

·学生园地·

DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2017.05.18

# 复方颠倒凝胶对大鼠耳廓痤疮模型 治疗研究\*

林姗姗<sup>1</sup>, 金鑫<sup>2</sup>, 黄炜<sup>3</sup>, 李沛纯<sup>3</sup>, 刘睿<sup>3</sup>, 年莉<sup>1</sup>

(1.天津中医药大学中医学院,天津 300193, 2.武警后勤学院药理学教研室,天津 300309, 3.天津中医药大学中药学院,天津 300193)

**摘要:**[目的]探究复方颠倒凝胶对大鼠耳廓痤疮模型的治疗作用。[方法]大鼠右耳廓涂抹油酸制造大鼠耳廓痤疮模型,连续涂抹21 d。造模成功后,将大鼠随机分为正常对照组、生理盐水组、阿达帕林凝胶组和复方颠倒凝胶低、中、高剂量组,分别对比用药14 d。而后切取大鼠右耳廓,进行肉眼和镜下观察。根据判定分级标准对实验结果进行分析,探究复方颠倒凝胶的抗痤疮作用。[结果]造模成功后,大鼠右耳廓皮肤粗糙,耳廓明显增厚变硬,皮肤红肿伴皮温升高,镜下组织学观察病理改变明显。用药治疗后阿达帕林凝胶组和复方颠倒凝胶高剂量组大鼠耳廓痤疮症状均明显减轻,镜下观察接近正常组织,复方颠倒凝胶低、中剂量组较高剂量组恢复率较低。阿达帕林凝胶组和复方颠倒凝胶各组大鼠恢复情况均明显优于生理盐水组( $P<0.001$ ),而复方颠倒凝胶低剂量组和高剂量组之间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。[结论]复方颠倒凝胶对大鼠耳廓痤疮模型具有较好的治疗作用,且存在一定的量效关系。

**关键词:**复方颠倒凝胶;阿达帕林凝胶;大鼠耳廓痤疮模型;抗痤疮作用;量效关系

**中图分类号:**R285.5

**文献标志码:**A

**文章编号:**1673-9043(2017)05-0392-04

痤疮是一种常见的慢性炎症性皮肤病,不仅影响到个人美观和自尊,甚至引发心理疾病,因而得到医学界的广泛关注。西医用于治疗痤疮的一线药物主要是维A酸类(如阿达帕林凝胶),长期使用存在皮肤刺激等不良反应<sup>[1]</sup>。中药处方颠倒散首见于《医宗金鉴》,其治疗痤疮具有较好的疗效<sup>[2-5]</sup>,但由于散剂具有在皮肤表面滞留时间短导致药效难以发挥及使用不方便等局限性未能在临床上被广泛应用。而凝胶剂作为一种新型给药系统,对药物的释放具有缓释、控释作用,使药效持久,提高了药物的安全性和有效性,且方便患者使用,可作为中药传统外用药剂剂型改进的一种选择<sup>[6-11]</sup>。

课题组以颠倒散为基础方加入黄柏、苦参、芦荟3味药物组成复方颠倒散,前期通过动物实验证明此方用于治疗痤疮确有疗效。现提取该处方药物中抗痤疮的有效成分,将传统外用散剂改为凝胶

剂,以提高其抗痤疮的作用,并进一步将制得的低、中、高剂量的复方颠倒凝胶与阿达帕林凝胶在大鼠耳廓痤疮模型上对比用药。通过观察复方颠倒凝胶对大鼠耳廓痤疮模型的治疗作用并进行剂量相关性研究,为复方颠倒凝胶临床上用于治疗痤疮提供理论依据,同时为中医领域其他中药外用处方的剂型改制开拓新的思路。

