

辛芷鼻敏胶囊对变应性鼻炎大鼠的药效学实验研究

杨清¹, 李建荣², 姜孝芳³, 司红莉¹, 王宏伟¹, 高丽^{3*}

(1. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
3. 新疆医科大学基础医学院, 新疆 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的: 探讨辛芷鼻敏胶囊治疗变应性鼻炎的药效。方法: 用卵蛋白加福氏佐剂乳剂主动致敏, 制作大鼠变应性鼻炎模型, 观察辛芷鼻敏胶囊灌胃给药对模型大鼠的影响; 用大鼠炎症模型, 小鼠疼痛模型, 观察其镇痛抗炎作用。结果: 辛芷鼻敏胶囊对大鼠过敏性鼻炎模型具有一定的抑制作用, 减轻其鼻黏膜病理组织学的改变, 提高其免疫功能; 可抑制大鼠棉球肉芽肿和小鼠二甲苯性耳肿胀; 抑制热刺激和化学刺激致小鼠的疼痛反应。结论: 辛芷鼻敏胶囊缓解大鼠过敏性鼻炎鼻部症状, 具有一定的抗炎和镇痛作用。

[关键词] 辛芷鼻敏胶囊; 变应性鼻炎; 药效

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)06-0066-03

变应性鼻炎 (allergic rhinitis AR) 是一种常见的变态反应性疾病, 临床以鼻痒、反复喷嚏、流清涕和鼻塞为特征。全球平均发病率为 10%~25%^[1], 且随着工业的发展和生活环境的改变, 其发病率近年来有增高趋势。中医药在防治变应性鼻炎方面有其独特的优势。本文对中药复方制剂辛芷鼻敏胶囊进行药效学实验, 为开发新药提供依据。

1 材料

1.1 药物 辛芷鼻敏胶囊提取物: 含生药 2.72 g·mL⁻¹, 由中国中医科学院中药研究所制剂室提供, 批号: 20021030, 用前加适量蒸馏水稀释成相应浓度; 阿司匹林片, 由佳木斯第二制药厂生产, 批号: 20010305; 鼻炎康片: 佛山德众药业有限公司生产, 每片含 1 mg 扑尔敏, 批号: 0207360; 卵蛋白冻干粉: Sigma 公司, 货号: A5253; 福氏佐剂: 自制, 液体石蜡加羊毛脂 (2:1) 共热至 70℃, 摇匀, 高压灭菌, 备用。

1.2 动物 SD 种大鼠, 雌雄各半, 体重 150~200 g, SPF 级, 购自维通利华实验动物有限公司, 合格证号: SCXK(京)2002-0003。昆明种小鼠, 体重 18~20 g, 购自中国医学科学院实验动物研究所繁殖厂, 动物合格证号: SCXK 11-00-0006。

1.3 仪器 OLYMPUS AU 640 生化测定仪, 日本产; 热板测痛仪 GJ-8420 型, 浙江。

2 实验方法

2.1 变应性鼻炎大鼠模型^[2~3] 取大鼠适应性饲养 1 周后, 背部皮内注射卵蛋白福氏佐剂乳剂 (卵蛋白 10 mg·mL⁻¹ 与高压灭菌后的福氏佐剂以 1:1 充分乳化制成) 1 mL/只, 进行主动致敏。致敏后随机分为 6 组, 即正常对照组 (背部注射生理盐水)、模型对照组、阳性药对照组和辛芷鼻敏大、中、小剂量组, 每组 10 只, 每 5 只 1 笼饲养。各组大鼠分别于致敏后第 5 天, 按照表 1 剂量连续灌胃给药 6d, 给药体积均为 5 mL·kg⁻¹。致敏后第 11 d, 大鼠背部皮内注射 1% 卵蛋白生理盐水液 0.1 mL/只, 进行即时性皮内试验, 选择皮丘发红范围超过 10 mm 的动物 (提示动物均已致敏), 用 1% 卵蛋白生理盐水液 0.1 mL/只, 滴入 (攻击) 动物双侧鼻腔。0.5 h 后股动脉取血, 离心, 取血清测定免疫学指标; 取全血 1 滴, 涂片, 常规制片染色, 油镜下计数嗜酸性细胞的数量; 鼻黏膜 (中隔) 脱落细胞涂片, 伊红染色, 计数每个高倍视野中 (10×100 倍) 肥大细胞脱颗粒数; 剥取鼻部, 暴露鼻中隔及双侧鼻腔, 常规制片, HE 染色, 光镜观察鼻黏膜的病理组织学变化结果用分级计分表示。计分标准: - 正常结构, 鼻中隔柱状上皮无增厚, 间质疏松无炎细胞浸润。+ : 鼻中隔柱状上皮轻度增厚, 间质疏松有少量炎细胞浸润。++ : 鼻中隔柱状上皮增厚, 间质疏松有炎细胞浸润, 有少量的嗜酸性细胞和

