

线粒体对心肌的能量代谢及舒缩功能的改变起着重要作用。它的功能依赖于内膜的化学电势的维持,而这个化学电势由线粒体膜电位和 pH 梯度构成, MMP 是主要构成成分<sup>[12]</sup>。MMP 能用于衡量线粒体的产能状态<sup>[13]</sup>。研究表明,细胞中 FFA 和 LAC 的堆积使胞质酸化,线粒体膜两侧的 pH 梯度和电位梯度变化,使膜电位发生变化。本研究中发现, AAC 模型组中的 MMP 明显低于 Sham 组,给予人参多糖后, MMP 明显增高,提示人参多糖对线粒体具有一定的保护作用,提高线粒体活力。

综上所述,人参多糖可能通过改善心肌能量 FFA 和 LAC 代谢和提高线粒体的活力抑制 AAC 所致的心肌肥厚,这为临床防治心肌肥厚提供了新的思路。然而,人参多糖通过何种机制致 FFA 和 LAC 减少以达到保护线粒体的目的有待进一步探索。

## REFERENCES

- [1] YU Y, WANG S R, NIE B, et al. Effect of Astragali Radix injection on myocardial cell mitochondrial structure and function in process of reversing myocardial cell hypertrophy [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012, 37(7): 979-984.
- [2] HUANG L, ZHAO H, HUANG B, et al. Acanthopanax senticosus: review of botany, chemistry and pharmacology [J]. Pharmazie, 2011, 66(2): 83-97.
- [3] KIM M H, BYON Y Y, KO E J, et al. Immunomodulatory activity of ginsan, a polysaccharide of *Panax ginseng*, on dendritic cells [J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2009, 13(3): 169-173.
- [4] LI C, CAI J, GENG J, et al. Purification, characterization and

- anticancer activity of a polysaccharide from *Panax ginseng* [J]. Int J Biol Macromol, 2012, 51(5): 968-973.
- [5] NIU J, PI Z, YUE H, et al. Effect of ginseng polysaccharide on the urinary excretion of type 2 diabetic rats studied by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012(907): 7-12.
- [6] DENG J, WANG Y W, CHEN W M, et al. Role of nitric oxide in ginsenoside Rg(1) induced protection against left ventricular hypertrophy produced by abdominal aorta coarctation in rats [J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(4): 631-635.
- [7] SAOTOME M, KATOH H, SATOH H, et al. Mitochondrial membrane potential modulates regulation of mitochondrial  $Ca^{2+}$  in rat ventricular myocytes [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288(4): 1820-1828.
- [8] PERELMAN A, WACHTEL C, COHEN M, et al. JC-1: alternative excitation wavelengths facilitate mitochondrial membrane potential cytometry [J]. Cell Death Dis, 2012, 22(3): 430-440.
- [9] DENG J, WU Q, HUANG X N. Protective effects of tetramethylpyrazine against myocardial hypertrophy induced by pressure overload in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(9): 785-788.
- [10] KUO W W, CHU C Y, WU C H, et al. The profile of cardiac cytochrome c oxidase(COX) expression in an accelerated cardiac-hypertrophy model [J]. J Biomed Sci, 2005, 12(4): 601-610.
- [11] VAN B M, SMEETS P J, GILDE A J, et al. Metabolic remodeling of the failing heart: the cardiac burn-out syndrome [J]. Cardiovasc Res, 2004, 61(2): 218-226.
- [12] JIN H, NASS R D, JOUDREY P J, et al. Altered spatiotemporal dynamics of the mitochondrial membrane potential in the hypertrophied heart [J]. Biophys J, 2010, 98(10): 2063-2071.
- [13] ZHU Q W, WANG H, YE P, et al. Effects of pioglitazone on mitochondrial membrane potential of neonate rat's myocardial cells after hypoxia/reoxygenation [J]. J Sichuan Univ(Med Sci Ed)(四川大学学报: 医学版), 2011, 42(6): 784-788.

收稿日期: 2012-11-29

## 不同品种大黄油糊外用抗炎作用及对大鼠皮肤溃疡、痔疮模型的影响

白明, 刘丹丹, 缪君娴, 苗明三\* (河南中医学院, 郑州 450008)

**摘要:** 目的 通过对大黄的外用实验研究, 总结其外用功能。方法 观察 3 种大黄油糊外用对大鼠蛋清性足跖肿胀、二甲苯致小鼠耳廓肿胀、大鼠创伤性皮肤溃疡、99.0% 醋酸溶液致大鼠痔疮模型的影响。结果 大、小剂量掌叶大黄、唐古特大黄、药用大黄油糊均可显著抑制大鼠蛋清性足跖肿胀和二甲苯致小鼠耳廓肿胀, 明显减少大鼠创伤性皮肤溃疡的面积、促进溃疡皮肤角质层、鳞状细胞层和局部病理组织的恢复, 可显著加快大鼠肛周皮肤溃疡的愈合。结论 大黄可促进病理组织的修复, 加快溃疡面积的愈合, 外用有收敛生肌的功能。

**关键词:** 大黄; 外用; 皮肤溃疡; 痔疮

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)06-0575-07

基金项目: 国家“十一五”支撑计划(2008BAI53B091); 郑州市科技攻关(10PTGS485-21)

