

文章编号 1006-8147(2017)04-0304-06

论 著

复方甘草次酸霜的长期毒性研究

高晨光¹, 张 猜², 刘姝琳², 陈 虹³, 曹 波³, 刘艳霞⁴

(1.武警后勤学院研究生管理大队, 天津 300309; 2.武警后勤学院学员二旅, 天津 300309; 3.武警后勤学院生药学教研室, 天津 300309; 4.天津医科大学药学院, 天津 300070)

摘要 目的:研究复方甘草次酸霜的长期毒性。方法:将188只SD大鼠随机分成6组,给药组分为:给予破损皮肤 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 复方甘草次酸霜小剂量组、 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 中剂量组、 $1\,000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 大剂量组和给予完整皮肤 $1\,000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 大剂量组;溶媒对照组分为:破损皮肤组和完整皮肤组,分别给予同体积空白基质。连续给药4周,停药4周,给药期间每日观察外观体征、称量大鼠体质量计算脏器系数,给药4周后测定血液学和血液生化学指标,并做病理组织学检查。结果:复方甘草次酸霜在 100 、 500 、 $1\,000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药剂量下大鼠未出现死亡、体质量异常,血液学和血液生化学和病理组织学等指标均未见毒理学意义的异常改变。停药后也未见药物延迟性毒性反应。结论:复方甘草次酸霜经皮肤给药对大鼠无长期毒性。

关键词 复方甘草次酸霜;长期毒性;大鼠

中图分类号 R96

文献标志码 A

Research on long-term toxicity of compound glycyrrhetic acid cream

GAO Chen-guang¹, ZHANG Cai², LIU Shu-lin², CHEN Hong³, CAO Bo³, LIU Yan-xia⁴

(1.Department of Graduate Management, Logistics University of PAP, Tianjin 300309, China; 2.Department of Undergraduate, Logistics University of PAP, Tianjin 300309, China; 3.Department of Pharmacognosy, Logistic University of PAP, Tianjin 300309, China; 4. College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To evaluate the long-term toxicity of compound glycyrrhetic acid cream. **Methods:** One hundred and eighty-eight SD rats were randomly divided into six groups: the drug administration groups were divided into small-dose group, abraded skin given $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ compound glycyrrhetic acid cream, medium-dose group ($500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and high-dose groups ($1\,000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and normal skin group (given $1\,000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Solvent control groups were divided into the damaged skin and normal skin groups, which were given the same volume of blank substrate, respectively. The appearance and sign of the rats were observed and body weight of rats were taken to calculate organ coefficient with successive 4-weeks drug administration and 4-weeks withdraw. After drug administration for 4 weeks, the organ coefficients were calculated and hematological as well as blood biochemical indexes were detected. And then the histopathologic examination was carried out. **Results:** There were no death, weight disorders and toxicological abnormal changes on hematology, biochemics of blood and histopathology for the rats given compound glycyrrhetic acid cream at 100 , 500 and $1\,000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Also, there were no delayed toxic reactions after drug withdrawal. **Conclusion:** Compound glycyrrhetic acid cream has no long-term toxicity in rats by skin administration.

Key words glycyrrhetic acid; long-term toxicity; rat

甘草次酸是豆科多年生草本植物甘草中的一种有效成分,有抗炎、抗溃疡、抗过敏、抗氧化、免疫调节、抗病毒、抗癌保肝和稳定细胞膜等作用^[1-3],临床上也常用其替代激素类药物治理一些免疫类疾病及癌症^[4-6],与其他药物联用可有效治疗神经性皮炎、慢性湿疹、慢性荨麻疹、斑秃等皮肤疾病,且无严重的不良反应^[7-10]。复方甘草次酸霜是中国人民武装警察部队特需药物研发中心研制出的一种乳膏制剂,局部外用,具有祛痒止痒作用,能迅速缓解由蚊虫叮咬、皮疹或其他原因引起的皮肤不适、瘙痒

等。参照《中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则》的相关规定,进行长期毒性实验^[10]。长期毒性实验可以观察连续反复给药时,实验动物出现的毒性作用、剂量与毒性效应的关系、主要毒性靶器官、毒性反应的性质和程度、毒性反应是否可逆等,是临床前毒性评价的主要内容,也是新药审评重点内容之一^[11]。它为临床安全用药的剂量设计提供参考依据,为临床毒副作用的监护及生理生化指标检测提供依据^[12]。本实验拟观察SD大鼠连续给予复方甘草次酸霜4周、恢复4周后因蓄积而对机体产生的毒性反应及其严重程度,提供毒性反应的靶器官及其损害的可逆性等信息,确定无毒性反应剂量,评价其安全性。

