

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.12.013

复方冰甲乳膏药效学研究*

邱洪,李新顺,王慧[△]

(中国人民解放军联勤保障部队第925医院,贵州 贵阳 550009)

摘要:目的 探讨复方冰甲乳膏的药效学。方法 采用试管法测定复方冰甲乳膏对玫瑰毛癣菌、犬小孢子菌和絮状表皮癣菌的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度,观察其抗模型豚鼠真菌感染的作用;采用耳廓肿胀法及足跖肿胀法观察其抗炎作用;采用磷酸组胺法观察其止痒作用。结果 复方冰甲乳膏对体外真菌具有抑制和杀灭作用,能明显缩小感染模型豚鼠皮损部位面积;对二甲苯致炎模型小鼠耳肿胀有明显的抑制作用;对角叉菜胶致炎模型大鼠足肿胀有明显的抑制作用;能明显提高磷酸组胺致痒模型豚鼠致痒阈。结论 复方冰甲乳膏具有杀菌、抑菌、抗炎、止痒作用。

关键词:复方冰甲乳膏;杀菌;抑菌;抗炎;止痒;药效学;动物试验

中图分类号:R965;R986

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)12-0047-04

Pharmacodynamics of Compound Bingjia Cream

QIU Hong, LI Xinshun, WANG Hui

(The 925th Hospital of the PLA Joint Logistics Support Force, Guiyang, Guizhou, China 550009)

Abstract: Objective To investigate the pharmacodynamics of Compound Bingjia Cream. **Methods** The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of Compound Bingjia Cream against *Trichophyton roseum*, *Microsporum canis* and *Epidermophyton floccus* were determined by tube method, and the effect of Compound Bingjia Cream against fungal infection in guinea pigs was observed. The anti-inflammatory effect was observed by auricle swelling and plantar swelling. The antipruritic effect was ob-

*基金项目:贵州省科技计划子课题[黔科合SY字[2015]3028-6]。

第一作者:邱洪,女,汉族,硕士,主任药师,研究方向为医院药学、中药学,(电话)0851-3830009(电子信箱)514830738@qq.com。

[△]通信作者:王慧,女,土家族,硕士,副主任中医师,研究方向为中药化学成分及新药开发,(电话)0851-85723193(电子信箱)zhongyaowanghui@163.com。

抗、随机噪声等信号。C线和T线的比值采用面积法计算,公式如下。

$$K = \sum_{Q-N}^{Q+N} C_i / \sum_{P-N}^{P+N} T_i$$

式中,K为C线和T线的比值, C_i 为C线AD采样值, T_i 为T线AD采样值,Q为C线包络最大值点对应的位置,P为T线包络最大值点对应的位置,N为包络两侧取的叠加点数。

3 小结

本研究中设计的多通道荧光免疫设备,采用插卡式、一体机方式,避免了转盘式设计的不足,同时保证了通道一致性及精确性^[13-15]。设备操作简便、通道数可扩展性强。但设备加样等仍需手动操作,如何进一步提高设备的自动化水平,将是后续开发的重点。

参考文献

- [1] 华川,府伟灵.免疫层析纳米金试纸研究方法进展[J].国际检验医学杂志,2013,34(17):2286-2289.
- [2] PYO D, YOO J. New trends in fluorescence immunochromatography[J]. Journal of Immunoassay and Immunochemistry, 2012, 33(2):203-222.
- [3] 王中民,李君文.免疫层析技术研究进展[J].国外医学临床:生物化学与检验学分册,2001,22(2):96-97.
- [4] 袁银池,赵晓勤,陈大明,等.体外诊断试剂研发及市场发展

概况[J].生物产业技术,2017(4):16-24.

- [5] 包杰,杨永俊,陈予梅,等.探讨POCT技术的应用现状与发展前景[J].中国医学创新,2016,13(30):138-141.
- [6] 陈海英,谢环英,孙宏娟. POCT在急诊科急性冠状动脉综合征患者中的应用及效果评价[J].现代医药卫生,2017,33(3):417-419.
- [7] 贺巧丽.快速床旁检测(POCT)在急诊抢救中的优势[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(84):244.
- [8] 赵红梅,孙青松,孙虹.即时检验在急性心肌梗死患者中的应用研究[J].临床急诊杂志,2016,17(4):308-309.
- [9] 肖立娇.全自动荧光免疫分析仪在临床检验中的应用分析[J].中国医疗器械信息,2020,26(9):148-149.
- [10] 王水兵,李颖.基于STM32的干式荧光免疫分析仪工程设计[J].西部皮革,2019,41(23):96.
- [11] 陈静,付文竹,梁春滢.干式荧光免疫分析仪的安全有效性[J].医疗装备,2019,31(11):35-36.
- [12] 李现红,张雯,周中木,等.荧光免疫分析仪校准方法研究[J].中国测试,2017,43(S1):29-32.
- [13] 何文兵,刘先成,周明,等.一种小型集成化的荧光免疫分析仪的研究和开发[J].中国医疗设备,2016,31(7):30-32.
- [14] GB 4793.1-2007,测量、控制和实验室用电气设备的安全要求第1部分:通用要求[S].
- [15] YY/T 1533-2017,全自动时间分辨荧光免疫分析仪[S].

