

复方香芪颗粒对白癜风模型豚鼠的药效学研究[△]

周瑞瑞*, 毛士龙[#](上海市徐汇区中心医院药剂科, 上海 200031)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)28-3935-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.28.16

摘要 目的:研究复方香芪颗粒对白癜风模型豚鼠的药效学。方法:采用过氧化氢化学脱色法制备白癜风豚鼠模型,将建模后的豚鼠分为5组,即模型对照组(水)、白癜风胶囊组[阳性对照,50 mg/(kg·d)]及复方香芪颗粒低、中、高剂量[25、100、400 mg/(kg·d)]组,每天1次连续灌胃给药40 d后,观察各组豚鼠皮肤黑色素的分布及黑色素毛囊数,检测血浆中胆碱酯酶(ChE)活性、丙二醛(MDA)含量以及血液流变学指标。试验另设空白对照组。结果:与空白对照组比较,模型对照组黑色素的分布及黑色素毛囊数减少,ChE活性降低、MDA含量升高,血浆黏度、全血黏度以及血细胞比容显著升高,红细胞沉降率显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型对照组比较,除低剂量组的细胞沉降率和血细胞比容外,阳性对照组和复方香芪颗粒高、中、低剂量组的上述相关指标均有改善,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),并呈较好的量效关系。结论:复方香芪颗粒对白癜风模型豚鼠的相关指标具有良好的改善作用。

关键词 复方香芪颗粒;白癜风模型;豚鼠;胆碱酯酶;丙二醛;血液流变学指标;药效学

Pharmacodynamic Study of Compound Xiangqi Granules in Vitiligo Model Guinea Pigs

ZHOU Rui-rui, MAO Shi-long (Dept. of Pharmacy, Shanghai Xuhui District Central Hospital, Shanghai 200031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the pharmacodynamics of Compound xiangqi granules in vitiligo model guinea pigs. METHODS: The vitiligo guinea pigs model was established by chemical decolorization with hydrogen peroxide. Then guinea pigs were randomly divided into 5 groups after modeling, including model control group (water), vitiligo capsules group [positive control, 50 mg/(kg·d)] and Compound xiangqi granules low-dose, medium-dose and high-dose groups [25, 100, and 400 mg/(kg·d)]. They were given related medicines intragastrically once a day for 40 days. The distribution of skin melanin and the number of black hair follicle were observed, and cholinesterase (ChE) activity, malondialdehyde (MDA) content of plasma and hemorheology indexes were detected. Blank control group had also been established. RESULTS: Compared with blank control group, the distribution of skin melanin, the number of black hair follicle and ChE activity decreased in model control group, while plasma viscosity, whole blood viscosity and hematocrit increased significantly, and erythrocyte sedimentation rate decreased significantly; there was statistical significance ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model control group, except erythrocyte sedimentation rate and hematocrit of low-dose group, above indicators of positive control group and Compound xiangqi granules low-dose, medium-dose and high-dose groups were all improved; there was statistical significance ($P<0.05$ or $P<0.01$), showing good effectiveness-dose relationship. CONCLUSIONS: Compound xiangqi granules improve relative indicators of experimental vitiligo model guinea pigs effectively.

KEYWORDS Compound xiangqi granules; Vitiligo model; Guinea pig; Cholinesterase; Malondialdehyde; Hemorheology indexes; Pharmacodynamics

白癜风是一种后天性色素减退性皮肤病,表现为局部性或泛发性色素脱失。该病发病率高、病程长且治愈率低。由于该病的发病机制尚不十分清楚^[1],且目前尚无满意的治疗方法,因此临床迫切需要疗效确切、不良反应小的新药出现。

复方香芪颗粒原处方名为祛白方,是我院结合传统医学与现代医学在对白癜风认识的基础上创立的协定方,具有充分的理论依据,同时已在我院临床应用20多年,疗效确切,故还具有充分的临床实践依据^[2-3]。本研究拟探讨复方香芪颗粒

对白癜风模型豚鼠的药效学作用,以为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

XD811半自动生化分析仪(上海迅达医疗仪器有限公司)。

1.2 药材、药品与试剂

丹参、降香、白薇、紫草、苍术、红花、龙胆草、女贞子、白蒺藜、海螵蛸、甘草、龟板购于上海万仕诚国药制品有限公司,批号:20120506,符合2010版《中国药典》的相关质量标准。

复方香芪颗粒(自制,规格:0.45 g/粒)、白癜风胶囊(天津宏仁堂药业有限公司,批号:20110302,规格:0.45 g/粒),临用前均用蒸馏水制备成相应质量浓度的溶液;丙二醛(MDA)测定试剂盒(批号:20120403)、胆碱酯酶(ChE)测定试剂盒(批

