

# 芷冰鼻腔原位凝胶剂的药效学及鼻纤毛毒性研究

董芙蓉<sup>1</sup>, 刘莉<sup>2</sup>, 朱红霞<sup>2</sup>, 陈志良<sup>2</sup>, 刘强<sup>2\*</sup>

(1. 广州白云山星群(药业)股份有限公司, 广州 510288; 2. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515)

**[摘要]** **目的:**对芷冰鼻腔原位凝胶剂的药效学及鼻纤毛毒性进行研究。**方法:**50 只小鼠随机分为 5 组,空白组给予 0.8 g·kg<sup>-1</sup>生理盐水,对照组(灌胃给予阿司匹林 0.04 g·kg<sup>-1</sup>),芷冰鼻腔原位凝胶剂(ZBISG)低、中、高剂量组(0.4, 0.8, 1.2 g·kg<sup>-1</sup>),在给药 5 min 后 ip 0.6% 醋酸溶液 10 mL·kg<sup>-1</sup>。观察并记录出现扭体的时间及 20 min 内出现扭体反应的次数,计算镇痛率。用热板法测定小鼠给药前及给药后 15, 30, 60, 90 min 痛反应潜伏期,计算痛阈提高率。采用在体蟾蜍上颌模型,生理盐水 0.5 mL 作为对照,考察凝胶的鼻纤毛毒性。**结果:**与空白组相比,各给药组小鼠的扭体次数均有显著性下降( $P < 0.01$ ),与阿司匹林组相比,低剂量组无显著差异,而中、高剂量组差异显著( $P < 0.01$ ),随着剂量的增加,ZBISG 的止痛作用增强;小鼠出现扭体的时间各给药组与空白组相比,均有显著性差异( $P < 0.01$ ),随着剂量的增加,ZBISG 的抑制出现疼痛反应的作用增强。各给药组与空白对照组相比,各时间点的痛阈提高率均有显著性差异( $P < 0.01$ ),ZBISG 组各时间点的痛阈提高率均高于阿司匹林组( $P < 0.01$ );ZBISG 低、中剂量组与高剂量组相比,各个时间点的痛阈提高率均有显著性差异( $P < 0.01$ )。芷冰鼻用原位凝胶剂对纤毛运动基本无影响。**结论:**芷冰鼻用原位凝胶剂为 1 种有效安全的新型制剂。

**[关键词]** 芷冰鼻腔原位凝胶剂; 药效学; 鼻纤毛毒性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0239-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013160239

## Pharmacodynamics and Nasal Ciliotoxicity of ZhiBing Nasal Cavity In-situ Gels

DONG Fu-rong<sup>1</sup>, LIU Li<sup>2</sup>, ZHU Hong-xia<sup>2</sup>, CHEN Zhi-liang<sup>2</sup>, LIU Qiang<sup>2\*</sup>

(1. Guangzhou Baiyunshanxingqun Pharmaceutical, Co. LTD, Guangzhou 510288, China;

2. College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the pharmacodynamics and ciliotoxicity of Zhibing nasal cavity in-situ gels (ZBISG). **Method:** Fifty mice were randomly divided into five groups, normal saline (0.8 g·kg<sup>-1</sup>) were given for blank group, aspirin (0.04 g·kg<sup>-1</sup>) was given orally for the positive control group and 0.4, 0.8, 1.2 g·kg<sup>-1</sup>ZBISG given orally for ZBISG groups. Five minutes after administration, 0.6% acetate solution (0.1 mL·10 g<sup>-1</sup>) was injected intraperitoneally in control group and ZBISG groups. Then the time of writhing response appeared and the number of mice writhing response were observed and recorded. Analgesic rate was also calculated. The pain threshold increase rate was measured at before and 15, 30, 60, 90 min after ZBISG administration using hot plate test. The nasal ciliotoxicity of ZBISG was evaluated with *in vivo* toad palate, normal saline of 0.5 mL was used as the control. **Result:** For the mice torsion reaction, there was significant differences between treatment group and blank group ( $P < 0.01$ ). Between ZBISG treatment group and aspirin group, the high dose group and medium dose group were significantly different compared with that of aspirin group ( $P < 0.01$ ), however low dose group did not show difference to aspirin group. And as the dosage increased, the effect of

