文章编号:1000-5404(2014)17-1833-04

论著

复方芩苍鼻喷雾剂药效及安全性的初步评价

曾 钰[1],韩宪忠[2],金蜀蓉[2] (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院药学部[1];400014 重庆,重庆市第三人民医院药学部[2])

[摘要] **目的** 评价复方芩苍鼻喷雾剂对变应性鼻炎模型的药效及对局部、全身产生的急性毒性反应和局部刺激性,考察该药的安全性。**方法** 药效实验:选取豚鼠40只,分为正常对照组、模型组(采用卵蛋白致敏法建模)、给药组[低剂量组(黄芩苷含量8.21 mg/mL)、常规剂量组(黄芩苷含量24.63 mg/mL)],鼻腔喷予复方芩苍鼻喷雾剂5 d,根据过敏症状评分对药效进行评价。急性毒性实验、局部刺激实验:均参照中药新药研究指导原则,分别选取健康新西兰兔30只,分为空白对照组、给药组[低剂量组(黄芩苷含量8.21 mg/mL)、常规剂量组(黄芩苷含量24.63 mg/mL)],连续鼻腔给药7 d。分别评价急性毒性反应和局部刺激性反应,并结合鼻黏膜病理组织学检查,综合判断复方芩苍鼻喷雾剂的安全性和局部刺激性。**结果** 药效实验结果显示,给药组豚鼠鼻痒、喷嚏、流涕、呼吸等症状评分明显低于模型组($P<0.01$)。急性毒性实验及局部刺激性实验结果显示,所有动物未发生全身性反应及死亡,给药组与空白对照组差异无统计学意义($P>0.05$),表明并无明显的急性毒性反应和局部刺激性。处死的动物组织病理学检查未见异常。**结论** 复方芩苍鼻喷雾剂能改善变应性鼻炎症状,同时对新西兰兔无明显的急性毒性反应和局部刺激性,动物实验表明其安全性较高。

[关键词] 复方芩苍鼻喷雾剂;药效;急性毒性;局部刺激性;安全性
[中图法分类号] R289.5; R765.21; R969.4 [文献标志码] A

Primary evaluation for efficacy and safety of compound Qincang nasal spray in treatment of allergic rhinitis in guinea pigs

Zeng Yu[1], Han Xianzhong[2], Jin Shurong[2]([1]Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Department of Pharmacy, Third People's Hospital of Chongqing, Chongqing, 400014, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effects of compound Qincang nasal spray (containing bacalin as its active ingredient) on the guinea pig model of allergic rhinitis, and on the local and systemic toxicity as well as local irritation, and to evaluate the safety of this medicine. **Methods** Efficacy experiment: 40 healthy guinea pigs were selected and then divided into 4 groups, that is, normal control group, allergic rhinitis model group (established by ovalbumin sensitization) and administration groups including low dose group (bacalin 8.21 mg/mL) and conventional dose group (baicalin 24.63 mg/mL). After the animals were given compound Qincang nasal spray for 5 d, the effect was evaluated by allergic symptom scoring. Acute toxicity experiment and local irritation experiment: according to the guidance on the research of new Chinese traditional medicines, 30 healthy New Zealand rabbits were divided into 3 groups: blank control group and administration groups including low dose group (baicalin 8.21 mg/mL) and conventional dose group (baicalin 24.63 mg/mL). After drugs were administrated with nasal mode in 7 continuous days, the acute toxicity and local irritation were evaluated, and the safety and local irritant effect were comprehensively evaluated with the nasal mucosa pathological examination. **Results** Efficacy experiments showed that the symptom scores (nasal itching, sneezing, rhinorrhea, and dyspnea) were significant lower in the compound Qincang nasal spray administration groups than the model group ($P<0.01$). Acute toxicity experiment and local irritation experiment indicated there was no systemic reaction or death, or no statistical difference between administration groups and blank

[基金项目] 重庆市卫生局中医药科技项目(2009-2-155)
[通信作者] 金蜀蓉,E-mail: jsr6578@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140710.0907.009.html (2014-07-10)

control group ($P>0.05$). The compound Qincang nasal spray showed neither obvious acute toxicity reaction nor local irritation, and no pathological abnormality in killed animals. **Conclusion** Qincang nasal spray significantly improves the symptoms of allergies, and at the same time, has no obvious acute toxicity reaction or local irritant effect, which is considered to be safe in laboratory practice.

