

## 喜炎平注射液对细菌内毒素脂多糖致热家兔的解热作用

郑晨<sup>1</sup>, 蒋春红<sup>2</sup>, 曾君南<sup>2</sup>, 戴岳<sup>1</sup>, 魏志凤<sup>1\*</sup>

(1. 中国药科大学中药学院, 江苏南京 210000; 2. 江西青峰药业有限公司创新天然药物与中药注射剂国家重点实验室, 江西赣州 341000)

**摘要:** 本文主要研究喜炎平注射液对细菌内毒素脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的家兔发热的解热作用, 并初步探讨机制, 为其临床应用提供药理学依据。以 LPS 为诱导剂建立家兔发热模型, 测定直肠温度变化; 测定血清中前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2) 水平; 测定下丘脑和脑脊液中 PGE2、环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 和精氨酸加压素 (arginine vasopressin, AVP) 水平。本文中动物福利和实验过程均遵循中国药科大学动物伦理委员会的规定。结果显示: 喜炎平注射液 (12.5、25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 可显著降低 LPS 所致发热家兔的体温, 作用持续时间可达 5.5~8.5 h。在剂量为 25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup> 时, 喜炎平注射液的退热作用与安乃近注射液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 相当。深入研究发现, 喜炎平注射液和安乃近注射液均不同程度地降低发热家兔血清中 PGE2、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 PLA2 水平。此外, 喜炎平注射液亦显著降低发热家兔下丘脑中 PGE2、cAMP、AVP 水平和脑脊液中 PGE2、cAMP 水平, 升高脑脊液中 AVP 水平。本研究发现喜炎平注射液可显著改善 LPS 所致家兔发热, 其机制与调节血清、下丘脑和脑脊液中 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、PLA2、cAMP 和 AVP 水平密切相关。

**关键词:** 喜炎平注射液; 穿心莲内酯; 内毒素脂多糖; 发热; 解热作用

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)08-1836-05

## Antipyretic effect of Xiyanping injection on bacterial endotoxin lipopolysaccharide-induced fever in rabbits

ZHENG Chen<sup>1</sup>, JIANG Chun-hong<sup>2</sup>, ZENG Jun-nan<sup>2</sup>, DAI Yue<sup>1</sup>, WEI Zhi-feng<sup>1\*</sup>

(1. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210000, China; 2. State Key Laboratory of Innovative Natural Medicine and TCM Injections, Jiangxi Qingfeng Pharmaceutical, Ganzhou 341000, China)

**Abstract:** This paper mainly studied the effect of Xiyanping injection on the bacterial endotoxin lipopolysaccharide (LPS)-induced fever in rabbits, preliminarily investigated the mechanisms, and provided pharmacological basis for the clinical application. The rabbit model of endotoxin-induced fever was established by using LPS as the inducer; The changes of rectal temperature were measured; The levels of prostaglandin E2 (PGE2), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and phospholipase A2 (PLA2) in the serum were measured; The levels of PGE2, cyclic adenosine monophosphate (cAMP), and arginine vasopressin (AVP) in cerebrospinal fluid as well as hypothalamus were detected. The animal welfare and experimental process are in accordance with the regulations of the Animal Ethics Committee of China Pharmaceutical University in this study. The results showed that Xiyanping injection (12.5, 25, and 50 mg·kg<sup>-1</sup>) could significantly reduce LPS-upregulated body temperature of rabbits, and the duration of action could reach 5.5–8.5 h. At the doses of 25 and 50 mg·kg<sup>-1</sup>, the antipyretic effect of Xiyanping injection was comparable to that of analgin injection (50 mg·kg<sup>-1</sup>). Furthermore, Xiyanping injection and analgin

收稿日期: 2019-12-30; 修回日期: 2020-01-29.

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2014ZX09201025).

