

# 山楂代用茶对大鼠经口急性毒性实验

付满玲<sup>1</sup>, 黄雨佳<sup>2</sup>, 刘珉甬<sup>3</sup>, 郭辉梦<sup>4</sup>

(1.西南医科大学护理器械研发实验室, 四川 泸州 646000;

2.四川护理职业学院康复技术系, 四川 成都 610000;

3.泸州欣康生物科技有限公司, 四川 泸州 646000;

4.西南医科大学附属医院医学实验中心, 四川 泸州 646000)

**摘要:**目的 通过大鼠经口急性毒性动物实验评价山楂代用茶的安全性。方法 选择 20 只 SD 大鼠, 随机分为实验组和对照组, 各 10 只(雌雄各半), 实验组给予山楂代用茶最大浓度 0.3 g/ml、3 ml/只、2 次/d 灌胃, 对照组给予生理盐水 3 ml/只、2 次/d 灌胃, 连续观察 7 d。比较两组大鼠一般情况、有无死亡、血液生化、脏器系数及病理组织。结果 ①一般情况: 两组大鼠排尿、粪便、活动度均正常, 两组第 1、3、5、7 天进食量及体重比较, 差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ ); ②两组均无大鼠死亡; ③血液生化指标: 两组 ALT、AST、AST/ALT、TP、ALB、GLO、TBIL、ALP、Urea、UA 及 Crea 比较, 差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ ); ④大体解剖: 解剖后肉眼观察到两组心、肝、肾、肺体积、颜色、质地均无异常。脏器系数结果显示, 两组雌性、雄性大鼠心、肝、脾、肺、肾系数比较, 差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 且皆符合相应月龄大鼠的脏器系数; ⑤病理观察: 两组肝脏均正常, 仅见肝细胞中央汇管区有少量的炎细胞浸润; 两组肾小管结构正常, 皮质髓质分界清, 肾小管上皮、淋巴细胞未见病理性改变。结论 山楂代用茶对大鼠的日累积剂量为临床成人(按 60 kg 计算)拟推荐日用剂量的 108 倍, 在此剂量下大鼠一般情况、血液生化指标、肝脏、肾脏的病理组织均无毒性反应, 提示山楂代用茶对小鼠无急性毒性作用。

**关键词:** 山楂代用茶; 高脂血症; 经口急性毒性实验

中图分类号: R961.1

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.01.024

文章编号: 1006-1959(2020)01-0077-04

## Experimental on Oral Acute Toxicity of Hawthorn Substitute Tea on Rats

FU Man-ling<sup>1</sup>, HUANG Yu-jia<sup>2</sup>, LIU Min-yong<sup>3</sup>, GUO Hui-meng<sup>4</sup>

(1.Nursing Device Research and Development Laboratory, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China;

2.Department of Rehabilitation Technology, Sichuan Vocational College of Nursing, Chengdu 610000, Sichuan, China;

3.Luzhou Xinkang Biotechnology Co., Ltd., Luzhou 646000, Sichuan, China;

4.Medical Experimental Center, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China)

**Abstract:** Objective To evaluate the safety of hawthorn substitute tea by oral acute toxicity animal experiments in rats. Methods 20 SD rats were selected and randomly divided into an experimental group and a control group, 10 rats each (male and female half). The experimental group was given a hawthorn substitute tea with a maximum concentration of 0.3 g/ml, 3 ml/one, 2 times/d. The control group was administrated with saline 3 ml/one, 2 times/d gavage, 7 d continuous observation. The general conditions, death, blood biochemistry, organ coefficients and pathological tissues of the two groups of rats were compared. Results ① General situation: The urine, feces, and activity of the two groups of rats were normal. There was no significant difference in the food intake and weight of the two groups on 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 5<sup>th</sup>, and 7<sup>th</sup> days ( $P>0.05$ ); ② No rats died in both groups; ③ Blood biochemical indicators: there was no significant difference in comparison of ALT, AST, AST/ALT, TP, ALB, GLO, TBIL, ALP, Urea, UA and Crea between the two groups ( $P>0.05$ ); ④ Gross anatomy: After the dissection, the heart, liver, kidney, lung volume, color, and texture of the two groups were not abnormal. The results of organ coefficients showed that there was no significant difference in the coefficients of heart, liver, spleen, lung, and kidney of female and male rats between the two groups ( $P>0.05$ ), and all were consistent with the organ coefficients of the corresponding month-old rats; ⑤ Pathological observation: The livers of the two groups were normal. Only a small amount of inflammatory cells infiltrated in the central manifold area of the hepatocytes were observed. The renal tubular structure was normal, the cortex and medulla were clearly demarcated, and the renal tubular epithelium and lymphocytes were not changed. Conclusion The daily cumulative dose of Hawthorn substitute tea for rats is 108 times the recommended daily dose for clinical adults (calculated based on 60 kg). At this dose, the general condition of rats, blood biochemical indicators, pathological tissues of liver and kidney were all non-toxic, suggesting that the hawthorn substitute tea has no acute toxicity on mice.

