

葛根素對大鼠體溫調節作用之研究

研究生 邵立珠

中國醫藥學院 中國藥學研究所 藥理學組

摘要

葛根素 (puerarin) 為野葛 (*Pueraria lobata*) 主要活性成分之一，係 isoflavones 類化合物，是中醫臨床上常用之清熱解表藥物，已知為 beta-adrenergic receptor 阻斷劑，具有解痙、抗心率不整、降血壓等作用，此外還具有解熱等作用，但有關 puerarin 解熱降溫作用之機轉至今仍未見有研究報告提出；因此本研究擬就 puerarin 對清醒大鼠之解熱降溫作用機轉進行探討，期能有助於中藥之科學化。

研究結果顯示，由側腦室給予 puerarin (100 μ g/kg, intracerebroventricular injection; i.c.v.) 可引起室溫下 (24 \pm 1) 正常清醒大鼠體溫降低作用，且腹腔給予 puerarin (5-30mg/kg, intraperitoneal administration; i.p.) 可引起一劑量依存性之體溫降低作用，並同步降低大鼠下視丘 serotonin (5-HT) 之濃度；此降溫作用會因側腦室給予 serotonin neurotoxin 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT, 200 μ g/10 μ l, i.c.v.) 或皮下給予 5-HT_{1A} 受體之拮抗劑 (-)-pindolol (0.05, 0.5mg/kg, subcutaneously injection; s.c.) 所減弱，但可被皮下給予 5-HT_{1A} 受體之致效劑 8-hydroxy-dipropylaminotetralin (8-OH-DPAT; 0.05mg/kg; s.c.) 所加強。此外，puerarin 誘發之降溫作用亦會被 5-HT₂ 受體之致效劑 (\pm)-2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI; 5, 10 μ g/10 μ l; i.c.v.; 0.5, 1mg/kg; i.p.)、quipazine (0.1, 1mg/kg; i.p.) 所拮抗，或為 5-HT₂ 受體之

拮抗劑 pirenperone (0.2mg/kg; s.c.)、ketanserin (1mg/kg; i.p.) 所加強。由此可推知 puerarin 可能藉由降低下視丘 serotonin 之濃度，並作用於 postsynaptic serotonin 受體，致活 5-HT_{1A} 受體及阻斷 5-HT₂ 受體，而達到降低體溫之作用。

其次，puerarin (10,30mg/kg; i.p.) 對室溫下細菌內毒素 lipopolysaccharide (LPS; 100μg/kg; i.p.) 所誘發發燒之大鼠，具有明顯及劑量依存性之解熱作用；puerarin (100μg/10μl, i.c.v.; 10, 30mg/kg; i.p.) 對側腦室給予內生性致熱原 IL-1β (10ng/10μl) 誘發之發燒反應與下視丘 serotonin 濃度增加現象，亦具有抑制作用。此外，puerarin (10, 30mg/kg; i.p.) 可明顯抑制 NO donor (S-nitroso-N-acetylpenicillamine; SNAP, 10μg/10μl; i.c.v.)、NO releaser (sodium nitroprusside; SNP; 20μg/10μl; i.c.v.) 和 cGMP 之類似物 8-Bromo-cGMP (100μg/10μl) 及 PGE₂ (100μg/10μl; i.c.v.) 或 cAMP 之類似物 8-Bromo-cAMP (40μg/10μl, intrahypothalamic injection; i.h.) 等熱原媒介物質物所誘發之發燒反應。

綜合以上結果，puerarin 具明顯之解熱降溫作用，其作用機轉可能是藉由抑制中樞 serotonin, nitric oxide 及 prostaglandin 等系統之活性所達成。

SUMMARY

Studies of puerarin on thermoregulatory response in rats

by

Li-Chu Shao

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences

China Medical College

Puerarin is an isoflavone compound isolated from *Pueraria lobata*. The *Puerariae radix* has been used for antipyretic in Chinese. Puerarin, a beta-adrenergic receptor blocker, possesses anticonvulsive, antiarrhythmic and antihypertension effects. It also reduces 2,4-dinitrophenol-induced hyperthermia. However, the effects of puerarin on normal body temperature and pyrogenic fever are unknown. On this account, in the present study, experiments were carried out to assess the effects of puerarin on thermoregulatory responses in unanesthetized rats.

Puerarin (100 μ g/10 μ l, i.c.v.; 5-30mg/kg, i.p.) caused a dose-related fall in both colonic temperature and the 5-HT release in the hypothalamus at room temperature. The serotonin release in the hypothalamus was monitored with a microdialyzed probe in association with microdialysis-high performance liquid chromatography. Puerarin induced hypothermia was attenuated by pretreatment with 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT; a serotonin neurotoxin, 200 μ g/10 μ l; i.c.v., one week ago), or (-)-pindolol (a 5-HT_{1A} receptor/ β adrenoceptor antagonist; 0.05, 0.5mg/kg; s.c.) but potentiated by (\pm)-8-hydroxydiopropylamino-teralin (8-OH-DPAT;

a 5-HT_{1A} receptor agonist; 0.05mg/kg; s.c.). In addition, the puerarin induced hypothermia was attenuated by (±)-2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI; 5-HT₂ receptor agonist; 5, 10µg/10µl; i.c.v.; 0.5, 1mg/kg; i.p.) or quipazine (a 5-HT₂ receptor agonist; 0.5, 1mg/kg; i.p.), but potentiated by ketanserin (5-HT₂ receptor antagonist; 1mg/kg; i.p.) or pirenperone (5-HT₂ receptor antagonist; 0.2mg/kg; s.c.). These results indicate that puerarin may act through 5-HT_{1A} receptor activation or 5-HT₂ receptor antagonism within the brain to induce its hypothermia.

The fever induced by either lipopolysaccharide (LPS, 100µg/kg; i.p.) or interleukin-1β (IL-1β, 10ng/10µl; i.c.v.) was attenuated by treatment with puerarin (100µg/10µl, i.c.v.; 10, 30mg/kg, i.p.). Our microdialysis data revealed that puerarin (10, 30mg/kg; i.p.) reduces the increased 5-HT release in the hypothalamus and fever provoked by IL-1β injection. The hyperthermia induced by either S-nitroso-N-acetylpenicillamine (nitric oxide donor, 10µg/10µl; i.c.v.), sodium nitroprusside (NO releaser, 20µg/10µl; i.c.v.), 8-Bromo-cGMP (cGMP analogue, 100µg/10µl; i.c.v.), PGE₂ (100µg/10µl; i.c.v.), or 8-Bromo-cAMP (cAMP analogue, 40µg/10µl; i.h.) was attenuated by treatment with puerarin (10, 30mg/kg; i.p.) in rats.

In conclusion, puerarin exerts its thermoregulatory response mainly through the serotonergic, nitrergic or prostaglandinergic pathways in the central nervous system of rat brain.

第一章 緒 言

發燒 (fever) 一般是指體溫不正常的升高,當動物受到外來物的侵入時,體內就會產生一連串的抵抗反應,進而引起發燒。臨床上,與脈搏、呼吸速率和血壓等生理指標來相比較,體溫是一種最方便而正確的指標之一,且整個病理的發展以及治療之效果亦可利用體溫的變化加以評估⁽¹⁾;此外,一些感染的疾病如:神經性梅毒 (neuro-syphilis)、慢性關節炎及癌症等,發燒亦有助於體內對這些疾病的抵抗(增加體內免疫系統活性);然而過高或過久之發燒對於人體尤其是腦神經往往會造成無法彌補的傷害⁽²⁾;因此適時適量的給予解熱劑,在臨床上是有其必要性。

葛根為豆科植物豆科植物葛 (*Pueraria pseudohirsuta* TANG et WANG)、野葛 (*Pueraria lobata* (WILLD.) OHWI) 或乾葛藤 (*Pueraria thomsonii* BENTN) 之乾燥根部;首載於神農本草經列為中品,味甘、平,「主消渴,身大熱,嘔吐,諸痺,起陰氣,解諸毒」⁽³⁾,為中醫常用之祛風解表藥,具有解肌退熱、生津、解酒、透疹、升陽止瀉之功,主治對外感發熱,熱盛傷津,身熱口渴,下利泄瀉,項背強痛以及麻疹不透等病症⁽⁴⁻⁵⁾。現代研究證實葛根對平滑肌收縮與血壓調節具有雙相調節作用⁽⁶⁾,並具有抗心率不整⁽⁷⁾、改善腦循環及外週循環等作用⁽⁶⁾。

葛根素 (puerarin) 為葛根之主要成分之一,屬 isoflavonoids;近年來藥理研究發現其為一 β -adrenoceptor 之阻斷劑,可抑制 epinephrine (adrenaline) 對 adenylate cyclase 之活化作用⁽⁸⁻⁹⁾,對腦內之

benzodiazepine receptor 則具有致效作用⁽¹⁰⁾；可促進腦部及心臟血流⁽¹¹⁻¹²⁾、保護心肌、治療心肌梗塞、心絞痛⁽¹³⁻¹⁴⁾、降血壓⁽¹⁵⁾、抗心率不整⁽¹⁶⁾等心血管作用，及促進平滑肌舒張（解痙）^(6,17)之功效；亦可減少體內對酒精之吸收⁽¹⁸⁾，降低血中酒精濃度，具有解酒之效果；1998 年 Dong & Wang 兩位學者研究發現 puerarin 對 glutamine、N-methyl-D-aspartate (NMDA) 或 kainic acid 導致的神經損傷具有保護作用⁽¹⁹⁾；此外，大陸有學者報告指出 puerarin 對 2,4-dinitrophenol 誘發之高溫具解熱之作用⁽²⁰⁾，然有關 puerarin 進一步解熱降溫作用之機轉至今仍並未見有研究報告提出；因此，本研究之目的即針對 puerarin 對室溫下清醒大鼠體溫調節作用之影響進行探討。

由於下視丘為體溫調節中樞，且下視丘之 serotonergic system，在體溫調控上扮演一重要角色⁽²¹⁾，故本研究續利用微透析-高液相層析法 (Microdialysis-HPLC-ECD)，破壞 serotonergic system 之藥物 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) 及影響 serotonergic system 之藥物 5-HT_{1A} 受體拮抗劑 ((-)-pindolol) 或 5-HT₂ 受體拮抗劑 (pirenperone、ketanserin) 及 5-HT_{1A} 受體致效劑 (8-hydroxydipropylamino-tetralin, 8-OH-DPAT) 或 5-HT₂ 受體致效劑 ((±)-2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI); quipazine) 等併用，藉以探討 puerarin 降溫作用與下視丘（體溫調節中樞）serotonin (5-HT) 濃度變化及 serotonin 受體之關係。此外，利用細菌內毒素 lipopolysaccharide (LPS)、內生性致熱原 interleukin-1 β (IL-1 β) 及相關之熱原媒介物質 NO donor (S-Nitroso-N-acetylpenicillamine, SNAP)、NO releaser (sodium nitroprusside, SNP)、cyclic GMP 之類似物

(8-Bromo-cGMP)、prostaglandin E₂ (PGE₂) 或 cyclic AMP 之類似物 (8-Bromo-cAMP) 等誘發大鼠發燒反應之解熱作用及機轉探討。期能有助於中藥之科學化，與新藥之開發。

第二章 總論

第一節 葛根之本草及文獻考察

一、葛根之本草考察

(一) 歷代諸家本草所錄葛根之原文

神農本草經⁽²²⁾：葛根。味甘平。主消渴，身大熱，嘔吐，諸痺，起陰氣，解諸毒。葛穀。主下痢十歲已上。一名雞齊根。

名醫別錄⁽²³⁾：無毒。療傷寒，中風，頭痛，解肌，發表出汗，開腠理，金瘡，止痛，脅風痛。生根汁。大寒，療消渴，傷寒，壯熱。葉。主金瘡，止血。花。主消酒。一名鹿藿，一名黃斤。生汶山川谷，五月採根暴乾。

雷公藥對⁽²⁴⁾：殺野葛，巴豆百藥毒。

陶注⁽²⁴⁾：即今之葛根。人皆蒸食之。當取入土深大者，破而日乾之。生者搗取汁飲之，解溫病發熱。其花並小豆花乾末，服方寸匕，飲酒不知醉。南康、廬陵間最勝。多肉而少筋，甘美，但為藥用之，不及此間爾。五月五日日中時，取葛根為屑，療金瘡、斷血為要藥。亦療瘡及瘡，至良。

新修本草⁽²⁵⁾：葛穀，即是實爾，陶不言之，葛雖除毒，其根入土五、六寸已上者，名葛脰；脰，脛也，服之令人吐，以有微毒也。根末之，主獬狗嚙。并飲其汁，良。蔓，燒為灰，水服方寸匕，主喉痺。

開寶本草⁽²⁶⁾引本草拾遺：葛根生者破血，合瘡，墮胎，解酒毒，身熱赤，酒黃，小便赤澀。可斷穀不飢，根堪作粉。

嘉祐⁽²⁷⁾引藥性論：乾葛。臣。能治天行、上氣嘔逆，開胃下食，

主解酒毒，止煩渴。熬屑治金瘡，治時疾，解熱。

引日華子：葛，冷，治胸膈熱，心煩悶，熱狂，止血痢，通小腸，排膿破血，傳蛇蟲嚙，解毒箭。乾者力同。

圖經本草：葛根。生汶山川谷，今處處有之，江、浙尤多。春生苗，引藤蔓，長一、二丈，紫色；葉頗似楸葉而青。七月著花似豌豆花，不結實。根形如手臂，紫黑色，五月五日午時採根，曝乾。以入土深者為佳，今人多以作粉食之，甚益人。下品有葛粉條，即謂此也，古方多用根。張仲景治傷寒，有葛根及加半夏，葛根黃芩黃連湯，以其主大熱、解肌、開腠理故也。葛洪治腰痛，取生根嚼之，嚙其汁，多益佳。葉主金刃瘡，山行傷刺血出，卒不可得藥，但搗葉傳之，甚效。正(貞)元廣利方：金瘡中風瘞欲死者，取生根四兩切，以水三升煮取一升，去滓分溫四服；口噤者，灌下即差。

