

九头狮子草有效部位解热作用及其作用机制研究

覃容贵*, 范菊娣, 龙庆德, 秦拴梅, 周镁
(贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

[摘要] **目的:**比较九头狮子草水提液,石油醚部位及水部位解热作用的差异,初步探讨石油醚部位的解热作用机制。**方法:**雄性 SD 大鼠,经筛选后随机分为正常对照组、模型对照组、石油醚组、水部位组和水提组(不同极性部分的剂量设定以水提物的大鼠剂量为基础,结合各个部位得膏率,按相同生药量 $8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 换算成各极性部位剂量),采用干酵母皮下注射方法制备发热模型,于模型制备后 5 h,分别 ip 石油醚部位($0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、水部位($1.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、水提液($8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)后分别于各个时间点监测直肠温度,比较三者作用的差异性;采用放射免疫法测定大鼠血清白介素-1(IL-1)、白介素-6(IL-6)及下丘脑内环磷酸腺苷(cAMP)、前列腺素 E_2 (PGE_2)含量。**结果:**九头狮子草水提液,石油醚部位及水部位均能降低发热模型大鼠体温,三者对体温指数(TRI_9)的影响分别为:(10.24 ± 0.83), (10.08 ± 0.47), (8.23 ± 0.64) cm^2 ,与模型组比较,差异具有显著性($P < 0.05$);放射免疫结果显示,石油醚组血清 IL-6 含量,下丘脑 cAMP, PGE_2 含量低于模型组,其差异具有显著性($P < 0.05$)。**结论:**九头狮子草水提液,石油醚部位及水部位均具有解热作用,石油醚部位及水部位解热作用强于九头狮子草水提液;石油醚部位的解热作用可能是通过抑制 IL-6 的生成进而阻断 PGE_2 , cAMP 等中枢发热介质,或直接对抗 IL-6 的作用而发挥解热作用。

[关键词] 九头狮子草;有效部位;干酵母;解热作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0211-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1044.006.html>

[网络出版时间] 2012-08-27 10:44

Study on Antipyretic Effect and its Mechanism of *Peristrophe japonica*

QIN Rong-gui*, FAN Ju-di, LONG Qing-de, QIN Shuan-mei, ZHOU Mei
(College of Pharmacy of Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antipyretic effect and the mechanism of *Peristrophe japonica* by comparing with variances of the antipyretic effect among water extract of *P. japonica*, ligarine fraction and water

[收稿日期] 20120503(005)

[基金项目] 贵州省科技厅(黔科合 J 字(2008)2275 号);贵阳医学院院基金(合同字第 7 号博士);贵阳医学院院基金(合同字第 K2009-29 号)

[通讯作者] *覃容贵,副教授,博士,从事中药资源及药理研究, Tel:0851-6908218-709, E-mail: qinronggui@hotmail.com

- [10] 赵嘉萍. 解郁汤治疗抑郁症[J]. 四川中医, 1992, 10(8):35.
- [11] Ahokas A J, Kaukoranta J, Wahlbeck W, et al. Estrogen deficiency in severe postpartum depression; successful treatment with sublingual physiologic 17β -estradiol; a preliminary study [J]. J Clin Psychiatry, 2010, 62:332.
- [12] 冯异, 田占庄, 陈伯英. 围绝经期和抑郁症[J]. 国外医学:妇幼保健分册, 2004, 15(4):235.
- [13] 刑协强, 谢新年. 抑郁症的中医辨证论治[J]. 医学临床研究, 2009, 20(7):541.
- [14] Peter J, Schmidt, Lynette Nieman, et al. Estrogen replacement in perimenopause related depression: a preliminary report [J]. Am J Obstet Gynecol, 2010, 183(2):414.
- [15] Schneier K, Facchinetti F. Coping style and climacteric symptoms in a clinical sample of postmenopausal women [J]. J Obs Gyna, 2003, 18:229.

