加味双柏凝胶贴膏质量研究及安全性考察

周艳[1]，吴雪茹[1]，张力文[2]，陈土荣[1]，赵毛香[1]，黄晓冰[1]，钟碧莲[1]

1.广州中医药大学第三附属医院，广东 广州 510378；2.广州中医药大学第三临床医学院，广东 广州 510405

［摘要］**目的：**建立加味双柏凝胶贴膏中黄柏、冰片、大黄的薄层色谱法（TLC），对其质量稳定性进行考察，并初步评价加味双柏凝胶贴膏敷贴的用药安全性。**方法：**通过TLC对加味双柏凝胶贴膏处方中的黄柏、冰片、大黄进行鉴别，采用加速试验、长期试验和影响因素试验考察其稳定性，试验以新西兰兔为模型进行多次皮肤刺激试验，以Hartley豚鼠为模型进行主动皮肤过敏试验和豚鼠Buehler试验，观察凝胶贴膏的皮肤刺激作用和致敏作用。**结果：**TLC中色谱斑点清晰、特征明显且阴性对照无干扰。3批产品在长期试验和加速试验中均具有较好的稳定性，加味双柏凝胶贴膏对新西兰兔皮肤无刺激性，对豚鼠皮肤无过敏性。**结论：**建立的TLC可作为加味双柏凝胶贴膏的质量控制方法，加味双柏凝胶贴膏是一种较安全的新型外用制剂且制剂质量稳定可控。

［关键词］加味双柏凝胶贴膏；质量研究；薄层色谱法；安全性

［中图分类号］R284.1 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2023）05-0022-06

DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2023.05.005

Study on the Quality and Safety of Modified Shuangbai Gel Paster

ZHOU Yan，*WU Xueru*，*ZHANG Liwen*，*CHEN Turong*，
ZHAO Maoxiang，*HUANG Xiaobing*，*ZHONG Bilian*

Abstract： **Objective：** To establish a thin layer chromatography (TLC) identification method for Phellodendri Chinensis Cortex，Borneolum Syntheticum and Rhei Radix et Rhizoma in Modified Shuangbai Gel Paster，investigate their quality stability，and preliminarily evaluate the drug safety of Modified Shuangbai Gel Plaster. **Methods：** Phellodendri Chinensis Cortex，Borneolum Syntheticum and Rhei Radix et Rhizoma in the prescription of Modified Shuangbai Gel Paster were identified by TLC，and its stability was investigated by accelerated test，long-term test and influence factor test. The skin irritation test was conducted many times with New Zealand rabbits as the model，and the active skin allergy test and Buehler test were conducted with Hartley guinea pigs as the model to observe the skin irritation and sensitization of gel plaster. **Results：** The chromatographic spots in TLC were clear and characteristic，and the negative control had no interference. The three batches of products have good stability in the long-term test and accelerated test. The Modified Shuangbai Gel Paster has no irritation to the skin of New Zealand rabbits and no allergy to the skin of guinea pigs. **Conclusion：** The established TLC can be used as the quality control method for Modified Shuangbai Gel Paster，and Modified Shuangbai Gel Paster is a relatively safe new external preparation with stable and controllable quality.

Keywords： Modified Shuangbai Gel Paster；Quality study；Thin layer chromatography；Safety

［收稿日期］2022-06-15
［修回日期］2022-12-28
［基金项目］广东省中医药局科研立项资助项目（20201169，20211208，20211212）；广州市海珠区科技计划项目（海科工商信计2018-95）
［作者简介］周艳（1990-），女，主管药师，E-mail：853990104@qq.com。
［通信作者］吴雪茹（1968-），女，主任中药师，E-mail：wuxueruy@163.com。

