

麻杏石甘汤对 LPS 诱导的大鼠发热模型的影响

屈飞¹,徐镜²,崔艳茹³,徐国良^{2*},余日跃¹

- (1. 江西中医学院药学院药理学教研室,南昌 330004;
2. 江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室,南昌 330004;
3. 江西中医学院生理学教研室,南昌 330004)

〔摘要〕 目的:建立静脉注射内毒素的大鼠发热模型,观察麻杏石甘汤的解热作用。方法:大鼠尾静脉注射多个浓度(5,10,20,40,60,80 μg·kg⁻¹)的内毒素,观察各组大鼠的体温变化,建立适宜的尾静脉注射脂多糖(LPS)发热模型;将大鼠随机分为空白组,模型组,给药组(低、中、高剂量分别为1.33,4.5,15.2 g·kg⁻¹),实验当天灌胃给药后立即造模,观察麻杏石甘汤对该发热模型动物体温变化的影响。结果:静脉注射内毒素可引起SD大鼠显著升温($P<0.01$),结果表明静脉注射内毒素致SD大鼠发热模型最佳造模剂量为20 μg·kg⁻¹。灌服低、中、高剂量麻杏石甘汤的大鼠的体温均较模型组明显降低($P<0.05$)。比较各组的体温反应指数TRI值,发现各组的解热效应有明显的剂量效应关系。结论:麻杏石甘汤对静脉注射LPS诱导的大鼠发热模型具有较好的解热作用,且呈剂量依赖性。

〔关键词〕 内毒素;发热;体温反应指数;麻杏石甘汤;解热作用

〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)18-0178-04

〔网络出版地址〕 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120711.1202.014.html>

〔网络出版时间〕 2012-7-11 12:02

Antifebrile Effect of Mxing Shigan Tang
on Fever Induced by LPS in Rats

QU Fei¹, XU Jing², CUI Yan-ru³, XU Guo-liang^{2*}, YU Ri-yue¹

- (1. *Deptatment of Pharmacology, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang, 330004, China;*
2. *Key Laboratory of Modem Preparation (Jiangxi University of TCM)*
3. *Deptatment of Physiology, Jiangxi University of TCM, Nanchang, 330004, China)*

〔Abstract〕 **Objective:** Using rat intravenous endotoxin model of fever to observe the antifebrile effect of Mxing Shigan Tang. **Method:** the effects of Mxing Shigan Tang on body temperature was observed on the fever induced by intravenous injection of lipopolysaccharide (LPS) at the dose 5, 10, 20, 40, 60, 80 μg·kg⁻¹, respectively. The rats were randomly divided into blank group, model group, treatment group (low, medium and high dose respectively 1.33, 4.5, 15.2 g·kg⁻¹), the model was induced immediately after administration. **Result:** Intravenous injection of endotoxin could increase body temperature significantly ($P<0.01$). The results showed that the dose of intravenous injection of endotoxin induced SD rat fever model was 20 μg·kg⁻¹. The body temperature was significantly lower compared with model group after fed with low, medium and high dose of Mxing Shigan Tang ($P<0.05$). TRI showed a clear dose-response relationship. **Conclusion:** Mxing Shigan Tang has a better antifebrile effects on the fever induced by intravenous injection of LPS in rats, and show a dose-dependent

〔收稿日期〕 20120301(013)

〔基金项目〕 国家科技部重点基础研究发展计划(973计划)(2010CB530603)

〔第一作者〕 屈飞,博士,副教授,从事中药药理学研究,Tel:0791-87118919,E-mail:quf0917@163.com

〔通讯作者〕 *徐国良,博士,教授,从事中药复方量效关系研究,Tel:0791-87118919,E-mail:xuguoliang6606@126.com

manner.

