

表 1 黄芩苷单独给药组和头孢拉定与黄芩苷合并给药组主要药动学参数比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Comparison of pharmacokinetic parameters between individual administration group of baicalin and combination administration group of baicalin with Cefradine ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	单位	黄芩苷单独给药组	头孢拉定与黄芩苷合并给药组
$C_{max}$	ng · mL <sup>-1</sup>	2 645.62 ± 601.42	782.63 ± 469.37*
$t_{max}$	h	3.16 ± 2.87	13.00 ± 2.83
$AUC_{0-24h}$	ng · mL <sup>-1</sup> · h	28 952.90 ± 731.42	8 407.86 ± 347.6.14*
$AUC_{0-\infty}$	ng · mL <sup>-1</sup> · h	28 956.74 ± 731.23	9 659.335 ± 631.9.87*
MRT	h	8.47 ± 0.19	14.32 ± 2.24

与黄芩苷单独给药组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs individual administration group of baicalin

### 3 讨论

本实验采用高灵敏度的 HPLC-ECD 方法测定了头孢拉定与黄芩苷合并给药组和黄芩苷单独给药组黄芩苷在大鼠体内的血药浓度。结果表明头孢拉定与黄芩苷合并给药时,黄芩苷在 13 h 达到血药浓度高峰,且其  $C_{max}$  明显低于黄芩苷单独给药组,没有由肝肠循环引起的第 2 个血药浓度高峰,说明抗生素抑制了微生物水解黄芩苷的活性,阻断了肝肠循环。从药动学参数中还可以看到,头孢拉定与黄芩苷合并给药组和黄芩苷单独给药组的  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  差异显著 ( $P < 0.05$ ),这充分说明头孢拉定对黄芩苷的体内吸收有明显的抑制作用,在临床上应尽量避免两种药物的合用。

像黄芩苷这样,药物有效成分的代谢与肠道菌群有着密切关系的药物,在中药中还有很多,如甘草甜素<sup>[4]</sup>、芍药苷<sup>[5]</sup>、人参皂苷<sup>[6]</sup>、番泻苷、芦荟苷<sup>[7,8]</sup>

等,它们大多数被肠道菌群代谢后,产生具有较强药理活性的代谢产物。尤其是具有水溶性的葡萄糖苷成分,这类化合物在肠道内一般难以吸收,生物利用度低,由于在肠内滞留时间较长而易受到肠道菌群的水解,是“天然前体药物”。在中药中含有大量的苷类化合物,这种“天然前体药物”的制剂与抗生素类药物在临床上并用,很有可能影响前体药物在体内的代谢,从而影响中药药效的正常发挥。临床应用上应引起注意。

### References:

- [1] Che Q M, Li Y M. Studies on metabolites of baicalin in human urine [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(6): 768-769.
- [2] Zhou Y J, Chen Q M. Metabolites of baicalin in human urine [J]. *Pharmazie*, 2000, 55(8): 626-627.
- [3] Akao T, Kawabata K, Yanaginsawa E, et al. Baicalin, the predominant flavone glucuronide of *Scutellariae Radix*, is absorbed from the rat gastrointestinal tract as the aglycone and restored to its original form [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2000, 52(12): 1563-1568.
- [4] Kim D H, Jand I S, Lee S W, et al. Bacterioides J-37, a human intestinal bacterium, produces  $\alpha$ -glucuronidase [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(8): 834-837.
- [5] Shu Y Z, Hattori M, Akao T, et al. Metabolism of paeoniflorin and related compounds by human intestinal bacteria III [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(9): 3726-3733.
- [6] Hasegawa H, Sung J H, Matsumiya S, et al. Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria [J]. *Plant Med*, 1996, 62(5): 453-457.
- [7] Yang L, Akao T, Kobashi K, et al. Purification and characterization of a novel sennoside-hydrolyzing beta-glucosidase from *Bifidobacterium* sp. Strain SEN, a human intestinal anaerobe [J]. *Biol Pharm Bull*, 1996, 19(5): 705-709.
- [8] Akao T, Che Q M, Kobashi K, et al. A puegative action of barbaloin is induced by *Eubacterium* sp. Strain BAR, a human intestinal anaerobe, capable of transforming barbaloin to aloe emoin anthron [J]. *Biol Pharm Bull*, 1996, 19(1): 136-138.

