

家蝇幼虫乙醇提取物的抗炎解热作用及机制

常楚瑞, 吴建伟*, 国果, 付萍, 蒋鹏, 吴云, 安正粉
(贵阳医学院, 贵阳 550004)

[摘要] **目的:**研究家蝇幼虫乙醇提取物(MDE)对酵母致炎发热大鼠的解热作用及机制。**方法:**利用干酵母致炎大鼠发热动物模型,设立生理盐水组:ig 等体积生理盐水;模型组:ig 等体积生理盐水 + 大鼠背部 sc 15% 干酵母 20 mL·kg⁻¹;阿司匹林组:ig 阿司匹林 0.3 g·kg⁻¹;给药组:分别 ig MDE(1,0.5,0.25 g·kg⁻¹),qd,预防性连续给药 7 d(n=10),观察 MDE 对发热大鼠直肠温度的影响,测定给药后不同时间的体温变化,并采用放免法测定下丘脑中前列腺素 E₂(PGE₂)和环磷腺苷(cAMP)含量。**结果:**1,0.5,0.25 g·kg⁻¹MDE 具有不同程度的退热作用;并能减少致热大鼠下丘脑中 PGE₂ 及 cAMP 的含量,高剂量组(126.86 ± 24.89) ng·g⁻¹, (9.72 ± 1.11) nmol·g⁻¹;中剂量组(180.12 ± 34.58) ng·g⁻¹, (10.05 ± 0.26) nmol·g⁻¹;低剂量组(203.54 ± 30.46) ng·g⁻¹, (10.79 ± 0.57) nmol·g⁻¹;与模型组(253.70 ± 43.96) ng·g⁻¹, (12.15 ± 3.11) nmol·g⁻¹比较具有显著性差异(P < 0.01, P < 0.05)。**结论:**MDE 具有解热作用,其作用机制与降低下丘脑中 PGE₂ 以及 cAMP 有关。

[关键词] 家蝇;乙醇提取物;抗炎解热作用;干酵母;作用机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0149-03

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110920.1431.008 **[网络出版时间]** 2011-09-20 14:31

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110920.1431.008.html>

Effect and Mechanism on Anti-inflammatory and Antipyretic of Ethanol Extracts from *Musca domestica*

CHANG Chu-ruì, WU Jian-wei*, GUO Guo, FU Ping, JIANG Peng, WU Yun, AN Zheng-fen
(Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-inflammatory and antipyretic effect and mechanism of the ethanol extracts from *Musca domestica* larvae(MDE) on febrile rats. **Method:** The rats fever model were made by dry yeast. Saline group was given equal volumes saline (ig); Model group was given equal volumes saline (ig) + sc 15% dry yeast 20 mL·kg⁻¹ of subcutaneous injection; Treatment group: MDE(1,0.5,0.25 g·kg⁻¹), ig qd for 7 d, Rectum temperature ($\Delta T/^\circ\text{C}$) was measured and hypothalamus proataglandin E₂(PGE₂) and adenosine cyclophosphate (cAMP) were detected by RIA. **Result:** 1,0.5,0.25 g·kg⁻¹MDE had antipyretic effect on febrile rats and could reduce the content of PGE₂ and cAMP [MDE(1 g·kg⁻¹) (126.86 ± 24.89) ng·g⁻¹, (9.72 ± 1.11) nmol·g⁻¹], [MDE(0.5 g·kg⁻¹) (180.12 ± 34.58) ng·g⁻¹, (10.05 ± 0.26) nmol·g⁻¹], [MDE(0.25 g·kg⁻¹) (203.54 ± 30.46) ng·g⁻¹, (10.79 ± 0.57) nmol·g⁻¹], compared to the control(253.70 ± 43.96) ng·g⁻¹, (12.15 ± 3.11) nmol·g⁻¹)(P < 0.01, P < 0.05). **Conclusion:** The results indicate that ethanol extracts from *M. domestica* larvae

[收稿日期] 20110408(017)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30960343,39970087);贵州省教育厅培育项目[黔科教(2009)0137];贵州省教育厅自然科学基金(F2008-6);教育部博士学科点专项基金教技发中心函[2008]220号

[第一作者] 常楚瑞,副教授,博士,主要从事中药药理学及分子生药学研究工作,Tel:0851-6908218,E-mail:changchurui@hotmail.com

[通讯作者] * 吴建伟,教授,博士,博士生导师,主要从事昆虫免疫病理生理学研究, Tel:0851-6909979,E-mail:wjw@gmc.edu.cn

has anti-inflammatory and antipyretic effect, the mechanism may be related to reducing PGE₂ and cAMP.

