

薄荷醇的止痒作用及对瘙痒相关因子的影响

王 晖¹, 沈非沉¹, 陈 垦², 梁 庆¹, 唐晓峰^{1*}

(1 广东药学院 中药药理学教研室, 广东 广州 510006; 2 广东药学院护理学院, 广东 广州 510310)

摘 要: 目的 探讨薄荷醇的止痒作用及其可能的作用机制。方法 小鼠 sc 0.05% 组胺+0.02% 4-氨基吡啶 (4-AP) 溶液制备瘙痒模型, 于注射造模药物前分别于待注射部位涂抹薄荷醇, 观察小鼠的搔抓潜伏期和 30 min 内搔抓次数, 并测定血清中组胺、 γ -干扰素 (IFN- γ) 和白细胞介素-6 (IL-6) 的量。结果 与模型组相比, 薄荷醇中、高剂量组和 30 min 内搔抓次数均显著减少 ($P < 0.05, 0.01$), 而搔抓潜伏期均有明显增加 ($P < 0.05$)。薄荷醇低、中、高剂量组小鼠血清中组胺的水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 薄荷醇中、高剂量组小鼠血清中 IL-6 的水平显著减少 ($P < 0.05$), 但薄荷醇各组对 IFN- γ 均无显著的影响 ($P > 0.05$)。病理检查显示模型组出现大量炎症细胞的增生、浸润, 薄荷醇治疗组 (低、中、高剂量组) 也可观测到少量炎症细胞, 但均少于模型组。结论 薄荷醇具显著的止痒作用, 降低瘙痒小鼠血清中组胺和 IL-6 的量是其作用机制之一。

关键词: 薄荷醇; 瘙痒; 组胺; IL-6; IFN- γ

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)10-1617-03

薄荷醇又称薄荷脑、薄荷冰, 多年来其一直是多种常用外用止痒药物的主要成分。但薄荷醇单用时的明确止痒效果和具体的作用机制近年来少见文献报道。国外文献主要围绕其致冷感受体 TRPM8 进行研究, 但薄荷醇本身对局部组织的直接影响及其对机体内与瘙痒相关的细胞因子如组胺、 γ -干扰素 (IFN- γ) 和白细胞介素-6 (IL-6) 等的影响尚不明确。本实验采用复合因素致瘙痒模型^[1]来观察薄荷醇单用时对皮肤感受性瘙痒的止痒作用, 观察其对局部组织的作用, 运用血清 ELISA 方法观察其对几种与瘙痒相关的细胞因子的影响。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂: 磷酸组胺, 上海东风生化技术有限公司; 4-氨基吡啶 (4-AP), Merck 公司; 薄荷醇 (质量分数 ≥ 99.5), 上海香料厂; 醋酸曲安奈德, 上海医药 (集团) 有限公司, 批号 060405; 小鼠血清组胺 ELISA 检测试剂盒和小鼠血清 IFN- γ ELISA 检测试剂盒, 均为北京天来生物医学科技有限公司; 小鼠血清 IL-6 ELISA 检测试剂盒, 晶美生物工程有限公司; 其他试剂均为分析纯。

1.2 实验仪器: 透明小鼠用观察箱, 自制; 切片机, 上海先申医教仪器厂; 光学显微镜, 日本 Nikon 公司; 数码摄像机, 日本 JVC 公司。

1.3 实验动物: 昆明种小鼠, SPF 级, 体质量 18~22 g, 雌雄兼用, 由广东医学院实验动物中心提供,

动物合格证编号: 2007A035。

1.4 实验分组、造模及给药方案: 小鼠随机分为 5 组, 分别为模型组, 薄荷醇高、中、低剂量 (质量分数 4%、2%、1%) 组, 阳性对照 (0.05% 醋酸曲安奈德) 组。采用小鼠复合瘙痒模型^[1], 各组小鼠颈背部脱毛后, sc 0.05% 组胺+0.02% 4-AP 混合溶液 (生理盐水配制), 每只 100 μ L 造模。注射造模药物之前在注射部位周围涂抹治疗药物, 薄荷醇及阳性药均使用 70% 乙醇配制, 模型组涂抹 70% 乙醇。