**Key words:** Hawthorn substitute tea; Hyperlipidemia; Oral acute toxicity test

高脂血症(Hyperlipidemia)指血清总胆固醇 $\geq 5.2$  mmol/L, 甘油三酯 $\geq 1.7$  mmol/L, 低密度脂蛋白胆固醇 $\geq 3.4$  mmol/L, 非高密度脂蛋白胆固醇 $\geq 4.1$  mmol/L 或高密度脂蛋白胆固醇 $<1.0$  mmol/L 几

项指标中符合其中一项即可诊断为高脂血症<sup>[1]</sup>。目前高脂血症已经成为一种严重的全身性代谢性紊乱疾病, 同时也是冠心病、心肌梗死和动脉粥样硬化等心脑血管疾病的主要危险因素之一<sup>[2]</sup>。中国居民平均血清总胆固醇水平正逐渐升高<sup>[3]</sup>, 对人的整体健康状况造成巨大威胁<sup>[4]</sup>, 因此防治高脂血症十分重要。山楂代用茶是依据传统医学“药食同源”理念, 以山楂为主要组方研发的多复方产品, 具有防治高脂血症的作用。为了验证其安全性, 进一步开展产品研

基金项目: 泸州市龙马潭区科技计划(编号: 2018s)

作者简介: 付满玲(1995.4-), 女, 四川泸州人, 硕士研究生, 主要从事中药学研究

通讯作者: 郭辉梦(1987.10-), 女, 四川泸州人, 硕士, 讲师, 主要从事药物基础研究

发,本研究采用大鼠经口急性毒性动物实验对其进行探究,现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 选择 SD 大鼠 20 只,体重( $200\pm 20$ )g,雌雄各半[由西南医科大学动物实验中心提供,实验动物生产许可证号 SCXK(川)2013-17],本研究已通过西南医科大学动物实验伦理审查,遵照动物福利进行实验,实验时间为 2019 年 5 月 3 日~23 日,饲养温度 20~25℃,湿度 40%~70%。按照随机数字表法将大鼠分为观察组及对照组并编号,每组 10 只,雌雄各半,适应性喂养 1 周,均单笼饲养,正常饮水进食。

**1.2 药品及器材** 生理盐水、山楂代用茶(成分:山楂、葛根、决明子、荷叶等,由泸州岷宏科技有限公司提供,生产证号 QS510514020181)、5 ml 空针、ES461 花潮(HC)电子称、ES-06B 花潮(HC)电子称、16 号灌胃针、烧杯、采血针、生化试管、纱布、手术器械。

**1.3 方法** 实验组实验前 12 h、结束前禁食不禁水,实验第 1 天 9:00 给予山楂代用茶粉碎悬浊液 0.3 g/ml,灌胃 3 ml/只,间隔 6 h 后,15:00 再次给予山楂代用茶粉碎悬浊液 0.3 g/ml,灌胃 3 ml/只,观察 7 d 后,2%戊巴比妥钠按 1 ml/100 g 剂量腹腔注射麻醉,抽取腹主动脉血,实施安乐死,摘除心脏、肝脏、脾脏、肾脏、肺脏,仔细剔除无关组织,肉眼观察心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏的体积、颜色、质地有无异常改变并称重,将肝脏、肾脏用 10%甲醛进行固定、石蜡包埋切片、HE 染色后作光镜下检查。若第 2 次灌

胃后 7 d 内出现濒死及死亡动物则及时进行大体解剖,当发现器官出现体积、颜色、质地等改变时,则对改变器官进行组织病理学检查<sup>[5-8]</sup>。对照组实验前 12 h、结束前禁食不禁水,实验第 1 天 9:00 生理盐水灌胃,3 ml/只,间隔 6 h 后,15:00 再次给予生理盐水灌胃,3 ml/只,其余同实验组。

