

不同基质和pH值的腐植酸钠凝胶剂对大鼠皮肤创伤愈合的影响[△]

张爱军^{1*}, 顾慧莹², 闫志勇¹, 车晓侠¹, 陈小斌¹ (1. 西安交通大学医学院第二附属医院, 西安 710004; 2. 西安产品质量监督检验院, 西安 710065)

中图分类号 R965;R944.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)21-1933-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.21.05

摘要 目的:研究不同基质和pH值的腐植酸钠凝胶剂对大鼠皮肤创伤愈合的影响。方法:分别用卡波姆、羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、海藻酸钠3种基质制备腐植酸钠凝胶剂,并用三乙醇胺调节为低、高pH值。取大鼠建立背部创伤模型后,随机分为卡波姆组、CMC-Na组和海藻酸钠组,每组6只,分别在各组大鼠背部的左上、左下、右上、右下侧创面涂抹生理盐水(空白对照组)、空白基质凝胶(基质对照组)、相应基质的低pH值腐植酸钠凝胶剂和高pH值腐植酸钠凝胶剂,每次每个创面0.5 g,每日2次,连续给药14 d;观察各组大鼠分别给药0、3、6、9、14 d后的创面愈合情况,并计算愈合率和平均愈合时间。结果:与空白对照组和基质对照组比较,卡波姆组、CMC-Na组和海藻酸钠组大鼠给药不同时间的愈合率均明显增加($P<0.01$),平均愈合时间均明显缩短($P<0.01$)。低pH组间比较或高pH组间比较,卡波姆组大鼠给药3、6、9、14 d的愈合率均明显高于CMC-Na组和海藻酸钠组($P<0.05$),平均愈合时间明显短于CMC-Na组和海藻酸钠组($P<0.05$);基质相同时,高pH值凝胶剂对大鼠给药3、6、9、14 d的愈合率明显高于低pH值凝胶剂($P<0.05$),平均愈合时间明显短于低pH值凝胶剂($P<0.05$)。结论:以卡波姆为基质制备的高pH值的腐植酸钠凝胶剂促进大鼠创伤愈合的效果更好。

关键词 腐植酸钠;凝胶剂;大鼠;基质;pH值;创伤愈合

Effects of Sodium Humic Gel with Different Matrix and pH on the Wound Healing of Rats

ZHANG Ai-jun¹, GU Hui-ying², YAN Zhi-yong¹, CHE Xiao-xia¹, CHEN Xiao-bin¹ (1. The Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; 2. Xi'an Product Quality Supervision & Testing Institute, Xi'an 710065, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effects of Sodium humic gel with different matrix and pH on the wound healing of rats. **METHODS:** Sodium humic gel was prepared with 3 kinds of matrix [carbomer, CMC-Na, sodium alginate], and pH value was adjusted with triethanolamine. After modeling, all rats were randomly divided into carbomer group, CMC-Na group and sodium alginate group with 6 rats in each group. On the upper left, bottom left, upper right and bottom right wound of the back of rats in each group, we daubed normal saline (blank control group), blank gel matrix (matrix control group), the high pH value of Humic acid sodium gel and the low pH value of Humic acid sodium gel, respectively. Each rat of all groups were daubed corresponding gels of 0.5 g twice a day for 14 d. The wound healing of rats were observed by 0, 3, 6, 9 and 14 d after administration, and healing rate and mean healing time were calculated. **RESULTS:** Compared with blank control group and matrix control group, the healing rate of carbomer group, CMC-Na group and sodium alginate group increased significantly ($P<0.01$), while mean healing time shortened significantly ($P<0.01$). Compared between low pH value and high pH value, healing rate of carbomer group was higher than CMC-Na group and sodium alginate group 3, 6, 9 and 14 d after administration ($P<0.05$); mean healing time of carbomer group was much shorter than other two groups ($P<0.05$). In the same matrix gels, healing rate of gel with high pH value was significantly higher than that of gel with low pH value 3, 6, 9 and 14 d after administration ($P<0.05$); while mean healing time of gel with high pH value was much shorter than low pH value ($P<0.05$). **CONCLUSIONS:** Using carbomer as matrix, Humic acid sodium gel with high pH value has a better effect on the wound healing of rats.

