

强骨生血口服液对幼龄大鼠重复给药毒性试验研究

许志¹, 许必祥^{1*}, 姜德建², 贺静¹, 刘雪辉¹, 黄昆¹ (1. 湖南天劲制药有限责任公司, 长沙 410205; 2. 湖南省药物安全评价研究中心, 长沙 410331)

摘要: **目的** 研究强骨生血口服液 (QGSX) 连续给药 14 周对幼龄大鼠生长发育的潜在毒性, 为儿童临床用药安全性提供参考。**方法** 以 SD 大鼠母鼠及仔鼠为实验对象, 实验组分为空白对照组和 QGSX 低、中、高剂量组 (6.0、12.0、24.0 g 生药 · kg⁻¹), 灌胃体积 15 mL · kg⁻¹, 连续给药 14 周。**结果** 与空白对照组相比, 给药大鼠的临床表现、体质量、摄食量、血液生化、骨密度、激素水平、脏器系数、组织病理学等方面均无显著差异 ($P > 0.05$), 但血常规指标中的 HGB、RBC 水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 与 QGSX 有升高血液中 HGB、RBC 的药理作用有关。**结论** 在本实验条件下, 幼龄 SD 大鼠经口灌服 QGSX 14 周, 未见明显毒性反应剂量 (NOAEL) 为 12.0 g · kg⁻¹, 约相当于儿童临床拟用公斤剂量的 23 倍 (1 岁儿童按体质量 10 kg 计算), 儿童长期服用 QGSX 是安全的。

关键词: 强骨生血口服液; 生长发育; 安全性; 重复给药毒性

中图分类号: R285, R114 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2021)05-0879-06
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2021.05.016

Repeated dose toxicity of Qianggu Shengxue oral liquid in young rats

XU Zhi¹, XU Bi-xiang^{1*}, JIANG De-jian², HE Jing¹, LIU Xue-hui¹, HUANG Kun¹ (1. Hunan Tianjin Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410205; 2. Hunan Research Center for Drugs Safety Evaluation, Changsha 410331)

Abstract: Objective To determine the potential toxicity of Qianggu Shengxue oral liquid (QGSX) administered continuously for 14 weeks on the growth and development of young animals, and hope to provide reference for its safety application in children. **Methods** SD rat mothers and offspring were used as experimental animals, which were divided into a blank control group and QGSX low, medium, and high dose groups (the dosage of crude drug at 6.0, 12.0 and 24.0 g · kg⁻¹). intragastric volume was 15 mL · kg⁻¹, with continuous administration for 14 weeks. **Results** The clinical manifestations, weight gain, food intake, blood biochemical examination, bone mineral density, hormone examination, organ index and histopathology of the experimental group were not significantly different from those of the blank control group ($P > 0.05$). The HGB and RBC indexes in the blood routine of the administered rats were significantly different from those of the blank control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), which was related to increasing the pharmacological effect of blood HGB and RBC by QGSX. **Conclusion** Under the conditions of this experiment, young SD rats are orally administered QGSX for 14 weeks, and 12.0 g · kg⁻¹ is the dosage without obvious adverse effect, approximately 23 times of the planned clinical dose for children (1 year old weighing 10 kg). It is safe for children to take QGSX.

Key words: Qianggu Shengxue oral liquid; growth and development; safety; repeated dose toxicity

强骨生血口服液 (简称 QGSX) 主要由骨液、党参、黄芪、灵芝、大枣、黑木耳组成, 临床上常用于气血不足、肝肾亏虚、面色萎黄、筋骨萎软、缺铁性贫血、小儿佝偻病、妇女妊娠缺钙的治疗^[1-4]。目前, 在全世界人口中 14 岁以下的儿童约占 20% ~ 25%, 同时儿童患者数量占总患病

作者简介: 许志, 男, 硕士研究生, 制药工程师, 主要从事中药新药研究与开发工作, E-mail: 490669373@qq.com *通信作者: 许必祥, 男, 高级工程师, 主要从事中药新药、生产工艺技改等工作, E-mail: 151179768@qq.com

