

医药卫生

椒目仁油合用盐酸小檗碱治疗烫伤的研究

曹蔚 崔芬芳 谢艳华 康荣 王四旺

(第四军医大学药理学天然药物学教研室, 西安 710032)

摘要 考察椒目仁油对烫伤的治疗作用。采用大鼠深Ⅱ度烫伤模型, 创面用不同配比的椒目仁油和盐酸小檗碱进行治疗。以京万红为阳性对照药, 通过观察烧伤创面愈合率、愈合时间和组织病理变化, 研究椒目仁油和盐酸小檗碱合用对大鼠深Ⅱ度烫伤的治疗作用。结果是烫伤伤后第6、12、18、23 d 合用药组的创面愈合率随椒目仁油用量的增加而增加; 椒目仁油组的脱痂时间与模型组相比有显著性差异($P < 0.05$); 伤后第14 d, 椒目仁油和盐酸小檗碱(8:1)合用组、椒目仁油组与模型组比较成纤维细胞增殖多, 真皮胶原纤维排列整齐; 而模型组、溶剂组真皮胶原纤维排列较紊乱, 肉芽少; 伤后第21 d 椒目仁油组新生表皮已连接成片, 表皮层厚, 染色深; 而模型、溶剂组新生表皮未完全覆盖创面。说明椒目仁油可增快胶原合成, 促进上皮细胞增殖, 加速烧伤创面愈合。

关键词 椒目仁油 小檗碱 烫伤 治疗作用

中图分类号 R284.2; **文献标志码** A

烧、烫伤是物理、化学、放射线等诸多因素作用于机体而造成的一种极其复杂的外伤性疾病, 尽管人类努力预防烫、烧伤的发生, 但急诊室每年接受的烧、烫伤病人数量仍然很大。据统计, 美国每年的烧、烫伤病例可达50万之多^[1]。近年来, 烧伤医学有了长足发展, 治疗水平大幅提高, 从烧伤早期液体复苏、感染控制、营养支持、烧伤创面早期覆盖和及时康复治疗方面均得到了明显改善。这些治疗方法的进步明显降低了烧伤死亡率, 延长了严重烧伤病人的存活时间。但烧伤治疗中仍存在创面疼痛、进行性坏死、易感染、瘢痕愈合困难四大难题。因此, 研发具有明显创面修复、抑菌镇痛作用的烧、烫伤治疗药物仍然是临床所需。

椒目为芸香科植物青椒(*Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc)或花椒(*Zanthoxylum bungeanum* Maxim)的干燥成熟种子^[2]。椒目含油约22%—29%, 特别是椒目仁油中富含 α -亚麻酸和亚油酸

等不饱和脂肪酸^[3], 民间可用于治疗烧、烫伤, 有促进伤口愈合的作用。盐酸小檗碱(*berberine*, Ber)又名黄连素, 是异喹啉类生物碱, 作为清热解毒药和抗菌药应用于临床^[4]。本研究通过建立大鼠深Ⅱ度烧伤的模型, 进一步探讨椒目仁油和盐酸小檗碱合用对烧、烫伤的治疗作用, 为新药研发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验药物

椒目仁油, 本单位提供; 盐酸小檗碱, 西安小草植物科技有限责任公司提供; 京万红, 京万红药业有限公司(批号: 211670)。

1.2 试剂

硫化钠: 天津市红岩化学试剂厂; 戊巴比妥钠, 国药集团化学试剂有限公司; 硫酸纸, 上海伯奥生物科技有限公司(规格: 75 × 75 mm); 0.9%生理盐水, 西安京西双鹤药业有限公司; 羧甲基纤维素钠(CMC-Na), 天津市科密欧化学试剂开发中心。

1.3 动物

Sprague-Dawley大鼠128只, 雌雄不拘, 体重

(250 ~ 300) g,由第四军医大学实验动物研究中心提供,生产合格证号:scxk(军)字第 2002—005 号。

1.4 动物模型

将大鼠用 3% 戊巴比妥钠 30 mg/kg (i. p.) 麻醉,用硫化钠糊剂脱毛。次日,同样方法麻醉,背部置于 100 ℃ 开水中烫 8 s,面积约 $2 \times 2 \text{ cm}^2$,造成深Ⅱ度烫伤模型^[5]。伤后立即腹腔注射乳酸林格液 5 mL,分笼饲养,自由饮食。