[**Key words**] LPS; fever; TRI; Maxing Shigan Tang; antifebrile effects

麻黄杏仁甘草石膏汤(简称麻杏石甘汤)是《伤寒论》经典方剂之一,具有辛凉宣肺,清热平喘的功效。后世用于风寒化热,或风热犯肺,以及内热外寒。主治肺热炽盛的肺炎和热邪犯肺的哮喘。对于临床症状有身热不解、咳嗽气急、口渴等,应用本方治疗有较好的疗效。发热是外感发热肺热证的主要临床症状。目前动物发热模型的建立方法有很多种,最常见的主要是采用向动物体内注入脂多糖(LPS)、2,4-二硝基酚和酵母菌的方法制作发热模型^[1]。本实验拟采用尾静脉注射内毒素制作大鼠发热模型,并观察麻杏石甘汤对该发热模型的影响。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠 80 只,雄性,体重(200 ± 20)g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(湘)2009-0004。室温(20 ± 2)℃,相对湿度 40%~60%,昼夜光照节律 12 h:12 h,自由饮水,饲固体饲料,适应性喂养 1 周后开始试验。

1.2 试剂及仪器 氯化钠注射液(批号 A100303S1,江西科伦药业有限公司),大肠杆菌内毒素脂多糖(LPS, cat109K4075, Sigma)。TGA358 1/万分析天平(北京 Sartorius 公司),TGA358A 1/10 万分析天平(德国 Sartorius 公司),TL-5.0 W 台式离心机(上海市离心机械研究所),SZ-97A 自动三重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂),上海医用仪表厂 WMY-01 型数显肛温计(用前以标准温度计校正),EYELA N-001 旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司)。

1.3 药材 麻黄为麻黄科植物木贼麻黄 *Ephedra equisetina* Bge. 的干燥草质茎;苦杏仁为蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* L var. *ansa* Maxim 的干燥成熟种子;生石膏为硫酸盐类矿物硬石膏族石膏 Gypsum Fibrosum;甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎,均由江西中医学院中药固体制剂制造技术国家工程研究中心饶毅教授鉴定并提供。

1.4 麻杏石甘汤的制备 将麻杏石甘汤方量按文献^[2]换算成大鼠所用剂量。麻杏石甘汤(麻黄 6 g,杏仁 9 g,生石膏 24 g,炙甘草 6 g)按《伤寒论》记载煎煮,麻黄先煎 30 min,再加入其余 3 味药材煎煮 40 min,300 目纱布滤过后浓缩滤液至饮片 1 g·mL⁻¹。用蒸馏水将药液浓缩或稀释至相应剂量的

浓度(低、中、高剂量分别为 0.133,0.45,1.52 g·mL⁻¹)。

2 方法

2.1 动物筛选 造模前连续 4 d,每日 1 h 内测量大鼠直肠温 2 次。每次测量体温前将少许石蜡油涂于大鼠肛门处,防止插伤,每天保证同一时间和地点测量体温,测量时尽量固定插入 2.5 cm 深度,每次测量深度一致,将体温波动($\Delta T > 0.5$ ℃)及单次体温高于 38℃的大鼠剔除。

2.2 模型建立 筛选出的温度合格大鼠根据温度按 Excel 随机数字表随机分 6 组,每组 6 只。实验前大鼠禁食不禁水。造模前,0.5 h 内测大鼠直肠温度 3 次,取均值作为基础体温值。6 组大鼠分别按 5,10,20,40,60,80 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量尾静脉注射 LPS 溶液。注射后每隔 0.5 h 测量并记录大鼠肛温,直至体温回至正常。绘制各组平均体温变化曲线;记录最大体温上升高度 ΔT (发热时体温与基础体温的差值)。

2.3 麻杏石甘汤对内毒素致热模型的影响 按上述方法筛选出温度合格大鼠。筛选出的温度合格大鼠随机分为 5 组,每组 8 只:空白组,内毒素组,麻杏石甘汤给药组(低、中、高剂量)。标记并称重。实验前 1 h 测 2 次直肠温度,取平均值作为基础温度。模型组及给药组动物分别以 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量尾静脉注射 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ LPS 溶液,空白对照组注射相应体积生理盐水溶液,给药组分别 ig 低、中、高剂量(1.33,4.5,15.2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)的麻杏石甘汤(按 10 mL·kg⁻¹体重的给药量)后立即尾静脉注射 LPS 造模(20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$),空白组、模型组灌胃生理盐水(10 mL·kg⁻¹体重)。注射 LPS 后,每 0.5 h 测定肛温,连续观察 9 h。

2.4 数据处理 绘制各组平均体温变化曲线;记录最大体温上升高度(发热时的体温与基础体温的差值)。各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据采用单因素方差分析检验,应用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不同剂量 LPS 对大鼠体温的影响 静脉注射不同剂量 LPS 后,各组大鼠体温均明显上升。但不同剂量诱导的发热模型在发热和峰值时间点以及持续时间的长短有所不同。在 5~20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量

