

补血生乳颗粒对 SD 大鼠围产期毒性

叶向锋¹，谷陟欣²，彭帮杰^{1,3}，宋潇²，叶惠煊²，赵李剑⁴，谢安^{2*}

[1. 中国医学科学院北京协和医学院新药安全评价研究中心, 北京 100050; 2. 九芝堂股份有限公司(国家中医药工程学重点学科, 国家企业技术中心), 湖南长沙 410021; 3. 北京协和建昊医药技术开发有限责任公司北京 100176; 4. 湖南大学生物学院, 湖南长沙 410082]

摘要: 目的 通过观察不同剂量的补血生乳颗粒(黄芪、当归、白芍, 等)用于围产期孕鼠后对大鼠及仔鼠的影响, 探讨其对妊娠的安全性。方法 SD大鼠96只, 随机分为4组, 每组24只。设1个溶剂对照组(蒸馏水)和补血生乳颗粒低、中、高3个给药组, 各组均于妊娠期第15天开始给药, 连续给药至哺乳期结束, 给药途径为灌胃, 每天1次。于哺乳期结束处死母鼠解剖观察, 观察指标包括母鼠一般状况、体质量及摄食量, 仔鼠出生后, 观察仔鼠外观有无异常, 检测仔鼠生理发育、反射发育、行为及生殖功能等。结果 补血生乳颗粒对围产期大鼠的一般状况、生育仔鼠的时间、体质量、各脏器系数等没有显著的影响; 对仔鼠的生长、发育、神经、内分泌、生殖系统等没有显著的影响。结论 补血生乳颗粒对母鼠的体质量增长及摄食量没有影响, 对F1仔鼠的生理、反射发育、行为和学习记忆及生殖功能等无影响。补血生乳颗粒无围产期毒性作用。

关键词: 补血生乳颗粒; 围产期; 毒性; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)03-0530-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.03.005

Toxicity of Buxue Shengru Granules on perinatal rats

YE Xiang-feng¹, GU Zhi-xin², PENG Bang-jie^{1,3}, SONG Xiao², YE Hui-xuan², ZHAO Li-jian⁴, XIE An^{2*}

[1. New Drug Safety Evaluation Center, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. JiuZhitang Co., Ltd. (The National Center of State Administration of TCM for Key Discipline in Engineering, The National Center for Enterprise Technology), Changsha 410021, China; 3. Beijing Union - Genius Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Beijing 100050, China; 4. College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China]

ABSTRACT: AIM To investigate the toxicity of Buxue Shengru Granules (BSG, *Astragalus Radix*, *Angelicae sinensis Radix*, *Paeoniae Radix alba*, etc.) to perinatal SD rats and their offspring to determine its safety.

METHODS The respective BSG administration of 0, 1, 3, 10 g/kg to the four groups rats, each with twenty-four female rats, started from the day 15 of gestation (GD15) through weaning when they were procured for the identification of the general condition, body weight and food ingestion. The offspring had their postnatal appearance observed the physiological development, reflexes development, behavior and fertility detected as well. **RESULTS** BSG gave neither significant influence on the rats' general condition, time of birth, body weight, and histological changes of organs during perinatal period; nor remarkable impact on the offspring's growth, development, nerves, endocrine, and reproductive system. **CONCLUSION** Data on BSG to rats maternal weight gain and food intake and to their offspring developmental landmarks, sexual maturation, or reflexes suggest that BSG gives no perinatal toxicity.

KEY WORDS: Buxue Shengru Granules (BSG); perinatal period; toxicity; rat

收稿日期: 2017-07-28

作者简介: 叶向锋(1973—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向为生殖毒理学。Tel: (010) 67817720, E-mail: yexiangfeng@ugero.com

*通信作者: 谢安(1965—), 女, 硕士, 研究员级高级工程师, 研究方向为新药开发。Tel: (0731) 85574609, E-mail: xie_an@hnjzt.com

补血生乳颗粒是九芝堂股份有限公司独家生产的用于气血亏虚所致的产后缺乳病的中药三类新药^[1]，系湖南省长沙市妇幼保健医院李卫民主任医师从《古今中医效验秘方宝典》之“玉露饮”方加减化裁而成^[2]。功能主治为益气补血，通络生乳^[3]。本实验通过在孕鼠围产期给予不同剂量的补血生乳颗粒，观察补血生乳颗粒对仔鼠的生长、发育、神经、内分泌、生殖系统的影响，为评价补血生乳颗粒的安全性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 补血生乳颗粒（药物组成：黄芪、当归、白芍、茯苓、甘草、王不留行、川芎、枳壳、桔梗）由九芝堂股份有限公司提供（批号20150911），室温保存，颗粒在效期内稳定。用时临时配制，配制时称取一定量的试验品，先加入部分蒸馏水，搅拌至其完全溶解后补足所需体积。

