

董翔,魏鸿雁,雷哲,等. 骆驼刺提取物对干热环境大鼠生存率的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 74-78.
Dong X, Wei HY, Lei Z, et al. Effect of *Alhagi* extract on survival rate of rats in dry-heat environment [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(10): 74-78.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.013

骆驼刺提取物对干热环境大鼠生存率的影响

董翔¹,魏鸿雁²,雷哲³,许琴¹,宋来阳¹,王红伟¹,刘江伟^{1*}

(1.新疆军区总医院新疆特殊环境医学重点实验室,乌鲁木齐 830000; 2.新疆维吾尔自治区中药民族药研究所,乌鲁木齐 830002; 3.解放军空军军医大学基础医学院四大队十三队,西安 710032)

【摘要】 目的 初步探讨骆驼刺提取物预处理对干热环境下大鼠生存率的影响。**方法** SPF级雄性SD大鼠50只,随机分为5组:空白组(NC组)、溶剂组(SC组)、骆驼刺低剂量组(AL组)、骆驼刺中剂量组(AM组)、骆驼刺高剂量组(AH组),每组10只。SC组用0.5%的羧甲基纤维素钠溶液灌胃,高、中、低剂量组骆驼刺提取物的灌胃剂量分别为1 g/kg、0.33 g/kg、0.10 g/kg。各组大鼠每天灌胃1次,连续7 d后置于干热环境的实验舱中,温度:(41±0.5)℃,相对湿度:(10±1)%。分别于0、50、100、150 min记录大鼠核心体温、体重及死亡时间。**结果** 连续给药期间各组大鼠每日体重变化无显著性差异($P>0.05$)。干热暴露50、100、150 min,AM、AH组核心体温较NC、SC组显著降低($P<0.05$),各组间体重减少率无显著性差异($P>0.05$)。干热环境下大鼠生存时间AM组[(242.15±12.72)min]、AH组[(244.90±12.68)min]均较NC组[(225.90±10.32)min]、SC组[(228.22±7.59)min]、AL组[(227.90±12.25)min]显著延长($P<0.05$),生存率经Log Rank检验AM、AH组较NC、SC、AL组显著升高($P<0.05$)。**结论** 研究首次发现,骆驼刺提取物预处理可能通过延迟核心体温的上升来提高干热环境大鼠的耐热性,从而提高沙漠干热环境大鼠的生存率,其机制尚待进一步研究。

【关键词】 骆驼刺提取物;生存率;干热环境;大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 10-0074-05

Effect of *Alhagi* extract on survival rate of rats in dry-heat environment

DONG Xiang¹, WEI Hongyan², LEI Zhe³, XU Qin¹, SONG Laiyang¹, WANG Hongwei¹, LIU Jiangwei^{1*}

(1. Key Laboratory of Special Environmental Medicine of Xinjiang, General Hospital of Xinjiang Military Command, Urumqi 830000, China. 2. Xinjiang Institute of Chinese Medicine and Ethnic Medicine, Urumqi 830002. 3. The Fourth Brigade, Basic Medicine College of Medical University of PLA Air Force, Xi'an 710032)

【Abstract】 Objective To examine the effect of pretreatment with *Alhagi* extract on the survival rate of rats in a dry-heat environment. **Methods** Fifty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups of 10 rats each: the normal control group (NC group), solvent control group (SC group), *Alhagi* low-dose group (AL group), *Alhagi* middle-dose group (AM group), and *Alhagi* high-dose group (AH group). Rats in the SC group underwent gavage of 0.5% sodium carboxymethyl cellulose solution once a day. Rats in the other *Alhagi* extract pretreatment groups underwent gavage with different doses of *Alhagi* extract (1.00, 0.33, and 0.10 g/kg, respectively) once a day for 7 consecutive days and were then placed in the experimental cabin (dry-heat environment). The temperature was (41±0.5)℃, and the relative

[基金项目] 新疆维吾尔自治区重点实验室开放课题(2017D04011)。
[作者简介] 董翔(1982—),男,硕士研究生,实验师。研究方向:实验动物学。E-mail: 49834420@qq.com
[通信作者] 刘江伟(1970—),男,博士后,主任医师,博士生导师。研究方向:特殊环境医学研究。E-mail: ljw273273@163.com

humidity was $(10 \pm 1)\%$. The core temperature, body weight, and time of death were recorded at 0, 50, 100, and 150 min.

