

舒宁康水提液抗过敏药效研究

董银卯^{1*}, 张海娣¹, 孟宏², 张明明¹

(1. 北京工商大学, 北京 100048; 2. 中国中医科学院, 北京 100700)

[摘要] **目的:**观察舒宁康水提液对肥大细胞脱颗粒及组胺释放的影响,研究其抗过敏作用。**方法:**以卵蛋白(OVA)为致敏原,在 OVA 质量浓度为 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用 30 min 条件下,观察舒宁康 $0.1, 1, 10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 在体外对致敏大鼠肥大细胞脱颗粒及其释放组胺量的影响。**结果:**以色甘酸钠为阳性对照,舒宁康水提液具有明显的抑制肥大细胞脱颗粒作用,模型组、舒宁康水提液高、中、低剂量组及阳性对照组脱颗粒率分别为 $(47.53 \pm 5.57)\%$, $(25.11 \pm 2.56)\%$, $(35.71 \pm 6.99)\%$, $(47.11 \pm 4.26)\%$, $(22.87 \pm 6.52)\%$;舒宁康水提液对组胺的释放亦有显著的抑制作用,与模型组比,舒宁康水提液高、中、低组及阳性对照组的抑制率分别为 16.85%, 20.06%, 6.58%, 16.85%。**结论:**舒宁康水提液有良好的抗过敏作用,为将其开发成抗敏中药提供了实验依据。

[关键词] 舒宁康; 肥大细胞脱颗粒; 组胺释放

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0241-03

Antiallergic Effect of Aqueous Extract from Shuningkang

DONG Yin-mao^{1*}, ZHANG Hai-di¹, MENG Hong², ZHANG Ming-ming¹

(1. Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antiallergic action of Shuningkang by investigating the effect of aqueous extract from Shuningkang on mast cell degranulation and histamine releasing *in vitro* by PMC degranulation percentage and histamine releasing assay. **Method:** OVA was used as allergen. In the concentration of $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 30 min conditions, the influences of aqueous extract from Shuningkang $0.1, 1, 10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ on sensitized rat mast cell degranulation and histamine release were investigated. **Result:** The extract of Shuningkang could inhibit rat PMC degranulation and histamine releasing *in vitro*. PMC degranulation rates in model group, high, middle,

[收稿日期] 20120502(318)

[通讯作者] *董银卯,教授,硕士研究生导师,从事中草药化妆品研究, Tel:010-68987110, E-mail:yandong2008@163.com

[10] 文小平, 郑晓洁, 川崎宽也, 等. 三七、绞股蓝抗兔血管重构的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(8):24.

[11] Nohara K, Yokoyama Y, Kano K, et al. The important role of caspase210 in sodium butyrate 2 induced apoptosis [J]. Kobe J Med Sci, 2007, 53(5): 2652273.

[12] Nakayama J, Ohtsuki M, Oda T. Caspase 2 independent cell death by Fas ligation in human thymus2derived T cell line, HPB2ALL cells [J]. Microbiol Immunol, 2007, 52(10):102921037.

[13] Wang Z L, Li J L, Wang C B. The role of tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand and polypeptide from chlamys farreri in UVA-induced apoptosis in HaCaT cells [J]. Chin Pharmacol Bull, 2007, 23(10): 1375.

[14] Lombardi L, Casani S, Ceccarilli N, et al. Programmed cell death of the nucellus during Sechium edule Sw. seed development is associated with activation of caspase-like proteases [J]. J Exp Bot, 2007, 58(11): 2949.

[责任编辑 何伟]

low does groups of Shuningkang and Cromoglicate Sodium group were $(47.53 \pm 5.57)\%$, $(25.11 \pm 2.56)\%$, $(35.71 \pm 6.99)\%$, $(47.11 \pm 4.26)\%$ and $(22.87 \pm 6.52)\%$ respectively. Shuningkang showed significant inhibition on histamine release, compared with the model group. In the high, middle, low does groups of Shuningkang and Cromoglicate Sodium group, the inhibition rates on histamine release were 16.85%, 20.06%, 6.58%, 16.85%. **Conclusion:** Shuningkang has certain effect on skin allergies.

