

doi:10. 13407/j. cnki. jpp. 1672-108X. 2020. 12. 001

· 论 著 ·

氯霉素泼尼松搽剂抗炎、抗过敏和止痒作用动物实验研究

陈少秀, 杜晓, 景海霞, 张霞, 常明泉 (十堰市太和医院, 湖北医药学院附属医院, 湖北十堰 442000)

[摘要]目的:研究氯霉素泼尼松搽剂的抗炎、抗过敏和止痒作用,为临床应用提供参考。方法:利用二甲苯诱导小鼠耳朵肿胀观察氯霉素泼尼松搽剂的抗炎作用;利用 2,4-二硝基氯苯(DNCB)诱导小鼠迟发性过敏反应观察氯霉素泼尼松搽剂的抗过敏作用;利用 4-氨基吡啶(4-AP)诱导小鼠皮肤过敏性瘙痒观察氯霉素泼尼松搽剂的止痒作用。结果:与模型对照组比较,氯霉素泼尼松搽剂能显著减轻二甲苯所致小鼠耳朵肿胀程度,同时降低 DNCB 诱导的小鼠过敏反应,并能明显减少 4-AP 诱导小鼠瘙痒的舔体次数、延长瘙痒潜伏期、缩短瘙痒持续时间。结论:氯霉素泼尼松搽剂具有明显的抗炎、抗过敏和止痒作用。

[关键词]氯霉素泼尼松搽剂;抗炎;抗过敏;止痒

[中图分类号]R927. 2

[文献标识码]A

[文章编号]1672-108X(2020)12-0001-03

Experimental Study on Anti-Inflammatory, Anti-Allergic and Anti-Pruritic Effects of Chloramphenicol Prednisone Liniment in Animals

Chen Shaoxiu, Du Xiao, Jing Haixia, Zhang Xia, Chang Mingquan (Shiyan Taihe Hospital, Affiliated Hospital of Hubei University of Medicine, Hubei Shiyan 442000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-inflammatory, anti-allergic and anti-pruritic effects of chloramphenicol prednisone liniment in animals, so as to provide reference for clinical application. **Methods:** Anti-inflammatory effects of chloramphenicol prednisone liniment were observed in mice with xylene-induced ear swelling. Anti-allergic effects of chloramphenicol prednisone liniment were observed in mice with delayed-type hypersensitivity induced by 2, 4-dinitrochlorobenzene (DNCB). Anti-pruritus effects of chloramphenicol prednisone liniment were observed in mice with skin allergic itching induced by 4-aminopyridine (4-AP). **Results:** Compared with the model control group, chloramphenicol prednisone liniment could significantly alleviate xylene-induced ear swelling in mice and reduce DNCB-induced allergic reaction in mice. Chloramphenicol prednisone liniment could reduce the number of carcasses induced by 4-AP in mice, prolong pruritus latency and shorten the duration of pruritus. **Conclusion:** Chloramphenicol prednisone liniment has significant anti-inflammatory, anti-allergic and anti-pruritus effects.

[Keywords] chloramphenicol prednisone liniment; anti-inflammatory; anti-allergic; anti-pruritus

氯霉素泼尼松搽剂(氯强油)为十堰市太和医院院内制剂,批准文号:鄂药制字 H20170416,规格为每支 10 mL,该制剂由醋酸泼尼松 0.5 g、氯霉素 10 g、无水乙醇 70 mL、蓖麻油 140 mL、清鱼肝油加至 1 000 mL 制成,其中氯霉素含量为 10 mg/mL,泼尼松含量 0.5 mg/mL^[1],临床上用于治疗脓疱疮、蚊虫叮咬、皮肤过敏等疾病,尤其适用于有水疱、糜烂、渗液等皮损的皮肤病^[2]。本研究从抗炎、抗过敏、止痒等方面对氯强油进行药理实验研究,以期为临床应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 梅特勒 XS105DU 型电子分析天平(深圳市盛美仪器有限公司);8 mm 打耳器(济南益延科技发展有限公司);计时器。

