

胆南星多糖组分拮抗高热惊厥模型大鼠神经炎症的作用

李青霞¹, 苏发智¹, 白晨曦¹, 贾宸宸¹, 孙延平¹, 匡海学^{1*}, 王秋红^{1,2*}

1. 黑龙江中医药大学, 教育部北药基础与应用研究重点实验室, 黑龙江省中药天然药物药效物质基础重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 广东药科大学中药学院, 中药炮制学教研室, 广东 广州 510006

摘要: 目的 研究胆南星 *Arisaema Cum Bile* 多糖组分拮抗高热惊厥模型大鼠神经炎症作用的可能机制。方法 采用水提醇沉法制备胆南星多糖, 并通过色谱、光谱等方法对其进行结构表征分析; 通过 ip 脂多糖联合热水浴建立高热惊厥模型, 随机分为对照组、模型组、丙戊酸钠 (200 mg/kg) 组和胆南星高、低剂量 (200、100 mg/kg) 组, 每组 10 只。记录每组大鼠惊厥潜伏期, 惊厥持续时间和惊厥级别, 并于末次造模 2 h 后测量大鼠肛温; 苏木素-伊红 (hematoxylin eosin, HE) 染色评估海马组织神经元病理变化; ELISA 法检测血清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 及海马组织中 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA)、谷氨酸 (glutamic acid, Glu)、NOD 样受体热蛋白结构域 3 (NOD like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 和高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1) 水平; 采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 (ultra performance liquid chromatography tandem quadrupole time of flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS/MS) 对大鼠的血清进行代谢组学分析。结果 分离制备得到的胆南星多糖中总糖、蛋白质和糖醛酸质量分数分别为 79.4%、2.96% 和 2.35%; 气相色谱-质谱联用技术 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 测定胆南星多糖主要由阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成, 其物质的量比分别为 0.030 : 0.260 : 0.115 : 0.741 : 0.088; 傅里叶变换红外光谱仪 (Fourier transform infrared spectrometer, FT-IR) 光谱表明多糖含有吡喃环; 与模型组比较, 胆南星多糖高剂量组大鼠肛温降低 ($P < 0.01$) 且胆南星多糖高、低剂量组均可显著延长惊厥潜伏期 ($P < 0.01$), 缩短惊厥持续时间 ($P < 0.01$); 对海马神经元细胞具有保护作用, 升高海马组织 GABA 含量, 同时降低血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 与海马组织中 Glu、NLRP3 及 HMGB1 含量 ($P < 0.05$ 、0.01); 代谢组学结果表明, 胆南星多糖可显著回调 16 种生物标志物的表达, 共涉及花生四烯酸代谢、氨基酸代谢及嘧啶代谢等 6 条代谢通路。结论 胆南星多糖组分对高热惊厥大鼠表现出显著的拮抗作用, 其作用机制可能与解热、保护海马神经元、抑制脑内炎症发生及调节代谢紊乱有关。

关键词: 胆南星; 多糖组分; 高热惊厥; 神经炎症; 代谢组学; 解热; 海马神经元

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)05-1628-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.014

Antagonistic effect of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides on neuroinflammation in febrile seizure model rats

LI Qingxia¹, SU Fazhi¹, BAI Chenxi¹, JIA Chenchen¹, SHUN Yanping¹, KUANG Haixue¹, WANG Qiuhong^{1,2}

1. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Pharmacodynamic Material Basis of Chinese Medicine and Natural Drugs, Key Laboratory of Basic and Application Research of Beiyao, Ministry of Education, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. Department of Chinese Materia Medica Processing, School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To investigate the possible mechanisms by which polysaccharides of *Dannanxing* (*Arisaema Cum Bile*) inhibit neuroinflammation in febrile seizure rat model. **Methods** The polysaccharides of *Arisaema Cum Bile* were prepared by a combination of water extraction and alcohol precipitation, and its primary structure was characterized by chromatographic and spectral methods.

收稿日期: 2024-11-11

基金项目: 2022 年全国名老中医专家传承工作室建设项目 (国中医药人教函 [2022] 75 号); 第七批全国老中医专家学术经验继承工作项目 (国中医药人教函 [2022] 76 号); 黑龙江省“头雁”团队支持项目 (黑龙江省头雁行动领导小组文件 [2019] 5 号)

作者简介: 李青霞, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制原理。E-mail: 18348356047@163.com

*通信作者: 匡海学, 博士生导师, 教授, 从事中药及复方药效物质基础、中药药性理论及中药炮制原理研究。E-mail: hxkuang@hljucm.edu.cn
王秋红, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制原理及中药药效物质基础和作用机制研究。E-mail: qhwang668@sina.com

Febrile seizure model was established by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide combined with hot water bath. The rats were randomly divided into five groups, including control group, model group, sodium valproate group (200 mg/kg), *Arisaema cum bile* polysaccharides high- and low-dose (200, 100 mg/kg) groups, with ten rats in each group. The convulsive latency, duration and grade of convulsion were recorded in each group, and the rectal temperature of rats was monitored 2 h after the last modeling. Hematoxylin eosin (HE) staining was used to evaluate the pathological changes of hippocampal neurons. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 in serum and γ -aminobutyric acid (GABA), glutamic acid (Glu), NOD like receptor family pyrin domain containing 3 (NLRP3) and high mobility group box 1 protein (HMGB1) in hippocampus tissues were detected by ELISA. The metabolomics analysis of rat serum based on ultra performance liquid chromatography tandem quadrupole time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) was performed. **Results** The total sugar, protein and glucuronic acid contents of the *Arisaema Cum Bile* polysaccharides obtained from the isolation preparation were 79.4%, 2.96% and 2.35%, respectively. The results of monosaccharide composition based on gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) exhibited that the polysaccharides of *Arisaema Cum Bile* were mainly composed of arabinose, xylose, mannose, glucose and galactose with molar mass ratios of 0.030 : 0.260 : 0.115 : 0.741 : 0.088, respectively. Fouriertransform infrared spectrometer (FT-IR) spectroscopy indicated that the polysaccharides contained pyran ring. Compared with the model group, the rectal temperature of rats in the high-dose group of *Arisaema Cum Bile* polysaccharide was decreased ($P < 0.01$), and both high and low dose groups of *Arisaema Cum Bile* polysaccharide significantly prolonged the convulsion latency ($P < 0.01$) and shortened the duration of convulsions ($P < 0.01$). The high-dose *Arisaema cum bile* polysaccharides supplementation showed a protective effect on hippocampal neuronal cells, elevated GABA content in hippocampal tissues, and simultaneously reduced the content of TNF- α , IL-1 β , IL-6 in serum, Glu, NLRP3 and HMGB1 in hippocampal tissues ($P < 0.05, 0.01$). The metabolomics results showed that *Arisaema Cum Bile* polysaccharides could significantly reverse the expression of 16 biomarkers, which involved six metabolic pathways including arachidonic acid metabolism, amino acid metabolism and pyrimidine metabolism. **Conclusion** The polysaccharide fraction of *Arisaema Cum Bile* showed significant antagonistic effects on febrile seizure rats, and its underlying mechanism may be closely related to lowering body temperature, protecting hippocampal neurons, inhibiting neuroinflammation in brain and regulating metabolic disorders.

