中图分类号：R932；R285.5　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2024)13－0045－07
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2024.13.011

小儿复方鸡内金咀嚼片对幼龄大鼠 28 d 重复灌胃给药毒性研究

郭中华[1]，李更生[2]，其木格[1]，苏风山[1]，张立壮[1]，马　爽[1]

（1. 河南太龙药业股份有限公司，河南 郑州　450001；　2. 河南省中医药研究院，河南 郑州　450001）

摘要：目的　为小儿复方鸡内金咀嚼片临床安全用药的剂量设计和临床毒副反应监测提供参考。**方法**　取幼龄 SD 大鼠 120 只，随机分为溶剂对照组（A 组，羧甲基纤维素钠），小儿复方鸡内金咀嚼片低、中、高剂量组（B_1 组、B_2 组、B_3 组，六神曲鸡内金混合粉以生药计 0.375，1.125，3 g/kg，相当于临床拟用剂量的 6 倍、18 倍、48 倍），按体质量每 100 g 灌胃给药 1 mL，连续 4 周，恢复期 30 d，给药结束和恢复期结束时剖杀，进行一般生理指标观察、临床病理学检查、组织病理学检查、神经行为测试。**结果**　与 A 组比较，给药结束时雌鼠 B_1 组的平均红细胞血红蛋白浓度显著降低（$P<0.05$）；雌鼠 B_2 组、B_3 组的甘油三酯均显著降低（$P<0.05$），雌鼠 B_3 组的氯离子浓度显著升高（$P<0.05$），雌鼠 B_1 组的钙离子浓度显著降低（$P<0.05$），雄鼠 B_1 组的乳酸脱氢酶水平显著升高（$P<0.05$），雄鼠 B_3 组的总胆固醇显著降低（$P<0.05$），雄鼠 B_1 组、B_3 组的钠离子浓度均显著升高（$P<0.05$），但上述指标改变均无毒理学意义。各组大鼠组织病理学检查均未见与给药相关的蓄积性或延迟性毒性病理改变。**结论**　小儿复方鸡内金咀嚼片未见明显毒性反应剂量为 3 g/kg，相当于临床拟用剂量的 48 倍。

关键词：小儿复方鸡内金咀嚼片；重复给药毒性试验；幼龄 SD 大鼠

Toxicity of Child Compound Endothelium Corneum Chewable Tablets by Repeated Gavage for 28 d in Young Rats

GUO Zhonghua[1], LI Gengsheng[2], QI Muge[1], SU Fengshan[1], ZHANG Lizhuang[1], MA Shuang[1]

(1. Henan Taloph Pharmaceutical Co., Ltd., Zhengzhou, Henan, China　450001;　2. Henan Institute of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China　450001)

Abstract: Objective　To provide a reference for the clinical safe dose design and clinical toxicity monitoring of Child Compound Endothelium Corneum Chewable Tablets (CCECCT). **Methods**　A total of 120 young SD rats were selected and randomly divided into the solvent control group (group A, sodium carboxymethyl cellulose), the low－, medium－, and high－dose CCECCT groups (groups B_1, B_2, B_3, Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Powder with doses of 0.375, 1.125, and 3 g/kg of raw materials respectively, equivalent to 6 times, 18 times, and 48 times the clinical intended dose). The administration volume was 1 mL/100 g by intragastric administration for 4 weeks, and the recovery period was 30 d. At the end of the drug administration and recovery period, the autopsy was performed for general physiological indicators observation, clinical pathological examination, histopathological examination, and neurobehavioral testing. **Results**　At the end of the drug administration, compared with those in group A, the mean hemoglobin concentration of female mice in group B_1 significantly decreased ($P<0.05$); the triglycerides of female mice in groups B_2 and B_3 significantly decreased ($P<0.05$), the chloride ions concentration of female mice in group B_3 significantly increased ($P<0.05$), the calcium ion of female mice in group B_1 significantly decreased ($P<0.05$), the lactate dehydrogenase of male mice in group B_1 significantly increased ($P<0.05$), the total cholesterol of male mice in group B_3 significantly decreased ($P<0.05$), while the sodium ion concentration of male mice in groups B_1 and B_3 significantly increased ($P<0.05$). However, the changes in the above indicators had no toxicological significance, and no accumulative or delayed toxic pathological changes related to drug administration were observed in the tissue pathology of rats in each group. **Conclusion**　The no observed adverse effect level (NOAEL) for CCECCT is 3 g/kg, which is 48 times the clinical intended dose.

