

黑面神水提物抗皮肤 I 型超敏反应的研究[△]

彭伟文*,戴卫波,梅全喜,高玉桥,林慧,胡莹,张文霞(广州中医药大学附属中山市中医院,广东中山528401)

中图分类号 R285;R97 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1747-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.07

摘要 目的:研究黑面神水提物抗皮肤I型超敏反应的药理作用。方法:内源性组胺和外源性组胺实验均分为空白对照(等容蒸馏水)、扑尔敏(4 mg/kg)与黑面神水提物高、中、低剂量(18、9、4.5 g/kg)组,灌胃给药,每天1次,连续5 d。末次给药1 h后尾静脉注射0.025%低分子右旋糖酐-40(1.25 mg/kg)诱发小鼠阵发性皮肤瘙痒模型,记录小鼠30 min内皮肤瘙痒发作次数与时间;末次给药1 h后于小鼠腹部正中脱毛皮肤处皮内注射0.1%磷酸组胺(0.1 ml/10 g),观察毛细血管通透性。结果:与空白对照组比较,黑面神水提物高、中、低剂量组小鼠30 min内瘙痒发作次数显著减少,瘙痒持续时间显著缩短,毛细血管通透性显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论:黑面神水提物可通过抑制组胺的释放发挥抗皮肤I型超敏反应作用。

关键词 黑面神;水提物;I型超敏反应;组胺

Experimental Study on Antagonizing Type I Hypersensitivity Effect of Water-extract of *Breynia fruticosa*

PENG Wei-wen, DAI Wei-bo, MEI Quan-xi, GAO Yu-qiao, LIN Hui, HU Ying, ZHANG Wen-xia (The Affiliated Zhongshan Municipal TCM Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangdong Zhongshan 528401, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the pharmacological effect of water-extract of *Breynia fruticosa* antagonizing type I hypersensitivity. METHODS: Endogenous and exogenous histamine experiments were divided into blank control (constant volume of distilled water), chlorphenamine maleate (4 mg/kg), water-extract of *B. fruticosa* high-dose, medium-dose and low-dose (18, 9, 4.5 g/kg) groups. They were given medicine intragastrically once a day for consecutive 5 days. Paroxysmal skin pruritus mice model was induced by injecting with 0.025% low molecular dextran (1.25 mg/kg) via tail vein 1 h after last medication. The frequency and time of paroxysmal skin pruritus attack were recorded within 30 min. 1 h after last medication, 0.1% histamine phosphate (0.1 ml/10 g) was injected intracutaneously on wound surface of abdominal middle region in mice. The permeability of capillary vessel was observed. RESULTS: Compare with blank control group, the frequency and duration of paroxysmal skin pruritus attack were decreased significantly, while the permeability of capillary vessel was decreased apparently in water-extract of *B. fruticosa* high-dose, medium-dose and low-dose groups ($P<0.01$ or $P<0.05$). CONCLUSIONS: The water-extract of *B. fruticosa* could restrain type I hypersensitivity by suppressing release of histamine.

KEY WORDS *Breynia fruticosa*; Water extract; Type I hypersensitivity; Histamine

- 3 486.
- [6] 张敏,邓丽菊,王文珍,等. RP-HPLC测定复方槲皮素片中槲皮素芹菜素的含量[J]. 辽宁中医学院学报, 2002, 4(2): 149.
- [7] 孙敏,孙晶,朱荃. 抗氧化中药对蛋白质非酶糖基化反应的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2005, 21(2): 103.
- [8] Anshuman Trigunayat. Effect of ethanolic extract of *H. perforatum* on oxidative stress induced by cerebral ischemia-reperfusion in rats[J]. *Ann Neurosci*, 2009, 16(1): 6.
- [9] Figueroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2008, 9(4): 301.
- [10] 胡毅,唐罗生. 糖尿病视网膜病变时血管周细胞的凋亡[J]. 国际眼科杂志, 2009, 9(2): 330.
- [11] 赵燕,杨秋萍. 糖尿病肾病与细胞凋亡及其相关基因研究进展[J]. 医学综述, 2007, 1(12): 911.
- [12] Walensky LD. Bcl-2 in the crosshairs: tipping the balance of life and death[J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(8): 1 339.
- [13] 刘学政,萧萍,于波. 凋亡相关基因 BCL-2 和 BAX 在糖尿病大鼠视网膜中的表达[J]. 眼科研究, 2002, 20(4): 440.
- [14] Semenkova L, Dudich E, Dudich I, et al. Alpha-fetoprotein positively regulates cytochrome C-mediated caspase activation and apoptosome complex formation[J]. *Eur J Biochem*, 2003, 270(21): 4 388.
- [15] 颌瑞萍,刘莹,车红霞,等. 益气养阴方对实验性糖尿病大鼠视网膜 P53、Bcl-2 基因表达的影响[J]. 中国中医眼科杂志, 2009, 19(1): 5.
- [16] 冷锦红,于世家. 糖尿病慢性并发症与细胞凋亡及相关基因关系的述评[J]. 中华中医药学刊, 2008, 2(3): 612.