凝胶贴膏系指原料药物与适宜的亲水性基质混匀后涂布于背衬材料上制成的贴膏剂[1]。与传统的膏药相比，它具有透气性良好、强力渗透、透皮吸收率高、保湿性好、可反复揭贴、不易沾染衣物、对皮肤无明显的致敏性和刺激性等明显优势[2]。加味双柏凝胶贴膏主要由大黄、黄柏、侧柏叶、薄荷、泽兰等药物组成，具有消肿止痛、活血祛瘀、通络散结、清热凉血的功效，用于治疗盆腔炎性包块、慢性盆腔炎、急性盆腔炎、乳腺增生、急性乳腺炎等疾病所致的肿胀疼痛。中药凝胶贴膏将传统中医中药理论与现代药物剂型有机结合，是具有中国特色的剂型，既可发挥中医药组方的优势，又可展示药物透皮吸收的特点[3]。本研究拟通过实验研究，采用薄层色谱法(TLC)鉴别加味双柏凝胶贴膏中的主药大黄、黄柏、冰片等成分，并对其进行稳定性考察，根据外用药皮肤试验的要求进行加味双柏凝胶贴膏的多次皮肤刺激试验、主动皮肤过敏试验和豚鼠Buehler试验研究，以期为其质量控制和临床安全用药提供实验依据，确保本制剂的临床疗效，保证用药安全。

1 材料

1.1 仪器 KS-150EI型超声波清洗机(宁波海曙科生超声波设备有限公司)；HWS-26型电热恒温水浴锅(广州市东太制药设备有限公司)；WFH-203B三用紫外分光仪(上海精科实业有限公司)；MSE125P-OCE-DU分析天平[斯科学仪器(北京)有限公司]；LHS-150SC型恒温恒湿培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)；MTC-250药品稳定性试验箱(上海三腾仪器有限公司)；CZY-G初粘性测试仪(济南兰光机电技术有限公司)；DHG-9140型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)；LRH-70生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)；MIR-150A霉菌培养箱(上海三腾仪器有限公司)；BOS-150干热灭菌器(上海三腾仪器有限公司)；YP3001N型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)；BS224S型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]；JSB6-02型电子天平(上海蒲春计量仪器有限公司)；YP1002N型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 试药 加味双柏凝胶贴膏(批号：190201、190202、190203)由广州中医药大学第三附属医院制剂室提供；大黄酸对照品(批号：110757-201607)、大黄对照药材(批号：120902-200609)、盐酸小檗碱对照品(批号：110713-200911)、黄柏对照药材(批号：121510-201606)、冰片对照品(批号：110743-200504)，均由中国药品生物制品检定所提供；2，4-二硝基氯苯(批号：20160801)；所用试剂均为分析纯；硅胶G薄层板由实验室自制。

1.3 动物 新西兰兔12只，雌雄各半，体质量2 096.4～2 330.6 g，合格证号：44411600008086，生产许可证号：SCXK(粤)2019-0035。Hartley豚鼠84只，雌雄各半，体质量316.0～450.0 g，合格证号：44411600008083、44411600008084，生产许可证号：SCXK(粤)2019-0035。均由广东省医学实验动物中心(三水基地)提供。

2 方法

2.1 质量标准研究 对处方中主要药味及有效成分药进行薄层鉴别研究，其中黄柏、冰片和大黄实验结果符合要求，将其纳入标准[4]；其余药味的鉴别结果存在阴性对照有干扰、拖尾严重或者没有斑点等情况，故未将其纳入标准。实验具体方法如下：①大黄薄层鉴别：取本品和缺大黄的凝胶贴膏各1贴，除去盖衬，剪碎，参考《中华人民共和国药典》[5]“大黄”项下的鉴别方法，并在其基础上将提取溶剂“乙醚”换成“甲基叔丁基醚”。②黄柏薄层鉴别：取本品和缺黄柏的凝胶贴膏各1贴，除去盖衬，剪碎，分别加水150 mL，超声提取1 h，取水溶液加浓氨试液调节pH值至9，用二氯甲烷振摇萃取2次，每次30 mL，合并二氯甲烷液，蒸干，残渣加甲醇2 mL使溶解，分别作为供试品溶液和阴性对照溶液[6]。另取黄柏对照药材0.1 g，加甲醇20 mL，超声处理40 min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇2 mL使溶解，作为对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品，加甲醇制成0.5 mg/mL的对照品溶液[7]。照TLC(通则0502)试验，吸取供试品溶液和阴性对照溶液各10 μL、对照药材溶液和对照品溶液各2 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以正丁醇-冰醋酸-水(7∶2∶2)为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯(365 nm)下检视。③冰片薄层鉴别：取本品和缺冰片的凝胶贴膏各1贴，除去盖衬，剪碎，分别加甲基叔丁基醚40 mL，振摇10 min，超声处理20 min，滤过，滤液挥干，残渣加乙醇2 mL使溶解，分别作为供试品溶液和阴性对照溶液。另取冰