[**Key words**] Shuningkang; mast cell degranulation; histamine release

近年来过敏对人类的困扰与日俱增,无论是春天的花粉过敏、夏天的日光性皮炎,还是秋天的鼻炎、冬季的哮喘,过敏都无处不在。目前针对过敏性疾病主要采用西药治疗,如苯海拉明、氯雷他定、西替利嗪^[1-3]等,这些药都有一定的副作用,因此研发安全、有效的抗敏中药成为当前一个趋势^[4-7]。作者通过研究舒宁康水提液对肥大细胞脱颗粒及组胺释放抑制率的影响,以证实舒宁康水提液的舒敏功效。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠,雄性,体重 250 ~ 300 g,中国人民解放军军事医学科学院动物中心提供,许可证号 ZCXK-(军)2007-004。

1.2 药品与试剂 舒宁康组成中药均购于北京市白塔药店。舒宁康由北京工商大学中国化妆品研究中心提供,配伍为桑白皮:苦参:防风:乌梅 5:4:4:3, 1:20 料液比,去离子水浸泡 0.5 h,用武火煎煮 10 min,再用文火煎煮 20 min,煎煮 2 次,合并,过滤、灭菌、浓缩至含生药量 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$;氢氧化铝凝胶,天津药业集团新美股份有限公司,批号 1009041;RPMI Medium 1640,批号 C11875 Gibco;卵白蛋白(OVA),Sigma A5378;色甘酸钠, Sigma C-0399。大鼠组胺 ELISA 试剂盒,北京拜尔迪生物技术有限公司,批号 201108。

1.3 仪器 spectra Max M5 多功能酶标仪(MDC 公司),XDS-1B 显微镜(北京佳园兴业科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 分组与剂量 将 SD 大鼠分为 6 组:正常对照(非致敏)组、模型组、舒宁康($0.1, 1, 10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)剂量组、色甘酸钠($0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)阳性对照组。

2.2 动物致敏^[8,9] 在实验第 1 天和第 5 天分别给每只大鼠 ip 致敏液 1.5 mL [共含 150 μg OVA, 15 mg AL(OH)₃]。正常对照组注射等量生理盐水。

2.3 腹腔肥大细胞(PMC)悬液的制备^[10] 末次致敏后 14 d,断颈处死大鼠,ip 10 mL RPMI 1640,轻轻

按摩其腹部约 2 min,在腹白线上切一个小口,吸取腹腔液至离心管中,1 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,弃去上清液,再加入 10 mL 1640 于培养皿中培养 30 min,去除其中的巨噬细胞,取剩余细胞悬液 50 μL ,加入 50 μL 台盼蓝染液,混匀,充分染色 5 min。细胞计数板镜检,其中死细胞会被染成蓝色,活细胞不着色。计数后调细胞密度为 6.675×10^6 个/mL。

2.4 最佳实验条件的确定

2.4.1 OVA 最佳触发时间的确定 取舒宁康高剂量($10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)与肥大细胞分别作用 0, 5, 10, 15, 20, 30 min 后,加入 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ OVA,计算不同作用时间下脱颗粒率。结果表明,以 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ OVA 触发致敏大鼠肥大细胞分别作用 0, 5, 10, 15, 20, 30 min,肥大细胞脱颗粒率分别为 21.28%, 36.11%, 37.50%, 39.30%, 56.00%, 选定优化的作用时间为 30 min。

2.4.2 OVA 最佳触发浓度的确定 分别用 0, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 5 种质量浓度的 OVA 与肥大细胞悬浮液作用,计算其脱颗粒率。结果表明,以 0, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ OVA 触发致敏大鼠肥大细胞,肥大细胞脱颗粒率分别为 28.78%, 29.47%, 36.63%, 58.33%, 49.57%, 选定优化的触发 OVA 质量浓度为 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.5 肥大细胞脱颗粒实验 正常对照组:未致敏大鼠 PMC 悬液 1 mL + 100 μL 1640 培养液;模型对照组:致敏大鼠 PMC 悬液 1 mL + 100 μL 1640 培养液;各给药组分别为致敏大鼠 PMC 悬液 1 mL + 对应组药液,舒宁康($0.1, 1.0, 10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 色甘酸钠 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 100 μL 。以上各组分别混匀,放置 5 min 后除正常对照组外,每组加入 20 μL OVA ($2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),常温放置 30 min, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min,离心 5 min ($1\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),立即冰浴,取上清液 0.6 mL 各测组胺含量;其余部分加入 0.4 mL 0.5% 的中性红染液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 染色 3 min,计算肥大细胞悬液脱颗粒率及舒宁康对肥大细胞脱颗粒抑制率。

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分

析进行统计学处理。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。(表 2 同)。

舒宁康水提液高、中剂量组对大鼠腹腔肥大细胞的脱颗粒有显著的抑制作用($P < 0.05$),其抑制率分别为 47.17% 和 24.87%,表明舒宁康水提液有一定的抗敏功效。见表 1。

表 1 舒宁康水提液对大鼠腹腔肥大细胞脱颗粒的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$) %

组别	剂量/ $g \cdot L^{-1}$	肥大细胞脱颗粒率	抑制率
正常对照	-	15.04 \pm 1.68 ²⁾	-
模型	-	47.53 \pm 5.57	-
舒宁康	0.1	47.11 \pm 4.26	1.51
	1.0	35.71 \pm 6.99 ¹⁾	24.87
	10.0	25.11 \pm 2.56 ¹⁾	47.17
色甘酸钠	0.2	22.87 \pm 6.52 ²⁾	51.88

