



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105963243 A

(43)申请公布日 2016.09.28

(21)申请号 201610461657.7

(22)申请日 2016.06.23

(71)申请人 杭州水木龙脑生物科技有限公司  
地址 311231 浙江省杭州市萧山区萧山科技城传化科创大厦A座502室

(72)发明人 王士群 史龙 楼天伟 黄昱俊  
宋大勇

(51)Int.Cl.

A61K 9/06(2006.01)

A61K 47/44(2006.01)

A61K 47/14(2006.01)

A61K 47/10(2006.01)

A61K 47/18(2006.01)

A61K 36/54(2006.01)

A61P 17/10(2006.01)

权利要求书1页 说明书9页 附图1页

(54)发明名称

一种治疗寻常痤疮的龙脑香樟精油缓释乳膏及其制备方法

(57)摘要

本发明属于领域医药生产技术领域,公开了一种具有抗痤疮活性的植物精油,并提供了该精油制备的一种缓释乳膏剂及其制备方法。所述缓释乳膏剂是由植物新品种龙脑香樟树提取的植物精油活性组分,配合辅料基质蓖麻油、液体石蜡、PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、单异硬脂酸甘油酯、EDTA-2Na、甘油、水组成。与现有技术相比,本发明所提供的龙脑香樟精油组分新颖、药效温和,其制备的缓释乳膏剂具有作用持久、毒副作用小,患者使用方便等特点,可有效确保该痤疮乳膏的临床疗效。

1. 一种治疗寻常痤疮的龙脑香樟精油缓释乳膏,其特征在于:所述乳膏的原料是由天然植物精油、乳膏剂基质、保湿剂、乳化剂、稳定剂制成。

2. 根据权利要求1所述的缓释乳膏,其特征在于:所述的天然植物精油为龙脑香樟精油;所述的乳膏剂基质为液体石蜡;所述的保湿剂为蓖麻油和甘油;所述的乳化剂为PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、单异硬脂酸甘油酯;所述的稳定剂为EDTA-2Na。

3. 根据权利要求2所述的缓释乳膏,其特征在于:按照质量百分比由1%~4%龙脑香樟精油、15%~22%蓖麻油、10%~16%液体石蜡、2%~5% PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、2%~5%单异硬脂酸甘油酯、0.05%~0.08%EDTA-2Na、10%~30%甘油、40%~60%水制成的。

4. 根据权利要求3所述的缓释乳膏,其特征在于:按照质量百分比由1%~3%龙脑香樟精油、15%~20%蓖麻油、13%~16%液体石蜡、2%~3% PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、2%~3%单异硬脂酸甘油酯、0.05%EDTA-2Na、10%~20%甘油、45%~55%水制成的。

5. 根据权利要求4所述的缓释乳膏,其特征在于:按照质量百分比由2%龙脑香樟精油、20%蓖麻油、15%液体石蜡、3% PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、3%单异硬脂酸甘油酯、0.05%EDTA-2Na、10%甘油、45%~50%水制成的。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的缓释乳膏的制备方法,包括以下步骤:

按重量比称取处方量的纯化水、EDTA -2Na、甘油混合搅拌均匀为水相;

(1)按重量比称取处方量的脑香樟精油、蓖麻油、液体石蜡、PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、单异硬脂酸甘油酯混合搅拌均匀为油相;

(2)将步骤(1)与步骤(2)制备样品分别置于适宜容器中,加热溶解或分散,并保持温度在70°C~80°C间;

(3)将步骤(2)制备油相缓慢加入步骤(1)制备水相中,开始搅拌速度为1000 r/min,20min后,调整为500 r/min,搅拌至室温即可。

## 一种治疗寻常痤疮的龙脑香樟精油缓释乳膏及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于领域医药生产技术领域,涉及一种治疗寻常痤疮的缓释乳膏及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 痤疮(Acne)多发于面部、背部、胸等富含皮脂部位,是一种与皮脂代谢异常有关的毛囊、皮脂腺单位的慢性炎症病变。近年来的流行、病学调查研究表明年龄在14~45岁的人群中,轻度痤疮患者占48.2%,中度痤疮患者占24.2%,重度痤疮患者占27.6%,病情尚以轻中度的寻常痤疮为主。如不及时治疗或者防治不当,长期的痤疮不仅会导致患者面部遗留永久性的瘢痕,也会对患者心理及生活产生较严重的负面影响。

