

蛇黄乳膏止痒功效相关机制

杨凡¹, 谭正怀^{2*}, 石锦萍³, 艾儒棣^{4*}

- (1. 贵阳中医学院第二附属医院皮肤科, 贵阳 550003; 2. 四川省中医药科学院药理毒理研究所, 国家中医药管理局中药质量生物学评价重点实验室, 成都 610041;
3. 重庆华森制药有限公司药物研究所, 成都 611731; 4. 成都中医药大学外科教研室, 成都 610072)

[摘要] **目的:**探讨蛇黄乳膏防治湿疹止痒作用的相关机制。**方法:**取小鼠随机分组,即对照组、模型组、艾洛松组、蛇黄乳膏各浓度组,采用 2,4-二硝基氟苯(DNFB)致小鼠迟发性变态反应;用二甲苯致小鼠耳廓肿胀计算出肿胀抑制率;用角叉菜胶致小鼠足肿胀观察足肿胀改善情况;复制冰醋酸致小鼠毛细血管通透性增加模型,以上实验均于皮损约 4cm² 处外用给药 1 mg·g⁻¹。取 SD 大鼠 60 只,随机分为 6 组,对照组、模型组、氯雷他定组、蛇黄乳膏各浓度组,给药 5 d,用 0.1% 磷酸组胺复制大鼠皮肤通透性增高模型;取豚鼠 65 只,分 5 组,外用皮损 3 cm² 给药 5 d,用磷酸组胺致豚鼠瘙痒统计致痒浓度值。通过以上实验来探讨蛇黄乳膏止痒作用的相关机制。**结果:**蛇黄乳膏可显著抑制 DNFB 所诱导迟发性超敏反应,但对胸腺指数以及脾脏指数影响不明显;蛇黄乳膏可直接对抗组织胺所诱导的瘙痒反应($P < 0.01$),并可降低磷酸组胺所致皮肤通透性增加($P < 0.01$);对二甲苯直接刺激血管扩张所致的炎症、冰醋酸通过刺激炎症介质生成等所致的炎症反应有明显抑制作用($P < 0.01$),但对有多种致炎因子参与的角叉菜胶所致的炎症反应作用微弱。**结论:**蛇黄乳膏的止痒作用与调节机体免疫功能、直接对抗组织胺、减少炎症反应等作用有关。

[关键词] 蛇黄乳膏; 抗变态反应; 抗炎; 湿疹

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0210-04

Antipruritic Mechanism of Shehuang Cream in Animal

YANG Fan¹, TAN Zheng-huai^{2*}, SHI Jin-ping³, AI Ru-di^{4*}

- (1. Second Hospital Affiliated to Guiyang College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guiyang 550003, China;
2. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China; 3. Chengdu Huasen Institute of Pharmaceutical Research, Chongqing Huasen Tragacanth Limited Company, Chengdu 611731, China;
4. Department of Surgery of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China;)

[Abstract] **Objective:** To study the mechanism of Shehuang cream on prevention and curing of eczema. **Method:** Seventy male mice were randomized to control group, model group, Asmanex group, different concentration groups of Shehuang cream, mice delayed hypersensitivity reaction was induced by dinitrofluobenzene; mice pinna and paw swelling were induced by carrageenan to investigate inhibition rate on tumefaction, and the glacial acetic acid induced capillary permeability model was used to evaluate the effect of Shehuang cream and explore it's mechanism. Sixty SD rats were randomized to control group, model group, loratadine group, different concentration groups of Shehuang cream, 0.1% phosphoric acid histamine was used to detect the degree of clarification. Sixty-five guinea-pigs were divided into differents groups, guinea pig pruritus were induced by histamine phosphate. **Result:** Shehuang cream could significantly inhibit the delayed

[收稿日期] 20111115(001)

[第一作者] 杨凡, 博士, 副教授, 从事中西医结合防治皮肤病研究, Tel:0851-5284076, E-mail:gyyangfan@126.com

[通讯作者] *艾儒棣, 教授, 从事中西医结合防治皮肤病临床和基础研究, Tel:028-87769902, E-mail:airudijiang@163.com