(收稿日期:2019-06-03;修回日期:2020-09-20)

served by the Histamine phosphate method. **Results** Compound Bingjia Cream could inhibit and kill bacteria *in vitro*, and could significantly reduce the area of skin lesions in infected guinea pigs. It could obviously inhibit the ear swelling of inflammatory model mice induced by xylene, could significantly inhibit the paw swelling of inflammatory model rats induced by carrageenan, and could significantly increase the itch threshold of sensitized guinea pigs induced by histamine phosphate. **Conclusion** Compound Bingjia Cream has bactericidal, antibacterial, anti-inflammatory and antipruritic effects.

Key words: Compound Bingjia Cream; sterilization; antibacterial; anti-inflammatory; relieve itching; pharmacodynamics; animal experiment

复方冰甲乳膏为我院皮肤科临床经验方,系冰片、硫磺、硼砂、甲硝唑、制霉菌素等中西药结合的复方制剂^[1-2],有清热燥湿、收敛生肌功效,主要用于治疗真菌感染引起的手足癣等^[3]。本课题组前期已完成了相关毒理学研究^[4-5],为验证其临床疗效,进一步对该方进行了药效学研究。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

仪器:JM-B型电子天平(余姚市纪铭称重校验设备有限公司);ALC-210.3型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司);SPX-500型生化培养箱(常州市金坛高科仪器厂);N-300M型生物显微镜(南京江南永新光学有限公司)。

试药:复方冰甲乳膏(贵阳中医学院中药制剂研究中心,批号为20150126);硝酸咪康唑乳膏(达克宁,西安杨森制药有限公司,批号为140608107,规格为每支20 g);复方醋酸地塞米松乳膏(皮炎平,华润三九医药股份有限公司,批号为1405021H,规格为每支20 g);二甲苯(天津市大茂化学试剂厂,批号为20080921);卡拉胶(角叉菜胶,上海劲马生物科技有限公司,批号为20140625);磷酸组胺(上海源叶生物科技有限公司,批号为YY10165);蛋白胨(上海申科昆虫生物科技开发有限公司,批号为080109);葡萄糖(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号为20130320);琼脂粉(天津市致远化学试剂有限公司,批号为20140726);马铃薯为市售。

动物:豚鼠130只、体质量240~260 g,昆明小鼠60只、体质量18~22 g,SD大鼠50只、体质量180~220 g,均雌雄各半。由贵阳医学院实验动物中心提供,实验动物生产许可证号为SCXK(黔)2012-001。饲料为全价颗粒饲料,由同一单位提供。

菌株:玫瑰毛癣菌、犬小孢子菌、絮状表皮癣菌,均购于中国医学科学院皮肤病研究所。

1.2 方法

1.2.1 体外抗真菌作用^[6-7]

培养基制备:1)SDA培养基,称取葡萄糖40.0 g,蛋白胨10.0 g,琼脂粉20.0 g,加水定容至1 000 mL,并用玻璃棒不断搅拌,使各成分溶解,然后煮沸1 min。115℃、高压灭菌20 min,备用。2)沙氏葡萄糖液体(SDB)培养基,除不加琼脂粉外,其余制备方法同1)。3)马铃薯葡萄糖液体(PDB)培养基:称取马铃薯200 g,葡萄糖20 g,蛋

白胨5 g,水1 000 mL。马铃薯去皮及芽,加水煮烂(能被玻璃棒戳破即可),3层纱布过滤。加葡萄糖、蛋白胨、蒸馏水,分装6个三角瓶,加塞,包扎,121℃灭菌20 min,即得,备用。

试验时从4℃冰箱中取出菌株,室温放置24 h后接种于SDA培养基,26℃培养10 d后,挑取菌落接种至60 mL PDB培养基中,于26℃培养3~5 d,取出,作为原液。再用PDA液体培养基稀释至浓度为1:100,作为试验菌液,备用。

