

·论著·

## 大黄解毒散皮肤刺激性、皮肤过敏性 及急性毒性的实验研究

梁潇<sup>1,2</sup>, 刘娇<sup>1,2</sup>, 胡涛<sup>1,2</sup>, 阮婧华<sup>3</sup>, 钱海兵<sup>1,2</sup>

(1.贵州中医药大学基础医学院, 贵州 贵阳 550025;

2.贵州中医药大学贵州省道地药材性效用一致性研究中心, 贵州 贵阳 550025;

3.贵州中医药大学第一附属医院, 贵州 贵阳 550001)

**摘要:**目的 评价大黄解毒散的皮肤刺激性、皮肤过敏性及急性毒性。方法 皮肤刺激性试验:家兔4只,采用自身对照,左侧为对照部位(温水),右侧为试验部位(大黄解毒散),连续14 d完整皮肤给药并评分。皮肤过敏性试验:豚鼠30只,随机数字表法均分为对照组(温水)、阳性组(2,4-二硝基氯苯)和给药组(大黄解毒散),分别于第1、7、14天致敏,末次致敏后14 d激发,并于1、24、48、72 h评分。急性毒性试验:大鼠40只,随机数字表法均分为对照组(温水)和给药组(大黄解毒散),分别于给药后1、24、48、72 h及14 d分别观察其毒性反应并评分。结果 家兔皮肤偶见红斑,无水肿;阳性组豚鼠过敏现象明显,评分较高,致敏率为100%,其余组无过敏现象,评分及致敏率为0;各组大鼠在给药后均无生理异常表现及死亡情况,给药组大鼠皮肤偶见红斑,无水肿,大体解剖学检查显示各脏器均未发现异常改变。结论 大黄解毒散外用时对皮肤无刺激、无过敏、毒性较小。

**关键词:** 大黄解毒散;皮肤刺激性;皮肤过敏性;急性毒性

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.14.019

文章编号:1006-1959(2023)14-0099-05

### Experimental Study on Skin Irritation, Irritability and Acute Toxicity of Dahuang Jiedu Powder

LIANG Xiao<sup>1,2</sup>, LIU Jiao<sup>1,2</sup>, HU Tao<sup>1,2</sup>, RUAN Jing-hua<sup>3</sup>, QIAN Hai-bing<sup>1,2</sup>

(1.School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, Guizhou, China;

2.Guizhou Genuine Herbs Center of Consistency of Utility, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine,  
Guiyang 550025, Guizhou, China;

3.First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, Guizhou, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the skin irritation, skin irritability and acute toxicity of Dahuang Jiedu powder. **Methods** Skin irritation test: 4 rabbits were used as their own control. The left side was the control part (warm water), and the right side was the test part (Dahuang Jiedu powder), the complete skin was administered and scored for 14 consecutive days. Skin irritability test: Thirty guinea pigs were randomly divided into control group (warm water), positive group (2, 4-dinitrochlorobenzene) and administration group (Dahuang Jiedu powder). The rats were sensitized at 1, 7 and 14 days, stimulated at 14 days after the last sensitization, and scored at 1, 24, 48 and 72 hours. Acute toxicity test: 40 rats were randomly divided into control group (warm water) and administration group (Dahuang Jiedu powder). The toxicity reaction was observed and scored at 1, 24, 48, 72 h and 14 d after administration. **Results** Skin erythema was occasionally observed in rabbits without edema. In the positive group, the allergic phenomenon was obvious and the score was high, and the sensitization rate was 100%; in the other groups, there was no allergic phenomenon, and the score and sensitization rate were 0. No physiological abnormalities or death were found in rats in each group after administration. Skin erythema was occasionally observed and no edema was observed in rats in the administration group, and gross anatomy examination showed no abnormal changes in each organ. **Conclusion** Dahuang Jiedu powder has no irritation, no allergy and little toxicity to the skin when used externally.