[**Key words**] compound Qincang nasal spray; efficacy; acute toxicity; local irritation; safety

Supported by the Science and Technology Project of Traditional Chinese Medicine and Herbs of Chongqing Municipal Health Bureau (2009-2-155).
Corresponding author: Jin Shurong, E-mail: jsr6578@163.com

鼻炎是鼻黏膜发生的感染性炎症和非感染性变态反应的统称,属中医鼻渊范畴,以鼻流浊涕为主症,常伴有头痛、鼻塞、不闻香臭等临床表现。中医治疗鼻炎以通鼻窍为主,改善鼻炎症状。现有的治疗鼻炎的中药口服制剂起效慢,不能及时缓解症状;滴鼻剂由于给药分布不均,使疗效受到一定影响;现有中药复方鼻喷雾剂是由多种中药组成的大复方制剂,各中药的成分复杂,往往放置一段时间后会有沉淀或混浊产生,使得产品的稳定性差。而西药改善症状疗效好,但诸如嗜睡、鼻出血、口干发苦等副作用大,尤其是药物依赖性严重限制了其应用。因此,研制治疗鼻炎的新型复方中药制剂具有重要意义。我们对现有中药治疗鼻炎的药物及原有鼻炎康滴鼻液组成分析表明[1],各组方中起主要作用的药材为黄芩、苍耳子、辛夷等。本制剂在本实验室早期研制的鼻炎康滴鼻剂的基础上重新组方,由黄芩、苍耳子、辛夷等组成,该组方合理,具有疏风清热、祛涕通窍的作用。本研究通过动物实验对复方芩苍鼻喷雾剂的药效和安全性进行研究,为临床应用提供实验数据支持。

1 材料与方法

1.1 药品和材料

复方芩苍鼻喷雾剂[医院自制,批号120308,规格:生药5.44 g/(8 mL·支),黄芩苷含量24.63 mg/mL],低剂量复方芩苍鼻喷雾剂[医院自制,批号120308,规格:生药1.82 g/(8 mL·支),黄芩苷含量8.21 mg/mL],复方芩苍鼻喷雾剂空白剂[医院自制,批号120308,规格:生药0 g/(8 mL·支)],甲醛为分析纯。

1.2 试剂和仪器

生理盐水(天圣制药集团股份有限公司,批号110609),卵蛋白(美国Sigma公司,批号030M1549),氢氧化铝(浙江温州市东升化工试剂厂,批号101208)。电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,型号BS110S),微量加样器(德国BRAND公司),电子显微镜(日本Olympus公司)。

1.3 实验动物

健康豚鼠40只,体质量200~350 g,清洁级,雌雄各半,由重庆市中药研究院实验动物研究室提供[合格证号:SCXK(渝)2007-0006]。新西兰兔60只,雌雄各半,体质量2.0~3.0 kg,清洁级,由第三军医大学大坪医院医学实验动物中心提供[合格证号:SCXK(渝)2007-0005]。

1.4 复方芩苍鼻喷雾剂对卵蛋白所致豚鼠变应性鼻炎的药效作用

40只豚鼠分为4组,每组10只:按魏伟等[2]的方法将实验动物分为正常对照组、模型组、低剂量复方芩苍鼻喷雾剂组和复方芩苍鼻喷雾剂组。具体方法:0.3 mg卵蛋白(OVA)、30 mg氢氧化铝加1 mL生理盐水配成混悬液,腹腔注射于模型组及2个药物组使其致敏,正常对照组用生理盐水代替。每次1 mL,隔天1次,给药时间7 d。然后用2% OVA生理盐水溶液滴鼻激发,每侧50 μL,1次/d,直至实验结束。从给予50 μL 2% OVA生理盐水的第8天进入给药过程。正常对照组和模型组喷予复方芩苍鼻喷雾剂空白剂,2个药物组分别给予低剂量复方芩苍鼻喷雾剂和复方芩苍鼻喷雾剂,各组给药量均为1喷/只(相当于人用剂量的4倍)。1次/d,连续给药5 d。给药期间先给药,再给激发原。记录给药期间OVA激发后30 min内动物的症状,依据鼻痒、喷嚏、流涕的轻重程度及次数多少来评分并记录,各症状评分叠加。评分标准参见文献[3-4]。

