

复方苯妥英钠凝胶剂对创面修复和细菌感染的影响

孙江桥, 刘超英*

(湖北中医药大学, 武汉 430065)

[摘要] **目的:**观察复方苯妥英钠凝胶剂对实验性创面修复及细菌感染的影响。**方法:**建立小鼠皮肤切割伤模型,用复方苯妥英钠凝胶剂低、高剂量(4.25,4.55 g·kg⁻¹)于创面涂药,连续 12 d,分别于 3,6,8,10,12 d 观察小鼠皮肤创面的收缩率;建立大鼠皮肤切割伴金黄色葡萄球菌感染模型,用复方苯妥英钠凝胶剂低、高剂量(1.70,1.82 g·kg⁻¹)于创面涂药,连续 12 d,观察大鼠皮肤创面的愈合率,同时对愈合组织进行病理学组织学检查。**结果:**3,6,8,10,12 d,复方苯妥英钠凝胶剂低、高剂量组小鼠创面收缩率分别为(20.16±5.78)%,(40.02±9.79)%,(71.04±7.27)%,(96.14±2.53)%,(99.44±1.30)%,(28.50±4.77)%,(55.66±8.39)%,(79.67±5.11)%,(96.14±2.53)%,(100.00±0.00)% ,明显高于凝胶基质组(16.77±4.79)%,(29.95±5.63)%,(50.69±4.19)%,(67.47±5.13)%,(82.48±4.40)% ($P < 0.05, P < 0.01, P < 0.01, P < 0.01; P < 0.01, P < 0.01, P < 0.01, P < 0.01, P < 0.01, P < 0.01$);复方苯妥英钠凝胶剂低、高剂量组大鼠皮肤创面的愈合率分别为(29.45±5.11)%,(50.17±4.29)%,(72.48±5.05)%,(87.44±4.11)%,(96.66±3.75)%;(33.71±3.43)%,(58.67±5.59)%,(81.86±4.15)%,(95.92±2.39)%,(100.00±0.00)%明显高于凝胶基质组(20.71±3.58)%,(40.42±3.89)%,(58.53±6.21)%,(74.71±9.23)%,(86.47±7.15)% (均 $P < 0.01$)。**结论:**复方苯妥英钠凝胶剂能促进实验性细菌感染创面的愈合。

[关键词] 复方苯妥英钠凝胶剂;创面修复;细菌感染

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0255-04

[doi] 10.11653/syjf2013160255

Effect of Compound Phenytoin Sodium Gel on Restoration of the Wound's Surface and Bacterial Infection

SUN Jiang-qiao, LIU Chao-ying*

(Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the influence of compound phenytoin sodium gel (CPSG) for

[收稿日期] 20120914(010)

[基金项目] 湖北省教育厅科研重点项目(D20112006)

[第一作者] 孙江桥, 硕士, 副教授, 从事中药药效学研究, Tel:15307166266, E-mail:issjq@yahoo.com.cn

[通讯作者] *刘超英, 副教授, 从事中药制剂学研究, Tel:18971356643, E-mail:liuchaoying@21.cn.com

- [9] 周建伟,张凡,肖鸣.药条灸对脾虚证患者血清胃泌素D-木糖排泄率及T细胞亚群的影响[J].中国针灸,1998,18(1):15.
- [10] 郑小伟,宋红,包素珍.实验性脾气虚大鼠胃泌素的基因表达及四君子汤的干预作用[J].中华中医药杂志,2008,23(3):264.
- [11] 魏彦明,宗瑞谦,杨孝朴.实验性脾虚证大鼠血浆胃泌素和胃动素含量变化及四君子汤对其调整作用[J].中国兽医学报,2001,21(3):282.
- [12] 陈玉龙,张海艇,李茹柳.四君子汤对利血平致脾虚大鼠唾液淀粉酶分泌的影响[J].中药新药与临床药理,2010,21(5):265.
- [13] 中华人民共和国卫生部.中药新药临床研究指导原则[S],1993:91.
- [14] 陈淑芬.脾虚证与血清胃泌素、D-木糖排泄率及T细胞亚群关系探讨[J].四川中医,1999,17(11):6.
- [15] 宋雅芳,刘友章,姬爱冬,等.脾主运化与细胞线粒体相关再探析[J].辽宁中医杂志,2007,34(1):23.

