

实验研究 EXPERIMENTAL STUDY

芩柏涂膜剂治疗银屑病的药效学研究*

常馨予 国 琦 韩丽娟 刘 洋 蔡晓容 范 峥 车晓平 郭桂明[※]

(首都医科大学附属北京中医医院临床药学科,北京 100010)

摘要:目的 对芩柏涂膜剂的药效学进行初步探讨。方法 将40只清洁级20~22 g健康雌性昆明种小鼠,适应性饲养后随机取10只作为对照组,除对照组腹腔注射0.01 mL/g生理盐水外,其余各组腹腔注射苯甲酸雌二醇注射液,每次0.01 mg/(g·d),每日1次,连续3 d。以使阴道上皮细胞有丝分裂周期停滞于有丝分裂中期为造模成功。将模型大鼠随机分为模型组、芩柏软膏组、芩柏涂膜剂组,每组10只。从第4天开始,除模型组外,其余各组阴道给药,芩柏涂膜剂(0.2 g生药/mL)给药量为0.1 mL/只、芩柏软膏0.1 g/只,每日2次,连续给药14 d。于给药第15天处死小鼠,在光镜下计数小鼠每300个阴道上皮细胞中所出现的有丝分裂细胞数。将30只20~22 g健康昆明种小鼠,雌雄各半,适应性饲养后按体质量随机分为对照组、芩柏软膏组、芩柏涂膜剂组,每组10只。除对照组外,其余各组小鼠尾部涂药,给药剂量同上,每日2次,连续给药30 d。于给药第31天处死动物,在光学显微镜下计数100个鳞片中有颗粒层的鳞片数。结果 与对照组比较,模型组小鼠每300个阴道上皮细胞中所出现的有丝分裂细胞数明显增加,差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,芩柏涂膜剂组和芩柏软膏组小鼠每300个阴道上皮细胞中所出现的有丝分裂细胞数减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较,芩柏软膏组和芩柏涂膜剂组均能升高小鼠尾部100个鳞片中有颗粒层的鳞片数,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 艰柏涂膜剂能抑制小鼠阴道上皮细胞有丝分裂,可促进小鼠尾部鳞片表皮颗粒层的形成。

关键词:芩柏涂膜剂;银屑病;药效学;实验研究

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2021.17.053

文章编号:1672-2779(2021)-17-0142-03

Research on Pharmacodynamics of Qinbai Coating Agent in the Treatment of Psoriasis

CHANG Xinyu, GUO Qi, HAN Lijuan, LIU Yang, CAI Xiaorong, FAN Zheng, CHE Xiaoping, GUO Guiming[※]

(Department of Clinical Pharmacy, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010, China)

Abstract: Objective To study the pharmacodynamics of Qinbai coating agent. **Methods** The effects of Qinbai coating agent on the mitosis of vaginal epithelial cells and the granular layer of tail scale epidermis in mice were observed. In the vaginal epithelial model of mice, Qinbai coating agent was administered through the vagina of mice for 14 consecutive days, and the number of mitotic cells in the vaginal epithelium of mice was observed. In the model of psoriasis like lesions of mouse tail scale epidermis, Qinbai coating agent was coated for 30 days to observe the effect of Qinbai coating agent on the formation of granular layer of mouse tail scale epidermis. The results showed that Qinbai coating agent group could reduce the number of mitotic cells in the vaginal epithelial cells of mice, and increase the number of scales with granular layer in the tail of mice. Qinbai coating agent has potential anti psoriasis pharmacological effect. The effects of Qinbai coating agent on the mitosis of vaginal epithelial cells and the granular layer of tail scale epidermis in mice were observed. In the vaginal epithelial model of mice, Qinbai coating agent was administered through the vagina of mice for 14 consecutive days, and the number of mitotic cells in the vaginal epithelium of mice was observed. In the model of psoriasis like lesions of mouse tail scale epidermis, Qinbai coating agent was coated for 30 days to observe the effect of Qinbai coating agent on the formation of granular layer of mouse tail scale epidermis. **Results** The results showed that Qinbai coating agent group could reduce the number of mitotic cells in the vaginal epithelial cells of mice, and increase the number of scales with granular layer in the tail of mice. Qinbai coating agent has potential anti psoriasis pharmacological effect. **Conclusion** The results showed that Qinbai coating agent group could reduce the number of mitotic cells in the vaginal epithelial cells of mice, and increase the number of scales with granular layer in the tail of mice. Qinbai coating agent has potential anti psoriasis pharmacological effect.