供试品溶液制备:取样品适量,用水配制成质量浓度为100 mg/mL的供试品溶液,装入25 mL小锥形瓶中,70℃加热溶解2 min,封口,备用。

真菌悬液制备:从保存菌种斜面上各挑取菌苔(玫瑰毛癣菌、絮状表皮癣菌、犬小孢子菌),分别接种至60 mL PDB培养基中,于26℃培养3~5 d,取出,作为原液。再用PDB培养基稀释至浓度为1:100,作为试验菌液。

最低抑菌浓度(MIC)测定:取13支干燥无菌带塞小试管,无菌操作,分别加入1 mL SDB培养基,然后向第1支试管加入供试品溶液1 mL,混匀,取1 mL加入第2支试管内,依次类推至第11管,制成质量浓度依次为50.00, 25.00, 12.50, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.20, 0.10, 0.05 mg/mL的系列供试品溶液,每管加入0.1 mL菌液;第12管不加菌液,作阴性对照;第13管加菌液,作阳性对照。置生化培养箱中培养1周。以真菌不生长的最高药物稀释度为该药的MIC。配制过程中每一浓度梯度完成后应更换枪头。每个质量浓度重复3管。

最低杀菌浓度(MBC)测定:取抑菌试验结果中透明的各试管,再依次取出不生长真菌的供试品溶液培养物0.1 mL,分别移至SDA培养基中,用涂布棒均匀涂布,倒置于培养箱中,26℃培养1周,以不生长真菌的最高稀释度为该药的MBC。重复试验3次。

1.2.2 抗模型豚鼠真菌感染作用^[8-9]

建模、分组与给药:将80只豚鼠背部剃毛,面积9 cm²(3 cm×3 cm),用细砂纸在剃毛部位擦拭,以出现轻微渗血为度(提高接种成功率),24 h后用1 mL注射器在脱毛面中心区刺入豚鼠皮肤内(以不使皮肤出血为度)注入0.1 mL菌悬混合液(玫瑰毛癣菌、犬小孢子菌、絮状表皮癣菌。试验前恢复其致病力并接种于PDB培养基,26℃培养1周,制备成菌悬混合液,置4℃冰箱保存,备用),再用棉签蘸取菌悬混合液0.2 mL涂布于脱毛创

伤部位,1天2次,共感染3d,以复制感染模型。豚鼠脱毛接种区皮肤出现红斑、丘疹及水泡,且真菌镜检及培养均为阳性为模型复制成功。于感染模型复制成功后第2天随机分为模型组(A组),复方冰甲乳膏高、中、低剂量组(B₁组、B₂组、B₃组),阳性对照(达克宁)组(C组),各10只。B₁组、B₂组、B₃组用棉签取称量好的相应药物均匀涂抹于豚鼠皮损部位,剂量分别为0,0.70,0.35,0.18,0.70 g/kg(后续试验中大鼠给药剂量同)连续涂药10d,1天1次。模型组给予赋形剂,以下试验同。

观察指标:于给药第1,3,7,10天时大体观察皮损鳞屑、红斑、脓肿等感染征象,皮损部位行真菌镜检及培养,测量皮损直径,以判断皮损面积。

治愈标准:皮损处无任何感染征象,真菌镜检、培养均呈阴性。

1.2.3 抗炎作用^[8-10]

对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的作用:将昆明小鼠随机分为模型组(A组),复方冰甲乳膏高、中、低剂量组(B₁组、B₂组、B₃组),阳性药(皮炎平)组(C组),各12只。按前述方法用棉签取称量好的相应药物均匀涂抹于小鼠耳朵两面,连续涂药7d,1天1次,剂量分别为0,1.00,0.50,0.25,1.00 g/kg。第7天末次涂药1h后,以水洗去膏药,用干棉球擦净。用二甲苯原液0.03 mL涂于小鼠左耳前后两面,致炎40 min后处死,剪取左右两耳,用直径8 mm的打孔器于相同部位打取左右耳耳片,精密称定质量,以左右耳耳片质量之差为小鼠耳肿胀度,并计算小鼠耳肿抑制率。

抑制率(%)=(模型组耳肿胀度-给药组耳肿胀度)/模型组耳肿胀度×100%

对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的作用:将SD大鼠随机分为模型组(A组),复方冰甲乳膏高、中、低剂量组(B₁组、B₂组、B₃组),阳性药(皮炎平)组(C组),各10只。按前述方法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7d,1天1次,第7天末次涂药1h后,以水洗去膏药,用干棉球擦净。在大鼠右后

肢足跖皮下注射1%角叉菜胶0.1 mL,分别于致炎后1,3,4,5,7 h时用游标卡尺测量大鼠后肢左右足趾厚度,以左右足趾厚度的差值为肿胀度。

1.2.4 止痒作用^[10]

