

神蜂精的藥效學試驗(四)

毒性與安全性

吳珍紅^{1*}、林立旺²、繆曉青¹、吳心勤²

¹ 福建農業大學蜂療研究所，福州 350002

² 福建省衛生廳防疫站，福州 350003

摘 要

採用試驗動物為物件，對蜜蜂生物中成藥外擦劑——“神蜂精”進行毒性與安全性的藥效學試驗。結果顯示：1、小白鼠口急性毒性半致死量為（LD₅₀）> 5556 mg/kg，屬實際無毒性；2、對小白鼠骨髓嗜多染紅細胞無致微核作用；3、長期毒性為弱蓄積毒性；4、對家兔一次皮膚刺激試驗顯示強度輕刺激性；5、對豚鼠皮膚致敏強度為極輕度。由此，表明生物中成藥外擦劑神蜂精無毒副作用，臨床使用安全可靠。

關鍵字：神蜂精、毒性、致微核作用、安全性。

前 言

“神蜂精”是一種由蜜蜂毒^{[1][2]}、蜂膠^[3]等蜂產品中提取的生物活素與中藥混合而成的生物外擦劑，經十年來初臨床使用和動物、細菌等抗炎抑菌試驗證實，

具有多種功效^{[4][5][6]}。同時，臨床使用普遍反應十分安全可靠，對人體無明顯副作用。為此，我們按照國家消毒劑實驗標準，用標準試驗動物進行神蜂精安全性試驗，以求探索神蜂精藥學特性。

1.0.材料和試驗動物

1.1.試劑：“神蜂精”由福建省神蜂科技開發公司提供；蒸餾水；環磷酰胺。

1.2.動物：昆明種小白鼠，體重 18-22g，40 只；體重 25—30g,50 只均是♀、♂各半。家兔 4 只，♀ 3 只體重分別 2.1kg、2.7kg 和 3.5kg，♂ 1 只體重為 2.2kg。白色健康豚鼠 32 只，體重 200-300 g，雌雄各半。

2.0 方法與內容：

2.1.急性經口毒性試驗

- 1.依據[7]中 3.4 項進行。
- 2.試液配製：神蜂精以蒸餾水配合試驗溶液（27.78%）。
- 3.受試動物選擇：昆明種小白鼠，體重 18-22 g，20 只，♀、♂各半。
- 4.染毒途徑：一次灌胃，灌胃量 0.4ml/20g 體重。
- 5.試驗劑量：5556 mg/kg 體重。
- 6.試驗處理與觀測：灌胃後正常飼養，連續觀察 14 天，觀察小鼠死亡數及生長情況。

2.2. 小鼠骨髓嗜多染紅細胞微核子試驗

- 1.依據[7]中 3.11.4 項進行。
- 2.試劑配製：神蜂精以蒸餾水配成 5000、2000、500 mg/kg 體重三個劑量溶液；蒸餾水；環磷酰胺。
- 3.受試動物選擇：昆明種小白鼠 50 只，♀、♂各半，體重 25-30 g。
- 4.染毒途徑和劑量分組：動物染毒用經口灌胃 30h 染毒法；動物隨機分成 5 組，每組 10 只，♀、♂各半，其中 3 組為試驗組，另 2 組分別為陰性與陽性對照組。
- 5.試驗處理與觀測：採用兩次給藥法，按 0.4 ml/20 g 體重間隔 24 h 連續灌胃 2 次，並於第 2 次灌胃後 6 h 處死動物，取胸骨髓製片、染色，每只動物計數 1000 個 PCE。

2.3. 皮膚刺激試驗

- 1.依據[7]中 3.6 項進行。
- 2.受試動物選擇：4 只皮膚完好的健康家兔。
- 3.試劑選配：神蜂精原液。
- 4.試驗處理與觀測：
 - 1).實驗前日，剪去家兔脊柱兩側被毛，範圍約為 3 cm × 3 cm。
 - 2).正式實驗時，將受試物 0.2 ml 均勻塗抹的 2.5 cm × 2.5 cm 兩層紗布上，貼附于左側去毛區皮膚上，然後用一層硫酸紙、兩層紗布覆蓋其上，再用膠布加以固定。敷用時間為 4 小時。右側去毛區皮膚作為空白對照。