作者简介 高晨光(1991-),男,硕士在读,研究方向:药理学;通信作者:刘艳霞, E-mail: liu_yanxia126@126.com。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂 复方甘草次酸霜,批号:140406,含量或纯度 4.9%,由武警特需药物研发中心研制;中性红,Solarbio Life Sciences,批号:608A043;复方甘草次酸霜空白基质,批号:140406。

1.2 动物 SPF级SD大鼠188只(包括哨兵动物8只),由中国食品药品检定研究院提供,生产许可证号:SCXK-(京)2009-0017,5~6周龄,体质量218.9~274.3 g(方案规定体质量为220~280 g),雌雄各半。

1.3 实验方法^[13-14] 5~6周龄SD大鼠188只(哨兵动物8只),体质量218.9~274.3 g,雌雄各半,按性别、体质量随机分成6组,每组30只:复方甘草次酸霜分为破损皮肤小、中、大剂量组(100、500、1 000 mg·kg⁻¹)和完整皮肤大剂量组(1 000 mg·kg⁻¹),溶媒对照分为破损皮肤组和完整皮肤组,分别给予等量的空白基质。实验前除去大鼠脊柱两侧被毛,范围为30 cm²。破损皮肤组大鼠在给药前,用宠物毛发清理器摩擦去毛区域皮肤至渗血为度,等待涂抹药物,完整皮肤组大鼠直接涂抹即可,给药容积均为2 mL·100 g⁻¹。给药后用纱布覆盖,医用纸胶带固定,防止动物舔食。破损皮肤各组每隔4 d摩擦皮肤至渗血,每日给药1次,连续给药4周。每日观察外观体征等,每周测量1次体质量。末次给药后,每组随机选取20只动物(雌雄各半),禁食16 h,使用3%戊巴比妥钠1.5 mL·kg⁻¹腹腔注射麻醉,腹主动脉采血观察动物血液学指标及血液生化指标的变

化,对心脏、肝脏、脾脏、肾脏等器官称重并计算脏器系数^[15-16];同时对脏器进行组织病理学检查。剩余动物继续观察4周后剖杀,检测上述指标。

1.4 统计学分析 实验数据的处理采用Excel 2003软件,统计分析采用GraphPad InStat(Ver3.0)和Excel 2003软件,并按照实验数据统计分析的SOP进行处理,实验画图采用GraphPad Prism(Ver 5.0)软件。

2 结果

2.1 复方甘草次酸霜对大鼠死亡率、一般状况的影响 复方甘草次酸霜在给药期间及停药后4周内,各组大鼠均无死亡。活动正常,未见异常反应。

2.2 复方甘草次酸霜对大鼠体质量的影响 连续给药及停药恢复期间,溶媒对照组体质量平稳增长。破损皮肤小、中、大剂量组体质量与破损皮肤对照组相比无明显差异。完整皮肤大剂量组体质量与完整皮肤对照组相比无明显差异。提示复方甘草次酸霜对大鼠体质量增长无影响。

2.3 复方甘草次酸霜对大鼠血液学指标的影响 复方甘草次酸霜连续给药4周,与破损皮肤溶媒对照组相比,破损皮肤小剂量组淋巴细胞(LY)百分比升高、破损皮肤大剂量组凝血酶原(PT)时间缩短。与完整皮肤溶媒对照组相比,完整皮肤大剂量组嗜酸性粒细胞(EO)百分比减少。停药恢复4周,与破损皮肤溶媒对照组相比,破损皮肤中剂量组平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)减少。结果见表1、2。