**Key words:** Dahuang Jiedu powder; Skin irritation; Skin irritability; Acute toxicity

大黄解毒散是由大黄、硫黄组方而成的外用制剂,具有清热解毒、化瘀散结的功效,用于肺热上炎,

热毒瘀结所致红斑、丘疹、粉刺、脓疱、囊肿、疼痛等症。大黄外用入药在我国历史悠久,其味苦,性寒,归

基金项目:贵州省普通高等学校特色重点实验室(编号:黔教合 KY 字[2017]006)

作者简介:梁潇(1998.2-),女,四川德阳人,硕士研究生,主要从事中药药理研究

通讯作者:钱海兵(1977.10-),男,河南卫辉人,博士,教授,博士生导师,主要从事中药药理研究

脾、胃、大肠、肝及心包经,具有泻下攻积,清热泻火,凉血解毒,逐瘀通经,利湿退黄的功效<sup>[1]</sup>。硫黄味酸,性温,有毒,归肾及大肠经,外用可解毒、杀虫、疗疮,用于疥癣、秃疮及阴疽恶疮<sup>[1]</sup>。本研究参照《中药、天然药物研究技术指导原则》<sup>[2]</sup>和《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》<sup>[3]</sup>进行大黄解毒散皮肤刺激性、过敏性及急性毒性试验,旨在为该药临床应用中的安全性问题提供动物实验依据。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 家兔4只,体重1.5~2 kg,雌雄各半,由贵州医科大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(黔)2018-0001。豚鼠30只,体重300~400 g,雌雄各半,由贵州医科大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(黔)2018-0001。SPF级SD大鼠40只,体重180~220 g,雌雄各半,由长沙市天勤生物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(湘)2019-0014。所有动物适应性饲养7 d后开始试验。动物实验操作符合贵州中医药大学动物伦理委员会要求。

1.2 主要药物及试剂 大黄解毒散,棕褐色至棕褐色粉末,由贵州中医药大学第一附属医院制剂中心提供,批号:20190202;20210910;2,4-二硝基氯苯,西亚试剂,批号:20210420。

1.3 大黄解毒散皮肤刺激性试验 家兔4只,试验前24 h,在每只家兔脊背两侧相同部位备皮,备皮面积为3 cm×3 cm,左侧为对照部位,右侧为试验部位。试验当日取大黄解毒散粉末8 g,开水调匀备用。试验时取制备好且冷却至肤温的药物(大黄解毒散)敷于试验部位,敷药面积为2.5 cm×2.5 cm,用塑料薄膜外包,无刺激性胶布、纱布固定,对照部位给予温水,给药次数为1次/d,共14 d。给药1 h后观察敷药局部皮肤是否出现红斑、水肿等刺激反应。

1.4 大黄解毒散皮肤过敏性试验 豚鼠30只,随机数字表法均分为对照组(温水)、阳性组(2,4-二硝基氯苯,致敏浓度1.0%、激发浓度0.1%)、给药组(大黄解毒散),每组10只。试验前24 h,在每只豚鼠脊背两侧相同部位备皮,备皮面积为4 cm×4 cm,左侧为致敏部位,右侧为激发部位。试验当日取大黄解毒散粉末20 g,开水调匀备用。致敏时分别在每只豚鼠左侧致敏部位涂抹相应药物,2层纱布覆盖,无刺激性胶布、绷带固定6 h后温水清洗,分别于试验开始第1、7、14天致敏,共致敏3次。末次致敏后

14 d,分别于每只豚鼠右侧激发部位按上述操作进行激发接触,并于激发后1、24、48、72 h分别观察豚鼠皮肤是否出现红斑、水肿等过敏反应。

1.5 大黄解毒散急性毒性试验 大鼠40只,随机数字表法均分为给药组(大黄解毒散)和对照组(温水),每组20只,雌雄各半。试验前24 h,在每只大鼠脊背两侧相同部位备皮,备皮面积为4 cm×7 cm(≥10%体表面积)。试验当日取大黄散100 g,开水配制成最大给药量20 g/kg备用。上午9时给药,将制备好且已冷却至肤温的药物分别敷于每只大鼠的备皮部位,消毒纱布和网孔尼龙绷带固定4 h,对照组给予温水涂抹。给药后1、24、48、72 h及14 d分别观察每只动物的毒性反应和死亡情况,并记录各组动物的一般生理状况、行为活动、眼和粘膜的变化、呼吸、中枢神经系统、体重、进食、大小便等有无中毒表现和死亡情况,同时观察备皮部位给药局部皮肤是否出现红斑、水肿等刺激反应,试验结束后将动物处死进行大体解剖学检查。

