

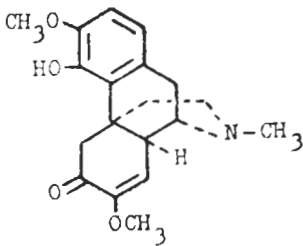
# 青藤碱的免疫抑制作用

彭慧敏、丁献义<sup>1</sup>、刘秀书、刘志广<sup>1</sup> (河北医学院药理教研室、<sup>1</sup>放射医学教研室, 石家庄 050017)

**提要** 青藤碱(sinomenine)ip 和 im 25, 50, 100 mg/kg 明显地降低小鼠炭廓清率和脾脏及胸腺的重量, 并显著抑制小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能及引起血浆中 cGMP/cAMP 比值的下降。对以溶血素反应为指标的体液免疫和以心脏植入及肿瘤相伴免疫为指标的细胞免疫亦有明显地抑制作用。

**关键词** 青藤碱; 巨噬细胞; 炭廓清率; 肿瘤相伴免疫; 腺苷环一磷酸; 鸟苷环一磷酸; 心脏植入; 溶血素

青藤碱(sinomenine)系从防己科植物青藤 *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et Wils. 茎和根中提取的生物碱之一, 其结构式<sup>(1)</sup>与吗啡相似, 具有镇痛、抗炎等多种药理作用, ip 小鼠 LD<sub>50</sub> 285 ± 29 mg/kg<sup>(2)</sup>。临床用于治疗风湿和类风湿性关节炎。抗炎药具有免疫抑制作用, 而多数免疫抑制药亦有抗炎作用。本文报道了青藤碱对小鼠免疫功能的影响。



Sinomenine

## 材 料

盐酸青藤碱粉剂, 武汉市中联制药厂出品。环磷酸胺, 白色粉剂, 上海十二制药厂出品, 印度墨汁(用前以生理盐水1:8稀释), 北京化工厂产品, <sup>125</sup>I-cAMP 和 <sup>125</sup>I-cGMP 药盒, 上海中医学院同位素室提供。CFW、NIH 及昆明种小鼠, 体重 20.5 ± SD 1.0 g, ♀♂兼用。

## 方法和结果

### 青藤碱对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

取昆明种小鼠 30 只, 随机分为 3 组: A 组 im 生理盐水 0.2 ml/鼠; B 组和 C 组 im 青藤碱 50 及 100 mg/kg, qd × 6 d, 于末次给药后 24 h, ip 5% 鸡红细胞(CRBC)生理盐水悬液 0.5 ml, 24 h 后, ip Hanks 液 2.5 ml, 然后处死小鼠, 采用滴片法<sup>(3)</sup>, 取腹腔液滴于载玻片上, 37°C 温育 30 min 后, 用生理盐水冲去滴片上悬浮的未被吞噬的 CRBC 及其它细胞, 甲醇固定, Giemsa-Wright 染液染色, 油镜下观察, 计算吞噬%和吞噬指数。吞噬% = (吞噬 CRBC 的巨噬细胞数/观察的巨噬细胞数) × 100%; 吞噬指数 = 被吞噬的 CRBC 总数/观察的巨噬细胞总数。

Tab 1. Effects of sinomenine on intraperitoneal macrophages phagocytosis in mice.  $\bar{x} \pm SD$ . \*\*\*p < 0.01

Sinomenine (mg/kg)	Phagocytotic ratio (%)	Phagocytotic index
0	26 ± 9	0.32 ± 0.12
50	12 ± 3***	0.14 ± 0.04***
100	8 ± 2***	0.10 ± 0.02***

结果表明: 青藤碱 50 和 100 mg/kg 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬 CRBC 的%和吞噬指数均显著降低。