表1 复方甘草次酸霜用药4周对大鼠血液学指标的影响($n=20, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on haematological indexes in rats after drug administration for 4 weeks($n=20, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
WBC/(10 ⁹ /UL)	2.4±1.1	2.4±1.5	1.9±0.7	2.1±0.8	1.8±0.6	2.0±1.0
NE/%	23.7±4.6	31.9±7.7**	27.0±7.2	30.0±8.2	29.3±6.6	26.2±6.7
LY/%	69.4±5.6	61.9±7.6**	68.0±7.7#	64.6±8.2	64.8±7.1	67.8±8.8
MO/%	5.7±2.3	5.5±1.8	4.6±1.8	4.9±1.5	5.3±2.1	5.6±3.1
EO/%	0.9±0.9	0.7±0.5	0.4±0.3	0.4±0.3	0.5±0.4	0.4±0.4*
BA/%	0.2±0.6	0.0±0.0	0.0±0.1	0.0±0.0	0.0±0.1	0.0±0.1
RBC/(10 ⁶ /UL)	7.1±0.6	7.0±0.5	7.0±0.5	6.9±0.5	6.9±0.6	7.1±0.7
Hb/(g/dL)	11.8±0.9	11.8±0.8	11.8±0.6	11.6±0.9	11.4±0.6	12.0±1.2
HCT/%	42.6±3.6	42.5±3.1	42.4±2.5	41.9±3.3	41.9±3.2	42.7±3.9
MCV/fL	60.1±1.8	60.7±1.4	60.7±1.7	60.9±2.1	60.9±2.2	60.6±1.8
MCH/pg	16.7±0.8	16.9±0.5	16.9±0.7	16.8±0.7	16.6±0.9	17.0±0.8
MCHC/(g/dL)	27.8±1.0	27.9±0.7	27.8±0.8	27.7±0.8	27.3±1.0	28.1±1.4
PLT/(10 ⁹ /UL)	883.6±101.7	832.2±101.8	840.2±72.6	880.2±127.5	823.8±104.0	891.6±109.0
MPV/fL	5.3±0.3	5.2±0.3	5.3±0.3	5.4±0.3	5.3±0.3	5.2±0.3
RET/%	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.4±0.1
R:W	21.1±1.3	20.1±1.4	21.1±1.6	20.8±1.7	20.6±1.9	20.6±1.4
PT/s	14.1±0.8	14.4±0.7	14.2±0.9	14.1±0.5	13.8±0.5**	13.8±0.4
APPT/s	20.6±7.4	19.8±3.5	19.3±4.2	19.7±3.3	18.4±3.6	19.1±4.6

与完整皮肤溶媒对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与破损皮肤溶媒对照组比较,# $P<0.05$,** $P<0.01$

表 2 复方甘草次酸霜停药 4 周后对大鼠血液学指标的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)Tab 2 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on haematological indexes in rats after drug withdraw for 4 weeks($n=10, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
WBC/($10^3/\mu\text{L}$)	1.4±0.8	1.3±0.6	1.4±0.9	1.2±0.6	1.3±0.8	0.9±0.6
NE/%	26.4±2.6	29.1±10.5	25.7±6.5	28.4±6.6	27.4±6.9	26.9±7.3
LY/%	65.8±3.6	63.8±10.1	68.2±5.9	64.6±7.9	65.3±6.8	66.3±7.4
MO/%	7.2±2.0	6.4±3.2	5.4±1.2	6.5±2.0	6.6±1.9	6.1±2.0
EO/%	0.5±0.4	0.5±0.5	0.6±0.4	0.5±0.4	0.6±0.3	0.7±0.5
BA/%	0.0±0.0	0.2±0.3	0.1±0.2	0.0±0.0	0.1±0.1	0.0±0.1
RBC/($10^6/\mu\text{L}$)	7.9±0.8	7.6±0.5	7.7±0.7	7.8±0.4	7.7±0.5	7.6±0.6
Hb/(g/dL)	12.6±0.9	12.1±0.6	12.4±1.0	12.2±0.6	12.3±0.8	12.3±0.6
HCT /%	35.6±2.5	33.6±1.6	34.6±2.4	35.0±1.5	34.7±2.2	34.5±2.1
MCV /fL	45.0±2.4	44.1±1.9	44.9±2.1	44.8±1.6	45.1±1.7	45.4±1.6
MCH/pg	16.0±0.8	15.9±0.6	16.1±0.6	15.7±0.6	15.9±0.6	16.2±0.6
MCHC/(g/dL)	35.5±0.6	36.0±0.8	35.8±0.7	35.0±0.5 ^{###}	35.3±0.8	35.6±0.6
PLT/($10^3/\mu\text{L}$)	945.9±115.3	983.9±125.3	954.9±52.1	963.8±120.7	903.7±54.4	959.7±92.7
MPV/fL	5.6±0.3	5.4±0.3	5.5±0.3	5.4±0.3	5.2±0.3	5.5±0.3
RET/%	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
R:W	20.2±1.9	19.9±1.2	20.1±1.1	20.0±1.0	20.5±1.3	20.0±1.1
PT/s	13.9±0.4	14.2±0.5	14.3±0.5	14.4±0.8	14.3±0.5	14.3±0.7
APPT/s	18.5±3.5	17.3±3.3	16.4±2.4	17.3±2.1	19.6±6.3	20.1±8.9

