

• 实验研究 •

沉香精油经皮给药的过敏实验研究

吴玉兰¹, 弓宝¹, 白丛闻¹, 刘洋洋¹, 王灿红^{1,2*}, 魏建和^{1,3*}

1. 中国医学科学院&北京协和医院 药用植物研究所海南分所, 海南省南药资源保护与开发重点实验室, 国家中医药管理局沉香可持续利用重点实验室, 海南 海口 570311
2. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室茂名分中心, 广东 茂名 525099
3. 中国医学科学院&北京协和医院 药用植物研究所, 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室, 濒危药材繁育国家工程实验室, 北京 100193

摘要:目的 观察豚鼠经皮给予沉香精油后的过敏反应, 评价沉香精油的安全性。方法 选取健康雌性豚鼠 30 只, 随机分为对照组、二甲苯组, 水蒸气蒸馏提取和 CO₂ 超临界萃取的沉香精油 0.025、0.050 mL 组, 每组 5 只。对照组给予蒸馏水 0.05 mL/只; 二甲苯组给予二甲苯 0.05 mL/只; 水蒸气蒸馏提取、CO₂ 超临界萃取沉香精油组分别给予 0.025、0.050 mL/只, 各组均经皮给药。观察各组豚鼠皮肤过敏反应情况并拍照记录。摘取豚鼠脾脏并称质量, 计算脾脏指数。酶联免疫法检测豚鼠血清和脾脏组织匀浆上清中免疫球蛋白 (Ig) A、IgG、IgE 的水平。取致敏皮肤组织, 显微镜下观察病理学改变。结果 与对照组相比, 沉香精油组给药 1 h 后开始出现红斑、水肿等反应, 4 h 时反应最明显, 给药 24 h 后开始逐渐消退, 60~72 h 后基本恢复正常。沉香精油组豚鼠过敏期间出现明显的红肿以及严重的红斑的致敏率为 25%~75%, 其中 CO₂ 超临界萃取的沉香精油过敏反应更显著, 为中重度过敏。与对照组相比, 水蒸气蒸馏提取和 CO₂ 超临界萃取的沉香精油 0.025、0.050 mL 组均使豚鼠脾脏指数水平显著降低 ($P<0.01$)。与对照组相比, 水蒸气蒸馏提取和 CO₂ 超临界萃取的沉香精油 0.025、0.050 mL 组对豚鼠血清中 IgA、IgG、IgE 水平没有显著性的影响, 而在豚鼠脾脏组织匀浆上清中 IgA、IgG、IgE 水平均有不同程度升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。病理学结果显示, 与对照组相比, CO₂ 超临界萃取精油的皮肤过敏反应比较严重, 而水蒸气蒸馏提取的沉香精油则有轻度炎症细胞浸润等现象。结论 沉香精油经皮肤涂抹给药对豚鼠有致敏作用, 其中 CO₂ 超临界萃取沉香精油的过敏反应更显著, 这为沉香精油用药安全及用于日化等相关产品研制提供参考依据。

关键词: 沉香精油; 水蒸气蒸馏; CO₂ 超临界萃取; 经皮涂抹; 过敏反应; 免疫球蛋白 A

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)01-0001-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.01.001

Allergy test of agarwood essential oil by percutaneous administration

WU Yu-lan¹, GONG Bao¹, BAI Cong-wen¹, LIU Yang-yang¹, WANG Can-hong^{1,2}, WEI Jian-he^{1,3}

1. Hainan Branch Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College Hospital; Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine; Key Laboratory of Sustainable Utilization of agarwood, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Haikou 570311, China
2. Guangdong Laboratory Maoming Branch Center of Lingnan Modern Agricultural Science and Technology, Maoming 525099, China
3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College Hospital; Key Laboratory of Material Basis and Resource Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education; National Engineering Laboratory for Propagation of Endangered Medicinal Materials, Beijing 100193, China

收稿日期: 2022-09-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82204657); 国家重点研发计划项目 (2018YFC1706400); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2021-I2M-1-032); 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2022SHFZ030)