Results During the *Alhagi* administration period, no significant differences in the daily body weight changes were found in each group ($P > 0.05$). After exposure to the dry-heat environment for 50, 100, and 150 min, the core body temperature of rats in the AM and AH groups was significantly lower than that of rats in the NC and SC groups ($P < 0.05$); however, no significant difference in the weight reduction rates was found among the groups ($P > 0.05$). In the dry-heat environment, the survival time of rats in the AM group (242.15 ± 12.72 min) and AH group (244.90 ± 12.68 min) was significantly longer than that of rats in the NC group (225.90 ± 10.32 min), SC group (228.22 ± 7.59 min), and AL group (227.90 ± 12.25 min) ($P < 0.05$). The survival curves were tested by the log rank method, which indicated that the survival rates of rats in the AM and AH groups were significantly higher than that of rats in the NC, SC, and AL groups ($P < 0.05$).

Conclusions To our knowledge, this is the first study to show that pretreatment with *Alhagi* extract can increase the thermotolerance and survival rate of rats in a dry-heat environment. This may occur through a delay in the increase of the core temperature; however, the exact mechanisms need to be further explored.

【Keywords】 *Alhagi* extract; survival rate; dry-heat environment; rat

骆驼刺(*Alagi*)是一种能够抵御极端干旱、寒冷和炎热气候的豆科植物,广泛分布于新疆、青海、甘肃、内蒙古等西北地区的平原荒漠和半荒漠地带,在当地农牧业生产和防风固沙、维持生态平衡中发挥着重要的作用。骆驼刺作为历史悠久的民间医药在《本草纲目》和《维吾尔药志》中均有记载,如根、树皮、叶子和花分别用于治疗疼痛、呼吸障碍、创伤、发热、胃病和性病,全草则治疗感冒发烧,胃腹湿热,肠炎等症状^[1-2]。近年来研究发现骆驼刺的药学特性可归因于存在多种生物活性物质和具有生物活性物质的次生代谢产物,如酚类、黄酮类、生物碱和多糖,以及多种矿物质、蛋白质和脂质^[3],因此骆驼刺作为一种来源丰富,价格低廉的天然药用植物,其药用价值尚待进一步探讨。近年来沙漠干热环境区夏季中暑和热射病呈逐年上升趋势,如何有效防治中暑和热射病的发生是一个亟待解决的问题,根据骆驼刺提取物目前的药物特性和作用机制,笔者推测骆驼刺提取物可能在沙漠干热环境中暑的防治中具有一定的作用,本研究首次将其提取物用于预防干热环境下中暑的研究,为新药研究和优势药材资源的开发利用提供一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 Sprague-Dawley 雄性大鼠 50 只,体重 200 ~ 220 g,由新疆维吾尔自治区实验动物研究中心提供,[SCXK(新)2016-0001]。在新疆军区总医院实验动物科 SPF 级动物实验室完成相关实验[SYXK(新)2016-0003]。本实验获新疆军区总医院伦理委员会批准,批准文号:20180829,且实验过

程遵循 SPF 实验室相关制度及 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

西北特殊环境人工实验舱(新疆军区总医院研制);骆驼刺提取物(新疆维吾尔自治区中药民族药研究所研制),1 g 样品相当于生药 22.7 g;羧甲基纤维素钠(天津光复精细化工研究所);电子秤(上海仪器厂);RM62160C 多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂)等。