[0003] 痤疮的病理机制与雄激素代谢异常、毛囊皮脂腺导管堵塞、细菌微生物感染和炎症等因素密切相关。皮肤毛囊中的多种微生物痤疮丙酸杆菌(*Propionibacterium acnes*)、葡萄球菌、马拉色菌和蠕形虫等是引起痤疮的一个重要因素。研究认为,痤疮丙酸杆菌大量繁殖产生的脂酶分解皮脂生成游离脂肪酸,残留于皮脂中。导致皮脂腺过多分泌,排泄不畅,同时趋化炎症细胞和介质,诱导产生IgG抗体及激活补体等,引起毛囊炎症,使毛囊漏斗部角化增强形成痤疮。

[0004] 目前临床上对于I、II级寻常痤疮采用单独或联合抗生素、维A酸类、过氧苯甲酰局部外用治疗。然而,近年来有关痤疮丙酸杆菌耐药导致痤疮治疗失败的报道逐年增多,其发生率取决于皮肤表面敏感菌的密度、突变率、抗生素使用疗程和用药依从性等。痤疮丙酸杆菌最常见的是对红霉素耐药,耐药性取决于红霉素A、B和C的基因存在,这些基因保护新合成的核糖体免受大环内脂类药物的影响,其产生机制是该23SrRNA肽酰基转移酶基因发生点突变。此外,维A酸类与过氧苯甲酰也是最常用的治疗寻常痤疮的药物之一。维A酸显著药理活性之一是诱导表皮增生,常用于毛囊角化过度寻常痤疮,但是日光可加重维A酸对皮肤的刺激导致维A酸分解,动物实验提示维A酸可增强紫外线致癌能力,因此维A酸宜在晚间及睡前应用,治疗过程应避免日晒,或采用遮光措施。过氧苯甲酰是一种氧化剂,外用于皮肤后能缓慢释放出新生态氧杀灭痤疮丙酸杆菌,但是却伴有皮肤干燥和脱屑作用,并且联用维A酸或含酒精的制剂药用化妆品等会增加刺激或干燥作用。然而,目前临床上对于II级寻常痤疮患者,通常采用过氧苯甲酰、维A酸早晚序贯联合治疗方案。虽然该联合疗效显著,但对于患者由于给药频次高、程序复杂,大多数患者未能严格遵循医嘱导致治疗不彻底或者中途放弃治疗。因此,目前市场上对于治疗痤疮的抗生素及化学合成制剂虽然疗效显著,但也存在明显不足。

[0005] 近年来许多学者研究发现多种植物精油及中草药复方可应用于治疗痤疮、酒糟鼻、美容祛斑精油等,其疗效由于抗生素,且不易产生耐药性。也多见将抗生素(如甲硝唑)与中草药或者植物精油等配伍以提高疗效。展现出纯天然植物成分在治疗寻常痤疮领域具有广阔的市场开发价值。

[0006] 然而,多数植物精油自身具有促渗透作用,一方面在促进活性成分渗透入皮肤的

同时也有可能因渗透速率过快而导致局部敏感性皮肤产生刺激反应。对于目前市场上的纯天然植物精油成分产品并未很好的解决药物透皮动力学性质这一问题。

[0007] 针对上述问题,对于寻常痤疮治疗领域,开发一种能温和、长效释放纯天然活性成分的缓释制剂,具有极大的临床应用价值。

[0008]

## 发明内容

[0009] 本发明的首要目的在于克服现有寻常痤疮药物的缺点与不足,提供一种具有组分新颖的,疗效温和的天然精油。

[0010] 本发明的另一目的在于克服通常精油成分因自身促渗透作用所带来的皮肤刺激性。通过优选乳膏剂基质,改良制剂工艺,提供一种具有皮肤无刺激,使用方便的缓释痤疮乳膏剂及其制备方法。

[0011] 为实现上述发明目的,本发明采取了以下技术方案:

