

聚异丁烯骨通贴膏经皮肤给药的安全性研究

杜婕莹^{1,2*}, 曾森³, 王璐³, 舒磊⁴, 张首亚⁴, 袁捷^{4#} (1.广州市妇女儿童医疗中心, 广州 510623; 2.广州中医药大学中药学院, 广州 510445; 3.桂林华润天和药业有限公司, 广西桂林 541001; 4.广州中医药大学科技产业园, 广州 510445)

中图分类号 R965.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3512-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.17

摘要 目的:研究聚异丁烯(PIB)骨通贴膏经皮肤给药的安全性。方法:取66只家兔随机分为正常组、完整皮肤组、破损皮肤组,后2组再分为PIB组,PIB骨通贴膏低、中、高剂量组,骨通贴膏组,经皮肤给药24h后连续观察14d进行急性毒性实验;另取家兔60只,除不设置正常组外分组方法同上,采用自体左右侧对比法单次给药6h后,记录皮肤刺激反应,进行单次皮肤原发性刺激实验。取70只豚鼠随机分为阴性对照组(凡士林)、PIB组、阳性对照组(2,4-二硝基氯苯)、骨通贴膏组、PIB骨通贴膏低、中、高剂量组致敏给药后,进行皮肤致敏实验。结果:PIB骨通贴膏给药后家兔未见明显中毒表现;PIB、PIB骨通贴膏低、中剂量对完整皮肤和破损皮肤兔均未见刺激性反应,PIB骨通贴膏高剂量对完整皮肤兔未见刺激性反应,破损皮肤兔给药1h后有轻度刺激性;除阳性对照组豚鼠过敏反应发生率为100%外,其他各组过敏反应发生率均为0。结论:PIB骨通贴膏经皮肤给药安全性较好。
关键词 聚异丁烯;骨通贴膏;急性毒性实验;皮肤原发性刺激实验;皮肤致敏实验;安全性

Safety Study of Polyisobutylene Gutong Plaster by Transdermal Administration

DU Jieying^{1,2}, ZENG Sen³, WANG Lu³, SHU Lei⁴, ZHANG Shouya⁴, YUAN Jie⁴ (1.Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510623, China; 2.School of Chinese Meterla Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China; 3.Guilin Huarun Tianhe Pharmaceutical Co., Ltd., Guangxi Guilin 541001, China; 4.Sci-tech Industrial Park, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the safety of Polyisobutylene (PIB) Gutong plaster by transdermal administration. METHODS: 66 rabbits were randomly divided into a normal group, a group with intact skin and a group with damaged skin. The latter two groups were respectively re-divided into PIB group, the groups of low, medium and high-dose PIB Gutong plaster and Gutong plaster group. An acute toxicity test was conducted on the rabbits, which 14 d of continuous observation was made 24 h after transdermal administration. Another 60 rabbits were divided into several groups as above except for a normal group. A single primary skin irritation test was conducted on them, where skin irritation reactions were recorded 6 h after a single administration based on intra-individual left/right self comparison method. 70 guinea pigs were randomized into a negative control group (vaseline), a PIB group, a positive control group (2,4-dinitrochlorobenzene), a Gutong plaster group and the groups of low, medium and high-dose PIB Gutong plaster, which were dosed for sensitization, followed by a skin sensitization test. RESULTS: No obvious toxicity symptoms could be seen after administration of PIB Gutong plaster. The rabbits' intact or damaged skin had no irritation response to PIB and low and medium-dose PIB Gutong plaster. PIB Gutong plaster caused no irritation response in the rabbits' intact skin, but slight irritation in damaged skin 1 h after administration. The allergic reaction incidence of the positive control group of guinea pigs was 100% while that of any other groups was 0. CONCLUSIONS: The PIB Gutong plaster is safe for transdermal administration.

KEYWORDS Polyisobutylene; Gutong plaster; Acute toxicity test; Primary skin irritation test; Skin sensitization test; Safety

- [10] Yoder JD, Cifuentes JO, Pan J, *et al.* The crystal structure of a coxsackievirus B3-RD variant and a refined 9-angstrom cryo-electron microscopy reconstruction of the virus complexed with decay-accelerating factor (DAF) provide a new footprint of DAF on the virus surface[J]. *J Virol*, 2012, 86(23): 12 571.
- [11] 潘璐璐, 张园海, 岳亚延, 等. 硫化氢对柯萨奇病毒感染的病毒性心肌炎小鼠的保护作用[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2013, 33(9): 692.
- [12] 马方. 黄芪注射液和曲美他嗪治疗84例病毒性心肌炎的临床疗效观察[J]. *吉林医学*, 2015, 36(3): 406.
- [13] 刘海英, 刘丹莉, 高顺利. 黄芪注射液对急性病毒性心肌炎患儿血清IL-23、IL-17水平及Th17细胞的影响[J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(16): 2 730.
- [14] 李芳, 易岂建. 黄芪对病毒性心肌炎小鼠心脏柯萨奇病毒和腺病毒受体表达的影响[J]. *临床心血管病杂志*, 2007, 23(3): 195.
- [15] 田琳, 何春枝, 李双杰, 等. 黄芪甲苷对病毒性心肌炎小鼠心肌中TLIA表达的影响及意义[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2015, 40(2): 150.