Key words: Compound Endothelium Corneum Chewable Tablets; repeated dose toxicity test; young SD rats

重复给药毒性试验也称长期毒性试验，是描述动物重复接受受试药物后的毒性特征，是非临床安全性评价的重要内容，可判断动物是否发生毒性反应及毒性靶器官或靶组织，确定无毒反应剂量，为临床拟用安全剂量提供参考[1]。小儿复方鸡内金咀嚼片由鸡内金和六神曲组成，具有健脾开胃、消食化积功效，可用于治疗小儿厌食症[2－7]、小儿功能性消化不良[8－11]、小儿功能性便秘[12]、小儿消化不良性腹泻[13]、儿童胆汁反流性胃炎[14]等症。有研究表明，小儿复方鸡内金咀嚼片可显著提高功能性消化不良模型大鼠的胃肠道动力，其作用机制与通过脑肠轴调控神经肽 Y－信号传导与转录因子 3－丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶（NPY/Stat3/Akt）

第一作者：郭中华，男，大学本科，高级工程师，研究方向为中药新产品开发，（电话）0371－67993653（电子信箱）gwnag68@163.com。

活性抑制剂信号通路，从而调控肠道菌群有关，同时具有显著抑制肠胃微炎症的作用[15]，但尚缺乏小儿复方鸡内金咀嚼片的长期毒性研究。考虑到相应发育阶段的幼年动物的发育特征与儿童的发育特征相似，本研究中采用幼龄动物进行小儿复方鸡内金咀嚼片长期毒性研究，旨在为临床安全用药提供参考。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试药与动物

仪器：BSA2201－CW型电子天平（北京赛多利斯仪器系统有限公司）；MEK－7222K型全自动五分类血液分析仪（日本光电工业株式会社）；Olympus Bx53型显微镜（奥林巴斯＜深圳＞工业有限公司）；STAGO Compact Mac型全自动凝血仪（北京思塔高诊断产品贸易有限责任公司）；BD FACSVERDE型流式细胞仪（碧迪医疗器械＜上海＞有限公司）；AU480型全自动生化分析仪（贝克曼库尔特国家贸易＜上海＞有限公司）；爱诺科宝500型尿分析仪（德国 Analyticon Biotechnologies AG公司）；ZS－RDM型大小鼠转棒疲劳测试仪、1056018型大小鼠自主活动视频分析系统（北京众实迪创科技发展有限责任公司）；动物行为测试系统跳台仪（中国医学科学院）。

试药：六神曲鸡内金混合粉（河南太龙药业股份有限公司，批号为170701）；羧甲基纤维素钠（西陇化工股份有限公司，批号为120626）；苏木精－伊红（HE，上海宏兹实业有限公司，批号为131205）；凝血因子分析试剂（Siemens Healthcare Diagnoses Products Gmbh，批号为565685）。

动物：SPF级SD大鼠，120只，雌雄各半，3周龄，雌鼠体质量40～52 g，雄鼠体质量40～57 g，购自北京维通利华技术有限公司，实验动物生产许可证号为SCXK（京）－2016－0006，动物质量合格证号为1140070027。饲养于屏障环境设施中，温度20～26 ℃，相对湿度40%～70%，明暗交替（12 h / 12 h），自由饮食。

1.2 方法[16－25]

分组与给药：取SD大鼠120只，雌、雄各半，设溶剂对照组（A组，羧甲基纤维素钠），六神曲鸡内金混合粉低、中、高剂量组（B_1组、B_2组、B_3组，0.375，1.125，3 g / kg，相当于临床拟用剂量的6倍、18倍、48倍），雌雄各半，各30只。按体质量每100 g灌胃给药，1 mL，连续28 d，恢复期30 d。给药结束各组雌鼠、雄鼠分别剖杀10只；停药30 d后，各组雌鼠、雄鼠分别剖杀5只。

一般生理指标观察：每天进行2次笼旁观察；每周进行1次临床观察；给药期每周测定2次体质量，恢复期每周测定1次体质量；每周测定1次摄食量、顶臀长度及胫骨长度；对出生后第28天的雌鼠和第35天的雄鼠每天进行发育指标（阴道开口时间和包皮分离时间）观察。

临床病理学检查：分别在给药结束和恢复期结束时采血检测，检测指标包括血液学指标［白细胞（WBC）、红细胞（RBC）、血红蛋白浓度（HGB）、红细胞压积（HCT）、平均红细胞体积（MCV）、平均红细胞血红蛋白含量（MCH）、平均红细胞血红蛋白浓度（MCHC）、红细胞体积分布宽度（RDW）、血小板（PLT）、血小板压积（PCT）、平均血小板体积（MPV）、血小板体积分布宽度（PDW）、淋巴细胞（LYM）、单核细胞比例（MON）、中性粒细胞百分比（Neut）、嗜酸性粒细胞（EOS）、嗜碱性粒细胞（BAS）、网织红细胞（Reti）］、免疫学指标［T淋巴细胞亚群CD_3^+、CD_4^+、CD_8^+、CD_4 / CD_8］和生化指标［丙氨酸氨基转移酶（ALT）、白蛋白（ALB）、球蛋白（GLB）、白球比（A/G）、总胆红素（TBiL）、血清碱性磷酸酶（ALP）、乳酸脱氢酶（LDH）、血清肌酸激酶（CK）、葡萄糖（Glu）、尿素（UREA）、尿酸（UA）、肌酐（CREA）、总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、钾（K）、钠（Na）、氯（Cl）、钙（Ca）］、血凝指标［血浆凝血酶原时间（PT）、活化部分凝血活酶时间（APTT）］。在给药结束和恢复期结束剖杀前1 d进行代谢笼采尿，进行尿液检测指标［颜色、透明度、尿蛋白（PRO）、Glu、尿酮体（KET）、尿胆红素（BIL）、pH］测定。

