



引用格式:任晗堃,刘宇红,孟宏,等. 荆芥复方提取液的抗敏功效研究[J]. 轻工学报,2016, 31(4):44-48.

中图分类号:TQ652 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.4.006

文章编号:2096-1553(2016)04-0044-05

荆芥复方提取液的抗敏功效研究

Study on anti-allergy efficacy of *Nepeta cataria* prescriptions

任晗堃,刘宇红,孟宏,董银卯

REN Han-kun, LIU Yu-hong, MENG Hong, DONG Yin-mao

北京工商大学 中国化妆品协同创新中心,北京 100048

Chinese Cosmetic Collaborative Innovation Center, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China

关键词:

荆芥;复方提取液;抗敏功效;动物实验

Key words:

Nepeta cataria; prescriptions; anti-allergy efficacy; mice level

摘要:采用水提取法制备出荆芥复方提取液(生药的质量浓度0.05 g/mL),通过样品对豚鼠皮肤瘙痒模型的体内止痒实验、大鼠被动皮肤过敏模型的抗敏作用实验和豚鼠皮肤脱水模型的皮肤修复作用实验,评估荆芥复方提取液在动物水平上的抗敏功效.实验结果表明,在0.5 wt%受试浓度下,磷酸组胺致痒阈达(154 ± 31) μg;在2.0 wt%受试浓度下,毛细血管通透性降低率为15.5%;在0.5 wt%受试浓度下,敏后肌肤水分散失保护率为18%.这说明荆芥复方提取液在动物水平上具有良好的止痒、消肿及敏后修复功效.

收稿日期:2016-04-13

作者简介:任晗堃(1989—),男,安徽省马鞍山市人,北京工商大学工程师,主要研究方向为功能型化妆品植物功效原料.

Abstract: *Nepeta cataria* prescriptions were extracted with distilled water and the mass concentration of *Nepeta cataria* in the extract was 0.05 g/mL. The animal models of anti-pruritus, passive cutaneous anaphylaxis (PCA) and dehydrated skin of guinea pig after allergy were applied to study relieve itching, detumescence and allergic skin repair activity of the active extraction. Results showed that the extracts of *Nepeta cataria* prescriptions with mass concentration of 0.5 wt% could significantly mitigated the amount of the histamine phosphate and run up the threshold of itch at $(154 \pm 31) \mu\text{g}$. Further, vascular permeability by 15.5% with mass concentration of 2.0 wt% and the protection rate of water dispersion in allergic skin was 18% with mass concentration of 0.5 wt%. Meanwhile, the extract of *Nepeta cataria* prescriptions in cream matrix also could promote relieve itching, eliminate the redness of red and moisturize the allergic skin in clinical evaluation.

0 引言

随着人们生活节奏的加快、工作压力的增大及饮食结构的变化,过敏性体质人群快速增长.据不完全统计,过敏病患已占世界人口 $2/5$ ^[1],在全球范围内,自我感觉为过敏性肌肤的人数越来越多,皮肤过敏已经成为影响人类健康的社会问题,也是学者们研究的热点问题,开发一款绿色、天然、安全且具有良好抗过敏功效的植物原料化妆品意义深远.从天然植物中寻找低毒、高效、安全、经济的抗过敏添加剂,可避免化学合成制剂制作成本高、不良反应大的缺点,是功能食品及功能化妆品领域重要的研究方向^[1].

中医理论认为,“禀赋不耐、湿热毒邪”易造成皮肤敏感、瘙痒、红肿、脆弱等一系列问题^[2-3].荆芥复方按“君、臣、佐、使”配伍原则,纳荆芥“祛邪行风”之功、取藤茶“清热解毒”之效、蕴苦参“祛热燥湿”之力、收麦冬和黄芪“固本调和”之益,其提取液具有良好的抗敏功效.本文拟从内在机理出发,通过动物实验平台研究荆芥复方提取液在抗敏方面的功效,为其在化妆品中的应用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

主要材料:苦参、藤茶、荆芥、麦冬和黄芪,中药饮片,安国市盛泰中药饮片有限公司产;健

康豚鼠(体重 (250 ± 10) g),SD大鼠(体重 (180 ± 10) g),均为SPF/VAF级,雌雄各半,由北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司提供.

主要试剂:丙酮、乙醚,均为分析纯,北京化工厂产;磷酸组胺、二硝基苯酚单克隆抗体(anti-DNP IgE)、二硝基酚-人血清白蛋白(DNP-HAS)、伊文思蓝,均为生化试剂,美国Sigma公司产.