[收稿日期] 2008-09-18

[基金项目] 国家中医药管理局新药开发专项课题 (D2X031B)

[通讯作者] * 高丽, Tel: (0991) 4365113; E-mail: ximugaoli@gamil.com

肥大细胞。+++：鼻中隔柱状上皮增厚较明显，间质疏松有较多炎细胞浸润，有大量的嗜酸性细胞和肥大细胞。

2.2 炎症模型

2.2.1 大鼠棉球肉芽肿模型^[4] 取体重 150~160 g 的雄性大鼠 50 只，在乙醚浅麻醉下作腹部切口，将 30 mg 灭菌的棉球植入大鼠两侧腹股沟皮下，术后随机分为 5 组，每组 10 只，手术当天本品以 4.6, 2.3, 1.15 g·kg⁻¹ 剂量开始灌胃给药，连续 7 d，以阿司匹林为阳性对照药。第 8 天处死动物，剥离并取出肉芽组织，于 (60~90) °C 烘箱内干燥 1 h 后称重，减去原棉球重量，即为肉芽肿净重。计算抑制率。

2.2.2 二甲苯小鼠耳肿胀模型^[4] 取体重为 25~30 g 雄性小鼠，随机分为 5 组，每组 10 只，以本品 5, 2.5, 1.25 g·kg⁻¹ 连续灌胃给药 3 d，阳性药为阿司匹林，末次给药后将二甲苯 0.1 mL 滴于小鼠左耳的前后两面，右耳为对照，0.5 h 后处死小鼠，沿耳廓基线剪下两耳，用 8 mm 直径的打孔器分别在同一部位打下耳片，组织天平称重，以两耳片重之差为肿胀度，计算其抑制率，比较组间差异。

2.3 疼痛模型

2.3.1 化学刺激致小鼠疼痛模型^[4] 取体重为 18~22 g 的小鼠，分组与给药剂量方法同 2.2.2。末次给药后 0.5 h，每鼠腹腔注射 0.6% 的冰醋酸液 0.1 mL·10 g⁻¹，记录注射后 20 min 内小鼠的扭体次数及出现扭体反应的潜伏期，计算镇痛百分率，比较组间差异。

2.3.2 热刺激致小鼠疼痛模型^[4] 取体重为 18~22 g 的雌性小鼠，分别放置于 (55±0.5) °C 恒温的热板致痛仪上，记录小鼠自投入热板至出现舔后足的时间，以此为痛阈值。共测定 2 次，以其平均值不超过 30 s 者为合格。将经筛选合格小鼠随机分为 5 组，分组与给药剂量方法同 2.2.2。末次给药后每隔 0.5 h 测定 1 次痛阈值，连续数次，直至镇痛作用不明显为止。如痛阈值超过 60 s，即停止测试以 60 s 计。计算痛阈值，比较组间差异。

2.4 统计学方法 所获数据结果符合正态分布，用 ($\bar{x} \pm s$) 表示，计数资料以阳性率表示，采用 SPSS 11.0 统计软件包进行统计学分析，分别采用单因素方差分析(方差齐时)，组间两两比较采用 *q* 检验，秩和检验(方差不齐时)，检验水准 $\alpha = 0.05$ ，以 $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

3 结果

3.1 对变应性鼻炎大鼠模型的影响^[2-3]

3.1.1 行为学改变 除空白对照组外，其余各组第 1 次鼻腔攻击后都出现变应性鼻炎症状，如频繁抓鼻、连续喷嚏、大量鼻涕等。随着给药时间延长，给药组与模型组相比变应性鼻炎症状明显减轻，仅有轻微抓鼻动作，偶见喷嚏，几乎没有鼻涕。

3.1.2 血清免疫学指标变化 模型组 IgA, IgG 和 IgM 值均较正常对照组明显升高，阳性药及辛芷鼻敏大、中剂量组动物的检测值均较模型组动物有明显降低，小剂量组变化不明显(见表 1)。

