

【 实验研究 】

基于 TRPA1 通道探讨白藜芦醇联合和厚朴酚在缓解特应性皮炎中的应用

王世龙¹, 李俊杰¹, 闫瑾¹, 程传景², 祁晓焯², 高洁^{1*}, 李红艳^{2*}, 侯小涛³, 白钢¹

1. 南开大学 药学院, 药物化学生物学国家重点实验室, 天津 300353

2. 天津嘉氏堂科技有限公司, 天津 300480

3. 广西中医药大学 广西中药药效研究重点实验室, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 基于瞬时受体电位 A1 (TRPA1) 设计开发一种具有改善特应性皮炎 (AD) 作用的天然活性成分乳膏剂。方法 构建 TRPA1 通道高表达细胞, 采用细胞荧光钙离子成像技术从 31 种活性天然产物中筛选 TRPA1 抑制剂, 并筛选最佳组合以及比例; 通过单因素实验和响应面分析优化乳膏剂中甘油、聚丙烯酸钠 (SP)、辛酸/癸酸甘油三酯 (M318) 的添加量。构建大鼠皮肤紫外线 B (UVB) 晒伤模型, 通过检测皮肤机械痛阈评价乳膏剂对痛觉的缓解作用。通过 2, 4-二硝基氟苯 (DNFB) 诱导构建小鼠 AD 模型, 评价乳膏剂对瘙痒、皮损评分、皮肤病理损伤以及皮肤中白细胞介素 (IL)-6、IL-4、IL-33、IL-1 β 、 γ 干扰素 (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 炎症因子 mRNA 的表达水平的改善效果。**结果** 筛选出对 TRPA1 具有抑制作用的 9 种活性天然产物, 发现白藜芦醇与和厚朴酚物质的量比值为 5:1 时协同效果最佳, 确定为白藜芦醇与和厚朴酚双因组合 (BHSY)。经配方优化 BHSY 乳膏剂的最佳组成为: 甘油 5.13%、SP 0.91%、M318 3.01%, 其中 BHSY 质量分数为 0.17%~0.50%, 其粒径分布均匀且稳定性好。与模型组比较, BHSY 乳膏剂在 UVB 照射损伤后的第 2、3 天可剂量相关性地提高大鼠皮肤痛阈 ($P<0.05$ 、0.01、0.001); 并可明显降低 AD 小鼠的搔抓次数 ($P<0.05$ 、0.01), 改善皮损评分 ($P<0.05$ 、0.01), 抑制背部表皮增厚 ($P<0.001$) 及皮肤中炎症因子 IL-6、IL-4、IL-33、IL-1 β 、IFN- γ 、TNF- α mRNA 的表达 ($P<0.05$ 、0.01、0.001)。**结论** 基于 TRPA1 通道开发了具有协同增效作用的活性天然产物 BHSY 乳膏剂, 对减轻皮肤的 UVB 损伤以及舒缓 AD 症状具有显著效果。

关键词: TRPA1; 白藜芦醇; 和厚朴酚; 乳膏剂; 配伍协同; 特应性皮炎

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)03-0606-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.03.007

Investigation of application of resveratrol combined with honokiol in relieving atopic dermatitis based on TRPA1 channel

WANG Shilong¹, LI Junjie¹, YAN Jin¹, CHENG Chuanjing², QI Xiaoye², GAO Jie¹, LI Hongyan², HOU Xiaotao³, BAI Gang¹

1. College of Pharmacy, State Key Laboratory of Medicinal Chemical Biology, Nankai University, Tianjin 300353, China

2. Tianjin Joystar Science and Technology Co., LTD., Tianjin 300480, China

3. Guangxi University of Chinese Medicine, Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Nanning 530200, China

Abstract: Objective Based on transient receptor potential A1 (TRPA1), a natural active ingredient cream preparation with the effect of improving atopic dermatitis (AD) was developed and optimized. **Methods** TRPA1 overexpressed cells were constructed to be used in the screening of TRPA1 inhibitors from 31 natural compounds by cell fluorescence calcium ion imaging, and the optimal combination and proportion were screened. The addition amounts of glycerol, sodium polyacrylate (SP), and glyceryl tristearate (M318) in the

收稿日期: 2024-09-04

基金项目: 广西科技厅“带土移植”人才引进计划(AA23026008)

作者简介: 王世龙, 男, 硕士研究生, 研究方向为制药工程。E-mail: 19832102378@163.com

*通信作者: 高洁, 女, 讲师, 研究方向为中医药系统生物学与化学生物学。E-mail: gaojie@nankai.edu.cn

李红艳, 女, 研究员, 研究方向为功效护肤品及新型医用敷料。E-mail: lihongyan07@126.com

cream were optimized through single-factor experiments and response surface analysis. A rat skin UVB sunburn model was established to evaluate the analgesic effect of the cream by detecting the mechanical pain threshold of the skin. A mouse AD model was induced by 2, 4-dinitrofluorobenzene (DNFB) to assess the improvement effect of the cream on pruritus, skin lesion score, skin pathological damage, and the mRNA expression levels of inflammatory factors such as interleukin (*IL*)-6, *IL*-4, *IL*-33, *IL*-1 β , interferon- γ (*IFN*- γ), and tumor necrosis factor α (*TNF*- α) in the skin. **Results** Nine active natural products with inhibitory effects on TRPA1 were screened out. It was found that the best synergistic effect was achieved when the molar ratio of resveratrol to magnolol was 5:1, and this combination was determined as the resveratrol and magnolol dual-component combination (BHSY). After formula optimization, the optimal composition of the BHSY cream was: glycerol 5.13%, SP 0.91%, M318 3.01%, with BHSY content ranging from 0.17% to 0.50%. The particle size distribution was uniform and the stability was good. Compared with the model group, the BHSY cream could dose-dependently increase the mechanical pain threshold of rat skin on the 2nd and 3rd days after UVB irradiation injury ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); it could also significantly reduce the scratching frequency of AD mice ($P < 0.05, 0.01$), improve the skin lesion score ($P < 0.05, 0.01$), inhibit the thickening of the epidermis on the back ($P < 0.001$), and reduce the mRNA expression of inflammatory factors such as *IL*-6, *IL*-4, *IL*-33, *IL*-1 β , *INF*- γ , and *TNF*- α in the skin ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). **Conclusion** Based on the TRPA1 channel, an active natural product BHSY cream with synergistic effects has been developed, which demonstrates significant efficacy in alleviating UVB-induced skin damage and mitigating AD symptoms.

Key words: TRPA1; resveratrol; honokiol; cream; synergize; atopic dermatitis

特应性皮炎 (AD) 是一种瘙痒性、炎症性以及慢性复发性的皮肤病, 主要表现为皮肤干燥、红斑、脱屑和瘙痒, 持续瘙痒会干扰日常活动并导致失眠和睡眠障碍, 慢性或复发性炎症和抓挠会导致皮肤增厚, 显著降低生活质量^[1]。糖皮质激素通过抑制炎症反应和调节免疫系统, 从而缓解皮肤瘙痒的症状。然而, 外用糖皮质激素容易导致复发, 并且长期使用可能会加重 AD 的情况^[2]。吡美莫司属于钙调神经磷酸酶抑制剂, 是治疗 AD 的常用药物, 研究显示其长期使用可能会导致色素沉着、肌肉无力等不良反应^[3]。而口服抗组胺药和免疫抑制剂虽对缓解特应性皮炎瘙痒有良好的效果, 但长期使用依然会产生肾毒性和高血压等不良反应^[4]。目前如何有效缓解皮肤瘙痒症状仍然缺乏有效的治疗方法, 因此有必要针对新的靶点寻找能有效缓解 AD 症状的方法。

瞬时受体电位 A1 (TRPA1) 是一种表达于感觉神经末端的非选择性阳离子通道, 其 N 末端包含 2 个螺旋状 Ca^{2+} 结合基序, 对 Ca^{2+} 具有较好的通透性, 在神经和非神经细胞中广泛分布^[5]。TRPA1 通道能够感受多种有害刺激, 如冷热、刺激性化合物以及与细胞损伤有关的内源性物质等, 可被不同的亲电分子通过静电或共价修饰而激活, 可以介导炎症、疼痛刺激等多种生物学效应。临床研究表明, TRPA1 通道是疼痛和瘙痒下游重要的信号转导通路^[6]。TRPA1 的激活和抑制会通过 Ca^{2+} 影响三叉神经节神经元, 从而影响痛觉和痒觉的产生。阻断 TRPA1 离子通道能有效缓解或解除炎症性疼痛和