\*通讯作者 Tel: 86-25-86185143, E-mail: zhifeng-wei@hotmail.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-1069

injection both reduced the levels of PGE2, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and PLA2 in the serum of febrile rabbits to the varying degrees. In addition, Xiyanping injection also down-regulated the levels of PGE2, cAMP, and AVP in the hypothalamus, and PGE2 and cAMP in the cerebrospinal fluid. The level of AVP in the cerebrospinal fluid was up-regulated. This study indicated that Xiyanping injection could significantly improve the endotoxin-induced fever in rabbits, and mechanisms were closely related to the regulation of the levels of PGE2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PLA2, cAMP, and AVP in serum, hypothalamus, and cerebrospinal fluid.

**Key words:** Xiyanping injection; andrographolide; bacterial endotoxin lipopolysaccharide; fever; antipyretic effect

维持体温的相对恒定是机体进行新陈代谢和正常生命活动的必要条件。然而在致热源的作用下, 体温调定点上移, 引起调节性体温升高 (超过 0.5 °C), 机体呈现发热症状。临床中, 发热并非独立的疾病, 而多为相关疾病的临床表现或病理过程, 亦为多种疾病发生的重要信号<sup>[1]</sup>。致热源分为外源性和内源性两类。外源性致热源主要包括细菌、病毒和抗原-抗体复合物等, 多为大分子物质, 通过促进机体释放内源性致热源如白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 等发挥作用。有研究表明, 发热与核因子 NF- $\kappa$ B p65 和环氧合酶-2 等表达水平的升高密切相关<sup>[2]</sup>。此外, 大鼠致热后下丘脑视前区 (preoptic anterior hypothalamus, PO/AH) 体温调定点上移, 产热增加。内源性致热源通过引起中枢体温正性调节介质前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 的释放, 进而作用于 PO/AH, 最终引起发热<sup>[3]</sup>。因此, 抑制内源性致热源和中枢体温正性调节介质的释放为解热药物发挥作用的重要途径。

喜炎平注射液为淡黄色至黄绿色的澄清液体, 其主要成分为水溶性穿心莲内酯总酯碘化物, 含量约为 25 mg·mL<sup>-1</sup>。临床应用喜炎平注射液对儿童社区获得性肺炎及急性支气管炎发热具有显著退热作用<sup>[4,5]</sup>。然而, 喜炎平注射液的解热作用机制尚不明确。本文采用静脉注射细菌内毒素脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 的方法建立家兔发热模型<sup>[6]</sup>, 考察喜炎平注射液的解热作用, 并通过测定 PGE2、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2)、环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 和精氨酸加压素 (arginine vasopressin, AVP) 水平展开初步机制探索。

## 材料与方法

**药品与试剂** 喜炎平注射液 (批号 2016073103, 江西青峰药业有限公司); 安乃近注射液 (批号 15092801, 西安安健药业有限公司); LPS (批号 046M4045V, Sigma-Aldrich 公司); 氯化钠注射液 (批号 160417, 安徽双鹤药业有限公司); 家兔 TNF- $\alpha$  酶联免疫

吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (批号 DRE95136)、家兔 IL-1 $\beta$  ELISA 试剂盒 (批号 DRE95011)、家兔 PGE2 ELISA 试剂盒 (批号 DRE95027)、家兔 PLA2 ELISA 试剂盒 (批号 DRE95028)、家兔 cAMP ELISA 试剂盒 (批号 201811) 和家兔 AVP ELISA 试剂盒 (批号 201811) (上海哈灵生物科技有限公司)。

**实验仪器** 双蒸纯水仪 (美国 Milipore 密理博公司); 超高速冷冻离心机 (湖南湘西仪器装备有限公司); 酶标仪 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]。

**实验动物** 雄性家兔, 2.0~2.5 kg, 南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供 [SCXK (苏) 2012~0008; SYXK (苏) 2016~0017]。饲养于 22 ± 2 °C 环境, 自由摄食和饮水, 适应 3 天后用于后续实验。本文中动物福利和实验过程均遵循中国药科大学动物伦理委员会的相关规定。

