

# 千柏鼻炎片及其有效成分治疗小鼠过敏性鼻炎

陆宾<sup>1</sup>, 王再勇<sup>1,2</sup>, 陈莹<sup>1</sup>, 季莉莉<sup>1,2\*</sup>

(1. 上海中医药大学 中药研究所中药标准化教育部重点实验室暨上海市复方中药重点实验室, 上海 201203; 2. 上海中药标准化研究中心, 上海 201210)

**[摘要]** 目的: 研究千柏鼻炎片及其有效成分对小鼠过敏性鼻炎模型的治疗作用。方法: BALB/c 雄性小鼠在实验第 1, 7, 14 天 ip 200  $\mu\text{L}$  0.5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  卵清白蛋白(OVA)以及 20  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  氢氧化铝。从第 22 天起每只小鼠鼻腔滴注 50  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  OVA 溶液 20  $\mu\text{L}$ , 连续滴注 10 d, 对照组用生理盐水代替 OVA。除对照组外, 取造模成功的小鼠 50 只随机分为 5 组, 其中鼻炎模型组连续 7 d 鼻腔滴注 50  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  OVA 溶液 10  $\mu\text{L}$ ; 千柏鼻炎片组、绿原酸组和对羟基肉桂酸组在 OVA 滴注前 10 min ig 给药, 剂量分别 17.2  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 260, 30  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; 地塞米松(阳性对照)组在 OVA 滴注前 30 min sc 5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; 对照组则继续用生理盐水滴注。测定各组动物血清免疫球蛋白 E(IgE)和组胺的含量, 并取小鼠鼻黏膜 HE 染色病理切片进行观察。结果: 千柏鼻炎片、绿原酸和地塞米松明显抑制过敏性鼻炎导致的喷嚏、搔鼻和流清涕等典型症状( $P < 0.001$ ), 并使鼻黏膜充血、水肿和炎性损伤减轻。千柏鼻炎片、绿原酸和地塞米松还能够显著地抑制由过敏性鼻炎引起的血清中 IgE 和组胺含量的增加( $P < 0.001$ )。结论: 千柏鼻炎片对过敏性鼻炎有治疗作用, 绿原酸可能是千柏鼻炎片的药效活性成分之一。

**[关键词]** 过敏性鼻炎; 千柏鼻炎片; 绿原酸; 免疫球蛋白 E; 组胺

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0246-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013120246

## Therapeutic Activity of Qianbai Biyan Tablet and Its Ingredient on Mice with Allergic Rhinitis

LU Bin<sup>1</sup>, WANG Zai-yong<sup>1,2</sup>, CHEN Ying<sup>1</sup>, JI Li-li<sup>1,2\*</sup>

(1. MOE Key Laboratory for Standardization of Chinese Medicines and the Shanghai Key Laboratory for Compound Chinese Medicines, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shanghai 201203, China;  
2. Shanghai R&D Center for Standardization of TCM, Shanghai 201210, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the therapeutic effects of Qianbai Biyan tablet and its main ingredients on allergic rhinitis in mice. **Method:** BALB/c male mice were administrated with 200  $\mu\text{L}$  ovalbumin (OVA, 0.5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and aluminium hydroxide (20  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) on the first, fourth, seventh day of the experiment. Starting from the 22<sup>nd</sup> day, each mouse was poured with 20  $\mu\text{L}$  OVA (50  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) by nasal drip for 10 days consecutively, but physiological saline instead of OVA in control group. Take 50 modeling successful mice to divide into five groups randomly, the allergic rhinitis model group were nasal drop 10  $\mu\text{L}$  OVA solution (50  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and Qianbai Biyan tablet group (17.2  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), chlorogenic acid group (260  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) and  $\rho$ -coumaric acid (30  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) group were administrated orally in 10 minutes prior to OVA infusion. Meanwhile, the positive drug group were treated with dexamethasone 5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  by subcutaneous injections in 30 minutes prior to OVA administration, and the control group were drop with saline continuously. Immunoglobulin E (IgE) and

**[收稿日期]** 20120904(002)

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金(30801544);教育部新世纪优秀人才计划(NCET-11-1054)