1.5 观察指标: 观察造模后小鼠的搔抓潜伏期、30 min 内搔抓次数, 按试剂盒方法测定血清中组胺、IFN- γ 、IL-6 的水平, 观察注射部位周围真皮组织的变化 (HE 染色)。

1.6 统计学处理: 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 11.0 统计软件进行 t 或 t' 检验。

2 结果

2.1 行为学实验结果: 与模型组相比, 薄荷醇中、高剂量组 30 min 内搔抓次数均显著减少 ($P < 0.05, 0.01$), 薄荷醇中、高剂量组和阳性药组对搔抓潜伏期有明显延长作用 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

2.2 血清 ELISA 检测结果: 按血清 ELISA 检测试剂盒说明书要求分别检测小鼠血清中组胺、IFN- γ 、IL-6 的水平, 结果发现薄荷醇低、中、高剂量组及阳性药组小鼠血清中组胺的质量浓度均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 薄荷醇中、高剂量组小鼠血清

* 收稿日期: 2008-12-07

基金项目: 广东省科技计划项目 (2007A060305006); 广州市科技计划项目 (2007J1-C0281)

作者简介: 王 晖, 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向为皮肤黏膜药理学和定量药理学。

Tel: (020) 39352180 E-mail: gdwanghui2006@126.com

中 IL-6 的质量浓度显著减少 ($P < 0.05$), 但薄荷醇各组组和阳性组对 IFN- γ 均无显著的影响 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

2.3 HE 染色镜下观察结果: 在薄荷醇止痒作用的研究中, 病理检查显示模型组出现大量炎细胞的增生、浸润, 薄荷醇低、中、高 3 个剂量组和阳性药组也

表 1 薄荷醇对瘙痒小鼠搔抓行为学的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of menthol on scratching behavior

in pruritus of mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	质量分数/%	动物/只	30 min 内搔抓次数	搔抓潜伏期/s
模型	-	10	28.50 ± 8.40	84.70 ± 45.01
薄荷醇	1	9	21.78 ± 10.31	146.33 ± 71.42
	2	10	19.32 ± 6.49*	195.90 ± 99.21*
	4	10	15.20 ± 5.73**	222.31 ± 103.19*
阳性药	0.05	9	13.70 ± 6.22**	205.10 ± 95.71*

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

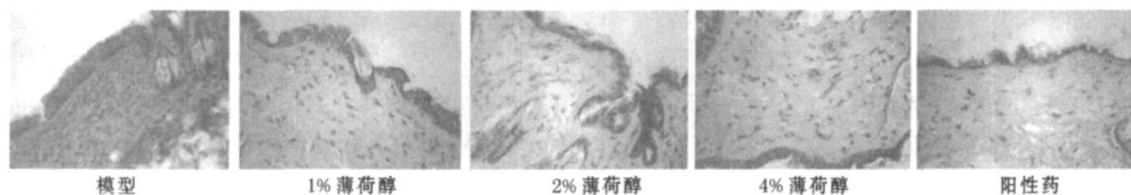


图 1 各组小鼠真皮组织 HE 染色结果

Fig. 1 Results of HE stain of skin tissue from mice in every group

3 讨论

大多数皮肤病都可产生瘙痒症状, 常见的有: 过敏性皮肤病 (湿疹、接触性皮炎)、特应性皮炎、疱类皮肤病 (类天疱疮、疱疹样皮炎)、真菌性皮肤病、扁平苔藓、虱病、疥疮、日光性皮炎、干燥症、皮肤淋巴瘤、银屑病等。皮肤瘙痒的发生可能是一个多因素相互作用的结果, 相同的致痒介质在不同疾病瘙痒的发生中发挥的作用可能不同, 在同一疾病发展的不同阶段中可能有不同的介质参与瘙痒的发生^[2]。

薄荷醇为唇形科植物薄荷的提取物, 具有明显的抗炎、镇痛、止痒、局麻、促透、降温等作用^[3], 已成为皮肤科常用的抗炎止痒药物之一。50 年前, 有学者也已经证实薄荷醇可以激活一些对冷刺激敏感的外周无髓神经纤维的终末, 提示这种物质可能是冷觉感受器的激动剂^[4]。2002 年 Julius 和 Patapoutian 领导的两个实验组分别用不同方法同时克隆并鉴定出冷觉感受器基因及其蛋白功能 (分别命名为 CMR1 或 TRPM8), 并证实其实属于 TRP 超家族 TRPM 亚家族的成员, 即 TRPM8 或 CMR1。TRPM8 主要分布在三叉神经节和背根神经节的小直径神经元。克隆的该通道可被冷刺激 (8~28 °C) 激活, 也可被薄荷醇激活, 使非选择性阳离子通道开放, 主要引起

