

黄连巴布剂的镇痛抗炎作用、刺激性及过敏性研究

王彦礼,王岚,杜茂波,刘淑芝,梁日欣*,杨庆,殷小杰
(中国中医科学院中药研究所,北京 100700)

[摘要] **目的:**通过观察黄连巴布剂的镇痛抗炎作用、刺激性及过敏性,对黄连巴布剂的药效学及安全性进行评价,为黄连巴布剂的临床应用提供实验依据。**方法:**角叉菜胶致炎法致大鼠足肿胀;化学刺激法造小鼠镇痛抗炎模型;分别观察外用黄连巴布剂高、中、低 3 个剂量(含生药 12,6,3 g·kg⁻¹外用涂抹)组对足跖肿胀度、扭体次数及毛细血管通透性的影响。健康家兔分别单次和多次给药,进行完整与破损皮肤的皮肤刺激性试验;健康豚鼠,通过致敏接触和激发接触给药进行皮肤过敏试验。**结果:**黄连巴布剂中、低剂量组能明显降低大鼠足肿胀度,中剂量组作用时间持续时间较长。高、中剂量组降低毛细血管通透性,高、中、低 3 个剂量组能减少扭体次数,与赋形剂组比较均有显著性差异($P < 0.05, P < 0.01$)。单次给药和连续给药,完整皮肤和破损皮肤组均未出现红斑、水肿等刺激反应。豚鼠皮肤未出现过敏反应。**结论:**黄连巴布剂具有镇痛抗炎和消肿的作用,对家兔完整皮肤、破损皮肤均无刺激性,对豚鼠皮肤不会引起过敏反应。

[关键词] 黄连巴布剂;刺激性;过敏性;镇痛抗炎

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0143-04

Study of Yulian Cataplasm on Analgesic, Anti-inflammatory Actions and Irritation, Hypersensitiveness

WANG Yan-li, WANG Lan, DU Mao-bo, LIU Shu-zhi, LIANG Ri-xin*, YANG Qing, YIN Xiao-jie
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** Analgesic, anti-inflammatory actions and irritation, hypersensitiveness were observed to evaluate the pharmacodynamics and safety of Yulian cataplasm, and to provide the experimental basis for clinical applications of the cataplasm. **Method:** The experiment animals were randomly divided into Yulian cataplasm high, middle and low dose groups (12, 6, 3 g·kg⁻¹). Carrageenan was used to induce rat paw edema. The mice inflammatory and algetic models were established by chemical irritation. Somatic writhing; foot swelling and capillary permeability were observed. The intact and damaged skins of rabbits were used to carry out irritation trial, and the hypersensitivity trial was conducted in guinea pigs. **Result:** Both middle and low dose groups of Yulian cataplasm could reduce rat paw swelling, middle dose group lasted longer duration of action. High and middle dose groups could decrease capillary permeability. All the three dose groups could reduce the writhing, and compared with excipient group ($P < 0.05, P < 0.01$). Irritation and hypersensitivity were not found. **Conclusion:** Yulian cataplasm could obviously exert both analgesic and anti-inflammatory actions, and no irritation and hypersensitivity were found.

[Key words] Yulian cataplasm; pepti ulcer; transdermal delivery system

[收稿日期] 2011-06-15

[基金项目] 国家科技支撑计划——中药巴布剂共性技术研究
(2006BAI09B08-13)

[第一作者] 王彦礼, Tel: 010-64014411-2981

[通讯作者] *梁日欣, 研究员, 博士生导师, Tel: 010-64014411-2948, E-mail: liangrixin2009@sina.com

黄连片原方由黄连、吴茱萸、木香 3 味药组成, 出自《百一选方》; 收载于中药部颁标准第五册^[1], 功能主治为疗脘胁疼痛, 暖气吐酸、大便热泻。巴布剂是中药经皮给药系统研究的热点, 水溶性高分子材料被作为基质, 具有载药量大、透皮效果好, 贴服