**[收稿日期]** 20120907(004)

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2008B030301141)

**[第一作者]** 董芙蓉, 硕士, 工程师, 从事中药新产品研发工作, Tel:13725116225, E-mail:dongfr2006@126.com

**[通讯作者]** \* 刘强, 博士, 教授, 从事中药新剂型与新技术研究, Tel:020-61648264, E-mail:gzlq2002@163.com

analgesic action increased. In the time when the writhing response appeared, there was significant differences between administration group and blank group ( $P < 0.01$ ). And as the dosage increased, the effect of analgesic action increased. There was obvious difference in the pain threshold increase rate at each time point between ZBISG group and blank group ( $P < 0.01$ ) or between ZBISG treatment group and aspirin group ( $P < 0.01$ ) or between the high, medium dose group and low dose group ( $P < 0.01$ ). ZBISG had no obvious effect on the ciliary movement. **Conclusion:** ZBISG is a kind of effective and safe preparation.

[ **Key words** ] Zhibing nasal cavity in-situ gels; pharmacodynamics; nasal ciliotoxicity

白芷具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓之功效。冰片具有开窍醒神、清热止痛的功效。芷冰鼻腔原位凝胶是以白芷、冰片等为主要药物制备成的经鼻腔给药治疗头痛的新剂型<sup>[1-2]</sup>。鼻用原位凝胶以溶液状态给药,在鼻黏膜发生溶液-凝胶转变过程,形成半固体状态的凝胶后,与鼻黏膜组织的亲和力增强,从而滞留时间长,释药性能佳,较传统的滴鼻剂可增强药效,提高生物利用度<sup>[3-4]</sup>。但因其在鼻黏膜内停留时间长,可能会存在对鼻黏膜组织及鼻纤毛的毒性作用,所以鼻腔纤毛的毒性是评价鼻腔给药系统的重要因素<sup>[5]</sup>。本文对芷冰鼻腔原位凝胶剂镇痛药效学和鼻纤毛毒性进行了研究。

## 1 材料

**1.1 药品** 芷冰鼻腔原位凝胶剂(南方医科大学中药制剂学教研室自制,以下简称 ZB-ISG,批号 070303,070308,070315)。

**1.2 动物** 昆明种小鼠,雌雄不拘,体重 18~22 g,南方医科大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(粤)2006-0015。中华大蟾蜍,体重 70~80 g,雌雄各半。

**1.3 仪器** GJ28402 型热板测痛仪(宁海白石电子医药仪器厂)。

## 2 方法

### 2.1 镇痛作用

**2.1.1 扭体法** 50 只小鼠随机分为 5 组,每只 10 只。空白对照(生理盐水,0.8 g·kg<sup>-1</sup>)组、阳性对照(阿司匹林,0.04 g·kg<sup>-1</sup>)组、鼻腔 ZBISG 低、中、高(0.4,0.8,1.2 g·kg<sup>-1</sup>)组,在给药 5 min 后 ip 0.6% 醋酸溶液 10 mL·kg<sup>-1</sup>。观察并记录注射醋酸溶液后出现扭体的时间及 20 min 内出现扭体反应的次数,计算镇痛率。

$$\text{镇痛率} = \frac{\text{扭体数}_{\text{对照组}} - \text{扭体数}_{\text{给药组}}}{\text{扭体数}_{\text{对照组}}} \times 100\%$$

**2.1.2 热板法** 选择对 50℃ 热板痛觉反应在 5~30 s 的小鼠 50 只,分组和给药方式同 2.1.1。每只小鼠给药前及给药后 15, 30, 60, 90 min 测定痛反应

潜伏期,计算痛阈提高率。

$$\text{痛阈提高率} = \frac{\text{痛阈}_{\text{给药后}} - \text{痛阈}_{\text{给药前}}}{\text{痛阈}_{\text{给药前}}} \times 100\%$$