主要仪器:CM825型皮肤含水量检测仪,德国CK公司产;FI-01620型酶标仪,美国Thermo公司产;PL1001-L型电子天平,瑞士Mettler Toledo公司产.

1.2 方法

1.2.1 荆芥复方提取液的制备 根据传统中医组方思想,按照质量比2:1:2:1:1比例称取苦参、藤茶、荆芥、麦冬和黄芪5味中药共100 g,加入20倍95%(v/v)乙醇进行热回流提取2 h,过滤,除去滤渣,滤液经减压浓缩除去全部乙醇后,加入与乙醇投料量相同质量的1,3-丁二醇进行复溶,得到荆芥复方提取液,生药的质量浓度为0.05 g/mL.

1.2.2 体内止痒功效实验 采用磷酸组胺致痒法制作过敏性瘙痒模型^[4].取豚鼠30只,雌雄各15只,于实验前1 d右后足背剃毛,去毛面积约 2 cm^2 .将豚鼠随机分成5组,即模型对照组、样品0.5 wt%浓度组、样品1.0 wt%浓度组、样品2.0 wt%浓度组、样品5.0 wt%浓度组.连续2 d于去毛处分别按照 0.1 g/cm^2 的剂

量均匀涂抹相应受试物;模型对照组涂抹等容积生理盐水. 实验第3 d,称取磷酸组胺适量,临用前以生理盐水配成0.01% (w/v),0.02% (w/v),0.03% (w/v),0.04% (w/v),0.05% (w/v),0.06% (w/v),0.07% (w/v),0.08% (w/v),0.09% (w/v),0.10% (w/v)梯度浓度溶液备用.用粗砂纸将豚鼠右后足背去毛处擦伤,面积约1 cm²,局部再涂样品1次,10 min后在擦伤处滴0.01% (w/v)磷酸组胺0.05 mL,观察3 min内是否出现豚鼠回头舔右后足行为,如未出现,在擦伤处继续滴0.02% (w/v)磷酸组胺0.05 mL,观察3 min内是否有添足行为.以后每隔3 min按上述梯度递增浓度,每次均在擦伤处滴磷酸组胺溶液0.05 mL,直到出现豚鼠回头舔右后足.以此时所滴取的磷酸组胺累计总量为致痒阈,计算各组致痒阈并比较组间此项指标的差异性.

1.2.3 被动皮肤过敏实验 被动皮肤超敏反应PCA (Passive Cutaneous Anaphylaxis)是利用与同种或异种动物组织有结合性的抗体所引起的局部过敏反应,来检验抗体或抗原的高敏感度的方法^[5-6].本文通过研究荆芥复方提取液对PCA的影响,探讨其抗I型超敏反应的作用效果.

取大鼠70只,雌雄各半,室温环境下分笼饲养,自由取食及摄水,适应性饲养5 d后按体重随机分为7组,分别为空白对照组、模型对照组、阴性对照组(样品溶剂)、样品0.5 wt%浓度组、样品1.0 wt%浓度组、样品2.0 wt%浓度组、样品5.0 wt%浓度组,每组10只.背部剃毛后,除空白对照组外,其余各组大鼠背部选取3个点,每两点间距约为1.5 cm,每点皮下注射anti-DNP IgE 0.5 μg.48 h后,各组大鼠尾静脉注射含有4%伊文思蓝的DNP-HAS 100 μg.在尾静脉注射DNP-HAS前1 h,在给药各组大鼠背部,以注射anti-DNP IgE的点为中心,每点涂

抹2 cm²面积的相应药物.样品组大鼠按照0.1 g/(2 cm²)剂量局部皮肤涂抹给药.静脉注射DNP-HAS 30 min后处死大鼠.剪下背部注射点区域蓝染皮肤,使用1:1 (v/v)丙酮-生理盐水混合溶液浸泡24 h,离心取上清,用酶标仪于620 nm处检测吸光值.使用伊文思蓝溶液制作标准曲线,计算每只大鼠背部皮肤染料含量并比较组间此项指标的差异性.

1.2.4 敏后皮肤修复实验 敏后皮肤修复实验借助皮肤脱水模型,测定样品对皮肤含水量的影响,以评价样品对过敏皮肤的修复功效.