组织病理学检查：全部预定解剖的动物和濒死动物，腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉，完全麻醉后，测量顶臀长度，腹主动脉放血处死，然后解剖。肉眼检查组织器官有无异常，称定心脏、大脑、肺脏、卵巢、肝脏、脾脏等器官的质量，计算脏器系数；将心脏、大脑、肺脏、胃等组织器官用10%中性甲醛固定保存，经修块取材、逐级乙醇脱水、石蜡包埋、转轮切片机切片、HE染色，光镜下检查。

神经行为测试：在给药结束和恢复期结束前后2～3 d内进行转棒测试试验、自主活动测试试验和跳台测试试验，记录自主活动总路程（m）、自主活动平均速度（m / s）、转棒潜伏期（s）、跳台潜伏期（s）和跳台错误次数。

1.3 统计学处理

采用SPSS 12.0统计学软件分析。计量资料以$\bar{X} \pm s$表示，采用Kolmogorov－Smirnov法进行正态检验，采用Levene中位数法进行方差齐性检验；采用One－Way ANOVA进行单因素方差分析，根据方差分析结果进行Dunnettt检验。等级资料采用Kruskal－wallis检验，总体差异有统计学意义时采用Mann－Whitney U检验。$P < 0.05$为差异有统计学意义

2 结果

2.1 一般生理指标观察

A组、B_1组、B_2组、B_3组大鼠给药期及恢复期的笼旁

观察及临床观察指标，以及体质量、顶臀长度、胫骨长度、阴道开口时间、包皮分离时间、摄食量均相当（$P>0.05$）。

2.2 临床病理学检查

2.2.1 血液学指标

与雌鼠A组比较，给药结束时雌鼠B_1组的MCHC显著降低（$P<0.05$），但无剂量效应关系，其改变无毒理学意义；雌鼠B_2组和B_3组均无显著差异（$P>0.05$）。与雄鼠A组比较，雄鼠B_1组、B_2组、B_3组各指标均无显著差异（$P>0.05$）。详见表1和表2。恢复期结束，各给药组雄鼠和雌鼠各项指标和A组无显著差异（$P>0.05$）。

表1 六神曲鸡内金混合粉对雌鼠给药结束时血液学指标的影响（$\overline{X}\pm s$）

Tab. 1 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on hematological indicators of female mice at the end of the drug administration（$\overline{X}\pm s$）

指标	A组	B_1组	B_2组	B_3组
WBC（$\times10^9$/L）	2.0±0.8	1.9±0.6	1.8±0.6	1.9±0.7
RBC（$\times10^{12}$/L）	5.48±0.54	5.32±0.27	5.27±0.58	5.15±0.41
HGB（g/L）	134±9	125±6	129±13	127±8
HCT（%）	32.9±2.3	31.7±1.5	31.8±3.4	31.2±1.9
MCV（fL）	60.3±1.9	59.7±1.6	60.5±2.1	60.6±2.0
MCH（pg）	24.6±1.2	23.6±1.0	24.6±1.3	24.6±1.2
MCHC（g/L）	408±9	395±9*	406±13	406±9
RDW（%）	12.5±0.6	12.1±0.9	12.2±0.6	12.6±0.5
PLT（$\times10^9$/L）	582±37	585±63	559±67	561±57
PCT（%）	0.40±0.04	0.40±0.05	0.38±0.05	0.38±0.04
MPV（fL）	6.9±0.4	6.9±0.2	6.8±0.4	6.8±0.2
PDW（%）	12.1±0.5	12.1±0.4	11.9±0.4	11.9±0.3
LYM（%）	83.6±9.1	87.8±4.5	87.0±5.6	85.9±5.8
MON（%）	0.4±0.5	0.7±0.5	0.3±0.6	0.4±0.6
Neut（%）	12.1±7.1	8.6±5.0	10.3±4.4	9.3±4.6
EOS（%）	4.0±2.1	2.9±2.2	2.4±1.6	4.3±1.9
BAS（%）	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Reti（‰）	14±2	15±1	15±1	15±1

注：给药结束时B_1组为9只大鼠，1只在麻醉过程中死亡。表3、表5、表7、表9、表11同。与A组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$。表5和表6同。

Note: At the end of the drug administration, there were only nine rats in group B_1, as one of them died during anesthesia (for Tab. 1, 3, 5, 7, 9, 11). Compared with those in group A, *$P<0.05$, **$P<0.01$ (for Tab. 1, 5 - 6).