片对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液，作为对照品溶液[8]。照 TLC（通则 0502）试验，吸取上述 2 种溶液各 5～10 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚（60～90 ℃）-乙酸乙酯-二氯甲烷（20∶1.5∶3）为展开剂[9]，展开，取出，晾干，喷以 10%磷钼酸乙醇溶液，在 105 ℃加热至斑点显色清晰。

2.2 稳定性考察

2.2.1 影响因素试验 根据初步拟定的质量标准和《中华人民共和国药典》通则 9000 指导原则，对加味双柏凝胶贴膏在去除外包装条件下进行影响因素试验（高温试验、高湿试验、强光照射试验），考察各试验条件下样品性状、鉴别、检查等各项指标的变化[10-11]。

2.2.2 加速试验 根据《中华人民共和国药典》通则 9000 指导原则，将 3 批加味双柏凝胶贴膏在温度（40±2）℃、相对湿度 75%±5%的条件下放置 6 个月，并于试验期间第 1 个月、2 个月、3 个月、6 个月末分别取样 1 次，按稳定性重点考察项目检测。

2.2.3 长期试验 根据《中华人民共和国药典》通则 9000 指导原则，将 3 批加味双柏凝胶贴膏分别于温度（30±2）℃、相对湿度 65%±5%的条件下放置 12 个月，分别于 0 个月、3 个月、6 个月、9 个月、12 个月取样按稳定性重点考察项目进行检测。

2.2.4 综合评价 取加味双柏凝胶贴膏置于加速试验条件下，以剥离强度、初黏力、持黏力、综合感官等为评价指标进行综合评分[11-12]。

2.3 安全性研究

2.3.1 多次皮肤刺激试验[13] 取健康新西兰兔 12 只，雌雄各半，单笼饲养。试验前 24 h，用剃毛刀将兔背部脊柱两侧的毛去除，每侧去毛区范围约为：3 cm×3 cm，作为试验和观察部位，不损伤动物表皮，随机分为 3 组，4 只/组，雌雄各半，分别为加味双柏凝胶贴膏赋形剂对照组、加味双柏凝胶贴膏低剂量组和加味双柏凝胶贴膏高剂量组，分别将各组凝胶贴膏剪裁成 2.5 cm×2.5 cm 大小片状用于皮肤给药。试验时，将剪裁好的加味双柏凝胶贴膏赋形剂（赋形剂对照组）、加味双柏凝胶贴膏（低剂量组）和加味双柏凝胶贴膏（高剂量组）敷贴于相应组别动物的试验区皮肤进行染毒，各组均以 0.5 mL 氯化钠注射液滴加于双层医用纱布后敷贴于对照区皮肤进行染毒，敷贴后以一层玻璃纸覆盖，再以无刺激医用胶布包扎固定。每次敷贴时间为 4 h，试验结束后除去试验材料。每天敷贴 1 次，连续敷贴 14 d。每次除药后 1 h 及每次给药前，末次除药后 1 h、24 h、48 h 和 72 h 观察皮肤局部反应，并按“皮肤刺激反应评分标准”进行刺激反应评分：刺激平均分值=（红斑形成总分+水肿形成总分）/动物总数，按“皮肤刺激强度评价标准”进行刺激强度评价。皮肤刺激强度评价标准：总分为 0～8 分，其中 0～0.49 分为无刺激性；0.5～2.99 分为轻度刺激性；3.0～5.99 分为中度刺激性；6.0～8.00 为重度刺激性。

