

疏风解毒胶囊解热作用机制研究

刘 静, 马 莉, 陆 洁, 田兴美, 许 浚, 申秀萍*, 张宗鹏, 张铁军*

天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 目的 探讨疏风解毒胶囊解热作用机制。方法 采用酵母致大鼠发热模型, 观察疏风解毒胶囊给药后对体温调节相关因子: 白细胞介素-1 α (IL-1 α)、IL-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、 γ 干扰素 (IFN- γ)、前列腺素 E₂(PGE₂)、环腺苷酸(cAMP)、鸟腺苷酸(cGMP)、Na⁺、K⁺-ATPase、精氨酸升压素(AVP)的影响。结果 疏风解毒胶囊能显著降低模型大鼠血清和下丘脑中炎症因子PGE₂和细胞因子TNF- α 、IL-6、IL-1 α 、IL-1 β 水平, 显著降低模型大鼠血清和下丘脑中致热介质cAMP水平及cAMP/cGMP值, 显著降低下丘脑中Na⁺、K⁺-ATPase, 减少产热, 显著升高下丘脑中内源性解热介质AVP的量。结论 疏风解毒胶囊有显著的解热作用, 其通过减少炎症因子PGE₂及细胞因子水平、减少致热介质、减少产热、增加AVP的量, 从而发挥解热作用。

关键词: 疏风解毒胶囊; 解热作用; 白细胞介素; 肿瘤坏死因子; γ 干扰素; 前列腺素 E₂; 环腺苷酸; 鸟腺苷酸; Na⁺、K⁺-ATPase; 精氨酸升压素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)12-2040-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.12.004

Study on mechanism for antipyretic effects of Shufeng Jiedu Capsule

LIU Jing, MA Li, LU Jie, TIAN Xing-mei, XU Jun, SHEN Xiu-ping, ZHANG Zong-peng, ZHANG Tie-jun

Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study the antipyretic effect of Shufeng Jiedu Capsules (SJC) and its mechanism. **Methods** Using the yeast-reduced fever model of rats to study the antipyretic effects of SJC and its mechanism, collecting blood plasma and hypothalamus to measure the indicators related to body temperature such as IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , PGE₂, cAMP, cGMP, Na-K-ATPase, IL-6, and AVP. **Results** SJC can significantly decline the contents of TNF- α , IL-6, IL-1 α , and IL-1 β , and it can also decline the content of pyrogenic medium-cAMP, ratio of cAMP/cGMP, reduce thermogenesis and levels of Na⁺, K⁺-ATPase, and significantly enhance the content of endogenous antipyretic medium-AVP. **Conclusion** SJC has a significant antipyretic effect which could decline pyrogenic medium and reduce thermogenesis through reducing the content of inflammatory cytokines-PGE₂ and cytokines, it also enhances the content of endogenous antipyretic medium-AVP to play its antipyretic effect.

Key words: Shufeng Jiedu Capsule; antipyretic effect; interleukins; tumor necrosis factor; interferon γ ; prostaglandin E₂; cyclic AMP; cGMP; Na⁺, K⁺-ATPase; arginine vasopressin

疏风解毒胶囊为治疗流感的中药复方制剂, 主要由虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草药材组成。功能主治: 疏风清热、解毒利咽。主要用于治疗急性上呼吸道感染属风热症, 症见发热、恶风、咽痛、头痛、鼻塞、流浊涕、咳嗽等。研究表明^[1-6], 疏风解毒胶囊对病毒性、细菌性感冒均有很好的治疗作用, 对风热感冒、病毒性上呼吸道感染、化脓性扁桃体炎等患者有很好的退热效果, 能有效缓解患者咳嗽、咽部疼痛红肿等症状。本实验进一

步验证疏风解毒胶囊的解热作用, 并初步探讨其解热作用机制, 为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

疏风解毒胶囊(生药 3.59 g/g, 批号 20140701), 安徽济人药业有限公司。白细胞介素-1 α (IL-1 α)、IL-1 β 、IL-6、前列腺素 E₂(PGE₂)、 γ 干扰素 (IFN- γ)、精氨酸升压素(AVP)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)ELISA kit (武汉华美生物工程有限公司); Na⁺, K⁺-ATPase

收稿日期: 2016-02-18

作者简介: 刘 静(1980—), 女, 副研究员, 主要从事药理及毒理学研究。E-mail: liuj@tjpr.com

*通信作者 张铁军, 男, 硕士生导师, 研究员。E-mail: zhangtj@tjpr.com

申秀萍(1966—), 女, 研究员, 主要从事药理与毒理学研究。E-mail: shenxp@tjpr.com

检测试剂盒, 南京建成生物工程研究所; 环腺苷酸 (cAMP)、鸟腺苷酸 (cGMP) ELISA kit, R&D; 安琪高活性干酵母, 安琪酵母股份有限公司。