与破损皮肤溶媒对照组比较, ^{###} $P<0.01$

2.4 复方甘草次酸霜对大鼠血液生化学指标的影响 连续给药 4 周,与破损皮肤溶媒对照组比,破损皮肤小剂量组总胆红素(T-BIL)升高,其余血液生化学指标无明显差异;破损皮肤中剂量组总胆固醇(TCHO)升高,血钾降低,其余血液生化学指标未见异常;破损皮肤大剂量组 TCHO 升高,尿素氮(BUN)、血钾、血氯降低,其余血液生化学指标无明显差异。与完整皮肤溶媒对照组比,完整皮肤大剂量组丙氨酸氨基转移酶(ALT)、T-BIL、TCHO 升高,

BUN、肌酐(CRE)、血钾、血氯降低。停药 4 周后各组指标均无异常。详见表 3。

2.5 复方甘草次酸霜对大鼠脏器重量的影响

2.5.1 复方甘草次酸霜对雄性大鼠脏器重量的影响 研究显示给药 4 周,与破损皮肤溶媒对照组比,破损皮肤小剂量组未见异常,破损皮肤中剂量组脾脏重量减轻,破损皮肤大剂量组胸腺重量减轻。停药恢复 4 周:与破损皮肤溶媒对照组比,破损皮肤小剂量、中剂量组未见异常,大剂量组胸腺重

表 3 复方甘草次酸霜用药 4 周对大鼠血液生化指标的影响($n=20, \bar{x} \pm s$)Tab 3 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on biochemical indexes in rats after drug administration for 4 weeks($n=20, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
AST/U/L	115.9±23.7	153.2±200.2	124.1±47.1	119.4±28.4	129.3±22.2	121.8±25.8
ALT/(U/L)	52.5±14.3	69.6±103.3	50.2±13.4	58.6±13.3	68.6±11.7	71.1±21.9 ^{**}
ALP/(U/L)	119.0±58.7	110.7±47.6	126.0±56.8	126.3±54.6	117.8±44.0	123.4±65.8
T-BIL/($\mu\text{mol/L}$)	2.1±0.4	2.1±0.4	2.5±0.6 [#]	2.1±0.3	2.2±0.4	2.6±0.7 ^{**}
BUN/(mmol/L)	7.1±1.4	7.1±0.9	7.3±1.1	6.5±1.1	6.2±1.1 ^{###}	6.5±1.1
CRE/($\mu\text{mol/L}$)	25.1±3.7	23.6±2.4	24.0±1.9	23.0±2.4	22.8±2.4	22.4±2.4 [*]
TCHO/(mmol/L)	2.6±0.7	2.4±0.4	2.5±0.7	3.0±0.7 ^{###}	3.5±0.9 ^{###}	3.6±0.7 ^{**}
GLU/(mmol/L)	6.5±0.7	6.5±0.9	6.7±0.6	6.7±0.9	6.4±0.8	6.8±1.0
ALB/(g/L)	38.8±4.6	37.2±4.2	37.1±3.6	36.4±4.2	36.3±2.8	37.2±3.6
TP/(g/L)	58.9±6.5	57.6±6.1	56.7±4.6	55.6±5.5	55.3±3.4	57.3±5.1
TG/(mmol/L)	0.7±0.4	0.6±0.2	0.6±0.2	0.5±0.2	0.7±0.4	0.8±0.5
CK(U/L)	749.2±234.4	702.5±333.6	849.0±495.3	703.8±359.1	832.5±234.9	740.5±312.5
K ⁺ /(mmol/L)	4.1±0.3	4.1±0.3	4.0±0.2	3.8±0.2 ^{###}	3.8±0.3 ^{###}	3.7±0.3 ^{**}
Na ⁺ /(mmol/L)	134.3±2.5	135.1±2.1	134.8±2.3	134.7±1.7	133.6±2.5	134.2±2.1
Cl ⁻ /(mmol/L)	104.3±1.2	104.5±1.3	103.9±1.6	103.5±1.3	103.0±1.5 ^{###}	102.5±1.7 ^{**}