神经性疼痛, 也可以缓解瘙痒症状。有研究表明, TRPA1 的抑制剂在各种病理生理性疼痛的实验模型中都有效地减轻了疼痛反应, 作用于外周的 TRPA1 抑制剂可以减轻原发性痛觉过敏, 而中枢作用的 TRPA1 抑制剂可以减轻由中枢传导放大引起的痛觉反应^[7]。另有研究表明, 瘙痒原可以通过激活 TRP 通道诱发瘙痒, 脊髓中致痒神经肽释放、脊髓神经元激活、抓挠行为和 TRPA1 密切相关, TRPA1 抑制剂可防止小鼠的抓挠加剧^[8]。在 AD 患者及 AD 动物模型中, 皮损组织中 TRPA1 的表达增加, 会导致神经元更易被瘙痒刺激激活, 更易产生痒觉^[9]。因此, TRPA1 可以作为潜在的靶点用于缓解 AD 患者的皮肤瘙痒。

目前已经从自然界中发现了多种单萜、芪类化合物和亲电子性调节剂可以调控 TRPA1 通道的活性^[10]。为了开发一种可有效缓解皮肤疼痛和瘙痒症状的制剂, 本研究基于 TRPA1 通道, 从天然化妆品原料中筛选 TRPA1 抑制剂, 通过配伍协同提升其效能, 并进行了制剂处方的优化。利用大鼠紫外线 B (UVB) 晒伤模型以及 2, 4-二硝基氟苯 (DNFB) 诱导的小鼠 AD 模型, 评价了组合物制剂的治疗效果, 为舒缓 AD 症状提供一种有效手段。

1 材料

1.1 仪器

DMI6000B 活细胞工作站 (德国徕卡公司); ZEN3600 纳米粒度分析仪 (英国马尔文公司); XZ-UVB10.0 LED 灯 (中山班博照明公司); 38500-PAM

压力应用测量仪(北京友诚嘉业公司); Leica DM4 B 正置显微镜(上海徕卡显微公司); T100 Thermal Cycler PCR 仪(上海伯乐生命医学产品公司); CXF Opus 96 实时荧光定量 PCR 仪(南京伯尼塔公司)。

1.2 药品与主要试剂

31 种活性天然产物的对照品: 和厚朴酚(批号 XP20230116, 质量分数 >98%), 陕西新湃生物科技有限公司; 白藜芦醇(货号 R-10001, 质量分数 >98%)、厚朴酚(货号 M-32401, 质量分数 >95%)、肉桂醛(货号 C-93348, 质量分数 >95%)、熊果酸(货号 U-33490, 质量分数 >98%)、黄芩素(货号 B-00520, 质量分数 >98%)、扁桃酸(货号 M-00991, 质量分数 >99%)、虾青素(货号 AS-3453, 质量分数 >95%)、熊果苷(货号 A-90970, 质量分数 >98%)、 β -胡萝卜素(货号 C-34600, 质量分数 >96%)、丹皮酚(货号 P-01002, 质量分数 >98%)、肉桂醇(货号 C-93413, 质量分数 >97%)、芸香苷(货号 ZTH266555, 质量分数 >98%)、樟脑(货号 C-12056, 质量分数 >95%), 均购自天津希恩思生化科技有限公司; 穿心莲内酯(货号 S24818, 质量分数 >98%), 上海源叶生物科技有限公司; 三七皂苷(货号 K756644, 质量分数 >98%)、薄荷脑(货号 TX02688, 质量分数 >98%)、鞣酸(货号 12453689, 质量分数 >99%)、均购自天津索罗门生物科技有限公司; 山柰素(货号 K797025, 质量分数 >98%)、咖啡酸(货号 C804975, 质量分数 >98%)、芦荟苦素(货号 A873457, 质量分数 >98%)、香茅醇(货号 C804317, 质量分数 >95%)、阿魏酸(货号 F837756, 质量分数 >97%)、甘草酸铵(货号 G917280, 质量分数 >98%)、甘草酸(货号 G810520, 质量分数 >93%)、黄芪甲苷(货号 A875200, 质量分数 >95%)、辣椒碱(货号 C832244, 质量分数 >95%)、肉桂酸(货号 C804992, 质量分数 >99%)、人参皂苷(货号 G823509, 质量分数 >98%)、积雪草苷(货号 A964372, 质量分数 >98%)、积雪草酸(货号 A800937, 质量分数 >95%) 均购自上海麦克林生化科技有限公司; 异硫氰酸烯丙酯(AITC, 货号 A834621), 上海泰坦公司; 转染试剂(PEI, 货号 HY-K2014), 美国 Invitrogen 公司; Fluo-4/AM 钙离子荧光探针(货号 F312), 日本同仁化学研究所; 聚氧乙烯聚氧丙烯醚(Pluronic F-127), 美国 Genecopoeia 公司; TRPA1 cDNA 质粒(货号 HG17980-UT), 北京义翘神州公司; Hank's

平衡盐溶液(HBSS, 货号 H1025)、细胞培养试剂均购自美国 Gibco 公司; 磺胺嘧啶银乳膏(批号 230601), 广东恒健制药公司; DNFB(货号 R010240), 上海麦克林生化科技公司; 艾洛松软膏(批号 230615), 上海新亚药业公司; 聚丙烯酸钠(SP)、辛酸/癸酸甘油三酯(M318)均购自巴斯夫公司; 其他试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠、体质量(200±20) g 和 SPF 级雄性 Balb/c 小鼠、体质量(20±2) g, 均购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号为 SCXK(京)2021-0006。实验动物均饲养于南开大学实验动物中心, 饲养环境温度 20~25 °C, 相对湿度 40%~60%, 每 12 小时循环照明, 所有动物均正常饲养, 自由饮水、进食。动物实验操作得到南开大学动物伦理委员会批准(2022-SYDWLL-000023)。

1.4 实验细胞

HEK 293T 细胞(人胚肾细胞)购自武汉普诺赛公司; HEK 293T 细胞在含有 10%胎牛血清和 1%青霉素链霉素双抗的 DMEM 培养基中培养。细胞在 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养, 融合至 80%以上进行传代。

2 方法与结果

2.1 TRPA1 高表达细胞的构建

HEK 293T 细胞接种于共聚焦小皿中, 当融合至 60%时进行瞬时转染。在 1 mL 空白 DMEM 体系中加入 PEI 与 TRPA1 cDNA 质粒按照体积质量比 5 μ L : 1 μ g 混合的溶液进行转染。转染 24 h 后高表达 TRPA1 的 HEK 293T 细胞用于后续实验^[11]。

2.2 细胞荧光钙离子成像技术分析

TRPA1 通道高表达的 HEK 293T 细胞密度达到 70%时, 用 HBSS 溶液洗涤 3 次, 在新鲜 HBSS 溶液中加入 1 μ mol·L⁻¹ 钙离子探针染料 Fluo-4/AM 和 0.05% F-127, 于 37 °C 培养箱中孵育 30 min。取出细胞经 HBSS 洗涤 3 次后, 进行后续操作。

2.2.1 TRPA1 抑制剂的筛选 分别加入 31 种天然化合物(10 μ mol·L⁻¹), 或不同浓度白藜芦醇(40.000 0、20.000 0、10.000 0、5.000 0、2.500 0、1.250 0、0.625 0、0.312 5 μ mol·L⁻¹)、和厚朴酚(10.0、4.0、1.0、2.5、0.1 μ mol·L⁻¹), 预孵育 30 min。利用活细胞工作站进行拍摄, 在第 25 秒时加入 TRPA1 激动剂 AITC(10 μ mol·L⁻¹), 以检测钙离子荧光信