2.2.2 免疫学指标

与A组比较，给药结束及恢复期结束时B_1组、B_2组、B_3组雌鼠和雄鼠各项指标均无显著差异（$P>0.05$）。详见表3和表4。

表2 六神曲鸡内金混合粉对雄鼠给药结束时血液学指标的影响（$\overline{X}\pm s$）

Tab. 2 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on hematological indicators of male mice at the end of drug administration（$\overline{X}\pm s$）

指标	A组	B_1组	B_2组	B_3组
WBC（$\times10^9$/L）	2.6±1.2	2.6±0.7	3.2±0.8	2.8±1.1
RBC（$\times10^{12}$/L）	5.42±0.51	5.40±0.31	5.59±0.46	5.59±0.28
HGB（g/L）	123±7	122±4	130±13	127±5
HCT（%）	33.2±2.6	33.0±1.2	34.6±2.4	33.9±1.6
MCV（fL）	61.2±1.8	61.2±2.0	62.0±2.9	60.6±1.9
MCH（pg）	22.8±1.5	22.7±0.8	23.2±1.5	22.8±1.2
MCHC（g/L）	373±15	371±9	375±15	376±13
RDW（%）	12.0±0.3	12.2±0.4	12.1±0.3	12.1±0.4
PLT（$\times10^9$/L）	626±98	595±61	581±78	592±65
PCT（%）	0.44±0.07	0.42±0.06	0.40±0.06	0.41±0.05
MPV（fL）	7.1±0.3	7.1±0.3	6.9±0.3	6.8±0.2
PDW（%）	12.5±0.5	12.5±0.4	12.4±0.3	12.2±0.3
LYM（%）	90.2±4.7	89.2±4.7	87.7±5.3	85.1±6.1
MON（%）	0.0±0.0	0.3±0.5	0.4±0.4	0.2±0.2
Neut（%）	7.4±4.5	8.0±3.2	10.0±5.4	12.0±5.9
EOS（%）	2.5±1.5	2.5±1.8	1.9±1.0	2.6±1.8
BAS（%）	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.1
Reti（‰）	16±1	15±1	16±1	15±1

表3 六神曲鸡内金混合粉对雌鼠T淋巴细胞亚群水平的影响（$\overline{X}\pm s$）

Tab. 3 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on T lymphocyte subset of female mice（$\overline{X}\pm s$）

测定时间	指标	A组	B_1组	B_2组	B_3组
给药结束（$n=10$）	CD_3^+（%）	64.06±5.81	63.91±5.70	58.33±5.49	62.35±6.04
	CD_4^+（%）	51.08±4.69	52.22±7.85	46.23±6.95	46.65±6.36
	CD_8^+（%）	12.78±4.94	11.31±4.13	11.80±2.72	15.42±3.03
	CD_4/CD_8	4.90±2.99	5.39±2.58	4.25±1.73	3.17±0.95
恢复期结束（$n=5$）	CD_3^+（%）	70.49±4.64	67.73±3.30	68.97±6.93	73.03±2.72
	CD_4^+（%）	53.88±4.49	47.55±4.28	50.21±6.40	55.81±4.34
	CD_8^+（%）	16.17±2.32	20.04±1.76	18.53±2.37	17.07±5.77
	CD_4/CD_8	3.40±0.68	2.40±0.41	2.74±0.53	3.71±1.75

2.2.3 血清生化指标

与A组比较，给药结束时雌鼠B_3组的Cl^-浓度显著升高（$P<0.05$），雌鼠B_2组、B_3组的TG均显著降低（$P<0.05$），雌鼠B_2组的Ca^{2+}浓度显著降低（$P<0.05$），但同期雄鼠均未见显著变化（$P>0.05$）；雄鼠B_1组和B_3组的Na^+浓度均显著升高（$P<0.05$），雄鼠B_1组的LDH水平显著升高（$P<0.05$），雄鼠B_3组的TC水平显著降低（$P<0.05$），但同期雌鼠均未见显著变化（$P>0.05$）。同时，各指标的变化均无剂量效应关系，表明无毒理学意义。详见表5和表6。恢复期结束，各给药组雌鼠和雄鼠各

表4 六神曲鸡内金混合粉对雄鼠T淋巴细胞亚群水平的影响（$\overline{X} \pm s$）

Tab. 4 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on T lymphocyte subset of male mice（$\overline{X} \pm s$）

测定时间	指标	A组	B_1组	B_2组	B_3组
给药结束	CD_3^+(%)	65.60±10.96	62.42±5.68	64.18±8.89	66.14±8.03
(n=10)	CD_4^+(%)	55.07±8.13	52.65±6.02	54.00±7.32	55.40±5.94
	CD_8^+(%)	10.40±5.63	9.58±3.52	9.90±3.19	10.44±3.16
	CD_4/CD_8	6.59±2.83	6.30±2.54	6.20±2.90	5.80±1.85
恢复期结束	CD_3^+(%)	63.49±6.83	63.76±8.21	63.41±5.62	68.27±9.10
(n=5)	CD_4^+(%)	52.92±4.37	55.63±7.00	55.40±5.56	59.33±6.90
	CD_8^+(%)	10.37±4.73	8.09±2.69	7.76±2.32	8.84±2.97
	CD_4/CD_8	5.93±2.44	7.66±3.36	7.58±1.94	7.14±1.60

表5 六神曲鸡内金混合粉对雌鼠给药结束血清生化指标的影响（$\overline{X} \pm s$）

Tab. 5 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on serum biochemical indicators of female mice at the end of the drug administration（$\overline{X} \pm s$）