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

2.6 组胺的测定 采用 ELISA 法测定所取上清液中的组胺含量,具体操作按试剂盒内说明。

舒宁康水提液高、中、低剂量组对大鼠腹腔肥大细胞组胺释放水平有显著的抑制作用,其抑制率分别为 16.85%、20.06% 和 6.85%,表明舒宁康提取液有一定抑制组胺释放的功效。见表 2。

表 2 舒宁康水提液对大鼠腹腔肥大细胞释放组胺的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $g \cdot L^{-1}$	组胺释放量/ $ng \cdot mL^{-1}$	抑制率/%
正常对照	-	4.94 \pm 0.22 ²⁾	-
模型	-	6.53 \pm 0.17	-
舒宁康	0.1	6.10 \pm 0.33 ¹⁾	6.58
	1.0	5.22 \pm 0.18 ²⁾	20.06
	10.0	5.43 \pm 0.21 ²⁾	16.85
色甘酸钠	0.2	5.43 \pm 0.23 ²⁾	16.85

3 讨论

过敏反应过程中,过敏原初次进入机体,机体产生 IgE,并与肥大细胞结合,当过敏原再次攻击时,引起肥大细胞脱颗粒,释放组织胺等过敏介质。因此肥大细胞是参与过敏反应的主要效应细胞^[11]。肥大细胞广泛分布于结缔组织、黏膜组织及血管周围。

肥大细胞中预先形成的介质有组胺(组胺是参与炎症早期反应的主要介质^[12])、肝素及硫酸软骨素 E 和胰蛋白酶、胃促胰酶等几种蛋白水解酶。过敏反应发生时肥大细胞释放组胺等介质,组胺又可以激活肥大细胞,刺激其生成许多介质包括白三

烯 C4,前列腺素 D2 等^[13-14]。组胺不仅是一种生物活性介质,而且又可以激活肥大细胞脱颗粒,在过敏反应中具有双重身份,因此对组胺的抑制是研究抗敏活性的一个重要依据。

本实验结果表明舒宁康水提液对过敏过程中肥大细胞脱颗粒以及组胺的释放有显著的抑制作用,从药理学上有力地证明了舒宁康水提液具有显著的抗敏功效。

[参考文献]

- [1] 华晓东,尹春晖. 抗过敏中药及其作用机制研究进展[J]. 天津药学, 2009, 21(6): 69.
- [2] 陈婕,曹伟,程泽能,等. 与抗变态反应药物相关的药物相互作用[J]. 中南药学, 2008, 10(6): 5.
- [3] 郭志丽. 抗组胺药物的合理应用[J]. 中国医院用药评价与分析, 2004, 4(3): 186.
- [4] 陈新谦,金有豫. 新编药理学[M]. 14 版. 北京:人民卫生出版社, 1997: 409.
- [5] Slater J W, Zechnich A D, Herby D G. Second generation antihistamines[J]. Drugs, 1999, 57(1): 31.
- [6] 孙谋义. 第二代非镇静性抗组胺药物的不良反应[J]. 中国社区医师, 2002, 18(16): 9.
- [7] Tillement J P, Testa B, Bree F. Compared pharmacological characteristics in humans of racemic cetirizine and levocetirizine, two histamine H₁-receptor antagonists [J]. Biochem Pharmacol, 2003, 66(7): 1123.
- [8] 王钦富,王永奇,于超,等. 炒紫苏子醇提物对肥大细胞脱颗粒及组胺释放的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(1): 30.
- [9] Daheshia M, Friend D S, Grusby M J, et al. Increased severity of local and systemic anaphylactic reactions in gp49Bl-deficient mice[J]. J Exp Med, 2001, 194(2): 227.
- [10] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002: 920.
- [11] 于业军,毕丽丽,刘晓萍,等. 脱敏组方抑制肥大细胞脱颗粒的实验研究[J]. 中国皮肤性病杂志, 2006, 20(9): 535.
- [12] 余彦,杜俊蓉,祝国成,等. 辛芩片剂治疗过敏性鼻炎的主要药效学研究[J]. 中成药, 2004, 26(5): 401.
- [13] 孙仁山. 肥大细胞脱颗粒的标志[J]. 国外医学:临床生物化学与检验学分册, 2001, 22(2): 100.
- [14] 陈珏,钱伯初,张吟秋,等. 抗敏合剂的药理研究[J]. 中国中药杂志, 1982, 7(2): 34.

[责任编辑 何伟]