

消毒洗剂的安全性实验

江建国 顾建华 卢金福

【摘要】 目的 评价消毒洗剂的安全性。方法 (1)用脱毛膏脱去 SD 大鼠背部毛发后,用消毒过的 12 号针头刮擦皮肤,作“#”字形破损(“#”字笔画的宽度在 3 mm 左右),以轻度渗血为度,制作破损皮肤组,将消毒洗剂涂敷于实验动物的完整和破损皮肤上,在不同的时间点后分别观察 SD 大鼠急性皮肤毒性、局部刺激作用。(2)将豚鼠分为 DNFB 组和消毒洗剂组,观察 2,4-二硝基氟苯(2,4-dinitrofluorobenzene, DNFB)和消毒洗剂致豚鼠过敏反应。结果 (1)在大鼠的皮肤急性毒性实验中,8 倍临床浓度的消毒洗剂未见皮肤红斑及水肿等常规的急性毒性。但在超高浓度(16.8 倍临床浓度,含生药 3.36g/ml)的使用中,发现动物毛发生长有稀少的现象,但未见其他异常。(2)局部应用消毒洗剂(8 倍临床浓度,含生药 1.6 g/ml)后,在 1、24、48、72 小时观察期内,刺激强度的积分值均为 0,提示消毒洗剂对大鼠完整皮肤和破损皮肤无刺激性。(3)过敏反应在致敏后 6 小时、24 小时、48 小时、72 小时观察, DNFB 组积分值分别为 1.8±0.6、2.4±0.7、2.1±0.7、1.6±0.7,消毒洗剂组均为 0($P<0.01$),提示消毒洗剂对豚鼠也未见过敏反应。结论 在医师的指导下,避免超高浓度的使用,消毒洗剂是一种安全的外用制剂。

【关键词】 消毒洗剂; 安全性实验; 外用制剂

【中图分类号】 R285.6 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.10.017

消毒洗剂^[1-2]是由由大黄、苦参、五倍子、延胡索等组成,为江苏省中医药管理局课题,是江苏省如东县中医院在临床验方的基础上改进而成的中药外用制剂,主要用于肛肠术后并发症的治疗,多年临床应用及相关文献均证实其有抗炎^[3]、镇痛^[4]、止血及促进伤口愈合等作用。为验证其安全性,本文对消毒洗剂进行了急性毒性、皮肤刺激性、皮肤过敏性实验的实验研究^[5-8]。

1 材料与方

1.1 试剂与仪器

消毒洗剂由江苏省如东县中医院制备,处方为:生大黄 200 g、黄柏 200g、五倍子 200 g、苦参 200 g、芒硝 100 g、延胡索 100 g。将上述药材加 8 倍量的水,煎煮两次,每次 1 小时,四层纱布过滤,合并滤液,室温(10℃)静置过夜,取上清、浓缩至稠膏状,测量体积得稠膏浓度为含生药 3.36 g/ml。2,4-二硝基氟苯(2,4-dinitrofluorobenzene, DNFB),金山县兴塔化工厂生产,临用前用无水乙醇配制成 1% 的溶液,超声助溶。无水乙醇(无锡市亚盛化工有限公司),科德士 ChC-

558 精密理发器(深圳市宝安区沙井镇科德士电子厂),薇婷牌香芬凝萃脱毛膏(印度利洁时有限公司),KQ-S500B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 实验动物

清洁级 SD 大鼠 40 只,江苏大学实验动物中心,动物批号:SCXK(苏)2009-0002,皮肤急性毒性及皮肤刺激性实验各用 20 只。普通级豚鼠 20 只,南京市江宁区青龙山动物繁殖场,动物批号:SCXK(苏)2012-0008,用于皮肤过敏性实验。

1.3 SD 大鼠皮肤的急性毒性实验方法

完整皮肤组^[9]取大鼠 20 只,雌雄各半,分给药组、空白对照组。先用宠物理发器剃去大鼠背部毛发,再涂以脱毛膏,4 分钟后用纱布、温水轻轻洗去脱毛膏,脱毛,背部脱毛大约 40 cm²,4 小时后(有利于脱毛过程中轻微损伤的恢复)涂以消毒洗剂稠膏(含生药 3.36 g/ml,16.8 倍临床浓度),用纱布及胶布固定,空白对照组涂蒸馏水。观察给药 24 小时后,如未中毒死亡,则用温水洗去药物,继续观察 7 日,注意动物的全身中毒表现(外观行为、精神状态、呼吸、食欲、大便、肤色、毛发、异常分泌物等)和死亡情况。