本发明中植物新品种龙脑香樟树(品种权号:20150137)的精油起到了至关重要的作用,通过体外抑活性菌与家兔耳痤疮模型试验比较添加龙脑香樟精油组与不添加组的活性差异,龙脑香樟精油组具有显著活性;并且通过毒理学评估本植物精油缓释乳膏剂,未见其皮肤刺激性反应和皮肤过敏反应。

[0012] 本发明还提供了一种或多种药学上可接受的载体。

[0013] 术语“药学上可接受的载体”,指与活性成分共同给药的、且有利于活性成分给药的物质,包括但不限于国家食品药品监督管理局许可的可接受的用于皮肤、口腔、眼部、鼻腔、足部、指甲、阴道等特定体表部位的给药形式。例如包括乳膏剂、凝胶剂、涂剂、搽剂、喷雾剂、栓剂,滴丸剂等。

[0014] 优选的,给药载体是乳膏剂、凝胶剂、栓剂。

[0015] 本发明还提供了一种如前所述的龙脑香樟精油或其制备的给药制剂在抗(抑)菌活性上的应用。

[0016] 优选的,制药或日化用途为抗细菌、真菌,包括抗金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、痤疮丙酸杆菌、白色念珠菌、布鲁菌、炭疽杆菌、麻风杆菌、结核分枝杆菌、白喉棒状杆菌、痢疾杆菌、淋病奈瑟氏菌、伤寒沙门菌、霍乱弧菌。

[0017] 更优选的,制药或日化用途为抗细菌、真菌,包括金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、痤疮丙酸杆菌、白色念珠菌。

[0018] 用于痤疮缓释乳膏剂的原料,按照质量百分比包括:1%~4%龙脑香樟精油,和适量的乳膏剂基质、保湿剂、乳化剂、稳定剂。

[0019] 本发明痤疮缓释乳膏剂基质包括但不限于烃类、类脂类,例如液体石蜡、凡士林、硅酮、羊毛脂、蜂蜡等。保湿剂包括但不限于蓖麻油、甘油、丙二醇、山梨醇等。乳化剂包括但不限于PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、单异硬脂酸甘油酯、吐温-80等。稳定剂包括但不限于EDTA-2Na、亚硫酸氢钠、叔丁基对羟基茴香醚(BHA)等。

[0020] 优选的,所述乳膏剂是由1%~4%龙脑香樟精油、15%~22%蓖麻油、10%~16%液体石蜡、2%~5% PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、2%~5%单异硬脂酸甘油酯、0.05%~0.08%EDTA-2Na、10%~30%甘油、40%~60%水。

[0021] 优选的,所述乳膏剂是由1%~3%龙脑香樟精油、15%~20%蓖麻油、13%~16%液体石蜡、2%~3% PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、2%~3%单异硬脂酸甘油酯、0.05%EDTA-2Na、10%~20%甘油、45%~55%水。

[0022] 更优选的,所述乳膏剂是由2%龙脑香樟精油、20%蓖麻油、15%液体石蜡、3% PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、3%单异硬脂酸甘油酯、0.05%EDTA-2Na、10%甘油、45%~50%水。

[0023] 制备上述缓释软膏的方法、包括以下步骤:

(1)按重量比称取处方量的纯化水、EDTA -2Na、甘油混合搅拌均匀为水相;

(2)按重量比称取处方量的脑香樟精油、蓖麻油、液体石蜡、PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、单异硬脂酸甘油酯混合搅拌均匀为油相;

(3)将步骤(1)与步骤(2)制备样品分别置于适宜容器中,加热溶解或分散,并保持温度在70°C~80°C间;

(4)将步骤(2)制备油相缓慢加入步骤(1)制备水相中,开始搅拌速度为1000 r/min,20min后,调整为500 r/min,搅拌至室温即可。

[0024] 本发明与现有技术相比,提供一种新颖的治疗寻常痤疮的天然植物组分,克服抗生素耐药、维A酸与过氧苯甲酰存在的不良反应与使用不便等弊端。同时,为克服精油本身因促渗透作用所带来的皮肤刺激性,通过优选乳膏剂基质,改良制剂工艺,增加乳滴表面膜的牢固性,延缓精油成分释放,减小皮肤无刺激,减少患者使用频次使用方便。

[0025]

