

· 药 学 ·

中药复方 " 生发灵 " 药效学初步研究

周正平¹ 吴 斌² 李 季² 张奉国^{1△}

(1 中国药科大学 江苏 南京 210009; 2 南京同仁医院 江苏 南京 211100)

摘要 目的 研究中药复方 " 生发灵 215 " 的两种提取方法和生发作用。方法 : 参考该中药复方的传统临床应用, 考察了该复方的两种提取方法 : 一是用油提取直接涂抹的传统方法, 一是用醇提法并制成软膏剂。然后用两种提取物对试验兔进行皮肤刺激性实验和促毛发生长作用的初步探讨。结果 软膏剂在外观、手感以及使用舒适度方面均大大优于传统的油提取物。皮肤刺激实验表明油提取物对完整皮肤和破损皮肤均有刺激性, 而通过醇提物制备的软膏制剂作用温和, 没有发现明显的刺激性。毛发生长实验表明, 醇提物制备的软膏制剂在促毛发生长效果方面和油提物没有明显差异。结论 醇提物制成的软膏剂具有良好的临床应用价值。

关键词 中药 生发 制剂 药效

中图分类号 R285 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2012) 27-5376-04

Preliminary Pharmacodynamic Study of Chinese Herbal Compounds "Sheng Fa Ling"

ZHOU Zheng-ping¹, WU Bin², LI Ji², ZHANG Feng-guo^{1△}

(1 China Pharmaceutical University, Nanjing, 210009, China; 2 Tongren Hospital, Nanjing, Jiangsu, 211100, China)

ABSTRACT Objective: To investigate two extraction methods and the effect of hair tonic about traditional Chinese medicine "Sheng Fa Ling 215". **Methods:** Reference to the traditional application of the compound, two extraction methods was investigated. One was the traditional methods that directly applied using oil extract; another was the alcohol extract which made of ointment. The skin irritation and the hair tonic with the experiment's rabbits by two extraction methods was also preliminary studied. **Results:** Ointment was much better than traditional oil extracts in appearance, feel and comfort. Skin irritation test showed that the oil extract on the intact skin and broken skin had irritation, Ointment prepared by the alcohol extract was mild and no obvious irritation. Hair growth experiments showed that there was no significant difference between Ointment and oil extract in promoting hair growth effects. **Conclusion:** Ointment has good application value in clinic.

Key words: Traditional Chinese medicine; Hair tonic; Preparation; Pharmacodynamics

Chinese Library Classification (CLC): R285 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)27-5376-04

前言

脱发是临床常见疾病, 随着生活水平的提高, 人们对美容美发的要求日益迫切, 现代医学和祖国传统医学对此的研究也越来越受到重视。脱发可分为斑秃、脂溢性脱发、化疗性脱发、老年性脱发等类型, 其中以斑秃和脂溢性脱发发病率最高^[1]。中药复方具有疗效确切、副作用小等优点, 在中医理论的指导下, 从整体出发, 调节机体的阴阳平衡, 标本兼治, 已取得较好的临床效果。但目前中医药对脱发病的研究多局限于临床疗效考察, 实验研究方面开展得较少^[2]。本文采用传统中药复方偏方作为受试药物, 通过传统工艺和现代工艺提取方法的对比, 来考察它对试验兔的生发作用和皮肤刺激作用。传统中药复方对雄激素性脱发具有良好的治疗效果^[3], 但临床采用油提法, 将提取

物敷在患者头部进行治疗, 此法既不美观而且患者顺应性差, 常常对头部皮肤产生刺激性, 使其红肿。本实验将该复方制成方便使用的外用剂型—软膏剂, 从刺激性和疗效性两方面将其和油提物进行了比较。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

R-201 型旋转蒸发器 (上海申顺生物科技有限公司), SHZ-D (II) 循环水式真空泵 (巩义市英峪予华仪器厂), 小型粉碎机 (河北省黄骅科学仪器厂), BS-110S 电子天平 (北京赛多利斯有限公司), 游标卡尺 (成都量具刃具总厂)。