作者简介: 白明, 女, 硕士, 副教授 Tel: (0371)65962546 E-mail: baiming666@126.com \*通信作者: 苗明三, 男, 博士, 教授 Tel: (0371)65962546 E-mail: miaomingsan@163.com

# Anti-inflammatory Effects of Oil Paste of Different Varieties Rhubarb by External Use on Skin Ulcers Model and Hemorrhoids Model in Rats

BAI Ming, LIU Dandan, MIAO Junxian, MIAO Mingsan\* (Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To summarize the external function of rhubarb through the experimental study of external use. **METHODS** Observe the effects of three varieties of rhubarb for external use on rats pedis swelling caused by egg white, auricle tumefaction mice induced by dimethyl benzene, rats traumatic skin ulcer, hemorrhoids in rats induced by 99.0% acetic acid. **RESULTS** The large and low dose of *Rheum palmatum*, *Rheum tanguticum* Maxim, and *Rheum officinale* Baill significantly inhibited rats pedis swelling by egg white and dimethyl benzene of auricle tumefaction mice, obviously reduced the traumatic skin ulcers area, and promoted skin cutin layer ulcer, squamous cell layer and local pathological organization recovery, and could significantly speed up the rat perianal skin ulcer healing. **CONCLUSION** External use rhubarb can repair pathological tissue, speed up the uleer area healing, and promote regeneration of tissue for astringency.

**KEY WORDS:** rhubarb; external use; skin ulcers; hemorrhoids

大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根及根茎；性苦、寒；归脾、胃、大肠、肝、心包经；具有泻热通便、凉血解毒、逐瘀通经的功能；临床用于实热便秘、积滞腹痛、泻痢不爽、湿热黄疸、血热吐衄、目赤、咽肿、肠痈腹痛、痈肿疔疮、瘀血经闭、跌扑损伤，外治水火烫伤，上消化道出血。现代药理研究证实，大黄具有泻下、收敛止血、解痉、利胆、抗菌、抗病毒、抗寄生虫、抗肿瘤、降压、降血脂等作用<sup>[1]</sup>。有报道大黄临床外用治疗肛门常见病、浅表性溃疡性直肠炎、下肢溃烂<sup>[2]</sup>、痔疮出血<sup>[3]</sup>、冻疮、烫伤、体表癌性溃疡等，能促进局部伤口愈合，疗效确切，但在药典上未有相应外用功能体现。本实验通过观察大黄局部外用的抗炎作用及对溃疡、痔疮模型的影响，验证大黄是否具有外用收敛生肌的功能。

## 1 仪器与材料

### 1.1 药品试剂

大黄饮片(购自安徽省亳州市药材交易公司)，经河南中医学院生药教研室曹继华教授鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.、药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根及根茎。大黄粉的制备：将唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄饮片打粉后过 120 目筛。大黄油糊的制备：分别取唐古特大黄、药用大黄和薄叶大黄细粉，用香油调糊混匀，每种大黄油糊设大、小浓度，分别为 0.2、0.1 g·mL<sup>-1</sup>；马应龙痔疮膏(马应龙药业集团股份有限公司生产，批号：080502221)；诗碧脱毛液(上

海诗碧化妆品有限公司生产，批号：50060008)；水合氯醛(天津市科密欧化学试剂开发中心生产，批号 20081018)；吠喃西林(苏州第五制药厂有限公司生产，批号：20090406)；氯化钠注射液(郑州永和制药厂有限公司生产，批号：090502221)；二甲苯(天津市科密欧化学试剂开发中心生产，批号：20081028)；硫酸纸(天津市化学试剂三厂生产，批号：20080718)；医用脱脂纱布(焦作市旭峰纺织公司纱布厂生产，批号：20090316)；冰醋酸(台山市新宁制药有限公司生产，批号：20081226)；化学分析滤纸(杭州新华纸业有限公司生产，批号：20080815)。

### 1.2 动物

清洁级 Wistar 大鼠，体质量 180~200 g，♂(河北省医学实验动物中心，实验动物合格证号：912104)；清洁级昆明种小鼠，体质量 18~21 g，♂(河北省实验动物中心，实验动物合格证号：912102)；SPF 级 Wistar 大鼠，体质量 180~200 g，♀♂各半(河南省实验动物中心，实验动物合格证号：0003779)；清洁级 Wistar 大鼠，体质量 180~200 g，♀♂各半(河北省医学实验动物中心，实验动物合格证号：911021)。

### 1.3 仪器

AR1140/C 电子分析天平[奥豪斯(上海)公司]；FA(N)/JA(N)电子天平(上海民桥精密仪器有限公司)；PV-200 大鼠足跖测定仪(成都泰盛科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 对大鼠蛋清性足跖肿胀的影响

Wistar 大鼠 72 只，♂，随机分为大、小剂量

唐古特大黄油糊组, 大、小剂量药用大黄油糊组, 大、小剂量掌叶大黄油糊组, 香油淀粉糊组, 马应龙痔疮膏组、生理盐水组, 每组 8 只。先用足跖测定仪测大鼠正常左、右后足跖体积, 并调节在大鼠踝关节的划线位置, 使大鼠正常足跖体积在 1 mL 左右。然后外用相应药物, 大、小剂量唐古特大黄油糊组, 大、小剂量药用大黄油糊组, 大、小剂量掌叶大黄油糊组分别涂敷相应油糊; 马应龙痔疮膏(0.5 g·足<sup>-1</sup>), 香油淀粉糊, 生理盐水组(药棉蘸生理盐水湿敷), 涂药厚度均约 2 mm。以上各组给药后均以保鲜膜覆盖、胶布固定, 保持接触药物 30 min; 然后去除相应药物, 用生理盐水清洗用药局部, 药棉擦干; 给每鼠左、右后足跖均皮下注射新配制的 10%新鲜鸡蛋清 0.1 mL·足<sup>-1</sup>; 然后再次同上法药物外敷, 30 min 后去除药物; 分别于给蛋清后 30, 60, 90, 120, 150 min 在足跖测定仪再次测大鼠左、右后足跖体积, 并计算足跖肿胀率。

