

- [4] Cosyns J P, Jadoul M, Squifflet J P, *et al.* Chinese herb nephropathy: a clue to Balkan endemic nephropathy? [J]. *Kidney Int*, 1994, 45(6): 1680-1688.
- [5] Ye Z B, Lu G C, Ling C Q, *et al.* Advance and progression in the study of Chinese herb nephropathy [J]. *Chin New Drugs J* (中国新药杂志), 2000, 9(8): 526-530.
- [6] Depierreux M, Van-Damme B, Vanden-Houte K, *et al.* Pathologic aspects of a newly described nephropathy related to the prolonged use of Chinese herbs [J]. *Am J Kidney Dis*, 1994, 24(2): 172-180.
- [7] Yang C S, Lin C H, Chang S H, *et al.* Rapidly progressive fibrosing interstitial nephritis associated with Chinese herbal drugs [J]. *Am J Kidney Dis*, 2000, 35(2): 313-318.
- [8] Wankowicz Z, Obroniccka I, Morzycka-Michalik M. Nephropathy after use of Chinese herbs: rapidly progressive interstitial renal fibrosis or renal vasculitis? [J]. *Pol Arch Med Wewn*, 1996, 96(5): 474-478.
- [9] Colson C R, De-Greef K E, Duymelinck C, *et al.* Role of serotonin in the development of Chinese herb nephropathy? [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1999, 14(Suppl 4): 16.
- [10] Vanherweghem J L, Abramowicz D, Tieleman C, *et al.* Effects of steroids on the progression of renal failure in chronic interstitial renal fibrosis: a pilot study in Chinese herb nephropathy [J]. *Am J Kidney Dis*, 1996, 27(2): 209-215.

板蓝根有效部位对脂多糖致小鼠血清中 TNF 和 NO 的影响

刘云海, 林剑国, 雷 婷

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 药学部, 湖北 武汉 430030)

摘要: 目的 探讨板蓝根有效部位小鼠体内对脂多糖刺激产生 TNF 和 NO 的影响。方法 从板蓝根中提取分离出有效部位并配制成 2%, 1%, 0.5% 三种浓度的样品液; 将用卡介苗致敏的小鼠随机分为 5 组, 实验组分别 ig 2%, 1%, 0.5% 样品液各 0.4 mL, 对照组和模型组给予相同量生理氯化钠溶液; 0.5 h 后, 实验和模型组分别尾 iv 脂多糖 800 ng/20 g, 9 h 后眼眶取血, 制备血清, 用 ELISA 法测 TNF , 用 Griess 法测 NO 浓度。结果 板蓝根有效部位高、中、低 3 种样品液对脂多糖刺激小鼠释放 TNF 和 NO 均有抑制作用, 抑制率分别为 83.59%, 67.92%, 21.6%, 对 NO 抑制率分别为 98.66%, 70.77%, 20.33%。结论 板蓝根有效部位对脂多糖刺激小鼠体内释放 TNF 和 NO 有抑制作用, 且有剂量依赖性。

关键词: 板蓝根有效部位; 内毒素; 肿瘤坏死因子 (TNF); 一氧化氮 (NO)

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)02-0152-03

Effect of active part from *Radix Isatidis* on content of TNF and NO induced by LPS in mice serum

LIU Yun-hai, LIN Jian-guo, LEI Ting

(Department of Pharmacy, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Key words active part from *Radix Isatidis*; endotoxin; TNF ; NO

细菌内毒素 (endotoxin, ET) 是革兰阴性菌细胞外膜中的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 成分, 可刺激机体防御系统过度释放炎症因子——肿瘤坏死因子 (TNF) 及一氧化氮 (NO) 等, 引起发热、弥漫性血管内凝血 (DIC)、多器官功能衰竭, 以至死亡。近年来的研究发现, β -内酰胺类抗生素可导致体内 ET 增加^[1], 铜绿假单胞菌败血症的病死率仍高达 80%~90%^[2], 并不因没有使用足量的敏感抗菌药, 而是因至今没有理想的抗内毒素药物。板蓝根 (BLG) 抗内毒素作用已有报道^[3-5], 为了寻找 BLG

抗 ET 活性物质, 我们将其分成不同极性部位, 用体内外多种实验方法筛选出抗 ET 活性最强的有效部位^[6], 本研究探讨该部位在小鼠体内对 LPS 刺激释放 TNF 和 NO 的影响。

1 材料与仪器

1.1 板蓝根有效部位样品液制备: 板蓝根 (产于河北省邢台县, 经邢台市药材公司鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* fort 的干燥根) 粉碎成细粉, 用 95% 乙醇浸泡后按常规方法渗漉提取, 减压浓缩至无醇味; 用石油醚反复萃取至除尽石油醚部