*谭正怀, 博士, 研究员, 从事中药药理毒理研究, Tel:028-85258982, E-mail:tanzhh616@yahoo.com.cn

hypersensitivity induced by 2, 4-dinitrofluorobenzene (DNFB), but has no effect on the indexes of thymus and spleen in mice. Shehuang cream could relieve the itch responses in guinea pig and skin permeability in rat induced by histamine ($P < 0.01$); it also inhibited the auricula inflammation induced by of xylene and enterocoelia capillary permeability by glacial acetic acid in mice ($P < 0.01$), but had a little action on the paw swelling induced by carrageenan in mice. **Conclusion:** The results indicate that Shehuang cream's antipruritic effect may be related to regulation of immune function, antagonistic action on histamine and reducing the inflammatory reaction.

[**Key words**] Shehuang cream; allergy; anti-inflammatory; eczema

蛇黄乳膏是成都中医药大学艾儒棣教授集 40 多年临床经验研制出的纯中药复方制剂, 本药主要由苦参、蛇床子等药组成, 全方共奏清热燥湿祛风, 杀虫止痒之功, 主治湿疹等变态反应性、瘙痒性皮肤病。我们临床治疗 30 例湿疹, 止痒显效率 73%; 对湿疹、红斑‘丘疹、鳞屑、肥厚、苔藓样化及抓痕血痂等症改善明显, 临床综合疗效显效率为 87% (待发表)。为探讨其临床止痒作用的相关机制, 本研究从抗变态反应、抗炎等方面考察了蛇黄乳膏的相关作用。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠: SPF 级动物, 生产许可证号 SCXK(川)2008-19 号; SD 大鼠: SPF 级动物, 生产许可证号为 SCXK(川)2008-19 号, 均由四川省中医药科学院实验动物中心提供。豚鼠: 英国种, 壹级, 许可证号为 SCXK(川)2004-14 号, 由四川省实验动物专委会养殖场提供。

1.2 实验环境 SPF 动物实验环境, 四川省中医药科学院药理毒理研究所动物实验室, 合格证号 SYXK(川)2008-100。

1.3 药品

1.3.1 受试药 蛇黄乳膏: 7% 质量分数(每千克乳膏相当于 70 g 生药, 以下同), 14%, 28%, 56% 质量分数以及空白乳膏基质, 均由重庆华森制药有限公司提供, 本实验所用剂量按原生药 $g \cdot kg^{-1}$ 计算。

1.3.2 阳性药 艾洛松, 含糠酸莫米松 5 mg, 规格 5 g/支, 先灵葆雅制药有限公司出品, 生产批号 08CNGIA039。本实验所用剂量按乳膏 $g \cdot kg^{-1}$ 计算。氯雷他定片(开瑞坦), 先灵葆雅制药有限公司出品, 生产批号 07JRXF1046, 有效期至 2011.10.07。临用前用 0.5% CMC 配成所需浓度的混悬液备用。本实验所用剂量按氯雷他定 $mg \cdot kg^{-1}$ 计算。盐酸苯海拉明注射液, 太极集团西南药业股份有限公司出品, 生产批号 080201。实验前按比例(苯海拉明: 基质 20 mg: 3 g)配成乳剂。本实验所用剂量按苯海

拉明 $1 mg \cdot kg^{-1}$ 计算。

1.4 统计学处理 用 SPSS 13.0 统计软件进行处理, 以配对 t 检验比较组间均数差异, 各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 方法和结果