皮损皮肤组取大鼠 20 只,雌雄各半,分给药组、空白对照组。同上背部脱毛大约 40 cm²,脱毛后用 12 号注射针头(酒精棉球擦拭后自然风干)刮擦背部,作“#”字形破损(“#”字笔画的宽度在 3 mm 左右),以轻度渗血为度,其余操作同完整皮肤组。

1.4 SD 大鼠皮肤刺激性实验

完整皮肤组^[9]取大鼠 20 只,雌雄各半,分空白对照组、

基金项目:江苏省中医药管理局课题(LB11028)

作者单位:226400 江苏省如东县中医院药剂科(江建国),肛肠科(顾建华);南京中医药大学药学院中药药理学教研室(卢金福)

作者简介:江建国(1972-),本科,副主任中药师。研究方向:中药制剂药理和质量标准研究。E-mail:162157695@qq.com

通讯作者:卢金福(1964-),博士,副教授。研究方向:中药药理学研究和教学。E-mail:nzylj909@126.com

给药组。同上脱毛,脱毛面积大约 40 cm²,4 小时后(有利于脱毛过程中轻微损伤的恢复)涂以消毒洗剂稠膏(含生药 1.6 g/ml,8 倍临床浓度),用纱布及胶带固定,空白对照组涂蒸馏水。给药 24 小时后用温水洗去药物,再经 1、24、48、72 小时观察涂抹部位有无红斑和水肿反应。

皮损皮肤组取大鼠 20 只,雌雄各半,分空白对照组、给药组。脱毛、破损皮肤的制作、涂药方法同皮肤急性毒性实验,消毒洗剂的稠膏浓度同样为含生药 1.6 g/ml,其余同完整皮肤组。根据大鼠红斑和水肿情况得出各组 SD 大鼠皮肤刺激性的平均积分值,评定各组 SD 大鼠皮肤刺激强度:平均积分值 0~0.5,判为无刺激性;平均积分值 0.5~2.0,判为轻度刺激性;平均积分值 2.0~6.0,判为中度刺激性;平均积分值 6.0~8.0,判为强刺激性,皮肤刺激反应评分见表 1。

1.5 豚鼠皮肤过敏性实验

取豚鼠^[9]20 只,雌雄兼用,按随机数字表法分成 2 组:消毒洗剂组、阳性药物 DNFB 组^[10],每组 10 只。于给药前 24 小时在背部脊柱两侧用宠物理发器和脱毛膏脱毛约 4 cm × 4 cm,分笼饲养。

致敏接触:将消毒洗剂(含生药 1.6 g/ml,8 倍临床浓度)均匀涂于豚鼠左侧脱毛区,持续 6 小时,6 小时后温水洗净受试物,第 7 天和第 14 天以同样方法重复一次,阳性对照组涂以 1% 的 DNFB 250 μl,其余操作方法同消毒洗剂组。

激发致敏:于末次给药后第 14 天,将消毒洗剂(含生药 1.6 g/ml,8 倍临床浓度)均匀涂于右侧脱毛区,6 小时后温水洗净受试物,即刻观察,然后于 24、48、72 小时再次观察皮肤过敏反应情况,阳性对照组涂以 1% DNFB 250 μl 激发致敏,观察方法同消毒洗剂组,皮肤过敏反应评分标准见表 1。

致敏率分类:致敏率 0%~10%,判为无致敏性;致敏率 20%~30%,判为轻度致敏性;致敏率 40%~60%,判为中度致敏性;致敏率 70%~80%,判为高度致敏性;致敏率 90%~100%,判为极度致敏性。

表 1 皮肤刺激反应及过敏反应评分标准

反应类型	刺激反应及过敏反应分值
红斑	
无红斑	0
轻度红斑(勉强可见)	1
中度红斑(明显可见)	2
重度红斑	3
水肿性或紫红色红斑到有焦痂形成	4
水肿	
无水肿	0
轻度水肿(勉强可见)	1
中度水肿(明显可见)	2
重度水肿(皮肤隆起 1 mm,轮廓清楚)	3
严重水肿(皮肤隆起 1 mm 以上,范围扩大)	4

2 结果

2.1 SD 大鼠皮肤的急性毒性实验

2.1.1 完整皮肤急性毒性实验 敷药后,7 天观察期内,没有动物死亡,动物的精神状态、活动行为无明显改变,肤色、大小便及饮食等基本正常,但有 3 只大鼠局部毛发有生长稀少现象。

