

复方环磷腺苷乳膏急性毒性与变态反应性研究*

谢 勇

(江苏省南通市皮肤病性病防治所, 226006)

[摘要] 目的 考察复方环磷腺苷乳膏皮肤急性毒性和皮肤变态反应性, 了解其安全性。方法 将不同剂量复方环磷腺苷乳膏用于白色豚鼠背部正常或去毛破损区皮肤, 观察其急性毒性情况; 采用致变态反应与激发接触复方环磷腺苷乳膏, 观察动物变态反应情况。结果 复方环磷腺苷乳膏未产生急性毒性, 反复致敏后使用, 无皮肤与全身变态反应。结论 外用复方环磷腺苷乳膏无急性毒性和变态反应。

[关键词] 环磷腺苷乳膏, 复方; 动物实验; 急性毒性, 皮肤; 变态反应

[中图分类号] R979.1; R965

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2008)05-0527-02

银屑病是皮肤科常见病、多发病, 因其具有高复发率及口服药物可致系统性不良反应的特点, 国内外许多知名学者提倡对轻中度银屑病患者较安全的用药策略是应用外用制剂, 将皮损控制在一定范围内, 而不是追求皮损的完全消退^[1]。目前, 临床治疗银屑病的外用药物以糖皮质激素类制剂为主, 由于其公认的不良反应, 使临床使用受到限制。为此, 笔者结合皮肤科临床以及近年来对银屑病病因学研究的理论和实践依据, 研制了复方环磷腺苷乳膏, 该制剂不含激素, 其主要成分有环磷腺苷、维 A 酸、尿素等^[2], 临床上主要用于治疗寻常型银屑病。为了解复方环磷腺苷乳膏在外用给药过程中的安全性, 笔者进行了动物急性毒性与变态反应实验, 现将有关实验资料报道如下。

1 实验材料

复方环磷腺苷乳膏及空白基质(本所制剂室提供); 2,4-二硝基氯苯(中国医药公司北京分公司提供, 将其配成 1% 的致敏浓度和 0.1% 的激发浓度); 白色豚鼠, 体重 300~400 g, 雌雄各半[南通大学实验动物中心提供, 合格证号: SCKX(苏)2002-005]; 实验室温度: (25±1)℃, 相对湿度: 70%。

2 实验方法

2.1 急性毒性实验

2.1.1 豚鼠皮肤的准备 给药前 24 h 用电推剪将豚鼠背部脊柱两侧毛剃去, 去毛面积约 40 cm², 去毛后 24 h 检查去毛皮肤是否因去毛而受伤, 受伤的皮肤不宜用于完整皮肤的毒性实验; 破损皮肤的制作采用注射针头将去毛消毒皮肤划破, 以有渗血为度。实验前将动物称重。

2.1.2 分组与给药剂量的设置 实验动物共分 5 组, 每组 10 只, 其中一组为对照组(空白基质组), 其他 4 组为实验组即完整皮肤 2 个剂量组、破损皮肤 2 个剂量组。与人用量等效时, 豚鼠用量为: $1.73 \times 10^4 \text{ cm}^2 \times 0.25 \text{ g} \cdot (5 \text{ cm}^2)^{-1} \times 0.031 \div 532 \text{ cm}^2 = 0.05 \text{ g} \cdot (\text{cm}^2)^{-1}$, 其中 $1.73 \times 10^4 \text{ cm}^2$ 为人的体表面积, $0.25 \text{ g} \cdot (5 \text{ cm}^2)^{-1}$ 为人使用的推荐剂量, 0.031 为豚鼠与人按体表面积折算的等效剂量换算系数, 532 cm^2 为豚鼠体表面

积。低剂量组动物给予 $0.05 \text{ g} \cdot (\text{cm}^2)^{-1}$ (总量 2 g) 涂布, 高剂量组动物给予 $0.2 \text{ g} \cdot (\text{cm}^2)^{-1}$ (总量 8 g) 涂布, 对照组给予 $0.2 \text{ g} \cdot (\text{cm}^2)^{-1}$ 空白基质。

