

# 齐墩果醇酸对变态反应的抑制作用

戴岳<sup>1</sup>、杭采茜、孟庆玉<sup>2</sup>、马世平、谭立武<sup>3</sup> (中国药科大学中药药理教研室, 南京 210009)

**提要** 齐墩果醇酸(OLA) 50, 100 mg/kg sc显著抑制大鼠反向皮肤过敏反应和反向被动 Arthus 反应; OLA 100 mg/kg 明显减轻豚鼠 Forssman 皮肤血管炎及大鼠主动 Arthus 反应; OLA 亦显著抑制 SRBC 或 DNCB 所致小鼠迟发型超敏反应; 这些结果说明 OLA 对 II, III, IV 型变态反应具有明显抑制作用。

**关键词** 齐墩果醇酸; 变应性皮肤血管炎; 过敏; Arthus 现象; 迟发型超敏感性

齐墩果醇酸(oleanolic acid, OLA)为三萜类皂角苷配基, 存在于女贞子、青叶胆等多种植物中。可回升环磷酸胺所致小鼠白细胞降低<sup>(1)</sup>; 抑制甲醛、角叉菜胶所致大鼠足垫炎症反应<sup>(2)</sup>; 降低血清谷丙转氨酶<sup>(3)</sup>; 临床已用于治疗急性黄疸肝炎<sup>(4)</sup>。基于病毒性肝炎的发病机理与变态反应(包括 II, III, IV 型)有密切的关系<sup>(5)</sup>, 本文观察 OLA 对实验性变态反应的影响。

## 材 料

OLA 白色粉末, 长沙中药厂产品, 纯度为 96.7%, 用 2% 吐温 80 配成混悬液; 2, 4-二硝基氯苯(DNCB), 上海化学试剂公司工厂产品; 泼尼龙(prednisolone)片剂, 南京第二制药厂产品, 临用前以 2% 吐温 80 配成混悬液; 醋酸可的松(cortisone acetate), 上海第九制药厂产品。实验动物由南京药物研究所动物房提供。

## 方法与结果

**对 Forssman 皮肤血管炎(FCV)的影响** 将 10<sup>9</sup> 绵羊红细胞(SRBC)混悬于 1 ml 生理盐水

中, 给兔 iv, q 2 d × 10, 末次 iv 后 d 14, 制备兔抗 SRBC 溶血素。取豚鼠 26 只, 体重 347 ± SD 14 g, ♀♂ 兼用。随机分为: 对照组, 2% 吐温 80 5 ml/kg sc; 阳性对照组, 于实验前 1 h, ip 泼尼龙 25 mg/kg; 实验组, 分别 sc OLA 50, 100 mg/kg, qd × 3 d。末次给药后 1 h, 将以生理盐水 1:8 稀释的溶血素皮内注射豚鼠背部, 每点 0.1 ml, 共 2 点, 同时 iv 1% Evans 蓝溶液 1 ml, 1 h 后处死豚鼠, 翻转背部皮肤, 剪下蓝斑, 按比色法<sup>(6)</sup>处理, 计算每蓝斑点的染料渗出量。结果 OLA 100 mg/kg 及泼尼龙 25 mg/kg 明显抑制豚鼠 FCV, OLA 50 mg/kg 作用不显著, 见表 1。

Tab 1. Effect of oleanolic acid (OLA) on Forssman cutaneous vasculitis in guinea pigs.  $\bar{x} \pm SD$ . \*p > 0.05, \*\*p < 0.05, \*\*\*p < 0.01

Drug (mg/kg × d)	n	Amount of Evans blue (μg/site)	Inhibition (%)
Control	7	26 ± 8	
Prednisolone	25 × 1 6	17 ± 3**	34.6
OLA	50 × 3 6	24 ± 6*	7.7
	100 × 3 7	16 ± 1***	38.5

