

中药外用洗剂妇洗液的药效学研究

陈学奇¹ 葛蓓芬² 沈 炜³ 刘 培⁴ 曹俊敏⁵ 陈 喆⁴

摘要 目的 观察中药外用洗剂妇洗液的抗菌、抗肿胀和治疗阴道炎模型大鼠的作用。**方法** 采用琼脂平板扩散法、二甲苯致小鼠耳廓肿胀法和化学刺激导致的大鼠宫颈炎模型,观察中药外用洗剂妇洗液的体外抗菌作用,以及对模型动物的肿胀、炎症的影响程度。**结果** 中药外用洗剂妇洗液在 25 mg/mL 浓度下能完全抑制铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、化脓性链球菌和无乳链球菌;在 50 mg/mL 浓度下能完全抑制金黄色葡萄球菌和白色念珠菌;对二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀有明显的抑制作用;能有效的改善化学因素刺激所引起的大鼠阴道炎。**结论** 中药外用洗剂妇洗液具有较好的抗菌、消炎和治疗阴道炎的作用。

关键词 外用洗剂;妇洗液;药效学

The Pharmacodynamic Research on Fuxiye, a Chinese Herbal Lotion for External Wash CHEN Xue-qi¹, GE Bei-fen², SHEN Wei³, LIU Pei⁴, CAO Jun-Ming⁵, and CHEN Zhe⁴ 1 Zhejiang Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou (310006), China; 2 Department of TCM Internal Medicine, Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou (310006), China; 3 TCM Pharmaceutical Department, Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou (310006), China; 4 Clinical Laboratory Department, Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou (310006), China; 5 Clinical Laboratory Department, Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou (310006), China

ABSTRACT Objective To observe antisepsis, anti-swelling, and therapeutic effects of Fuxiye (FXY), a Chinese medical lotion for external wash in treating vaginitis model rats. **Methods** The cervicitis rat model was induced by agar plate diffusion, ear auricle swelling induced by dimethylbenzene, and chemical stimulus. The *in vitro* antibiotic actions of FXY were observed. Besides, its effects on the swelling and inflammation in model rats were also observed. **Results** FXY at 25 mg/mL could completely inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *pyogenic streptococcus*, and *streptococcus agalactiae*. FXY at 50 mg/mL could completely inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. It obviously restrained dimethylbenzene induced ear auricle swelling. It significantly alleviated cervicitis induced by chemical stimuli. **Conclusion** FXY showed better effects on antisepsis, anti-inflammation, and treating cervicitis.

KEYWORDS lotion for external wash; Fuxiye; pharmacodynamics

中药外用洗剂妇洗液是浙江陈木扇女科第 25 代传人陈学奇医师家传的临床经验方,并在此基础上研制而成的一种妇科洗剂,由蛇床子、苦参、黄柏等药物组成,具有清热解毒、燥湿止痒、消肿止痛的功效,经长

期的临床研究发现通过中药坐浴的方式治疗阴道炎,对外阴、阴道黏膜有消炎、止痒、止痛的作用^[1]。为了进一步探讨妇洗液的作用机制,为临床提供可靠的实验依据,本实验对妇洗液进行了药效学研究。

材料与方法

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(No. 2009CA020)

作者单位:1.浙江省中医管理局(杭州 310006);2.浙江省中医院中内科(杭州 310006);3.浙江省中医院中药制剂科(杭州 310006);4.浙江省中医院中心实验室(杭州 310006);5.浙江省中医院检验科(杭州 310006)

通讯作者:葛蓓芬, Tel: 0571-87071760, E-mail: gebeifen2008@yahoo.com.cn

1 动物 健康 ICR 雌性小鼠 50 只,体重 18 ~ 22 g,上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,许可证:SCXK(沪)2008-0016;SD 系 SPF 级雌性大鼠 60 只,体重 180 ~ 220 g,上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,许可证:SCXK(沪)2010-0025。饲养条件:室温调节在 21 ~ 25 ℃,空气流通,相对湿度

