

• 药理与临床 •

### 奇任醇的抗炎免疫实验研究

信红岭<sup>1</sup>, 毕娟<sup>1</sup>, 刘森<sup>1</sup>, 林文翰<sup>2</sup>, 钱瑞琴<sup>1\*</sup>

(1. 北京大学基础医学院 中西医结合研究室, 北京 100083; 2. 北京大学药学院 国家重点实验室, 北京 100083)

**摘要:**目的 研究奇任醇的抗炎作用及对免疫系统的影响。方法 建立大鼠佐剂性关节炎模型, 观察奇任醇对大鼠足肿胀、脾淋巴细胞增殖、T 淋巴细胞亚群的影响; 观察奇任醇对小鼠耳廓肿胀、大鼠肉芽肿的抗炎作用; 通过碳粒廓清、小鼠迟发型变态反应和血清溶血素水平实验, 评价奇任醇对小鼠非特异性和特异性免疫功能的影响。结果 奇任醇能够抑制佐剂性关节炎大鼠的足肿胀, 增强佐剂性关节炎大鼠脾淋巴细胞增殖能力, 调节 T 淋巴细胞亚群比例; 抑制小鼠耳廓肿胀和大鼠肉芽肿增生; 抑制正常小鼠特异性免疫功能。结论 奇任醇可抑制佐剂性关节炎大鼠的原发性与继发性足肿胀, 抑制急、慢性炎症反应, 调节机体免疫功能。

**关键词:** 奇任醇; 佐剂性关节炎; 抗炎; 免疫调节

**中图分类号:** R285.51 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2005)06-0866-05

#### Experimental study on anti-inflammatory and immuno-regulating effect of kirenol

XIN Hong-ling<sup>1</sup>, BI Juan<sup>1</sup>, LIU Miao<sup>1</sup>, LIN Wen-han<sup>2</sup>, QIAN Rui-qin<sup>1</sup>

(1. Department of Integrated Traditional Chinese with Western Medicine, School of Basic Medical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China; 2. State Key Laboratory, School of Pharmaceutical Science, Peking University, Beijing 100083, China)

**Abstract: Objective** To study the anti-inflammatory and immuno-regulating effect of kirenol.

**Methods** Adjuvant arthritis rat model was made by means of Freund's complete adjuvant, then the changes of paw swelling, proliferation of splenic lymphocyte and T lymphocyte subpopulation ratio of adjuvant arthritis rats were observed. The anti-inflammatory effect of kirenol was evaluated using ear edema model induced by xylene and granuloma model induced by cotton balls, and further the effect of kirenol on specific and non-specific immune response was evaluated by delayed hypersensitivity of murine auricle swelling and serum hemolysin level test and carbon clearance rate in mice. **Results** Kirenol can inhibit paw swelling, boost up the proliferation of splenic lymphocyte of adjuvant arthritis rats, regulate T lymphocyte subpopulation ratio, and also can inhibit ear edema in mice, granuloma weight in rats, and specific immune response of normal mice. **Conclusion** Kirenol can control the primary and secondary paw swelling of adjuvant arthritis rats, inhibit acute and chronic inflammation, and regulate immunologic function.

**Key words:** kirenol; adjuvant arthritis; anti-inflammation; immuno-regulation

奇任醇是一种从豨薟草中提取的单体成分, 白色针状结晶, mp194~196 °C。分子式 C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>。据报道<sup>[1]</sup>, 豨薟草活性部位(经 HPLC 色谱测定, 含奇任醇 85%) 可减轻佐剂性关节炎大鼠踝关节炎症病理反应, 通过调整机体免疫功能、改善局部病理反应而达到抗风湿的作用。目前国内外关于奇任醇的文献报道甚少, 本实验就奇任醇的抗炎免疫作用进行初步研究。