号变化, 并计算细胞对应区域的 $\Delta F/F_0$ 值。

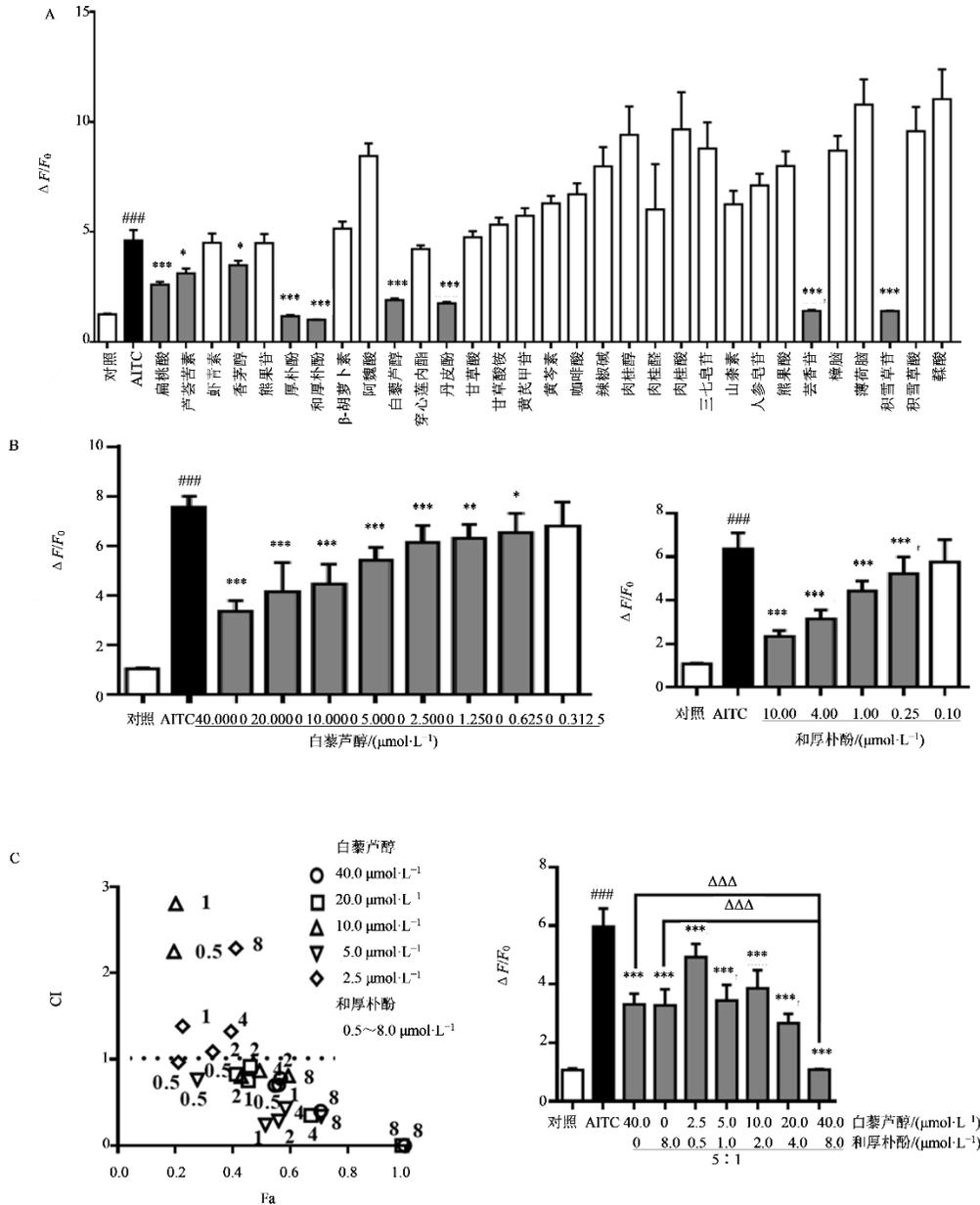
$$\Delta F/F_0 = [\text{平均荧光强度}(F) - \text{背景强度}(F_0)] / \text{背景强度}(F_0)$$

2.2.2 白藜芦醇联合和厚朴酚的协同效果考察
 分别加入不同浓度的和厚朴酚 (0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 与白藜芦醇 (2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的药物组合, 预孵育 30 min, 利用 AITC 激动 TRPA1 后测定荧光信号变化的 $\Delta F/F_0$ 值。应用 CompuSyn software 软件分析联合指数 (CI)

值, 评价二者合用对 TRPA1 抑制作用的影响。CI < 1 代表具有协同作用, CI = 1 为相加作用, CI > 1 为拮抗作用。

本研究所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较利用 GraphPad Prism 6.0 统计软件 (One-way ANOVA) 进行方差分析, 2 组间比较采用 *t* 检验分析。

如图 1-A 所示, 与对照组比较, AITC 组 $\Delta F/F_0$ 值显著升高 ($P < 0.001$); 与 AITC 组比较, 扁桃酸、



A-从 31 种活性天然产物中筛选 TRPA1 抑制剂; B-白藜芦醇与和厚朴酚抑制 TRPA1 通道的量效考察; C-白藜芦醇与和厚朴酚的 CI 考察及协同效果验证; 与对照组比较: ### $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与单独给药比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ 。

A-TRPA1 inhibitors screening from 31 active natural products; B-Dose-effect investigation of resveratrol and honokiol on inhibiting TRPA1 channel; C-CI and synergistic effects of resveratrol and honokiol; ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ vs single application.

图 1 TRPA1 通道抑制剂的筛选及联合抑制效果考察 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Screening and evaluation of TRPA1 channel inhibitors and their synergistic inhibitory effects ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

芦荟苦素、香茅醇、厚朴酚、和厚朴酚、白藜芦醇、丹皮酚、芸香苷和积雪草苷 9 种成分对 TRPA1 存在拮抗作用 ($P < 0.05, 0.001$)。在上述化合物中厚朴酚、和厚朴酚、白藜芦醇、丹皮酚和积雪草苷具有抗炎、抗氧化作用,但丹皮酚受浓度限制,在高浓度时才展示出显著的作用效果^[12-14],而积雪草苷长期使用可能会导致皮肤敏感性增强^[15]。

鉴于白藜芦醇与和厚朴酚在化妆品中已被广泛应用,因此选取其进行进一步考察。结果如图 1-B 所示,与 AITC 组比较,白藜芦醇在浓度为 $0.625 \sim 40.000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,和厚朴酚在 $0.25 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对 TRPA1 通道存在拮抗作用 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。

由图 1-C 可知,白藜芦醇浓度为 $2.5 \sim 40.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、和厚朴酚为 $0.5 \sim 8.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,在二者的物质的量比为 $(0.625 \sim 10.000) : 1$ 时,组合物表现出对 TRPA1 通道的协同增效作用 ($CI < 1$),其中白藜芦醇-和厚朴酚物质的量比值为 $5 : 1$ 时协同效果最佳 ($CI < 0.001$),其效果明显优于单独使用的同浓度化合物 ($P < 0.001$)。

2.3 乳膏剂的优化和制备

2.3.1 BHSY 组合的配比组成 以白藜芦醇与和厚

朴酚物质的量之比 $5 : 1$ (白藜芦醇 82.4%、和厚朴酚 17.6%) 制成原料组合物 (白和双因舒养剂, BHSY, 报送码为 204494-06362-6610), 用于后续实验。

2.3.2 BHSY 乳膏剂的制备 称取一定量的甘油和 SP 于烧杯中,使 SP 充分分散在甘油中,作为增稠剂备用。称取一定量的水、馨鲜酮和己二醇于烧杯中, $85 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴加热,作为水相。向水相中加入相应量的组合物 BHSY,继续均质化搅拌。另外称取 M318 作为油相, $85 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴加热后,将油相加入到水相中进行充分均质乳化后,即可得到 BHSY 乳膏剂。

2.3.3 BHSY 乳膏剂的评价 对制备得到的乳膏进行外观均一性、涂抹延展性、离心稳定性、耐寒性以及耐热性等稳定性评价。具体方法为:取适量乳膏剂于透明容器里面,目检外观色泽是否均匀、静置是否分层,或在滤纸上进行涂布,观察其是否均匀细腻,进行外观均一性和涂布延展性评价;取乳膏剂样品 1 g ,置于离心管中, $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 30 min ,观察其离心稳定性;另取乳膏剂样品 1 g ,置于离心管中,于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 或 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 静置 24 h ,观察供试验样品油水分离情况,考察其耐寒性和耐热性。具体指标评分方法见表 1。