[责任编辑 李玉洁]

experimental animals on restoration of the wound's surface and bacterial infection. **Method:** The incised wound model of mice was established, CPSG ($4.25, 4.55 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) was external applied for 12 days and the wound contraction rate were observed after treatment for 3, 6, 8, 10, 12 days. Rats incised wound model accompanied by staphylococcus aureus were replicated, CPSG ($1.70, 1.82 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) was external applied for 12 d, and the wound recovery rate were detected after treatment for 3, 6, 8, 10, 12 days. The histopathological changes of wound healing tissue were examined. **Result:** Compared with the wound contraction rate of gel group ($16.77 \pm 4.79\%$), ($29.95 \pm 5.63\%$), ($50.69 \pm 4.19\%$), ($67.47 \pm 5.13\%$), ($82.48 \pm 4.40\%$), those in low and high doses of CPSG were ($20.16 \pm 5.78\%$), ($40.02 \pm 9.79\%$), ($71.04 \pm 7.27\%$), ($96.14 \pm 2.53\%$), ($99.44 \pm 1.30\%$); ($28.50 \pm 4.77\%$), ($55.66 \pm 8.39\%$), ($79.67 \pm 5.11\%$), ($96.14 \pm 2.53\%$), ($100.00 \pm 0.00\%$) respectively ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$) after treatment for 3, 6, 8, 10, 12 days in mice. The wound recovery rate of the low and high dose of CPSG were ($29.45 \pm 5.11\%$), ($50.17 \pm 4.92\%$), ($72.48 \pm 5.05\%$), ($87.44 \pm 4.11\%$), ($96.66 \pm 3.75\%$); ($33.71 \pm 3.43\%$), ($58.67 \pm 5.59\%$), ($81.86 \pm 4.15\%$), ($95.92 \pm 2.39\%$), ($100.00 \pm 0.00\%$) higher than ($20.71 \pm 3.58\%$), ($40.42 \pm 3.89\%$), ($58.53 \pm 6.21\%$), ($74.71 \pm 9.23\%$), ($86.47 \pm 7.15\%$) of gel group (all $P < 0.01$) in the treatment of 3, 6, 8, 10, 12 days. **Conclusion:** CPSG could promote the restoration of the wound's surface in the animals with experimental trauma and bacterial infection.

[**Key words**] compound phenytoin sodium gel; restoration of the wound's surface; bacterial infection

皮肤溃疡、褥疮、糖尿病足等是各种原因引起的皮肤慢性感染性溃疡,是由于组织缺血、坏死、周围血管神经病变引起的皮肤或黏膜缺损,由于局部组织营养状态差,血液循环障碍及抵抗力低下,在此基础上出现反复感染形成恶性循环所致,因其迁延不愈及愈后极易复发等特点,成为医学临床中颇为棘手的难题。为此作者研制了以卡波姆-940 为凝胶基质的复方苯妥英钠凝胶,用于治疗皮肤溃疡、褥疮、糖尿病足等皮肤疾患。本研究采用小鼠皮肤切割伤模型和大鼠皮肤切割伴金黄色葡萄球菌感染模型,观察复方苯妥英钠凝胶对创面的修复作用,以期为其临床应用提供实验数据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 Wistar 大鼠,雌雄各半,体重 (250 ± 20) g; SPF 级昆明种小鼠,雌雄各半,体重 (25 ± 2) g,湖北省实验动物研究中心提供,许可证号 SCXK(鄂)2008-0005。

1.2 试剂 复方苯妥英钠凝胶剂(CPSG)以卡波姆-940 为凝胶基质的复方苯妥英钠凝胶,由苯妥英钠、甲硝唑和克林霉素组成,供实验用的低、高剂量分别含复方苯妥英钠 $0.085, 0.091 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 凝胶,由本校湖北省中药资源与中药化学实验室研制,批号 111103;龙珠软膏(马应龙药业集团股份有限公司,批号 110701)。