1.2 仪器

MC-246 欧姆龙电子体温计, 欧姆龙工贸 (大连) 有限公司; LXJ-IIB 低速多管离心机, 上海安亭科学仪器厂; Imark 680 型酶标仪, Bio-Rad; COLUMBVS 洗板机, 天津开元生物技术有限公司; E3000-0.5 型电子天平, 常熟市双杰测试仪器厂; ML203/02 电子天平 (精度 1 mg, 最大量程 220 g), 梅特勒托利多仪器 (上海) 有限公司。

1.3 实验动物

SD 大鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 180~200 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 许可证号 SCXK (京) 2012-0001。饲养在天津药物研究院新药评价有限公司实验动物屏障系统 [合格证 SYXK (津) 2011-0005], 温度、湿度、换气次数由中央系统自动控制, 温度维持在 20~26 °C, 相对湿度维持在 40%~70%, 通风次数为 10~15 次/h 全新风, 光照为 12 h 明、12 h 暗。自由摄食饮水, 大鼠饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供, 饮水为北京凯弗隆北方水处理设备有限公司生产的 KFRO-400GPD 型纯水机制备的纯净水。

2 方法

2.1 分组、模型制备及给药

分组前用体温计测量各大鼠肛温 2 次, 使大鼠习惯肛温测定操作。按测定肛温结果将大鼠随机分为 4 组, 每组 16 只, 分别为对照组, 模型组, 疏风解毒胶囊 21.6、10.8 g/kg (生药) 2 个剂量组。分组后连续给药 3 d, 对照组及模型组 ig 给予等体积大鼠饮用水。给药第 3 天, 各组大鼠测量给药前体温后, 除对照组外, 其余各组大鼠 sc 5% 酵母生理盐水溶液 1 mL/100 g^[7-8], 对照组 sc 等体积生理盐水。于造模后 2 h 各组大鼠分别 ig 给予相应药液, 测量造模后 5 h 肛温。20% 乌拉坦麻醉动物, 腹主动脉取血后放血处死大鼠, 开颅取下丘脑, -80 °C 冷冻保存。全血以 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, -20 °C 保存。

2.2 观察指标

2.2.1 肛温 分别于给药前及造模后 5 h (给药后 3 h) 测定各组大鼠肛温, 每组测定 1~10 号动物。

2.2.2 血清及下丘脑中细胞因子的测定 血清样本处理: 将血清样本两两混合变成 8 个样本后根据试剂盒要求测定 IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 、PGE₂、

cAMP、cGMP、IL-6 水平。下丘脑样本处理: 将下丘脑样本两两混合后称质量, 用生理盐水匀浆成 10% 下丘脑匀浆, 根据试剂盒要求测定。测定体温调节相关因子: IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 、PGE₂、cAMP、cGMP、IL-6、Na⁺、K⁺-ATPase、AVP。

2.3 数据处理与分析

采用 SPSS 11.5 软件, 组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA, LSD), 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 对大鼠肛温的影响

肛温测定结果 (表 1) 显示, 造模后 5 h, 与对照组比较, 造模大鼠肛温升高非常显著 ($P < 0.001$), 说明造模成功。与模型组比较, 疏风解毒胶囊高、低剂量组大鼠肛温显著降低 ($P < 0.05$), 表明疏风解毒胶囊有显著的解热作用。

表 1 疏风解毒胶囊对酵母致热大鼠肛温的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Effect of SJC on rectal temperature of yeast-induced fever rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肛温/°C	
		给药前	造模后 5 h
对照	—	37.3±0.2	37.0±0.2
模型	—	37.4±0.4	38.7±0.6 ^{###}
疏风解毒胶囊	21.6	37.4±0.3	38.1±0.4 [*]
	10.8	37.2±0.2	38.3±0.2 [*]

与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$
^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

3.2 对大鼠血清及下丘脑中相关细胞因子的影响

血清与下丘脑体温调节相关因子检测结果 (表 2~5) 显示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清及下丘脑中 PGE₂、TNF- α 、IL-6、cAMP、cAMP/cGMP 显著性升高 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 下丘脑中 IL-1 α 、IL-1 β 、Na⁺、K⁺-ATPase、AVP 显著升高 ($P < 0.05, 0.001$), IFN- γ 、cGMP 无显著性变化。