## 炒紫苏子醇提取物对过敏模型小鼠的抗过敏作用及机制

王钦富<sup>1,2</sup>,王永奇<sup>2\*</sup>,于超<sup>2</sup>,张巍峨<sup>2</sup>,蒋革<sup>2</sup>,冯宝民<sup>2</sup>,施广霞<sup>1</sup>

(1. 大连医科大学,辽宁大连 116023; 2. 大连大学生物工程学院,辽宁大连 116622)

**摘要:**目的 观察炒紫苏子醇提取物对过敏模型小鼠血清总 IgE 水平和特异 IgE 水平的影响。方法 采用 ELISA 法测定卵白蛋白 (OVA) 致敏小鼠血清总 IgE 水平;采用大鼠异种被动皮肤过敏反应测定特异 IgE 水平;采用小鼠主动皮肤过敏反应——耳肿胀试验和小鼠主动全身过敏反应研究炒紫苏子醇提取物的抗过敏作用。结果 炒紫苏子醇提取物 0.32、0.64、1.28 g/kg 各剂量组能明显降低小鼠血清总 IgE 水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),并呈剂量依赖关系,也明显降低小鼠特异 IgE 水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),1.28 g/kg 剂量抑制小鼠特异 IgE 水平好于阳性对照色苷酸钠 ( $P < 0.01$ );小鼠主动皮肤过敏反应结果表明,与木犀草素相同,炒紫苏子醇提取物各剂量明显抑制小鼠

收稿日期:2006-02-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (30171140)

作者简介:王钦富(一),男,教授,大连医科大学病理生理专业博士,主要从事免疫药理学研究。E-mail: qinfuwang@126.com

\*通讯作者 王永奇 Tel: (0411) 87402310 Fax: (0411) 87403963

耳肿胀 ( $P < 0.05, 0.01$ ); 主动全身过敏反应结果表明, 炒紫苏子醇提取物各剂量组小鼠 OVA 攻击死亡率明显降低, 小鼠存活时间明显延长, 其中 1.28 g/kg 剂量组和木犀草素组死亡率最低, 存活时间最长。结论 炒紫苏子醇提取物通过明显降低小鼠血清总 IgE 和特异 IgE 水平, 发挥抗过敏作用。

关键词: 炒紫苏子; 抗过敏; IgE

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2006)10-1532-04

## Antianaphylaxis effect of alcohol extract of stir-baked *Fructus Perillae* on anaphylaxis model mice and its mechanism

WANG Qin-fu<sup>1,2</sup>, WANG Yong-qi<sup>2</sup>, YU Chao<sup>2</sup>, ZHANG Wei-e<sup>2</sup>,  
JIANG Ge<sup>2</sup>, FENG Bao-min<sup>2</sup>, SHI Guang-xia<sup>1</sup>

(1. Dalian Medical University, Dalian 116023, China; 2. College of Bioengineering, Dalian University, Dalian 116622, China)

**Abstract: Objective** To investigate the inhibition of alcohol extract of stir-baked *Fructus Perillae* on total and specific IgE levels in the serum of anaphylaxis mice model. **Methods** The total IgE level in serum of mice sensitized by OVA was assayed by ELISA and the specific IgE level was evaluated by rat heterologous passive cutaneous anaphylaxis; mouse active cutaneous anaphylaxis and active systemic anaphylaxis were also applied to study the anti-allergic effects. **Results** Alcohol extract of stir-baked *Fructus Perillae* 0.32, 0.64, and 1.28 g/kg reduced total IgE level ( $P < 0.05, 0.01$ ) and specific IgE level ( $P < 0.05, 0.01$ ) in a dose dependent manner, while 1.28 g/kg showed better effect on the inhibition of specific IgE than the positive control-disodium cromoglycate group ( $P < 0.01$ ); same as luteolin in active cutaneous anaphylaxis test of mice alcohol extract of stir-baked *Fructus Perillae* 0.32, 0.64, and 1.28 g/kg inhibited significantly mouse ear edema ( $P < 0.05, 0.01$ ), respectively; and in systemic anaphylaxis test, the alcohol extract of stir-baked *Fructus Perillae* reduced the mortality of mice induced by OVA and prolonged the survival time; among them the mortality of mice is the lowest and the survival time is the longest in 1.28 g/kg alcohol extract of stir-baked *Fructus Perillae* and luteolin groups. **Conclusion** The alcohol extract of stir-baked *Fructus Perillae* can reduce both total and specific IgE levels in serum of mice and have potential antiallergic effects.