2.3.2 主动皮肤过敏试验[13] 取 Hartley 豚鼠 24 只，雌雄各半，随机分为 4 组，6 只/组，雌雄各半，分别为加味双柏凝胶贴膏赋形剂对照组、阳性对照组、加味双柏凝胶贴膏低剂量组和加味双柏凝胶贴膏高剂量组，分别将各组凝胶贴膏剪裁成 2.5 cm×2.5 cm 大小片状用于皮肤给药。将 2,4-二硝基氯苯用 80%乙醇分别配成 1.0%诱导浓度和 0.1%激发浓度。

诱导阶段：每次诱导前 24 h，使用剃毛刀剃除各 Hartley 豚鼠左侧腹部被毛，作为致敏区域，剃毛区面积约为 3 cm×3 cm。将 2.5 cm×2.5 cm 供试品（低剂量、高剂量组）/加味双柏凝胶贴膏（赋形剂对照组）敷贴在相对应组别的动物左侧去毛区，用一层玻璃纸覆盖，再以无刺激胶布固定 6 h，染毒结束后除去敷贴物，以水清洁皮肤。第 7 天和第 14 天以同样方法重复一次。阳性对照组动物使用 0.5 mL 1.0%的 2，4-二硝基氯苯溶液滴加在双层 2.5 cm×2.5 cm 的医用纱布上，敷贴左侧皮肤进行诱导，操作方法同上。

激发阶段：末次诱导后 14 d 进行激发，激发前 24 h，使用剃毛刀剃除各 Hartley 豚鼠右侧腹部被毛，作为激发区域，剃毛区面积约为 3 cm×3 cm。将 2.5 cm×2.5 cm 供试品（低剂量、高剂量组）/加味双柏凝胶贴膏（赋形剂对照组）敷贴在相对应组别的动物激发区皮肤进行激发，阳性对照组动物用 0.5 mL 0.1%的 2，4-二硝基氯苯溶液滴加在双层 2.5 cm×2.5 cm 的医用纱布上，敷贴于激发区皮肤进行激发，激发操作方法同诱导方法。除去敷贴片后 24 h、48 h 和 72 h 观察各组动物激发部位皮肤反应，同时观察动物是否有哮喘、站立不稳或休克等全身过敏反应。参照“皮肤过敏反应程度的评分标准”对每一激发部位和每一观察时间皮肤红斑和水肿反应进行

评分。在任一观察时间点，豚鼠皮肤过敏反应评分≥1分记为阳性反应，以出现阳性反应的动物数除以该组动物总数得过敏率：致敏发生率=阳性反应动物例数/动物总数×100%，按“皮肤致敏性评价标准”进行致敏性评价。皮肤致敏性评价标准为：致敏发生率为0～10%，无致敏性；致敏发生率为11%～30%，轻度致敏性；致敏发生率为31%～60%，中度致敏性；致敏发生率为61%～80%，高度致敏性；致敏发生率为81%～100%，极度致敏性。

2.3.3　豚鼠Buehler试验[13]　取Hartley豚鼠60只，雌雄各半，随机分为4组，分别为加味双柏凝胶贴膏赋形剂对照组和阳性对照组，10只/组，雌雄各半；加味双柏凝胶贴膏低剂量组和加味双柏凝胶贴膏高剂量组，20只/组，雌雄各半。分别将各组凝胶贴膏剪裁成2.5 cm×2.5 cm大小片状用于皮肤给药。将2,4-二硝基氯苯用80%乙醇分别配成1.0%诱导浓度和0.1%激发浓度。

