

# 蛇床子素的止痒作用<sup>Δ</sup>

罗玉鸿<sup>1\*</sup>,高植明<sup>1</sup>,梁逊莹<sup>2</sup>,付凯<sup>3</sup>,雷冬晓<sup>3</sup>,吴晓丹<sup>3</sup>,聂红<sup>3</sup>(1.珠海市人民医院药学部,广东珠海 519000;2.珠海市妇幼保健院,广东珠海 519000;3.中药药效物质基础及创新药物研究广东省普通高校重点实验室/暨南大学药学院,广州 510632)

中图分类号 R285.5;R758.31;R332 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)19-1750-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.19.07

**摘要** 目的:研究蛇床子素的止痒作用。方法:小鼠面颊刮毛部位皮内注射10 μl二盐酸组胺或二磷酸氯喹以复制组胺依赖性或非依赖性面颊瘙痒模型。模型小鼠随机均分为正常对照(等容含0.2% CMC-Na溶液)组、模型(等容含0.2% CMC-Na溶液)组、阳性对照[特非拉定(1.2 mg/kg)/醋酸地塞米松(0.08 mg/kg)]组与蛇床子素高、中、低剂量(40、20、10 mg/kg)组。观察小鼠搔抓行为,光学显微镜观察小鼠皮肤病理学。结果:与组胺依赖性模型组比较,蛇床子素高、中、低剂量组小鼠搔抓次数减少,差异有统计学意义( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ );与组胺非依赖性模型组比较,蛇床子素高剂量组小鼠搔抓次数减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。模型组小鼠在注射二盐酸组胺或二磷酸氯喹后的前5 min搔抓次数达到最多,随后逐渐减少。高、中、低剂量蛇床子素均不改变模型小鼠搔抓次数的时程变化趋势。各组小鼠面颊皮肤未见明显病理改变。结论:蛇床子素对组胺依赖性和组胺非依赖性瘙痒均有明显的改善作用,其中对组胺依赖性瘙痒的止痒作用更好,可能与其抑制组胺作用有关。

**关键词** 蛇床子素;组胺;氯喹;行为学分析;组胺依赖性瘙痒;组胺非依赖性瘙痒

## Antipruritic Effects and Primary Mechanism of Osthole

LUO Yu-hong<sup>1</sup>, GAO Zhi-ming<sup>1</sup>, LIANG Xun-ying<sup>2</sup>, FU Kai<sup>3</sup>, LEI Dong-xiao<sup>3</sup>, WU Xiao-dan<sup>3</sup>, NIE Hong<sup>3</sup>(1. Dept. of Pharmacy, Zhuhai People's Hospital, Guangdong Zhuhai 519000, China; 2. Zhuhai Maternal and Child Care Service Center, Guangdong Zhuhai 519000, China; 3. Guangdong Province Key Lab of Pharmacodynamic Constituents of TCM and New Drugs Research, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study antipruritic effects and mechanism of osthole. METHODS: The histamine-dependent and independent itch model was established by intradermal injection of histamine 10 μl or chloroquine on the shaved cheek of mice, respectively. The model mice were randomly divided into normal control group (constant volume 0.2% CMC-Na solution) model (constant volume 0.2% CMC-Na solution) group, positive control (histamine 1.2 mg/kg or chloroquine 0.08 mg/kg) group and osthole high-dose, medium-dose and low-dose (40, 20, 10 mg/kg) groups. The itch-related behavior was observed, and the pathomorphological changes of the cheek skin were observed by microscope. RESULTS: Compared with normal control group, the times of scratching increased in model group; there was statistical significance ( $P<0.01$ ). Compared with the histamine-dependent itch model group, the times of scratching decreased in osthole high-dose, medium-dose and low-dose groups; there was statistical significance ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ). Compared with the histamine-independent itch model group, the times of scratching decreased in osthole high-dose groups; there was statistical significance ( $P<0.05$ ). The times of scratching reached the peak in first 5 min after injection of chloroquine and then decreased gradually. The time interval of chloroquine-induced scratching times had no change in osthole groups. But no obvious pathomorphologic changes of the cheek skin were observed in mice. CONCLUSIONS: Osthole can improve histamine-dependent and independent itch, and osthole can better relieve histamine-dependent itch, which is possibly related to the suppression of histamine.