1.2 动物 SD大鼠（SPF级）116只（合格证编号11400700119608），购自北京维通利华实验动物

技术有限公司。其中雌鼠96只，雄鼠20只，年龄60~100 d，入室体质量，雄鼠250~300 g，雌鼠167~195 g。健康性成熟未经交配生育的大鼠。饲养在室温21.2~25.4 °C，相对湿度42%~60%清洁环境。符合《中华人民共和国国家标准GB 14925—2010 中关于实验动物所需最小空间的规定》。每周更换1~2次垫料和笼具。每日添加鼠专用饲料供动物食用、另使用饮水瓶灌装无菌水供动物饮用，整个饲养过程中保持动物饮食活动自由。

1.3 动物给药 参考《药物生殖毒性研究技术指导原则》^[4]及ICH S5A^[5-6]中的有关规定建立实验体系。补血生乳颗粒灌胃给药，见表1。各给药组雌鼠的给药时间为妊娠第15天至出生后第21天，给药途径为灌胃，每天给药1次，溶剂对照组及低、中剂量组给药容积为2 mL/100 g体质量，高剂量组给药容积为2.5 mL/100 g体质量。定期称体质量及摄食量，并根据体质量变化调整给药量^[7-8]。

表1 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验剂量分组

Tab. 1 Dose grouping of SD rats for BSG gavage in perinatal toxicity test

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	相当于生药含有量/ (g·kg ⁻¹)	供试品质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	相当于临床 用量/倍	动物数/ 只
溶剂对照组 I	0	—	0	—	24
低剂量组 II	1	3.63	50	7.7	24
中剂量组 III	3	10.88	150	23.1	24
高剂量组 IV	10	36.25	400	76.9	24

注：临床用量8 g/人，成人体质量按60 kg计，折算剂量为8 g/60 kg=0.13 g/kg

1.4 观察指标 观察内容包括动物外观状况、被毛、体征、行为活动、呼吸状态、腺体分泌、动物姿势、粪便性状、给药局部反应、死亡情况等；体质量及摄食量测定（给药后每周称1次摄食量；分娩前每3 d称体质量1次，分娩后每周称体质量1次）；鼠交配与受精鼠的检查：雌雄鼠按1:1的比例同笼交配，次晨检查阴栓，如果发现阴栓说明已交配。统计各组孕鼠自然分娩的时间，各组动物妊娠期有无改变，观察供试品对孕鼠妊娠期有无影响。哺乳期结束后1周内处死母鼠作解剖检查，对心脏、肝脏、脾、肺、肾、胃肠道等主要脏器作肉眼观察，必要时可进行病理学检查；仔鼠的一般生长发育观察。

1.5 数据统计与分析 所有数据用SPSS 22.0统计软件处理。各组孕鼠平均体质量、摄食量、产仔数等计量资料以均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，数据采用F-检验进行显著性分析，如有显著性则采用Dunnett检验进行各给药组与对照组比较。

2 结果

2.1 大鼠一般状况 所有动物活动、饮食及饮水正常，一般状况良好。给药期间，动物行为活动正常，一般状况良好。各组孕鼠孕期无阴道流血、流产等异常现象，各组均无动物死亡，体质量见表2和图1~2。雌鼠从妊娠第15天起灌胃补血生乳颗粒，给药后各组雌鼠未见与给药有关的毒性反应。由表2可见，补血生乳颗粒各给药组动物孕期及哺乳期体质量与溶剂对照组相比均无显著性差异（ $P > 0.05$ ），说明补血生乳颗粒对雌鼠的体质量增长没有影响。大鼠摄食量见表3，给药后每周测定1次摄食量，结果发现补血生乳颗粒高剂量组第1周的摄食量低于溶剂对照组（ $P < 0.01$ ），中、高剂量组哺乳期最后1周的摄食量与溶剂对照组比较出现统计学差异（ $P < 0.05$ ）。结合体质量数据分析，同期中、高剂量组雌鼠及仔鼠的体质量与溶剂对照组比较无差异，认为此指标属于一过性改变，

表2 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验大鼠体质量 ($\bar{x} \pm s$, g)
Tab. 2 Body weight of SD rats for BSG gavage in perinatal toxicity test ($\bar{x} \pm s$, g)

