

藿黄散洗剂抗皮肤癣菌实验研究

★ 徐洪波 (江西中医学院微生物学教研室 南昌 330006)

★ 喻文球 (江西中医学院附属中医院 南昌 330006)

关键词:藿黄散洗剂;皮肤癣菌;抗真菌;实验研究

中图分类号:R 285.5 文献标识码:B

藿黄散洗剂是江西省中医院喻文球主任医师在应用中医药治疗皮肤癣病的临床经验基础上,根据中医学辨证原则和现代药理学研究成果开发出来的一种中药复方洗剂,该方剂主要由藿香、黄精、苦参、茵陈、枯矾等中药组成,经临床应用,确有疗效。我们对藿黄散洗剂的抗真菌作用进行了体外及体内实验室研究,为藿黄散洗剂的临床使用打下了一定的理论基础。现将实验方法及结果报告如下:

1 实验材料

1.1 试验药品

将藿香、黄精、苦参、茵陈、枯矾等各 30 g 加水浸泡 20 分钟,然后煮沸 30 分钟,滤出煎液,药渣再

加水煎煮过滤,两次滤出液混合加热浓缩,制成浓度为 1 g/mL 的藿黄散洗剂。

1.2 对照药品

复方土槿皮酊剂(批号:050905,上海信仁中药厂生产)。

1.3 试验菌株

絮状表皮癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌和红色毛癣菌,均购自中国医学科学院南京皮肤病研究所。

1.4 试验动物

豚鼠,体重(320±10) g,由江西医学院动物实验中心提供。

1.5 仪器

由表 1 结果可见,黄芪注射液在几种稀释度下,对鲎试剂无抑制作用。稀释 1:5 时,由表 2 计算 E_s 及样品 E_t 的值为: $E_s = \lg^{-1}(\sum X_s/4) = 0.5$

$$\text{样 1: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.5$$

$$\text{样 2: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.5$$

$$\text{样 3: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.5$$

将样品稀释为 1:11 的浓度,改用灵敏度为 $\lambda = 0.25$ Eu/mL 的鲎试剂,同法进行干扰试验,结果见表 2。

表 2 样品稀释干扰实验

内毒素系列 /Eu·mL ⁻¹	TAL /Eu·mL ⁻¹	内毒素标准品 /Eu·mL ⁻¹	样品 1:11 的稀释液		
			sample1	sample2	sample3
0.5	0.25	++++	++++	++++	++++
0.25	0.25	++++	++++	++++	++++
0.125	0.25	----	----	----	----
0.0625	0.25	----	----	----	----
NC		--	--	--	--

$$E_s \text{ 样品 } E_t \text{ 的值为: } E_s = \lg^{-1}(\sum X_s/4) = 0.25$$

$$\text{样 1: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.25$$

$$\text{样 2: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.25$$

$$\text{样 3: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.25$$

式中的 $E_s E_t$ 分别为细菌内毒素用水和样品稀释液制成的内毒素溶液反应终点的对数值。实验得出 $E_s \in [0.5\lambda, 2.0\lambda]$, 3 个样品的 $E_t \in [0.5E_s, 2.0E_s]$, 表明样品在的稀释度下对鲎试剂无干扰作用, 故在此稀释度下可用的鲎试剂作细菌内毒素检查。

3 讨论

黄芪注射液属中药制剂,用家兔法检查热原,操作繁琐,费工费时,且影响因素多,鲎试剂法具有灵敏、快速、操作简便、重现性强等优点,作为确定该药物热原反应的替代方法是可行的。

实验结果表明,黄芪注射液在几种浓度下,均无干扰,而在 1:5 及 1:11 的稀释度下,采用合适的鲎试剂,同药典规定的浓度正好吻合,试验结果与兔法一致,从而可用细菌内毒素检查法替代传统的家兔法。

(收稿日期:2006-06-23)

超净工作台、恒温培养箱等。

2 实验方法与结果

2.1 体外抗真菌试验

2.1.1 药物培养基制作 采用试管二倍稀释法用沙氏液体培养基稀释藿黄散洗剂,配制成每管 2 mL 药物浓度分别为 50%、25%、12.5%、6.25%、3.12%、1.56%、0.78%、0.39% 的沙氏液体培养基,各设不含药物的对照组培养基,10 磅 20 分钟灭菌。

2.1.2 菌种准备 絮状表皮癣菌、羊毛状孢子菌、石膏样毛癣菌和红色毛癣菌用斜面培养基于 25~28℃ 培养 7 天,再以生理盐水将培养物洗下,振摇、过滤、镜检计孢子数,再稀释使菌液最终浓度为 1×10^5 CFU/mL。

