

# 泽及流浸膏外用安全性实验研究

钮晓红<sup>1</sup> 卞勇<sup>2</sup> 蒋宝平<sup>2</sup> 许立<sup>2</sup>

(1.南京中医药大学附属南京市中西医结合医院,江苏南京 210014; 2.南京中医药大学,江苏南京 210023)

**摘要** 目的:观察外用泽及流浸膏对动物皮肤和肌肉的毒性作用。方法:使用不同浓度(0.9g/mL、1.9g/mL、3.8g/mL)的泽及流浸膏对大鼠正常皮肤和破损皮肤进行急性毒性观察;使用1.9g/mL的泽及流浸膏对兔进行单次给药急性皮肤刺激和多次给药皮肤刺激观察;使用3.8g/mL的泽及流浸膏对豚鼠进行致敏性观察;使用不同浓度(1.9g/mL、3.8g/mL)的泽及流浸膏对兔进行肌肉内给药的刺激性观察。结果:泽及流浸膏经皮给药,在试验用药膏最高浓度为3.8g/mL,最大剂量为38.0g/kg,相当于人临床用量227倍时,对正常皮肤和破损皮肤大鼠均未见有明显急性毒性反应。泽及流浸膏单次给药和多次给药均对兔皮肤无明显刺激作用,对豚鼠无明显致敏作用,对兔肌肉无明显刺激作用。结论:泽及流浸膏外用无明显毒性作用。

**关键词** 泽及流浸膏 外用给药 毒性 皮肤 肌肉 实验研究

**中图分类号** R289.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2016)11-0075-04

泽及流浸膏是由中药泽漆、白及、猫爪草组成复方制成的流浸膏,具有提脓祛腐、解毒活血、生肌收敛等功效。临床主要用于治疗因淋巴结结核化脓破溃,或因腹部手术、臀部注射后形成窦道,复又感染结核菌而形成的结核性窦道。针对结核性窦道,现代医学多采用全身药物抗结核疗法及手术切开局部病灶刮除,或局部抗痨药物换药等方法治疗。抗结核药物用于结核患者,能使全身症状得到控制,防止结核菌在体内继续繁殖、蔓延,但对促进局部伤口愈合的效果不甚满意,尤其是对已产生耐药的患者,疗效更差且毒副作用较大。而手术切除窦道,伤口难以愈合,即使当时能一期愈合,也易复发,需要反复手术<sup>[1]</sup>。

中医认为,形成窦道和缠绵难愈的根本原因是由于“腐”“毒”“瘀”的存在,治疗上应采用内、外兼治,多以外治为主,外治的基本法则是“祛腐化瘀、解毒生新”,通过中药窦道灌注,促进创面腐烂坏死组织脱落,或将其清稀脓液转化成浓稠脓液,促进创面愈合。将中药复方制成流浸膏,极易渗入窦道,可直达病所。本院研制的泽及流浸膏治疗结核性窦道,可缩短疗程,减轻患者痛苦,具有良好的疗效<sup>[2]</sup>。为临床安全用药和进一步扩大应用,我们进行了泽及流浸膏的皮肤急性毒性、刺激性、过敏性及肌肉刺激性试验,现将结果报告如下。

## 1 实验材料

**1.1 动物** 清洁级 Wistar 大鼠,180~220g,雌雄各半,由浙江省实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(浙)2014-0001。白色大耳兔,24只,雌雄各半,1.6~2.0kg,南京市江宁区青龙山动物繁殖场,许可证号:SCXK(苏)2007-0008。豚鼠:30只,雌雄各半,体重300~350g,南京市江宁区青龙山动物繁殖场,批号:SCXK(苏)2012-0008。所有动物检疫后饲养观察1周后开始试验。给药前后,动物自由饮水饮食,室温20℃~25℃,每日人工光照12h,室内通风良好,实验室相对湿度:60%~70%。

**1.2 药物与试剂** 泽及流浸膏,药物组成:泽漆、白及、猫爪草,按重量8.33:1.00:1.67,加水煎煮滤过浓缩得褐色浸膏,4.37g(生药)/mL,南京市中西医结合医院提供,批号:14121501。人临床用量为1.9g/mL,5mL/60kg。2,4-二硝基氯化苯:天津市百世化工有限公司。

**1.3 仪器** BL120F 电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司;CP-6800 宠物电推剪,深圳市科德士电子厂。

## 2 实验方法

**2.1 皮肤急性毒性试验**<sup>[3][23][4]</sup> 大鼠80只,雌雄各半,按性别、体重随机分为8组,分别是泽及流浸

基金项目:2009—2014年度江苏省中医药领军人才培养项目(LJ200921)

