

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.01048

· 论 著 ·

## 6种中药挥发油体外抑杀人体蠕形螨活性及安全性研究

刘继鑫<sup>1</sup>, 李朝品<sup>2\*</sup>, 张浩<sup>1</sup>, 孙艳宏<sup>1</sup>

1. 齐齐哈尔医学院病原学教研室, 齐齐哈尔 161006

2. 皖南医学院寄生虫学教研室, 芜湖 241002

**[摘要]** **目的:**筛选体外抗螨有效的中药挥发油。**方法:**采用透明胶带粘贴法获取蠕形螨,镜下观察不同中药挥发油对毛囊蠕形螨和皮脂蠕形螨的抑杀作用,并设立新肤螨灵软膏为阳性对照、生理盐水为阴性对照,进行体外抗螨活性筛选。应用健康家兔进行皮肤刺激实验和急性皮肤毒性实验。**结果:**丁香、枳壳、细辛、桂皮、良姜和花椒6种中药的挥发油具有较好的抑杀蠕形螨效果,对2种蠕形螨均有明显的抑杀作用,其中丁香、细辛2种中药挥发油对毛囊蠕形螨的抑杀效果优于皮脂蠕形螨( $P < 0.05$ )。丁香挥发油对家兔完整皮肤的刺激评分为0.2,破损皮肤的刺激评分为0.3,无明显毒性。**结论:**丁香、枳壳等6种中药挥发油具有良好的体外抑杀蠕形螨活性,其中丁香挥发油具有较强的体外抗蠕形螨活性且具有皮肤安全性。

**[关键词]** 中草药;挥发油;人体蠕形螨;抗寄生虫药

**[中图分类号]** R 286.8 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)09-1048-04

### Volatile oil of Chinese crude drug against human demodex: effectiveness and safety

LIU Ji-xin<sup>1</sup>, LI Chao-pin<sup>2\*</sup>, ZHANG Hao<sup>1</sup>, SUN Yan-hong<sup>1</sup>

1. Department of Etiology, Qiqihaer Medical University, Qiqihaer 161006, China

2. Department of Parasitology, Wannan Medical University, Wuhu 241002

**[ABSTRACT]** **Objective:** To search for effective volatile oil of Chinese crude drug for killing demodex *in vitro*. **Methods:** The demodex mites were collected by adhesive cellophane tape technique. The killing effects of different volatile oils against Df and Db were observed by microscope. Normal saline and *Xinfu Manling* Ointment were used as negative and positive controls, respectively. Skin irritation tests for normal and wounded skin and acute toxicity test were carried out using rabbit skin. **Results:** The volatile oils of 6 Chinese crude drugs, including clove, orange fruit, manchurian wildginger, cinnamon bark, rhizoma alpiniae, and pricklyash peel, were highly potent in killing Df and Db *in vitro*; and the volatile oil of clove and manchurian wildginger had a better killing effect against Df than Db ( $P < 0.05$ ). The scores for irritation to normal and wounded rabbit skin were 0.2 and 0.3, respectively, and acute toxicity test showed no obvious toxicity. **Conclusion:** The volatile oils of the 6 mentioned Chinese crude drugs have satisfactory anti-mite activities *in vitro*. The volatile oil of clove shows a remarkable activity against demodex *in vitro*, with good skin safety.

**[KEY WORDS]** chinese herbal drugs; volatile oil; human demodex; antiparasitic agents

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(9):1048-1051]

蠕形螨俗称毛囊虫,是一类小型永久性专性寄生螨,寄生于人体的主要有毛囊蠕形螨(*Demodex folliculorum*, Df)和皮质蠕形螨(*Demodex brevis*, Db)2种,引起螨性的痤疮、酒渣鼻、外耳道瘙痒症等疾病,给感染者带来不同程度的精神痛苦及心理压力。目前杀螨药物报道较多,但疗效尚不理想,而应用中药挥发油抑杀蠕形螨的报道较少,为此本研究从约300种富含挥发油的中药材中筛选对人体蠕形螨具有较强抑杀作用的中药,并在此基础上进行了丁香挥发油的体外抗螨活性及安全性的实验研究,为

开发安全、高效的杀螨药物提供参考。

### 1 材料和方法

1.1 仪器、试剂和动物 丁香、枳壳、细辛、桂皮、良姜和花椒6种中药均购自淮南市恒康医药有限公司,并由本院药学教研室张根葆教授鉴定。光学显微镜及其配套动静态照相系统(Nikon),新肤螨灵软膏(山东健康药业有限公司,国药准字:Z20027830)。健康成年家兔8只,雌雄各半,体质量2.0~2.5 kg,无皮肤性疾