1.6 评价标准 皮肤刺激性、皮肤过敏性及急性毒性试验均按表1、表2进行皮肤刺激(过敏)反应评分及刺激(过敏)强度评价,皮肤刺激强度评价分值=(红斑总分+水肿总分)/合计动物数。急性毒性试验计算致敏率,0~10%为无致敏性,11%~30%为轻度致敏性,31%~60%为中度致敏性,61%~80%为高度致敏性,81%~100%为极度致敏性。致敏率(%)=皮肤过敏反应阳性(不论程度轻重)动物数×100%/受试动物总数。

表1 皮肤刺激反应评分标准

刺激反应	分值
红斑	
无红斑	0
轻度红斑(勉强可见)	1
中度红斑(明显可见)	2
重度红斑	3
紫红色红斑到轻度焦痂形成	4
水肿	
无水肿	0
轻度水肿(勉强可见)	1
中度水肿(明显隆起)	2
重度水肿(皮肤隆起1 mm,轮廓清楚)	3
严重水肿(皮肤隆起1 mm以上并有扩大)	4
最高总分值	8

表 2 皮肤刺激强度评价标准

分值	评价
0~0.49	无刺激性
0.5~2.99	轻度刺激性
3.0~5.99	中度刺激性
6.0~8.00	重度刺激性

1.7 统计学分析 使用 SPSS 26.0 进行数据分析,体重结果采用( $\bar{x}\pm s$ )表示, $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大黄解毒散皮肤刺激性试验 家兔完整皮肤给药连续 14 d 局部给药,给药后家兔精神状态、活动、呼吸、摄食量、体质量、外观、大小便性状及颜色、被毛肤色等接未见明显异常,鼻、咽、口腔无异常分泌

物。家兔给药部位个别时段出现有红斑现象,皮肤未出现水肿,刺激强度评分均值为 0.107,见表 3。

2.2 大黄解毒散皮肤过敏性试验 给药组及对照组豚鼠激发接触 72 h 内皮肤无红斑及水肿现象出现,过敏反应及强度评分为 0,致敏率为 0;阳性组豚鼠激发接触 72 h 内,皮肤红斑、水肿现象明显,各时段过敏反应及强度评分均较高,致敏率均为 100%,见表 4。

2.3 大黄解毒散急性毒性试验

2.3.1 一般情况 各组大鼠在给药后精神状态、活动、呼吸、摄食量、体质量、外观、大小便性状及颜色、被毛肤色等未见明显异常,鼻、咽、口腔无异常分泌物。试验前后相同性别的给药组大鼠与对照组大鼠体重比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),各组大鼠试验前后体重变化及死亡情况见表 5。

表 3 大黄解毒散皮肤刺激性试验结果( $n=4$ ,分)

试验天数(d)	刺激反应评分(大黄解毒散)			刺激反应评分(温水)		
	红斑	水肿	总分	红斑	水肿	总分
1	2	0	2	0	0	0
2	3	0	3	0	0	0
3	1	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0

表 4 大黄解毒散皮肤过敏性试验评分及致敏率结果( $n=10$ )

组别	总分(分)				平均分(分)				致敏率(%)			
	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
对照组	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
给药组	1	0	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0
阳性组	30	22	21	40	3	2.2	2.1	4	100.00	100.00	100.00	100.00

