

素使大鼠体内骨形成水平提高而骨吸收水平降低, 是骨密度得以提高的主要原因。

骨质量主要与骨组织微结构有关, 而骨形态计量分析可以准确并直观反映骨微结构和形态<sup>[14]</sup>。本实验  $\mu$ CT 检测和静态骨形态计量发现, 蛇床子素使骨体积百分率、骨小梁数量和骨小梁厚度增加, 同时使骨小梁分离度和模型系数显著下降, 表明口服蛇床子素能使骨小梁数和骨小梁厚度增加, 提高骨小梁的网状结构交联度, 从而使大鼠骨质紧密, 明显改善骨微结构。骨生物力学参数可直接地反映骨的抗骨折能力, 本实验中, 蛇床子素组大鼠的股骨最大载荷、弹性模量和屈服强度均显著提高, 表明口服蛇床子素显著提高了大鼠的生物力学性能, 即抗骨折的能力。

综上所述, 给幼年大鼠灌服蛇床子素 3 个月后, 大鼠骨密度显著增加, 以骨组织微结构为主要指证的骨质量明显改善, 因而其骨的生物性能, 即抗骨折的能力显著提高, 其作用机理可能是提高骨形成而抑制骨吸收。本实验首次证明口服蛇床子素可以提高大鼠 PBM 而预防骨质疏松, 对于预防骨质疏松和骨质疏松性骨折具有十分重要的意义。

## REFERENCES

- [1] LUO S J, ZENG R, HU Z B. Progress of osteoporosis drug therapy [J]. Chin Mod Med(中国当代医药), 2012, 19(18): 14-15.
- [2] AN J, CHENG J, WANG W Z, et al. Peak bonemount and osteoporosis [J]. Mod Rehabil(现代康复), 2001, 5(2): 14-17.
- [3] GAUTAM A K, BHARGA B, T Y A M, et al. Differential effects of formononetin and cladrin on osteoblast function,

- peak bone mass achievement and bioavailability in rats [J]. J Nutr Biochem, 2011, 22(4): 318-327.
- [4] ZHOU Z W, SHEN X. Pharmacological activities of osthole [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2006, 15(20): 1726-1730.
- [5] MING L G, GE B F, CHEN K M, et al. Surgical treatment of thoracic ossification of ligamentum flavum and therapeutic effects analysis [J]. Chin J Orthop Traumatol(中国骨伤), 2010, 20(9): 688-691.
- [6] MING L G, WANG M G, CHEN K M, et al. Effect of osthole on apoptosis and bone resorption of osteoclasts cultured *in vitro* [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2012, 47(2): 174-179.
- [7] MING L G, GE B F, CHEN K M, et al. Effects of osthole on bone marrow stromal stem cell differentiation and proliferation *in vitro* [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2010, 26(8): 1098-1103.
- [8] KLEIN R F, MITCHELL S R, PHILIPS T J, et al. Quantitative trait loci affecting peak bone mineral density in mice [J]. J Bone Miner Res, 1998, 13(11): 1648-1656.
- [9] ELMARAKBY A A, IBRAHIM A S, FAULKNER J, et al. Tyrosine kinase inhibitor, genistein reduces renal inflammation and injury in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Vasc Pharmacol, 2011, 55(5): 149-156.
- [10] LI X X, HARA I, MATSUMIYA T, et al. Effects of osthole on postmenopausal osteoporosis using ovariectomized rats; comparison to the effects of estradiol [J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(6): 738-742.
- [11] FELSEBERG D, BOONEN S. The bone quality framework: determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management [J]. Clin Ther, 2005, 27(1): 1-11.
- [12] FAN Y T, KONG X H, MEI Q B. Advancement in anti-osteoporosis activity of tea polyphenols [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(8): 717-720.
- [13] VASHISHTH D. Age-dependent biomechanical modifications in bone [J]. Crit Rev Eukaryot Gene expr, 2005, 15(4): 343-358.
- [14] MARTIN T J, SEEMAN E. Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2008, 22(5): 701-722.