人数的比例已超过 20%^[5-6]。儿童具有特殊的生理特点,处在生长发育的阶段,生理机能变化大,机体各个器官系统功能尚未成熟,同一药物在儿科人群体内的吸收、分布、代谢及排泄过程与成人不同,因此要对儿童用药进行适当的安全性研究^[7]。本实验采用 QGSX 连续给药 14 周,通过临床表现、体质量、摄食量、血液理化指标、骨密度、激素检查、脏器系数、组织病理学检查,系统考察 QGSX 对幼龄大鼠的毒性反应情况,对其进行儿童用药临床前安全性评价研究,为其临床应用提供参考。

1 材料

1.1 动物

成年 SPF 级 SD 大鼠雌性(母鼠)20 只;仔鼠 160 只(雌雄各半),鼠龄为分娩后第 1 日(PND1)[湖南斯莱克实验动物有限公司;实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2015-0016];饲养环境:在光/暗周期为 12 h/12 h(光照时间 7:00~19:00)、20~26℃,湿度 50%~60%的条件下,饲养于 SPF 级湖南省实验动物中心,大鼠自购入起适应性饲养 5 d,自由获取食物和饮用水。

1.2 试药与仪器

QGSX(规格:30 mL/瓶,相当于 16 g 生药/瓶,湖南天劲制药有限公司,批号:1805035)、甲紫溶液(1% 结晶紫溶液)(广东恒健制药有限公司,批号:180201)、乌来糖(国药集团化学试剂有限公司,批号:20170301、20170413)、BC-5000Vet 型兽用五类血液细胞分析仪(深圳迈瑞公司)、B203LED 型生物显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司)、LABOSPECT003 型自动生化仪(日本日立仪器有限公司)、CA-530 型自动血凝分析仪(日本希森美康雨有限公司)、Spectra Max i3x 型多功能酶标仪(上海美谷分子有限公司)、PL203 型电子天平[梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司]、BX43 型生物显微镜+MD50 型数码成像系统(日本奥林巴斯公司)、小动物骨密度和身体成分分析系统(韩国 InAlyzer)。血清试剂盒(日本和光纯药工业株式会社)。

2 方法

2.1 实验分组

根据《药物重复给药毒性试验技术指导原则》(2014)^[3],儿科用药非临床安全性研究技术指导原则(征求意见稿,2017 年),采用裂窝设计法,断乳前,于首次给药前 2 日(PND6),随机将 20 只母鼠及 160 只仔鼠分为 4 个临时小组,

每组 5 只母鼠及 40 只仔鼠。将母鼠放入新的大鼠笼具中;小组内部每窝动物抽取窝内编号为 F01 的雌性仔鼠和窝内编号为 M01 雄性仔鼠(共 8 只),交由组内母鼠编号为 1 的母鼠进行抚养;再自每窝其余动物中抽取窝内编号为 F02 的雌性仔鼠和窝内编号为 M02 雄性仔鼠(共 8 只),交由组内母鼠编号为 2 的母鼠进行抚养;依此类推直至将每窝中的仔鼠均匀分布至小组中各只母鼠抚养,并给予相应编号如,1-1-1~1-1-8,1-2-1~1-2-8……,其他笼依此类推。在断乳分笼当日,按照之前各组中不同性别动物编号的顺序进行重新编号,对应方法为将各笼动物的笼内编号为 1 的动物按笼号顺延并编为新的动物号,例如:1-1-1 为 1F01,1-2-1 为 1F02,1-3-1 为 1F03,1-4-1 为 1F04,1-5-1 为 1F05,1-1-2 为 1F06……1-5-4 为 1F30;依此类推进行其他动物的编号。

2.2 实验剂量及给药方式

实验组分为空白对照组和 QGSX 低、中、高剂量组(6.0、12.0、24.0 g 生药·kg⁻¹),儿童临床最高拟用剂量约为 0.53 g 生药·kg⁻¹(按照 1 岁儿童体质量 10 kg,每日用药 5.3 g 生药计),各组剂量分别为临床剂量按公斤折算的 11 倍、23 倍、45 倍。灌胃给药,首次给药为大鼠出生后第 8 日(PND8),每日给药 1 次,连续给药 14 周,同时设空白对照组(纯水),给药体积均为 15 mL·kg⁻¹^[8]。