舒适、安全无刺激、可反复揭贴等特点,对中药制剂来说尤为适宜^[2]。依据“内病外治”理论,将黄连片制成巴布剂;以镇痛、抗炎作为药效学评价指标,同时对其皮肤刺激性和过敏性进行安全性评价,为保证临床安全合理用药提供实验依据。

1 材料

1.1 药材 黄连,吴茱萸和木香药材分别购自亳州芳草堂饮片厂和北京市双桥燕京中药厂。黄连巴布剂和黄连片药粉均由中国中医科学院中药研究所剂型研究室刘淑芝研究员提供。

1.2 试剂和药品 阿司匹林肠溶片(石家庄康立药业有限公司,批号 20080625),元胡止痛片(四川蜀中制药有限公司,批号 080402),醋酸(北京化工厂,批号 20080926),伊文思蓝(上海化学试剂厂,批号 010518),扶他林(北京诺华制药有限公司,批号 X1040),角叉菜胶(Sigma,批号 C1013),赋形剂(中药所制剂室提供),2,4-二硝基氯苯(北京市东环联合化工厂,批号 951104)。

1.3 动物 雄性 SD 大鼠,体重(250 ± 20)g,雄性昆明种小鼠,体重(20 ~ 22)g,均由军事医学科学院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(军)2007-004。家兔,体重 1.9 ~ 2.6 kg, Hartley 豚鼠,体重 450 ~ 500 g,雌雄兼用,均由北京市海淀兴旺动物养殖场提供,合格证号 SCXK(京)2006-0006。

1.4 仪器 YLS-7A 型足趾容积测量仪(山东省医学科学院设备站),GF-D800 型半自动生化分析仪(山东高密彩虹分析仪器有限公司)。

2 方法

2.1 药材的提取工艺 黄连药材用 5 倍量 70% 乙醇提取 3 次,每次 1.5 h;吴茱萸、木香用 10 倍量水,水蒸气蒸馏法提取挥发油 10 h,提油后的药渣用 5 倍量 80% 乙醇提取 3 次,每次 1.5 h。

2.2 黄连巴布剂的精制工艺 黄连药材粉碎,用 5 倍量 70% 乙醇回流 3 次,每次 1.5 h;过滤和合并滤液,回收乙醇,至糖浆状,加入沸水适量,搅拌,趁热过滤,滤液加 10% 盐酸调 pH 至 1.8,放置过夜,过滤,制成稠膏;吴茱萸、木香先提取挥发油,提油后的水溶液用 2 倍量 95% 乙醇沉淀。

2.3 大鼠足跖肿胀致炎实验^[3] SD 大鼠分 6 组,每组 10 只。赋形剂组,黄连巴布膏高,中,低剂量组(含生药 12.0,6.0,3.0 g·kg⁻¹,外用涂抹);黄连口服组(含生药 2.1 g·kg⁻¹),阳性药组(外用涂抹扶他

林 5 g·kg⁻¹),连续 7 d。末次药后 1 h,将 1% 角叉菜胶先自足跖中部皮下向上注射一部分,然后调转针头向下注完,0.1 mL/爪。致炎后再抹药 1 次。分别于注入后 0.5,1,2,4,6 h 测定其肿胀程度,观察各组达峰和消退时间,计算肿胀率和抑制率。

$$\text{足肿胀率} = (V_{\text{炎后}} - V_{\text{炎前}}) / V_{\text{炎前}} \times 100\%$$

$$\text{抑制率} = (V_{\text{对照}} - V_{\text{给药}}) / V_{\text{对照}} \times 100\%$$

2.4 小鼠镇痛抗炎实验^[4] 小鼠分为 7 组,每组 10 只。赋形剂组,黄连巴布剂高,中,低剂量组(含生药 12,6,3 g·kg⁻¹),外用涂抹,连续 7 d;黄连片组(含生药 3.0 g·kg⁻¹),阳性药阿司匹林组(0.25 g·kg⁻¹),元胡止痛片组(13.2 片/kg),ig 连续 7 d。末次药后 30 min,各组 ip 0.6% 醋酸 10 mL·kg⁻¹,观察 15 min 内各组出现扭体反应的次数。于给药后 1 h,各组 iv 伊文思蓝生理盐水溶液 10 mL·kg⁻¹,20 min 后脱颈椎处死,开腹,6 mL 生理盐水分数次洗涤腹腔,吸出洗涤液合并,3 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清液于 590 nm 处测定吸光度(A),以 A 表示毛细血管通透性。