位,继用氯仿反复萃取得氯仿提取物(得率 0.8%);用硅胶进行柱层析,用氯仿和甲醇不同比例溶剂作梯度洗脱,得板蓝根有效部位(得率 0.31%);用适当助溶剂,将此部位配制成 A(2%),B(1%),C(0.5%) 3 种样品液,备用。

1.2 动物:昆明种小鼠,3 周龄,18~20 g,华中科技大学同济医学院医学实验动物中心提供。

1.3 试剂:脂多糖(LPS, E. Coli O26B6, 5 mg/皮, Sigma 公司,批号 69H4022);卡介苗(BCG, 50 mg/支,上海生物制品研究所,批号 990901,使用前用注射用水稀释成 5 mL);TNE 试剂盒(北京邦定泰克生物有限公司);N-1 萘乙二胺盐酸盐(分析纯,天津化学试剂研究所);NaNO₂(西德进口,湖北大学化工厂分装);对氨基苯磺胺(分析纯,北京芳草医药化工研究公司)。

1.4 仪器:MK 型酶联免疫检测仪(Labsystem Dragon 公司);1815TC 型 CO₂ 培养箱(Shel-Lab 公司)。

2 实验方法

2.1 血清样品制备:取 30 只小鼠,每只 ip BCG 3 mg,实验前 12 h 禁食不禁水。实验时,将小鼠随机分为 5 组,每组 6 只。实验组分别 ig 给予 2%,1%,0.5% 样品液 0.4 mL,对照和模型组给生理氯化钠液。ig 后 0.5 h,实验和模型组每只小鼠分别尾 iv LPS 800 ng/20 g,9 h 后,乙醚麻醉,眼眶内取血,取

血清于 -20℃ 贮存备用。

2.2 TNE 检测:用 ELISA 法,按试剂盒说明书操作要求进行,在抗人细胞因子单抗包被的酶标板上加入系列浓度标准品溶液及 100 μL 待测鼠血清样品,同时设空白对照(双管法),37℃ 作用 60 min 后加入 TMB 底物液显色 15 min,于 450 nm 波长处测吸光度(A)值,绘制标准曲线,结果在 10~1 000 pg/mL 呈线性关系,各血清样品按标准曲线计算 TNE 浓度。

2.3 NO 含量测定:用 Griess 试剂法。精密称取 NaNO₂ 1 g 于 100 mL 容量瓶中,加水溶解(10 mg/mL);再精密量取 1 mL 加水至 100 mL(100 μg/mL);再分别取适量稀释得到系列溶液;各取 50 μL,分别加 Griess 液(含 1% 对氨基苯磺胺,0.1% N-1 萘乙二胺盐酸盐,2.5% 磷酸)50 μL,室温放置 10 min,于酶联免疫测定仪上 550 nm 处测定各孔 A 值,绘制标准曲线,结果在 1~100 μg/mL 呈线性关系。鼠血清样品 50 μL 加入等体积 Griess 液,同法检测,由标准曲线计算 NO 浓度。

3 结果

小鼠经板蓝根有效部位不同浓度处理后再给予同等剂量 LPS,其血清中 TNE 和 NO 浓度及抑制百分率见表 1。抑制百分率按如下公式计算^[7]:

抑制百分率% = [1 - (样品组 - 空白对照组) / (模型组 - 空白对照组)] × 100%

表 1 板蓝根有效部位对 LPS 致小鼠血清 TNE 和 NO 的影响 (n= 6)

Table 1 Effect of active part from *Radix Isatidis* on level of TNE and NO induced by LPS in mice serum (n= 6)

组别	浓度 /%	LPS/(ng·20g ⁻¹)	TNE/(pg·mL ⁻¹)	抑制百分率 /%	NO/(μg·mL ⁻¹)	抑制百分率 /%
板蓝根	2	800	159.1±18.4*	83.59	7.8±1.7*	98.66
	1	800	270.3±14.6*	67.20	26.6±12.2	70.77
	0.5	800	606.1±72.2	20.61	60.6±6.8	20.33
模型	-	800	752.4±222.8	-	74.3±24.3	-
对照	-	-	42.6±20.9*	-	6.9±2.5*	-

与模型组比较: * P<0.05 ** P<0.01

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

由表可见,板蓝根有效部位对 LPS 刺激小鼠体内释放 TNE 和 NO 有抑制作用,其抑制率在浓度 2%~0.5% 呈剂量依赖性。

4 讨论

TNE 在 LPS 感染性休克发病过程中的作用正在得到越来越多的证实,抗 TNE 的一些防治措施将成为 LPS 感染性休克防治的重要途径。

NO 在 LPS 引起脏器损伤中的作用越来越引起重视,体内大量 NO 释放是导致内毒素休克、低血压及多脏器功能衰竭的主要因素之一。NO 的大

量释放可通过与超氧阴离子结合成氧化亚硝基阴离子而对器官组织造成损伤。在内毒素引起的休克和多脏器功能衰竭中,阻止 NO 大量释放可防止其造成低血压及减轻其导致的组织氧化性损伤。