50%左右。

2 药物 妇洗液由黄连 6 g 黄柏 6 g 苦参 12 g 蛇床子 12 g 晚蚕砂 7.2 g 枯矾 12 g 组成,用 8 倍量的 1%冰醋酸溶液回流 2 次,每次 1 h,合并滤液,常压浓缩至每毫升含 1 g 生药,实验室自行配置。

3 菌株 铜绿假单胞菌(ATCC 27853),大肠埃希菌(ATCC 25922),化脓性链球菌(本院细菌室分离临床采样分离);无乳链球菌(本院细菌室临床采样分离);金黄色葡萄球菌(ATCC 25923);白色念珠菌(ATCC 10231)。白色念珠菌采用沙氏培养基培养,其余均用哥伦比亚血琼脂培养基。

4 试剂及仪器 沙氏培养基和哥伦比亚血琼脂培养基购自青岛海博生物科技有限公司;二甲苯、西黄耆胶、苏木精-伊红(HE)染料和苯酚购自浙江华东医药器械股份有限公司;贝克曼 L750 血细胞分析仪;LeicaRM2245 切片机;MICROM AR80 组织包埋机。

5 方法

5.1 妇洗液对二甲苯致小鼠耳廓炎症肿胀的影响 参照文献[2]方法,取 ICR 雌性小鼠 50 只,随机分为 5 组,分别为空白对照组、妇洗液低剂量组(25 mg/mL)、中剂量组(50 mg/mL)、高剂量组(100 mg/mL)。妇洗液 3 个剂量组参考体外抑菌实验结果设置,洁尔阴对照组按说明书 1:10 稀释,用乙醚浅表麻醉小鼠后,按照分组将药物分别涂抹于小鼠左耳廓的内外两侧,对照组涂等体积纯化水,50 μ L/20 g 小鼠体重,间隔 15 min 后再涂抹 1 次,给药两次后 30 min,用温水轻轻洗去左侧耳廓内外两侧的药液,对照组同样处理。用微量注射器吸取二甲苯 20 μ L,均匀涂布于小鼠左耳廓内外两侧引起炎症。15 min 后将小鼠处死,迅速剪下左、右两耳,用直径为 8 mm 的打孔器于相同位置取下两侧圆形耳片,用电子天平分别称重,计算肿胀率。公式为:(左耳片重量-右耳片重量)/右耳片重量 $\times$ 100%。

5.2 妇洗液体外抑菌作用 参照文献[3]方法。

5.2.1 含药琼脂板的制备 使用 MH 琼脂(按商品说明书进行配制),链球菌使用含 5%(V/V)绵羊血的 MH 琼脂。将已倍比稀释的不同浓度的抗菌药物分别加入已加热溶解,并在 45~50 $^{\circ}$ C 水浴中平衡的 MH 琼脂中,充分混匀倾倒入灭菌平皿,琼脂厚度 3~4 mm(约 25 mL)。按 1:9 体积比配制药物琼脂平板,设置的药物浓度为 100、50、25、12.5、6.25、3.125 mg/mL 6 个浓度^[4]。配制好的含药琼脂平板装

入密封塑料袋中,置 2~8 $^{\circ}$ C 冰箱中备用。

5.2.2 菌株的接种 制备浓度相当于 0.5 麦氏标准比浊管的菌悬液,再 1:10 稀释,以多点接种器吸取制备好菌液(约 1~2 μ L)接种于琼脂平板表面,每点菌数约为 10^4 菌落形成单位(CFU),形成直径为 5~8 mm 的菌斑。接种好后置 35 $^{\circ}$ C 孵育 16~20 h 观察结果每个浓度重复两块平板。

5.2.3 结果评判 抑菌程度以菌斑的大小判断,与不加药物的对照平板比较,不长菌为完全抑制,参照美国临床和实验标准协会(CLSI)M07-A8 需氧菌抗菌药物敏感试验分级标准分级,抑菌强度依次为完全抑制>强抑制>部分抑制>弱抑制。