Keywords: Qinbai coating agent; psoriasis; pharmacodynamics; experimental study

银屑病是一种常见的慢性复发性炎症性皮肤病,是一种由遗传基因调控的、T淋巴细胞介导的自

身免疫性皮肤病。其主要的组织病理学改变为角质形成细胞异常增生、角化不全、角化过度、血管生成和炎性细胞浸润。其病因和发病机制目前尚未完全明确,病情顽固,易复发。芩柏软膏也称普连膏,是我国中医皮外科泰斗赵炳南老中医自行研制的治疗银屑病血热证或银屑病性红皮病的有效外用药^[1-2]。本

*基金项目:国家中医药管理局“临床中药学”重点学科;北京市医院管理局“北京市属医院科研培育计划”[No.PZ 2017012]

※通讯作者:guoguiming@bjzhongyi.com

研究将芩柏软膏改进为“三小、三效、五方便”的中药新剂型芩柏涂膜剂,对其药效学进行初步探讨,为院内制剂研发奠定基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器 METTLER AJ150 型天平(美国), BUCHI R-210 型旋转蒸发仪(瑞士步琦), DZTW 型调温电热套(北京市永光明医疗仪器厂), H. H. S 型恒温水浴锅(上海医疗器械三厂)。1101-1CN 型赛多利斯天平(德国赛多利斯), METTLER TOLEDO XP105 型 1/10 万分析天平(美国梅特勒-托利多), KD-H 型电脑生物组织烘片机(浙江科迪), KD-BM 型生物组织冷冻包埋机(浙江科迪), RM2235 Leica 型轮转式切片机(德国徕卡), HistoCore Pearl Leica 型全自动组织脱水机(德国徕卡), DRS 2000JC-D2 型樱花自动染色机(樱花精机株式会社), BX43+DP22 型奥利巴斯显微镜+照相系统(日本/奥林巴斯)。

1.2 试药 芩柏软膏(批号:20190308)由首都医科大学附属北京中医医院;芩柏涂膜剂样品(北京中医医院,批号:01/02/03);黄芩原药材(北京杏林药业,批号:18100801);黄柏原药材(北京杏林药业,批号:18032202);秋水仙碱(中国食品药品检定研究院,批号:101176-201202,规格:200 mg/支);苯甲酸雌二醇注射液[上海全宇生物科技(驻马店)动物药业有限公司,批号:190116,规格:2 mL:4 mg]。

1.3 实验动物 昆明种小鼠 70 只,清洁级,其中雌性 55 只,雄性 15 只,体质量 20~22 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(京)2016-0006,合格证号:1100111911015393。

1.4 实验方法

1.4.1 对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响 将 40 只清洁级 20~22 g 健康雌性昆明种小鼠,适应性饲养后随机取 10 只作为对照组,除对照组腹腔注射 0.01 mL/g 生理盐水外,其余各组腹腔注射苯甲酸雌二醇注射液[上海全宇生物科技(驻马店)动物药业有限公司,批号:190116],每次 0.01 mg/(g·d),每日 1 次,连续 3 d。以使阴道上皮细胞有丝分裂周期停滞于有丝分裂中期为造模成功。将模型大鼠随机分为模型组、芩柏软膏组、芩柏涂膜剂组,每组 10 只。从第 4 天开始,除模型组外,其余各组阴道给药,芩柏涂膜剂(0.2 g 生药/mL)给药量为 0.1 mL/