指标	A组	B_1组	B_2组	B_3组
ALT(U/L)	27±3	26±4	27±6	29±5
AST(U/L)	118±21	124±15	116±26	110±14
TP(g/L)	54.1±1.9	53.4±2.2	52.7±2.4	52.9±1.9
ALB(g/L)	24.9±1.1	24.3±1.1	24.6±1.4	24.6±1.2
GLB(g/L)	29.2±1.1	29.1±1.9	28.1±1.7	28.3±1.3
A/G	0.8±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1	0.8±0.0
TBiL(μmoL/L)	1.52±0.25	1.37±0.23	1.56±0.29	1.58±0.22
ALP(U/L)	188±49	184±28	198±42	199±47
LDH(U/L)	1 555±416	1 661±293	1 506±494	1 387±322
CK(U/L)	982±266	1093±241	980±342	838±115
Glu(mmoL/L)	6.57±0.33	6.58±0.44	6.65±0.57	6.67±0.52
UREA(mmoL/L)	6.16±2.27	5.55±0.83	6.12±1.73	6.00±1.27
UA(μmoL/L)	77.3±13.9	77.1±9.9	74.4±20.4	70.2±9.5
CREA(μmoL/L)	26.2±5.3	22.7±3.2	26.2±4.0	23.2±2.9
TC(mmoL/L)	1.68±0.28	1.49±0.23	1.67±0.23	1.62±0.22
TG(mmoL/L)	0.45±0.16	0.31±0.09	0.29±0.08*	0.28±0.07*
K(mmoL/L)	4.02±0.27	3.92±0.22	4.04±0.22	4.09±0.27
Na(mmoL/L)	144±2	144±2	144±2	145±2
Cl(mmoL/L)	104±2	105±1	106±2	106±2*
Ca(mmoL/L)	2.51±0.07	2.42±0.08*	2.45±0.08	2.52±0.05

注：给药结束时A组、B_3组均为9只大鼠，A组有1只大鼠生化样品轻微出血；B_3组有1只大鼠生化样品轻微出血，凝血样品微有凝块。表7同。

Note: At the end of the drug administration, there were nine rats in groups A and B_3, and only one rat in group A had slight bleeding in the biochemical sample. There was one rat in group B_3 had slight bleeding in the biochemical sample and slight clots in the coagulation sample (for Tab. 5 and 7).

表6 六神曲鸡内金混合粉对雄鼠给药结束血清生化指标的影响（$\overline{X} \pm s$）

Tab. 6 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on serum biochemical iindicators of male rats at the end of the drug administration in（$\overline{X} \pm s$）

指标	A组	B_1组	B_2组	B_3组
ALT(U/L)	36±4	34±4	41±24	39±7
AST(U/L)	99±20	124±23	107±40	107±21
TP(g/L)	52.1±1.6	52.1±2.0	51.8±3.2	52.9±2.7
ALB(g/L)	22.3±1.1	22.3±0.7	22.7±1.6	22.9±1.9
GLB(g/L)	29.8±1.7	29.7±1.8	29.2±2.1	30.0±2.0
A/G	0.7±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1
TBiL(μmoL/L)	1.56±0.14	1.54±0.12	1.48±0.12	1.65±0.15
ALP(U/L)	298±43	289±38	304±51	283±54
LDH(U/L)	1 195±325	1 690±432*	1 136±442	1 267±355
CK(U/L)	892±256	1 204±270	920±274	982±328
Glu(mmoL/L)	5.62±0.54	5.30±0.66	5.45±0.82	5.36±0.68
UREA(mmoL/L)	5.04±0.47	5.17±0.81	4.82±0.97	5.11±0.73
UA(μmoL/L)	77.1±9.7	70.4±5.1	78.0±32.2	62.9±11.2
CREA(μmoL/L)	19.0±2.3	19.7±1.7	19.5±4.9	18.4±2.0
TC(mmoL/L)	1.59±0.22	1.51±0.21	1.51±0.23	1.29±0.15**
TG(mmoL/L)	0.64±0.13	0.72±0.46	0.66±0.19	0.59±0.18
K(mmoL/L)	4.22±0.23	4.20±0.15	4.50±0.88	4.36±0.24
Na(mmoL/L)	144±1	145±1*	144±1	145±1*
Cl(mmoL/L)	104±2	105±2	104±2	103±2
Ca(mmoL/L)	2.50±0.04	2.47±0.06	2.55±0.11	2.55±0.07

项指标和A组比较无显著差异（$P>0.05$）。

2.2.4 凝血指标

与A组比较，给药结束及恢复期结束时B_1组、B_2组、B_3组大鼠各项指标无显著差异（$P>0.05$）。详见表7至表8。

表7 六神曲鸡内金混合粉对雌鼠凝血指标的影响（$\overline{X} \pm s$,s）

Tab. 7 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on blood coagulation indicators of female mice（$\overline{X} \pm s$,s）

测定时间	指标	A组	B_1组	B_2组	B_3组
给药结束	PT	17.0±0.9	17.5±0.7	17.6±0.8	17.6±0.5
(n=10)	APTT	13.7±2.2	14.2±1.7	14.1±1.6	14.0±1.5
恢复期结束	PT	16.6±0.6	17.5±0.8	16.8±0.4	16.8±0.8
(n=5)	APTT	13.1±1.6	13.9±0.6	12.4±0.7	12.9±1.9

表8 六神曲鸡内金混合粉对雄鼠凝血指标的影响（$\overline{X} \pm s$,s）

Tab. 8 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on blood coagulation indicators of male mice（$\overline{X} \pm s$,s）