1.5 复方芩苍鼻喷雾剂对新西兰兔的急性毒性实验

参照文献[5]、《中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则》[6]和美国《毒理学原理与方法》[7],通过对新西兰兔鼻腔喷药后,观察复方芩苍鼻喷雾剂对动物的急性毒性反应。具体方法为:将30只新西兰兔按魏伟等[2]的方法分为3组,空白对照组:未加药;给药组:低剂量复方芩苍鼻喷雾剂组和复方芩苍鼻喷雾剂组。给药前新西兰兔禁食不禁水12 h。空白对照组给予双侧鼻腔复方芩苍鼻喷雾剂空白对照溶液2 mL/只,2个药物组分别给予低剂量复方芩苍鼻喷雾剂2 mL/只和复方芩苍鼻喷雾剂2 mL/只。若动物抵抗性强或药物渗漏,可给予数分钟间隔使其性情缓和,鼻孔微张后再行喷药,以保证使用的药量足够。观察给药后4 h动物表现情况,之后常规饲养观察7 d,每天上午、下午各观察1次,包括动物毛发外观、呼吸状况、鼻翼扇动、鼻腔和口腔有无异常分泌物、饮食、体质量、二便及其颜色、行为活动、中枢神经系统、死亡等情况。

1.6 复方芩苍鼻喷雾剂对新西兰兔的局部刺激性实验

参考文献[8]方法。将新西兰兔30只分为3组,每组10只,分别为空白对照组、低剂量复方芩苍鼻喷雾剂组和复方芩苍鼻喷雾剂组。空白对照组给予双侧鼻腔复方芩苍鼻喷雾剂空白

对照溶液,2 个药物组分别给予低剂量复方芩苍鼻喷雾剂(生药 0.23 g/mL,黄芩苷含量 8.21 mg/mL)与复方芩苍鼻喷雾剂(生药 0.68 g/mL,黄芩苷含量 24.63 mg/mL),各组给药量均为 1 mL/只(相当于人用剂量的 18 倍)。1 d/次,连续给药 7 d。若动物抵抗性强或药物渗漏,可给予数分钟间隔使其性情缓和,鼻孔微张后再行给药,以保证药液与鼻腔呼吸道黏膜接触达到 4 h 以上。观察给药后及给药恢复期间新西兰兔的局部刺激反应,注意给药后鼻黏膜的变化情况,包括红斑、水肿、充血程度及范围等。末次给药后 24 h,各组分别处死 5 只动物,取鼻黏膜组织,用 10% 甲醛固定,常规石蜡包埋、切片、HE 染色,电子显微镜下观察其结构变化。其余动物根据受试物刺激性反应情况,决定是否继续观察 7 ~ 14 d 进行病理组织学检查,通过停药后恢复期的观察,明确恢复情况。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,对组间差异进行 t 检验。

2 结果

2.1 复方芩苍鼻喷雾剂对变应性鼻炎模型的药理作用

2% OVA 溶液激发豚鼠第 8 天,正常对照组偶有鼻痒或喷嚏,但无清涕,属正常现象,其他各组均已出现鼻炎典型症状,造模成功。与正常对照组比较,模型组症状评分显著偏高($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组评分偏低,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

2.2 复方芩苍鼻喷雾剂对新西兰兔的急性毒性作用

给药后 7 d 内,3 组新西兰兔均无 1 例死亡。连续观察 7 d,低剂量复方芩苍鼻喷雾剂组及复方芩苍鼻喷雾剂组与空白对照组比较,动物毛发光泽,呼吸、鼻翼扇动、鼻腔、口腔未见异常,饮食、二便、活动如常,未见明显中毒表现。因无明显全身毒性反应和鼻腔局部症状,故未做进一步的病理组织学检查。各给药组与空白对照组体质量及体质量增加量差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

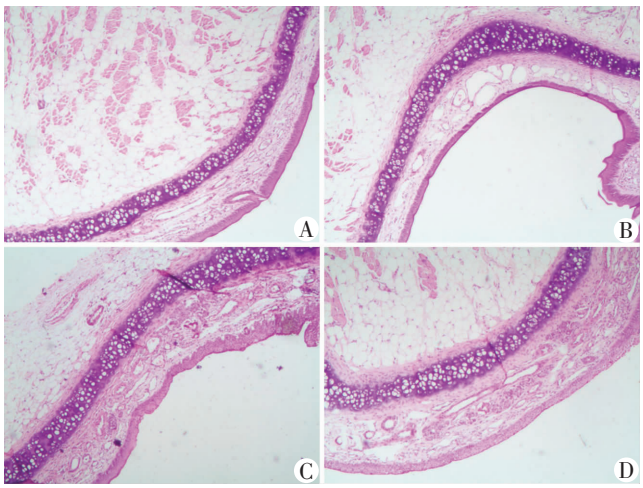
表 2 急性毒性实验检测各组新西兰兔死亡情况及体质量变化
($n = 10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	动物死亡数(只)	给药前体质量(kg)	给药 7 d 后体质量(kg)	体质量增加量(kg)
空白对照组	0	2.49 ± 0.14	2.61 ± 0.20	0.12 ± 0.10
低剂量复方芩苍鼻喷雾剂组	0	2.33 ± 0.07	2.54 ± 0.08	0.21 ± 0.04
复方芩苍鼻喷雾剂组	0	2.63 ± 0.14	2.71 ± 0.16	0.08 ± 0.08