$$\text{抑制率} = (\text{赋形剂组扭体数} - \text{受试药组扭体数}) / \text{赋形剂组扭体数} \times 100\%$$

2.5 皮肤刺激性试验^[3] 取大耳白家兔 8 只,按体重随机分 2 组,完整皮肤组和破损皮肤组,每组 4 只,家兔背部两侧剪毛,再涂上适量脱毛剂(硫化钡)3 ~ 4 min 后用温水洗净,脱毛面积左右两侧约 10 cm × 15 cm,为完整皮肤动物。将 7 cm × 10 cm 黄连巴布剂(每帖含生药 5 g,每次用 1 帖)贴于家兔一侧脱毛区域,剂量为生药 2.22 g·kg⁻¹,约相当于人用剂量的 27 倍(人日用量为生药 0.083 g·kg⁻¹);另一侧为空白基质。贴敷后随即用胶带环绕固定,防止被舔咬并保持 24 h,去除药物后用温水清洁皮肤,观察 1,24,48,72 h 对皮肤的刺激强度。记录红斑及水肿情况并进行评分(表 1)。如无皮肤刺激反应,进行多次给药皮肤刺激试验,动物脱毛及皮肤处理等同单次给药试验,每天给药 1 次,固定,并保持 6 h,连续 7 d。每天给药前观察给药局部皮肤刺激反应情况,并记录、评分。停药后观察 1,24,48,72 h 对皮肤的刺激反应。除记录每日红斑及水肿情况进行评分外,还观察涂抹部位是否有色素沉着、出血点、皮肤粗糙或皮肤菲薄等情况、记录发生时间及消退时间。评分及评价标准见表 1。

破损皮肤的制备: 将家兔脱好毛的皮肤先用 2% 碘酒、再用 75% 乙醇消毒后,用 7 号针头在脱毛

区将皮肤十字划破,以渗血为度。破损皮肤刺激试验给药及观察方法同完整皮肤试验。

表1 皮肤刺激反应评分及强度评价

观测指标	观测内容	分值	观测时间
一般观察指标	行为活动		每天
	外观体征		每天
	体重		开始、结束时
皮肤刺激反应评分	刺激反应情况		药物去除以后 1,24,48,72 h
红斑:	无红斑	0	
	勉强可见	1	
	明显可见	2	
	中度到严重红斑	3	
	紫红色红斑并有焦痂形成	4	
水肿:	无水肿	0	
	勉强可见	1	
	可见(边缘高出周围皮肤)	2	
	皮肤隆起约1 mm,轮廓清楚	3	
	水肿隆起1 mm以上并范围扩大	4	
	最高分值	8	
皮肤刺激性强度评价标准:	平均积分值	评价	
	0~0.49	无刺激性	
	0.5~2.99	轻度刺激性	
	3.0~5.99	中度刺激性	
	6.0~8.00	强刺激性	

2.6 皮肤过敏性实验^[5] 实验第1天,将30只豚鼠左侧背部脱毛,脱毛面积为4 cm×6 cm,随机分为3组:对照组、萘连巴布剂组和阳性对照(1% 2,4-二硝基氯代苯)组,每组10只。第2天,萘连巴布剂按3.5 cm×5 cm/只(每次用1/2贴),剂量为生药5.12 g·kg⁻¹,约相当于人用量的62倍,对照组给等面积赋型剂,阳性对照组给1% 2,4-二硝基氯代苯0.2 mL,贴敷后固定,给药6 h,去除药物。其后第7天和14天分别给予同样药物刺激。在末次刺激后第13天于动物右侧背部脱毛4 cm×6 cm,次日豚鼠右侧脱毛区分别给予赋型剂、萘连巴布剂(剂量同前)、0.1% 2,4-二硝基氯代苯激发,各组给药后固定6 h,去除药物观察。并记录0,24,48,72 h的皮