**对反向皮肤过敏反应(RCA)的影响** 取兔 2 只, iv 1 ml 大鼠血清, q 2 d × 10, 末次 iv 后 d 20, 制备兔抗大鼠血清。Wistar 大鼠 21 只, 体重 160 ± 21 g, ♀♂ 兼用, 随机分组。OLA 给药剂量及方式同上, qd × 2 d。参考文献<sup>(7)</sup>, 末次给药后 1 h, 将上述抗血清以 1% Evans 蓝生理盐水溶液稀释为 14% (vol/vol), 将此稀释的抗血清皮内注射大鼠左侧背部, 每点 50 μl, 共 2 点, 右侧皮内注射 1% Evans 蓝生理盐水溶液作对照, 2 h 后处死大鼠, 剪下注射点皮肤, 称重并计算肿胀率, 肿胀率(%)

1987年10月28日收稿 1988年4月25日接受

<sup>1</sup> 1988 届研究生

<sup>2</sup> 现在湖南省医药工业研究所, 长沙 410014

<sup>3</sup> 湖南省长沙中药厂, 长沙 410007

= (注射血清点重 - 对照点重) / 对照点重 × 100%。结果对照组, OLA 50, 100 mg/kg 组的肿胀率(%)分别为 20±7, 8±4 (p<0.01), 5.9±4.7 (p<0.01)。表明不同剂量 OLA 显著抑制大鼠 RCA。

**对大鼠 Arthus 反应的影响** 参照文献<sup>(8)</sup>, ♂Wistar 大鼠 26 只, 体重 176±27 g。每鼠先 ip 弗氏完全佐剂和马血清以 1:1 比例配成的混悬液 0.4 ml, 致敏后 d 14, 每鼠背部 sc 不完全佐剂和马血清以 1:1 比例配成的混悬液 0.4 ml。OLA 组 d 16 开始给药, 剂量及方式同上, qd×6 d。末次给药后 1 h, 于大鼠左后足垫 sc 以生理盐水稀释 1 倍的马血清 0.1 ml 进行攻击。测定攻击后不同时间大鼠足垫的肿胀度, 结果表明 OLA 100 mg/kg 显著抑制大鼠主动 Arthus 反应, OLA 50 mg/kg 作用不明显, 参见图 1。

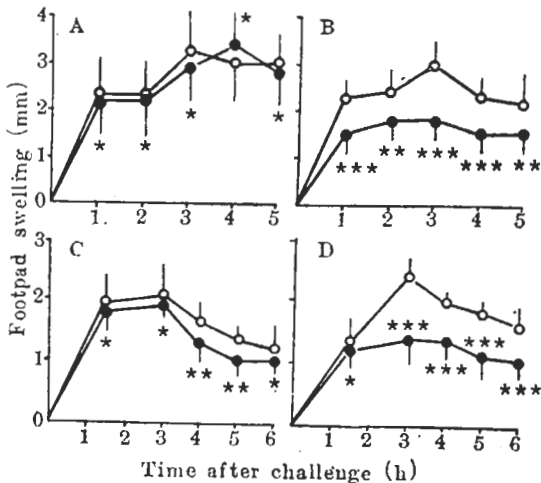


Fig 1. Effect of oleanolic acid (OLA) on Arthus reaction (A and B) and reversed passive Arthus reaction (C and D) in rats. (●) A) OLA 50 mg/kg, n=5; B) OLA 100 mg/kg, n=8; C) OLA 50 mg/kg, n=6; D) OLA 100 mg/kg, n=6,  $\bar{x}\pm SD$ , \*p>0.05, \*\*p<0.05, \*\*\*p<0.01 vs control (○, n=6 except B group n=7)

**对大鼠反向被动 Arthus 反应的影响** ♀Wistar 大鼠 24 只, 体重 197±17 g, 随机分组。给药剂量及方式同上, qd×5 d, 末次给药后 1 h,

每鼠左后足垫 sc 上述主动 Arthus 反应对照组大鼠的血清 0.1 ml, 随即尾 iv 以生理盐水稀释 5 倍的马血清 10 ml/kg, 测定不同时间大鼠左后足垫的肿胀度。结果不同剂量 OLA 明显减弱大鼠反向被动 Arthus 反应, 见图 1。