經史證類大觀本草⁽²⁸⁾引食療本草：葛根，蒸食之，消酒毒，其粉亦甚妙。

引聖惠方：治時氣頭痛壯熱。用生葛根洗淨，搗取汁一大盞，鼓一合，煎至六分，去鼓，不計時候，分作二服，汗出即差。未汗再服。若心熱，加梔子仁十枚同煎，去滓服。又方：治小兒熱渴久不仁。用葛根半兩細銼，水一中盞，煎取六分，去滓，頻溫服。

引外臺秘要：治傷筋絕，搗葛根汁飲之。葛白屑熬令黃，傳瘡止血。

引千金方：酒醉不醒，搗葛根汁飲一、二升，便醒。

引肘後方：治卒乾嘔不息，搗葛根，絞取汁，服一升，差。」又方：治金瘡中風瘞欲死。搗生葛根一斤，咀，以水一斗，煮取五升，去滓，取一升服。若乾者，搗末，溫酒調三指撮。若口噤不開，但多服竹瀝；又多服生葛根，自愈，食亦妙。又方：服藥失度，心中苦煩。飲生葛根汁，大良。無生者，搗乾葛末，水服五合；亦可煮服之。又方：

食諸菜中毒，發狂煩悶，吐下欲死。煮葛根汁飲之。

引梅師方：治金中經脈，傷及諸大脈皆血出，多不可止，血冷則殺人。用生葛根一斤銼，以水九升，煎取三升，分作三服。

又方：「治虎傷人瘡。取生葛根煮濃汁，洗瘡。兼搗葛末，水服方寸匕，日夜五、六服。」又方：「治傷寒初患二、三日，頭痛壯熱。葛根五兩，香豉一升細銼，以童子小便六升，煎取二升，分作三服，取汗。觸風，食 豉粥。」又方：「治熱毒下血，或因吃熱物發動。用生葛根二斤，搗取汁一升，并藕汁一升，相和服。」

引廣利方：治心熱吐血不止，生葛根汁半大升，頓服，立差。

引傷寒類要：治傷寒有數種，庸人不能分別，今取一藥兼治。天行病，若初覺頭痛，內熱，脈洪，起至二日。取葛根四兩，水三升，內豉一升，煮取半升服。搗生根汁尤佳。又方：治妊娠熱病心悶。取葛根汁二升，分作三服。

本草衍義：葛根。澧、鼎之間，冬月取生葛，以水中揉出粉，澄成朶，先煎湯使沸，後擘成塊下湯中，良久，色如膠，其體甚韌，以蜜湯中拌食之。擦少生薑尤佳。大治中熱，酒、渴疾。多食，行小便，亦能使人利、病酒及渴者，得之甚良。彼之人又切入煮茶中以待賓，但甘而無益。又將生葛根煮熟者，作果賣。虔、吉州、南安軍亦如此賣。」

本草綱目⁽²⁹⁾：葛。本經中品。

(校正) 併入開寶葛粉。

(釋名) 時珍曰：葛從曷，諧聲也，鹿食九草，此其一種，故曰鹿藿，黃斤未詳。

(集解) 時珍曰：葛有野生有家種，其蔓延長，取治可作絺綌，其根外紫內白，長者七、八尺，其葉有三尖如楓葉而長，面青背淡，其花成穗，纍纍相綴，紅紫色，其莢如小黃豆莢，亦有毛，其子綠色，扁扁

如鹽梅子核，生嚼腥氣，八、九月采之。本經所謂葛穀是也，唐蘇恭（敬）亦言葛穀是實，而宋蘇頌謂葛花不結實，誤矣，其花曬乾，亦可蝶食。

（氣味）甘辛。平。無毒。王好古湯液本草曰：氣平味甘，升也，陽也，陽明經行經的藥也。

（主治）時珍曰：散鬱火。開寶曰：葛粉止渴，利大小便。解酒去煩熱，壓丹石，傅小兒熱瘡，搗汁飲，治小兒熱痞。

（發明）張元素潔古珍珠囊曰：升陽生津，脾虛作渴者，非此不除，勿多用，恐傷胃氣，張仲景治太陽陽明合病桂枝湯內加麻黃、葛根，又有葛根黃芩黃連解肌湯，是用此以斷太陽入陽明之路，非即太陽藥也。頭顛痛如破，乃陽明中風，可用葛根蔥白湯，為陽明仙藥。若太陽初病，未入陽明，而頭痛者，不可便服升麻葛根發之，是反引邪氣入陽明，為引賊破家也。

朱震亨本草衍義補遺曰：凡癩痘已見紅點，不可用葛根升麻湯，恐表虛反增班爛也。

李杲用藥法象曰：乾葛其氣輕浮，鼓舞胃氣上行，生津液，又解肌熱。治脾胃虛弱泄瀉聖藥也。

徐用誠本草發揮曰：葛根氣味俱薄，輕而上行，浮而微降，陽中陰也，其用有四：止渴，一也；解酒，二也；發散表邪，三也；發瘡疹難出，四也。

時珍曰：本草十劑云，輕可去實，而麻黃、葛根之屬，蓋麻黃乃太陽經藥，兼入肺經，肺主皮毛，葛根乃陽明經藥，兼入脾經，脾主肌肉，所以二味藥皆輕揚發散，而所入迥然不同也。

龐安常傷寒論曰：預防熱病，急黃賊風，葛粉二升，生地黃一升，香豉半升，為散，每食後米飲服方寸匕，日三服，有病五服。

（附方）龐安常傷寒論：預防熱病，急黃賊風，葛粉二升，生地一

升，香鼓半斤，為散，每食後來飲，服方寸匕，日一服，有病五服。

食醫心鏡：煩躁熱渴，葛粉四兩，先以水浸粟米半升，一夜漉出，拌勻煮熟以磨飲和食。

聖惠方：辟瘴不染，生葛搗汁一小盞服，去熱毒氣也。又方：血不止，生葛搗汁服，三服即止。又方：解中鳩毒，氣欲絕者。

梅師方：熱毒下血，因食熱物發者，生葛根二斤，搗汁一升，入藕一升，和服。

肘後方：潛腰疼痛，生葛根嚼之，嚥汁，取效乃止。

葛穀(氣味) 甘平、無毒。

(主治) 時珍曰：解酒毒。

葛花(氣味) 同穀。

(主治) 時珍曰：腸風下血。

蔓 (主治) 時珍曰：消癰腫。

(附方) 新三

衛生易簡方：婦人吹乳，藤蔓燒灰，酒服二錢，三服效。

千金方：癰子初起，葛蔓燒灰，水調傅即消。

聖惠方：小兒口噤，病在咽中如麻豆許，令兒吐沫，不能乳食，葛蔓燒灰一字，和乳汁點之，即 。

(附錄) 鐵葛，陳藏器本草拾遺曰：根。味甘。溫。無毒。主一切風，血氣羸弱，令人壯健，久服治風緩偏風，生山南峽中，葉似枸杞，根如葛，黑色。

圖考長編⁽³⁰⁾引嶺南雜記：葛根大如臂，有如瓜者，剖而食之，甘如梨，白如蘿蔔。可以為粉。

引南越筆記：高州多種葛，雷州人市之為絺綌。秋霜時有葛花菜，即葛乳，涌生地上，如芝如菌，色赤，味甘脆微苦，其性涼，乃葛之精華也，亦曰葛蕈。

引救荒本草：葛根今處處有之，苗引藤蔓，長二、三丈。莖淡紫色，葉頗似楸葉而小，色青，開花似豌豆花，粉紫色，結實如皂莢而小。根形如手臂，掘取根，入土深者水浸洗淨，蒸食之。或以水中揉出粉，澄濾成塊，蒸煮皆可食，及採花曬乾。蝶食亦可。吳其濬按「寧都州凡宴客將徹，必以嫩葛根一盤解醒，勸客殷勤，多不遽出，必俟頻催而後獻，故作事濡滯者，人每譏之曰如出葛。長寧曰葛瓜，以飭盤。滇南斧切作片，粥於亦以止渴。」

引爾雅翼：「雞齊一名鹿藿，一名黃斤，今之食葛，非為絺綌者也。」吳其濬曰：「其生延蔓，甚者其蔓首至根可二十步，人皆掘食之，生食甘脆，亦可蒸食。有粉。今江南人凶歲則掘取以禦凶荒，大抵南康、廬陵者最勝，多肉而少筋，甘美。其花藤皆可醒酒，而去酒毒，服方寸匕，飲酒不知醉。」博物志曰：「野葛食之殺人，家種之，三年不收；後旋生，亦不可食」；吳都賦：「食葛香茅。注云：食葛蔓生，與山葛同，根特大，美於芋也。」，又曰：「葛，絺綌草也。」；國風曰：「葛之覃兮，施于中谷；惟葉莫莫，是刈是穫。」，又曰：「葛生蒙楚，斂蔓于野；旄邱之葛兮，何誕之節兮。葛生山澤間，其蔓延盛者，牽其首以至根，可二十步。」，釋邱云：「前高後下曰旄邱，旄邱之葛，其節誕闊，此言雖同根一體，然相去差遠，其緩急不相應也。故曰叔兮伯兮，何多日也。黎之望於衛，交如此矣。」吳都賦：「蕉葛升越，弱於羅紈。禹貢卉服，注云草服葛越。葛花、藤均可醒酒，去酒毒。」

引越絕書：葛山者，勾踐種葛，使越女織治葛布，獻於吳王夫差。去縣七里。

引周書李遷哲傳：太祖令與田宏同討信州，及田宏旋軍，太祖令

遷哲留鎮白帝，更配兵千人，馬三百匹。信州先無倉儲，軍糧匱乏，遷哲乃收葛根造粉，兼米以給之。遷哲亦自取供食，時有異膳，即分賜兵士，有疾患者，又親加醫藥。以此軍中感之，人思效命。

引雒南縣志物產：葛可為布，諸山之產最多，民止知秣畜、紋索、供饗具耳。洪令其道始教之為布，實非難成。後王令象良亦教之，終怠廢不率，誠可重歎！

引說文解字注：「葛，絺綌艸也。」詩經周南：「葛之覃兮，為絺為綌。從艸，曷聲，古達切，十五部。蔓，葛屬也；此專謂葛屬，則知滋蔓字古祇作曼，正如蔓延字多作莖。從艸，蔓聲，無販切，十四部。杲，葛屬也。白華。」引南山經：「其名曰白咎」；引廣雅曰：「杲蘇，白咎也。按未知即此物與否。從艸，皋聲，古勞切，古音在三部，咎音同。」

圖考⁽³¹⁾曰：「葛。本經中品。今之織絺綌者，有種生、野生二種。

救荒本草，花可蝶食，根可為粉，其蕈為葛花菜。贛南以根為果，曰葛瓜，宴客必設之。爾雅翼以為食葛名雞齊，非為絺綌者，蓋園圃所種，非野生有毛者耳。周詩詠葛覃，周官列掌葛。今則嶺南重之，吳越亦鈔。無論燕、豫、江西、湖廣，皆產葛。凡採葛，夏月葛成，嫩而短者留之；一丈上下者，連根取，謂之頭葛。如太長，看近根有白點者，不堪用。無白點者，可截七八尺，謂之二葛。凡練葛，採後即挽成網，緊火煮爛熟，指甲剝看，麻白不粘青即剝下，就流水捶洗淨，風乾露一宿，尤白。安陰處，忌日色。紡以織。凡洗葛衣，清水揉，梅葉洗湔，夏不脆。或用梅樹搗碎，泡湯入瓷盆內洗之，忌用木器則黑。然嶺北女工多事芋。南昌惟西山葛著稱，贛州則信豐、會昌、安遠諸處，皆治葛。有家園種植者，亦有野生者，而葛布多雜蕉絲，乍看鮮亮悅目，入水變色，質亦脆薄。用純葛絲則韌而耐久，沾汗不污。會昌之精者，澣績更艱。葛一斤，擇絲十兩績之，半年治成一端。會昌、安遠有以湖絲配入

者，謂之絲葛。湖南舊時潭州、永州皆貢葛，今惟永州有上供葛。葛生祁陽之白鶴觀，太白嶺諸高峰，芒種時採，煮以灰，而濯之，而曝之，白而擘為絲，紡以為布，如方目紗，製為衫不可浣，污者灑以水，垢逐水溜無痕也。興寧縣亦蒔之。里老云，葛有二種，遍體皆細毛者可績布，曰毛葛；遍體無毛者，曰青葛，不可績。惟以為束縛，則又毛葛所不逮。又毛葛亦有二種：蔓延於草上者，多枝節而易斯，成布不耐久；惟緣地而生者，有葉無枝，成布較勝於苧。廣西葛以賓州貴縣者佳；鬱林葛尤珍，明內監教之織為龍鳳文也。粵之葛以增城女葛為上，然不鬻於市。彼中女子，終歲乃成一疋，以衣其夫而已。其重三四兩者，未字少女乃能織，已字則不能，故名女兒葛。所謂北有姑絨，南有女葛也。其葛產竹絲溪、百花林二處者良，采必以女。一女之力，日采祇得數兩，絲縷以鍼不以手，細入毫芒，視若無有，卷其一端，可以出入筆管。以銀條紗襯之，罪微蕩漾，有如蝸蟬之翼。然日曬則驟，水浸則蹙縮，其微弱不可恒服。惟雷葛之精者，細滑而堅，色若象牙，名錦囊葛，裁以為袍，直輟，稱大雅矣，故今雷葛盛行天下。雷人善織葛，其葛產高涼、碭洲，而織於雷。為絺、為綌者，分村而居，地出葛種不同，故女手良與楛功異焉。其出博羅者，曰善政葛；出潮陽者，曰鳳葛，以絲為緯，亦名黃絲布。出瓊山、澄邁、臨高、樂會輕輻而細，名美人葛。出陽春者，曰春葛，然皆不及廣之龍江葛堅而有肉，耐風日也。詩正義云：葛者，婦人之所有事，雷州以之，增城亦然。其治葛無分精粗，女子皆以鍼絲之乾燃成縷，不以水績，恐其有痕跡也。織工皆東莞人，與尋常織苧麻者不同。織葛者名為細工，織成弱如蟬翅，重僅數銖，皆純葛無絲。其以蠶絲緯之者，浣之則葛自葛，絲自絲，兩者不相聯屬。純葛則否。葛產綏寧福都山中，采者日得觔，城中人買而績之，分上、中、下三等為布。陽春亦然，其細葛不減增城，亦以紡緝精而葛真云。