将50只豚鼠随机分为模型组(A组),复方冰甲乳膏高、中、低剂量组(B₁,B₂,B₃组),阳性药(皮炎平)组(C组),各10只。试验前,各组豚鼠于右后足脱毛约1 cm×2 cm。第2天,在右后足背脱毛区皮肤面涂药,按前述方法用棉签取称量好的相应药物均匀涂抹,连续涂药7d,1天1次。第7次涂药前,用粗砂纸擦伤豚鼠右后足背脱毛处,面积约1 cm²。在擦伤处再按上述所示涂第7次药,于末次涂药10 min后在擦伤处滴0.01%磷酸组胺0.05 mL,观察豚鼠回头舔右后足擦伤处反应,若豚鼠无此反应,可每隔3 min重复滴药,直至豚鼠出现该反应为止,以最后出现该反应时的磷酸组胺总量为致痒阈。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体外抗真菌作用

结果见表1。可见,絮状表皮癣菌、玫瑰毛癣菌对复方冰甲乳膏较敏感,MIC均为3.13 mg/mL,而犬小孢子菌的MIC为6.25 mg/mL;絮状表皮癣菌、犬小孢子菌、玫瑰毛癣菌的MBC分别为3.13,6.25,50 mg/mL。

2.2 抗豚鼠真菌感染作用

用药第1天时,各组皮损处出现红斑,直径约7 mm,伴有鳞屑、脓肿等感染征象,皮损部位镜检可见真菌。复方冰甲乳膏高、中、低剂量组及阳性对照组于治疗第7天时,皮损感染症状已明显好转,红斑直径明显缩小,鳞屑已消失,至治疗第10天时,部分皮损感染现象已消失,真菌镜检及培养均为阴性,且复方冰甲乳膏存在一定的剂量依赖性,高、中、低剂量组治疗率分别为70%,50%,40%(阳性对照组为80%)。模型组病变部位至第7天时持续加重,之后逐渐好转,但未见痊愈。试

表1 复方冰甲乳膏体外抗真菌作用

Tab.1 Effect of Compound Bingjia Cream against fungal *in vitro*

菌株	抗菌作用	药液质量浓度(mg/mL)											阴性对照	阳性对照
		50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05		
玫瑰毛癣菌	抑菌	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	杀菌	-	+	+	+	+								
犬小孢子菌	抑菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	杀菌	-	-	-	-	+								
絮状表皮癣菌	抑菌	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	杀菌	-	-	-	-	-	+							

注:-表示无菌生长,+表示有菌生长。

Note: - indicates aseptic growth, + indicates bacterial growth.

表2 复方冰甲乳膏对模型豚鼠皮损直径的影响
($\bar{X} \pm s, \text{mm}, n=10$)

Tab.2 Effect of Compound Bingjia Cream on the lesion diameter of guinea pigs($\bar{X} \pm s, \text{mm}, n=10$)

组别	剂量(g/kg)	治疗后1d	治疗后3d	治疗后7d	治疗后10d
A组	0	7.43±0.70	10.21±1.08	10.85±0.64	8.34±2.14
B ₁ 组	0.70	7.28±0.64**	6.63±0.65**	4.15±0.91**	0.93±1.52**
B ₂ 组	0.35	7.18±0.79**	6.92±0.59**	4.71±0.96**	1.96±2.10**
B ₃ 组	0.18	7.31±0.84**	7.55±0.90**	5.72±1.68**	2.32±2.09**
C组	0.70	7.31±0.85	6.79±0.77	3.68±0.94	0.56±1.19

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。表3至表5同。

Note: Compared with those in the model group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, as well as Tab. 3, Tab. 4 and Tab. 5.

验组与模型组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。详见表2。

2.3 抗炎作用

与模型组比较,各给药组小鼠耳廓肿胀度均明显减轻($P<0.05$, $P<0.01$)。详见表3。大鼠足跖皮下注射角叉菜胶后3h内足趾肿胀度持续升高,之后开始降低。而各给药组足趾肿胀度的增加均受到抑制,尤其是复方冰甲乳膏高剂量组,除致炎后5h外,其余各个时间点足趾肿胀度与模型组比较均明显减轻($P<0.05$, $P<0.01$)。详见表4。

2.4 止痒作用

与模型组比较,各给药组大鼠的致痒阈均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。详见表5。

表3 复方冰甲乳膏对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀度的影响
($\bar{X} \pm s, n=12$)

Tab.3 Effect of Compound Bingjia Cream on auricle swelling induced by xylene in mice($\bar{X} \pm s, n=12$)