只、芩柏软膏 0.1 g/只,每日 2 次,连续给药 14 d。于给药第 15 天,各组小鼠均腹腔注射秋水仙碱(中国食品药品检定研究院,批号:101176-201202)2 mg/kg,6 h 后处死小鼠,切取阴道组织,用 10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋,HE 染色。在光镜下计数小鼠每 300 个阴道上皮细胞中所出现的有丝分裂细胞数。

1.4.2 对小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成的影响 将 30 只 20~22 g 健康昆明种小鼠,雌雄各半,适应性饲养后按体质量随机分为对照组、芩柏软膏组、芩柏涂膜剂组,每组 10 只。除对照组外,其余各组小鼠尾部涂药,给药剂量同上,每日 2 次,连续给药 30 d。于给药第 31 天处死动物,减去距离小鼠尾根部 2~4 cm 的尾部皮肤,贴附于滤纸上,用 10% 甲醛溶液[福晨(天津)化学试剂有限公司,批号:20180420]固定,石蜡包埋,HE 染色,在光学显微镜下计数 100 个鳞片中有颗粒层的鳞片数。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据,多组间比较用($\bar{x}\pm s$)表示,采用多因素方差分析;组间两两比较用($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 芩柏涂膜剂对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响 与对照组比较,模型组小鼠每 300 个阴道上皮细胞中所出现的有丝分裂细胞数明显增加,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,芩柏涂膜剂组和芩柏软膏组小鼠每 300 个阴道上皮细胞中所出现的有丝分裂细胞数减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。小鼠经苯甲酸雌二醇注射液造模后,与对照组比较,小鼠阴道上皮细胞出现增生,阴道上皮细胞处于雌激素周期。与模型组比较,芩柏涂膜剂组和芩柏软膏组阴道上皮角化良好,基底层见核分裂细胞,但分裂数目显著降低,具有明显抑制上皮基底细胞有丝分裂的作用。见图 1。

表 1 芩柏涂膜剂对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响
($\bar{x}\pm s$, 个)

组别	鼠数	300 个阴道上皮细胞中有丝分裂数
对照组	10	21.70±3.92
模型组	10	75.89±13.27 $^{\triangle\triangle}$
芩柏涂膜剂组	10	51.74±8.71 *
芩柏软膏组	10	40.60±10.58 *

注:与对照组比较, $^{\triangle\triangle}P<0.01$;与模型组比较, $^{*}P<0.05$ 。

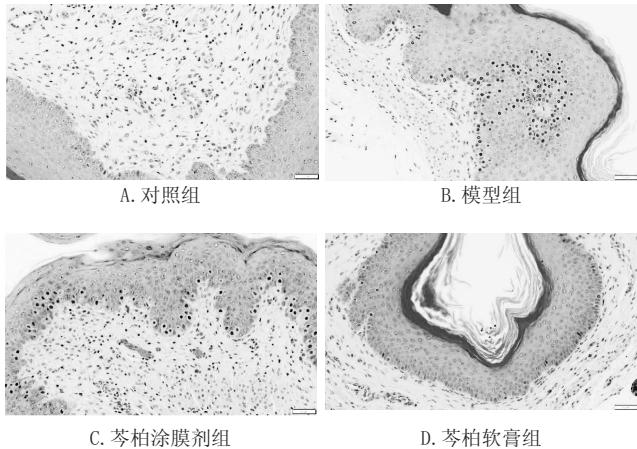


图1 4组小鼠阴道上皮细胞有丝分裂情况(HE染色, $\times 200$)

2.2 对小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成的影响 与对照组比较,芩柏软膏组和芩柏涂膜剂组均能升高小鼠尾部100个鳞片中有颗粒层的鳞片数,差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组小鼠尾部鳞片角化不全,颗粒层缺失,形状不规则。芩柏涂膜剂组与芩柏软膏组尾部鳞片颗粒层2~3层,颗粒层细胞较大。见图2。

表2 萼柏涂膜剂对小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成的影响
($\bar{x}\pm s$,个)

组别	鼠数	100个尾部鳞片中有颗粒层的鳞片数
对照组	10	11.00±2.19
芩柏涂膜剂组	10	14.61±2.86*
芩柏软膏组	10	15.65±2.19*