与完整皮肤溶媒对照组比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$;与破损皮肤溶媒对照组比较, [#] $P<0.05$, ^{###} $P<0.01$

量增加,其余脏器无明显异常。与完整皮肤溶媒对照组比,完整皮肤大剂量组脏器重量未见明显异常。详见表4、5。

2.5.2 复方甘草次酸霜对雌性大鼠脏器重量的影响

研究显示给药4周时,与破损皮肤溶媒对照组比,破损皮肤大剂量组肾上腺重量增加。与完整皮肤溶媒对照组比,完整皮肤大剂量组肾脏重量增加。停药恢复4周各组均未发现异常。详见表6。

表4 复方甘草次酸霜用药4周对雄性大鼠器官重量的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on organ weight in male rats after drug administration for 4 weeks($n=10, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
肾上腺/mg	65.92±9.24	65.10±8.63	66.80±7.54	62.58±9.21	67.50±6.71	59.58±14.17
胸腺/g	0.47±0.19	0.44±0.09	0.39±0.07	0.39±0.06	0.33±0.06 ^{##}	0.35±0.09
脾脏/g	0.72±0.09	0.71±0.12	0.73±0.10	0.61±0.09 [#]	0.63±0.10	0.60±0.14*
心脏/g	1.18±0.08	1.10±0.23	1.20±0.10	1.12±0.10	1.14±0.10	1.11±0.09
肝脏/g	11.51±1.05	10.95±1.34	10.59±0.96	10.98±0.74	11.59±0.82	11.61±1.46
肾脏/g	2.96±0.17	2.92±0.20	2.93±0.30	2.91±0.35	2.82±0.14	2.89±0.23
脑/g	2.21±0.51	1.97±0.14	2.04±0.11	1.98±0.10	1.93±0.09	1.99±0.09
睾丸/g	3.06±0.94	3.49±0.26	3.36±0.56	3.39±0.47	3.30±0.34	3.49±0.30
附睾/mg	918.34±212.54	1 020.68±111.83	987.72±120.56	944.68±183.05	896.05±124.18	938.65±102.91

与完整皮肤溶媒对照组比较,* $P<0.05$;与破损皮肤溶媒对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

表5 复方甘草次酸霜停药4周对雄性大鼠器官重量的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 5 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on organ weight in male rats after drug withdraw for 4 weeks($n=5, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
肾上腺/mg	69.02±13.56	67.40±10.80	56.34±6.20	61.72±11.94	59.50±12.29	71.04±12.61
胸腺/g	0.39±0.12	0.32±0.03	0.34±0.09	0.34±0.09	0.41±0.06 [#]	0.44±0.13
脾脏/g	0.89±0.09	0.95±0.10	0.82±0.14	0.90±0.04	0.92±0.14	1.02±0.24
心脏/g	1.51±0.15	1.44±0.03	1.42±0.14	1.54±0.12	1.56±0.13	1.53±0.24
肝脏/g	13.52±1.96	13.02±1.06	12.34±0.52	14.21±3.10	13.92±0.66	13.32±1.56
肾脏/g	3.41±0.50	3.31±0.17	3.24±0.20	3.61±0.39	3.35±0.36	3.29±0.37
脑/g	2.18±0.09	2.12±0.14	2.12±0.06	2.15±0.04	2.13±0.06	2.10±0.16
睾丸/g	3.72±0.41	3.55±0.27	3.53±0.17	3.74±0.22	3.80±0.34	3.57±0.16
附睾/mg	1 231.18±118.14	1 240.12±105.78	1 210.96±38.88	1 126.22±103.29	1 267.00±118.93	1 192.04±145.36

与破损皮肤溶媒对照组比较,[#] $P<0.05$

表6 复方甘草次酸霜用药4周对雌性大鼠器官重量的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 6 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on organ weight in female rats after drug administration for 4 weeks($n=10, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
肾上腺/mg	72.04±11.73	74.37±12.52	77.62±7.17	78.18±12.82	86.54±6.43 [#]	81.45±18.95
胸腺/g	0.33±0.08	0.33±0.09	0.30±0.06	0.31±0.08	0.31±0.05	0.28±0.03
脾脏/g	0.53±0.05	0.55±0.06	0.52±0.08	0.50±0.08	0.51±0.06	0.55±0.09
心脏/g	0.93±0.12	0.88±0.11	0.83±0.06	0.92±0.09	0.90±0.07	0.87±0.09
肝脏/g	8.66±1.12	8.39±0.64	8.10±0.64	8.72±0.98	8.96±0.93	9.38±0.67
肾脏/g	2.03±0.12	2.03±0.20	2.07±0.16	2.14±0.10	2.14±0.15	2.15±0.13 [*]
脑/g	1.96±0.11	1.90±0.09	1.96±0.12	1.94±0.05	1.93±0.07	1.92±0.05
子宫/g	0.50±0.17	0.66±0.21	0.52±0.10	0.48±0.12	0.69±0.45	0.66±0.25
卵巢/mg	93.73±20.32	98.90±18.56	94.08±14.04	91.31±13.14	85.23±9.11	94.42±22.75