**[收稿日期]** 2008-12-01 **[接受日期]** 2009-03-19

**[作者简介]** 刘继鑫,硕士,助教. E-mail:ljx\_2000\_1979@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel:0553-3932587, E-mail:cpli@aust.edu.cn

供,随机分为2组,每组4只。

1.2 中药挥发油的提取 取中药50 g,粉碎后过2号筛,细粉经蒸馏水浸泡8 h后,采用水蒸气蒸馏法在挥发油提取装置内进行提取,经无水硫酸钠干燥后置棕色瓶内备用。

1.3 中药挥发油体外抑杀人体蠕形螨 采用透明胶带粘贴法获取蠕形螨,在室温( $30 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  GMP实验室内进行抑杀实验。步骤为:取下原载玻片上的胶带,倒贴于一新载玻片上,镜下查找活螨,并区分螨种,调整螨的位置于视野正中,选择活动度良好(足爪的活动频率 $\geq 15$ 次/min)的蠕形螨为实验对象。用微量移液器在10倍镜下给药,40倍镜下观察螯肢与足爪的运动情况,连续观察1 min,躯体不发生任何扭动,螯肢与足爪无变化,且用解剖针触动仍无变化者初步判定死亡,继续观察30 s仍不动者确认死亡。Df和Db各选择20条为受试对象,死亡时间以20条蠕虫全部死亡的时间为准,以新肤螨灵软膏为阳性对照,生理盐水为空白对照。

#### 1.4 皮肤刺激实验<sup>[1]</sup>

1.4.1 皮肤准备 实验对象为健康成年白色家兔,单笼饲养,实验前动物在实验室中适应环境3 d,实验前24 h,将实验动物脊柱两侧毛剪去或剃掉,不可损伤表皮,去毛范围左右各3 cm $\times$ 3 cm,24 h后,选择皮肤健康完整无损的动物进行实验。无毛区左右对称,一半保持无破损的“完整皮肤”,另一半经消毒后用注射器针头划“井”字形划痕呈“破损皮肤”,以划破皮肤渗血为度。

1.4.2 给药 取丁香挥发油0.3 ml,分别涂布于完整皮肤或者破损皮肤的2.5 cm $\times$ 2.5 cm的面积区内,胶布或绷带固定,以蒸馏水做阴性对照。贴敷24 h后用温水除去残留受试物。

1.4.3 结果判断标准 在除去受试药物后的1、24、48 h观察受试部位皮肤反应,按照皮肤刺激评分标准1和标准2进行评分,并计算积分。积分值=

( $\Sigma 1 + \Sigma 2$ )/动物数。标准1:无红斑,0分;轻微红斑,1分;中等程度到重度程度红斑,3分;严重红斑(轻微的结痂)至轻度焦痂,4分。标准2:无水肿,0分;很轻微水肿,1分;轻微水肿,2分;中度水肿(隆起约1 mm),3分;严重水肿(隆起约1 mm,超出受试部位),4分。然后进行皮肤刺激强度评价:无刺激性,0.0~0.4分;轻刺激性,0.5~1.9分;中等刺激性,2.0~5.9分;强刺激性,6.0~8.0分。

1.5 急性皮肤毒性实验 皮肤准备及给药同1.4.1及1.4.2。除去受试物后,连续观察其1周的行为活动,注意观察动物的全身中毒表现和死亡情况,包括动物皮肤、毛发、眼睛和黏膜的变化、呼吸、循环、中枢神经系统、四肢活动和行为方式等的变化,特别要注意观察震颤、惊厥、腹泻、昏迷等现象。如果对完整皮肤无毒性反应,在家兔受试部位进行擦伤渗血,并在擦伤部位涂药。观察指标同上,并与对照组比较。给药后凡是实验过程中死亡的动物和(或)出现毒性反应的动物,均进行尸检和肉眼观察。当肉眼可见病变时,还应进行病理组织学镜检。

1.6 统计学处理 药物杀螨时间用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用SPSS 12.0软件进行 $t$ 检验。

## 2 结果

2.1 给药前后两种人体蠕形螨活动力的变化 加药前,2种螨均较活跃,螯肢及4对足爪均处于不停的运动状态,平均每只足爪的运动频率均 $\geq 15$ 次/min,但虫体很少发生扭曲及翻转。分别加入丁香、枳壳、细辛、桂皮、良姜6种中药挥发油后,虫体运动加剧,高倍镜下可见虫体剧烈收缩变形,足爪的运动频率超过20次/min,身体亦发生扭曲,甚者翻转,在挥发油内游动,经历了短暂的亢奋状态后,虫体进入抑制状态,形态逐渐恢复如初,活动逐渐减慢,最终死亡。丁香挥发油杀Df过程如图1所示。