与模型组比较, 疏风解毒胶囊高、低剂量组大鼠血清及下丘脑中 PGE₂、TNF- α 、IL-6、cAMP、cAMP/cGMP 显著降低 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 下丘脑中 IL-1 α 、IL-1 β 、Na⁺、K⁺-ATPase 显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), AVP 的量显著升高 ($P < 0.05$)。结果表明, 疏风解毒胶囊能显著抑制炎症因子 PGE₂ 产生, 从而显著抑制致热性细胞因子 TNF- α 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 的生成, 进而减少产热因子 cAMP、Na⁺、K⁺-ATPase 等的量, 降低 cAMP/cGMP, 并使内源性解热介质 AVP 的量增加, 从而发挥其解热作用。

表 2 疏风解毒胶囊对酵母致热大鼠血清及下丘脑 PGE₂、TNF-α、IL-1α 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of SJC on levels of PGE₂, TNF-α, and IL-1α in serum and hypothalamus of yeast-induced fever rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PGE ₂		TNF-α		IL-1α	
		血清/(pg·mL ⁻¹)	下丘脑/(pg·g ⁻¹)	血清/(pg·mL ⁻¹)	下丘脑/(pg·mg ⁻¹)	血清/(pg·mL ⁻¹)	下丘脑/(pg·mg ⁻¹)
对照	—	5.582 ± 1.442	4.307 ± 1.004	1.458 ± 0.222	3.528 ± 0.880	0.246 ± 0.061	1.557 ± 0.287
模型	—	15.325 ± 6.738 ^{###}	6.568 ± 1.628 ^{###}	2.006 ± 0.452 [#]	7.027 ± 1.836 ^{###}	0.237 ± 0.072	2.498 ± 0.305 ^{###}
疏风解毒 胶囊	21.6	4.201 ± 1.683 ^{**}	4.881 ± 0.745 [*]	1.395 ± 0.365 [*]	4.937 ± 0.185 [*]	0.179 ± 0.056	1.986 ± 0.259 ^{**}
	10.8	6.408 ± 2.609 ^{**}	5.011 ± 0.658 [*]	1.558 ± 0.306 [*]	5.325 ± 0.755 [*]	0.203 ± 0.035	2.026 ± 0.189 ^{**}

与对照组比较: [#]P < 0.05 ^{##}P < 0.01 ^{###}P < 0.001; 与模型组比较: ^{*}P < 0.05 ^{**}P < 0.01 ^{***}P < 0.001, 下同

[#]P < 0.05 ^{##}P < 0.01 ^{###}P < 0.001 vs control group; ^{*}P < 0.05 ^{**}P < 0.01 ^{***}P < 0.001 vs model group, same as below

表 3 疏风解毒胶囊对酵母致热大鼠血清及下丘脑 IL-1β、IL-6、IFN-γ 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of SJC on levels of IL-1β, IL-6, and IFN-γ in serum and hypothalamus of yeast-induced fever rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	IL-1β		IL-6		IFN-γ	
		血清/(pg·mL ⁻¹)	下丘脑/(pg·mg ⁻¹)	血清/(pg·mL ⁻¹)	下丘脑/(pg·mg ⁻¹)	血清/(pg·mL ⁻¹)	下丘脑/(pg·mg ⁻¹)
对照	—	0.215 ± 0.055	23.697 ± 6.659	1.274 ± 0.368	0.376 ± 0.076	0.079 ± 0.012	0.431 ± 0.085
模型	—	0.216 ± 0.044	45.572 ± 11.349 [#]	3.736 ± 0.728 ^{###}	0.567 ± 0.120 ^{##}	0.075 ± 0.018	0.437 ± 0.091
疏风解毒 胶囊	21.6	0.192 ± 0.037	32.687 ± 6.390 [*]	2.297 ± 0.788 ^{**}	0.442 ± 0.051 [*]	0.053 ± 0.027	0.426 ± 0.079
	10.8	0.191 ± 0.023	34.506 ± 8.124 [*]	2.471 ± 1.109 [*]	0.450 ± 0.036 [*]	0.077 ± 0.027	0.383 ± 0.062