[责任编辑 聂淑琴]

fraction. **Method:** The rat febrile model was induced by injecting fresh yeast subcutaneously and treated with water extract of *P. japonica*, ligarine fraction and water fraction, then the rectal temperature was monitored to show the differences of effect from those groups. The contents of interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) in blood serum and cyclic adenosine monophosphate (cAMP), prostaglandin E₂ (PGE₂) in the hypothalamus were measured by radioimmunoassay (RIA), respectively. **Result:** Three drug administration groups (including water extract of *P. japonica*, ligarine fraction and water fraction) showed marked antipyretic effect on the yeast-induced fever ($P < 0.05$) and the effects were stronger on the ligarine fraction and water fraction groups than water extract of *P. japonica* group. The ligarine fraction group showed remarkable decreased the contents of IL-6 in blood serum and PGE₂, cAMP in the hypothalamus of febrile rats. **Conclusion:** The water extract of *P. japonica*, ligarine fraction and water fraction all have obvious antipyretic effect, but the effect of ligarine fraction and water fraction are stronger than that of water extract of *P. japonica*, which might be related to decreasing the levels of IL-6 in serum and the interfering the content of PGE₂, cAMP in the hypothalamus.

[**Key words**] *Peristrophe japonica*; pharmacodynamic active extracts; fresh yeast; antipyretic effect

九头狮子草为爵床科植物九头狮子草全草,主产于贵州,收载于 2003 年版《贵州省中药、民族药质量标准》,在民间广为栽培应用,其性味辛、凉,功用主治为祛风、清热、化痰、解毒,用于治疗风热咳嗽、小儿惊风、喉痛、疔毒、乳痈。也可与其他药物配伍使用,治疗肺热咳嗽、虚热咳嗽、小儿吐奶并泄青、男子尿结、咽喉肿痛、痔疮、蛇咬伤、黑疱疹、妇女白带、经漏等^[1]。

九头狮子草长期以来在贵州省苗族、布依族民间主要用来治疗小儿高热、小儿惊风等,因此民间又称其为尖惊药、惊药,尤以治疗临床原因不明、抗生素类药物无显效的高热效果特佳。在前期研究工作中我们发现九头狮子草有良好的解热作用,其解热作用持久^[2],还具有广谱抗菌作用,对金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌等有显著抑制杀灭作用^[3-4]。我们的预实验结果显示,九头狮子草石油醚部位、水部位具有明显的解热作用。因此,本研究采用干酵母制备发热模型,比较九头狮子草水提液、石油醚部位及水部位解热作用的差异,初步探讨九头狮子草的解热作用及机制,为用九头狮子草治疗高热惊厥提供依据。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠,SPF 级,雄性,体重 180 ~ 220 g,购自长沙市开福区东创实验动物科技服务部提供,合格证号 SCXK(湘)2009-0012。

1.2 药物及试剂 九头狮子草,购自贵阳市万东中草药市场,经贵阳医学院药学院生药学教研室龙庆德副教授鉴定为正品 *Peristrophe japonica* (Thunb.) Bremek.。高活性干酵母(安琪酵母股份有限公司,生产日期 2011-05-20);白介素-1 (IL-1),白介素-6

(IL-6),环磷酸腺苷(cAMP),前列腺素 E₂ (PGE₂) 放免测试试剂盒(购自北京华英生物技术研究所);其他所用化学试剂均为市售分析纯。

1.3 仪器 MT-1 电子体温计(深圳市瑞迪恩科技有限公司),电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),FJ-2101 双道液体闪烁计数仪(国营二六二厂)。

2 方法

2.1 药物的制备

2.1.1 九头狮子草水提取液的制备 九头狮子草临床用药采用水煎剂,因此制备水提物作为标准,并比较各不同有效部位解热作用强弱。取干燥九头狮子草适量剪碎,以水为溶剂,用 20 倍量蒸馏水回流提取 2 次,每次所加溶剂量为药材量的 20 倍,每次回流提取时间 2 h,静置过滤,合并滤液,水浴浓缩至稠膏。