### 青藤碱对小鼠 iv 炭廓清率的影响

CFW 小鼠 30 只, 随机分为 4 组: D 组生理盐水 0.2 ml/鼠; E 组环磷酸胺 32 mg/kg; F 和 G 组青藤碱 25, 50 mg/kg, 均为 ip qd × 8 d。末次给药后次日尾 iv 印度墨汁 10 ml/kg, 注药后 1 min(T<sub>1</sub>)和 5 min(T<sub>2</sub>) 分别从眼眶取血 20 μl, 立即溶于 1% 碳酸钠溶液 2 ml 内, 然后用 721 型分光光度计于波长 680 nm 测定光

Tab 2. Effects of sinomenine on clearance rate of iv charcoal particles in mice.  $\bar{x} \pm SD$ . \*\*\* $p < 0.01$

Drug	mg/(kg·d) × 8 d	Mice	$10^3 \times K$ value
Saline		7	52 ± 27
Cyclophosphamide	32	6	29 ± 1***
Sinomenine	25	8	28 ± 9***
Sinomenine	50	9	15 ± 3***

Clearance index:  $K = (\log C_1 - \log C_2) / (T_2 - T_1)$

吸收率, 按下式计算廓清指数  $K$  值:  $K = (\log C_1 - \log C_2) / (T_2 - T_1)$ .

结果表明: 青藤碱 25, 50 mg/kg 可显著降低炭廓清指数, 并显示量-效关系。此作用与环磷酰胺相似, 对网状内皮系统吞噬功能有抑制作用。

#### 青藤碱对小鼠免疫器官重量的影响

CFW 小鼠 24 只, 体重  $17.5 \pm 1.1$  g, 随机分为 3 组: H 组 ip 生理盐水 0.2 ml/鼠; I 和 J 组 ip 青藤碱 50 及 100 mg/kg, qd × 6 d。末次给药后次日眼眶放血处死, 取脾脏、胸腺称重。

结果表明: 青藤碱 100 mg/kg 显著降低小鼠免疫器官脾脏和胸腺的重量(表 3)。

Tab 3. Effects of sinomenine on the weights of spleen and thymus in mice.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Sinomenine (mg/kg)	Organ wt/body wt (g/kg)	
	Spleen	Thymus
0	5.0 ± 1.4	3.2 ± 1.2
50	5.3 ± 1.8*	3.2 ± 1.1*
100	2.8 ± 0.8**	1.3 ± 0.5***

#### 青藤碱对小鼠肿瘤相伴免疫的影响<sup>(4)</sup>

CFW 小鼠, 瘤株为腹水型肝癌(HCA), 先给小鼠尾部 sc  $1 \times 10^7$ /ml 的瘤细胞悬液 0.05 ml, 致敏后 2 d, ip 环磷酰胺 20 mg/kg, 青藤碱 50 mg/kg, qd × 6 d。于致敏后 d 10, 以同种瘤细胞攻击每鼠 sc 接种  $5 \times 10^8$  瘤细胞, 于攻击后 d 10 处死小鼠, 称瘤重。

结果表明: 青藤碱 50 mg/kg 使生瘤小鼠数增加, 平均瘤重也显著增加(表 4)。

Tab 4. Effects of sinomenine (SM) on tumor concomitant immunity in mice.  $\bar{x} \pm SD$ . \*\* $p < 0.05$  vs immune attack (IA). AC = attack control, Cyc = cyclophosphamide, HAC = hepatic ascites carcinoma

	mg/kg	No. of attacked mice	HAC wt	
	qd × 6	Test	Growing-HAC (g)	
AC	-	10	10	0.57 ± 0.33
IA	-	17	14	0.08 ± 0.06
IA + Cyc (20)	9	9	9	0.21 ± 0.16**
IA + SM (50)	10	10	10	0.17 ± 0.11**