KEY WORDS Sodium humate; Gel; Rats; Matrix; pH; Wound healing

腐植酸钠(Sodium humate, HA-Na)又称胡敏酸钠,是采用含腐植酸的腐殖物质或低钙低镁风化煤经化学提炼而成;含有羟基、醌基、羧基等较多活性基团的高分子化合物,水溶液呈弱碱性,pH值为8.0~10.0(一级品)^[1];可作为多种不同性能的添加剂,广泛应用于工农业生产中。现代药理研究^[2-3]结果表明,腐植酸钠具有抗菌消炎、抗病毒、调节机体免疫力等作用。

[△]基金项目:陕西省科学技术研究发展计划资助项目[No.2008K16-06(4)]

*副主任药师。研究方向:中药现代化。电话:029-87679495。E-mail:zhangaj2005@163.com

用。本文前期实验中发现,腐植酸钠具有明显的改善创面愈合效果、缩短创面愈合时间的作用^[4]。为了便于临床应用,笔者将其制成外用凝胶剂,但在进行处方筛选和工艺优化时,发现凝胶剂的pH值均有不同程度的下降。故笔者选择3种常用基质,制备高、低pH值的腐植酸钠凝胶剂,通过考察其对大鼠皮肤创伤愈合的影响,筛选其适宜基质和pH值。

1 材料

pHS-3C pH仪(上海雷磁仪器厂);AEG-220电子分析天平(日本岛津公司);超声药品处理机(济宁金百特电子责任有限公司)。

腐植酸钠原料药(中国科学院山西煤炭化学研究所,批号:20081010,规格:腐植酸含量>70%);卡波姆941(简称卡波姆,北京贝丽莱日用化工厂,批号:010201);水合氯醛、甘油均为药用级别;羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、海藻酸钠、硫化钠、三乙醇胺等均为分析纯。

健康SD大鼠,清洁级,♀♂各半,体质量180~220g,由西安交通大学医学院实验动物中心提供,合格证号:SYXK(陕)2007-003,大鼠常规饲养,饲养温度为26~28℃。

2 方法

2.1 凝胶剂的制备

分别称取处方量的基质(卡波姆、CMC-Na、海藻酸钠)均匀撒于适量水和5g甘油中,搅拌均匀,放置过夜溶胀。另称取腐植酸钠原料药,加入20ml蒸馏水使之溶解,然后加入甘油10g,与溶胀好的基质均匀混合,根据需要缓慢滴加适量的三乙醇胺调节pH值,边加边搅拌,加水至100g,搅匀,即得。不同基质和pH值的凝胶剂的组成见表1。

表1 不同基质和pH值的凝胶剂的组成

Tab 1 Constituent of gel with different matrix and pH

腐植酸钠用量,g	基质(质量,g)	三乙醇胺用量,g	pH值
	卡波姆(1.0)	1.35	6.2
	CMC-Na(5.0)		7.3
	海藻酸钠(8.0)		7.2
1.0	卡波姆(1.0)	1.35	6.8
1.0	卡波姆(1.0)	2.5	7.6
1.0	CMC-Na(5.0)		7.5
1.0	CMC-Na(5.0)	1.35	8.5
1.0	海藻酸钠(8.0)		7.2
1.0	海藻酸钠(8.0)	1.35	8.3

2.2 建立创伤模型

参照文献^[5-9]制备皮肤创伤模型:将大鼠适应性喂养1d后,腹腔注射水合氯醛(300mg/kg)麻醉,5%硫化钠背部脱毛,用碘伏消毒后,在大鼠背部脊柱两侧相同部位用特制打孔器制作直径约2.5cm的创面4个,皮肤圆形全层切除,止血消毒后备用。所有大鼠单笼喂养,自由饮食饮水。