作者简介: 吴玉兰, 女, 研究方向为中药药效活性成分评价及作用机制研究。E-mail: wyl190903008@163.com

*通信作者: 王灿红, 女, 助理研究员, 研究方向为中药药效活性成分评价及作用机制研究。E-mail: xinzhuangjianpo@163.com

魏建和, 男, 研究员, 研究方向为药用植物基因资源、分子育种及次生代谢产物调控研究。E-mail: wjianh@263.net

Abstract: Objective To evaluate the safety of agarwood essential oil by observing the allergic reaction of agarwood essential oil exposed to guinea pig skin. **Methods** Thirty healthy female guinea pigs were randomly divided into control group, dimethyl benzene group, and the 0.025 and 0.050 mL groups of steam distillation and CO₂ supercritical extraction agarwood essential oils, each group had 5 guinea pigs. Control group was given distilled water 0.05 mL, dimethyl benzene group was given dimethyl benzene 0.05 mL, the agarwood essential oil group were given 0.025 and 0.050 mL agarwood essential oil extracted by steam distillation and extracted by CO₂ supercritical extraction, all groups were given percutaneous administration. The skin allergic reaction of guinea pigs was observed and photographed. The spleen of guinea pig was extracted and weighed to calculate the spleen index. The levels of IgA, IgG, and IgE in the supernatant of serum and spleen tissue were determined by enzyme-linked immunoassay. The pathological changes of sensitized skin tissues were observed under microscope. **Results** Compared with the control group, the reaction of erythema and edema began to appear in the agarwood essential oil group 1 h after administration, and the reaction was the most obvious at 4 h. The reaction gradually subsided after 24 h, and basically returned to normal after 60 — 72 h. The sensitization rate of obvious redness and severe erythema was 25% — 75% in the agarwood essential oil group, among which the agarwood essential oil with CO₂ supercritical extraction had a more significant allergic reaction, which was moderate to severe allergy. Compared with the control group, water vapor extraction and CO₂ supercritical extraction of agarwood essential oil in 0.025 and 0.050 mL groups significantly reduced the spleen index of guinea pigs ($P < 0.01$). Compared with the control group, IgA, IgG, and IgE levels in serum of guinea pigs in 0.025 and 0.050 mL groups of agarwood essential oil extracted by steam distillation and CO₂ supercritical extraction had no significant effects. The levels of IgA, IgG, and IgE in the homogenate supernatant of spleen tissue of guinea pigs were increased in different degrees ($P < 0.05, 0.01$). The pathological results showed that compared with the control group, the skin allergic reaction of the essential oil extracted by CO₂ supercritical fluid extraction was more serious, while the essential oil extracted by steam distillation had mild inflammatory cell infiltration and other phenomena. **Conclusion** Agarwood essential oil could induce the allergic reaction, which more significant of CO₂ supercritical extraction, and provided reference and guidance for the safety of agarwood essential oil and the development of daily chemical products.

Key words: agarwood essential oil; steam distillation; supercritical CO₂ extraction; percutaneous application; allergic reaction; IgA

沉香为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensi* (Lour.) Gilg 含树脂的木材^[1], 主产于广西、广东、福建和海南^[2], 因其独特的香味, 位居“沉檀龙麝”四大名香之首, 优质沉香每克价格高达数千元, 享有“木中钻石”之美誉^[3]。其化学成分包括单萜烯、倍半萜、二萜类化合物、三萜烯、类固醇、类黄酮、苄基丙酮、色酮、酚酸和脂肪族化合物^[4-5]。现代药理学研究表明, 沉香具有止呕、保肝、镇静催眠、抗心肌缺血、抗胃溃疡、抗焦虑、抗抑郁、抗炎等作用^[6-12]。沉香油是高浓缩的植物精华, 具有很多功效, 如调和理气、护肾养肝、安眠抗郁、平脂祛痘、减压放松等作用^[13]。沉香由于其独特的香味, 备受香味爱好者们青睐。随着经济社会快速发展, 人们对精油的需求越来越大, 健康、绿色的沉香时尚文化也逐渐发展成为沉香精油市场一道亮丽的文化风景线, 并源源不断地为我国沉香精油市场发展注入新鲜活力^[14]。

沉香精油为沉香的主要药效成分, 其药用功效广泛。作为重要香料, 在医药、食品、日化等方面被广泛应用, 具有巨大的开发前景和应用价值。目前有关沉香精油化学成分、药理作用和临床应用的研究较多, 大多局限于对其粗提物和单体成分的活