1.2 试剂与材料

硬脂酸 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 T20051222), 单硬脂酸甘油酯 (上海市四赫维化工有限公司, 批号 0602101), 白凡士林 (南京长江石化有限公司, 批号 20060101), 丙三醇 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 F20050422), 液体石蜡 (上海凌峰化学试剂有限公司, 批号 060225), 十二烷基硫酸钠 (上海凌峰化学试剂有限公司, 批号 060304), 乙醇 (南京化学试剂有

作者简介 周正平, 女, 硕士研究生, 助理实验师,

E-mail: Zhouzhp006@163.com

△通讯作者 张奉国, 男, E-mail: zfgnet@163.com,

Tel: 025-86185215

(收稿日期 2012-04-29 接受日期 2012-05-25)

限公司，分析纯），硫化钠（南京化学试剂有限公司，批号 051260213）。生发灵的组成：该方由首乌、丹参、熟地和 ZnO 等主要成分组成，先声药业连锁药店提供。丙酸睾酮注射液 广州白云山明兴制药有限公司，规格 25 mg/ml，批号 051001。阳性对照：敏乐啶洗剂，中国医学科学院皮肤病医院，规格 50 mL，批号 H04001123。菜籽油：大满贯食用调和油，金光食品有限公司，产品标准号 Q/SGF001。试验动物：家兔，雌雄各半，体重 1.8-2.3 kg。许可证号 SCXK2002(苏)-0027。

2 试验方法

本试验考察了传统的油提法和醇提法，然后将醇提物制备成软膏制剂。并考察了该软膏制剂在试验兔上的皮肤刺激性实

验和生发效果。

2.1 油提法

将粉碎的药材粉末加入到两倍体积的菜籽油中(预先将菜籽油水浴加热至 80℃)，水浴加热至 100℃，两小时后停止提取，过滤去渣，油溶物贮存于一带盖瓶中，于 4℃冰箱中保存备用。

2.2 醇提法

将粉碎的药材粉末加入到适量的乙醇中，采用正交试验对影响提取的因素进行了考察。选取提取温度(A)、提取时间(B)、加醇量(C)、提取次数(D)作为考察因素，每个因素各取三个水平，以生发有效成分的含量为指标，设计 L9(3⁴)正交实验，见表 1。选择最佳提取条件^[4,5]。

表 1 正交试验因数水平

Table 1 The factors level of orthogonal experiment

Levels	A	B	C	D
	Temperature/℃	Extraction time/h	Amount of ethanol/times	Number of times
1	55	3	4	1
2	60	4	6	2
3	75	6	8	3

2.3 醇提物制剂的制备

取单硬脂酸甘油酯、硬脂酸、白凡士林及液状石蜡加热熔化为油相。另将甘油和蒸馏水加热至 90℃，再加入十二烷基硫酸钠溶解为水相，然后将水相缓缓倒入油相，边加边搅拌至冷凝即得空白基质。将醇提物浓缩为半固体的浸膏，然后取规定量浸膏缓缓加入到基质中，边加边搅拌直至冷凝即得。本品采用十二烷基硫酸钠及单硬脂酸甘油酯（1:7）为混合乳化剂，其 HLB 值（水油度）为 11，接近本处方中的油相所需的 HLB 值 12.7，制得的乳膏剂稳定性较好。

2.4 皮肤刺激性试验

在兔子背部脊椎两侧剃去约 50 cm² 大小的面积，分笼饲养，观察 1 天。随机分为 2 组，第 1 组为完整皮肤组，第 2 组用灭菌针头将各兔脱毛区消毒皮肤划等面积“#”字，以划破表皮渗血不损伤表皮为度，作为破损皮肤组，采用自体左右侧自身对照。休息 24 小时，待剃毛所产生的刺激性痊愈后，取受试药物 1 g 均匀地涂在左侧药物区使形成薄层，空白基质则涂于右侧对照区，用无菌纱布及胶布固定。每天给药 1 次，连续给药三天，末次给药 24 h 后，用温水去除残留药物，去除药物后分别于 1 h、24 h、48 h、72 h 用肉眼观察涂抹部位有无红斑和水肿等情况，按下表 2，表 3 来进行评分^[5,6]，以判断受试药物的刺激强度^[7]。