1.5 动物分组及给药

烫伤后大鼠随机分成 8 组,每组 16 只:A 组:创面涂椒目仁油;盐酸小檗碱(8:1);B 组:创面涂椒目仁油;盐酸小檗碱(5:1);C 组:创面涂椒目仁油;盐酸小檗碱(3:1);D 组:创面涂椒目仁油;E 组:创面涂盐酸小檗碱溶液(25%,溶于 0.5% 的 CMC—Na);阳性对照组:创面涂京万红;模型组:创面不涂任何药物;溶剂对照组:创面涂 0.5% 的 CMC—Na 溶液。烫伤后前 7 天每天给药两次;以后每天给药一次直至愈合。

1.6 创面愈合效果评价

观察大鼠在创伤和给药后,创面红肿、感染、结痂情况,并记录创面脱痂时间和愈合时间;术后隔天动态观察大鼠创面愈合情况并拍照;伤后 5 d 开始测创面愈合率:采用透明硫酸纸描记加称重法测定局部创面面积^[6],按下列公式计算:愈合面积(%) = (初次面积 - 当日面积)/初次面积^[7]。以创面封闭、表面干燥、焦痂脱落、恢复正常视为愈合,观察记录各组愈合时间。

1.7 创面组织学观察

伤后 4 h、7 d、14 d、21 d 各时间点取材(创面组织标本),每组各时间点各取 2 只大鼠,标本固定于 10% 的甲醛溶液中,经脱水、常规石蜡包埋切片,HE 染色。观察表皮细胞生长情况、组织炎性程度及胶原纤维生长情况。

1.8 数据统计方法

所有数据用 SPSS12.0 统计软件进行统计学处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示有显著性差异, $P < 0.01$ 表示有极显著性差异。

2 结果

2.1 烧伤创面愈合率

试验结果表明,烫伤后创面皮肤立即变白,轻度肿胀,光泽差,肉眼可明显区分烫伤部位与正常区域。24 h 后创面色泽加深,边界清晰;48 h 可见与创面相同的结痂。连续用药第 6、12、18、23 d 小檗碱、椒目仁油单用与合用组大鼠创面愈合率均较模型组有所增加($P < 0.05$) (结果见表 1);三个合并用药组的愈合效果随椒目仁油用量的增加而增加,以 8:1 组最佳;此外,椒目仁油单用与模型组相比愈合率显著提高($P < 0.01$),各时间段与阳性药京万红相比均无显著性差异。

2.2 烧伤创面愈合时间

从实验结果(见表 2)可见,烫伤模型在 (13.12 ± 1.72) d 出现脱痂,溶剂对照(0.5% 的 CMC—Na 溶液)组的脱痂时间与模型组没有明显差异;小檗碱单用和小檗碱、椒目仁油合用尽管脱痂时间与模型组没有明显差异,但有缩短的趋势。烫伤模型在 (25.70 ± 2.90) d 伤口愈合,溶剂对照(0.5% 的 CMC—Na 溶液)组和小檗碱单用组的伤口愈合时间与模型组没有明显差异;而小檗碱和椒目仁油合用后伤口愈合时间随着椒目仁油的比例增加明显缩短。特别是椒目仁油单用愈合时间为 (19.40 ± 2.67) d,与模型组有显著性差异,与京万红作用相当。

2.3 组织形态的观察

创面组织经 HE 染色后镜下观察(见图 1),4 h 可见表皮层细胞及毛囊上皮细胞核固缩,真皮组织深部受损,但皮下深部可见残余的毛囊,病变符合深Ⅱ度烫伤创面。烫伤后 7d 明显可见炎细胞浸润,毛囊上皮增生、扩展、创缘表皮增厚;椒目仁油和小檗碱合用(8:1)组、椒目仁油组和京万红组与模型组比较炎症细胞浸润的深度及数量均减少,上皮增生、扩展快。伤后第 14 d,椒目仁油和小檗碱合用(8:1)组、椒目仁油组、京万红组表现为成纤维细胞增殖和新生胶原合成肉芽多,真皮胶原纤维排列整齐;而模型组、溶剂对照组真皮胶原纤维排列较紊

乱,肉芽少。伤后第21 d,镜下可见上皮细胞自创缘及坏死组织界面爬行生长;椒目仁油组和京万红组新生表皮已连接成片,表皮层厚,染色深,而模型、溶剂组新生表皮未完全覆盖创面,愈后皮肤表皮比正常表皮厚。