性筛选和药效评价, 但尚未见沉香精油免疫调节及对机体过敏反应的相关研究。本研究拟选取易致敏动物豚鼠, 采用经皮外用涂抹的方式, 观察沉香精油经皮涂抹的过敏反应情况, 同时从免疫调节方面探究其可能的作用机制, 为沉香精油深度开发以及沉香药用和养生健康产品开发及临床应用等提供理论依据和参考。

1 材料与试剂

1.1 受试药物

水蒸气提取的沉香精油和 CO₂ 超临界萃取的沉香精油由中国医学科学院药用植物研究所海南分所提取。沉香香片来源于广东省化州市平定镇沉香种植基地, 由中国医学科学院药用植物研究所海南分所魏建和研究员鉴定为白木香 *Aquilaria sinensi* (Lour.) Gilg (批号 20161009)。水蒸气蒸馏法提取沉香精油: 将沉香香片粉碎, 使其能过 20 目筛混合均匀。准确称量沉香粉末 1 000 g, 置于 10 L 烧瓶中, 加水 5 000 mL 与玻璃珠数粒, 混合后, 将烧瓶放置到加热套中, 连接挥发油测定器与回流冷凝管, 静置过夜。电热套缓缓加热至沸腾, 并保持微沸 12 h, 停止加热, 放置 15 min 后, 开启测定器下端的活塞, 将水缓缓放出, 至油层上端到达刻度 0

线上面5 mm处为止,放置1 h。开启活塞使油层下降至其上端恰与刻度0线平齐,读取挥发油量,计算供试品中挥发油的量,精油提取率为0.267%。

CO₂超临界萃取法提取沉香精油:将沉香片粉碎过30目筛,精密称定1 000 g,控制CO₂流量平均20 L/h,萃取压力为18 MPa,萃取温度为40 ℃,萃取2 h,减压收集精油,计算精油萃取率为8.25%。将提取好的精油封口置于4 ℃冰箱保存备用。

1.2 主要试剂

二甲苯(广东省精细化学品工程技术研发中心,批号160-2019),4%多聚甲醛通用型组织固定液(Biosharp,批号7008540),蒸馏水,脱毛膏,生理盐水(上海源叶生物,批号R2147-500ml)。

1.3 主要器材

剃毛器、尺子、透明胶带、电子天平(梅特勒,YP20002),荧光倒置显微镜(Olympus,CKX41),高速冷冻型微量离心机(卢湘仪,CF1524R),酶标仪(Bio-Tek, MQX200),组织匀浆机(新芝,DY89-17)。

1.4 受试动物

健康雌性豚鼠30只,清洁级,体质量为250~350 g,由长沙市天勤生物技术有限公司提供,许可证编号SYXK(湘)2016-0015。饲养于海南省药物研究所有限责任公司清洁级动物房,用颗粒饲料加适量青菜混合喂养,适应性饲养3 d,开始实验。动物实验伦理批准单位为海南省药物研究所有限责任公司,批准号2021HL020。

2 方法

2.1 分组及给药

将30只豚鼠随机分为6组,每组5只,分别为对照组,阳性对照药二甲苯组,水蒸气提取的沉香精油低、高剂量组,CO₂超临界萃取的沉香精油低、高剂量组。对照组给予蒸馏水0.05 mL/只;二甲苯组给予二甲苯0.05 mL/只。水蒸气蒸馏提取和CO₂超临界萃取的沉香精油低、高剂量组分别给予沉香精油0.025、0.050 mL/只(给药剂量参考课题组先前沉香精油药效实验^[15-16])。实验分为2个阶段:(1)诱导期:通过经皮涂抹给药。实验前将豚鼠背部剃毛,剃毛范围为2 cm×2 cm。将受试物喷涂在豚鼠背部去毛区域内,二甲苯也涂抹在相应区域内;给药后1~2 min,须待凝胶中溶剂挥发尽干燥后,以一层透明胶带覆盖于去毛部位并避免胶带接触皮肤,封闭固定6 h后,移去覆盖物,清洗残留受试样品。每次给药前,每组动物给药区相应位