Key words: *Arisaema Cum Bile*; polysaccharide component; febrile seizure; neuroinflammation; metabolomics; antipyretic; hippocampal neuron

胆南星 *Arisaema Cum Bile* 为天南星科植物天南星 *Arisaema erubescens* (Wall.) Schott、异叶天南星 *A. heterophyllum* Bl. 或 东北天南星 *A. amurense* Maxim. 的细粉与牛、羊或猪胆汁经加工而成，或为生天南星细粉与牛、羊或猪胆汁经发酵加工而成^[1]，味苦、微辛，性凉，归肺、肝、脾经。发酵所用胆汁类别、胆汁与天南星细粉比例各不相同，所得产物中化学成分含量也有较大差别^[2]，主要含有胆汁酸类、黄酮类、核苷类、酚类、糖类等成分^[3]，具有清热化痰、熄风定惊之功效，用于治疗中风痰迷、癫狂等，临床多用于治疗小儿热性惊厥^[4]。

高热惊厥是儿童时期最常见的危急重症之一^[5]，是由非颅内感染伴随发热引发的肢体规律性运动障碍，又名“抽搐”或“惊风”，多发生于 0.5~5.0 岁的小儿^[6]，其临床表现主要为高热、抽搐、神昏，其发病机制目前尚未完全阐明，研究认为，高热状态下中枢神经系统紊乱及神经元异常放电活动是其主要诱因^[7]。高热惊厥发作时间通常短暂，仅持

续数分钟，如控制不当导致反复发作并持续较长时间，则可能导致海马神经元细胞损伤，诱发脑内炎症反应，进而加剧惊厥发作并加重神经细胞损伤^[8]。

多糖具有复杂的结构和广泛的生物学活性。植物多糖具有抗氧化、抗炎、免疫调节、抗过敏和抗肿瘤等多种生物学活性，在食品和医药保健方面具有重要的应用价值^[9]。研究发现，甘草多糖可显著降低癫痫大鼠的癫痫发作频率和程度^[10]，灵芝多糖可能通过抑制神经元活化而达到抗癫痫的作用^[11]。胆南星中多糖类成分与天南星多糖类成分组成基本一致，即阿拉伯糖、葡萄糖、鼠李糖、甘露糖、半乳糖等^[2]。李瑶^[12]采用硫酸-蒽酮法测定天南星总糖和多糖的含量较胆南星有所降低，液相色谱串联高分辨二级质谱 (LC-HRMS/MS) 分析得胆南星寡糖、单糖含量增加，同时出现糖衍生物。作为胆南星中的一类大分子，胆南星多糖组分能够显著降低干酵母所致发热大鼠的肛温，抑制炎症反应，并能调节肠道菌群紊乱及下丘脑代谢紊乱^[13]。此外，课

题组前期研究已证明胆南星水煎液具有显著的抗高热惊厥作用^[14]，然而尚未见多糖组分抗高热惊厥的相关研究。本研究以 3 周龄大鼠为研究对象，通过 ip 脂多糖联合高温水浴诱导高热惊厥模型，考察胆南星多糖组分对高热惊厥小鼠脑组织损伤和神经炎症的拮抗作用，为胆南星抗高热惊厥的效应物质基础研究提供科学依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只，3 周龄，体质量 50~60 g，购自辽宁长生生物科技有限公司，许可证号 SCXK(辽)2020-0001。所有大鼠饲养在温度(23±2)℃，相对湿度 50%~60%和 12 h 明暗交替的 SPF 级动物实验室中，自由饮水、进食，适应性喂养 7 d 后开始动物实验。所有程序均按照黑龙江中医药大学实验动物管理和使用指南进行。动物实验由黑龙江中医药大学伦理委员会审查批准(批准号 2023092207)。

1.2 药品与试剂

胆南星(批号 20220501)购自北京同仁堂亳州饮片有限公司，由黑龙江中医药大学苏连杰教授鉴定为天南星科植物天南星 *A. erubescens* (Wall.) Schott 的棕黑色方块状饮片。

脂多糖(批号 L861706)购自上海麦克林生化科技股份有限公司；丙戊酸钠(批号 H43020872)购自湖南省湘中制药有限公司；单糖对照品阿拉伯糖(批号 S15A10G85850)、半乳糖(批号 E1927035)、葡萄糖(批号 Q18F10N80946)、甘露糖(批号 C17D9H77586)、木糖(批号 A22S6X3606)，质量分数均为 98%，均购自博睿糖生物技术有限公司；硼氢化钠(批号 MKCD7945)购自美国 Sigma-Aldrich 公司；四硼酸钠(批号 P14N11D130766)购自上海源叶生物有限公司；考马斯亮蓝 G-250(批号 626M035)购自天津市光复精细化工研究所；D-无水葡萄糖(批号 20210925)、D-半乳糖醛酸(批号 20210617)、唑啉(批号 C10196252)购自美国 Sigma 公司；牛血清白蛋白(批号 224V055)购自北京博奥拓达科技有限公司；冰醋酸(批号 156174)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；乙酸酐(批号 20230314)购自国药集团化学试剂有限公司；三氟乙酸(批号 76-05-1)购自上海阿拉丁生化科技有限公司；甲醇(批号 10941735810)购自德国默克公司；TNF- α 试剂盒(批号 MM0180R1)、IL-1 β 试

剂盒(批号 MM-0047R1)、IL-6 试剂盒(批号 MM-0190R1)、GABA 试剂盒(批号 MM-0441R1)、Glu 试剂盒(批号 MM-0601R1)、NLRP3 试剂盒(批号 MM-1028R1)、HMGB1 试剂盒(批号 MM-20429R1)购自江苏酶免实业有限公司。

1.3 仪器

FT-IR650 型傅里叶变换红外光谱仪(天津港东科技发展股份有限公司)；R-1001VN 型旋转蒸发仪(郑州长城科工贸有限公司)；101-1BS 型真空干燥箱(上海力辰仪器科技有限公司)；ISQ 7000 型气相质谱联用仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)；Servicebio KZ-III-F 型冷冻组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司)；Sartorius BSA224S 型分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司)；Vitor X3 型酶标仪(美国 Perkin Elmer 公司)；105-103-101 型串联凝胶柱(8 mm×300 mm，英国 BRT 公司)；RXI-5 SIL MS 色谱柱(30 m×0.25 mm，0.25 μ m)；Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm，1.8 μ m)。

2 方法

2.1 胆南星多糖组分的制备

2.1.1 粗多糖提取 取适量的胆南星，加入 10 倍蒸馏水浸泡 1 h，然后武火加热至沸腾，保持文火微沸 1 h，趁热滤过，回收药液，保留药渣并加入 8 倍量的蒸馏水，按照上述方法煎煮 1 h，合并 2 次药液，减压浓缩至 1 g/mL，向浓缩液中缓慢加入无水乙醇至乙醇体积分数为 70%，充分混匀，于 4℃下静置过夜，离心 15 min，收集沉淀，用 10 mL 蒸馏水溶解以蒸发乙醇，-70℃冷冻干燥 12 h，制得胆南星粗多糖。

2.1.2 脱蛋白 采用 Sevage 法，冻干后的粗多糖加适量蒸馏水溶解配制成 8 mg/mL 的溶液，吸取 20 mL，加入 Sevag 试剂(氯仿-正丁醇 4:1)，振荡 30 min 后，6 000 r/min，离心 15 min，弃去下层有机相和中间蛋白质层，按照此方法重复多次至中间无明显乳状层，收取上清液，测定上清液中多糖和蛋白质的含量^[15]。

2.1.3 透析 经过脱蛋白、脱色处理的粗多糖溶液经浓缩后装入处理好的透析袋(截留相对分子质量 3 500)中，蒸馏水透析 72 h，期间更换 3 次蒸馏水。透析后经浓缩、冷冻干燥得胆南星总多糖组分。

2.2 胆南星多糖组分的结构表征

2.2.1 总糖的测定

(1) 葡萄糖标准曲线的绘制: 精密称取烘干至恒重 *D*-无水葡萄糖对照品 10 mg, 加蒸馏水定容至 100 mL 得到 0.10 mg/mL 的标准溶液。分别取 0.2、0.4、0.8、1.0、1.6、1.8 mL 标准溶液, 加入蒸馏水定容至 2 mL, 再先后加入 6% 苯酚溶液 1.0 mL、浓硫酸 5 mL 至葡萄糖标准溶液中, 摇匀, 5 min 后, 沸水浴中加热 15 min, 冷却后于 490 nm 波长处测吸光度 (*A*) 值, 以蒸馏水作为空白对照。用葡萄糖质量浓度为横坐标 (*x*), *A* 值为纵坐标 (*y*), 绘制标准曲线。

