

穿心莲内酯衍生物 DAP-Na的药效学研究

韩光^{1,2}, 谢松强¹, 张忠泉¹, 许启泰¹, 杨松松² (1. 河南大学药学院, 河南 开封 475001; 2. 辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110032)

摘要:目的 考察穿心莲内酯衍生物 DAP-Na 的解热、抗炎、抗菌作用。方法 采用干酵母致大鼠发热及内毒素致家兔发热两种模型观察 DAP-Na 的解热作用; 蛋清致大鼠足肿胀及二甲苯致小鼠耳肿胀两种炎症模型观察 DAP-Na 的抗炎作用; 试管培养法观察 DAP-Na 的抗菌作用。结果 DAP-Na 量效关系明显: 300, 150 mg/kg 对干酵母所致的大鼠发热及内毒素所致的家兔发热均有良好的解热作用; 400, 200, 100 mg/kg 对蛋清所致的大鼠足肿胀及二甲苯所致的小鼠耳肿胀均有良好抗炎作用; 试管培养法观察显示 DAP-Na 对大肠杆菌、痢疾杆菌、金葡菌及肺炎球菌均无作用。结论 DAP-Na 有较好的解热及抗炎作用, 但体外无抗菌作用。

关键词: DAP-Na; 药效学; 解热作用; 抗炎作用

中图分类号: R285.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2005)02-0126-04

Studies on pharmacodynamics of andrographolide derivative——DAP-Na

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the antipyretic, anti-inflammatory and antibacterial effects of andrographolide derivative- DAP-Na. **METHOD** The antipyretic effects of DAP-Na were observed in rats of high temperature induced by dried yeast and in rabbits of high temperature induced by endotoxin. The anti-inflammatory effects were observed in rats foot edema induced by egg white and mice ear edema induced by xylene. The antibacterial effects were observed by tube cultivation. **RESULTS** DAP-Na has better antipyretic effects on rats of high temperature induced by dried yeast and rabbits of high temperature induced by endotoxin at the dose of 300, 150mg/kg. DAP-Na has better anti-inflammatory effects on rats foot edema induced by egg white and mice ear edema induced by xylene at the dose of 400, 200, 100mg/kg. **CONCLUSION** DAP-Na manifests obvious antipyretic and anti-inflammatory effects, but it has no antibacterial effects.

KEY WORDS: DAP-Na; pharmacodynamics; antipyretic effects; anti-inflammatory effects

穿心莲内酯 (Andrographolide)系自爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees中提取得到的二萜内酯类化合物,是中药穿心莲的主要有效成分之一,具有解热、抗炎、抗菌、抗病毒等功效。近年来穿心莲内酯及其衍生物的细胞毒活性、抗 HIV 活性、抗生育活性等研究也日益受到重视。临床上多用于上呼吸道感染、急性菌痢、胃肠炎、感冒发热及高血压等心血管疾病的治疗^[1]。

以天然产物中的有效成分为先导化合物,进行结构修饰和改造,是发现新药的重要途径之一。穿心莲内酯衍生物 DAP-Na系穿心莲内酯的磷酸化物钠盐,为一新化合物。基于穿心莲内酯及其衍生物(如穿琥宁、莲必治)临床上主要用于治疗上呼吸道感染、病毒性肺炎、腮腺炎、菌痢等,所以我们首先对 DAP-Na的解热、抗炎、抗菌作用进行了研究,其细胞毒活性等作用研究正在进行中。

1 材料

1.1 药物

DAP-Na注射液(河南大学药物研究所提供,批号:030425);穿琥宁粉针(中美合资黑龙江制药有限公司,批号:030504)。

1.2 菌株

金黄色葡萄球菌(26112),乙型链球菌(32210),大肠杆菌(44102),痢疾杆菌(51252),均由开封市医科所提供。

1.3 动物

昆明种小鼠,体重 18~22g,♂,合格证号:410115;SD大鼠,体重 180~220g,♀♂各半,合格证号:22012;家兔,♀♂各半,1.8~2.2kg,合格证号:42019,均由河南省医学实验动物中心提供。

