

红梔骨通凝胶膏对家兔皮肤刺激性的研究[△]

彭伟文*,王珠强,吴 飞(广州中医药大学附属中山医院药学部,广东 中山 528401)

中图分类号 R283.6;R944.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)07-0893-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.07.08

摘要 目的:研究红梔骨通凝胶膏经皮给药的安全性。方法:分别取家兔行完整皮肤单次给药刺激性实验($n=4$)、破损皮肤单次给药刺激性实验($n=4$)、完整皮肤多次给药刺激性实验($n=4$)。各家兔左右两侧皮肤分别贴3 cm×3 cm空白基质和红梔骨通凝胶膏24 h(按生药计为0.14 g)。前2项实验家兔分别于去除胶布1、24、48、72 h后观察去毛部位的红斑和水肿情况;第3项实验家兔给药24 h后,暴露给药区域1 h后再次给药,重复3次,分别观察第1、2次去除胶布后及第3次去除胶布1、24、48、72 h后去毛部位的红斑和水肿情况。结果:3项实验中,各组家兔的红斑和水肿评分均为0分,皮肤刺激性均评价为无刺激。结论:红梔骨通凝胶膏对家兔皮肤无刺激性。

关键词 红梔骨通凝胶膏;皮肤刺激性;完整皮肤;破损皮肤;单次给药;多次给药;家兔

Study on the Skin Irritation of Hongzhi Gutong Cataplast in Rabbits

PENG Weiwen, WANG Zhuqiang, WU Fei (Dept. of Pharmacy, Affiliated Zhongshan Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Zhongshan 528401, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the safety of percutaneous administration of Hongzhi gutong cataplast. METHODS: Rabbits were taken for single dose in complete skin irritation test ($n=4$), single dose in damaged skin irritation test ($n=4$) and multiple doses in complete skin irritation test ($n=4$). The left and right sides of the skin respectively paste 3 cm×3 cm blank matrix and Hongzhi gutong cataplast for 24 h (calculated by crude drug of 0.14 g). After removing tape 1, 24, 48, 72 h, the erythema and edema in hair removal site of rabbits in the former 2 tests were observed; after 24 h of administration, the rabbits in the last group were administrated again after exposing the administration area for 1 h, repeated 3 times, the erythema and edema in hair removal site after removing tape the first, second time and 1, 24, 48, 72 h in the third time were respectively observed. RESULTS: In the 3 experiments, the scores of erythema and edema of all rabbits were 0, and skin irritation was evaluated as no irritation. CONCLUSIONS: Hongzhi gutong cataplast has no skin irritation in rabbits.

KEYWORDS Hongzhi gutong cataplast; Skin irritation; Complete skin; Damaged skin; Single dose; Multiple doses; Rabbits

凝胶膏剂(原巴布膏剂)系指提取物、饮片或化学药物与适宜的亲水性基质混匀后,涂布于背衬材料上制得的贴膏剂^[1]。医药化学工业的发展、制剂技术的提高及高分子辅料的开发与应用,促使凝胶膏剂的发展和应用日益广泛。因此,凝胶膏剂被视为是一类极具发展前景的新型外用制剂^[2]。红梔骨科洗剂为广州中医药大学附属中山医院院内制剂,由红花、梔子、黄柏、威灵仙、络石藤等13味中药构成,临床用于治疗扭挫伤初期、骨折初期的关节活动不利^[3]。但这一剂型有药物滞留时间短、药材浪费大、使用不方便等缺点,因此迫切需要开发新剂型来满足患者的需求。凝胶膏剂具有载药量大、释药时间长、透气、不拔体毛、使用舒适,无皮肤刺激和过敏反应,且可多次在身体各部位贴敷等优点^[4]。因此,我院在红梔骨科洗剂的基础上研发了红梔骨通凝胶膏剂,在本研究中,笔者对其皮肤刺激性进行探讨,以为其临床安全用药提供实验依据。

[△] 基金项目:广东省中医药强省立项资助科研课题(No. 20141284)

* 主任中药师。研究方向:中药制剂开发与研究。电话:0760-88815106。E-mail:pww200688@21cn.com

1 材料

1.1 仪器

BS224S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.2 药材与试剂

红梔骨通凝胶膏[广州中医药大学附属中山医院药学部自制,规格:8 cm×12 cm,1.5 g/贴(以生药计)];亲水凝胶专用聚丙烯酸钠(NP-800)、甘羟铝、甘油、酒石酸、乙二胺四乙酸钠(EDTA-Na₂)、聚维酮K90均为分析纯;水为纯化水。