2.1.2 九头狮子草石油醚部位、水部位的制备 取干燥九头狮子草适量,剪碎,以 70% 乙醇为溶剂,用 20 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次,每次所加溶剂量为药材量的 15 倍,每次回流提取时间 2 h,静置过滤,合并滤液,将滤液减压回收乙醇至无醇味,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,分别将石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取液减压回收有机溶剂,并分别减压浓缩得稠浸膏,分别记为石油醚部位浸膏、乙酸乙酯部位浸膏和正丁醇部位浸膏。再将剩余溶液浓缩得水部位浸膏。取石油醚部位、水部位给药。

2.1.3 样品制备 水提液以蒸馏水配制成所需浓度。分别取适量石油醚部位、水部位浸膏,置于研钵中,加少量乙醇润湿后,加 0.5% 羧甲基纤维素钠,边加边研磨至均匀混悬液,并配制成所需浓度。

2.1.4 酵母悬液制备 称取干酵母 20 g 置于乳钵中,逐渐加入蒸馏水磨为均匀的悬液,最后定容为 100 mL(20%),临用前配制 10 mL·kg⁻¹ sc。

2.2 发热模型的建立 取 SD 大鼠,以电子数字式体温计测定大鼠肛温,在体温计顶端涂少许液体石蜡,轻缓送入肛门约 2 cm,放置约 10 s,待电子数字式温度计发出蜂鸣声后读数。动物在实验环境(实验室温度控制在(25±1)℃,相对湿度 60%±2%中)每日测肛温 2 次,连续 2 d,使其适应。选取基础肛温在(36.6~38.6)℃、波动在 0.5℃以内者纳入实验。将入选大鼠按肛温随机分为 5 组:正常对照组、模型对照组、石油醚组、水组和水提组,20 只/组。造模前 3 d,每日早晚测量大鼠的肛温,取其平均值作为正常基础体温。随机取 20 只作正常对照组,其余背部皮下注射 20% 干混悬液 10 mL·kg⁻¹,制备大鼠干酵母发热模型。

2.3 给药方法及体温监测 给干酵母混悬液后每 1 h 测大鼠肛温 1 次,第 5 h 测温并给药。不同极性部分的剂量设定以水提物的大鼠剂量为基础,结合各个部位得膏率,按相同生药量 8 g·kg⁻¹ 换算成各极性部位剂量(以浸膏质量计),再参考预试验结果进行调整。为了保证达到筛选药效的目的,设定剂量在临床用量的基础上有所提高。分别按 0.4 g·kg⁻¹ 石油醚部位、1.4 g·kg⁻¹ 水部位、8 g·kg⁻¹ 水提液 ig 给药,各组均等容积不等浓度 ig 给药 20 mL·kg⁻¹。对照组及模型组 ig 给予同体积生理盐水。药后每隔 1 h 测大鼠肛温 1 次,连续测体温 4 次。记录各组大鼠体温变化。监测大鼠发热过程中体温变化,记录每只大鼠各时间点体温值,将同一时间点各个样本取平均值,组间比较作 *t* 检验。同时计算最大发热高度(ΔT℃):发热最高体温减去造模后 5 h 体温值,计算体温反应指数(TRI₉):发热曲线与基线之间的面积,按梯形面积计算法计算 9 h 的面积^[5]。

2.4 生物样本处理及检测方法 根据预实验所确定的体温下降期,即药效发挥时间,于给药后 2 h,从正常对照组、模型组及石油醚组分别随机选取 10 只大鼠(余者继续监测体温),股动脉取血处死,离心分离血清,-80℃保存备用,供 IL-1,IL-6 测定。取血后同时迅速于冰浴内取全脑,以灰结节及视交叉之间的中心点为中心确定下丘脑的位置,切取大鼠下丘脑,各称取约 50 mg 组织置于-80℃冰箱以供下丘脑组织 PGE₂,cAMP 含量测定。测定方法参照试剂盒说明书。

2.5 数据处理 全部数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理,两组均数差异比较采用 *t* 检验,*P*<0.05 为有显著性差异。

