

复方米蒿籽软膏剂治疗烧烫伤的药效学实验研究*

王博 昝晓瞳 陈天德 徐家鑫 黄昱 赵雪梅*

[山东第一医科大学(山东省医学科学院)药学院,山东 泰安 271000]

摘要:目的 通过抗炎、镇痛、抑菌、水肿抑制实验及组织学观察等实验,观察复方米蒿籽软膏剂对烧烫伤的治疗作用。方法 分别设阴性对照组、阳性对照组、高剂量组和低剂量组,采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀试验、热板法、琼脂平板扩散法和水肿抑制作用实验,进行复方米蒿籽软膏剂对小鼠Ⅱ度烫伤的药效学评价。结果 复方米蒿籽软膏高低剂量均对二甲苯致小鼠耳廓肿胀有抑制作用,且低剂量组对肿胀的抑制程度接近于阳性对照组,具有显著抗炎作用($P=0.0023$);该制剂高剂量组还具有缓解热板性疼痛的效果($P=0.0365$);并具有较好的抑制小鼠烫伤性水肿的作用($P=0.0390$);尚可抑制葡萄球菌、大肠埃希菌为代表的G+细菌和G-细菌生长的作用。组织病理切片观察,用该制剂7天,皮肤组织伴有成纤维细胞生成,深层结构汗腺、毛囊恢复,表皮层次结构日趋完整,对试验性烧烫伤的治疗作用显著。结论 复方米蒿籽软膏具有显著治疗实验动物烧烫伤创面的作用。

关键词:复方米蒿籽软膏剂;烧烫伤;抗炎;镇痛;抑菌;HE染色;动物实验;药效学

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2020.06.042

文章编号:1672-2779(2020)-06-0105-03

Experimental Study on Pharmacodynamical of Compound Mihaoz Ointment in the Treatment of Burn and Scald

WANG Bo, ZE Xiaotong, CHEN Tiande, XU Jiaxin, HUANG Yu, ZHAO Xuemei*

School of Pharmaceutical Science, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences,
Shandong Province, Tai'an 271000, China

Abstract: Objective To observe the effects of Compound Mihaoz ointment on burn and scald by using anti-inflammatory, analgesic, bacteriostasis, edema inhibition, and histological staining assays. **Methods** The mice were used in this study, and separated into 4 groups including negative control, positive control, high-dose, and low-dose group. The pharmacodynamics of Compound Mihaoz ointment on second degree scald in mice was evaluated by Xylene-induced auricular swelling test, hot plate method, agar plate diffusion method, and edema inhibition test. **Results** The high and low doses of Compound Mihaoz ointment inhibited auricular swelling induced by xylene in mice, and the low dosage of the ointment, with significant anti-inflammatory effect ($P=0.0023$), inhibited auricle swelling similar to the positive control group. The high dosage of ointment had the effect of relieving hot-plate pain ($P=0.0365$), and also had a better effect of inhibiting scalded edema in mice ($P=0.0390$). Moreover, the ointment inhibited the growth of Staphylococcus (G+bacteria) and Escherichia coli. (G-bacteria). Histologically, in the mouse skin where treated with the ointment for 7 days, the fibroblasts were formed, sweat glands and follicular glands in deep skin structure were restored, and epidermis layers were becoming more and more complete. These findings indicated that the ointment had a significant therapeutic effect on experimental burn and scald. **Conclusion** Compound Mihaoz ointment has significant therapeutic effect on burn and scald wounds in experimental mice.