(2) 样品中总糖含量测定: 称取 3 份胆南星多糖, 加蒸馏水配制成 0.1 mg/mL 的样品溶液, 吸取 1 mL 溶液置于离心管中, 按照上述步骤平行测量 3 次 *A* 值, 根据回归方程得出样品中葡萄糖的含量。

2.2.2 蛋白质的测定

(1) 蛋白质标准曲线的绘制: 吸取牛血清白蛋白对照品, 加入蒸馏水得到 0.5 mg/mL 的蛋白质标准溶液。取 1 mL 标准溶液, 加入 5 mL 考马斯亮蓝染液后混合均匀, 30 °C 恒温水浴 5 min, 冷却后于 595 nm 波长处测 *A* 值, 以蒸馏水为空白对照。用蛋白质含量为横坐标 (*x*), *A* 值为纵坐标 (*y*), 绘制标准曲线。

(2) 样品蛋白含量的测定: 称取 3 份胆南星多糖, 加蒸馏水配制成 1 mg/mL 的样品溶液, 吸取 1 mL 溶液置于离心管中, 加入 5 mL 考马斯亮蓝染液, 30 °C 恒温水浴 5 min, 冷却后, 按照上述步骤平行测量 3 次 *A* 值, 根据回归方程求得样品中蛋白质含量。

2.2.3 糖醛酸的测定

(1) 糖醛酸标准曲线的绘制: 精密称取 10 mg 的 *D*-半乳糖醛酸对照品, 加入少量蒸馏水溶解后, 转移至 100 mL 量瓶中定容, 充分摇匀, 得到 0.10 mg/mL 的糖醛酸标准溶液。取 2 mL 标准溶液与一定量的蒸馏水, 冰水浴冷却后, 加入四硼酸钠-硫酸溶液 6.0 mL, 沸水浴中加热 20 min, 取出以冰水浴冷却至室温, 各加入 0.2 mL 0.1% 咪唑溶液, 室温冷却 2 h, 于 530 nm 处测 *A* 值, 以蒸馏水为空白对照。用标准糖醛酸含量为横坐标 (*x*), *A* 值为纵坐标 (*y*), 绘制标准曲线。

(2) 样品中糖醛酸含量测定: 称取 3 份胆南星多糖, 加蒸馏水配置成 0.25 mg/mL 的样品溶液, 吸取 1 mL 溶液置于离心管中, 按照上述步骤平行测量 3 次 *A* 值, 按照回归方程求得样品中糖醛酸含量。

2.2.4 单糖组成分析

(1) 对照品处理: 称取适量各对照品放入玻璃反应瓶中, 加入 2 mL 双蒸水和 60 mg 硼氢化钠还原 8 h, 加入冰醋酸, 旋蒸, 101 °C 下烘干, 再加入 1 mL

乙酸酐乙酰化 100 °C 反应 1 h, 冷却。加入 3 mL 甲醇, 减压浓缩蒸干, 重复此操作 4、5 次, 除去多余的乙酸酐。将乙酰化的产物溶于 3 mol/L 二氯甲烷中, 随后转移至分液漏斗, 加入少量蒸馏水摇匀后, 除去上层水溶液, 如此重复 4 次。用适量的无水硫酸钠干燥二氯甲烷层并浓缩至 0.2 mL, 放入液相小瓶。

(2) 样品处理: 称取样品 17.8 mg, 用 2 mL 3 mol/L 三氟乙酸在 120 °C 下水解 2 h。转移到玻璃反应瓶中, 旋蒸至无酸味。随后按对照品乙酰化的方法将样品乙酰化。

(3) GC-MS 条件: 采用 RXI-5 SIL MS 色谱柱, 程序升温条件为起始温度 120 °C, 以 3 °C/min 升温至 250 °C/min; 保持 50 min; 进样口温度为 250 °C, 检测器温度为 250 °C, 载气为氦气, 体积流量为 1 mL/min。

2.2.5 相对分子质量分布 本课题组实验室通过高效凝胶渗透色谱法 (high performance gel permeation chromatography, HPGPC) 测定胆南星多糖相对分子质量, 经葡聚糖标准曲线计算得到胆南星多糖的相对分子质量为 5.2848×10^4 。

2.2.6 红外光谱分析 精密称量 2 mg 胆南星多糖与 200 mg 干燥溴化钾粉末并混合均匀, 研磨成极细粉末, 压成薄片, 空白对照采用溴化钾粉末压片而成。分别置于 FT-IR650 傅里叶变换红外光谱仪进行扫描记录。

2.3 动物造模、分组及给药

大鼠适应性喂养 7 d 后随机分为对照组、模型组、丙戊酸钠 (200 mg/kg) 组和胆南星多糖高、低剂量 (200、100 mg/kg) 组, 每组 10 只。采用 ip 脂多糖 (100 μg/kg) 联合热水浴法建立高热惊厥模型, 将对照组大鼠置于 37 °C 水浴, 其余组大鼠置于 45 °C 水浴, 直至大鼠发生惊厥时捞出, 观察大鼠惊厥情况并进行评分, 每 2 天进行 1 次, 共 10 次。各给药组 ig 相应药物 (10 mL/kg), 给药 2 h 后热水浴造模, 末次造模 2 h 后测量肛温, 对照组、模型组给予等体积的生理盐水。末次给药后, 禁食不禁水 12 h, 用 2% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) ip 麻醉, 腹主动脉取血, 3 500 r/min 离心 15 min, 取上清, 于 -80 °C 保存备用。剖取大鼠完整脑组织, 将一侧海马放入 -80 °C 冰箱中保存, 另一侧固定于 4% 多聚甲醛溶液中, 待 HE 切片观察。

2.4 动物行为学考察

末次造模后, 记录每组大鼠惊厥潜伏期、惊厥

持续时间和惊厥级别。惊厥潜伏期指大鼠放入热水中至发生惊厥的时间;惊厥持续时间指大鼠惊厥发生至停止的时间。惊厥级别按照 0 级,没有发生惊厥;1 级,出现点头、眨眼等面部抽搐动行为;2 级,有节律的点头、动须;3 级,前肢阵挛抽搐;4 级,前肢阵挛抽搐且全身强直;5 级,全身强直、跌倒^[16]。

2.5 HE 染色

从 4%多聚甲醛溶液中取出部分海马组织,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,然后进行石蜡包埋、切片(厚度 4~5 μm),最后进行常规 HE 染色,在显微镜下观察各组大鼠海马组织 CA1 及 CA3 区的形态学变化。

2.6 血清及海马组织生化分析

取大鼠血清与脑海马组织,按照 ELISA 试剂盒说明书对血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及海马组织中 GABA、Glu、NLRP3、HMGB1 的含量进行测定。

2.7 代谢组学

2.7.1 样本处理 将血清样本解冻后,每个样本分别吸取 200 μL 置于 1.5 mL 离心管中,加入-20 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的乙腈-甲醇-水(2:2:1)溶剂 600 μL ,4 $^{\circ}\text{C}$ 、14 000 r/min 离心 10 min,取 200 μL 上清液置于带有内衬管的进样瓶中,进样分析。从每个样本的待进样上清液分别吸取 10 μL ,涡旋混合,作为质控样本。分别在进样前后及每组样品间均进样 1 针质控样本,以考察仪器的稳定性。