## 附图说明

[0026] 图1是龙脑香樟精油缓释乳膏剂与普通乳膏剂体外累积释放度比较曲线图

图2是家兔耳痤疮模型试验病理H&E染色图

## 具体实施方式

[0027] 以下结合具体实施例来进一步描述本发明,本发明的优点和特点将会随着描述而更为清楚。但实施例仅是范例性的,并不对本发明的范围构成任何限制。本领域技术人员应理解的是,在不偏离本发明的精神和范围下可以对本发明技术方案的细节和形式进行修改或替换,但这些修改和替换均落入本发明的保护范围内。

[0028] 本发明提供实施例中涉及的精油原料采用龙脑香樟树枝叶经过水蒸气蒸馏获得的龙脑香樟精油(浙江天树龙脑林业科技开发有限公司,批号:20160106)。对于龙脑香樟树与江西省吉安市林业科学研究所培育的龙脑樟同属于樟属(*Cinnamomum camphora* (L.) Presl.)五个化学型之一的龙脑型。该精油经北京大学中医药现代研究中心检测包括60个成分,具体的包括:天然龙脑(25.44%)、樟脑(13.84%)、石竹烯(7.24%)、 $\alpha$ -石竹烯(3.89%)、石竹烯氧化物(3.89%)、柠檬油精(4.23%)、 $\beta$ -蒎烯(1.84%)等。除另有说明,本发明使用的原料都是市售原料,无需进一步纯化可以直接使用。

[0029] 本发明提供实施例中涉及的仪器设备包括但不限于:JJ-1型磁力电动搅拌器(江苏金坛市医疗仪器厂),MiliQ型纯水仪(美国MiliQ公司),Trace DSQ型GC/MS(美国Finnigan公司),安捷伦DB-5MS气相毛细管色谱柱(30m\*0.25 $\mu$ m\*0.25 $\mu$ m),Anthos2010酶标仪(Lattec Instruments Australia),YB-P6智能透皮试验仪(天津鑫洲科技有限公司)。

[0030] 本发明提供实施例中涉及的实验动物包括但不限于：新西兰家兔(购自浙江省实验动物中心,实验动物质量许可证号:SCXK(苏)2013-0055),DHA系豚鼠(购自无锡市惠山江南实验动物牧场,实验动物质量许可证号:SCXK(苏)2009-0005)。

[0031] 根据前期抑菌活性、制剂外观等预实验确定龙脑香樟精油有效浓度范围,缓释乳膏的辅料种类。确定基本辅料种类后,采用正交试验法分别对其处方辅料用量(L<sub>18</sub>3<sup>7</sup>)方案及制备工艺(L<sub>9</sub>3<sup>4</sup>)方案进行优选考察,试验各样品均按照中国药典2015年版对相关理化性状项目进行检验为合格,均无粗糙感及颜色不均匀、结块、油水分离等现象。正交试验因素水平见表1,表2。

[0032] 表1 缓释乳膏剂处方辅料组成7因素3水平表

序号	1	2	3	4	5	6	7
因素	蓖麻油	液体石蜡	PEG-30二聚羟基硬脂酸酯	单异硬脂酸甘油酯	EDTA-2Na	甘油	水
水平1	10	10	2.5	2.5	0.05	10	45
水平2	15	15	3.0	3.0	0.08	15	50
水平3	20	20	3.5	3.5	0.10	20	55

表2 缓释乳膏剂制备工艺3因素3水平表

序号	1	2	3
因素	A/℃ 乳化温度	B/min 乳化时间	C/ (r/min) 搅拌速度
水平1	60	10	变速
水平2	70	20	500
水平3	80	30	1000

注:变速先以1000r/min搅拌20min,然后调整为500r/min搅拌

#### 实施例1 龙脑香樟精油缓释乳膏剂的制备

依据正交试验影响因素,对所述乳膏处方进一步优化,由以下原料按重量比组成:龙脑香樟精油2g,蓖麻油20g,液体石蜡15g,PEG-30二聚羟基硬脂酸酯3g,单异硬脂酸甘油酯3g,EDTA -2Na 0.05g,甘油10g,纯化水46.95g。