**[第一作者]** 陆宾, 助理实验师, 从事中药药理与毒理研究, Tel: 021-51322496, E-mail: treebird1234@hotmail.com

**[通讯作者]** \* 季莉莉, 博士, 研究员, 从事中药药理与毒理研究, Tel: 021-51322517, E-mail: lily0913@yahoo.cn

histamine in serum were detected and the nasal mucosa of mice was evaluated by pathological observation. **Result:** Qianbai Biyan tablet, chlorogenic acid and dexamethasone could obviously inhibit the typical symptoms of allergic rhinitis, including sneezing, scratched nose and thin or watery nasal discharge and so on. Moreover, the nose mucosa membrane hyperemia, dropsy and the inflammatory damage induced by allergic rhinitis were all reduced, and the increase of IgE and histamine level in the serum was decreased. **Conclusion:** Qianbai Biyan tablet is effective for the treatment of allergic rhinitis, and chlorogenic acid may be the one of active ingredients of Qianbai Biyan tablet.

[ **Key words** ] allergic rhinitis; Qianbai Biyan tablet; chlorogenic acid; IgE; histamine

过敏性鼻炎是鼻科常见病之一,患病率逐年增多,其中部分患者可能进一步发展为支气管哮喘等疾病,严重危害人民身心健康。过敏性鼻炎是一种吸入变应原而由免疫球蛋白 E (IgE) 介导免疫细胞释放化学介质引起 I 型变态反应的炎症性疾病,以鼻痒、打喷嚏、流清涕等为主要症状<sup>[1]</sup>。中医认为过敏性鼻炎多由肺气虚、卫表不固、风寒乘虚侵入而引起。近年来许多学者从过敏性鼻炎中医病因病机入手,采用中医药治疗取得了显著疗效。千柏鼻炎片由千里光、卷柏、羌活、决明子、麻黄、川芎和白芷 7 味中药组成,功能清热解毒、活血化瘀、宣肺通窍。主要用于风热犯肺、内郁化火、凝滞气血所致的鼻塞、流涕或嗅觉迟钝,临床多用于治疗急慢性鼻炎。千里光是千柏鼻炎片中的主要药材,占 76%。千里光主要成分是萜类,生物碱类,有机酸类,黄酮和挥发油等,其中绿原酸和对羟基肉桂酸是千里光中主要的有机酸成分。已有研究表明绿原酸(CA)具有抗菌、抗病毒、拮抗自由基损伤和抗氧化作用<sup>[2-4]</sup>。本实验中作者对千柏鼻炎片治疗卵蛋白(OVA)所致小鼠过敏性鼻炎进行了研究,并对千柏鼻炎片中药效活性成分进行探讨。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康 6~8 周 BALB/c 雄性小鼠 80 只, 20~24 g, 清洁级, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 许可证号 SCXK(沪)2007-0005。排除鼻部疾病, 每笼 10 只饲养, 进食无鸡蛋白饲料, 饲养环境温度 20℃, 相对湿度 40%~70%, 笼具、垫料、饮水及饲料均作高压和紫外线消毒处理, 无菌操作。

**1.2 药品、试剂及仪器** 千柏鼻炎片(广州奇星药业有限公司, 批号 9059), 绿原酸、对羟基肉桂酸(上海中药标准化研究中心制备, 纯度 95%), 地塞米松, Alexis 公司, 批号 L00977), 卵清白蛋白(OVA, Sigma 公司, 批号 SLBB5992), 小鼠血清免疫球蛋白 E(IgE) 含量、小鼠血清组胺测定试剂盒(上海西唐生物技术公司, 批号 J20090312), Al(OH)<sub>3</sub> (批号

080801) 和甲醛(批号 20090701) 均为国产分析纯。CK40 型光学显微镜(日本 Olympus 公司), DK-S24 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司), Bio Power Wave XS 型紫外可见酶标仪(美国 Bio-Tek 公司), AR1140 型电子分析天平(奥豪斯 Ohaus 国际贸易有限公司), Eppendorf 型可调移液器(德国艾本德公司)、手术器械(上海实生细胞生物技术有限公司)。