3 结果

3.1 九头狮子草石油醚部位、水部位及水提液解热作用 九头狮子草对大鼠直肠温度的影响,见表 1。造模后 5 h 大鼠体温显著升高,石油醚组给药后 2 h 体温开始下降,与模型组比较,体温降低,其差异具有显著性(*P*<0.05);水组及水提液组给药后,约 2 h 起效,两组与模型组比较,体温有所降低,其差异具有显著性(*P*<0.05),石油醚部位与水部位、水提液比较,解热作用更加明显。对发热大鼠体温反应指数的影响,见表 2。

3.2 对干酵母发热模型大鼠血清 IL-1,IL-6 及下丘脑 PGE₂,cAMP 含量的影响 九头狮子草石油醚部位能明显抑制血清 IL-6 及下丘脑 PGE₂,cAMP 含量升高,与模型组比较,差异显著(*P*<0.05);而对血清中 IL-1 含量则无明显影响。见表 3。

4 讨论

发热是临床儿童常见病、多发病之一,临床多采用抗生素类药与非甾体类解热镇痛药或糖皮质激素进行治疗,但疗效欠佳,且易出现诸多不良反应。中草药常常通过其有效组分多层次、多途径发挥协同

表 1 九头狮子草对大鼠直肠温度的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	基础体温 /℃	直肠温度/℃				
			造模后 5 h	给药后 1 h	给药后 2 h	给药后 3 h	给药后 4 h
正常对照	-	37.42±0.64	37.32±0.27	37.41±0.82	37.30±0.53	37.25±0.24	37.18±0.12
模型对照	-	37.46±0.59	38.86±0.49 ¹⁾	39.04±0.59 ¹⁾	39.25±0.44 ¹⁾	39.43±0.68 ¹⁾	39.22±0.81 ¹⁾
石油醚部位	0.4	37.16±0.78	38.78±0.68	38.89±0.75	38.56±0.74 ^{2,3,4)}	38.41±0.79 ^{2,3,4)}	37.85±0.65 ^{2,3,4)}
水部位	1.4	37.22±0.66	38.66±0.63	38.72±0.83	39.23±0.51	38.68±0.56 ^{2,4)}	38.41±0.55 ^{2,4)}
水提	8.0	37.52±0.72	38.87±0.77	39.41±0.58	39.38±0.97	38.79±1.00 ²⁾	38.52±0.46 ²⁾

注:与正常对照组比较¹⁾*P*<0.05;与模型对照组比较²⁾*P*<0.05;与水部位组比较³⁾*P*<0.05;与水提组比较⁴⁾*P*<0.05(表 2~3 同)。

表 2 九头狮子草对发热大鼠体温反应指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	ΔT/°C	TRI ₉₀ /cm ²
正常对照	-	0.28 ± 0.15	0.53 ± 0.27
模型对照	-	1.06 ± 0.38 ¹⁾	12.12 ± 0.54 ¹⁾
石油醚部位	0.4	0.27 ± 0.42 ^{2,3,4)}	8.23 ± 0.64 ^{2,3,4)}
水部位	1.4	0.62 ± 0.33 ^{2,4)}	10.08 ± 0.47 ^{2,4)}
水提	8.0	0.89 ± 0.27 ²⁾	10.24 ± 0.83 ²⁾

表 3 九头狮子草石油醚部位对发热大鼠血清及下丘脑各致热因子的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PGE ₂ /ng·L ⁻¹	cAMP/nmol·L ⁻¹	IL-1/μg·L ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹
正常对照	-	45.38 ± 6.72	8.94 ± 0.26	0.32 ± 0.05	46.98 ± 8.51
模型对照	-	52.88 ± 7.65 ¹⁾	9.35 ± 0.44 ¹⁾	0.41 ± 0.04 ¹⁾	125.47 ± 9.35 ¹⁾
石油醚部位	0.4	44.67 ± 5.38 ²⁾	9.02 ± 0.37 ²⁾	0.42 ± 0.02	107.33 ± 7.49 ²⁾