## 2.2 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响

昆明小鼠 90 只, ♂, 随机分成 9 组, 每组 10 只。给每组小鼠左耳分别涂敷大、小剂量唐古特大黄油糊, 大、小剂量药用大黄油糊, 大、小剂量掌叶大黄油糊, 香油淀粉糊, 马应龙痔疮膏(0.3 g·耳<sup>-1</sup>)和生理盐水组(涂同体积生理盐水), 涂药厚度均约 2 mm; 10 min 涂一次, 至 1 h, 用生理盐水清洗左耳, 药棉擦干, 10 min 后左耳涂二甲苯 0.04 mL, 于致炎后 10 min、2 h 各组再次同上分别涂以相应药物。涂二甲苯 4 h 后处死小鼠, 处死前用生理盐水清洗左耳, 药棉擦干; 剪下双耳, 对齐, 用 8 mm 打孔器打下圆型耳片, 迅速分析天平称量, 双耳重量之差为肿胀度。

## 2.3 对大鼠创伤性皮肤溃疡模型的影响

Wistar 大鼠 100 只, ♀♂各半, 合格证号 0003779, 随机取 10 只为正常组, 另 90 只大鼠分创伤性皮肤溃疡模型。造模方法: 腹腔注射 10%水合氯醛 0.3 mL·(100 g)<sup>-1</sup>, 麻醉大鼠, 背部净毛(3 cm×2 cm), 用特制致伤器(打孔器)在背中部脊柱右侧旁 1.5 cm 切割 1 个圆形溃疡(直径 1.8 cm, 面积 2.54 cm<sup>2</sup>), 除去表皮下组织至肌筋膜, 见图 1, 止血后备用。根据溃疡面积大小并兼顾♀♂各半原则, 将大鼠均分为 9 组。造模后大鼠在前 2 天每笼放 3~4 只饲养, 自由进食进水, 第 3 天恢复每笼 10 只; 各组于造模次日开始给药, 给药前均以 1/5 000 呋喃西林清洁伤口, 无菌纱布擦干。造

模各组分别涂敷为大、小剂量唐古特大黄油糊, 大、小剂量药用大黄油糊, 大、小剂量掌叶大黄油糊(0.2, 0.1 g·mL<sup>-1</sup>), 香油淀粉糊(0.2 g·mL<sup>-1</sup>), 马应龙痔疮膏(0.1 g·cm<sup>-2</sup>), 模型组和空白组(涂生理盐水 0.5 mL·cm<sup>-2</sup>, 消毒药棉吸附), 涂药厚度均约 2 mm。涂药后以保鲜膜覆盖、胶布固定, 每天用药 1 次, 保持药物接触皮肤 6 h, 然后用生理盐水清洗用药局部, 共用药 11 d。于用药后第 3, 7, 10 天以硫酸纸覆盖溃疡面, 沿创缘描记, 剪下描绘的图形, 将图形描至小方格纸, 测定小方格的格数表示创面面积, 观察溃疡愈合情况。于造模后第 12 天, 大鼠称重后处死, 取创面中心肉芽组织及愈合区中心组织, 用 10%福尔马林溶液固定、脱水、石蜡包埋、切片、染色、镜检。

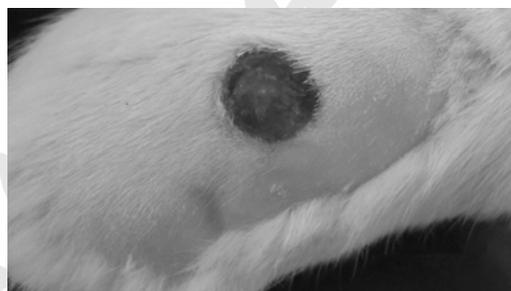


图 1 皮肤溃疡

Fig 1 Skin ulcer

## 2.4 对大鼠痔疮模型的影响

Wistar 大鼠 100 只, ♀♂各半, 合格证号 911021, 随机取 10 只大鼠为空白组; 用打孔器制成内径为 6 mm 的滤纸片, 99.0%醋酸溶液充分浸泡后分别放到另 90 只大鼠肛门周围, 使滤纸片紧密接触肛周皮肤及黏膜, 每次用滤纸 1 片, 每只大鼠于 0.5, 1 min 时更换 1 次滤纸片; 第 2 天观察溃疡程度, 根据溃疡面积的差异并兼顾♀♂各半原则将大鼠调整并均分为 9 组。造模各组给药前均以 1/5 000 呋喃西林清洁伤口, 无菌纱布擦干; 分别涂敷为大、小剂量唐古特大黄油糊, 大、小剂量药用大黄油糊, 大、小剂量掌叶大黄油糊(0.2, 0.1 g·mL<sup>-1</sup>), 香油淀粉糊(0.2 g·mL<sup>-1</sup>), 马应龙痔疮膏(0.25 g·只<sup>-1</sup>), 模型组(以药棉蘸同体积生理盐水湿敷); 给药后以保鲜膜覆盖、胶布固定, 1 h 后清除敷药, 生理盐水清洗用药局部。于给药第 3, 5, 7, 9, 11 天观察溃疡局部愈合情况, 评定溃疡积分(评定标准: 有溃疡渗液 1 分; 少许溃疡渗液 2 分; 有焦痂, 基本愈合 3 分; 完全愈合 4 分)。

