

中西药复方蛇脂清癣软膏抗真菌及抗炎作用研究*

曹 亮,陶晓倩,李 娜,丁为现,丁 岗,萧 伟**

(江苏康缘药业股份有限公司/中药制药过程新技术国家重点实验室/

江苏省企业院士工作站 连云港 222001)

摘 要:目的:研究中西药复方蛇脂清癣软膏对真菌感染动物的治疗作用及抗炎作用。方法:采用红色毛癣菌和羊毛状小孢子菌感染的豚鼠模型,观察硝酸咪康唑与蛇油、苦参等中药合用制成的蛇脂清癣软膏(SZQX 软膏)经皮肤给药后的抗真菌感染作用;并同时观察其对巴豆油所致小鼠耳肿胀、角叉菜胶诱发大鼠足肿胀的影响。结果:SZQX 软膏对红色毛癣菌和羊毛状小孢子菌分别感染的豚鼠有保护作用,可明显降低感染豚鼠局部皮损的镜检评分($P<0.01$),效果优于中西药单独运用;SZQX 软膏还能显著减轻巴豆油致小鼠耳肿胀程度、减轻角叉菜胶诱发的大鼠足肿胀程度($P<0.05$ 或 $P<0.01$),具有明显的抗炎作用,且优于中、西药单独运用。结论:SZQX 软膏具有明显的抗真菌感染及抗炎作用。

关键词:中西药合用 蛇脂清癣软膏 抗真菌 抗炎

doi: 10.11842/wst.2013.09.019

中图分类号:R965

文献标识码:A

蛇脂清癣软膏(SZQX 软膏)处方来源于临床经验方,为中西药结合的复方,由蛇油、硝酸咪康唑、苦参、珍珠粉、薄荷脑、冰片 6 味药组成,经过临床应用具有明显疗效,具有清热燥湿、收敛生肌之功效,用于真菌感染引起的体癣、股癣、手足癣等,还可用于老年性皮肤干燥等引起的瘙痒以及寻常痤疮、手足皲裂、轻度冻伤等症。江苏康缘药业股份有限公司在此基础上对该品种进行研究,经过前期考察发现蛇脂清癣软膏对红色毛癣菌、羊毛状小孢子菌、石膏样毛癣菌、紫色毛癣菌、白色念珠菌等均有较好的体外抗菌杀菌活性作用,还具有对抗磷酸组织胺所致豚鼠皮肤搔痒的药理作用,提示本品具有良好的开发前景。本研究旨在探讨其对真菌感染动物的治疗作用及抗炎作用。

1 材料

1.1 药品、试剂和菌株

SZQX 软膏由硝酸咪康唑、蛇油、苦参、珍珠粉、薄荷脑、冰片按照一定比例加赋形剂制备而成, SZQX 软膏中药组由蛇油、苦参、珍珠粉、薄荷脑、冰片按照一定比例加赋形剂制备而成, SZQX 软膏西药组由硝酸咪康唑按照一定比例加赋形剂制备而成,为白色至淡黄色软膏,外用,以上均由江苏康缘药业股份有限公司制备而成;巴豆油,自制,方法为取巴豆 100 g,苯作提取液,索氏提取法连续回流至无色,收集提取液,浓缩得巴豆油,临用前配成 2% 巴豆油溶液(2%巴豆油、20%无水乙醇、5%蒸馏水和 73%乙醚);角叉菜胶,辽宁省药物研究所提供;红色毛癣菌、羊毛状小孢子菌,由南京皮肤病研究所从临床不同标本中分离并鉴定后提供。

收稿日期:2013-10-09

修回日期:2013-10-29

* 科学技术部国家重大新药创制项目(2013ZX09402203) 现代中药创新集群与数字制药技术平台,负责人:王振中。

** 通讯作者:萧伟,本刊编委,研究员级高级工程师,博士,主要研究方向:中药制剂的研究与开发。

1.2 动物

清洁级 SD 大鼠、ICR 小鼠,由扬州大学比较医学中心提供,生产许可证:SCXK(苏)2007-0001;豚鼠,由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供,生产许可证:SCXK(苏)2007-0008。

2 统计方法

实验所得数据采用 SPSS 13.0 统计软件分析,结果均用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 ANOVA(One-way Analysis of Variance)单因素方差分析,组间比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 方法与结果