**Key words:** stir-baked *Fructus Perillae*; antianaphylaxis; IgE

紫苏 *Perilla frutescens* (L.) Britton 系唇形科植物, 是全国广泛栽培的经济植物, 资源非常丰富。紫苏子, 又称苏子, 是紫苏的干燥成熟果实, 为《中国药典》所收载。具有降气消痰、平喘、润肠之功能。用于痰壅气逆、咳嗽气喘、肠燥便秘。在对紫苏子研究过程中, 发现紫苏子和炒紫苏子都有多元酚类物质, 而且炒紫苏子无论活性, 还是所含的量都明显高于紫苏子, 表现出明显的抗过敏作用。本实验研究炒紫苏子醇提取物对过敏模型小鼠血清 IgE 水平的抑制作用, 为研究炒紫苏子醇提取物的抗过敏作用的可能机制提供实验依据。

### 1 材料与方 法

1.1 实验动物: 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 大连大学实验动物中心提供; SD 大鼠, 雄性, (200±28) g, 大连医科大学动物实验中心提供 (Ⅱ级, SCXK2002-2002)。

1.2 药材: 紫苏子购自河南省, 由大连市药品检验所鉴定。

1.3 试剂: 木犀草素, Sigma 产品; 色苷酸钠 (Sigma C-0399); 卵白蛋白 (OVA), Sigma A5253。伊文思蓝, Fluka, 批号 011114; 白百破疫苗, 大连市沙河口区防疫站惠赠; 氢氧化铝凝胶, 吉林省生物制品厂生产, 批号 20010430, 中国农业科学院左家特产研究所惠赠。小鼠 IgE 试剂盒, MARKET INC. (美国) 产品

1.4 仪器: State Fax—2100 酶标分析仪。

### 1.5 方 法

1.5.1 炒紫苏子醇提取物制备: 炒紫苏子经粉碎后, 分别以 8.6、4 倍量石油醚 (沸点 60~90 °C) 常温下浸泡脱脂 3 次, 每次 24 h。残渣晾干无醚味后, 分别以 8.6、4 倍量工业乙醇加热回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 合并提取液浓缩得醇提取物, 含多元醇 > 8% (Folin-D 方法)。

1.5.2 小鼠血清总 IgE 测定: 小鼠随机分为 5 组, 雌雄各半, 分别为炒紫苏子醇提取物 1.28、0.64、0.32 g/kg 组和模型组、正常组。小鼠每天 ig 给药 1

次,连续 21 d,炒紫苏子醇提取物各组按 0.2 mL/10 g 给药;模型组及正常组 ig 等量无菌蒸馏水。动物致敏:除正常组外,其他 4 组在给药前 1 d 及给药第 5 天 2 次 ip 200  $\mu$ g OVA 和 8 mg Al(OH)<sub>3</sub>凝胶,在给药前 1 d ip 0.2 mL 白百破疫苗(含百日咳杆菌  $1 \times 10^9$ 个),致敏时间为 3 周。摘眼球取血,分离血清。小鼠血清总 IgE 测定:按试剂盒方法操作。

1.5.3 小鼠血清特异 IgE 测定——大鼠异种被动皮肤过敏反应<sup>[1~4]</sup>:小鼠随机分为 6 组,分别为炒紫苏子醇提取物 1.28、0.64、0.32 g/kg 组和模型组、色苷酸钠(0.1 g/kg)阳性对照组及木犀草素(0.03 mg)组。动物给药和致敏方法同上。小鼠摘眼球取血,分离血清,倍比稀释为 1:1、1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64 后备用。

取健康雄性 SD 大鼠(180~220 g),乙醚麻醉,背部剪毛,sc 不同稀释度小鼠血清,每点 0.02 mL。被动致敏 72 h 后进行抗原攻击,尾 iv 1 mL 1% 伊文思蓝溶液 5 mg/mL OVA-PBS。1 h 后断头处死动物,翻转背部皮肤,以引起直径 5 mm 以上蓝斑的血清最高稀释度作为判定终点,即效价。

1.5.4 小鼠主动皮肤过敏反应——耳肿胀试验<sup>[5]</sup>:雄性小鼠随机分为 6 组,分别为炒紫苏子醇提取物 1.28、0.64、0.32 g/kg 组和模型组、色苷酸钠(0.1 g/kg)阳性对照组及木犀草素(0.03 mg)组。动物给药和致敏方法同上。耳肿胀试验:在左耳 sc 20  $\mu$ L 生理盐水(含 50  $\mu$ g OVA),右耳 sc 20  $\mu$ L 生理盐水。20 min 后测量双耳厚度,计算出厚度差(肿胀度),求出肿胀抑制率。

1.5.5 小鼠主动全身过敏反应<sup>[6]</sup>:雄性小鼠随机分为 6 组,分别为炒紫苏子醇提取物 1.28、0.64、0.32 g/kg 组和模型组、色苷酸钠(0.1 g/kg)阳性对照组及木犀草素(0.03 mg)组。动物给药和致敏方法同上。小鼠主动全身过敏反应:尾 iv 含 10 mg OVA 的 100  $\mu$ L PBS,观察死亡率和存活时间。