置重新去毛。于实验第1、8、15天分别采用经皮涂抹给药,共3次。(2)激发期:在诱导期末次给药后第14天一次激发。给药方法、给药剂量及给药体积均与诱导期相同。

2.2 沉香精油对豚鼠皮肤过敏的检测

在致敏后,观察各组动物皮肤红斑、水肿、出血点过敏反应情况,并于0 min、30 min、1 h、4 h将豚鼠过敏部位拍照记录。参照皮肤过敏性评价标准^[17-18],根据表1、2中标准计算皮肤过敏反应程度评分,并根据致敏率对皮肤过敏反应进行评价。

致敏率=过敏反应的豚鼠数量/豚鼠数量

表1 皮肤过敏反应程度评分

Table 1 Score of skin anaphylaxis degree

类型	皮肤过敏反应程度	分值
红斑	无红斑	0
	轻度红斑,勉强可见	1
	中度红斑,明显可见	2
	重度红斑	3
	紫红色红斑到轻度焦痂形成	4
水肿	无水肿	0
	轻度水肿,勉强可见	1
	中度水肿,明显可见(边缘高出周围皮肤)	2
	重度水肿,皮肤隆起1 mm,轮廓清晰	3
	严重水肿,皮肤隆起1 mm以上,或有水泡或破溃	4
积分	最高总分值	8

表2 皮肤过敏反应评价

Table 2 Evaluation of skin anaphylaxis

致敏率/%	致敏性
0~10	无致敏性
11~30	轻度致敏性
31~60	中度致敏性
61~80	重度致敏性
81~100	极度致敏性

2.3 豚鼠的脾脏指数

末次给药结束1 h后,各组豚鼠进行眼眶取血后,称体质量,将豚鼠解剖取脾脏并称质量记录,计算脾脏指数。

脾脏指数=脾脏质量/豚鼠体质量

2.4 豚鼠血清和脾脏组织匀浆上清中IgA、IgG、IgE水平的检测

末次给药结束1 h后,各组豚鼠进行眼眶取血,在3 500 r/min、4 ℃离心15 min后,收集上清液;将

称完质量的脾脏组织,剪取 200 mg,加入提前在 4 ℃ 冰箱预冷的生理盐水,用组织匀浆机研磨成混悬液,4 500 r/min、4 ℃ 离心 15 min 后,收集上清液,根据酶联免疫试剂盒的操作方法,检测豚鼠血清和组织匀浆上清中免疫球蛋白 (Ig) A、IgG、IgE 水平。

2.5 豚鼠过敏皮肤组织病理切片观察

将取完脾脏的豚鼠致敏皮肤组织取下 1 cm×1 cm,置于 5 mL 4 %多聚甲醛溶液中 2~3 d 进行固定,将固定好的皮肤组织用蒸馏水冲洗后按以下步骤置于不同浓度酒精中进行梯度脱水,然后将皮肤组织置于二甲苯中透明,将透明处理过的组织置于蜡箱中过夜(浸蜡),将皮肤组织置于包埋框中包埋。石蜡组织切成 4~5 μm 薄片,40 ℃ 温水展片,62 ℃ 烤片至少 4 h,再用二甲苯脱蜡,苏木素-伊红染色,在显微镜下观察并拍照。

2.6 数据处理

采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本均数比较采用 ANOVA 分析,多组间两两差异比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 沉香精油对豚鼠皮肤致敏率的影响

2005 年国家食品和药物管理局发布的《中药、天然药物免疫毒性(过敏性、光变态反应)研究的技术指导原则》^[19]中规定,皮肤变态反应(致敏)试验采用局部封闭涂皮法时,阳性对照组设置要求在实验室开展变态反应试验初期,设阳性对照组,说明实验方法可靠。结果显示,对照组豚鼠皮肤未见局部和全身过敏反应;与对照组相比,二甲苯组豚鼠给药后出现明显红斑、水肿和扭体等异常反应,继续观察过敏情况,红斑、水肿会慢慢消退,约 48 h 后恢复正常,说明试验方法可靠。沉香精油组在给药 1 h 后出现红斑、水肿等反应,4 h 时反应最明显,给药 24 h 后开始逐渐消退,到 60~72 h 后基本恢复正常。沉香精油组豚鼠过敏期间出现明显的红肿以及严重的红斑的致敏率为 25%~75%,其中 CO₂ 超临界萃取的沉香精油过敏反应更显著,为中重度过敏,表明沉香精油可能引起豚鼠皮肤过敏反应,见表 3。