**KEYWORDS** Osthole; Histamine; Chloroquine; Behavior analysis; Histamine-dependent itch; Histamine-independent itch

- duced and Bacillus calmette-guerin plus lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity in mice[J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(3):205.
- [7] Yang WJ, Luo YQ, Aisa HA, et al. Hepatoprotective activities of a sesquiterpene-rich fraction from the aerial part of Cichorium glandulosum[J]. *Chin Med*, 2012, 7(1):21.
- [8] 邢建峰,封卫毅,侯家玉.舒肝丸对大鼠急性肝损伤的保护作用及对胆汁分泌的影响[J].西安交通大学学报:医学版,2004,25(2):154.
- [9] 张小超,潘淳,陈鹏.利胆止痛胶囊利胆、退黄和保肝作用[J].中药药理与临床,2012,28(5):207.
- [10] Shi YL, Sun J, He H, et al. Hepatoprotective effects of Ganoderma lucidum peptides against D-galactosamine-induced liver injury in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 117(3):415.
- [11] 仇君,何荣芬,高亮.茵栀黄口服液在免疫性肝损伤中的作用研究[J].中国药房,2010,21(27):2510.

Δ 基金项目:珠海市科技计划项目(No.201311140042)

\* 副主任药师。研究方向:中药抗瘙痒药效机制。E-mail:luoyuhong@21cn.com

(收稿日期:2013-12-26 修回日期:2014-02-12)

蛇床子为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss 的干燥成熟果实,具有解毒杀虫、燥湿祛风的功效,是治疗湿疹、银屑病、神经性皮炎等皮肤瘙痒疾病最常用的中药之一<sup>[1]</sup>。研究表明,蛇床子素具有止痒、抗过敏的作用<sup>[2-4]</sup>,但其大多是利用豚鼠磷酸组胺致痒模型验证蛇床子素的止痒作用<sup>[4-5]</sup>,该模型是将组胺溶液滴到豚鼠后足擦伤脱毛处,观察并记录大鼠回头舔足的次数,并以此作为评价瘙痒行为学的指标。已有研究表明,动物舔舐皮肤的行为属于疼痛的行为表现,而啃咬属于瘙痒的行为表现<sup>[6]</sup>,因此这种模型不能区分痒和痛各自的行为表现,两种行为夹杂,其行为学数据并不能作为评价瘙痒的指标。本研究采用面颊瘙痒模型来研究小鼠的瘙痒行为学,该模型的特点是可以区分痒觉和痛觉的不同行为表现,小鼠瘙痒时表现为后肢搔抓面颊的行为,疼痛时则为前肢擦拭面颊的行为<sup>[7]</sup>。目前,面颊瘙痒模型已被广泛应用于各种皮肤瘙痒的研究<sup>[8-9]</sup>。

根据组胺在瘙痒形成中的作用,可以将瘙痒分为组胺依赖性瘙痒和组胺非依赖性瘙痒<sup>[10-11]</sup>。抗组胺药常用来缓解瘙痒症状,但对于组胺非依赖性瘙痒却疗效欠佳<sup>[12]</sup>,而传统中药中却不乏一些治疗组胺非依赖性瘙痒的药物或复方。本研究利用组胺和氯喹分别复制组胺依赖性和组胺非依赖性面颊瘙痒模型,通过行为学验证蛇床子素的止痒作用,探讨其作用机制,为药物的临床应用提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

HDR-XR 160型高清摄像机(日本索尼公司);CX31型光学显微镜(日本Olympus公司);有机玻璃观察鼠盒(广州穗明工艺制作有限公司,规格:9 cm×9 cm×13 cm)。

### 1.2 药品与试剂

蛇床子素[阿拉丁试剂(上海)有限公司,批号:O101699,纯度:≥99%];特非那定片(江苏连环药业股份有限公司,批号:20110702);醋酸地塞米松片(浙江仙琚制药股份有限公司,批号:110815);二盐酸组胺(美国Sigma公司,批号:BCBD0434V,纯度:≥99%);二磷酸氯喹(美国TCI公司,批号:C2301,纯度:>98%);水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号:20100312)。