2.3 临床表现

对实验期动物进行一般笼旁症候观察,并及时记录,观察频率为每日一次。观察指标包括:动物外观、行为活动、呼吸、分泌物、排泄物、饮食情况、死亡情况(死亡时间、濒死前反应)等。如出现临床症状,需增加观察次数,以便详细观察动物中毒反应的症状及其起始时间、严重程度、持续时间、是否可逆。如发现动物死亡或濒死应及时对动物进行解剖观察并进行详细病理学检查。

2.4 体质量及摄食量测定

对动物体质量进行称量,哺乳期内仔鼠每日称重一次,哺乳期内母鼠及断乳后仔鼠每周称量二次,如果实验期间动物体质量变化明显,可增加称量次数。对动物摄食量进行测定,每笼每日添加一定量的饲料并做好相应记录,每周称量记录一次剩余饲料量,每周计算一次摄食量。摄食量计算公式如下:

摄食量(g·d⁻¹×只)=[加料总量(g)-剩余量(g)]/[存活动物数×测量间隔的天数+死亡动物数×死亡动物存活天数]

2.5 血液理化指标

给药第 14 周后,对幼龄大鼠进行采血,用血液细胞分析仪测定白细胞计数及分类、红细胞计数、血小板计数、血红蛋白含量等检测;分离的血清分别用试剂盒测定天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (CRE)、白蛋白 (ALB)、总蛋白 (TP)、总胆固醇 (CHOL)、葡萄糖 (GLU) 及三酰甘油 (TG) 等血液生化指标。

2.6 骨密度检测

给药第 14 周后,取幼龄大鼠胫骨,采用小动物骨密度和身体成分分析系统进行胫骨骨密度检测,测定幼龄大鼠的骨密度 (BMD) 值。

2.7 脏器系数

给药第 14 周后对摘除眼球取血后的大鼠进行剖检,称量脑、心脏、肝脏、脾脏、肾脏、肾上腺、胸腺、睾丸/卵巢、附睾/子宫的质量,计算各脏器指数。称量前用滤纸吸干表面水分。脏器指数=脏器湿质量 (g)/体重质量 (g) × 100。

2.8 激素检查

给药第 14 周后对大鼠血清中生长激素 (GH)、甲状腺激素 T_3 (T_3)、甲状腺激素 T_4 (T_4)、促皮质激素 (ACTH)、雌激素 (E)、孕激素 (PROG)、雄激素 (androgen) 进行检测。

2.9 组织病理学检查

给药第 14 周后,将对照组、高剂量组及尸检异常动物进行详细检查,如高剂量组动物某一组织发生与毒性相关的病理改变,需要对其他剂量组动物的相同组织进行组织病理学检查,受检的脏器为:大脑、小脑、心脏、肝脏、脾脏、肾脏、肺、胸腺、睾丸、卵巢。

2.10 数据处理

计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,系统解剖及组织病理学采用定性指标判断结果。统计所用软件为 SPSS 16.0,两两比较,采用 Independent-Samples T 检验;多组间比较先进行方差齐和正态性比较,方差齐且符合正态性时采用 LSD-*t* 或 Dunnett-*t* 检验,不符合正态性时采用 Nonparametric T 检验,符合正态性但方差不齐时采用 Dunnett's T3 或 Tamhane's T2 检验;计数资料用频数表示,采用 χ^2 检验。统计结果以 $\alpha = 0.05$ 为检验界限,其中 $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 临床表现

与空白对照组比较,大鼠经口灌服 QGSX 14

周,各给药剂量组大鼠的行为活动、外观体征、分泌物、粪便和动物的一般状况检查均未见明显异常。

3.2 体质量

由图 1 可知,与空白对照组比较,相同时间点下 QGSX 高、中、低剂量组的大鼠体质量无显著差异 ($P > 0.05$),表明以临床拟推荐儿童剂量的 23 倍,连续给药 14 周,对幼龄大鼠体质量无明显影响。