**LPS 致热家兔解热作用检测** 每天测定雄性家兔体温 2 次, 剔除体温不正常及体温变化大 (>0.3 °C) 的家兔。实验前禁食 12 h, 但可自由饮水。实验当日检测体温 2~3 次, 取均值作为基础体温。除正常组外, 其余家兔均按 1 mL·kg<sup>-1</sup> 经耳缘静脉注射 LPS (2 mg·L<sup>-1</sup>); 正常组按 1 mL·kg<sup>-1</sup> 经耳缘静脉给予氯化钠注射液。LPS 注射 30 min 后, 测定家兔直肠温度, 并根据体温 (剔除体温升高值 ≤ 0.8 °C 的家兔), 将 LPS 家兔分为模型组、喜炎平注射液 (12.5、25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 组和安乃近注射液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 组, 每组 8 只。其中, 正常组和模型组 (即仅注射 LPS 组) 家兔均给予相应体积的氯化钠注射液; 给药组家兔除注射 LPS 外, 还需给予相应体积的受试药液。随后, 分别测定给药后 0.5、1.5、2.5、3.5、5 和 8 h (即 LPS 注射后 1、2、3、4、5.5 和 8.5 h) 家兔的肛温, 将不同时间点肛温与基础肛温的差值 (升温值) 作为体温变化的指标。

**LPS 致热家兔血清 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 PLA2 水平的检测** 各组家兔均分别在 LPS 注射后 1、2、3 和 8.5 h (即给药后 0.5、1.5、2.5 和 8 h) 取血。方法如下: 将兔仰卧固定于手术台, 剪去心脏部位被毛, 皮肤消毒

后,选择心搏最明显处穿刺,针头刺入心脏后即有血液涌入注射器,取得所需血量后,迅速将针头拔出。静置后于 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min 获得血清。按照 ELISA 试剂盒检测方法测定血清中 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 PLA2 水平,加样于酶标板孔底部,封板膜封板,于 37 °C 温育 30 min。弃去液体,甩干,加入洗涤液,洗涤 5 次。除空白孔外,每孔加入酶标试剂 50  $\mu$ L, 37 °C 温育 30 min,洗涤 5 次。显色剂显色后,加入终止液终止反应,450 nm 波长测量各孔的吸光度值。

**LPS 致热家兔下丘脑和脑脊液 PGE2、cAMP 和 AVP 水平的检测** 根据 LPS 致热家兔解热作用检测方法建立 LPS 致热家兔模型,分为正常组、模型组、喜炎平注射液 (12.5、25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 组和安乃近注射液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 组。LPS 注射后 1 h,麻醉家兔,暴露出枕骨大孔,用注射器从第四脑室抽取脑脊液。随后解剖取下丘脑,采用 ELISA 试剂盒测定 PGE2、cAMP 和 AVP 水平。

**数据统计** 所有数据均用均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。两组比较采用 *t* 检验方法;多组比较采用 One-way ANOVA 方法。若方差非齐性,进一步采用非参数检验。*P* < 0.05 表示具有显著性差异。所用统计软件为 IBM SPSS Statistics 22。

## 结果

### 1 喜炎平注射液对发热家兔升温值的影响

如表 1 所示,与正常组相比,模型组家兔给予 LPS 0.5~8.5 h 后体温显著升高 (*P* < 0.01),且分别在给予 LPS 后的 1 和 3 h 时 2 次达体温高峰,呈现出典型的双相热。与模型组比较,喜炎平注射液 (12.5 mg·kg<sup>-1</sup>) 在给药后 1~5.5 h 可显著降低家兔升温值 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),与已报道结果类似<sup>[7]</sup>;喜炎平注射液 (25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 和安乃近注射液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 在给药后 1~8.5 h 均可显著降低家兔升温值 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),且二者对发热家兔的降温作用相当。