1.5.6 数据分析:采用 SPSS 统计软件进行卡方检验。

## 2 结果

2.1 小鼠血清总 IgE 测定:结果见表 1。模型组总 IgE 水平明显升高( $P < 0.05$ ),炒紫苏子醇提取物能明显降低总 IgE 水平( $P < 0.05, 0.01$ ),并呈剂量依赖关系。

2.2 小鼠血清特异 IgE 测定——大鼠异种被动皮肤过敏反应结果:见表 2。炒紫苏子醇提取物各剂量能明显降低小鼠血清特异 IgE 水平( $P < 0.05, 0.01$ ),色苷酸钠也能明显降低小鼠特异 IgE 水平

( $P < 0.05$ );炒紫苏子醇提取物 1.28 g/kg 抑制小鼠特异 IgE 水平的作用强于色苷酸钠,单体成分木犀草素明显抑制小鼠特异 IgE 水平( $P < 0.01$ )。

2.3 小鼠主动皮肤过敏反应——耳肿胀试验:结果见表 3。炒紫苏子醇提取物各剂量明显抑制小鼠耳肿胀( $P < 0.05, 0.01$ ),单体成分木犀草素也明显抑制小鼠耳肿胀( $P < 0.01$ )。

表 1 小鼠血清中总 IgE 水平测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Determination of total IgE level in serum of mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	动物/只	IgE/(IU·mL <sup>-1</sup> )
正常	—	5	8.62±1.24*
模型	—	6	24.63±2.57
炒紫苏子醇提取物	0.32	6	8.25±2.16*
	0.64	6	6.57±1.89*
	1.28	7	2.46±1.09**

与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group

1 IU/mL=2.4 ng/mL<sup>[7]</sup>

表 2 小鼠血清中特异 IgE 测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Determination of specific IgE level in serum of mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量	动物/只	效价
模型	—	6	22.63±1.49
色苷酸钠	0.1 g·kg <sup>-1</sup>	6	8.53±1.55*
炒紫苏子醇提取物	0.32 g·kg <sup>-1</sup>	6	7.13±2.77*
	0.64 g·kg <sup>-1</sup>	6	6.35±2.58*
	1.28 g·kg <sup>-1</sup>	6	3.18±3.10** $\Delta$
木犀草素	0.03 mg	7	5.38±2.42**

与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

与色苷酸钠组比较:  $\Delta P < 0.05$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group

$\Delta P < 0.05$  vs disodium cromoglycate group

表 3 小鼠耳肿胀试验结果

Table 3 Result of ear edema test in mice

组别	剂量	动物/只	肿胀度/mm	肿胀抑制率/%
模型	—	7	2.59±0.92	—
色苷酸钠	0.1 g·kg <sup>-1</sup>	9	1.78±0.98*	31.3
炒紫苏子醇提取物	0.32 g·kg <sup>-1</sup>	12	1.52±0.93*	41.3
	0.64 g·kg <sup>-1</sup>	7	1.48±0.63*	42.9
	1.28 g·kg <sup>-1</sup>	7	1.33±0.66**	48.6
木犀草素	0.03 mg	8	1.40±1.37**	46.0

与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group

2.4 小鼠主动全身过敏试验结果:见表 4。炒紫苏子醇提取物各组小鼠 OVA 攻击死亡率明显降低,小鼠存活时间明显延长,其中 1.28 g/kg 组和木犀草素组死亡率最低,存活时间最长,作用好于色苷酸钠。

## 3 讨论

过敏模型小鼠血清总 IgE 水平较正常组高,差

表 4. 小鼠主动全身过敏反应结果

Table 4 Result of active systemic anaphylaxis assay in mice

组别	剂量	动物/只	死亡动物/只	死亡率/%	存活时间/h	存活时间延长率/%
模型	—	11	10	90.8	20.300±6.237	—
色苷酸钠	0.1 g·kg <sup>-1</sup>	9	6	66.7	30.667±10.671	51.1
炒紫苏子醇提取物	0.32 g·kg <sup>-1</sup>	12	9	75.0	30.222±11.713	48.9
	0.64 g·kg <sup>-1</sup>	12	8	66.7	38.625±12.546**	90.3
	1.28 g·kg <sup>-1</sup>	13	7	53.8*	44.714±17.895**△	120.1
木犀草素	0.03 mg	9	2	22.2**	114.000±8.485**△	461.6

与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01; 与色苷酸钠组比较: △P<0.05 △△P<0.01