#### 1 材料与方法

1.1 药品和试剂: 奇任醇(质量分数为 99%)由北

京大学医学部药学院提供。可的松注射液: 天津金耀氨基酸有限公司, 5 mg/mL, 批号 0302162。强的松: 天津力生制药股份有限公司, 每片 5 mg, 批号 0306018。阿司匹林: 阿斯特拉(无锡)制药有限公司, 每片 0.5 g, 批号 343401。二甲苯、冰醋酸、2,4-二硝基氯苯、丙酮均为北京化工厂生产。伊文思蓝: 北京化学试剂公司。印度墨汁: 北京市西中化工厂。刀豆蛋白 A (ConA)、MTT、弗氏完全佐剂均为 Sigma 公司产品。CD4、CD8 单抗为 BD 公司产品。

1.2 仪器: 分析天平, 紫外分光光度计, 酶标仪, 流

收稿日期: 2004-11-02

基金项目: 北京市科委基金资助项目(京科条发[2001]538号)

作者简介: 信红岭(1978—), 女, 河北石家庄人, 在读研究生, 专业方向为中药免疫药理研究。

\* 通讯作者 钱瑞琴 Tel: (010) 82801404

式细胞仪。

1.3 动物:SD 大鼠,180~200 g,许可证号:SYXK(京)2002-0002;ICR 小鼠,18~22 g,许可证号:SYXK(京)2002-0001,雌雄兼用。均由北京大学医学部实验动物中心提供。

1.4 方法

1.4.1 奇任醇剂量与给药方法:参考《中药新药研究指南》中治疗类风湿性关节炎的主要药效学研究,佐剂性关节炎实验分预防组(注射佐剂当日开始给药)和治疗组(第 8 天开始给药),奇任醇剂量均为 4 mg/kg。其他实验奇任醇分为 3 个剂量组:1、2、4 mg/kg。均 ig 给药。

1.4.2 佐剂性关节炎大鼠模型制备:雄性 SD 大鼠,除正常对照组外,各组均以完全弗氏佐剂 0.1 mL 注射于右后足跖(肿胀度=致炎后足跖周长-致炎前足跖周长)。

1.4.3 佐剂性关节炎大鼠淋巴细胞增殖:无菌取佐剂性关节炎大鼠脾细胞,调整细胞浓度为  $5 \times 10^6$ ,每个样品平行设 3 个复孔,培养 44 h,每孔加 MTT 100  $\mu$ L,继续培养 4 h,每孔加盐酸-异丙醇 100  $\mu$ L 显色,酶标仪上于 570 nm 波长处测吸光度(A)值。计算刺激指数(ConA 组 A 值/对照组 A 值)。

1.4.4 佐剂性关节炎大鼠 T 淋巴细胞亚群测定:向大鼠脾细胞悬液中加 CD4、CD8 单抗,孵育,流式细胞仪检测。

1.4.5 二甲苯致小鼠耳廓肿胀:小鼠 ig 给药 1 周,末次给药 1 h 后,小鼠右耳涂 0.04 mL 二甲苯致炎,40 min 后,用直径 8 mm 打孔器在同一部位冲下耳片,称质量。以左、右耳片质量差表示耳肿胀度。

1.4.6 棉球肉芽肿增生:大鼠麻醉、消毒,两侧腹股沟皮下各放入一个 20 mg 灭菌棉球,缝合皮肤。ig 给药 10 d,末次给药后 24 h 处死,取出棉球,70  $^{\circ}$ C 烘箱中干燥,称质量,取两侧肉芽肿质量的均值。

1.4.7 碳粒廓清实验:小鼠 ig 给药 1 周,末次给药 1 h 后,尾 iv 印度墨汁 0.1 mL/10 g,分别于注射后

2、10 min 小鼠眼后静脉丛用毛细玻璃管(肝素抗凝)取血 20  $\mu$ L,加入 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  3 mL 中,于 680 nm 处测定 A 值。

1.4.8 迟发型变态反应实验:小鼠背部注射 1.25% 二硝基氯苯丙酮溶液,每只 0.02 mL,24 h 后 ig 给药,给药 9 d 后,每只小鼠右耳涂布 1.25% 二硝基氯苯丙酮溶液 0.03 mL,左耳涂布同体积丙酮,38 h 后,用直径 8 mm 打孔器冲下两耳片称质量。