△基金项目:中山市科技计划资助项目(No.20102A033)

*主任中药师,教授,硕士研究生导师。研究方向:中药制剂研发。电话:0760-88815106。E-mail:pww200688@21cn.com

(收稿日期:2013-02-06 修回日期:2013-03-15)

黑面神为大戟科植物黑面神 *Breynia fruticosa* (L.) Hook. f. 的干燥地上部分,又名青凡木、钟馗草,主要分布于广东、广西、海南、云南、福建、浙江、贵州等省,为广东习用地产药材,具有清热祛湿、活血解毒的功效^[1]。现代研究表明,黑面神含有蒽、生物碱、黄酮、鞣质等成分,具有抑菌、抗病毒、抗炎等药理作用^[2-3],临床常用于治疗湿疹、荨麻疹、皮肤瘙痒、漆过敏等 I 型超敏反应性皮肤病^[4-5]。为进一步开发、应用黑面神,笔者对其水提物抗皮肤 I 型超敏反应的药理作用进行了研究。

1 材料

1.1 仪器

UV-754 型紫外-可见分光光度计(上海第三分析仪器厂);微量移液器(上海求精生化试剂仪器有限公司);TD25-WS 型 48 孔多管架自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);JA1203 型电子天平(上海天平仪器厂)。

1.2 药材

黑面神,购于广州致信中药饮片有限公司,经广东省中山市中医院曾聪彦主任中药师鉴定为真品。

1.3 药品与试剂

磷酸组胺(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20040831);马来酸氯苯那敏片(扑尔敏,广东南国药业有限公司,批号:111104);右旋糖酐-40 葡萄糖注射液(批号:R11112702)、氯化钠注射液(批号:T11093009)均购自四川科伦药业股份有限公司;伊文斯蓝(中国医药集团总公司,批号:871225)。

1.4 动物

SPF 级昆明种小鼠,♀♂ 兼半,体质量(20±2)g,购于广东省医学实验动物中心[动物使用许可证号:SCXK(粤)2008-0002]。

2 方法

2.1 黑面神水提物的制备

取黑面神药材粗粉 500 g,用冷水浸泡 1 h,第 1 次煎煮用 5 L 水,煮沸 1 h,滤过。第 2、3 次煎煮分别用 2.5 L 水,煮沸 30 min,滤过。合并 3 次滤液,4℃ 贮藏 24 h 后抽滤,旋转蒸发仪中浓缩滤液至 1 000 ml,4℃ 贮藏,临用前制备成所需浓度的溶液。

2.2 黑面神水提物对小鼠全身性皮肤瘙痒的影响

实验分为 5 组,即空白对照(等容蒸馏水)、扑尔敏(0、0.04 g/kg)与黑面神水提物高、中、低剂量(18、9、4.5 g/kg)组。ig 给药,每天 1 次,连续 5 d,于末次给药后 1 h 尾 iv 0.025% 低分子右旋糖酐-40(1.25 mg/kg)。以小鼠前爪搔抓头部,后爪搔抓躯干,嘴咬全身各部位作为瘙痒指征。记录瘙痒持续总时间与 30 min 内瘙痒发作次数。

2.3 黑面神水提物对外源性组胺所致毛细血管通透性的影响^[6-7]