## 1 实验材料

**1.1 实验动物** 健康SD大鼠48只,成年雄性,体重(200±20)g,购自军科院四所实验动物中心[合格证书编号:SCXK-(军)2014-0001]。

**1.2 药品及试剂** 复方颠倒凝胶(由大黄总蒽醌、升华硫、盐酸小檗碱、苦参碱、氧化苦参碱、芦荟提取物等组成,利用正交试验设计和优化处方);0.1%阿达帕林凝胶(法国高德美制药公司);油酸(分析纯)(西陇科学股份有限公司)。

**1.3 实验仪器** BA410显微镜(厦门Motic公司)。

## 2 实验方法

**2.1 制备动物模型** 随机抽取40只大鼠进行造模,用1 mL注射器在大鼠右耳廓皮内均匀涂抹油酸约0.3 mL,每日1次,连续涂抹21 d。

**2.2 对比用药** 将正常大鼠设为正常对照组(A

\* 基金项目:天津市市级大学生创新创业训练计划项目(201610063021);武警后勤学院附属医院科研平台开放基金(WYK FM200609)。

作者简介:林姗姗(1994-),女,天津中医药大学中医学院本科生,主要研究为中医学方向。

通讯作者:刘睿, E-mail:lr\_8000@163.com。

组),模型大鼠随机分为生理盐水组(B组)、阿达帕林凝胶组(C组)和低、中、高剂量的复方颠倒凝胶组(分别为D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>组),每组8只。C组大鼠右耳廓每次涂抹0.01g阿达帕林凝胶,D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>组大鼠右耳廓每次分别涂抹0.01、0.02、0.04g复方颠倒凝胶,A组和B组则给予同体积生理盐水,用量以均匀涂抹整个右耳廓为度,每日1次,连续用药14d。

**2.3 取材、观察** 末次给药24h后,先肉眼观察大鼠右耳廓涂药处皮肤表面皮损情况及耳廓厚度,切取右耳廓,用10%福尔马林固定组织块,然后依次进行石蜡包埋,切片,苏木精-伊红(HE)染色,最后在镜下观察组织学改变。

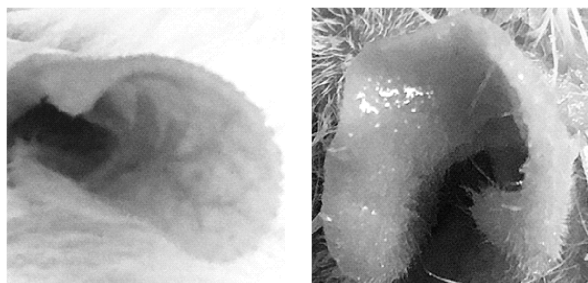
**2.4 痤疮模型判定分级标准** 见表1。

**2.5 统计学方法** 利用SPSS 18.0统计软件对实验结果进行统计学分析,等级资料用频数描述,组间比较采用秩和检验,以P<0.05为差异有统计学意义。

### 3 实验结果

#### 3.1 造模后大鼠耳廓观察

**3.1.1 肉眼观察** 正常大鼠右耳廓柔软且轻薄,表面光洁无皮损,表皮无角化物质,颜色白中透粉,透光度好,可见清晰的毛细血管。模型大鼠右耳廓皮肤粗糙,耳廓明显增厚变硬,皮肤红肿伴皮温升高,见图1。



A 正常大鼠 B 模型大鼠

图1 大鼠耳廓肉眼观察

**3.1.2 镜下组织学观察** 正常大鼠耳廓表皮组织较薄,细胞排列整齐,角化无异常,毛囊、皮脂腺结构清晰,未见组织学改变。模型大鼠耳廓可见表皮

组织增厚,角化异常,毛囊壁增厚,毛囊扩大成壶状且毛囊口及漏斗部充满致密的角化物质,角栓堵塞,皮脂腺增大,真皮浅层毛细血管明显扩张,炎性细胞增多浸润,见图2。

#### 3.2 用药后大鼠耳廓观察

**3.2.1 肉眼观察** 给药1周后,A组正常大鼠右耳廓无皮损现象,B组大鼠右耳廓皮肤严重受损,两组与用药前相比均未见明显改变;C组和D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>组大鼠耳廓皮损症状有不用程度的减轻,耳部开始变软、变薄,局部皮肤红肿减轻,皮温降低。给药2周后,A组和B组大鼠耳廓仍未见明显改变,D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>组大鼠耳廓皮损症状恢复较弱,C组和D<sub>3</sub>组大鼠耳廓皮损症状明显减轻,皮肤颜色正常或微红,无肿胀,表面皮损和皮温基本接近正常。