时间	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)				
	0(n=22)	1(n=22)	3(n=22)	10(n=22)	
妊娠期	第0天	221.9 ± 14.7	227.4 ± 11.7	226.8 ± 12.9	226.4 ± 8.5
	第3天	245.5 ± 16.7	251.0 ± 13.6	251.6 ± 14.7	251.9 ± 9.9
	第6天	266.7 ± 17.5	274.1 ± 15.7	271.2 ± 16.2	272.3 ± 12.3
	第9天	286.6 ± 20.3	292.4 ± 15.5	292.0 ± 19.0	292.2 ± 14.4
	第12天	308.1 ± 21.7	316.6 ± 17.4	317.2 ± 19.2	318.5 ± 16.8
	第15天	330.0 ± 22.5	339.0 ± 18.5	336.6 ± 19.4	340.0 ± 20.0
	第18天	373.7 ± 24.4	382.9 ± 23.1	382.2 ± 27.9	379.7 ± 24.4
	第21天	427.1 ± 32.1	440.5 ± 28.6	433.9 ± 37.7	426.2 ± 36.9
哺乳期	第0天	318.8 ± 24.8	323.2 ± 23.9	327.5 ± 24.1	320.5 ± 20.5
	第7天	346.9 ± 34.9	350.7 ± 21.2	351.9 ± 22.3	344.5 ± 23.6
	第14天	355.8 ± 25.1	360.4 ± 27.4	359.3 ± 23.4	355.0 ± 25.2
	第21天	324.9 ± 23.7	332.1 ± 23.5	332.2 ± 25.0	327.2 ± 20.3

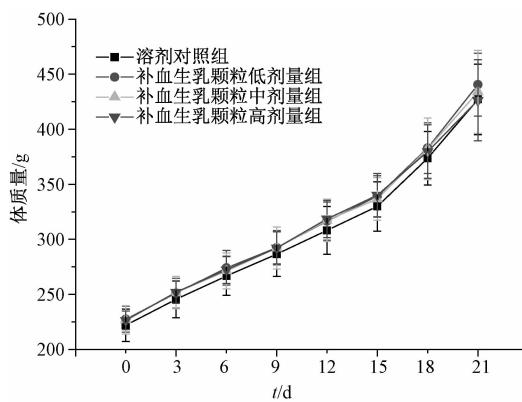


图1 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验雌鼠妊娠期体质量

Fig. 1 Body weight of pregnant SD rats for BSG gavage in perinatal toxicity test

表3 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验大鼠摄食量 ($\bar{x} \pm s$, g)Tab. 3 Food intake of SD rats for BSG gavage in perinatal toxicity test ($\bar{x} \pm s$, g)

时间	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)				
	0(n=22)	1(n=22)	3(n=22)	10(n=21)	
妊娠期	第1周	32.1 ± 3.6	32.5 ± 4.3	30.7 ± 3.3	27.3 ± 4.3 **
	第2周	26.7 ± 4.4	28.5 ± 5.0	26.7 ± 7.7	27.0 ± 4.3
哺乳期	第3周	54.6 ± 5.1	56.9 ± 5.3	51.5 ± 9.1	51.7 ± 7.8
	第4周	65.2 ± 4.0	64.7 ± 6.0	60.1 ± 9.4 *	59.5 ± 5.4 *

注:与溶剂对照组比较, *P < 0.05, **P < 0.01

补血生乳颗粒对雌鼠的摄食量没有影响。

2.2 补血生乳颗粒对雌鼠生殖功能的影响 结果见表4。溶剂对照组及补血生乳颗粒各给药组的受孕率分别是91.7%、91.7%、91.7%、87.5%，出产率均为100.0%，补血生乳颗粒各给药组的孕鼠死亡率、妊娠时间和平均活仔数等指标与溶剂对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。结果说明，补

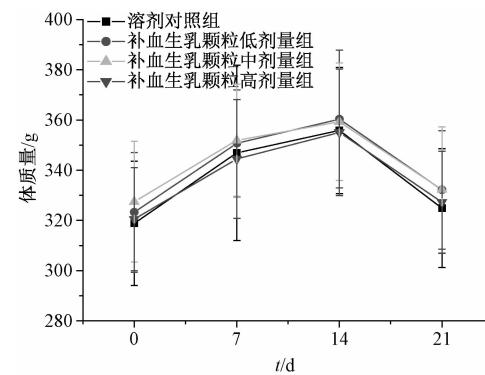


图2 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验雌鼠哺乳期体质量

Fig. 2 Body weight of lactating SD rats for BSG gavage in perinatal toxicity test