雩婁農（吳其濬）又曰：「葛者、上古之衣也，質重不易輕，吳蠶盛而重者賤矣；質韌不易柔，木棉輿而韌者賤矣；質黃不易白，苧麻繁而

黃者賤矣。乃治葛者與絲爭輕，與棉爭軟，與苧爭潔，一疋之功，十倍於絲與棉、與苧。其直則倍於絲，而五倍棉與苧，於是治葛者能事畢而技盡矣，而受治者力亦盡矣。褐之壽以世，帛之壽以歲，麻之壽以月，今是葛也，日之焦，風之絕，浣之懈，歲之折，其壽幾何？聖人盡物之性，而不盡物之力；因其重與韌、與黃，而葛之壽於是次於褐，均於帛，逾於麻。」

(二) 葛根之本草系統圖

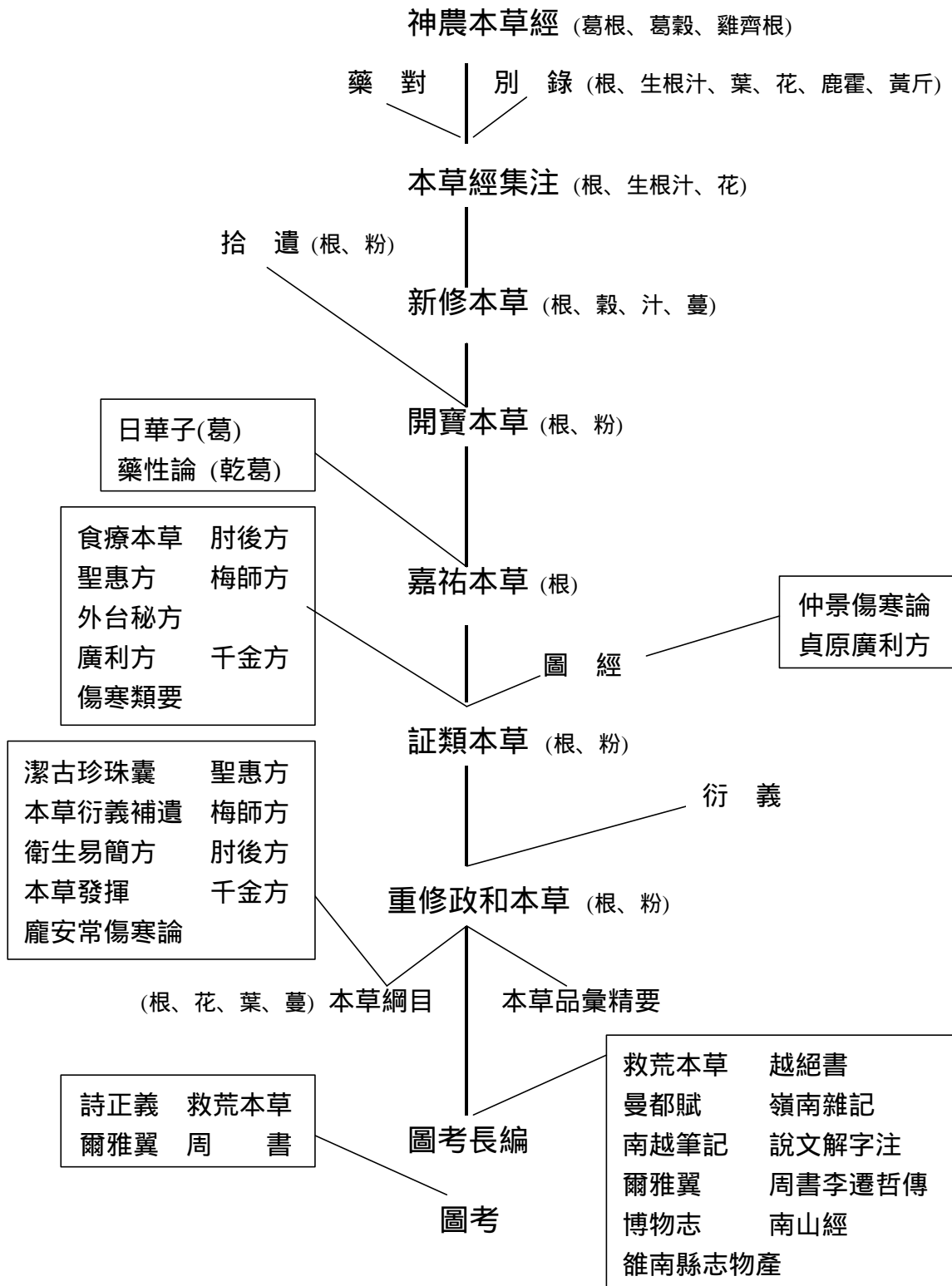


Fig. 1 葛根之本草系統圖

二、葛根之主要成分考察

葛根之主要植物來源為豆科植物葛 (*Pueraria pseudo-hirsuta* TANG et WANG)、野葛 (*Pueraria lobata* (WILLD.) OHWI) 或乾葛藤 (*Pueraria thomsonii* BENTN) 之乾燥根部，其成分中含黃酮類化合物達 12%，主要成分為葛根素 (puerarin)，大豆 (daidzin) 及大豆元 (daidzein)⁽³²⁾ 分述如下：

(一) 異黃酮類

daidzin, daidzein, puerarin, 4', 7-dihydroxyisoflavone, 7-xyl-oxide puerarin, 3'-hydroxyloside, 3'-hydroxypuerarin, 3'-methoxy-puerarin, 4'-methoxypuerarin, 4', 6'-diacetyl puerarin, formononetin, formononetin-7-glucoside, genistein.

(二) 三類：

sophoradiol, cantoniensistriol, soyasapogenol A; B, kudzusa-pogenol A; C; B, methyl ester, β -sitosterol, daucosterol 等七種皂醇。

(三) 香豆素類：

6,7-dimethoxycoumarin, puerarol.

(四) 其他

allantoin, 5-methylhydrantoin, tuberosin, choline chloride, acetylcholine chloride, D-mannitol, D-(+)-pitol, succinic acid,

(+)-Mglactate, diacetonamine, lupenone, behenic acid 與
carnaubic acid混合物, glycerol 1-monotetracosanoate, 氨基酸,
澱粉, arachidic acid, 微量元素 Se 和 Mo等。

三、葛根藥理作用文獻考察

(一) 對平滑肌的影響

葛根含收縮和舒張平滑肌的成份，葛根酒浸膏和總黃酮可抑制由 acetylcholine (Ach) 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 引起的大鼠離體回腸的收縮，對處於正常狀態下的大鼠也具明顯的鬆弛作用，鬆弛平滑肌的成份為 daidzin 及 daidzein，且 daidzin 為葛根解痙主要成份，而收縮成份可能為非黃酮類化合物，其作用具有 Ach 性質^(4,6)

(二) 對體溫的影響

1. 1956 年，孫世錫給人工發熱兔（耳靜脈注射過期傷寒菌苗）口服 20% 葛根煎劑或 20% 乙醇浸劑後，體溫降低，且浸劑的作用比煎劑明顯^(6,33)。
2. 灌胃葛根粉 15mg/kg 對發熱的家兔有明顯解熱作用⁽³⁴⁾。

(三) 對心血管系統的影響

1. 對血壓和心率的影響：
 - (1) 葛根對正常和高血壓動物有一定的降壓作用，靜脈給予葛根浸膏、總黃酮和葛根素使正常麻醉狗的血壓短暫而明顯降低，口服葛根水煎劑 (2g/kg) 或酒浸膏 (2g/kg) 或總黃酮和

葛根素對清醒高血壓狗也有一定的降壓作用。但是日本原田正敏等指出葛根含有升高血壓之物質，因此葛根對血壓似有雙相調節作用^(4,6)。

- (2) 葛根具有減慢心率的作用，葛根黃酮和葛根素使正常和心肌缺血狗心率明顯減慢^(4,6)。

2. β 受體阻斷作用

葛根浸膏具有較為廣泛而顯著 β 受體阻斷效應，且對 β_1 受體的作用強於 β_2 受體，而葛根提取物葛根素明顯降低大鼠心肌膜製劑中 β 受體的最大結合容量，且能完全抑制腎上腺素對腺酸環化的激活作用，說明葛根素是一種 β 受體拮抗劑^(4,35)。

3. 對血流量的影響

- (1) 動脈注射葛根總黃酮能增加麻醉犬的腦血流量，降低血管阻力，而靜注 30mg/kg 也能使血管阻力降低，說明葛根對腦血管有一定擴張作用^(6,36)。
- (2) 葛根總黃酮和葛根素對股動脈血流量和血管阻力無明顯影響，但股動脈注射可使血流量增加血管阻力降低⁽⁶⁾。
- (3) 葛根水煎劑、酒浸膏、總黃酮、葛根素和黃豆元均能改善大鼠之急性心肌缺血⁽⁶⁾。

4. 對心臟功能和心肌代謝的影響

- (1) 葛根總黃酮和葛根素可降低心肌的氧消耗，及增加冠狀動脈

氧的供給，臨床用於心絞痛有一定效力⁽⁶⁾。

(2) 葛根總黃酮能改善正常和缺血心肌之代謝⁽⁶⁾。

5. 對血中兒茶酚胺的影響

葛根素能緩解高血壓患者之頭疼項強及冠心病患者之心絞痛與降低心絞痛患者血漿兒茶酚胺含量，其與減少心肌缺血乳酸產生有關⁽⁶⁾。

6. 對心律不整的影響

葛根酒浸膏、大豆元 (daidzein) 和葛根素均有明顯預防烏頭鹼 (aconitine) 和氯化鋇 (BaCl₂) 所誘發的心律不整⁽³⁸⁾。

(四) 對記憶的影響

葛根醇提取物及總黃酮能對抗東莨菪鹼 (scopolamine) 所導致的記憶獲得障礙和 40% 乙醇所導致的記憶再障礙，此外葛根醇提取物尚能對抗東莨菪鹼所導致的大鼠操作式條件反射的抑制⁽³²⁾。

(五) 其他

1. 降血糖

口服給予兔葛根水煎劑有輕微降血糖作用⁽³³⁾。

2. 降血脂

葛根異黃酮類有降血脂作用，其中大豆 元 (daidzin)和芒柄花黃素 (formononetin) 能降低血清膽固醇，而金雀異黃素 (genistein) 能降低三酸甘油脂，此外大豆 (daidzin) 也有較強的降血脂作用⁽³⁶⁾。

3. 抗癌

葛根有效成份 S86019，在濃度為 14-22 μ g/ml 時，對人急性早幼粒細胞白血病 HL-60 細胞株呈時間及濃度依賴性增殖抑制作用^(34,37)。

4. 解酒

葛根製劑有一定解酒作用，對血醇濃度及乙醇所致的血液粘度有著明顯的影響，因為酒精能促進樣自由基的生成與脂質過氧化，從而導致紅細胞聚集性升高，血液粘度變大，而葛根具有較強的抗自由基作用⁽³²⁾。

5. 抗缺氧

給小鼠灌胃葛根大豆 元固體分散物 1.5g/kg，有明顯抗缺氧作用⁽³⁴⁾。

6. 保肝

葛根異黃酮 250mg/kg，對小鼠四氯化碳中毒性肝損害 GOT 的活性抑制率為 50.7%，對小鼠脂高性肝病 GPT 活性的抑制率為 73%⁽³⁴⁾。

(六) 藥物動力學

大豆 元 (daiazein) 靜脈給藥，於 24 小時尿中排出給藥量的 71.2%，自糞排出 17.4%，膽汁排出 47.4%；口服給藥於 24 小時尿中排出 34.3%，自糞排出 33.1%，膽汁則為 39.1%⁽³⁴⁾。

(七) 毒性試驗

葛根醇浸膏、總黃酮和葛根素小鼠靜脈注射的 LD_{50} 分別為 2.1g/kg, 1.6-2.1g/kg 和 0.738g/kg。葛根醇浸膏每日 10g/kg 和 20g/kg, 連續 3 日, 大豆 元 1g/kg 和 5g/kg 口服, 0.8g/kg 腹腔注射, 葛根素 1g/kg 靜脈注射, 均未見小鼠出現中毒症狀或死亡^(6,34)。

(八) 臨床應用

1. 對高血壓的作用

葛根煎劑、酒浸膏、總黃酮、大豆 元和葛根素對高血壓引起的頭痛、頭暈、項強和耳鳴等症狀有明顯的療效，尤以頭痛、項強最顯著⁽⁶⁾。

2. 對心絞痛的作用

口服葛根酒浸膏和大豆 元有緩解心絞痛的作用⁽⁶⁾。

3. 對突發性耳聾的影響

口服葛根酒浸膏片對早期突發性耳聾患者，有效率達75%，且觀察到葛根治療早期突發性耳聾的作用可能是改善內耳或椎基底動脈系統的血循環有關⁽⁶⁾。

4. 對偏頭痛的影響

葛根酒浸膏治療偏頭痛有較好的近期療效，且指出葛根治療偏頭痛的作用可能與改善腦循環，調節腦血管對升壓和降壓物質反應性有關⁽⁶⁾。

第二節 葛根素之文獻考察

一、來源

豆科植物野葛 (*Pueraria lobata* (WILLD.) OHWI) 所分離出的一種 isoflavonoids 類化合物⁽³⁸⁾。

二、葛根素之結構與理化性質

1. 化學名及結構式⁽³⁸⁾：

4H-1-Benzopyran-4-one,8- β -D-glucopyranosyl-7-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl), C₂₁H₂₀O₉