表 1 乳膏剂评分标准

Table 1 Scoring criteria of cream

| 评价项目 | 1~5 分 | 6~10 分 | 11~15 分 | 16~20 分 |
|-------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| 外观均一性 | 色泽不均匀 静置自然分层 | 色泽较均匀 静置基本不分层 | 色泽基本均匀 静置基本不分层 | 色泽完全均匀 静置不分层 |
| 涂布延展性 | 不均匀、不细腻、 不易涂布 | 较均匀细腻、涂布程 度一般 | 基本均匀细腻、基本可以 涂布 | 完全均匀细腻、涂布程 度良好 |
| 离心稳定性 | 明显分层 | 轻微分层 | 基本不分层 | 完全不分层 |
| 耐寒性 | 油水分离 | 轻度油水分离 | 略微油水分离 | 无油水分离 |
| 耐热性 | 油水分离 | 轻度油水分离 | 略微油水分离 | 无油水分离 |

2.3.4 BHSY 乳膏剂配方优化 依据乳膏剂的评分标准,通过单因素实验对配方中的主要成分甘油、SP、M318 的添加量进行初步考察,选取甘油 $3.75\% \sim 6.25\%$ 、SP $0.8\% \sim 1.0\%$ 、M318 $2.5\% \sim 3.5\%$ 。

通过建立响应面模型,对添加不同比例的甘油 ($2.50\%、3.75\%、5.00\%、6.25\%、7.50\%$)、SP ($0.7\%、0.8\%、0.9\%、1.0\%、1.1\%$)、M318 ($2.0\%、2.5\%、3.0\%、3.5\%、4.0\%$) 的乳膏剂进行分析,采用 Design-Expert 13 软件进行数据分析,考察不同配方对乳膏的影响。在此范围内设计 $L_{17} (3^3)$

正交实验,根据分组完成实验并对各组乳膏剂进行评分 (表 2)。

对数据进行响应面拟合回归方程方差分析,结果见表 3,二次多项回归方程的综合评分 = $96.2 + 0.25 A + 0.375 B + 0.125 C + 0.25 AB + 0.25 AC - 1.1 A^2 - 2.35 B^2 - 1.85 C^2$ 。由表 3 可知,该回归方程模型的 $P < 0.01$,说明模型达到极显著的水平;失拟值的 $P > 0.05$,失拟值不显著,表明拟合程度良好;模型的 $R^2 = 0.9243$,说明模型的可信度较高,表明该模型可用来预测和评价乳膏剂的组方效果。

表 2 赋型剂的正交实验分组及乳膏的综合评分考察

Table 2 Grouping of orthogonal test and comprehensive evaluation of cream formulation with emulsifying agents

| 编号 | 甘油/% (A) | SP/% (B) | M318/% (C) | 综合 评分 |
|----|-------------|-------------|---------------|----------|
| 1 | 3.75 | 0.8 | 3.0 | 92 |
| 2 | 6.25 | 0.8 | 3.0 | 93 |
| 3 | 3.75 | 1.0 | 3.0 | 93 |
| 4 | 6.25 | 1.0 | 3.0 | 93 |
| 5 | 3.75 | 0.9 | 2.5 | 93 |
| 6 | 6.25 | 0.9 | 2.5 | 94 |
| 7 | 3.75 | 0.9 | 3.5 | 93 |
| 8 | 6.25 | 0.9 | 3.5 | 93 |
| 9 | 5.00 | 0.8 | 2.5 | 91 |
| 10 | 5.00 | 1.0 | 2.5 | 92 |
| 11 | 5.00 | 0.8 | 3.5 | 92 |
| 12 | 5.00 | 1.0 | 3.5 | 93 |
| 13 | 5.00 | 0.9 | 3.0 | 96 |
| 14 | 5.00 | 0.9 | 3.0 | 97 |
| 15 | 5.00 | 0.9 | 3.0 | 95 |
| 16 | 5.00 | 0.9 | 3.0 | 96 |
| 17 | 5.00 | 0.9 | 3.0 | 97 |

各成分用量的交互作用对综合评分的影响见图 2-A。由表 3 和图 2-A 确定乳膏剂最优辅料配比为甘油添加量 5.13%、SP 添加量 0.91%、M318 添加量 3.01%，预测其综合评分为 96.2 分。对优化完成的 BHSY 乳膏剂进行制备并对其乳化效果进行检测，吸取 20 μL 乳膏到载玻片上，缓慢盖上盖玻片于正置显微镜下用 40 倍物镜观察乳膏的粒径分布，并通过纳米粒度分析仪测量乳膏粒径大小。结果见图 2-B、C，乳膏中乳滴粒径分布均匀，平均粒径为 5.9 μm ，显微镜下乳滴大小均一（图 2-D）。

2.4 BHSY 乳膏剂缓解皮肤痛觉的药效学评价

2.4.1 UVB 诱导大鼠皮肤晒伤模型的建立

取 SD 大鼠 42 只，随机分为 7 组，每组 6 只。大鼠右足背脱毛后，除对照组外，所有大鼠用 XZ-UVB10.0 的 LED 灯（波长 280~420 nm）照射^[6]，照射剂量 0.5 $\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。模型组不给药，阳性药组在患处涂抹磺胺嘧啶银软膏 150 mg，基质组给予空白基质 150 mg；BHSY 乳膏剂组分别涂抹不同浓度的乳

表 3 响应面拟合回归方程的方差分析结果

Table 3 Variance analysis of response surface fitting regression equation

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 方差 | F 值 | P 值 | 显著性 |
|----------------|---------|-----|---------|---------|---------|-----|
| 回归模型 | 49.48 | 9 | 5.50 | 9.50 | 0.003 6 | ** |
| A | 0.500 0 | 1 | 0.500 0 | 0.864 2 | 0.383 5 | |
| B | 1.13 | 1 | 1.13 | 1.94 | 0.205 8 | |
| C | 0.125 0 | 1 | 0.125 0 | 0.216 0 | 0.656 2 | |
| AB | 0.250 0 | 1 | 0.250 0 | 0.432 1 | 0.532 0 | |
| AC | 0.250 0 | 1 | 0.250 0 | 0.432 1 | 0.532 0 | |
| BC | 0.000 0 | 1 | 0.000 0 | 0.000 0 | 1.000 0 | |
| A ² | 5.09 | 1 | 5.09 | 8.81 | 0.020 9 | * |
| B ² | 23.25 | 1 | 23.25 | 40.19 | 0.000 4 | ** |
| C ² | 14.41 | 1 | 14.41 | 24.91 | 0.001 6 | ** |
| 残差 | 4.05 | 7 | 0.578 6 | — | — | |
| 失拟项 | 1.25 | 3 | 0.416 7 | 0.595 2 | 0.650 7 | |
| 纯误差 | 2.80 | 4 | 0.700 0 | — | — | |
| 合计 | 53.53 | 16 | — | — | — | |

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

膏 150 mg：低剂量组（0.06%，100 g 基质中含 BHSY 0.06 g）、中剂量组（0.17%）和高剂量组（0.50%）。每天给药 1 次，连续 6 d，并在每次给药前对大鼠足背皮肤拍照记录。