取豚鼠42只,于实验前1 d颈背部剃毛,面积约为2 cm×2 cm,随机分成7组:空白对照组、模型对照组、阴性对照组(样品溶剂)、样品0.5 wt%浓度组、样品1.0 wt%浓度组、样品2.0 wt%浓度组、样品5.0 wt%浓度组.除了空白对照组豚鼠,其余各组取丙酮:乙醚=1:1 (v/v)混合液150 μL滴于去毛处,10 min后分别取相应样品涂抹于去毛部位,每天两次,连续5 d,空白对照组和模型对照组豚鼠用蒸馏水涂抹于去毛处.于第5 d涂抹样品20 min后使用水分含量测定仪测量豚鼠脱毛处皮肤含水量,比较组间此项指标的差异,并计算水分散失保护率.

$$\text{水分散失保护率} =$$

$$\frac{(\text{用药组皮肤含水量} - \text{模型组皮肤含水量})}{\text{空白对照组皮肤含水量}} \times 100\%$$

1.2.5 实验数据的统计分析 在分析样品组与对照组之间各项指标的差别时,采用SPSS 17.0 Dunnett-t检验,选定显著性水平 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$.

2 结果与讨论

2.1 荆芥复方提取液体内止痒功效

机体发生过敏性疾病或产生炎症时,肥大细胞中作为化学传递物质的组胺起着重要作

用^[7]. 痒是皮肤过敏反应的一个症状,亦与局部肥大细胞释放组胺有关,因此可利用外源性组胺诱导释放内源性组胺致动物皮肤瘙痒模型来检测样品使动物耐受组胺的能力,进而评价样品的止痒和抗敏功效. 样品的抗敏功效可以通过磷酸组胺致痒阈得到直观反映,阈值越高,说明抗敏效果越好.

不同浓度荆芥复方提取液磷酸组胺致痒豚鼠的致痒阈见图 1. 由图 1 可见,使用受试品涂抹致痒部位后,所有浓度荆芥复方提取液均可显著提高豚鼠磷酸组胺致痒阈,与模型对照组比较有显著性差异 ($P < 0.01$),且致痒阈与荆芥复方提取液浓度呈正比. 用 0.5 wt% 荆芥复方提取液处理豚鼠后,阈值极显著高于模型对照组 ($P < 0.01$),达 $(154 \pm 31) \mu\text{g}$;在样品浓度为 5.0 wt% 时,致痒阈为 $(195 \pm 35) \mu\text{g}$. 说明荆芥复方提取液能够显著抑制组胺的释放及致痒作用,显示出其在抗敏、止痒功效上的潜力.

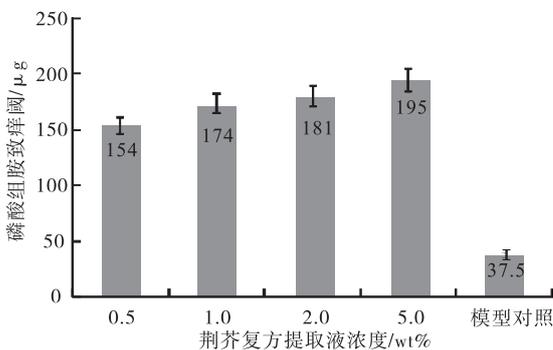


图 1 不同浓度荆芥复方提取液磷酸组胺致痒阈
Fig. 1 The effects of *Nepeta cataria* prescriptions on the puritus response at different concentration

2.2 荆芥复方提取液对大鼠 PCA 的影响

通过 PCA 模型来研究活性物的抗敏功效. 抗体和抗原结合发生 I 型超敏反应,引发局部毛细血管通透性显著增加,出现红肿等过敏症状. 在大鼠体内模拟这一过程,是目前较理想的体内研究活性物抗敏功效的方法.

用荆芥复方提取液局部处理发生 I 型过敏反应并含有蓝色染料的大鼠皮肤,通过抗敏功效达到抑制毛细血管通透性的作用,从而降低局部皮肤的蓝色染料含量,使用分光光度法计算每只大鼠背部皮肤染料含量并比较此项指标组间的差异性. 图 2 给出不同浓度荆芥复方提取液对大鼠 PCA 的影响. 模型组(伊文思蓝含量为 $(110 \pm 5) \mu\text{g}/\text{mL}$)与空白组(伊文思蓝含量为 $(4 \pm 1) \mu\text{g}/\text{mL}$)呈极显著差异 ($P < 0.01$),建模成功.