测定时间	指标	A组	B_1组	B_2组	B_3组
给药结束	PT	17.8±0.6	17.8±0.6	17.8±0.8	18.1±0.6
(n=10)	APTT	12.8±1.5	12.6±1.2	12.6±1.4	12.8±1.0
恢复期结束	PT	17.8±0.5	18.4±0.2	18.6±0.5	18.4±0.5
(n=5)	APTT	12.9±0.8	13.7±1.2	12.5±0.8	12.7±1.2

2.2.5 尿指标

给药结束及恢复期结束时，A 组、B_1 组、B_2 组、B_3 组大鼠尿液颜色均为淡黄色，透明度均为澄明。与 A 组比较，B_1 组、B_2 组、B_3 组大鼠尿指标（PRO，Glu，KET，BIL，pH）均无显著差异（$P > 0.05$）。

2.3 组织病理学检查

2.3.1 脏器质量及系数

与 A 组比较，给药结束及恢复期结束时 B_1 组、B_2 组、B_3 组雌鼠的脏器质量及系数均无显著差异（$P > 0.05$）。详见表 9 至表 10。

表 9 六神曲鸡内金混合粉对雌鼠脏器质量的影响（$\bar{X} \pm s$，g）

Tab. 9 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on organ weight of female mice（$\bar{X} \pm s$，g）

测定时间	脏器系数	A 组	B_1 组	B_2 组	B_3 组
给药结束（$n = 10$）	大脑	1.798 ± 0.080	1.809 ± 0.078	1.787 ± 0.082	1.826 ± 0.078
	心脏	0.846 ± 0.130	0.883 ± 0.122	0.842 ± 0.093	0.801 ± 0.109
	肺脏	1.104 ± 0.094	1.134 ± 0.119	1.081 ± 0.069	1.105 ± 0.113
	卵巢	0.123 ± 0.027	0.131 ± 0.016	0.128 ± 0.012	0.118 ± 0.021
恢复期结束（$n = 5$）	大脑	1.914 ± 0.111	1.937 ± 0.057	2.041 ± 0.438	1.895 ± 0.070
	心脏	1.027 ± 0.143	0.981 ± 0.099	0.952 ± 0.086	1.027 ± 0.137
	肺脏	1.216 ± 0.143	1.227 ± 0.089	1.206 ± 0.056	1.217 ± 0.164
	卵巢	0.131 ± 0.026	0.138 ± 0.028	0.138 ± 0.025	0.141 ± 0.014

表 10 六神曲鸡内金混合粉对雄鼠脏器系数的影响（$\bar{X} \pm s$）

Tab. 10 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on organ coeffient of female mice（$\bar{X} \pm s$）

测定时间	脏器	A 组	B_1 组	B_2 组	B_3 组
给药结束（$n = 10$）	大脑	0.923 ± 0.056	0.932 ± 0.104	0.921 ± 0.078	0.981 ± 0.070
	心脏	0.431 ± 0.037	0.450 ± 0.036	0.432 ± 0.035	0.428 ± 0.036
	肺脏	0.565 ± 0.025	0.579 ± 0.014	0.556 ± 0.025	0.592 ± 0.048
	卵巢	0.063 ± 0.012	0.068 ± 0.012	0.066 ± 0.007	0.063 ± 0.010
恢复期结束（$n = 5$）	大脑	0.739 ± 0.075	0.753 ± 0.046	0.818 ± 0.200	0.741 ± 0.032
	心脏	0.393 ± 0.020	0.380 ± 0.028	0.381 ± 0.044	0.401 ± 0.044
	肺脏	0.467 ± 0.049	0.476 ± 0.027	0.482 ± 0.023	0.475 ± 0.052
	卵巢	0.050 ± 0.006	0.053 ± 0.006	0.055 ± 0.009	0.055 ± 0.006