表 1 椒目仁油、小檗碱对大鼠皮肤烫伤创面愈合的影响($\bar{x} \pm s; n = 8$)

组 别	不同时间愈合率/%			
	6 d	12 d	18 d	23 d
椒目仁油、小檗碱合用(8:1)	35.54 ± 23.86 **	71.94 ± 15.62 *	87.60 ± 9.00 **	92.60 ± 6.97
椒目仁油、小檗碱合用(5:1)	32.93 ± 24.51	66.46 ± 17.00	82.02 ± 10.10 *	88.89 ± 9.25
椒目仁油、小檗碱合用(3:1)	32.41 ± 13.96	72.45 ± 18.39 *	81.47 ± 16.26	90.70 ± 5.22
椒目仁油	65.46 ± 15.12 **	86.03 ± 10.25 **	94.24 ± 7.60 **	99.48 ± 0.88 **
	45.47 ± 13.29	70.28 ± 11.56 *	84.93 ± 10.23 *	93.46 ± 6.24
小檗碱	66.50 ± 9.87 **	88.03 ± 10.25 **	98.34 ± 4.20 **	98.86 ± 2.44 **
	25.45 ± 15.53	54.44 ± 17.18	69.31 ± 15.20	81.79 ± 14.22
模型对照	47.57 ± 24.43 *	67.91 ± 2.37	80.15 ± 6.16	87.85 ± 1.99
溶剂对照				

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 2 椒目仁油、小檗碱对大鼠烫伤脱痂和愈合时间的影响($\bar{x} \pm s; n = 8$)

组 别	脱痂时间/d	愈合时间/d
椒目仁油、小檗碱合用(8:1)	11.75 ± 1.28	21.50 ± 1.50 **
椒目仁油、小檗碱合用(5:1)	12.50 ± 1.19	22.80 ± 1.75 *
椒目仁油、小檗碱合用(3:1)	12.75 ± 1.75	25.00 ± 2.44
椒目仁油组	10.75 ± 1.16 *	19.40 ± 2.67 **
盐酸小檗碱	12.62 ± 1.40	23.70 ± 2.75
京万红	10.50 ± 1.41 *	19.70 ± 3.40 **
模型对照	13.12 ± 1.72	25.70 ± 2.90
溶剂对照	13.12 ± 1.64	23.75 ± 1.78

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

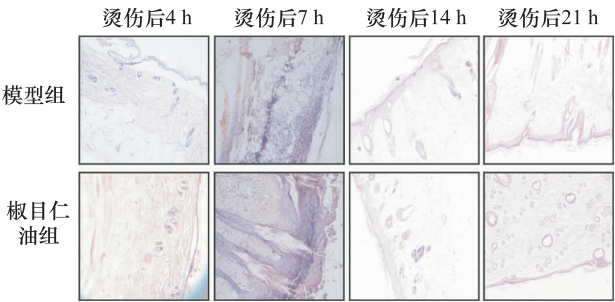


图 1 烫伤后不同时间椒目仁油组创面组织形态(×50)

3 讨论

烧、烫伤临床过程一般分三期,即休克(体液渗出)期、急性感染期、创面功能修复期;而治疗药物主要包括全身用药、创面用药和创面覆盖物等。创面清洁抗菌药物中使用最广的是磺胺嘧啶银,它对控制创面感染有显著效果,但对细胞亦有一定的损害作用,特别是使用高浓度的磺胺嘧啶银糊剂或混悬剂,有使创面损害加重之弊^[8]。对于促进创面愈合药物,临床多用表皮细胞生长因子(EGF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)促进烧伤修复,但由于烧伤患者早期渗出较多,喷洒在患处的EGF浓度被稀释,同时坏死组织未脱落无法穿透,使其在烧伤早期效果并不明显。因此开发迅速有效处理伤口,缓解疼痛,促结痂和创面愈合,价格经济的烧、烫伤治疗药物是临床的需要。

中医及中药制剂治疗烧烫伤有着悠久的历史和丰富的经验。湿润烧伤膏、京万红治疗烧烫伤效果肯定,受到广泛认可。近年来涌现出来的新的治疗烧、烫伤药物多为中药制剂。椒目仁油中富含α-亚麻酸和亚油酸等不饱和脂肪酸,对伤口具有保护作用;且椒目油中含有丰富的Ca、Mg、Fe、Zn及Sr、Mn等人体必须的矿物质元素^[9],这些微量元素对伤口的愈合有重要作用。盐酸小檗碱作为抗菌药在临床上已应用多年,其疗效确切,是一种广谱抗菌药物^[4]。本研究初步以椒目仁油的保护伤口和促进伤口愈合作用,盐酸小檗碱的抗炎杀菌作用组方研究对烧、烫伤的治疗作用,为新药研发奠定