[0033] 制备上述乳膏,采用水中乳化法。称取处方量的纯化水、EDTA -2Na、甘油为水相,另取处方量龙脑香樟精油、蓖麻油、液体石蜡、PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、单异硬脂酸甘油酯为油相,将两者分别置于适宜容器中,加热溶解或分散,并保持温度80℃左右,将油相缓慢加入水油相中,开始时搅拌速度为1000 r/min,20min后,调整为500 r/min,搅拌至室温即可。

#### [0034] 实施例2 龙脑香樟精油缓释乳膏剂的制备

依据正交试验影响因素,对所述乳膏处方进一步优化,由以下原料按重量比组成:龙脑香樟精油4g,蓖麻油18g,液体石蜡15g,PEG-30二聚羟基硬脂酸酯3g,单异硬脂酸甘油酯3g,EDTA -2Na 0.05g,甘油10g,纯化水48.95g。

[0035] 制备上述乳膏,采用水中乳化法。称取处方量的纯化水、EDTA -2Na、甘油为水相,

另取处方量龙脑香樟精油、蓖麻油、液体石蜡、PEG-30二聚羟基硬脂酸酯、单异硬脂酸甘油酯为油相,将两者分别置于适宜容器中,加热溶解或分散,并保持温度70℃左右,将油相缓慢加入水相中,开始时搅拌速度为1000 r/min,20min后,调整为500 r/min,搅拌至室温即可。

#### [0036] 实施例3 缓释乳膏剂体外释放度的考察

方法:取健康小鼠,用8%Na<sub>2</sub>S溶液去毛,断颈处死,取背部皮肤,刮去皮下脂肪组织和粘连物,蒸馏水冲洗干净,用生理盐水浸泡30min备用。采用体外智能透皮试验仪,将备用鼠皮固定在扩散池的供给室和接受室之间,使角质层面向供给室,精密称取0.1g样品置于供给室,涂匀,并与皮肤接触,恒温于37℃,100 r/min恒速磁力搅拌,分别于1h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h、72h取样1ml,同时补充等体积接收液。样品通过GC/MS测定龙脑香樟中代表物质天然右旋龙脑的含量,按以下计算单位面积累积释放度(Q)。取实施例1制备的3批龙脑香樟精油缓释乳膏剂和3批普通乳膏剂样品测定体外释放度,绘制体外累积释放度曲线,见附图1。

[0037] 公式:

$$Q = \left( \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V + C_n \times V_0 \right) / S$$

C<sub>n</sub>为第n个取样点质量浓度,C<sub>i</sub>为第i个取样点质量浓度,V<sub>0</sub>接收池体积,V为取样体积,S为扩散面积。

[0038] 结果:本实施例1制备的龙脑香樟缓释乳膏剂缓释效果明显,质量稳定,较普通乳膏剂具有明显的缓释作用。

[0039]

#### 实施例4 体外抑菌活性试验

方法:具体参照NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory)。将金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、大肠杆菌(ATCC 11229)接种于MH培养基37℃培养24h,痤疮丙酸杆菌(ATCC 11827)接种于BHI培养基37℃厌氧培养48h,白色念珠菌(ATCC 10231)接种于沙氏琼脂培养基37℃培育72h。试验前调整菌液浓度为0.5个麦氏浊度(约1.5×10<sup>8</sup> CFU/ml),用培养基稀释菌液,加入96孔板中细菌终浓度为1×10<sup>8</sup> CFU/ml。取本发明实施例1含龙脑香樟精油2%缓释乳膏剂融化后,至于无菌培养皿中备用。样品浓度按照二倍比稀释,共12个稀释浓度,红霉素(阳性药)1:2稀释后浓度为17.28μg/ml,每个浓度3个复孔。通过微量肉汤稀释法测定最小抑菌浓度(MIC),定义在加入样品后通过Anthos-2010酶标仪OD600nm检测培养96孔板内无细菌生产(浊度)的最低药物浓度。最小杀菌浓度(MBC):取10μl无菌生长(浊度)的液体培养基接种于琼脂培养板,培养仍无菌生长的最低药物浓度。