2.3 分组与给药

将创伤模型大鼠,随机分为卡波姆组、CMC-Na组和海藻酸钠组,每组6只,♀♂各半。每组大鼠背部左上侧创面为空白对照组,仅涂抹生理盐水;左下侧创面为基质对照组,即分别涂抹以卡波姆、CMC-Na、海藻酸钠为基质的空白基质凝胶;右上侧创面涂抹相应基质的低pH值腐植酸钠凝胶剂;右下侧创面涂抹相应基质的高pH值腐植酸钠凝胶剂。每次每个创面涂药0.5g,每天早晚各给药1次,连续给药14d。

2.4 创面愈合率与愈合时间考察

采用透明硫酸膜描记法,分别于给药0、3、6、9、14d后用半透明纸绘得创面图形,再将图形描至小方格纸上,测定小方格的格数表示创面面积,计算每只大鼠不同时间的创面愈合率,并记录最终创面愈合时间。创面愈合率=[(原始创面面积-未愈合创面面积)/原始创面面积]×100%;愈合时间:创面制作后,以创面愈合率大于或等于95%的天数为创面愈合时间^[7]。

2.5 统计学方法

数据结果均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS 13.0软件分析,组间比较采用t检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

各组大鼠创面愈合率和平均愈合时间比较见表2。

与空白对照组和基质对照组比较,卡波姆组、CMC-Na组和海藻酸钠组大鼠给药不同时间的创面愈合率均明显增加

表2 各组大鼠创面愈合率和平均愈合时间比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 2 Comparison of healing rate and healing time among those groups($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	pH值	创面愈合率,%				平均愈合时间,d
		3d	6d	9d	14d	
空白对照组		29.08±2.32	58.20±3.39	78.64±1.96	89.13±1.38	15.71±0.72
卡波姆基质对照组		31.52±9.04	59.28±4.06	79.43±3.24	91.02±1.01	15.51±0.62
CMC-Na基质对照组		31.36±6.06	59.80±9.46	79.59±1.05	91.20±1.03	15.55±0.55
海藻酸钠基质对照组		30.91±1.52	58.87±1.68	78.82±1.72	89.97±1.47	15.54±0.55
卡波姆组	低	47.21±1.68**	71.21±1.56**	90.29±0.86**	96.09±0.85**	14.05±0.24**
	高	50.41±1.83** [△]	75.52±1.76** [△]	92.81±0.46** [△]	99.07±0.37** [△]	13.25±0.33** [△]
CMC-Na组	低	44.25±1.52** [△]	69.18±1.17** [△]	89.09±0.50** [△]	95.02±0.35** [△]	14.45±0.20** [△]
	高	47.07±1.45** [△]	72.71±1.26** [△]	91.01±0.76** [△]	97.02±0.32** [△]	14.15±0.12** [△]
海藻酸钠组	低	43.89±1.16** [△]	69.12±1.64** [△]	86.45±1.99** [△]	93.80±1.42** [△]	14.58±0.21** [△]
	高	45.14±2.07** [△]	71.80±1.12** [△]	88.97±1.26** [△]	96.24±1.78** [△]	14.22±0.24** [△]

与空白对照组比较:* $P < 0.01$;与基质对照组比较:[#] $P < 0.01$;pH相同水平时,与卡波姆组比较:[△] $P < 0.05$;基质相同时,与低pH组比较:[▲] $P < 0.05$

vs. blank control group: * $P < 0.01$; vs. matrix group: [#] $P < 0.01$; vs. carbomer group under same pH value: [△] $P < 0.05$; vs. gel with low pH value group under same matrix: [▲] $P < 0.05$

($P < 0.01$),平均愈合时间均明显缩短($P < 0.01$)。

pH相同水平时,卡波姆组大鼠给药3、6、9、14d的创面愈合率均明显高于CMC-Na组和海藻酸钠组($P < 0.05$),平均愈合时间明显短于CMC-Na组和海藻酸钠组($P < 0.05$)。

基质相同时,高pH值凝胶剂对大鼠给药3、6、9、14d的创面愈合率明显高于低pH值凝胶剂($P < 0.05$),平均愈合时间明显短于低pH值凝胶剂($P < 0.05$)。