数据分析用 SPSS 13.0 for Windows 统计软件包进行数据资料的统计学处理, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验。等级资料采用经 Ridit 检验。

### 3 结果

#### 3.1 对大鼠蛋清性所致足跖肿胀的影响

给药前各组大鼠正常足跖体积之间差异不明显( $P>0.05$ ), 说明分组均匀。与生理盐水组比较, 大剂量唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄油糊组, 小剂量掌叶大黄油糊组和马应龙痔疮膏组在给药后 30~150 min 均可显著抑制大鼠蛋清性足跖肿胀

( $P<0.01$ ), 小剂量唐古特大黄、药用大黄油糊组在给药后 60, 120 min, 小剂量药用大黄油糊组在给药后 150 min 可明显抑制大鼠蛋清性足跖肿胀( $P<0.05$ ), 小剂量唐古特大黄油糊组在给药后 30, 90, 150 min, 小剂量药用大黄油糊组在给药后 30, 90 min 可显著抑制大鼠蛋清性足跖肿胀( $P<0.01$ ), 香油淀粉糊组对抑制大鼠蛋清性足跖肿胀无明显作用( $P>0.05$ )。相同剂量不同品种大黄油糊外用抑制大鼠蛋清性足跖肿胀作用之间无明显差异( $P>0.05$ ), 说明 3 种大黄对抑制大鼠蛋清性足跖肿胀的作用基本一致。结果见表 1。

表 1 大黄油糊对大鼠蛋清性足跖肿胀的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Tab 1 Effects of rhubarb balm paste on the tumefaction of rats pedis caused by egg white( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	剂量/ g·足 <sup>-1</sup>	正常体积	给蛋清后不同时间足跖肿胀体积/mL(肿胀率)				
			30 min	60 min	90 min	120 min	150 min
生理盐水组	0	0.97±0.04	1.73±0.06 (0.78±0.08)	1.67±0.05 (0.72±0.1)	1.61±0.06 (0.67±0.09)	1.55±0.05 (0.6±0.07)	1.53±0.07 (0.57±0.07)
马应龙痔疮膏组	0.5	0.95±0.04	1.63±0.05 <sup>2)</sup> (0.71±0.10)	1.56±0.06 <sup>2)</sup> (0.64±0.11)	1.52±0.06 <sup>2)</sup> (0.59±0.1)	1.48±0.07 <sup>2)</sup> (0.55±0.1)	1.43±0.07 <sup>2)</sup> (0.50±0.1)
香油淀粉糊组	1.5	0.96±0.03	1.72±0.05 (0.81±0.09)	1.65±0.06 (0.72±0.06)	1.59±0.06 (0.67±0.1)	1.54±0.06 (0.6±0.09)	1.50±0.06 (0.57±0.09)
大剂量唐古特大黄油糊组	1.5	0.96±0.03	1.62±0.05 <sup>2)</sup> (0.69±0.10)	1.54±0.03 <sup>2)</sup> (0.61±0.06)	1.49±0.06 <sup>2)</sup> (0.56±0.11)	1.46±0.06 <sup>2)</sup> (0.53±0.01)	1.42±0.06 <sup>2)</sup> (0.49±0.1)
小剂量唐古特大黄油糊组	0.75	0.95±0.06	1.65±0.05 <sup>2)</sup> (0.75±0.13)	1.61±0.05 <sup>1)</sup> (0.7±0.12)	1.55±0.04 <sup>2)</sup> (0.64±0.13)	1.51±0.05 <sup>1)</sup> (0.6±0.13)	1.46±0.04 <sup>2)</sup> (0.55±0.1)
大剂量药用大黄油糊组	1.5	0.96±0.04	1.62±0.03 <sup>2)</sup> (0.69±0.09)	1.58±0.07 <sup>2)</sup> (0.65±0.12)	1.51±0.05 <sup>2)</sup> (0.58±0.1)	1.47±0.05 <sup>2)</sup> (0.53±0.1)	1.43±0.03 <sup>2)</sup> (0.49±0.08)
小剂量药用大黄油糊组	0.75	0.96±0.05	1.65±0.03 <sup>2)</sup> (0.72±0.07)	1.60±0.04 <sup>1)</sup> (0.67±0.1)	1.54±0.04 <sup>2)</sup> (0.61±0.09)	1.51±0.04 <sup>1)</sup> (0.57±0.1)	1.47±0.04 <sup>1)</sup> (0.53±0.09)
大剂量掌叶大黄油糊组	1.5	0.97±0.05	1.59±0.04 <sup>2)</sup> (0.64±0.09)	1.55±0.05 <sup>2)</sup> (0.60±0.11)	1.51±0.06 <sup>2)</sup> (0.55±0.1)	1.47±0.05 <sup>2)</sup> (0.52±0.1)	1.43±0.05 <sup>2)</sup> (0.47±0.09)
小剂量掌叶大黄油糊组	0.75	0.97±0.04	1.64±0.04 <sup>2)</sup> (0.70±0.10)	1.59±0.04 <sup>2)</sup> (0.65±0.1)	1.54±0.03 <sup>2)</sup> (0.59±0.09)	1.50±0.04 <sup>2)</sup> (0.56±0.09)	1.45±0.05 <sup>2)</sup> (0.50±0.09)