2.5 动物模型与给药

将试验兔分组标记后，给试验动物注射丙酸睾酮 2.5 ml/kg 造模 30 天^[8]，第 31 天选择试验兔背部四处面积相同(2 cm× 2 cm)且对称的区域，分别为高低剂量给药区域，空白基质区域，阳性对照区域，用 10 %硫化钠脱去背部毛发^[9]，用 3 %苦味酸染色以确定试验区，开始在目标区域分别用生发灵油提物和醇提软膏剂涂药，每日上、下午固定时间各涂药一次，0.25 g/次，

连续给药 20 天，每日观察试验动物背部皮肤变化及毛发生长情况，并且用游标卡尺测定试验区兔毛长度。

表 2 皮肤刺激反应评分

Table 2 The score of skin irritation

Stimulation	Score
Erythema:	
No erythema	0
Barely visible	1
Moderate erythema	2
Severe erythema	3
Purple erythema and eschar	4
Edema:	
No edema	0
Barely visible	1
Skin bulge and profile distinct	2
Skin bulge above 1 millimeter and area expand	4

表 3 皮肤刺激强度评价

Table 3 The evaluate of skin irritation intensity

Stimulation	Score
Non-irritating	0~0.49
Mild irritation	0.5~2.99
Moderate irritation	3.0~5.99
Strong irritation	6.0~8.0

3 结果与讨论

3.1 最佳提取条件的确定

由表 4 正交试验和测定结果数据直观分析显示,各因数的影响大小顺序为 A>D>B>C。由同一因数的三个水平比较得知:A3>A2>A1,B3>B2>B1,C3>C1>C2,D3>D2>D1,最

佳工艺条件为 A3D3B3C3。方差分析表明,因数 D(提取次数)对指标成分含量有显著性差异,因数 B(提取时间)和 C(溶媒倍数)由于极差 R 相对较小,在此作为误差处理,见表 5。为了保证较高的含量,选择的最佳工艺条件为 A3D3B3C3,即加 8 倍的无水乙醇,在 75 ℃提取 6 h,提取 3 次。

表 4 L₉(3⁴)正交试验和测定结果
Table 4 Orthogonal test and results

Number	A	B	C	D	Yield
1	1	1	1	1	10.88
2	1	2	2	2	11.24
3	1	3	3	3	12.68
4	2	1	2	3	11.62
5	2	2	3	1	11.78
6	2	3	1	2	11.90
7	3	1	3	2	12.35
8	3	2	1	3	13.26
9	3	3	2	1	12.50
k1	34.8	34.85	36.04	35.16	108.21
k2	35.3	36.28	35.36	35.49	CT=1301.04
k3	38.11	37.08	36.81	37.74	
R	3.31	2.23	1.45	2.58	

表 5 方差分析结果
Table 5 Analysis results of variance

Variance sources	Square sum of deviations	Degrees of freedom n	Mean square s/n	F-Value	Significance
A	S _A =2.1274	2	1.0637	3.5117	*
D	S _D =5.6511	2	2.8256	9.3285	
Error E=B+C	S _B +S _C =0.8558+0.3558=1.2116	4	0.3029		

Note: *P<0.05,F0.05(2,4)=6.94;F0.01(2,4)=18.00.