血生乳颗粒对雌鼠的生殖功能无影响。

表4 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验对雌鼠生殖功能的影响

Tab. 4 Effects of BSG gavage on fertility of SD rats for perinatal toxicity test

观察指标	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)			
	0	1	3	10
交配鼠数/只	24	24	24	24
受孕鼠数/只	22	22	22	21
分娩鼠数/只	22	22	22	21
受孕率/%	91.7	91.7	91.7	87.5
出产率/%	100.0	100.0	100.0	100.0
妊娠时间($\bar{x} \pm s$, d)	22.4 ± 0.7	22.4 ± 0.5	22.4 ± 0.5	22.3 ± 0.5
平均活仔数($\bar{x} \pm s$, 只)	13.8 ± 3.0	14.1 ± 2.7	12.5 ± 4.4	14.0 ± 3.6
孕鼠死亡率/%	0	0	0	0

2.3 补血生乳颗粒对未孕雌鼠解剖检查 妊娠期结束对未孕雌鼠进行剖检，心、肝、脾、肺、肾、子宫等主要脏器未见异常。哺乳期结束后处死母鼠并进行解剖检查，未见各组母鼠有特征性内脏畸形和异常。

2.4 补血生乳颗粒对仔鼠的影响 雌鼠围产期灌胃补血生乳颗粒, F1 仔鼠出生后对其外观进行检查, 补血生乳颗粒各剂量组仔鼠外观未见异常, 对 F1 仔鼠生长发育的影响见表 5。溶剂对照组及补血生乳颗粒各剂量组均有仔鼠死亡。溶剂对照组及补血生乳颗粒各给药组出生死仔数分别为 3、3、4、0 只, 计算出生存活率分别为 99.0%、99.0%、98.6%、100.0%。四日存活率分别为 97.0%、

99.0%、99.3%、98.6%, 哺乳存活率分别为 100.0%、100.0%、96.9%、100.0%。统计结果发现, 补血生乳颗粒各给药组的各项指标与溶剂对照组相比没有显著性差异 ($P > 0.05$)。对 F1 仔鼠体质量的影响见表 6, 结果发现, 补血生乳颗粒各给药组仔鼠的窝重和平均体质量与溶剂对照组相比没有显著性差异 ($P > 0.05$)。以上结果说明补血生乳颗粒对 F1 仔鼠的生长发育没有影响。

表 5 SD 大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验对 F1 仔鼠生长发育的影响

Tab. 5 Effects of BSG gavage on growth and development of SD rats' F1 offspring in perinatal toxicity test

观察指标	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)			
	0	1	3	10
检测窝数/窝	22	22	22	21
出生活仔数/只	304	311	275	295
出生死仔数/只	3	3	4	0
性别比(雌:雄)	1:1.01	1:0.90	1:1.17	1:1.12
外观畸形数/只	0	0	0	0
出生存活率/%	99.0	99.0	98.6	100.0
4 d 仔鼠数(剔除前)/只	295	308	273	291
4 d 仔鼠数(剔除后)/只	176	173	163	166
4 d 存活率/%	97.0	99.0	99.3	98.6
7 d 仔鼠数/只	176	173	163	166
14 d 仔鼠数/只	176	173	158	166
21 d 仔鼠数/只	176	173	158	166
哺乳存活率/%	100.0	100.0	96.9	100.0

表 6 SD 大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验对 F1 仔鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, g)Tab. 6 Effects of BSG gavage on body weight of SD rats' F1 offspring in perinatal toxicity test ($\bar{x} \pm s$, g)

指标	日龄/d	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)			
		0(n=22)	1(n=22)	3(n=22)	10(n=22)
窝重	0	95.3 ± 15.6	99.7 ± 18.3	89.5 ± 29.8	98.7 ± 21.8
	4	152.1 ± 19.4	163.9 ± 25.5	150.3 ± 50.7	158.1 ± 27.5
	7	156.2 ± 17.1	154.4 ± 14.4	149.3 ± 37.9	155.0 ± 18.8
	14	314.4 ± 23.6	315.8 ± 21.0	295.4 ± 76.8	305.7 ± 27.5
	21	518.9 ± 41.0	521.1 ± 40.2	480.4 ± 127.5	503.2 ± 46.8
平均体质量	0	7.0 ± 0.7(n=304)	7.1 ± 0.8(n=311)	7.3 ± 0.9(n=275)	7.1 ± 0.7(n=295)
	4	11.6 ± 1.5(n=295)	12.0 ± 1.9(n=308)	12.3 ± 1.7(n=273)	11.8 ± 1.9(n=291)
	7	19.5 ± 2.1(n=176)	19.8 ± 2.5(n=173)	20.0 ± 2.8(n=163)	19.6 ± 2.0(n=166)
	14	39.3 ± 3.0(n=176)	40.4 ± 3.6(n=173)	41.1 ± 3.6(n=158)	38.6 ± 2.3(n=166)
	21	64.9 ± 5.1(n=176)	66.6 ± 5.6(n=173)	66.8 ± 6.1(n=158)	63.6 ± 4.2(n=166)