分组与给药同“2.2”项下方法操作。于末次给药 1 h 后尾 iv 0.5% 伊文斯蓝(0.1 ml/10 g),立即于小鼠腹部正中事先已脱毛皮肤处皮内注射 0.1% 磷酸组胺(每只 0.1 ml),形成一个小皮丘。注射完毕后留针 10 s,以防药液外渗。30 min 后,将小鼠脱颈椎致死,剖开腹部,剪下腹部蓝染皮肤,用手术剪剪碎,置试管内,加入 4 ml 丙酮-生理盐水(7:3, V/V)混合液,振荡。浸泡 24 h 后,2 000 r/min 离心 10 min,取上清液于 610 nm 波长处测定吸光度(OD)值。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件包统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,进行 Dunnett-*t* 或 *t'* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 黑面神水提物对左旋糖酐-40 所致小鼠皮肤瘙痒的影响

与空白对照组比较,黑面神水提物高、中、低剂量组瘙痒次数显著减少,瘙痒持续时间显著缩短($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。表明黑面神水提物对右旋糖酐-40 所致小鼠全身瘙痒有明显的抑制作用。黑面神水提物对右旋糖酐-40 所致小鼠皮肤瘙痒的影响见表 1。

表 1 黑面神水提物对右旋糖酐-40 所致小鼠皮肤瘙痒的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Effect of water extract of *B. fruticosa* on skin pruritus caused by dextran ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量, g/kg	瘙痒次数, 次	瘙痒持续时间, s
空白对照组		18.11±6.75	314.88±252.05
扑尔敏组	0.004	12.30±4.14**	185.31±60.06*
黑面神水提物高剂量组	18.000	12.20±3.74**	198.70±76.74*
黑面神水提物中剂量组	9.000	13.56±3.28*	178.35±69.87*
黑面神水提物低剂量组	4.500	13.67±1.73*	133.35±61.99**

与空白对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. blank control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2 黑面神水提物对外源性组胺所致毛细血管通透性的影响

与空白对照组比较,黑面神水提物高、中、低剂量组小鼠蓝染皮肤 OD 值显著减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。表明黑面神水提物有明显抑制外源性磷酸组胺引起的小鼠皮肤毛细血管通透性增高的作用。黑面神水提物对组胺所致毛细血管通透性的影响见表 2。

表 2 黑面神水提物对组胺所致毛细血管通透性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Effect of water extract of *B. fruticosa* on the penetrability of capillary vessel induced by histamine ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量, g/kg	蓝染皮肤 OD 值
空白对照组		0.338±0.238
扑尔敏组	0.004	0.206±0.095*
黑面神水提物高剂量组	18.000	0.169±0.048**
黑面神水提物中剂量组	9.000	0.216±0.060*
黑面神水提物低剂量组	4.500	0.191±0.079*

与空白对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. blank control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

湿疹、荨麻疹、漆过敏等皮肤 I 型超敏反应主要是由免疫球蛋白(IgE)介导,肥大细胞、嗜碱粒细胞和嗜酸粒细胞等效应细胞以释放生物活性介质的方式参与发生^[8]。组胺是由左旋组氨酸脱酸生成后以肝素结合形式储存于组织肥大细胞、嗜碱性粒细胞及血小板的胞浆中的生物活性介质。当这些细胞受到免疫性原因或其他理化因素刺激后,可导致组胺释放,通过组胺 H₁ 或 H₂ 受体引起皮肤和黏膜毛细血管扩张和渗透性增高,可使皮肤黏膜水肿、充血、血浆外渗,出现风团、红斑、丘疹,并能通过刺激神经末梢而引起瘙痒^[9]。低分子右旋糖酐-40 是有一定数量的大分子右旋糖酐,这些大分子排泄缓慢,易造

丹参对听功能损伤模型豚鼠的保护作用研究[△]

张再兴*,付兴华(河北联合大学附属医院,河北唐山 063000)

中图分类号 R276.1;R979.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1749-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.08

摘要 目的:研究丹参对听功能损伤模型豚鼠的保护作用。方法:连续5 d腹腔注射顺铂2 mg/kg以复制豚鼠听功能损伤模型。实验分为3组,即对照(等容生理盐水,5 d)、模型、丹参(8 ml/kg,7 d)组,腹腔注射给药,每天1次。测定豚鼠听性脑干反应(ABR)阈值与I波潜伏期变化;透射电镜观察内耳形态变化。结果:与对照组比较,模型组豚鼠ABR阈值显著升高、I波潜伏期显著延长($P<0.01$);与模型组比较,丹参组豚鼠ABR阈值显著降低、I波潜伏期显著缩短($P<0.01$)。丹参组内耳毛细胞变性坏死程度较模型组明显减轻。结论:丹参对顺铂导致的内耳损伤有一定的保护作用。