**1.4 观察指标** ①比较两组一般情况:血尿:有无肉眼血尿;大便:每天观察大便性状;活动度:每天观察活动度(正常、减少、躁动)有无变化;进食量:隔天 18:00 称取进食量;体重:隔天 18:00 称重 1 次。②记录两组死亡情况。③比较两组血液生化:谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、AST/ALT、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)、总胆红素(TBIL)、碱性磷酸酶(ALP)、尿素(Urea)、尿酸(UA)、肌酐(Crea)。④肉眼观察两组脏器:大鼠心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏体积、颜色、质地。⑤称取小鼠的脏器重量,取得脏器系数:包括心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏湿重。⑥光镜下病理组织观察两组肝组织结构、肾皮、髓质分界、肾小管结构、肾小管上皮、肾淋巴细胞。

**1.5 统计学方法** 采用 SPSS 19.0 进行统计分析,计量资料采用( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,显著性检验标准  $\alpha=0.05$ , $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组一般情况比较** 两组大鼠排尿、粪便、活动度均正常,两组第 1、3、5、7 天进食量及体重比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1、表 2。两组均无大鼠死亡。

表 1 两组进食量比较( $\bar{x}\pm s$ ,g)

组别	<i>n</i>	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
对照组	10	22.03±2.92	20.70±2.00	23.32±3.92	21.80±7.27
实验组	10	19.65±7.23	17.70±3.34	20.48±4.16	21.60±3.10
<i>t</i>		0.971	1.202	1.574	0.083
<i>P</i>		0.060	0.133	0.130	0.942

表 2 两组体重比较( $\bar{x}\pm s$ ,g)

组别	<i>n</i>	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
对照组	10	206.40±7.96	224.60±8.72	231.80±13.85	244.80±20.00
实验组	10	201.80±16.97	219.30±14.64	223.20±18.05	233.00±20.68
<i>t</i>		0.782	0.983	1.202	1.306
<i>P</i>		0.451	0.344	0.250	0.213

**2.2 两组血液生化比较** 两组 ALT、AST、AST/ALT、TP、ALB、GLO、TBIL、ALP、Urea、UA 及 Crea 比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。

**2.3 两组脏器比较** 解剖后肉眼观察到两组心、肝、肾、肺体积、颜色、质地均无异常。脏器系数结果显示,两组雌性、雄性大鼠心、肝、脾、肺、肾系数比较,

差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),且皆符合相应月龄大鼠的脏器系数<sup>[9-11]</sup>,见表 4。

**2.4 两组病理组织比较** 病理结果显示,两组肝脏均正常,仅见肝细胞中央汇管区有少量的炎细胞浸润;两组肾小管结构正常,皮髓质分界清,肾小管上皮、淋巴细胞未见病理性改变,见图 1。

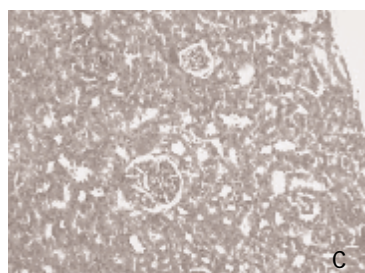
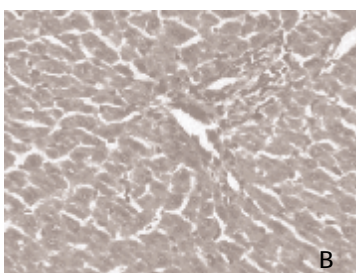
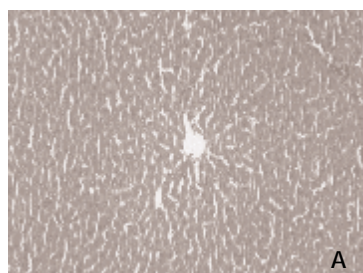
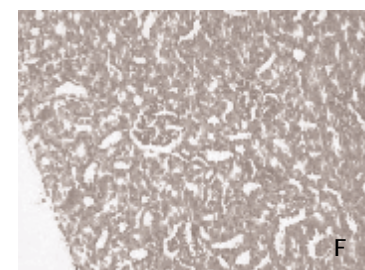
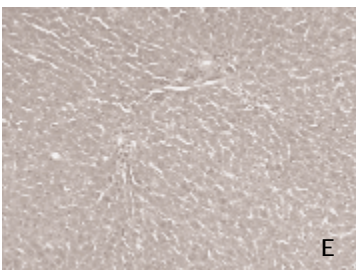
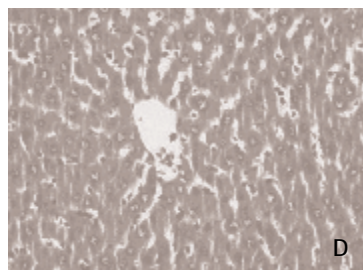
表 3 两组血液生化比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	AST/ALT	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLO(g/L)
对照组	10	34.56±8.84	125.56±49.15	4.17±0.97	57.90±4.63	36.53±2.62	23.27±5.94
实验组	10	35.68±10.04	121.81±25.73	3.49±0.47	58.17±3.59	35.34±1.70	22.83±2.50
t		-0.271	1.750	2.020	-0.150	1.202	0.220
P		0.790	0.101	0.061	0.891	0.243	0.832