2.3 复方芩苍鼻喷雾剂对新西兰兔的局部刺激性

连续 7 d 鼻腔给药以及 7 ~ 14 d 恢复期后,各组新西兰兔行为活动、外观体征、呼吸状况未见异常,无哮喘、咳嗽、呕吐、窒息等局部刺激反应出现,二便无异常。无 1 例动物死亡。各给药组与空白对照组体质量及体质量增加量差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

末次给药 24 h 后,各组分别处死 5 只动物,取鼻黏膜进行组织病理学检查,各组大鼠鼻黏膜未见损伤性变化及大量炎细胞浸润,鼻黏膜组织结构正常,未见明显病理改变,见图 1。



A:正常鼻黏膜组织;B:空白对照组;C:低剂量复方芩苍鼻喷雾剂组;D:复方芩苍鼻喷雾剂组

图 1 各组新西兰兔末次给药 24 h 后鼻黏膜病理学观察 (HE ×40)

表 1 各组新西兰兔过敏症状评分比较($n = 10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	死亡数(只)	给药第 1 天	给药第 2 天	给药第 3 天	给药第 4 天	给药第 5 天
正常对照组	0	0.10 ± 0.32	0.30 ± 0.48	0.40 ± 0.52	0.50 ± 0.53	0.10 ± 0.32
模型组	0	5.30 ± 0.48[a]	6.20 ± 0.92[a]	6.80 ± 0.79[a]	6.80 ± 0.79[a]	7.00 ± 0.67[a]
低剂量复方芩苍鼻喷雾剂组	0	4.40 ± 0.52[b]	4.10 ± 0.57[b]	3.80 ± 0.42[b]	3.70 ± 0.48[b]	3.40 ± 0.52[b]
复方芩苍鼻喷雾剂组	0	4.20 ± 0.63[b]	4.00 ± 0.67[b]	3.60 ± 0.52[b]	3.40 ± 0.52[b]	3.20 ± 0.42[b]

a:$P < 0.01$,与正常对照组比较;b:$P < 0.01$,与模型组比较

表 3 局部刺激实验检测各组新西兰兔死亡情况及体质量变化($n = 10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	死亡数	体质量(kg)			体质量增加量(kg)	
		给药前	末次给药后 24 h	末次给药后 8 d	末次给药后 24 h	末次给药后 8 d
空白对照组	0	2.37 ± 0.14	2.49 ± 0.09	2.65 ± 0.15	0.12 ± 0.10	0.26 ± 0.12
低剂量复方芩苍鼻喷雾剂组	0	2.48 ± 0.11	2.62 ± 0.10	2.73 ± 0.13	0.14 ± 0.06	0.22 ± 0.06
复方芩苍鼻喷雾剂组	0	2.39 ± 0.10	2.49 ± 0.10	2.62 ± 0.18	0.10 ± 0.11	0.16 ± 0.12

3 讨论

目前,治疗鼻炎的药物主要是以西药迅速减轻症状为目的,有抗组胺药、类固醇激素及减充血剂等。西药改善症状疗效好,但诸如嗜睡、鼻出血、口干发苦等副作用大,尤其是药物依赖性严重限制了其应用。现有的治疗鼻炎的中药口服制剂起效慢,不能及时缓解症状;而滴鼻剂由于给药分布不均,使疗效受到一定影响。鼻用喷雾剂是治疗鼻腔疾病的一种常用方式,局部给药因其病变部位药物浓度高,分布均匀,疗效好,副作用小,作为中药喷雾剂既可发挥中医药组方的优势,又有细微液滴给药的特点。我们研制的复方芩苍鼻喷雾剂按现代药剂学技术制成喷雾剂,采用鼻腔给药的喷雾外用剂型,使药物通过鼻腔黏膜可直接吸收,用于治疗鼻炎,缓解鼻炎症状。该药组方中的黄芩始载于《神农本草经》,列为中品,为唇形科植物的根。具有解热镇静,抗炎抗过敏,抗菌抗病毒,利尿降压等作用[9]。其主要有效成分为黄芩苷。苍耳子和辛夷为临床常用中药,多用于鼻病、过敏性疾病等的治疗。苍耳子为菊科植物苍耳带总苞的成熟果实,《本草备要》载"善发汗,散风湿,上通脑顶,下行足膝,外达皮肤,治头痛,目暗,齿痛,鼻渊,去刺"[10]。具有宜肺通鼻、发汗解表、疏风杀虫之功效,有抗病原微生物、免疫抑制等作用。其主要有效成分为脂肪油,挥发油。辛夷始载于《神农本草经》,列为上品,为木兰科落叶乔木植物紫玉兰或望春玉兰、玉兰的干燥花蕾。具有通鼻窍,散风寒之功效,有抗菌抗病毒,抗过敏平喘作用,其中主要有效成分为挥发油[11]。根据中医病因病机的理论,该制剂组方具清热利湿,宜通鼻窍。

