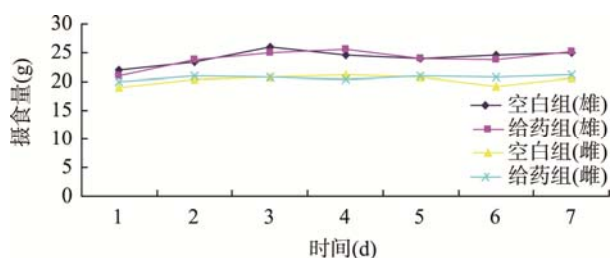


图2 预实验时小鼠的摄食量变化

Fig. 2 Food intake quantity changes of pre-test mice

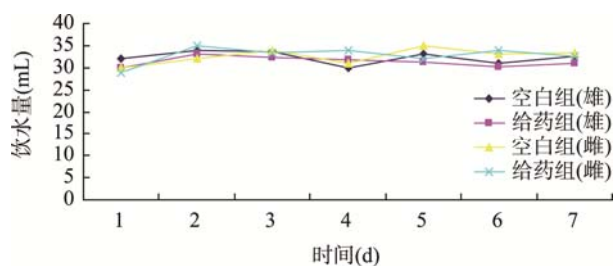


图3 预实验时小鼠的饮水量变化

Fig. 3 Drinking water quantity changes of pre-test mice

经实验发现:在给予小鼠最大浓度、最大给药剂量的人参茸芝胶囊内容物后,小鼠7 d内均未死亡,也未见其他异常。说明人参茸芝胶囊毒性较低,虽按最高浓度和最大体积给药,受试小鼠仍未出现明显毒性反应,预实验不能测出LD₅₀值,改为最大耐受量测定。

3.2 最大耐受量测定结果

给药后见给药组动物安静、活动减少,约2 h后逐渐恢复正常。给药后1 d内给药组小鼠便中可见未吸收药物,连续观察14 d,观察期内各组小鼠毛发光泽、行为活动、进食及大小便正常,未见其他异常病态表现,未出现死亡情况。处死后解剖观察其心、肝、脾、肺、肾,均无明显改变。给药组与对照组比较饮食和体质量变化无明显差异,见表1和图4、5。并比较了小鼠的肝、脾与体重的比值,具体数据见表2,由数据可知,小鼠的体重均呈增长趋势,可见此药对小鼠并无明显的毒副作用。

表2 各组小鼠给药后肝脏和脾脏与体重的比值

Table 2 Liver and spleen of mice with the ratio of weight after the treatment

组别	肝体比值	脾体比值
空白组(雄)	0.053±0.004	0.007±0.001
给药组(雄)	0.052±0.003	0.006±0.001
空白组(雌)	0.050±0.002	0.006±0.005
给药组(雌)	0.047±0.003	0.005±0.002

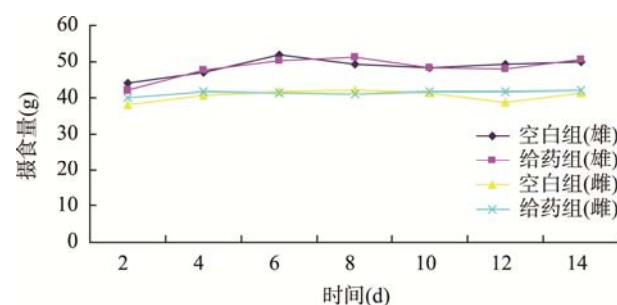


图4 测量MTD时小鼠的摄食量变化

Fig. 4 Food intake quantity changes of MTD measured mice

表1 人参茸芝胶囊混悬液对小鼠体质量的影响 (g, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Renshen Rongzhi capsule suspension on body weight of mice (g, $\bar{x} \pm s$)