## 2 方法

**2.1 模型建立及分组给药** 过敏性鼻炎小鼠模型建立<sup>[5]</sup>。小鼠造模分为腹腔滴注致敏, 鼻腔注射激发 2 个阶段。即实验第 1, 7, 14 天每只小鼠分别腹腔注射 200 μL 0.5 g·L<sup>-1</sup> OVA 以及 20 g·L<sup>-1</sup> Al(OH)<sub>3</sub>。从第 22 天起每只小鼠鼻腔滴注 50 g·L<sup>-1</sup> OVA 溶液 20 μL。连续滴注 10 d。对照组用生理盐水代替 OVA。末次激发 30 min 内观察动物搔鼻、喷嚏、流涕行为。鼻痒: 轻搔鼻 1~2 次为 1 分, 剧烈抓挠鼻面不止 3 分, 介于二者之间为 2 分; 喷嚏: 1~3 个为 1 分, 4~10 个为 2 分, >11 个为 3 分; 流涕: 流至前鼻孔为 1 分, 超出前鼻孔为 2 分, 涕流满面为 3 分。以上各项指标均采用叠加量化记分法, 总分 >5 分表示模型成功。

根据鼻部症状评分, 造模成功率为 82%。取 50 只造模成功小鼠, 随机分为 5 组, 连同对照组小鼠 10 只, 共分为 6 组。对照组: 每只小鼠鼻腔滴注生理盐水 10 μL, 连续滴注 7 d; 过敏性鼻炎模型组: 每只小鼠鼻腔滴注 50 g·L<sup>-1</sup> OVA 溶液 10 μL。连续滴注 7 d; 千柏鼻炎片组: 千柏鼻炎片薄膜外衣剥去, 研磨成细粉, 然后以 0.05% CMC-Na 溶解, 剂量为 17.2 g·kg<sup>-1</sup> (人临床最高用量的 3 倍)。小鼠 OVA 刺激之前 10 min, 灌胃千柏鼻炎片混悬液。10 μL OVA 溶液滴鼻, 连续 7 d, 绿原酸组: 本实验室测定千里光中绿原酸含量最高约为 2%, 由以上千柏鼻炎片的给药量折合成绿原酸小鼠剂量为 260 mg·kg<sup>-1</sup>。绿原酸以生理盐水溶解, 在小鼠给予 OVA 刺

激之前 10 min,灌胃。10  $\mu\text{L}$  OVA 溶液滴鼻,连续 7 d,对羟基肉桂酸组:本实验室含量测定的千里光中对羟基肉桂酸含量最高约为 0.2%,由以上千百鼻炎片剂量折算羟基肉桂酸小鼠使用剂量为 30  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。在给予 OVA 刺激之前 10 min,灌胃对羟基肉桂酸溶液。10  $\mu\text{L}$  OVA 溶液滴鼻,连续 7 d;地塞米松组(阳性药)地塞米松以生理盐水溶解,剂量 5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,OVA 刺激前 0.5 h 腹腔 sc,10  $\mu\text{L}$  OVA 滴鼻,同样连续 7 d。

**2.2 标本收集** 动物造模末次激发 30 min 内对各组动物鼻炎症状打分,6 h 后小鼠眼球取血,血液静置 2~3 h,4  $^{\circ}\text{C}$  下 850  $\times g$  离心 15 min,转移上清至新管,置 -80  $^{\circ}\text{C}$  保存待用。取血后小鼠颈椎脱臼致死,断头,迅速打开鼻背取呼吸区鼻黏膜,去除肌肉等附属组织后,投入 10% 甲醛中固定、常规制片、HE 染色,进行鼻黏膜组织形态学观察。

**2.3 小鼠血清 IgE 以及组胺的酶联免疫分析** 参考试剂盒说明书用 ELISA 方法检测。

**2.4 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 软件,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较采用单因素方差分析,双侧  $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 小鼠鼻部症状评分** 千柏鼻炎片组、绿原酸组以及地塞米松组显著抑制过敏性鼻炎导致的喷嚏、搔鼻和流鼻涕等典型症状( $P < 0.001$ )。见表 1。