3.2 皮肤刺激性试验结果

全部动物均建康存活,破损皮肤在第 2 天结痂,8 天内脱痂痊愈,未出现任何明显毒性反应。从表 6,表 7 中可以看出:

受试药为油溶物的完整皮肤组与破损皮肤组有明显的皮肤刺激性,而软膏剂作用温和,无刺激性。

表 6 油溶物皮肤刺激性平均反应
Table 6 Average response of oil-soluble on the skin irritation

Groups		Dosage (g)	Skin irritation average response score	Total score		Stimulus intensity evaluation
				Erythema	Edema	
Intact skin	Investigational drug	1	1.25	0.66	1.91	Mild irritation
	Blank matrix	1	0.69	0	0.69	Mild irritation
Broken skin	Investigational drug	1	3.25	1	4.25	Moderate irritation
	Blank matrix	1	1	0	1	Mild irritation

3.3 促毛发生长作用

从表 8 和表 9 可以看出从第 7 天开始受试药物组与空白

对照组比较就开始出现显著性差异($P<0.05$),随着实验时间的延长,这种差异越来越明显,且此作用一直延续到实验结束。说明该药物具有一定的促毛发生长作用。

表 7 软膏剂皮肤刺激性平均反应
Table 7 Average response of ointment on the skin irritation

Groups		Dosage (g)	Skin irritation average response score		Total score	Stimulus intensity evaluation
			Erythema	Edema		
Intact skin	Investigational drug	1	0	0	0	Non-irritating
	Blank matrix	1	0	0	0	Non-irritating
Broken skin	Investigational drug	1	0.33	0	0.33	Non-irritating
	Blank matrix	1	0	0	0	Non-irritating

表 8 油溶物对家兔毛发生长的影响 (单位 mm)
Table 8 The impact of oil-soluble material to rabbit hair growth (Unit: mm)

Area Code	4 days	7 days	10 days	12 days	16 days	20 days
High-dose	0.73± 0.10	1.04± 0.09*	1.57± 0.18*	2.57± 0.16**	4.80± 0.31**	9.49± 0.72*
Low-dose	0.71± 0.10	0.92± 0.06*	1.37± 0.18*	2.27± 0.10*	4.48± 0.40**	8.53± 0.47*
Positive control	0.77± 0.07*	0.98± 0.06*	1.50± 0.26*	2.31± 0.41*	4.57± 0.44**	8.29± 0.13*
Blank control	0.39± 0.01	0.45± 0.01	0.66± 0.11	1.16± 0.20	2.35± 0.42	3.47± 0.38

表 9 软膏剂对家兔毛发生长的影响 (单位 mm)
Table 9 The impact of ointment to rabbit hair growth (Unit: mm)

Area Code	4 days	7 days	10 days	12 days	16 days	20 days
High-dose	0.71± 0.12	1.85± 0.16*	2.31± 0.10**	2.88± 0.17**	5.35± 0.69*	9.71± 0.47*
Low-dose	0.64± 0.09	1.71± 0.13*	2.06± 0.06*	2.52± 0.06*	5.05± 0.38*	8.42± 0.31**
Positive control	0.9± 0.09*	1.27± 0.99*	1.32± 0.08*	1.51± 0.18*	2.28± 0.11*	6.51± 0.38***
Blank control	0.4± 0.03	0.76± 0.06	0.88± 0.11	1.09± 0.16	1.55± 0.18*	3.81± 0.24

注 表中数据代表四只兔子评分 $\bar{x} \pm SD$,与空白对照组的比较 * $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

Note: Dates in the table represent four rabbits' scores which were compared with the blank control.