1.3 动物

健康家兔12只,♀♂各半,体质量2~2.5 kg,由广州中医药大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2015-0001,使用许可证号:SYXK(粤)2010-0109。家兔饲养于广东省中山市中医院中药药理实验室。

2 方法

2.1 空白基质的制备

按红梔骨通凝胶膏配方量,称取NP-800、甘羟铝适量,分散于甘油中,混合均匀作为油相备用;另取配方量

的酒石酸、EDTA-Na₂、聚维酮K90于纯化水中,加入适量冰片与薄荷,搅拌均匀作为水相备用;将水相缓慢加入油相中,边加边搅拌,约6 min即得黏稠的凝胶膏,将膏体涂布于无纺布上,盖上印花薄膜,压平,室温放置24 h,固化成型,铝塑袋密封即得。

2.2 完整皮肤单次给药刺激性实验

取家兔4只,♂♀各半,给药前24 h将家兔背部脊柱两侧去毛,左右各2个部位,约3 cm×3 cm,剪毛时应保证皮肤不破损。将膏剂剪切成3 cm×3 cm的小块,0.14 g/小块(以生药计算)。24 h后,分别于去毛处左侧2个部位各贴1贴“2.1”项下空白基质、右侧2个部位各贴1贴红椏骨通凝胶膏剂,并用无刺激的胶布固定,24 h后用温水洗净^[6-9]。于去除胶布后的1、24、48、72 h观察并记录去毛部位的红斑和水肿等情况。红斑和水肿症状按《中药、天然药物刺激性和溶血性研究技术指导原则》^[7]中有关技术要求评分。红斑评分:无红斑计0分、勉强可见计1分、明显可见计2分、中度到严重红斑计3分、紫红色红斑并有焦痂形成计4分;水肿评分:无水肿计0分、勉强可见计1分、可见边缘高出周围皮肤计2分、皮肤隆起约1 mm且轮廓清楚计3分、水肿隆起1 mm以上且范围扩大计4分。分别评分后,计算红斑和水肿总评分,0~0.49分为无刺激、0.5~2.99分为轻度刺激、3.0~5.99分为中度刺激、6.0~8.0分为重度刺激。

2.3 破损皮肤单次给药刺激性实验

取家兔4只,♂♀各半,按“2.2”项下方法去毛,用乙醇清洁、消毒暴露皮肤后,用灭菌针头在皮肤上划“井”字造成破损伤口,以渗出细小血珠为标准^[7-9]。按“2.2”项下方法给药,于去除胶布后的1、24、48、72 h观察并记录去毛部位的红斑和水肿情况,评分标准同“2.2”项下。

2.4 完整皮肤多次给药刺激性实验

取家兔4只,♂♀各半,按“2.2”项下方法去毛、给药,给药后24 h用温水洗净残留药物,观察去毛部位的红斑和水肿情况,暴露给药区域1 h后再次给药,重复3次。第3次给药后24 h,用温水洗净残留药物^[9-10],并于去除胶布后的1、24、48、72 h观察并记录去毛部位的红斑和水肿情况,评分标准同“2.2”项下。

3 结果

3.1 完整皮肤单次给药刺激性实验结果

去除空白基质和红椏骨通凝胶膏1、24、48、72 h后,完整皮肤家兔去毛部位均未见红斑和水肿,评分均为0分,表明完整皮肤单次给予红椏骨通凝胶膏对家兔皮肤无刺激性,结果见表1。

3.2 破损皮肤单次给药刺激性实验结果

去除空白基质和红椏骨通凝胶膏1、24、48、72 h后,破损皮肤家兔去毛部位均未见红斑和水肿,评分均为0分,表明破损皮肤单次给予红椏骨通凝胶膏对家兔皮肤无刺激性,结果见表2。

3.3 完整皮肤多次给药刺激性实验结果

表1 完整皮肤单次给药刺激性实验结果

Tab 1 Results of single dose in complete skin irritation test

膏剂	动物编号	去除胶布后不同时间皮肤刺激性反应评分								刺激性评价
		1 h		24 h		48 h		72 h		
		红斑	水肿	红斑	水肿	红斑	水肿	红斑	水肿	
红椏骨通凝胶膏	①	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	②	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	③	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	④	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
空白基质	①	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	②	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	③	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	④	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激