表 5 完整皮肤最大耐受量给药体重及死亡情况 ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	试验前体重(g)	试验后体重(g)	死亡数(只)
对照组 ♀	/	194.20±4.96	234.20±13.95	0
对照组 ♂	/	213.40±5.29	282.50±10.94	0
给药组 ♀	20	199.30±4.37	233.00±11.33	0
给药组 ♂	20	211.70±7.75	270.40±16.99	0

2.3.2 皮肤刺激性评分及刺激强度评价 分值给药组大鼠给药部位在给药后 24~72 h 出现有红斑现象,皮肤未出现水肿,见表 6。

2.3.3 急性毒性试验结果 试验期内无动物死亡,各给药组动物均无生理异常表现,毛皮光滑,进食、体

重增长及大小便正常,眼、鼻无异常分泌物,粘膜无充血、水肿,呼吸正常。处死动物并对心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、肠等主要脏器作解剖学检查,结果未发现所检器官有肿胀、囊肿、萎缩、出血、水肿、颜色异常、粘连、硬化等异常改变,毒性反应评价标准见表 7。

表 6 大黄解毒散急性毒性试验皮肤刺激性试验结果 ( $n=10$ )

组别	性别	剂量(g/kg)	总分(分)					平均分(分)				
			1 h	24 h	48 h	72 h	14 d	1 h	24 h	48 h	72 h	14 d
对照组	♀	/	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	♂	/	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
给药组	♀	20	0	3	2	0	0	0	0.3	0.2	0	0
	♂	20	0	3	3	2	0	0	0.3	0.3	0.2	0

表 7 急性毒性试验检查方法及试验结果

器官、系统	检查方法	毒性表现	试验结果
中枢及神经系统	行为	行为变化、不正常叫声、躁动或静伏不动	行为正常
	异常运动	抽搐、震颤、共济失调、麻痹、局部肌肉、抽动、强迫运动	无异常运动
	对刺激的反射	烦躁易怒、冷漠、感觉过敏、抑制状态	感觉灵敏
	神经反射(含翻正反射)	迟钝、丧失	正常
	肌张力	僵硬、松弛	正常
植物神经系统	瞳孔	缩小、扩大	无变化
	分泌物	流涎、流泪	正常
呼吸系统	鼻	分泌物	无
胃肠系统	呼吸及其频率	急促、过慢、阵式呼吸、Kussmaul 氏呼吸	正常
	大便	腹泻、便秘	正常
	腹部形状	胀气、收缩	正常
泌尿生殖系统	大便硬度、颜色	不成形、黑便或土色	正常
	阴唇、乳腺	肿胀	正常
	会阴部	肮脏	干净
眼	眼睑	下垂	正常
	眼球	凸出、震颤、透明度降低	正常
其它	一般状态	异常姿态、消瘦等	正常

### 3 讨论

中药经皮外用制剂是中药外用制剂的一种,是指在中医药理论指导下,直接给药于皮肤的制剂。

中药外用具有用药方便的优点,但此法在应用时也会产生不良反应,临床表现复杂且因人而异,除局部反应外也累及人体系统<sup>[4]</sup>。

2020版中国药典中记载的中药外用剂型以散剂为主,其中大黄为中药外用制剂中的高频中药,硫磺为中药外用制剂中的毒性饮片<sup>[5]</sup>。大黄的主要化学成分包括蒽醌类、蒽酮类、黄酮类、鞣质类等<sup>[1,6]</sup>。现代药理研究表明<sup>[7-10]</sup>,大黄在心血管系统和免疫系统发挥重要作用,且具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抑菌等药理作用。硫磺为自然元素类矿物硫族自然硫,采挖后,加热熔化,除去杂质,或用含硫矿物经加工制得<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明<sup>[11]</sup>,硫磺在中枢神经系统发挥重要作用,切具有缓泻、溶解角质、脱毛、抗炎、抗菌、杀虫、镇咳、祛痰、抗病毒等药理作用。《中药散剂临床外用技术规范(草案)》提出,对于含有毒中药的外用散剂不宜大面积使用<sup>[12]</sup>。用法用量是影响制剂安全有效作用发挥的重要内容,目前大黄解毒散用量并不明确,严重影响了临床应用<sup>[13]</sup>。