表 3 沉香精油对豚鼠皮肤过敏反应的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 5)

Table 3 Effects of agarwood essential oil on skin allergic reaction in guinea pigs ($\bar{x} \pm s$, *n* = 5)

组别	剂量/mL	皮肤过敏反应程度平均分								致敏率/%	反应强度
		0 min	30 min	1 h	4 h	24 h	48 h	60 h	72 h		
对照		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	无致敏性
二甲苯	0.050	1.0	0.9	0.8	0.8	0.7	0.6	0.4	0.4	100	极度致敏性
水蒸气提取的沉香精油	0.050	0.0	0.0	0.0	0.6	0.5	0.4	0.0	0.0	50	中度致敏性
	0.025	0.0	0.0	0.0	0.4	0.4	0.0	0.0	0.0	25	轻度致敏性
CO ₂ 超临界萃取的沉香精油	0.050	0.0	0.0	0.0	0.8	0.6	0.6	0.4	0.0	75	重度致敏性
	0.025	0.0	0.0	0.0	0.6	0.5	0.4	0.0	0.0	50	中度致敏性

3.2 沉香精油对豚鼠皮肤过敏的影响

与对照组相比,水蒸气蒸馏和 CO₂ 超临界萃取的沉香精油 0.025、0.050 mL 组豚鼠均出现不同程度的皮肤潮红,还出现稍微不安、活动增加的现象,而 CO₂ 超临界萃取的沉香精油组过敏现象最明显,

见图 1。

3.3 沉香精油对豚鼠脾脏指数的影响

与对照组相比,水蒸气提取和 CO₂ 超临界萃取的沉香精油 0.025、0.050 mL 组使豚鼠脾脏指数显著降低 (*P* < 0.01),见图 2。

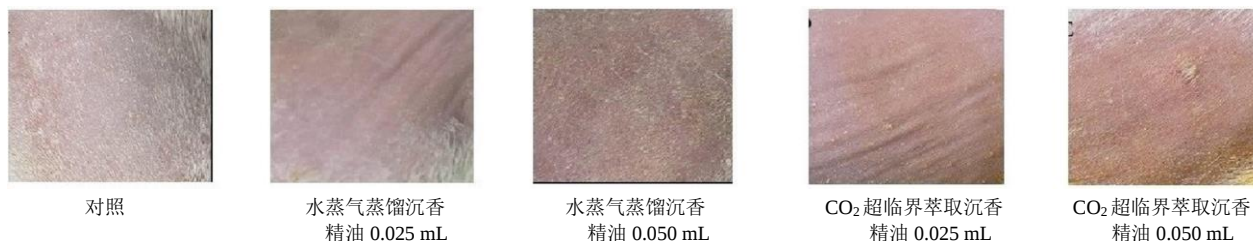
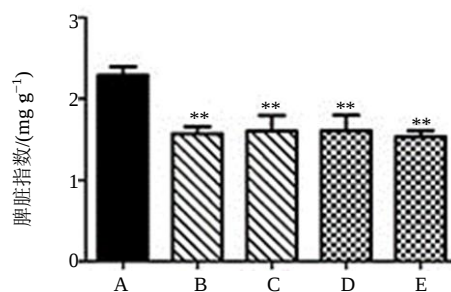