2.1 抗变态反应

2.1.1 对 2,4-二硝基氟苯(DNFB)致小鼠迟发性变态反应的影响^[1] 取 70 只体重为 (18 ~ 22) g 的雄性昆明种小鼠, 用硫化钡在小鼠腹部脱毛, 脱毛面积约 $(2 \times 2) cm^2$, 在脱毛后 24 h 将动物随机分为 7 组, 即对照组、模型组、艾洛松组、蛇黄乳膏 7%, 14%, 28%, 56% 质量分数组, 除对照组外, 其余各组均在腹部脱毛区均匀涂布 1% DNFB 100 μL /只致敏, 次日加强致敏 1 次, 并于首次致敏后第 6 天在各小鼠右耳均匀涂布 0.1% DNFB 20 μL /只激发。期间各组动物分别在其右耳廓均匀涂布相应乳剂或软膏 $1 mg \cdot g^{-1}$, 对照组和模型组则给予等量基质, 每日 1 次, 连续给药 7 d。于末次给药后 1 h 处死动物, 用棉签仔细搽去双耳上药物, 用 8 mm 打孔器沿左右耳廓相同部位打孔取下左右耳片并用电子天平分别称质量, 以左右耳片质量之差表示肿胀程度, 同时取脾脏及胸腺称湿质量, 胸腺(脾脏)湿质量/体重计算胸腺(脾脏)指数, 单位 $mg \cdot 10 g^{-1}$ 。结果见表 1。

DNFB 可引起小鼠耳肿胀度显著增加, 其胸腺指数有所下降, 其脾脏指数有所增加, 与对照组比较有统计学差异; 而各药物组能明显抑制 DNFB 致小鼠耳肿胀, 与模型组比较有统计学差异, 提示, 蛇黄乳膏对 DNFB 致小鼠迟发超敏反应(DTH)反应有明显抑制作用。艾洛松可使 DNFB 小鼠胸腺指数和脾脏指数明显减小, 与模型组比较有统计学差异; 而蛇黄乳膏各浓度组有增加 DNFB 小鼠胸腺指数, 减小其脾脏指数的趋势, 但作用较弱, 与模型组比较无统计学差异。

2.1.2 对大鼠皮肤毛细血管通透性的影响^[2] 取

表 1 蛇黄乳膏对 DNFB 所致小鼠皮肤迟发性超敏反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	质量分数/%	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	胸腺指数/ $\text{mg} \cdot 10\text{g}^{-1}$	脾脏指数/ $\text{mg} \cdot 10\text{g}^{-1}$	肿胀度/mg
正常对照	-	-	$35.5 \pm 7.8^{2)}$	$32.9 \pm 6.3^{2)}$	$1.5 \pm 0.5^{2)}$
模型	-	-	29.6 ± 3.3	52.1 ± 11.8	19.0 ± 4.3
艾洛松	0.001	1	$2.7 \pm 0.8^{2)}$	$13.8 \pm 4.6^{2)}$	$6.4 \pm 2.3^{2)}$
蛇黄乳膏	7	70	31.4 ± 8.6	46.3 ± 5.5	$12.7 \pm 2.6^{2)}$
	14	140	35.1 ± 7.7	46.1 ± 7.3	$11.8 \pm 2.3^{2)}$
	28	280	33.9 ± 5.4	44.2 ± 6.9	$10.3 \pm 2.3^{2)}$
	56	560	33.5 ± 5.1	58.7 ± 12.4	$7.3 \pm 1.3^{2)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 5 同)。

体重 160 ~ 200 g 的雄性 SD 大鼠 60 只,脱毛后 24 h 将动物随机分为 6 组,并在各组背部脱毛区给药,方法同 2.1.1,每日 2 次,连续给药 5 次。在末次给药后 1 h 尾静脉注射 1% 伊文思蓝溶液 $0.4 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$,同时在背部涂药部位皮内注射 0.1% 磷酸组胺 0.1 mL/只 ,注射后 30 min 断头处死动物,剥开背部皮肤,测量注射部位蓝斑皮肤最长直径 (cm),剥下中央蓝斑皮肤,剪碎,放入 5 mL 丙酮-生理盐水混合液 (7:3) 中浸泡 48 h, $2\ 200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min; 然后取上清液 2 mL 在波长为 590 nm 处测定吸光度 (A)。结果见表 2。组织胺可显著增加大鼠皮肤蓝染面积以及浸出液的吸光度,与正常对照组比较有统计学差异;蛇黄乳膏各剂量组均能使组织胺大鼠皮肤蓝染直径明显缩短,浸出液吸光度明显减少,与模型组比较有统计学差异,提示蛇黄乳膏能明显抑制组胺诱发的大鼠皮肤通透性的增加。

