

鼻炎口服液抗过敏作用的实验研究

刘晋华*, 李玉萍, 尤光甫
(解放军 251 医院, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 研究鼻炎口服液的抗过敏作用。方法: 采用抗血清致大鼠同种被动皮肤过敏、大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒、卵蛋白(OA)引起豚鼠鼻黏膜过敏反应、磷酸组胺致豚鼠过敏反应与 2,4-二硝基氯苯(DNCB)诱发的 DTH 小鼠迟发性超敏反应模型, 观察鼻炎口服液的抗过敏作用。结果: 与空白对照组比较, 鼻炎口服液能显著抑制大鼠同种被动皮肤过敏和豚鼠鼻黏膜过敏反应, 阻止大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒, 提高豚鼠对磷酸组胺的致敏阈并缩短过敏反应的持续时间, 抵制 DTH 小鼠迟发性超敏反应。结论: 鼻炎口服液具有一定的抗过敏作用。

[关键词] 鼻炎口服液; 抗过敏; 磷酸组胺

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)10-0050-04

Experiment Study on Anti-allergic Effects Biyan Oral Liquid

LIU Jin-hua*, LI Yurping, YOU Guangfu
(No. 251 Hospital of PLA, Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] **Objective:** To study anti-allergic effects of Biyan oral liquid. **Methods:** The models of rat homologous passive cutaneous anaphylaxis(PCA), rat's skull periosteal mast cell(MC) degranulation as well as guinea-pig anaphylaxis of nasal mucosa caused by antiserum, guinea-pig anaphylaxis induced of histamine-phosphate, the delayed-type hypersensitivity(DTH) of mice due to 2,4-dinitrochlorobenzol(DNCB) were employed to study the anti-hypersensitivity effects of Biyan oral liquid. **Results:** Compared with the control group, Biyan oral liquid could inhibit rat homologous passive skin anaphylaxis and guinea-pig nasal mucosa anaphylaxis, suppress the degranulation of MC in rats, raise allergy threshold induced by histamine-phosphate and curtail continuance of allergic effects. Biyan oral liquid could inhibit delayed-type hypersensitivity of DTH mice. **Conclusions:** Biyan oral liquid has the effects of anti-anaphylaxis.

[Key words] Biyan Oral liquid; anti-allergic; histamine-phosphate

鼻炎口服液是由辛夷、苍耳子、金银花等 5 味药材加工而成的复方中药制剂, 具有清热解毒、消炎排脓、散风寒、通鼻窍等功效, 临床用于急、慢性鼻炎、鼻窦炎、过敏性鼻炎等症。本文对鼻炎口服液的抗过敏作用进行了实验研究, 现报道如下。

1 材料

1.1 药品与试剂 鼻炎口服液: 苍耳子 250 g, 辛夷 150 g, 金银花 50 g, 茜草 50 g, 野菊花 50 g。辛夷、野菊花、苍耳子水蒸气蒸馏收集蒸馏液; 药渣与金银花

加水煎煮两次并浓缩, 加乙醇沉淀后过滤; 茜草乙醇浸渍 24 h 渗漉, 渗漉液合并浓缩液回收乙醇, 加水沉淀 12 h, 取上清液合并蒸馏液, 过滤, 100 °C 40 min 流通蒸汽灭菌。供试品浓度为 100%, 251 医院制剂室提供, 批号: 050513; 息斯敏, 西安杨森制药有限公司, 批号: 030725617; 地塞米松, 山东鲁抗振兴药业有限公司, 批号: 040704201; 磷酸组胺, 中国科学院上海生化所东风生化技术公司, 批号: 9302044; 卵蛋白(OA) 美国 Sigma 公司提供; 百日咳疫苗, 菌株 CS, $1.040 \times 10^{12} \cdot \text{mL}^{-1}$, 北京生物制品所; 伊文思蓝, 中国医药公司北京采购供应站进口分装, 批号: 891225; 二硝基氯代苯(DNCB), 北京化学试剂厂, 批号:

[收稿日期] 2007-03-15

[通讯作者] * 刘晋华, Tel: (0313) 8785290; E-mail:

