

肛痛消软膏药效学及毒性实验研究[※]

● 耿学斯^{1*} 肖秋平¹ 叶社房² 邱丽娟¹ 尤文质¹

摘要 目的:观察肛痛消软膏的镇痛、消肿、促进创面愈合作用及其安全性。方法:通过热板法观察肛痛消软膏的镇痛作用;采用二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀观察肛痛消软膏的消肿作用;通过二度烫伤家兔观察肛痛消软膏促进创面愈合作用;观察肛痛消软膏的皮肤刺激反应、皮肤过敏反应和急性毒性反应。结果:肛痛消软膏对热传导引起的疼痛反应有明显的拮抗作用;对小鼠耳廓肿胀有明显的抑制作用;能明显缩短家兔烫伤创面愈合时间;肛痛消软膏对豚鼠完整及破损皮肤无刺激性反应及过敏反应,家兔对肛痛消软膏未出现任何急性毒性反应。结论:肛痛消软膏具有良好的镇痛、消肿、促进创面愈合作用的作用,是一种安全的中药制剂。

关键词 肛痛消软膏 镇痛 消肿 促进创面愈合 毒性实验

肛痛消软膏是我科的协定处方,由汉防己、延胡索、黄柏、五倍子等中药及透皮剂氮酮组成。临床观察表明^[1],肛痛消软膏对防治痔术后创面肿痛,促进创面愈合方面具有明显的疗效。实验研究亦表明肛痛消软膏具有消肿止痛,促进创面愈合的疗效及无明显毒副作用,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 动物、仪器及试剂

1.1.1 动物 普通级昆明种小鼠,体重 22~26g;雌雄兼用;白色豚鼠,体重 280~300g,雌雄各半;家兔,体重 2kg 左右,雌雄各半。所有实验动物均购自厦门大学医学院实验动物中心。

1.1.2 仪器 梅特勒 AL-204 电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;HH-42 快速恒温数显水浴箱,常州国华电器有限公司生产;XSP3C 电脑型生物显微镜,上海万衡精密仪器有限公司生产。

※基金项目 厦门市科技局指导性项目(No: 3502Z20089032)

* 作者简介 耿学斯,男,主任医师、教授,硕士研究生导师。主要从事肛肠疾病临床及科研工作。

• 作者单位 1. 福建中医药大学附属厦门市中医院(361009); 2. 厦门大学材料学院(361005)

1.1.3 试剂 肛痛消软膏由厦门市中医院制剂室提供;太宁乳膏(复方角菜酸酯乳膏)由 Creapharm Bes-say SAS 提供,进口药品注册号: H20050047;硫化钠(配制成 6% 浓度,成都化学试剂厂,批号 030115);2,4,2 二硝基氯苯(配制成 1% 的致敏浓度和 0.1 的激发)浓度,上海试剂一厂,批号 031028;二甲苯,汕头市达濠区精细化学品有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 小鼠热板致痛法镇痛实验(热板法)^[2] 调节恒温器水温至 $55.0 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$,将 500mL 烧杯放入其中,使烧杯底部接触水面。每次取雄性小鼠 1 只,放入烧杯内。记录自放入烧杯至出现舔后足所需时间,作为该鼠的痛阈值。凡 30s 内不出现舔后足者,弃之不用。依次测量各小鼠的痛阈值,取预选合格的小鼠 30 只,重新测痛阈 1 次,将两次痛阈的平均值作为该鼠给药前的痛阈。将所选小鼠随机分为 3 组,即生理盐水对照组、太宁乳膏对照组和肛痛消软膏实验组,每组 10 只,各组将药物均匀涂抹于小鼠足底部。测定给药后 0.5h、1h、2h 各鼠的痛阈值,比较各组用药后不同时间平均痛阈与基础痛阈的差异,判断是否有镇痛作用。

1.2.2 小鼠耳廓二甲苯所致肿胀法抗炎实验^[3] 取小鼠 30 只,雌雄各半,随机均分 3 组,每组 10 只,外

涂生理盐水、太宁乳膏、肛痛消软膏组分别涂于小鼠左右两耳。0.5h后各组用二甲苯涂于小鼠左耳侧,1h后处死小鼠,剪下左右两耳,用9mm打孔器将小鼠双耳同部位等面积取下圆耳片,电子天平称重,计算耳廓重量,肿胀度 = 左耳重量 - 右耳重量,比较各组小鼠耳廓肿胀度。肿胀抑制率 = (生理盐水组平均肿胀度 - 给药组平均肿胀度) / 生理盐水组平均肿胀度 × 100%。