2.1.3 接种与观察 用无菌吸管分别吸取菌液滴于培养管中,每管加 2 滴菌液(约 0.1 mL),放置 25~28℃ 恒温箱中,连续观察 14 天,以对照管为标准,真菌完全不生长的药物浓度定为最低抑菌浓度(MIC)。

2.1.4 实验结果 见表 1。

表 1 藿黄散体外抗真菌试验结果

药物	浓度 /mg·mL ⁻¹	须毛	犬小	絮表	红毛
藿黄散	3.9	++	++	++	++
	7.8	++	+	+	+
	15.6	+	-	-	-
	31.2	-	-	-	-
	62.5	-	-	-	-
药物空白对照	3.9	++	++	++	++

注:“++”表示大量真菌生长;“+”表示少量真菌生长;“-”表示无真菌生长。

从表中可以看出,藿黄散洗剂对须癣毛癣菌、犬小孢子菌、絮状表皮癣菌和红色毛癣菌的 MIC 分别为 31.2、15.6、15.6、15.6 mg/mL,表明藿黄散洗剂在较低浓度下对常见浅表感染真菌有抑制作用。

2.2 体内抗真菌试验

取豚鼠,背部去毛 3 cm×5 cm,次日用消毒粗砂布在脱毛处反复磨擦,至出现点状渗液为度,将红色毛癣菌菌液 0.6 mL(孢子数为 1×10^5 CFU/mL)均匀涂布于脱毛皮肤上。57 天后,局部皮肤出现鳞屑性损害,丘疹融和成片状红斑(刮取鳞屑做真菌检查,可见菌丝及孢子)。此时将造模成功的 15 只动物随机分为 3 组,每组 5 只,其中一组作为模型组不给药,一组作为阳性对照组用复方土槿皮酊剂,另一组为受试药物组(药物浓度为 25%),每日给药 2 次,连续给药 21 天,每 3 天将各组局部感染的动物

作真菌检查,以真菌镜检阴性作为治愈标准。

试验显示,受试药物组豚鼠在用药 6 天后鳞屑减少,12 天后鳞屑逐渐消失,呈浅红色斑,真菌检查均为阴性,18~21 天皮肤外观恢复正常。

2.3 止痒试验

豚鼠 24 只,随机分成 4 组。实验前 1 日给各组豚鼠右后足背剃毛,两组分别涂 25% 藿黄散洗剂和 50% 藿黄散洗剂各 1 次,一组涂复方土槿皮酊剂 1 次,另一组涂生理盐水。实验当天,以粗砂纸擦伤右后足背剃毛处,面积 1 cm²,局部再涂药 1 次,对照组给予等量生理盐水。末次涂药后 10 分钟,开始在创面处滴 1% 磷酸组织胺,此后,每隔 3 分钟按 2%、3%、4%……递增浓度,每次均为每只 0.05 mL,直至出现豚鼠回头舔右后足背,将所给予的磷酸组织胺总量作为致痒阈,记录并比较各组致痒阈。结果藿黄散组有提高豚鼠致痒阈的作用,经方差分析,与对照组比较差异有非常显著性意义($P < 0.01$),与复方土槿皮酊剂组比较,25% 浓度组和复方土槿皮酊剂组无显著性差异($P > 0.05$),50% 浓度组止痒作用优于复方土槿皮酊剂($P < 0.01$),见表 2。

表 2 藿黄散对磷酸组织胺致痒反应的影响 mg

组别	致痒阈(磷酸组织胺总量)
对照组	14.75 ± 2.86
复方土槿皮酊剂组	44.50 ± 5.05
25% 藿黄散洗剂组	45.67 ± 4.22
50% 藿黄散洗剂组	75.17 ± 6.55

3 讨论

藿黄散洗剂是一种由藿香、黄精、苦参、茵陈、枯矾等组成的外用洗剂。其中藿香具有芳香化湿、杀虫解毒、疏解表邪、理气和中之功,芳香药能透表,使邪毒从表面解,为排毒之捷径,且能安抚皮肤以止痒,故可作君药。霉菌喜湿,茵陈和苦参有清热燥湿、利水渗湿、杀虫止痒等功效,能破坏霉菌生长环境而抑菌,可为臣药。黄精则能补肾益精、滋阴润燥,调节及增强皮肤免疫力,提高皮肤自身杀虫灭菌的能力,从而辅佐主药充分发挥治疗作用。枯矾具有收敛护肤作用,可加强皮肤干燥,并保护皮肤免受芳香药及杀虫药的损伤,更重要的是枯矾有软化及祛除角质的功用,有利于上述药物深入病变部位发挥最大治疗功效,因此起到使药作用。现代药效及药理学研究也表明这些中药成分均有一定的体外抗真菌作用和抗过敏、消炎等功效。

(收稿日期:2006-09-26)