

痛消膏经皮单次给药毒性实验研究*

毛得宏¹ 李国俊^{1△} 郭亮² 刘渝松² 彭志财¹ 金贵根¹ 姜维成¹ 郭剑华²

(1.重庆市永川区中医院,重庆 402160;2.重庆市中医骨科医院,重庆 400010)

中图分类号:R285.5 文献标志码:A 文章编号:1004-745X(2019)07-1229-03

doi:10.3969/j.issn.1004-745X.2019.07.027

【摘要】 目的 研究痛消膏经皮单次给药对机体所产生的毒性反应,为其临床用药和推广提供实验依据。方法 选取新西兰家兔为研究对象,采用最大给药量法及对照法观察痛消膏经皮单次给药后新西兰家兔出现的毒性反应情况。**结果** 痛消膏经皮单次给药后对新西兰家兔未见明显毒性反应,亦未见死亡或濒死;对新西兰家兔体质量及体质量增长未见明显影响;给药后第14天对全部实验新西兰家兔进行剖检,肉眼观察组织、器官病变,均未见明显异常改变。**结论** 痛消膏经皮单次给药未见明显毒性反应,具有良好的安全性。

【关键词】 痛消膏 皮肤 单次给药 毒性实验 新西兰家兔

Experimental Study on Toxicity of Tongxiao Ointment by Single Transdermal Administration Mao De-hong, Li Guojun, Guo Liang, et al. Yongchuan District TCM Hospital of Chongqing, Chongqing 402160, China.

【Abstract】 Objective: To study the toxic reaction of Tongxiao Ointment to organism by single transdermal administration, and to provide experimental basis for its clinical medication and promotion. **Methods:** New Zealand rabbits were selected as the study subjects. The maximum dose and contrast method were used to observe their toxicity after single transdermal administration. **Results:** There was no obvious toxicity in New Zealand rabbits after single transdermal administration, without death or sudden death. There was no significant effect on the growth and body weight of rabbits. On the 14th day after the administration, all rabbits were examined with necropsy, and no obvious abnormal changes were observed in tissues and organ lesions. **Conclusion:** Tongxiao Ointment has no obvious toxicity and good safety by single transdermal administration.

【Key words】 Tongxiao Ointment; Skin; Single dose; Toxicity test; New Zealand rabbit

痛消膏由生大黄、黄芩、栀子、黄柏、姜黄、三七、泽兰、侧柏叶、芙蓉花叶、乳香、没药等中药组成,具有活血化瘀、清热凉血、消肿止痛的作用^[1],临床上主要用于急性筋伤。虽然痛消膏在临床上已使用较久,但是对于其安全性,临床上却未见相关报道。为了考察痛消膏外用安全性,本试验对新西兰家兔皮肤单次给予最大给药量痛消膏,观察给药后家兔出现的毒性反应,为临床安全用药提供科学依据^[2-4]。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 新西兰家兔18只,雌雄各半,年龄10~12周,体质量1.8~2.2 kg,由重庆市中药研究院实验动物研究所提供,生产许可证号:SCXK(渝)2012-0006。饲养于普通级动物房第六动物实验室,温度19.0~23.0℃,湿度58%~68%。每日给予兔生长繁殖饲料[来源:北京科澳协力饲料有限公司,批号17024121,生产许可证号:SCXK(京)2014-0010],由家兔自由摄

取。每日给予兔生活饮用水送重庆市南岸区疾病预防控制中心检测,符合《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006)要求,每日更换水瓶,由家兔自由摄取。

1.2 试剂与仪器 1)试剂:痛消膏(重庆市永川区中医院提供,批号:20170301,棕褐色软膏,每1 000 g软膏含生药300 g,即生药含量0.3 g);白凡士林(天圣制药集团股份有限公司,批号:161102)。0.9%氯化钠注射液(西南药业股份有限公司,批号:16080009);硫化钠(成都市科龙化工试剂厂,批号:2015020401);无水乙醇[重庆市川东化工(集团)有限公司,批号:20160801]。2)仪器:R2000-15计重计数称[奥豪斯仪器(常州)有限公司];BSA5201电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.3 动物分组 动物检疫及适应性饲养观察结束后称体质量,选取健康合格家兔18只,应用随机数字表法分为3组,每组6只,雌雄各半。分别为空白对照组、基质对照组、痛消膏组。每笼饲养1只动物。给药前约24 h备皮,用6%的硫化钠脱毛剂将动物背部脊柱两侧毛发脱去,去毛范围约相当于体表面积的10%左右