小鼠对内毒素敏感性低,用 BCG 增敏后,可使 LD₅₀ 由 20 mg/kg 降至 5 mg/kg 以下^[8],本实验按 3 mg/只给予,增敏效果明显。

板蓝根有效部位体外对 LPS 致炎性因子的影响已有报道^[6]。本研究结果提示,板蓝根有效部位能明显抑制 TNE 和 NO 产生,可能对 LPS 引起的组

织损伤起到保护作用。该研究结果进一步论证了以前对板蓝根的研究结论^[9,10],该部位可用作板蓝根抗内毒素活性物质的开发研究。

References

- [1] Liang C H. Studies of endotoxin evolution induced by antibiotic [J]. *World Notes- Surgery* (国外医学·外科学分册), 2000, 27(5): 259-261.
- [2] Yin K S, Yin M S. *Handbook of Anti-infective Agents* (实用抗感染药物手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001.
- [3] Liu Y H. Experimental studies on the anti-endotoxic effect of *Radix Isatidis* Injection [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1993, 24(8): 413-414.
- [4] Qiao Z Z, Zhang H M, Chen W S, *et al.* Experimental study of anti-endotoxic effect on tetraploid *Radix Isatidis* [J]. *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 1995, 16(4): 395-396.
- [5] Liu Z F, Li G S, Fu F H, *et al.* Studies of *in vitro* anti-endotoxic effect for eight Chinese materia medica injections [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(1): 58-59.
- [6] Liu Y H, Lin A H, Ding S P. Effects of *Radix Isatidis* on the production of TNF and IL-6 in macrophage from mice induced by endotoxin [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(2): 149-151.
- [7] Du G H, Li X J, Zhang Y X, *et al.* *Drug Discovery and Evaluation- Pharmacological Assays* (药理学实验指南·新药发现和药理学评价) [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [8] Vogel S N, Moore R N, Sipe J D, *et al.* BCG-induced enhancement of endotoxin sensitivity in C3H/HeJ mice [J]. *J Immunol*, 1980, 124(10): 2004.
- [9] Liu Y H, Lin A H, Ding S P, *et al.* Study on anti-endotoxin of chloroform extract from *Radix Isatidis* [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2001, 21(6): 326-328.
- [10] Liu Y H, Du G, Han H G, *et al.* Studies on the anti-endotoxic effect of *Radix Isatidis* [J]. *Her Med* (医药导报), 2001, 20(9): 547-548.

复方玄驹胶囊免疫调节和抗炎作用的研究

贾伟¹,薛京²,王永新²,霍海如³

(1. 天津大学药物科学与技术学院,天津 300072; 2. 沃芬(天津)药业有限公司,天津 300100; 3. 中国中医研究院中药研究所,北京 100700)

摘要:目的 观察复方玄驹胶囊的免疫调节和抗炎作用。方法 采用小鼠或大鼠的致敏、致炎等模型,观察和研究复方玄驹胶囊对动物免疫功能的影响以及对实验动物的抗炎作用。结果 复方玄驹胶囊可显著抑制小鼠腹腔毛细血管通透性的增高以及羧甲基纤维素刺激诱发的腹腔渗出液量及其白细胞数增加;抑制巴豆油致小鼠耳水肿以及棉球肉芽组织的形成;对小鼠的网状内皮系统吞噬功能及小鼠迟发性过敏反应有明显的抑制作用。结论 复方玄驹胶囊具有免疫调节作用和抗炎的作用。

关键词: 复方玄驹胶囊;动物炎症模型;类风湿关节炎;免疫

中图分类号: R286.95 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)02-0154-04

Study on immunoregulatory and anti-inflammatory effects of Compound Xuanju Capsule*

JIA Wei¹, XUE Jing², WANG Yong-xin², HUO Hai-ru³

(1. College of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. Walfen Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300100, China; 3. Institute

of Chinese Materia Medica, CATCM, Beijing 100700, China)

Key words Compound Xuanju Capsule (CXJC); models of experimental inflammation; rheumatoid arthritis; immunology

* Compound Xuanju Capsule is a Chinese herb preparation with *Herba Epimedii*, *Fructus Lycii*, *Fructus Cnidii*, and extract together. It has the function of expelling wind and removing dampness, removing obstruction in the channels to relieve pain, nourishing the liver and the kidney, and tranquilizing and allaying excitement.

目前临床上治疗类风湿关节炎所使用的抗炎镇痛药物均有一定程度的毒副作用,对于需要长期服药的类风湿关节炎等慢性炎症病人,这样的药物副

作用尤为明显。近年来国内治疗类风湿的中药研究受到重视,为此我们开展了这方面的新药研究,结果表明蚂蚁的乙醇提取物与其他中药如淫羊藿、枸杞