诱导阶段：操作同“2.3.2”项下诱导方法。

激发阶段：操作同“2.3.2”项下激发方法。在致敏后1 h和24 h及激发后24 h和48 h观察皮肤红斑、水肿和其他异常反应，同时测定开始和结束时的动物体质量。按“皮肤反应评分标准”对每一激发部位和每一观察时间皮肤红斑和水肿反应进行评分。在任一观察时间点，豚鼠皮肤过敏反应评分≥1分记为阳性反应，以出现阳性反应的动物数除以该组动物总数得过敏率：致敏率=阳性反应动物例数/动物总数×100%，按“致敏强度”进行致敏性评价。致敏强度分为：致敏率为0%～8%，分级为Ⅰ，弱致敏；致敏率为9%～28%，分级为Ⅱ，轻度致敏；致敏率为29%～64%，分级为Ⅲ，中度致敏；致敏率为65%～80%，分级为Ⅳ，强致敏；致敏率为81%～100%，分级为Ⅴ，极强致敏。

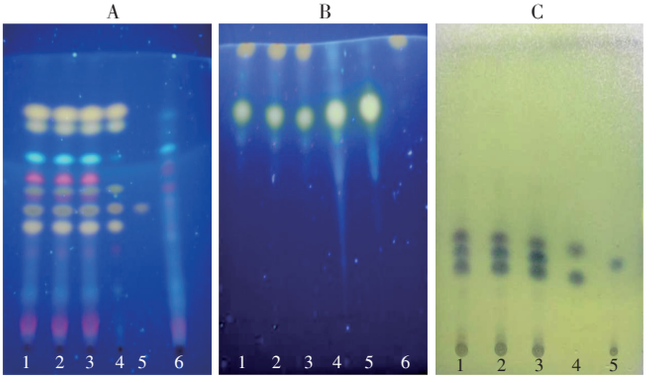
3　结果

3.1　质量标准研究

3.1.1　大黄薄层鉴别　见图1A。供试品色谱中，在与对照品色谱和对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点，且阴性对照无干扰。

3.1.2　黄柏薄层鉴别　见图1B。供试品色谱中，在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点，阴性对照无干扰。

3.1.3　冰片薄层鉴别　见图1C。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点，阴性对照无干扰。



注：A. 大黄TLC鉴别图（1～3为供试品，4. 大黄对照药材，5. 大黄酸，6. 大黄阴性对照）；B. 黄柏TLC鉴别图（1～3为供试品，4. 黄柏对照药材，5. 盐酸小檗碱，6. 黄柏阴性对照）；C. 冰片TLC鉴别图（1～3为供试品，4. 冰片对照品，5. 冰片阴性对照）

图1　大黄、黄柏、冰片TLC鉴别图

3.2　稳定性考察结果

3.2.1　影响因素试验　加味双柏凝胶贴膏在去除外包装条件下，通过影响因素试验，高温60 ℃条件下变化明显，放置10 d后冰片鉴别呈阴性，故继续进行高温40 ℃试验，结果在该条件下各检查项目均符合规定；高湿(90%±5%)条件下加味双柏凝胶贴膏增重超过5%，故继续进行高湿(75%±5%)试验，结果在该条件下加味双柏凝胶贴膏各检查项目均符合规定；强光照射条件下放置10 d后加味双柏凝胶贴膏基本稳定，各检查项目均符合规定。故加味双柏凝胶贴膏应注意控制生产和贮存的条件，避免高温、高湿，应置于阴凉干燥处密闭贮藏。