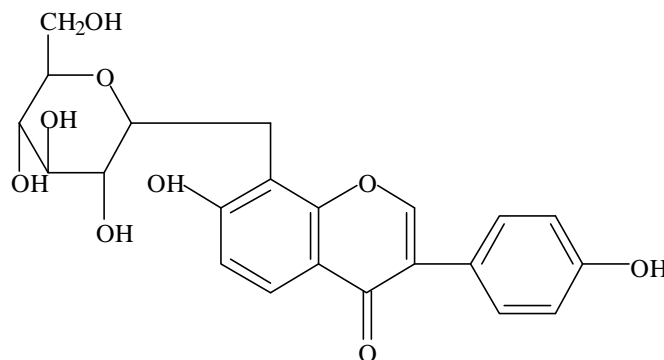


Fig. 2 Puerarin 之結構

2. 分子量：416.37⁽³⁸⁾。

3. 理化性質：

葛根素為白色針狀結晶, 熔點 187°C (分解), $[\alpha]_D^{21} + 18.14$

(C=1, 甲醇)⁽³⁸⁾。

三、葛根素之藥理作用考察

(一) 對心血管系統的影響

1. 擴張冠脈血管和腦血流的作用

- (1) 葛根素給大鼠腹腔或皮下注射，能對抗急性心肌缺血⁽³⁸⁾。
- (2) 葛根素給麻醉犬冠脈靜注，可使冠脈血流明顯增加，血管阻力下降，其作用可能是對血管平滑肌的鬆弛作用⁽³⁸⁾。

2. 降壓作用

- (1) 葛根素能減弱乙醯膽鹼 (acetylcholine) 對高血壓犬的升壓或降壓反應⁽³⁸⁾。
- (2) 葛根素能對抗異丙腎上腺素 (isoproterenol) 誘發的離體或在體心臟的興奮作用，並能降低正常心率和血壓⁽³⁸⁾。
- (3) 腹腔給予葛根素 (100mg/kg) 能顯著對抗清醒大鼠自發高血壓大鼠 (SHR) 的心率並減慢心率⁽¹⁵⁾。
- (4) 葛根素延緩易中風型自發高血壓大鼠缺血性痙攣的發作和死亡⁽³⁹⁾。

3. 抗心律不整作用

- (1) 葛根素靜注後可明顯限制犬實驗性急性心肌梗塞範圍⁽¹⁴⁾。
- (2) 麻醉犬靜注葛根素不影響心肌收縮力，但可增加局部心肌缺血時的側枝血流，並減少與心肌氧耗有關的血流動力學參數⁽³⁸⁾。

(3) 靜注葛根素 100mg/kg 能明顯縮短氯仿-腎上腺素所誘發的家兔的心律不整時間，並明顯對抗豚鼠哇巴因 (ouabain) 所引起的心室性早搏和心室性心動過速⁽⁶⁾。

4. 改善微循環作用

(1) 葛根素可減輕小鼠腎上腺素 (adrenaline) 引起的微動脈收縮、流速減慢和流量減少，其作用優於罌粟鹼 (papaverine)⁽¹²⁾。

(2) 葛根素對正常金黃地鼠腦微循環及局部滴加正腎上腺素 (noradrenaline) 所引起的微循環障礙均有明顯的改善作用⁽¹¹⁾。

5. β -腎上腺受體阻斷作用

(1) 葛根素能明顯降低 β 受體最大結合容量，抑制 β 受體與標記配體結合，阻斷腎上腺素對膜劑中腺酸環化 (adenylate cyclase) 活性的激動作用，證明葛根素是一種 β 受體拮抗劑⁽⁹⁾。

(2) 葛根素 (0.01-0.1mmol.) 可抑制貓 isoproterenol 引起股靜脈腎動脈鬆弛反應，且具濃度依存性，但葛根素 (0.1mmol) 不能改變 nitroglycerin (1 μ mol) 的鬆弛反應，證明葛根素為 β 受體拮抗劑⁽¹⁷⁾。

(3) 葛根素對 β 腎上腺素受體有明顯阻斷作用，且對 β_1 受體器官效能強於 β_2 受體器官⁽⁸⁾。

6. 對血液流變學的影響

葛根素能降低、全血比粘度、紅細胞電泳時間及纖維蛋白元差異⁽³⁸⁾。

7. 對血小板聚集性和 serotonin 釋放的影響

(1) 葛根素能抑制 adenosine diphosphate (ADP) 所誘導的人和動物血小板聚集⁽⁶⁾。

(2) 葛根素能抑制凝血 誘導的血小板中 5-HT 的釋放⁽⁶⁾。

(二) 降血糖作用

對高血糖小鼠口服給予葛根素 250mg/kg、500mg/kg，降血糖作用分別為 18%、31%，阿斯匹靈 50mg/kg 與葛根素 250mg/kg 併用，連續投與 4-5 天，顯示 30% 降血糖作用^(38,41)。

(三) 抗炎解熱作用

1. 葛根素對致熱劑引起的體溫升高有明顯的影響。葛根素可抑制 2,4-dinitrophenol 所誘發的高溫，證明黃酮類成份是葛根降溫成份之一⁽²⁰⁾。
2. 葛根素可逆轉致熱原造成貓下視丘前區熱敏感神經元 firing rate 的降低及冷敏感神經元 firing rate 的增加，結果指出葛根素之解熱作用可能影響下視丘前區熱刺激後溫度敏感神經元之電活性⁽⁴¹⁾。

(四) 解酒作用

1. 葛根素可抑制酒精之吸收，可減輕酒精中毒現象⁽⁴²⁾。
2. 葛根素具解酒及解酒精成癮，主要機制為對 benzodiazepine receptor 具致效作用⁽¹⁰⁾。

(五) 青光眼

葛根素 (1%) 可抑制眼內壓，可改善開放或閉鎖性狹角青光眼及次發性青光眼⁽⁴³⁾。

(六) 藥物動力學相關之研究

1. 毒性作用

小鼠靜脈注射之 LD₅₀ 為 738mg/kg⁽³⁸⁾。

2. 體內過程

大鼠口服葛根素後，24 小時自尿及糞分別排出 1.85% 及 35.7%；靜注後分別自尿、糞及膽汁排出 37.62%、7.39%、3.65%，表明葛根素在大鼠體內分布廣、消除快、不易積蓄，正常人口服葛根素後僅有 0.78% 原形物自尿中排出，72 小時自糞排出 73.3%，說明口服吸收少⁽³⁸⁾。

(七) 臨床應用

1. 用於冠心病、心絞痛

葛根素除能緩解心絞痛、改善缺血心電圖、降低心肌耗氧量外，尚能提高患者血漿 6-K-PGF_{1α} 及 HDL 水平，同時降低 TXB₂/6-K-PGF_{1α} 比值，而對於冠心病患者靜注葛根素後血漿兒茶酚胺含量降低⁽³⁸⁾。

2. 用於高血壓病

葛根素之降壓有效率為 76%，頭痛與頸背部疼痛緩解率為 32% 和 62%，且血漿中兒茶酚胺含量降低⁽³⁸⁾。

3. 用於過早搏動

用葛根素治療早搏症狀改善總有效率為 53%，且此藥還具有減慢心率及降壓作用⁽³⁸⁾。

4. 用於心律失常

每日靜注葛根素 200mg，4 小時後再靜注 500mg，連續七日，對受體高敏綜合症、早搏及陣發性室上性心動過速有一定療效，但對房顫無效⁽³⁸⁾。

5. 用於視網膜中央動脈阻塞

葛根素肌肉注射每次 50mg，每日 2 次，或靜脈點滴每日 200mg，連用 20-88 天，能改善視網膜中央動脈阻塞的視功能⁽³⁸⁾。

第三節 體溫調節作用

體溫設置點 (set-point) 定義為生物體控制體溫恆定系統之變化等於零，正常人的體溫大約恆定於 37°C (98.6°F)，然而體溫會因為日夜溫差的變化而有所影響，激烈的運動也會使體溫增加 $2-3^{\circ}\text{C}$ ⁽⁴⁴⁾，因此影響體溫的因素可簡單區分為外在因素（如環境因素）及內在因素。最常見的外在因素如體溫常隨日夜的週期在改變，一個人一天最高體溫出現在下午五點到七點之間，而最低的體溫常在早上兩點到六點；另外，影響體溫的內在因素則包括了：(1) 基礎代謝率，(2) 肌肉的活動性，(3) 甲狀腺的功能，(4) 交感神經的活動性等，事實上凡是改變控制體溫的任何一個部份均會影響到體溫的高低變化⁽¹⁾。中樞神經系統也會影響體溫，且下視丘控制了體溫的調節。實際上，位於下視丘溫度敏感的神經元會受到 electroencephalographic (EEG) 的活化、失眠、精神異常、內臟刺激、滲透率、及葡萄糖、睪固酮 (testosterone)、雌性素 (estrogen) 和黃體素 (progesterone) 濃度等因子的影響⁽⁴⁴⁾。

體熱 (body heat) 可經由生化反應，利用 oxidative phosphorylation 將 adenosine diphosphate (ADP) 轉換成生理作功所需的 adenosine triphosphate (ATP)，生理作功主要包括主動運輸、分子的合成及肌肉收縮，最後造成熱的產生。除此之外，另有顫抖及非顫抖生熱一說，當動物暴露於冷的環境中，可藉顫抖造成骨骼肌收縮而產熱，或因 norepinephrine 與棕色脂肪組織 (brown adipose tissue) 的 β 受體鍵結，造成 guanosine triphosphate (GTP) 與蛋白結合，而使細胞內 cyclic adenosine monophosphate (cAMP) 增加，進而造成 lipase 磷

酸化，因而增加三酸 油脂、游離脂肪酸的水解而產生熱⁽⁴⁴⁾。

熱的分布，可藉循環到達全身且受血流所調節。熱的散失，主要可經由傳導 (conduction)、對流 (convection)、輻射 (radiation) 及蒸發 (evaporation) 等四種途徑；傳導及對流，熱轉移數量取決於皮膚溫度與週遭溫度的差異，輻射是利用電磁波，包括近紅外波 (短波) 及遠紅外波 (長波)，使熱轉移；當環境溫度接近於體溫時蒸發 (如：流汗、喘氣) 是唯一熱散失的方法⁽⁴⁴⁾。

下視丘 (hypothalamus) 為重要的體溫調節區，此區可視為 "preoptic region"，包括中間及側面的 preoptic area、下視丘前區 (anterior hypothalamus) 及膈膜 (septum)，此區對溫度敏感且控制了生理與行為的體溫調節反應，內有近 30% 熱敏感神經元，少於 10% 冷敏感神經元及 60% 對溫度不敏感神經元分布，下視丘控制了 set-point 的溫度，主要為輸入熱敏感神經元與非溫度敏感神經元互相拮抗所致⁽⁴⁴⁾。

發燒 (fever) 是視葉 (preoptic region) set-point 溫度的提昇，根據致病原因的不同，可將發燒區分為神經性發燒 (neurogenic fever)、精神性發燒 (psychogenic fever) 及熱原性發燒 (pathogenic or pyrogenic fever) 等三種。神經性發燒，主要是下視丘體溫調節中樞受到物理性傷害 (physical trauma) 及病理性損傷 (pathological damage) 所致，如：腦瘤 (cranial)、中風 (stroke) 或頭部受傷 (head injury) 等；精神性發燒通常是由於情緒所誘發，如緊張 (stress) 或受約束 (restraint) 等。而熱原性發燒，主要是病原菌侵入感染所引起；內生性致熱原 (IL-1) 及其他發燒調節者 (PGE₂) 等會抑制視葉熱敏感神經元幫助熱的散失及

熱的產生，根據 Hammel's 模式抑制熱敏感神元體溫調節反應 set-point 的溫度，只要致熱原濃度仍高，下視丘會防禦 set-point 溫度的提高，增加熱的散失而開始退熱，中樞致熱原濃度降低，set-point 溫度則會回到正常⁽⁴⁴⁾。

發燒的過程可簡單的分成四個階段：(1) 發燒前期：此期病人沒有體溫的變化，只感到短暫的頭痛、噁心或不適的症狀。(2) 發冷期：此時病人全身會感覺發冷，並伴隨豎毛及肌肉張力增加的現象；造成發冷的主要原因是視丘下部的控制體溫的中心受到細菌分泌物或熱源的影響使設定的體溫升高（如升至 39°C），但體表的溫度還未達到所設定的溫度，這種差異由身體周邊的體溫感受器傳到視丘下部，再由該處的體溫控制中心傳訊息使體表的血流減少而減低熱的散失，增加肌肉的活動及張力，而冷的感覺主要是由於感受器傳回皮膚溫度較低所致，事實上皮膚的溫度還在 37°C，但體內設定的溫度已經升高。(3) 發熱期：由於肌肉張力增加使病人產生顫抖的現象，再加上體內荷爾蒙的作用使皮膚的溫度上升，當產生熱量使皮膚的溫度超過體溫控制中心設定的溫度時，一切產生熱量的反應就停止，此時皮膚表面的血管開始舒張，使皮膚表面的溫度重新降至所設定的溫度，而達到平衡，此時病人就繼續維持這種較高的體溫。(4) 退熱期：直到使病人體溫升高的因素被移去時，視丘下部的體溫控制中心又重新降至 37°C，此時皮膚的溫度高過設定的溫度，與發冷期的相反反應發生，此時病人覺得熱，皮膚血管擴張幫助散熱，並開始流汗，當體溫漸漸下降時，又回復正常⁽¹⁾。