1.3 菌株 金黄色葡萄球菌,武汉大学菌种保藏中

心,26001。

2 方法

2.1 对小鼠皮肤切割伤模型的影响^[1-5] 取 40 只小鼠背部剃毛,用 10% 硫化钠脱毛,用戊巴比妥钠 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 麻醉,常规消毒,于背部近颈侧以脊柱为中线切除直径约 1.0 cm 的全层皮肤,创面以消毒纱布止血后暴露。随机将小鼠为 4 组,即凝胶基质组,CPSG 低、高剂量组,龙珠软膏组。各组涂药 $25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,2 次/d,连续 12 d。给药 3,6,8,10,12 d 分别用薄膜法测量背部创面面积,即用透明膜覆盖创面,沿创缘画膜,剪膜,置电子天平称质量,按质量/面积比值换算成面积,并计算收缩率。

收缩率 = (创面原有面积 - 创缘所覆盖面积) / 创面原有面积 $\times 100\%$

2.2 对大鼠皮肤切割伤感染模型的影响^[6-9] 40 只大鼠背部剃毛,脱毛,用戊巴比妥钠 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 麻醉,常规消毒,于背部近颈侧以脊柱为中线切除直径约 2.0 cm 的全层皮肤,创面以消毒纱布止血后暴露。在切口处接种 1×10^{10} 个/只金黄色葡萄球菌,1 次/d,连续 3 d,直至造成局部感染,创口周围红肿,创面有脓液或渗出。随机将大鼠分为 4 组,即凝胶基质组 CPSG 低、高剂量组,龙珠软膏组。同期另设正常对照组(大鼠背部被毛脱毛后,皮肤不做任何处理)。其他各组涂药 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。2 次/d,连续 12 d。给药 3,6,8,10,12 d 分别用薄膜法测量

背部创面面积,即用透明膜覆盖创面,沿创缘绘得创面图形,再将图形描至小方格纸,测定小方格的格数表示创面面积,与涂药前比较,计算创面愈合率。

创面愈合综合评价^[10]:肉眼观察结果创口愈合情况分为恶化、无变化、好转、痊愈4种情况。恶化:创区可见大量脓液,渗出物、创口变大,溃烂、新生肉芽组织少,组织张力较大。无变化:创面有脓液或渗出、局部肿胀,创口没有变大,有新生肉芽,组织张力较大。好转:局部干燥,创口可见有新生肉芽,创口变小,局部张力小。痊愈:局部干燥,创口

闭合,局部张力小。3,6,8,10,12 d观察伤口愈合情况,末次观察完毕麻醉后处死动物,取创面修复组织进行组织病理学检查。

2.3 统计学处理 采用SPSS 13.0统计软件进行数据统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 对小鼠皮肤创面收缩率的影响 与基质组比较,CPSG高剂量组从3 d开始,中剂量组从6 d开始,创面收缩率明显增高($P < 0.05, P < 0.01$)。见表1。

表1 复方苯妥英钠凝胶剂对小鼠创面收缩率的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	3 d	6 d	8 d	10 d	12 d
凝胶基质	-	16.77 ± 4.79	29.95 ± 5.63	50.69 ± 4.19	67.47 ± 5.13	82.48 ± 4.40
CPSG	4.25	20.16 ± 5.78	40.02 ± 9.79 ¹⁾	71.04 ± 7.27 ²⁾	96.14 ± 2.53 ²⁾	99.44 ± 1.30 ²⁾
	4.55	28.50 ± 4.77 ²⁾	55.66 ± 8.39 ²⁾	79.67 ± 5.11 ²⁾	96.14 ± 2.53 ²⁾	100.00 ± 0.00 ²⁾
龙珠软膏	50.0	24.36 ± 8.42 ¹⁾	43.58 ± 10.12 ²⁾	69.66 ± 10.68 ²⁾	88.68 ± 9.14 ²⁾	97.95 ± 3.13 ²⁾