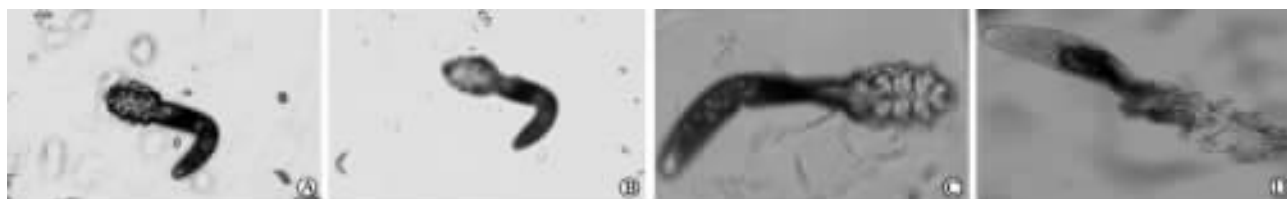


图1 丁香挥发油杀毛囊蠕形螨过程

Fig 1 Killing effect of clove volatile oil on demodex folliculorum

A: Premedication; B: The full contact of mite with the essential oil; C: Marcid mite; D: Mite was killed and the body was transparent

2.2 给药后2种人体蠕形螨死亡时间 良姜、枳壳等6种挥发油杀螨时间均在30 min以内,其中细辛和丁香挥发油对Df的抑杀效果优于Db( $P <$

0.05)。而阳性对照液杀螨效果较弱,抑杀时间在140 min以上,差异显著( $P < 0.05$ )。生理盐水在30 h内未起到抑杀蠕形螨作用。详见表1。

表 1 6种中药挥发油及阳性、阴性对照液作用下2种人体蠕形螨的死亡时间

Tab 1 Killing effects of six volatile oils and positive, negative controls against two kinds of human demodexes

(n=10,  $\bar{x} \pm s, t/\text{min}$ )

| Group  | Demodex folliculorum | Demodex brevis |
|--|----------------------|----------------|
| Volatile oil of rhizoma alpiniae officinarum | 14.42±1.14*          | 8.3 ±0.86*     |
| Volatile oil of orange fruit                 | 21.72±0.84*          | 10.72±0.83*    |
| Volatile oil of manchurian wildginger        | 12.55±0.91*          | 15.83±1.31*    |
| Volatile oil of cinnamon bark                | 13.52±0.73*          | 6.96±0.63*     |
| Volatile oil of clove                        | 3.86±0.55*           | 5.02±0.65*     |
| Volatile oil of pricklyash peel              | 12.98±0.58*          | 6.89±0.56*     |
| Xinfu manling ointment                       | 150.23±1.78          | 148.08±1.39    |
| Sodium chloride                              | >1 800               | >1 800         |

\* P<0.05 vs Xinfu Manling Ointment

2.3 皮肤刺激实验 丁香挥发油对家兔的完整皮肤和破损皮肤均无刺激性,刺激评分分别为0.2和0.3。蒸馏水对家兔完整皮肤和破损皮肤的刺激评分分别为0和0.1,属无刺激性。

2.4 急性皮肤毒性实验 观察1周,对完整皮肤和破损皮肤家兔的行为活动无任何影响,且在体质量、毛发、皮肤(图2A~2D)、呼吸及四肢活动等方面未见异常变化。

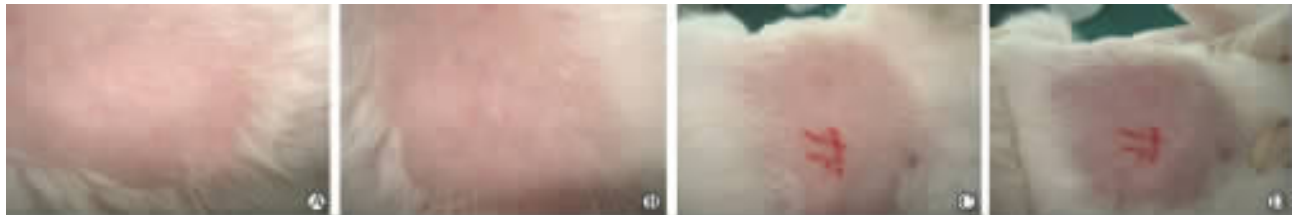


图 2 丁香挥发油对家兔的急性皮肤毒性实验

Fig 2 Effect of volatile oil of clove on rabbit skin

A:Skin integrity premedication; B:Skin integrity after administration; C:Damaged skin premedication; D:Damaged skin after administration