3.1 对红色毛癣菌感染豚鼠、羊毛状小孢子菌感染豚鼠的影响

取豚鼠 200 只,体质量 200~220 g,雌雄各半。将豚鼠背部剃毛,面积约 9 cm²(约 3 cm×3 cm),用细砂纸(400#)在剃毛部位擦拭,然后用无菌生理盐水擦洗 3 次后,各取 100 只豚鼠用棉签分别蘸取已经培养 5 天的红色毛癣菌液、羊毛状小孢子菌液涂布在创伤部位。菌液涂布连续 10 日,每日 2 次。第 11 日洗净创伤部位后,随机挑取 3 处皮损部位的鳞屑进行镜检观察。根据皮损的特征和镜检出的菌丝,判断感染模型的建立^[1-3]。

分别取感染红色毛癣菌及感染羊毛状小孢子菌液成功的豚鼠 60 只,随机分为 6 组,每组 10 只,雌雄各半。即模型组、SZQX 小剂量组(0.08 g 生药·kg⁻¹·d⁻¹,含 9% 中药和 1.5% 西药硝酸咪康唑)、SZQX 中剂量组(0.15 g 生药·kg⁻¹·d⁻¹,含 18% 中药和 3% 西药硝酸咪康唑)、SZQX 大剂量组(0.30 g 生

药·kg⁻¹·d⁻¹,含 36% 中药和 6% 西药硝酸咪康唑)、SZQX 中药组(0.13 g 生药·kg⁻¹·d⁻¹,含 18% 中药)、SZQX 西药组(0.02 g 生药·kg⁻¹·d⁻¹,含 3% 硝酸咪康唑)。各组统一添加赋形剂配制后统一按照 0.72 g 制剂·kg⁻¹·d⁻¹ 给药(给药剂量:按照动物体质量折算获得用量后,称取该用量的药膏后供给药),给药方法为用棉签取称量好的相应药物均匀涂抹豚鼠皮损部位,每日 3 次,连续涂药 10 日。

10 日后每只豚鼠随机挑取皮损部位 3 处的鳞屑进行镜检,并结合皮损部位的特征,评分判断药物保护作用。皮损状况由重到轻的程度分别标记为“++++、+++、++、+”,完全恢复者为“-”,分别记分为 4 分、3 分、2 分、1 分、0 分^[3]。计算出每组豚鼠皮损情况的均分,分值越高提示皮损越严重,反之表明治疗有效。

红色毛癣菌、羊毛状小孢子菌感染豚鼠局部皮肤后,皮损部位初起为红色丘疹、丘疱疹或小水疱,继而形成有鳞屑的红色斑片,形成境界清楚的环行

皮损部位镜检及外观症状评分

评价	皮损部位镜检及外观症状	得分
++++	镜检菌丝数很多,皮损部位症状很明显(感染部位呈深红色)	4
+++	镜检菌丝数较多,皮损部位症状较明显(感染部位呈红色)	3
++	镜检菌丝数较少,皮损部位症状不太明显(感染部位呈浅红色)	2
+	镜检菌丝数很少,皮损部位症状很不明显(感染部位呈粉红色)	1
-	镜检未见菌丝,皮损部位症状基本恢复	0

表 1 SZQX 软膏对两种真菌感染的豚鼠皮肤的作用($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量(g 生药·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	红色毛癣菌感染豚鼠皮肤评分	羊毛状小孢子菌感染豚鼠皮肤评分
模型组	-	3.5±0.53	3.6±0.52
SZQX 小剂量组	0.08	1.7±0.67**	1.9±0.74**
SZQX 中剂量组	0.15	1.0±0.67**	1.1±0.88**
SZQX 大剂量组	0.30	0.5±0.53**	0.8±0.63**
SZQX 中药组	0.13	1.4±0.70**	1.3±0.67**
SZQX 西药组	0.02	1.3±0.67**	1.4±0.70**

注:与模型组比较,** $P < 0.01$ 。

或多环行状,边缘可分布丘疹、丘疱疹或小水疱;该处鳞屑镜下能检查到菌丝或孢子。模型组连续涂布赋形剂后,豚鼠皮损部位外观及镜检几乎无变化;而SZQX软膏各剂量对两种真菌感染豚鼠模型的皮损部位均有一定的抵抗作用,镜检菌丝或孢子数显著减少,外观皮损症状好转或消失,与模型组比较有显著性差异($P<0.01$)。SZQX中药软膏、SZQX西药软膏也有一定的治疗作用,合用(即SZQX软膏中剂量)后效果更优,结果见表1。