1.3 实验方法

所有大鼠适应性饲养 5 d,环境温度 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$,湿度: $(50 \pm 5)\%$,灭菌水食自由摄取。将 50 只 SD 大鼠随机分为 5 组:空白组(NC 组)、溶剂组(0.5%羧甲基纤维素钠溶液灌胃,SC 组)、骆驼刺低剂量组(AL 组)、骆驼刺中剂量组(AM 组)、骆驼刺高剂量组(AH 组),每组 10 只。骆驼刺提取物溶解于 0.5%的羧甲基纤维素钠溶液中,高、中、低剂量组灌胃剂量分别为 1 g/kg、0.33 g/kg、0.10 g/kg,每天 1 次,连续 7 d。第 7 天灌胃结束后 2 h 将全部大鼠放入西北特殊环境人工实验舱中,禁水食,环境温度: $(41 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,相对湿度: $(10 \pm 1)\%$ 。

给药期间每日称量大鼠体重;实验人员在干热暴露 0、50、100、150 min 时间点称量各组大鼠体重,并操作多道生理信号采集处理系统记录核心体温;实验舱监控视频观察记录大鼠死亡时间。

1.4 统计学方法

数据分析应用 SPSS 19.0 统计学软件,计量资料以平均值 $\pm$ 标准差表示($\bar{x} \pm s$),多组间数据比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),Kaplan-Meier 绘制生存曲线并采用 Log-rank 检验分析组间差异,以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 体重、外观及行为活动

如图 1 所示,连续给药期间,各组大鼠体重增加趋势平缓,每日体重变化无显著性差异($P > 0.05$),给药结束后无一例大鼠死亡,观察体态外观及行为活动均未见明显异常。

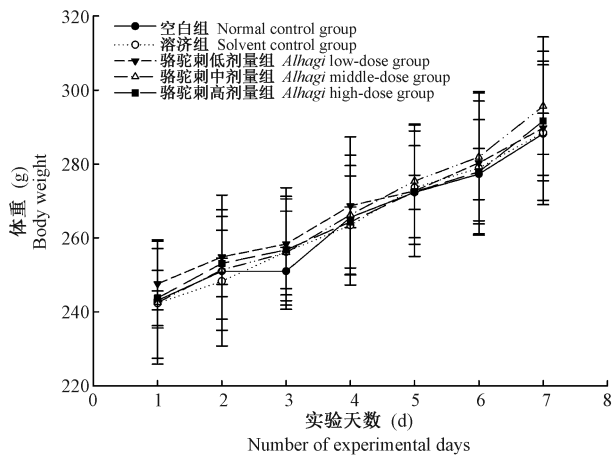


图 1 给药期间大鼠体重的变化

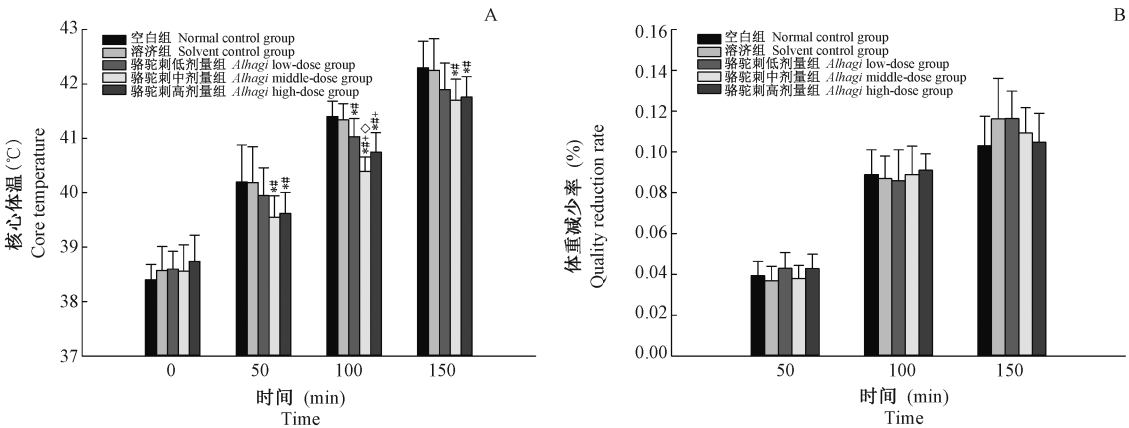
Figure 1 Changes of weight in rats during the Alhagi extract administration