[△] 基金项目:上海市徐汇区中心医院院级科研课题(No. 2011XHCH14)

* 药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:021-31270810。E-mail:44791519@qq.com

[#] 通信作者:副主任药师,博士。研究方向:医院药学、中药新药的临床前研究。电话:021-31270810

号:20120305)均由南京建成生物工程研究所提供;过氧化氢溶液(上海桃浦化工厂,批号:20120402)。

1.3 动物

昆明种清洁级黑色豚鼠60只,♀♂各半,体质量(200±20)g,由第二军医大学实验动物中心提供,动物许可证号:SYXK(沪)2012-0003。购回后喂养在豚鼠实验饲养室,适应性饲养7d[温度:(25±2)℃;湿度:40%~60%;光照:12h明暗交替;给普通鼠粮,自由饮水]。

2 方法

2.1 复方香芪颗粒处方及提取、制粒方法

2.1.1 处方 丹参10g、降香3g、白薇10g、紫草10g、苍术10g、红花6g、龙胆草10g、女贞子12g、白蒺藜10g、海藻10g、甘草6g、龟板5g。

2.1.2 提取、制粒 各中药按处方比例用水提取,浓缩,用70%乙醇沉淀,上清液浓缩成浸膏,出膏率为23%。取提取物100g,加入包合剂(环糊精)10g、矫味剂(甜菊糖苷)3g、成型剂(聚乳糖)5g,搅拌,滤过,喷雾干燥,加聚乙烯吡咯烷酮(PVP)2g,干式制粒,整粒,即得产品。喷雾干燥的进风温度为170℃、出风温度为80℃,制得的粉粒含水分5%,直接干式制粒,制粒时物料温度在60℃以下。

2.2 分组及模型制备^[4]

取黑色豚鼠60只,♀♂各半,用长剪剪去背部长毛,用硫化钠脱去背部短毛约4cm×4cm,随机分为空白对照组、模型对照组、白癜风胶囊(阳性对照药)组与复方香芪颗粒低、中、高剂量组。空白对照组外涂2ml蒸馏水,其余5组外涂等量的2ml 5%过氧化氢溶液,每日2次,连续50d。在此期间,豚鼠每3d脱毛1次。

2.3 给药^[5]

空白对照组和模型对照组从建模第11天起用蒸馏水灌胃,每只2ml,每天1次。白癜风胶囊组按人用推荐剂量(按照人体质量60kg计)换算成豚鼠的给药剂量即50mg/(kg·d)。复方香芪颗粒低、中、高剂量组分别为25、100、400mg/(kg·d),其中剂量按人用推荐剂量而得。各药物组溶于蒸馏水中给药,体积均为2ml。从建模第11天起灌胃给药,每天1次,连续40d。

2.4 病理学观察

给药结束后,取用药部位中心1cm×1cm皮肤,用10%甲醛固定,石蜡包埋,切片,用多巴氧化酶法^[6]进行黑色素染色,随意观察50个毛囊,计算其中黑色素毛囊数及皮肤黑色素的分布情况。表皮黑色素分布的等级:“+++”示表皮基底细胞及棘层均有黑色素;“++”示表皮基底细胞及棘层1/2以上有黑色素;“+”示表皮基底细胞及棘层1/2~1/3有黑色素;“±”示表皮基底细胞及棘层偶见黑色素;“-”示表皮基底细胞及棘层未见黑色素^[7]。

2.5 ChE活性、MDA含量及血液流变学指标测定

末次给药2h后,各组豚鼠用3.5%水合氯醛(10ml/kg)麻醉后腹主动脉取血,加入肝素抗凝管中离心得血浆,按照试剂盒操作测定血浆中ChE活性、MDA含量;另取血于生化分析仪中测定血液流变学指标。

2.6 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用SPSS 11.0软件包进行数据处理,组间差异用One-Way ANOVA方差分析。 $P < 0.05$ 为差

异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组豚鼠皮肤黑色素分布及黑色素毛囊数观察结果

与空白对照组比较,模型对照组豚鼠皮肤黑色素分布较少,黑色素毛囊数显著减少,差异有统计学意义($P < 0.01$),符合造模要求。与模型组比较,白癜风胶囊组及复方香芪颗粒低、中、高剂量组豚鼠黑色素的分布以及黑色素毛囊数均显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表1。

表1 各组豚鼠黑色素分布及黑色素毛囊数观察结果

Tab 1 Distribution of melanin distribution of skin melanin and the number of black hair follicle in guinea pigs of each group