组别	剂量(g/kg)	耳肿胀度(mg)	耳肿胀抑制率(%)
A组	0	19.60±4.60	29.08
B ₁ 组	1.00	13.90±2.90**	15.31
B ₂ 组	0.50	16.60±2.70**	20.41
B ₃ 组	0.25	15.60±3.50**	34.69
C组	1.00	12.80±3.10	

表4 复方冰甲乳膏对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀度的影响
($\bar{X} \pm s, \text{mm}, n=10$)

Tab.4 Effect of Compound Bingjia Cream on paw swelling induced by carrageenan in rats($\bar{X} \pm s, \text{mm}, n=10$)

组别	剂量(g/kg)	治疗后1h	治疗后3h	治疗后4h	治疗后5h	治疗后7h
A组	0	1.52±0.45	2.14±0.32	1.87±0.256	1.60±0.27	1.26±0.38
B ₁ 组	0.70	0.97±0.36**	1.51±0.28**	1.57±0.55*	1.40±0.32	0.87±0.29*
B ₂ 组	0.35	1.07±0.52*	1.58±0.31**	1.47±0.76	1.35±0.51	0.90±0.51*
B ₃ 组	0.18	1.25±0.75	1.66±0.96	1.68±0.85	1.42±0.83	1.28±0.57
C组	0.70	1.00±0.54*	1.52±0.48**	1.60±0.32*	1.46±0.24	1.09±0.73

表5 复方冰甲乳膏对模型大鼠致痒阈的影响($\bar{X} \pm s, \mu\text{g}, n=10$)

Tab.5 Effect of Compound Bingjia Cream on itch thxeshold in model rats($\bar{X} \pm s, \mu\text{g}, n=10$)

组别	剂量(g/kg)	致痒阈
A组	0	9.50±5.00
B ₁ 组	0.70	26.50±7.00**
B ₂ 组	0.35	23.00±9.80**
B ₃ 组	0.18	16.50±9.70**
C组	0.70	19.00±12.60

3 讨论

复方冰甲乳膏为中西药复方制剂,用于真菌感染引起的手足癣、股癣等的治疗。本研究结果显示,复方冰甲乳膏体外有抑菌和杀菌作用;杀菌效果絮状表皮癣菌优于犬小孢子菌,犬小孢子菌优于玫瑰毛癣菌;高、中、低剂量复方冰甲乳膏能明显缩小真菌感染豚鼠皮损直径,并使皮损外观症状好转或消失,明显升高治愈率;能显著抑制二甲苯导致的小鼠耳廓肿胀及角叉菜胶诱发的大鼠足肿胀;能明显提高磷酸组胺致痒模型豚鼠的致痒阈。

综上所述,复方冰甲乳膏可通过体内、体外抗真菌、抗炎和止痒共同发挥治疗手足癣的作用。本研究为复方冰甲乳膏的临床使用提供了实验室依据。

参考文献

- [1] 邱洪,唐旭东,张天鉴,等. 正交试验设计优化部队卫勤保障中足癣的中西药验方配比[J]. 中国药物与临床,2013,13(3):298-300.
- [2] 邱洪,唐旭东,代兵,等. 复方冰甲乳膏的配方与制剂工艺研究[J]. 中国药房,2015,26(22):3134-3137.
- [3] 邱洪,王慧,刘忠义. 复方冰甲乳膏治疗足癣的临床观察[J]. 中国医院药学杂志,2016,36(18):307-308.
- [4] 邱洪,唐旭东,王慧,等. 复方冰甲乳膏皮肤刺激性研究[J]. 中国药房,2014,25(23):2119-2121.
- [5] 邱洪,王慧,张天鉴. 复方冰甲乳膏急性毒性试验研究[J]. 中国药业,2018,27(11):15-17.
- [6] 刘锡光. 现代诊断微生物学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:688-703.
- [7] 古力娜·达吾提,尤丽吐孜,艾则孜·亚森,等. 维药地锦草软膏的体外抗真菌及其对豚鼠皮肤真菌感染的治疗作用研究[J]. 中药药理与临床,2007,23(5):178-190.
- [8] 曹亮,陶晓倩,李娜,等. 中西药复方蛇脂清癣软膏抗真菌及抗炎作用研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2013,15(9):1966-1970.
- [9] 杨明霞,杨维玲,孙彤,等. 黄连-姜黄水煎剂治疗豚鼠皮肤真菌感染[J]. 中国实验动物学报,2008,16(6):452-455.
- [10] 张升良. 手足乐治疗手足癣的实验研究[J]. 现代中医药,2010,30(5):83-84.

(收稿日期:2019-10-15;修回日期:2021-01-11)