膏高、中、低剂量完整皮肤组,泽及流浸膏高、中、低剂量破损皮肤组,完整皮肤对照组和破损皮肤对照组,每组 10 只。各组大鼠受试前 24h 背部两侧去毛,范围为 3cm×3cm。各破损皮肤组动物去毛后,消毒皮肤,用砂纸摩擦打毛皮肤,至轻微渗血。给药组动物分别以泽及流浸膏低、中、高剂量(0.9g/mL、1.9g/mL、3.8g/mL)均匀涂抹于脱毛区,分笼饲养,每隔 12h 涂药 1 次,每次涂药量均为 5mL/kg,24h 后用生理盐水洗去浸膏,对照组动物涂以等量蒸馏水。于开始用药后到第 14 天每日观察并记录大鼠的动物毒性反应,即外观行为、异常活动、精神状态、食欲、大小便情况、被毛、肤色、鼻、眼、口腔有无异常分泌物、体重变化及呼吸、中枢神经系统、四肢活动等全身中毒表现和死亡情况。

## 2.2 皮肤刺激性试验<sup>[3]23[6]</sup>

**2.2.1 单次给药皮肤刺激性试验** 取健康白色大耳兔 12 只,雌雄各半,给药前 24h 将动物脊柱两侧去毛,去毛面积约 5cm×5cm。将兔随机分为完整皮肤组及破损皮肤组,每组 6 只。破损皮肤组采用灭菌针头划破身体两侧表皮制备破损皮肤,尽量做到两侧皮肤破损程度基本一致。每组动物左侧去毛区涂 1.9g/mL 泽及流浸膏 1.0mL,右侧去毛区涂生理盐水做对照,然后覆盖 2 层纱布和 1 层玻璃纸,再用胶带固定。分别于除药后 1、24、48、72h 观察皮肤有无红斑、水肿等反应变化及恢复情况,按皮肤刺激反应评分标准,根据红斑及水肿的有无、程度进行 0—4 级评分<sup>[3]237</sup>,再计算每组动物平均分,平均分在 0.49 以下者为无为刺激性。

**2.2.2 多次给药皮肤刺激性试验** 取健康白色大耳兔 12 只,雌雄各半,随机分为完整皮肤组及破损皮肤组,去毛、制备破损皮肤及给药方法、药后操作同 2.2.1 部分。每日给药 1 次,连续给药 1 周,最后一次去除受试物后 1、24、48、72h 观察皮肤有无红斑、水肿等反应变化及恢复情况,评价标准同 2.2.1 部分。

**2.3 皮肤致敏性试验<sup>[3]239[5]</sup>** 取白色豚鼠 30 只,雌雄各半。于给受试物前 24h,将豚鼠背部两侧脱毛,去毛区范围为每侧约 3cm×3cm。将豚鼠随机分为泽及流浸膏组、阴性对照组、阳

性对照组(2,4-二硝基氯化苯),每组 10 只。泽及流浸膏组将 3.8g/mL 泽及流浸膏 0.5mL 均匀涂布于豚鼠背部左侧脱毛区,阳性对照组涂以 1.0% 2,4-二硝基氯化苯 0.2mL。动物分笼饲养,涂敷持续 6h 后,用温水洗净药物。试验第 7 天和第 14 天,以同样方法各重复给药 1 次,共计给药 3 次。逐日观察各组动物受试区域的水肿及红斑情况,并做详细记录。

于末次给受试物致敏后 14d,用同样方法将受试物分别涂布于动物背部右侧去毛区,6h 后用温水洗净受试物,即刻观察,然后于 24、48、72h 再次观察皮肤过敏反应情况。根据皮肤致敏性评价标准<sup>[3]240</sup>,按致敏引起的红斑和水肿程度对每只动物的过敏反应程度进行评分,并计算总值作为每只动物的致敏分值,统计每组动物的致敏发生率,并进行致敏强度的评价,以发生率小于 10%者为无致敏性。

**2.4 肌肉刺激试验<sup>[3]255</sup>** 将灭菌泽及流浸膏用注射用生理盐水配制成 1.9g/mL、3.8g/mL 作为受试物。取 6 只兔,编号,称重。兔两腿外侧股四头肌部位剪毛,在其左右两侧分别注射受试物溶液(1mL/kg)和注射用生理盐水(1mL/kg)。给药 48h 后放血处死,纵向切开皮肤,肉眼观察注射部位有无充血、水肿、变性或坏死,根据充血、红肿等病变程度按肌肉刺激反应分级标准进行评分和刺激等级判断,以每组平均分小于 0.4 分为无刺激性。取局部注射部位,立即用 10%甲醛溶液固定,经石蜡包埋、切片、HE 染色后进行光镜检查,观察注射局部的组织病理学变化。