肤反应情况。评分及评价标准见表2。

表2 皮肤过敏反应评分及致敏性评价标准

观测指标	观测内容	分值	观测时间
一般观察指标	行为活动		每天
	外观体征		每天
	体重		开始、结束时
皮肤过敏反应评分	过敏反应情况		药物去除以后 0,24,48,72 h
红斑:	无红斑	0	
	轻度红斑 勉强可见	1	
	中度红斑 明显可见	2	
	重度红斑	3	
	紫红色红斑到轻度焦痂形成	4	
水肿:	无水肿	0	
	轻度水肿,勉强可见	1	
	中度水肿,明显可见(边缘高出周围皮肤)	2	
	重度水肿,皮肤隆起1 mm,轮廓清楚	3	
	严重水肿,皮肤隆起1 mm以上或有水泡或破溃	4	
	最高分值	8	
皮肤致敏性评价标准:	致敏发生率/%	皮肤致敏性评价	同上
	0~10	无致敏性	
	11~30	轻度致敏性	
	31~60	中度致敏性	
	61~80	高度致敏性	
	81~100	极度致敏性	

2.7 统计方法 应用SPSS 12.0统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。皮肤刺激反应评分按刺激反应红斑、水肿分值计算平均积分值(=皮肤刺激反应评分总分/动物总数),判断皮肤刺激性强度。致敏发生率计算:将出现皮肤红斑、水肿或全身过敏反应的动物数除以受试动物总数。

3 结果

3.1 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 口服萘连片在给药后0.5 h和1 h肿胀度最小,抑制率最高,与赋形对照组比较,有显著差异($P < 0.05, P <$

0.01);外用高剂量组对各时间点的肿胀度没有影响;中剂量组给药后 1 h,降低足肿胀度,持续 6 h,与赋形对照组比较,有非常显著差异($P < 0.01$),抑制率均在 50% 以上;低剂量组在给药后 1 h 后,足肿胀

度也明显降低,与赋形对照组有显著差异($P < 0.05, P < 0.01$),但持续时间较短。结果提示外用莫连巴布剂对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀模型有较明显的抗炎作用,较口服片持续时间长。见表 3。

表 3 莫连巴布剂对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀度(抑制率)的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

mL(%)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
赋形剂对照	-	0.118 ± 0.064 (10.45)	0.189 ± 0.059 (15.28)	0.197 ± 0.078 (18.07)	0.259 ± 0.078 (23.49)	0.262 ± 0.074 (23.04)
口服黄连	2.1	0.053 ± 0.058 (58.69) ¹⁾	0.072 ± 0.086 (59.44) ²⁾	0.205 ± 0.060 (9.48)	0.205 ± 0.087 (23.15)	0.268 ± 0.068 (1.60)
扶他林	5.0	0.108 ± 0.063 (48.89)	0.104 ± 0.054 (56.52) ²⁾	0.137 ± 0.091 (49.83)	0.139 ± 0.091 (57.32) ²⁾	0.141 ± 0.075 (58.38) ²⁾
莫连巴布剂	12.0	0.133 ± 0.083 (8.04)	0.151 ± 0.038 (6.99)	0.157 ± 0.050 (24.27)	0.252 ± 0.097 (7.44)	0.242 ± 0.128 (5.42)
	6.0	0.076 ± 0.068 (46.69)	0.082 ± 0.048 (62.87) ³⁾	0.086 ± 0.069 (64.31) ²⁾	0.139 ± 0.038 (55.24) ³⁾	0.143 ± 0.076 (50.06) ²⁾
	3.0	0.070 ± 0.061 (41.76)	0.110 ± 0.082 (45.33) ¹⁾	0.095 ± 0.070 (57.78) ²⁾	0.162 ± 0.094 (41.74) ¹⁾	0.150 ± 0.086 (43.53)