### 2 喜炎平注射液对发热家兔血清 PGE2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和 PLA2 水平的影响

如表 2 所示,与正常组相比,模型组家兔注射 LPS 后 1~8.5 h 血清 PLA2、PGE2、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平均明显升高 (*P* < 0.01),在给予 LPS 后 3 h 均处于高峰水平。与模型组比较,喜炎平注射液 (12.5 mg·kg<sup>-1</sup>) 能明显抑制家兔注射 LPS 后 1~3 h 时相中血清 PLA2、PGE2 和 IL-1 $\beta$  水平的升高 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),喜炎平注射液 (25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 和安乃近注射液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 能显著抑制家兔注射 LPS 后 1~8.5 h 时相中血清 PLA2、PGE2、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平的升高 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01)。

### 3 喜炎平注射液对发热家兔下丘脑和脑脊液 PGE2、cAMP 和 AVP 水平的影响

如表 3 所示,与正常组比较,模型组家兔注射 LPS 1 h 后下丘脑和脑脊液中致热介质 PGE2 和 cAMP 水平均明显升高 (*P* < 0.01)。与模型组比较,喜炎平注射液 (12.5、25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 和安乃近注射液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 均可明显抑制给予 LPS 1 h 后家兔下丘脑和脑脊液中 PGE2 和 cAMP 水平的升高 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01)。

家兔注射 LPS 1 h 后下丘脑和脑脊液中解热介质 AVP 水平明显升高 (*P* < 0.01 或 *P* < 0.05),提示机体在抗 LPS 致热作用中存在体温负调节机制,通过促进 AVP 合成抑制体温升高。静脉注射喜炎平注射液 (25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 明显降低下丘脑中 AVP 水平 (*P* < 0.01),促进下丘脑 AVP 的释放,升高脑脊液中 AVP 水平 (*P* < 0.01)。

## 讨论

发热是感染性或非感染性疾病所触发的一种保守系统反应,通过上调体温调定点引起机体体温升高<sup>[8]</sup>。在研究解热作用时,常以家兔或大鼠为实验对象,而家兔体温变化灵敏、易产生发热反应、且发热表现较为恒定,故最为常用。LPS 是革兰阴性菌内毒素的活性成分,当细菌死亡自溶或黏附于其他细胞时释出内毒素,展现其毒性<sup>[9]</sup>。LPS 自身为外源性致热源,其大量进入血液后可导致“热源反应”,促进单核细胞和巨噬细胞等分泌大量的 PGE2、TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  等发挥作用。此

**Table 1** Effect of Xiyanning injection on heating value of fever rabbits. *n* = 8,  $\bar{x} \pm s$ . LPS: Lipopolysaccharide. <sup>##</sup>*P* < 0.01 vs normal group; <sup>\*</sup>*P* < 0.05, <sup>\*\*</sup>*P* < 0.01 vs model group