980317; 氢氧化铝凝胶, 上海试剂供应采购站, 批号: 991022。

1.2 动物 SD 大鼠, ♂, 体重(180~200) g, (6~7) 周龄, 动物合格证号 SCXK(京)2002-0003; NIH 小鼠, ♀ ♂各半, 体重(18~20) g, (6~7) 周龄, 动物合格证号: SCXK(京)2002-0010; 豚鼠, ♀ ♂各半, 体重(150~200) g, 动物合格证号: SCXK(京)2002-0026; 均由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。

1.3 仪器 Jasco U-530 型紫外可见分光光度计(日本); Sartorius BP-2110 型电子分析天平(德国); XSB-3 显微镜(上海物理光学仪器厂); HW·W21 电热恒温水浴箱(北京长风仪器仪表公司)。

1.4 统计方法 实验结果均以($\bar{x} \pm s$)表示, 组间差异采用 *t* 检验。

2 方法

2.1 对大鼠同种被动皮肤过敏反应的影响^[1] 抗血清制备: 取雄性 SD 大鼠, 每侧大腿肌肉注射 1% 卵蛋白生理盐水 0.2 mL, 同时腹腔注射生理盐水稀释的白鼠疫苗 $2 \times 10^{10} \cdot \text{mL}^{-1}$, 1 mL/只, 于第 13 天眼静脉丛取血, $500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心, 分离血清, 置 -4 °C 冰箱备用。

以同种雄性大鼠 40 只, 随机分为空白对照组、鼻炎口服液高、低剂量组、阳性对照组。灌胃给药, 空白对照组给予生理盐水。10 mL·kg⁻¹, 1 次/d, 连续 14 d。末次给药次日, 大鼠背部中线两侧距脊柱 1.5 cm 处剃毛, 以 1:10 稀释的抗血清背部皮内注射, 每侧两点, 间隔(1.5~2) cm, 每点 0.1 mL。48 h 后, 尾静脉注射 1% 伊文思蓝、2% 卵蛋白生理盐水各 0.5 mL, 30 min 后脱颈处死大鼠, 剪下带有蓝色的皮肤, 置入盛有 5 mL 丙酮生理盐水(7:3)试管内浸泡 48 h, $2\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心, 取上清液于 610 nm 处测定吸光度值, 计算抑制率(抑制率% = 100 - 实验组吸光度/对照组吸光度 × 100)。

2.2 对豚鼠鼻黏膜过敏反应的影响^[2] 取豚鼠 40 只, ♀ ♂各半, 随机分为 4 组, 腹腔注射卵蛋白福氏不全佐剂(10 mg·mL⁻¹) 0.5 mL/只致敏, 同时按表 2 项下灌胃给药, 1 次/d, 连续 14 d。末次给药后 60 min, 静脉注射 1% 伊文思蓝生理盐水每 100 g 体重 0.5 mL, 随后立即以 1 mg·mL⁻¹ 卵蛋白生理盐水溶液自双侧鼻孔注入, 每侧 0.05 mL, 20 min 后将动物处死, 沿双眼内眦连线, 剪下鼻部, 用滤纸吸干血液, 剥去皮肤, 将鼻甲及黏膜一起剪碎, 浸入 5 mL 70% 丙

酮生理盐水 48 h, $2\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液在 600 nm 处测定吸光度值, 以平均值吸光度表示过敏程度。

2.3 对大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒的影响^[3] 抗血清制备: 将天花粉按 5 mg·mL⁻¹ 的浓度溶于 6% 氢氧化铝凝胶中, 制成天花粉凝胶, 注射天花粉凝胶 0.1 mL 于实验大鼠的各足掌, 12 h 后, 股动脉取血, 置 -4 °C 冰箱过夜, 分离血清, 用前按 1:20 比例以 0.9% 氯化钠注射液稀释。

取雄性 SD 大鼠 40 只, 分为 4 组, 每组 10 只。空白对照组给与生理盐水 10 mL·kg⁻¹, 实验组、阳性对照组按表 3 分组灌胃给药, 1 次/d, 连续 4 d。末次给药后 30 min 后, 将 1:20 的大鼠抗血清 0.1 mL 注射于各组大鼠的颅顶皮下组织, 注射后 24 h, 尾静脉注射 1 mL 天花粉伊文思蓝溶液(天花粉 1 mg 溶于 1 mL 0.5% 伊文思蓝), 30 min 后处死动物, 剪去颅顶部皮肤, 取颅骨盖浸泡于无水乙醇中, 1 h 后转移至甲醇溶液中固定过夜, 用中性红染色 30 min, 常水冲洗剥离骨膜, 平铺于载玻片, 待干燥后加盖镜检。选择肥大细胞密度较高的 3 个区域计数每平方毫米的肥大细胞总数, 并计算细胞脱颗粒抑制率(细胞脱颗粒抑制率% = 1 - 脱颗粒肥大细胞数/肥大细胞总数)。