第三章 實驗之部

第一節 實驗試劑

1. Puerarin (腹腔給藥以 0.5% CMC 製備成懸浮液, 於實驗前新鮮配製; 側腦室給藥以 0.02% alcohol 溶解); (Sigma).
2. 5-hydroxytryptamine (serotonin, 5-HT), sodium-1-octanesulfonic acid (C8), monochloroacetic acid (CH_2ClCOOH), ethylenediamine tetracetic acid (EDTA) (以上以林格氏液溶解), *Escherichia coli* lipopolysaccharide (LPS, 0111: B4), interleukin-1 β (IL-1 β) (以上以 0.9% 生理食鹽水溶解), aspirin (0.5% CMC 製備成懸浮液, 於實驗前新鮮配製), 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) (以 0.9% 生理食鹽水溶解, 並添加少量 ascorbic acid 以防止氧化); (Sigma).
3. Acetonitrile (ACN); (E. Merk).
4. Prostaglandin E_2 (PGE $_2$), S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP), sodium nitroprusside (SNP), 8-Bromo-cGMP (以 0.9% 生理食鹽水溶解), (\pm)-2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine hydrochloride ((\pm)-DOI), (\pm)-8-hydroxydipropylamino-tetralin hydrobromide ((\pm)-8-OH-DPAT HBr), quipazine, ketanserin (以 0.9% 生理食鹽水溶解), pirenperone, (-)-pindolol (以 0.9% 生理食鹽水溶解, 並添加少量乳酸助溶); (RBI)
5. Sodium pentobarbital (溶於 0.9% 生理食鹽水中); (東京化成工業株式會社)

第二節 實驗動物

本實驗採用國家科學委員會 動物中心所提供之雄性 Sprague-Dawley (S.D.) 大鼠，體重約為 160-180g (體溫試驗上架訓練用) 或 250-300g (單胺濃度測定用)，4-5 隻一籠，飼養室溫度維持 24 ± 1 ，光照與黑暗各為 12 小時 (08:00 開燈，20:00 關燈)，飲水及飼料均不加以限制，全部實驗皆在白天進行。

第三節 實驗方法

一、大鼠之訓練與肛溫之測量方法

將大鼠固定於老鼠固定架上訓練 4 至 7 天使大鼠習慣於固定架上不動，選擇較適應之大鼠置於恆溫箱 (24 ± 1) 中，以一外包 PE-200 的 copper-constantan 熱電偶線插入大鼠肛門內約 5 公分，另一端連接至溫度記錄器 (portable hybrid recorder, Yokogawa Hokushin Electric, Japan) 測量並記錄大鼠之直腸溫度 (肛溫)。

二、室溫下 puerarin 對正常大鼠肛溫變化之影響

依方法一，選擇訓練較適應之大鼠，置於恆溫箱 (24 ± 1) 中，測量並記錄大鼠之直腸溫度，待溫度穩定後腹腔或側腦室給予 puerarin (1, 5, 10, 30mg/kg; i.p.; 50, 100 μ g/10 μ l; i.c.v.)，觀察記錄 5 小時；對照組給予同體積之 vehicle。

三、大鼠腦內給藥管之安裝技術

依方法一，選擇訓練較適應之大鼠以 sodium pentobarbital (45mg/kg; i.p.) 麻醉，並以恆溫板維持其體溫於 37 ± 1 ，將其頭部以立體定位儀固定，手術前頭部先以碘酒擦拭，再以 75% 酒精消毒，所有手術器械（電鑽及燒灼止血器除外）及棉花球、螺絲、給藥管之內管和外管等，皆需以高壓滅菌鍋滅菌。用手術刀劃開頭蓋骨，利用棉球除去血跡並將皮下組織撥開，使 bregma 和 lambda 露出，調整 teeth bar 高度，使 bregma 和 lambda 位於同一水平面上，以 bregma 為基點，利用定位圖譜，定出側腦室 (lateral ventricle; LV) 或下視丘 (anterior hypothalamus; AH) 的座標 (LV : bregma 往後 0.08 cm，左側或是右側移動 0.15 cm，深 0.35-0.4 cm；AH : bregma 往後 0.18 cm，左側或是右側移動 0.08 cm，深 0.90 cm)，使用電鑽鑽開一小孔，並在附近頭蓋骨鑽開二小孔置入二螺絲釘、再根據上述座標準確地將給藥管之外管置入，並以牙粉將其與二螺絲固定於大鼠頭上，待牙粉乾後，上碘酒，並視需要加以縫合，給予 0.2ml procaine penicillin G (200 IU/ml/day; i.m.) 三天，以預防感染。手術後，第三天恢復上架訓練，一星期後即開始正式實驗。

四、Puerarin 對正常大鼠下視丘 serotonin 濃度之影響

本實驗使用之儀器包括 HPLC (Waters 610 pump, Millipore Co.USA)、BASLC-4C 電化學安培偵測器 (amperometric detector, Bioanalyticalsystems, West Lafayette IN., U.S.A.)、微口徑逆向管柱 (microbore reversed-phase column, GSK-C 18.5 μ m ODS, 1.0 \times 150 mm

I.D.)、微量注射幫浦 (microinjection pump, CMA/100, Carnegie Medicin)、微量收集器 (microfraction collector, CMA/140, Carnegie Medicin) 及微透析探針 (CMA/12, Carnegie Medicin) 等。依方法一選擇訓練較適應之大鼠，腹腔注射 sodium pentobarbital (45mg/kg) 麻醉後，以恆溫板維持大鼠體溫於 37 ± 1 ，將頭部以立體定位儀 (kopf stereotaxic apparatus) 固定，利用定位圖譜定出下視丘視前區位置 (bregma 往後 1.8 mm，左側或右側 0.80 mm，深 9.0 mm)，以電鑽鑽開顱骨後，將微透析探針外管插入至 9.0 mm 處，再回抽 2.5 mm，此舉主要是為了保護微透析探針前端之半透膜，不會因碰觸到腦底顱骨而破損，以牙粉將其與二螺絲固定於大鼠頭上，待牙粉乾後，擦上碘酒，並視需要加以縫合，同方法三給予 0.2ml ampicillin sodium (250 IU/ml; i.m.) 三天，以預防感染。手術後，第三天恢復上架訓練，一星期後即開始正式實驗。

實驗時，將大鼠固定於固定架，置於恆溫箱 (24 ± 1) 中，接上 thermometer 測定肛溫，並小心將微透析探針插入事先埋好之外管中，以林格氏液 (流速 $0.6\mu\text{l}/\text{min}$) 進行透析，待穩定後開使收集微透析試樣，每 30mins 接收一管，開始收集一小時後，腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg)，收集透析液 5 小時，並同步記錄其肛溫之變化；對照組給予同體積之 vehicle。

以上透析所得之下視丘透析液，以外標準法測定 serotonin (5-HT) 之濃度變化。使用高壓液體層析儀 (HPLC) 及電化學檢出器 (Electrochemical Detector) 測定之。

分離所用移動相為 50ml acetonitrile (ACN), 9.45g

monochloroacetic acid (CH_2ClCOOH), 186mg ethylenediaminetetracetic acid (EDTA) 和 160mg sodium 1-octanesulfonate (SOS, C8), 以二次蒸餾水配成一升溶液, pH 值調至 3.0; 配製好之溶液以 $0.22\mu\text{m}$ 之濾膜過濾後, 再以高純度之氮氣去除溶在溶液中的氣體 (degas)。

測量時, 高壓液相層析儀之流速為 $80\mu\text{l}/\text{min}$, 電化學安培偵測器之工作電極電位設定為 0.75 伏特。

五、破壞腦內 serotonergic system 藥物對 puerarin 降溫作用之影響

依方法一, 選擇訓練較適應之大鼠, 側腦室給予 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT, $200\mu\text{g}/10\mu\text{l}$) 破壞腦內 serotonin 神經, 7 天後將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱 (24 ± 1) 中, 腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg), 觀察並記錄大鼠之直腸溫度變化 5 小時; 對照組投與同體積之 vehicle。

六、改變腦內 serotonergic system 藥物對 puerarin 降溫作用之影響

依方法一, 選擇訓練較適應之大鼠, 將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱 (24 ± 1) 中, 測量並記錄大鼠之肛溫, 待溫度穩定後, 給予 puerarin (30mg/kg) 後, 分別與 serotonergic system 藥物併用, 觀察並記錄大鼠之直腸溫度變化 5 小時; 對照組投與同體積之 vehicle。給藥方式如下:

- (1) 由腹腔給予 puerarin (30mg/kg) , 30 分鐘後再由皮下給予 (-)-pindolol (0.05, 0.5mg/kg; s.c.)。
- (2) 由腹腔給予 puerarin (30mg/kg) , 100 分鐘後再由皮下給予 8-OHDPAT (0.01, 0.05mg/kg; s.c.)。
- (3) 由腹腔給予 puerarin (30mg/kg) , 60 分鐘後再由腹腔給予 ketanserin (0.5, 1mg/kg; i.p.)。
- (4) 由腹腔給予 puerarin (30mg/kg) , 60 分鐘後再由皮下給予 pirenperone (0.05, 0.2mg/kg; s.c.)。
- (5) 由腹腔給予 puerarin (30mg/kg) , 60 分鐘後再由腹腔給予 quipazine (0.1, 1mg/kg; i.p.)。
- (6) 由腹腔給予 puerarin (30mg/kg) , 90 分鐘後再由側腦室及腹腔給予 DOI (5, 10 μ g/10 μ l; i.c.v.; 0.5, 1mg/kg; i.p.)。

七、Puerarin 對 LPS 誘發大鼠發燒溫度變化之影響

依方法一，選擇訓練較適應之大鼠，將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱中，測量並記錄大鼠之肛溫，待溫度穩定後，LPS (100 μ g/kg, i.p.) 誘發高溫，10 分鐘後腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg) ，繼續觀察並記錄大鼠之直腸溫度變化 5 小時；對照組投與同體積之 vehicle ；正對照組給予 aspirin (75, 150mg/kg; i.p.)。

八、Puerarin 對 IL-1 β 誘發大鼠發燒及下視丘 serotonin 濃度之影響

依方法一，選擇訓練較適應之大鼠，將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱中，測量並記錄大鼠之肛溫，待溫度穩定後，側腦室給予 IL-1 β (10ng/10 μ l) 誘發發燒，120 分鐘後側腦室給予 puerarin (50, 100 μ g/10 μ l) 觀察並記錄其肛溫之變化，或腹腔給予 puerarin (10, 30 mg/kg)，依方法四，同步記錄其肛溫之變化及對 interleukin-1 β (10ng/10 μ l, i.c.v.) 誘發發燒大鼠下視丘 serotonin 濃度之變化，收集 5 小時。對照組給 vehicle。

九、Puerarin 對 S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)、sodium nitroprusside (SNP) 與 8-Bromo-cGMP 誘發大鼠發燒溫度變化之影響

將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱 (24 \pm 1) 中，依方法一，測量並記錄大鼠之肛溫，待溫度穩定後，側腦室給予藥物誘發發燒，觀察並記錄大鼠之直腸溫度變化 5 小時；對照組投與同體積之 vehicle。給藥方式如下：

- (1) 由側腦室給予 SNAP (10 μ g/10 μ l)，120 分鐘後再由腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg)。
- (2) 由側腦室給予 SNP (20 μ g/10 μ l)，10 分鐘後再由腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg)。
- (3) 由側腦室給予 8-Bromo-cGMP (100 μ g/10 μ l)，90 分鐘後再由

腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg)。

十、 Puerarin 對 prostaglandin E₂ (PGE₂) 與 8-Bromo-cAMP 誘發大鼠發燒溫度變化之影響

將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱中，依方法一，測量並記錄大鼠之肛溫，待溫度穩定後，分別腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg)，90 分鐘後側腦室給予 PGE₂ (100 μ g/10 μ l) 誘發高溫，及下視丘給予 8-Brmo-cAMP (40 μ g/10 μ l) 誘發發燒，10 分鐘後腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg)，繼續觀察並記錄大鼠之直腸溫度變化 5 小時；對照組投與同體積之 vehicle。

十一、統計學分析

本實驗所得之數據，大鼠腦內 serotonin 濃度用 student's test 檢定，其餘以 one-way ANOVA 法分析其變異數，再以 scheffe's test 檢定期間差異之顯著性，凡 P 值小於 0.05 以下時，則認為有統計意義。

第四節 實驗結果

一、室溫下 puerarin 對正常大鼠肛溫變化之影響

如Fig. 3 所示，室溫下 puerarin (1, 5, 10, 30mg/kg) 腹腔給予正常大鼠 30 分鐘後，即可引起一明顯之降溫作用，在 120 分鐘時降至最低，其後則慢慢回復，回復時間則視劑量大小而不同。