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

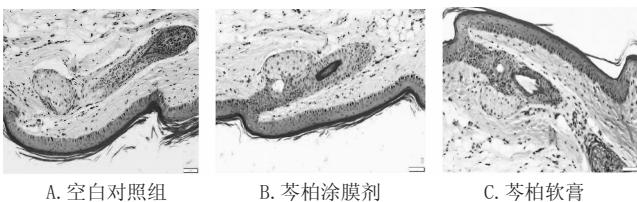


图2 3组小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成情况(HE染色, $\times 200$)

3 讨论

芩柏软膏清热解毒、除湿止痒,作为院内制剂在临幊上应用数十年,疗效确切^[3-4]。芩柏软膏原剂型为药材粉碎后直接加入凡士林基质中,药材有效成分利用度低^[5],质地油腻,易污染衣物,为弥补原剂型的不足,提高其临幊疗效和患者依从性,课题组研发了芩柏涂膜剂新剂型,并对其药效学进行了研究。

目前常用的银屑病动物模型主要有小鼠尾部鳞片模型、雌鼠阴道上皮模型、普萘洛尔诱导耳部

模型、咪喹莫特诱导小鼠模型、佛波酯诱导动物模型、异种移植动物模型、自发性或基因突变模型等。上述模型均可模拟银屑病皮损,而皮损原理、模型评价及其制备方法各有差异^[6]。本研究采取最常用的2种方法来研究芩柏涂膜剂的抗银屑病作用。

现代药理学研究表明,银屑病的组织病理学改变为角质形成细胞的过度增生与角化不全^[7]。正常情况下,小鼠尾部鳞片的表皮角质层角质形成细胞保留有细胞核,而颗粒层细胞缺失。这与人体银屑病表皮角化不全的特点非常相似,因此检测药物对鼠尾部颗粒层细胞生成的影响,可以推断药物是否具有拮抗皮肤表皮细胞角化不全的效应。如果药物能够促进尾鳞片表皮颗粒层形成,代表着改变银屑病的角化不全,即具有治疗银屑病的作用。

研究发现,雌激素期小鼠阴道上皮细胞增殖活跃可模拟银屑病的角质细胞增生过度。雌激素期的小鼠阴道上皮细胞增殖活跃,基底层有丝分裂增加,上皮细胞转换加快,可模拟银屑病表皮增殖加速的特点。如果药物能抑制有丝分裂数,就代表着可改善银屑病的表皮增生状况,也同样代表具有治疗银屑病的作用。

本研究发现,芩柏涂膜剂能抑制小鼠阴道上皮细胞有丝分裂,可促进小鼠尾部鳞片表皮颗粒层的形成,与对照药芩柏软膏相比药效无显著差异,具有巨大的应用前景。下一步研究拟对该外用制剂的安全性等予以观察研究。

参考文献

- 北京中医医院.赵炳南临床经验集[M].北京:人民卫生出版社,2006:316.
- 黄玉华,董亦秋.普连膏治疗银屑病血热型疗效观察[J].实用中医药杂志,2015,31(2):141-142.
- 徐佳,张苍,瞿幸,等.芩柏软膏治疗进行期银屑病血热证的临床观察和实验研究[J].中国中西医结合杂志,2009,29(7):614-618.
- 张云云,周冬梅,王菖生,等.芩柏凝胶外用治疗血热证银屑病临床疗效观察[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2013,12(4):226-228.
- 曾祖平,王天园,张璐,等.芩柏制剂不同剂型体外释药性能评价研究[J].环球中医药,2019,12(2):195-198.
- 热比姑丽·伊斯拉木,阿瓦姑力·伊斯拉木,斯拉甫·艾白.银屑病动物模型研究概况[J].中国药房,2015,26(19):2726-2729.
- 张冠英,郭琳,魏群利,等.吡硫翁锌乳膏对银屑病样模型小鼠的药效学研究[J].中国医院药学杂志,2018,38(13):1384-1386.

(本文责编:刘克明 本文校对:豆浩然 收稿日期:2020-12-01)