[0040] 结果:本实施例1制备的龙脑香樟缓释乳膏剂对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌及痤疮丙酸杆菌抑菌活性,见表3。说明本发明缓释乳膏剂在体外具有明确的抑制痤疮相关菌(痤疮丙酸杆菌、金黄色葡萄球菌等)的作用。

[0041] 表3 龙脑香樟精油缓释乳膏剂对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、痤疮丙酸杆菌及白色念珠菌的抑菌活性

组别	缓释乳膏剂		红霉素(阳性对照)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
金黄色葡萄球菌	12.2 $\mu$ g/ml	24.4 $\mu$ g/ml	0.0625 $\mu$ g/ml	0.125 $\mu$ g/ml
大肠杆菌	6.1 $\mu$ g/ml	12.2 $\mu$ g/ml	0.125 $\mu$ g/ml	0.25 $\mu$ g/ml
痤疮丙酸杆菌	6.1 $\mu$ g/ml	12.2 $\mu$ g/ml	0.0625 $\mu$ g/ml	0.125 $\mu$ g/ml
白色念珠菌	12.2 $\mu$ g/ml	24.4 $\mu$ g/ml	0.125 $\mu$ g/ml	0.125 $\mu$ g/ml

#### 实施例5 家兔耳痤疮模型药效学试验

方法:16只家兔,随机留取4只作为空白对照组,其余家兔于两耳内侧面耳管开口处3 cm $\times$ 3 cm范围每日涂抹2%浓煤焦油溶液其余家兔于两耳内侧面耳管开口处3 cm $\times$ 3 cm范围每日涂抹2%浓煤焦油溶液,连续14d,建立家兔痤疮模型,将造模家兔随机分模型对照组、维A酸乳膏阳性对照组及含龙脑香樟精油2%缓释乳膏剂受试品组,每日局部涂抹给予相应药物2次,每次0.5ml,连续14天,末次给药后1h处死家兔,Elisa法测定兔耳组织前列腺素(PGE2)含量,另进行组织病理学检查,按文献标准进行病变评级。

[0042] 结果:本实施例1制备的龙脑香樟缓释乳膏剂连续使用14天后家兔耳片PGE2含量有降低趋势,见表4。各组取材切片后,对应病理组织学判定标准进行评判,其中模型对照组毛囊面积轻度扩大,漏斗部可见中等量的角化物质,皮脂腺轻度增生;缓释乳膏剂给药组部分样本毛囊轻度角化,皮脂腺轻度增生或无明显增生;阳性对照组维A酸乳膏部分样本毛囊轻度角化,皮脂腺无明显增生;空白对照组病理切片显示无任何痤疮样病变。病理H&E染色见附图2。缓释乳膏剂组痤疮病变分级较模型对照组有明显差异( $p < 0.05$ ),见表5。提示本发明制备缓释乳膏剂对该模型所致痤疮有明显的改善作用。

[0043] 表4 龙脑香樟精油缓释乳膏剂对煤焦油致痤疮模型家兔耳片PGE2含量的影响( $X \pm SD, n=4$ )

组别	剂量(ml/只)	PGE2含量(ng/L)
空白对照	—	116.12 $\pm$ 14.6
模型对照	—	168.29 $\pm$ 44.3*
维A酸乳膏	0.5	127.56 $\pm$ 23.3
缓释乳膏剂	0.5	127.21 $\pm$ 38.7

注:\* $P < 0.05$ (与空白对照组比较)

表5 龙脑香樟精油缓释乳膏剂对煤焦油致痤疮模型家兔耳片病理分级的影响

组别	剂量 (ml/只)	疼痛病变镜下分级				Ridit 值	P 值
		-	+	++	+++		
空白对照	—	8	0	0	0	—	—
模型对照	—	0	4	2	2	—	—
维A酸乳膏	0.5	6	2	0	0	0.0625	<0.05*
缓释乳膏剂	0.5	8	0	0	0	0.0000	<0.05*

注：\* $p < 0.05$  (与模型对照组比较)

#### 实施例6 毒理学试验

由于本发明制剂为植物新品种龙脑香樟树枝叶提取精油成分制备而成的新型缓释制剂。在产品研制过程中,发明人对其进行了初步的毒理学安全评估,目的在于观察动物皮肤多次接触受试物后可能产生的刺激作用或腐蚀作用及强度,以及可能的皮肤过敏反应。