2.7.2 色谱与质谱条件

(1) 色谱条件:采用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.8 μm),以 0.1% 甲酸水(A)-0.1%甲酸乙腈(B)为流动相,梯度洗脱程序为:0~4 min,5%~50% B;4~6 min,50%~67% B;6~16 min,67%~95% B;16~17 min,95%~5% B;17~18 min,5% B;柱温 35 $^{\circ}\text{C}$;体流量为 0.3 mL/min;进样体积 3 μL 。

(2) 质谱条件:采用电喷雾离子源,在正、负离子模式下进行检测;采集范围 m/z 100~1 200,毛细管电压分别为 3.0、2.5 kV;锥孔电压为 40 V;碰撞能量为 20~35 V;脱溶剂气温度为 400 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气体积流量为 800 L/h;锥孔气体积流量为 50 L/h。质谱校正液为亮氨酸-脑啡肽溶液,以确保化合物相对分子质量测定准确。

2.7.3 数据处理与分析 将采集的代谢组学质谱

原始数据通过 Progenesis QI 软件进行色谱峰对齐、降噪、标准化及归一化预处理,得到相应的 xls 格式的文件,再将数据导入 SIMCA-P 14.1 软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA)、偏最小二乘法判别分析(partil least squares-discrimination analysis, PLS-DA)及正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA),根据变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)>1 且 $P<0.05$ 的变量视为潜在的生物标志物。结合 MetaboAnalyst 6.0 平台和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库对潜在的生物标志物进行代谢通路及生物功能分析。

2.8 统计学分析

所有实验数据均通过 SPSS 26.0 处理,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 胆南星多糖的化学特征

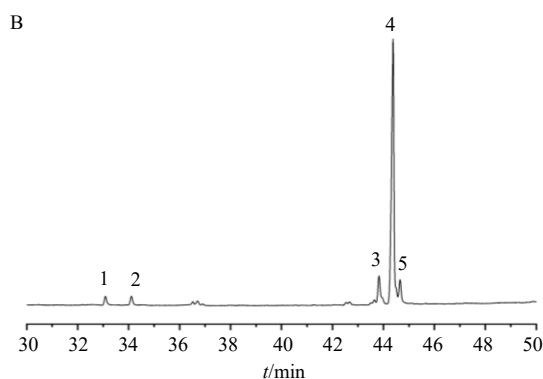
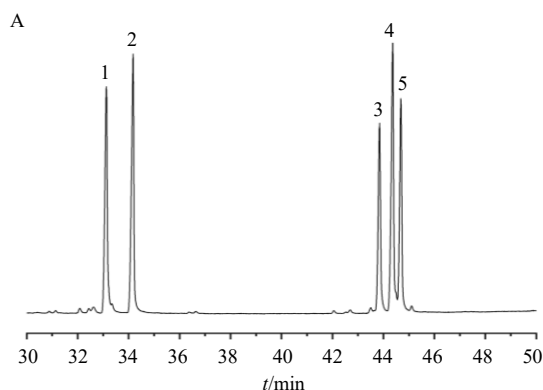
3.1.1 总糖含量 490 nm 波长下测定绘制的葡萄糖标准曲线回归曲线方程为 $y=5.3x+0.0838$, $R^2=0.9975$ 。将 490 nm 波长下测得的胆南星多糖的 A 值代入回归曲线方程,可计算得到胆南星多糖的总糖质量分数为 79.40%。

3.1.2 蛋白质含量 595 nm 波长下测定绘制的蛋白质标准曲线回归曲线方程为 $y=0.7828x+0.2114$, $R^2=0.9991$ 。将 595 nm 波长下测得的胆南星多糖的 A 值代入回归曲线方程,可计算出胆南星多糖的蛋白质质量分数为 2.69%。

3.1.3 糖醛酸含量 530 nm 波长下测定并绘制的糖醛酸标准曲线回归曲线方程为 $y=3.8944x+0.0062$, $R^2=0.9947$ 。将 530 nm 波长下测得的胆南星多糖的 A 值代入回归曲线方程,可计算出胆南星多糖的糖醛酸质量分数为 2.35%。

3.2 胆南星多糖结构表征

3.2.1 单糖组成分析 如图 1 所示,混合对照品中 5 种单糖的出峰顺序依次为阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖。根据样品出峰保留时间以及各峰的碎片离子峰得到胆南星多糖单糖组分主要由阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成,其物质的量比为 0.030:0.260:0.115:0.741:0.088,其中葡萄糖和甘露糖比例较高,说明胆南星多糖主要由葡萄糖和甘露糖组成。



1-阿拉伯糖; 2-木糖; 3-甘露糖; 4-葡萄糖; 5-半乳糖。
1-arabinose; 2-xylose; 3-mannose; 4-glucose; 5-galactose.

图 1 混合对照品 (A) 和胆南星多糖样品 (B) 气相色谱图
Fig. 1 Gas chromatograms of mixed controls (A) and *Arisaema Cum Bile* polysaccharides sample (B)

3.2.2 红外光谱分析 如图 2 所示, 3 600~3 200 cm^{-1} 处的吸收带是-OH 的伸缩振动吸收峰, 该区域的吸收峰是糖类的特征峰。3 377 cm^{-1} 是 O-H 的伸缩振动吸收峰, 是糖类的特征峰; 2 925 cm^{-1} 处的吸收峰可能是 C-H 伸缩振动的吸收峰; 1 631 cm^{-1} 处的吸收峰可能是结晶水的吸收峰; 1 372、1 153、1 080 cm^{-1} 处吸收峰可能归属于 C-O 伸缩振动; 在 1 354、1 241、1 024 cm^{-1} 处的吸收峰可能是 O-H 变角振动; 930 cm^{-1} 处的吸收峰可能是吡喃环的不对称环伸缩振动所致; 851 cm^{-1} 处的吸收峰可能是吡喃环的 α -端基差向异构的 C-H 变角振动; 773 cm^{-1} 处的吸收峰可能是由于吡喃环的对称环伸缩振动所致。

3.3 胆南星多糖对高热惊厥大鼠肛温变化影响

由图 3 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肛温显著升高 ($P<0.01$), 说明发热大鼠模型造模成功; 与模型组比较, 丙戊酸钠组及胆南星多糖组分高剂量组大鼠肛温均降低 ($P<0.01$), 说明胆南星多糖

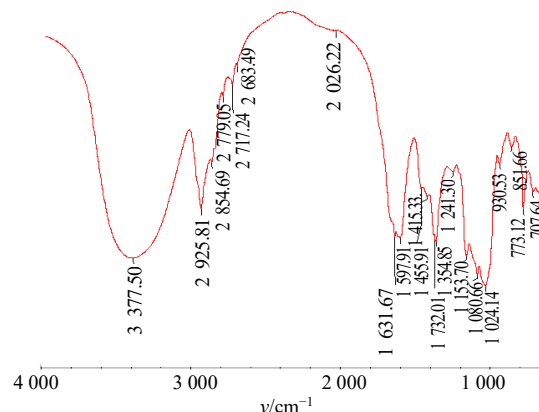
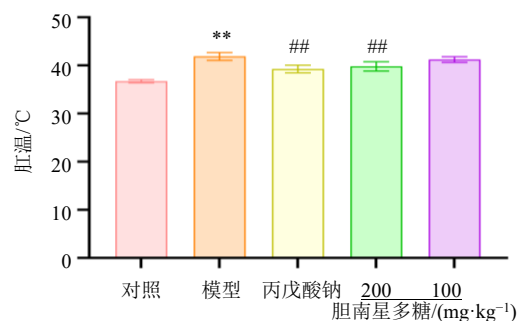


图 2 胆南星多糖的红外光谱图
Fig. 2 Infrared spectra of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides



与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$, 下同。
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group, same as below figures.