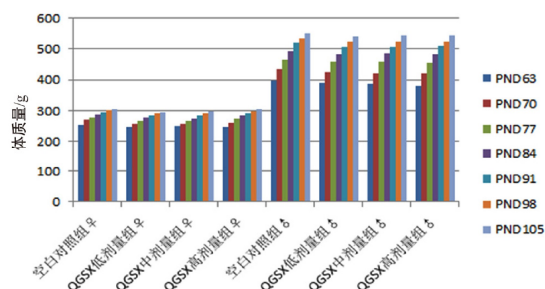


图 1 QGSX 对各组大鼠体质量的影响

Fig 1 Effect of QGSX on the body weight of rats in each group

3.3 摄食量

由图 2 可知,各给药组和对照组大鼠每周食耗量基本一致,表明 QGSX 对大鼠摄食量无明显影响。

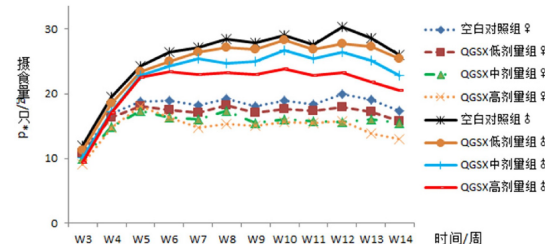


图 2 QGSX 对大鼠摄食量的影响

Fig 2 Effect of QGSX on the food intake of rats in each group

3.4 血常规检查

由表 1 可知,与空白对照组比较, QGSX 高、中、低剂量组的白细胞 (WBC),中性粒细胞 (Neu),淋巴细胞 (Lym),单核细胞百分比 (Mon),嗜酸性粒细胞 (Eos),嗜碱粒细胞 (Bas) 等指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$),但雌、雄性幼龄大鼠低剂量组 HGB ($P \leq 0.01$) 以及雌性低、中剂量组 RBC ($P \leq 0.05$) 差异有统计学意义。

3.5 血液生化检查

QGSX 各剂量组血液生化指标与空白对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),该实验条件下 QGSX,对幼龄大鼠的血液生化指标无明显影响,结果见表 2。

3.6 BMD 检测

表 1 QGSX 口服液对大鼠血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab 1 Effect of QGSX on the blood routine indexes of rats ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	Neu/%	Lym/%	Mon/%	Eos/%	Bas/%	RBC/ ($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	HGB/ ($g \cdot L^{-1}$)
雌	空白对照组	7.90 $\pm$ 2.27	13.9 $\pm$ 2.7	78.1 $\pm$ 3.4	6.3 $\pm$ 2.2	1.4 $\pm$ 0.6	0.5 $\pm$ 0.2	7.66 $\pm$ 0.57	158 $\pm$ 10
	QGSX 低剂量组	6.56 $\pm$ 2.78	12.8 $\pm$ 4.4	80.2 $\pm$ 5.1	5.9 $\pm$ 0.7	1.7 $\pm$ 0.6	0.7 $\pm$ 0.4	8.72 $\pm$ 0.44 ⁺⁺	177 $\pm$ 10 ⁺⁺
	QGSX 中剂量组	6.06 $\pm$ 2.81	16.6 $\pm$ 3.6	75.0 $\pm$ 5.0	6.1 $\pm$ 2.0	1.6 $\pm$ 0.4	0.7 $\pm$ 0.3	8.24 $\pm$ 0.34 ⁺	165 $\pm$ 7
	QGSX 高剂量组	5.97 $\pm$ 2.02	20.9 $\pm$ 9.7	71.4 $\pm$ 9.6	5.4 $\pm$ 0.8	1.8 $\pm$ 0.4	0.5 $\pm$ 0.2	8.06 $\pm$ 0.39	160 $\pm$ 8
雄	空白对照组	11.54 $\pm$ 4.46	17.2 $\pm$ 3.6	74.6 $\pm$ 5.5	6.0 $\pm$ 2.1	1.6 $\pm$ 0.4	0.5 $\pm$ 0.2	8.82 $\pm$ 0.39	166 $\pm$ 8
	QGSX 低剂量组	13.86 $\pm$ 2.35	16.5 $\pm$ 4.0	69.9 $\pm$ 4.3	6.4 $\pm$ 1.2	1.7 $\pm$ 0.6	0.6 $\pm$ 0.1	9.37 $\pm$ 0.47	178 $\pm$ 10 ⁺⁺
	QGSX 中剂量组	10.98 $\pm$ 2.32	17.5 $\pm$ 5.7	70.3 $\pm$ 4.6	6.7 $\pm$ 1.6	1.4 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.2	8.92 $\pm$ 0.22	171 $\pm$ 7
	QGSX 高剂量组	14.47 $\pm$ 5.13	18.4 $\pm$ 3.6	71.6 $\pm$ 4.9	7.6 $\pm$ 1.5	1.9 $\pm$ 0.8	0.5 $\pm$ 0.1	8.93 $\pm$ 0.28	169 $\pm$ 4

注: 与空白对照组比较, ⁺ $P \leq 0.05$, ⁺⁺ $P \leq 0.01$ (Compared with the blank control group, ⁺ $P \leq 0.05$, ⁺⁺ $P \leq 0.01$).