\*P<0.05 \*\*P<0.01 vs model group; △P<0.05 △△P<0.01 vs disodium cromoglycate group

异非常显著。血液中 IgE 水平是过敏性体质的基础,抑制或降低体内 IgE 水平是防治 I 型超敏反应性疾病的关键<sup>[8]</sup>。目前西医有两种消除 IgE 的方法,一种是免疫吸附剂(基因重组的杂交分子),另一种是单克隆抗体,但目前均未正式应用于临床。

炒紫苏子醇提取物具有很好的抗过敏作用<sup>[9]</sup>,小鼠主动皮肤过敏反应结果表明,炒紫苏子醇提取物各剂量明显抑制小鼠耳肿胀;主动全身过敏反应结果表明,炒紫苏子醇提取物各剂量组小鼠 OVA 攻击死亡率明显降低,小鼠存活时间明显延长,其中 1.28 g/kg 剂量组和木犀草素组死亡率最低,存活时间最长。

炒紫苏子醇提取物的抗过敏作用方式之一就是降低机体的 IgE,减轻或避免超敏反应的发生。本实验结果表明炒紫苏子醇提取物各剂量能明显降低总 IgE 水平,并呈剂量依赖关系,也明显降低小鼠血清特异 IgE 水平,1.28 g/kg 剂量抑制小鼠特异 IgE 水平好于阳性对照色苷酸钠;其降低 IgE 水平的机制可能是炒紫苏子醇提取物能纠正 Th1/Th2 失衡向 Th2 漂移(待发表)。

紫苏子抗过敏的有效部位(多元酚类)是存在于乙醇提取物的醋酸乙酯可溶部分中,其有效成分是以木犀草素为代表的 4 种酚类化合物。Ueda 认为木犀草素是紫苏抗炎、抗过敏的主要成分,在分离出的木犀草素、迷迭香酸和咖啡酸中,只有木犀草素表现出体内抑制 TNF-α 产生,抑制耳肿胀和变态反应性水肿<sup>[10]</sup>,其作用机制是通过抑制 5-LO 和 12-LO,而抑制白三烯 B<sub>4</sub>、C<sub>4</sub>、D<sub>4</sub>、E<sub>4</sub> 的产生。本实验结果表明炒紫苏子醇提取物通过明显降低总 IgE 和特异 IgE 水平发挥抗过敏作用。

References:

- [1] Fabienne A, Annie G C, Florence A, et al. Transcutaneous immunization with cholera toxin B subunit adjuvant suppresses IgE antibody responses via selective induction of Th1 immune responses [J]. *J Immunol*, 2003, 170: 1586-1592.
- [2] Pires R R, Oshiro T M, Itami D M, et al. Production and characterization of a monoclonal antibody against an *Ascaris suum* allergenic component [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2001, 34(8): 1033-1036.
- [3] Faquim-Mauro E L, Coffman R L, Abrahamsohn I A, et al. Cutting edge: mouse IgG1 antibodies comprise two functionally distinct types that are differentially regulated by IL-4 and IL-12 [J]. *J Immunol*, 1999, 163: 3572-3576.
- [4] Portela C D P, Tibério I F L C, Leick-Maldonado E A, et al. Effects of diazepam and stress on lung inflammatory response in OVA-sensitized rats [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 82: L1289-L1295.
- [5] Daheshia M, Friend D S, Grusby M J, et al. Increased severity of local and systemic anaphylactic reactions in gp49B1-deficient mice [J]. *J Exp Med*, 2001, 194(2): 227-234.
- [6] Wakayama H, Hasegawa Y, Kawabe H, et al. IgG-mediated anaphylaxis via Fc receptor in CD40-deficient mice [J]. *Clin Exp Immunol*, 1998, 114(2): 154-160.
- [7] Sain S S, MacGlashan D W, Sterbinsky S A, et al. Down-regulation of human basophil IgE and FCεR1α surface densities and mediator release by anti-IgE-infusions is reversible *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Immunol*, 1999, 162: 5624-5630.
- [8] Gu Y F, Zhang X M. Studies on chinese medicine in lowering IgE in type I hypersensitivity reaction diseases [J]. *Chin J Bas Med Tradit Chin Med (中国中医基础医学杂志)*, 2004, 10(7): 76-79.
- [9] Wang Q F, Wang Y Q, Yu C, et al. Anti-allergic pharmacetic effects of EtOH ext. of rosted penlla seed [J]. *US Chin Int J Bethune Med*, 2005, 3(2): 30-35.
- [10] Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M. Luteolin as an anti-inflammatory and anti-allergic constituent of *Perilla frutescens* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(9): 1197-1202.