5.3 妇洗液对实验性大鼠宫颈炎的影响

5.3.1 建立大鼠宫颈炎动物模型 参照文献[5]。用 1 mL 注射器轻轻插入大鼠阴道深处约 1 cm 处,注入 25%苯酚胶浆 0.1 mL,每天 1 次,共 5 次,造模过程中注意观察阴道变化,造模 4 次后大部分大鼠阴道有白色分泌物,阴道红肿,阴道内充血,继续造模 1 次。

5.3.2 分组及给药方法 造模成功的大鼠随机分为 5 组,每组 10 只,分别为妇洗液高剂量组(100 mg/mL)、中剂量组(50 mg/mL)、低剂量组(25 mg/mL)、模型组、洁尔阴对照组(1:10 稀释);另取 10 只大鼠不做任何处理,作为正常对照组,各组动物按分组用药,每天灌洗阴道 2 次,连续给药 10 天。末次给药 12 h 后大鼠腹主动脉取血,以显微镜计数法测定白细胞总数。

5.3.3 病理组织学检查 末次给药 12 h 后,将大鼠用水合氯醛麻醉处死,分离阴道至子宫分叉处组织,立刻放入 10%中性甲醛中固定 24 h,制作病理切片,HE 染色后镜下读片,观察大鼠阴道的组织形态学变化及黏膜、黏膜下间质形态学的炎性改变。

5.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用 F 检验,两两比较采用 Dunnett- t 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 不同浓度妇洗液体外抑菌实验结果(表 1) 在 25 mg/mL 浓度下,妇洗液能完全抑制铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、化脓性链球菌和无乳链球菌的生长,在 50 mg/mL 浓度下能完全抑制金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的生长。

表 1 不同浓度妇洗液对不同菌株的抑菌实验结果

菌株	妇洗液					
	100	50	25	12.5	6.25	3.125 mg/mL
铜绿假单胞菌	完全抑制	完全抑制	完全抑制	强抑制	无抑制	无抑制
金黄色葡萄球菌	完全抑制	完全抑制	部分抑制	无抑制	无抑制	无抑制
大肠埃希菌	完全抑制	完全抑制	完全抑制	部分抑制	无抑制	无抑制
化脓性链球菌	完全抑制	完全抑制	完全抑制	无抑制	无抑制	无抑制
无乳链球菌	完全抑制	完全抑制	完全抑制	无抑制	无抑制	无抑制
白色念珠菌	完全抑制	完全抑制	部分抑制	无抑制	无抑制	无抑制

2 不同浓度妇洗液对二甲苯致小鼠耳廓炎症肿胀的影响比较(表 2) 洁尔阴、妇洗液高、中剂量组与空白对照组比较,动物耳缘肿胀明显减轻,差异均有统计学意义($P < 0.05$);妇洗液低剂量组也有减轻的趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。妇洗液各剂量组与洁尔阴组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 不同浓度妇洗液对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	肿胀率 (%)
空白对照	10	72.29 ± 18.65
洁尔阴	10	44.11 ± 28.32 *
妇洗液低剂量	10	58.56 ± 26.65
中剂量	10	45.68 ± 19.27 *
高剂量	10	41.81 ± 24.54 *