大黄解毒散在我院应用效果显著,但目前未曾对其进行安全性研究。为评价大黄解毒散的安全性,为其临床应用提供安全性依据,指导临床合理用药,本研究对其进行皮肤刺激性、皮肤过敏性及急性毒性试验。目前皮肤毒性研究主要集中在皮肤刺激性和致敏性<sup>[14,15]</sup>。大黄解毒散皮肤刺激性试验结果显示,家兔完整皮肤连续给药14 d,受试皮肤局部未出现明显刺激性。基于此结果,可认为大黄解毒散外用时无刺激性。大黄解毒散皮肤过敏性试验结果显示,大黄解毒散对豚鼠无皮肤过敏现象,致敏率为0,可认为大黄解毒散外用时无致敏因素。急性毒性试验是指机体单次或24 h内多次接触外来药物,观察其所引起的中毒效应及死亡状况的方法,是药物毒性研究的第一步<sup>[16]</sup>。大黄解毒散急性毒性试验结果显示,大鼠体重增长与对照组无差异,且未见任何毒性反应和死亡情况,动物解剖肉眼检查主要脏器及给药局部未发现异常改变,对给药局部完整皮肤也无刺激性,可认为大黄解毒散外用时毒性较小。

综上所述,可认为大黄解毒散外用时对皮肤刺激性、过敏性及毒性反应较小,临床外用较为安全。

## 参考文献:

- [1]国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:350.
- [2]国家食品药品监督管理局.中药、天然药物研究技术指导原则[S].北京:中国医药科技出版社,2005.
- [3]国家食品药品监督管理局.药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则[S].北京:中国医药科技出版社,2014.
- [4]陶玲,白敦耀,臧振中,等.雷公藤甲素阿魏酸醇质体凝胶经皮给药的长期毒性[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(7):95-104.
- [5]贺葵邦,李晓芳,白菊,等.2020年版《中国药典》一部中药外用制剂分析[J].中成药,2022,44(8):2645-2650.
- [6]戚婧,符江,程锦堂,等.药用大地上部分化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(14):45-51.
- [7]李纪丰,王瑞婕,张宇欣,等.大黄素甲醚通过 HMGB1-NLRP3 信号通路缓解药物性肝损伤的作用研究[J].中草药,2022,53(7):2095-2102.
- [8]代继源,刘文杰,王春辉.大黄酚介导 AMPK 依赖性信号通路抑制结肠癌 SW480 细胞的增殖、侵袭和裸鼠体内肿瘤形成[J].中国免疫学杂志,2020,36(14):1688-1694.
- [9]张瑞.大黄素通过调节肠屏障、肠道菌群和免疫稳态改善脓毒症小鼠肠功能障碍[D].北京:北京中医药大学,2020.
- [10]覃静,祖敬芝,罗沙,等.大黄酸抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌机制[J].微生物学通报,2021,48(6):2111-2117.
- [11]赵霞.硫磺及其制剂冰黄肤乐软膏的质量控制研究[D].北京:北京中医药大学,2020.
- [12]中国中医药信息学会外治分会.中药散剂临床外用技术规范(草案)[J].中国现代应用药学,2019,36(24):3104-3107.
- [13]田硕,苗明三,熊维政,等.2020年版《中国药典》(一部)药材和饮片的外用功能及应用分析[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(8):161-167.
- [14]张琪薇,陈争光,万力生.小儿推拿退热乳的皮肤刺激性及过敏性实验研究[J].时珍国医国药,2020,31(4):1004-1006.
- [15]向翠英,杨刚,杨冰,等.丁酸氯倍他松乳膏的家兔皮肤刺激性和豚鼠皮肤过敏性研究[J].中国药房,2020,31(3):330-334.
- [16]刘玉明,蒋定文,李珂娴,等.银参胶囊的急性毒性和长期毒性实验考察[J].中国药师,2020,23(7):1457-1461.

收稿日期:2022-08-23;修回日期:2022-10-24

编辑/肖婷婷