对中药解热作用的研究发现,许多中药能通过降低下丘脑 PGE₂, cAMP 的含量和血清 IL-1, IL-6 含量而达到解热的目的。如桂枝汤可通过升高下丘脑中的 15-羟基前列腺素脱氢酶活性,使该部位的 PGE₂ 的灭活加速,而达到解热作用^[7]。张杰等研究认为清毒退热煮散剂有效成分,通过某种作用环节和机制抑制内毒素性发热家兔脑组织 cAMP 水平升高,从而发挥对内毒素性发热的抑制作用^[8]。马仁强等研究表明清金注射液对发热动物的体温升高有明显抑制作用,可明显抑制大肠杆菌致发热大鼠血清中 IL-1 含量的升高^[9]。刘学伟等研究表明龙胆碱的解热作用机制可能与降低血清中 IL-6 水平,进而影响下丘脑 PGE₂ 含量有关^[10]。酵母致热模型为一经典发热模型。酵母菌作为一种外源性致热原作用于机体,引发内生致热原细胞分泌内生致热原(EP, IL-1, IL-6, TNF 等),EP 直接或通过中枢介质(PGE₂, cAMP 等)间接作用于下丘脑,使体温调定点上移,机体产热多或散热少,引起体温升高。本实验研究发现,皮下注射酵母能引起发热大鼠下丘脑中的 PGE₂, cAMP 的含量和血清 IL-1, IL-6 含量明显升高,其发热机制可能是酵母菌作用于机体,激活内生致热原细胞分泌 EP,使 IL-1, IL-6 含量增加,IL-1, IL-6 直接或通过中枢介质 PGE₂, cAMP 间接作用于下丘脑体温调节中枢,因而引起机体发热。九头狮子草石油醚部位不但明显抑制酵母所致发热反应,而且也抑制了大鼠下丘脑中 PGE₂, cAMP 的含量和血清 IL-6 含量的升高,提示九头狮子草解热的机制可能是通过抑制 IL-6 的生成进而阻断 PGE₂, cAMP

作用,在感染性疾病的治疗中不良反应低、作用谱广、不易产生耐药性^[6]。由中药制成的具有抗菌作用的单方或复方制剂以及中西药配伍制剂越来越多地应用于临床,显现出良好的效果。本实验研究表明,九头狮子草水提物、石油醚部位、水部位均有较好的解热作用,石油醚部位、水部位解热作用更为突出和明显,为九头狮子草解热有效部位。九头狮子草解热有效成分可能在极性较小和极性较大的部位,有待进一步深入研究。

等中枢发热介质,或直接对抗 IL-6 的作用而发挥解热作用。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:新华书店上海发行所,1986:48.

[2] 覃容贵,罗忠圣. 九头狮子草醇提物药效学的实验研究[J]. 中药材,2006,29(9):961.

[3] 覃容贵,李淑芳,罗忠圣. 九头狮子草对细菌形态结构的影响[J]. 贵阳医学院学报,2004,29(1):58.

[4] 覃容贵,李淑芳,罗忠圣. 九头狮子草对细菌超微形态结构的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(1):46.

[5] 王湘雨,李素云,李建生,等. 毒素清颗粒对家兔内毒素性发热的保护作用[J]. 陕西中医,2010,31(2):240.

[6] 刘华钢. 中药抗菌研究进展[J]. 时珍国医国药,2010,21(2):463.

[7] 李沧海,周军,霍海如,等. 发热大鼠脑组织 15-羟基前列腺素脱氢酶活性的时相变化及桂枝汤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2004,10(1):22.

[8] 张杰,薛玉凤,赵聚宾. 清毒退热煮散剂对内毒素性发热家兔血浆及脑脊液 cAMP 水平的影响[J]. 四川中医,2005,23(7):23.

[9] 马仁强,吴先哲. 清金注射液解热作用机制的探讨[J]. 时珍国医国药,2003,14(6):330.

[10] 刘学伟,曹敏,刘树民. 龙胆碱的解热作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(24):128.

[责任编辑 聂淑琴]