可观察到少量炎细胞, 但均明显少于模型组。渗出的炎细胞以中性粒细胞为主, 结果见图 1。结合行为学观察的实验结果, 可以推测 3 个薄荷醇治疗组和阳性药组对动物模型出现的急性炎症反应有一定抑制作用。

表 2 薄荷醇对瘙痒小鼠血清细胞因子的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of menthol on serum cytokines in pruritus of mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	质量分数/%	动物/只	组胺/ (ng · mL ⁻¹)	IFN- γ / (pg · mL ⁻¹)	IL-6/ (pg · mL ⁻¹)
模型	-	10	0.27 ± 0.07	1.49 ± 0.72	18.34 ± 5.06
薄荷醇	1	9	0.19 ± 0.08*	1.62 ± 0.54	16.72 ± 3.23
	2	10	0.18 ± 0.11*	1.83 ± 0.45	14.16 ± 3.54*
	4	10	0.16 ± 0.05**	1.96 ± 0.78	13.19 ± 4.06*
阳性药	0.05	9	0.20 ± 0.10*	1.88 ± 0.56	14.87 ± 2.51

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

Ca²⁺ 内流^[5], 因此推测薄荷醇的止痒作用除与其清凉与局麻作用有关外, 有可能通过多种瘙痒介质和细胞因子的影响发挥其止痒作用。研究证实薄荷醇对组胺诱导的人体皮肤瘙痒有显著的抑制作用^[6]; 薄荷醇在离体状态下对家兔、豚鼠的回肠、子宫活动的张力、强度、强度-张力差均有明显的抑制作用, 并能对抗组胺、乙酰胆碱、氯化钡等引起的肠管活动亢进^[7]。也有研究表明其对该类瘙痒的强度和持续时间的影响无显著性意义^[8], 表明薄荷醇的止痒作用也可能与组胺无关。有研究表明薄荷醇在体外对白三烯 B₄、前列腺素 E₂ 和 IL-1 β 的生成有显著抑制作用^[9], 对 IL-6 受体的合成及其所在细胞的生长具有抑制作用^[10]。

从本实验的结果来看, 薄荷醇能抑制由组胺和 4-AP 共同引起的瘙痒, 从血清 ELISA 检测的结果也发现, 薄荷醇对小鼠的血清组胺浓度有显著的减少作用, 但薄荷醇对血清 IFN- γ 无显著的影响。结合病理切片的结果来看, 表明薄荷醇具有显著的止痒作用, 其止痒作用可通过影响一些相关因子发挥作用。

参考文献:

- [1] 陈月葵, 王 晖, 梁 庆, 等. 复合物致小鼠瘙痒模型的建立 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(1): 1261-1264

- [2] 杨慧敏, 徐佳, 杨岚, 等. 皮肤瘙痒的发生机理与中医辨证施治相关性探讨 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2006, 5(3): 175-181.
- [3] 梁呈元, 李维林, 张涵庆, 等. 薄荷化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(3): 9-12.
- [4] Dodt E, Zotterman Y. The discharge of specific cold fibres at high temperatures (the paradoxical cold) [J]. *Acta Physiol Scand*, 1952, 26: 358-365.
- [5] 陈军. 哺乳动物外周皮肤温热冷感首期的分子生物学基础 [J]. 神经解剖学杂志, 2004, 20(2): 186-190.
- [6] Bromm B, Scharein E, Darsow U, et al. Effects of menthol and cold on histamine induced itch and skin reactions in man [J]. *Neurosci Lett*, 1995, 187(3): 157-160.
- [7] 谢以若, 秦杰. 薄荷醇对家兔、豚鼠、小鼠离体肠平滑、子宫肌的作用 [J]. 教学与医疗, 1998, 4(3): 1-3.
- [8] Yosipovitch G, Szolar C, Hui X Y, et al. Effect of topically applied menthol on thermal, pain and itch sensations and biophysical properties of the skin [J]. *Arch Dermatol Res*, 1996, 288(5-6): 245-248.
- [9] Juergens U R, Stober M, Vetter H. The anti-inflammatory activity of L-menthol compared to mint oil in human monocytes *in vitro*: a novel perspective for its therapeutic use in inflammatory diseases [J]. *Eur J Med Res*, 1998, 3(12): 539-545.
- [10] Sidell N, Tage T, Hiran T, et al. Retinoic acid-induced growth inhibition of a human myeloma cell line via down-regulation of IL-6 receptors [J]. *J Immunol*, 1991, 146(11): 3809-3814.