* 基金项目:重庆市卫健委科研项目中医药科技计划项目(ZY201402154)

△通信作者(电子邮箱:420439@qq.com)

(约 150 cm²)^[1]。

1.4 给药设计 根据《中药外用药理实验技术规范(草案)》^[3],粉末或膏状原则上以均匀涂覆在给药区一层,厚度约 1~2 mm 为度;液体可直接湿敷,选用纱布定量吸附液体(吸附量以不明显滴液体为度)。专题组通过预试验确定,150 cm²左右的纱布(相当于新西兰兔最大去毛体表面积)最大能吸附约 10 mL 液体。白凡士林密度为 0.88 g/mL,痛消膏密度为 0.97 g/mL,临床用法为每 10 克敷 100 mm×100 mm,即 0.1 g/cm²。

根据《药物单次给药毒性研究技术指导原则》^[5],可采用单次或 24 h 内多次给药的方式获得药物急性毒性信息。痛消膏组单次(24 h 内 2 次)给予密度为 0.97 g/mL、浓度 0.3 g 生药/g 的痛消膏,并给予最大给药面积[约 150 cm²/(只·次)],故给药剂量=150 cm²/(只·次)×0.1 g/cm²=15 g/(只·次),给药体积=15 g/(只·次)÷0.97 g/mL=15.5 mL/(只·次),24 h 生药给药总剂量=2 次×15 g/(只·次)×浓度 0.3 g 生药/g=9 g 生药/只。另设基质对照组 24 h 内 2 次分别同样给予白凡士林 15 g/(只·次),给药体积=15 g/(只·次)÷0.88 g/mL=17 mL/(只·次);空白对照组 24 h 内 2 次分别给予 0.9%氯化钠注射液 10 mL/(只·次)。

1.5 干预方法 用 20 mL 的注射器抽取相应体积的各样品均匀涂抹于整个脱毛区,在上面用 2 层纱布覆盖(各组样品用纱布吸附后贴敷于脱毛区),再用胶布固定,首次给药 24 h 后,去除覆盖物,用温水去除残留的各样品。供试品及基质对照品给药体积分别为 15.5 mL/(只·次)、17 mL/(只·次),空白对照品给药体积为 10 mL 0.9%氯化钠注射液/(只·次)1 d 内给药 2 次,间隔约 4 h 给药,给药期为 1 d,恢复期为 14 d(不给药)。

1.6 观察项目 1)一般情况:给药后当日,每次给药后持续观察约 4 h;之后连续观察 14 d,每日 1 次,观察家兔的一般状况,包括临床症状(如动物外观、行为、饮食、对刺激的反应、分泌物、排泄物等)、死亡情况(死亡时间、濒死前反应)等。记录所有出现的症状以及症状的起始时间、严重程度、持续时间等。2)体质量检测:检疫及适应性饲养期第 1 天、检疫及适应性饲养期结束、给药后第 1、2、3、7、14 天,对家兔体质量进行检测。3)组织病理学观察:给药第 14 天对全部试验组动物进行剖检:动物耳缘静脉空气栓塞处死,迅速解剖,肉眼观察组织、器官病变。当观察到组织器官病变,应进行组织病理学检查。

1.7 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示。当样本数小于 3 时,该组数据不纳入统计比较。多组间比较采用单因素方差分析;组别差异有统计学意义时($P<0.05$),采用 Dunnett's *t* 检验对痛消膏组、基质对照组与空白对照组组间的差异进行

比较。LEVENE 方差齐性检验提示方差不齐时($P<0.05$),采用 Kruskal-Wallis H 秩和检验对均数的组别差异,进行统计学检验;组别差异有统计学意义时($P<0.05$),采用 Mann-Whitney U 秩和检验对痛消膏组、基质对照组与空白对照组组间的差异进行比较。

2 结果

2.1 各组一般情况比较 实验期间,给药后当天,每次给药后持续约 4 h 以及首次给药 24 h 后连续观察 14 d,每天 1 次,3 组动物外观、行为、饮食、对刺激的反应、分泌物、排泄物等未见明显异常,各组动物亦未见死亡或濒死;给药后第 14 天对全部实验组动物进行剖检,经肉眼观察未见明显组织、器官异常;均未见明显毒性反应改变。