**3.2.2 镜下组织学观察** 用药2周后,A组正常大鼠耳廓无明显病理改变,B组大鼠耳廓仍可见严重病理改变,C组和D<sub>3</sub>组大鼠耳廓表皮增厚程度减轻,毛囊口轻度扩张,角化物减少且疏松,炎性细胞明显减少,基本接近正常组织(见图2C、2D),D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>组大鼠耳廓病理恢复情况较D<sub>3</sub>组弱。

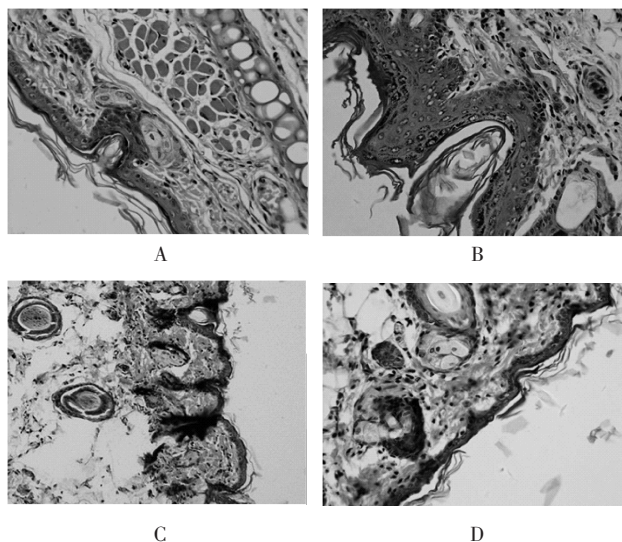
**3.2.3 用药前、后的判定分级结果** 根据判定分级标准,对用药前、后大鼠耳廓的病变程度进行评定,结果显示A组大鼠耳廓基本无变化,B组大鼠耳廓症状可见轻微加重,C组和D<sub>3</sub>组大鼠耳廓症状明显减轻,D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>组大鼠耳廓症状减轻程度较D<sub>3</sub>组弱,见图3。

统计学结果表明,与生理盐水组比较,阿达帕林凝胶组和复方颠倒凝胶各组差异均有统计学意义(P<0.01),而复方颠倒凝胶低剂量组和高剂量组之间差异有统计学意义(P<0.05),阿达帕林凝胶组和复方颠倒凝胶中、高剂量组之间差异无统计学意义(P>0.05),表明本实验自制的复方颠倒凝胶对大鼠耳廓痤疮模型有较好的治疗作用并且存在一定的量效关系,中、高剂量时可达阿达帕林凝胶的治疗效果;与正常对照组比较,阿达帕林凝胶组和复方颠倒凝胶各组差异均有统计学意义(P<0.01),表

表1 痤疮模型判定分级标准

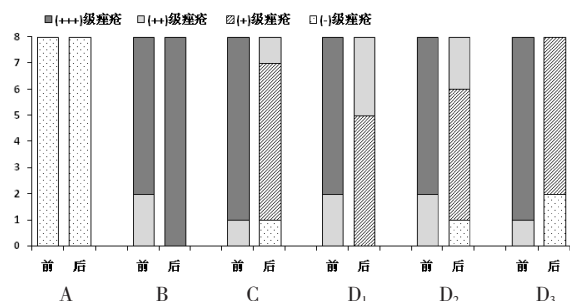
肉眼观察	镜下组织学观察	级别
皮肤表面正常	表皮细胞正常,毛囊、皮脂腺结构清晰	-
局部皮肤颜色改变,毛细血管扩张,耳廓轻微增厚	表皮细胞轻度增生,毛囊轻度角化,皮脂腺增生或无明显增生	+
皮肤表面粗糙干燥,耳廓增厚变硬、轻度红肿	表皮细胞中度增生,毛囊漏斗部可见中等量角化物质,皮脂腺轻度增生	++
皮肤表面粗糙,耳廓增厚情况加重,触之较硬,皮肤明显红肿且皮温升高	表皮细胞严重增生,扩张的毛囊内有大量的角化物质,皮脂腺直径明显增大,并伴有少量炎性细胞浸润	+++