### 对小鼠迟发型超敏反应的影响

1. 对 SRBC 所致迟发型足垫反应的影响 ♂ICR 小鼠 25 只, 体重 20±1.6 g, 随机分组。OLA 给药剂量及方式同上, qd×7 d。给药后 d 2, 每鼠左后足垫 sc 20% (vol/vol) SRBC 50 μl 致敏, d 7 右后足垫 sc 同样量 SRBC 攻击, 对侧足垫注入等容量生理盐水对照, 末次给药后 24 h, 测量左、右后足垫的厚度差及重量差。结果不同剂量 OLA 明显抑制 SRBC 所致迟发型足垫反应, 见表 2。

Tab 2. Effect of OLA on delayed footpad reaction to SRBC in mice.  $\bar{x}\pm SD$ . \*\*p<0.05, \*\*\*p<0.01

OLA (mg/kg×d)	n	Thickness difference (mm)	Weight difference (mg)
—	8	0.26±0.06	24±4
50×7	8	0.19±0.03**	19±5**
100×7	9	0.15±0.03***	16±3***

### 2. 对 DNCB 所致接触性皮炎的影响

2.1 攻击前给药对接触性皮炎的影响 ♀昆明种小鼠 32 只, 体重 24±2 g, 随机分组。每鼠颈背部 sc 7% DNCB-丙酮溶液 20 μl 致敏, OLA 组 d 6 开始给药, 剂量及方式同上, qd×5, 阳性对照组于 d 7 始 im 醋酸可的松 25 mg/kg, qd×4, 末次给药后 6 h, 以 7% DNCB-丙酮溶液 30 μl 涂于小鼠右耳进行攻击, 左耳涂同样量丙酮作对照, 16 h 后剪下两耳壳, 用直径 9 mm 打孔器打下耳片, 称重, 以右耳片的增重表示接触性皮炎的程度。结果不同剂量 OLA 于抗原攻击前给药显著抑制 DNCB 所致接触性皮炎, 见表 3。

2.2 攻击后给药对接触性皮炎的影响 ♂昆明种小鼠 56 只, 体重 19±1.4 g, 随机分为 8 组, 实验方法同上, DNCB 致敏后 d 10, 给

Tab 3. Effect of OLA on contact dermatitis of pinnae with dinitrochlorobenzene. n = 8 mice,  $\bar{x} \pm SD$ . \*\*\*p < 0.01

Drug (mg/kg × d)	Weight difference (mg)	Inhibition (%)
Control —	18.1 ± 3.9	
Cortisone 25 × 4	4.4 ± 1.6***	75.7
OLA 50 × 5	7.4 ± 2.7***	59.1
100 × 5	3.8 ± 1.3***	79.0

Tab 4. Anti-inflammatory activity of OLA on the reaction of pinnae immunized with dinitrochlorobenzene. OLA 100 mg/kg sc at various times after challenge, cortisone acetate im immediately after challenge. n = 7 mice,  $\bar{x} \pm SD$ . \*p > 0.05, \*\*p < 0.05, \*\*\*p < 0.01

Drug	Administration time (h)	Weight difference (mg)
Control		20 ± 4
Cortisone	0	8 ± 4***
Oleanolic acid	0	19 ± 6*
	3	17 ± 5*
	6	13 ± 5**
	9	10 ± 3***
	12	12 ± 4***
	15	17 ± 6*

药组于抗原攻击后不同时间 sc OLA 100 mg/kg, 阳性对照组于抗原攻击后立刻 im 醋酸可的松 25 mg/kg. 结果攻击后 6-12 h 期间给药, OLA 显著抑制 DNCB 所致接触性皮炎, 见表 4.