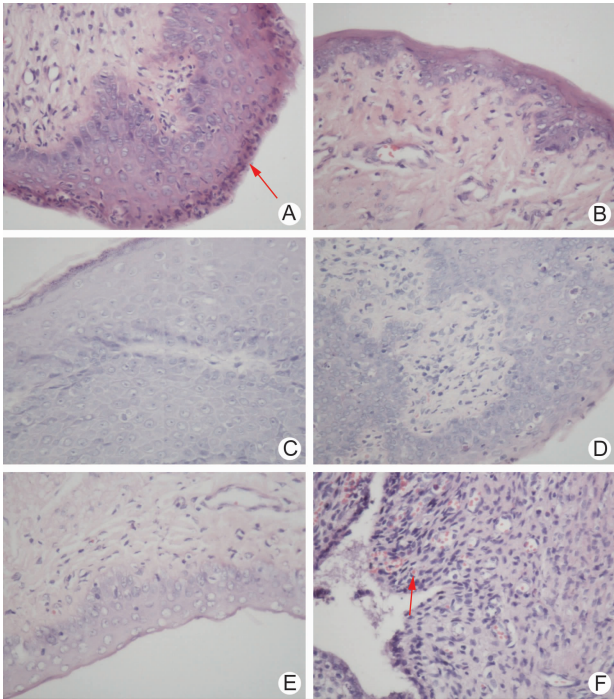
注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$

3 不同浓度妇洗液对实验性大鼠白细胞总数的影响比较(表 3) 模型组白细胞总数与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);妇洗液高、中、低剂量组及洁尔阴组与模型组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);妇洗液各个剂量组间与洁尔阴组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 不同浓度妇洗液对实验性大鼠白细胞总数的影响比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	白细胞总数($\times 10^9/L$)
正常	10	9.57 ± 2.13
模型	10	14.30 ± 2.79 *
洁尔阴	10	10.45 ± 2.44 Δ
妇洗液高剂量	10	10.16 ± 1.97 Δ
中剂量	10	10.31 ± 2.04 Δ
低剂量	10	10.21 ± 2.38 Δ

注:与正常组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

4 各组大鼠阴道组织病理切片观察结果比较(图 1) 正常组大鼠阴道组织正常,未见炎症症状;模型组大鼠阴道组织可见炎性细胞浸润,上皮细胞变性、坏死脱落,腔内可见较多炎性渗出物及坏死组织;洁尔阴组表面被覆上皮基本完整,略有增厚,固有层未见明显的炎细胞浸润、腔内未见炎性渗出物及坏死组织;妇洗液低剂量组固有层有明显的炎细胞浸润;妇洗液中、高剂量组与洁尔阴组无明显差异。



注:A 为妇洗液低剂量组;B 为妇洗液中剂量组;C 为妇洗液高剂量组;D 为正常组;E 为洁尔阴组;F 为模型组

图 1 各组大鼠阴道组织病理切片观察结果 (HE 染色, $\times 400$)

讨 论

妇科炎症是青壮年和老年女性的常见病和多发病,具体包括女性外阴炎、阴道炎、宫颈炎、盆腔炎等,妇科炎症发病原因复杂多样,与身体虚弱或不洁生活方式等密切相关。

据 WHO 统计,全世界约 85% 成年女性不同程度患有妇科炎症,我国 41% 育龄女性患有不同程度的妇科炎症,已婚妇女更高达 70% [6]。近年随着性感染因素增多,妇科炎症发病率呈明显上升趋势。由于女性生理结构上的特殊原因,女性生殖器官极易感染金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、新型念珠菌、铜绿假单胞菌、乙型链球菌、绿脓杆菌、大肠杆菌、酵母菌和滴虫等。因此,妇科炎症特别是慢性宫颈炎、慢性盆腔炎具有病程长、易复发等特点,不但对女性

带来极大的身体危害,而且还常常导致不孕、宫外孕和盆腔疼痛等,严重影响妇女健康。更可怕的是,有妇科炎症的女性患宫颈癌的几率比健康人高出 6~7 倍。因此研究妇科炎症的治疗以及预防措施显得尤为重要^[7]。

中医学认为妇科炎症多为经行、产后、胞脉空虚或平素体质虚弱,外受风邪,邪毒乘虚内侵,湿浊、热毒蕴结于下焦,下焦湿热、热毒壅盛下注所致。如治疗不当,病程将迁延日久,日久气血相搏成瘀,湿热瘀积,而引起经行不调,阴痒,带下量多,色黄或脓状、腥臭,甚至出现血性带下或少腹痛等。故清热解毒,活血化瘀,祛风利湿止痒为治疗大法。