表 1 对卵蛋白致过敏性鼻炎大鼠免疫学指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	IgA (g·L ⁻¹)	IgG (g·L ⁻¹)	IgM (g·L ⁻¹)
正常对照	-	0.11 ± 0.02 ²⁾	0.07 ± 0.04 ²⁾	0.22 ± 0.02 ²⁾
模型对照	-	0.25 ± 0.11	0.21 ± 0.14	0.47 ± 0.21
鼻炎康片	4 × 10 ⁻³	0.16 ± 0.03 ¹⁾	0.12 ± 0.05	0.29 ± 0.09 ¹⁾
辛芷鼻敏胶囊	4.6	0.15 ± 0.04 ¹⁾	0.10 ± 0.09 ¹⁾	0.24 ± 0.10 ²⁾
	2.3	0.10 ± 0.05 ²⁾	0.10 ± 0.05 ¹⁾	0.27 ± 0.10 ¹⁾
	1.15	0.24 ± 0.14	0.29 ± 0.26	0.41 ± 0.27

注：与模型组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.1.3 血液中嗜酸性细胞的变化 模型组动物可见有嗜酸性细胞明显增多，阳性药及辛芷鼻敏 3 剂量给药组，嗜酸性细胞的数量均有明显减少(见表 2)。

表 2 对嗜酸性细胞数量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	嗜酸性细胞的数量(%)
正常对照	-	0.7 ± 0.6 ²⁾
模型对照	-	2.0 ± 1.1
鼻炎康片	4 × 10 ⁻³	0.8 ± 0.6 ²⁾
辛芷鼻敏胶囊	4.6	0.9 ± 0.7 ²⁾
	2.3	1.0 ± 0.6 ²⁾
	1.15	1.3 ± 0.6 ²⁾

3.1.4 鼻黏膜肥大细胞脱颗粒的变化 结果见表 3。

表 3 对鼻黏膜肥大细胞脱颗粒数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	肥大细胞脱颗粒数 (个/HP, 10 × 100 倍)
空白对照	-	0.0 ± 0.00 ³⁾
模型对照	-	6.7 ± 1.34
鼻炎康片	4 × 10 ⁻³	1.4 ± 1.35 ³⁾
辛芷鼻敏胶囊	4.6	1.2 ± 0.92 ³⁾
	2.3	1.8 ± 1.32 ³⁾
	1.15	2.0 ± 1.15 ²⁾

3.1.5 鼻黏膜病理组织学的变化 正常对照组动物的鼻中隔黏膜组织结构正常；模型组动物鼻中隔黏膜上皮细胞明显增厚，细胞增多，间质有鳞化，有

大量的淋巴细胞、肥大细胞及嗜酸性细胞,鼻黏膜间质肿胀,组织较疏松。给药 3 剂量组和阳性药组大鼠的鼻中隔黏膜柱状上皮增厚、鳞化、炎性细胞浸润、间质肿胀等病变均有不同程度地减轻,见表 4。

3.2 对动物炎症模型的影响 辛芷鼻敏胶囊 3 剂量组均可明显抑制大鼠棉球肉芽肿和抑制二甲苯至小鼠的耳肿胀结果见表 5~6。

表 4 对鼻黏膜病理组织学变化的影响 (n = 10)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	黏膜上皮细胞				间质			
		+++	++	+	-	+++	++	+	-
正常对照	-	0	0	10	0	0	0	10	-
模型对照	-	2	6	2	0	3	3	4	0
鼻炎康片	4×10 ⁻³	0	1	9	0	0	0	2	8
辛芷鼻敏胶囊	4.6	0	1	9	0	0	0	2	8
	2.3	0	3	7	0	0	0	3	7
	1.15	0	4	6	0	0	0	4	6

表 5 对大鼠棉球肉芽肿的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	肉芽肿干重(mg)	抑制率(%)
模型	-	123.75 ± 17.65	-
阿司匹林	0.1	74.90 ± 13.46 ³⁾	65.2
辛芷鼻敏胶囊	4.6	63.35 ± 12.26 ³⁾	95.3
	2.3	75.20 ± 14.43 ²⁾	64.6
	1.15	85.42 ± 20.19 ²⁾	44.9

表 6 对小鼠耳肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	肿胀度 (mg)	抑制率 (%)
模型	-	24.7 ± 2.6	-
阿司匹林	0.1	15.7 ± 4.9 ²⁾	57.3
辛芷鼻敏胶囊	5.0	15.8 ± 2.9 ²⁾	52.5
	2.5	17.9 ± 4.4 ¹⁾	27.5
	1.25	20.4 ± 3.0 ¹⁾	21.1