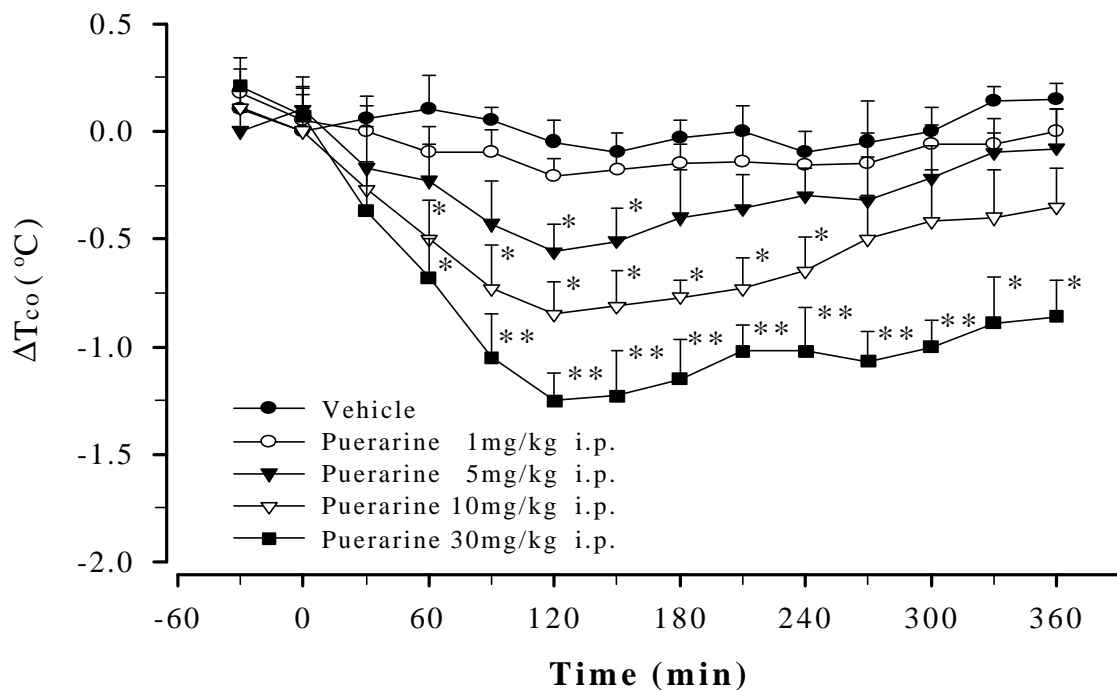


Fig. 3 Time course of the effects of intraperitoneal administration of puerarin on colonic temperature in rats. Puerarin (1, 5, 10, 30mg/kg, i.p.) was injected at 0 min. The colonic temperature of vehicle-injected rats was $37.82 \pm 0.20^\circ\text{C}$ at time 0 min. Δ , denote the difference between the control value before injected and exchange after injected. The value are mean \pm SEM of 8-12 rats per group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from corresponding control value (vehicle group), ANOVA.

如 Fig.4 所示，室溫下側腦室給予 puerarin (100 μ g/10 μ l) 可引起一明顯之降溫作用。

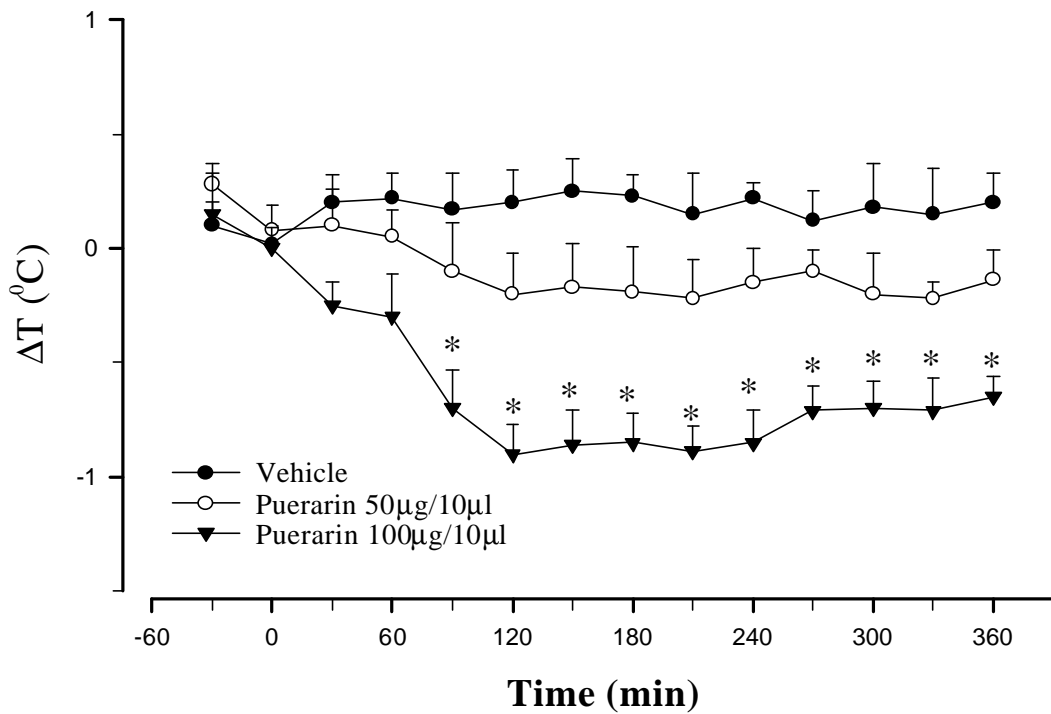


Fig. 4 Time course of the effects of intracerebroventricular administration of puerarin on colonic temperature in rats. Puerarin (50, 100 μ g/kg, i.c.v.) was injected at 0 min. The colonic temperature of vehicle-injected rats was $37.14 \pm 0.15^\circ\text{C}$ at time 0 min. Δ , denote the difference between the control value before injected and exchange after injected. The value are mean \pm SEM of 8 rats per group.* $P < 0.05$, significantly different from corresponding control value (vehicle group), ANOVA.

二、Puerarin 對正常大鼠下視丘 serotonin 濃度之影響

如 Table 1 和 Fig. 5 所示, puerarin (10, 30mg/kg; i.p.) 可明顯降低正常大鼠下視丘 5-HT 濃度。

Table 1. The effect of puerarin on the hypothalamic serotonin (5-HT) release in the normal rats.

Treatments (i.p.)	Δ Colonic temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Hypothalamic 5-HT release (% baseline)
Vehicle	0.14 \pm 0.05	99.12 \pm 34.25
Puerarin		
10mg/kg	-0.78 \pm 0.21*	52.14 \pm 35.23*
30mg/kg	-1.05 \pm 0.20**	25.12 \pm 31.22**

The value are mean \pm SEM of 5 rats per group. The vehicle-treated control value for extracellular 5-HT release in the hypothalamus are 1.58 \pm 0.65pg/18 μ l/30 mins. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. *P<0.05, **P<0.01 significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA.

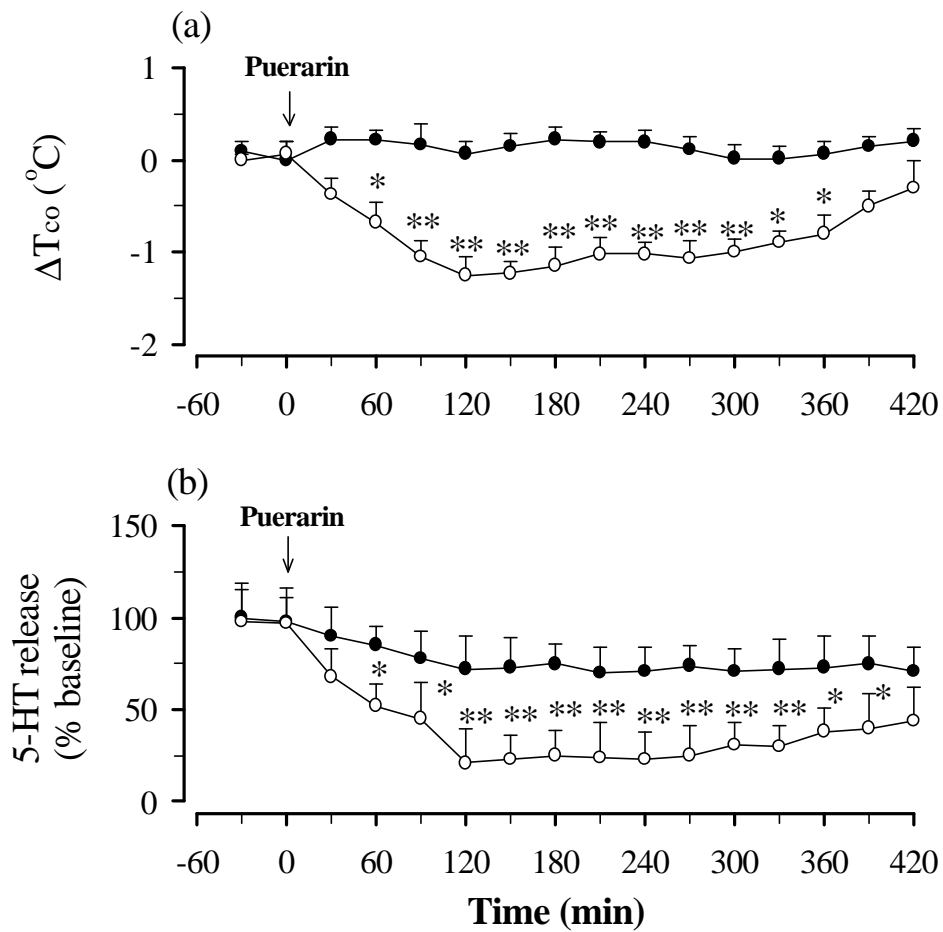


Fig. 5 Time course of the effects of intraperitoneal administration of puerarin on (a) colonic temperature (T_{co}) and (b) hypothalamic 5-hydroxytryptamine (5-HT) release in five control rats. The arrows in (a) indicate the time of injection. Data are the mean \pm SEM. * P <0.05, ** P <0.01 significantly different from the corresponding control value (IL-1 β group), Student's test. Basal 5-HT was 1.58 \pm 0.65pg/18 μ l.(●), vehicle; (○), 30mg/kg puerarin.

三 破壞腦內 serotonergic system 藥物對 puerarin 降溫作用之影響

如 Table 2 所示，事先以 5,7-DHT (200 μ g/10 μ l; i.c.v.) 破壞 serotonin 神經元之大鼠，其直腸溫度與正常大鼠並無明顯差異；而 puerarin (10, 30mg/kg; i.p.) 對大鼠之降溫作用，則會因 5,7-DHT 前處理而減弱。

Table 2. The effects of puerarin on the colonic temperature in rats treated by the 5,7-DHT.

Treatment	Changes in colonic temperature (Δ)	
	Normal	5,7-DHT
Vehicle	0.14 \pm 0.05	0.20 \pm 0.14
puerarin		
10mg/kg (i.p.)	-0.78 \pm 0.21*	-0.21 \pm 0.11 [#]
30mg/kg (i.p.)	-1.05 \pm 0.20**	-0.53 \pm 0.13* [#]

The value are mean \pm SEM from 8 rats per group. The control value for colonic temperature are 37.8 \pm 0.12 and 38.1 \pm 0.14 for normal and 5,7-DHT-treated rats, respectively. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. *P<0.05, **P<0.01 significantly different from corresponding control value (vehicle group), ANOVA. [#]P<0.05 significantly different from corresponding control value (normal group), ANOVA.

四、改變腦內 serotonergic system 藥物對 puerarin 降溫作用之影響

如 Fig. 6 所示腹腔給予 puerarin (30mg/kg) 可誘發一明顯降溫作用，當與 (-)-pindolol (5-HT_{1A} receptor 及 β adrenoceptor antagonist; 0.05, 0.5mg/kg, s.c.) 併用時，puerarin 之降溫作用可明顯被 (-)-pindolol (0.05, 0.5mg/kg) 所拮抗。

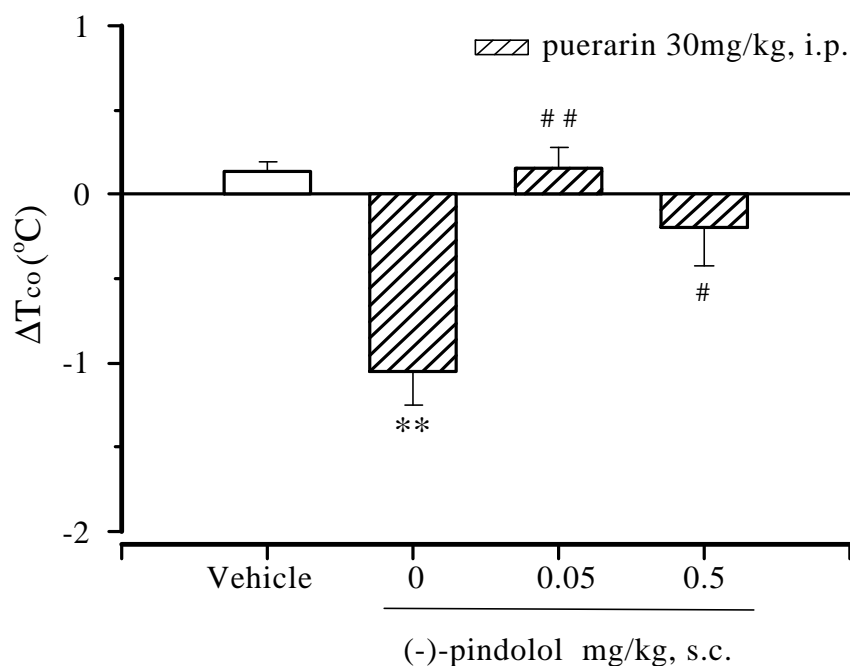


Fig. 6 Effects of (-)-pindolol (0.05, 0.5mg/kg; s.c.) on the hypothermic response of puerarin in rats. Puerarin was injected 30 mins before (-)-pindolol (0.05, 0.5mg/kg) subcutaneously injected (s.c.) The value are mean \pm SEM of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. **P<0.01, significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA. #P<0.05, ##P<0.01 significantly different from corresponding control value (puerarin group), ANOVA.