表 2 QGSX 对大鼠血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab 2 Effect of QGSX on the blood biochemical parameters of rats ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	生化指标						
		ALT/ ($U \cdot L^{-1}$)	AST/ ($U \cdot L^{-1}$)	ALB/ ($g \cdot L^{-1}$)	ALP/ ($U \cdot L^{-1}$)	TP/ ($g \cdot L^{-1}$)	GGT/ ($U \cdot L^{-1}$)	TBIL/ ($\mu mol \cdot L^{-1}$)
雌	空白对照组	40 $\pm$ 5	121 $\pm$ 38	43.0 $\pm$ 2.9	42 $\pm$ 7	55 $\pm$ 4	1 $\pm$ 0	0.28 $\pm$ 0.30
	QGSX 低剂量组	43 $\pm$ 13	109 $\pm$ 32	41.2 $\pm$ 3.1	43 $\pm$ 9	56 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	0.40 $\pm$ 0.30
	QGSX 中剂量组	37 $\pm$ 6	108 $\pm$ 12	42.5 $\pm$ 3.2	45 $\pm$ 12	55 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	0.21 $\pm$ 0.13
	QGSX 高剂量组	34 $\pm$ 6	88 $\pm$ 13	44.5 $\pm$ 2.2	47 $\pm$ 12	56 $\pm$ 4	1 $\pm$ 1	0.21 $\pm$ 0.17
雄	空白对照组	39 $\pm$ 5	101 $\pm$ 8	36.9 $\pm$ 1.2	78 $\pm$ 17	56 $\pm$ 2	1 $\pm$ 0	0.59 $\pm$ 0.18
	QGSX 低剂量组	37 $\pm$ 5	94 $\pm$ 7	36.8 $\pm$ 0.8	91 $\pm$ 12	56 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0.63 $\pm$ 0.21
	QGSX 中剂量组	36 $\pm$ 5	103 $\pm$ 9	35.9 $\pm$ 0.9	90 $\pm$ 9	55 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0.57 $\pm$ 0.13
	QGSX 高剂量组	35 $\pm$ 7	89 $\pm$ 12	36.9 $\pm$ 0.9	90 $\pm$ 8	55 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0.61 $\pm$ 0.24

性别	组别	BUN/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	CRE/ ($\mu mol \cdot L^{-1}$)	GLU/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	TG/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	CHO/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	CK/ ($U \cdot L^{-1}$)
雌	空白对照组	8.33 $\pm$ 1.23	39.6 $\pm$ 5.2	6.99 $\pm$ 0.65	0.48 $\pm$ 0.26	1.95 $\pm$ 0.33	993 $\pm$ 553
	QGSX 低剂量组	8.95 $\pm$ 1.30	39.5 $\pm$ 7.2	7.66 $\pm$ 0.96	0.52 $\pm$ 0.38	2.46 $\pm$ 0.70	737 $\pm$ 315
	QGSX 中剂量组	8.34 $\pm$ 0.84	38.1 $\pm$ 3.2	7.40 $\pm$ 1.35	0.54 $\pm$ 0.16	2.34 $\pm$ 0.25	859 $\pm$ 209
	QGSX 高剂量组	8.96 $\pm$ 1.66	39.2 $\pm$ 8.0	6.35 $\pm$ 0.67	0.45 $\pm$ 0.16	2.18 $\pm$ 0.31	661 $\pm$ 196
雄	空白对照组	6.37 $\pm$ 0.56	33.6 $\pm$ 2.0	8.21 $\pm$ 0.93	0.76 $\pm$ 0.42	1.93 $\pm$ 0.37	713 $\pm$ 136
	QGSX 低剂量组	6.19 $\pm$ 0.63	35.6 $\pm$ 4.9	8.43 $\pm$ 1.44	0.92 $\pm$ 0.46	1.60 $\pm$ 0.18	820 $\pm$ 318
	QGSX 中剂量组	6.07 $\pm$ 0.40	34.1 $\pm$ 2.5	8.87 $\pm$ 0.82	1.13 $\pm$ 0.58	1.68 $\pm$ 0.21	718 $\pm$ 135
	QGSX 高剂量组	6.24 $\pm$ 0.39	34.0 $\pm$ 3.0	8.75 $\pm$ 0.85	0.95 $\pm$ 0.56	1.71 $\pm$ 0.17	756 $\pm$ 210