2.5 对 F1 仔鼠生理发育指标和反射发育指标的影响 试验期间检测了仔鼠耳廓分离、出毛、门齿萌出、张耳、睁眼、阴道张开和包皮分离时间等指标, 结果表明, 补血生乳颗粒中剂量组仔鼠的睁眼时间与溶剂对照组相比虽有显著性差异 ($P < 0.01$), 但无毒理学意义, 其余指标与溶剂对照组相比没有显著性差异 ($P > 0.05$), 说明补血生乳颗粒对仔鼠的生理发育没有影响。试验期间观察了

仔鼠的平面翻正反射、负向趋地反射、视觉定向反射、听觉惊愕反射等指标。由统计结果可知, 补血生乳颗粒各给药组的以上指标与溶剂对照组相比没有显著性差异 ($P > 0.05$), 说明补血生乳颗粒对仔鼠的反射发育没有影响。结果见表 7。

2.6 对 F1 仔鼠行为、运动及学习记忆能力的影响 通过自主活动测试、转棒试验、跳台试验测试了仔鼠的自主活动、运动协调及学习记忆能力。由表 8 可

表7 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验对F1仔鼠生理及反射发育的影响 ($\bar{x} \pm s, d$)Tab. 7 Effects of BSG gavage on physiological development and reflection development of SD rats' F1 offspring in perinatal toxicity test ($\bar{x} \pm s, d$)

观察指标	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)			
	0(n=22)	1(n=22)	3(n=22)	10(n=21)
耳廓分离	2.0 ± 0.7	2.0 ± 0.7	1.8 ± 0.7	1.8 ± 0.4
平面翻正反射	1.6 ± 0.7	1.5 ± 0.6	1.2 ± 0.4	1.4 ± 0.6
负向趋地反射	8.3 ± 1.0	8.5 ± 1.0	8.0 ± 0.7	8.3 ± 0.8
出毛	9.1 ± 0.8	8.9 ± 0.9	8.5 ± 0.8	8.8 ± 0.7
门齿萌出	10.0 ± 1.0	9.4 ± 1.2	9.7 ± 1.0	10.0 ± 0.8
张耳	12.0 ± 0.7	11.9 ± 0.7	11.8 ± 0.7	11.7 ± 0.7
睁眼	14.0 ± 0.7	13.8 ± 0.8	13.3 ± 0.6 **	13.8 ± 0.5
听觉惊愕反射	12.1 ± 0.6	12.0 ± 0.2	12.1 ± 0.3	12.1 ± 0.3
视觉定向反射	16.9 ± 1.1	16.8 ± 0.9	16.3 ± 1.3	16.4 ± 0.9
阴道张开	32.6 ± 1.0	32.8 ± 1.2	32.2 ± 0.9 ^a	32.3 ± 1.5
包皮分离	40.1 ± 1.5	40.0 ± 1.2	40.1 ± 1.7	40.0 ± 1.1

注:与溶剂对照组比较, ** P < 0.01; a 为 n = 21

表8 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验对F1仔鼠行为测试指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab. 8 Effects of BSG gavage on behaviors of SD rats' F1 offspring in perinatal toxicity test ($\bar{x} \pm s$)

观察指标	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)			
	0(n=20)	1(n=20)	3(n=20)	10(n=20)
自主活动次数/次	129.5 ± 31.4	137.2 ± 36.6	122.4 ± 27.9	132.5 ± 48.3
转棒测试潜伏期/s	195.9 ± 120.1	227.2 ± 95.4	190.3 ± 120.4	248.9 ± 96.0
第1次训练潜伏期/s	219.1 ± 122.5	230.0 ± 109.0	213.5 ± 113.2	240.5 ± 109.6
第1次训练错误次数/次	1.0 ± 1.0	1.4 ± 1.2	0.8 ± 0.8	0.8 ± 0.4
跳台试验	161.9 ± 130.8	225.0 ± 119.0	173.5 ± 120.5	245.1 ± 108.2
第2次训练潜伏期/s	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.7 ± 1.1	0.6 ± 0.5
第2次训练错误次数/次	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.7 ± 1.1	0.6 ± 0.5
测试潜伏期/s	228.9 ± 116.7	151.8 ± 134.4 *	203.4 ± 135.3	130.8 ± 136.2 *
测试错误次数/次	0.4 ± 0.7	0.7 ± 0.7	0.6 ± 0.8	0.7 ± 0.6