### 1.3 动物

SPF级C57BL/6小鼠121只,8~10周,♂,体质量22~27 g,由广东省医学实验动物中心提供[实验动物使用许可证号:SCXK(粤)2008-0002]。

## 2 方法

### 2.1 模型的复制与分组、给药

2.1.1 组胺依赖性瘙痒模型的复制<sup>[1]</sup>与分组、给药 小鼠适应性饲养1周后开始实验。适应性饲养期间,每天将小鼠移至观察室,放入观察鼠盒中训练以适应环境,每天2次。实验开始前2 d,ip 10%水合氯醛麻醉小鼠后,将小鼠右侧面颊用刀片刮毛(面积约1 cm×1 cm)。实验当天将小鼠移至观察室放在观察鼠盒中1 h,适应环境。1 h后,迅速在小鼠面颊刮毛部位id 10 μl 二盐酸组胺(10 mg/ml)以复制组胺依赖性瘙痒模型。实验分

为正常对照[等容含0.2%(羧甲基纤维素钠)CMC-Na溶液]组、模型[等容含0.2% CMC-Na溶液]组、特非拉定(1.2 mg/kg)组与蛇床子素高、中、低剂量(40、20、10 mg/kg)组。除特非拉定组复制模型前0.5 h时ig给药,其余各组复制模型前1 h时ig给药。

2.1.2 组胺非依赖性瘙痒模型的复制与分组、给药 小鼠适应环境与刮毛同“2.1.1”项下方法。在小鼠面颊刮毛部位id 10 μl 二磷酸氯喹(10 mg/ml)以复制组胺非依赖性瘙痒模型。实验分为正常对照(0.2% CMC-Na溶液)组、模型(0.2% CMC-Na溶液)组、醋酸地塞米松(0.08 mg/kg)组与蛇床子素高、中、低剂量(40、20、10 mg/kg)组。除醋酸地塞米松组复制模型前0.5 h时ig给药,其余各组复制模型前1 h时ig给药。

### 2.2 瘙痒行为学分析<sup>[7]</sup>

实验结束后,根据双盲原则由不清楚具体实验分组的实验人员记录小鼠搔抓面颊脱毛部位的次数(同时录音机播放白噪声以掩盖外界环境的干扰),然后进行统计分析。1次搔抓是指小鼠后爪对面颊注射部位的1次或连续多次搔抓,后爪落地或放入口中代表本次搔抓动作结束;前肢的活动以及后爪对身体其他部位的搔抓则不作统计。

### 2.3 病理学观察

行为学实验结束1 h后,每组随机取出3只小鼠ip 10%水合氯醛深度麻醉,开胸后经左心室行主动脉插管,并剪开右心耳,先用4℃ PBS灌注冲洗,直至肝脏变白,再用4%多聚甲醛PBS先快后慢灌注固定,然后用眼科剪小心剪下面颊刮毛处皮肤,放入上述固定液中后固定。之后将固定的皮肤进行切片和HE染色,观察皮肤病理组织改变。

### 2.4 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS18.0统计软件进行组间单因素方差分析(One-way ANOVA),两两之间的比较采用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 蛇床子素对组胺依赖性瘙痒模型小鼠搔抓行为的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠搔抓次数增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,蛇床子素高、中、低剂量组搔抓次数减少,差异有统计学意义( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。模型组小鼠在id二盐酸组胺后的第5~10分钟搔抓次数达到最多,随后逐渐减少。高、中、低剂量蛇床子素均不改变组胺引起搔抓行为的时程变化。蛇床子素对组胺依赖性瘙痒模型小鼠搔抓次数的影响见表1;蛇床子素对组胺依赖性瘙痒模型小鼠搔抓行为时程变化的影响见图1。