1.4 试剂

安琪干酵母(湖北安琪干酵母股份有限公司,批号:20030621);内毒素(10EU/皮,中国生物制品研究所,批号:2003-3);二甲苯(河南省焦作市化工三厂,批号:030628);肉汤培养基(上海生物制品研究所)。

1.5 仪器

752型紫外分光光度计(上海医疗器械二厂);HANG-PING FA1004精密电子天平(上海精密科学仪器有限公司天

平仪器厂生产);迈克大夫电子体温计(台湾百略企业股份有限公司制造)。

2 方法与结果

2.1 对干酵母致大鼠发热的影响^[2]

选用健康 SD大鼠,体重 180g~220g,♀♂各半。于实验室环境适应 7d,每天测体温(肛温)1次。实验当日每小时测体温 1次,连续 2次,取其均值作为正常体温,选用体温变化不超过 0.3℃的大鼠供实验用。于鼠背部 sc20%干酵母生理盐水溶液 10mL/kg, 6h后选用体温上升 1.0℃以上的大鼠随机分为 5组,每组 10只。第 1组腹腔 ip生理盐水,第 2组 ip穿琥宁注射液 150mg/kg,第 3、4、5组分别 ipDAP-Na注射液 300, 150, 75mg/kg,各组注射容积均为 1mL/100g,给药后 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 5, 7h各测量体温一次。DAP-Na 300, 150及 75mg/kg对干酵母所致的大鼠发热有良好的解热作用($P < 0.05$),结果见表 1。

2.2 对内毒素致家兔发热的影响^[2]

实验前 5d每日测家兔体温 1次,挑选体温在 38.0~39.5℃,且自身体温变化小于 0.3℃的家兔 50只,1.8~2.2kg,♀♂各半,随机分为 5组,每组 10只,♀♂各半。第 1组于家兔左耳缘 iv生理盐水,第 2组于家兔左耳缘 iv穿琥宁 150mg/kg,第 3、4、5组分别于家兔左耳 ivDAP-Na注射液 300, 150, 75mg/kg,各组注射容积均为 6mL/kg。于给药前测量一次体温作 0时基础体温,给药后立即于家兔右耳缘 iv内毒素 200ng/kg,容量为 1mL/kg,给药后 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 5, 7h各测体温 1次。DAP-Na 300, 150mg/kg对内毒素所致的家兔发热有良好的解热作用($P < 0.05$),但 75mg/kg作用不明显,结果见表 2。

2.3 对蛋清致大鼠足肿胀的影响^[2]

大鼠 60只,180~220g,♀♂各半,随机分为 5组,每组 12只。第 1组 ip生理盐水,第 2组 ip穿琥宁 200mg/kg,第 3、4、5组分别 ipDAP-Na 400, 200, 100mg/kg,各组注射容积均为 1mL/100g。给药前用记号笔标记大鼠右踝关节浸水边界,排水容积法测量 1次致炎前大鼠右足排水容积。给药后立即于大鼠右后脚掌 sc新鲜蛋清 0.1mL/只。测量给药后 1, 2, 3, 5h时的大鼠足排水容积。DAP-Na 400, 200及 100mg/

kg对蛋清所致的大鼠足肿胀有良好抗炎作用 ($P < 0.05$),结果见表 3。

2.4 对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响^[2]

取体重 18~22g 雄性小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只。第 1 组 ip 生理盐水,第 2 组 ip 穿琥宁 200mg/kg,第 3,4,5 组分别 ipDAP-Na400, 200, 100mg/kg,各组注射容积均为 1mL/100g。连续用药 7d,末次用药后 40min,在每只小鼠右耳涂二甲苯 0.05mL,左耳涂蒸馏水,1h 后处死小鼠,剪下耳片,用 0.8cm 打孔器在鼠两耳相同部位各取一耳片。于精密电子天平称重,以两耳片重量差作为肿胀度。DAP-Na 400,