2.1.2 破损皮肤急性毒性实验 敷药后,第 1 天所有动物活动有所减少,行走有些困难(估计是皮肤破损导致剧烈疼痛所致),第 2 天后完全恢复正常,观察期内没有动物死亡,未见其它行为异常,未出现任何急性毒性反应,但有 4 只大鼠局部毛发有毛发生长稀少现象,具体见图 1。

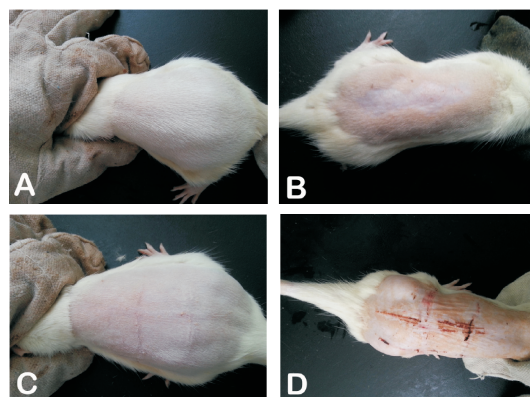


图 1 SD 大鼠皮肤急性毒性实验情况
A 完整皮肤空白对照组(毛发生长正常);B 完整皮肤给药组(局部毛发生长稀少);C 破损皮肤空白对照组(毛发生长正常);D 破损皮肤给药组(毛发生长稀少)

图 1 SD 大鼠皮肤急性毒性实验情况

2.2 SD 大鼠皮肤刺激性实验

2.2.1 完整皮肤刺激性实验 在用温水洗去药物后的 1、24、48、72 小时观察期内,涂抹部位均没有发现红斑和水肿反应,皮肤刺激实验积分均为 0 分,无刺激性表现。

2.2.2 破损皮肤刺激性实验 在用温水洗去药物后的 1、24、48、72 小时观察期内,涂抹部位均没有发现红斑和水肿反应,皮肤刺激实验积分均为 0 分,无刺激性表现,具体见图 2。

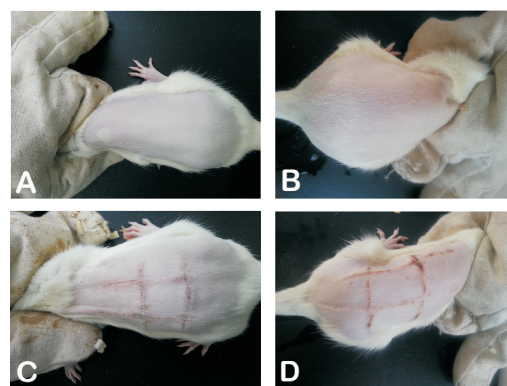


图 2 温水洗去药物 24 小时后 SD 大鼠皮肤的刺激情况
A 完整皮肤空白对照组;B 完整皮肤给药组;
C 破损皮肤空白对照组;D 破损皮肤给药组

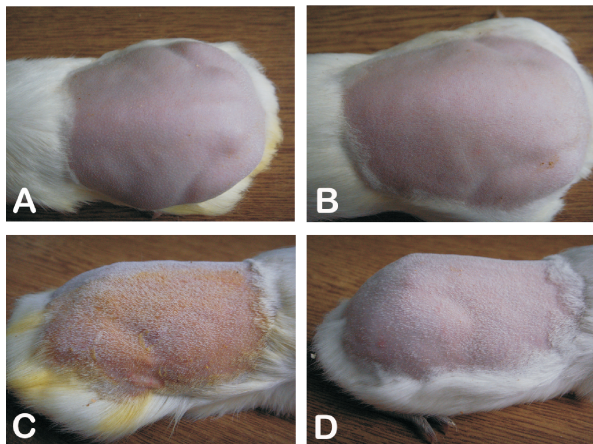
图 2 温水洗去药物 24 小时后 SD 大鼠皮肤的刺激情况

2.3 豚鼠皮肤过敏性实验

DNFB 组激发实验中,10 只豚鼠涂抹部位的皮肤均呈现明显的嫣红色,但未见水肿现象, DNFB 组过敏反应发生率为 100%,致敏强度为极度致敏性。其中红斑情况:6 小时观察,轻度 3 只,中度 6 只,重度 1 只;24 小时观察,轻度 1 只,中度 4 只,重度 5 只;48 小时观察,轻度 2 只,中度 5 只,重度 3 只;72 小时观察,轻度 5 只,中度 4 只,重度 1 只。消痔洗剂组 10 只豚鼠皮肤均未发生任何过敏反应,过敏反应发生率为 0,致敏强度为无致敏性,具体见表 3 和图 3。