注:与溶剂对照组比较, * P < 0.05

见,在自主活动测试及转棒试验中,补血生乳颗粒各给药组的相关指标与溶剂对照组相比没有显著性差异 ($P > 0.05$)。在跳台试验中,补血生乳颗粒低和高剂量组的测试潜伏期低于溶剂对照组 ($P < 0.05$),但该差异无明显量效关系,无毒理学意义。说明补血生乳颗粒对仔鼠的自主活动、运动协调及学习记忆能力没有影响。

2.7 对F1仔鼠脏器发育的影响 仔鼠出生6周后,每组取雌、雄各10只仔鼠进行解剖检查,检查心、肝、脾、肺、肾、睾丸(雄)、子宫(雌)等脏器,剖检发现溶剂对照组及低剂量组各有1只仔鼠右侧肾盂扩张,中剂量组有1只仔鼠右侧睾丸偏小,以上异常属自发性变异,无毒理学意义。其余各脏器色泽、质感正常。

称重脑、心、肝、脾、肺、肾、睾丸(雄)、子宫(雌)等脏器,并计算其脏器系数,结果见表9~10。补血生乳颗粒雌鼠的部分脏器质量

(心、脾、肾)及脏器系数(心)与溶剂对照组相比出现统计学差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),但这些指标的改变仅出现在雌鼠,雄鼠未见异常,且无量效关系,因此认为这些差异无毒理学意义。

2.8 对F1仔鼠生殖功能的影响

2.8.1 对雄性仔鼠生殖功能的影响 各组分别有10对雌雄仔鼠按1:1交配,在3个发情周期内交配率均为100%,受孕率分别为80.0%、100.0%、80.0%、100.0%,发现阴栓的平均天数分别为(2.9 ± 1.5)、(2.4 ± 1.6)、(2.3 ± 1.2)、(2.5 ± 1.0) d,结果表明,补血生乳颗粒各给药组的以上指标与溶剂对照组相比没有差异 ($P > 0.05$),说明补血生乳颗粒对F1代雄性仔鼠的生殖功能无影响。结果见表11。

2.8.2 对雌性仔鼠生殖功能的影响 雌仔鼠孕期未见早产、流产等异常现象。雌仔鼠受孕第15天解剖,计数黄体数、着床数、活胎数、死胎数、吸

表9 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验F1雌性仔鼠脏器质量及脏器系数($\bar{x} \pm s$)Tab. 9 Weight and histo of SD rats' F1 female offspring organs in perinatal toxicity test due to BSG gavage ($\bar{x} \pm s$)

观察指标	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)			
	0(n=10)	1(n=10)	3(n=10)	10(n=10)
体质量/g	195.4 ± 14.6	203.8 ± 12.1	205.1 ± 12.8	197.5 ± 13.1
脑/g	1.76 ± 0.07	1.82 ± 0.08	1.78 ± 0.08	1.79 ± 0.07
心/g	0.79 ± 0.09	0.95 ± 0.09 **	0.89 ± 0.05 *	0.91 ± 0.07 **
肝/g	8.78 ± 1.22	9.27 ± 0.88	9.23 ± 0.81	8.75 ± 0.68
脾/g	0.54 ± 0.08	0.65 ± 0.10 *	0.55 ± 0.07	0.64 ± 0.11
肺/g	1.08 ± 0.10	1.11 ± 0.13	1.13 ± 0.09	1.12 ± 0.08
肾/g	1.73 ± 0.16	1.85 ± 0.07	1.91 ± 0.11 **	1.82 ± 0.13
子宫/g	0.39 ± 0.10	0.41 ± 0.07	0.41 ± 0.08	0.48 ± 0.11
脏器系数				
脑	0.90 ± 0.07	0.89 ± 0.06	0.87 ± 0.08	0.91 ± 0.06
心	0.40 ± 0.03	0.47 ± 0.04 **	0.44 ± 0.02 *	0.46 ± 0.03 **
肝	4.48 ± 0.39	4.54 ± 0.21	4.50 ± 0.25	4.43 ± 0.11
脾	0.28 ± 0.03	0.32 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.32 ± 0.06
肺	0.55 ± 0.03	0.55 ± 0.06	0.55 ± 0.03	0.57 ± 0.03
肾	0.88 ± 0.06	0.91 ± 0.05	0.94 ± 0.07	0.92 ± 0.08
子宫	0.20 ± 0.04	0.20 ± 0.04	0.20 ± 0.04	0.24 ± 0.06