表 1 DAP-Na 对干酵母所致大鼠发热的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 The antipyretic effects of DAP-Na in rats of high temperature induced by dried yeast($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	正常体温	给药后不同时间体温 (°C, h)						
			0.5	1	1.5	2	3	5	7
NS	-	37.77 ± 0.47	1.83 ± 0.33	1.66 ± 0.40	1.56 ± 0.29	1.40 ± 0.36	1.14 ± 0.27	0.93 ± 0.26	0.70 ± 0.31
穿琥宁	150	37.88 ± 0.44	1.29 ± 0.27 ¹⁾	0.68 ± 0.22 ²⁾	0.68 ± 0.21 ²⁾	0.47 ± 0.34 ²⁾	0.02 ± 0.01 ²⁾	-0.02 ± 0.04 ²⁾	-0.04 ± 0.05 ²⁾
DAP-Na	300	37.85 ± 0.47	0.87 ± 0.25 ²⁾	0.33 ± 0.14 ²⁾	0.19 ± 0.15 ²⁾	0.12 ± 0.08 ²⁾	-0.01 ± 0.03 ²⁾	-0.02 ± 0.06 ²⁾	-0.01 ± 0.02 ²⁾
DAP-Na	150	37.96 ± 0.45	1.13 ± 0.31 ¹⁾	0.46 ± 0.30 ²⁾	0.73 ± 0.24 ²⁾	0.28 ± 0.07 ²⁾	-0.02 ± 0.05 ²⁾	0.06 ± 0.03 ²⁾	0.07 ± 0.02 ²⁾
DAP-Na	75	38.06 ± 0.56	1.18 ± 0.35 ¹⁾	0.66 ± 0.27 ²⁾	0.62 ± 0.23 ²⁾	0.40 ± 0.21 ²⁾	0.17 ± 0.11 ²⁾	0.03 ± 0.08 ²⁾	0.02 ± 0.09 ²⁾

注:与 NS 组相比¹⁾ $P < 0.05$,与 NS 组相比较²⁾ $P < 0.01$

Note: Vs NS¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

表 2 DAP-Na 对内毒素所致家兔发热的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 The antipyretic effects of DAP-Na in rabbits of high temperature induced by endotoxin($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	正常体温	给药后不同时间 (h) 体温变化 (°C)						
			0.5	1	1.5	2	3	5	7
NS	-	38.81 ± 0.10	1.52 ± 0.21	1.74 ± 0.24	1.68 ± 0.30	1.38 ± 0.20	1.23 ± 0.19	0.98 ± 0.17	0.62 ± 0.23
穿琥宁	150	38.82 ± 0.16	0.67 ± 0.26 ²⁾	1.04 ± 0.33 ²⁾	0.97 ± 0.14 ²⁾	0.92 ± 0.26 ¹⁾	0.83 ± 0.23 ¹⁾	0.35 ± 0.16 ¹⁾	0.36 ± 0.11
DAP-Na	300	38.88 ± 0.24	0.29 ± 0.19 ²⁾	0.87 ± 0.15 ²⁾	0.52 ± 0.14 ²⁾	0.67 ± 0.15 ²⁾	0.74 ± 0.21 ¹⁾	0.40 ± 0.18 ¹⁾	0.12 ± 0.22 ¹⁾
DAP-Na	150	38.53 ± 0.08	0.59 ± 0.25 ²⁾	0.99 ± 0.23 ¹⁾	1.23 ± 0.25 ¹⁾	0.87 ± 0.22 ¹⁾	0.62 ± 0.25 ¹⁾	0.68 ± 0.27	0.52 ± 0.25
DAP-Na	75	38.86 ± 0.12	0.73 ± 0.26 ¹⁾	1.19 ± 0.21 ¹⁾	1.35 ± 0.26	1.02 ± 0.29	1.13 ± 0.27	0.82 ± 0.23	0.57 ± 0.20