注: 与生理盐水组比较, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$

Note: Compared with NS group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$

#### 3.2 大黄对小鼠二甲苯致炎的影响

与生理盐水组相比较, 大、小剂量唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄组和马应龙痔疮膏组小鼠两耳片重量差均显著降低( $P<0.01$ ), 香油淀粉糊组小鼠两耳片重量差稍降低( $P<0.05$ )。相同剂量不同品种大黄油糊外用抑制小鼠耳壳肿胀作用之间无显著性差异( $P>0.05$ ), 说明 3 种大黄对小鼠耳壳二甲苯致炎的抑制作用基本一致。结果见表 2。

#### 3.3 对大鼠创伤性皮肤溃疡模型的影响

用药第 3, 7, 10 天与模型组比较, 大、小剂量唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄油糊组和马应龙痔疮膏组溃疡面积均显著减小( $P<0.01$ ), 用药第 7 天, 香油淀粉糊组对大鼠溃疡面积明显减小( $P<0.05$ ), 第 3, 10 天香油淀粉糊组对大鼠溃疡面

表 2 大黄油糊对小鼠耳壳二甲苯致炎的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

Tab 2 Effects of rhubarb balm paste on ear edema induced by dimethylbenzene in mice( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/g·耳 <sup>-1</sup>	肿胀度/mg
生理盐水组		9.8±0.7
马应龙痔疮膏组	0.3	4.1±0.5 <sup>2)</sup>
香油淀粉糊组	0.9	8.7±1.0 <sup>1)</sup>
大剂量唐古特大黄油糊组	0.9	4.2±0.6 <sup>2)</sup>
小剂量唐古特大黄油糊组	0.45	5.8±0.6 <sup>2)</sup>
大剂量药用大黄油糊组	0.9	4.3±0.5 <sup>2)</sup>
小剂量药用大黄油糊组	0.45	5.7±0.5 <sup>2)</sup>
大剂量掌叶大黄油糊组	0.9	4.2±0.5 <sup>2)</sup>
小剂量掌叶大黄油糊组	0.45	5.7±0.6 <sup>2)</sup>

注: 与生理盐水组比较, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$

Note: Compared with NS group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$

积变化没有明显的影响( $P>0.05$ )。相同剂量不同品种大黄油糊外用减小大鼠创伤性皮肤溃疡面积之间无显著性差异( $P>0.05$ ),说明3种大黄减少大鼠溃疡面积的作用基本一致。结果见表3。

**表 3** 大黄油糊不同处理组间不同时间溃疡面积变化( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

**Tab 3** The rats ulcer area changes at different time treated by different rhubarb balm paste ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/ g·cm <sup>-2</sup>	溃疡面积/cm <sup>2</sup>		
		造模后 3 d	造模后 7 d	造模后 10 d
空白组		0±0	0±0	0±0
模型组		1.52±0.12	1.35±0.15	0.32±0.10
香油淀粉糊组	0.26	1.94±0.11	1.20±0.12 <sup>1)</sup>	0.31±0.14
马应龙痔疮膏组	0.1	1.49±0.09 <sup>2)</sup>	0.73±0.13 <sup>2)</sup>	0.12±0.07 <sup>2)</sup>
大剂量唐古特大黄油糊组	0.26	1.45±0.08 <sup>2)</sup>	0.74±0.12 <sup>2)</sup>	0.14±0.07 <sup>2)</sup>
小剂量唐古特大黄油糊组	0.13	1.51±0.06 <sup>2)</sup>	0.80±0.06 <sup>2)</sup>	0.2±0.03 <sup>2)</sup>
大剂量药用大黄油糊组	0.26	1.44±0.08 <sup>2)</sup>	0.74±0.11 <sup>2)</sup>	0.13±0.06 <sup>2)</sup>
小剂量药用大黄油糊组	0.13	1.52±0.06 <sup>2)</sup>	0.80±0.05 <sup>2)</sup>	0.21±0.04 <sup>2)</sup>
大剂量掌叶大黄油糊组	0.26	1.46±0.07 <sup>2)</sup>	0.77±0.09 <sup>2)</sup>	0.12±0.06 <sup>2)</sup>
小剂量掌叶大黄油糊组	0.13	1.51±0.06 <sup>2)</sup>	0.80±0.06 <sup>2)</sup>	0.21±0.03 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较,<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$

Note: Compared with model group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$