Group	Dose /mg·kg <sup>-1</sup>	Temperature difference after injecting LPS at different time points/°C						
		0.5 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5.5 h	8.5 h
Normal	-	0.05 $\pm$ 0.13	0.08 $\pm$ 0.20	0.06 $\pm$ 0.17	0.05 $\pm$ 0.29	0.08 $\pm$ 0.20	0.09 $\pm$ 0.12	0.04 $\pm$ 0.29
Model	-	0.98 $\pm$ 0.10 <sup>##</sup>	1.66 $\pm$ 0.13 <sup>##</sup>	1.53 $\pm$ 0.17 <sup>##</sup>	2.16 $\pm$ 0.14 <sup>##</sup>	1.93 $\pm$ 0.16 <sup>##</sup>	1.69 $\pm$ 0.15 <sup>##</sup>	1.05 $\pm$ 0.19 <sup>##</sup>
Xiyanning injection	12.5	0.99 $\pm$ 0.12	1.41 $\pm$ 0.11 <sup>**</sup>	1.28 $\pm$ 0.16 <sup>*</sup>	1.71 $\pm$ 0.26 <sup>**</sup>	1.59 $\pm$ 0.26 <sup>*</sup>	1.38 $\pm$ 0.19 <sup>**</sup>	0.86 $\pm$ 0.24
	25	0.98 $\pm$ 0.14	1.28 $\pm$ 0.23 <sup>**</sup>	1.05 $\pm$ 0.25 <sup>**</sup>	1.63 $\pm$ 0.33 <sup>**</sup>	1.49 $\pm$ 0.34 <sup>**</sup>	1.26 $\pm$ 0.33 <sup>**</sup>	0.78 $\pm$ 0.27 <sup>*</sup>
	50	0.95 $\pm$ 0.15	1.21 $\pm$ 0.39 <sup>*</sup>	0.94 $\pm$ 0.39 <sup>**</sup>	1.55 $\pm$ 0.43 <sup>**</sup>	1.39 $\pm$ 0.41 <sup>**</sup>	1.19 $\pm$ 0.43 <sup>**</sup>	0.71 $\pm$ 0.29 <sup>*</sup>
Analgin injection	50	1.03 $\pm$ 0.14	1.19 $\pm$ 0.19 <sup>**</sup>	1.00 $\pm$ 0.25 <sup>**</sup>	1.53 $\pm$ 0.18 <sup>**</sup>	1.36 $\pm$ 0.19 <sup>**</sup>	1.16 $\pm$ 0.24 <sup>**</sup>	0.66 $\pm$ 0.18 <sup>**</sup>

**Table 2** Effect of Xiyanning injection on serum levels of PLA2, PGE2, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$  in fever rabbits at different time points.  $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ . PLA2: Phospholipase A2; PGE2: Prostaglandin E2; IL-1 $\beta$ : Interleukin-1 $\beta$ ; TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor- $\alpha$ . <sup>###</sup> $P < 0.01$  vs normal group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs model group