与完整皮肤溶媒对照组比较,* $P<0.05$;与破损皮肤溶媒对照组比较,[#] $P<0.05$

2.6 复方甘草次酸霜对大鼠脏器系数的影响

2.6.1 复方甘草次酸霜对雄性大鼠脏器系数的影响 给药 4 周,与破损皮肤溶媒对照组相比,破损皮肤大剂量组胸腺重量系数减少,肝脏重量系数增加;与完整皮肤溶媒对照组比,完整皮肤大剂量组肝脏、肾脏重量系数增加;停药 4 周各组脏器系数未见明显异常。详见表 7。

2.6.2 复方甘草次酸霜对雌性大鼠脏器系数的影响 给药 4 周,与破损皮肤溶媒对照组比,破损皮肤小剂量组肝脏、子宫重量系数减轻。中剂量组子宫重量系数减轻,大剂量组肾上腺重量系数增加。与完整皮肤溶媒对照组比,完整皮肤大剂量组肝脏、肾脏、子宫重量系数增加。停药 4 周,与破损皮肤溶媒对照组相比,中剂量组脾脏重量系数增加。详见表 8、9。

表 7 复方甘草次酸霜用药 4 周对雄性大鼠器官重量系数的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)Tab 7 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on organ coefficients in male rats after drug administration for 4 weeks($n=10, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
肾上腺/(mg/100 g)	15.74±1.98	16.92±1.93	16.85±1.66	16.76±2.58	18.13±2.43	16.12±3.91
胸腺/(g/100 g)	0.11±0.04	0.11±0.02	0.10±0.02	0.10±0.02	0.09±0.02 ^{###}	0.08±0.04
脾脏/(g/100 g)	0.17±0.02	0.18±0.03	0.18±0.03	0.16±0.03	0.17±0.02	0.16±0.03
心脏/(g/100 g)	0.28±0.02	0.28±0.05	0.30±0.02	0.30±0.02 [#]	0.30±0.03	0.30±0.02
肝脏/(g/100 g)	2.75±0.22	2.84±0.19	2.67±0.20	2.93±0.10 [#]	3.11±0.29 [#]	3.12±0.19 ^{**}
肾脏/(g/100 g)	0.71±0.05	0.76±0.04	0.74±0.05	0.78±0.06	0.76±0.06	0.78±0.04 ^{**}
脑/(g/100 g)	0.53±0.12	0.51±0.05	0.52±0.03	0.53±0.03	0.52±0.04	0.54±0.04
睾丸/(g/100 g)	0.73±0.23	0.91±0.07 [*]	0.85±0.12	0.91±0.12	0.88±0.09	0.94±0.08
附睾/(mg/100 g)	220.47±55.03	265.97±30.15	249.15±27.69	251.80±43.05	240.21±34.58	252.70±20.56

与完整皮肤溶媒对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与破损皮肤溶媒对照组比较,[#] $P<0.05$,^{###} $P<0.01$