3.2.2　加速试验　见表1。加味双柏凝胶贴膏在加速试验中样品性状、鉴别、微生物限度、含膏量、黏附性及赋形性等各项指标均无明显变化，质量稳定。

3.2.3　长期试验　见表2。加味双柏凝胶贴膏在长期试验中样品性状、鉴别、微生物限度、含膏量、黏附性及赋形性等各项指标均无明显变化，质量稳定。

3.2.4　综合评价　见表3。在各试验阶段中加味双柏凝胶贴膏的剥离强度、初黏力、持黏力、综合感官的总分都在95分(满分100)以上，综合评分总分

优良，符合制剂的质量要求。

表1　3批加味双柏凝胶贴膏加速试验

批号	时间（月）	性状	鉴别			含膏量（g）	黏附力	赋形性	微生物限度
			大黄	黄柏	冰片				
200701	1	★	◆	◆	◆	17.398	◎	◎	◎
	2	★	◆	◆	◆	17.121	◎	◎	◎
	3	★	◆	◆	◆	17.224	◎	◎	◎
	6	★	◆	◆	◆	17.412	◎	◎	◎
200702	1	★	◆	◆	◆	17.323	◎	◎	◎
	2	★	◆	◆	◆	17.424	◎	◎	◎
	3	★	◆	◆	◆	17.472	◎	◎	◎
	6	★	◆	◆	◆	17.174	◎	◎	◎
200703	1	★	◆	◆	◆	17.487	◎	◎	◎
	2	★	◆	◆	◆	17.618	◎	◎	◎
	3	★	◆	◆	◆	17.223	◎	◎	◎
	6	★	◆	◆	◆	17.722	◎	◎	◎

注：★：棕色至棕褐色的凝胶贴膏，气香；◆：显正反应；◎：符合规定。

表2　3批加味双柏凝胶贴膏长期试验

批号	时间（月）	性状	鉴别			含膏量（g）	黏附力	赋形性	微生物限度
			大黄	黄柏	冰片				
200701	0	★	◆	◆	◆	17.113	◎	◎	◎
	3	★	◆	◆	◆	17.208	◎	◎	◎
	6	★	◆	◆	◆	17.424	◎	◎	◎
	9	★	◆	◆	◆	17.309	◎	◎	◎
	12	★	◆	◆	◆	17.234	◎	◎	◎
200702	0	★	◆	◆	◆	17.452	◎	◎	◎
	3	★	◆	◆	◆	17.443	◎	◎	◎
	6	★	◆	◆	◆	17.356	◎	◎	◎
	9	★	◆	◆	◆	17.287	◎	◎	◎
	12	★	◆	◆	◆	17.516	◎	◎	◎
200703	0	★	◆	◆	◆	17.208	◎	◎	◎
	3	★	◆	◆	◆	17.248	◎	◎	◎
	6	★	◆	◆	◆	17.596	◎	◎	◎
	9	★	◆	◆	◆	17.358	◎	◎	◎
	12	★	◆	◆	◆	17.622	◎	◎	◎

注：★：棕色至棕褐色的凝胶贴膏，气香；◆：显正反应；◎：符合规定。

3.3　安全性研究

3.3.1　多次皮肤刺激试验　多次接触染毒，加味双柏凝胶贴膏赋形剂对照组、加味双柏凝胶贴膏低剂量组和加味双柏凝胶贴膏高剂量组的各新西兰兔试验区和对照区皮肤均未见刺激反应，新西兰兔多次皮肤刺激积分均值均为0，表明完整皮肤多次给予加味双柏凝胶贴膏对新西兰兔皮肤无刺激性。

表3　3批加味双柏凝胶贴膏综合评价　分

批号	时间(月)	初黏力	持黏力	综合感官	剥离强度	总分
200701	0	20	20	40	20	100
	1	20	20	40	20	100
	2	18	20	40	20	98
	3	16	20	40	20	96
	6	18	20	40	20	98
200702	0	18	20	40	20	98
	1	18	20	40	20	98
	2	20	20	40	20	100
	3	16	20	40	20	96
	6	18	20	40	20	98
200703	0	18	20	40	20	98
	1	20	20	40	20	100
	2	20	20	40	20	100
	3	18	20	40	20	98
	6	20	20	40	20	100