### 3.4 对大鼠创伤性皮肤溃疡模型病理组织变化的影响

各组大鼠疮疡性皮肤溃疡局部病理观察:空白组大鼠皮肤的角质层、鳞状细胞层、皮下组织的毛囊、皮脂腺均正常;模型组大鼠皮肤的角质层、鳞状细胞层、皮下组织的毛囊、皮脂腺均受到严重的破坏,可见大量的玻璃样变和炎症细胞;马应龙痔疮膏组大鼠皮肤的角质层增厚,鳞状细胞层变薄而皮下组织的毛囊、皮脂腺消失被大量的肉芽组织所代替;香油淀粉糊组大鼠皮肤可见大量的角质层,鳞状细胞层、皮下组织的毛囊、皮脂腺均消失被大量的炎症细胞和玻璃样变所代替;大剂量唐古特大黄油糊组大鼠皮肤的角质层增厚,鳞状细胞层基本正常,皮下组织的毛囊、皮脂腺均消失被大量炎症细胞和少量的肉芽组织所代替;小剂量唐古特大黄油糊组大鼠皮肤的角质层、鳞状细胞层、皮下组织的毛囊、皮脂腺均消失被部分肉芽组织所代替;大剂量药用大黄油

糊组大鼠皮肤的角质层、鳞状细胞层、皮下组织的毛囊、皮脂腺均消失被炎症细胞和大量肉芽组织所代替;小剂量药用大黄油糊组大鼠皮肤的角质层、鳞状细胞层、皮下组织的毛囊、皮脂腺均消失被部分肉芽组织所代替;大剂量掌叶大黄油糊组大鼠皮肤的角质层、鳞状细胞层均基本正常,而皮下组织的毛囊、皮脂腺均被肉芽组织所代替;小剂量掌叶大黄油糊组大鼠皮肤的角质层、鳞状细胞层、皮下组织的毛囊、皮脂腺均消失被大量肉芽组织所代替。结果见表4。

**表 4** 大黄油糊对大鼠创伤性皮肤溃疡模型病理组织变化的影响( $n=10$ )

**Tab 4** Effects of rhubarb balm paste on rats histopathology changes in traumatic skin ulcer model( $n=10$ )

组别	剂量/ g·只 <sup>-1</sup>	-				P
		-	+	++	+++	
空白组		10	0	0	0	<sup>1)</sup>
模型组		0	0	1	9	
马应龙痔疮膏组	0.25	2	6	2	0	<sup>1)</sup>
香油淀粉糊组	0.7	0	1	2	7	
大剂量唐古特大黄油糊组	0.7	0	8	2	0	<sup>1)</sup>
小剂量唐古特大黄油糊组	0.35	0	3	5	2	<sup>1)</sup>
大剂量药用大黄油糊组	0.7	0	7	3	0	<sup>1)</sup>
小剂量药用大黄油糊组	0.35	0	3	5	2	<sup>1)</sup>
大剂量掌叶大黄油糊组	0.7	1	7	2	0	<sup>1)</sup>
小剂量掌叶大黄油糊组	0.35	0	4	5	1	<sup>1)</sup>

注:与模型组比较,<sup>1)</sup> $P<0.01$

“-”皮肤各层结构均正常。“+”皮肤的角质层、鳞状细胞层基本正常,皮下组织被肉芽组织所代替,中间夹杂着毛囊、皮脂腺。“++”皮肤的角质层、鳞状细胞层基本正常,皮下组织被肉芽组织所代替。“+++”皮肤各层结构均消失,被大量的炎症细胞和玻璃样变所代替。

Note: Compared with model group, <sup>1)</sup> $P<0.01$

“-” The skin of each layer structure is normal. “+” Skin cutin layer, squamous cell layer, subcutaneous tissue is replaced by granulation tissue, mingled with the hair follicle and sebaceous glands. “++” Skin cutin layer, squamous cell layer is basically normal, subcutaneous tissue is replaced by granulation tissue. “+++” Each skin layers structure disappears, and is replaced by an amount of inflammatory cells and there is a glass-like hyaline change

经秩和检验,与空白组比较,模型组出现显著的病理组织损伤( $P<0.01$ );与模型组比较,大、小剂量唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄油糊组和马应龙痔疮膏组均可显著的改善动物的病理组织损伤( $P<0.01$ )。香油淀粉糊组无明显改善。相同剂量不同品种大黄油糊外用改善大鼠创伤性皮肤溃疡模型局部病变之间无显著性差异( $P>0.05$ ),说明3种大黄改善大鼠创伤性皮肤溃疡局部病变作用基本一致。

### 3.5 对大鼠痔疮模型的影响

空白组肛周一切正常,模型组肛周在 1~11 d 内均有不同程度的溃疡、渗出,与模型组比较,第 5 天大剂量唐古特大黄、掌叶大黄油糊组和马应龙痔疮膏组可明显加快溃疡愈合( $P<0.05$ );第 7 天大剂量唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄油糊组,小剂量唐古特大黄、药用大黄油糊组和马应龙痔疮膏组可显著加快溃疡愈合( $P<0.01$ ),小剂量掌叶大黄油糊组可明显加快溃疡愈合( $P<0.05$ );第 9 天大剂量唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄油糊组和马应龙痔疮膏组可显著加快溃疡愈合( $P<0.01$ ),小剂量唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄油糊组可明显加快溃疡愈合( $P<0.05$ );第 11 天大、小剂量唐古特大黄、药用大黄、掌叶大黄油糊组和马应龙痔疮膏组可显著加快溃疡愈合( $P<0.01$ );第 5, 7, 9 天香油淀粉糊组对大鼠溃疡愈合没有明显的影响( $P>0.05$ ),第 11 天香油淀粉糊组可明显加快溃疡愈合( $P<0.05$ )。相同剂量不同品种大黄油糊外用减少大鼠痔疮模型溃疡积分之间无显著性差异( $P>0.05$ ),说明 3 种大黄改善大鼠痔疮模型溃疡积分作用一致。结果见表 5。