2.1.3 方法 实验时, 将受试物均匀涂于动物背部脱毛区或脱毛破损皮肤区, 用消毒纱布和胶布将涂药区覆盖固定。给受试物 24 h 后, 用温水除去残留的受试物, 去除受试物后 1, 24, 48, 72 h 至第 7 天, 记录实验动物的体重, 观察动物饮食、皮肤、毛发、眼睛的变化, 呼吸、中枢神经系统、四肢活动等有无中毒表现, 若遇动物死亡, 应及时尸检和肉眼观察, 必要时进行病理学检查。

2.2 皮肤变态反应实验

2.2.1 分组 将豚鼠按体重、性别随机分成 3 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 第 1 组给予复方环磷腺苷乳膏, 第 2 组给予空白基质, 第 3 组为阳性对照组(给予 1% 2,4-二硝基氯苯), 于给受试物前 24 h 将豚鼠背部两侧毛去掉, 去毛面积每侧约 $3 \times 3 \text{ cm}^2$ 。

2.2.2 致敏接触 取复方环磷腺苷乳膏 0.1 g 涂于动物左侧脱毛区, 用 1 层油纸及 2 层纱布覆盖, 以胶布固定, 持续 6 h, 第 7 天和第 14 天以同样方法各重复 1 次, 共计 3 次, 空白基质与阳性对照组方法同上。

2.2.3 激发接触 于末次给受试物致敏后 14 d, 将复方环磷腺苷乳膏 0.1 g, 赋形剂 0.1 g 和 0.1% 2,4-二硝基氯苯 0.1 mL 分别涂于相应动物的右侧脱毛区, 6 h 后去掉受试物, 即刻观察, 然后于 24, 48, 72 h 再次观察皮肤变态反应情况, 参考文献的皮肤变态反应反应程度的评分标准给予评分, 同时注意观察动物是否有哮喘、站立不稳等全身性变态反应; 按公式计算致敏反应发生率: 致敏反应发生率(%) = 有变态反应动物数(不论轻重)/动物总数 × 100%, 按致敏发生率推断致敏性。

3 结果

3.1 急性毒性实验 在去除受试物 1 h 开始观察, 直至第 7 天, 实验动物活动自如, 觅食正常, 涂药处皮肤毛发光泽正常, 眼与黏膜无变化, 呼吸无异常, 未见中枢神经系统异常; 未见豚鼠全身中毒反应, 无豚鼠死亡, 表明复方环磷腺苷乳膏小剂量 [$2 \text{ g} \cdot (40 \text{ cm}^2)^{-1}$] 和大剂量 [$8 \text{ g} \cdot (40 \text{ cm}^2)^{-1}$] 外用时无急性毒性。

3.2 皮肤变态反应实验 阳性致敏物 2,4-二硝基氯苯组动物在激发给药 6 h 后, 有轻度与中度红斑出现, 但无水肿形成, 其致敏反应发生率为 60%, 而复方环磷腺苷乳膏与基质对照组动

[收稿日期] 2007-04-01

[基金项目] * 南通市社会发展科技计划项目(基金编号: S2006029)

[作者简介] 谢 勇(1959-), 男, 江苏如皋人, 主任医师, 主要从事皮肤病临床、科研、医疗业务管理工作。电话: 0513-85529413。

物在激发用药后,均无红斑与水肿形成,致敏率为0,提示复方环磷腺苷乳膏不产生变态反应,见表1。

表1 3组豚鼠皮肤变态反应情况

组别	动物数	平均反应 分值	致敏率/%			
			6 h	24 h	48 h	72 h
环磷腺苷组	10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
基质组	10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
阳性致敏物组	10	1.9	1.5	0.7	0.0	60.0

4 讨论

银屑病具有病程长、慢性顽固、病情反复、迁延难愈的特点,需长期用药,由于银屑病的发病是多种因素共同作用的结果,近年来许多研究观察到银屑病皮损内缺乏环磷腺苷^[4],病理表现为角质形成细胞增生过度,炎症浸润和真皮乳头层的血管增生扩张,所以联合使用不同作用机制、不同作用靶位和不良反应无重叠的药物,将会提高临床治疗效果和减少不良反应^[1]。外用药物是治疗银屑病的主要手段之一,糖皮质激素类

外用制剂虽在短期内能减轻皮损症状,但使用后难以避免皮肤萎缩、毛细血管扩张、多毛、反跳等多种激素性不良反应,故不宜长期使用。用环磷腺苷、维A酸、尿素等非激素类药物制成复方环磷腺苷乳膏,适宜作为治疗银屑病的长期用药。

本实验研究发现,复方环磷腺苷乳膏无急性皮肤毒性反应,反复致敏后使用无皮肤与全身变态反应,为临床安全用药提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 韩永智,孙建方.外用药物联合治疗银屑病的进展[J].中华皮肤科杂志,2005,38(3):192.