范围内,LPS 剂量大小与体温升高程度及维持时间有剂量依赖关系。但随着 LPS 剂量的增大,体温并没有无限上升,注射 40,60 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的 LPS,发热的热势反而有所下降。注射 80 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 LPS 后,大鼠体温反而显著下降。见表 1。

表 1 不同剂量 LPS iv 所致大鼠发热的体温变化 ($\bar{x}\pm s,n=6$)

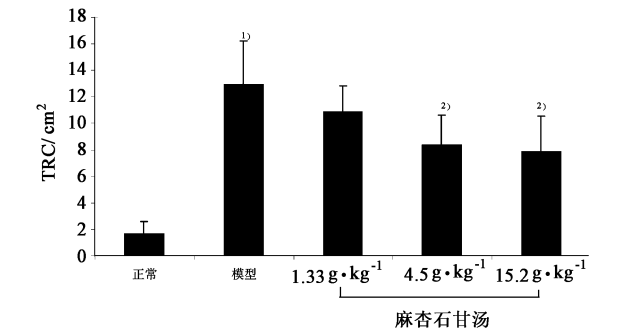
LPS 剂量 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\Delta T/^{\circ}\text{C}$							
	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
5	-0.76±0.48	-0.08±0.16	0.04±0.18	0.30±0.56	0.54±0.42	0.48±0.63	0.44±0.27	0.26±0.64
10	0.38±0.89	1.07±0.57	1.22±0.50	1.65±0.47	1.16±0.47	1.38±0.41	0.97±0.53	0.61±0.66
20	0.07±0.57	0.81±0.77	0.95±0.57	1.46±0.41	1.75±0.38	1.71±0.47	1.40±0.33	0.88±0.36
40	-0.10±0.46	0.62±0.73	0.65±0.52	1.17±0.54	1.47±0.50	1.22±0.54	0.85±0.41	0.88±0.55
60	-0.34±0.42	0.20±0.58	0.72±0.42	1.14±0.15	1.24±0.20	1.16±0.57	0.80±0.62	0.62±0.75
80	-1.18±1.00	-0.46±0.73	0.18±0.76	0.62±0.98	1.06±0.76	1.04±0.59	0.80±0.63	0.72±0.59

表 2 麻杏石甘汤对内毒素 20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ iv 致热大鼠体温变化的影响 ($\bar{x}\pm s,n=8$)

组别	剂量 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\Delta T/^{\circ}\text{C}$							
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
正常	-	-0.29±0.49	-0.50±0.59 ¹⁾	-0.40±0.53 ²⁾	-0.04±0.36 ²⁾	-0.01±0.40 ²⁾	0.23±0.83 ²⁾	0.10±0.53 ²⁾	0.28±0.59 ²⁾
模型	-	0.08±0.27	1.26±0.44	1.49±0.43	1.93±0.54	2.41±0.38	2.29±0.59	1.68±0.62	1.44±0.48
麻杏石甘汤	1.33	0.10±0.26	1.15±0.51	1.19±0.32 ¹⁾	1.61±0.45 ¹⁾	1.98±0.41 ¹⁾	1.85±0.25 ¹⁾	1.39±0.48	1.13±0.41
	4.50	-0.31±0.51	0.70±0.95 ¹⁾	0.99±0.35 ¹⁾	1.09±0.43 ²⁾	1.51±0.32 ²⁾	1.65±0.38 ¹⁾	1.20±0.39 ¹⁾	0.81±0.40 ¹⁾
	15.2	-0.08±0.29	0.88±0.26 ¹⁾	1.00±0.37 ¹⁾	1.05±0.38 ²⁾	1.31±0.47 ²⁾	1.36±0.41 ²⁾	1.04±0.35 ¹⁾	0.80±0.38 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ 。

3.3 体温反应指数 TRI(即温度曲线与基线之间的面积) 比较各组的体温反应指数,结果表明在给予麻杏石甘汤后,中、高剂量组体温反应指数显著降低($P<0.05$)。见图 1。



按 1 $^{\circ}\text{C}=1\text{cm}$,30 min=0.5 cm 的比例绘制,体温反应指数即体温曲线曲线下面积,采用梯形和三角形面积公式分割计算。与正常组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$

图 1 各组体温反应指数的比较 ($\bar{x}\pm s,n=8$)