表 8 复方甘草次酸霜用药 4 周对雌性大鼠器官重量系数的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)Tab 8 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on organ coefficients in female rats after drug administration for 4 weeks($n=10, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
肾上腺/(mg/100 g)	25.65±4.89	27.92±3.71	27.81±4.39	29.01±5.49	32.38±4.37 [#]	31.15±6.82
胸腺/(g/100 g)	0.12±0.03	0.12±0.03	0.11±0.02	0.12±0.03	0.12±0.02	0.11±0.01
脾脏/(g/100 g)	0.19±0.03	0.21±0.02	0.19±0.03	0.18±0.02	0.19±0.03	0.21±0.03
心脏/(g/100 g)	0.33±0.03	0.33±0.04	0.30±0.03	0.34±0.04	0.34±0.05	0.33±0.04
肝脏/(g/100 g)	3.05±0.20	3.16±0.16	2.89±0.34 [#]	3.21±0.27	3.34±0.46	3.61±0.43 ^{**}
肾脏/(g/100 g)	0.72±0.05	0.77±0.06	0.74±0.09	0.79±0.06	0.80±0.11	0.83±0.09 ^{**}
脑/(g/100 g)	0.70±0.06	0.72±0.04	0.70±0.09	0.72±0.04	0.72±0.08	0.74±0.08
子宫/(g/100 g)	0.17±0.04	0.25±0.08 [*]	0.19±0.04 [#]	0.18±0.04 [#]	0.26±0.18	0.25±0.10 [*]
卵巢/(mg/100 g)	33.33±7.32	37.37±7.43	33.49±5.24	33.64±4.09	31.89±4.78	35.90±7.22

与完整皮肤溶媒对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与破损皮肤溶媒对照组比较,[#] $P<0.05$

表 9 复方甘草次酸霜停药 4 周对雌性大鼠器官重量系数的影响($n=5, \bar{x} \pm s$)Tab 9 Effects of compound glycyrrhetic acid cream on organ coefficients in female rats after drug withdraw for 4 weeks($n=5, \bar{x} \pm s$)

项目	溶媒对照组		破损皮肤(复方甘草次酸霜)			完整皮肤大剂量组
	完整皮肤	破损	小剂量组	中剂量组	大剂量组	
肾上腺/(mg/100 g)	18.41±5.80	23.16±4.11	22.30±1.28	24.03±1.28	24.24±3.50	19.11±3.55
胸腺/(g/100 g)	0.08±0.01	0.09±0.01	0.12±0.03	0.10±0.03	0.09±0.01	0.10±0.03
脾脏/(g/100 g)	0.18±0.02	0.17±0.01	0.21±0.03	0.21±0.02 [#]	0.19±0.03	0.16±0.01
心脏/(g/100 g)	0.33±0.01	0.32±0.02	0.32±0.03	0.32±0.02	0.32±0.03	0.32±0.02
肝脏/(g/100 g)	3.14±0.35	2.69±0.22	3.25±0.80	2.74±0.14	2.76±0.16	2.77±0.33
肾脏/(g/100 g)	0.68±0.07	0.66±0.06	0.68±0.02	0.73±0.05	0.70±0.06	0.68±0.06
脑/(g/100 g)	0.65±0.04	0.68±0.05	0.68±0.02	0.71±0.03	0.68±0.03	0.66±0.03
子宫/(g/100 g)	0.15±0.03	0.20±0.06	0.23±0.07	0.20±0.02	0.19±0.04	0.19±0.03
卵巢/(mg/100 g)	33.13±0.67	26.99±7.78	32.48±1.72	32.85±3.86	35.07±6.46	35.54±6.19

与破损皮肤溶媒对照组比较,[#] $P<0.05$

2.7 系统尸检及组织病理学检查 连续给药4周,与破损皮肤溶媒对照组比,破损皮肤小、中、大剂量组大鼠给药皮肤局部可见痂皮形成及溃疡,表皮及真皮水肿等局部病理改变;停药4周,各组给药皮肤未见明显组织病理学改变。连续给药4周及停药4周,破损皮肤小、中、大剂量组和完整皮肤大剂量组所有被检脏器均未发现与复方甘草次酸霜毒性相关的病理学改变。

3 讨论

复方甘草次酸霜的主要成分为中药活性成分,具有用量少,资源来源广泛的优势。前期研究显示具有良好的抗菌、消炎、止痒作用^[17],对婴儿湿疹、蚊虫叮咬、皮肤瘙痒症等有显著的疗效,可反复经常应用,避免使用激素类药物导致的不良反应。该制剂为独特工艺,不油腻,无特殊刺激性气味。因此,本研究对其进行安全性评价。