由表 3 可知, 与空白对照组比较, QGSX 高、中、低剂量组大鼠的骨密度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 QGSX 对大鼠骨密度检测指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab 3 Effect of QGSX on the bone marrow density parameters of rats ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	骨密度 / ($g \cdot cm^{-2}$)
雌	空白对照组	0.307 $\pm$ 0.014
	QGSX 低剂量组	0.292 $\pm$ 0.015
	QGSX 中剂量组	0.293 $\pm$ 0.014
	QGSX 高剂量组	0.292 $\pm$ 0.017
雄	空白对照组	0.309 $\pm$ 0.014
	QGSX 低剂量组	0.306 $\pm$ 0.011
	QGSX 中剂量组	0.307 $\pm$ 0.024
	QGSX 高剂量组	0.314 $\pm$ 0.030

3.7 脏器、脏脑系数

由表 4 结果可知, QGSX 各剂量组脏器系数与同期空白对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。表明该实验条件下 QGSX, 未见对幼龄大鼠主要脏器、脏脑指数造成明显影响。

3.8 QGSX 对激素指标的影响

由表 5 结果可知, QGSX 各剂量组激素检测指标与同期空白对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明在该实验条件下 QGSX, 未见对幼龄大鼠激素指标造成明显影响。

3.9 大鼠病理组织学检查

实验结束后, 对各组大鼠进行解剖, 肉眼进行病理学观察, 主要观察大脑、小脑、心、肝、脾、肺、肾、胸腺、卵巢、睾丸等器官的外形、

表 4 QGSX 口服液对大鼠主要脏器系数的影响统计表 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effect of QGSX on the main organ indexes of rats ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	脏器系数 / (g/100 g)							
		脑	心脏	肝脏	肾脏	肾上腺	胸腺	脾脏	卵巢 / 睾丸
雌	空白对照组	0.641±0.046	0.361±0.034	2.810±0.221	0.606±0.042	0.023±0.003	0.136±0.028	0.214±0.032	0.033±0.002
	QGSX 低剂量组	0.652±0.052	0.372±0.043	2.635±0.179	0.582±0.032	0.021±0.002	0.131±0.026	0.211±0.031	0.032±0.005
	QGSX 中剂量组	0.636±0.066	0.364±0.032	2.842±0.162	0.594±0.038	0.021±0.002	0.133±0.027	0.213±0.023	0.037±0.009
	QGSX 高剂量组	0.637±0.051	0.355±0.042	2.769±0.184	0.572±0.025	0.023±0.003	0.134±0.024	0.209±0.028	0.035±0.007
雄	空白对照组	0.396±0.026	0.337±0.026	2.783±0.241	0.581±0.041	0.012±0.001	0.104±0.015	0.181±0.027	0.789±0.091
	QGSX 低剂量组	0.380±0.018	0.333±0.035	2.726±0.267	0.569±0.029	0.012±0.001	0.094±0.024	0.174±0.021	0.749±0.045
	QGSX 中剂量组	0.378±0.018	0.322±0.023	3.017±0.268	0.579±0.040	0.012±0.001	0.088±0.024	0.161±0.020	0.753±0.045
	QGSX 高剂量组	0.382±0.021	0.319±0.014	2.823±0.153	0.578±0.046	0.012±0.001	0.085±0.015	0.175±0.015	0.786±0.047