1.4.9 血清溶血素水平实验:小鼠 ig 给药第 3 天 ip 10% 羊红细胞悬液 0.5 mL,免疫后 4 d 取血清。用生理盐水稀释(1:100)。取稀释后血清 1 mL 冰浴,依次加入 10% 绵羊红细胞悬液 0.5 mL,1:10 稀释的豚鼠血清 1 mL。37  $^{\circ}$ C 水浴 10 min,冰浴终止反应。上清液于 540 nm 处测定 A 值。以生理盐水代替豚鼠血清作为空白对照。

1.5 统计方法:数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较进行 t 检验。

2 结果

2.1 对佐剂性关节炎大鼠足肿胀的影响

2.1.1 对原发性足肿胀的影响:见表 1。模型组在致炎后右足开始肿胀,3~12 d 肿胀度增长缓慢,12~15 d 肿胀度增加明显,15~21 d 肿胀趋于平缓。可的松预防组、可的松治疗组、奇任醇治疗组、奇任醇预防组与模型组相比均从 15 d 开始抑制右足的肿胀( $P < 0.05, 0.001$ )。

2.1.2 对继发性足肿胀的影响:见表 2。可的松治疗组与模型组相比,15 d 后可抑制左足的肿胀( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ),可的松预防组、奇任醇治疗组、奇任醇预防组与模型组相比均从第 12 d 开始抑制左足的肿胀( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )。

2.2 对急、慢性炎症的影响

2.2.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响:见表 3。阿司匹林组、奇任醇低、中、高剂量组肿胀度明显减轻( $P < 0.001, 0.05, 0.001, 0.001$ ),均能够抑制二甲苯引起的急性炎症。

表 1 奇任醇对佐剂性关节炎大鼠原发性足肿胀的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of kirenol on primary paw swelling of adjuvant arthritis rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	动物/ 只	致炎后不同时间右足肿胀度值/cm						
			3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	18 d	21 d
模型	-	10	0.510 ± 0.093 5	0.569 ± 0.095 0	0.601 ± 0.081 2	0.656 ± 0.084 6	0.769 ± 0.119 6	0.774 ± 0.113 2	0.786 ± 0.116 1
可的松治疗	2	10	0.509 ± 0.109 6	0.565 ± 0.098 8	0.614 ± 0.094 5	0.639 ± 0.075 6	0.645 ± 0.066 7**	0.658 ± 0.076 6**	0.654 ± 0.064 2***
可的松预防	2	10	0.414 ± 0.081 6	0.499 ± 0.106 6	0.581 ± 0.083 0	0.611 ± 0.079 4	0.624 ± 0.058 6**	0.622 ± 0.070 2**	0.614 ± 0.070 8***
奇任醇治疗	4	9	0.515 ± 0.095 9	0.581 ± 0.063 4	0.608 ± 0.040 5	0.652 ± 0.056 4	0.658 ± 0.049 0*	0.655 ± 0.040 7**	0.640 ± 0.072 4**
奇任醇预防	4	9	0.503 ± 0.057 9	0.556 ± 0.049 0	0.583 ± 0.075 9	0.644 ± 0.054 7	0.635 ± 0.051 9**	0.633 ± 0.041 8**	0.621 ± 0.034 8***

与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group

表 2 奇任醇对佐剂性关节炎大鼠继发性足肿胀的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Effect of kirenol on secondary paw swelling of adjuvant arthritis rats ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	动物/ 只	致炎后不同时间左足肿胀度值/cm			
			12 d	15 d	18 d	21 d
模型	—	10	0.207±0.057 8	0.251±0.064 0	0.263±0.055 2	0.277±0.067 1
可的松治疗	2	10	0.152±0.059 7	0.172±0.055 6*	0.174±0.039 6**	0.182±0.066 5**
可的松预防	2	10	0.150±0.045 2*	0.158±0.037 5**	0.168±0.047 0***	0.176±0.047 4**
奇任醇治疗	4	9	0.144±0.032 5**	0.170±0.030 8**	0.170±0.039 1***	0.175±0.040 8***
奇任醇预防	4	9	0.126±0.025 2***	0.164±0.026 7***	0.165±0.049 6***	0.159±0.041 5***