图 3 胆南星多糖对高热惊厥大鼠肛温变化影响
($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Effect of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides on change of anal temperature in rats with febrile convulsions
($\bar{x} \pm s, n=10$)

具有解热、拮抗高热惊厥的作用。

3.4 动物行为学考察分析

如表 1 所示, 对照组未发生惊厥现象, 与对照组比较, 模型组表现出前肢痉挛并伴随不同程度的直立、强直阵挛和跌倒等的症状; 与模型组比较, 各给药组均能明显改善小鼠癫痫症状, 同时可显著延长惊厥潜伏期 ($P<0.01$), 缩短惊厥持续时间、降低发作级别 ($P<0.01$), 表明胆南星多糖具有抗惊厥作用。

3.5 胆南星多糖对高热惊厥大鼠海马组织 CA1、CA3 区的影响

如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠海马组织 CA1 区与 DG 区少量神经元呈皱缩状, 细胞核固缩深染, 胞核胞质分界不清; 与模型组比较, 丙

表 1 胆南星多糖对高热惊厥大鼠惊厥发作潜伏期及惊厥持续时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 1 Effects of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides on latency and duration of convulsions in rats with febrile convulsions

($\bar{x} \pm s, n=10$)				
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	惊厥发作潜伏期/s	惊厥持续时间/s	发作级别
对照	—	—	—	—
模型	—	180.83 ± 12.72**	498.75 ± 10.69**	4.60 ± 0.60**
丙戊酸钠	200	240.00 ± 15.33##	320.00 ± 15.83##	2.20 ± 0.40##
胆南星多糖	200	242.83 ± 14.29##	293.37 ± 32.66##	2.50 ± 0.30##
	100	224.67 ± 15.25##	334.52 ± 20.95##	3.10 ± 0.50##

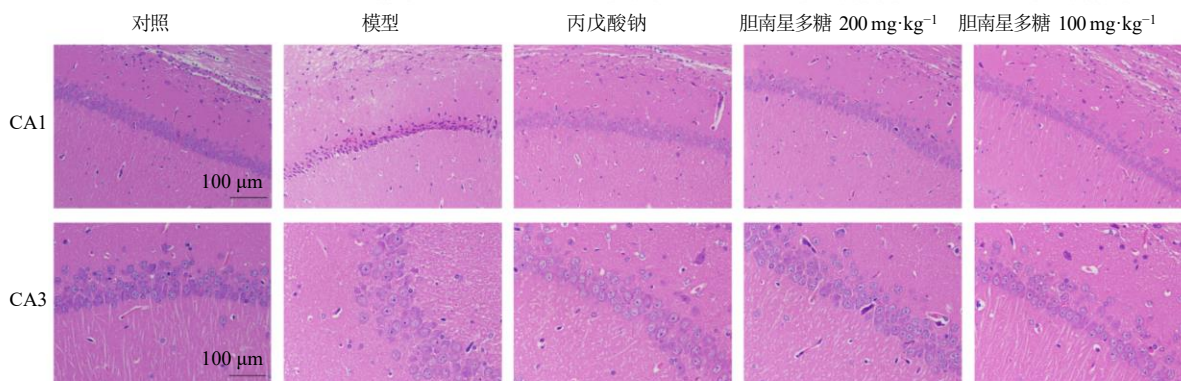
与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group.

图 4 胆南星多糖对高热惊厥大鼠海马组织的影响 (HE, ×200)

Fig. 4 Effects of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides on hippocampal tissues in rats with febrile convulsions (HE, × 200)

戊酸钠组与胆南星多糖高剂量组大鼠神经元数量丰富,排列整齐紧密,结构正常、胞核胞质分界清晰、核仁明显,未见明显炎症;胆南星多糖低剂量组海马体 CA1 区个别神经元呈皱缩状,细胞染色加深,胞核胞质分界不清。结果表明,胆南星多糖高剂量组能有效改善海马神经元细胞形态,保护其免受惊厥引起的神经元损伤,具有一定的神经保护作用。

3.6 胆南星多糖对大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及海马组织中 GABA、Glu、NLRP3、HMGB1 表达的影响

如图 5 所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 与海马组织中 Glu、NLRP3 及 HMGB1 含量均显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,胆南星多糖组分高剂量组能显著降低大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 与海马组织中 Glu、NLRP3 及 HMGB1 含量 ($P < 0.01$),胆南星多糖组分低剂量组能显著降低大鼠血清中 TNF- α ($P < 0.05$)、IL-1 β 和 IL-6 与海马组织中 Glu ($P < 0.05$) 及 HMGB1 含量 ($P < 0.01$);与模型组比较,丙戊酸钠组大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 与海马组

织中 Glu 及 NLRP3 的含量显著降低 ($P < 0.01$),丙戊酸钠及胆南星高、低剂量组能显著升高大鼠海马组织中 GABA 含量 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3.7 代谢组学分析

如图 6-A 所示,对照组与模型组样本在 PCA 得分图中明显分开,表明脂多糖联合热水浴可使大鼠的血清代谢物水平发生明显改变,发热模型诱导成功;给予胆南星多糖组分干预后,较模型组区分亦明显,初步证明了胆南星多糖组分可调节发热大鼠的血清代谢异常。为了更直观反应各组间差异,进一步进行有监督的 OPLS-DA 模式分析,得到相应的 OPLS-DA 得分图,图中两样本分离程度越大,说明分类效果越显著。在正、负离子模式下,对照组和模型组间所建立的模型解释能力参数 R^2_Y 和预测能力参数 Q^2 分别为 (0.995, 0.790)、(0.992, 0.854);胆南星多糖高剂量组和模型组间所建立的模型解释能力参数 R^2_Y 和预测能力参数 Q^2 分别为 (0.999, 0.914)、(0.999, 0.916),表明该模型的解释能力、区分程度以及预测程度均较好,具有良好的解释能