表 3 豚鼠皮肤过敏反应积分值比较

组别	过敏反应积分值
DNFB 组	
6 小时	1.8 ± 0.6
24 小时	2.4 ± 0.7
48 小时	2.1 ± 0.7
72 小时	1.6 ± 0.7
消痔洗剂组	
6 小时	0
24 小时	0
48 小时	0
72 小时	0



A DNFB 组致敏前皮肤正常;B 消痔洗剂组致敏前皮肤正常;
C 阳性组致敏后皮肤呈嫣红色;D 消痔洗剂组致敏后皮肤正常

图 3 豚鼠皮肤经致敏前后情况

3 讨论

肛肠疾病是人类特有的常见病、多发病,随着社会生活压力的增大及各种不良生活习惯的影响,肛肠疾患的发病率呈上升趋势。目前,手术疗法仍然是治疗痔的最为有效的方法之一,但肛肠病术后创面疼痛、出血、肛缘水肿、创面恢复

缓慢一直是困扰肛肠病治疗的难题^[11-13]。消痔洗剂是一种肛肠病术后创面外用洗剂,为临床治疗痔疮的经验方药,临床使用具有良好的缓解疼痛、消肿、和止血的作用,能较好地控制肛肠病的术后综合症,加速创面愈合。本文的安全性实验表明,8 倍临床浓度的消痔洗剂未发现对大鼠和豚鼠有皮肤刺激性及过敏性。16.8 倍临床浓度的消痔洗剂未见红斑、水肿等常规的皮肤急性毒性,但发现有局部毛发稀疏少的现象(其他异常未见),这可能与药物浓度过高有关,由此提示临床应用时应避免高浓度的使用。另有研究表明^[10],家兔、豚鼠、大鼠动物的药物经皮渗透率都大于人的皮肤,因此高浓度的药液使用导致人局部皮肤毛发稀疏少的概率可能要小于动物实验。综上所述,消痔洗剂常规浓度下使用是一种安全的外用制剂。

参 考 文 献

- [1] 顾建华,陈新龙. 消痔洗剂治疗嵌顿性混合痔 70 例疗效观察[J]. 中成药,2011,33(7):1275-1276.
- [2] 王金双,顾建华. 消痔洗剂配合电脑熏洗治疗肛肠病术后创面愈合疗效观察[J]. 航空航天医学杂志,2013,24(3):351-352.
- [3] Wang Wei min,Zhou Qin,Liu Lu, et al. Anti-allergic activity of emodin on IgE-mediated activation in RBL-2H3 cells[J]. Pharmacological Reports,2012,64(5):1216-1222.
- [4] Fa Le Cao, Gang-Wei Shang, Yan Wang, et al. Antinociceptive effects of intragastric dl-tetrahydropalmatine on visceral and somatic persistent nociception and pain hypersensitivity in rats[J]. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 2011, 100(1): 199-204.
- [5] 韦姗姗,焦拥政,王丽霞,等. 中医方药剂量相关的安全性评价平台的构建[J]. 中国药理学杂志,2013,48(5):346-347.
- [6] 何伟. 应围绕证候开展中药上市后临床安全性再评价[J]. 中草药,2014,45(2):300-301.
- [7] 马建芳,罗华菲,武余波,等. 近期上市的经皮给药制剂[J]. 世界临床药物,2012,33(8):496-497.
- [8] 董延生. 药物安全性评价毒性病理平台的规范化建设与实践[D]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院,2012.
- [9] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2006:1018-1023.
- [10] 郑家润. 皮肤局部用药的安全性评价[J]. 中国新药杂志,2005,14(3):257-259.
- [11] 王琛,郭修田,梁宏涛,等. 陆金根治疗肛肠疾病术后并发症经验[J]. 上海中医药杂志,2010,44(1):9-10.
- [12] 莫国威,覃兴尤,陈梓杰,等. 双氯芬酸钠利多卡因联合长效止痛剂用于肛肠病术后疼痛的临床研究[J]. 中国医学创新,2013,10(13):37-38.
- [13] 郭追,徐伟. 混合痔治疗的研究进展[J]. 内蒙古医学杂志,2012,44(9):1078-1081.

(收稿日期:2014-05-20)

(本文编辑:董历华)