表 5 不同处理组间不同时间溃疡积分变化( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )  
Tab 5 Ulcer changes at different times within different groups ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	致溃疡后不同时间大鼠溃疡评分/分				
	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d
模型组	1.0±0.0	1.0±0.0	1.3±0.5	2.0±0.5	2.5±0.5
马应龙痔疮膏组	1.2±0.4	1.4±0.5 <sup>1)</sup>	2.1±0.3 <sup>2)</sup>	3.0±0.5 <sup>2)</sup>	3.6±0.5 <sup>2)</sup>
香油淀粉糊组	1.0±0.0	1.0±0.0	1.4±0.5	2.2±0.4	3.0±0.5 <sup>1)</sup>
大剂量唐古特大黄油糊组	1.1±0.3	1.4±0.5 <sup>1)</sup>	2.3±0.5 <sup>2)</sup>	2.9±0.6 <sup>2)</sup>	3.5±0.5 <sup>2)</sup>
小剂量唐古特大黄油糊组	1.0±0.0	1.1±0.3	2.0±0.5 <sup>2)</sup>	2.5±0.5 <sup>1)</sup>	3.3±0.5 <sup>2)</sup>
大剂量药用大黄油糊组	1.0±0.0	1.3±0.5	2.3±0.5 <sup>2)</sup>	3.0±0.5 <sup>2)</sup>	3.6±0.5 <sup>2)</sup>
小剂量药用大黄油糊组	1.0±0.0	1.1±0.5	2.1±0.6 <sup>2)</sup>	2.6±0.5 <sup>1)</sup>	3.3±0.5 <sup>2)</sup>
大剂量掌叶大黄油糊组	1.2±0.4	1.4±0.5 <sup>1)</sup>	2.2±0.4 <sup>2)</sup>	3.1±0.6 <sup>2)</sup>	3.7±0.5 <sup>2)</sup>
小剂量掌叶大黄油糊组	1.0±0.0	1.1±0.3	1.8±0.4 <sup>1)</sup>	2.5±0.5 <sup>1)</sup>	3.1±0.3 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较,<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$

Note: Compared with model group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$

## 4 讨论

大黄现代临床外用治疗糖尿病并发下肢溃

疡、外阴溃疡、内痔溃疡等症,疗效确切,但大黄的已有的内服功能不能很好的诠释大黄的临床外用,因此很有必要对大黄的外用功能进行研究。根据临床应用及数据库分析,初步确定大黄具有收敛生肌的功效。本实验通过大黄对大鼠创伤性皮肤溃疡模型的影响、大黄对醋酸致大鼠痔疮模型的影响等药理实验对大黄的治疗溃疡疗效进行验证。因溃疡的同时伴有炎症的发生,所以选做抗炎实验,配以大黄对大鼠蛋清性足趾肿胀模型的影响,研究大黄对小鼠耳廓二甲苯致肿胀模型的影响。

目前常用特制致伤器在大鼠背部除去表皮以下组织至肌筋膜造成大鼠皮肤性溃疡模型<sup>[4]</sup>,创面水肿、有分泌物流出(脓液)、创周红肿,溃疡处皮肤的角质层、鳞状细胞层、皮下组织的毛囊、皮脂腺均受到严重的破坏,可见大量的玻璃样变和炎症细胞。皮肤溃疡面积不好确定,以透明硫酸纸描绘皮肤溃疡面积的图形方式换算,同时配以病理切片做为重点指标。此模型操作简便,在皮肤性溃疡试验中也常被选用。痔疮在药效学上没有固定的动物模型,根据痔疮临床症状并参考相关文献<sup>[5]</sup>,在动物的肛门部位模拟人的痔疮症状,采用醋酸致大鼠肛周溃疡建立实验性痔疮模型<sup>[6]</sup>,观察大黄的消肿、抗溃疡等作用。采用肉眼观察溃疡愈合情况、整体变化等,虽是较粗的指标,但也是最能反映临床特点、最受看重的指标<sup>[7]</sup>。

本实验采用香油将大黄粉调糊。中医认为香油有润燥、补液、息风、解毒杀虫及消诸疮肿之功效。大黄粉溶于香油后,不仅加速了大黄粉中的有效成分的溶出,提高了生物利用度,且该油糊具有较好的抗炎、保湿、润肤作用,能够改善皮肤屏障功能,减少皮肤的水分丢失,促进上皮细胞的更新与修复,减少外界对皮肤的不利影响。性质缓和,减小对皮肤的刺激性,不妨碍皮脂及汗液分泌,四季均可使用,兼具有流动性和稳定性好的特点<sup>[8]</sup>。因此,本实验采用香油作为大黄粉的溶剂。并且在实验前对伤口进行清洁,所用的纱布及药棉均经过无菌处理避免实验过程中对实验动物伤口造成不必要的感染。

2010 版药典中大黄为蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄或药用大黄的干燥根和根茎,因此本实验对 3 个品种大黄进行研究观察。结果显示,在大黄外用药理研究中,不同品种大黄油糊剂均能