## 3 实验结果

**3.1 皮肤急性毒性试验结果** 给药后,各组大鼠外观活动、行为未见明显异常,被毛光润,鼻、眼、口腔无异常分泌物,粪便正常,无死亡。各剂量完整皮肤和破损皮肤组给药局部皮肤未见红肿、水肿及渗

表 1 各组大鼠体重增长情况比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别            | 动物数(只) | 药前         | 第 4 天      | 第 7 天      | 第 10 天     | 第 14 天     |
|---------------|--------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 正常皮肤对照组       | 10     | 204.0±14.9 | 214.2±15.9 | 225.8±13.5 | 239.4±13.3 | 255.7±11.8 |
| 破损皮肤对照组       | 10     | 205.0±13.5 | 213.4±13.7 | 226.8±12.6 | 241.2±12.6 | 257.0±13.7 |
| 泽及流浸膏低剂量正常皮肤组 | 10     | 200.5±13.6 | 212.0±13.3 | 225.3±13.2 | 238.8±14.4 | 252.8±15.0 |
| 泽及流浸膏低剂量破损皮肤组 | 10     | 202.5±9.9  | 214.6±10.8 | 228.9±10.6 | 243.2±11.3 | 255.2±12.5 |
| 泽及流浸膏中剂量正常皮肤组 | 10     | 201.4±10.4 | 213.2±11.5 | 226.0±9.9  | 237.2±9.9  | 250.7±11.8 |
| 泽及流浸膏中剂量破损皮肤组 | 10     | 202.2±10.3 | 215.0±10.6 | 230.3±12.1 | 243.1±13.3 | 254.0±20.7 |
| 泽及流浸膏高剂量正常皮肤组 | 10     | 202.9±11.8 | 214.7±6    | 226.8±13.2 | 237.8±14.0 | 250.5±13.2 |
| 泽及流浸膏高剂量破损皮肤组 | 10     | 203.8±10.7 | 215.4±11.1 | 227.4±11.8 | 239.3±13.8 | 250.7±15.3 |

血。给药后动物体重增长情况如表 1 所示,给药各剂量组动物的体重增长与两对照组比较均无显著性差异( $P>0.05$ )。实验结束解剖肉眼观察可见各动物心、肝、脾、肺、肾等主要脏器色泽正常,未见明显异常。以上结果提示,泽及流浸膏以 9.0g/kg、19.0g/kg、38.0g/kg 经皮 1 日 2 次给药,未见明显急性毒性反应。

### 3.2 皮肤刺激性试验结果

3.2.1 单次给药皮肤刺激性试验结果 泽及流浸膏破损皮肤组有 1 只家兔皮肤出现轻微红斑,但 24h 内自行消退,其他动物均未见红斑和水肿反应。按皮肤刺激强度评价标准,泽及流浸膏对皮肤刺激平均分值得均 $<0.50$ 分,表明该药对正常皮肤和破损皮肤均无刺激性。见表 2,图 1。

表 2 各组家兔单次给药皮肤急性刺激性试验结果

| 组别    | 药物    | 皮肤样本数 | 平均分    |         |         |         | 刺激强度 |
|-------|-------|-------|--------|---------|---------|---------|------|
|       |       |       | 除药后 1h | 除药后 24h | 除药后 48h | 除药后 72h |      |
| 完整皮肤组 | 泽及流浸膏 | 6     | 0      | 0       | 0       | 0       | 无刺激性 |
|       | 生理盐水  | 6     | 0      | 0       | 0       | 0       | 无刺激性 |
| 破损皮肤组 | 泽及流浸膏 | 6     | 0.16   | 0       | 0       | 0       | 无刺激性 |
|       | 生理盐水  | 6     | 0      | 0       | 0       | 0       | 无刺激性 |



完整皮肤组涂生理盐水皮肤



完整皮肤组涂泽及流浸膏皮肤



破损皮肤组涂生理盐水皮肤



破损皮肤组涂泽及流浸膏皮肤

图 1 各组动物单次给药或生理盐水后皮肤状况比较

3.2.2 多次给药皮肤刺激性试验结果 多次给药破损皮肤组有 1 只家兔在末次除药 1h 见皮肤出现轻微红斑和水肿,24h 见皮肤出现轻微红斑,48h 自行消退,其他动物均未见红斑和水肿反应。按皮肤刺激强度评价标准,泽及流浸膏对皮肤刺激平均分值得均 $<0.50$ 分,表明该药多次给药对皮肤均无刺激性。见表 3,图 2。