Keywords: compound Mihaoz ointment; burn and scald; anti-inflammatory; analgesic; bacteriostasis; HE staining; animal experiment; pharmacodynamics

烧烫伤是一种治疗周期长,且极易引起并发症的疾病,如不及时和有效地治疗,会导致烧烫伤创面难以修复,留下不能消退的瘢痕,更甚者会导致烧烫伤患者死亡。我们已研究开发的治疗烧烫伤的复方米蒿籽软膏,通过对小鼠烧烫伤皮肤组织切片检测,其在消除水肿、迅速结痂、促进创面愈合等方面具有良好效果。为了进一步探明软膏治疗烧烫伤的作用机制,我们对复方米蒿籽软膏进行了药效学研究,客观评价复方米蒿籽软膏对烧烫伤的治疗效果。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,体质量18~22 g,雌雄兼用,清

洁级,由泰山医学院实验动物中心提供,许可证号SCXK(鲁)20090004。

1.2 药品与试剂 复方米蒿籽软膏剂由泰山医学院药学院制备,小试批号20180122;大肠埃希菌,金黄色葡萄球菌由泰山医学院生命科学学院提供;湿润烧伤膏,汕头市美宝制药有限公司产品,批号17024038;二甲苯,天津市凯通化学试剂有限公司产品,批号GB/T6494-1996;医用凡士林,天津市凯通化学试剂有限公司产品,批号2012年8月28日。

2 方法与结果

2.1 抗炎作用 采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验^[1]

取18~22 g昆明种小鼠50只,雌雄各半,随机分4组(表1),每组10只。每只小鼠给药20 mg,分别涂抹于

*基金项目:国家级大学生创新创业训练计划项目[No.201810439057]

※通讯作者:zhaoxm@sdfmu.edu.cn



右耳，给药4次，每次间隔30 min，末次给药后30 min在受试动物右耳前后两面涂布致炎剂二甲苯共20 μL/只，左耳不做任何处理，1 h后动物脱颈椎处死，剪下双耳用8 mm直径打孔器分别在同一部位打下圆耳片，精密称重，计算肿胀度。小鼠耳廓肿胀度以每只鼠左右耳质量之差的平均值来表示。

表1 软膏对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	用药名称	肿胀度(mg)
阴性对照组		医用凡士林	3.98±1.78
阳性对照组		湿润烧伤膏	1.86±0.96
高剂量组		复方米蒿籽软膏	2.54±1.14*
低剂量组		复方米蒿籽软膏：医用凡士林1:1	1.84±0.70**

注：与阴性对照组比较，*P=0.045 0，**P=0.002 3

结果表明，二甲苯致小鼠耳廓炎症后，与阴性对照组相比，复方米蒿籽软膏高剂量组小鼠耳廓肿胀度(2.54±1.14)低于阴性对照组(3.98±1.78)，P=0.045 0，但高于阳性对照组(1.86±0.96)；但低剂量组小鼠耳廓肿胀度(1.84±0.70)明显低于阴性对照组(P=0.002 3)，接近于阳性对照组(见表1)。提示该软膏对二甲苯所致的小鼠耳肿胀有显著抑制作用。

2.2 镇痛作用 采用热板法取18~22 g昆明种小鼠，以小鼠舔后足反应或跳跃反应的潜伏期为痛阈指标，筛选痛阈值在5~30 s的32只小鼠进入实验，依性别、体质量随机分4组(同2.1)，每组8只，单笼饲养。将药物涂抹于小鼠四肢，给药4次，每次间隔30 min。末次给药于15 min后将小鼠放在预热至(55±0.2)℃金属板上，分别测定基础潜伏期和给药后潜伏期。为了避免小鼠后足被烫伤，确定40 s为中断时间^[2]。

表2 软膏对小鼠镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s$, s)

组别	鼠数	用药名称	给药前	末次给药	
					15 min后
阴性对照组		医用凡士林	16.4±5.3	15.0±5.3	
阳性对照组		湿润烧伤膏	14.7±3.7	18.1±3.4	
高剂量组		复方米蒿籽软膏	14.9±3.5	19.9±2.8*	
低剂量组		复方米蒿籽软膏：医用凡士林1:1	15.6±4.6	19.3±6.0	

注：与阴性对照组比较 *P=0.036 5

实验结果表明，与阴性对照组比较，末次给药15 min后，高低剂量的软膏都可以明显延长小鼠在热板上的时间，高剂量组具有显著性差异(P=0.036 5)，且效果均好于阳性对照组，表明该软膏对小鼠热板致痛具有显著的抑制作用。