3.3.2　主动皮肤过敏试验　阳性对照组豚鼠激发后均未见哮喘、站立不稳、休克等过敏症状，激发部位皮肤均出现红斑和水肿反应，阳性组致敏发生率为100%，致敏性评价为极度致敏性。加味双柏凝胶贴膏赋形剂对照组、加味双柏凝胶贴膏低剂量组和加味双柏凝胶贴膏高剂量组豚鼠激发后均未见哮喘、站立不稳、休克等过敏症状，激发后各观察时间点激发部位皮肤均未见过敏反应，加味双柏凝胶贴膏赋形剂对照组和供试品组致敏发生率均为0，致敏性评价为无致敏性，表明加味双柏凝胶贴膏对豚鼠无致敏性。

3.3.3　豚鼠 Buehler 试验　皮肤过敏反应：阳性对照组豚鼠在诱导接触后1 h和24 h及激发后24 h和48 h，诱导部位和激发部位皮肤均出现红斑和水肿反应，阳性组致敏发生率为100%，致敏分级为Ⅴ级，致敏性评价为极强致敏。加味双柏凝胶贴膏赋形剂对照组、加味双柏凝胶贴膏低剂量组和加味双柏凝胶贴膏高剂量组豚鼠在致敏期间和激发后24 h和48 h，诱导部位和激发部位皮肤均未见过敏反应，加味双柏凝胶贴膏赋形剂对照组和供试品组致敏发生率均为0，皮肤致敏分级均为Ⅰ级，致敏评价均为弱

致敏，表明加味双柏凝胶膏对豚鼠皮肤为弱致敏。

4 讨论

本研究通过 TLC 对加味双柏凝胶贴膏进行鉴别，纳入标准的药味大黄、黄柏、冰片的 TLC 色谱斑点清晰，分离度良好，阴性对照无干扰[14]。本研究还对上述药味薄层鉴别方法进行了不同条件下（手铺硅胶薄层板和预制硅胶薄层板、4 ℃和 24 ℃、32%和88%）的耐受性考察，结果表明，各鉴别图谱中斑点均清晰明显，分离度好，TLC 鉴别对温湿度、薄层板均无特殊要求，该方法重现性好且专属性高，可作为加味双柏凝胶贴膏的质量控制方法[15]。

在质量标准的研究中，如何把有效成分从凝胶贴膏基质中分离出来是最大的难点，也是本实验研究的重点之一。在 2020 年版《中华人民共和国药典》“大黄”项下收载的薄层鉴别法中，其提取方法采用的是乙醚萃取，本实验考虑到乙醚毒性大，且为易制毒试剂，不易购买，故通过查阅资料及试验选用甲基叔丁基醚进行萃取，色谱鉴别结果不受影响。在对黄柏进行薄层鉴别时，本实验对三氯甲烷-甲醇-水（30∶15∶4）的下层溶液[16]、正丁醇-冰醋酸-水（7∶2∶2）[6, 17]、石油醚（60～90 ℃）-甲酸乙酯-甲酸（15∶5∶1）的上层溶液等展开剂进行了优选，以正丁醇-冰醋酸-水（7∶2∶2）分离度最好。在对冰片进行薄层鉴别时，则对石油醚（60～90 ℃）-乙酸乙酯-二氯甲烷（20∶1.5∶3）[9]，醋酸乙酯-环己烷（5∶20）[18]，石油醚（60～90 ℃）-乙酸乙酯（9∶2）[19]等多种展开剂和 5%磷钼酸乙醇溶液、10%磷钼酸乙醇溶液、5%香草醛硫酸溶液等显色剂进行试验，结果以石油醚（60～90 ℃）-乙酸乙酯-二氯甲烷（20∶1.5∶3）为展开剂，以 10%磷钼酸乙醇溶液为显色剂所得鉴别结果斑点清晰，分离度最佳。同时，本实验对加味双柏凝胶贴膏中侧柏叶、泽兰、薄荷等药味进行了薄层鉴别研究，因拖尾现象、斑点不清晰、阴性有干扰等问题，故未纳入标准。