注:与溶剂对照组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01

表10 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验F1雄性仔鼠脏器质量及脏器系数($\bar{x} \pm s$)Tab. 10 BSG gavage on organ weight and histological evaluation of SD rats' F1 male offspring in perinatal toxicity test ($\bar{x} \pm s$)

观察指标	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)			
	0(n=10)	1(n=10)	3(n=10)	10(n=10)
体质量/g	277.4 ± 12.9	279.0 ± 21.3	285.0 ± 17.7	276.7 ± 20.8
脑/g	1.90 ± 0.05	1.95 ± 0.06	1.85 ± 0.10	1.88 ± 0.08
心/g	1.14 ± 0.06	1.19 ± 0.12	1.13 ± 0.09	1.16 ± 0.11
肝/g	12.77 ± 0.93	12.49 ± 1.55	12.45 ± 1.24	12.51 ± 1.30
脾/g	0.84 ± 0.20	0.89 ± 0.10	0.82 ± 0.15	0.87 ± 0.12
肺/g	1.39 ± 0.12	1.40 ± 0.13	1.41 ± 0.10	1.41 ± 0.11
肾/g	2.46 ± 0.15	2.43 ± 0.26	2.48 ± 0.19	2.39 ± 0.18
睾丸/g	2.42 ± 0.12	2.59 ± 0.21	2.48 ± 0.39	2.43 ± 0.17
脏器系数				
脑	0.68 ± 0.03	0.70 ± 0.05	0.65 ± 0.04	0.68 ± 0.04
心	0.41 ± 0.02	0.43 ± 0.03	0.40 ± 0.02	0.42 ± 0.02
肝	4.60 ± 0.20	4.47 ± 0.28	4.37 ± 0.33	4.52 ± 0.31
脾	0.30 ± 0.06	0.32 ± 0.04	0.29 ± 0.06	0.32 ± 0.05
肺	0.50 ± 0.03	0.50 ± 0.06	0.49 ± 0.03	0.51 ± 0.03
肾	0.89 ± 0.06	0.87 ± 0.06	0.87 ± 0.05	0.87 ± 0.04
睾丸	0.87 ± 0.07	0.93 ± 0.06	0.87 ± 0.13	0.88 ± 0.05

表11 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验对F1雄鼠生殖功能的影响($\bar{x} \pm s$)Tab. 11 Effect of BSG gavage on fertility of SD rats' F1 male offspring in perinatal toxicity test ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	合笼动物数/只(雌×雄)	交配率/%	受孕率/%	查到阴栓平均天数/d
溶剂对照组	0	10×10	100 (n=10)	80.0 (n=8)	2.9 ± 1.5 (n=8)
	1	10×10	100 (n=10)	100.0 (n=10)	2.4 ± 1.6 (n=10)
补血生乳颗粒	3	10×10	100 (n=10)	80.0 (n=8)	2.3 ± 1.2 (n=8)
	10	10×10	100 (n=10)	100.0 (n=10)	2.5 ± 1.0 (n=10)

收胎数,结果发现,补血生乳颗粒各剂量组的窝平均黄体数、平均着床数和平均活胎数等高于溶剂对照组,且中剂量组的窝平均黄体数、平均活胎数等指标与溶剂对照组相比出现显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$),但此统计学差异无毒理学意义。溶剂对照组及补血生乳颗粒各给药组的吸收胎率分

别为2.5%、1.2%、0.7%和0,各组分别有3、6、2、11只早死胎,补血生乳颗粒各剂量组的吸收胎率、死胎率等其余指标与溶剂对照组相比均无显著性差异($P > 0.05$)。结果见表12。

以上结果提示补血生乳颗粒对F1仔鼠的生殖功能及F2胎鼠的发育无影响。

表12 SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性试验对F1仔鼠雌鼠生殖功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab. 12 Effect of BSG gavage on fertility of SD rats' F1 female offspring in perinatal toxicity test ($\bar{x} \pm s$)