4 讨论

卡波姆、CMC-Na和海藻酸钠分别是常用的凝胶剂基质,依据药物的理化性质、作用特点,选择适宜的基质才能发挥药物的最佳疗效。本研究主要研究了不同基质、不同pH的腐植酸钠凝胶剂对大鼠皮肤创伤愈合的影响,通过大鼠皮肤创面愈合率和愈合时间的比较,发现以卡波姆为基质制备的高pH值的腐植酸钠凝胶剂促进大鼠创伤愈合的效果更好。

外用凝胶剂应有一定的黏度,黏度过小不利于涂抹,黏度过大时,对亲水性药物扩散溶出的阻碍越大,减慢释药速度,同样影响药效^[8]。卡波姆作为凝胶剂基质具有无毒、对皮肤和黏膜无刺激性、释药快、性质稳定等特点,其水溶液呈酸性,加入适量三乙醇胺后其pH范围在6~11时黏度最大,有助于凝胶的涂布。腐植酸钠的溶液pH值呈弱碱性,但制成凝胶时pH值均有不同程度的降低,所以本研究设置了低、高pH值(改进前和改进后)的凝胶剂,并以大鼠创面愈合实验结果考察最佳基质和处方的pH值。制备腐植酸钠凝胶剂时,以卡波姆为基质的凝胶剂其pH值最大只能达到7.6左右,增加三乙醇胺用量时,凝胶剂黏度变大,不方便使用。因此制备本制剂时应控制三乙醇胺用量,既要考虑到黏度,又应兼顾药物的释放度及制剂的稳定性。

腐植酸钠凝胶剂作为外用制剂在临床的使用中,可以持续保持创面湿润,延长药物与皮肤接触时间,使药物缓慢持续地释放,具有使用携带方便、患者依从性好、易于清洗等特点。所以将腐植酸钠制成外用凝胶剂将会为创伤患者提供一个安全、方便、有效的促进伤口愈合的新方法。由于凝胶剂的质量受多种因素的影响,通过对不同基质制备的腐植酸钠凝胶剂进行外观性状和释药特性的研究将是下一步的工作重点。

参考文献

不同配比的注射用头孢呋辛钠/他唑巴坦钠的体外抑菌作用考察^Δ

邢桂兰^{1,2*},李文广³,钟绍金^{1,2},曾渝^{1,2},符健^{1,2#}(1.海南省药物安全性评价研究中心,海口 571199;2.海南省药物临床前药理毒理学研究重点实验室,海口 571199;3.海南医学院微生物学和免疫学教研室,海口 571199)

中图分类号 R965;R978.1[†] 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)21-1935-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.21.06

摘要 目的:观察不同配比的注射用头孢呋辛钠/他唑巴坦钠(CEF/TAZ)的体外抑菌效果,为寻找CEF与TAZ的最佳配比提供试验依据。方法:采用琼脂二倍稀释法,考察不同质量配比(1:1,2:1,4:1,8:1)的CEF/TAZ复方制剂对湖南长沙地区2009年6月—2011年6月的319株临床分离菌的体外抑菌效果,以50%最低抑菌浓度(MIC₅₀)、MIC₉₀及MIC抑菌范围为指标,并与单组分CEF、TAZ和阳性对照头孢噻肟钠/舒巴坦钠(CTX/SBT)、头孢曲松钠(CTRX)/SBT的抑菌效果进行比较。结果:对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌,无论其是否产β-内酰胺酶,4种配比的CEF/TAZ的抑菌效果均相对强于单组分和阳性对照,其中以CEF/TAZ(4:1,8:1)最明显;对产超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)的细菌,CEF/TAZ(2:1,4:1)表现出较CEF/TAZ(1:1,8:1)、单组分和阳性对照更强的抑菌效果;对不产ESBLs的细菌,除CEF/TAZ(1:1)抗大肠埃希菌稍差外,其余3种配比的CEF/TAZ的抑菌效果均强于单组分和阳性对照。结论:CEF/TAZ以2:1,4:1质量配比时,对产与不产β-内酰胺酶或ESBLs的菌株均有较好的抑菌效果。