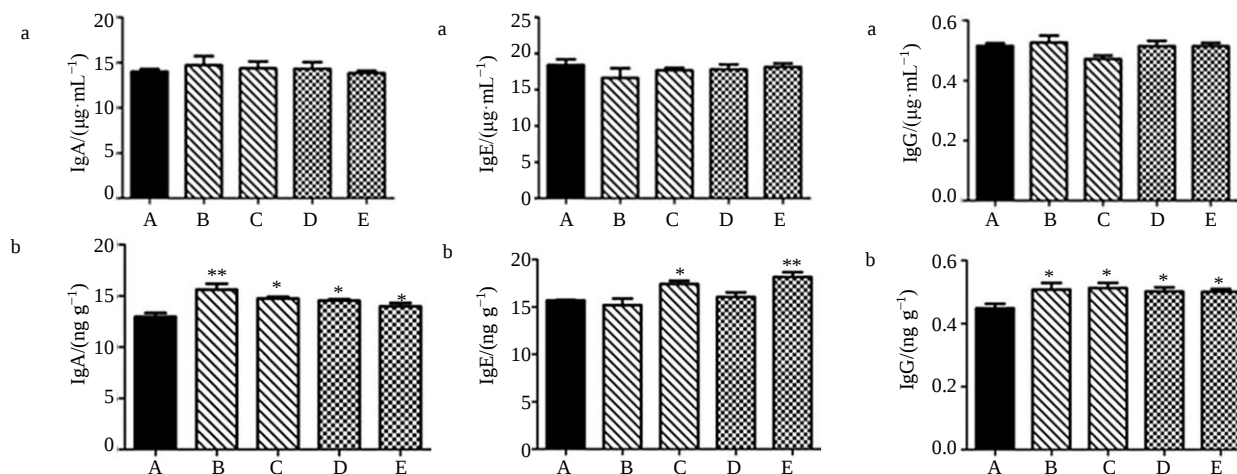
图 1 沉香精油对豚鼠皮肤过敏的影响

Fig. 1 Effect of agarwood essential oil on skin allergy in guinea pigs



A-对照 B-水蒸气提取的沉香精油 0.025 mL C-水蒸气提取的沉香精油 0.050 mL D-CO₂超临界萃取的沉香精油 0.025 mL E-CO₂超临界萃取的沉香精油 0.050 mL 与对照组比较: ** $P < 0.01$
A-control B-water vapor extraction of agarwood essential oil 0.025 mL C-water vapor extraction of agarwood essential oil 0.050 mL D-CO₂ supercritical extraction of agarwood essential oil 0.025 mL E-CO₂ supercritical extraction of agarwood essential oil 0.050 mL
** $P < 0.01$ vs control group

图2 沉香精油对豚鼠脾脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)
Fig. 2 Effects of agarwood essential oil on spleen index in guinea pigs ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)



A-对照 B-水蒸气提取的沉香精油 0.025 mL C-水蒸气提取的沉香精油 0.050 mL D-CO₂超临界萃取的沉香精油 0.025 mL E-CO₂超临界萃取的沉香精油 0.050 mL
与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
A- control B- water vapor extraction of agarwood essential oil 0.025 mL C- water vapor extraction of agarwood essential oil 0.050 mL D-CO₂ supercritical extraction of agarwood essential oil 0.025 mL E-CO₂ supercritical extraction of agarwood essential oil 0.050 mL
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

图3 沉香精油对豚鼠血清(a)和脾脏组织匀浆(b)中IgA、IgG、IgE水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)
Fig. 3 Effects of agarwood essential oil on the levels of IgA, IgG, and IgE of serum (a) and splenic tissue homogenate (b) in guinea pigs ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组豚鼠皮肤表面出现不同程度的角质层增厚、水肿、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等炎症细胞的浸润,深皮层充血、出血、结缔组织坏死、变性。CO₂超临界萃取精油的皮肤过敏反应比较严重,而水蒸气

3.4 沉香精油对豚鼠血清和脾脏组织匀浆中IgA、IgG、IgE水平的影响

与对照组相比,水蒸气蒸馏提取和CO₂超临界萃取的沉香精油 0.025、0.050 mL 组豚鼠血清中IgA、IgG、IgE水平没有显著的影响。

与对照组相比,水蒸气蒸馏提取和CO₂超临界萃取的沉香精油 0.025、0.050 mL 组豚鼠脾脏组织匀浆上清中IgA、IgG、IgE水平均有不同程度升高($P < 0.05$, 0.01)。其中水蒸气蒸馏提取和CO₂超临界萃取的沉香精油 0.025 mL 组豚鼠脾脏组织匀浆上清中IgE水平差异无显著性,见图3。

3.5 沉香精油对豚鼠皮肤组织切片病理学的影响

组织学结果显示,对照组豚鼠皮肤上皮厚度无明显增生,上皮细胞排列整齐,表皮有少许角质,无炎症细胞。真皮上有正常的毛囊和皮脂腺体。结缔组织、皮下脂肪及肌肉组织均属正常。与对照组相比较,水蒸气提取和CO₂超临界萃取的沉香精油

蒸馏提取的沉香精油则有轻度炎症细胞浸润等现象,说明使用CO₂超临界萃取精油后会产生严重的过敏反应,可能是因为超临界提取的沉香精油中可能含有一些刺激性成分,见图4。