变应性鼻炎鼻腔给药的药效学研究多采用卵蛋白作为致敏原的大鼠、小白鼠、豚鼠实验模型。本实验以卵蛋白作为致敏原建立豚鼠的实验模型,分别给予对照组、模型组复方芩苍鼻喷雾剂空白剂、低剂量复方芩苍鼻喷雾剂和常规剂量复方芩苍鼻喷雾剂。实验结果显示,常规剂量复方芩苍鼻喷雾剂和低剂量给药,均能明显降低卵蛋白鼻炎动物模型的症状评分($P<0.01$),这表明:复方芩苍鼻喷雾剂具有改善、抑制变应性鼻炎症状的作用。

在复方芩苍鼻喷雾剂的急性毒性实验中,新西兰兔在相当于人用药剂量36倍的剂量下,未引起1例动物死亡,未观察到明显的急性毒性反应。复方芩苍鼻喷雾剂的局部刺激性实验中,在相当于人用药剂量18倍的剂量下,连续给药7 d,未观察到兔鼻腔红肿、充血等,未发现明显的局部刺激性($P>0.05$)。对处死动物的病理学检查,也未见明显病理改变。实验表明复方芩苍鼻喷雾剂的急性毒性、局部刺激性甚小或无,药物的安全性好。本组实验未设计高剂量组,是由于我们在实验设计过程中发现,按组方提取物制得的制剂配制成高剂量组已为浸膏,无法进行喷雾或滴鼻给药,故以低剂量组和常规剂量组进行了实验。

通过复方芩苍鼻喷雾剂的初步药效学实验、急性毒性实验、局部刺激性实验的研究,结果表明:复方芩苍鼻喷雾剂有抑制鼻炎症状的作用,无明显急性毒性和局部刺激性,安全有效。

参考文献:

[1] 韩宪忠, 金蜀蓉, 柯昌毅, 等. HPLC法测定复方芩苍鼻喷雾剂中黄芩苷的含量[J]. 中国药房, 2013, 24(7): 644-646.

[2] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 63-66.

[3] 冯纬纭, 谢芳. 变应性鼻炎动物模型造模综述[J]. 广西中医学院学报, 2009, 12(2): 77-79.

[4] 李浩, 刘元献, 李许娜, 等. 固本祛风汤对变应性鼻炎豚鼠模型行为学的影响[J]. 深圳中西医结合杂志, 2008, 18(1): 1-3.

[5] 汤杰, 方建国, 施春阳, 等. 鱼腥草鼻用喷雾剂急性毒性、局部刺激性及过敏性的实验研究[J]. 中南药学, 2006, 4(6): 403-406.

[6] 《中药、天然药物急性毒性试验技术指导原则》课题研究组. 中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则[M]. 北京: 国家食品药品监督管理局药品审评中心, 2005: 2-6.

[7] Chan P K, Hayes A W. Acute toxicity and eye irritancy[M]//Hays A W. Principles and methods of toxicology. Fourth ed. New York: Raven Press, 2001: 853-916.

[8] 《中药、天然药物刺激性和溶血性研究的技术指导原则》课题研究组. 中药、天然药物刺激性和溶血性研究的技术指导原则[M]. 北京: 国家食品药品监督管理局药品审评中心, 2005: 11-20.

[9] 冉先德. 中华药海[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1993: 435-436.

[10] 李战, 吴敏. 辛夷和苍耳子的临床药理研究进展[J]. 上海第二医科大学学报, 2004. 24(5): 393-396.

[11] 郑占虎, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1997: 2403, 2406-2408.

(**收稿**:2014-03-04;**修回**:2014-05-14)

(编辑 张 维)