与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001

\*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001 vs model group

表 3 奇任醇对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 3 Effect of kirenol on ear edema of mice induced by xylene ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	肿胀度/mg	抑制率/%
模型	—	11.12±2.118	—
阿司匹林	100	4.50±2.110***	59.54
奇任醇	1	8.72±2.814*	21.58
	2	5.38±4.175***	51.65
	4	4.58±3.650***	58.84

与模型组比较: \*P<0.05 \*\*\*P<0.001

\*P<0.05 \*\*\*P<0.001 vs model group

2.2.2 对大鼠棉球肉芽肿增生的影响:见表 4。阿司匹林组、奇任醇各剂量组与模型组相比均明显减轻肉芽肿质量 (P<0.05,0.01,0.001)。

### 2.3 对免疫功能的影响

2.3.1 对佐剂性关节炎大鼠脾淋巴细胞增殖的影响:见表 5。模型对照组大鼠脾淋巴细胞增殖能力低于正常组 (P<0.001),可的松给药组大鼠脾淋巴细胞增殖能力低于模型组,但差异并不显著 (P>

表 4 奇任醇对大鼠棉球肉芽肿的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 4 Effect of kirenol on granuloma of rats ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	动物/只	肉芽肿干质量/mg	抑制率/%
模型	—	9	58.39±6.904	—
阿司匹林	100	10	49.09±4.343**	15.93
奇任醇	1	9	51.29±5.778*	12.15
	2	10	48.64±6.317**	16.71
	4	9	47.77±4.520***	18.18

与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001

\*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001 vs model group

表 6 奇任醇对佐剂性关节炎大鼠 T 淋巴细胞亚群的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 6 Effect of kirenol on T lymphocyte subpopulation ratio of adjuvant arthritis rats ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	动物/只	CD4 <sup>+</sup> /%	CD8 <sup>+</sup> /%	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
正常	—	10	50.64±1.68	26.94±1.15	1.88±0.08
模型	—	10	53.93±2.31***	24.38±0.79***	2.21±0.10***
可的松治疗	2	10	52.89±1.62	26.28±1.56**	2.02±0.10***
可的松预防	2	10	52.43±0.94*	26.33±0.63***	1.99±0.07***
奇任醇治疗	4	9	50.15±1.15***	25.27±1.21*	1.99±0.07***
奇任醇预防	4	9	51.25±1.30**	26.00±0.71***	1.97±0.08***

与正常组比较: \*\*\*P<0.001; 与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001

\*\*\*P<0.001 vs normal group; \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001 vs model group

表 5 奇任醇对佐剂性关节炎大鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 5 Effect of kirenol on proliferation of splenic lymphocyte of adjuvant arthritis rats ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	动物/只	刺激指数
正常	—	10	1.570±0.189 3
模型	—	10	1.274±0.114 5***
可的松治疗	2	10	1.208±0.075 3
可的松预防	2	10	1.203±0.097 4
奇任醇治疗	4	9	1.404±0.127 2*
奇任醇预防	4	9	1.401±0.130 2*

与正常组比较: \*\*\*P<0.001; 与模型组比较: \*P<0.05

\*\*\*P<0.001 vs normal group; \*P<0.05 vs model group

0.05)。奇任醇治疗、预防组与模型组相比能够使低下的大鼠淋巴细胞增殖能力提高 (P<0.05)。

2.3.2 对佐剂性关节炎大鼠脾 T 淋巴细胞亚群的影响:见表 6。模型组大鼠与正常组相比 CD4<sup>+</sup>细胞比例上升 (P<0.001),CD8<sup>+</sup>下降 (P<0.001),CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>升高 (P<0.001);可的松治疗组可使模型大鼠 CD8<sup>+</sup>比例升高 (P<0.01),使 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>下降 (P<0.001)。可的松预防组可使 CD4<sup>+</sup>细胞比例下降 (P<0.05),CD8<sup>+</sup>比例升高 (P<0.001),使 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>下降 (P<0.001)。奇任醇治疗组和预防组能降低模型大鼠 CD4<sup>+</sup>比例 (P<0.01,0.001),又能升高 CD8<sup>+</sup>比例 (P<0.05,0.001),使 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>下降 (P<0.001)。