3).除去受試物後 1、24、48 小時，分別觀察皮膚反應，進行皮膚刺激反應評分。

2.4. 蓄積毒性試驗

- 1.依據[7]中 3.10 項進行。
- 2.受試動物選擇：昆明種小白鼠，體重 18-20 g，♀ ♂ 各 10 只。
- 3.試劑選配：神蜂精以蒸餾水配成試驗溶液。
- 4.試驗處理與觀測：以遞增劑量法進行，第 1~4 染毒劑量為 500 mg/kg 體重，以後劑量每四天適量遞增一次，第 4 天稱重一次，並相應調整染毒量。連續給藥 20 天。

2.5. 皮膚變態反應試驗

- 1.依據[7]中 3.9 項進行。
- 2.受試動物選擇：皮膚完好的白色健康豚鼠 32 只，體重 200-300 g，雌雄各半。
- 3.試劑選配：致敏以本品原液進行，激發處理為本品 2 倍稀釋液。
- 4.試驗處理與觀測：
 - 1).第 1 天、第 7 天、第 14 天取樣品原液 0.2 ml，滴於 2×2 cm² 兩層紗布上，敷貼的豚鼠去皮膚上，並用塑膠膜複蓋後，用膠布固定，作用 6 h (致敏誘導)。
 - 2).在末次致敏誘導後 15 天，取樣品 2 倍稀釋液 0.2 ml 同樣敷貼 6 h (激發接

觸)。於 24 h 和 48 h 觀察皮膚反應，同時比對陰性對照組豚鼠皮膚反應情況。

陰性對照組豚鼠僅給予激發接觸，以樣品 2 倍稀釋液 0.2 ml 按同樣敷貼 6 h，於 24 h 和 4 h 觀察。

3.0. 實驗結果

3.1. 急性經口毒性試驗

以神蜂精稀釋液 (27.78%)，對小白鼠進行經口毒性試驗，結果灌胃後連續觀察 14 天，受試小鼠無一死亡，也未見其他不良反應。對小白鼠急性經口半數致死 (LD₅₀) >5556mg/kg 體重，屬實際無毒。

3.2. 小鼠骨髓嗜多染紅細胞微核子試驗

試驗各劑量組與陰性對照組相比，微核率相近，無差著性差異 (P>0.05)，而陽性對照組與試驗各劑量給及陰性對照組相比均有極顯著差異 (P<0.01)。

表 1 受試物對動物骨髓細胞的微核率

Table 1. The rate of minute nucleus of marrow cells caused by tested substances

分組 (Group)	劑量 (mg/kg) (Amount)	動物數(只) (Number)	嗜多染紅 細胞總數 (cell totals)	含微核嗜多 染紅細胞數 (cells with minute nucleus)	微核率 (%) (The rate of minute nucleus)
受試物 (Tested substance)	5000	10	10000	8	0.8
	2000	10	10000	10	1.0
	500	10	10000	7	0.7
陰性對照組 (Control)	0	10	10000	7	0.7

環磷酰胺 (Amine)	40	10	10000	205	20.5
-----------------	----	----	-------	-----	------

受試物對小鼠骨髓嗜多染紅細胞未見致微核作用。

3.3. 皮膚刺激試驗

表 2 對家兔皮膚一次刺激反應
Table 2. One stimulus reaction to rabbit skin

動物 編號 No.	性 別 Sex	體重 (kg) Weight	1h			24h			48h										
			樣品 Sample	對照 Control	紅水 斑	水腫 分	總分	樣品 Sample	對照 Control	紅水 斑	水腫 分	總分	樣品 Sample	對照 Control	紅水 斑	水腫 分	總分		
1	♂	2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	♀	2.1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	♀	2.7	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
4	♀	3.5	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

總積分均值：0.75

3.4. 蓄積毒性試驗

連續給藥 20 天，累積總劑量達 26,200 mg/kg 體重，20 只小鼠無一死亡。結果如表 3。

表 3 受試物染毒劑量、累積劑量和動物死亡數
Table 3. The applied and accumulated amount as well as dead No. of animals