1.2.3 家兔烫伤法创面愈合实验 对家兔实验性皮肤创面愈合的影响 取家兔18只,体重2kg左右,雌雄各半,分为肛痛消软膏组、太宁乳膏组、生理盐水组,于实验前,将家兔背部脱毛,脱毛范围约40cm²,确认家兔皮肤无伤痕。用点状烫伤器(直径为1.5cm,温度为80度)紧贴已脱毛的腹部皮肤,持续45s造成2度烫伤,烫伤共6处,每侧3点,左右对称,然后按上述将药膏均匀的涂于创面上,逐日观察结痂时间和创面愈合时间。取愈合创面组织,切片、HE染色后用生物显微镜观察组织愈合后的切片情况。

1.2.4 皮肤刺激性实验^[4] 多次涂药对豚鼠皮肤刺激性试验,白色豚鼠20只,体重280~300g,雌雄各半。先在背部两侧皮肤上去毛各4cm×5cm,分别左侧涂布药膏,右侧涂布白蜡,用玻纸、纱布、胶布固定,连续7天,每日进行观察。于末次给药后24小时去除受试物,用棉花擦净药膏和白蜡。于1h、24h、48h、72h观察并记录涂药部位红斑和水肿情况,并进行刺激反应评分。评分标准如下:(1)皮肤刺激性反应评分标准:①红斑:无红斑为0分,轻度红斑(勉强可见)为1分,中度红斑(明显可见)为2分,重度红斑为3分,紫红色红斑到有焦痂形成为4分;②水肿:无水肿为0分,轻度水肿(勉强可见)为1分,中度水肿(明显可见)为2分,重度水肿(皮肤隆起1mm,轮廓清楚)为3分,严重水肿(皮肤隆起1mm以上,范围扩大)为4分;(2)皮肤刺激强度评分标准:平均积分值0~0.5为无刺激性,平均积分值0.5~2.0为轻度刺激性,平均积分值2.0~6.0为中度刺激性,平均积分值6.0~8.0为强刺激性(注:平均积分值 = 红斑形成总分 + 水肿形成总分 / 合计动物数)。

1.2.5 皮肤过敏实验^[4] 白色豚鼠30只,体重250~300g,随机分为3组,每组10只,雌雄各半,用6%硫化钠将背部脊柱两侧毛脱去,充分洗净脱剂。实验组予肛痛消软膏、阴性对照组给予白蜡、阳性对照组

给予二硝基氯苯(DNCB)。各组在两侧脱毛区分别给予致敏接触和激发给药。(一)致敏接触:均用玻纸,纱布,胶布固定,保持6h,用温水洗去残留物。第7天和第14天再同样涂药各1次;(二)激发试验:于末次给药致敏后14d,在脱毛区涂上受试药物,6h后去除涂物,即刻观察,并于24h、48h、72h再次观察皮肤过敏反应情况:(1)按规定对每只豚鼠过敏反应评分,计算每组的反应平均值,皮肤过敏反应评分标准如下:①红斑形成:无红斑为0分,轻度红斑为1分,中度红斑为2分,重度红斑为3分,水肿性红斑为4分;②水肿形成:无水肿为0分,轻度水肿为1分,中度水肿为2分,重度水肿为3分。(2)药物致敏反应的强度,按出现过敏反应的动物数百分率计算,致敏率 = 出现皮肤过敏反应阳性的动物例数 ÷ 受试动物总数,致敏率分类标准:0~10%为无致敏性(I度),20%~30%为轻度致敏性(II度),40%~60%为中度致敏性(III度),70%~80%为高度致敏性(IV度),90%~100%为强刺激性(V度)。按规定对每只豚鼠过敏反应评分,计算每组的平均值。

1.2.6 急性毒性实验^[5]

1.2.6.1 完整皮肤急性毒性试验 取健康家兔8只,雌雄各半,体重2.0±0.5kg。用6%硫化钠将背部脊柱两侧毛脱去,充分洗净脱剂。观察24h无刺激后,随机分为2组,即完整皮肤空白对照组(涂白蜡),完整皮肤软膏组。涂后用玻纸、纱布、胶布固定,24h后取下包扎物,用棉花擦去软膏和生理盐水观察7d。