青藤碱对小鼠血浆中 cAMP 和 cGMP 含量的影响 NIH 小鼠 30 只, 随机分 3 组, 对照组 ip 生理盐水 0.2 ml/鼠, 实验组 ip 青藤碱 50 及 100 mg/kg, qd × 7 d。于末次给药后次日摘眼球取血, EDTA 钠抗凝, 加入无水乙醇沉淀蛋白质, 离心分离, 取上清液供测定 cAMP 和 cGMP 用。

cAMP 和 cGMP 的定量测定, 采用放射免疫法<sup>(5)</sup>。<sup>125</sup>I 标记抗原, 双抗体分离法分离沉淀, 灵敏度 1.5 fmol。

结果表明: 青藤碱 50 mg/kg 使小鼠血浆中的 cAMP 含量显著增加, 青藤碱 100 mg/kg 使 cGMP 含量降低, cGMP/cAMP 比值显著降低(表 5)。

Tab 5. Effects of sinomenine on plasma cAMP and cGMP in mice.  $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Sinomenine (mg/kg)	cGMP (pmol/L)	cAMP (pmol/L)	cGMP/cAMP (%)
—	26 ± 8	76 ± 14	34
50	22 ± 12*	116 ± 35***	19**
100	11 ± 4***	71 ± 17*	15***

青藤碱对小鼠同种异位游离心脏植入的影响 在无菌下取 CFW 新生 24 h 乳鼠心脏, 纵切为两半作为移植物, 植于昆明种小鼠耳廓皮下, 以心电图监测心电活动, 心电消失为排斥反应终点。

取半心移植于耳廓的小鼠, 术后 2-4 d 有心电活动者 48 只鼠, 分为 4 组; K 组生理盐

水 0.2 ml/鼠; L 组环磷酰胺 25 mg/kg; M 组和 N 组青藤碱 50 及 100 mg/kg, 均为 ip。于术后当日给药, 隔日 1 次, 直至 14 d。

结果表明: 青藤碱 100 mg/kg 可显著延长小鼠心脏移植存活时间, 提示对机体排异反应有抑制作用(表 6)。

Tab 6. Effects of sinomenine on time of implanted heart survival in mice.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Drug	Dose (mg/kg)	Mice	Survival time (d)
Saline	—	11	8.2 ± 3.0
Cyclophosphamide	25	12	16.2 ± 5.1***
Sinomenine	50	13	10.3 ± 2.6*
Sinomenine	100	12	13.6 ± 3.5**

**青藤碱对溶血素形成的影响** CFW 小鼠 24 只, ip 经无菌生理盐水洗涤 3 次的 1:10 绵羊红细胞(SRBC)悬液 0.5 ml, 于致敏后 2 d 开始随机分为 4 组: ip 青藤碱 50 及 100 mg/kg; 环磷酰胺 10 mg/kg 及生理盐水 0.2 ml, qd × 4 d。于末次给药后次日眼眶取血, 冷藏 3 h 后离心, 取血清在 56℃ 放 30 min 以灭活补体成分。

取灭活的血清 0.2 ml 置于无菌的小试管中, 用生理盐水稀释成 1:2……1024, 每管加入 1:30 的 SRBC 悬液 0.2 ml 及 1:5 豚鼠血清 0.2 ml, 于 37℃ 温育 30 min, 记录各组最大溶血稀释度。

结果表明: 最大溶血稀释度在对照组为 1:256, 环磷酰胺组为 1:16, 青藤碱 50 及 100 mg/kg 组均为 1:32。

## 讨 论

上述结果表明: 青藤碱 25-100 mg/kg 对小鼠炭廓清率、肿瘤相伴免疫、心脏植入排异反应及溶血素的形成呈现抑制作用, 并减轻脾脏和胸腺的重量, 说明对机体非特异性免疫、细胞免疫和体液免疫均有抑制作用, 与经典的免疫抑制剂环磷酰胺的作用<sup>(6,7)</sup>相似。肿瘤相伴

免疫与移植抗宿主反应一样, 主要是机体 T 淋巴细胞免疫功能的反应<sup>(8)</sup>, 青藤碱在该方面有较强的抑制作用, 表明其作用主要是抑制 T 淋巴细胞的功能。