##### [0044] (1) 皮肤刺激性试验(多次)

方法:具体参照《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》2014年版。健康新西兰家兔4只,体重2.4~2.5kg,每只家兔背部沿脊柱两侧脱毛共4块皮肤(每块大小约3cm<sup>2</sup>~3cm<sup>2</sup>);24小时后,将每只家兔前部两块脱毛皮肤消毒后用针头划破(呈“#”字形),至渗血为度,作为破损皮肤,后部两块作为完整皮肤。取实施例1含龙脑香樟精油2%浓度缓释乳膏剂直接涂在左侧两块皮肤上,然后用二层纱布(2.5cm×2.5cm)和一层玻璃纸覆盖,再用无刺激性胶布和绷带加以固定。另一侧皮肤涂等量生理盐水作为对照。4小时后温水洗去药物,每日1次,连续14天,末次给药贴敷4小时后温水洗去药物。每次涂皮后24h观察结果并记录皮肤反应情况,按《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》分别进行“皮肤刺激反应评分”和“皮肤刺激强度分级”。

[0045] 结果:本实施例1制备的龙脑香樟缓释乳膏剂对兔多次皮肤刺激试验每天每只动物积分均值为0,见表6。依据《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》皮肤刺激强度分级,属于无刺激性。

[0046] 表6 龙脑香樟精油缓释乳膏剂兔多次皮肤刺激试验评分结果(平均分)

涂皮 天数	动物 只数	刺激反应积分					
		缓释乳膏剂			生理盐水(阴性对照)		
		红斑	水肿	总积分	红斑	水肿	总积分
1	4	0	0	0	0	0	0
2	4	0	0	0	0	0	0
3	4	0	0	0	0	0	0
4	4	0	0	0	0	0	0
5	4	0	0	0	0	0	0
6	4	0	0	0	0	0	0
7	4	0	0	0	0	0	0
8	4	0	0	0	0	0	0
9	4	0	0	0	0	0	0
10	4	0	0	0	0	0	0
11	4	0	0	0	0	0	0
12	4	0	0	0	0	0	0
13	4	0	0	0	0	0	0
14	4	0	0	0	0	0	0
每天每只动物积分均值		0			0		

## (2) 皮肤过敏性性试验

方法:具体参照《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》2014年版。健康DHA系豚鼠30只,雌雄各半,体重250~300g,背部脊柱两侧各脱毛约3~3cm<sup>2</sup>,24小时后,随机分为实施例1含龙脑香樟精油2%浓度缓释乳膏受试品组、阴性(生理盐水)对照组以及阳性(2,4-二硝基氯苯)对照组,每组10只。分别在左侧脱毛区涂抹相应药物,阴性对照组涂抹生理盐水,阳性对照组涂抹1%的2,4-二硝基氯苯丙酮溶液,给药后6小时温水洗去受试物;第7天和第14天同样方法重复致敏给药各1次;末次给药后14天,分别在右侧脱毛区涂抹相应药物进行激发,阴性对照组用生理盐水,阳性对照组用0.1%的2,4-二硝基氯苯丙酮溶液;激发给药6小时后温水洗去受试物,立即观察,然后于24、48小时再次观察皮肤过敏反应情况,并按《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》评分标准进行过敏反应症状评分并计算平均值。

[0047] 结果:本实施1例制备的龙脑香樟缓释乳膏剂在不同时间对豚鼠皮肤过敏试验分值为0±0,见表7。依据《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》受试样品不产生过敏反应。

[0048] 表7 龙脑香樟精油缓释乳膏剂豚鼠过敏反应分值( $X \pm SD$   $n=10$ )

组别	激发给药后不同时间分值		
	6h	24h	48h
生理盐水 (阴性对照)	0±0	0±0	0±0
2,4-二硝基氯苯 (阳性对照)	2.6±0.8	1.6±0.8	0.4±0.7
缓释乳膏剂	0±0	0±0	0±0