Time after injecting LPS/h	Group	Dose /mg·kg <sup>-1</sup>	PLA2/ng·mL <sup>-1</sup>	PGE2/pg·mL <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$ /pg·mL <sup>-1</sup>	TNF- $\alpha$ /pg·mL <sup>-1</sup>
1	Normal	-	18.46 $\pm$ 7.23	64.72 $\pm$ 28.88	15.05 $\pm$ 1.71	9.42 $\pm$ 2.60
	Model	-	59.95 $\pm$ 10.44 <sup>###</sup>	229.04 $\pm$ 41.85 <sup>###</sup>	60.29 $\pm$ 11.06 <sup>###</sup>	112.73 $\pm$ 43.36 <sup>###</sup>
	Xiyanning injection	12.5	46.29 $\pm$ 13.54*	174.07 $\pm$ 58.29*	40.98 $\pm$ 12.11*	85.50 $\pm$ 16.90
		25	38.35 $\pm$ 6.88**	138.17 $\pm$ 27.47**	31.35 $\pm$ 10.63**	66.80 $\pm$ 22.63*
		50	32.50 $\pm$ 5.06**	90.70 $\pm$ 40.05**	22.33 $\pm$ 5.52**	42.54 $\pm$ 17.65**
	Analgin injection	50	28.55 $\pm$ 8.10**	86.18 $\pm$ 46.34**	20.72 $\pm$ 3.11**	40.76 $\pm$ 15.08**
		Normal	-	25.57 $\pm$ 4.48	65.13 $\pm$ 39.11	19.69 $\pm$ 7.09
2	Model	-	77.82 $\pm$ 24.86 <sup>###</sup>	280.94 $\pm$ 84.66 <sup>###</sup>	57.98 $\pm$ 13.20 <sup>###</sup>	145.38 $\pm$ 30.95 <sup>###</sup>
	Xiyanning injection	12.5	51.28 $\pm$ 14.38*	184.44 $\pm$ 79.47*	42.17 $\pm$ 13.89*	122.96 $\pm$ 30.42
		25	41.43 $\pm$ 11.48**	139.90 $\pm$ 60.89**	33.42 $\pm$ 14.88**	75.58 $\pm$ 28.54**
		50	31.33 $\pm$ 4.88**	87.14 $\pm$ 31.36**	24.53 $\pm$ 6.61**	55.80 $\pm$ 38.54**
	Analgin injection	50	28.98 $\pm$ 3.83**	79.12 $\pm$ 30.63**	22.12 $\pm$ 12.40**	59.71 $\pm$ 34.71**
		Normal	-	32.47 $\pm$ 6.57	49.12 $\pm$ 21.45	26.13 $\pm$ 7.87
	3	Model	-	93.71 $\pm$ 22.74 <sup>###</sup>	296.76 $\pm$ 153.65 <sup>###</sup>	74.53 $\pm$ 9.16 <sup>###</sup>
Xiyanning injection		12.5	67.44 $\pm$ 20.66*	173.55 $\pm$ 45.52	64.53 $\pm$ 7.13*	130.99 $\pm$ 45.68
		25	50.82 $\pm$ 15.10**	88.29 $\pm$ 47.96**	49.10 $\pm$ 9.75**	82.90 $\pm$ 40.21**
		50	42.18 $\pm$ 10.32**	64.96 $\pm$ 21.41**	38.13 $\pm$ 8.26**	42.15 $\pm$ 17.85**
Analgin injection		50	40.66 $\pm$ 17.07**	58.30 $\pm$ 20.60**	35.01 $\pm$ 8.33**	37.88 $\pm$ 15.94**
		Normal	-	33.87 $\pm$ 8.97	34.84 $\pm$ 9.40	24.96 $\pm$ 6.00
8.5		Model	-	78.51 $\pm$ 19.99 <sup>###</sup>	88.73 $\pm$ 33.70 <sup>###</sup>	46.72 $\pm$ 8.65 <sup>###</sup>
	Xiyanning injection	12.5	68.96 $\pm$ 18.05	66.72 $\pm$ 16.64	36.28 $\pm$ 10.95	63.06 $\pm$ 20.18
		25	58.98 $\pm$ 12.50*	56.16 $\pm$ 20.79	31.46 $\pm$ 8.90*	44.39 $\pm$ 10.62*
		50	49.41 $\pm$ 14.91**	49.77 $\pm$ 18.36*	26.57 $\pm$ 10.93**	37.38 $\pm$ 18.71*
	Analgin injection	50	46.19 $\pm$ 11.89**	42.46 $\pm$ 17.15**	25.15 $\pm$ 9.67**	34.34 $\pm$ 5.47**

**Table 3** Effect of Xiyanning injection on PGE2, cAMP, and AVP levels in hypothalamus and cerebrospinal fluid of fever rabbits.  $n = 6$ ,  $\bar{x} \pm s$ . cAMP: Cyclic adenosine monophosphate; AVP: Arginine vasopressin. <sup>###</sup> $P < 0.01$  vs normal group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs model group

Examination site	Group	Dose/mg·kg <sup>-1</sup>	PGE2/pg·mL <sup>-1</sup>	cAMP/nmol·L <sup>-1</sup>	AVP/ng·L <sup>-1</sup>
Hypothalamus	Normal	-	264.91 $\pm$ 26.62	9.33 $\pm$ 1.68	28.17 $\pm$ 3.37
	Model	-	986.88 $\pm$ 212.97 <sup>###</sup>	33.42 $\pm$ 0.70 <sup>###</sup>	99.06 $\pm$ 7.53 <sup>###</sup>
	Xiyanning injection	12.5	759.95 $\pm$ 115.45*	27.77 $\pm$ 2.99**	89.76 $\pm$ 5.54
		25	410.63 $\pm$ 168.20**	17.89 $\pm$ 5.75**	65.24 $\pm$ 18.80**
		50	322.07 $\pm$ 30.00**	14.45 $\pm$ 2.55**	41.46 $\pm$ 10.06**
	Analgin injection	50	210.76 $\pm$ 64.44**	13.74 $\pm$ 3.40**	44.86 $\pm$ 6.71**
		Normal	-	270.88 $\pm$ 39.07	5.96 $\pm$ 0.83
Cerebrospinal fluid	Model	-	793.54 $\pm$ 105.46 <sup>###</sup>	17.77 $\pm$ 4.09 <sup>###</sup>	17.74 $\pm$ 6.08 <sup>###</sup>
	Xiyanning injection	12.5	626.06 $\pm$ 96.28*	13.55 $\pm$ 2.12	21.26 $\pm$ 6.44
		25	456.62 $\pm$ 134.73**	9.91 $\pm$ 3.69**	32.27 $\pm$ 6.52**
		50	324.77 $\pm$ 33.81**	9.37 $\pm$ 1.64**	49.07 $\pm$ 10.01**
	Analgin injection	50	325.00 $\pm$ 77.91**	7.99 $\pm$ 0.99**	54.55 $\pm$ 11.75**