环核苷酸对机体免疫功能有调节作用。青藤碱 50 mg/kg 使血浆中 cAMP 升高, 100 mg/kg 使 cGMP 降低, cGMP/cAMP 比值明显下降, 均表明机体免疫机能受抑制<sup>(9)</sup>。

青藤碱是一种组胺释放剂<sup>(10)</sup>, 已知组胺可激活抑制 T 淋巴细胞<sup>(11)</sup>并刺激 T 淋巴细胞释放一种水溶性组胺诱导抑制因子(HSF)<sup>(12)</sup>, 具有免疫抑制作用。因此青藤碱抑制免疫机能的机理可能与组胺释放有关。

## 参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典(附编). 上海: 上海科技出版社, 1979: 546
- 2 张士善、傅绍萱、李蕴山、王耐勤. 清风藤碱甲的药理作用 I. 镇痛、消炎作用及急性毒性实验. 药学学报 1960; 8: 177
- 3 张蕴芬、崔文英、李顺成、李卫东、骆保. 观察巨噬细胞吞噬功能的滴片法. 北京医学院学报 1979; 2: 144
- 4 Badea E, Donovan G, Dumitrescu R, Fadei L, Popp I. Some data concerning immune processes in concomitant tumor immunity experimental models. Comparative *in vivo* and *in vitro* investigations. I. *In vivo* experiments. *Neoplasma* 1977; 24: 295
- 5 莫启忠、方军、宫斌, 等. <sup>125</sup>I 标记环核苷酸的放射免疫测定法. 核技术 1986; 9: 43
- 6 Shand EL. The immunopharmacology of cyclophosphamide. *Int J Immunopharmacol* 1979; 1: 165
- 7 Turk JL, Parker D. Effect of cyclophosphamide on immunological control mechanisms. *Immunol Rev* 1982; 65: 99
- 8 Herberman RB. Cell mediated immunity to tumor cell. *Adv Cancer Res* 1974; 19: 207
- 9 Hadden JW. Summary of session V. In: Werner GH, Floerch F. *The pharmacology of immunoregulation*. London: Academic Press, 1978: 431-8
- 10 冯经义、金圆、王耐勤、张士善. 青藤碱的药理作用. VII. 对胃肠道活动的影响及其机制. 药学学报 1965; 12: 492
- 11 Rocklin RE, Haberek-Davidson A. Histamine

activates suppressor cells *in vitro* using a coculture technique. *J Clin Immunol* 1981, 1 : 73

12 Rocklin RE, Beard J, Gupta S, Good RA,

Melmon KL. Characterization of the human blood lymphocytes that produce a histamine-induced suppressor factor (HSF). *Cell Immunol* 1980, 51 : 226

*Acta Pharmacologica Sinica* 1988 Jul, 9 (4) : 377-380

## Immunosuppressive effects of sinomenine

PENG Hui-Min, DING Xian-Yi<sup>1</sup>, LIU Xiu-Shu, LIU Zhi-Guang<sup>1</sup>

(Departments of Pharmacology, <sup>1</sup>Radio-Medicine, Hebei Medical College, Shijiazhuang 050017)

**ABSTRACT** Sinomenine ip or im 25, 50, 100 mg/kg markedly decreased the clearance rate of iv charcoal particles and the weights of spleen and thymus and inhibited the phagocytosis of peritoneal macrophages. Sinomenine significantly decreased the ratio of cGMP/cAMP of plasma in mice. Sinomenine had depressant effects on humoral-mediated immunity using the hemolysins

reaction as indices and cell-mediated immunity using the heart implantation and tumor-concomitant immunity as indices.

**KEY WORDS** sinomenine; macrophages; charcoal clearance rate; tumor concomitant immunity; adenosine cyclic monophosphate; guanosine cyclic monophosphate; heart implantation; hemolysins