关键词 注射用头孢呋辛钠/他唑巴坦钠;体外抑菌;酶抑制剂;配比

Study on the Antibacterial Activity of Different Ratios of Cefuroxime Sodium/Tazobactam Sodium for Injection *in vitro*

XING Gui-lan^{1,2}, LI Wen-guang³, ZHONG Shao-jin^{1,2}, ZENG Yu^{1,2}, FU Jian^{1,2} (1. Research Center for Drug Safety Evaluation of Hainan Province, Haikou 571199, China; 2. Hainan Provincial Key Laboratory of Preliminary Pharmacology and Toxicology Research, Haikou 571199, China; 3. Dept. of Immunology and Microbiology, Hainan Medical College, Haikou 571199, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the *in vitro* antibacterial activities of Cefuroxime sodium/tazobactam sodium (CEF/TAZ) for injection with different ratios, and to provide the experimental basis for the optimal ratio of CEF to TAZ. METHODS: The *in vitro* antibacterial activities of CEF/TAZ compound preparation with different quality ratios (1:1, 2:1, 4:1, 8:1) against 319 pathogenic bacteria in Hunan Changsha area in 2009-06-2011-06 were investigated by agar dilution method using MIC₅₀, MIC₉₀ and MIC_{range}. The antibacterial activities of CEF/TAZ compound preparation were compared with those of CEF, TAZ, CTX/SBT positive control and CTRX/SBT positive control. RESULTS: To *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, the antibacterial activities of different ratios of CEF/TAZ compounds were better than others, specifically CEF/TAZ (4:1, 8:1), whether it produced β-lactamase or not. To ESBLs producing bacteria, CEF/TAZ (2:1, 4:1) showed strong antibacterial activities, which were better than CEF/TAZ (1:1, 8:1), single component and positive control drug. To ESBLs non-producing bacteria, the antibacterial activities of different ratios of CEF/TAZ compounds were better than single component and positive control drug, except that of CEF/TAZ (1:1) was poor to *Escherichia coli*. CONCLUSIONS: CEF/TAZ (2:1, 4:1) have sound antibacterial activities on β-lactamase or ESBLs producing strain and β-lactamase and ESBLs non-producing strain.

KEY WORDS Cefuroxime sodium/tazobactam sodium for injection; Antibacterial activities *in vitro*; Enzyme inhibitors; Mixture ratio

[1] 中华人民共和国工业和信息化部.HG/T3278-2011 农业用腐植酸钠[S].北京:化学工业出版社,2012:2.

[2] 杨德俊,李旭,胡吉林,等.复方腐植酸钠烫伤膏中腐植酸钠浓度变化对烫伤治疗效果的影响[C].//第八届全国绿色环保肥料(农药)新技术、新产品交流论文集.北京:中国腐植酸工业协会,2009:168.

[3] 李威,邹立壮,朱书全,等.近十年腐植酸应用研究综述[J].腐植酸,2006(3):3.

Δ基金项目:海南省重点科技计划资助项目(No.090215)

*助理研究员。研究方向:药理学与毒理学。电话:0898-66961102。E-mail: xingguilan@126.com

#通信作者:教授,博士。研究方向:药理学与毒理学。电话:0898-66982118。E-mail: fujian.hnmc@163.com

[4] 张爱军,闫志勇,车晓侠,等.腐植酸钠促进大鼠伤口愈合的实验观察[J].中国皮肤性病杂志,2012,26(9):793.

[5] Lorenz K, Sicker M, Schmelzer E, et al. Multilineage differentiation potential of human dermal skin-derived fibroblasts[J]. *Exp Dermatol*, 2008, 17(11):925.

[6] Lee DY, Yang JM, Park KH. A dermal equivalent developed from fibroblast culture alone: effect of EGF and insulin[J]. *Wound Repair Regen*, 2007, 15(6):936.

[7] 周颖,薛小燕,侯征,等.胰岛素乳膏的处方筛选及对创伤模型家兔愈合的影响研究[J].中国药房,2010,21(25):2342.

[8] 金玲,王锦玉,全燕,等.五倍子提取物喷雾剂体外释放评价[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(6):27.

(收稿日期:2012-06-12 修回日期:2013-01-13)