收稿日期: 2013-02-01

## 微透析法测定虎杖苷的体外血浆蛋白结合率及与超滤法的比较

程佳祎<sup>1</sup>, 董文彬<sup>2</sup>, 陈爱琪<sup>2</sup>, 程敏<sup>2</sup>, 王军青<sup>2</sup>, 郑高利<sup>1,2\*</sup> (1.浙江中医药大学, 杭州 310053; 2.浙江省医学科学院, 杭州 310013)

**摘要:** 目的 采用微透析技术研究虎杖苷的体外血浆蛋白结合率, 并与超滤法比较。方法 微透析探针依次浸入含虎杖苷 20, 60, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的大鼠、人血浆中, 灌注器以 2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$  的流速依次灌注含虎杖苷 0, 10, 30, 100, 300  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的生理盐水, 每 15 min 收集 1 次样品, HPLC 分析虎杖苷浓度。以灌注液与透析液中虎杖苷的浓度差对灌注液浓度进行线性回归, 计算血浆中游离虎杖苷的浓度, 进而计算虎杖苷的血浆蛋白结合率, 并与超滤法进行比较。结果 微透析测定虎杖苷与大鼠、人血浆蛋白结合率平均值分别为 86.15%, 89.08%, 超滤法分别为 85.60% 和 87.24%, 两种方法结果比

基金项目: 浙江省医学重点学科群项目(XKQ-010-001); 浙江省公益技术研究社会发展项目(2011C23047)

作者简介: 程佳祎, 女, 硕士生 Tel: (0571)88215620 E-mail: dwb4045@163.com \*通信作者: 郑高利, 男, 博士, 研究员 Tel: (0571)88215620 E-mail: gaoli-z@163.com

较接近。结论 虎杖苷与大鼠、人血浆蛋白有较高的结合率，微透析法和超滤法结果一致。

关键词：虎杖苷；血浆蛋白结合率；微透析；超滤

中图分类号：R284

文献标志码：A

文章编号：1007-7693(2013)11-1174-05

## Comparison of Microdialysis and Ultrafiltration Methods for Determination of Plasma Protein Binding Rate of Polydatin *in Vitro*

CHENG Jiayi<sup>1</sup>, DONG Wenbin<sup>2</sup>, CHEN Aiyong<sup>2</sup>, CHENG Min<sup>2</sup>, WANG Junqing<sup>2</sup>, ZHENG Gaoli<sup>1,2\*</sup> (1.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** The microdialysis method was used to study the plasma protein binding rate of polydatin, and the obtained results were compared with those of the conventional ultrafiltration method. **METHODS** The microdialysis- HPLC method was applied to dialysis the difference of concentration between dialysis fluid and perfusion fluid concentration on linear regression analysis, so the concentration of free polydatin in drug-containing plasma could be calculated, then the binding rate of polydatin with rat and human plasma can be calculated, and compared with ultrafiltration method. **RESULTS** The plasma protein binding rate of polydatin of rat and human plasma were about 86.15% and 89.08% respectively for microdialysis method, and were around 86.15% and 89.08% for ultrafiltration method. There was no significant difference between the two methods. **CONCLUSION** The binding percentage of polydatin with rat and human plasma is relative high, and results of the two methods are consistent.

**KEY WORDS:** polydatin; plasma protein binding rate; microdialysis; ultrafiltration

虎杖苷(polydatin, C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>)是从蓼科植物虎杖中提取的天然活性成分,具有抗血小板聚集、改善微循环、抗炎及抗氧化等多种药理活性,对心脑血管疾病如心肌缺血、脑缺血、休克等具有显著的治疗作用<sup>[1-4]</sup>,由我国自主研发的一类新药“虎杖苷注射液”已经进入了临床试验阶段。

药物进入血液循环后,可不同程度的与血浆蛋白结合,并处于动态平衡中,影响着药物在体内的分布、代谢及排泄,与药物的药理作用密切相关<sup>[5]</sup>。目前研究血浆蛋白结合率的方法主要有平衡透析法<sup>[6]</sup>、超滤法和微透析法等,各有其优缺点<sup>[7]</sup>。其中微透析技术是一种新型采样技术,可实时动态采样,已广泛应用于药代动力学研究中<sup>[8]</sup>。本文拟采用微透析技术研究虎杖苷与人、大鼠血浆的蛋白结合率,并与传统方法超滤法进行比较,以期虎杖苷的临床研究提供参考。

### 1 仪器与材料

#### 1.1 仪器

Waters Breeze TM 2 高效液相色谱仪: 1525 二元 HPLC 泵, 2489 紫外/可见光检测器(Waters 公司); 微透析设备: 灌注器推进泵(Baby Bee Syringe Drive, MD 1001), 灌注器(1 mL Bee Stinger Gastight Syringe, MD 0100), 流速控制器(Work Bee Controller, MD 1000), 均为美国 BAS 公司产品; JVM01 血管微透析探针(浙江大学生物医学工程