### 3.2 蛇床子素对组胺非依赖性瘙痒模型小鼠搔抓行为的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠搔抓次数增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,蛇床子素高剂量组搔抓次数减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。模型组小鼠在id二磷酸氯喹后的前5 min搔抓次数达到最多,随后逐渐减少。高、中、低剂量蛇床子素均不改变二磷酸氯喹引起搔抓次数的时程变化趋势。蛇床子素对组胺非依赖性瘙痒模型小鼠搔抓次数的影响见表2;蛇床子素对组胺非依赖性瘙痒模型小鼠搔抓

行为时程变化的影响见图2。

表1 蛇床子素对组胺依赖性瘙痒模型小鼠搔抓次数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Effects of osthole on the times of scratching in histamine-dependent itch model mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	搔抓次数
正常对照组	11	3.0 ± 1.21
模型组	9	34.9 ± 6.52*
蛇床子素低剂量组	10	14.4 ± 5.79*
蛇床子素中剂量组	10	11.7 ± 3.38**
蛇床子素高剂量组	10	7.3 ± 2.99**
特非那定组	11	9.0 ± 2.73**

与正常对照组比较: \* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$   
vs. normal control group: \* $P < 0.01$ ; vs. model group: # $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

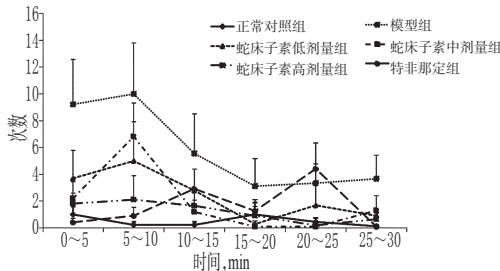


图1 蛇床子素对组胺依赖性瘙痒模型小鼠搔抓行为时程变化的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 9 \sim 11$ )

Fig 1 Effects of osthole on time interval of scratching in histamine-dependent itch model mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 9 \sim 11$ )

表2 蛇床子素对组胺非依赖性瘙痒模型小鼠搔抓次数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 4 Effects of osthole on the times of scratching in histamine-independent itch model mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	搔抓次数
正常对照组	11	4.0 ± 1.72
模型组	9	70.6 ± 12.78*
蛇床子素低剂量组	10	64.0 ± 11.94
蛇床子素中剂量组	10	63.9 ± 6.85
蛇床子素高剂量组	10	37.7 ± 7.08*
醋酸地塞米松组	11	26.8 ± 7.22*

与正常对照组比较: \* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$   
vs. normal control group: \* $P < 0.01$ ; vs. model group: # $P < 0.05$

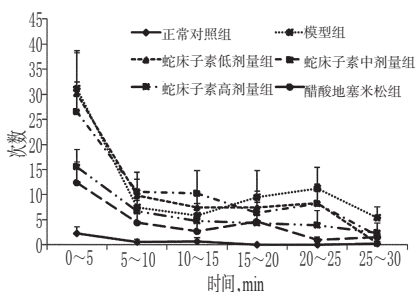


图2 蛇床子素对组胺非依赖性瘙痒模型小鼠搔抓行为时程变化的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 9 \sim 11$ )

Fig 2 Effects of osthole on the time interval of scratching in histamine-independent itch model mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 9 \sim 11$ )

### 3.3 病理学观察

光学显微镜下观察小鼠皮肤的表皮、真皮和皮下组织等 各层结构清晰可见,而各组小鼠皮肤均未见明显病理改变。蛇床子素对组胺依赖性、非依赖性瘙痒模型小鼠皮肤病理学的影响见图3、图4。