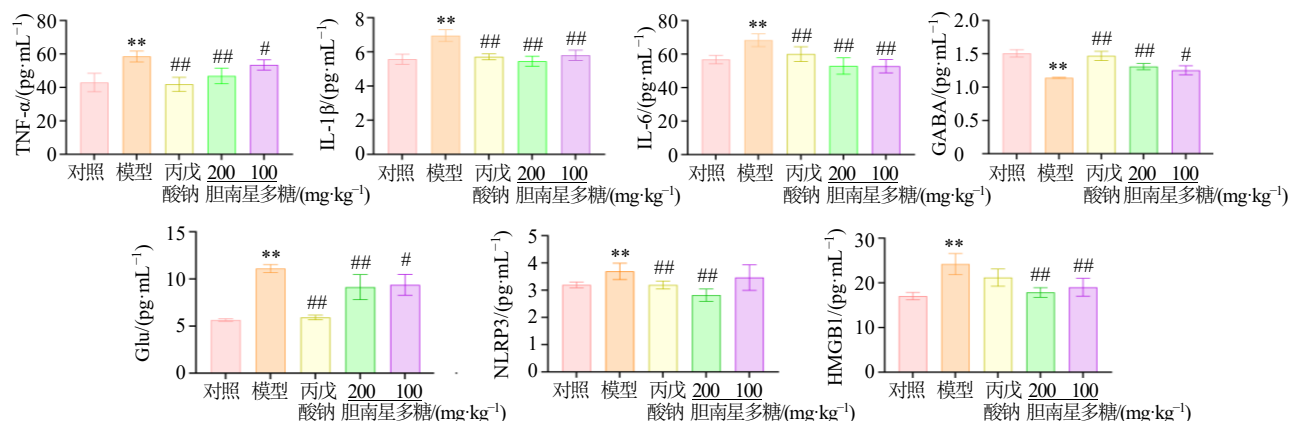
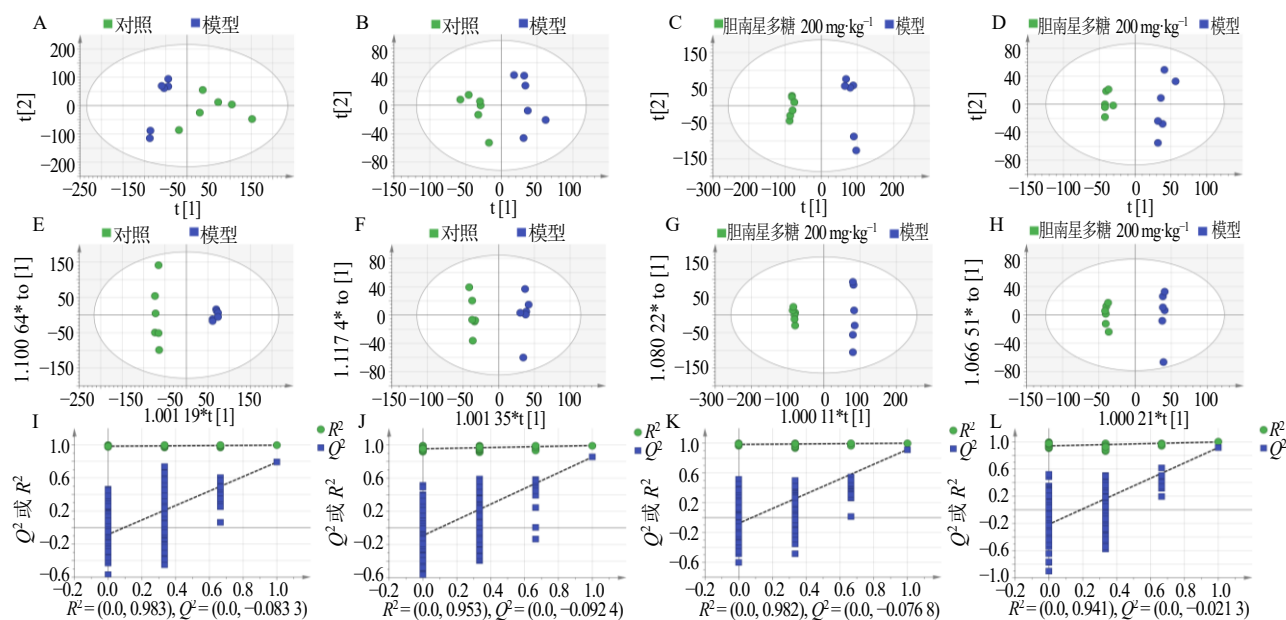


图 5 各组大鼠血清中 TNF-α、IL-1β、IL-6 及海马组织中 GABA、Glu、NLRP3、HMGB1 含量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 Contents of TNF-α, IL-1β and IL-6 in serum and GABA, Glu, NLRP3 and HMGB1 in hippocampal tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)



A-正离子模式下对照组与模型组 PCA 得分图; B-负离子模式下对照组与模型组 PCA 得分图; C-正离子模式下模型组与胆南星多糖高剂量组 PCA 得分图; D-负离子模式下模型组与胆南星多糖高剂量组 PCA 得分图; E-正离子模式下对照组与模型组 OPLS-DA 得分图; F-负离子模式下对照组与模型组 OPLS-DA 得分图; G-正离子模式下模型组与胆南星多糖高剂量组 OPLS-DA 得分图; H-负离子模式下模型组与胆南星多糖高剂量组 OPLS-DA 得分图; I-正离子模式下对照组与模型组的置换检验; J-负离子模式下对照组与模型组的置换检验; K-正离子模式下模型组与胆南星多糖高剂量的置换检验; L-负离子模式下模型组与胆南星多糖高剂量的置换检验。

A-Plot of PCA scores of control and model groups in positive ion mode; B-Plot of PCA scores of control and model groups in negative ion mode; C-Plot of PCA scores of model group and high-dose group of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides in positive ion mode; D-Plot of PCA scores of model group and high-dose group of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides in negative ion mode; E-Plot of OPLS-DA scores of control and model groups in positive ion mode; F-Plot of OPLS-DA scores of control and model groups in negative ion mode; G-Plot of OPLS-DA scores of model group and high dose group of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides in positive ion mode; H-Plot of OPLS-DA scores of model group and high dose group of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides in negative ion mode; I-Replacement test between control and model groups in positive ion mode; J-Replacement test between control and model groups in negative ion mode; K-Replacement test between model group and high-dose group of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides in positive ion mode; L-Replacement test between model group and high-dose group of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides in negative ion mode.

图 6 胆南星多糖对高热惊厥大鼠治疗作用的代谢组学分析

Fig. 6 Metabolomics analysis of therapeutic effect of *Arisaema Cum Bile* polysaccharides on rats with febrile convulsions

力和预测能力。对 OPLS-DA 模型进行 200 次置换检验, 结果如图 6-C 所示, Q^2 的回归线在纵坐标上得截距均小于 0, 可以认为模型未过拟合, 是有效模型。

3.8 差异代谢物鉴定

根据多元统计结果, 以 $VIP>1.0$ 、 $P<0.05$ 为条件, 进一步结合 HMDB 数据库比对血清代谢物的质荷比、二级碎片离子及保留时间, 进而鉴定对照组与模型组、模型组与给药组之间变化显著的代谢物, 结果见表 2。通过上述代谢物结构的鉴定标准, 最终得到血清中有 16 个潜在的生物标志物, 其中正离子模式下有 13 个, 负离子模式下有 3 个,

经胆南星多糖组分干预后, 发热大鼠血清生物标志物被显著逆转, 提示这些潜在的生物标志物对阐明胆南星多糖组分的解热作用机制具有重要的生物功能。

3.9 代谢通路分析

为探索胆南星多糖组分干预高热惊厥大鼠后可能涉及到的代谢通路, 将上述表格中的血清潜在的生物标志物带入 Metabo Analyst 5.0 进行通路分析, 发现有 6 条与生物差异代谢物相关的代谢途径, 分别为花生四烯酸代谢、氨基酸代谢及嘧啶代谢等途径, 表明胆南星多糖组分可能是通过调节上述代谢途径发挥拮抗高热惊厥的作用 (图 7)。

表 2 各组大鼠血清中的内源性潜在生物标志物
Table 2 Endogenous potential biomarkers in serum of rats in each group

序号	离子模式	代谢物	t_R/min	m/z	分子式	对照 vs 模型	胆南星多糖高剂量 vs 模型
1	正离子	(E)-11-二十烯酸	7.45	328.320 0	$C_{20}H_{38}O_2$	↓	↓
2	正离子	十六酰胺	5.96	300.289 1	$C_{18}H_{37}NO_2$	↓	↑
3	正离子	(R)-(-)-1-辛烯-3-醇	5.88	274.274 2	$C_8H_{16}O$	↓	↑
4	正离子	21-羟基孕烷醇酮	12.04	686.536 3	$C_{21}H_{34}O_3$	↓	↓
5	正离子	癸醛	14.82	330.335 7	$C_{10}H_{20}O$	—	↓
6	正离子	(+)- β -citronellol	7.27	330.336 1	$C_{10}H_{20}O$	↓	—
7	正离子	月桂酸	4.28	218.211 4	$C_{12}H_{24}O_2$	↓	—
8	正离子	植烷酸	7.27	330.336 1	$C_{20}H_{40}O_2$	↓	—
9	正离子	正癸酸	5.96	362.326 1	$C_{10}H_{20}O_2$	↓	↑
10	正离子	正辛醛	5.88	274.274 2	$C_8H_{16}O$	↓	↑
11	正离子	2'-脱氧胞苷	0.91	227.090 3	$C_9H_{13}N_3O_4$	↓	↓
12	正离子	花生四烯酸	9.90	305.246 9	$C_{20}H_{32}O_2$	↓	↓
13	正离子	L-蛋氨酸	5.85	299.110 4	$C_5H_{11}NO_2S$	↓	↑
14	负离子	9(S),10(S),13(S)-triHOME	12.20	375.290 5	$C_{18}H_{34}O_5$	↑	↓
15	负离子	9(S),12(S),13(S)-triHOME	12.20	375.290 5	$C_{18}H_{34}O_5$	↑	↓
16	负离子	十四烷二酸	8.13	303.233 3	$C_{14}H_{26}O_4$	↑	—

“↑”表示上调, “↓”表示下调, “—”表示无显著变化。
“↑” indicates up-regulation, “↓” indicates down-regulation, “—” indicates no significant change.