外, LPS 可形成 LPS-LPS-binding protein-soluble CD14 (LPS-LBP-sCD14) 三联复合物, 其作用于 Toll 样受体 4, 激活髓样分化因子, 后者可募集白介素-1 受体相关激酶-1 和白介素-1 受体相关激酶-2, 介导丝裂原活化蛋白激酶和核因子  $\kappa$ B 信号通路的活化, 亦为其介导发热的重要机制<sup>[10]</sup>。因此, LPS 诱导的家兔发热模型常被用作评价清热药的解热作用, 本研究中亦以此建模。

LPS 所诱发的内源性致热源主要包括 PGE2、PLA2、TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  等<sup>[11]</sup>。其中, PGE2 为介导炎症发热过程的重要脂质介质, 经由花生四烯酸途径释放,

受到 PLA2、环加氧酶-2 和 PGE2 合酶等的调控。有研究表明, PGE2 主要通过与其下丘脑视前区的前列腺素 E3 受体结合, 引起发热<sup>[12]</sup>。TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  为 2 种关键的内源性致热源, TNF- $\alpha$  可与 TNF I 型受体和 TNF II 型受体发生相互作用, 参与机体体温调控过程<sup>[13]</sup>; IL-1 $\beta$  则与 Toll 样受体结合, 上调体温调定点诱导发热<sup>[14]</sup>。

此外, 下丘脑作为体温调节中枢, 是体温调控的关键节点, 影响多种中枢介质的合成与释放。在 LPS 作用下, 下丘脑释放的发热介质 cAMP 增多, 产热增加。cAMP 是另一种广泛研究的中枢致热介质, 作用于 PO/AH 温

敏神经元, 改变其放电频率, 提高体温调定点, 在发热性体温调节中具有正调节作用。而 AVP 作为中枢解热介质在发热时体温的负调节中具有重要作用, 它由下丘脑神经元合成, 由神经纤维传递至脑腹中隔区, 通过作用于隔区 V1 受体兴奋热敏神经元和抑制冷敏神经元而致体温降低, 刺激 AVP 的内源性释放并抑制发热<sup>[15]</sup>。

本文研究结果显示, 喜炎平注射液以 12.5、25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量静脉给药, 在给药后 1 h 开始即有明显降低内毒素 LPS 致热家兔体温升高的作用, 降温作用持续时间可达 5.5~8.5 h; 且喜炎平注射液 (25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 对发热家兔的降温作用与安乃近注射液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 的效果相当, 表明喜炎平注射液有显著且持久的退热作用, 并呈一定的剂量相关性, 降温持续时间随剂量增加而延长。深入研究发现, 喜炎平注射液 (25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 和安乃近注射液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 可显著抑制家兔注射 LPS 后 1~8.5 h 时相中血清 PLA<sub>2</sub>、PGE<sub>2</sub>、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平的升高。此外, 通过检测下丘脑和脑脊液中 PGE<sub>2</sub>、cAMP 和 AVP 水平, 发现喜炎平注射液 (12.5、25 和 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 可显著降低发热家兔下丘脑中 PGE<sub>2</sub>、cAMP、AVP 水平和脑脊液中 PGE<sub>2</sub>、cAMP 水平, 明显升高脑脊液中 AVP 水平, 提示其解热作用的发挥与抑制中枢致热介质 PGE<sub>2</sub> 和 cAMP 的合成以及促进中枢解热介质 AVP 释放相关。