[2] 盛国荣,谢勇,于葆华.复方环磷腺苷乳膏质量控制[J].中国医院药学杂志,2006,26(6):713.

[3] 国家卫生部药政局.新药临床前研究指导原则汇编(药理学、毒理学)[S].1994:207.

[4] 赵辨.临床皮肤病学[M].3版.南京:江苏科学技术出版社,2001:761.

反相高效液相色谱法测定人尿阿莫西林浓度

廖昌军,臧志和,高秀蓉,李红松

(成都医学院药学实验教学中心,610081)

[摘要] 目的 建立测定人口服阿莫西林分散片后尿药含量的方法。方法 采用反相高效液相色谱法,色谱条件为 Alltech C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相甲醇-0.057 mol·L⁻¹磷酸二氢钠溶液(pH值4.4)(5:95);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:220 nm;柱温:40℃。结果 阿莫西林在0.2816~2.2528 mg·mL⁻¹浓度范围内线性关系良好(r=0.9999),低、中、高3种浓度(0.5,1.0,2.0 mg·mL⁻¹)溶液,加样回收率分别为98.55%,98.85%,99.63%,RSD分别为1.06%,0.95%,0.91%(n=5)。结论 该方法能灵敏、准确的测定尿液阿莫西林浓度。

[关键词] 阿莫西林分散片;尿药浓度;色谱法,高效液相

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2008)05-0528-02

阿莫西林分散片的主要有效成分为阿莫西林(amoxicillin, AMPC),为广谱半合成青霉素,对于溶血性链球菌、草绿色链球菌、肺炎球菌、青霉素G敏感金黄色葡萄球菌、淋球菌、流感嗜血杆菌、肠球菌、沙门菌、伤寒杆菌及变形杆菌等均有抗菌作用^[1],主要通过肾小球滤过和肾小管分泌以原形自尿中排出,与血清蛋白结合率约17%,半衰期60~90 min,6 h尿中排泄可达60%~70%,另有20%以青霉噻唑酸自尿中排泄。服用丙磺舒可延缓本品经肾排泄。笔者在本实验中运用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定人口服AMPC分散片后尿液中AMPC的含量,对文献[2]报道的方法进行了改进。该方法灵敏、准确,可作为考察口服AMPC在人体内尿药浓度的方法。

1 材料

高效液相色谱仪包括P680双泵、ASI-100自动进样器、TCC-100柱温箱和UVD170U型紫外检测器(美国Dionex公

司);pHS-3C型酸度计(上海精密科学仪器有限公司)。AMPC片剂(石药集团中诺药业);AMPC对照品(含量99.9%,中国药品生物制品检定所);甲醇为色谱纯;磷酸二氢钠为分析纯;水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Alltech C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇-0.057 mol·L⁻¹磷酸二氢钠溶液(pH值=4.4)(5:95);流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长220 nm,柱温40℃。

2.2 AMPC对照品溶液的制备与样品的处理 精密称取AMPC对照品21.12 mg,置于50 mL容量瓶中,加流动相定容,混匀,置于冰箱保存备用。取对照品溶液、空白尿样和甲醇各1 mL,涡旋混合1 min,用0.22 μm微孔滤膜过滤,取续滤液20 μL,待测。

2.3 方法专属性 按“2.1”项下色谱条件及“2.2”项下样品处理方法,分别测定空白尿样、AMPC对照品加空白尿样和已处理尿样,HPLC图谱如图1。结果表明,空白尿样对AMPC的测定无干扰。

[收稿日期] 2007-04-04

[作者简介] 廖昌军(1981-),男,四川成都人,助理实验师,从事实验中心药剂、药理学实验教学与科研工作。E-mail: liaocj009@yahoo.com.cn。