注:与凝胶基质组比较¹⁾ $P < 0.05, ^{2)}$ $P < 0.01$ (表3同)。

3.2 对大鼠皮肤创面愈合的综合评价 CPSG高剂量组大鼠皮肤创面在第1周内无恶化,无变化或好转,第2周创面全部痊愈。CPSG低剂量组在第1周有2例恶化,多数无变化或好转,在第2周有8例痊愈。凝胶基质组在第1周有4例恶化,5例无变化,1例好转,第2周内仅2例痊愈。见表2。

3.3 对大鼠创面愈合率的影响 与基质组比较,CPSG高、低剂量在治疗3~12 d各时点均可明显增高创面愈合率($P < 0.01$)。见表3。

表2 复方苯妥英钠凝胶剂对创面愈合的综合作用($n = 10$) 例

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	恶化		无变化		好转		痊愈	
		1周	2周	1周	2周	1周	2周	1周	2周
凝胶基质		4	5	4	1	4	2		
CPSG	1.70	2		4		4	2		8
CPSG	1.82			2		8			10
龙珠软膏	20.0	3		2		5	3		7

表3 复方苯妥英钠凝胶剂对大鼠创面愈合率的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

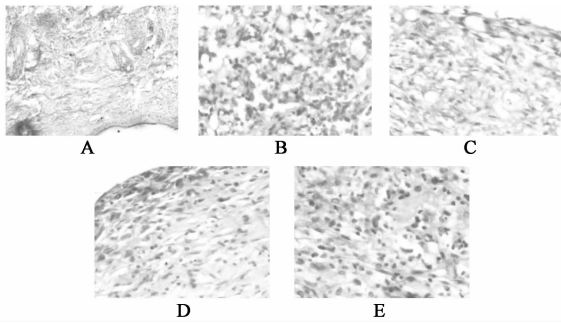
组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	3 d	6 d	8 d	10 d	12 d
凝胶基质	-	20.71 ± 3.58	40.42 ± 3.89	58.53 ± 6.21	74.71 ± 9.23	86.47 ± 7.15
CPSG	1.70	29.45 ± 5.11 ²⁾	50.17 ± 4.92 ²⁾	72.48 ± 5.05 ²⁾	87.44 ± 4.11 ²⁾	96.66 ± 3.75 ²⁾
CPSG	1.82	33.71 ± 3.43 ²⁾	58.67 ± 5.59 ²⁾	81.86 ± 4.15 ²⁾	95.92 ± 2.39 ²⁾	100.00 ± 0.00 ²⁾
龙珠软膏	20.0	31.58 ± 7.28 ²⁾	56.85 ± 10.21 ²⁾	78.89 ± 5.52 ²⁾	91.34 ± 3.48 ²⁾	98.99 ± 1.12 ²⁾

3.4 对大鼠创面修复组织病变的影响 正常对照组:构成该处皮肤的表皮和真皮清晰可见,真皮乳头明显,可见汗腺、毛囊和皮脂腺。凝胶基质组:各切片多示组织脓肿面积较大,脓腔内积聚较多的坏死组织及脓细胞;脓肿灶周围增生的肉芽组织极度水肿、大量炎细胞浸润。复方苯妥英钠凝胶剂低、高剂量组:皮肤呈修复反应状,肉芽组织增生明显,其中有炎细胞浸润并伴轻度水肿,未见脓肿灶。龙珠软

膏组:该组与复方苯妥英钠凝胶剂低、高剂量组反应一致,肉芽组织增生,炎细胞浸润,轻度水肿,未见脓肿灶。见图1。

4 讨论

经皮凝胶剂是将药物与适宜基质制成,具有凝胶特性的经皮给药半固体或稠厚液体制剂,质地均匀细腻,具有良好地生物相容性和稳定性,展开后易于涂布,涂布在皮肤上能形成透明的薄膜,附着性