如 Fig. 7 所示，腹腔給予 puerarin (30mg/kg) 可誘發一明顯降溫作用，當與 8-OH-DPAT (5-HT_{1A} receptor agonist; 0.01, 0.05mg/kg, s.c.) 併用時，puerarin 之降溫作用可明顯被 8-OH-DPAT (0.05mg/kg) 所加強。

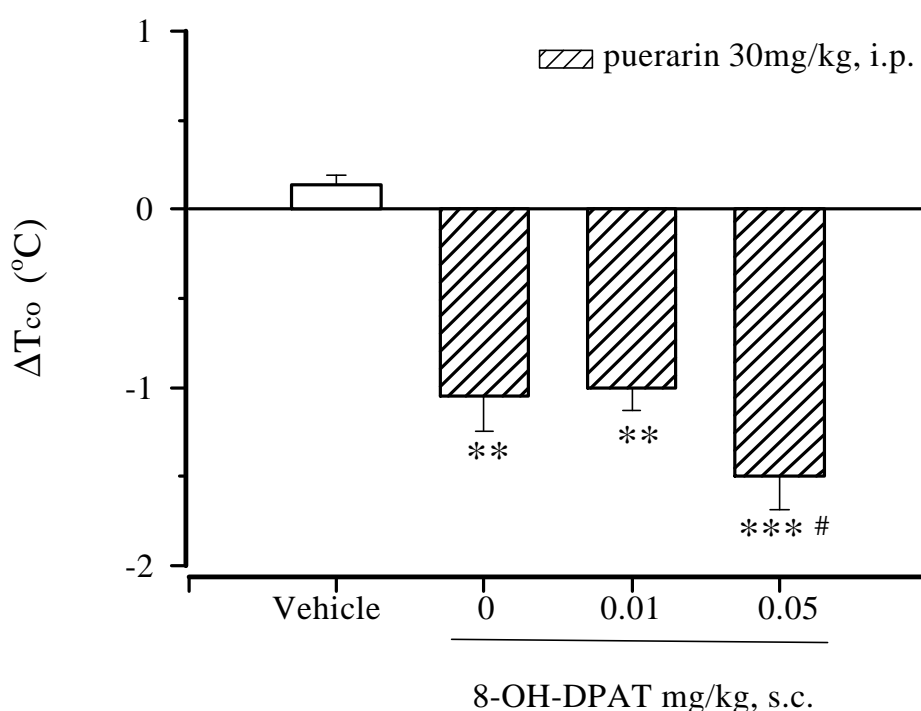


Fig. 7 Effects of 8-OH-DPAT (0.01, 0.05mg/kg, s.c.) on the hypothermic response of puerarin in rats. Puerarin was injected 100 mins before 8-OH-DPAT (0.01, 0.05mg/kg) subcutaneously injected (s.c.) The values are mean \pm SEM of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. **P<0.01, ***P<0.001 significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA. #P<0.05 significantly different from corresponding control value (puerarin group), ANOVA.

如 Fig. 8 所示，腹腔給予 puerarin (30mg/kg) 可誘發一明顯降溫作用，當與 ketanserin (5-HT₂ receptor antagonist; 0.5, 1mg/kg, i.p.) 併用時，puerarin 之降溫作用可被 ketanserin (1mg/kg) 所加強。

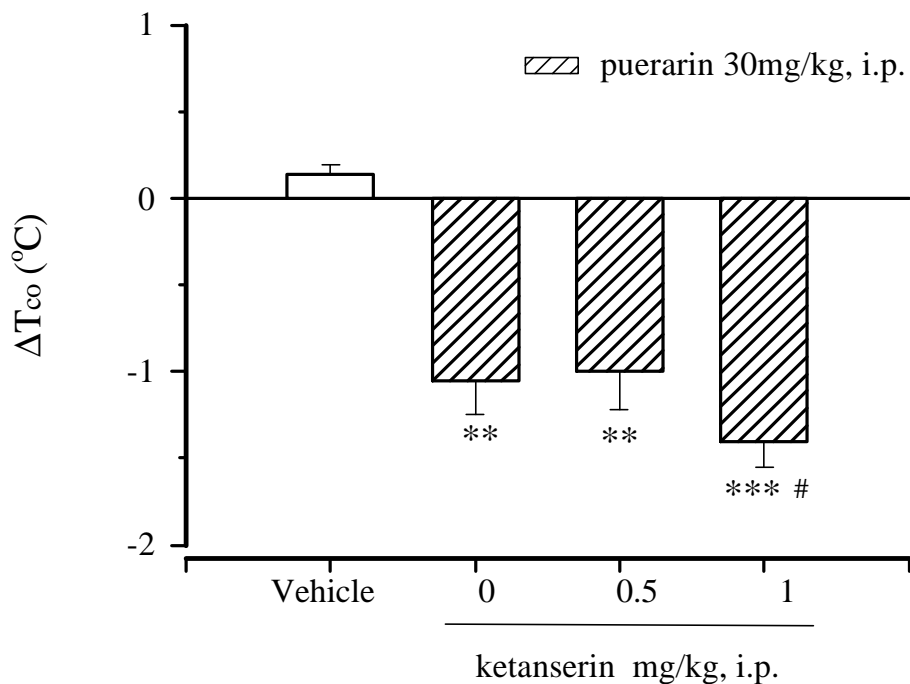


Fig. 8 Effects of ketanserin (0.5, 1mg/kg, i.p.) on the hypothermic response of puerarin in rats. Puerarin was injected 60 mins before ketanserin (0.5, 1mg/kg) intraperitoneal injected (i.p.) The value are mean \pm SEM of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. **P<0.01, ***P<0.001 significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA. #P<0.05 significantly different from corresponding control value (puerarin group), ANOVA.

如 Fig. 9 所示，腹腔給予 puerarin (30mg/kg) 可誘發一明顯降溫作用，當與 pirenperone (5-HT₂ receptor antagonist; 0.05, 0.2mg/kg, s.c.) 併用時，puerarin 之降溫作用可明顯被 pirenperone (0.2mg/kg) 所加強。

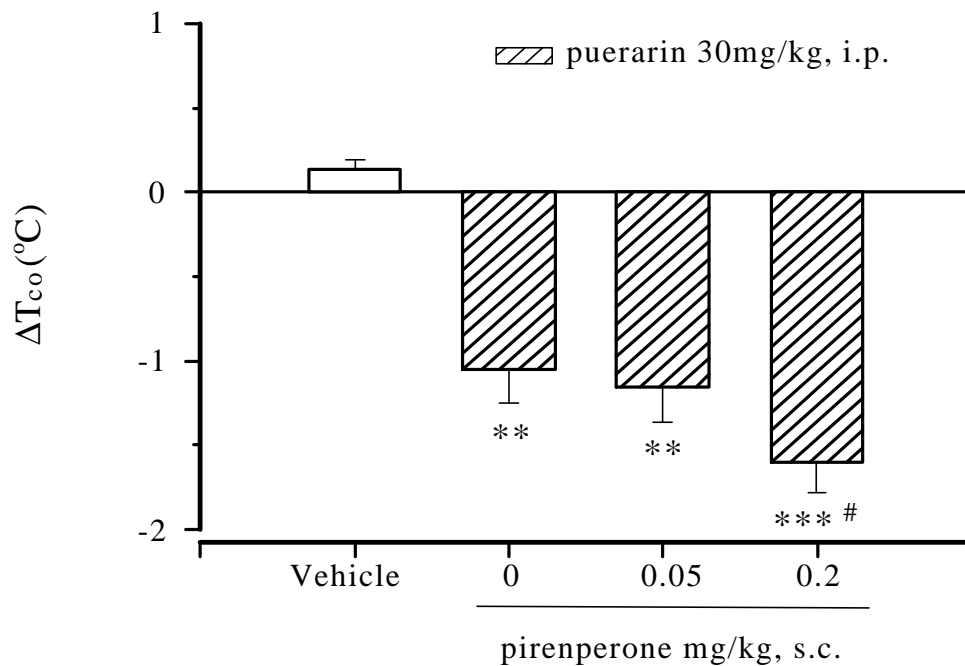


Fig. 9. Effects of pirenperone (0.05, 0.2mg/kg, s.c.) on the hypothermic response of puerarin in rats Puerarin was injected 60 mins before pirenperone (0.05, 0.2mg/kg) subcutaneously injected (s.c.) The value are mean±SEM of 8 rats per group. Δ, denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. **P<0.01, ***P<0.001 significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA. #P<0.05 significantly different from corresponding control value (puerarin group), ANOVA.

如 Fig. 10 所示，腹腔給予 puerarin (30mg/kg) 可誘發一明顯降溫作用，當與 quipazine (5-HT₂ receptor agonist; 0.1, 1mg/kg,i.p.) 併用時，puerarin 之降溫作用可明顯被 quipazine (0.1, 1mg/kg) 所拮抗。

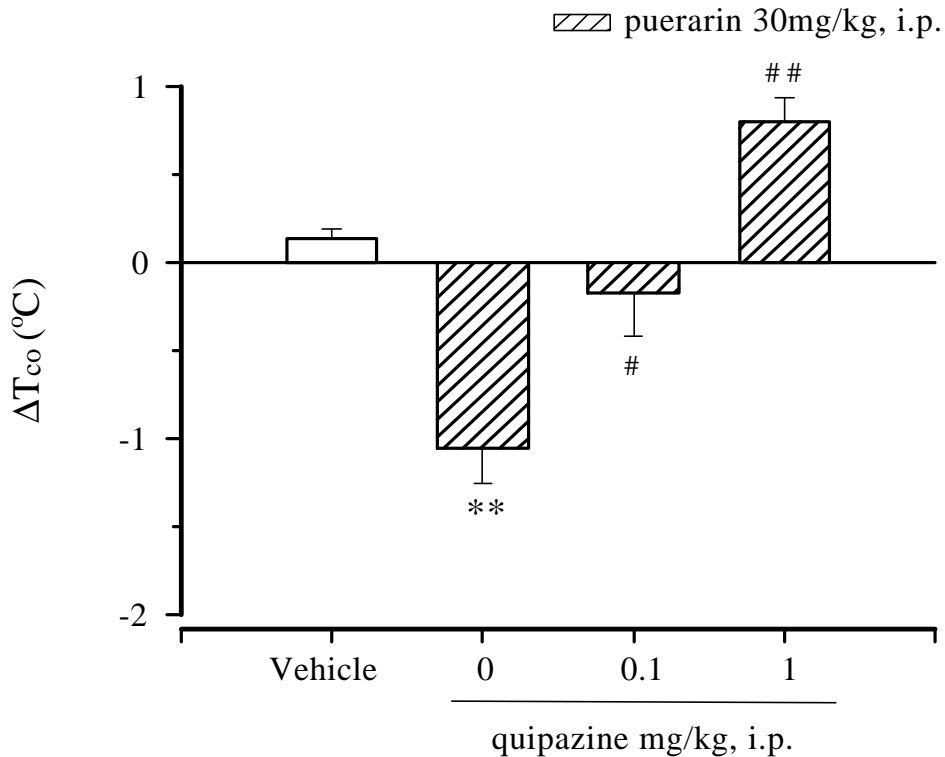


Fig. 10 Effects of quipazine (0.1, 1mg/kg, i.p.) on the hypothermic response of puerarin in rats. Puerarin was injected 60 mins before quipazine (0.1, 1mg/kg) intraperitoneal injected (i.p.) The value are mean \pm SEM of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. **P<0.01 significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA. #P<0.05, ##P<0.01 significantly different from corresponding control value (puerarin group), ANOVA.

如 Fig. 11 所示，腹腔給予 puerarin (30mg/kg) 可誘發一明顯降溫作用，當與 DOI (5-HT₂ receptor antagonist; 0.5, 1mg/kg, i.p.) 併用時，puerarin 之降溫作用可明顯被 DOI (0.5, 1mg/kg) 所拮抗。

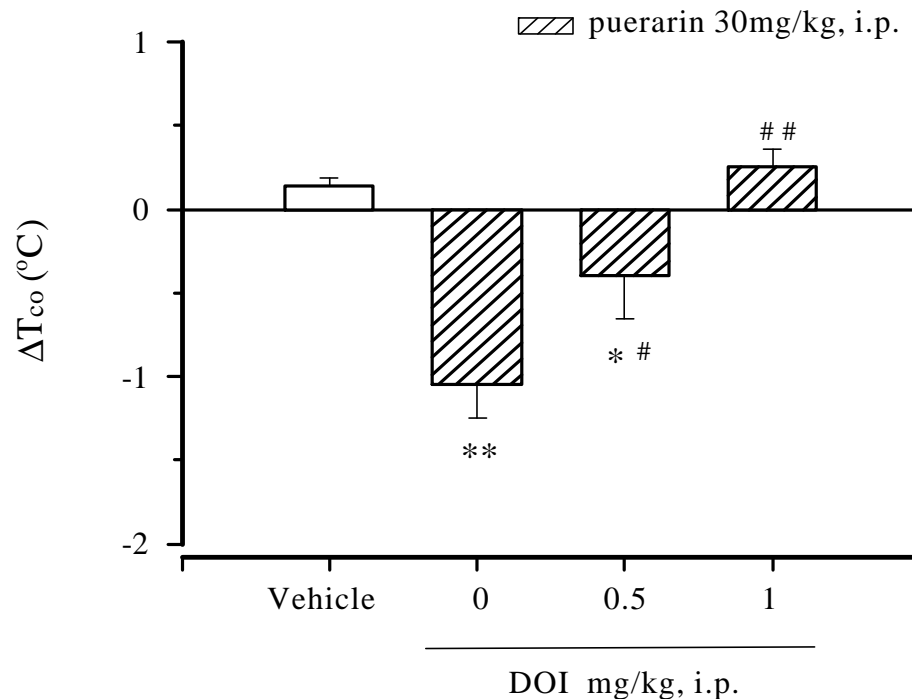


Fig. 11 Effects of DOI (0.5, 1mg/kg, i.p.) on the hypothermic response of puerarin in rats Puerarin was injected 90 mins before DOI (0.5, 1mg/kg) intraperitoneal injected (i.p.) The value are mean±SEM of 8 rats per group. Δ, denote the difference between the control value 120 mins after the start of puerarin injected. *P<0.05, **P<0.01, significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA. #P<0.05, ##P<0.01 significantly different from corresponding control value (puerarin group), ANOVA