1.2.6.2 破损皮肤急性毒性试验 取健康家兔8只,雌雄各半,体重2.1±0.4kg。用6%硫化钠将背部脊柱两侧毛脱去,充分洗净脱剂。观察24h无刺激后,在去毛皮肤上用手术刀片划4条平行的伤口,伤口均以不划破真皮为准,随机分为2组,即破损皮肤空白对照组(涂白蜡),破损皮肤软膏组。涂后用玻纸、纱布、胶布固定,24h后取下包扎物,用棉花擦去软膏和生理盐水观察7d。

1.3 统计学分析

所得数据计量资料均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用t检验,用spss14.0统计软件处理,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠热板镇痛法镇痛实验 见表1。

表1 肛痛消软膏组对热板法致痛小鼠痛阈的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	痛阈值(s)			
		基础痛阈	30 min	60 min	120 min
生理盐水组	10	12.28 ± 0.92	13.51 ± 0.96	14.81 ± 0.90	16.14 ± 1.36
太宁乳膏组	10	13.33 ± 0.90	17.23 ± 0.75*	21.54 ± 1.20*	25.07 ± 1.05*
肛痛消软膏组	10	13.51 ± 1.02	19.33 ± 0.84*#▲	25.54 ± 1.83*#▲	31.51 ± 2.50*#▲

注:与基础痛阈比较,* $P < 0.05$;肛痛消软膏组与生理盐水组比较,# $P < 0.01$;与太宁乳膏组比较,▲ $P < 0.05$ 。

2.2 小鼠耳廓二甲苯所致肿胀法抗炎实验 见表2。

表2 肛痛消软膏组对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	肿胀度(mg)	肿胀抑制率(%)
生理盐水组	10	7.13 ± 0.22	-
太宁乳膏组	10	4.80 ± 0.29*	32%
肛痛消软膏组	10	5.03 ± 0.19*	30%

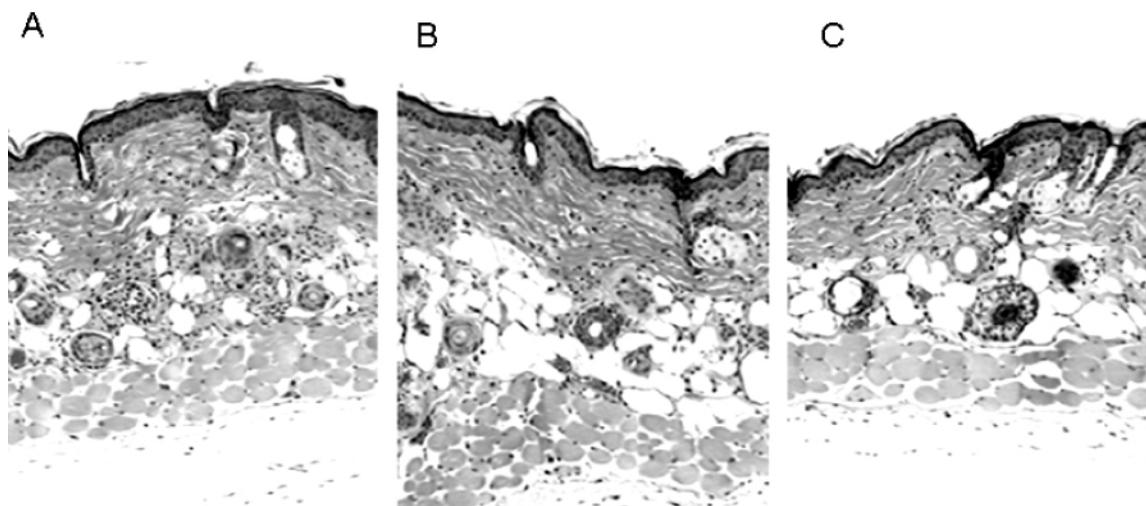
注:与生理盐水组比较,* $P < 0.05$ 。

2.3 家兔烫伤法创面愈合实验 见表3及图A、B、C。

表3 肛痛消软膏组对烫伤创面愈合的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	结痂时间(t/d)	创面愈合时间(t/d)
生理盐水组	6	7.83 ± 0.41	11.17 ± 0.75
肛痛消软膏组	6	5.33 ± 0.52*	7.33 ± 0.82*
太宁乳膏组	6	5.16 ± 0.41*	6.50 ± 0.55*

注:与生理盐水组比较,* $P < 0.05$ 。



A图:生理盐水组;B图:肛痛消软膏组;C图:太宁乳膏组

注:生理盐水组显示,上皮组织愈合后,皮下组织层内仍有较明显的慢性炎症细胞浸润,部分小血管处于充血状态。肛痛消软膏及太宁乳膏处理后,上皮组织已经完全愈合,与生理盐水组比较,皮下组织层内毛细血管增多,浸润的慢性炎症细胞明显减少,未见小血管充血。