组别	TBIL( $\mu$ mol/L)	ALP(U/L)	Urea(mmol/L)	UA( $\mu$ mol/L)	Crea( $\mu$ mol/L)
对照组	0.58±0.35	220.02±121.28	7.19±1.24	60.29±17.94	25.64±3.55
实验组	0.64±0.44	192.65±111.98	7.61±1.78	58.83±17.31	28.46±5.34
t	-0.341	0.520	-0.621	0.192	-0.392
P	0.742	0.610	0.540	0.863	0.184

表 4 两组大鼠脏器系数比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	雌性					雄性				
		心	肝	脾	肺	肾	心	肝	脾	肺	肾
对照组	10	0.41±0.04	3.49±0.12	0.38±0.12	0.58±0.05	0.92±0.09	0.36±0.05	2.98±0.41	0.29±0.04	0.59±0.17	0.73±0.05
实验组	10	0.39±0.06	3.40±0.49	0.36±0.07	0.67±0.05	0.88±0.08	0.42±0.07	3.42±0.61	0.39±0.17	0.68±0.07	0.76±0.10
t		-1.841	-1.352	-1.330	-1.662	-1.249	0.738	0.411	0.360	-2.830	0.433
P		0.510	0.113	0.172	0.823	0.732	0.592	0.292	0.061	0.652	0.310

对  
照  
组实  
验  
组

注:A、D:肝脏正常;B、E:肝细胞中央汇管区有少量的炎细胞浸润;C、F:肾小管结构正常,皮髓质分界清

图 1 两组肝脏、肾脏病理组织比较(HE×200)

### 3 讨论

目前,高脂血症在全球的患病率大幅增高,在最常见的慢性病中排名第 2,且其与心脑血管疾病、糖尿病、胰腺疾病等有极大的关联<sup>[12]</sup>,因此控制高脂血症具有重要的临床意义。临床治疗高脂血症多采用他汀类药物,其疗效确切,应用广泛<sup>[13]</sup>,但长期服用具有一定的毒副作用。中医注重复方治疗,如使用葛根芩连汤<sup>[14]</sup>、山荷降脂汤<sup>[15]</sup>等,治疗效果良好,可明显降低血脂、转氨酶水平,改善血液流变学,且安全性较高。在中医中药的思路启发下,本研究团队开发的山楂代用茶由山楂、葛根、决明子、荷叶等组成,山楂中的总黄酮、三萜酸、植物甾醇、果胶五糖等活

性物质具有降血脂作用<sup>[16]</sup>;葛根含有葛根素、葛根素木糖甙、大豆黄酮等化学成分,具有降脂、改善心脑血管循环的作用<sup>[17]</sup>;决明子含大黄素、大黄酸、大黄素蒽酮等化学成分,有平喘、利胆、保肝、降压、降低血清胆固醇功效<sup>[18]</sup>;荷叶含黄酮类、生物碱类成分,可以降低血清总胆固醇和甘油三酯<sup>[19]</sup>。

本研究通过评价山楂代用茶对大鼠的急性毒性作用,旨在为山楂代用茶的推广应用提供依据。本次研究结果显示,两组大鼠进食量和体重基本一致,且均未出现死亡;从血液生化指标分析,两组 ALT、AST、AST/ALT、TP、ALB、GLO、TBIL、ALP、Urea、UA 及 Crea 比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ );肉眼