2.3.3 对小鼠碳粒廓清速率的影响:见表 7。强的

松组与模型组相比抑制碳粒廓清速率 ( $P < 0.05$ ), 奇任醇各剂量组对小鼠腹腔巨噬细胞碳粒廓清速率无影响 ( $P > 0.05$ )。

2.3.4 对小鼠迟发型变态反应的影响: 见表 8。阿司匹林组、奇任醇各剂量组与模型组相比均能明显抑制耳廓肿胀 ( $P < 0.01, 0.001$ )。

2.3.5 对小鼠血清溶血素水平的影响: 见表 9。阿司匹林组与模型组相比呈抑制效应 ( $P < 0.05$ ), 奇任醇高剂量组能够抑制小鼠血清 IgM 水平 ( $P < 0.01$ )。

表 7 奇任醇对小鼠碳粒廓清速率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 7 Effect of kirenol on carbon clearance rate of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	碳粒廓清速率
模型	—	0.022 ± 0.008 8
强的松	5	0.014 ± 0.004 9*
奇任醇	1	0.023 ± 0.006 2
	2	0.024 ± 0.004 3
	4	0.025 ± 0.007 3

与模型组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs model group

表 8 奇任醇对二硝基氟苯所致小鼠迟发型变态反应的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 8 Effect of kirenol on delayed allergy in mice induced by DNCB ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	动物/只	肿胀度/mg	抑制率/%
模型	—	10	2.44 ± 0.595	—
阿司匹林	100	10	1.79 ± 0.431**	26.64
奇任醇	1	10	1.63 ± 0.485***	35.17
	2	9	1.47 ± 0.241***	39.75
	4	9	1.41 ± 0.420***	42.17

与模型组比较: \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$

\*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group

表 9 奇任醇对小鼠血清溶血素水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 9 Effect of kirenol on hemolysin level of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	A 值
模型	—	0.465 ± 0.016 7
阿司匹林	100	0.446 ± 0.020 9*
奇任醇	1	0.457 ± 0.019 6
	2	0.448 ± 0.022 6
	4	0.439 ± 0.018 4**

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

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

### 3 讨论

佐剂性关节炎大鼠是目前广泛应用的类风湿性关节炎模型之一。该模型以多发性关节炎为特征, 原发病变主要是局部急性炎症反应, 并于致炎后 10~12 d 开始出现继发病变, 同时出现以细胞免疫变化为主的免疫功能紊乱<sup>[2]</sup>。本实验表明致炎后右足即

出现注射部位肿胀, 呈现急性炎症反应。肿胀持续至 21 d。并于 12~15 d 出现了再度肿胀的现象。12 d 后由于继发病变, 左足发生肿胀, 并持续至 21 d。奇任醇预防、治疗组均可明显抑制模型大鼠 12 d 后右足的再度肿胀及非致炎足的肿胀。表明奇任醇对模型大鼠的原发和继发病变均有抑制作用。为探讨其抑制作用的机制, 本实验观察了奇任醇对二甲苯致小鼠耳廓肿胀、大鼠棉球肉芽肿急、慢性炎症的影响, 结果表明各剂量组均有很好的抑制作用。奇任醇的良好抗炎作用可能是减轻佐剂性关节炎大鼠原发和继发病变机制之一。