1.1.2 药物与试剂 氯强油(十堰市太和医院自制,批号 20180416),分别配制高剂量氯强油(含氯霉素 20 mg/mL、泼尼松 1 mg/mL)、中剂量氯强油(含氯霉素 10 mg/mL、

泼尼松 0.5 mg/mL)、低剂量氯强油(含氯霉素 5 mg/mL、泼尼松 0.25 mg/mL);阳性对照药物为地塞米松磷酸钠注射液(辰欣药业股份有限公司,批号 1712212111);二甲苯(西安化学试剂厂,批号 170413);2,4-二硝基氯苯(DNCB,天津市光复精细化工研究所,批号 170615);4-氨基吡啶(4-AP,阿尔法公司,批号 170411);0.9% 氯化钠注射液(中国大冢制药有限公司,批号 8G71D3)。

1.1.3 实验动物 昆明小鼠,SPF 级,体质量(22±3)g,由湖北医药学院动物实验中心[许可证号 SCXK(鄂)2016-0008]提供。

1.2 方法

1.2.1 抗炎实验 应用二甲苯致小鼠耳肿胀实验^[3]。分组:取健康小鼠 60 只,雌雄各半,常规喂养 1 周后随机分成 6 组各 10 只,即氯强油高剂量组、氯强油中剂量组、氯强油低剂量组、阳性对照组(地塞米松)、模型对照组、正常对照组(蒸馏水)。给药:实验前各组小鼠按设计剂量于右耳前后两面涂抹相应药物,即氯强油高、中、低剂量组分别涂抹对应浓度氯强油 0.1 mL,阳性对照组涂抹

基金项目:十堰市太和医院院级基金项目,编号 2017JJXM056。

作者简介:陈少秀(1974.02-),女,大学本科,副主任护师,主要从事皮肤病护理工作,E-mail: 872074460@qq.com。

通讯作者:常明泉(1963.04-),男,大学本科,主任药师,主要从事医院新制剂研究,E-mail: 907622985@qq.com。

地塞米松磷酸钠注射液 0.1 mL, 正常对照组涂抹蒸馏水 0.1 mL, 模型对照组涂抹蒸馏水 0.1 mL, 每天 1 次, 连续 3 d。致炎: 末次给药 30 min 后, 将二甲苯 0.025 mL 均匀涂于小鼠(正常对照组小鼠除外)右耳耳廓内外面, 左耳作为对照, 正常对照组小鼠右耳涂抹等量的蒸馏水。耳廓肿胀的测定: 1 h 后脱颈处死小鼠并沿耳廓基线剪下左右耳, 在左右两耳相同部位同时用 8 mm 打孔器取下圆耳片, 在分析天平上称质量, 测定耳廓肿胀度、计算小鼠耳廓肿胀抑制率。耳廓肿胀度 = 右耳片质量 - 左耳片质量; 小鼠耳廓肿胀抑制率 = (模型对照组平均肿胀度 - 给药组平均肿胀度) / 模型对照组肿胀度 × 100%。

1.2.2 抗过敏实验 利用 2,4-二硝基氯苯(DNCB)诱发迟发性过敏实验^[4]。分组: 小鼠分组方法同“1.2.1”。致敏: 用 80 g/L 硫化钠溶液于小鼠腹部脱毛 3 cm×3 cm, 24 h 后每只小鼠(除外正常对照组小鼠)用 5% DNCB 溶液 0.05 mL 均匀涂抹于腹部脱毛区, 次日强化 1 次, 正常对照组小鼠涂抹相同剂量的蒸馏水。给药: 致敏前 1 d 开始, 各组小鼠右耳涂抹相应剂量药物, 即氯强油高、中、低剂量组分别涂抹对应浓度氯强油 0.1 mL, 阳性对照组涂抹地塞米松磷酸钠注射液 0.1 mL, 模型对照组和正常对照组均涂抹蒸馏水 0.1 mL, 每天 1 次, 连续 1 周。激发: 末次给药 1 h 后, 用 1% DNCB 溶液 0.05 mL 均匀涂抹于小鼠(正常对照组除外)右耳耳廓两侧激发过敏反应, 左耳为对照, 正常对照组涂抹 0.05 mL 蒸馏水。耳廓肿胀的测定: 24 h 后, 脱颈处死小鼠并剪下左右耳, 在左、右耳同样的位置用 8 mm 打孔器打下圆耳片, 立即在分析天平称质量并计算耳朵肿胀度, 肿胀度 = 右耳片质量 - 左耳片质量。