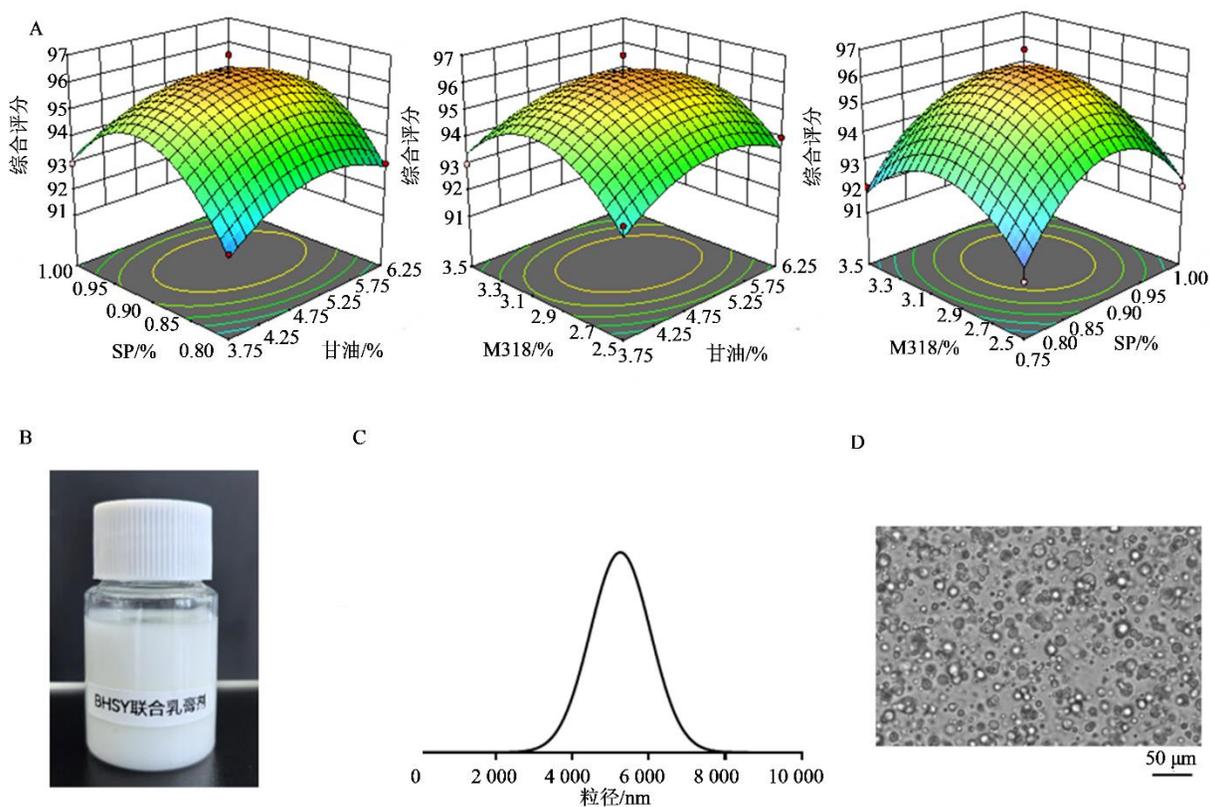
2.4.2 皮肤敏感性的评价

固定大鼠，使用压力应用测量仪缓慢按压大鼠晒伤足背，待大鼠出现收腿现象时，快速松开按压，记录仪显示数值作为大鼠

足背皮肤机械疼痛阈值，以此表示大鼠皮肤的敏感程度。

2.4.3 实验结果

在大鼠造模后足背皮肤出现红肿，而阳性药组和 BHSY 乳膏剂高剂量组的皮肤无明显的红肿现象，其第 3 天的表现如图 3-A 所示。损伤处皮肤痛阈的响应变化如图 3-B 所示，与对照组比较，UVB 照射后皮肤的痛阈明显下降（ $P <$



A-甘油、SP 和 M318 辅料配比对综合评分 3D 响应面；B-BHSY 乳膏剂；C-乳滴的粒径分布考察；D-显微观察 (×400)。
A-3D response surface maps of the ingredient proportion for glycerol, SP and M318 on comprehensive scores; B-BHSY cream; C-Cream particle size distribution; D-Micro-examination on cream particles (×400).

图 2 不同辅料的配比对乳膏制剂综合评分的影响

Fig. 2 Influence of different excipients on comprehensive score of cream formulations

0.001); 与模型组比较, 给药干预后可以明显提高皮肤疼痛阈值, 其中第 2 天和第 3 天疼痛缓解效果最为明显, 第 3 天所有给药组均差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 高剂量组在第 4、5 天仍然展示出一定的疗效 ($P < 0.05$), 表明 BHSY 乳膏剂可以有效缓解疼痛。

2.5 BHSY 乳膏剂改善 AD 小鼠炎症和敏感性

2.5.1 AD 小鼠模型的构建

Balb/c 小鼠 35 只随机分为对照组、模型组、艾洛松 (阳性药) 组、基质组和 BHSY 乳膏剂组, 每组 5 只。小鼠适应性饲养 1 周后, 在实验前第 1 天除去小鼠腹部毛发 (面积约 6 cm^2), 并涂抹 $25 \mu\text{L}$ 0.4% DNFB (溶于溶剂混合液中, 丙酮: 橄榄油 = 3: 1) 致敏, 对照组仅涂抹溶剂混合液。第 5 天除去小鼠背部毛发 (面积约 6 cm^2), 并涂抹 $20 \mu\text{L}$ 0.05% DNFB, 每天涂抹 1 次, 对照组仅涂抹溶剂混合液^[9]。第 7 天开始对照组仅涂抹 $20 \mu\text{L}$ 溶剂混合液, 其他组别继续造模的同时

开始给药, 基质组涂抹基质 200 mg , 阳性药组涂抹 200 mg 艾洛松软膏, BHSY 乳膏剂组分别涂抹低、中、高剂量 (0.06%、0.17%、0.50%) 的 BHSY 乳膏剂 200 mg , 连续涂抹至 21 d。

2.5.2 小鼠背部皮肤考察

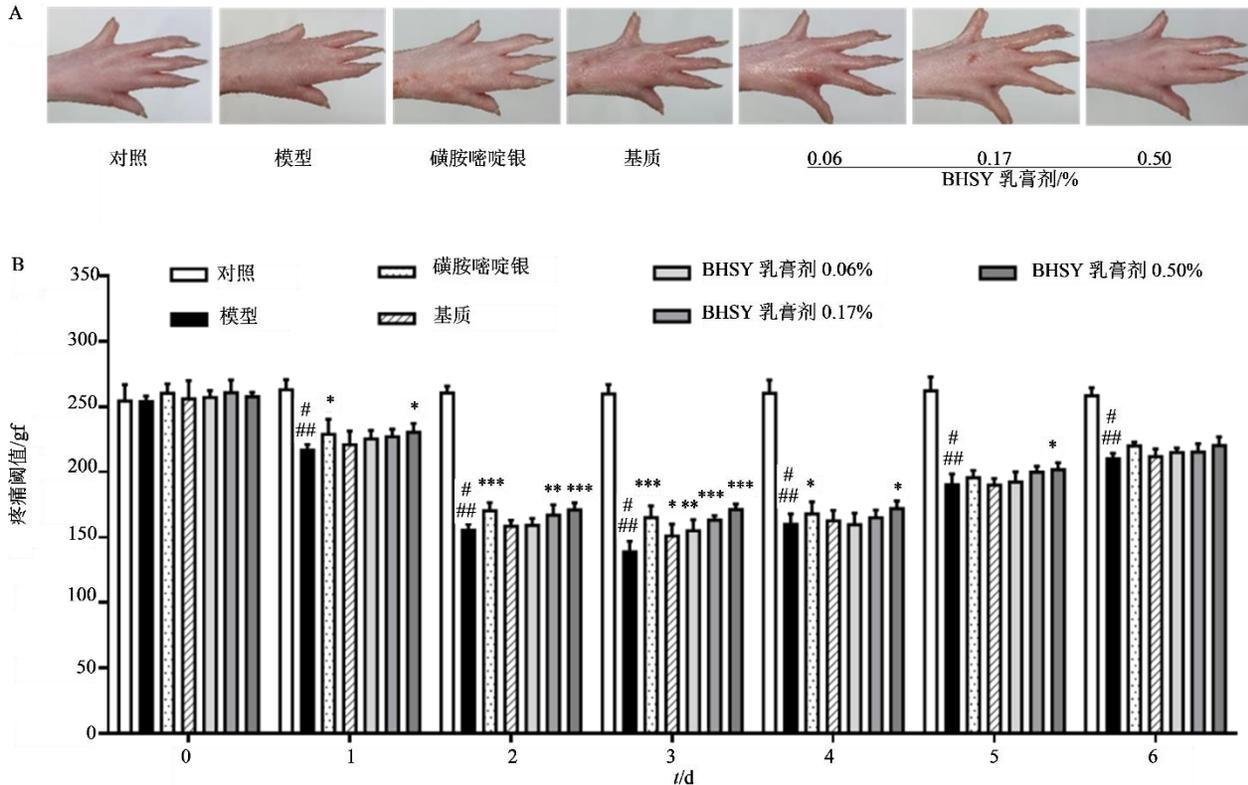
造模开始后, 对小鼠背部皮肤进行拍照记录, 并根据小鼠皮肤评分标准对小鼠背部皮肤皮损进行评分。评分标准见表 4。

