

狗皮膏安全性评价研究

黄迪, 陈洁, 汪建君

厦门市药品检验所, 福建 厦门 361012

摘要:目的 对狗皮膏的皮肤用药安全性进行评价研究。方法 取不同厂家样品 10 批分别进行家兔急性皮肤刺激性试验和豚鼠皮肤过敏性试验, 同时采用原子吸收分光光度法测定给药后家兔血铅浓度的变化。结果 10 批样品中有 7 批出现皮肤刺激反应, 除 A 厂家 1 批为中度刺激性, 其余为轻度刺激性; 10 批样品均未见皮肤过敏反应; 狗皮膏连续给药 7 d 后, 给药组的血铅浓度与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 连续给药 14 d 后的血铅浓度与连续给药 7 d 相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 狗皮膏引起皮肤刺激反应的风险较大, 且不同厂家间、厂内批次间存在差异; 久贴狗皮膏可引起血铅升高, 建议改善制剂以减轻不良反应。

关键词: 狗皮膏; 安全性评价; 皮肤刺激; 皮肤过敏; 血铅浓度

中图分类号: R965.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2013)02-0104-003

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.02.006

Safety evaluation of Goupi Gao

HUANG Di, CHEN Jie, WANG Jian-jun

Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012

Abstract: Objective To evaluate and study the safety of Goupi Gao (a traditional black plaster) on skin. **Methods** Acute dermal irritation test of rabbit and dermal sensitivity test of guinea pig was carried out using 10 batches of samples from different manufacturers. Atomic absorption spectrophotometry was used to detect the variation of blood lead concentration in rabbits. **Results** Dermal irritation in rabbits and dermal sensitivity in guinea pig were observed in seven among 10 batches of samples. One sample from A manufacturer showed moderate irritation, and others showed light irritation. No sample had the hypersensitive effect; After continuous administration for 7 d, the difference of blood lead concentration in Goupi Gao group showed the statistical significance compared with that in the control group ($P < 0.01$). After continuous administration for 14 d, the difference of blood lead concentration had the statistical significance compared with that for 7 d ($P < 0.05$). **Conclusion** The risk of the dermal irritation with the use of Goupi Gao is higher, while there are obvious differences among the products from different manufacturers or the different batches from the same manufacturer. Using Goupi Gao for a long time may induce high blood lead. It is suggested that the preparation should be readjusted for decreasing its adverse reactions.

Key words: Goupi Gao; safety evaluation; dermal irritation; dermal sensitivity; blood lead concentration

狗皮膏为传统黑膏药制剂, 由生川乌、生草乌等 29 味药经炸药、炼油、下丹和去火毒等工艺制成, 具有祛风散寒、活血止痛之功效, 是中医伤骨科局部用药的常用品种。但据文献报道^[1], 狗皮膏在制备过程中会产生丙烯醛等刺激物质, 易对局部皮肤产生刺激性。其制剂含铅量极高, 长期使用存在铅中毒隐患^[2]。目前狗皮膏的质量控制多以经验判断为主, 2010 年版《中国药典》仅收载性状、软化点和重量差异 3 个质控项目^[3], 无法对其安全性进行全面监控。因此, 结合国家基本药物评价性抽验,

对狗皮膏的皮肤用药安全性进行评价研究, 以期有关部门了解市售狗皮膏的使用安全性现状提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 仪器

PE—AA800 型原子吸收分光光度计 (美国 PE 公司)。

1.2 试药

狗皮膏样品共 A、B、C、D、E 5 个厂家, 每个厂家各 2 批 (A01、A02、B01、B02、C01、C02、D01、

收稿日期: 2012-11-06

作者简介: 黄迪 (1981—), 男, 福建泉州人, 主管药师, 硕士, 研究方向为药理检验。Tel: 13400675585 Fax: (0592)2699671 E-mail:hd8195@163.com

D02、E01、E02), 共10批, 规格均为15 g/张; 2, 4-二硝基氯代苯 (Sigma 公司, 批号 BCBB3186), 临用时用丙酮配制成1%致敏浓度和0.1%的激发浓度; 铅标准溶液 (北京普析通用仪器有限责任公司, 批号 01603); 血样稀释液 (北京普析通用仪器有限责任公司, 批号 3324200706)。

1.3 动物

新西兰家兔, 体质量 1.8~2.2 kg, 雌雄兼用, 普通级; 白色豚鼠, 体质量 260~300 g, 雌雄各半, 普通级。以上动物均购自上海市松江区松联实验动物场, 动物生产许可证号 SCXK (沪) 2007-0011。饲养温度 20~23 °C, 相对湿度 50%~70%, 实验动物使用许可证号 SYXK (闽) 2010-0006。