表 4 疏风解毒胶囊对酵母致热大鼠血清及下丘脑 cAMP、cGMP、cAMP/cGMP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of SJC on cAMP, cGMP, and cAMP/cGMP in serum and hypothalamus of yeast-induced fever rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	cAMP		cGMP		cAMP/cGMP	
		血清/(pmol·mL ⁻¹)	下丘脑/(pmol·mg ⁻¹)	血清/(pmol·mL ⁻¹)	下丘脑/(pmol·mg ⁻¹)	血清	下丘脑
对照	—	19.522 ± 3.519	0.724 ± 0.067	5.391 ± 2.017	0.319 ± 0.024	4.100 ± 1.513	2.292 ± 0.361
模型	—	36.199 ± 14.448 [#]	0.868 ± 0.068 ^{###}	5.381 ± 1.697	0.316 ± 0.030	7.039 ± 2.323 [#]	2.763 ± 0.297 [#]
疏风解毒 胶囊	21.6	21.019 ± 4.845 [*]	0.672 ± 0.106 ^{***}	6.912 ± 1.093	0.332 ± 0.028	3.104 ± 0.802 ^{**}	2.053 ± 0.437 ^{**}
	10.8	20.023 ± 7.057 [*]	0.757 ± 0.048 ^{**}	6.330 ± 1.203	0.310 ± 0.027	3.163 ± 0.995 ^{**}	2.452 ± 0.228 [*]

表 5 疏风解毒胶囊对酵母致热大鼠下丘脑 Na⁺、K⁺-ATPase 和 AVP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of SJC on levels of Na⁺, K⁺-ATPase and AVP in hypothalamus of yeast-induced fever rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	Na ⁺ , K ⁺ -ATPase/ (μmol·mg ⁻¹)	
		Na ⁺ , K ⁺ -ATPase/ (μmol·mg ⁻¹)	AVP/(ng·mg ⁻¹)
对照	—	0.218 ± 0.049	0.234 ± 0.040
模型	—	0.266 ± 0.036 [#]	0.331 ± 0.021 ^{###}
疏风解毒 胶囊	21.6	0.221 ± 0.020 ^{**}	0.384 ± 0.060 [*]
	10.8	0.233 ± 0.017 [*]	0.368 ± 0.039 [*]

4 讨论

大鼠 sc 酵母菌后, 酵母菌的主要致热成分全菌体和菌体内含有的荚膜多糖及蛋白质引起注射部位发生剧烈炎症反应, 炎症因子 PGE₂ 显著升高, 并进一步引起致热性细胞因子 TNF-α、IL-1α、IL-1β、IL-6 的量升高, 从而导致下丘脑体温调定点

上调, 使产热因子 cAMP、Na⁺, K⁺-ATPase 等的量升高从而引起发热, 同时, 内源性解热介质 AVP 释放增加, 负反馈抑制体温进一步升高。

PGE₂ 是体温调节有关的最主要介质, 尤其是在感染性发热中。发热时动物脑脊液内 PGE₂ 水平增高。解热镇痛药物可抑制酶系统和体温调节有关的其他中枢介质也和 PGE₂ 有关。PGE₂ 与其受体结合后, 通过信号转导通路改变体温调节中枢体温调节点水平, 从而引起机体产热和散热变化, 使体温升高。本实验研究结果显示, 模型组大鼠血清及下丘脑 PGE₂ 显著升高, 而疏风解毒胶囊能降低 PGE₂ 的量, 发挥解热作用。

肿瘤坏死因子 (TNF) 是一种重要的内源性致热原, TNF-α 作为内源性致热原不是不同病因所致发热机制中的一个共同环节。模型组大鼠血清及下丘脑 TNF-α 显著升高, 从而导致动物体温升高, 而疏

风解毒胶囊能显著降低 TNF- α 的量,表明疏风解毒胶囊能通过降低 TNF- α 的量从而发挥解热作用。

IL-1 是重要的致热细胞因子,分为 IL-1 α 和 IL-1 β 两种类型,其中 IL-1 β 是目前公认的内生致热源^[9],其机制是通过与终板血管器的血管内皮细胞及其周围的巨噬细胞、小胶质细胞胞膜上的 IL-1 受体结合,促进靶细胞内 PGE₂ 的合成,生成 PGE₂ 以旁分泌形式诱导下丘脑温度敏感神经元细胞膜上的 PGE₂ 受体与之结合,进而引起后续细胞信号的转导。本实验研究结果显示,模型组大鼠下丘脑 IL-1 α 、IL-1 β 均显著升高,从而导致动物体温升高,而疏风解毒胶囊能降低 IL-1 α 、IL-1 β 的量,发挥解热作用。

IL-6 是多种发热的中间物质,目前已知多种细胞可以自发或在不同刺激后产生 IL-6,其生物学效应呈现多样性,在发热机制中具有举足轻重的作用。本实验研究结果显示,模型组大鼠血清及下丘脑 IL-6 显著升高,从而导致动物体温升高,而疏风解毒胶囊能显著降低 IL-6 的量从而发挥解热作用。