2.3 体外抑菌实验：采用琼脂平板扩散法(打孔法) 取1×10⁴个/mL金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌菌液3 mL，加到制备好的无菌LB琼脂培养基上，轻轻晃动，待菌液完全均匀覆盖后静置1 min再吸出菌液，用灭菌的直径6 mm无菌打孔器在制备好的平板上垂直打出6个孔，中

间1个孔，周围5个孔分布要均匀，各孔中心之间相距25 mm以上，与平板的周缘相距15 mm以上，用灭菌牙签将琼脂块挑出。中间1个孔加入灭菌水作对照，周围5个孔加入5种不同浓度的药液，加满为止(约200 μL)，各做3个重复，盖好平皿，置37 ℃温箱，培养16~18 h观察结果。用游标卡尺测量抑菌环的直径(mm)并记录^[3]。

结果判定标准：抑菌圈直径小于10 mm为弱，10~15 mm为中度敏感，15 mm以上为高度敏感。

表3 软膏体外抑菌作用实验结果 ($\bar{x} \pm s$, mm)

药物	浓度	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌
阴性对照	灭菌水	-	-
软膏：灭菌水稀释	1:2	11.31±0.40	9.67±0.15
	1:4	10.45±0.35	9.63±0.28
	1:8	10.75±0.35	9.74±0.24

实验结果表明，软膏对金黄色葡萄球菌具有较强的抑制作用，呈中度敏感。对大肠埃希菌的抑菌作用不明显。见表3。

2.4 水肿抑制作用实验 取18~22 g昆明种小鼠28只，随机分成4组：模型组、阳性对照组、高剂量组和低剂量组，每组7只。造成II度烫伤后，按2.1项下剂量立即在烫伤局部给药，间隔1.5 h给药1次，连续4次，末次给药后1 h处死小鼠，用8 mm冲模冲下烫伤部位的皮肤、称重，按下列公式计算皮肤重量减少百分率^[4]。

计算公式：皮肤重量减少百分率 = (IT-IC) × IT100%

式中IT为模型组的皮肤重量，IC为剂量组的皮肤重量。

表4 软膏对小鼠烫伤性水肿抑制作用 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	用药名称	皮肤重量	皮肤重量	
				IT/IC(mg)	减少百分率(%)
模型组		医用凡士林	78.0±13.8	-	
阳性对照组		湿润烧伤膏	85.0±22.5	-8.97	
高剂量组		复方米蒿籽软膏	59.3±16.3*	23.97	
低剂量组		复方米蒿籽软膏：医用凡士林1:1	67.8±14.4	13.08	

注：与模型组比较 *P=0.039 0

结果表明，高低剂量组软膏都可以明显的减少小鼠皮肤重量，高剂量组有显著性差异(P=0.039 0)，提示软膏具有较好的抑制小鼠烫伤性水肿的作用。见表4。

2.5 病理切片观察小鼠创面组织学变化：HE染色 建立稳定的小鼠深II度烫伤模型^[6]，雌雄随机，体质量为18~20 g，清洁级饲养。按实验设计需将小鼠分为正常皮肤对照组、模型组和用药组，用药7、14和21 d处死小鼠，取其损伤皮肤，固定后制备常规病理切片，进行组织学的观察^[5]。

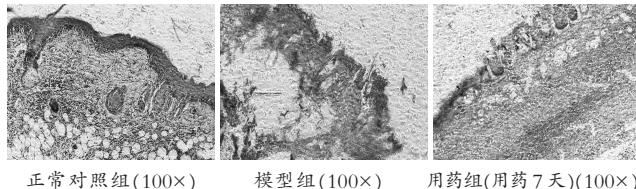


图1 小鼠皮肤组织病理切片

由图1可见,用药7 d之后,皮肤组织结构清晰,已呈现出肥大细胞、巨噬细胞聚集,同时伴有成纤维细胞、胶原物质生成,深层结构的汗腺、毛囊腺恢复,表皮层次结构日趋完整;因此可见软膏对于皮肤烧烫伤的治疗效果显著。