和仪器科学学院提供,活性透析膜长度为 10 mm,相对分子量截留值为 18 kD); 超滤管(Millopore 公司,相对分子量截留值为 10 kD); S21-1 恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂)。

#### 1.2 药品与试剂

虎杖苷样品(西安开来生物工程有限公司,批号: K120915,纯度>98%); 虎杖苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 120621-200502); 肝素钠注射液(上海第一生化药业有限公司,批号: 110104); 人血浆(浙江大学医学院附属第二医院); 乙腈为色谱纯,水为超纯水。

#### 1.3 动物

SD 大鼠, ♂, 体质量(300±20)g, 清洁级, 购自浙江省实验动物中心, 实验动物合格证号: SCXK(浙)2008-0033。

### 2 方法

#### 2.1 色谱条件

Waters XBridge™ C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 柱温 25 °C, 流动相为乙腈:水=85:15, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 进样 20 μL, 检测波长 303 nm。

#### 2.2 标准曲线的制备

精密称取虎杖苷对照品适量,用生理盐水配制成 0.171, 1.71, 17.1, 171.0, 1 710.0 μg·mL<sup>-1</sup> 的虎杖苷对照品液,分别取每个浓度的对照品溶液进样进行 HPLC 分析,进样 3 次,取均值作为

该浓度的峰面积。

取 0.171, 17.1, 1 710.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  3 个浓度的虎杖苷的对照品溶液, 1 d 内连续进样 5 次, 考察日内精密性; 连续 5 d 进样, 每天进样 1 次, 考察日间精密性。

### 2.3 阴性干扰实验

将微透析探针浸于大鼠、人空白血浆中, 血浆 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴并用磁振子匀速搅拌。以生理盐水为灌注液, 2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的流速进行灌注, 平衡 30 min 后每 15 min 收集 1 次样品, 共收集 3 次, 进样 HPLC 分析。

另取大鼠、人空白血浆置于超滤管中, 7 200  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取超滤液进样进行 HPLC 分析。

### 2.4 超滤膜回收率考察

分别取 20, 60, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的虎杖苷生理盐水溶液各 500  $\mu\text{L}$  于超滤管中, 7 200  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取超滤液进样进行 HPLC 分析, 并以相同浓度未超滤的虎杖苷生理盐水溶液为对照计算回收率。

### 2.5 含药血浆的制备

大鼠麻醉后腹主动脉采血, 肝素抗凝, 离心取上清得血浆, 冰箱保存备用。另精密称取虎杖苷样品适量, 用生理盐水配制成浓度为 0.4, 1.2, 4.0  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的虎杖苷溶液。分别精密吸取 0.5 mL 上述药液加入到 9.5 mL 的大鼠血浆中, 涡旋 1 min 后, 置于 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴温浴 4 h 并搅拌混合均匀, 得到浓度分别为 20, 60, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的大鼠含药血浆。

参考上述方法制备 20, 60, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的人含药血浆。

### 2.6 微透析法测定虎杖苷体外血浆蛋白结合率

#### 2.6.1 含药生理盐水灌注液的制备

用生理盐水配制浓度梯度为 0, 10, 30, 100, 300  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的药物溶液作灌注液。

#### 2.6.2 虎杖苷体外血浆蛋白结合率的测定

分别将 20, 60, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的大鼠含药血浆试管置于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴中, 磁振子匀速搅拌, 将 3 个微透析探针连接于灌注器, 依次浸入 20, 60, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的大鼠含药血浆中。在每种大鼠含药血浆透析时, 灌注器中依次灌注 0, 10, 30, 100, 300  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的虎杖苷生理盐水。设置灌注速度为 2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 每次更换灌注液时, 先平衡 30 min 再收集透析液样品, 每 15 min 收集 1 次, 每种浓度

灌注液连续收集 3 份样品, 进样进行 HPLC 分析。

分别取 20, 60, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  人含药血浆, 使用上述方法进行透析, 收集样品并分析。

### 2.7 超滤法测定虎杖苷体外血浆蛋白结合率

分别取 20, 60, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的大鼠、人含药血浆 500  $\mu\text{L}$  于超滤管中, 7 200  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取超滤液进样进行 HPLC 分析。每种浓度平行测定 3 次。