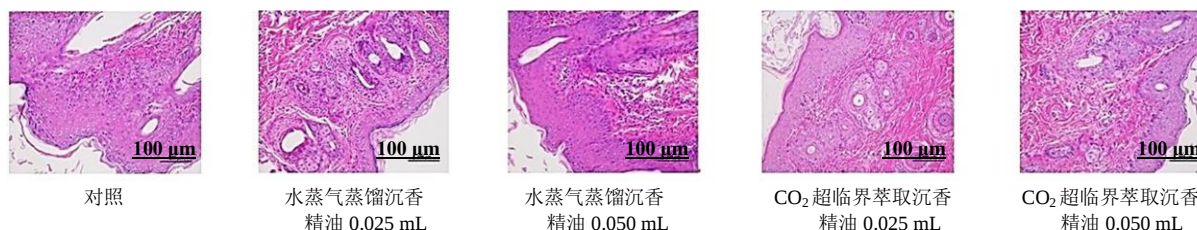


图 4 沉香精油对豚鼠皮肤组织切片病理学的影响 (×100)

Fig. 4 Effect of agarwood essential oil on pathology of guinea pig skin sections (×100)

4 讨论

随着人们生活水平的提高,沉香精油频繁出现在日常生活中。沉香精油为主要原料的产品有沐浴乳^[20]、抗菌油水凝胶^[21]、睡眠调节复方精油^[22]、固体香膏^[23]、沉香牙膏^[24]等。沉香的成分组成复杂,特别是超临界萃取沉香精油的安全性还没有得到完全的证实。为此,本研究采用经皮涂抹给药评价沉香精油的安全性,为沉香精油药用、养生、日化医药保健产品开发等提供理论依据和数据参考。

皮肤过敏成为许多人不可抗拒的因素,免疫球蛋白是指一类由浆细胞中形成和产生的、带有特定的抗体功能和特征的球蛋白,其广泛分布在血、组织液以及各种外分泌液中,其组成主要包括 1 个蛋白质轻链和 2 个带有相同功能特征的蛋白质重链,具有抗体功能以及特殊的识别和结合抗体功能^[25]。血清中主要存在 3 类免疫球蛋白,它们为 IgE、IgG、IgA,由于它们主要负责调节机体免疫力,能维持机体的平衡状况。所以对免疫球蛋白的检测也是一个较好的了解机体免疫能力的方法。本研究结果显示,沉香精油可显著升高脾脏匀浆上清中免疫球蛋白 IgE、IgG、IgA 水平,表明沉香精油会使豚鼠皮肤产生过敏现象。

药物安全性和有效性是评价药物质量的 2 个重要特征,是药物发挥作用的重要体现,其中安全性评估是药物非临床研究质量管理规范 (GLP) 的一个重要组成部分。2005 年国家食品药品监督管理局发布的《中药、天然药物免疫毒性(过敏性、光变态反应)研究的技术指导原则》^[19],为药物进行了 GLP 和药物安全性评价提供参考依据。本研究参考该指导原则,通过经皮涂抹沉香精油观察其对豚鼠皮肤的过敏实验,肉眼可见沉香精油可诱发豚鼠皮肤出现红肿、斑点。豚鼠皮肤病理切片结果也显示,豚鼠皮肤表层出现不同程度的角质层增厚、水肿、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等炎症细胞的浸润,深皮层充血、出血、结缔组织坏死、变性等现象。沉香