组别	n	剂量,mg/(kg·d)	表皮黑色素分布等级	黑色素毛囊数,个
空白对照组	10		+++	38.8±3.6**
模型对照组	10		±	20.7±4.2
白癜风胶囊组	10	50	++	36.5±5.1**
复方香芪颗粒低剂量组	10	25	+	28.5±4.5*
复方香芪颗粒中剂量组	10	100	++	31.7±4.2*
复方香芪颗粒高剂量组	10	400	+++	35.5±3.5**

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. model control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.2 各组豚鼠血浆ChE、MDA检测结果

与空白对照组比较,模型对照组豚鼠血浆ChE活性显著降低,MDA含量显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),符合该模型的要求。与模型对照组比较,白癜风胶囊组及复方香芪颗粒低、中、高剂量组豚鼠血浆ChE活性升高、MDA含量降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),详见表2。

表2 各组豚鼠血浆ChE、MDA检测结果

Tab 2 Determination results of plasma ChE and MDA in guinea pigs of each group

组别	n	剂量,mg/(kg·d)	ChE,U/L	MDA,nmol/ml
空白对照组	10		92.1±4.1*	5.15±0.1*
模型对照组	10		60.1±3.1	6.57±0.3
白癜风胶囊组	10	50	79.8±4.3*	5.33±0.3*
复方香芪颗粒低剂量组	10	25	78.7±4.5*	6.03±0.2*
复方香芪颗粒中剂量组	10	100	86.9±4.4*	5.64±0.1*
复方香芪颗粒高剂量组	10	400	91.5±2.8*	5.01±0.2*

注:与模型对照组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. model control group,* $P < 0.01$

3.3 各组豚鼠血液流变学指标检测结果

与空白对照组比较,模型对照组豚鼠血浆黏度、全血黏度及血细胞比容显著升高,红细胞沉降率显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),符合白癜风临床特征,表明造模成功。白癜风胶囊组及复方香芪颗粒中、高剂量组豚鼠血液黏度、全血黏度及血细胞比容显著降低,红细胞沉降率显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),低剂量组豚鼠血浆黏度和全血黏度差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表3。

4 讨论

白癜风主要因先天禀赋不足、惊恐伤肾、郁怒伤肝、日久耗伤阴血、阻滞经脉,使局部气血淤滞、致肌肤不得濡养所致,经过多年的发展,中医对其已积累了丰富的临床治疗经验^[8-9]。白癜风胶囊含有补骨脂、蒺藜、川芎、当归、红花、香附等成分,在临床已应用多年,为治疗白癜风经典药物^[10-11],故本研究将

表3 各组豚鼠血液流变学指标检测结果

Tab 3 Determination results of hemorheology indexes in guinea pigs of each group

组别	n	剂量,mg/(kg·d)	血浆黏度,mPa·s	红细胞沉降率,mm/h	血细胞比容,%	全血黏度,mPa·s		
						高切	中切	低切
空白对照组	10		1.31±0.05**	6.41±0.82*	46.50±2.92*	5.03±0.41**	5.87±1.31*	7.22±1.33**
模型对照组	10		1.53±0.08	5.53±0.83	52.02±2.15	7.12±1.13	9.02±0.43	11.23±1.35
白癜风胶囊组	10	50	1.36±0.10**	6.26±0.68*	46.46±1.63*	5.10±0.92**	6.11±0.76**	8.04±1.15**
复方香芪颗粒低剂量组	10	25	1.44±0.07*	5.76±0.98	49.02±2.15	6.04±0.84*	7.85±1.24*	9.71±0.53*
复方香芪颗粒中剂量组	10	100	1.41±0.12*	6.17±0.63*	47.36±2.63*	5.21±1.03**	6.23±0.63**	8.34±1.21**
复方香芪颗粒高剂量组	10	400	1.29±0.08**	6.29±0.80*	47.05±1.65*	4.82±0.78**	6.03±0.55**	7.52±0.46**

注:与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. model control group,* $P<0.05$,** $P<0.01$

其作为阳性对照药。现代医学对白癜风的发病机制仍不十分清楚,但研究表明其与遗传因素、自身免疫、神经化学因子、氧化应激、酪氨酸缺乏等有关^[12]。笔者采用5%过氧化氢化学脱色法制备白癜风的豚鼠模型,模型对照组肉眼观察及切片镜下结果均符合白癜风患者皮肤临床病理特征;血浆中ChE活性降低、MDA含量升高也符合现代医学的神经化学因子、氧化应激学说^[13];全血及血浆黏度升高也符合中医气血淤滞之说,表明模型建立成功。