3.2 对巴豆油所致小鼠耳肿胀的影响

取正常ICR小鼠60只,体重25~28 g,雄性。随机分为6组,每组10只小鼠。即模型组、SZQX小剂量组(0.15 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含9%中药和1.5%西药硝酸咪康唑)、SZQX中剂量组(0.31 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含18%中药和3%西药硝酸咪康唑)、SZQX大剂量组(0.62 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含36%中药和6%西药硝酸咪康唑)、SZQX中药组(0.26 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含18%中药)、SZQX西药组(0.04 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含3%硝酸咪康唑)。各组统一添加赋形剂配制后统一按照1.47 g制剂·kg⁻¹·d⁻¹给药(给药剂量:按照动物体重折算获得用量后,称取该用量的药膏后供给药),给药方法为用棉签取称量好的相应药物均匀涂抹小鼠耳朵两面,连续涂药4日,每日两次。第4日末次涂药1 h后,各给药组以蒸馏水洗去膏药,用干棉球擦净。用2%巴豆油0.05 mL涂于小鼠左耳前后两面,在致炎4 h后处死小鼠,沿耳廓基线剪下左右两耳,用打孔器(直径9 mm)分别在同一部位取下圆耳片,电子天平称重,以小鼠左右耳壳重量之差值作为耳壳肿胀度,并计算肿胀百分率,肿胀百分率=(左耳壳重-右耳壳重)/右耳壳重×100%。

与模型组相比,SZQX软膏中、大剂量均能明显减轻巴豆油致小鼠耳肿胀率($P<0.05$);中药组虽有一定减轻肿胀度的趋势,但与模型组比较无显著性差异;西药组耳肿胀率则未见改善。结果提示合用(即SZQX软膏中剂量)后效果较明显。结果见表2。

3.3 对角叉菜胶诱发大鼠足肿胀的影响

取正常SD大鼠60只,体重170~200 g,雄性。随机分为6组,每组10只。即模型组、SZQX小剂量组(0.08 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含9%中药和1.5%西药硝酸咪康唑)、SZQX中剂量组(0.15 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含18%中药和3%西药硝酸咪康唑)、SZQX大剂量组(0.30 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含36%中药和6%西药硝酸咪康唑)、SZQX中药组(0.13 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含18%中药)、SZQX纯西药组(0.02 g生药·kg⁻¹·d⁻¹,含3%硝酸咪康唑)。各组统一添加赋形剂配制后统一按照0.72 g制剂·kg⁻¹·d⁻¹(给药剂量:按照动物体重折算获得用量后,称取该用量的药膏后供给药),给药方法为用棉签取称量好的相应药物均匀涂抹于大鼠右后肢足跖处,连续涂药4日,每日两次。第4日实验前测量各组大鼠足跖厚度,各给药组涂药1 h后,以蒸馏水洗去膏药,用干棉球擦净。在大鼠右后肢足跖皮下注射1%角叉菜胶0.05 mL每只,同时再涂药一次,测量致炎后0.5、1、2、3、4、6 h分别测量足跖厚度。以肿胀前后厚度之差值为肿胀度。

与模型组比较,SZQX软膏中剂量组药后1~4 h、SZQX软膏大剂量组药后1~6 h、SZQX纯中药组药后3 h均能显著减轻角叉菜胶诱发的大鼠足肿胀度($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。SZQX纯西药软膏给药后与模型组比较无显著性差异,SZQX纯中药、纯西药软膏的作用不如合用的SZQX中剂量组。结果见表3。

表2 SZQX软膏对巴豆油所致小鼠耳肿胀的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/g 生药·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	耳壳肿胀度/mg	肿胀率/%
模型组	—	28.92±4.50	179.69±48.09
SZQX小剂量组	0.15	27.52±4.03	180.13±32.56
SZQX中剂量组	0.31	25.52±6.64	141.78±25.06*
SZQX大剂量组	0.62	23.25±7.80	132.75±42.54*
SZQX中药组	0.26	29.37±4.13	162.10±36.99
SZQX西药组	0.04	26.03±3.59	174.36±25.29