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

4 讨论

该中药复方经多年临床实践证明对雄激素性脱发有较好的治疗效果,但临床所采用的是传统的油提取法,该油提取液涂抹在患者头部皮肤上,不仅不美观,有油腻感、不透气,而且长期使用还有皮肤刺激性,患者顺应性和舒适性都较差,在治疗上带来了不便,患者也不易接受,影响了治疗效果。为了改善这种中药复方的用药适从度,本实验考察了两种不同的提取方法(油提取法和醇提取法)的提取效果,采用正交试验来优化实验提取条件,并将醇提取物制备成软膏剂这一常用剂型。实验结果显示以醇提取法来提取有效成分并制成的软膏剂,其生发效果和传统的油提法相比没有明显的差别。实验动物皮肤刺激性实验表明,油提法对完整皮肤和破损皮肤都有刺激性,而我们制备的醇提物软膏制剂对实验动物皮肤无刺激性,手感较好,涂抹在皮肤上无油腻感,患者的舒适性也大大优于传统的油提取法。本制剂拥有无过敏、无刺激性、携带方便的优点,是

一种安全性较好的外用制剂,给临床应用提供了较好的开发前景。

参 考 文 献(References)

[1] 陈芙蓉,岳南,只德广,等. 养血生发胶囊对 C57BL/6 小鼠毛发生长的影响及机制 [J]. 现代药物与临床, 2010,25(2): 137-140
Chen Fu-rong, Yue Nan, Zhi De-guang, et al. The effect and mechanism of Yangxue Shengfa Capsules on hair growth in mice [J]. Drugs & Clinic,2010,25(2):137-140

[2] 吴学春,魏跃钢. 雄激素源性脱发的中西医研究进展 [J]. 世界中西医结合杂志, 2010, 15(9): 822-824
Wu Xue-chun, Wei Yue-gang. Research progress of androgenetic alopecia in Chinese and Western medicine [J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine,2010,15(9):822-824

[3] 范卫新. 雄激素性脱发的发病机理和治疗进展 [J]. 临床皮肤科杂志, 2001,30(6):401-403
Fan Wei-xin. Pathogenesis of androgenetic alopecia and therapeutic progress [J]. J Clin Dermatol,2001,30 (6):401-403 (下转第 5280 页)