**2.2 鼻纤毛毒性实验** 将蟾蜍仰卧固定,使口腔张开并固定,于上腭黏膜处滴加药液 0.5 mL 使完全浸没上腭,接触 30 min 或 60 min 后用生理盐水洗净药物,分离上腭黏膜,取约 3 mm × 3 mm 大小,立即用生理盐水洗净血块及杂物,黏膜面向上平铺于载玻片上,滴加生理盐水,盖上盖玻片,用 400 倍光学显微镜观察纤毛运动情况。随后将载玻片搁置于加有少量蒸馏水饱和的层析缸中,密闭,置于室温环境中,此后每隔一定时间取出标本,置显微镜下观察,直至纤毛停止运动,记录纤毛持续运动的时间。生理盐水 0.5 mL 作为对照,其他操作方法同上。

**2.3 统计学方法** 用 SPSS 11.5 统计软件进行分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用单因素方差分析及 SNK 检验;均以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠醋酸扭体反应的影响** 从小鼠的扭体次数来看,各给药组与空白组相比,均有显著性差异( $P < 0.01$ ),说明各治疗组显著降低了小鼠的疼痛反应;与阿司匹林组相比,ZBISG 低、中、高剂量组均有显著性差异( $P < 0.01$ ),随着剂量的增加,ZBISG 的止痛作用增强。从小鼠出现扭体的时间来看,各给药组与空白组相比,均有显著性差异( $P < 0.01$ ),说明各治疗组延缓了小鼠出现疼痛反应的时间,随着剂量的增加,ZB-ISG 的抑制出现疼痛反应的作用增强。见表 1。

### 3.2 对小鼠热板致痛反应的影响

各给药组与空白对照组相比,各个时间点的痛阈提高率均有显著性差异( $P < 0.01$ ),说明各给药组小鼠的疼痛均得到有效抑制;ZBISG 各治疗组与阿司匹林组相比,各个时间点的痛阈提高率均有显著性差异( $P < 0.01$ );ZBISG 低、中剂量组与高剂量组相比,各个时间点的痛阈提高率均有显著性差异( $P < 0.01$ ),说明随着剂量增加 ZBISG 的疗效增强。

表1 芷冰鼻腔原位凝胶对小鼠醋酸扭体反应的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	出现扭体的 时间/min	20 min 内 扭体数/次	镇痛率 /%
空白	-	2.7 ± 1.3	37.5 ± 11.6	/
阿司匹林	0.04	5.6 ± 2.3 <sup>2,6)</sup>	20.3 ± 2.0 <sup>2,6)</sup>	45.9
ZBISG	0.4	5.3 ± 1.0 <sup>2,6)</sup>	19.5 ± 4.3 <sup>2,6)</sup>	48.0
	0.8	9.8 ± 2.6 <sup>2,4,5)</sup>	14.4 ± 3.5 <sup>2,3,6)</sup>	61.6
	1.2	11.4 ± 3.2 <sup>2,4)</sup>	10.4 ± 1.8 <sup>2,4)</sup>	72.3

注:与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与阿司匹林组比较

<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ ;与ZBISG高剂量组比较<sup>5)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>6)</sup>  $P < 0.01$  (表2~3同)。