表 5 QGSX 口服液对激素指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of QGSX oral liquid on the hormone indexes of rats ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	激素指标						
		GH/ (pg · mL ⁻¹)	E/ (pg · mL ⁻¹)	androgen/ (ng · mL ⁻¹)	ACTH/ (pg · mL ⁻¹)	T ₃ / (ng · mL ⁻¹)	T ₄ / (nmol · L ⁻¹)	PROG/ (ng · mL ⁻¹)
雌	空白对照组	127.991±19.304	73.536±6.231	4.215±0.190	8.174±0.582	61.885±11.641	33.110±0.879	18.961±1.482
	QGSX 低剂量组	139.503±15.023	68.088±4.267	4.034±0.364	7.738±0.819	64.462±24.840	32.501±2.032	18.108±1.547
	QGSX 中剂量组	139.562±15.017	67.507±4.775	4.027±0.459	8.079±1.007	54.193±13.221	33.903±1.993	18.692±1.377
	QGSX 高剂量组	159.458±65.470	67.512±4.761	4.237±0.277	8.427±1.114	69.216±23.366	33.867±1.815	19.623±2.264
雄	空白对照组	175.738±8.562	79.145±7.442	5.639±0.361	7.843±0.758	59.482±3.480	45.036±3.134	
	QGSX 低剂量组	170.903±13.085	90.653±22.943	5.345±0.300	7.782±0.371	54.042±0.410	44.669±1.567	
	QGSX 中剂量组	183.003±11.538	91.634±16.848	5.536±0.382	7.482±0.615	58.347±4.902	46.020±2.727	
	QGSX 高剂量组	184.512±10.470	94.429±5.105	5.900±0.252	7.691±0.482	58.016±5.216	46.237±1.529	

体积、色泽是否正常，有无充血、出血、肿胀和坏死等异常现象。结果发现，各给药组与空白对照组大鼠的各脏器均未见任何异常。

取高剂量组和空白对照组大鼠的大脑、小脑、心、肝、脾、肺、肾、胸腺、卵巢、睾丸等脏器以福尔马林固定，石蜡切片，镜检各脏器

的组织学结构变化。结果表明，高剂量与空白对照组大鼠的各脏器组织学结构清楚，未见明显异常，结果表明，QGSX 该实验条件下，未见对幼龄大鼠主要脏器外观形态及组织结构造成明显影响（见图 3）。

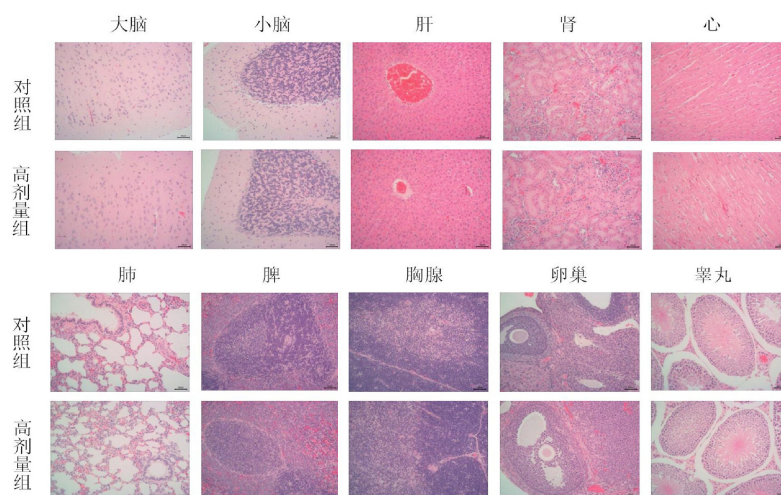


图 3 大鼠主要脏器组织病理学 (200×)

Fig 3 Histopathology of main organs of rats (200×)

4 讨论

儿童是特殊用药人群,为保障其用药安全,对 QGSX 开展临床前儿童用药安全性评价具有重要的现实意义。重复给药毒性实验研究是药物临床前安全性评价重要内容之一,将药物按照临床用药途径大剂量多次给药,密切检测动物产生的毒性反应和中毒靶组织器官,能够获得毒性产生的量效和时效关系,预测药物在临床上可能出现的毒性反应性质及发生率,对药物的临床应用具有重要的参考意义^[9-10]。在药物安全性评价中,药物作用常会引起动物一些器官质量的减少,根据脏器系数来检验动物的脏器是否受到药物的不良影响^[11],根据血液学指标判定药物是否具有毒性^[12],根据血液生化指标判定药物对主要脏器是否有毒性作用^[13]。