关键词 丹参;顺铂;豚鼠;听功能;形态;内耳

Study of the Protective Effect of *Salvia miltiorrhiza* on Hearing Function Damage Model of Guinea Pig

ZHANG Zai-xing, FU Xing-hua (The Affiliated Hospital of Hebei United University, Hebei Tangshan 063000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of *Salvia miltiorrhiza* on hearing function in cisplatin injury model guinea pigs. METHODS: The hearing function injury model was induced by intraperitoneal injection of cisplatin 2 mg/kg for consecutive 5 days. The model rats were divided into 3 groups, i.e. control (constant volume of normal saline, 5 d), model, *S. miltiorrhiza* (8 ml/kg, 7 d) groups. They were given medicines intraperitoneally once a day. The changes of auditory brainstem response (ABR) threshold and latency of wave I were determined, and the morphological changes of inner ear were observed by transmission electron microscope. RESULTS: Compared with control group, ABR threshold in model group increased significantly, and latency of wave I prolonged significantly ($P<0.01$); compared with model group, ABR threshold in *S. miltiorrhiza* group decreased significantly, and latency of wave I shortened significantly ($P<0.01$). The necrosis of bristle cells in inner ear in *S. miltiorrhiza* group was slighter than in model group. CONCLUSIONS: *S. miltiorrhiza* shows protective effects against cisplatin-induced injury to the inner ear.

KEY WORDS *Salvia miltiorrhiza*; Cisplatin; Guinea pigs; Hearing function; Morphology; Inner ear

顺铂主要用于治疗头颈部和泌尿系统的恶性肿瘤,内耳损伤是其主要副作用之一,减轻内耳损伤是研究顺铂副作用的重要方向。有研究报道,丹参被广泛应用于治疗心脑血管

疾病、肝肾疾病、颈肩腰腿疾患等多种疾病,疗效令人满意^[1],但丹参是否能减轻顺铂造成的内耳损伤还未知。本研究拟采用顺铂内耳损伤的动物模型,通过听性脑干反应(ABR)测定、

成蓄积,是多糖化合物中促组胺释放作用最显著的物质^[10]。本研究表明,黑面神水提取物可显著减少尾iv右旋糖酐-40所致全身瘙痒模型小鼠的30 min内瘙痒次数和瘙痒持续总时间,表现出良好的止痒作用;同时,黑面神水提取物也可抑制外源性磷酸组胺引起的小鼠皮肤毛细血管通透性增高。由此提示,黑面神水提取物对内源性组胺和外源性组胺均有抑制作用,表明黑面神水提取物可通过抑制组胺的释放而发挥抗I型超敏反应的药理作用。

参考文献

- [1] 梅全喜. 广东地产药材研究[M]. 广州: 广东科技出版社, 2011: 617.
- [2] 范文昌, 梅全喜, 李楚源. 广东地产清热解毒药物大全[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2011: 615.
- [3] 彭伟文, 谭泳怡, 梅全喜, 等. 黑面神水提取物抗炎作用实验

研究[J]. 今日药学, 2012, 22(3): 145.

- [4] 彭伟文, 梅全喜, 戴卫波. 广东地产药材黑面神研究进展[J]. 亚太传统医药, 2010, 6(7): 137.
- [5] 陈奇. 中药药效研究思路与方法[M]. 1版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1 067.
- [6] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1 412.
- [7] 李忻红, 陈兴, 关洪全. 消敏颗粒抗皮肤I型超敏反应的实验研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(4): 32.
- [8] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 293.
- [9] 朱学俊, 顾有守, 沈下丽. 实用皮肤病性病治疗学[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998: 69.
- [10] 林宇红, 徐建华. 组胺释放剂及其作用机制的研究进展[J]. 生理科学进展, 1994, 25(1): 42.

[△]基金项目: 河北联合大学博硕基金项目(No.2002-17)

*副主任医师, 副教授, 博士。研究方向: 耳科学基础与临床。电话: 0315-3725279。E-mail: bj1368317@126.com

(收稿日期: 2012-06-05 修回日期: 2012-09-24)