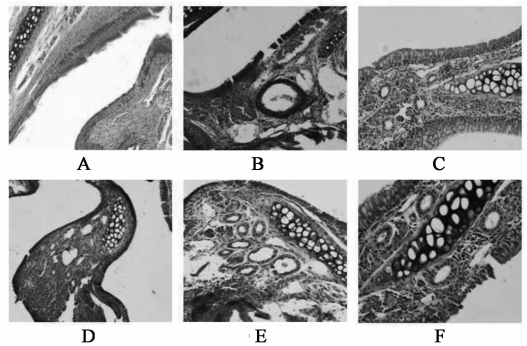
表 1 千柏鼻炎片及其成分对小鼠过敏性鼻炎症状评分的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	鼻炎症状评分
正常对照	-	1.5 $\pm$ 0.2 <sup>1)</sup>
模型	-	7.0 $\pm$ 0.3 <sup>1)</sup>
千柏鼻炎片	17.2	2.4 $\pm$ 0.2 <sup>1)</sup>
绿原酸	0.26	3.1 $\pm$ 0.2 <sup>1)</sup>
对羟基肉桂酸	0.03	6.2 $\pm$ 0.3
地塞米松	0.005	2.4 $\pm$ 0.2 <sup>1)</sup>

注:与过敏性鼻炎模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.001$ (表 2 同)。

**3.2 小鼠鼻黏膜病理切片观察** 正常对照组可见纤毛排列整齐,粗细均匀一致,无脱落缺失现象,固有层未见明显嗜酸性粒细胞浸润;过敏性鼻炎模型组可见纤毛结构大量脱落,组织严重水肿,鼻黏膜充血严重,黏膜上皮固有层嗜酸性粒细胞浸润;千柏鼻炎片给药组可见上皮细胞受损减轻,组织水肿现象明显减轻,鼻黏膜血减轻,嗜酸性粒细胞浸润减少;绿原酸组部分可见上皮细胞脱落,鼻黏膜充血明

显减轻;对羟基肉桂酸组可见组织严重水肿,鼻黏膜充血略有减少,黏膜上皮固有层嗜酸性粒细胞浸润;地塞米松组部分可见上皮细胞脱落,鼻黏膜充血明显减轻,组织水肿减轻,嗜酸性粒细胞浸润减少。见图 1。



A. 对照组;B. 过敏性鼻炎模型组;  
C. 千柏鼻炎片 17.2  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;D. 绿原酸 260  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;  
E. 对羟基肉桂酸 30  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;F. 地塞米松 5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组

图 1 千柏鼻炎片及成分病理切片观察对小鼠鼻黏膜病变的影响(HE 染色,  $\times 200$ )

**3.3 小鼠血清 IgE 和组胺的含量测定** 千柏鼻炎片、绿原酸和地塞米松能够显著的抑制血清中 IgE 和组胺含量的增加,见表 2。

表 2 千柏鼻炎片及成分给药后对小鼠血清 IgE 和组胺含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	IgE	组胺
正常	-	12.50 $\pm$ 2.14	21.15 $\pm$ 4.64
模型	-	51.14 $\pm$ 1.13 <sup>1)</sup>	69.37 $\pm$ 6.23 <sup>1)</sup>
千柏鼻炎片	17.2	26.77 $\pm$ 0.41 <sup>2)</sup>	37.77 $\pm$ 2.72 <sup>2)</sup>
绿原酸	0.26	29.55 $\pm$ 0.31 <sup>2)</sup>	40.53 $\pm$ 5.04 <sup>2)</sup>
对羟基肉桂酸	0.03	47.09 $\pm$ 1.91	59.82 $\pm$ 5.9
地塞米松	0.005	25.00 $\pm$ 0.84 <sup>2)</sup>	29.37 $\pm$ 4.11 <sup>2)</sup>

### 4 讨论

目前过敏性鼻炎的治疗包括避免接触致敏原、药物治疗、变应反应免疫治疗等,其治疗药物主要有 5 种,分别为抗组胺药、减充血剂、抗胆碱药、糖皮质激素、肥大细胞稳定剂。千柏鼻炎片有清热解毒、活血祛风、宣肺通窍的功效,是用于治疗急慢性鼻炎、过敏性鼻炎、鼻窦炎、咽炎等常见多发病的纯中药成药,有较好的临床疗效,1985 年被评为国家医药管理局优质产品。研究发现千柏鼻炎片以及绿原酸组小鼠喷嚏次数明显较模型组减少,同时流涕症状