A. 正常对照组; B. 凝胶基质组;

C. 复方苯妥英钠凝胶剂 1.70 g·kg⁻¹ 组;

D. 复方苯妥英钠凝胶剂 1.82 g·kg⁻¹ 组;

E. 龙珠软膏 20.0 g·kg⁻¹ 组

图 1 复方苯妥英钠凝胶剂对大鼠
创面修复组织病变的影响(HE 染色, ×40)

强,释药快,滞留时间长,无气闷、油腻感,易洗涤。不污染衣物,对皮肤和黏膜无刺激性,适合皮肤局部用药^[11-12]。本实验结果表明,复方苯妥英钠凝胶剂对小鼠皮肤切割创面有促进愈合作用,对大鼠皮肤切割伴细菌感染创面有促进组织修复和创面愈合的作用。

近年来,经实验和临床的验证,苯妥英钠促进创面愈合的机制主要有以下几方面:减轻创面的炎症反应:苯妥英钠具有稳定溶酶体膜,抗脂质过氧化作用。在临床应用中能减轻局部的疼痛、水肿,降低炎性渗出。加速肉芽组织的生长:苯妥英钠能降低胶原酶的合成与释放,促进成纤维细胞的增殖,激活巨噬细胞。在应用中能使肉芽组织生长增快,改善局部微循环,愈合时间明显缩短。减轻创面的感染:苯妥英钠为碱性药物,它改变了创面局部 PH 值,使创面不利于细菌的生长^[13]。据报道在感染性切口中细菌培养显示有金黄色葡萄球菌与厌氧菌生长,而厌氧菌阳性率高达 70%。甲硝唑作为 1 种常用抗厌氧菌的抗生素,是目前公认的治疗各种厌氧菌感染的最佳药物。克林霉素对绝大多数革兰阳性需氧菌有较强的抗菌活性,对厌氧菌也有较强的抗菌活性。苯妥英钠与甲硝唑、克林霉素联合使用,相辅相成,具有协同作用,解决了创口愈合和抗感染的两个关键问题。因此,局部应用复方苯妥英钠凝

胶是一种安全、有效的促进皮肤溃疡愈合的治疗方法,对常规换药难以愈合的创面,具有愈合迅速,疗效确切,价格低廉,换药方便的特点,值得推广应用。

[参考文献]

- [1] 冯帅南,王莎莉,朱方强,等. 基质细胞衍生因子 1 α 促进皮肤创面的新血管形成[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(11): 2019.
- [2] 宋珊珊,李大勇,吕延伟. 一效膏促进小鼠皮肤溃疡愈合的实验研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(9): 4.
- [3] 刘志斌,李峰,吴军正,等. 几丁聚糖药膜促进小鼠皮肤伤口愈合的实验研究[J]. 实验口腔医学杂志, 1997, 13(2): 134.
- [4] 苗慧敏,肖向红,孙婷婷,等. 东北林蛙皮肤抗菌肽 dybowskin-1ST 对小鼠皮肤创伤愈合的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 125.
- [5] 朱春城,彭力平,谢增军. 中药外敷治疗急性软组织损伤的动物实验研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 298.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 310.
- [7] 孙江桥,陈科力,吴和珍. 蛇葡萄根霜剂治疗外科疮疡的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(5): 37.
- [8] 唐建红,刘川玉,何洁,等. 芦荟凝胶对大鼠 II 度烫伤创面愈合的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 156.
- [9] 张红,孙明江,代龙. 胶原蛋白对大鼠创伤模型愈合影响的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8): 78.
- [10] 杨彩红,卢刚,杨栓平,等. 消炎愈创软膏的实验研究[J]. 山西医药杂志, 2004, 33(3): 207.
- [11] 熊欣,刘淑芝,项佳音,等. 新型载体经皮凝胶剂的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 244.
- [12] 段晓颖,高卫芳,闫艳仓. 中药生物黏附制剂研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 209.
- [13] 田文君,袁进,张荣,等. 苯妥英钠临床应用概述[J]. 海峡药学, 2007, 19(7): 74.

[责任编辑 李玉洁]