表 3 各组家兔多次给药皮肤刺激性试验结果

| 组别    | 药物    | 皮肤样本数 | 平均分      |           |           |           | 刺激强度 |
|-------|-------|-------|----------|-----------|-----------|-----------|------|
|       |       |       | 末次除药后 1h | 末次除药后 24h | 末次除药后 48h | 末次除药后 72h |      |
| 完整皮肤组 | 泽及流浸膏 | 6     | 0        | 0         | 0         | 0         | 无刺激性 |
|       | 生理盐水  | 6     | 0        | 0         | 0         | 0         | 无刺激性 |
| 破损皮肤组 | 泽及流浸膏 | 6     | 0.33     | 0.16      | 0         | 0         | 无刺激性 |
|       | 生理盐水  | 6     | 0        | 0         | 0         | 0         | 无刺激性 |



兔完整皮肤组涂生理盐水皮肤



兔完整皮肤组涂泽及流浸膏皮肤



兔破损皮肤组涂生理盐水皮肤



兔破损皮肤组涂泽及流浸膏皮肤

图 2 各组动物多次给药或生理盐水后皮肤状况比较

3.3 皮肤致敏性试验结果 泽及流浸膏组动物在激发给药后,均未见皮肤的明显红斑或水肿,亦无哮喘、站立不稳等全身性过敏反应,反应平均值为 0,致敏率为 0。阳性对照组在给药 24~72h 内有不同程度的红斑与水肿,致敏率为 100%。结果见表 4。表明泽及流浸膏经皮肤给药无致敏作用。

表 4 各组豚鼠皮肤致敏性试验结果

| 组别    | 动物数 (只) | 致敏率 (%) | 反应平均值 |      |      |     | 反应强度 |
|-------|---------|---------|-------|------|------|-----|------|
|       |         |         | 6     | 24   | 48   | 72h |      |
| 泽及流浸膏 | 10      | 0       | 0     | 0    | 0    | 0   | 无致敏性 |
| 阴性对照组 | 10      | 0       | 0     | 0    | 0    | 0   | 无致敏性 |
| 阳性对照组 | 10      | 100     | 1     | 0.85 | 0.68 | 0   | 极度敏性 |

3.4 肌肉刺激试验结果 结果见表 5。泽及流浸膏注射 48h 后,1.9g/mL、3.8g/mL 浓度组给药部位分别有 1/6、2/6 的家兔出现轻度充血,范围均在 0.5×1.0cm 以下;注射生理盐水部位则未见有明显变化。给药侧肌肉反应级数均值分别为 0.17、0.33,小于 0.4,根据肌肉刺激反应分级标准判定,泽及流浸膏对肌肉组织没有刺激性。病理组织学检查没有出现病变坏死等现象,见图 3。

表 5 泽及流浸膏对肌肉刺激试验结果

| 药物名称  | 皮肤样本数 | 浓度(g/mL) | 总反应分 | 平均分  | 等级 |
|-------|-------|----------|------|------|----|
| 泽及流浸膏 | 6     | 1.9      | 1    | 0.17 | 无  |
| 泽及流浸膏 | 6     | 3.8      | 2    | 0.33 | 无  |

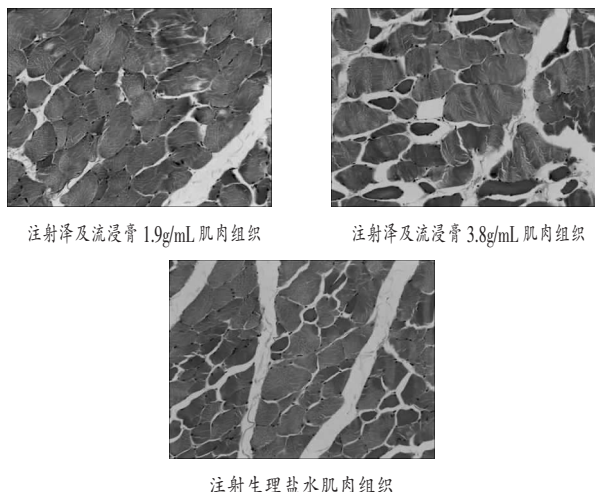


图3 各组兔肌肉注射部位组织病理学变化(HE,×200)

## 4 讨论

结核性窦道迂曲复杂,久不愈合或愈后易复发,是临床治疗难题。中医祛腐生肌外治法治疗本病有较好的疗效,从传统的升丹制剂、药线蚀管化腐、生肌收口法,到今天的挂线引流、窦道瘰管搔刮、祛腐生肌滴灌法等。其中较为经典的为升、降二丹制剂,被称为“外科圣药”,但该类制剂主要成分为含汞化合物,存在安全隐患,应用受到限制<sup>[6]</sup>。因此,寻找和开发能够代替该类制剂的中药,对中医外治疗法的安全使用具有重要意义。