3 讨论

根据现有资料显示,我国烧伤年发生率约2%,总死亡率约1.35/10万,烧烫伤致伤原因日趋复杂,而且发病率有上升趋势。目前大多数患者选用的西医治疗烧烫伤的药物主要是抗生素,长期使用不仅会使细菌产生耐药性并诱发二重感染,还会降低人体的免疫力。

经药理和临床试验证明中药软膏剂有很好的疗效,是烧伤外治最常用的制剂之一。其主要适用于I度和II度烧伤,膏剂富有黏性,外敷患处,既可避免外来刺激和细菌感染,又可消肿止痛,改善局部血液循环,有利于创面组织的修复和再生^[7]。本研究中的复方米蒿籽软膏剂,以中药理论为基础,按照“活血化瘀、消肿止痛、清热解毒、化腐生肌”的基本原则而制成的纯中药

制剂,经药效学实验观察,该软膏剂的抗炎作用,镇痛作用,抑菌作用,对水肿的抑制作用及生肌作用明显;尤其复方米蒿籽软膏剂对小鼠水肿的抑制作用显著,疗效好于或接近于湿润烧伤膏的治疗效果^[8],提示复方米蒿籽软膏剂对于烫伤具有较好的治疗效果。

本制剂工艺简单,稳定性好。所选药材具有种植广泛、易得、价格低廉的特点,适于在临床中推广使用,因而会有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 赵媛,万凯华,翁幼武,等.紫草三黄栓抗炎、消肿、镇痛药效作用的研究[J].新疆医科大学学报,2018,41(7):883-885.
- [2] 王南舟.蜂胶制剂镇痛抗炎作用初探[J].蜜蜂杂志,2004,5:3-6.
- [3] 向双云,周珍辉,李玉冰,等.8种中草药对大肠杆菌的体外抑菌试验[J].黑龙江畜牧兽医,2016,5:167-169.
- [4] 温志鹏,曾小粤,刘心亮,等.烧伤方对实验小鼠烫伤致水肿的抑制作用研究[J].中国中医急症,2007,16(11):1382,1385.
- [5] 李杏娟.病理技术HE染色在病理诊断中的应用研究[J].现代医学与健康研究电子杂志,2018,2(16):166,168.
- [6] 沈娟,金小宝,丁静,等.烧烫伤创面感染的小鼠模型构建[J].中国实验动物学报,2013,21(3):65-69.
- [7] 邱景敏.自拟蒙药方黄柏十五味散治疗烧烫伤体会[J].中国中医药现代远程教育,2009,7(4):127.
- [8] 黄志锐,庄芹,王水仙,等.生肌愈创油纱包扎疗法治疗烧烫伤疗效观察[J].中国中医药现代远程教育,2016,14(21):45-47.

(本文编辑:李海燕 本文校对:王桂玲 收稿日期:2019-08-16)

本刊郑重声明

近期有作者来电反映,有人借我刊名义从事征稿与广告活动,扰乱了正常的投稿秩序,影响了我们《中国中医药现代远程教育》杂志社的声誉。

中国中医药现代远程教育杂志社郑重声明:本刊从未与任何公司或个人签订组稿与广告合作协议,凡冒用我刊名义征稿和广告的中介机构均未获得我刊的任何许可,其工作人员均非我刊的工作人员,与之相关的经济与法律关系与本刊无关。均属违法行为,本刊将依法保留追诉权。

我社唯一投稿邮箱:zgzyyycjy@163.com,没有其他征稿邮箱。中国中医药现代远程教育杂志社官方网址:
<http://www.zgzyyycjy.com> 收费只通过邮寄汇款,地址:北京市复兴门南大街甲2号配楼知医堂101室,邮编:100031,收款单位:中国中医药现代远程教育杂志社。杂志社不通过任何账户和个人卡号收费。请广大作者、读者相互转告,谨防上当。若有不明事宜,请来电垂询。

特此声明。

投稿邮箱:zgzyyycjy@163.com

电话查询:010-57289309 010-57289308

财务部:010-87363190

官 网:<http://www.zgzyyycjy.com>

中国中医药现代远程教育杂志社

2015年2月10日