阿魏胶囊对高脂血症大鼠血脂相关酶的影响

薛洁¹, 王茜², 张海英^{1*}

(1. 新疆医科大学附属中医医院, 新疆 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆医科大学, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要: 目的 研究阿魏胶囊对血脂相关酶的影响。方法 通过高脂血症动物模型, 应用生物化学的方法研究阿魏胶囊对血脂相关酶的影响。结果 动物的脂蛋白脂肪酶 (LPL)、肝脂酶 (HL) 及羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶活性的值与模型对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01$), 阿魏胶囊组 HL 和 LPL 的酶活性增加, HMG-CoA 酶活性降低。结论 阿魏胶囊调节血脂主要机制有提升机体内的 HL 和 LPL 的酶活性, 加速血液中甘油三酯和游离胆固醇的降解, 抑制 HMG-CoA 酶活性。

关键词: 高脂血症; 阿魏胶囊; 血脂酶

中图分类号: R286.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2009)10-1619-03

高胆固醇和高脂蛋白血症是心血管疾病的主要危险因素, 降低血浆胆固醇水平是治疗动脉粥样硬化疾病的有效方法。降脂类化学药物具有降脂快速和效果明显的特点, 但由于其潜在的不良反应^[1]、患者对药物的依赖性以及作用靶点较为单一, 因而很难满足不同高脂血症患者的需求。与之相比较而言, 中药制剂对于治疗高脂血症这类复杂的疾病, 具有不良反应小、多靶点协同作用的优势^[2]。近年来, 医学科研工作者们通过大量的科学研究和临床实验, 发掘了一批具有显著降脂作用的中药^[3]。

随着分子生物学在降脂类药物作用机制研究中的应用, 近 10 年来, 国内外的医学科研工作者发现了很多与脂类代谢作用相关的重要酶和基因。涉及脂类合成相关酶, 如 HMG-CoA^[4] (羟甲基戊二酰辅酶 A)、LPL (脂蛋白脂肪酶)、HL (肝脂酶) 和 LCAT (卵磷脂胆固醇脂酰转移酶) 等重要酶类^[4], 它们在胆固醇的分解吸收代谢过程中也起着极为重

要的作用。涉及脂类转运相关基因, 如 ApoE (载脂蛋白 E)^[5,6] 和 ApoA4 (载脂蛋白 A4)^[7] 均为胆固醇在肝内外的转运, 加速胆固醇的代谢。

临床应用和动物实验结果均表明阿魏胶囊在血脂调节作用方面具有显著的作用^[8]。但是该药在体内的什么部位起作用和究竟是如何起作用, 是一个需要解决的关键问题。因此, 研究阿魏胶囊的降脂作用机制对于该药的应用具有重要意义。

1 实验材料

1.1 仪器设备: BecMan (Allegra 64R) 低温冷冻离心机、紫外分光光度计 (Cintra 20)、Sartorius BS224S 精密电子天平、Sartorius PB-19 普及型 pH 计、DK-8D 型电热恒温水浴槽。

1.2 试剂: 总脂酶测试盒 (LPL 和 HL) 购自南京建成生物工程研究所; 胆固醇 (游离型) 测定试剂盒购自上海名典生物工程有限公司。HMG-CoA 购自 Sigma。其他常规化学试剂均为国产分析纯级。

* 收稿日期: 2009-05-26
基金项目: 国家“十一五”支撑资助项目 (2007BAI20B07)
作者简介: 薛洁, 女, 博士, 教授, 硕士生导师。