注:与模型组比较,* $P<0.05$ 。

表 3 SZQX 软膏对角叉菜胶诱发大鼠足肿胀度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 /g 生药量·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	肿胀度/mm					
		0.5 h	1 h	2 h	3 h	4 h	6 h
模型组	—	0.75±0.49	1.55±0.68	2.19±0.64	2.79±0.67	2.87±0.76	2.26±0.77
SZQX 小剂量组	0.08	0.57±0.31	1.21±0.40	1.76±0.41	2.44±0.51	2.59±0.48	2.28±0.57
SZQX 中剂量组	0.15	0.52±0.16	1.08±0.18*	1.61±0.27*	2.02±0.32**	2.21±0.41*	1.87±0.52
SZQX 大剂量组	0.30	0.49±0.15	1.00±0.28*	1.46±0.34**	1.97±0.43**	1.98±0.49**	1.53±0.59*
SZQX 中药组	0.13	0.57±0.34	1.19±0.43	1.70±0.49	2.18±0.56*	2.54±0.50	2.46±0.51
SZQX 西药组	0.02	0.63±0.22	1.34±0.27	1.91±0.30	2.47±0.26	2.74±0.37	2.45±0.49

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

4 讨论

皮肤癣菌是侵犯表皮角质层或有角质结构的毛发和甲而引起人和动物浅部真菌病的真菌。皮肤癣菌所致的浅部真菌病是皮肤科常见病,常伴有明显的痒症和炎症反应,有较高的发病率和复发率^[4]。目前用于真菌感染的化学药物主要是多烯类、氨基甲酸酯类和唑类,多数为直接的抗真菌作用,对真菌感染后引起的炎症反应不具有治疗作用,且易产生耐药性,某些抗真菌药还因其严重的急慢性不良反应,如溶血、肾功能衰竭等限制了其临床使用。中医药的治疗有一定优势,内服、外用均有一定疗效,内服主要是养阴清热、熄风止痒,多为汤剂,成药很少。外用品种有复方土荆皮酊、复方土荆皮涂膜剂、癣灵药水、冰黄肤乐软膏等,存在疗效不稳定的情况,且多为酊剂、药水、油膏、散剂等,剂型落后,尽管近年来中药抗真菌研究不断有新发现,但大多数研究仍局限于体外抑菌或杀菌实验,活性作用尚不能完全确证^[5-6]。

蛇脂清癣软膏为中西药复方制剂,方中蛇油具有解毒消肿、收敛生肌之功效,有治疗水火烫伤、冻伤及皮肤皲裂等作用^[7]。硝酸咪康唑属于咪唑类药物,在体内外均有较强的抗真菌作用,已广泛用于霉菌性阴道炎、股癣、褥疮、外耳道炎等感染性皮肤病。苦参清热解毒、消肿止痛,也具有明显的抗真菌作用^[8]。珍珠粉外用具有解毒生肌功效,用于抗炎及疮疡^[9,10]。薄荷脑、冰片常外用用于皮肤或粘膜上,能

够产生清凉感,从而减轻搔痒及疼痛,在中药外用成方制剂中主要利用其清凉、芳香及驱风止痛的功能,还能促进局部血流速度和改变局部皮肤结构,从而促进方中其它药味的渗透吸收^[11]。本方中以蛇油为君,解毒消肿、收敛生肌;臣以硝酸咪康唑杀虫疗癣,苦参清热燥湿;佐以珍珠粉解毒生肌;薄荷脑、冰片为使,清热止痛,又促进其它药味的吸收,使其更好的发挥作用。诸药合用,共奏清热燥湿、杀虫疗癣之功。本文研究显示蛇脂清癣软膏在抗红色毛癣菌和羊毛状小孢子菌分别感染的豚鼠试验上效果较明显,提示本方具有拮抗真菌感染引起的皮损的作用。值得关注的是,本方中的中药单用抗炎症反应较弱,化药硝酸咪康唑单独运用未见抗炎症的作用,蛇脂清癣软膏(中西药合用)在抑制巴豆油致小鼠及角叉菜胶诱发的大鼠炎症反应显著,提示合用具有协同增效作用,具体机制有待进一步深入研究。