2.2 核心体温及体重的变化

如图 2A 所示,各组大鼠随干热暴露时间的延长核心体温不断上升,0 min 时间点各组核心体温无显著性差异($P > 0.05$);50 min 时间点 AM、AH 组核心体温较 NC、SC 组显著降低($P < 0.05$),其它各组间比较无显著性差异($P > 0.05$);100 min 时间点 AL 组核心体温较 NC、SC 组显著降低($P < 0.05$),AM 组核心体温较其它四组均显著降低($P < 0.05$),AH 组核心体温较 NC、SC、AL 组显著降低($P < 0.05$);150 min 时间点 AM、AH 组核心体温均较 NC、SC 组显著降低($P < 0.05$)。体重减少率=(干热暴露前体重-干热暴露后不同时间点体重)/干热暴露前体重,如图 2B 所示,在 50 min、100 min 和 150 min 时间点各组间体重减少率无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 生存时间

如图 3A 所示,NC 组在 210 min 出现第一例中暑死亡的大鼠,随后各组大鼠随干热暴露时间的延长死亡数量不断增加,Log-rank 检验比较各组数据显示,AM、AH 组生存率较 NC、SC、AL 组均显著升高($P < 0.05$)。如图 3B 所示,暴露在干热环境中 AM、AH 组大鼠生存时间较 NC、SC、AL 组均显著延长($P < 0.05$)。



注:与 NC 组比较,* $P < 0.05$;与 SC 组比较,# $P < 0.05$;与 AL 组比较,* $P < 0.05$;与 AH 组比较,◇ $P < 0.05$ 。

图 2 核心体温和体重减少率的变化

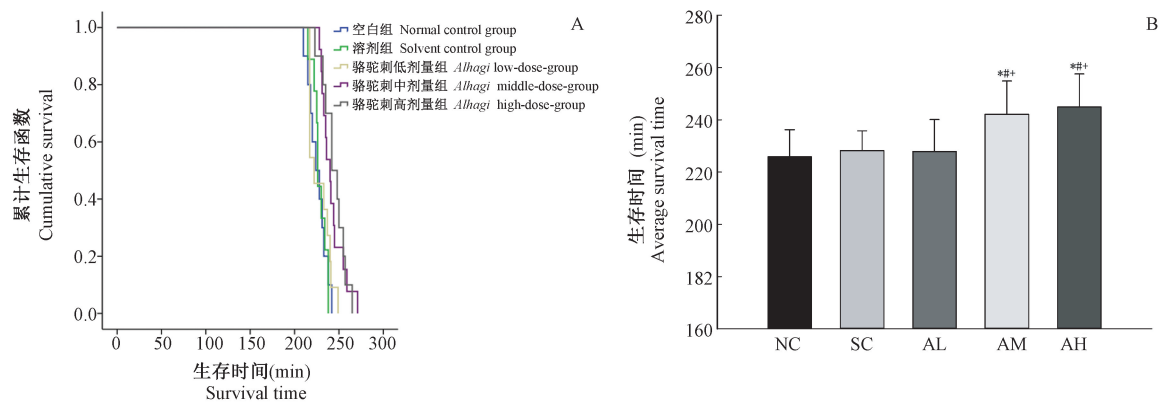
Note. Compared with the NC group, * $P < 0.05$. Compared with the SC group, # $P < 0.05$. Compared with the AL group, * $P < 0.05$. Compared with the AH group, ◇ $P < 0.05$.