2.4 皮肤刺激性实验 见表4。

表4 肛痛消软膏处理对豚鼠皮肤刺激性的影响

给药时间 h	红斑形成(分)		水肿形成(分)		反应平均分(分)		刺激强度评价	
	软膏	白蜡	软膏	白蜡	软膏	白蜡	软膏	白蜡
1 h	3	0	1	0	0.4	0	轻度	无
24 h	0	0	0	0	0	0	无	无
48 h	0	0	0	0	0	0	无	无
72 h	0	0	0	0	0	0	无	无

注:软膏接触豚鼠皮肤1小时显示轻度刺激性;而在24、48、72小时后,软膏对豚鼠的均未显示刺激性。

2.5 皮肤过敏实验 见表5。

表5 肛痛消软膏处理对豚鼠皮肤过敏情况

给药时间 h	红斑形成(分)			水肿形成(分)			反应平均分(分)			刺激强度评价		
	软膏	白蜡	DNCB	软膏	白蜡	DNCB	软膏	白蜡	DNCB	软膏	白蜡	DNCB
6 h	3	1	10	2	1	10	0.5	0.2	2	I	I	V
24 h	1	0	14	2	0	18	0.3	0	2	I	I	V
48 h	0	0	20	0	0	20	0	0	2	I	I	V
72 h	0	0	20	0	0	20	0	0	4	I	I	V

注:二硝基氯苯组豚鼠激发部位的皮肤呈中度发红,轻度水肿,表明有致敏性。而软膏组和白蜡组未发现过敏反应。

2.6 急性毒性实验

2.6.1 完整皮肤急性毒性试验 观察期间两组动物饮食、活动、毛发、粘膜均正常;肛痛消软膏组体重增加 $19.25 \pm 0.96g$,空白组体重增加 $19.75 \pm 1.26g$,两组间体重增加差异无统计学意义。中枢神经系统及消化系统均未见异常反应。涂白蜡与涂肛痛消软膏皮肤局部未见发红现象。

2.6.2 破损皮肤急性毒性试验 观察期间两组动物涂药皮肤均未见发红;两组动物体重均增加,肛痛消软膏组体重增加 $18.75 \pm 1.26g$,空白组体重增加 $18.75 \pm 0.76g$,两组间体重增加差异无统计学意义;饮食、活动如常,毛发和粘膜亦未见异常;两组皮肤伤口均在1周左右基本愈合。

3 讨论

混合痔术后肿痛,是由于手术刺激体内局部多种血管活性物质释放,血管壁通透性增高,组织间积液增多,同时括约肌收缩使静脉、淋巴回流障碍导致水肿^[6]。同时由于排便和分泌物刺激,使肛门内括约肌收缩、痉挛,以及局部炎症介质释放刺激暴露于切口处的躯体神经末梢,引起术后创面疼痛^[7]。

外治法是将药物直接作用于皮肤或黏膜,使之吸收,从而发挥治疗作用,也是外科所独具的治疗方法。

肛痛消软膏由汉防己、延胡索、黄柏、五倍子、三七粉、乳香、白芷、冰片、麻油、薄荷脑等中药以及透皮剂氮酮组成。方中汉防己、延胡索活血化瘀、消肿止痛,具有明显的镇痛和抗炎作用,为方中君药。三七粉活血化瘀而消肿定痛;乳香、白芷苦寒清泄,辛散消肿,能够消肿生肌止痛;黄柏味苦,性寒,能清热燥湿,除下焦湿热;五倍子收涩消肿敛疮,可在创口表面形成保护膜以促愈合,诸药共助君药以加强止痛消肿,促进创面愈合,共为臣药。冰片通诸窍、散郁火、清热止痛;薄荷芳香辟秽,兼能化湿,二药清热利湿,消肿止痛,二者所含的挥发油成分具有解热镇痛、抗炎抗菌的作用,麻油能润肤生肌,且薄荷脑及冰片(龙脑)能够促进药物有效成分经皮肤吸收,共为佐使之药。诸药相合,共奏止痛消肿、敛疮生肌之功。氮酮能通过增加角质层类脂流动性溶解皮肤的类脂来增加药物的透皮吸收^[8]。