[Key words] *Musca domestica*; ethanol extract; anti-inflammatory antipyretic effect; dry yeast; mechanism

发热是指由于致热原的作用,使体温调节中枢的调定点上移而引起的调节性体温升高(超过 0.5℃)。目前研究发现,体温中枢的正调节介质主要有前列腺素 E₂(PGE₂)、环磷腺苷(cAMP)、Na⁺/Ca²⁺、促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)等;体温中枢的负调节介质主要有精氨酸加压素(AVP)、α-黑素细胞刺激素(α-MSH)、一氧化氮(NO)等^[1-4]。目前临床西药疗效肯定,但存在较多副作用,而中药既具有很好的抗炎解热作用,且毒副作用小。因此,对清热解毒类中药的抗炎解热作用机制研究很有必要。五谷虫是一味传统的中药材,主要含蛋白质、氨基酸、油脂、生物碱等成分,具有清热解毒、消积除滞之功效。主治小儿诸疳积、疳疮、热病谵妄、毒痢作吐等。五谷虫的来源为丽蝇科昆虫大头金蝇或其他近缘昆虫的干燥幼虫,如家蝇幼虫。经实验研究发现家蝇 3 日龄幼虫乙醇提取物(MDE)具有一定的抗炎镇痛作用^[5],但是对其解热作用及作用机制研究未见报道,故本实验采用皮下注射干酵母混悬液复制大鼠炎症发热模型,对 MDE 的解热作用及机制进行初步研究。

1 材料

1.1 受试物与动物 家蝇 3 日龄幼虫(热诱导)乙醇提取物由本室制备,MDE 高、中、低剂量组分别用生理盐水稀释为 2, 1, 0.5 g·mL⁻¹。Wister 大鼠,雄性,体重 180~220 g。动物均由贵阳医学院实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(黔) 2002-0001。

1.2 试剂 干酵母(湖北安琪酵母有限公司,批号 CF20090703W);阳性对照药物阿司匹林(aspirin),中国医药公司上海分公司产品(批号 840130);PGE₂ 和 cAMP 放免测试试剂盒,解放军总医院科技开发中心放免研究所。

1.3 仪器 JC2010 型伽玛计数器(中科大中佳公司);POLYGREEN KD-204 型数字式电子体温计(东莞市黄江百绿电子厂)。

2 方法^[6]

2.1 动物预筛 Wister 大鼠 100 只,将所有大鼠置于实验室环境适应 3~4 d,每日用体温计从肛内测体温 2~3 次,间隔 1 h,使其适应测肛温操作,减少实验过程中体温波动对结果的影响。实验当日每小

时测体温 1 次,连续 2~3 次,选取体温在 37.0~38.5℃、体温变化不超过 0.3℃的动物供实验用,并取平均值为基础体温。

2.2 酵母悬液制备 取干酵母 60 g 置于研钵中,逐渐加入生理盐水研磨为均匀的悬浆,质量浓度为 15%,临用前配制,37℃保温 1 h。

2.3 试验分组^[6] 将预筛后的 Wister 大鼠随机分为 6 组,每组 12 只。生理盐水组:ig 等体积生理盐水,大鼠背部 sc 等体积无菌生理盐水;模型组:ig 等体积生理盐水 + 大鼠背部 sc 15% 干酵母 20 mL·kg⁻¹;阿司匹林组:ig 阿司匹林 0.3 g·kg⁻¹;给药组:分别 ig MDE(1, 0.5, 0.25 g·kg⁻¹),生药量(20, 10, 5 g·kg⁻¹),qd,预防性连续给药 7 d,阳性组、给药组均在大鼠第 1 次 ig 1 h 后,大鼠背部 sc 15% 干酵母 20 mL·kg⁻¹。2 h 后测体温,每组选肛温升高 0.8~1.0℃的 10 只大鼠用于实验。治疗性给药 1 次,分别测定给药后 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 h 的大鼠肛温 1 次,于造模后发热高峰期(第 7 h)测量大鼠体温,计算体温上升的最大值,即体温最大值与基础体温之差,以不同时间所测肛温与各基础肛温的差值为体温变化的指标。

2.4 下丘脑组织的处理及 PGE₂, cAMP 的测定 按 PGE₂, cAMP 试剂盒的操作步骤处理下丘脑组织并测定 PGE₂, cAMP 的含量。

2.5 统计学方法 组织 PGE₂, cAMP 含量分别以 ng·g⁻¹ 和 nmol·g⁻¹ 组织湿重表示。所有数据分析在 SPSS 13.0 软件上进行。所有试验结果的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用多组比较, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 MDE 对干酵母致大鼠发热的影响 正常对照组动物的体温在实验过程中无明显变化,最大体温上升高度 ΔT 为 (-0.05 ± 0.02) ℃。模型组、阳性组、给药组注射酵母混悬液后,动物体温下降,4 h 后动物体温明显升高,并持续 5~6 h,其中模型组 ΔT 为 (1.65 ± 0.20) ℃,明显高于对照组。MDE 高、中、低组注射酵母后 ΔT 为 (0.95 ± 0.45) , (1.04 ± 0.54) , (1.18 ± 0.18) ℃,略高于对照组,而明显低于发热组($P < 0.01$),表明 MDE 有抑制酵母发热的作用(见表 1)。