### 2.8 数据处理

分别以灌注液与透析液浓度之差 ( $\Delta C=C_{\text{in}}-C_{\text{out}}$ ) 的平均值对灌注液浓度 ( $C_{\text{in}}$ ) 进行线性回归, 得到 3 种大鼠、人含药血浆浓度 ( $C_0$ ) 下的回归方程, 斜率即为探针的相对回收率 ( $RR$ ), 直线与 X 轴的截距即为游离药物浓度 ( $C_f$ ); 超滤法中超滤液浓度即为游离药物浓度, 则血浆蛋白结合率  $BR=(C_0-C_f)/C_0\times 100\%$  [9]。

## 3 结果

### 3.1 虎杖苷的方法学结果

按“2.1”项下色谱条件, 虎杖苷峰型良好, 在出峰位置均无干扰峰, 具有较好的特异性, 大鼠、人血浆条件下色谱结果一致, 结果见图 1。

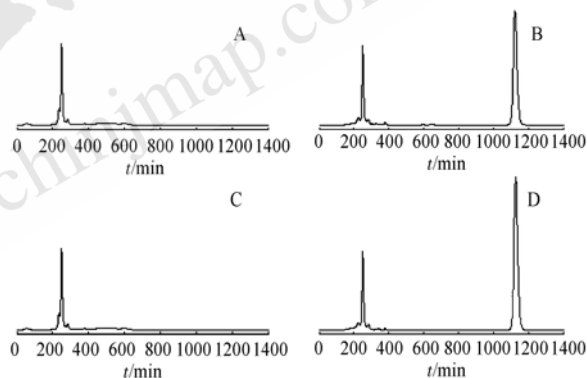


图 1 虎杖苷的人血浆谱图

A-空白血浆超滤液; B-含药血浆超滤液; C-空白血浆透析液; D-含药血浆透析液

Fig 1 The chromatography spectrum of polytadin with human plasma

A-blank plasma ultrafiltrate; B-drug-containing plasma ultrafiltrate; C-blank plasma dialysate; D-drug-containing plasma dialysate

以对照品浓度 ( $C$ ) 对峰面积 ( $A$ ) 进行线性回归, 得到回归方程为:  $A=37\ 931C+577\ 290$  ( $r=0.999\ 8$ )。本方法检测虎杖苷溶液的线性范围为 0.171~1 710.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 检测限为 0.057  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。结果表明对照品溶液日内精密性 RSD 分别为 1.60%, 2.71%, 1.26%, 日间精密性 RSD 分别为 1.45%, 2.93%, 2.35%。超滤膜回收率分别为 95.95%,

96.63%, 96.43%, 提示超滤膜对药物的吸附可以忽略不计。

### 3.2 微透析法测定的探针回收率及蛋白结合率

不同灌注液浓度下透析液中虎杖苷浓度与灌

注液浓度的差值, 结果见表 1 和表 2。将浓度差与灌注液浓度进行线性回归, 得到的回归方程、探针回收率以及虎杖苷大鼠、人血浆蛋白结合率, 结果见表 3 和表 4。

表 1 大鼠含药血浆浓度及透析液与灌注液浓度之差( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Tab 1 The rat plasma concentration and increment of polydatin concentration ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

$C_{in}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$		60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$		200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	
	$C_{out}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\Delta C/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$C_{out}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\Delta C/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$C_{out}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\Delta C/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
0	0.89±0.01	-0.89±0.01	1.39±0.16	-1.39±0.16	11.49±0.96	-11.49±0.96
10	7.12±0.23	2.88±0.23	9.45±0.36	0.55±0.36	16.95±0.65	-6.95±0.65
30	16.56±1.26	13.44±1.26	20.12±1.49	9.88±1.49	31.01±0.93	-1.01±0.93
100	71.14±1.62	28.86±1.62	86.64±1.13	13.36±1.13	86.99±1.48	13.01±1.48
300	195.27±12.55	104.73±12.55	234.51±4.45	65.49±4.45	203.81±1.50	96.19±1.50

表 2 人含药血浆浓度及透析液与灌注液浓度之差( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Tab 2 The human plasma concentration and increment of polydatin concentration( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

$C_{in}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$		60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$		200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	
	$C_{out}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\Delta C/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$C_{out}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\Delta C/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$C_{out}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\Delta C/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
0	0.58±0.10	-0.58±0.10	2.37±0.21	-2.37±0.21	7.64±0.38	-7.64±0.38
10	7.61±0.63	2.39±0.63	8.61±0.47	1.39±0.47	14.05±0.11	-4.05±0.11
30	17.75±1.13	12.25±1.13	21.39±0.71	8.61±0.71	26.45±0.53	3.55±0.53
100	84.04±0.83	1.96±0.83	72.47±2.13	27.53±2.13	83.64±1.14	16.36±1.14
300	226.13±3.34	73.87±3.34	204.63±1.26	95.37±1.26	221.22±1.69	78.78±1.69