1.2.3 止痒实验 利用 4-氨基吡啶诱导小鼠过敏性皮肤瘙痒反应实验^[5]。分组: 小鼠分组方法同上。给药: 用 80 g/L 硫化钠溶液于小鼠背部脱毛 3 cm×3 cm, 即氯强油高、中、低剂量组分别涂抹对应浓度氯强油 0.1 mL, 阳性对照组涂抹地塞米松磷酸钠注射液 0.1 mL, 模型对照组和正常对照组均涂抹蒸馏水 0.1 mL, 每天 1 次, 连续 7 d。致痒: 末次给药 40 min 后将 4-AP 按 1 mg/kg 的剂量在小鼠背部脱毛区皮下注射, 正常对照组小鼠按 1 mg/kg 剂量注射 0.9% 氯化钠注射液。瘙痒反应观察: 立即观察 10 min 内小鼠舔体行为的次数, 舔体行为指小鼠反复出现扭头舔两侧背部的行为, 将小鼠连续舔体致出现短暂停顿的行为算作 1 次舔体。观察小鼠出现舔体反应的潜伏时间、持续时间和舔体次数, 同时计算反应抑制率。抑制率 = (模型对照组舔体次数 - 给药组舔体次数) / 模型对照组舔体次数 × 100%。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 17.0 软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 *t* 检验, 方差齐选择 LSD-*t* 检验, 方差不齐选择秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氯强油对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响

模型对照组与正常对照组比较, 耳肿胀度增大, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 说明二甲苯致炎模型成功。各给药组小鼠耳肿胀度明显低于模型对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.01$), 与正常对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$), 说明氯强油能抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀, 并能使耳肿胀恢复正常。

表 1 氯强油对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响

组别	给药剂量/mL	耳肿胀/mg	抑制率/%
正常对照组	-	1.10±0.15	-
模型对照组	-	2.96±0.37 ^a	-
阳性对照组	0.1	1.05±0.18 ^{bc}	53.38
高剂量组	0.1	1.15±0.23 ^{bc}	56.76
中剂量组	0.1	1.22±0.24 ^{bc}	51.69
低剂量组	0.1	1.28±0.23 ^{bc}	46.96

注: a 与正常对照组比较, $P < 0.01$; b 与模型组比较 $P < 0.01$; c 与正常对照组比较, $P > 0.05$

2.2 氯强油对 DNCB 诱导的小鼠迟发性过敏反应的影响

模型对照组与正常对照组比较耳肿胀度增大, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 说明 DNCB 诱导的小鼠迟发性过敏反应的模型构建成功。氯强油高、中剂量组小鼠耳肿胀度与模型对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 说明氯强油能够对抗 DNCB 诱导的小鼠迟发性过敏反应引起的耳廓肿胀, 而且能使其恢复正常。

表 2 氯强油对 DNCB 诱导小鼠迟发性过敏反应影响

组别	给药剂量/mL	耳肿胀/mg
正常对照组	-	1.07±0.14
模型对照组	-	1.87±0.22 ^a
阳性对照组	0.1	1.10±0.15 ^b
高剂量组	0.1	1.14±0.17 ^{bd}
中剂量组	0.1	1.19±0.21 ^{bd}
低剂量组	0.1	1.25±0.19 ^{bc}

注: a 与正常对照组比较, $P < 0.01$; b 与模型对照组比较, $P < 0.01$; c 与正常对照组比较, $P < 0.05$; d 与正常对照组比较, $P > 0.05$