* 中药师, 硕士研究生。研究方向: 中药新药开发。E-mail: fan-nyto@163.com

通信作者: 研究员。研究方向: 中药新药开发。E-mail: 466754442@qq.com

(收稿日期: 2015-10-27 修回日期: 2016-06-17)
(编辑: 林 静)

骨通贴膏由丁公藤、麻黄、当归、干姜、白芷、海风藤、乳香、三七、姜黄、辣椒、樟脑、肉桂、薄荷等十余味药材制备而成^[1],对寒湿阻络兼血瘀证之局部关节疼痛、肿胀、麻木着重、屈伸不利或活动受限等有良好的疗效,主要治疗骨质增生、肩周炎、颈(腰)椎病、风湿、关节炎、腰间盘突出等各种慢性骨病^[2]。聚异丁烯(Polyisobutylene, PIB)是一种低过敏性合成高分子材料,性质稳定、安全无毒。PIB骨通贴膏是将传统骨通贴膏的基质换成PIB,是传统骨通贴膏的技术升级产品(批准文号:国药准字Z10980134),是国内独创采用新型高分子材料PIB作为中药贴膏基质的膏药^[3],临床用药表明其对各种原因导致的疼痛有良好的治疗效果^[4]。为了确保PIB骨通贴膏临床经皮肤给药的安全性,在本研究中笔者设计相关实验,为骨通贴膏临床应用的安全性和进一步开发推广提供依据。

1 材料

1.1 仪器

TCS-30电子台秤(常熟市双杰测试仪器厂);TP-2101电子天平(常熟市双杰测试仪器厂)。

1.2 药物与试剂

PIB骨通贴膏(批号:201505,规格:7 cm×10 cm、1.188 g/贴)、骨通贴膏(批号:20150517,规格:7 cm×10 cm、1.188 g/贴)均购自桂林华润天和药业有限公司;2,4-二硝基氯苯(DNCB,批号:613808,纯度:98%)购自上海研拓生物科技有限公司;凡士林(批号:150401,规格:500 g/瓶)购自南昌华鑫医药化工有限公司;丙酮(广州化学试剂厂)。本实验以PIB骨通贴膏的剂量为PIB中剂量,分别以PIB骨通贴膏中药物含量的0.5倍、2倍作为PIB低、高剂量,各剂量组PIB基质的量不变。各组PIB骨通贴膏均由药物生产企业桂林华润天和药业有限公司提供。

1.3 动物

普通级新西兰家兔126只,♀♂各半,体质量2.01~2.42 kg,由广州市花都区花东信华实验动物养殖场提供[合格证号:44007600002565,许可证号:SCXK(粤)2013-0002]。

普通级FMMU白化豚鼠70只,♀♂各半,实验开始时平均体质量为284.3 g,由南方医科大学实验动物中心提供[合格证号:44002100006332,许可证号:SCXK(粤)2011-0015]。

2 方法

2.1 急性毒性实验^[5-7]

取家兔66只,♀♂各半,随机分为正常组、完整皮肤组和破损皮肤组;后2组再分为PIB组,PIB骨通贴膏低、中、高剂量组,骨通贴膏组,共计11组,每组6只。给药前24 h,用电推剪在家兔背部脱毛,脱毛面积约15 cm×10 cm(约为家兔体表面积的10%),去毛后检查去毛皮肤是否受伤并剔除受伤家兔。破损皮肤组兔背部脱毛区用75%乙醇消毒,然后用一次性注射器(5 ml)针头在脱毛区划“井”字切口,以不损伤皮下组织并有渗血为标准。正常组家兔仅脱毛,其他各组家兔贴对应贴剂24 h后,用温水洗净残留药物,即刻开始观察家兔皮肤、眼睛、黏膜、呼吸、饮食、大小便、自主活动、行为改变等指标;当出现毒理反应,则观察毒性反应的严重程度和消失情况。连续观察14 d,每天观察2次,并于第0、1、7、14 d测量体质量。如有死亡或濒死家兔,或出现肉眼可见的病变时,则及时进行解剖和病理组织学检查。

2.2 单次皮肤原发性刺激实验^[6-7]