2.2 各组体质量比较 见表 1,表 2。观察基质对照组、痛消膏组动物给药前、给药后第 1 天(D2)、第 2 天(D3)、第 3 天(D5)、第 7 天(D8)、第 14 天(D15)体质量及体质量增长与同期空白对照组比较,均未见明显差异($P>0.05$)。结果表明,痛消膏经皮单次最大给药面积(约 150 cm²)、最大浓度(0.3 g 生药/g 软膏)的痛消膏 9 g 生药/只显示无明显毒性反应,安全度较大。

表 1 各组家兔体质量比较(kg, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	干预前	D2	D3	D4	D8	D15
空白对照组	6	2.18±0.14	2.26±0.15	2.22±0.18	2.27±0.20	2.34±0.17	2.47±0.18
基质对照组	6	2.14±0.08	2.19±0.10	2.20±0.13	2.25±0.08	2.36±0.08	2.51±0.09
痛消膏组	6	2.13±0.10	2.13±0.06	2.14±0.10	2.18±0.10	2.29±0.09	2.43±0.09

表 2 各组家兔体质量增长比较(kg, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	D2	D3	D4	D8	D15
空白对照组	6	0.077±0.071	0.038±0.046	0.088±0.065	0.158±0.082	0.289±0.080
基质对照组	6	0.047±0.034	0.054±0.073	0.103±0.039	0.214±0.066	0.368±0.044
痛消膏组	6	-0.003±0.060	0.005±0.053	0.044±0.031	0.153±0.065	0.294±0.066

3 讨论

急性筋伤,又称为急性软组织损伤,主要是指由于突然暴力造成的损伤,一般指伤后不超过 2 周的新鲜损伤,其病机主要是气滞血瘀,脉络不通,离经之血久瘀不散,瘀血化热,气血流通不畅,“不通则痛”^[6]。对于急性软组织损伤的治疗原则大多以局部治疗为主,内服中药有时仅为辅助治疗^[7]。中药外用法治疗炎症及痛症具有独特优势,通过外敷体表给药,使皮肤和黏膜表面能直接吸收,起效迅速,可免除肝脏的首过效应,更好地维持药效^[8]。痛消膏方剂是国家级名老中医郭剑华主任中医师的经验方,曾长时间应用于临床急性筋伤。痛消膏中大黄外用可凉血消积、消肿止痛^[9];栀子、黄柏、泽兰外用治疗闭合性软组织损伤具有明显的疗效^[10-16]。为证明其临床疗效,曾进行痛消膏与扶他林

软膏对比疗效,每组均治疗5 d。结果显示治疗组痛消膏效果较扶他林膏差异明显^[17]。痛消膏皮肤给药治疗急性筋伤疾病不仅有效,而且体现出了中药外敷简单、方便的优势,有巨大的潜力^[18]。本研究为进一步充分保障患者的用药安全而进行本研究,根据痛消膏的剂型和药物作用的特点,主要通过经皮单次给药毒性试验来考察痛消膏的安全性。研究结果表明,痛消膏单次给予最大量药物(9 g生药/只)后对新西兰兔未见明显毒性反应,对新西兰兔体质量及体质量增长未见明显影响,痛消膏单次使用后不会引起明显的急性脏器功能损伤,说明痛消膏安全性高。

参 考 文 献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
 [2] Lin S,Chien YW. Transdermal contraceptive patches:development,clinical performance,and future prospects[J]. American Journal of Drug Delivery,2005,4(4):201-213.
 [3] 苗明三,白明. 中药外用药理实验技术规范(草案)[J]. 中药药理与临床,2014,30(4):128-131.
 [4] Walter JR,Xu S. Therapeutic transdermal drug innovation from 2000 to 2014:current status and outlook[J]. Drug Discovery Today,2015,20(11):S1359644615002378.
 [5] 黄芳华,王庆利.《药物单次给药毒性研究技术指导原则》解读[J]. 中国新药杂志,2015,24(4):386-389,399.
 [6] 中药外用制剂新药非临床安全性评价中应关注的问题[J]. 中国新药杂志,2015,24(11).
 [7] 丰哲,卢敏,姚共和. 中医药外治法治疗急性软组织损伤研