明两种药物对于痤疮的治疗均未达到最理想的治疗效果。见表2。



A: 正常对照组(HE, ×400); B: 生理盐水组(HE, ×400); C: 阿达帕林凝胶组(HE, ×400); D: 复方颠倒凝胶高剂量组(HE, ×400)

图2 镜下组织学观察



A 正常对照组; B 生理盐水组; C 阿达帕林凝胶组; D<sub>1</sub> 复方颠倒凝胶低剂量组; D<sub>2</sub> 复方颠倒凝胶中剂量组; D<sub>3</sub> 复方颠倒凝胶高剂量组

图3 用药前、后的判定分级结果

表2 用药后判定分级统计结果 只

组别	n	-	+	++	+++
A组	8	8	0	0	0
B组	8	0	0	0	8
C组	8	1	6	1	0
D <sub>1</sub> 组	8	0	3	5	0
D <sub>2</sub> 组	8	0	5	3	0
D <sub>3</sub> 组	8	2	6	0	0

#### 4 讨论

现代研究证明,痤疮的主要致病菌是葡萄球菌和痤疮丙酸杆菌。复方颠倒凝胶对痤疮具有一定的治疗作用可能与中药中的提取物能够抑制葡萄球菌和痤疮丙酸杆菌的增殖和感染有关<sup>[12-18]</sup>,需要进

一步通过复方颠倒凝胶的抑菌实验证明。

由于传统外用散剂比表面积大,容易吸湿、结块和分散,导致散剂在皮肤表面的滞留时间短,不利于药效的发挥<sup>[19]</sup>;且散剂调制麻烦、剂量难以确定、药物浪费大、不便于患者使用等诸多弱点日益突出<sup>[20]</sup>,这些都不适应现代用药的需求,因此颠倒散的应用有着一定的局限性。本实验制备的复方颠倒凝胶,易于涂展,无油腻感,有较好的生物相容性,对药物的释放具有缓释、控释作用,使药效持久,提高了药物的安全性和有效性;可吸水膨润的特点保证其更好地吸收组织渗出液,促进药物透皮吸收;且使用剂量小,毒副作用较少,不妨碍皮肤的正常生理功能,为中医领域其他中药外用处方的剂型改制开拓新的思路。

由于引起痤疮的病因较多,发病机制十分复杂<sup>[21-22]</sup>,且不同物种之间存在着较大差异,动物模型不能完全地模拟人类痤疮的发病过程,因此还处于研究药物抗痤疮机制的初步探索阶段,仍需不断探索用于研究治疗痤疮的有效药物和实验方法。根据中医辨证论治和内外同治的观念,以及痤疮患者的不同情况辨证分型,使用复方颠倒凝胶配合不同的内服汤剂联合治疗,以期待达到更好的治疗作用。

#### 参考文献:

- [1] 安琪,王秋枫,李雪,等.痤疮的药物疗法进展[J].中国医药导报,2012,9(18):10-12.
- [2] 张怀亮,陈正琴,张新翠.赵炳南颠倒散古方痤疮、酒渣鼻和面部脂溢性皮炎传承治疗经验介绍[J].时珍国医国药,2012,23(8):2106-2108.
- [3] 曹恩溥.“颠倒散”治疗痤疮52例[J].中医药临床杂志,1991,3(4):18.
- [4] 马尊峰,霍文耀.古方颠倒散治疗痤疮50例临床观察[J].内蒙古中医药,2010,29(16):11.
- [5] 清·吴谦.医宗金鉴·外科心法要诀[M].北京:人民卫生出版社,2001:181.
- [6] Pfeiffer RF. Potential of transdermal drug delivery in Parkinson's disease[J]. Drug Aging, 2002, 20(1): 8-10.
- [9] 卢丰.浅谈凝胶剂在中药制剂中的研究进展[J].中国中医药现代远程教育,2012,10(17):162-164.
- [10] 赖宝林,王利胜,张升,等.中药凝胶剂的研究进展[J].中药新药与临床药理,2010,21(2):211-213.
- [11] 张丽华.外用凝胶剂的研究进展[J].海峡药学,2016,28(1):8-10.
- [12] 陈红斌,陈钧.大黄对痤疮主要致病菌的体外抑菌作用研究[J].中药药理与临床,2006,22(3):111-113.