通过影响因素试验、长期试验和加速试验对 3 批次加味双柏凝胶贴膏进行了稳定性考察，结果显示，加味双柏凝胶贴膏的性状外观均无变化，鉴别均呈正反应，且该制剂的含膏量、微生物限度、赋形性、黏附性等均保持相对稳定，各项指标均符合标准规定，表明加味双柏凝胶贴膏的质量稳定且可控，为确定加味双柏凝胶贴膏的有效期提供科学的参考依据。

安全性研究是新药临床前药品评价的重要组成部分。本实验采用皮肤刺激试验，结果显示加味双柏凝胶贴膏敷贴对新西兰兔的皮肤无刺激性。另外进行主动皮肤过敏试验和豚鼠 Buehler 试验，观察发现，加味双柏凝胶贴膏对豚鼠无过敏症状，说明其对豚鼠无皮肤致敏性。本实验验证了加味双柏凝胶贴膏是一种无刺激、无致敏、质量稳定、安全性高的外用制剂，值得临床进一步开发和推广。

［参考文献］

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：四部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020.
[2] 李保林，王建辉，黄露露，等. 中药凝胶贴膏的研究进展[J]. 医学综述，2019，25(2)：380-389.
[3] 韩霜，冯松浩，马旭伟，等. 中药凝胶贴膏剂的研究进展及在产品开发中的应用[J]. 中草药，2018，49(21)：5197-5204.
[4] 吴康郁，陈小露，王淑英，等. 双柏巴布剂的薄层鉴别及皮肤刺激性考察[J]. 中药材，2014，37(5)：899-900.
[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020.
[6] 陈玉英，郭卫，张唐颂. 双柏蜜薄层色谱鉴别试验[J]. 实用医技杂志，2005，12(6)：1447-1448.
[7] 周斌，王元辉，舒娟. 泌淋清胶囊的定性及定量分析[J]. 中国医药工业杂志，2015，46(11)：1229-1231.
[8] 刘桂联. 温性经筋通贴膏质量标准提高及体外透皮性能研究[D]. 广州：广州中医药大学，2016.
[9] 王苏会，王瑞，孙晓迪，等. 小儿感冒贴的薄层色谱鉴别研究[J]. 中国医药导刊，2017，19(11)：1234-1236.
[10] 陈娇. 三七跌打损伤软膏的药学研究[D]. 成都：成都中医药大学：2017.
[11] 吴涵，王凌，潘弟仪，等. 新工艺温通膏制剂稳定性研究[J]. 中医药导报，2019，25(12)：54-58.
[12] 黄晓冰，吴雪茹，周艳，等. 跌打祛风膏工艺优化后的制剂质量稳定性研究[J]. 中药材，2020，43(12)：3000-3004.
[13] 周艳，黄志辉，欧展龙，等. 跌打祛风膏基质处方的优化研究[J]. 中药材，2016，39(4)：846-849.
[14] 陈健明，黄启媚，许智，等. 肠痈消炎合剂质量控制方法探究[J]. 光明中医，2018，33(9)：1255-1258.
[15] 杨建科，邹玉繁. 妇炎灵气雾剂质量标准研究[J]. 中药材，2012，35(10)：1695-1697.
[16] 庞鹏，陈寅生，赵颖. 活血巴布剂质量标准研究[J]. 中国药业，2018，27(21)：20-22.
[17] 王荣，毛跟年，贾莹. 回药烫伤膏的制备与质量控制[J]，时珍国医国药，2016，27(4)：871-874.
[18] 周钰，黄国志，梁东辉. 活血镇痛散质量标准研究[J]. 河南中医，2016，36(7)：1280-1283.
[19] 邓彩云，陈柔姬，廖华卫，等. 健脾益胃贴膏的薄层鉴别研究[J]. 北方药学，2017，14(1)：2-3.

（责任编辑：吴凌，李海霞）