染毒天數 (日) Applied days	染毒劑量 (mg/kg.bw) Applied amount	累積劑量 (mg/kg.bw) Accumulated amount	動物死亡數 (只) Dead No. of animals	
			♀	♂
1-4	500	2000	0	0
5-8	750	3000	0	0
9-12	1100	4400	0	0
13-16	1700	6800	0	0
17-20	2500	10000	0	0

受試物累積總劑量達 26,200 mg/kg 體重，為 5,000 mg/kg 體重的 5.24 倍，即 $K>5$ ，該樣品為弱蓄積毒性。

3.5. 皮膚變態反應試驗

試驗結果如表 4，神蜂精對實驗動物豚鼠的皮膚致敏率為 6.25%，致敏強度為極輕度。

表 4 受試物對皮膚變態反應結果
Table 4 The result of skin reaction to the tested substance

組別 Group	動物數 (只) No.of animal	誘導 劑量 Induced dose	激發 劑量 Excited dose	觀察 時間 Observed time	紅斑反應 動物數 (只) No.of animal with erythema					水腫反應 動物數 (只) No.of animal with oedema				致敏率 (%) Rate of allergy	
					0	1	2	3	4	0	1	2	3		
受試 物 Tested substance	16	原液	2 倍稀 釋液	24h	15	1	0	0	0	0	16	0	0	0	6.25
				48h	16	0	0	0	0	16	0	0	0		
陰性 對照 Negative Control	16	/	2 倍稀 釋液	24h	16	0	0	0	0	0	16	0	0	0	/
				48h	16	0	0	0	0	16	0	0	0		

4.0. 結論

1. 神蜂精小白鼠急性經口毒性試驗表明，屬實際無毒。
2. 神蜂精對小白鼠骨髓嗜多染紅細胞無致微核作用。
3. 神蜂精對家兔一次皮膚刺激試驗，刺激強度級別為輕刺激性。
4. 神蜂精為弱蓄積毒性。
5. 神蜂精對豚鼠的皮膚致敏強度為極輕度。

綜上，表明生物中成藥外擦劑神蜂精無毒副作用，臨床使用安全可靠。

參考文獻

DOTIMAS,E.M.; HIDER,R.C. (1987) Bee Venom. Bee World 68(2)51-70

Kim Christopher, M.-M. (1992) - Bee venom therapy and bee acupuncture therapy (Medical textbook for physicians and acupuncturists) (Korean and English). South Korean Ed., 550 pages, 1000 references.

房柱主編 蜂膠的理化特性和成分 《蜂膠》pp.45-53 山西科學技術出版社 1999年出版。

繆曉青等。神蜂精的藥效學試驗(一)神蜂精的消炎鎮痛作用。《福建農業大學學報》1995,24(4)：pp.466-469

吳珍紅等 神蜂精的藥效學試驗(二)對神經傳導和肌肉收縮力的作用。《福建農業大學學報》,1999,28(4)：pp.490—493

繆曉青等。“神蜂精治療神經根型椎頸病藥理研究分析”。《中國養蜂》2002(1) pp.11—12

中國衛生部—1999 消毒技術規範 第一分冊《實驗技術規範》

An Experiment on the Pharmaceutical Properties of Shen Feng Jing --

Toxicity and Safety (4)

Wu Zheng-hong ^{1*}, Lin Li-wang ², Miao Xiao-qing¹, Wu Xing-qin²

¹Apitherapy Institute of Fujian Agriculture and Forestry University, 350002

²Fujian Sanitation and Antiepidemic Station, Fuzhou, 350003

ABSTRACTS

By using experimental animals, the pharmaceutical test on the safety and toxicity of Shen Feng Jing was carried out in Fujian Sanitation and Antiepidemic Station. The results have showed that the acute toxicity of LD₅₀ for orally tested mouse is greater than 5556mg/kg, grouping as non-toxicity; the erythrocyte inside marrow is not distorted on its minute cell nucleus; for long period of accumulated toxicity, it is obviously slight; slightly stimulation only appears on rabbit skin test; slightest allergy is visible while testing on the guinea pig. From the tested results shown above, it is known clearly that Shen Feng Jing, the traditional Chinese medicine for external use, has no side effect on patients while in use clinically.

Key words: Shen Feng Jing, toxicity, distortion, safety.