- [13] 甄新现, 李淑敏, 陈恩生, 等. 复方颠倒散面膜治疗痤疮 91 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2008, 6(11): 1347-1348.
- [14] 曾宪玉. 丙酸杆菌的耐药研究及盐酸小檗碱对耐药株的抑制机制研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014.
- [15] 陈静, 哈丽娜, 王秀青, 等. 苦参碱对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌体外抗菌作用的实验研究[J]. 长治医学院学报, 2012, 26(3): 161-163.
- [16] 张爱君, 赵清国, 哈丽娜, 等. 氧化苦参碱对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌体外抗菌活性的实验研究[J]. 包头医学院学报, 2013, 29(3): 11-13.
- [17] Strickland FM, Pelley RP, Kripke ML. Prevention of ultraviolet radiation-induced suppression of contact and delayed hypersensitivity by Abe barbadensis gel extract[J]. J Invest Dermatol, 1994, 102: 197-204.
- [18] 徐莲, 符旭东, 熊蕊, 等. 芦荟的药理作用及其临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2016, 27(10): 1418-1421.
- [19] 曹韧楠. 生肌散的经皮给药剂型研究[D]. 北京: 中国协和医科大学中国医学科学院, 2007.
- [20] 肖立新, 彭力平, 马笃军, 等. 消瘀散涂膜剂和即型凝胶剂治疗急性软组织挫伤的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(1): 184-188.
- [21] 姜春明, 葛蒙梁. 痤疮的发病机制研究进展[J]. 2003, 25(3): 16-19.
- [22] 张学军. 皮肤性病学[M]. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 164.

(收稿日期: 2017-05-18)

### Study on therapeutic effect of compound Diandao gel on rat auricle acne model

LIN Shan-shan<sup>1</sup>, JIN Xin<sup>2</sup>, HUANG Wei<sup>3</sup>, LI Pei-chun<sup>3</sup>, LIU Rui<sup>3</sup>, NIAN Li<sup>1</sup>

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Department of Pharmacology, Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300309, China, 3. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

**Abstract: [Objective]** To explore the therapeutic effect of compound Diandao gel on the rat auricle acne model. **[Methods]** The rat auricle acne model was made by applying oleic acid to the right auricle of rat for 21 days. After model was established, all rats were divided into normal control group, saline group, adapalene gel group and low-dose, medium-dose, high-dose compound Diandao gel group. These rats were treated with different drugs for 14 days. Then the right auricle of rats was cut out and observed by the naked eye and microscopy. The experimental results were evaluated according to the grading standard for exploring the anti-acne effect of compound Diandao gel. **[Results]** After the model was established successfully, the skin of the right auricle of the rats was rough and thickened and hardened significantly. The skin was red and swollen, and the skin temperature was elevated. Histopathological observation by microscopy showed obvious pathological changes. After rats were treated with different drugs, the symptoms of auricle acne of rats in adapalene gel group and high-dose compound Diandao gel group were obviously alleviated, and the histological observation showed that auricles were close to normal tissue. The recovery rate of the low-dose group and middle-dose group was lower than that of the high-dose group. The recovery of the adapalene group and every compound Diandao gel groups was significantly better than that of the saline group ( $P < 0.001$ ). However, there was significant difference between low-dose and high-dose compound Diandao group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference between adapalene gel group and medium-dose, high-dose compound Diandao gel group ( $P > 0.05$ ). **[Conclusion]** Compound Diandao gel on the rat auricle acne model has a good therapeutic effect, and there is a certain dose-effect relationship.

**Key words:** compound Diandao gel; adapalene gel; rat auricle acne model; anti-acne effect; dose-effect relationship