减轻。结果证实了千柏鼻炎片治疗过敏性鼻炎的作用,同时首次发现绿原酸治疗过敏性鼻炎的药效活性。

IgE 是过敏性鼻炎发病机制中不可或缺的一个重要环节,它通过受体在组织中结合肥大细胞,在血循环中结合嗜碱性粒细胞,释放组胺、纤维蛋白溶酶、白三烯、前列腺素等多种炎症介质从而引起并维持过敏性鼻炎的症状<sup>[6-7]</sup>。组胺主要存在于肥大细胞和嗜碱性粒细胞胞浆颗粒内,它是参与过敏性鼻炎发病机制的重要的炎性介质<sup>[8]</sup>,文献报道,大部分药物可以通过降低血清中组胺的含量从而达到治疗过敏性鼻炎的药效<sup>[9-10]</sup>。绿原酸能抑制肥大脱颗粒细胞释放 $\beta$ -氨基己糖苷酶和组胺而具有较强的抗 IgE 介导的 I 型过敏反应的作用<sup>[11-12]</sup>。作者的实验发现千柏鼻炎片及绿原酸对过敏性鼻炎引起的高 IgE 组胺有显著的抑制作用,提示千柏鼻炎片和绿原酸可能是通过抑制小鼠体内 IgE,进而阻止组胺的释放达到缓解症状的目的。染色病理切片观察也证实了千柏鼻炎片和绿原酸对过敏性鼻炎引起的炎症因子释放,组织水肿等症状有较好的缓解作用。

综上所述,本研究证实了千柏鼻炎片对过敏性鼻炎的治疗作用,同时发现绿原酸可能是千柏鼻炎片的主要药效活性成分。

#### [参考文献]

[1] 郑沛仪,阮经文. 三伏天辨证配药治疗过敏性鼻炎疗效观察 [J]. 中国实验方剂学杂志,2000,6(5):54.

[2] Jassim S A A, Najim A. Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective [J]. J Appl Microbiol, 2003, 95(3): 412.

[3] Desotillo D R, Hadley M, Wolf-hall C. Potato peel extract a nonmutagenic antioxidant with potential antimicrobial activity [J]. J Food Sci, 1998, 63

(5): 907.

[4] Morton L W, Abu-amsha Caccetta R, Puddey I B, et al. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2000, 27(3): 152.

[5] Ikeda Y, Kaneko A, Yamamoto M, et al. Possible involvement of suppression of Th2 differentiation in the anti-allergic effect of Sho-seiryu-to in mice [J]. Jpn J Pharmacol, 2002, 90(4): 328.

[6] Yang Q T, Huang X K, Chen Y L, et al. Aeroallergen specific IgE in serum of patients with allergic rhinitis [J]. J Sun Yat-Sen Unive Med Sci, 2009, 30(4): 446.

[7] Chen X N, Liu Y. Effect of Qi invigoration and desensitization method on contents of serum IgE and IL-4 in patients with allergic rhinitis [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med,2007,23(1): 27.

[8] Nagai H, Teramachi H, Tuchiya T. Recent advances in the development of anti-allergic drugs [J]. Allergy International, 2006, 55(1): 35.

[9] 王维赋,谭晓梅,梁少瑜,等. 麻黄附子细辛汤和小青龙汤对过敏性鼻炎豚鼠作用的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7): 176.

[10] 梁少瑜,谭晓梅,曾永长,等. 细辛挥发油对过敏性鼻炎豚鼠鼻黏膜和组胺影响的初步研究 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2): 149.

[11] Yamamoto T, Yoshimura M, Yamaguchi F, et al. Experimental study on YU-Pingfeng San to the tryptase released by mast cells of allergic rhinitis [J]. China Medical Herald, 2009, 6(24): 19.

[12] Trinh H T, Bae E A, Hyun Y J, et al. Anti-allergic effects of fermented Ixeris sonchifolia and its constituent in mice [J]. J Microbiol Biotechnol, 2010, 20(1): 217.

[责任编辑 李玉洁]