1.4 实验方法

1.4.1 急性皮肤刺激性实验 参考文献^[4-5], 将家兔随机分为10组 (每批样品1组), 每组3只, 于给药前24 h将动物脊柱两侧去毛, 每侧各约50 cm²。给药采用同体左右侧自身对照, 各组均在左侧去毛区贴狗皮膏, 面积约为25 cm², 右侧皮肤作为对照。给药24 h后取下狗皮膏, 用温水洗去残留物, 分别于去除受试物后1、24、48、72 h观察并记录用药部位有无红斑和水肿等情况, 并进行皮肤反应评分, 根据各时点最高积分均值评价皮肤刺激性程度。

1.4.2 皮肤过敏性实验 参考文献^[4-5], 将豚鼠随机分为空白对照组、阳性对照组和10个给药组 (每批样品1组), 每组10只, 雌雄各半, 于给药前24 h将豚鼠背部两侧去毛。致敏接触取狗皮膏约0.2 g贴于左侧去毛区, 持续6 h, 第7天和第14天以同法各重复1次, 共3次。空白对照组不贴狗皮膏, 阳性对照组涂敷1% 2, 4-二硝基氯代苯溶液。于末次致敏后14 d, 将狗皮膏0.2 g贴于右侧去毛区进行激发接触, 持续6 h后取下药膏, 立刻观察, 然后于24、48、72 h再次观察皮肤过敏反应情况, 记录各时间变态反应分值, 同时观察是否有哮喘、站立不稳或休克等严重的全身变态反应。计算致敏率即出现皮肤红斑、水肿或全身性变态反应的动物数 (不论程度轻重), 除以受试动物总数, 并评价致敏强度。空白对照组与阳性对照组 (涂敷0.1% 2, 4-二硝基氯代苯溶液) 同法激发接触并观察。

1.4.3 血铅浓度测定 将家兔随机分为空白对照组和狗皮膏给药组, 每组10只。于给药前24 h将动物背部皮肤去毛, 不得损伤表皮。给药时取5个厂家的10批狗皮膏各1张, 分别贴于家兔背部皮肤上,

用无刺激胶布加以固定确保膏药不掉落, 连续给药14 d, 并于给药前、给药第7天和第14天耳缘静脉采血约2.0 mL。空白对照组不贴狗皮膏, 其余处理相同。每份血样分别精密量取兔血40 μL至360 μL稀释液中混匀, 采用石墨炉原子吸收法测定血铅含量, SPSS 进行统计学处理, 组间比较用 t 检验。

2 结果

2.1 急性皮肤刺激性试验

见表1。结果显示, 10批狗皮膏样品中有7批出现皮肤刺激反应, 其中A02样品的刺激程度为中度刺激性, 其余为轻度刺激性。5个厂家中A和C厂家2批均有刺激作用, B、D和E厂家各有1批。

表1 狗皮膏急性皮肤刺激性实验结果

Table 1 Results of acute dermal irritation test for Goupigao

样品	最高积分均值	皮肤刺激性程度
A01	2.33	轻度刺激性
A02	3.00	中度刺激性
B01	0.67	轻度刺激性
B02	0.33	无刺激性
C01	2.67	轻度刺激性
C02	0.67	轻度刺激性
D01	0.33	无刺激性
D02	1.67	轻度刺激性
E01	0	无刺激性
E02	0.67	轻度刺激性

2.2 皮肤过敏性实验

结果见表2, 空白对照组未见红斑、水肿等皮肤变态反应; 给药组仅有个别动物出现轻度红斑反应, 但致敏率均在0~10%; 阳性对照组出现不同程度的红斑、水肿等皮肤变态反应, 致敏率达到100%。各组动物均未出现哮喘、站立不稳或休克等严重的全身变态反应。

2.3 血铅浓度测定结果

结果见表3, 狗皮膏连续给药7 d和14 d后的血铅浓度与对照组相比差异均有统计学意义 ($P<0.01$), 且连续给药14 d后的血铅浓度与连续给药7 d相比差异也具有统计学意义 ($P<0.05$)。而空白对照组各时点血铅浓度之间的差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 可排除环境和操作因素导致的铅污染。

3 讨论

急性皮肤刺激性试验与皮肤过敏性试验结果发现, 10批样品中有7批出现皮肤刺激反应, 但均未

表2 狗皮膏皮肤过敏性实验结果

Table 2 Results of dermal sensitivity test for Goupi Gao

样品	致敏率/%	皮肤致敏性程度
A01	0	无致敏性
A02	10	无致敏性
B01	10	无致敏性
B02	0	无致敏性
C01	10	无致敏性
C02	0	无致敏性
D01	0	无致敏性
D02	10	无致敏性
E01	0	无致敏性
E02	0	无致敏性
空白对照	0	无致敏性
阳性对照	100	极度致敏性