妇洗液方中黄连、黄柏苦寒,有清热燥湿、泻火解毒之功,尤其黄柏苦寒沉降,长于清泻下焦湿热,苦参具有清热、燥湿、杀虫之功,蛇床子可祛风、燥湿、杀虫,晚蚕砂祛风湿、活血止痛,枯矾清热燥湿,各药物合理配伍,共奏清热解毒、祛风燥湿止痒之功。通过小鼠耳廓肿胀实验、体外抗菌实验和大鼠宫颈炎模型实验进一步证实了妇洗液具有较好的抗炎作用;能有效抑制铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、化脓性

链球菌、无乳链球菌和白色念珠菌等致病微生物的生长;能显著减轻化学刺激导致的大鼠阴道炎炎症反应并对受损的阴道组织有促进修复的作用。

参 考 文 献

- [1] 杜秋雁,丁艳玲,潘玉华.中药治疗阴道炎的临床研究进展[J].河北中医,2002,24(10):791-794.
- [2] 徐叔云,卞如谦,陈修.药理实验方法学[M].第3版.北京:人民卫生出版社,2002:882-886.
- [3] 郑津辉,王威,黄辉.苦参提取液中黄酮类化合物的抑菌作用[J].武汉大学学报(理学版),2008,54(4):439-432.
- [4] 魏玉兰.应用黄连进行体外抑菌方法的研究[J].中医临床研究,2012,8(4):28-29.
- [5] 赵媛,周新娥,石艳娥,等.大鼠生殖道炎症动物模型的构建[J].四川生理科学杂志,2007,29(1):1-3.
- [6] 曹翔宇.妇炎康浓缩丸的制备工艺及质量标准研究[D].广州中医药大学,2009:12.
- [7] 赵文霞.妇科炎症的治疗与预防策略分析[J].医学信息,2011,24(9):6268-6269.

(收稿:2012-12-26 修回:2013-01-20)

第十三次全国中西医结合虚证与老年医学学术研讨会征文通知

中国中西医结合学会虚证与老年医学专业委员会拟于 2013 年 8 月 16—18 日在广州暨南大学召开第十三次全国中西医结合虚证与老年医学学术研讨会,会议主题为“启迪新发现”。大会特邀老年医学领域国内外知名专家、院士就老年疾病及药物合理应用等作专题报告,为我国老年医学研究者提供良好的交流平台,促进学科发展。欢迎各位专家学者踊跃投稿,积极参与。现将有关征文事宜通知如下。

征文内容 (1)衰老与老年疾病的基础与临床研究;(2)重点征文领域:心脑血管疾病、肿瘤、老年康复及老年病合理用药等。

征文要求 (1)来稿须为尚未公开发表的论文,形式可以为研究报告、病例报道、论著或综述。要求科学性强,论点鲜明。来稿务必真实、准确,文责自负;(2)来稿请寄全文(5 000 字以内)。内容依次为:论文题目、作者姓名、工作单位部门、通讯地址和邮编、结构式摘要(目的、方法、结果、结论)、关键词、正文、参考文献。文中可有图表,应为清晰的原图或计算机图形文件。请投电子版文稿,Word 文档排印,中文宋体字,英文 Times New Roman,标题用 4 号字体,作者姓名、摘要(500 字以内)、关键词、正文、参考文献用 5 号字体。请标注通讯作者、电子邮箱、联系电话。论文如属省部级以上科研基金课题,请予注明;(3)经评审录用的论文将收入“会议学术论文集”,优秀论文将推荐给与本次会议合作的高级别学术杂志。

联系方式 来稿请发送至 47605961@qq.com 或者 xzylnyx@qq.com,截稿日期为 2013 年 6 月 30 日。