取家兔60只,♀♂各半,除不设置正常组外,分组方法同“2.1”项,共计10组,每组6只。各组家兔均采用自体自身左右侧对比法,右侧给予凡士林(0.5 g/只),左侧给予对应药物(3 cm×3 cm/只),单次给药,固定6 h后去除药物,用温水洗净残留药物。于实验开始前和观察期结束时记录家兔体质量和去除药物第1、24、48、72 h后涂药部位的斑疹与水肿情况。斑疹评分:无斑疹计0分,轻度斑疹(呈淡红色)计1分,中度斑疹(呈鲜红色)计2分,重度斑疹(呈暗红色)计3分,严重斑疹(紫红色斑疹到轻度焦痂形成)计4分;水肿评分:无水肿计0分,轻度水肿(勉强可见)计1分,中度水肿(皮肤明显隆起)计2分,重度水肿(皮肤隆起1 mm,轮廓清楚)计3分,严重水肿(皮肤隆起>1 mm并有扩大)计4分。观察各组家兔斑疹与水肿积分的平均值,按皮肤刺激强度评价标准^[8]进行刺激强度评价,总分为0~8分,其中0~0.49分为无刺激性、0.5~2.99分为轻度刺激性、3.0~5.99分为中度刺激性、6.0~8.0分为强刺激性。

2.3 皮肤致敏实验^[6-7]

FMMU豚鼠70只,♀♂各半,分为阴性对照组(凡士林,0.5 g/只)、PIB组(3 cm×3 cm/只)、阳性对照组(DNCB,0.5 g/只)、骨通贴膏组(3 cm×3 cm/只)及PIB骨通贴膏低、中、高剂量组(3 cm×3 cm/只),共计7组,每组10只。于第0、7、14 d进行诱导接触,给药部位为豚鼠左侧肋腹部去毛区皮肤;于第28 d行激发接触,给药部位为豚鼠右侧肋腹部去毛区皮肤,给药量和诱导接触保持一致。观察第0、24、48、72 h后给药局部皮肤斑疹、水肿情况,同时观察动物有无哮喘、站立不稳或休克等全身过敏反应。斑疹、水肿评价同“2.2”项下方法,过敏反应发生率=组内出现皮肤斑疹、水肿或全身过敏反应的动物数/本组动物总数×100%。过敏反应发生率为0~10%时评价为无致敏性、>10%~30%时评价为轻度致敏性、>30%~60%时评价为中度致敏性、>60%~80%时评价为高度致敏性、>80%~100%时评价为极度致敏性。

2.4 统计学方法

体质量数据采用SPSS 19.0统计软件进行处理,♀♂分别统计,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。对符合正态分布且方差齐的数据,则进行单因素方差分析和多重比较(SNK-*q*检验);对不符合正态分布或方差不齐的数据,则进行非参数检验(Kruskal-Wallis秩和检验)。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 急性毒性实验结果

观察期间,各组家兔饮食饮水正常,均未见竖毛、分泌物及排泄物、眼睑异常。个别家兔可见轻微红痕,疑为贴剂自身黏性和人为撕扯所致,3 d左右即可消退。破损皮肤各组兔结痂外均未见异常,精神状态良好,家兔外观及行为活动正常,破损皮肤在7 d左右均可自行愈合,实验结束时无家兔死亡。第0、1、7、14 d各组家兔体质量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$,数据略)。

3.2 单次皮肤原发性刺激实验结果

骨通贴膏破损皮肤组家兔在去除药物1、24、48 h后表现出轻度刺激性,去除药物72 h后刺激性消失。骨通贴膏完整皮肤组家兔在去除药物1、24、48、72 h后均表现出轻度刺激性。PIB骨通贴膏高剂量破损皮肤组家兔在去除药物1 h后表

现出轻度刺激性,去除药物24、48、72 h后刺激性消失;PIB骨通贴膏低剂量破损皮肤组家兔在去除药物后24 h,PIB骨通贴膏中剂量完整皮肤组家兔在去除药物1、24、48 h后,皮肤刺激强度评分的平均值分别为0.17、0.33、0.33、0.17,在0~0.49范围内,评价为无刺激性。其他各组家兔在去除药物后1 h、24 h、48 h、72 h的皮肤刺激强度平均值为0分,评价为无刺激性,详见表1。

表1 各组家兔单次皮肤原发性刺激实验结果

Table 1 Results of the single primary skin irritation test of each group of rabbits

组别	只数	部位	平均值				结果评价
			1 h	24 h	48 h	72 h	
PIB完整皮肤组	6	左侧	0	0	0	0	无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
PIB破损皮肤组	6	左侧	0	0	0	0	无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
PIB骨通贴膏低剂量完整皮肤组	6	左侧	0	0	0	0	无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
PIB骨通贴膏低剂量破损皮肤组	6	左侧	0	0.17	0	0	无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
PIB骨通贴膏中剂量完整皮肤组	6	左侧	0.33	0.33	0.17	0	无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
PIB骨通贴膏中剂量破损皮肤组	6	左侧	0	0	0	0	无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
PIB骨通贴膏高剂量完整皮肤组	6	左侧	0	0	0	0	无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
PIB骨通贴膏高剂量破损皮肤组	6	左侧	0.83	0.33	0	0	1 h后轻度刺激性 24 h后无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
骨通贴膏完整皮肤组	6	左侧	1.00	0.67	0.67	0.50	轻度刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性
骨通贴膏破损皮肤组	6	左侧	0.83	0.83	0.67	0.17	1~48 h后轻度刺激性 72 h后无刺激性
		右侧	0	0	0	0	无刺激性