- lymphoma[J]. Semin Oncol,2003,30(6 Suppl17):1-5
- [3] Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma[J]. N Engl J Med, 2002, 346(4):235-242
- [4] Feugier P, Van Hoof A, Sebban V, et al. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(18):4117-4126
- [5] Pfreundschuh M, Truempner L, Gill D, et al. First analysis of the completed MabThera International (MInT) trial in young patients with low-risk diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): addition of rituximab to a CHOP-like regimen significantly improves outcome of all patients with the identification of a very favorable subgroup with IPI=0 and no bulky disease[J]. Blood, 2004, 104(48a):Abstract 157
- [6] 夏忠军, 王风华, 黄慧强, 等. 利妥昔单抗联合 CHOP 方案治疗初治弥漫性大 B 细胞淋巴瘤患者的疗效观察 [J]. 中华血液学杂志, 2006, 27(4): 273-275
- Xia Zhong-jun, Wang Feng-hua, Huang Hui-qiang, et al. Rituximab monoclonal antibody combined with CHOP regimen for treatment of primary diffuse large B cell lymphoma patients [J]. Chinese Journal of Hematology, 2006, 27(4): 273-275
- [7] 韩晓凤, 黄洪晖, 钟璐, 等. 美罗华治疗 B 细胞性非霍奇金淋巴瘤的临床观察 [J]. 临床血液学杂志, 2007, 20(6): 326-328
- Han Xiao-feng, Huang Hong-hui, Zhong Lu, et al. In the treatment of B cell non Hodgkin lymphoma [J]. Journal of clinical hematology, 2007, 20(6): 326-328
- [8] 杨勤彦, 勇威本, 朱军, 等. 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的临床特征及预后影响因素分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2005, 27(3): 174-176
- Yang Bo-yan, Yong Wei-ben, Zhu Jun, et al. Diffuse large B cell lymphoma: clinical features and prognostic factors of [J]. Chinese Journal of cancer, 2005, 27(3): 174-176
- [9] 张轶文, 赵维莅. 利妥昔单抗靶向治疗非霍奇金淋巴瘤中存在的问题 [J]. 白血病·淋巴瘤, 2008, 4 (17) :312-315
- Zhang Yi-wen, Zhao Wei-li. The rituximab targeted therapy in non Huo Qijin lymphoma problems [J]. Leukemia, lymphoma, 2008, 4(17): 312-315
- [10] 吴宏菊, 张清媛, 陈德发, 等. 美罗华联合 CHOP 方案与 CHOP 方案治疗初治弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的临床对比研究 [J]. 癌症, 2005, 24(12): 1498-1502
- Wu Hong-ju, Zhang Qing-yuan, Chen De-fa, et al. Combined with CHOP and CHOP regimen for treatment of primary diffuse large B cell lymphoma a clinical comparative study of [J]. Cancer, 2005, 24(12): 1498-1502
- [11] Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, et al. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte [J]. J Clin Oncol, 2005, 23: 4117-4126
- [12] How to determine post-RCHOP therapy for risk-tailored adult patients with diffuse large B-cell lymphoma, addition of maintenance rituximab or observation: multicenter experience [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138: 125-132
- [13] Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, et al. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte [J]. J Clin Oncol, 2005, 23: 4117-4126
- [14] Pfreundschuh M, Truempner L, Osterborg A, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group [J]. Lancet Oncol, 2006, 7: 379-391
- [15] Pfreundschuh M, Ho AD, Cavallin Stahl E, et al. Prognostic significance of maximum tumour (bulk) diameter in young patients with good prognosis diffuse large-B-cell lymphoma treated with CHOP-like chemotherapy with or without rituximab: an exploratory analysis of the MabThera International Trial Group (MInT) study [J]. Lancet Oncol, 2008, 9: 435-444
-
- (上接第 5379 页)
- [4] 余淑娟, 郑湘娟, 余祖兵, 等. 正交实验法优选虎杖中白藜芦醇的提取工艺 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(4): 594-595
- Yu Shu-xian, Zhang Xiang-juan, Yu Zu-bing, et al. Optimization of the extraction process for resveratrol from polygonum cuspidatum by orthogonal design [J]. Lishizhen Med & Mat Med Res, 2006, 17 (4): 594-595
- [5] 谭毓治. 药物毒理学 [M]. 北京: 科学出版社, 2010: 682-686
- Tan Yu-zhi, Drug toxicology [J]. Beijing: Science Press House, 2010: 682-686
- [6] 林赤, 陈康远, 周俊德, 等. 骨伤科外用中药驳骨黄水毒理学研究 [J]. 中国医药导报, 2008, 5(33): 5-7
- Lin Chi, Chen Kang-yuan, Zhou Jun-de, et al. Toxicological study of the traditional Chinese medicine for external application Bogu Huang-shui in pharmacology and orthopedics [J]. China Medical Herald, 2008, 5 (33): 5-7
- [7] 胡志飞, 李鹏. 复方益肤乳膏对家兔皮肤刺激性试验 [J]. 西南国防医药, 2010, 20(10): 1076-1077
- Hu Zhi-fei, Li Peng. Skin irritation test of Compound Yifu Cream in rabbits [J]. Southwest National Defence Medical, 2010, 20(10): 1076-1077
- [8] 陈方, 张生枝, 陈卫琴, 等. 黄蜀葵对实验性脂溢性脱发的影响初探 [J]. 赣南医学院学报, 2009, 29(3): 327-328
- Chen Fang, Zhang Sheng-zhi, Chen Wei-qin, et al. Effect and mechanism of Abelmoschus manihot on the seborrheic alopecia of experimental rats [J]. Journal of Gannan Medical University, 2009, 29(3): 327-328
- [9] 曾昭贤, 陈嘉钰, 刘光谱, 等. 云宝生发灵的生发作用 [J]. 中药材, 1995, 18(2): 91-93
- Zeng Zhao-xian, Chen Jia-yu, Liu Guang-pu, et al. Effects of Yun Bao Sheng Fa Ling (FBSFN) on Hair Growth [J]. Chinese Herbal Medicines, 1995, 18(2): 91-93