### 3 讨论

国外治疗蠕形螨病多采用西药,最常见的如1%、2%的甲硝唑<sup>[2-3]</sup>;2%、5%的扑灭司林<sup>[4-5]</sup>和200 mg/kg的依维菌素<sup>[6]</sup>等,但西药治疗存在药物合成工艺复杂,长时间使用会出现不良反应,而中药作为天然药物具有绿色、安全、毒副作用小的优点,对治疗人体蠕形螨病具有重要意义,目前中药治疗蠕形螨病疗效较好,如百特药液<sup>[7]</sup>、桉叶油<sup>[8]</sup>、花椒挥发油乳霜剂<sup>[9]</sup>等。

挥发油是一类油状液体,有芳香气味,具有广泛生物活性,本研究选取了文献记载的富含挥发油的中药6种,采用水蒸气蒸馏法提取,跟踪法观察药物对螨作用,判断抗螨活性。结果显示良姜等6种中药挥发油均有较强的体外抗螨活性,其中丁香、枳壳、细辛、桂皮、良姜均未见报道。

研究发现丁香挥发油有较好的体外杀螨效果,以往文献<sup>[10]</sup>中曾有报道,但非精油,而是油霜,效果不佳。卫生标准规定:化妆品不得对皮肤和黏膜产生刺激和损伤,所以此试验是衡量化妆品卫生质量的主要指标。完整皮肤未出现任何红斑和水肿,涂

抹家兔的破损皮肤出现轻度的红斑,无水肿,表明其安全性可靠。急性皮肤毒性实验用于确定受试物是否经皮肤渗透和短期作用所产生毒性反应,并为确定亚慢性毒性试验提供实验依据,本实验表明丁香挥发油对家兔皮肤无急性毒性。丁香资源丰富,且提取方法简便、毒性低,作为外用药具有安全性,其更广泛的用途有待于进行深入研究。

### [参考文献]

[1] 田 晔,李朝品,邓 云. 蒲公英提取物体外抗毛囊蠕形螨活性及皮肤安全性的实验研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007,25:133-136.

[2] Kocak M, Yagli S, Vahapoglu G, Eksioglu M. Permethrin 5% cream versus metronidazole 0.75% gel for the treatment of papulopustular rosacea. A randomized double-blind placebo-controlled study[J]. Dermatology, 2002,205:265-270.

[3] Morsy T A, Fayad M E, Morsy A T, Afify E M. Demodex folliculorum causing pathological lesions in immunocompetent children[J]. J Egypt Soc Parasitol, 2000,30:851-854.

[4] Forstinger C, Kittler H, Binder M. Treatment of rosacea-like demodicidosis with oral ivermectin and topical permethrin cream[J]. J Am Acad Dermatol, 1999,41(5 Pt 1):775-777.

[5] Junk A K, Lukacs A, Kampik A. Topical administration of met-

- ronidazole gel as an effective therapy alternative in chronic Demodex blepharitis—a case report[J]. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 1998, 213: 48-50.
- [6] Persi A, Rebora A. Metronidazole and Demodex folliculorum[J]. *Acta Derm Venereol*, 1981, 61: 25-27.
- [7] 李朝品, 田 晔. 百特药液体外抑杀人体蠕形螨作用的实验研究[J]. *中国病原生物学杂志*, 2007, 2: 374-376.
- [8] 赵亚娥, 郭 娜, 李 琛, 李小其. 桉叶油对两种蠕形螨的体外

- 杀虫作用[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2006, 17: 461-464.
- [9] 袁方曙, 郭淑玲, 韩玉敏, 邓树海, 黄桂华. 花椒挥发油乳霜剂治疗蠕形螨病疗效观察[J]. *中国寄生虫病防治杂志*, 2003, 16: 58-60.
- [10] 李文戈, 郑 罡, 张春元, 张 旭, 孙等军, 衣 利, 等. 五种植物挥发油霜抗人体蠕形螨作用的研究[J]. *中国美容医学*, 2005, 14: 341-343.