表2 破损皮肤单次给药刺激性实验结果

Tab 2 Results of single dose in damaged skin irritation test

膏剂	动物编号	去除胶布后不同时间皮肤刺激性反应评分								刺激性评价
		1 h		24 h		48 h		72 h		
		红斑	水肿	红斑	水肿	红斑	水肿	红斑	水肿	
红椏骨通凝胶膏	①	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	②	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	③	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	④	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
空白基质	①	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	②	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	③	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激
	④	0	0	0	0	0	0	0	0	无刺激

第1、2次给药后24 h和第3次去除空白基质和红椏骨通凝胶膏1、24、48、72 h后,家兔去毛部位均未见红斑和水肿,评分均为0分,提示完整皮肤多次给予红椏骨通凝胶膏对家兔皮肤无刺激性,结果见表3。

表3 完整皮肤多次给药刺激性实验结果(n=4)

Tab 3 Results of multiple doses in complete skin irritation test(n=4)

膏剂	指标	第1次给药后24 h评分	第2次给药后24 h评分	去除胶布后不同时间皮肤刺激性反应评分			
				1 h	24 h	48 h	72 h
红椏骨通凝胶膏	平均积分值	0	0	0	0	0	0
	刺激性评价	无刺激	无刺激	无刺激	无刺激	无刺激	无刺激
空白基质	平均积分值	0	0	0	0	0	0
	刺激性评价	无刺激	无刺激	无刺激	无刺激	无刺激	无刺激

4 讨论

红椏骨科洗剂作为我院院内制剂多年来已广泛使用于骨外科疾病,常作为骨折初期、筋骨损伤的辅助药物,疗效显著、价格低廉。红椏骨科洗剂中发挥疗效的主要是多种中、高极性活性物质,如羟基红花黄色素A、槲子苷等,这些成分易溶于水,呈弱酸性^[11-12]。而凝胶膏含水量高、载药量大、药物作用持续时间长,凝胶膏的基质在水中也显弱酸性,故非常适合将红椏骨科洗剂开发为凝胶膏剂。此外,凝胶膏亲水性基质可适用于各种极性药物,符合中药复方多成分、多靶点的特点;且其膏体柔软、载药量大、无刺激、无过敏,适合中药足量、长时间、持续发挥疗效的给药特点。随着中药的应用范围扩展和透皮给药研究的深入,中药凝胶膏的应用不断得到

忧遁草枝叶的化学成分及体外抗肿瘤活性研究^Δ

黄茂莘^{1*}, 蔡杨靖¹, 刘寿柏², 蔡彩虹², 王军², 王炜¹, 陈玲¹, 韩鹏定¹, 曾艳波^{2#} (1. 海南省农垦总医院药学部, 海口 570311; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所/海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海口 571101)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)07-0895-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.07.09

摘要 目的: 研究忧遁草枝叶的化学成分, 并初步考察其体外抗肿瘤活性。方法: 采用多种柱色谱技术对忧遁草95%乙醇提取物的乙酸乙酯、正丁醇部位进行分离、纯化, 根据理化性质和波谱数据分析、鉴定化合物结构。采用MTT法测定鉴定出的化合物对人肝癌BEL-7402细胞、人胃癌SGC-7901细胞和人慢性髓原白血病K562细胞的体外抑制活性。结果: 从忧遁草枝叶中分离鉴定出8个化合物, 分别为羽扇豆醇(1)、对香豆酸甲酯(2)、1-*O*-acyl-3-*O*-(β -*D*-galactopyranosyl)-sn-glycerol(3)、(6*R*, 10*R*)-6, 10, 14-trimethyl-2-pentadecanone(4)、邻苯二甲酸二(2-乙基-己基)酯(5)、 α -*D*-甲基半乳糖苷(6)、 β -*D*-甲基葡萄糖苷(7)、9-hydroxy-megastigma-4, 7-dien-3-one-9-*O*- β -*D*-glucopyranoside(8); 化合物1对人肝癌BEL-7402细胞具有弱的生长抑制作用(半数抑制浓度为42.5 μ mol/L), 尚未发现其他7种化合物对上述3种肿瘤细胞有抑制作用。结论: 化合物2~8为首次从忧遁草枝叶中分离得到, 羽扇豆醇具有弱的抗人肝癌BEL-7402细胞的活性, 该研究为忧遁草的质量评价奠定了一定的基础。