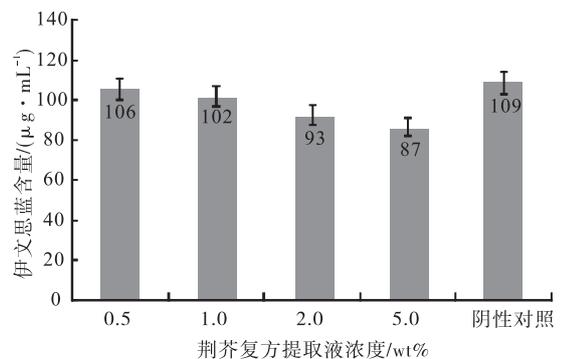


图 2 不同浓度荆芥复方提取液对大鼠 PCA 的影响

Fig. 2 Influence on PCA reaction in rats at different concentration

由图 2 可知,荆芥复方提取液可显著降低过敏反应时大鼠皮肤毛细血管通透性,有效缓解过敏症状,且与质量浓度呈正相关,2.0 wt%、5.0 wt% 时与阴性对照组相比均具有显著性差异 ($P < 0.05$). 5.0 wt% 浓度组大鼠皮肤中蓝色染料含量最低,仅为 $87 \mu\text{g}/\text{mL}$,较阴性对照组降低 20.4%;2.0 wt% 浓度组大鼠皮肤中蓝色染料含量为 $93 \mu\text{g}/\text{mL}$,较阴性对照组降低 15.5%. 这显示出荆芥复方提取液在祛红、消肿功效上的潜力.

2.3 荆芥复方提取液对敏后皮肤修复的影响

皮肤屏障因过敏反应受到损伤,皮肤水分会大量流失. 为研究荆芥复方提取液是否具有敏后修复、固护屏障的功效,在体内评估其对豚

鼠皮肤敏后保持含水量能力的影响. 不同浓度荆芥复方提取液对豚鼠敏后皮肤修复的影响见图3. 模型组(水含量为 $(12 \pm 3)\%$)与空白组(水含量为 $(5 \pm 1)\%$)呈极显著差异($P < 0.01$),建模成功.

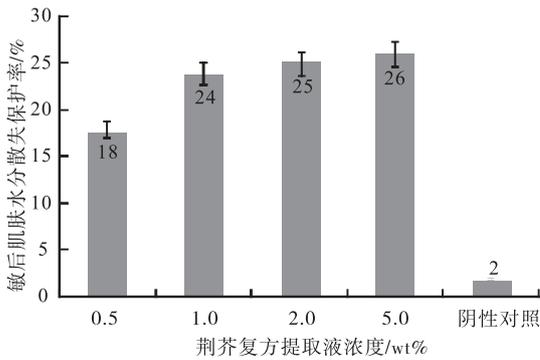


图3 不同浓度荆芥复方提取液对豚鼠敏后皮肤修复的影响

Fig. 3 Influence on sensitive skin repair in guinea pig at different concentration

由图3可知,荆芥复方提取液可显著降低过敏反应时豚鼠皮肤的水分散失保护率,有效修复皮肤屏障,且与质量浓度呈正相关,0.5 wt% 质量浓度时,敏后肌肤水分散失保护率为18%,与阴性对照组相比即具有极显著性差异($P < 0.01$),表明荆芥复方提取液具有良好的敏后皮肤修复功效.

3 结论

通过动物实验平台,从体内止痒功效、PCA、

敏后皮肤修复功效三方面研究了荆芥复方提取液的抗敏功效. 荆芥复方提取液能够增加磷酸组胺致痒阈,有效增强皮肤耐受性,止痒功效显著;荆芥复方提取液还可以降低过敏皮肤的毛细血管通透性,具有祛红、消肿的功效;此外,荆芥复方提取液可以提高敏后皮肤水分散失保护率,达到修复皮肤、固护屏障的效果.

参考文献:

- [1] 董银卯. 萌芽绿豆抗敏抗氧化活性物质分析及其作用机制研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2014.
- [2] 薛素琴. 治疗慢性湿疹新药消炎止痒凝胶的开发研究[D]. 广州:广州中医药大学,2009.
- [3] 金云隆. 中药抗过敏实验刍议[J]. 中国中医药现代远程教育,2011,9(1):220.
- [4] ZHANG W, MA D, ZHAO Q, et al. The effect of the major components of fructus cnidii on osteoblasts in vitro [J]. Journal of Acupuncture and Meridian Studies, 2010, 3(1):32.
- [5] 高天红, 朴晋华, 王婷婷. 鱼金注射液被动皮肤过敏试验及对血清 IgE 的影响[J]. 山西医科大学学报, 2011, 42(6):477.
- [6] 张信岳, 陈爱君, 李钦, 等. 绿原酸主动全身过敏与被动皮肤过敏的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(2):127.
- [7] 陈小文, 杨慧, 刘玉琳. IL-18 与过敏性疾病[J]. 生命的化学, 2007, 27(5):441.