2.3.2 病理组织学检查

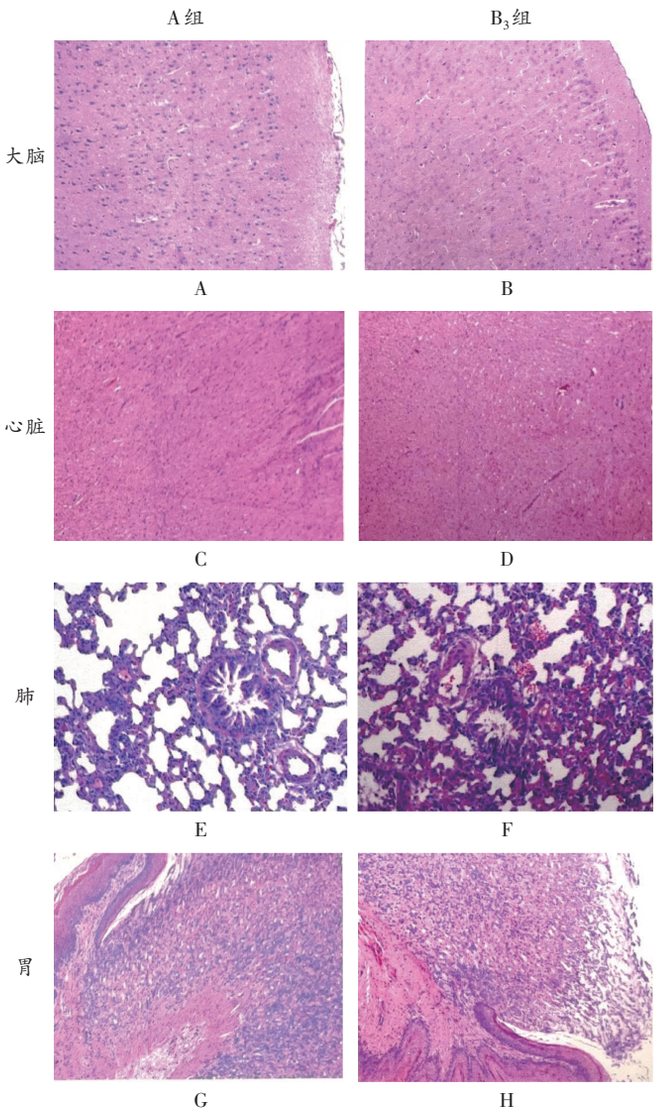
部分组织器官病理组织染色见图 1。与 A 组比较，给药结束时 B_3 组大鼠各脏器组织均未见与给药相关的毒性病理改变。

2.4 神经行为测试

与 A 组比较，给药结束及恢复期结束时 B_1 组、B_2 组、B_3 组大鼠的自主活动测试、转棒测试及跳台测试试验指标均无显著差异（$P > 0.05$）。详见表 11 和表 12。

3 讨论

重复给药毒性研究是药物临床前安全性评价的重要内容[22,26-28]，可预测药物可能产生的毒副作用，明确毒副反应的靶器官及其恢复与发展情况，进而确定无毒副反应剂量，推测重复用药的安全范围，对临床安全用药具有重要意义[29]。



A - D，G - H.（× 10） E，F.（× 20）

图 1 给药结束时大鼠典型病理组织（HE 染色）

A - D，G - H.（× 10） E，F.（× 20）

Fig. 1 Typical pathological tissues of rats at the end of the drug administration（HE staining）

小儿复方鸡内金咀嚼片中辅料占比较大，受限于受试动物胃容量有限等，实现高剂量给药难度较大，为尽可能在动物体内达到最大暴露剂量，本研究中以与制剂原料同等比例的六神曲鸡内金混合粉为受试物。剂量设计的科学性和合理性是试验得以成功的关键[30-31]，本研究中依据《药物重复给药毒性试验技术指导原则》采用不同剂量受试物给药，根据前期的剂量探索试验，确定以临床拟用剂量的 6 倍、18 倍、48 倍进行设计。

中药毒性作用是机体对药物的药效反应，是中药用于机体的生物学效应表达，试验动物的指标变化是反映动物机体中毒效应与毒物毒性的基本指标[32]。本研

表11 六神曲鸡内金混合粉对雌鼠神经行为指标的影响($\overline{X} \pm s$)

Tab. 11 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power Tablets on neurobehavioral indicators of female mice ($\overline{X} \pm s$)

测定时间	项目	A组	B_1组	B_2组	B_3组
给药结束	自主活动总路程(m)	10.881±2.837▲	12.043±0.867	12.741±2.510	16.055±3.944
(n=10)	自主活动平均速度(m/s)	0.036±0.010▲	0.040±0.003	0.042±0.008	0.053±0.013
	转棒潜伏期(s)	280.4±39.1	300.0±0.0	287.2±28.7	266.1±75.8
	跳台潜伏期(s)	156±167	124±161	147±142	193±146
	跳台错误次数	0±1	1±1	1±1	0±1
恢复期结束	自主活动总路程(m)	6.784±4.617	6.035±3.456	7.215±3.873	9.564±2.764
(n=5)	自主活动平均速度(m/s)	0.023±0.015	0.020±0.012	0.024±0.013	0.032±0.009
	转棒潜伏期(s)	300.0±0.0	300.0±0.0	244.8±123.5	300.0±0.0
	跳台潜伏期(s)	294±13	300±0	300±0	300±0
	跳台错误次数	0±0	0±0	0±0	0±0

注：▲指自主活动2项剔除1个异常数据(偏离均值3个标准差以上)。

Note: ▲ refers to one abnormal data was excluded from two items of autonomous activities (exclusion criteria: deviation from the mean by more than three standard deviations).