究进展[J]. 中医药导报,2002,8(12):736-737.
 [8] 蒋鸣福,刘景生,黄桂成. 软组织损伤治疗学[M]. 北京:北京科学技术出版社,2010:44
 [9] 于建玉,廖欣,丁厚伟,等. 中药大黄药理作用研究进展及其临床应用[J]. 中国现代药物应用,2016,10(11):286-287.
 [10] 于敏. 生栀子散外敷治疗踝关节扭伤[J]. 中国民间疗法,2014,22(5):97.
 [11] 史楚平. 栀子外敷治疗闭合性软组织扭挫伤疗效观察[J]. 中国中医药咨讯,2010,2(36):258.
 [12] 齐尚锋. 栀子跌打膏治疗急性踝关节扭伤临床观察[J]. 中医正骨,2009,21(7):44-46.
 [13] 林焕泽,杨华. 复方黄柏酊剂的制备与临床应用[J]. 中药材,2005,28(9):858-859.
 [14] 钟冬梅. 黄柏散应用于踝关节扭伤的疗效观察及护理[J]. 中国伤残医学,2006,14(6):81-82.
 [15] 赵阿林. 泽兰汤治疗急性腰扭伤 388 例[J]. 世界中医骨伤科杂志,2002,4(1):39-40.
 [16] 英特. 治急性腰扭伤[J]. 妇女生活,2013(4):53.
 [17] 毛得宏. 痛消膏治疗急性筋伤疾病患者 75 例疗效观察[A]. 中华中医药学会耳鼻喉科分会、世界中联耳鼻喉口腔专业委员会中华中医药学会耳鼻喉科分会第 23 次学术年会、世界中联耳鼻喉口腔专业委员会第九次学术年会论文集[C]. 中华中医药学会耳鼻喉科分会、世界中联耳鼻喉口腔专业委员会,2017:2.
 [18] Watkinson A. Future of the transdermal drug delivery market—have we barely touched the surface[J]. Expert Opinion on Drug Delivery,2016,13(4):523.

(收稿日期 2019-01-03)

(上接第 1228 页)

[2] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. 2013:50-52.
 [3] 钱超. 多重耐药铜绿假单胞菌临床分布及耐药性观察[J]. 中国医药导报,2016,13(4):121-124.
 [4] 彭明远,王娜芳,李展妹. 多重耐药铜绿假单胞菌院内感染分布及耐药性研究[J]. 海南医学,2016,44(15):2482-2484.
 [5] 张祎博,孙景勇,倪语星,等. 2005-2014 年 CHINET 铜绿假单胞菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2016,16(2):141-145.
 [6] 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 铜绿假单胞菌下呼吸道感染诊治专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志,2014,37(1):9-15.
 [7] 袁利,徐羽中,程明刚,等. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌耐药现状及整合子耐药基因分析[J]. 中国医学装备,2018,15(4):80-83.
 [8] Zavascki AP,Carvalhoes CG,Picão RC, et al. Multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa and acinetobacterbaumannii: resistance mechanisms and implications for therapy[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2010,8(1):71-93.
 [9] Uwate M,Ichise YK,Shirai A,et al. Two routes of MexS-MexT-mediated regulation of MexEF-OprN and MexAB-O-

prM efflux pump expression in pseudomonas aeruginosa[J]. MicrobiolImmunol,2013,57(4):263-272.
 [10] 邹自英,刘霞,刘媛,等. 临床分离铜绿假单胞菌耐药机制研究[J]. 西南国防医药,2018,28(4):360-362.
 [11] Rossi GI,Dantas RC,Ferreira ML, et al. Carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa: association with virulence genes and biofilm formation[J]. Brazilian Journal of Microbiology,2017,48(2):211-217.
 [12] 房华,汪瑞忠,张晓雪,等. 6 种中草药对多重耐药菌的抗菌活性及逆转耐药性作用的体外研究[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(4):396-399.
 [13] 孔令博,刘清泉,杨琦,等. 芪归银方对抗生素体外抑制多重耐药铜绿假单胞菌作用的影响[J]. 世界中医药,2014,9(3):288-295.
 [14] 张民. 细菌耐药背景下的中药抗菌作用探析[J]. 西部中医药,2013,26(6):122-124.
 [15] 房华,汪瑞忠,张晓雪,等. 中西药联合对多重耐药铜绿假单胞菌体外抗菌作用研究[J]. 中国现代医生,2017,55(31):107-110.
 [16] 谭俊青,李嵩文,王康椿,等. 头孢哌酮-舒巴坦联合中药对泛耐药鲍曼不动杆菌抗菌活性的研究[J]. 检验医学,2016,31(5):350-354.

(收稿日期 2019-02-27)