本幼龄 SD 大鼠重复给药毒性试验结果表明, QGSX 重复给药 14 周对幼龄 SD 大鼠三个剂量下的临床表现、体质量、摄食量、骨密度、血液生化指标、激素指标、脏器系数均无明显影响,组织病理学检查结果亦显示,三个剂量下未见明显的毒性靶器官。与空白对照组比较,大鼠骨密度指标无显著差异,可能与机体对大剂量钙的吸收利用度有限有关,实际临床中采取维生素 D 与钙同补,以提高钙的吸收利用度。与空白对照组比较,血常规指标中,给药末期给药组雌雄大鼠低剂量组 HGB 明显高于同期空白对照组,雌性大鼠低、中剂量组 RBC 明显高于同期空白对照组,临床上以 HGB、RBC 作为缺铁性贫血诊断指标,结合前期药效学研究发现 QGSX 具有上调骨髓微环境中血管内皮生长因子(VEGF)、血小板内皮细胞黏附分子-1(PECAM-1)蛋白表达,调节骨髓有核细胞周期,促进骨髓细胞分裂,调节骨髓细胞中有核细胞数,直接升高 HGB 与 RBC 的药理作用^[14],因此可认为该变化与供试品药理作用相关,无明显毒理学意义。高剂量幼龄大鼠 GH 指标虽无明显差异,但极差较大,可以归因于幼龄大鼠处于发育期,动物本身存在个别差异,特别是激素水平的变化。

综上所述,通过本研究结果可得出 QGSX 幼龄大鼠重复给药 14 周最大无毒反应剂量为 12 g 生药·kg⁻¹,约相当于儿童临床拟用公斤剂量的 23 倍(1 岁儿童按体质量 10 kg 计算)。提示本品临床应用安全范围较大,安全窗较宽。

参考文献

- [1] 严维娜,王竹林,曲红卫,等.强骨生血口服液联合利塞磷酸钠片治疗绝经后妇女骨质疏松症的临床效果观察[J].中国计划生育学杂志,2019,27(8):1031-1034.
- [2] 唐娅辉,刘学武,刘锐,等.强骨生血口服液对去卵巢致骨质疏松大鼠的治疗作用及其机制[J].中草药,2017,48(23):4935-4940.
- [3] 张晓玲.铁剂和维生素 C 联合强骨生血口服液治疗婴幼儿贫血的疗效分析[J].中国实用医药,2012,7(31):150.
- [4] 郭永红,秦瑞连,胡列兴,等.强骨生血口服液合伤科接骨片治疗腰椎间盘突出症[J].中国保健营养,2012,22(12):2127-2128.
- [5] 中华人民共和国国家统计局.2010 年第六次全国人口普查主要数据公报(第 1 号)[EB/OL].北京:中华人民共和国国家统计局,2011-04-28.
- [6] 余明莲,杨悦.我国儿童用药可获得性的调查分析[J].解放军药学学报,2011,27(4):368-372.
- [7] 许淑红,张琦,张林琦,等.探讨我国儿科用药的发展现状及政策层面的思考[J/OL].中国临床药理学杂志,2020,36(12):1760-1767.
- [8] 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2010:38.
- [9] 国家食品药品监督管理局药品审评中心药物非临床安全性研究技术指导原则[S].2014:21-33.
- [10] 戴晓莉,戴学栋,郭峰,等.注射用右旋雷贝拉唑钠大鼠 13 周重复给药毒性研究[J].中国药物警戒,2016,13(7):389-393.
- [11] 杨慧,孙耀贵,孙娜,等.板芪口服液急性毒性及长期毒性试验研究[J].中国兽药杂志,2019,53(3):79-85.
- [12] 喻琴,陈玲,尹伶灵,等.鱼腥草茎蓝口服液的毒理学研究[J].中国兽药杂志,2018,52(9):27-34.
- [13] 李晓,郭唯,陈飞,等.连翘叶不同提取物的急性毒性试验研究[J].饲料研究,2013(1):11-12.
- [14] 罗桂芳,唐娅辉,吴莉峰,等.强骨生血口服液对小鼠化疗后骨髓抑制的保护作用及机制研究[J].中国新药杂志,2017,26(22):2664-2671.

(收稿日期:2020-12-30;修回日期:2021-02-19)