表 2 蛇黄乳膏对皮肤毛细血管通透性增高的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	质量分数 /%	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	蓝染直径 /cm	A
空白对照	-	-	$0.00 \pm 0.00^{2)}$	$0.009 \pm 0.004^{2)}$
模型	-	-	2.08 ± 0.573	0.238 ± 0.084
氯雷他定	0.001	1	$0.35 \pm 0.354^{2)}$	$0.045 \pm 0.023^{2)}$
蛇黄乳膏	14	140	$0.83 \pm 0.267^{2)}$	$0.041 \pm 0.018^{2)}$
	28	280	$1.03 \pm 0.236^{2)}$	$0.081 \pm 0.046^{2)}$
	56	560	$0.96 \pm 0.521^{2)}$	$0.144 \pm 0.048^{2)}$

2.1.3 对豚鼠止痒实验的影响^[3] 取体重 160 ~ 200 g 的豚鼠 65 只,脱毛后分组,给药,方法同 2.1.1,每日 2 次,连续给药 5 次。在末次给药 12 h 后在右后足背剃毛处用中粗砂纸擦伤 (以渗血为度),涂药后 10 min 在创面处从低浓度到高浓度依次滴磷酸组织胺溶液 (0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04% ... 0.2%), 至出现豚鼠回头舔右后足,统计致痒浓度值,结果见表 3。各给药组均能提高磷酸

组胺所致豚鼠止痒浓度值,与模型组比较有显著性差异,提示蛇黄乳膏对组织胺致豚鼠瘙痒有较好的对抗作用。

表 3 蛇黄乳膏对豚鼠止痒浓度值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	质量分数 /%	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	磷酸组织胺 致痒浓度/%
模型	-	-	15	0.079 ± 0.061
艾洛松	0.001	1	10	$0.170 \pm 0.046^{2)}$
蛇黄乳膏	14	140	14	$0.141 \pm 0.073^{1)}$
	28	280	13	$0.149 \pm 0.061^{2)}$
	56	560	13	$0.146 \pm 0.06^{2)}$

2.2 抗炎作用

2.2.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响^[4] 取 66 只体重 18 ~ 22 g 的雄性昆明种小鼠,将动物随机分为 6 组,给药,方法同 2.1.1,每日 2 次,连续给药 5 次,于末次给药 60 min 后,用干棉签仔细擦去耳上残留药物,将二甲苯 $30 \mu\text{L/只}$ 滴于小鼠右耳前后两面致炎,在致炎 30 min 后处死动物,用直径 8 mm 打孔器沿左右耳廓相同部位打孔取耳片,用电子天平分别称重,以左右耳片质量差表示肿胀程度,并计算出肿胀抑制率 (%)。结果见表 4。艾洛松、蛇黄乳膏各浓度组均能明显减轻二甲苯致小鼠耳肿胀,与对照组比较有统计学差异。提示蛇黄乳膏具有一定的抗炎作用。

表 4 蛇黄乳膏对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

组别	质量分数 /%	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	肿胀度 /mg	抑制率 /%
模型	-	-	20.7 ± 3.5	-
艾洛松	0.001	1	$8.5 \pm 3.7^{2)}$	52.7
蛇黄乳膏	7	70	19.8 ± 4.7	13.0
	14	140	$16.1 \pm 5.6^{1)}$	20.3
	28	280	$16.0 \pm 3.9^{2)}$	21.7
	56	560	$12.5 \pm 5.8^{2)}$	56.9

2.2.2 对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响^[4] 取 55 只体重(18~22)g 的雄性昆明种小鼠,将动物随机分为 5 组,给药,方法同 2.1.1,每日 2 次,连续给药 6 次,于第 5 次给药 60 min 后,在小鼠右后足背皮下注射 1% 角叉菜胶(用生理盐水新鲜配制)0.05 mL/只,给药后 3 h 再给药 1 次,末次给药 1 h 后处死动物,从长短毛交界处剪下左右足,称重,以左、右足质量差作为鼠足肿胀度。实验结果示蛇黄乳膏各剂量组对角叉菜胶引起的足肿胀改善不明显,与对照组比较无统计学差异。