**作者贡献:** 郑晨负责完成实验和论文撰写工作; 蒋春红和曾君南负责数据采集和数据分析工作; 戴岳参与实验指导工作; 魏志凤负责实验指导和论文修改工作。

**利益冲突:** 本研究与任何组织和个人均无利益冲突。

## References

- [1] Wang ZD, Sun JH, Pan TQ, et al. Antipyretic mechanism of *Chrysanthemum morifolium* essential oil on fever New Zealand rabbits model induced by endotoxin [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2018, 29: 2053-2056.
- [2] Zhou B, Chen YD, Feng LT, et al. Effect of gypsum rice decoction on antipyretic inflammation and expression of nuclear factor- $\kappa$ Bp65, cyclooxygenase-2 in yeast-induced fever rats [J]. Sci Technol Eng (科学技术与工程), 2018, 18: 165-170.
- [3] Lou DX, Yan D, Guo M, et al. Antipyretic effect of *Isodon eriocalyx* extracts on yeast-induced fever in rats [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 2019, 50: 87-92.
- [4] Zhang XY, Wei W, Jiang YH, et al. A prospective randomized controlled multicenter trial of Xiyanning injection in treatment of children with pneumonia [J]. Chin Pediatr Integr Tradit West Med (中国中西医结合儿科学), 2015, 7: 556-560.
- [5] Wu HY, Guo YH, Wu XN. Clinical observation of Xiyanning injection in treatment of acute bronchitis and fever [J]. China J Chin Med (中医学报), 2013, 28: 1282-1283.
- [6] Ogoina D. Fever, fever patterns and diseases called 'fever'-a review [J]. J Infect Public Health, 2011, 4: 108-124.
- [7] Yu Y, Cong Y, Quan XD, et al. Pharmacodynamics studies of Xiyanning for injection [J]. J Liaoning Univ TCM (辽宁中医药大学学报), 2009, 11: 198-200.
- [8] Song YY, Ren Y, Ji H, et al. Research progress on molecular mechanism of fever [J]. J Pharm Res (药学研究), 2017, 36: 99-103.
- [9] Tang RL, Wang XY. Antipyretic mechanism of Sanyang Qingjie Liquid through sigmoid instillation in rat model with LPS-induced fever [J]. Acta Chin Med Pharmacol (中医药学报), 2019, 1: 34-38.
- [10] Yang YX, Li GY. Progression of lipopolysaccharide signal pathway [J]. J Cent South Univ (Med Sci) (中南大学学报(医学版)), 2006, 31: 141-145.
- [11] Liang WS, Liu YL, Li ZY, et al. Study on antipyretic effect and mechanism of Ban-lian Bai-du Oral-liquid (BBO) [J]. Prog Vet Med (动物医学进展), 2019, 40: 74-78.
- [12] Zampronio AR, Soares DM, Souza GE. Central mediators involved in the febrile response: effects of antipyretic drugs [J]. Temperature (Austin), 2015, 2: 506-521.
- [13] Hirsch J, Astrahan A, Odeh M, et al. Q fever risk in patients treated with chronic antitumor necrosis factor- $\alpha$  therapy [J]. Case Rep Infect Dis, 2016, 2016: 4586150.
- [14] Ingiosi AM, Opp MR. Sleep and immunomodulatory responses to systemic lipopolysaccharide in mice selectively expressing interleukin-1 receptor 1 on neurons or astrocytes [J]. Glia, 2016, 64: 780-791.
- [15] Wan SJ, Chen Z, Zheng J, et al. Studies on antipyretic mechanism of Chaijing injection-interfere with content of AVP and PGE<sub>2</sub> in rat hypothalamus [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2007, 13: 31-33.