表 3 虎杖苷的大鼠血浆蛋白结合率

Tab 3 Polydatin-rat plasma protein binding rate

$C_0/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回归方程	RR/ %	$C_f/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	BR/ %
20	$\Delta C=0.347C_{in}-0.749 (R^2=0.994)$	0.347	2.16	89.20
60	$\Delta C=0.218C_{in}-1.569 (R^2=0.976)$	0.218	7.20	88.00
200	$\Delta C=0.356C_{in}-13.362 (R^2=0.987)$	0.356	37.53	81.24

表 4 虎杖苷的人血浆蛋白结合率

Tab 4 Polydatin-human plasma protein binding rate

$C_0/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回归方程	RR/ %	$C_f/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	BR/ %
20	$\Delta C=0.241C_{in}-0.425 (R^2=0.975)$	0.241	1.76	91.20
60	$\Delta C=0.324C_{in}-2.365 (R^2=0.999)$	0.324	7.30	87.83
200	$\Delta C=0.284C_{in}-7.581 (R^2=0.994)$	0.284	23.60	88.20

结果显示, 虎杖苷与大鼠血浆蛋白结合率平均值为 86.15%, 与人血浆蛋白结合率平均值为 89.08%, 表明虎杖苷大鼠血浆和人血浆的蛋白结合率无明显差异。

### 3.3 超滤法测定的血浆蛋白结合率

不同浓度虎杖苷的大鼠、人血浆蛋白结合率见表 5, 结果显示, 虎杖苷与大鼠血浆蛋白结合率平均值为 85.60%, 与人血浆蛋白结合率平均值为 87.24%, 表明虎杖苷大鼠血浆和人血浆的蛋白结合率无明显差异。

表 5 虎杖苷的大鼠、人血浆蛋白结合率( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Tab 5 Rat and human plasma protein binding rate of polydatin( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

$C_0/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	大鼠血浆蛋白结合率/%	人血浆蛋白结合率/%
20	92.27±4.84	91.45±4.09
60	83.53±3.96	86.82±4.28
200	81.01±3.41	83.47±3.29

## 4 讨论

血浆蛋白结合率是药动学的重要参数之一, 影响着药物的作用强度及时间, 并与药物的相互作用及作用机制密切相关。目前微透析技术已逐渐应用于血浆蛋白结合率的研究, 因为其微透析半透膜具有一定的截留分子量, 与大分子蛋白结合后的药物不能自由穿透, 而游离药物可以自由进出半透膜, 采集到的样品则可在高效液相色谱仪等分析仪上直接进样分析, 从而可以间接研究药物的血浆蛋白结合率, 具有更高的分析效率, 相对其他方法更有优势。

本实验结果表明, 虎杖苷在大鼠、人两种血浆中都具有较高蛋白结合率(约 81%~92%), 且人血浆中的游离型药物浓度比大鼠血浆中低, 但二者无显著性差异; 而微透析法结果与超滤法相比

也无显著性差异,表明采用微透析法进行血浆蛋白结合率的测定是简便、可行的。

本研究发现虎杖苷具有较高的血浆蛋白结合率,且结合率与药物浓度无显著相关性。由于药物的药理作用强度与血浆中游离药物浓度成正比相关,这就提醒我们在虎杖苷的临床研究中,必须考虑到药物血浆蛋白结合率的影响。

## REFERENCES

- [1] WANG J, FANG F. Progress in pharmacological study of polydatin in cardio-cerebrovascular system [J]. Med Recapit (医学综述), 2012, 18(13): 2105-2107.
- [2] ZHAO K S, JIN C, HUANG X, et al. The mechanism of polydatin in shock treatment [J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2003, 29(3): 211-217.
- [3] CHENG Y, ZHANG H T, SUN L, et al. Involvement of cell adhesion molecules in polydatin protection of brain tissues