[本文编辑] 尹 茶

DOI: 10.3724/SP.J.1008.2009.01051

## • 病例报告 •

## 皮肤大汗腺癌伴肝转移 1 例报告

## Hydradenocarcinoma with liver metastasis: a case report

姜 丽, 李 平\*

第二军医大学长海医院肿瘤科, 上海 200433

[关键词] 皮肤肿瘤; 汗腺肿瘤; 肝转移

[中图分类号] R 739.5

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2009)09-1051-01

**1 病例资料** 患者, 男性, 52岁, 因“发现头枕部肿物 10个月, 术后 7个月余, 肝转移 3个月”为主诉来我院复诊。2008年 2月发现右侧一头皮肿物, 椭圆形, 突出于皮肤表面, 与周围组织界限不清, 质硬, 活动度差, 轻度压痛。因肿物进行性增大, 中央表面溃破, 同年 5月取头枕部破溃部周围组织活检, 提示恶性肿瘤, 血常规、头颅及胸腹联合 CT 未见异常。随后行局部肿物手术切除, 肿块大小为 3 cm×3 cm×4 cm, 周围组织无明显异常, 组织病理镜检显示肿瘤呈浸润性生长, 肿瘤细胞排列成条索状或小巢状, 与周围组织分界较清楚, 病理诊断为大汗腺癌。术后放疗, 总量 45 Gy。之后每 2个月复查头颅及胸腹联合 CT 未见异常。2008年 9月在我院复查肝脏 CT 发现肝转移, 头颅 MRI 及胸部 CT 均未见异常, 随后予卡铂+紫杉醇化疗 2 周期后复查肝脏 CT 提示转移灶缩小, 继续以上方案再化疗 2 周期。

2008年 12月 10日门诊查体: 消瘦, 一般情况尚可, 右侧头枕部可见 4 cm×4 cm 的手术瘢痕, 皮肤无黄疸, 浅表淋巴结未触及, 肝脾肋下未触及, 无下肢水肿。其他检查: 头颅 MRI 未见异常, 肝脏增强 CT 可见肝脏数个圆形低密度影, 增强后可见强化, 较 2008年 10月转移灶未有明显变化。因患者化疗耐受差, 出院后予以中药调理。

**2 讨论** 皮肤大汗腺癌较罕见, 病因不明, 病程缓慢, 常在良性肿瘤的基础上发展而来, 亦可原发, 多发于面部、头颈部, 皮损为表面光滑的丘疹或结节。临床上易误诊, 组织病理中细胞类型与汗腺瘤相同, 局灶可见显著的多形性核的异型性细胞和分裂象, 最主要区别在于界限是否清楚和组织结构的特点。大汗腺癌的肿瘤细胞具体表现为: (1) 细胞大, 胞

界清楚, 多角形或不规则圆形或矮柱状; (2) 细胞胞质丰富, 大部分胞质深伊红染, 有丰富的嗜酸性颗粒; (3) 少数核仁清楚, 核呈空泡状; 本例还可见少量核丝分裂, 间质内较多淋巴细胞。汗腺癌有明显复发倾向, 易发生转移<sup>[1]</sup>, 以淋巴道、血道播散<sup>[2]</sup>等多见, 转移部位多为骨、肺等<sup>[2]</sup>。

本例患者因头部质硬肿物就诊, 发病隐匿, 病情进展较快, 诊断主要依赖病理检查, 手术后不久即出现远处转移。分析本病例, 下列情况时应首先考虑汗腺癌: (1) 病程长的皮下结节, 突然增大或出现全身多处结节肿块; (2) 切除后反复复发的肿块, 或切除后复发并其他部位发生肿块者; (3) 淡红或紫红的较大肿块, 表面溃烂压痛。通过本病例我们认为临床上一旦发现质硬、与皮肤黏连的结节均应做病理检查, 确诊为汗腺癌后首选手术切除, 且应广泛切除并行淋巴结清扫, 可提高 5 年生存率<sup>[3]</sup>; 术后应辅以放、化疗以防局部复发和术后转移。汗腺癌对放疗不敏感, 但可使肿块缩小, 对术后手术区及淋巴结引流区的放射治疗, 可预防复发及淋巴结转移。多次复发的患者也应积极治疗, 不应轻易放弃治疗机会。

## [参考文献]

- [1] Waxtein L, Vega E, Cortes R, Hojyo T, Dominguez-Soto L. Malignant nodular hidradenoma[J]. *Int J Dermatol*, 1998, 37: 225-228.
- [2] 齐海智, 陈 霏, 邹伯勋. 汗腺癌的临床特点与治疗[J]. *中华肿瘤杂志*, 1988, 10: 467-469.
- [3] 彭江南, 樊大庆, 胡少南. 27 例皮肤汗腺癌的临床分析[J]. *咸宁学院学报(医学版)*, 2008, 22: 333-334.

[本文编辑] 商素芳, 孙 岩

[收稿日期] 2009-01-27 [接受日期] 2009-03-23

[作者简介] 姜 丽, 硕士生, E-mail: coffee\_jl@163.com

\* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-81873304, E-mail: pingli1965@163.com