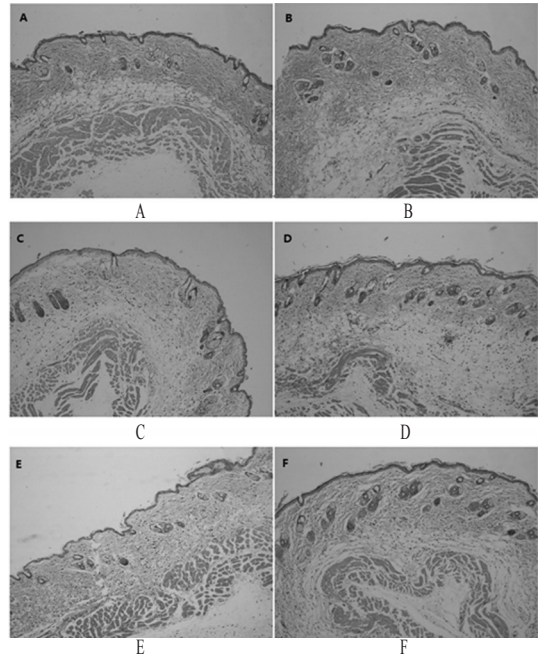


图3 蛇床子素对组胺依赖性瘙痒模型小鼠皮肤病理学的影响(HE, 100×)

A.正常对照组;B.模型组;C.蛇床子素低剂量组;D.蛇床子素中剂量组;E.蛇床子素高剂量组;F.特非那定组

Fig 3 Effects of osthole on dermatopathology in histamine-dependent itch model mice(HE, 100×)

A.normal control group;B.model group;C.osthole low-dose group;D.osthole medium-dose groups; E. osthole high-dose group; F. terfenadine group

### 4 讨论

本研究结果表明,高、中、低剂量蛇床子素均可明显抑制组胺依赖性瘙痒。已有研究表明,蛇床子素能抑制大鼠腹腔肥大细胞脱颗粒<sup>[13]</sup>,因此蛇床子素可能通过抑制二盐酸组胺引起的肥大细胞脱颗粒而止痒。由二盐酸组胺引起的瘙痒的时程变化可以看出,该模型是一种急性瘙痒模型,搔抓次数大都在前5 min或10 min内达到最大值,而后逐渐减少。由于这种短暂性的搔抓行为并未对皮肤造成明显损害,HE染色并未观察到明显的皮肤组织病理损伤。蛇床子素不改变组胺引起的搔抓次数的时程变化,只单单减少搔抓次数;而特非那定则明显改变组胺引起的搔抓次数的时程变化趋势。由于特非那定是一种主要作用于外周的H<sub>1</sub>受体拮抗药,因此蛇床子素可能不通过直接抑制组胺与H<sub>1</sub>受体的结合而止痒。

本研究发现,高剂量蛇床子素可明显抑制二磷酸氯喹引起的组胺非依赖性瘙痒。研究表明,二磷酸氯喹是由于激活了Mas相关G蛋白偶联受体-MrgprA3 (Mas-related G protein coupled receptor A3)而引起瘙痒<sup>[14]</sup>,因此蛇床子素可能通过抑

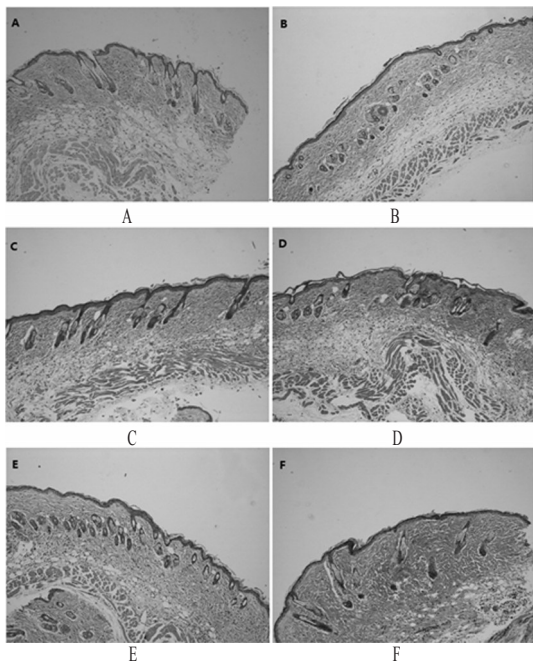


图4 蛇床子素对组胺非依赖性瘙痒模型小鼠皮肤病理学的影响(HE, 100×)

A.正常对照组; B.模型组; C.蛇床子素低剂量组; D.蛇床子素中剂量组; E.蛇床子素高剂量组; F.醋酸盐米松组

Fig 4 Effects of osthole on dermatopathology in histamine-independent itch model mice(HE, 100×)