	给药前	第1 d	第7 d	第14 d
空白组(雄)	21.48±1.71	20.45±1.92	27.65±1.45	33.31±2.45
给药组(雄)	21.29±2.14	19.25±1.36	27.76±1.87	34.46±1.99
空白组(雌)	20.99±1.11	19.17±2.07	25.83±2.18	29.71±1.18
给药组(雌)	21.72±1.31	20.39±2.33	25.27±2.05	30.35±1.47

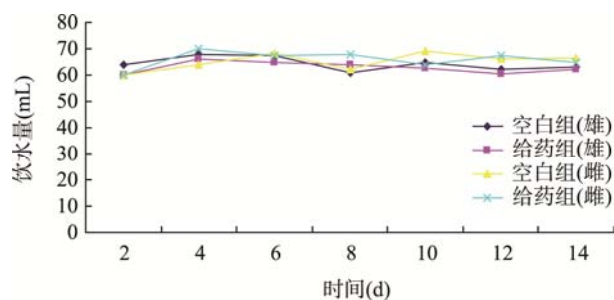


图 5 测量 MTD 时动物的饮水量变化

Fig 5 Water drinking quantity change of MTD measured mice

经实验: 人参茸芝胶囊对小鼠的性别没有影响, 从表 1 可以看出给药组和空白对照组小鼠在第 1 d 时进食量均明显减少, 在第 7 d 时和第 14 d 时进食量恢复正常, 给药组和空白对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。分析原因认为可能和人参茸芝胶囊大剂量灌胃给药有关, 但应进一步进行人参茸芝胶囊的长期毒性实验研究。

4 讨论

半数致死量(LD_{50})是药物急性实验评价的一个重要指标, LD_{50} 越大, 表明药物的毒性可能越低, 预实验中未测出人参茸芝胶囊灌胃给药小鼠的 LD_{50} , 表明人参茸芝胶囊急性毒性很小。最大耐受量实验结果表明, 小鼠灌胃给药的最大耐受量大于小鼠灌胃给药的最大给药量, 最大给药量是指一日内单次或多次(2~3 次)给药所采取的最大给药剂量, 最大给药剂量实验是指在合理的给药浓度及合理给药容量的条件下, 以允许的最大给药剂量给予实验动物, 在一定时间内出现的毒性反应。本实验采取最大浓度及小鼠可耐受的最大灌胃体积灌胃给药, 给药组和空白对照组小鼠均未观察到明显毒副反应, 未见死亡。一般认为, 按体质量计算小鼠最大给药量相当于临床成人用量的 100 倍以上则较安全, 可以提供临床应用^[15]。本实验设计的小鼠灌胃给药的最大剂量 $88 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 临床成人(体质量按 60 kg 计算)日剂量为 $0.06 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 相当于临床成人日剂量的 440.1 倍。实验结果表明, 未见小鼠有明显的毒副反应, 脏器及病理无异常, 这说明人参茸芝胶囊的毒性非常低, 为其作为保健品推向临床使用提供了有利的参考依据。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典一部[M]. 北京: 中国

医药科技出版社, 2010.

The People's Republic of China Pharmacopoeia Commission. The one of Chinese pharmacopoeia [M]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Publishing House, 2010.

[2] 桂丽萍, 郭萍, 郭远强, 等. 鹿茸化学成分和药理活性研究进展[J]. 药物评价研究, 2010, 33(3): 237-240.

Gui LP, Guo P, Guo YQ, *et al.* Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Cornu Cervi Pantotrichum* [J]. Eval Drug, 2010, 33(3): 237-240.

[3] 杨锦生. 灵芝主要化学成分及其药理作用研究述评[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(4): 906-907.

Yang JS. Research progress of chemical compositions and pharmacological effects of *Ganoderma lucidum* [J]. Chin Arch Trad Chin Med, 2012, 30(4): 906-907.

[4] 邵力钧, 单文卫. 大蒜素的临床应用进展[J]. 中国现代医生, 2009, 47(3): 45-47.

Shao LJ, Shan WW. Progress in clinical application of allicin [J]. China Mod Doc, 2009, 47(3): 45-47.