3.3 皮肤致敏实验结果

阴性对照组、PIB组、骨通贴膏组及PIB骨通贴膏低、中、高剂量组豚鼠激发部位皮肤均未出现红斑、水肿,无哮喘、站立不稳或休克等全身过敏反应,过敏反应发生率均为0,均评价为未见皮肤过敏反应。阳性对照组豚鼠激发部位皮肤均出现不同程度的红斑和水肿情况,过敏反应发生率为100%,评价为极强致敏。结果表明,PIB骨痛贴膏对豚鼠无皮肤致敏作用。

4 讨论

骨通贴膏是在“海氏骨刺灵”的基础上,根据徐大椿“薄贴论”的理论,针对骨刺病症,筛选渗透力强、扩张微细血管、消除炎症并减轻疼痛的天然药物,并加入强力透皮吸收促进剂,结合现代制剂技术精制而成的外用贴剂。骨通贴膏的主要药材丁公藤可祛风除湿、消肿止痛;麻黄可发汗解表、利水消肿;

当归可活血止痛;干姜可温中散寒、回阳通脉,诸药调和配伍、共同作用使组方具有祛风散寒、活血通络、消肿止痛之功效。

PIB骨通贴膏采用超纯PIB为基质,分子中只有碳元素和氢元素,不含橡胶基质中的特异性毒蛋白、松香、防腐剂等致敏物质,安全无毒,与皮肤相容性好,无刺激,故其过敏率显著低于传统橡胶膏药^[9]。本实验结果表明骨通贴膏对完整皮肤给药具有轻度刺激性,而PIB骨通贴膏对皮肤的刺激性较低,只有高剂量去除药物1 h后对破损皮肤表现出轻度刺激性,其余各剂量组均未见刺激性反应。PIB为聚合物,其内聚力强、黏度可控,有“强粘易撕”的优点,可以避免对皮肤产生物理性伤害,不损伤皮肤,且由其所制贴膏膏体不会残留在皮肤上。而其长链结构仅端基含不饱和键,双键少,可以产生反应的位置少,因而化学性质稳定,耐寒、耐热、抗老化性良好,可在不改变药物性质的情况下使药物充分发挥作用^[9]。以PIB制成的基质包容性大,利用中药芳香开窍并与国际先进透释技术相结合,可使药物释放性能和疗效得到显著提高。

急性毒性实验、皮肤原发性刺激实验、皮肤致敏实验是新药临床前安全性评价的重要组成部分^[10]。在本实验所用的剂量范围内,应用PIB为基质成分制成的骨通贴膏对皮肤无毒性、无刺激性、无致敏性,表明其使用安全、无毒副作用。综上所述,PIB骨通贴膏经皮肤给药安全性较好。

参考文献

- [1] 夏菁,谢媛媛,张宗璇,等.骨通贴膏指纹图谱及化学成分研究[J].中成药,2014,36(3):571.
- [2] 丘明明.HPLC法测定骨通贴膏中盐酸麻黄碱的含量及均匀度[J].中国药师,2010,13(5):69.
- [3] 金文.聚异丁烯及其下游产品的生产和应用[J].精细化工原料及中间体,2005,34(5):20.
- [4] 王涛然,刘群.天和骨通贴膏配合手法治疗骶髂关节痛100例[J].中国医药导刊,2015,17(8):826.
- [5] 周凡,冯士彬,孟庆娟,等.中药复方透皮贴剂的皮肤用药安全性研究[J].畜牧与饲料科学,2010,31(3):52.
- [6] 赵小倩,钱英,胡姗姗,等.复方莪术油软膏外用对大鼠长期毒性实验研究[J].中国药房,2016,27(7):882.
- [7] 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,2007:783.
- [8] 梁炳文.中药经皮给药制剂技术[M].北京:化学工业出版社,2006:171.
- [9] 刘新国,李居怡,王雄,等.高乌甲素贴剂的体外释放度与经皮渗透研究[J].中成药,2012,34(9):1692.
- [10] 田庆镠,王艳平,肖碧群,等.复方麻芥透皮贴剂经皮肤给药的安全性研究[J].中医药导报,2011,17(5):85.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-07-08)

(编辑:刘明伟)

《中国药房》杂志——RCCSE中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