A.normal control group; B.model group; C.osthole low-dose group; D.osthole medium-dose groups; E.osthole high-dose group; F.terfenadine group

制二磷酸氯喹与MrgprA3受体结合而发挥止痒作用。另有研究表明,蛇床子素具有传导麻醉作用<sup>[15]</sup>。各剂量蛇床子素均不改变二盐酸组胺或二磷酸氯喹引起的搔抓次数的时程变化趋势,而单单减少搔抓次数,因此蛇床子素止痒还可能与其传导麻醉的作用有关。由二磷酸氯喹引起瘙痒的时程变化可以看出,该模型是一种急性瘙痒模型,搔抓次数大都在前5 min内达到最大值,而后逐渐衰减。由于这种短暂性的搔抓行为并未对皮肤造成明显损害,HE染色并未观察到明显的皮肤组织病理损伤。

综上所述,本研究分别利用二盐酸组胺和二磷酸氯喹两种致痒物质复制组胺依赖性和组胺非依赖性面颊瘙痒模型,通过瘙痒行为学分析验证蛇床子素的止痒作用,并探讨其作用机制。结果发现,蛇床子素对组胺依赖性和组胺非依赖性瘙痒均有明显的改善作用,但对组胺依赖性瘙痒的止痒作用更好,其作用机制可能与其抑制组胺引起的肥大细胞脱颗粒

有关。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:295.
- [2] Matsuda H, Tomohiro N, Ido Y, *et al.* Anti-allergic effects of *Cnidium monnieri* fructus(dried fruits of *Cnidium monnieri*) and its major component, osthol[J]. *Biol Pharm Bull*,2002,25(6):809.
- [3] 苑振亭,王可,王金海,等.蛇床子素水醇凝胶治疗亚急性湿疹的临床疗效观察[J].*中国药房*,2009,20(12):941.
- [4] 高培平,苑振亭,李志强.蛇床子素凝胶的药效学研究[J].*中国医院药学杂志*,2009,29(20):1734.
- [5] 王永辉,张荣,冯玛莉,等.蛇床子超临界萃取物止痒作用的实验研究[J].*山西中医学院学报*,2005,6(2):17.
- [6] LaMotte RH, Shimada SG, Sikand P. Mouse models of acute, chemical itch and pain in humans[J]. *Exp Dermatol*,2011,20(10):778.
- [7] Shimada SG, LaMotte RH. Behavioral differentiation between itch and pain in mouse[J]. *Pain*,2008,139(3):681.
- [8] Liu T, Berta T, Xu ZZ, *et al.* TLR3 deficiency impairs spinal cord synaptic transmission, central sensitization, and pruritus in mice[J]. *J Clin Invest*,2012,122(6):2195.
- [9] Wilson SR, Nelson AM, Batia L, *et al.* The ion channel TRPA1 is required for chronic itch[J]. *J Neurosci*,2013,33(22):9283.
- [10] Liu Q, Weng HJ, Patel KN, *et al.* The distinct roles of two GPCRs, MrgprC11 and PAR2, in itch and hyperalgesia[J]. *Sci Signal*,2011,4(181):1.
- [11] Akiyama T, Tominaga M, Davoodi A, *et al.* Cross-sensitization of histamine-independent itch in mouse primary sensory neurons[J]. *Neuroscience*,2012,226:305.
- [12] Elmariah SB, Lerner EA. Topical therapies for pruritus[J]. *Semin Cutan Med Surg*,2011,30(2):118.
- [13] 陈志春,段晓波,刘堃荣.蛇床子素抗变态反应的研究[J].*药学报*,1988,23(2):96.
- [14] Liu Q, Tang Z, Surdenikova L, *et al.* Sensory neuron-specific GPCR Mrgprs are itch receptors mediating chloroquine-induced pruritus[J]. *Cell*,2009,139(7):1353.
- [15] 李乐,邱瑜.蛇床子素的局部麻醉作用[J].*上海实验动物科学*,1997,17(3):133.

(收稿日期:2013-12-24 修回日期:2014-02-18)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊,欢迎投稿、订阅