2.3 氯强油对 4-AP 诱导的小鼠过敏性皮肤瘙痒反应的影响

与模型对照组比较, 氯强油高、中、低剂量组均能延长瘙痒出现的潜伏时间、缩短瘙痒持续时间、减少舔体次数, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 说明氯强油对小鼠过敏性皮肤瘙痒具有缓解作用。

表 3 氯强油对 4-AP 诱导的小鼠过敏性皮肤瘙痒反应的影响

组别	给药剂量/mL	潜伏时间/s	持续时间/s	舔体次数/次	抑制率/%
模型对照组	-	43.70±7.72	221.10±37.77	43.50±6.21	0
阳性对照组	0.1	54.40±10.90 ^a	151.90±31.72 ^a	26.50±3.03 ^a	39.08
高剂量组	0.1	58.20±8.67 ^a	146.60±34.85 ^a	25.30±2.83 ^a	41.84
中剂量组	0.1	54.00±9.78 ^a	151.60±34.91 ^a	26.80±3.01 ^a	38.39
低剂量组	0.1	51.70±7.99 ^a	175.80±30.69 ^a	29.90±3.18 ^a	31.26

注: a 与模型对照组比较, $P < 0.01$

3 讨论

炎症是机体组织在各种刺激下出现的以防御为主的保护反应。常见的急性炎症模型是二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验,二甲苯刺激小鼠可导致小鼠在短时间内迅速出现耳廓充血、水肿等急性炎症表现。实验结果表明,氯强油能显著减少二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀程度,具有明显的抗炎作用,其可能是通过主要成分醋酸泼尼松发挥抗炎作用。因为外用糖皮质激素的药理作用主要有抗炎作用、抗增生作用、免疫抑制和血管收缩作用^[6]。

DNCB 所致小鼠耳朵肿胀是常见的迟发性过敏反应实验模型。迟发型过敏反应是一种主要由 T 淋巴细胞介导的细胞免疫反应,DNCB 是一种半抗原,初次接触使机体致敏,再次接触时激发炎症反应,引起炎症区域的明显肿胀。实验结果表明,氯强油能显著抑制 DNCB 引起的小鼠耳廓肿胀程度,具有明显的抗过敏作用,可能的抗炎机制是其通过收缩血管,增加血管张力、降低通透性,减少组织炎症反应。氯强油中的醋酸泼尼松属于中效糖皮质激素,而外用激素能降低毛细血管通透性,减轻炎症的水肿渗出,促使炎症消退,抑制体内的抗原抗体反应,具有很好的抗过敏、抗炎、抗增生等作用^[7]。泼尼松与氯霉素等制成的强氯霜具有较好的抗炎、抗过敏、免疫抑制作用^[8]。

4-AP 是一种 K⁺通道阻滞剂,其通过阻断 K⁺通道,促使血管平滑肌细胞去极化,进一步激活 Ca²⁺通道,引起血管收缩,同时促使肥大细胞脱颗粒,释放组胺引起皮肤瘙痒^[9],导致小鼠出现舔体反应。实验结果表明,氯强油可以明显减少 4-AP 诱导小鼠出现舔体反应的次数、缩短瘙痒持续时间、延长瘙痒出现的潜伏期,具有明显的止痒作用。释放组胺是 4-AP 所致的小鼠舔体反应的机制之一^[10],氯强油发挥止痒作用的机制可能是通过主药醋酸泼尼松稳定溶酶体膜,减少水解酶的释放,抑制肥大细胞脱颗粒,阻止组胺等炎性介质的释放^[11]。

氯强油的组方、制备工艺、质量控制等历经本院药理学部药师的多次改进,已形成了一个质量稳定可控、经济、安全、疗效确切的外用医院制剂。该搽剂的主要成份为氯霉素和醋酸泼尼松,前者是一种广谱抗生素,具有杀菌消炎作用,后者是一种中效糖皮质激素,具有抗炎、免疫抑制和抗休克的作用^[12],两者联合组方外用可发挥抗炎杀菌的协同作用,对于控制瘙痒症状、缓解炎