药效学实验结果证实肛痛消软膏在不同的时间点对小鼠痛阈值有明显的提高;能抑制二甲苯所致小鼠耳壳肿胀,具有消肿抗炎作用;对家兔的2度烫伤创面的愈合有显著的促进作用;愈后组织切片观察可知肛痛消软膏能使组织层内浸润的慢性炎症细胞明显减少,未见小血管充血。结合临床疗效观察^[1],我们认为其作用机理可能如下:①膏药有效成分渗透至

创面表面血管,通过扩张血管,减低血管阻力,促进气血运行,增加血流量,明显改善局部组织中的微循环,减少致痛物质的聚集;通过减少致痛物质及炎性介质,相对提高患者痛觉神经对疼痛刺激的耐受能力,由此提高痛阈,缓解了术后疼痛。②药物有效成分可直接抑制或减轻局部水肿,抑制炎症介质释放,减少炎性渗出,起到抗炎的作用。③药物所含的生物碱与皮肤及黏膜溃疡面接触后组织蛋白被凝固,具有很好的延展性和舒适感,可以在创面形成一层保护膜;通过扩张血管,减低血管阻力,减少炎性介质释放,促进成纤维细胞及毛细血管增生,增强组织修复能力,促进创面愈合。现代中药药理学亦证实^[9],方中汉防己、延胡索、三七、乳香均含有多种生物碱,具有抗炎消肿、止痛作用;黄柏具有广谱的抗菌作用,能够阻断神经节,对中枢神经有抑制的作用;五倍子、白藜对多种致病菌有抑菌和杀菌作用,减少创面渗出,并在创面形成保护膜,促进创面愈合作用;薄荷脑、冰片局部用药具有清凉、止痒、止痛、止血等作用,同时具有抗炎解热的作用。

毒性实验表明肛痛消软膏仅早期对豚鼠皮肤有轻度刺激作用,这可能与透皮剂氮酮、冰片的轻微刺激作用有关,中远期无明显刺激,且可以促进创面愈合。肛痛消软膏在皮肤过敏试验及药物急性毒性试

验中均未见明显异常。

综上所述,肛痛消软膏组方简洁,药源丰富,成本低廉,无刺激,无毒性,不失为使用方便、疗效好、安全性高的外治药物。

参考文献

- [1]耿学斯,肖秋平.肛痛消软膏防治混合痔外剥内扎术后疼痛的临床观察[J].中国肛肠病杂志,2009,29(6):18.
- [2]徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1993:695.
- [3]徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1993:719.
- [4]王北婴.中药新药研制与申报[M].北京:中国中医药出版社,1995:260-263.
- [5]中华人民共和国卫生部药政管理局.中药新药研究指南(药理学、毒理学)[M].北京:中华人民共和国卫生部药政管理局,1994:206-210.
- [6]黄河,陆金根,曹永清.草木犀流浸液片内服加中药熏洗防治混合痔术后并发症[J].上海中医药杂志,2008,42(8):42.
- [7]徐加成,任维才,姜玉婵.复方角菜酸酯乳膏在混合痔外剥内扎术后的应用[J].中国中西医结合外科杂志,2007,13(6):539.
- [8]邱丽娟,耿学斯,肖秋平,等.肛痛消软膏在混合痔术后的应用[J].中国中西医结合外科杂志,2010,16(8):532-534.
- [9]沈丕安.中药药理与临床运用[M].北京:人民卫生出版社,2006:296-829.

中医典故

华佗师蜘蛛

一天,华佗外出,遇到一位采桑女被黄蜂螫伤。采桑女见是华佗,自认遇到了救星,恳请华佗医治。

华佗采用一般的解毒药,医治无效。他先后到民间访问拜师,查找前人医典,都说此地黄蜂剧毒,无药可治。

采桑女的病情日益严重,华佗束手无策。一日,华佗在山间散步,见一只黄蜂在山间飞来飞去,触景生情,华佗想起了采桑女无药可治,不禁摇头叹气。

忽然见黄蜂撞在蜘蛛网上,被蛛丝缠住难以脱身,蜘蛛赶去抢食,反被黄蜂螫伤,滚落在地上,腹胀如鼓。蜘蛛就在地面青苔上打滚,说也奇怪,不一会儿,便若无其事地再爬上蛛网,与黄蜂搏斗。如此数次,黄蜂毒汁耗尽,最后成了蜘蛛的美食。

华佗以蜘蛛为师,认定青苔是解蜂毒的良药。于是,他采集了大量的青苔,不但为采桑女子解了危,还制成了专治蜂毒的良药。