表1 家蝇幼虫乙醇提取物解热药效比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | 基础体温 /℃ | 最大体温上升 /℃ |
|------|---------------------------|--------------|---------------------------|
| 生理盐水 | - | 37.03 ± 0.43 | -0.05 ± 0.02 |
| 模型 | - | 37.11 ± 0.37 | 1.65 ± 0.20 |
| 阿司匹林 | 0.3 | 37.18 ± 0.52 | 0.82 ± 0.32 ²⁾ |
| MDE | 1 | 37.24 ± 0.36 | 0.95 ± 0.45 ²⁾ |
| | 0.5 | 37.04 ± 0.41 | 1.04 ± 0.54 ¹⁾ |
| | 0.25 | 37.32 ± 0.38 | 1.18 ± 0.18 ¹⁾ |

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表2同)。

3.2 下丘脑组织中 PGE₂ 和 cAMP 的测定 与正常对照组相比,模型组大鼠下丘脑组织中的 cAMP, PGE₂ 含量明显增高,表示造模成功;与模型组相比阿司匹林组大鼠下丘脑组织中 cAMP, PGE₂ 含量明显降低($P < 0.01$);MDE 高、中、低剂量组大鼠下丘脑组织中 cAMP, PGE₂ 含量显著降低($P < 0.01, P < 0.05$)。结果提示 MDE 的解热作用机制之一是使下丘脑体温调节中枢的 cAMP, PGE₂ 含量降低。见表2。

表2 MDE 对干酵母致热大鼠下丘脑中 PGE₂, cAMP 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | PGE ₂ /ng·g ⁻¹ | cAMP /nmol·g ⁻¹ |
|------|---------------------------|---|-------------------------------|
| 生理盐水 | - | 156.15 ± 20.42 | 6.85 ± 0.52 |
| 模型 | - | 253.70 ± 43.96 | 12.15 ± 3.11 |
| 阿司匹林 | 0.3 | 114.35 ± 23.70 ²⁾ | 9.01 ± 0.82 ²⁾ |
| MDE | 1 | 126.86 ± 24.89 ²⁾ | 9.72 ± 1.11 ²⁾ |
| | 0.5 | 180.12 ± 34.58 ¹⁾ | 10.05 ± 0.26 ¹⁾ |
| | 0.25 | 203.54 ± 30.46 ¹⁾ | 10.79 ± 0.57 ¹⁾ |

4 讨论

目前对发热的过程与机制已有较深的认识,发热激活物引发内生致热原细胞分泌内生致热原(EP),EP可通过作用视前区下丘脑前部(POAH)致中枢发热介质的 PGE₂, cAMP, CRH 等的升高而使体温调节点上升而体温升高,其中 cAMP 为脑内多种介质的第二信使,为主要的中枢发热介质。体温调节中枢在下丘脑, PGE₂ 是目前发热机制学说中最重

要的中枢介质。在外源性致热物质及内生致热原条件性地诱发单相或多相发热反应过程中, E 族前列腺素(主要为 PGE₂) 的介导不可或缺,为介导发热的中枢终端介质。

酵母作为外源性的致热原,其混悬液皮下注射于大鼠后,先引起动物体温下降,一段时间后动物体温明显升高,并持续较长时间,酵母所致的发热是由注射部位的局部溃烂引发的剧烈炎症反应导致,动物全身表现与临床伴内脏或皮肤有明显炎症的里热证类似,故可用此模型来研究清热药的解热功效,是复制发热模型的经典方法。

本实验结果提示,家蝇幼虫乙醇提取物可通过抑制下丘脑中 PGE₂ 和 cAMP 含量的升高而发挥其抗炎解热作用。由于 MDE 成分复杂,可导致其作用的多效性,其作用机制往往是相关的、交叉的、多途径的。因此,认为家蝇幼虫乙醇提取物的解热作用,可能是其调节下丘脑体温调节中枢,影响致热原、抗炎及调节机体免疫功能等多途径共同作用的结果。

[参考文献]

- [1] 杨金蓉,宋军,胡荣,等.川芎挥发油的解热作用及对下丘脑 PGE₂ 含量的影响[J]. 中药药理与临床,2008,24(4):34.
- [2] Bicego K C, Barros R C, Branco L G. Physiology of temperature regulation: comparative aspects [J]. Comp Biochem Physiol, 2007, 147(3):616.
- [3] Coceani F, Akarsu E S. Prostaglandin E₂ in the pathogenesis of fever: an update [J]. Ann NY Acad Sci, 1998,856:76.
- [4] 白霞,马玉东,穆洪,等.穿琥宁对致热大鼠下丘脑组织中 PGE₂ 和 cAMP 含量的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学,2005,10(1):75.
- [5] 常楚瑞,吴建伟,国果,等.家蝇幼虫乙醇提取物的抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(13):113.
- [6] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:934.

[责任编辑 聂淑琴]