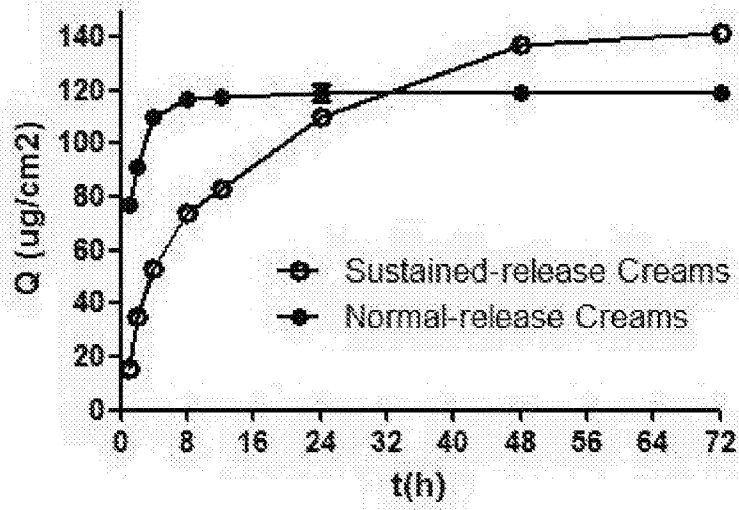


图1

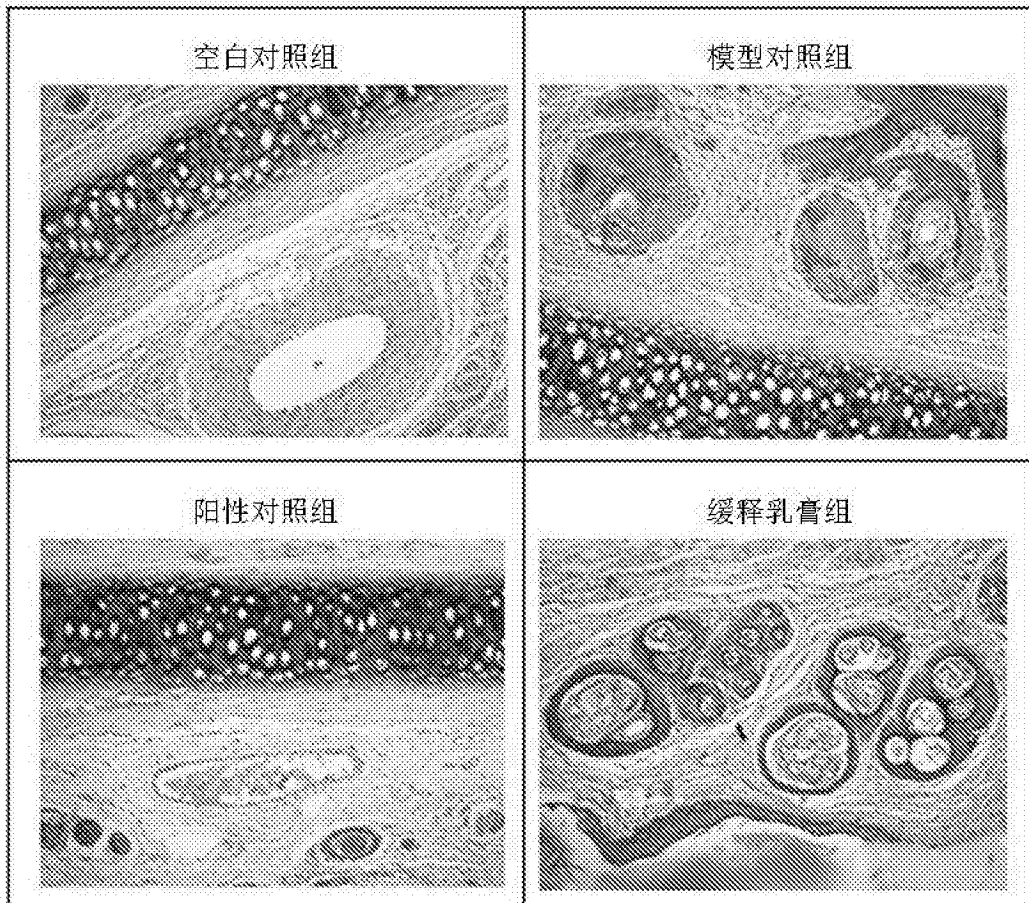


图2