2.5.3 小鼠瘙痒行为学考察

在实验开始后第 7、11、15、19 天, DNFB 涂抹后 1 min 开始记录小鼠 10 min 内的搔抓次数, 通过摄像记录小鼠抬起后爪抓挠颈背部及给药部位的次数, 每组重复统计 3 次, 统计小鼠搔抓行为。

2.5.4 皮肤组织病理检测

实验第 21 天后, 取小鼠颈背部造模区域皮肤, 采用 10% 福尔马林溶液固定, 经石蜡包埋切片后, 进行苏木精-伊红 (HE) 染色, 光学显微镜下观察皮肤组织病理变化, 并采用 Image J 软件分析表皮厚度。



A-UVB 照射后第 3 天大鼠右足背照片; B-大鼠足背机械疼痛阈值; 与对照组比较: ### $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
A-Photos of right paw on third day after UVB irradiation; B-Mechanical pain threshold of the rat paw; ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 3 BHSY 乳膏剂对 UVB 照射大鼠皮肤敏感性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Fig. 3 Effect of BHSY cream on skin sensitivity of UVB-irradiated rat ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 4 小鼠皮肤评分标准

Table 4 Scoring criteria of mice skin

| 症状 | 0 分 | 1 分 | 2 分 | 3 分 |
|------|-----|----------|----------|--------|
| 红斑 | 无症状 | 隐约可见、浅红色 | 清晰可见、暗红色 | 深红色 |
| 水肿 | 无症状 | 轻度水肿、不明显 | 肉眼可见皮肤高起 | 皮肤显著高起 |
| 表皮剥脱 | 无症状 | 少许表皮剥脱 | 大量表皮剥脱 | 深层表皮剥脱 |
| 结痂 | 无症状 | 糠状脱屑 | 片状鳞屑覆盖 | 厚鳞屑覆盖 |

2.5.5 炎症因子水平检测 取适量小鼠颈背部造模区域皮肤, 匀浆后提取 RNA, 通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测各组小鼠背皮中白细胞介素 (*IL*) -6、*IL*-4、*IL*-33、*IL*-1 β 、 γ 干扰素 (*INF*- γ)、肿瘤坏死因子 α (*TNF*- α) 炎症因子 mRNA 的表达水平。应用引物设计软件 Primer 5.0 设计 qRT-PCR 所需相关特异性引物, 由上海生工生物技术服务公司合成 (表 5)。

2.5.6 实验结果 结果如图 4 所示, 与对照组相比, 模型组由瘙痒引起的抓挠行为显著增加 ($P < 0.05$); 相较于模型组, 基质组和 BHSY 低剂量组的抓挠行为缓解不明显, 而阳性药组及 BHSY 中、高剂量组

表 5 qRT-PCR 引物序列

Table 5 Primer sequences of qRT-PCR

| 引物名称 | 引物序列 (5'→3') |
|--------------------------|---------------------------|
| <i>IL</i> -6-F | TAGTCCTTCTACCCCAATTTC |
| <i>IL</i> -6-R | TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC |
| <i>IL</i> -4-F | TACCAGGAGCCATATCCACGGATG |
| <i>IL</i> -4-R | TGTGGTGTTCCTTCGTTGCTGTGAG |
| <i>IL</i> -33-F | ATTTCCCCGGCAAAGTTCAG |
| <i>IL</i> -33-R | AACGGAGTCTCATGCAGTAGA |
| <i>IL</i> -1 β -F | TCGCAGCAGCACATCAACAAGAG |
| <i>IL</i> -1 β -R | AGGTCCACGGGAAAGACACAGG |
| <i>INF</i> - γ -F | CTGGAGGAAGTGGCAAAAGGATGG |
| <i>INF</i> - γ -R | GACGCTTATGTTGTTGCTGTATGGC |
| <i>TNF</i> - α -F | CACGCTCTTCTGTCTACTGAACCTC |
| <i>TNF</i> - α -R | CTTGGTGGTTTGTGAGTGTAGGG |

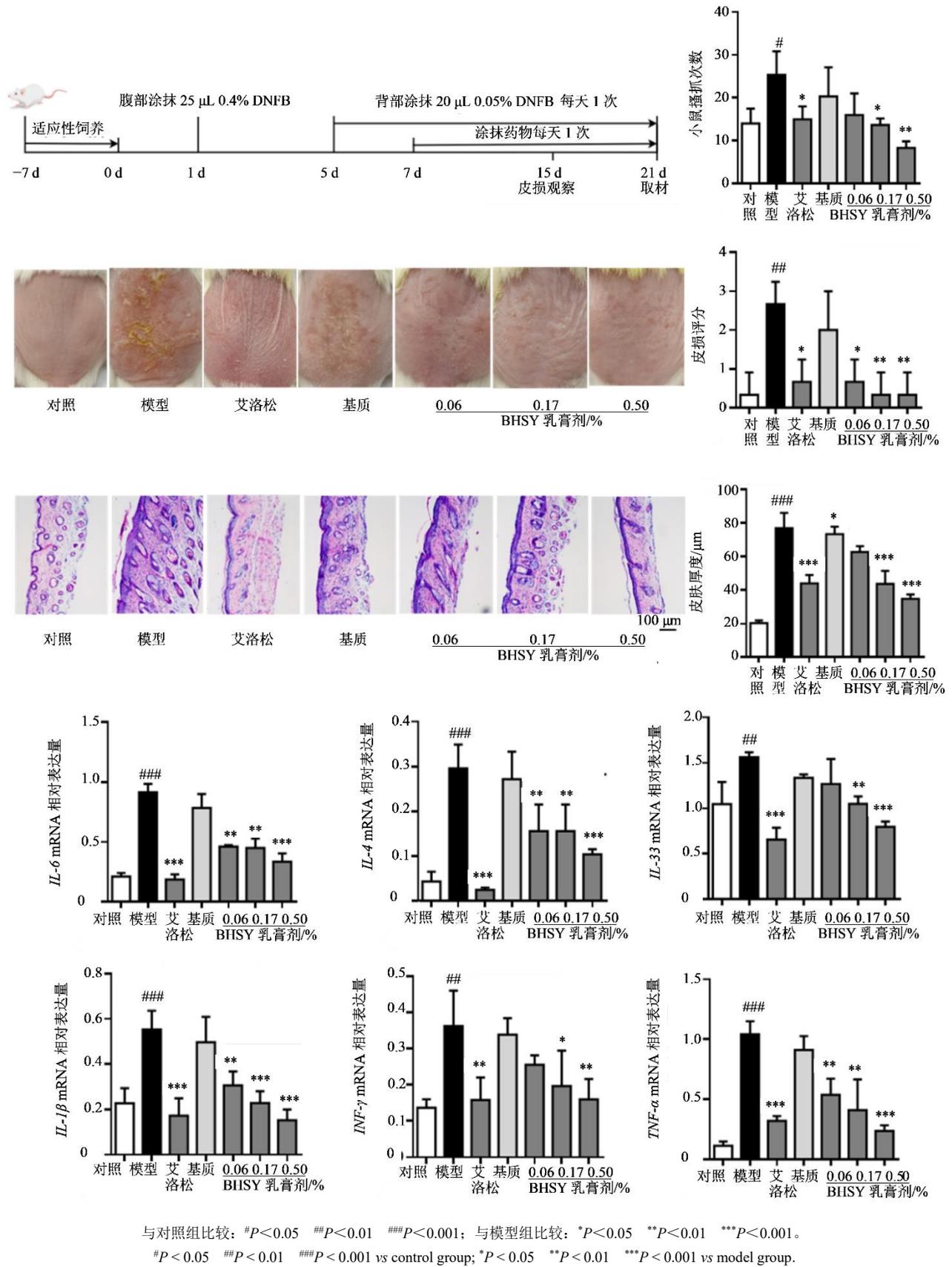


图 4 BHSY 乳膏剂对 AD 小鼠皮肤的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Effect of BHSY cream on skin of mice with AD ($\bar{x} \pm s, n=3$)

可以明显减少由瘙痒引起的抓挠行为 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

对照组小鼠背部皮肤较光滑, 模型组相较于对照组出现严重的皮肤干燥、结痂、鳞屑, 损伤评分显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性药组及 BHSY 乳膏剂组皮损情况有所减轻, 评分显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