基础。

烧伤后创面愈合时间和创面愈合面积百分比是评价创面愈合的一个综合性指标。烧伤创面愈合过程包括炎症反应、细胞增殖、结缔组织形成、创面收缩和创面重新塑造;且这些过程相互交叉,不可分割,共同参与创面愈合,其中细胞增殖起着最重要的作用^[10]。本实验中椒目仁油可明显提高创面愈合率,缩短创面愈合时间,有明显治疗烧、烫伤的活性。烧伤创面修复以创面完全上皮化作为创面愈合的终点,因此表皮细胞分化、增殖和迁移是烧伤创面愈合过程中最重要的环节^[10]。本实验在病理切片中观察到伤后椒目仁油组创面表皮细胞增殖和迁移非常活跃,明显早于其它组,说明椒目仁油可加速创面上皮化,促进创面愈合。但加入小檗碱给药后,创面愈合率和愈合速度随着小檗碱比例的增加而降低,提示小檗碱没有促进细胞增殖的作用。由于小檗碱主要通过控制创面感染治疗烧、烫伤,因此椒目仁油与小檗碱合用治疗烧、烫伤还需通过其它烧伤模型和作用机制的深入研究综合评价。

参 考 文 献

- 1 Singer A, Thode H Jr, McClain S. The effects of octylcyanoacrylate on scarring after burns. *Academic Emergency Medicine*, 2001; 8 (2): 107—111
- 2 山东省卫生厅. 山东省中药材标准. 山东: 山东友谊出版社, 1995: 223—224
- 3 杨 倩, 王四旺, 王剑波, 等. 椒目中提取仁油的3种方法比较研究. *中国实验方剂学杂志*, 2007; 13 (3): 20—22
- 4 郑洪艳, 徐为人. 小檗碱药理作用研究进展. *中草药*, 2004; 35 (6): 708—710
- 5 冯世杰, 花兰女. 大鼠烫伤模型的制作. *上海第二医科大学学报*, 1995; 15 (3): 195—197
- 6 孙同柱, 付小兵, 顾小曼, 等. 重组人表皮生长因子促进兔烫伤创面愈合的实验研究. *实验动物科学与管理*, 2000; 10: 218—225
- 7 黄 康, 陈玉林. 创面愈合评价指标进展. *中国修复重建外科杂志*, 2001; 15 (2): 126—129
- 8 马恩庆. 烧伤治疗进展的回顾与展望. *中国烧创伤杂志*, 1999; 40 (3): 50—54
- 9 庄世宏, 李孟楼. 花椒籽油的成分分析. *西北农业学报*, 2002; 11 (2): 43—45
- 10 王东风, 李 宁, 张 波. 双黄烧烫伤喷雾剂对大鼠烫伤治疗作用的研究. *中医中药*, 2009; 6 (2): 69—70

The Combined Effect of the Send Oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim and Berberine on Treatment of Thermal Burn

CAO Wei, CUI Fen-fang, XIE Yan-hua, KANG Rong, WANG Si-wang

(Department of Natural Medicine, School of pharmacy, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, P. R. China)

[Abstract] To study the effect of Send oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim and berberine hydrochloride on burn injury, the rat model with deep second - degree burns was set up and the therapeutic effects of the *Zanthoxylum bungeanum* Maxim send oil and berberine hydrochloride were evaluated through observing the wound healing time and ratio, and the pathological changes. It is resulted on the day 6, 12, 18 and 23 after burn, the healing ratio was markedly increased in the send oil group compared with the model group and the healing ratio in the combined treatment groups depended on the content of send oil. The time of decrustation in seed oil group were shorter than that in the model control ($P < 0.05$). At 14 d after injury, Send oil and berberine hydrochloride (8:1) group and seed oil group showed more fibroblast proliferation and more orderly arrangement of collagen fibers in dermis than the model group. At 21d after injury, in send oil group, newborn epidermises were connected into a film with thick epidermis compared with the model group. It is concluded that send oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim can speed up collagen synthesis, promote epithelial cell proliferation, and accelerate the healing of burn wound.

[Key words] send oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim berberine burn treatment