泽及流浸膏处方中白及味苦、甘、涩,微寒,归肺、肝、胃经,有收敛止血、消肿生肌之功,现代药理研究表明其具有止血、抗溃疡、预防肠粘连、抗菌、抗肿瘤、促进伤口愈合等功效<sup>[7]</sup>;泽漆,味辛、苦,凉,有毒,有化痰、逐水、消肿、散结、杀虫等功效,药理研究显示其有利尿消肿、化痰散结、杀虫止痒等作用,临床上用于治疗食道癌、肝癌、咳嗽、水肿、肺结核、淋巴结核等<sup>[8]</sup>;猫爪草味甘、辛、苦,归肝、肺经,具化痰散结、解毒消肿之功,可用于治疗瘰癧痰核、疔疮肿毒、蛇虫咬伤等<sup>[9]</sup>,其抗耐药结核的最低抑菌浓度 MIC 测定显示,猫爪草正丁醇萃取物在药物浓度为 2mg/mL 时即能明显抑制耐药菌株的生长<sup>[9]</sup>。

泽漆传统记载“有毒”,现代药理或临床研究亦显示其有一定毒性或副作用<sup>[8]</sup>。本研究结果表明,泽及流浸膏皮肤外用未见有明显的急性毒性,单次给药或多次给药均对兔皮肤无明显刺激性,对豚鼠无致敏性,肌肉内用药也未见有明显刺激作用。这可能与所用药物浸膏为水煎剂有关,有人推测泽漆有毒成分可能不溶于水。有报道如误服泽漆鲜草或乳

白汁液后,口腔、食管、胃黏膜均可发炎、糜烂,有灼痛、恶心、呕吐、腹痛、腹泻水样便症状,严重者可致脱水,甚至出现酸中毒<sup>[10-11]</sup>。此外,泽漆乙酸乙酯萃取物对小鼠有明显毒性,可造成心脏、肝、脾、肺、肾等多个脏器损伤<sup>[12]</sup>。

本研究结果表明,泽及流浸膏外用无明显急性毒性反应,单次或多次外用对正常皮肤和破损皮肤均无刺激性,经皮肤给药无致敏作用,对肌肉组织没有刺激性。下一步将进行药学、药理和临床研究,为将泽及流浸膏开发成治疗结核性窦道的医院制剂和中药新药做好基础工作。

## 参考文献

- [1] 赵凯,杨群,孔颖,等.颈部淋巴结核手术治疗(附 127 例报告)[J].现代实用医学,2010,22(1):65.
- [2] 黄子慧.提脓祛腐液外用治疗结核性窦道 32 例临床观察[J].天津中医药大学学报,2009,28(1):14.
- [3] 袁伯俊,廖明阳,李波.药物毒理学实验方法与技术[M].北京:化学工业出版社,2007.
- [4] 苗杰,王爱武,杨柳,等.盐酸普萘洛尔乳膏的安全性考察[J].安徽医药,2014,18(6):1020.
- [5] 林小凤,陈开杰,石鹤坤,等.复方镰形棘豆凝胶剂的皮肤安全性评价[J].中国医院药学杂志,2015,35(5):449.
- [6] 王泉,李萍.升丹临床应用研究述评[J].中医学报,2012;27(6):722.
- [7] 汤逸飞,阮川芬,应晨,等.白及属植物化学成分与药理作用研究进展[J].中草药,2014,45(19):2864.
- [8] 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,2010:300.
- [9] 熊英,陈虹,邓敏芝,等.猫爪草化学成分及抗耐药结核活性研究[J].中药材,2016,39(4):775.
- [10] 杨莉,陈海霞,高文远.泽漆化学成分及药理作用研究进展[J].中草药,2007,38(10):1585.
- [11] 段强,周永安,景文文.猫眼草致刺激性接触性皮炎 4 例[J].临床皮肤科杂志,2014,43(10):622.
- [12] 孙雪,李明会,张庆,等.泽漆乙酸乙酯萃取物对小鼠经口急性毒性[J].东北林业大学学报,2015,43(3):109.

**第一作者:**钮晓红(1959—),女,本科学历,主任中医师,教授,硕士研究生导师,主要研究方向为中医外科疾病、淋巴结核等肺外结核的诊疗。

**通讯作者:**许立,博士,教授,硕士研究生导师。  
xuli64@163.com

收稿日期:2016-06-15

编辑:吴宁