3.3 对动物疼痛模型的影响^[4] 辛芷鼻敏胶囊 3 剂量均可延长小鼠出现疼痛反应的潜伏期,大、中剂量可抑制冰醋酸致小鼠的疼痛反应,结果见表 7。可抑制热刺激致小鼠的疼痛反应,结果见表 8。

表 7 对小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	潜伏期 (S)	扭体反应 次数(次)	抑制率 (%)
模型	-	14.4 ± 3.9	14.9 ± 2.1	-
阿司匹林	0.1	39.0 ± 9.4 ³⁾	5.0 ± 1.6 ³⁾	68
辛芷鼻敏胶囊	5.0	28.1 ± 6.9 ²⁾	9.4 ± 3.3 ²⁾	38
	2.5	23.7 ± 4.7 ²⁾	11.0 ± 2.2 ²⁾	26
	1.25	20.3 ± 5.6 ¹⁾	13.2 ± 2.9	11

4 讨论

辛芷鼻敏胶囊处方,源于南宋严用和《严氏济生方》“苍耳散”,其在“苍耳散”基础上,其由白芷、辛

表 8 对热刺激致小鼠疼痛反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	痛阈值(s)			
		0.5 h	1 h	1.5 h	2 h
模型	-	11.5 ± 2.9	14.0 ± 3.7	23.5 ± 11.9	17.5 ± 4.1
阿司匹林	0.15	39.3 ± 15.4 ³⁾	36.6 ± 14.8 ³⁾	44.8 ± 17.8 ¹⁾	23.6 ± 6.4 ¹⁾
辛芷鼻敏胶囊	5	29.7 ± 12.4 ²⁾	27.0 ± 11.0 ²⁾	33.5 ± 15.3 ²⁾	26.3 ± 9.3 ²⁾
	2.5	24.7 ± 8.7 ²⁾	20.7 ± 7.3 ²⁾	30.7 ± 12.8 ¹⁾	21.5 ± 5.5 ¹⁾
	1.25	22.3 ± 7.9 ²⁾	17.1 ± 4.4 ¹⁾	27.5 ± 9.6 ¹⁾	18.4 ± 6.0

夷、苍耳子等 8 味中药组成,方中白芷祛风散寒、宣肺通窍为君药;辛夷、苍耳子、鹅不食草散风寒、通鼻窍,葱白散寒解表通阳,共为臣药;黄芪益气健脾,百部润肺止咳,五味子敛肺固津,一枝蒿祛风解毒活血,共为佐药。既可疏散风寒而祛除邪气,又能温肺强卫而宣通鼻窍,且有益气固表而强卫敛津,兼益脾肾,散中有收,泻中寓补,诚为治疗变应性鼻炎即鼻鼽之良剂。

本实验应用 OVA 造成变应性鼻炎大鼠模型,通过行为学观察发现其与临床表现吻合,提示造模成功;而用辛芷鼻敏胶囊、阳性药干预后,喷嚏数明显减少,抓鼻数亦见明显改善,这一结果与临床试验相一致。辛芷鼻敏胶囊 4.6, 2.3, 1.15 g·kg⁻¹, 分别相当临床剂量的 20、10、5 倍,可明显降低卵蛋白致过敏性鼻炎模型大鼠血清抗体 IgA, IgG 和 IgM 的含量,减轻其肥大细胞的脱颗粒现象,减少嗜酸性细胞的数量,减轻过敏原致大鼠的搔抓鼻部、喷嚏等症状;可明显降低鼻炎模型大鼠鼻黏膜病理组织学改变;抑制大鼠棉球肉芽肿、抑制二甲苯致小鼠的耳肿胀;抑制冰醋酸致小鼠的疼痛反应;抑制热刺激致小鼠的疼痛反应。提示,辛芷鼻敏对于大鼠过敏性鼻炎模型具有一定抑制作用,并具有一定抗炎和镇痛作用。

[参考文献]

- [1] Quraishi SA, Davies MJ, Craig TJ. Inflammatory responses in allergic rhinitis: traditional approaches and novel treatment strategies[J]. J Am Osteopath Assoc, 2004, 104 (5Suppl): S7215.
- [2] 龚丽霞,刘佳.大鼠过敏性鼻炎模型的复制[J].沈阳医学院学报,1989,3(1):63.
- [3] 唐代屹.鼻敏舒对过敏性鼻炎大鼠红细胞免疫功能影响的实验研究[J].云南中医中药杂志,1996,17(4):34.
- [4] 魏领地,苗培,马豹山.大鼠鼻炎模型的建立及通窍滴鼻液的治疗作用[J].中国实验方剂学杂志,1996,2(6):17.