HE 染色显示, 对照组小鼠背部皮肤结构完整, 角质层、表皮层无增厚, 真皮层炎症细胞浸润较少; 与对照组相比, 模型组表皮层明显增厚 ($P < 0.001$), 角质层广泛角化, 表皮不平坦且呈波浪状起伏, 炎症细胞浸润增多; 与模型组比较, BHSY 乳膏剂组可以剂量相关地逆转上述现象, 中、高剂量组皮肤厚度显著降低 ($P < 0.001$)。

此外, 与对照组比较, 模型组病变皮肤组织中的炎症因子 *IL-6*、*IL-4*、*IL-33*、*IL-1 β* 、*INF- γ* 、*TNF- α* 的 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组相比, 阳性药艾洛松软膏以及 BHSY 乳膏剂中、高剂量组可以明显降低上述炎症因子的 mRNA 表达水平 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 同时 BHSY 低剂量组中的炎症因子 *IL-6*、*IL-4*、*IL-1 β* 、*TNF- α* 的表达水平也有显著下降 ($P < 0.01$)。结果表明, BHSY 乳膏剂对缓解 AD 模型中的炎症有一定的作用。

3 讨论

AD 是一种慢性炎症性皮肤病, 瘙痒症状是该疾病最突出的临床特征。AD 瘙痒信号的传导涉及多个神经通路, 主要有组胺依赖性的痒信号通路及非组胺依赖性的痒信号通路^[17]。这 2 种通路都是通过痒觉信号激活脊髓丘脑束释放神经递质, 进而使细胞内 Ca^{2+} 浓度升高, 最后将痒觉信号传导至大脑皮层, 增强神经细胞兴奋性, 产生痒觉。研究证明 TRPA1 在非组胺依赖性瘙痒信号的传导中起重要作用, 可以通过介导 Ca^{2+} 的内流, 兴奋神经元, 产生瘙痒感^[18], 抑制 TRPA1 可以用于缓解 AD 的皮肤刺激症状。

TRPA1 为同源四聚体结构, 其中每个亚基包含 6 个跨膜螺旋结构域 (S1~S6) 和细胞内 N 端和 C 端。其中 S1~S4 为电压传感域, S5 和 S6 可以形成通道孔和选择性过滤器。在其 N 末端结构域中存在着反应性赖氨酸和半胱氨酸残基, 以及大量的锚蛋白重复序列 (ARD)。TRPA1 通常以 6 个跨膜结

构域的同源四聚体发挥作用, 其中 S6 跨膜结构域可以和 TRPA1 的激活剂与拮抗剂结合^[19]。单萜类化合物冰片被报道可能通过其羟基与 TRPA1 通道 S4~S5 linker 上的 S873、T874 和 Y812 残基相互作用, 抑制 TRPA1 通道的活性; 薄荷醇可以与 TRPA1 通道 S5 跨膜片段上的 S877 形成氢键从而对 TRPA1 产生抑制作用^[20]。亲电子性的藁本内酯可以和 TRPA1 通道 N 端 pre-S1 结构域中的半胱氨酸残基共价结合发挥抑制作用^[21-22]。另外有研究表明, TRPA1 通道 S6 跨膜片段上的 L941 和 I950 残基也可以作为 TRPA1 抑制剂的作用靶点^[23]。根据本课题组的前期研究, 将作用于同一个靶点蛋白不同位点的化合物合用, 会有协同增效的作用, 如连翘苷元和獐牙菜苦苷可靶向结合在苏氨酸激酶 (Akt) 蛋白的不同结构域, 二者合用则协同发挥了更强的抗炎效果^[24]。因此, 针对 TRPA1 复杂多样的构效关系, 提示选用不同的抑制剂也可能存在协同增效的配伍组合。

本研究利用 TRPA1 高表达细胞, 通过细胞荧光钙离子成像技术对 31 种天然产物进行了筛选, 并确认了 9 种 TRPA1 抑制剂。进一步的配伍研究发现, 白藜芦醇与和厚朴酚配伍组合 (5:1) 具有最佳的协同增效作用。白藜芦醇是一种天然非黄酮多酚类化合物, 广泛存在于虎杖、葡萄及花生等植物或果实中^[25]。有研究表明, TRPA1 半胱氨酸残基的共价修饰不参与白藜芦醇对 TRPA1 的抑制作用, 推测其通过非共价的方式与 TRPA1 通道的疏水口袋结合^[26]。Xiao 等^[27]报道 TRPA1 通道的 S5 跨膜片段是决定薄荷醇是否可以作为 TRPA1 抑制剂的关键结构域, 白藜芦醇是否可通过 S5 发挥 TRPA1 抑制作用有待于进一步研究。而和厚朴酚作为中药厚朴中的有效成分之一, 具有抗菌、抗炎、抗氧化和神经保护作用^[28]。目前和厚朴酚对 TRPA1 的抑制作用尚无相关报道, 但是有研究显示, 和厚朴酚可以特异性靶向 TRPV4 中 ARD 结构域的 Q239 残基从而影响其通道活性^[11], 也可以靶向 TRPC4 来减少钙离子的流入^[29]。由于不同的 TRP 通道亚型之间具有一定的同源性^[30], 推测和厚朴酚也可能通过结合 TRPA1 的 ARD 结构域抑制 TRPA1 通道的开放。因此, 白藜芦醇和和厚朴酚可能通过结合于 TRPA1 的不同位置发挥协同增效的作用。

AD 免疫学的异常表现为 Th1/Th2 的平衡失

调和炎症因子的分泌失常。有研究表明,拮抗 TRPA1 可调控 Th1/Th2 相关细胞因子的表达^[31]。研究发现 IL-1 β 、INF- γ 和 TNF- α 能增强 TRPA1 的表达和功能, Th2 型细胞因子 IL-4 可以下调 TRPA1 的表达^[32-33]。而抑制细胞内 Ca²⁺可抑制 IL-6 和 TNF- α 等炎症因子的表达^[34]。因此,白藜芦醇与和厚朴酚可能通过分别作用于 TRPA1 通道的不同位点共同抑制了 TRPA1 的活性,从而阻碍了胞内钙离子浓度的升高,进而缓解了 AD 皮肤的瘙痒、疼痛和炎症的产生,但其具体协同的分子机制仍需更进一步探究。

TRPA1 通道在人类皮肤的多种细胞均有表达,广泛的参与了皮肤的多种生理病理过程。目前已知的玫瑰痤疮、银屑病和接触性皮炎等伴有炎症和瘙痒症状的皮肤病均与 TRPA1 通道的开放密切相关^[35]。本研究筛选出的白藜芦醇与和厚朴酚双因联合制剂能够有效缓解由 TRPA1 通道引起的皮肤疼痛、瘙痒和炎症等多种不适,可舒缓皮肤的敏感症状,用于 AD 皮肤的养护。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 莫秀梅,刘俊峰,林颖,等. 特应性皮炎中西医结合临床实践指南(草案) [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2024, 23(3): 249-258.
Mo X M, Liu J F, Lin Y, et al. Clinical practice guide of integrated traditional Chinese and western medicine for atopic dermatitis (draft) [J]. Chin J Dermatovenereology Integr Tradit West Med, 2024, 23(3): 249-258.

[2] 李俊辉,张观玲,汪科敏. 保湿润肤剂联合糖皮质激素治疗儿童特应性皮炎的临床观察 [J]. 临床医药实践, 2023, 32(9): 662-665.
Li J H, Zhang G L, Wang K M. Clinical observation of moisturizing emollients combined with glucocorticoid in the treatment of children with atopic dermatitis [J]. Proceeding Clin Med, 2023, 32(9): 662-665.

[3] 刘玉峰. 特应性皮炎的治疗现状 [J]. 临床皮肤科杂志, 2006, 35(8): 481.
Liu Y F. The advance and current situation in the treatment of atopic dermatitis [J]. J Clin Dermatol, 2006, 35(8): 481.

[4] GDPA. 特应性皮炎的合理用药指引 [J]. 今日药学, 2022, 32(3): 161-175.
GDPA. Guidance for rational use of drugs in atopic dermatitis [J]. Pharm Today, 2022, 32(3): 161-175.