类风湿性关节炎是免疫介导的炎症性疾病, 免疫自稳状态的破坏是其发生、发展的重要因素之一。免疫失稳后, T 细胞免疫功能发生紊乱<sup>[3]</sup>。近年来证明细胞免疫在类风湿性关节炎发病中的作用更为突出, 免疫障碍主要是 CD4<sup>+</sup> 细胞和 CD8<sup>+</sup> 细胞的数量和功能改变, 表现为 CD4<sup>+</sup> 细胞增多, CD8<sup>+</sup> 细胞减少, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值增高, 同时 CD4<sup>+</sup> 细胞功能增强, CD8<sup>+</sup> 细胞功能低于正常, 由此可导致 B 淋巴细胞激活, 功能亢进, 产生大量的自身抗体及免疫球蛋白, 免疫复合物沉积在关节局部, 引起迁延不愈的滑膜炎, 导致关节肿胀<sup>[4]</sup>。本实验佐剂性关节炎大鼠对 ConA 诱导的脾细胞增殖反应能力降低, 与文献报道一致<sup>[5~7]</sup>; CD4<sup>+</sup> 细胞比例上升, CD8<sup>+</sup> 比例下降, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例失调, 说明佐剂性关节炎大鼠出现了免疫功能紊乱, 奇任醇能够提高佐剂性关节炎大鼠脾淋巴细胞的增殖能力, 并调节 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 的比例, 降低 CD4<sup>+</sup> 细胞的数量, 提高 CD8<sup>+</sup> 细胞的数量, 佐剂性关节炎大鼠 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例降低, 从而调节细胞免疫, 抑制 B 淋巴细胞产生自身抗体和免疫球蛋白, 逐步减轻免疫复合物在关节局部的沉积, 控制病情的发展。在 CD4<sup>+</sup> 细胞中有一类细胞能介导迟发型超敏反应, 奇任醇抑制 CD4<sup>+</sup> 细胞, 可能是奇任醇能够有效抑制佐剂性关节炎大鼠继发性左足肿胀的原因之一。以上结果表明奇任醇可通过调整机体免疫功能, 抑制佐剂性关节炎大鼠的原发和继发性炎症。为进一步探讨奇任醇对免疫功能的影响, 观察了奇任醇对小鼠特异性、非特异性免疫功能的影响, 结果表明奇任醇各剂量组均能明显抑制小鼠迟发型变态反应, 高剂量能够抑制小鼠血清 IgM 水平, 对小鼠腹腔巨噬细胞碳粒廓清速率无影响, 提示奇任醇对特异性免疫功能有抑制作用, 对非特异性免疫无影响。这对抑制自身免疫疾病中致病性自身抗体的产生十分有利。

References:

[1] Qian R Q, Zhang C Y, Fu H Z. Study on therapeutic mechanism of anti-rheumatism action of *Herbal Siegesbeckiae* [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2000, 20(3): 192-195.

[2] Bian R L. *Anti-inflammatory Immune Pharmacology and Clinical Practice* (抗炎免疫药理与临床) [M]. Beijing: Beijing Medical University and Peking Union Medical College United Press, 1992.

[3] Yu S G, Tang Y, Liu X G. The effect of electric needle to T cell apoptosis of the rheumatoid rats [J]. *J Chengdu Univ Tradit Chin Med* (成都中医药大学学报), 2002, 25(1): 25-27.

[4] Lu J H, Wang W J, Cai Y N. The effect of Wu Teng Qu Feng mixture on T lymphocyte subpopulation of adjuvant arthritis in rats [J]. *J Tradit Chin Orthop Traumatol* (中医正骨), 2000, 12(11): 7-9.

[5] Fang J, Zhang Y X, Ru X B. Study on the immune function of AA rats [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2000, 16: 525-528.

[6] Zhang Y F, Jin Y, Li J. Effects of TPS on immune index of rats with adjuvant arthritis [J]. *Acta Univ Med Anhui* (安徽医科大学学报), 2000, 35(1): 27-29.

[7] Tang Z L, Song X G, Zhang F Q. Study on the action mechanism of moxibustion in anti-inflammation and immuno-regulation in rheumatoid arthritis rats [J]. *Acupunct Res* (针刺研究), 2003, 28(4): 292-298.