白癜风的发生与氧化应激有着密切的联系^[14],表皮内活性氧簇过度聚集使黑素细胞膜脂质不稳定,黑素细胞膜脂质合成及循环紊乱导致黑色素细胞被破坏。MDA是脂质发生过氧化反应的终产物,为氧化应激发生的指标。Yildirim M等^[15]发现白癜风患者活体组织中MDA水平较正常人显著增加,也有学者提出白癜风患者体内氧化应激的失衡很有可能源于表皮细胞中心磷脂的组成与功能异常,其能导致线粒体电子传递链活性下降,继而诱导活性氧簇过度产生,介导脂质过氧化,诱导黑色素细胞的死亡。皮肤黑色素的合成涉及一系列的过程,在神经化学因子学说中,神经末梢分泌的化学物质如乙酰胆碱能够在体外损伤黑色素细胞、抑制其合成^[16]。ChE活力下降的时候,乙酰胆碱消除减少,在突触间隙的含量增加,黑色素细胞的损伤增加^[17-18]。

复方香芪颗粒原方中当归、黄芪柔肝养血,健脾益气,补后天之本以充气血生化之源;补肾脂益肾填髓,其含有吡喃香豆素类物质,可提高皮肤对紫外线的敏感性,刺激黑色素细胞的形成,对酪氨酸酶的活性也有较强的激活作用;川芎、红花、丹参行气活血;白蒺藜、香附疏风祛邪以通络,共奏调和气血、活血化瘀之效。本研究结果显示,复方香芪颗粒能显著增加白癜风模型豚鼠皮肤黑色素的分布以及黑色素毛囊数,提高血浆中ChE的活性、降低MDA含量,同时改善血液循环,表明其对白癜风模型豚鼠相关指标具有良好的改善作用,并呈较好的量效关系。因此,本研究结果为该药的临床应用提供了较好的药效学实验依据。

参考文献

- [1] 周晖,韩建德,曹光玲,等.白癜风发病机制研究进展[J].环境与职业医学,2012,19(2):111.
- [2] 李梅云,李大宁,张裕坤,等.自拟白灵方治疗白癜风的疗效观察[J].中国现代医生,2010,48(19):54.
- [3] 李大宁,刘进芬,李梅云,等.自拟祛白方治疗白癜风的疗效观察[J].中华实用医药杂志,2010,10(3):154.
- [4] 叶伊琳,唐洁,刘琴,等.复方补肾脂搽剂对豚鼠白癜风模型作用的实验研究[J].北京中医药大学学报,2014,37

(4):252.

- [5] 施慧,龙子江,王靓,等.白二丸对氢醌诱导的实验性白癜风豚鼠治疗作用的实验研究[J].中国中医药科技,2010,17(1):28.
- [6] 董妙珠,肖萍,洪新宇,等.不同染色法检测豚鼠皮肤黑色素的比较研究[J].环境与职业医学,2006,23(5):403.
- [7] 张兰兰,同明,刘晓东,等.两种化学脱色剂对两种动物模拟白癜风作用比较[J].医药导报,2009,28(6):690.
- [8] 沈丽,黄云英,王雪妮,等.菟丝子外用对实验性豚鼠白癜风的药效[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(16):199.
- [9] 何文,韩瑞玲,罗顺德.8-甲氧补骨脂素脂质体凝胶对白癜风模型豚鼠的治疗作用研究[J].中国药房,2005,16(2):92.
- [10] 于玲,贺博峰,宋庆华.白癜风胶囊的薄层色谱鉴别[J].中国药师,2004,7(4):264.
- [11] 江平,陆新颜.白癜风胶囊治疗白癜风的临床研究[J].中医学报,2013,28(7):1080.
- [12] Abu Tahir M, Pramod K, Ansari SH, et al. Current remedies for vitiligo[J]. *Autoimmun Rev*,2010,9(7):516.
- [13] 陈惠英,许爱娥.白癜风表皮微环境研究进展[J].中国皮肤性病学杂志,2008,22(2):113.
- [14] 刘邦民,坚哲,李春英,等.抗氧化应激中药在白癜风治疗中的潜在应用[J].中国美容医学,2012,21(8):1363.
- [15] Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS, et al. The role of oxidants and antioxidants in generalized vitiligo at tissue level[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*,2004,18(6):683.
- [16] Wu CS, Yu HS, Chang HR, et al. Cutaneous blood flow and adrenoceptor response increase in segmental-type vitiligo lesions[J]. *J Dermatol Sci*,2000,23(1):53.
- [17] Dell' Anna ML, Ottaviani M, Albanesi V, et al. Membrane lipid alterations as a possible basis for melanocyte degeneration in vitiligo[J]. *J Invest Dermatol*,2007,127(5):1226.
- [18] Lan WJ, Wang HY, Wei L, et al. Evidence that geniposide abrogates norepinephrine-induced hypopigmentation by the activation of GLP-1R-dependent c-kit receptor signaling in melanocyte[J]. *J Ethnopharmacol*,2008,118(1):154.

(收稿日期:2015-01-05 修回日期:2015-07-20)

(编辑:刘萍)