[5] 赵岩, 妙志岩, 蔡恩博, 等. 人参茸芝胶囊对小鼠抗疲劳作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(11): 2604-2606.

Zhao Y, Miao ZY, Cai EB, *et al.* Experimental Study on the anti-fatigue effect of Renshen Rongzhi Capsules on mice [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2014, 25(11): 2604-2606.

[6] 陈晓军, 李燕婧, 谭建宁. 复方龙胆胶囊急性毒性实验研究[J]. 中国药师, 2014, 17(8): 1414-1415.

Chen XJ, Li YJ, Tan JN. Study on acute toxicity of compound Longli Capsules [J]. China Pharm, 2014, 17(8): 1414-1415.

[7] 胡颖, 何静, 叶兰, 等. 复方杠板归胶囊对小鼠的急性毒性实验研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(6): 1361-1362.

Hu Y, He J, Ye L, *et al.* The study on acute toxicity of compound polygonum perfoliatum capsule in mice [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2014, 25(6): 1361-1362.

[8] 王京霞, 张琦, 陈琳. 复方大青颗粒急性毒性实验研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2014, 24(6): 496-498.

Wang JX, Zhang Q, Chen L. Acute toxicity of fufang daqing Granules [J]. Zhejiang J Int Trad Chin West Med, 2014, 24(6): 496-498.

[9] 熊辉, 刘丹丹, 白明. 脑脉舒康胶囊急性毒性与慢性毒性实验研究[J]. 中医学报, 2014, 29(196): 1304-1308.

Xiong H, Liu DD, Bai M. Experimental study on the acute toxicity and long-term toxicity of naomai shukang capsule in rats [J]. China J Chin Med, 2014, 29(196): 1304-1308.

[10] 高玉红, 苏恩亮, 雷勇, 等. 骨伤灵丸急性毒性试验[J]. 医学信息, 2010, (6): 1547-1548.

Gao YH, Su EL, Lei Y, *et al.* A acute toxicity experience of the bolus of Gushangling [J]. Med Inform, 2010, (6): 1547-1548.

[11] 王东升, 李锦宇, 罗超应, 等. 白术提取液急性毒性试验[J].

西北农业学报, 2011, 20(5): 40-43.

Wang DS, Li JY, Luo CY, *et al.* The acute toxicity extract from rhizoma atractylodis macrocephalae [J]. *Acta Agric Boreal Sinica*, 2011, 20(5): 40-43.

- [12] 王立强, 马竑, 郭晶, 等. 肾茶胶囊的急性毒性实验研究[J]. *中国医药科学*, 2011, 1(11): 33-35.

Wang LQ, Ma H, Guo J, *et al.* Acute toxicity testing of orthosiphon stamineus capsule [J]. *Chin Med Sci*, 2011, 1(11): 33-35.

- [13] 白赧, 高丽, 王永辉, 等. 雷公藤醇提物小鼠急性毒性实验[J]. *世界中西医结合杂志*, 2014, 9(2): 138-140.

Bai Y, Gao L, Wang YH, *et al.* Acute toxicity experiment of tripterygium wilfordii extract in mice [J]. *World J Integ Trad West Med*, 2014, 9(2): 138-140.

- [14] 王必尊, 盛占武, 王会, 等. 香蕉花及其提取物的急性毒性评价[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(4): 338-345.

Wang BZ, Sheng ZW, Wang H, *et al.* Acute toxicity evaluation of banana flower and its extracts [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(4): 338-345.

- [15] 谢秀琼, 张世臣. *中药新制剂开发与应用(第3版)*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.

Xie XQ, Zhang SC. The new formulation development and

application of traditional Chinese medicine (3rd Edition) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



赵岩, 博士, 副教授, 主要研究方向为天然药物化学成分与生物活性。
E-mail: zhyjlu79@163.com

邵玉钢, 博士, 教授, 主要研究方向为生药学。
E-mail: gaoyugang_2006@163.com



张连学, 博士, 教授, 主要研究方向为药用植物栽培与加工。
E-mail: zlx863@163.com