## 讨 论

豚鼠 Forssman 皮肤血管炎及大鼠反向皮肤过敏反应属于 II 型变态反应; 大鼠主动和反向被动 Arthus 反应属于 III 型变态反应, OLA 对 II, III 型变态反应均有明显抑制作用, SRBC 或 DNCB 所致迟发型超敏反应属于 IV 型, SRBC 为颗粒型或细胞型抗原, 而引起接触性皮炎的 DNCB 为化学物质, 必须与机体蛋白质结合才具有免疫原性, OLA 对这两种类型抗

原所致 IV 型变态反应均有显著抑制作用, 表明其作用无抗原特异性, 可能对各种不同抗原所致 IV 型变态反应均可起抑制作用, 同时还发现对 DNCB 所致接触性皮炎, 无论抗原攻击前或攻击后给药, OLA 均使小鼠耳廓肿胀程度减轻, 其作用与甾体类药物类似, 表明 OLA 既可阻止 IV 型变态反应诱导期 T 淋巴细胞的激活、分化和增殖, 又减少效应期淋巴因子的释放<sup>(9)</sup>.

本文研究表明, OLA 对 II, III, IV 型实验性变态反应具有广泛的抑制作用, 这可能是它临床治疗肝炎的重要机理之一.

## 参 考 文 献

- 1 戴培兴、陈玲、蓝树彬. 女贞子中的升白细胞有效成分的实验研究. 中成药研究 1982; (1): 42
- 2 Gupta MB, Bhalla TN, Gupta GP, Mitra CR, Bhargava KP. Antiinflammatory activity of natural products. *Eur J Pharmacol* 1969; 6: 67
- 3 马学惠、赵元昌、尹镭、韩德五、冀春萱. 齐墩果酸防止实验性肝损伤的研究. 药学学报 1982; 17: 93
- 4 湖南医药工业研究所. 齐墩果酸治疗急性黄疸型肝炎的疗效及实验动物的组织学初步观察. 中草药通讯 1977; (4): 32
- 5 金学源、杨贵贞. 肝脏疾病与免疫. 见: 杨贵贞, 主编. 医用免疫学. 长春: 吉林人民出版社, 1980: 202
- 6 Nagai H, Osuga K, Koda A. Inhibition of hypersensitivity reactions by soluble derivatives of baicalin. *Jpn J Pharmacol* 1975; 25: 763
- 7 Koda A, Nagai H, Watanabe S, Yanagihara Y, Sakamoto K. Inhibition of hypersensitivity reactions by a new drug, N-(3',4'-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid (N-5'). *J Allergy Clin Immunol* 1976; 57: 396
- 8 Freund J, Stone SH. Arthus reaction in the mouse and the rat after intralabial injection of antigens. *J Immunol* 1956; 76: 138
- 9 Nishiyori T, Nakatomi I, Matsuura N, Nagai H, Koda A. Effect of Chinese blended medicine, Saiboko-to on type IV allergic reaction. *Jpn J Allergol* 1983; 32: 317

## Inhibition of hypersensitivity reactions by oleanolic acid

DAI Yue, HANG Bing-Qian, MENG Qing-Yu, MA Shi-Ping, TAN Li-Wu

(Department of Pharmacology of Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

**ABSTRACT** Oleanolic acid (OLA) 50, 100 mg/kg sc significantly inhibited reversed cutaneous anaphylaxis and reversed passive Arthus reaction in rats. OLA 100 mg/kg markedly suppressed Forssman cutaneous vasculitis in guinea pigs and the active Arthus reaction in rats. The delayed hypersensitivity reaction induced by SRBC or dinitrochlorobenzene in mice were also

clearly inhibited by OLA. These results suggest that OLA has extensive inhibitory activities on type II, III and IV allergic reactions.

**KEY WORDS** oleanolic acid; allergic cutaneous vasculitis; anaphylaxis; Arthus phenomenon; delayed hypersensitivity