AVP 是一种 9 肽神经递质,分布于中枢神经系统(CNS)的细胞体、轴突和神经末梢,包括其作用部位腹中膈区(VSA)和中杏仁核的神经末梢,机体发热时其量增多。众多研究表明,AVP 具有明显的抑制发热作用,AVP 被认为是一种内源性解热物质。其中枢作用于 VSA 的 V1 亚型受体发挥解热或限热作用。AVP 可能是通过影响位于下丘脑视前区(POAH)的温度敏感神经元的放电频率而影响体温,VSA 中 AVP 量下降,表明 AVP 释放增多,刺激 AVP 的内源性释放可抑制发热。模型组大鼠下丘脑 AVP 显著升高,提示发热模型动物体温升高,激活机体自身体温调节系统,引起内源性解热物质 AVP 分泌增加,但其增加幅度不足以抵抗致热因子引起的发热,而疏风解毒胶囊能进一步促进 AVP 分泌,发挥解热作用。

cAMP 是接近体温调节终末环节的发热介质^[9-10],大多数学者认为 Na/Ca 上升诱导下丘脑内 cAMP 的升是多种致热原引起发热的共同中介环节。发热动物模型脑脊液及下丘脑组织中,cAMP 量增多与体温升高显著正相关。cAMP 和 cGMP 是公认的生物控制的关键因子,对细胞的内调节起正负影响。一般认为 cAMP 和 cGMP 的比值比两者任

何一种的实际浓度更为重要,体温随 cAMP 和 cGMP 比值的变化而变化。Na⁺,K⁺-ATPase,也称钠泵,维持细胞内外钠、钾离子浓度,在机体产热生成中占非常重要的地位。模型组大鼠下丘脑 cAMP、cAMP/cGMP、Na⁺,K⁺-ATPase 均显著升高,疏风解毒胶囊能显著降低 cAMP 的量及 cAMP/cGMP、降低 Na⁺,K⁺-ATPase,表明疏风解毒胶囊能通过降低 cAMP 的量及 cAMP/cGMP、降低 Na⁺,K⁺-ATPase 活力,减少产热,从而发挥解热作用。

综上所述,疏风解毒胶囊能显著降低酵母致热模型大鼠体温,有显著的解热作用。实验结果表明,疏风解毒胶囊能显著抑制炎症因子 PGE₂ 产生,从而显著抑制致热性细胞因子 TNF- α 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 的生成,进而减少产热因子 cAMP、Na⁺,K⁺-ATPase 等的量,降低 cAMP/cGMP,减少产热,并使内源性解热介质 AVP 的量增加,从而发挥其解热作用。

参考文献

- [1] 奚肇庆,周建忠,梅建强,等.疏风解毒胶囊治疗病毒性上呼吸道感染发热的临床观察[J].中国中医药现代远程教育,2010,8(17):162-164.
- [2] 李东彤.疏风解毒胶囊治疗急性化脓性扁桃体炎 57 例[J].中国药业,2015,24(8):107-108.
- [3] 李文.疏风解毒胶囊治疗小儿急性上呼吸道感染的疗效观察[J].现代药物与临床,2015,30(9):1140-1143.
- [4] 叶祥庆,曾德志,罗世芳,等.疏风解毒胶囊治疗感冒风热证临床观察[J].安徽医药,2013,17(4):664-666.
- [5] 张亚平,林颖,闵珉,等.疏风解毒胶囊治疗急性病毒性上呼吸道感染对患者血清淀粉样蛋白 A 的影响[J].中国病原生物学杂志,2014,9(8):734-736.
- [6] 胡蓉,王丽华,张珺珺,等.疏风解毒胶囊治疗急性咽喉炎风热证的临床观察[J].药物评价研究,2014,37(5):460-462.
- [7] 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].第4版.北京:人民卫生出版社,2010.
- [8] 刘静,吕晓静,田兴美,等.新癍片对动物发热模型的解热作用研究[J].现代药物与临床,2015,30(4):375-379.
- [9] 秦鑫,曹宇,王慧玲,等.纳洛酮对 IL-1 β 致热大鼠体温及下丘脑中 cAMP 和 HSP70 含量的影响[J].中国药理学通报,2006,22(10):1180-1183.
- [10] 谢新华,董军.细胞因子与发热机制研究进展[J].广东医学,2005,26(8):1156-1158.