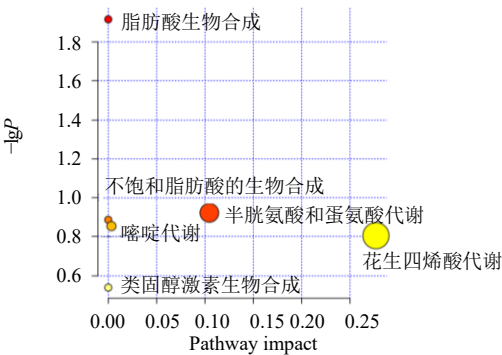


图 7 胆南星多糖干预高热惊厥模型大鼠血清中差异代谢物通路分析

Fig. 7 Analysis of differential metabolite pathways in serum of Arisaema Cum Bile polysaccharides intervention in febrile convulsive model rats

4 讨论

高热惊厥常发生于婴幼儿及儿童时期, 临床症状见体温骤升, 平均温度 $38.5\sim39.0\text{ }^{\circ}\text{C}$, 在高热期并发惊厥症状^[17]。《幼科释谜》云: “小儿之病, 最重唯惊”^[18]。近年来由于其发病率高和逐渐上升的复发趋势, 成为儿科临床脑部疾病的一个重大挑战。有研究表明高热惊厥反复发作可能造成一定程度的脑损伤和认知功能障碍, 因此防治该病至关重要。从中医治疗角度来讲, 惊厥属于“急惊风”范畴, 胆南星具有清热化痰、熄风止痉的功效, 在临床中用于治疗高热惊厥已有千年历史。《本草汇言》记载“如小儿惊风惊痰, 四肢搐搦, ……非胆星不能疗也”^[19]。曾平^[8]研究发现胆南星水提物能够拮抗高热惊厥小鼠脑组织损伤及炎症; 刘晓峰等^[20]研

究表明发酵制胆南星抗高热惊厥及解热作用优于混合制胆南星；本课题组研究发现胆汁酸单体成分胆酸和去氧胆酸能从多个方面发挥抗惊厥作用，胆汁酸类成分是胆南星的有效活性成分^[21]；牛胆汁发酵所制胆南星的水提物可通过调节神经递质紊乱和抑制神经炎症来拮抗高热惊厥，且疗效优于猪胆汁制胆南星^[22]。在探讨胆南星治疗高热惊厥的众多研究中，均未涉及胆南星多糖对该病症的具体作用机制。然而，相关文献已明确指出，多种植物多糖对惊厥症状展现出显著的治疗效果，如美洲京尼帕叶多糖^[23]对戊四唑诱导的癫痫小鼠表现出神经保护作用，具有抗氧化和抗惊厥作用；玉郎伞多糖^[24]能够抑制戊四唑诱导的小鼠急性惊厥发作。且胆南星多糖组分能够显著降低干酵母所致发热大鼠的肛温，抑制炎症反应，并能调节肠道菌群紊乱及下丘脑代谢紊乱^[13]。因此，本研究展开对胆南星多糖拮抗高热惊厥发作的作用机制探讨，以期为该病症的治疗提供新的思路和策略。

高热惊厥与发热密切相关，随着体温的上升惊厥发生率也会升高，温度会影响神经元的电活动，相关研究表明神经组织的温度增加会提高神经元放电的频率、幅度或同步性，导致惊厥发作^[25]，热水浴诱发高热惊厥大鼠模型正是通过提高大鼠体温从而引发惊厥现象。临床研究表明发热的本质是炎症反应，其参与了高热惊厥发生^[26]。发热是由于在感染期间促炎性细胞因子 IL-1、IL-6 及 TNF- α 等介导的炎症反应诱发产生。外周血中的脂多糖可诱导巨噬细胞分泌促炎性细胞因子及抗炎性细胞因子，这些细胞因子能激活 COX-2 以增加前列腺素 E2 产生，诱导发热。同时，促炎性细胞因子（TNF- α 、IL-1 β 、IL-6）和抗炎性细胞因子在大脑中产生。这些细胞因子均被证明可调节神经元传递，并最终导致发热期间惊厥发作^[27]。目前大多数文献仅采用热蒸气或热水浴等方法升高大鼠体温来诱导高热惊厥，但均未考虑到感染诱发炎症这一因素。本研究采用 ip 脂多糖联合热水浴构建高热惊厥模型，具有发热、感染两因素，2 种诱因相辅相成，共同促进了惊厥的发生发展，与儿童高热惊厥的发病机制更为接近。此模型再现了临床高热惊厥症状，因此采用此方法建立疾病模型。

据文献报道，高热惊厥发作时机体温升高，大脑多数情况下处于缺血缺氧状态，海马对这一病理改变敏感性更高，较易引起海马细胞结构的损

伤。Glu 和 GABA 分别为脑中主要的兴奋性神经递质和抑制性神经递质，其含量失衡会导致惊厥的发作^[28]。有研究显示，体内分泌的 IL-1 β 会限制星形胶质细胞吸附谷氨酸的能力，降低 GABA 含量，从而增加了脑兴奋性，其水平升高与惊厥的复发和持续时间有关^[29]。神经炎症既是高热惊厥发生原因也是高热惊厥导致的结果，高热惊厥可诱导海马体炎症反应，释放大促炎细胞因子，包括 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6^[30-31]，脑部炎症会增加神经系统得兴奋性，促进癫痫发作。HMGB1 是炎症性疾病的关键介质，高热惊厥的发病率、严重程度和类型与血清中 HMGB1 水平有关，且水平过度升高会导致患儿后期转化为癫痫的危险因素增加^[32]。NLRP3 是 NLRP3 炎症小体复合物的的重要组成部分，NLRP3 的升高会介导 IL-1 β 的分泌，导致高热惊厥的发生^[33]。

代谢组学固有的敏感性使其能够检测到生物通路的微妙变化，从而有助于深入了解各种生理病理过程的内在机制^[34]。本研究利用 UPLC-Q-TOF-MS 方法，从代谢组学角度探讨胆南星多糖治疗高热惊厥大鼠的作用机制，与对照组比较，模型组大鼠体内十六酰胺、(R)-(-)-1-辛烯-3-醇、正癸酸、正辛醛、L-蛋氨酸和十四烷二酸等 12 个代谢物发生显著性改变；给予胆南星多糖干预后，其代谢产物有明显回调趋势，主要涉及到花生四烯酸代谢、氨基酸代谢、饱和脂肪酸生物合成、不饱和脂肪酸生物合成、类固醇激素生物合成及嘧啶代谢等代谢途径。花生四烯酸是一种二十碳不饱和脂肪酸，当细胞受到刺激后，细胞膜的磷脂酶被激活，裂解膜磷脂，释放出花生四烯酸，后者经环加氧酶和脂氧酶作用生成前列腺素和白三烯等炎症介质，从而导致炎症反应发生^[35]。嘧啶代谢过程紊乱，可能会引起免疫系统、神经系统等相关疾病，抑制嘧啶生物合成则对某些炎症疾病具有一定治疗作用^[36]。氨基酸是维持机体代谢和生长发育所必需的有机化合物，还可作为细胞信号分子调节基因表达^[37]，氨基酸代谢失调可能会增加许多炎症性疾病的易感性，研究表明，蛋氨酸是构成人体蛋白质的必需氨基酸之一，通过启动内源性抗氧化作用进而抑制 NF- κ B 信号通路激活，降低炎症反应，且蛋氨酸抗炎作用与蛋氨酸摄入量呈正相关^[38]。因此，花生四烯酸代谢、蛋氨酸代谢和嘧啶代谢在高热惊厥过程中起到了重要作用。本研究中模型组大鼠在高热惊厥反应期间，血清中花生四烯酸与蛋氨酸被高度激