Figure 2 Changes of core temperature and weight reduction rate in the rats

3 讨论

中暑是以体温超过 40℃ 为特征的危机生命的

重症疾病,可导致多器官功能障碍和中枢神经系统紊乱,并易出现畸形和高死亡率的疾病。据报道随着全球热浪强度、频率和持续时间的增强到 2050 年



注:与 NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 SC 组比较, # $P < 0.05$; 与 AL 组比较, + $P < 0.05$ 。

图 3 各组生存曲线和生存时间

Note. Compared with the NC group, * $P < 0.05$. Compared with the SC group, # $P < 0.05$. Compared with the AL group, + $P < 0.05$.

Figure 3 Survival curve and survival time of the rats in each group

预计中暑死亡的相关人数将上升约 2.5 倍,因此采用有效可行的预防措施是降低中暑发病及改善预后的重要途径^[4]。中暑的病理生理变化主要包括热调节功能紊乱、蛋白表达异常、肠屏障和凝血功能障碍等,但核心温度上升才是判断机体发生热损伤的决定性因素^[5]。本实验采用骆驼刺提取物预处理暴露于干热环境的大鼠,结果发现各组大鼠随干热暴露时间的延长核心体温同样呈现上升趋势,但在 50、100、150 min 骆驼刺中、高剂量组核心体温均较空白组和溶剂组显著降低,而骆驼刺中、高剂量组之间核心体温无差异性,表明骆驼刺提取物抑制了干热环境下大鼠核心体温的上升,0.33 g/kg 的灌胃剂量可能对热损伤大鼠的保护作用最佳。

前期研究^[6]发现 3 g/(kg·d) 骆驼刺提取物灌胃 SD 大鼠连续 3 个月,对雄性大鼠体重和进食量均有影响,在本实验中采用 1 g/(kg·d) 为骆驼刺提取物灌胃 SD 大鼠的最高剂量,结果表明连续灌胃一周各剂量组间大鼠体重持续上升、体态外观及行为活动均未见明显异常,与前期研究结果^[6] 1 g/(kg·d) 骆驼刺提取物为 SD 大鼠的无明显毒性反应剂量的结果相一致。

黄酮类化合物是广泛存在于植物中的天然活性物质,其多酚类结构具有抗氧化、抗炎、抗诱变、抗癌及调节关键细胞酶功能的能力^[7]。骆驼刺中存在大量的黄酮类化合物,是骆驼刺代谢过程中产生的次生成分^[8]。本实验首次将骆驼刺提取物用于预防干热环境下中暑的研究,结果发现骆驼刺中、高剂量组大鼠的生存时间显著高于空白组、溶

剂组和骆驼刺低剂量组。现有证据表明中暑通常是由暴露于高温环境或剧烈运动造成的热应激所引起,而激活热应激的关键介质是促炎细胞因子级联反应和氧化应激反应^[9]。Mohammad 等^[10]发现提取骆驼刺中的原花青素通过静脉注射可降低心肌梗死动物模型的心肌和血清中磷酸肌酸水平及脂质过氧化作用。另有研究发现从骆驼刺茎枝中提取分离的粗多糖在体外抗氧化活性实验中,具有一定的还原力,也可清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基和羟自由基^[11]。许多疾病如癌症、关节炎、中枢神经系统损伤、胃炎和肝炎等都是由自由基诱发的氧化应激反应所引起的^[3]。新疆传统维吾尔药异常黑胆质成熟剂是由骆驼刺等十多位中药组成的复方药,已证明其抗肿瘤活性与提高机体免疫力有关^[12]。马晓玲等^[13-14]发现骆驼刺乙醇提取物对人胃癌 (BGC-823)、人结肠癌 (HT-29) 等多种癌细胞株的体外抑瘤作用明显,对结肠癌 (CT26) 实体瘤模型也有一定敏感性,且骆驼刺乙醇提取物中的紫柳素、原儿茶醛、tortoside A、4-乙烯基-3-甲氧基苯酚成分具有较强的抑制人宫颈癌 Hela 细胞增殖的作用。Zhou 等^[15]在 LPS 诱导的 N9 细胞体外实验中评价了骆驼刺提取物和纯化组分的抗神经炎症作用,结果显示其多种有效成分都具有显著的神经炎症抑制活性,其中丁香苷和 1,3,3,4-四甲基环戊烯可能是开发抗神经退行性疾病良好的化合物。因此,基于骆驼刺的抗氧化、抗炎症等药理学特性,研究人员认为骆驼刺提取物可能通过抑制热应激引起的炎症和氧化应激反应,对大鼠各重要脏