3.2 麻杏石甘汤对内毒素致热模型大鼠的影响 正常对照组 ΔT 波动不大,模型组 ΔT 曲线明显上移,且形成了较典型的二相发热曲线;与模型组相比,麻杏石甘汤给药组的 ΔT 曲线明显下移。且高、中、低剂量组的降温作用呈现一定的量效关系。见表 2。

4 讨论

发热是多种疾病进展过程中重要的临床表现之一,其中以病原微生物引起的感染性发热最常见。发热的机制很复杂,目前认为,发热过程大体可以表述如下:外源性致热原进入机体,作用于免疫活性细胞,产生内源性致热原(endogenous pyrogen, EP)^[3],内生致热原通过激活下丘脑终板血管部位的细胞使之释放中枢致热介质,进而作用于该部位体温调节中枢的神经元,引起热敏神经元兴奋而冷敏神经元抑制,使体温调节点上移,产热增强,散热减少,体温在一个新的调定点达到平衡^[4-5]。

内毒素诱导的发热表现为双相热或三相热^[6],实验过程中动物伴有寒颤、精神萎靡和轻微腹泻等症状。与麻杏石甘汤主治外感发热肺热证的病因、病症具有一定程度的契合。而研究表明内毒素腹腔注射所致发热模型存在个体差异较大的问题。因

此,本实验拟采用尾静脉注射 LPS 制作发热模型。为探索尾静脉注射 LPS 诱导大鼠发热的最佳剂量,本实验分别考察了尾静脉注射 5,10,20,40,60,80 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的 LPS 所致大鼠发热模型。结果表明,在一定剂量范围内,LPS 剂量大小与体温升高程度及维持时间有量效关系。主要表现为发热潜伏期缩短,发热高峰值增加,发热持续时间延长。同时发现,加大内毒素剂量不会使体温无限上升;当体内内毒素超过一定剂量时,体温不再上升,而产生热限^[7]。过量的内毒素反而可能因为微循环障碍和急性弥漫性血管内凝血而使体温下降^[8]。

本实验中,按尾静脉注射 20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ LPS 诱导的大鼠发热模型形成了较典型的二相发热曲线,与模型组相比,麻杏石甘汤给药组的 ΔT 曲线明显下移。表明麻杏石甘汤对内毒素诱导的大鼠发热模型具有明显的降温作用,且高、中、低剂量组的降温作用呈现一定的量效关系(具体的量效研究将在后续展开)。体温反应指数能在一定程度概括发热高度,热程和持续波动变化这三个要素,比较各组的体温反应指数,结果表明在给予麻杏石甘汤后,中、高剂量组体温反应指数显著降低($P<0.05$)。

综上所述,尾静脉注射 20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ LPS,引起实验大鼠发热热势高、持续时间长,可作为尾静脉注射 LPS 诱导的大鼠发热模型的适宜剂量。麻杏石甘汤对于该模型所致大鼠体温升高具有较强的降温作

用,且高、中、低剂量组的降温作用呈现一定的量效关系。

[参考文献]

[1] 唐晓峰,薛漫清,王晖. 大鼠发热模型及发热机制的研究进展[J]. 广东药学院学报, 2009,25(3):327.
[2] 徐叔云,卞如濂,陈修,等. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2005:934.
[3] 徐珊,孟庆刚. 黄芩提取物解热作用及机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(6):117.
[4] 万素君,陈朝,郑军,等. 柴荆注射液的解热作用机理研究——对下丘脑中精氨酸加压素及前列腺素 E_2 含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007,13(12):31.
[5] 潘文,康开彪,王煜,等. 清利通淋汤解热抗炎作用实验[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,16(15):192.
[6] Romanovsky N J A, Kulehitsky V A, Simom C T, et al. Methodology of fever research: Why are polyphasic fevers often thought to be Biphasic [J]. Am J Physiol, 1998, 275(1):R332.
[7] 孙明瑜,高琳,谢鸣,等. 小柴胡汤合煎液与分煎合液对 LPS 诱导大鼠发热模型的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2003,10(12):17.
[8] 刘瑞东,崔颖,高颖,等. 内毒素致热的热型和热限研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2003,13(5):421.

[责任编辑 聂淑琴]

《中国中药杂志》2013 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2013 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 [www. cjcm. com. cn](http://www.cjcm.com.cn) 或 www. 中国中药杂志. com。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。