2.2.3 对冰醋酸致小鼠毛细血管通透性增加的影响^[4] 取体重 18~22 g 的雄性昆明种小鼠 60 只,在腹部脱毛,分组后给药,方法同 2.1.1。每日 1 次,连续给药 5 次。在末次给药后 1 h,在动物尾静脉注射 2% 伊文思蓝溶液 10 mL·kg⁻¹,同时除对照组外其余各组动物均腹腔注射 0.7% 冰醋酸 10 mL·kg⁻¹,注射后 30 min 处死动物,腹腔注射生理盐水 4 mL/只,揉搓腹部后剪开腹腔,收集腹腔洗出液,1 500 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上清液 1 mL 在 590 nm 处测定 A。结果见表 5。小鼠在腹腔注射冰醋酸后,其通透性显著增加,与空白对照组比较有统计学差异($P < 0.01$)。各药物组对冰醋酸致小鼠腹腔通透性增加均有显著抑制作用,与模型组比较有统计学差异($P < 0.01$)。提示蛇黄乳膏有较好的抗炎作用。

表 5 蛇黄乳膏对冰醋酸致小鼠
毛细血管通透性增加的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	质量分数 /%	剂量 /mg·kg ⁻¹	A
空白对照	-	-	0.2 ± 0.3 ²⁾
模型	-	-	4.1 ± 1.1
艾洛松	0.001	1	0.9 ± 0.4 ²⁾
蛇黄乳膏	7	0.7	1.5 ± 1.5 ²⁾
	14	1.4	1.0 ± 0.4 ²⁾
	28	2.8	1.2 ± 0.5 ²⁾

3 讨论

湿疹是临床上一种常见的皮肤病,瘙痒是困扰患者最主要自觉症状。本病多因湿热内蕴,复感风邪,风、湿热邪相搏,浸淫肌肤,湿热互结化燥生风致

痒,或湿热郁久化生为虫致痒,所以止痒的关键在于“除湿热”,湿热除而瘙痒便止,本病外治法则以清热燥湿祛风,杀虫止痒为主。蛇黄乳膏由苦参、蛇床子等药组成,苦参为君,味苦性寒,具有清热燥湿祛风,杀虫止痒的功效;蛇床子为臣药,为外治要药,有祛风燥湿,杀虫止痒的功效,全方清热燥湿祛风,杀虫止痒,湿热除而痒止,切合湿疹外治法的治则治法。

现代研究认为:湿疹的瘙痒与 I 型、IV 型变态反应所释放的炎症介质密切相关。本研究表明:蛇黄乳膏可显著抑制 DNFB 所诱导迟发性超敏反应,但对胸腺指数以及脾脏指数影响不明显,这与皮质激素类药物艾洛松明显不同,提示蛇黄乳膏在发挥免疫调节功能的同时不会影响胸腺、脾脏等其他免疫功能。蛇黄乳膏还可直接对抗组织胺所诱导的瘙痒反应以及皮肤通透性增加,提示蛇黄乳膏的止痒作用还与直接对抗组织胺的作用有关。

研究还发现蛇黄乳膏对二甲苯直接刺激血管扩张所致的炎症、冰醋酸通过刺激前列腺素生成等所致的炎症反应有明显抑制作用,但对有其他多种致炎因子参与的角叉菜胶所致的炎反应作用微弱,提示蛇黄乳膏的抗炎作用主要可能与其抑制前列腺素的生成以及减轻毛细血管对炎症介质的反应有关。

由此可见:蛇黄乳膏的止痒作用与调节机体免疫功能、直接对抗组织胺的作用、减少炎症反应有关,这与该药具有清热燥湿祛风,杀虫止痒功效密切相关。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1993:316,353.
- [2] 卢传坚,闫玉红. 银屑灵片止痒作用的研究[J]. 中国药房,2008,19(6):409.
- [3] 吴春香,申万坤. 地肤子醇提物止痒作用的实验研究[J]. 中医药临床杂志,2009,21(5):449.
- [4] 郑雪平,夏勤,王业皇. 清凉膏抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2009,27(6):1235.
- [5] 杨卫丽,曾祥周,张俊清,等. 牛耳枫与辣蓼提取物药效学研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(9):2229.

[责任编辑 聂淑琴]