器具具有保护作用机制尚待进一步研究。

本研究在国内外首次发现,中、高浓度组骆驼刺提取物在相同的干热环境暴露时间点可以明显延缓核心体温的上升,同时可以延长干热环境大鼠的生存时间,因此,笔者推测,骆驼刺提取物可能通过体温调节作用来提高干热环境大鼠的耐热性和生存时间,其机制可能是下一步研究的重要方向。

参考文献:

[1] 陈良,陈刚,徐晓琴.不同部位的骆驼刺中总还原糖与芦丁的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(11):66-69.

[2] 徐晓琴,魏鸿雁,石磊岭,等.维药骆驼刺质量标准研究[J].现代中药研究与实验,2012,26(6):68-71.

[3] Muhammad G, Hussain MA, Anwar F, et al. Alhagi: a plant genus rich in bioactives for pharmaceuticals [J]. Phytother Res, 2015, 29(1): 1-13.

[4] Hifumi T, Kondo Y, Shimizu K, et al. Heat stroke [J]. J Intensive Care, 2018, 6: 30.

[5] Vanos JK, Middel A, Poletti MN, et al. Evaluating the impact of solar radiation on pediatric heat balance within enclosed, hot vehicles [J]. Temperature (Austin), 2018, 5(3): 276-292.

[6] 魏鸿雁,窦勤,马晓玲,等.骆驼刺提取物大鼠灌胃长期毒性实验研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(11):1829-1834.

[7] Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview [J]. J Nutr Sci. 2016, 5: e47.

[8] 石磊岭,耿建忠,魏鸿雁,等.正交设计优化骆驼刺总黄酮提取工艺研究[J].新疆中医药,2014,32(3):58-60.

[9] Chen Y, Tong H, Pan Z, et al. Xuebijing injection attenuates pulmonary injury by reducing oxidative stress and proinflammatory damage in rats with heat stroke [J]. Exp Ther Med, 2017, 13(6): 3408-3416.

[10] Asghari MH, Fallah M, Moloudizargari M, et al. A systematic and mechanistic review on the phytopharmacological properties of Alhagi species [J]. Anc Sci Life, 2016, 36(2): 65-71.

[11] 马虎强,刘洋,张红,等.骆驼刺茎枝粗多糖的理化性质及抗氧化活性研究[J].中国药师,2018,21(1):48-52.

[12] 刘莹莹,邓皖利,刘文先,等.异常黑胆质成熟剂治疗肿瘤的研究进展[J].中华中医药杂志,2015,30(1):156-158.

[13] 马晓玲,刘雪松,魏鸿雁,等.骆驼刺单体化合物的制备及其抗人宫颈癌 Hela 细胞增殖活性的研究[J].新疆医科大学学报,2018,41(4):486-490.

[14] 马晓玲,魏鸿雁,徐晓琴,等.骆驼刺提取物体内外抗肿瘤作用及机制初探[J].天然产物研究与开发,2015,27(3):517-520.

[15] Zhou D, Wei H, Jiang Z, et al. Natural potential neuroinflammatory inhibitors from Alhagi sparsifolia Shap [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(4): 973-978.

[收稿日期]2019-03-08