[5] Souza Monteiro de Araujo D, Nassini R, Geppetti P, et al.

TRPA1 as a therapeutic target for nociceptive pain [J]. Expert Opin Ther Targets, 2020, 24(10): 997-1008.

[6] 夏天一,李丽,陈宏翔. 瘙痒相关离子通道研究进展 [J]. 华中科技大学学报(医学版), 2022, 51(1): 114-119.
Xia T Y, Li L, Chen H X. Research progress of itch related ion channels [J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong, 2022, 51(1): 114-119.

[7] Koivisto A, Jalava N, Bratty R, et al. TRPA1 antagonists for pain relief [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2018, 11(4): 117.

[8] Lieu T, Jayaweera G, Zhao P S, et al. The bile acid receptor TGR5 activates the TRPA1 channel to induce itch in mice [J]. Gastroenterology, 2014, 147(6): 1417-1428.

[9] 陈超,周维康,陈爱军,等. DNCB 诱导 TRPA1 基因敲除小鼠特异性皮炎模型的建立与评价 [J]. 重庆医科大学学报, 2020, 45(8): 1162-1168.
Chen C, Zhou W K, Chen A J, et al. Establishment and evaluation of a TRPA1-knockout mouse model of 2, 4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis [J]. J Chongqing Med Univ, 2020, 45(8): 1162-1168.

[10] 曹南开,吕海宁,卫宁宁,等. 靶向瞬时受体电位通道天然调节剂的研究进展 [J]. 药科学报, 2017, 52(5): 673-684.
Cao N K, Lü H N, Wei N N, et al. Natural modulators of transient receptor potential channels [J]. Acta Pharm Sin, 2017, 52(5): 673-684.

[11] Niu L, Wang S L, Xu Y Y, et al. Honokiol targeting ankyrin repeat domain of TRPV4 ameliorates endothelial permeability in mice inflammatory bowel disease induced by DSS [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 325: 117825.

[12] 范丁兴,任鑫悦,王宇航,等. 和厚朴酚治疗脓毒症器官损伤作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4633-4642.
Fan D X, Ren X Y, Wang Y H, et al. Research progress on effects and mechanisms of honokiol in treatment of organ damage caused by sepsis [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(13): 4633-4642.

[13] 肖亚倩,李有恒,王军. 白藜芦醇在创面修复中的作用 [J]. 生物技术, 2024, 34(1): 120-125, 133.
Xiao Y Q, Li Y H, Wang J. Role of resveratrol in wound healing [J]. Biotechnology, 2024, 34(1): 120-125, 133.

[14] 张鹏,程凤琦,金圣奇,等. 丹皮酚的体内抗炎镇痛和体外抗氧化效果评价 [J]. 中国兽医杂志, 2022, 58(6): 96-100.
Zhang P, Cheng F Q, Jin S Q, et al. Evaluation of *in vivo* anti-inflammatory, analgesic and *in vitro* antioxidative effects of paeonol [J]. Chin J Vet Med, 2022, 58(6): 96-100.

- [15] 项佳媚, 肖伟, 许利嘉, 等. 积雪草的研究进展 [J]. 中国现代中药, 2016, 18(2): 233-238, 258.
Xiang J M, Xiao W, Xu L J, et al. Research progress in Centella asiatica [J]. Mod Chin Med, 2016, 18(2): 233-238, 258.
- [16] Bishop T, Hewson D W, Yip P K, et al. Characterisation of ultraviolet-B-induced inflammation as a model of hyperalgesia in the rat [J]. Pain, 2007, 131(1/2): 70-82.
- [17] Biazus Soares G, Hashimoto T, Yosipovitch G. Atopic dermatitis itch: Scratching for an explanation [J]. J Invest Dermatol, 2024, 144(5): 978-988.
- [18] 张洁尘, 蔺茂强. 瞬时感受器电位通道与老年慢性不明原因瘙痒症的研究进展 [J]. 皮肤科学通报, 2023, 40(5): 574-578.
Zhang J C, Man M Q. Transient receptor potential channel and chronic pruritus of unknown origin [J]. Dermatol Bull, 2023, 40(5): 574-578.
- [19] 卜凡洁, 张彦青, 解军波. TRPA1 离子通道及其功能研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(13): 1618-1626.
Bu F J, Zhang Y Q, Xie J B. Research progress of TRPA1 ion channel and its function [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38(13): 1618-1626.
- [20] Takaishi M, Uchida K, Fujita F, et al. Inhibitory effects of monoterpenes on human TRPA1 and the structural basis of their activity [J]. J Physiol Sci, 2014, 64(1): 47-57.
- [21] Zhong J, Pollastro F, Prenen J, et al. Ligustilide: A novel TRPA1 modulator [J]. Pflugers Arch, 2011, 462(6): 841-849.
- [22] Zhang K X, Liu W J, Shen F K, et al. Ligustilide covalently binds to Cys703 in the pre-S1 helix of TRPA1, blocking the opening of channel and relieving pain in rats with acute soft tissue injury [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 330: 118217.
- [23] Paulsen C E, Armache J P, Gao Y, et al. Structure of the TRPA1 ion channel suggests regulatory mechanisms [J]. Nature, 2015, 525(7570): 552.
- [24] Ma X Y, Zhang J L, Fang G, et al. Förster resonance energy transfer reveals phillygenin and swertiamarin concurrently target AKT on different binding domains to increase the anti-inflammatory effect [J]. Chin Chem Lett, 2024, 35(5): 108823.
- [25] 黄乔, 程晨, 左斌, 等. 白藜芦醇对奥沙利铂所致大鼠背根神经节 TRP 通道影响的作用及机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(4): 409-414.
Huang Q, Cheng C, Zuo B, et al. Effects of resveratrol on transient receptor potential channels in dorsal root ganglion of rats induced by oxaliplatin and its mechanism [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2020, 31(4): 409-414.
- [26] Nalli M, Ortar G, Moriello A S, et al. TRPA1 channels as targets for resveratrol and related stilbenoids [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2016, 26(3): 899-902.
- [27] Xiao B L, Dubin A E, Bursulaya B, et al. Identification of transmembrane domain 5 as a critical molecular determinant of menthol sensitivity in mammalian TRPA1 channels [J]. J Neurosci, 2008, 28(39): 9640-9651.
- [28] Li Y, Liang C L, Zhou X Y. The application prospects of honokiol in dermatology [J]. Dermatol Ther, 2022, 35(8): e15658.
- [29] Niu L, Wang J, Shen F K, et al. Magnolol and honokiol target TRPC4 to regulate extracellular calcium influx and relax intestinal smooth muscle [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 290: 115105.
- [30] 何胜楠, 洪学传. TRPV3 通道蛋白的研究现状 [J]. 山东化工, 2023, 52(3): 89-93.
He S N, Hong X C. Research status of TRPV3 channel proteins [J]. Shandong Chem Ind, 2023, 52(3): 89-93.
- [31] Zeng Z W, Huang J Q, Chen Y, et al. Acupoint autohemotherapy attenuates atopic dermatitis lesions by regulating Th1/Th2 balance in DNCB-induced BALB/c mice [J]. Chin J Integr Med, 2022, 28(7): 612-619.
- [32] Luostarinen S, Hämäläinen M, Pemmari A, et al. The regulation of TRPA1 expression and function by Th1 and Th2-type inflammation in human A549 lung epithelial cells [J]. Inflamm Res, 2023, 72(7): 1327-1339.
- [33] Zhao D, Han D F, Wang S S, et al. Roles of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in regulating bone cancer pain via TRPA1 signal pathway and beneficial effects of inhibition of neuro-inflammation and TRPA1 [J]. Mol Pain, 2019, 15: 1744806919857981.
- [34] Kempuraj D, Huang M, Kandere-Grzybowska K, et al. Azelastine inhibits secretion of IL-6, TNF- α and IL-8 as well as NF- κ B activation and intracellular calcium ion levels in normal human mast cells [J]. Int Arch Allergy Immunol, 2003, 132(3): 231-239.
- [35] 洪安澜, 林彤. TRP 通道在炎症性皮肤病中的作用 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2023, 39(2): 129-133.
Hong A L, Lin T. Update of the role for TRP channels in inflammatory skin diseases [J]. China J Lepr Skin Dis, 2023, 39(2): 129-133.