活,胆南星多糖干预后下调花生四烯酸水平,且 ELISA 结果显示胆南星多糖抑制血清中炎症因子,进而发挥拮抗高热惊厥的作用。然而,本实验未对该发现进行系统的分子生物学验证,课题组后续研究中将深入探讨胆南星多糖组分如何影响炎症过程,特别是其如何通过调节炎症因子来发挥拮抗作用,揭示其拮抗炎症的具体机制。

综上,胆南星多糖组分表现出显著的抗高热惊厥作用,其作用机制可能与解热、保护海马神经元、抑制脑内炎症发生及调节代谢紊乱有关。该研究结果将为胆南星多糖组分临床防治高热惊厥应用提供参考和依据,同时为临床探索中药治疗高热惊厥作用机制提供新的思路和方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 273.
- [2] 袁怡菁,王秋红.胆南星炮制工艺、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(6): 135-139.
- [3] 唐照琦,李彪,王秋红,等.胆南星的化学成分、药理作用及相关复方临床应用的研究进展 [J]. 中国药房, 2020, 31(12): 1523-1527.
- [4] 庄曦柔.基于中医传承辅助平台的方药治疗小儿癫痫用药规律初探 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2020.
- [5] 中华医学会儿科学分会神经学组.热性惊厥诊断治疗与管理专家共识 (2017 实用版) [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(18): 1379-1382.
- [6] 李莉群,倪世宏,许莉萍,等.小儿高热惊厥临床资料分析 [J]. 实用医药杂志, 2008, 25(4): 410-411.
- [7] 王翠玲.热性惊厥的研究进展及合理用药 [J]. 中国临床医生杂志, 2017, 45(3): 18-21.
- [8] 曾平.胆南星抗热性惊厥效应物质基础研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
- [9] Mukherjee S, Jana S, Khawas S, *et al.* Synthesis, molecular features and biological activities of modified plant polysaccharides [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 289: 119299.
- [10] 肖剑辉,王琴,刘作良.甘草多糖对戊四氮点燃癫痫模型大鼠的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(4): 432-435.
- [11] 张金波,张春斌,朱金玲,等.灵芝多糖对戊四氮活化海马神经细胞 NF- κ B 变化的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2008, 2: 379-381.
- [12] 李瑶.胆南星炮制前后成分变化及质量标准研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [13] Su F Z, Bai C X, Zhang W S, *et al.* Polysaccharides from bile *Arisaema* exert an antipyretic effect on yeast-induced fever rats through regulating gut microbiota and metabolic profiling [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 278 (Pt 3): 134823.
- [14] Su F Z, Bai C X, Luo Y, *et al.* Cattle bile *Arisaema* aqueous extracts protect against febrile seizures in rats through regulating neurotransmitters and suppressing neuroinflammation [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 889055.
- [15] 陈树俊,李子琦,王世强,等.山西老陈醋多糖提取纯化及结构鉴定 [J]. 中国酿造, 2024, 43(5): 111-117.
- [16] 武旭.牛胆汁发酵天南星的炮制工艺及其“性-毒-效”研究 [D]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2023.
- [17] 吴亚臻,李琴.中西医结合治疗小儿高热惊厥的临床疗效 [J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(16): 77-81.
- [18] 沈金鳌.要药分剂 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1959: 1.
- [19] 倪朱谟编著.本草汇言 [M]. 戴慎,陈仁寿,虞舜点校.上海: 上海科学技术出版社, 2005: 28-30.
- [20] 刘晓峰,庞博,单国顺,等.胆南星发酵制与混合制的成分鉴别及药效对比研究 [J]. 中药材, 2021, 44(11): 2559-2565.
- [21] 周俊发,乔婷婷,张志宏,等.胆酸和去氧胆酸抗惊厥作用的血清代谢组学研究 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2024, 44(5): 604-614.
- [22] 苏发智,白晨曦,张文森,等.牛胆汁的解热作用及作用机制研究 [J]. 中草药, 2024, 55(10): 3363-3374.
- [23] Nonato D T T, Aragão G F, Craveiro R M C B, *et al.* Polysaccharide-rich extract of *Genipa americana* leaves protects seizures and oxidative stress in the mice model of pentylenetetrazole-induced epilepsy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 172: 116212.
- [24] 栗兰.玉郎伞多糖对戊四唑诱导的急性癫痫模型小鼠的保护作用及机制研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2019.
- [25] Dubé C M, Brewster A L, Richichi C, *et al.* Fever, febrile seizures and epilepsy [J]. *Trends Neurosci*, 2007, 30(10): 490-496.
- [26] 董娜,王爱琼.炎症反应、热性惊厥与继发性癫痫相关性研究进展 [J]. 临床儿科杂志, 2015, 33(10): 896-899.
- [27] 董娜,王爱琼.炎症细胞因子与小儿热性惊厥相关性研究进展 [J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2015, 11(2): 130-132.
- [28] MacMullin P, Hodgson N, Damar U, *et al.* Increase in seizure susceptibility after repetitive concussion results from oxidative stress, parvalbumin-positive interneuron dysfunction and biphasic increases in glutamate/GABA ratio [J]. *Cereb Cortex*, 2020, 30(12): 6108-6120.
- [29] 孙雪,张礼林,王成维,等.基于 NF- κ B/NLRP3/

- Caspase-1 信号通路探讨羚羊角抗高热惊厥的作用机制 [J]. 中药药理与临床, 2023, 39(5): 82-88.
- [30] Biagioni F, Celli R, Puglisi-Allegra S, *et al.* Noradrenaline and seizures: A perspective on the role of adrenergic receptors in limbic seizures [J]. *Curr Neuroparmacol*, 2023, 21(11): 2233-2236.
- [31] Bartolini L, Moran M P, Norato G, *et al.* Differential activation of neuroinflammatory pathways in children with seizures: A cross-sectional study [J]. *Seizure*. 2021, 91: 150-158.
- [32] Engel J Jr, Pitkänen A. Biomarkers for epileptogenesis and its treatment [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 167: 107735.
- [33] 陈莉莉. 热性惊厥患儿外周血中 HMGB1、IL-1 β 和 IL-6 的水平变化及意义 [D]. 十堰: 湖北医药学院, 2023.
- [34] Johnson C H, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: Beyond biomarkers and towards mechanisms [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(7): 451-459.
- [35] Kikut J, Komorniak N, Ziętek M, *et al.* Inflammation with the participation of arachidonic (AA) and linoleic acid (LA) derivatives (HETEs and HODEs) is necessary in the course of a normal reproductive cycle and pregnancy [J]. *J Reprod Immunol*, 2020, 141: 103177.
- [36] 康崇鑫. 基于广靶代谢组学研究柚皮苷与根皮苷治疗溃疡性结肠炎小鼠的作用机制 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2022.
- [37] Takehana S, Yoshida H, Ozawa S, *et al.* The effects of pre-analysis sample handling on human plasma amino acid concentrations [J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 455: 68-74.
- [38] 王正旋. 基于蛋氨酸代谢的大米蛋白抗炎作用机制研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2021.

[责任编辑 罗 曦]