症具有重要作用^[13];溶媒为无水乙醇;分散介质为清鱼肝油和蓖麻油,制备过程中,难溶于乙醇的泼尼松经过超声波的空化效应^[14]被粉碎成极小的微粒分散于油性介质中,形成具有黏附性的油性搽剂,有效防止药物的流失,充分发挥治疗作用。

本研究证实了氯强油局部外用给药能显著对抗二甲苯所致小鼠耳廓肿胀、明显抑制 DNCB 所致小鼠迟发性过敏反应,同时减少 4-AP 诱导的小鼠舔体次数,说明氯强油具有抗炎、抗过敏、止痒作用,具体作用机制有待进一步实验研究。

参考文献:

- [1] 常明泉, 陈芳, 吕明. 超声波法制备氯霉素泼尼松搽剂[J]. 医药导报, 2009, 28(3): 347-349.
- [2] 孙运娥, 王超, 陈静. 喷雾器用于氯强油外用治疗与护理中[J]. 护理研究, 2013, 27(5): 1261.
- [3] 张俊威, 许庆瑞, 霍金海, 等. 痒停搽剂抗炎止痒作用实验研究[J]. 吉林中医药, 2015, 35(5): 511-514.
- [4] 赵景云, 马克坚, 陆宇惠, 等. 荷苓止痒搽剂止痒抗过敏作用的实验研究[J]. 昆明医科大学学报, 2013, 34(5): 23-28.
- [5] 黄国鑫, 任薇, 武文, 等. 精制蟒蛇油抗炎抗过敏止痒作用的实验研究[J]. 新中医, 2010, 42(12): 119-121.
- [6] 梅淑清, 詹水明, 张爱军. 糖皮质激素类药物外用剂型及用法[J]. 中国医学文摘: 皮肤科学, 2015, 32(3): 289-294.
- [7] 中国庆. 掌握多种差异性合理使用皮肤外用药[J]. 药学与临床研究, 2015, 23(6): 626-627.
- [8] 武晓莉, 赵国君. 强氯霜的研究概况[J]. 包头医学院学报, 2013, 29(6): 139-142.
- [9] 张莉莉, 王洁, 江涛, 等. 香鳞毛蕨有效部位的止痒和抗过敏作用[J]. 中成药, 2016, 38(11): 2476-2480.
- [10] 王凯, 向翠英, 张琼. 4-氨基吡啶致小鼠舔体反应与瘙痒关系的初步探讨[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(2): 170-172.
- [11] 张建中. 糖皮质激素的分类及其在皮肤科的应用[J]. 中国医学文摘: 皮肤科学, 2015, 32(3): 241-247.
- [12] 胡雪, 张月明, 陈秋燃, 等. 我院儿科急诊处方雾化吸入型糖皮质激素用药分析[J]. 儿科药理学杂志, 2019, 25(5): 32-35.
- [13] 涂金伟, 汪东海, 代继宏. 糖皮质激素辅助治疗难治性肺炎支原体肺炎的 Meta 分析[J]. 儿科药理学杂志, 2018, 24(12): 1-5.
- [14] 常明泉, 陈芳, 陈学珍, 等. 超声波法制备氯强油搽剂的工艺及质量控制研究[J]. 中国药事, 2008, 22(10): 892-894.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2019-06-12 修回日期:2019-07-22)

• 编者 • 作者 • 读者 •

本刊特别欢迎各类基金课题论文

为了鼓励作者将基金课题(包括国家自然科学基金、国家各部委及各省、市、自治区级的各种基金)产生的论文投到《儿科药理学杂志》发表,以进一步提高本刊的学术水平,由上述基金课题产生的论文将在本刊优先发表,同时对该基金课题产生

的研究性论文给予优厚稿酬。基金项目稿件需附基金课题文件复印件并在文中注明基金名称及编号,否则无效。热忱欢迎广大作者投稿。投稿网址:<http://www.ekyzz.com.cn>。