检查指标	补血生乳颗粒/(g·kg ⁻¹)			
	0	1	3	10
检测窝数/窝	8	10	8	10
黄体数/个	131	187	164	186
窝平均黄体数 ($\bar{x} \pm s$)	16.4 ± 2.6	18.7 ± 2.4	20.5 ± 3.3 **	18.6 ± 2.1
总着床数/个	122	166	150	160
平均着床数 ($\bar{x} \pm s$)	15.3 ± 3.6	16.6 ± 2.5	18.8 ± 2.3	16.0 ± 2.3
吸收胎				
窝数/窝	2	2	1	0
吸收胎数/个	3	2	1	0
吸收胎率/%	2.5	1.2	0.7	0
活胎				
窝数/窝	8	10	8	10
活胎总数/个	116	158	147	149
窝平均数 ($\bar{x} \pm s$)/窝	14.5 ± 3.5	15.8 ± 2.9	18.4 ± 2.4 *	14.9 ± 2.5
活胎率/%	97.5	96.3	98.7	93.1
死胎				
窝数/窝	3	5	2	6
早死胎数/个	3	6	2	11
死胎率/%	2.5	3.7	1.3	6.9

注:与溶剂对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;每一指标的窝数即是对应的动物数

3 结论

在本试验条件下, SD大鼠围产期灌胃补血生乳颗粒, 给药剂量为1、3、10 g/kg(分别相当于生药3.63、10.88、36.25 g/kg, 临床用量的7.7、23.1、76.9倍)时, 补血生乳颗粒对母鼠的体质量增长及摄食量没有影响, 对F1仔鼠的生理、反射发育、行为和学习记忆及生殖功能等无影响, 对F2胎鼠的发育无影响。补血生乳颗粒无围产期毒性作用^[9-10]。在本试验条件下, SD大鼠灌胃补血生乳颗粒围产期毒性的NOAEL(无可见有害作用水平)为10 g/kg(相当于生药36.25 g/kg, 约为临床用量的76.9倍)^[11]。

产后母乳缺乏是产科常见病, 我国每年分娩妇女有2 000多万, 而母乳喂养率非常低, 国际卫生组织大力提倡母乳育儿, 但产妇(尤其是职业女性)中缺如者甚多, 目前市场上尚缺乏有效药, 补血生乳颗粒作为进入国家中药保护品种的非处方药, 服用安全、方便, 疗效稳定、显著, 为气血亏虚所致的产后缺乳病患者提供了一种新的治疗选择^[12-14]。

参考文献:

- [1] 刘海智, 林孝文, 李瑞满, 等. 临床应用补血生乳颗粒的催乳效果分析[J]. 中国实用医药, 2016, 11(32): 34-36.
- [2] 李革新. 中医基础理论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 35-37.
- [3] 李卫民, 陈玉祥. 补血生乳颗粒治疗缺乳病临床疗效观察

[J]. 中国现代医学杂志, 1998, 8(4): 73-74.

- [4] 国家食品药品监督管理局. 药物生殖毒性研究技术指导原则 [EB/OL]. <http://www.sfda.gov.cn>, 2006.
- [5] ICH. Detection of Toxicology to Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility S5 (R2) [EB/OL]. <http://www.ich.org>, 2005.
- [6] Hayes A W. Principles and Methods of Toxicology [M]. 4th Ed. Taylor & Francis, Philadelphia, 2001: 1334-1369.
- [7] 国家食品药品监督管理局. 药物非临床研究质量管理规范 [EB/OL]. <http://www.sfda.gov.cn>, 2003.
- [8] 孙祖越. 新药临床前生殖药理毒理学规范化评价体系的建立和应用[J]. 中国科技成果, 2010, 11(15): 66-67.
- [9] 王治乔, 袁伯俊. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 1997.
- [10] Shang X F, Pan H, Wang X Z, et al. *Leonurus japonicas* Houtt.: ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(1): 14-32.
- [11] 国家食品药品监督管理局. 药品注册管理办法 [EB/OL]. <http://www.sfda.gov.cn>, 2007.
- [12] 吴瑜, 王树荣, 王根才, 等. 生血宁的生殖毒理学试验研究Ⅲ—围产期毒性试验[J]. 广东药学院学报, 2008, 24(3): 266-268.
- [13] 谢晓芳, 熊亮, 李丹, 等. 益母草注射液有效部位对大鼠离体子宫活动的影响[J]. 中成药, 2015, 37(5): 1103-1106.
- [14] Li X, Yuan F L, Zhao Y Q, et al. Effects of leonurine hydrochloride on medically induced incomplete abortion in early pregnancy rats[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2011, 159(2): 375-380.