2.4 对磷酸组胺致过敏反应的影响^[4] 取豚鼠 40 只, ♀ ♂各半, 随机分为 4 组, 按表 4 分别灌胃给予鼻炎口服液高、低剂量, 息斯敏及生理盐水(10 mL·kg⁻¹), 连续 10 d, 1 次/d。于第 9 天所有动物脱去背部(4×4) mm 面积毛发, 末次给药后 1 h, 用 5 号针头轻轻划破脱毛处表皮, 避免出血。在划痕部位顺序滴入不同浓度的磷酸组胺(0.01%~0.1%), 每 1 浓度留置 2 min, 观察豚鼠舌舔划痕部位、前爪搔抓头或甩头、后爪搔抓躯干、嘴咬全身各部位、全身剧烈抖动、躁动不安、打滚或休克等现象, 以引起反应的最低浓度作为致敏阈并记录各组平均致敏阈及反应持续时间。

2.5 对小鼠迟发型超敏反应的影响^[5] 取 NIH 小鼠 40 只, 随机分为 4 组, 鼻炎口服液高、低剂量组、息斯敏组、空白对照组, 每组 10 只。按表 5 灌胃给药, 空白对照组给予生理盐水 10 mL·kg⁻¹, 连续 9 d, 1 次·d⁻¹。第 5 天给药后, 将小鼠腹部去毛, 范围(3×3) cm, 用 1% DNCB 丙酮中性麻油(1:1)溶液 50 μL 均匀涂于去毛部位致敏, 次日强化 1 次。给药第 9

天后,再以 1% DNCB 溶液均匀涂于小鼠右耳激发过敏反应,左耳为对照。涂耳 24 h 后,脱颈椎处死小鼠,剪下双耳耳廓,以直径 8 mm 打孔器摘取左右耳片称重,以两侧耳重的差值(肿胀度)作为迟发型超敏反应值。

3 结果

3.1 对大鼠同种被动皮肤过敏反应的作用 实验结果显示,鼻炎口服液高剂量和低剂量均能明显抑制 48 h 同种被动皮肤过敏反应 ($P < 0.01, P < 0.05$),并呈一定的量效关系。

表 1 鼻炎口服液对大鼠同种被动皮肤过敏反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (提取物量 $g \cdot kg^{-1}$)	吸光度	抑制率 (%)
生理盐水	—	0.062 \pm 0.016	—
鼻炎口服液	10.0	0.019 \pm 0.012 ²⁾	69.4
鼻炎口服液	5.0	0.043 \pm 0.014 ¹⁾	30.6
息斯敏	0.001	0.015 \pm 0.009 ²⁾	75.8

注:与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.2 对豚鼠鼻黏膜过敏反应的作用 由表 2 可见,高剂量和低剂量鼻炎口服液均能非常显著抑制卵蛋白诱发的豚鼠鼻黏膜过敏反应 ($P < 0.01$)。

表 2 鼻炎口服液对豚鼠鼻黏膜过敏反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (提取物量 $g \cdot kg^{-1}$)	吸光度
生理盐水	—	0.126 \pm 0.021
鼻炎口服液	10.0	0.077 \pm 0.010 ²⁾
鼻炎口服液	5.0	0.095 \pm 0.009 ²⁾
地塞米松	0.004	0.074 \pm 0.013 ²⁾

3.3 对大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒的影响 鼻炎口服液高剂量组和低剂量组均明显抑制大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒 ($P < 0.01, P < 0.05$),说明鼻炎口服液对大鼠肥大细胞具有明显保护作用。

表 3 鼻炎口服液对骨膜肥大细胞脱颗粒的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (提取物量 $g \cdot kg^{-1}$)	抑制率 (%)
生理盐水	—	—
鼻炎口服液	10.0	53.7 \pm 8.1 ²⁾
鼻炎口服液	5.0	44.2 \pm 6.3 ¹⁾
地塞米松	0.004	64.5 \pm 5.6 ²⁾