表3 狗皮膏给药后血铅测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 3 Determination of blood lead concentration after using Goupi Gao ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	血铅浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)		
	给药前	7 d	14 d
对照组	-0.19 ± 0.38	-0.01 ± 0.49	0.11 ± 0.57
给药组	-0.21 ± 0.40	$34.53 \pm 13.20^{**}$	$58.30 \pm 30.53^{**\#}$

与对照组相比: $^{**}P < 0.01$, 与第7天相比: $^{\#}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs control group, $^{\#}P < 0.05$ vs the 7th day

见皮肤变态反应。提示狗皮膏经皮使用后产生的红肿痒痛等不良反应, 可能与其存在一定的皮肤刺激性有关。传统医药中报道黑膏药导致皮肤刺激的因素即“火毒”多为铅丹与植物油在聚合反应过程中产生的小分子醛、酮以及低级脂肪酸盐等, 这些物质一部分可以通过浸水而去除, 一部分通过在阴凉干燥处通风存放挥发而去除^[1]。根据现场调研及厂家提供的资料, 5个厂家在去“火毒”工艺上存在显著的差异。其中, A厂家为清水浸泡1~2 h, B厂家为清水浸泡不低于2 d, C厂家为清水浸泡1 d, D厂家为清水浸泡7~10 d, E厂家为清水浸泡15 d。从实验结果来看, 浸水浸泡时间最短的A厂家较其他4个厂家更易引起家兔皮肤刺激反应, 其最高积分均值皮肤刺激性程度分别为2.33 中度刺激性和3.00 轻度刺激性; C厂家浸泡时间只有1 d, 其2批样品均出现轻度皮肤刺激反应; 其余厂家均只有1批出现轻度皮肤刺激反应, 提示去“火毒”工艺的显著差异容易导致各厂家产品质量的参差不齐, 适当的浸水时间对于提高去“火毒”的效果十分必要, 建议清水浸泡时间应不低于2 d。

从家兔血铅浓度的测定结果来看, 狗皮膏用药1周后血铅值较给药前显著增加, 且随着使用时间的延长, 血铅浓度呈现上升趋势, 提示狗皮膏久贴后可引起血铅升高, 尤其是儿童应慎用。有研究发现, 血铅达20~50 $\mu\text{g/L}$ 时, 就可以影响儿童阅读与计算能力^[6]。虽然家兔实验的结果外推到人的可靠性有限, 但是从试验结果的趋势来看, 狗皮膏的铅吸收问题无疑是影响其用药安全性的一个重要因素。由于狗皮膏导致的急性铅中毒并不多见, 这很容易麻痹公众的注意力。其实, 慢性铅中毒对人体的损害更可怕, 铅进入机体后大部分都会沉积在骨骼中, 其半衰期长达20余年, 这些铅会不断的释放到血液中, 毒害人体的神经、造血、消化、肾脏和心血管等多个系统^[7]。因此, 为避免患者因久贴狗皮膏而导致铅中毒, 建议在药品的使用说明中增加对其贴用时间的规定, 并对儿童用药可能引发的铅中毒进行提示。

全国共有14家狗皮膏生产企业, 本次检验只涉及5家生产企业。由于厂家和试验样品数量有限, 此次试验结果虽有一定参考价值, 但还需做进一步的试验来确定和验证。从狗皮膏的生产工艺来看, 皮肤刺激性和铅含量高是其无法克服的缺陷, 目前开发的狗皮膏新剂型多为橡皮膏如精制狗皮膏等, 该剂型是否具有传统黑膏药的优点, 尚待研究。故而开发新的狗皮膏基质使之既有传统黑膏药的优点又符合中成药与国际接轨的需要已成为当务之急。

参考文献

- [1] 何海珍, 唐建飞, 刘秋敏, 等. 黑膏药过敏性试验及去火毒工艺研究 [J]. 浙江中医药大学学报, 2009, 33(1): 124-125.
- [2] 张友政, 张学毅. 黑膏药的临床疗效与铅中毒的控制 [J]. 实用中医药杂志, 2008, 24(7): 463.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [4] 梁炳文. 中药经皮给药制剂技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [5] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 新药 (西药) 临床前研究指导原则汇编 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994.
- [6] Miranda M L, Kim D, Galeano M A, et al. The relationship between early childhood blood lead levels and performance on end-of-grade tests [J]. *Environ Health Perspect*, 2007, 115(8): 1242-1247.
- [7] 杨伟威. 铅中毒的危害以及预防 [J]. 现代职业安全, 2009, 2(90): 102-103.