笔者前期基础研究发现,本方中西药共用,对红色毛癣菌、石膏样毛癣菌、紫色毛癣菌、羊毛状小孢子菌、絮状表皮癣菌、白色念珠菌等真菌具有较强的体外抗菌杀菌活性,对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌等实验菌株也有一定的抗菌活性,对磷酸组织胺所致豚鼠皮肤搔痒的也具有明显的改善,本品对大鼠完整皮肤和破损皮肤连续皮肤用药9周未见局部刺激性、过敏反应及明显的组织病变,提示其安全可靠。综合前期研究结果提示本方的联合应用可能具有协同增效减毒的作用。因此,本方具有进一步深入研究及开发的前景。

参考文献

- 1 陈先进,沈永年,吕桂霞,等.红色毛癣菌感染豚鼠模型的构建.中国医学科学院学报,2008,30(5):599~602.
- 2 沈永年,吕桂霞,李筱芳,等.美克乳膏治疗豚鼠癣病模型效果的研究.青岛:中华医学会第二次医学真菌学术会议暨医学真菌实验室研究技术新进展学习班论文汇编,2007.
- 3 Apisariyakul A, Vanittanakom N, Buddhasukh D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *J Ethnopharmacol*, 1995, 49(3):163~169.
- 4 帕丽达·阿布拉孜.皮肤癣菌与皮肤癣菌病.皮肤性病诊疗学杂志,2010,17(1):83~84.
- 5 周巧霞,张经硕.抗真菌药物及其临床应用进展.抗感染药学,2008,5(1):11~18.
- 6 汪长中,王龙海.真菌的中药干预研究近5年进展.中国中药杂志,2010,35(13):1769~1772.
- 7 许惠琴,金胜娥,徐立,等.蛇油治疗烫伤及其它药理作用的初步研究.南京中医药大学学报(自然科学版),1990,6(2):52.
- 8 桂蜀华,付涛,梁远园,等.苦参碱体外抗真菌活性研究.中药新药与临床药理,2011,22(4):382~385.
- 9 吴希美,沈文会,谢强敏.可溶性珍珠粉和珍珠粉的抗炎作用比较.第七届中国抗炎免疫药理学术会议论文摘要集,2000.
- 10 马仙萍,田国祥,丁伟勇.珍珠粉对痤疮丙酸杆菌感染的体内药效学研究.中国药业,2000,9(9):16~17.
- 11 周庄,林学锦.薄荷脑、冰片及合用对青藤碱体外透皮吸收的影响.福建中医药,2011,42(3):51~52.

Study on Antifungal and Anti-inflammatory Effects of Chinese and Western Medicine

She-Zhi Qin-Xian Ointment

Cao Liang, Tao Xiaoqian, Li Na, Ding Weixian, Ding Gang, Xiao Wei

(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd./ State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process / Jiangsu Enterprise Academician Workstation, Lianyungang 222001, China)

Abstract: This article was aimed to study the therapeutic effects and anti-inflammatory effects of Chinese and western medicine ointment on fungal infection animals. Guinea pig models which were infected with *Trichophyton rubrum* or *Microsporum lanosum* were applied to observe the effects of antifungal infections on *She-Zhi Qin-Xian* (SZQX) ointment by transdermal administration. The ointment is the combination of miconazole nitrate, snake oil and *Sophora flavescens* which is traditional Chinese medicine (TCM). Simultaneously, the models of croton oil-induced mouse ear swelling and carrageenan-induced rat paw swelling were established to observe the curative effect of SZQX ointment. The results showed that the SZQX ointment had a protective role on both guinea pig models. The microscopic scale of localized lesions in infected guinea pigs was significantly decreased ($P < 0.01$). The effect of SZQX ointment was better than the single using of Chinese or western medicine. The SZQX ointment was also able to significantly reduce the croton oil-induced mouse ear swelling and carrageenan-induced rat paw swelling ($P < 0.05$, or $P < 0.01$) with distinct anti-inflammatory effect. And the effect of SZQX ointment was superior to the single using of either Chinese or western medicine. It was concluded that the SZQX ointment had significant antifungal infection and anti-inflammatory effect.

Keywords: Combination of Chinese and western medicine, *She-Zhi Qin-Xian* ointment, antifungal, anti-inflammatory

(责任编辑 张丰丰 张志华, 责任译审 王 晶)