3.4 对磷酸组胺致过敏反应的作用 实验结果显示,高剂量和低剂量鼻炎口服液均可明显提高豚鼠

对磷酸组胺的致敏阈 ($P < 0.01, P < 0.05$),高剂量还能显著缩短过敏反应的持续时间。

表 4 鼻炎口服液对磷酸组胺致过敏反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (提取物量 $g \cdot kg^{-1}$)	致敏阈 (ng)	持续时间 (s)
生理盐水	—	13.40 \pm 9.11	62.5 \pm 22.35
鼻炎口服液	10.0	61.44 \pm 29.47 ²⁾	42.3 \pm 17.54 ¹⁾
鼻炎口服液	5.0	35.24 \pm 30.06 ¹⁾	51.1 \pm 18.65
息斯敏	0.001	87.26 \pm 31.22 ²⁾	33.7 \pm 11.22 ²⁾

3.5 对小鼠迟发型超敏反应的作用 结果显示,鼻炎口服液高剂量组和低剂量组均可抑制 2,4-二硝基氯苯所致的小鼠迟发性超敏反应 ($P < 0.01, P < 0.05$)。

表 5 鼻炎口服液对小鼠迟发型超敏反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (提取物量 $g \cdot kg^{-1}$)	耳肿胀度 (mg)
生理盐水	—	3.62 \pm 0.68
鼻炎口服液	10.0	2.01 \pm 0.43 ²⁾
鼻炎口服液	5.0	2.93 \pm 0.52 ¹⁾
地塞米松	0.004	1.88 \pm 0.46 ²⁾

4 讨论

当机体对某些变应原敏感性增高而在鼻腔黏膜发生时,称为鼻部的变态反应。在全球范围内,变态反应鼻炎的发病率高达 15% ~ 20%;在我国部分中心城市观察,患病率约在 5% ~ 10%,患者超过 5 000 万^[6]。

I 型变态反应(速发型过敏反应)主要由 IgE 抗体介导。研究证实, IgE 的 Fe 端与肥大细胞表面特异受体结合形成 IgE 复合物,可使肥大细胞致敏,当抗原攻击时,肥大细胞脱颗粒,继而释放组胺,慢反应物质等多种生物活性物质,导致变态反应发生。本实验研究表明,鼻炎口服液可显著抑制卵蛋白诱发的大鼠同种皮肤和豚鼠鼻黏膜速发型过敏反应,并能阻止大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒,显示鼻炎口服液具有抗 I 型变态反应的作用。

磷酸组胺在变态反应鼻炎发病机制中具有重要作用,它是目前确定唯一能诱发出全部鼻炎变态反应的炎症介质。本实验显示,鼻炎口服液能有效拮抗磷酸组胺的致敏作用,显著降低豚鼠的致敏阈,高剂量时还能缩短过敏反应的持续时间。

IV 型变态反应(迟发型超敏反应)是由 T 细胞介导的。系由抗原进入机体使 T 细胞致敏,当再次接

触抗原时,致敏T细胞分化增殖,释放各种淋巴因子及直接杀伤靶细胞,出现以单核细胞浸润为主的局部炎症反应。鼻炎口服液能显著抑制2,4-二硝基氯苯诱导的小鼠耳壳肿胀,表明该药物具有抗迟发型过敏反应的作用。

本项实验证实,鼻炎口服液具有抗过敏作用,可用于变态性鼻炎的临床治疗。

[参考文献]

[1] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 1407-1416.

- [2] 周龙强, 饶伟源, 李茂, 等. 苍鹅鼻炎片的药效学研究[J]. 中药药理与临床, 2004, 20(4): 39.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 356, 657.
- [4] 郑咏秋, 戴敏, 陈光亮, 等. 消风散颗粒抗过敏作用及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(6): 28.
- [5] 潘经媛, 邱银生, 严汉池, 等. 盐酸塞多平乳膏的止痒和抗过敏作用[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(12): 1506.
- [6] 杨伟炎. 免疫、变态反应与耳鼻咽喉疾病[J]. 实用医院临床杂志, 2006, 3(6): 1.