显著减轻二甲苯导致耳廓肿胀；显著抑制大鼠蛋清性足跖肿胀；使溃疡面积显著减小，加快溃疡愈合，明显改善受损组织病理变化；且相同剂量不同品种间的作用无差异性，提示不同品种大黄的抗炎、减轻局部炎症、改善皮肤受损，促进创面肉芽及皮肤生长的作用一致。

对于外用中药促创面愈合的使用机理，中医有“去腐生肌，煨脓长肉”之说<sup>[9]</sup>。是指在疮面愈合的后期阶段，运用外敷中草药膏(散)，经皮肤和创面对药物的吸收，促进局部的气血通畅，增强其防御能力，使创口脓液渗出增多，载邪外出，从而达到促进创面生长的目的。此法一是提脓祛腐拔毒，增加局部脓液的渗出；二是渗出的脓液有助于创面肉芽、皮肤的生长，祛腐生肌。在创面愈合中期，此种脓液越多，则创面愈合越快。又经查询中药功能-临床应用-药理作用数据库可知治疗下肢溃疡内服功能主要是清热解毒、散结止痛、活血消肿、敛疮生肌等。皮肤溃疡是中医外科常见病、多发病，是以皮肤溃疡为主要临床表现长期不能愈合为临床特征，皮肤组织缺损液化坏死的一种体表疾病，本实验证明大黄油糊能显著减少溃疡面积，加快溃疡愈合，提示大黄治疗溃疡的关键在于收敛生肌。大黄外用也可用于冻疮溃烂、化脓性中耳炎、烫伤、糖尿病并发下肢溃疡、口腔溃疡等的治疗，这与大黄的外用收敛生肌功能是一致的。本实验为临床皮肤溃疡提

供了一种简便的救治方法，为大黄外用具有收敛生肌的作用提供了实验依据。

## REFERENCES

- [1] YING W X, CHEN H, LI R Z. Effects of combination therapy of rehin and pioglitazone on rats with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2012, 29(7): 578-583.
- [2] DAI D S, CUI S Z. Rhubarb for external use status and progress [J]. *Guangming J Chin Med*(光明中医), 2006, 21(11): 57-58.
- [3] YANG Q F, MENG Q G. Inflammation animal models to agent [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*(中华中医药学杂志), 2008, 26(3): 516.
- [4] HAN X M, LUO Y H, Shi Y F. Experimental study on the treatment of chronic ulcer of skin sore model [J]. *J Liaoning Univ TCM*(辽宁中医药大学学报), 2009, 11(5): 207-209.
- [5] QIAN P C, SHI H. Hemorrhoids animal model making method research progress [J]. *Chin J Comp Med*(中国比较医学杂志), 2007, 17(2): 119-122.
- [6] MA Z G, JIANG N, YU M Y. Research progress of hemorrhoids model [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*(中国实验动物学报), 2010, 18(5): 446-450.
- [7] MIAO M S. Legal Chinese Medicine Pharmacology and Clinical(法定中药药理与临床) [M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 1998: 445.
- [8] JIANG G P, YANG L Y, ZHANG J. Joint compound loose hot oil fractions paste the curative effect of the treatment of chronic eczema observation [J]. *Abstr Chin Med*(中国医学文摘), 2009, 26(6): 355-357.
- [9] ZHU H D, YANG Y R, GAO F X. Toxicity study on major pharmacodynamic of Kezhi suppository [J]. *China Pharm*(中国药师), 2005, 8(7): 44-46.

收稿日期: 2012-02-21

## 昆明小鼠心室肌细胞分离方法及动作电位、L型钙通道电流记录

李映新<sup>a</sup>, 黄媛恒<sup>b</sup>, 林兴<sup>c</sup>, 黄仁彬<sup>a\*</sup>(广西医科大学, a.药学院; b.基础医学院实验生理学科学实验中心; c.医学科学实验中心, 南宁 530021)

**摘要:** 目的 探讨耐钙昆明小鼠心室肌细胞的急性分离方法及动作电位、L型钙通道电流的记录。方法 采用三步灌流法, 首先灌流无钙台氏液, 再换成含Ⅱ型胶原酶 $0.1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、胰蛋白酶 $0.01\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、牛血清白蛋白 $0.2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的无钙台氏液灌流, 消化液灌流期间, 每隔 $5\text{ min}$ 加入 $20\text{ }\mu\text{L}$ 的 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ CaCl}_2$ , 以观察流出液是否有单个心肌细胞来判断消化终点, 最后灌流含 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 牛血清白蛋白的KB液, 采用全细胞膜片钳记录方式记录动作电位及L型钙通道电流。结果 获得80%~90%杆状心肌细胞, 复钙后, 仍有60%细胞保持静止, 细胞表面干净整洁, 折光性强, 边缘和横纹清晰, 立体感强, 获得60%左右的耐钙心室肌细胞, 并记录到典型的动作电位、L型钙通道电流。结论 该分离方法分

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 0630002-2A); 广西中医药科技专项课题(GZKZ10-122); 2011年广西研究生创新计划项目(2011105981002D26)

作者简介: 李映新, 女, 博士生, 讲师 Tel: 13768275697 E-mail: marchimoro@yeah.net \*通讯作者: 黄仁彬, 男, 博士, 教授, 博导 Tel: (0771)5358272 E-mail: huangrenbin518@163.com