关键词 忧遁草; 枝叶; 化学成分; 鉴定; 抗肿瘤; 体外

拓展, 取得了较为满意的临床效果。

本研究结果表明, 将红梔骨科洗剂的剂型改为凝胶膏后对家兔皮肤无明显刺激性, 安全性较好; 而由NP-800、甘羟铝、甘油、酒石酸、EDTA-Na₂、聚维酮K90等辅料制成的空白基质对家兔皮肤也无明显刺激性, 可见无论含药凝胶膏还是空白基质均较安全可靠, 这也充分证实了这一剂型的可行性。但是, 红梔骨通凝胶膏剂应用于临床的安全性如何有待进一步研究证实。此外, 凝胶膏剂安全性的评价主要包括感官评测和仪器评测。感官评测有一定的现实运用意义, 且简单易行, 但由于影响因素较多, 客观性不强, 且个体差异较大, 容易造成结果判断有误。因此, 开发和使用仪器对中药凝胶膏剂进行更客观的评价是下一步工作的重点。

2015年版《中国药典》(四部)对凝胶膏剂的其他质量标准作出了规定, 其检查项包括外观、含膏量、赋形性、黏附性和微生物限度。本课题组前期对这些指标均进行了检测, 发现红梔骨通凝胶膏均符合2015年版《中国药典》(四部)要求, 但这些检查项目尚有不足, 并不完善, 增加凝胶膏剂刺激性评价有利于凝胶膏剂质量的提高。然而2015年版《中国药典》(四部)对凝胶膏剂的综合评价仍不够详细, 如对实验仪器和影响因素等未作出详细说明, 某些指标也无具体限度的规定, 尚无科学合理的标准可循, 测得结果重复性差且没有可比性。因此, 建立完整的综合测评方法、设置科学的评分指标、制

定完善的质量评价标准对凝胶膏剂的发展有着十分重要的意义。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 22.
- [2] 崔玮. 壳聚糖/聚乙烯醇复合水凝胶的制备及药物释放研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008: 25.
- [3] 广东省卫生厅. 中医院制剂标准[M]. 广州: 广东人民出版社, 2011: 123.
- [4] 彭伟文, 王珠强, 吴飞. 相关药物巴布剂的药效学及毒理学研究近况[J]. 中国药房, 2016, 27(19): 2711-2714.
- [5] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物刺激性和溶血性研究技术指导原则[S]. 北京: 军事医学科学出版社, 2005: 2.
- [6] 杨基森. 巴布剂[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2005: 247.
- [7] 林静, 胡程萍, 刘杰书, 等. 地木耳乳膏皮肤安全性实验研究[J]. 湖北民族学院学报(医学版), 2016, 33(1): 53-55.
- [8] 单珍珠, 周留勇, 尤建良, 等. 复脉膏外敷的安全性及对兔耳缘化疗性静脉炎的影响[J]. 河北中医, 2015, 37(10): 1515-1518.
- [9] 刘元瑞, 葛海生, 赵康虎, 等. 克癣净乳膏外用安全性评价实验研究[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2014(7): 589-591.
- [10] 陈小平, 王志旺, 刘彩民, 等. 荣骨定痛膏皮肤刺激性与皮肤过敏性实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2015(3): 7-9.
- [11] 刘聪敏, 白洁, 杜守颖, 等. 止痛凝胶膏剂的制备及体外释放考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 5-9.
- [12] 张成桂, 何苗, 巫秀美, 等. 国内凝胶膏剂的专利分析[J]. 大理学院学报, 2012, 11(9): 11-15.

(收稿日期: 2016-07-22 修回日期: 2017-01-06)

(编辑: 刘明伟)

^Δ 基金项目: 海南省卫生和计划生育委员会2014年度普通医学科研项目(No.14A210221)

* 副主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 0898-66808275。E-mail: wnhuangmx@163.com

通信作者: 副研究员, 博士。研究方向: 天然产物化学。电话: 0898-66968571。E-mail: zengyanbo@itbb.org.cn