注:与 NS 组相比¹⁾ $P < 0.05$,与 NS 组相比较²⁾ $P < 0.01$

Note: Vs NS¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

表 3 DAP-Na 对蛋清所致大鼠足肿胀的影响 ($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 The anti-inflammatory effects of DAP-Na on rats foot edema induced by egg white($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	原始值 (mL)	不同时间 (h) 的肿胀度 (mL)			
			1	2	3	4
NS	-	0.84 ± 0.08	0.92 ± 0.17	0.87 ± 0.17	0.70 ± 0.16	0.66 ± 0.15
穿琥宁	200	0.95 ± 0.12	0.74 ± 0.17 ¹⁾	0.74 ± 0.17 ¹⁾	0.59 ± 0.18 ¹⁾	0.47 ± 0.20 ¹⁾
DAP-Na	400	1.00 ± 0.12	0.52 ± 0.18 ²⁾	0.50 ± 0.20 ¹⁾	0.41 ± 0.19 ¹⁾	0.32 ± 0.18 ¹⁾
DAP-Na	200	0.87 ± 0.15	0.67 ± 0.20 ²⁾	0.62 ± 0.20 ¹⁾	0.48 ± 0.13 ¹⁾	0.40 ± 0.16 ¹⁾
DAP-Na	100	0.87 ± 0.10	0.81 ± 0.19 ¹⁾	0.80 ± 0.17 ¹⁾	0.62 ± 0.16 ¹⁾	0.54 ± 0.12 ¹⁾

注:与 NS 组比较:¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

Note: Vs NS¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

表 4 DAP-Na 对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 4 The anti-inflammatory effects of DAP-Na on mice ear edema induced by xylene($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	肿胀度 (mg)	抑制率 (%)
NS	-	19.7 ± 3.6	-
穿琥宁	200	12.4 ± 7.0 ¹⁾	35.2 ± 2.7 ¹⁾
DAP-Na	400	6.7 ± 3.1 ²⁾	65.8 ± 4.6 ²⁾
DAP-Na	200	9.2 ± 7.0 ¹⁾	53.1 ± 3.9 ¹⁾
DAP-Na	100	13.0 ± 3.1 ¹⁾	33.4 ± 5.2 ¹⁾

注:与 NS 组相比¹⁾ $P < 0.05$,与 NS 组相比较²⁾ $P < 0.01$

200, 100mg/kg 对二甲苯所致的小鼠耳肿胀有良好抗炎作用 ($P < 0.05$),结果见表 4。

2.5 抗菌作用^[3]

DAP-Na 体外对金黄色葡萄球菌,乙型链球菌,大肠杆菌,痢疾杆菌均未见抑制作用。

2.6 统计分析

所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS12.0 统计包进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 表示有显著性差异, $P < 0.01$ 表示有非常显著性差异。

Note: Vs NS¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

3 讨论

DAP-Na300, 150mg/kg 对干酵母所致的大鼠发热及内毒素所致的家兔发热均有良好的解热作用且作用迅速,给药后 0.5h 就具有明显的解热作用,但 75mg/kg 对内毒素所致的家兔发热的解热作用效果较差。

DAP-Na400, 200 及 100mg/kg 对蛋清所致的大鼠足肿胀及二甲苯所致的小鼠耳肿胀均有明显抗炎作用。其抗炎机制可能为抑制急性炎症早期的毛细血管通透性增加而减少渗出及抑制中性粒细胞^[4]。中性粒细胞在炎症特别是急性

炎症早期有重要作用。中性粒细胞在吞噬过程中产生大量的 O_2^- 及由此转化而成的 H_2O_2 , $\cdot OH$ 等活性氧,活性氧在机体抗御感染、炎症反应和介导组织损伤等过程中起到重要作用。活性氧的积累和趋化肽 (fMLP) 所致的快速 Ca^{2+} 内流是中性粒细胞表面 Mac-1 (CD11b/CD18) 高表达的两个重要信号途径^[5]。

DAP-Na 体外对金黄色葡萄球菌,乙型链球菌,大肠杆菌,痢疾杆菌未见抑制作用。这与报道的穿心莲内酯在体外无抗菌作用相一致^[6]。

参考文献

[1] 王琳,杨静伟,宋凤平.穿心莲的药理作用研究进展[J].中医

药信息,2003,20(6):27.

[2] 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,2002,905~934.

[3] 赵旺胜,杨鹏云,童明庆.诺美沙星体外抗菌活性测定[J].镇江医学院学报,1994,4(1):64.

[4] 陈国祥,丁伯平,徐瑶,等.穿心莲胶囊的抗炎作用研究[J].现代中西医结合杂志,2001,10(11):1004.

[5] 刘新建,王一飞,李贵生.穿心莲内酯及其衍生物的药理研究进展[J].中药材,2003,26(2)135.

[6] Leelarasaee A. Undetectable anti-bacterial activity of Andrographis paniculata[J]. J Med Assoc Thai, 1990, 73: 299.

收稿日期:2004-02-13