精油涂抹出现皮肤不同程度的过敏,其中 CO₂ 超临界萃取沉香精油经皮涂抹出现明显过敏反应。

综上所述,沉香精油涂抹可引起豚鼠皮肤产生不同程度的过敏现象,使豚鼠皮肤出现红肿、斑点、角质层增厚、水肿、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等炎症细胞的浸润,深皮层充血、出血、结缔组织坏死、变性、免疫球蛋白升高等现象,研究为沉香资源开发利用、沉香精油相关产品研制等提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 吕开原,雷智冬,刘元瑞,等. 沉香的倍半萜类化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2390-2394.
- [2] 谭有珍,陈碧莹,吴霞,等. 基于¹H-NMR 指纹图谱建立沉香快速识别模型的研究 [J]. 中药材, 2021, 44(4): 818-823.
- [3] 海燕,丁宁,张泽坤,等. 白木香细胞色素 P450 还原酶基因的克隆、表达与功能鉴定 [J]. 药学学报, 2022, 57(8): 2423-2429.
- [4] 彭德乾,王灿红,刘洋洋,等. 沉香的化学成分及其药理活性的研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(3): 358-365.
- [5] 戴伟杰,李一峰,陈志韶,等. 不同溶剂及提取方式对沉香精油成分的影响 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(8): 1597-1607.
- [6] 王灿红,王帅,刘洋洋,等. 通体结香技术产沉香的药效学研究进展及药用开发前景 [J]. 生物资源, 2021, 43(4): 328-335.
- [7] 霍会霞,孙慧,张云封,等. 中药沉香的药理作用和质量控制研究进展 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18(2): 152-155.
- [8] Wang C H, Wang Y Y, Gong B, et al. Effective components and molecular mechanism of agarwood essential oil inhalation on the sedative and hypnotic effects based on GC-MS-Qtof and molecular docking [J]. *Molecules*, 2022, 27(11): 3843.
- [9] Wang S, Wang C H, Yu Z X, et al. Agarwood essential oil ameliorates restrain stress-induced anxiety and depression

- by inhibiting HPA axis hyperactivity [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3468.
- [10] Yu Z X, Wang C H, Zheng W, *et al.* Anti-inflammatory 5,6,7,8-tetrahydro-2-(2-phenylethyl) chromones from agarwood of *Aquilaria sinensis* [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 99: 103789.
- [11] 姚诚,董继晶,李懿柔,柯汶佳,马云桐.不同结香方法所得沉香的抗炎镇痛作用比较研究[J]. *中药与临床*, 2021, 12(04): 27-30.
- [12] 王云云, 侯文成, 魏建和, 等. 沉香中倍半萜类化合物与生物活性研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. *中草药*, 2022, 53(4): 1191-1209.
- [13] 耿天佑. 沉香精油的提取与生物活性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [14] 孙振仪, 尹卓容. 超临界 CO₂ 萃取沉香精油的研究 [J]. *天然产物分离*, 2004, 2(5): 14-17.
- [15] Wang C H, Wang Y Y, Gong B, *et al.* Effective components and molecular mechanism of agarwood essential oil inhalation on the sedative and hypnotic effects based on GC-MS-Qtof and molecular docking [J]. *Molecules*, 2022, 27(11): 3843.
- [16] Wang S, Wang C H, Yu Z X, *et al.* Agarwood essential oil ameliorates restrain stress-induced anxiety and depression by inhibiting HPA axis hyperactivity [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3468.
- [17] 杨挺, 李文宏, 孙薇. 阿昔洛韦凝胶皮肤刺激性和过敏性实验研究 [J]. *亚太传统医药*, 2008(1): 21-22.
- [18] 金煜文, 陈凯, 顾性初, 等. 豚鼠经皮给予苦参凝胶 Buehler 试验研究 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2015, 13(24): 141-143.
- [19] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物免疫毒性(过敏性、光变态反应)研究技术指导原则 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
- [20] 马新业, 肖乃玉, 江美倩, 等. 一种沉香无患子沐浴乳及其制备方法: 中国, CN114469830A [P]. 2022-05-13.
- [21] 白雪, 白新鹏, 朱云宏. 一种椰子油基抗菌油水凝胶及其制备方法: 中国, CN111905038B [P]. 2022-04-08.
- [22] 郑琴, 杨明, 黄小英, 等. 一种调节睡眠的复方精油: 中国, CN110772580B [P]. 2022-01-28.
- [23] 马新业, 肖乃玉, 王碧蕊, 等. 一种沉香香氛固体香膏及其制备方法: 中国, CN113693969A [P]. 2021-11-26.
- [24] 白发平, 童黄锦, 王志康, 等. 一种具有抑制口腔幽门螺旋杆菌作用的沉香牙膏: 中国, CN113559012A [P]. 2021-10-29.
- [25] 张占卿, 陈淑琴, 陆伟, 等. 血清免疫球蛋白诊断乙型肝炎相关肝硬化的价值 [J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2008(10): 844-845.

【责任编辑 高源】