表2 芷冰鼻腔原位凝胶对小鼠热板致痛反应的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	给药前 痛阈	给药后不同时间痛阈(痛阈提高率)			
			15 min	30 min	60 min	90 min
空白		14.0 ± 2.8	14.7 ± 3.7(5.0 ± 2.5)	14.3 ± 2.9(2.1 ± 1.6)	15.8 ± 3.4(12.9 ± 3.9)	16.3 ± 3.0(16.4 ± 2.8)
阿司匹林	0.04	14.9 ± 3.6	16.3 ± 2.8(9.4 ± 2.0 <sup>2)</sup> )	17.2 ± 2.3(15.4 ± 4.2 <sup>2)</sup> )	20.9 ± 3.2(40.3 ± 4.6 <sup>2)</sup> )	22.5 ± 3.8(51.0 ± 6.5 <sup>2)</sup> )
ZB-ISC	0.4	15.3 ± 2.5	22.5 ± 2.0(47.1 ± 5.3 <sup>2,4,6)</sup> )	25.3 ± 4.2(65.4 ± 2.7 <sup>2,4,6)</sup> )	24.7 ± 4.3(61.4 ± 7.8 <sup>2,4,6)</sup> )	24.2 ± 2.4(58.2 ± 3.2 <sup>2,4,6)</sup> )
	0.8	16.2 ± 3.4	24.7 ± 3.3(52.5 ± 5.1 <sup>2,6)</sup> )	28.2 ± 4.9(74.1 ± 4.3 <sup>2,4)</sup> )	27.2 ± 3.8(67.9 ± 7.6 <sup>2,4,6)</sup> )	26.8 ± 5.1(65.4 ± 2.7 <sup>2,4,6)</sup> )
	1.2	14.9 ± 2.6	24.6 ± 4.5(65.1 ± 2.6 <sup>2)</sup> )	27.3 ± 3.9(83.2 ± 6.7 <sup>2,4)</sup> )	26.5 ± 4.6(77.9 ± 4.3 <sup>2,4)</sup> )	26.1 ± 4.8(75.2 ± 5.2 <sup>2,4)</sup> )

#### 4 讨论

实验中各组的给药方式不完全相同,阿司匹林组药后30 min注射醋酸,而其他各组给药后5 min注射醋酸,这是因为目前没有经鼻腔给药的镇痛药供选择,选用阿司匹林灌胃给药,起效会比较慢,故经过预试验,选择阿司匹林给药后30 min注射醋酸以增加实验的可比性。评价鼻纤毛毒性的动物模型主要有鸡胚胎气管的黏膜纤毛和蟾蜍上颌黏膜纤毛,两者均与哺乳动物鼻黏膜纤毛相似,但后者材料易得,操作简便,故应用较广<sup>[6]</sup>。用蟾蜍上颌黏膜纤毛评价的方法有离体法,在体法,改良离体法及电镜法。由于原位凝胶有较大黏度,且在体法试验结果可靠,简便易行,所以选择在体法作为评价芷冰原位凝胶剂对鼻纤毛的毒性。

#### [参考文献]

[1] 董芙蓉,刘莉,陈志良,等. 芷冰鼻腔原位凝胶的体外

ZB-ISC各治疗组痛阈提高率开始时随着时间增加而增加,到了30 min时,随时间延长,痛阈基本维持在一个水平上。见表2。

**3.3 对蛙上颌纤毛持续运动时间的影响** 以生理盐水组纤毛持续运动时间为100%,以给药组的纤毛持续运动时间除以生理盐水对照组的纤毛持续运动时间,得到纤毛持续运动时间的相对百分率。ZB-ISC作用30,60 min时的纤毛持续运动时间的相对率为96.6%,95.8%。可见,芷冰鼻用原位凝胶剂对纤毛运动基本无影响,可评价为无纤毛毒性的药物。

释放[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17):29.

[2] 董芙蓉,刘莉,陈志良,等. 芷冰鼻腔原位凝胶剂的质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4):19.

[3] 张翠霞,张文涛,王东凯,等. 新型的药物传递系统-原位凝胶的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(4):459.

[4] ElHady S S A, Morada N D, Awed G A S, et al. Development of in situ gelling and mucoadhesive mebeverine hydrochloride solution for rectal administration[J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2003, 11(5):159.

[5] 蒋新国,崔景斌,药物的鼻黏膜纤毛毒性及评价方法[J]. 药学学报, 1995, 30(11):848.

[6] 郭伟魁,张海燕,宋伟,等. 中药经鼻腔给药研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20):288.

[责任编辑 李玉洁]