注:与赋形剂组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$ (表 4 同)。

3.2 对小鼠抗炎镇痛作用的影响 外用莫连巴布剂高、中剂量组均降低毛细血管通透性,与赋形剂组比较均有显著性差异($P < 0.05, P < 0.01$),高、中、低 3 个剂量组均能减少扭体次数。结果提示,外用莫连巴布膏可以明显减少腹腔的炎性渗出和疼痛引起的扭体次数,对小鼠由化学刺激引发的腹腔炎症有一定的镇痛抗炎作用。见表 4。

表 4 莫连巴布剂对小鼠的抗炎镇痛作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	A	扭体	
			次数	抑制率/%
赋形剂对照	-	0.406 ± 0.052	30.0 ± 6.4	-
元胡止痛	13.2 片	-	13.1 ± 9.0 ³⁾	56.33
阿司匹林	0.25	0.259 ± 0.022 ²⁾	-	-
黄连口服	3.0	0.332 ± 0.057	21.6 ± 10.2 ¹⁾	28.0
莫连巴布剂	12.0	0.265 ± 0.099 ²⁾	14.6 ± 9.3 ³⁾	51.48
	6.0	0.298 ± 0.095 ¹⁾	15.5 ± 12.7 ²⁾	48.33
	3.0	0.372 ± 0.114	22.0 ± 8.0 ¹⁾	26.67

3.3 皮肤刺激性试验 莫连巴布剂,单次和连续给药,完整皮肤和破损皮肤组均未出现红斑、水肿等刺激反应,亦无其他异常情况;贴药区与对照区无明显差异,平均积分值均为“0”分;说明莫连巴布剂单次和连续给药对家兔完整皮肤和破损皮肤均无明显的刺激性。

3.4 皮肤过敏性试验 阳性对照药 2,4-二硝基氯苯引发豚鼠皮肤出现典型的红斑、水肿等过敏反应表现,0 h ~ 24 h 内致敏发生率为 100%,持续 48 h 以上,对皮肤呈极度致敏性。莫连巴布剂未引起豚鼠红斑、水肿反应,亦未引起哮喘、休克等全身过敏反应,致敏发生率为 0,表明对皮肤无致敏性。

4 讨论

中药复方大都含有芳香走窍之物,适合做成经皮给药制剂;经皮给药系统是指经皮肤给药起全身或局部治疗作用的缓、控释制剂,具有毒副作用低,血药浓度维持稳定持久,给药次数少,可以随时终止给药等优点^[6]。巴布剂是经皮给药,有载药量大、可以避免胃肠道的“首过效应”的优点^[7]。本实验发现莫连巴布剂对角叉菜所致大鼠足肿胀具有抗炎消除肿胀的作用,持续时间长,并且明显减少小鼠由化学刺激引发的炎性渗出和疼痛引起的扭体次数,显示了一定的镇痛抗炎作用。莫连巴布剂单次给药和连续给药对家兔完整皮肤和破损皮肤无刺激性;莫连巴布剂没有引起任何过敏反应。为其临床安全合理用药提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 卫生部颁药品标准. 中药成方制剂第 5 册[S]. 156.
- [2] 刘淑芝,费虹,汤亚池,等. 中药巴布剂研究概况[J]. 国外医学:中医中药分册,1997,19(5):13.
- [3] 徐叔云,卞如濂,陈修,等. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:1331.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:861.
- [5] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物免疫毒性(过敏性、光变态反应)研究技术指导原则:2005.
- [6] 吕丹,裴元英. 透皮吸收促进剂应用及研究的新进展[J]. 中国医药工业杂志,2000,31(4):181.
- [7] 寿旦,孙静芸. 化癍巴布膏体外透皮吸收研究[J]. 中草药,2003,34(3):220.

[责任编辑 何伟]