观察发现两组大鼠心、肝、肾、肺体积、颜色、质地均无异常,初步说明山楂代用茶对大鼠无毒性作用。脏器系数是实验动物某脏器的重量与其体重之比值,即脏体比,是新药临床应用前毒理学评价的重要指标,对确认药物毒性对靶器官的作用有重要参考价值<sup>[1]</sup>。本研究中,两组脏器系数比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),且皆符合相应月龄大鼠的脏器系数。从病理组织上来看,实验组仅见肝细胞中央汇管区有少量的炎细胞浸润,提示山楂代茶可能有一定肝脏毒性,但对照组肝细胞中央汇管区同样有少量的炎细胞浸润,即可排除山楂代茶造成肝脏毒性的可能。考虑主要原因可能为实验室及饲养盒清洁消毒未达标,引起急性感染、缺氧等。

总之,本次实验中实验组大鼠山楂代用茶日累积剂量为临床成人(按 60 kg 计算)拟推荐日用剂量的 108 倍,在此剂量下大鼠一般情况、血液生化指标、肝脏、肾脏的病理组织显示均无毒性反应,其结果可以证明,此剂量的山楂代用茶对大鼠无毒性作用,可以为临床实验安全用药提供参考依据。但由于实验条件和技术的限制,在今后的实验中应采用水提物灌胃,提高药物浓度加大剂量,并且取得更全面精确的脏器系数以进一步确定山楂代用茶的安全性。

#### 参考文献:

- [1] 诸骏仁,高润霖,赵水平,等.中国成人血脂异常防治指南(2016 年修订版)[J].中国循环杂志,2016,31(10):937-953.
- [2] 周盼盼,杨如意.高脂血症的中西医结合治疗研究进展[J].中医临床研究,2018,10(34):145-148.
- [3] 吴兆苏,姚崇华,赵冬,等.11 省市队列人群心血管病发病前瞻性研究 II.个体危险因素聚集与心血管病发病的关系[J].中华心血管病杂志,2001(4):57-61.
- [4] 武阳丰,周北凡,李莹,等.我国中年人群心血管病主要危险因素流行现状及从 80 年代初至 90 年代末的变化趋势 [J].中华心血管病杂志,2001(2):13-18.
- [5] 国家食品药品监督管理局.中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则[S].2005:3-4.
- [6] 国家食品药品监督管理局.药品注册管理办法(局令第 28 号)[Z].2007-7-10.
- [7] 徐叔云.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2002.
- [8] 王庆利,王海学,马磊.急性毒性试验的研究进展[J].中国新药杂志,2009,18(21):2024-2027.
- [9] 王尧,唐大轩,葛麟,等.不同月龄 SPF 级 SD 雌性大鼠主要脏器参数的研究[J].四川生理科学杂志,2009,31(4):155-156.
- [10] 王尧,唐大轩,葛麟,等.不同月龄 SPF 级 SD 雄性大鼠主要脏器参数的测定[J].实验动物科学,2010,27(1):13-15.
- [11] 董延生,尹纪业,陈长,等.SD 大鼠脏器重量及脏器系数正常参考值的确立与应用[J].军事医学,2012,36(5):351-353.
- [12] 马贵萍,章怡祎.高脂血症的中医药治疗研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(14):2116-2119.
- [13] 王筱菁.他汀类药物用于治疗高脂血症患者的疗效及不良反应的观察与护理体会[J].首都食品与医药,2019,26(15):178-179.
- [14] 熊兴江.葛根苓连汤方证及其在糖尿病、高血压、高脂血症、肥胖中的运用[J/OL].中国中药杂志:1-7[2019-10-15].<https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20190829.501>.
- [15] 卓冰帆,张彦卿,张敏.山荷降脂汤治疗痰湿内阻型高脂血症合并脂肪肝的临床研究[J].时珍国医国药,2019,30(6):1426-1428.
- [16] 王玲,吴军林,吴清平,等.山楂降血脂作用和机理研究进展[J].食品科学,2015,36(15):245-248.
- [17] 张晓娟,周海纯.葛根化学成分,现代药理及临床应用研究进展[J].中医药信息,2017,34(1):124-126.
- [18] 何菊英,刘松青.决明子的药理作用及其临床应用[J].药学实践杂志,2001,19(2):111-113.
- [19] 王福刚,曹娟,刘斌,等.荷叶的化学成分及其药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2010,21(9):2339-2340.

收稿日期:2019-10-14;修回日期:2019-10-21

编辑/成森