- from ischemia-reperfusion injury [J]. Brain Res, 2006, 1110(1): 193-200.
- [4] WANG X, SONG R, CHEN Y, et al. Polydatin-a new mitochondria protector for acute severe hemorrhagic shock treatment [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2013, 22(2): 169-179.
- [5] SCHMIDT S, GONZALEZ D, DERENDORF H. Significance of protein binding in pharmacokinetics and pharmacodynamics [J]. J Pharm Sci, 2010, 99(3): 1107-1122.
- [6] FENG S X, WU J, LI J S, et al. Determination of the binding rate of rat plasma protein with five anthraquinones in rhubarb [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(1): 1-5.
- [7] LIU R, XIE Y, PAN G, et al. The study progress of method for determination of drug plasma protein binding rate [J]. Tianjin J Tradit Chin Med(天津中医药), 2007, 24(6): 526-528.
- [8] YU W, CHENG Q, FENG J, et al. Microdialysis for pharmacokinetic-pharmacodynamic studies [J]. Pharmazie, 2007, 62(12): 883-891.
- [9] SARRE S, VAN BELLE K, SMOLDERS I, et al. The use of microdialysis for the determination of plasma protein binding of drugs [J]. J Pharm Biomed Anal, 1992, 10(10-12): 735-739.

收稿日期: 2013-04-01

## 翘苓清肺剂对哮喘大鼠 Th1/Th2 细胞因子失衡的影响

韩超<sup>1</sup>, 齐春丽<sup>2</sup>, 潘竞锵<sup>1</sup>, 吕俊华<sup>2\*</sup>(1.广州市中医医院, 广州 510130; 2.暨南大学药学院, 广州 510632)

**摘要:** 目的 观察翘苓清肺剂对哮喘模型大鼠 Th1/Th2 失衡的免疫调节作用及机制。方法 以 10% 卵蛋白(OVA)在实验第 1 天、第 8 天对大鼠进行腹腔注射。第 15 天后用 1% OVA 雾化吸入, 每天 1 次, 连续 2 周; 同时, 分别用生理盐水、地塞米松、氨茶碱及翘苓清肺剂干预致哮喘模型大鼠, 每天 1 次, 连续 4 周, 观察各组大鼠哮喘潜伏期、喘息程度、肺组织、支气管病理学变化; 测定肺泡灌洗液(BALF)中 IL-4、IL-5、IFN- $\gamma$  水平变化, 并与阳性药地塞米松及氨茶碱组对照。**结果** 翘苓清肺剂能有效延长 OVA 致哮喘大鼠模型的潜伏期、减轻喘息程度、改善升高的 IL-4 水平, 降低病鼠的 IL-5、IFN- $\gamma$  水平及 IL-4/IFN- $\gamma$  的比值, 结果均有显著差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。病理组织学检查模型组大鼠支气管黏膜上皮细胞及杯状细胞增生, 肺泡内有分泌物及炎性细胞浸润, 管腔狭窄; 各用药物组病理改变均显著减轻。**结论** 翘苓清肺剂可能通过调节哮喘时失衡的 Th1/Th2 水平, 有效改善哮喘状态, 减轻哮喘发作。

**关键词:** 翘苓清肺剂; 卵蛋白; 哮喘; IL-4; IL-5; IFN- $\gamma$

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)11-1178-05

## Effects of Qiaoqingfei Ji on Th1/Th2 Imbalance in Rat Asthma Model

HAN Chao<sup>1</sup>, QI Chunli<sup>2</sup>, PAN Jingqiang<sup>1</sup>, LÜ Junhua<sup>2\*</sup>(1. Guangzhou Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510130, China; 2. Jinan University College of Pharmacy, Guangzhou 510632, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the effect of Qiaoqingfei Ji on immune regulation Th1/Th2 imbalance and its mechanism in the rat asthmatic models. **METHODS** Asthmatic model rats were established by intraperitoneal injection of 10% OVA on the first day and the eighth day. Fifteen days after, gave atomization inhale 1% OVA, once a day for two weeks. At the same time, normal saline, dexamethasone, aminophylline and Qiaoqingfei Ji were used for intervention treatment respectively to asthma model rats, once a day, last for four weeks. The effect of medicine on the asthma degree, asthma latency period and the pathological changes of bronchial and lung tissue, the contents of IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-5 and the IFN- $\gamma$ /IL-4 ratio in

基金项目: 广州市中医药、中西医结合项目(2008A25)

作者简介: 韩超, 女, 副主任药师 Tel: (020)81226220  
E-mail: yaolilv@163.com

E-mail: wendyhan@163.com

\*通信作者: 吕俊华, 男, 硕士, 教授 Tel: