

当归黄芪醇提物对实验性皮肤瘙痒模型的药效学研究

刘海龙¹, 吴国泰^{2*}, 王瑞琼², 高云娟²

(1. 甘肃奇正藏药有限公司, 兰州 730000; 2. 甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 观察当归黄芪醇提物(AAE)对实验性皮肤瘙痒模型的影响。方法: AAE 5.0, 10.0, 20.0 g·kg⁻¹ ig 连续 7 d(小鼠), AAE 3.6, 7.2, 14.4 g·kg⁻¹ ig 连续 7 d(豚鼠), 用右旋糖酐诱发小鼠皮肤瘙痒模型, 测定小鼠瘙痒潜伏时间及搔痒次数; 用磷酸组胺诱发豚鼠皮肤瘙痒模型, 测定豚鼠致痒阈; 用二甲苯致小鼠耳廓肿胀, 测定肿胀度和抑制率; 用磷酸组胺致小鼠毛细血管通透性增高, 测定风团面积和伊文思蓝渗出量, 综合评价 AAE 对实验性皮肤瘙痒模型的影响。结果: AAE 高、中、低剂量均能减少右旋糖酐所致小鼠的搔痒次数及搔痒发作的潜伏时间($P < 0.05$, $P < 0.01$); AAE 高、中剂量对磷酸组胺所致豚鼠的局部瘙痒有明显的抑制作用($P < 0.05$, $P < 0.01$); AAE 高、中剂量组小鼠耳廓肿胀度明显减小($P < 0.05$, $P < 0.01$); AAE 高、中剂量组小鼠腹部风团面积明显减小($P < 0.05$, $P < 0.01$), 伊文思蓝吸光度明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论: AAE 具有显著止痒、抗组织胺、抗炎作用, 对实验性皮肤瘙痒具有一定的治疗作用。

[关键词] 当归黄芪醇提物; 皮肤瘙痒; 抗炎作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0200-03

Pharmacodynamic Research of Angelica Astragalus Ethanol-extraction on Experimental Itchy Skin Model

LIU Hai-long¹, WU Guo-tai^{2*}, WANG Rui-qiong², GAO Yun-juan²

(1. Gansu Cheezheng Tibetan Medicine Co., Ltd, Lanzhou 730000, China;

2. Gansu College of Traditional Chinese medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the affection of angelica astragalus ethanol-extraction (AAE) on experimental itchy skin model. **Method:** The incubation period and the times of itch in mice pruritus model induced by dextran, and the itching threshold in guinea pig induced by phosphoric acid histamine were researched. The inflammatory edema of ear induced by xylol in mice and the increase in mice's capillary permeability by histamine phosphate were also investigated. The effects of AAE (5.0, 10.0, 20.0 g·kg⁻¹, ig. for 7 d in mice; 8.6, 7.2, 14.4 g·kg⁻¹ ig, for 7 d in guinea pigs) on all of this models were investigated comprehensively. **Result:** All dosages of AAE could decrease the times of itch and prolong the incubation period in mices, high and middle doses of AAE obviously inhibit the local itching of guinea pigs and decrease the ear swelling degree or the area of urticaria and the Evans blue absorbance also. **Conclusion:** There would be antipruritic, antipruritic and anti inflammatory effect of AAE. It has therapeutic effect on experimental pruritus.

[Key words] angelica astragalus ethanol-extraction; pruritus; anti-inflammation

老年性皮肤瘙痒症是临床常见病、多发病, 西医

治疗一般给予抗组胺药内服, 或激素类药物外用, 但常有嗜睡及皮肤萎缩、毛细血管扩张等副作用^[1-2], 中医药治疗老年性皮肤瘙痒症具有疗效好、副作用少的优点, 本文通过研究当归黄芪醇提物对实验性皮肤瘙痒小鼠模型的作用, 为开发有效治疗老年性皮肤瘙痒症的中药制剂提供参考。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠, SPF 级, 雌雄兼用, 体重

[收稿日期] 2011-08-02

[第一作者] 刘海龙, 硕士研究生, 工程师, 从事新药研发和中药现代化研究工作, Tel: 13893403978, E-mail: lhl@qzh.cn

[通讯作者] * 吴国泰, 医学硕士, 讲师, 从事中药药理学教学与科研工作, Tel: 13919102724, E-mail: wgt@gzsy.edu.cn

(20 ± 2) g,由兰州大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(甘)2010-0004;豚鼠,SPF级,体重(200 ± 20) g,雌雄兼用,由中国农业科学院兰州兽医研究所实验动物中心提供,合格证号 SCXK(甘)2010-0001。

1.2 药品与试剂 当归(酒制)和黄芪(蜜炙)饮片均购于甘肃中医学院附属医院中药房,取当归、黄芪按 1:2 质量比例混合,粉碎为粗粉,用 70% 乙醇超声提取 2 次,每次 20 min,合并 2 次滤液,减压浓缩醇提物回收乙醇至无醇味,加蒸馏水定容得醇提物(AAE,含生药 1 g·mL⁻¹药液)备用;磷酸组胺,中国科学院上海生化研究所(批号 990514);右旋糖酐,上海长征富民药业有限公司(批号 1003163);二甲苯,上海试剂一厂(批号 20081012);醋酸地塞米松,张家口云峰制药厂(批号 20100406);伊文思蓝,瑞士 Fluka 公司进口分装(批号 20000805);马来酸氯苯那敏片(扑尔敏片),北京双桥制药厂(批号 20090903)。

1.3 仪器 AS7240B 型超声波清洗机(天津奥特塞恩斯仪器有限公司),XYJ80 2 型电动离心机(金坛市恒丰仪器厂),BS110 型电子天平(德国 Sartorius),UV-7220 紫外-可见分光光度仪(北京第三光学仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 对右旋糖酐诱发小鼠皮肤瘙痒模型的影响^[3]

小鼠 60 只,按性别体重随机分为空白对照组、AAE 高、中、低剂量组、扑尔敏对照组共 5 组,每组 12 只。AAE 高、中、低剂量组分别 ig AAE 5.0, 10.0, 20.0 g·kg⁻¹(以生药计,相当于临床用量的 5, 10, 20 倍),扑尔敏组 ig 4 mg·kg⁻¹,空白对照组 ig 等容积生理盐水,1 次/d,连续 7 d。末次药后 1 h,小鼠 iv 右旋糖酐 1.25 mg·kg⁻¹。以小鼠前爪搔抓头部,后爪搔抓躯干、嘴咬全身各部位作为瘙痒指征。观察记录 30 min 内小鼠搔痒潜伏时间及搔痒次数。所有数据均表示为 $\bar{x} \pm s$,采用 SPSS 13.0 软件,用两个独立样本的 *t* 检验对数据进行统计分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义(下同)。与空白对照组比较,扑尔敏和 AAE 高、中、低剂量均能减少右旋糖酐所致小鼠的搔痒次数及搔痒发作的潜伏时间(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 1。

2.2 对磷酸组胺所致豚鼠皮肤瘙痒模型的影响^[4]

豚鼠 50 只,按性别体重随机分为空白对照组、AAE 高、中、低剂量组、扑尔敏对照组共 5 组,每组 10 只。AAE 高、中、低剂量组豚鼠分别 ig AAE 3.6,

表 1 AAE 对右旋糖酐诱发小鼠皮肤瘙痒模型的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	潜伏时间/s	搔痒次数/次
空白对照	-	39.1 ± 18.5	32.2 ± 8.1
扑尔敏	4 × 10 ⁻³	115.0 ± 56.3 ²⁾	15.7 ± 6.2 ²⁾
AAE	20	112.2 ± 47.9 ²⁾	14.5 ± 7.9 ²⁾
	10	105.7 ± 55.5 ²⁾	17.2 ± 5.8 ¹⁾
	5	88.6 ± 52.6 ²⁾	18.0 ± 5.9 ¹⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01 (表 2~4 同)。

7.2, 14.4 g·kg⁻¹(相当于临床常用量的 5, 10, 20 倍),扑尔敏组 ig 4 mg·kg⁻¹,空白组 ig 等容积生理盐水,1 次/d,连续 7 d。末次给药前 1 d,豚鼠用 8% Na₂S 溶液脱去右后足背毛,末次给药 30 min 后,用细砂纸轻轻擦伤各豚鼠右后足背面,使之发红,但以不出血为度,面积约 2 mm²。用 0.05% 磷酸组胺 50 μL 涂抹擦伤皮肤,3 min 内豚鼠如不出现舔擦伤皮肤动作,再涂抹 1 次组织胺,如此重复操作,直至出现为止,记录涂抹磷酸组胺次数及累积用量(致痒阈),与空白对照组比较,扑尔敏和 AAE 高、中剂量对磷酸组胺所致豚鼠的局部瘙痒均有明显的抑制作用(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 2。

表 2 AAE 对磷酸组胺所致豚鼠皮肤瘙痒模型的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	涂抹组胺数	致痒阈
	/g·kg ⁻¹	/次	/μL
空白对照	-	6.6 ± 1.5	123.6 ± 48.5
扑尔敏	4 × 10 ⁻³	18.3 ± 3.3 ²⁾	345.2 ± 66.8 ²⁾
AAE	14.4	11.8 ± 2.9 ²⁾	218.3 ± 37.2 ²⁾
	7.2	9.2 ± 1.8 ¹⁾	201.1 ± 45.0 ¹⁾
	3.6	7.4 ± 2.6	168.0 ± 46.8

2.3 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响^[5] 小鼠 60 只,按性别体重随机分为空白对照组、AAE 高、中、低剂量组、地塞米松组共 5 组,每组 12 只。除地塞米松组 ig 2.0 mg·kg⁻¹外,其余各组剂量、给药时间同 2.1。末次给药 1 h 后,各小鼠右耳两面涂 30 μL 二甲苯,左耳作为自身对照,涂耳 30 min 后处死,沿耳廓基线剪下两耳,用直径 9 mm 的打孔器分别在两耳相应部位打孔,取耳片,电子天平称质量,以两耳片质量差为肿胀度,并求抑制率(%),与空白对照组比较,地塞米松组和 AAE 高、中剂量组小鼠耳廓肿胀度明显减小(*P* < 0.05, *P* < 0.01)说明 AAE 对二甲苯所致小鼠耳肿胀具有抑制效应,能在一定程度上减轻炎性水肿。见表 3。

2.4 对磷酸组胺所致小鼠毛细血管通透性的影响^[6] 分组与给药同 2.3,末次给药后 1 h,各小鼠

表 3 AEE 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	肿胀度/mg	抑制率/%
空白对照	-	19.2 ± 5.0	-
地塞米松	2×10^{-3}	9.1 ± 3.6 ²⁾	52.6
AAE	20	12.4 ± 4.3 ²⁾	33.9
	10	14.3 ± 2.9 ¹⁾	25.5
	5	15.2 ± 3.8	20.8

尾 iv 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。立即于小鼠腹部正中事先已脱毛皮肤处皮内注射 0.1% 磷酸组胺 0.1 mL/只, 形成小皮丘。30 min 后, 将小鼠脱颈椎致死, 剖开腹部, 剪下腹部皮肤, 平铺于玻璃板上, 测量注射部位蓝斑的最长直径 (A) 和与之垂直的最长径 (B), 按圆形面积公式计算皮肤蓝染风团面积 ($S = \pi A \times B$); 用 2 cm 打孔器取下腹部蓝染皮肤, 剪碎置试管内, 加入 4 mL 丙酮-生理盐水 (7:3) 混合液, 振摇。浸泡 24 h 后, $2\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液于 610 nm 处比色, 记录吸光度 (A)。与空白对照组比较, 地塞米松组和 AAE 高、中剂量组小鼠腹部风团面积明显减小 ($P < 0.05, P < 0.01$), 且地塞米松组和 AAE 高、中、低剂量组伊文思蓝 A 明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), 说明地塞米松和 AAE 具有降低小鼠腹部毛细血管通透性、抑制炎性细胞渗出的作用。见表 4。

表 4 AEE 对磷酸组胺所致小鼠毛细血管通透性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	风团面积/ mm^2	A
空白对照	-	425 ± 109	0.076 ± 0.015
地塞米松	2×10^{-3}	256 ± 84 ²⁾	0.032 ± 0.008 ²⁾
AAE	20.0	364 ± 128 ¹⁾	0.049 ± 0.11 ²⁾
	10.0	382 ± 96 ¹⁾	0.054 ± 0.008 ²⁾
	5.0	406 ± 114	0.063 ± 0.012 ¹⁾

3 讨论

老年性皮肤瘙痒是皮肤病中最常见和最痛苦的症状之一。由于瘙痒持续时间长, 反复发作, 严重影响患者的身心健康。目前对皮肤瘙痒症的发病机制尚不完全清楚, 但大量研究表明组胺是一种可以引起皮肤瘙痒的重要介质^[7]。本研究采用外源性组织胺和右旋糖酐诱导释放内源性组织胺建立动物瘙痒模型, 对 AAE 进行了止痒作用的实验研究, 其结果显示, AAE 的高、中、低剂量组对 2 种瘙痒模型均有显著止痒作用, 表明 AAE 有显著的抗组织胺作用; AAE 能明显抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀, 并能拮抗小鼠皮肤毛细血管炎性渗出, 减少小鼠腹部蓝染的风团面积, 表明 AAE 具有一定的抗炎作用。此研究为当归和黄芪临床治疗老年性皮肤瘙痒提供了试验依据, 但关于其药理作用机制可能是多方面的, 尚有待于进一步探讨。

[参考文献]

- [1] 赵辨. 临床皮肤病学 [M]. 3 版. 南京: 江苏科技出版社, 2001: 707.
- [2] 文海泉, 朱晓明. 实用皮肤病性病手册 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2001: 79.
- [3] 张淑敏, 博阳平, 吴若琳. 一种小鼠右旋糖酐皮肤搔痒模型 [J]. 中国药理学通讯, 1992, 9(3): 77.
- [4] 苗明三, 刘方洲, 金树兴, 等. 实验动物和动物实验技术 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 256.
- [5] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 901.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 355.
- [7] 张开明, 王刚, 尹国华, 等. 最新皮肤科学与实践 [M]. 北京: 中国医学科技出版社, 2000: 16.

[责任编辑 何伟]