经连续4周的复方甘草次酸霜经皮给药及停药4周观察对大鼠外观及体征、体质量增长均无影响。血液学检查个别指标改变:如给药4周的破损皮肤小剂量组淋巴细胞百分比升高,破损皮肤大剂量组凝血酶原时间缩短,完整皮肤大剂量组嗜酸性粒细胞百分比减少,停药4周后破损皮肤中剂量组平均红细胞血红蛋白浓度减小。这些指标改变均无剂量依赖趋势,仅在个例组改变,凝血酶原时间等指标也未超出本实验参考范围,提示该项改变与供试品毒性无关。血液生化学检查显示,给药4周,破损皮肤小剂量组总胆红素升高,中、大剂量组总胆固醇升高。完整皮肤大剂量组丙氨酸氨基转移酶、总胆红素、总胆固醇升高。破损皮肤中、大剂量组血钾降低,大剂量组尿素氮、血氯降低。完整皮肤大剂量组尿素氮、肌酐、血钾、血氯降低,其改变无剂量依赖趋势,且在停药4周后均恢复正常。病理组织学检查未见与供试品相关的肝脏损伤,提示复方甘草次酸霜高剂量可能对完整皮肤和破损皮肤动物肝脏功能产生可恢复性影响。病理组织学检查未见与供试品相关的肾脏损伤,提示复方甘草次酸霜高剂量可能增强完整皮肤和破损皮肤动物的肾脏排泄功能。脏器重量和系数检查显示,有个别检测指标存在一定差异,但改变无剂量依赖关系,且病理组织学检查未见与药物毒性相关的病理改变,表明上述改变非药物毒性所致。其他病理学组织检查显示给药4周及停药恢复4周所有被检脏器均未发

现与药物毒性相关的病理学改变。

综上所述,SD大鼠经皮给予100、500、1 000 mg·kg⁻¹复方甘草次酸霜,分别为临床拟用剂量的50、250、500倍。连续给药4周,对破损皮肤有一定刺激性,停药后可恢复。500 mg·kg⁻¹对破损皮肤、1 000 mg·kg⁻¹对破损皮肤和正常皮肤可能增强肾脏排泄,对肝脏功能产生可恢复性影响。100 mg·kg⁻¹复方甘草次酸霜未见明显毒性改变,故复方甘草次酸霜基本无毒剂量为100 mg·kg⁻¹,该剂量为临床拟用剂量的50倍。

参考文献:

- [1] 李阳,高欢,朱庆均,等.甘草化学成分抗病毒活性研究进展[J]. 山东中医杂志,2017,(2): 167
- [2] 李玉山.甘草次酸的药理作用及制备工艺研究进展[J]. 化学与黏合,2015,6: 458
- [3] 王兵,王亚新,赵红燕,等.甘草的主要成分及其药理作用的研究进展[J]. 吉林医药学院学报,2013,34(3): 215
- [4] 常明向,吴梅梅,李瀚旻.姜黄素与甘草次酸联用对肝癌HepG-2细胞增殖的抑制作用[J]. 药物评价研究,2017,40(1): 42
- [5] Kratschmar DV, Vuorinen A, Da Cunha T, et al. Characterization of activity and binding mode of glycyrrhetic acid derivatives inhibiting 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2011, 125(1/2): 129
- [6] 王小丽,陈思东.甘草酸作用的研究进展[J]. 中国医药导报,2012,9(24): 20
- [7] 马建国.除湿止痒软膏结合复方甘草酸苷用于神经性皮炎治疗临床观察[J]. 北方药学,2017,14(1): 47
- [8] 王媛.咪唑斯汀联合复方甘草酸苷治疗慢性特发性荨麻疹的效果探析[J]. 当代医药论丛,2017,15(1): 103
- [9] 臧娅群.地氯雷他定联合复方甘草酸苷治疗慢性荨麻疹的临床观察[J]. 吉林医学,2017,38(2): 366
- [10] 国家药品监督管理局.中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则[S]. GPT3-1.2005
- [11] 中华人民共和国卫生部药政局.中药新药研究指南(药理学毒理学)[S].北京:人民卫生出版社,1994:180-180
- [12] 许迪,孔利佳,杜佐华,等.大鼠长期毒性试验质量控制探讨[J]. 中国比较医学杂志,2010,20(1): 61
- [13] 袁伯俊,廖明阳,李波.药物毒理学实验方法与技术[M].北京:化学工业出版社,2007
- [14] 陈奇.中药药理研究方法论[M].2版.北京:人民卫生出版社,2006:110-110
- [15] 徐叔宇,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:69-69
- [16] 范玉明,张舒.毒理学安全性评价标准操作规程指南[M].成都:电子科技大学出版社,2009:114-114
- [17] 李宁,曹波,高颖,等.天然湿痒霜对小鼠实验性皮炎的抗炎止痒作用研究[J]. 武警后勤学院学报(医学版),2014,23(4): 314

(2016-10-17 收稿)