表12 六神曲鸡内金混合粉对雄鼠神经行为指标的影响($\overline{X} \pm s$)

Tab. 12 Effect of Liushenqu Endothelium Corneum Mixed Power on neurobehavioral indicators of male mice($\overline{X} \pm s$)

测定时间	项目	A组	B_1组	B_2组	B_3组
给药结束	自主活动总路程(m)	9.434±4.015	10.847±1.836	9.388±1.339	12.172±2.575
(n=10)	自主活动平均速度(m/s)	0.032±0.014	0.036±0.006	0.031±0.005	0.041±0.008
	转棒潜伏期(s)	255.3±100.0	245.9±118.8	281.0±42.5	264.5±48.6
	跳台潜伏期(s)	300±0	248±117	246±122	251±110
	跳台错误次数	0±0	0±0	0±1	0±0
恢复期结束	自主活动总路程(m)	4.632±3.014	2.869±1.661	2.445±1.863	5.023±1.091
(n=5)	自主活动平均速度(m/s)	0.016±0.010	0.017±0.013	0.008±0.006	0.017±0.004
	转棒潜伏期(s)	187.2±118.8	247.6±109.2	297.0±6.7	241.2±131.4
	跳台潜伏期(s)	242±129	300±0	300±0	300±0
	跳台错误次数	0±0	0±0	0±0	0±0

究结果显示，幼龄SD大鼠连续灌胃0.375，1.125，3 g/kg六神曲鸡内金混合粉28 d，对大鼠的一般生理指标和神经行为测试无明显影响。给药结束，与A组比较，B_3组大鼠的TG，Cl^-，TC，Na^+均出现显著变化，但均无毒理学意义；组织病理学检查中，未见与给药相关的蓄积性或延迟性毒性病理改变。提示连续灌胃六神曲鸡内金混合粉(3 g/kg及以下剂量)28 d时，大鼠未见明显毒性作用及后续毒性反应。故小儿复方鸡内金咀嚼片未见明显毒性反应剂量为3 g/kg，相当于临床拟用剂量的48倍。

参考文献

[1] 黄 平，宣自华，汪 宁. 脑络欣通胶囊长期毒性试验研究[J]. 时珍国医国药，2021，32(8)：1845－1849.

[2] 王 艳，仲丹丹，冀晓华，等. 小儿复方鸡内金咀嚼片治疗小儿厌食症(脾胃不和证)多中心随机双盲对照研究[J]. 中国中药杂志，2021，46(9)：2298－2303.

[3] 王素敏，丁 明. 小儿复方鸡内金咀嚼片治疗小儿厌食临床疗效分析[J]. 医学理论与实践，2018，31(21)：3259－3261.

[4] 王燕杰. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合双歧杆菌三联活菌散治疗小儿厌食症的临床疗效研究[J]. 医学信息，2018，31(15)：76－78.

[5] 杨炜博，唐仕芳，马 娟，等. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合布拉氏酵母菌散治疗小儿厌食症的临床疗效研究[J]. 中华养生保健，2021，39(5)：3－5.

[6] 靳红光. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合枯草杆菌二联活菌颗粒治疗厌食症74例疗效分析[J]. 医学理论与实践，2019，32(13)：2085－2087.

[7] 朱亚丽，张奥妮. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合酪酸梭菌活菌散治疗小儿厌食39例[J]. 中国民族民间医药，2018，27(21)：72－75.

[8] 张智会. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合双歧杆菌四联活菌片治疗功能性消化不良患儿的临床研究[J]. 哈尔滨医药，2021，41(6)：136－137.

[9] 程 江. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合多潘立酮对功能性消化不良患儿胃排空功能及胃肠激素水平的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志，2020，28(7)：523－526.

[10] 张志强. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合枸橼酸莫沙必利分散片治疗小儿功能性消化不良[J]. 中国中医药现代远程教育，2018，16(21)：60－62.

[11] 李慧萍. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合西沙必利治疗功能性消化不良患儿临床疗效[J]. 实用中西医结合临床，2022，22(23)：106－109.

[12] 高育林. 小儿复方鸡内金咀嚼片联合乳果糖口服液治疗小儿功能性便秘的效果探究[J]. 当代医药论丛，2019，17(13)：98－100.

[13] 张志强. 双歧杆菌四联活菌片联合小儿复方鸡内金咀嚼片治疗小儿消化不良性腹泻[J]. 黑龙江中医药，2021，50(1)：60－61.

[14] 薛 宁，郭庆伟. 小儿复方鸡内金咀嚼片辅助治疗儿童胆汁反流性胃炎效果观察[J]. 中国乡村医药，2021，28(23)：19－21.

[15] HE YX，YANG C，WANG P，et al. Child compound Endothelium corneum attenuates gastrointestinal dysmotility through regulating the homeostasis of brain－gut－microbiota axis in functional dyspepsia rats[J]. Journal of Ethnopharmacology，2019，240：111953.

[16] 王林丽，李卓恒，吕金胜，等. 益精灵口服液大鼠长期毒性试验研究[J]. 中国药业，2014，23(19)：21－22.

[17] 王 璐，王 震，李铁军. 咽康口服液急性毒性和长期毒性试验研究[J]. 中国药业，2015，24(8)：62－63.

[18] 范治云，谭会萍. 肾炎胶囊大鼠长期毒性试验[J]. 中国药业，2016，25(2)：55－57.

[19] 赵安莎，孙于兰，周 蓉，等. SD大鼠30天喂养试验血液学指标和血清生化指标参考值探讨[J]. 中国比较医学杂志，2003，13(1)：17－19.

[20] 孙于兰，赵安莎，周 容，等. SD大鼠30天喂养试验食物利用率及脏器系数正常值探讨[J]. 现代预防医学，2003，30(1)：36－37.

[21] 李韵峰，马俊峰. 影响实验动物脏器重量及脏器系数因素分析[J]. 畜牧业环境，2020，26(10)：39.