## HPLC 法同时测定灌胃黄芩水煎剂后大鼠血浆中黄芩苷和汉黄芩苷的质量浓度及药动学研究

路 通, 宋 珏, 谢 林, 王广基, 刘晓东\*

(中国药科大学 药物代谢研究中心, 江苏 南京 210009)

**摘要:**目的 建立大鼠 ig 黄芩水煎剂后血浆中黄芩苷和汉黄芩苷的 HPLC 测定方法及药动学研究。方法 大鼠 ig 黄芩水煎剂后, 不同时间眼底静脉丛取血, 制备血浆。血浆样品经甲醇沉淀蛋白, HPLC-UV 测定血药浓度。色谱柱为 Shim-pack ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相采用梯度洗脱, 体积流量: 1.5 mL/min; 检测波长: 276 nm。结果 黄芩苷的线性范围为 0.156~10 μg/mL, 汉黄芩苷的线性范围为 0.109~7 μg/mL, 定量下限 (LLOQ) 分别为 0.156 和 0.109 μg/mL, 日内和日间精密度 (RSD) 均小于 15%, 准确度 (RE) 为 -6.82%~3.26%。大鼠 ig 黄芩水煎剂后, 血浆中黄芩苷和汉黄芩苷血药浓度-时间曲线均存在双峰; 黄芩苷的  $t_{max1}$  和  $t_{max2}$  分别为 (12.0±4.5) min 和 (7.2±1.79) h;  $C_{max1}$  和  $C_{max2}$  分别为 (5.29±1.96) 和 (4.49±2.12) μg/mL, 汉黄芩苷的  $t_{max1}$  和  $t_{max2}$  分别为 (14.0±9.0) min 和 (6.8±1.1) h;  $C_{max1}$  和  $C_{max2}$  分别为 (1.38±0.16) 和 (1.62±0.71) μg/mL; 黄芩苷的 CL/F 为 (4.72±1.68) L/h, 汉黄芩苷的 CL/F 为 (3.04±0.98) L/h。结论 该方法经考察符合生物样品的测定要求, 可应用于大鼠体内黄芩苷和汉黄芩苷血药浓度的测定和药动学研究。大鼠 ig 黄芩水煎剂后血浆中黄芩苷和汉黄芩苷质量浓度存在双峰现象, 黄芩苷的口服清除率大于汉黄芩苷。

**关键词:** 黄芩水煎剂; 黄芩苷; 汉黄芩苷; HPLC; 双峰现象

**中图分类号:** R285.61

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2005)06-0870-04

### Simultaneous determination of baicalin and wogonoside by HPLC in rat plasma administered with Huangqin Decoction and its pharmacokinetic study

LU Tong, SONG Jue, XIE Lin, WANG Guang-ji, LIU Xiao-dong

(Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetic, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**Abstract; Objective** To develop an HPLC method with ultraviolet detection for simultaneous determination of baicalin and wogonoside in rat plasma after ig Huangqin Decoction (HQD) and study its pharmacokinetics. **Methods** Rats were given HQD by ig, plasma were collected at designed times from oculi chorioidea vein. Following protein precipitation by the mixture of methanol and acetonitrile (1:1), the blood concentration was determined by HPLC-UV. The analytes were separated on a Shim-pack ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column using a gradient mobile phase consisting of acetonitrile-phosphate buffer. The flow-rate was set at 1.5 mL/min and the eluent was detected at 276 nm. **Results** The linear range was 0.156—10 μg/mL and 0.109—7 μg/mL for baicalin and wogonoside, respectively. The lower limit of

收稿日期: 2004-11-17

基金项目: 国家“863”资助项目(2003AA2Z347A); 国家中医药管理局资助项目(02-032P32)

作者简介: 路 通(1978—), 男(满), 河北唐山人, 中国药科大学药理学在读硕士研究生, 研究方向为药动学。

\* 通讯作者 刘晓东 Tel: (025) 83271006 E-mail: Xdliu1960@hotmail.com