如 Fig. 12 所示，腹腔給予 puerarin (30mg/kg) 可誘發一明顯降溫作用，當與 DOI (5-HT₂ receptor antagonist; 5, 10mg/kg, i.c.v.) 併用時，puerarin 之降溫作用可明顯被 DOI (5, 10mg/kg) 所拮抗。

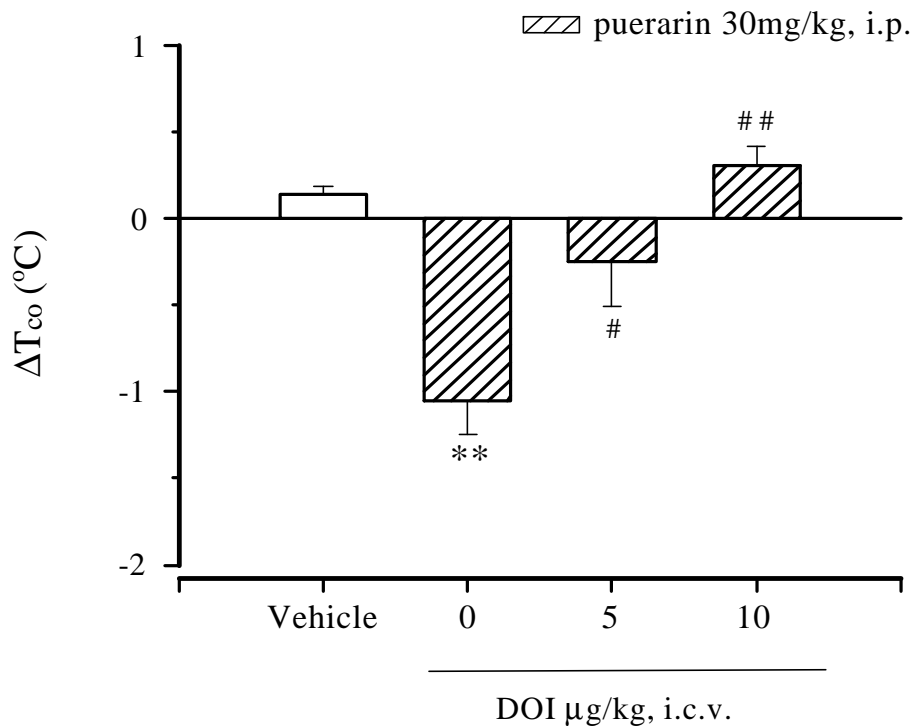


Fig. 12 Effects of DOI (5, 10 $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$, i.c.v.) on the hypothermic response of puerarin in rats. Puerarin was injected 90 mins before DOI (5,10 $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$) intracerebroventricular injected (i.c.v.) The value are mean \pm SEM of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value 120 mins after the start of puerarin injected. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ significantly different from corresponding control value (puerarin group), ANOVA

五、Puerarin 對 LPS 誘發大鼠發燒溫度變化之影響

如 Table 3. 所示，於 24 ± 1 之室溫下，LPS ($100\mu\text{g}/\text{kg}$; i.p.) 可誘發一明顯之高溫，puerarin ($10, 30\text{mg}/\text{kg}$; i.p.) 則可顯著抑制 LPS 誘發之高溫，其解熱作用約略相當於 aspirin ($150\text{mg}/\text{kg}$, i.p.)。

Table 3. The effect of puerarin on the colonic temperature in the hyperthermia rats induced by lipopolysaccharide (LPS).

Treatment	Change in colonic temperature ($\Delta^{\circ}\text{C}$)	
	Normal	LPS
Vehicle (i.p.)	0.14 ± 0.07	1.28 ± 0.22
Puerarin		
5mg/kg (i.p.)	$-0.56\pm 0.13^*$	1.11 ± 0.19
10mg/kg (i.p.)	$-0.78\pm 0.21^*$	$0.65\pm 0.15^*$
30mg/kg (i.p.)	$-1.05\pm 0.20^{**}$	$0.30\pm 0.17^{**}$
Aspirin		
75mg/kg (i.p.)	-0.14 ± 0.12	$0.45\pm 0.18^*$
150mg/kg (i.p.)	-0.25 ± 0.191	$0.13\pm 0.19^{**}$

Puerarin was injected 10 mins after LPS ($100\mu\text{g}/\text{kg}$) intraperitoneal injected (i.p.) , and aspirin was injected 30 mins after LPS injected or 180 mins after IL- 1β injected. The value are mean \pm SEM of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA.

六、Puerarin 對 IL-1 β 誘發大鼠發燒及下視丘 serotonin 濃度之影響

如 Table 4 所示，側腦室給予 puerarin (100 μ g/10 μ l; i.c.v) 可明顯降低 IL-1 β 所誘發的高溫現象。

Table 4. The effect of puerarin on the colonic temperature in the hyperthermia rats induced by interleukin 1 β (IL-1 β).

Treatment	Change in colonic temperature (Δ° C)	
	Normal	IL-1 β
Vehicle (i.c.v)	0.14 \pm 0.07	1.88 \pm 0.22
Puerarin		
50 μ g/kg (i.c.v)	-0.20 \pm 0.15	1.41 \pm 0.14
100 μ g/kg (i.c.v)	-0.90 \pm 0.21*	0.91 \pm 0.13*

Puerarin was injected 120 mins after IL-1 β (10ng/kg) intracerebroventricular injected (i.c.v). The value are mean \pm SEM of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. *P<0.05, significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA.

如 Table 5 及 Fig. 13 所示，於 24 ± 1 之室溫下，IL-1 β (10 ng/10 μ l; i.c.v.) 可誘發一明顯之高溫及大鼠下視丘 5-HT 濃度增加； puerarin (10, 30mg/kg; i.p.) 可明顯降低 IL-1 β 誘發高溫及大鼠下視丘 5-HT 濃度增加之現象。

Table 5. The effect of puerarin on the colonic temperature and the hypothalamic 5-HT release in the hyperthermia rats induced by interleukine-1 β (IL-1 β).

Treatment	Δ Colonic temperature ($^{\circ}$ C)	Hypothalamic 5-HT release (% baseline)
Vehicle (i.p.)	0.14 \pm 0.07	99.12 \pm 34.25
Puerarin		
10mg/kg (i.p.)	-0.78 \pm 0.21*	52.14 \pm 35.23*
30mg/kg (i.p.)	-1.05 \pm 0.20**	25.12 \pm 31.22**
IL-1 β 10ng/ μ l (i.c.v.)	1.98 \pm 0.24***	250.33 \pm 35.12**
IL-1 β 10ng/ μ l (i.c.v.) + Puerarin 10mg/kg (i.p.)	1.10 \pm 0.20*	198.32 \pm 33.23 * [#]
IL-1 β 10ng/ μ l (i.c.v.) + Puerarin 30mg/kg (i.p.)	0.88 \pm 0.21** [#]	118.36 \pm 31.20 * [#]

Puerarin was injected 120 mins after IL-1 β (10ng/10 μ l) intracerebroventricular injected (i.c.v.) The value are mean \pm SEM of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, significantly different from the corresponding control value (vehicle group), [#]P<0.05 significantly different from the corresponding control value (IL-1 β group), ANOVA.

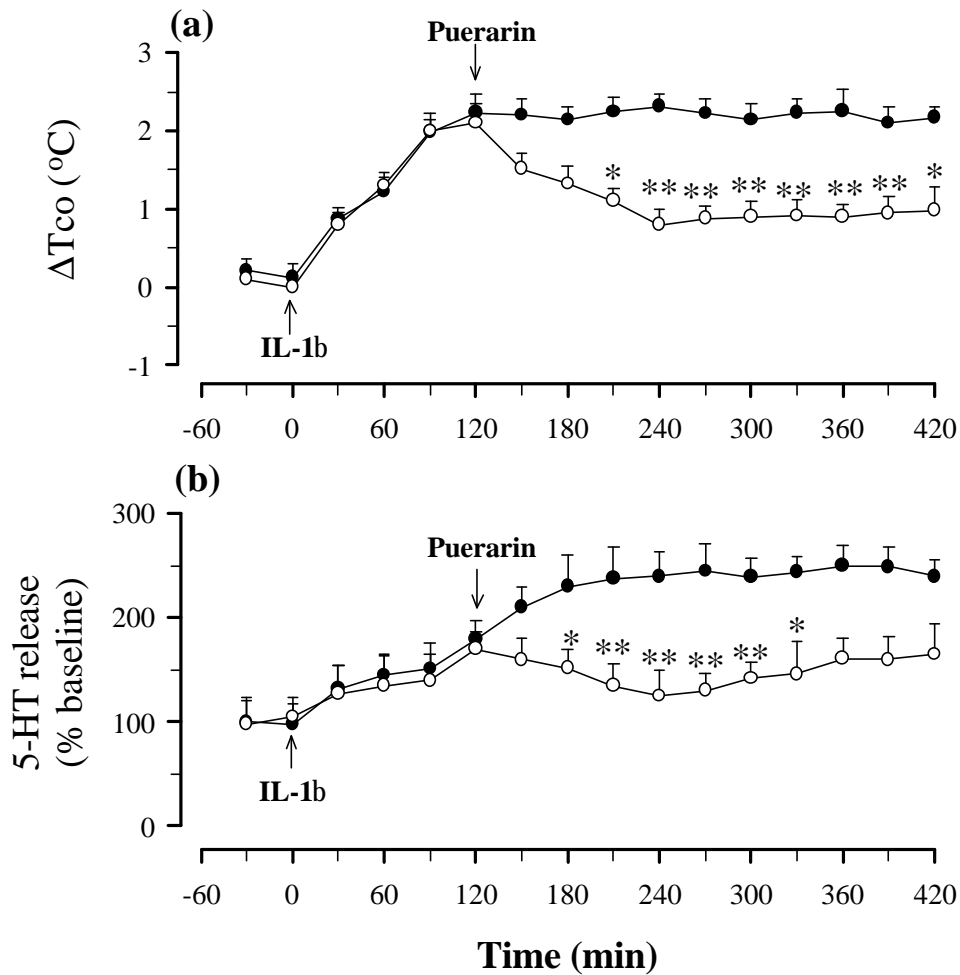


Fig. 13 Time course of the effects of interleukin-1 β (IL-1 β , 10ng/10 μ l; i.c.v.) on (a) colonic temperature (Tco) and (b) hypothalamic 5-hydroxytryptamine (5-HT) release in vehicle (●) and 30mg/kg puerarin treated (○) rats (n=5 per group). Data are the mean \pm SEM. The arrows indicate the time of injection. *P<0.05, **P<0.01 significantly different from the corresponding control value (IL-1 β group), Student's test.

七、 Puerarin 對 S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)、 sodium nitroprusside (SNP) 與 8-Bromo-cGMP 誘發大鼠發燒溫度變化之影響

如 Table 6 所示， puerarin (10, 30mg/kg) 可明顯降低 SNAP (10 μ g/10 μ l, i.c.v.)、 SNP (20 μ g/10 μ l, i.c.v.) 與 8-Bromo-cGMP (100 μ g/10 μ l, i.c.v.) 所誘發之升溫現象。

Table 6 Effects of puerarin on the hyperthermia induced by intracerebroventricular injection (i.c.v.) of S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP), sodium nitroprusside (SNP) or 8-Bromo-cGMP .

Treatment	Change in colonic temperature (Δ° C)		
	Vehicle	Puerarin	
		10mg/kg (i.p.)	30mg/kg (i.p.)
Saline 0.9% (i.c.v.)	0.12 \pm 0.15	-0.78 \pm 0.21*	-1.05 \pm 0.20**
SNAP 10 μ g/10 μ l (i.c.v.)	1.40 \pm 0.20	0.97 \pm 0.25	0.70 \pm 0.27*
SNP 20 μ g/10 μ l (i.c.v.)	1.40 \pm 0.23	0.91 \pm 0.21	0.20 \pm 0.22*
8-Bromo-cGMP 100 μ g/10 μ l (i.c.v.)	0.75 \pm 0.16	0.20 \pm 0.15*	-0.83 \pm 0.30**

Puerarin was injected 120 mins after SNAP, 10 mins after SNP or 90 mins before 8-Bromo-cGMP injected. The value are mean \pm SEM. of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. *P<0.05, **P<0.01, significantly

different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA.

八、 Puerarin 對 prostaglandin E₂ (PGE₂) 與 8-Bromo-cAMP 誘發大鼠發燒溫度變化之影響

如 Table 7 所示， puerarin (10, 30mg/kg; i.p.) 可顯著抑制 PGE₂ (100 μ g/10 μ l, i.c.v.) 8-Bromo-cAMP (40 μ g/10 μ l, i.h.) 對大鼠所誘發之發燒現象。

Table 7 Effects of puerarin on the hyperthermia induced by intracerebroventricular injection (i.c.v.) of prostaglandin E₂ (PGE₂) or intrahypothalamic injection (i.h.) of 8-Bromo-cAMP.

Treatment	Change in colonic temperature ($\Delta^{\circ}\text{C}$)		
	Vehicle	Puerarin	
		10mg/kg (i.p.)	30mg/kg (i.p.)
Saline 0.9% (i.c.v.)	0.11 \pm 0.15	-0.78 \pm 0.21*	-1.05 \pm 0.20**
PGE ₂ 100 μ g/10 μ l (i.c.v.)	1.33 \pm 0.29	0.50 \pm 0.16*	-0.30 \pm 0.28**
8-Bromo-cAMP 40 μ g/10 μ l (i.h.)	0.65 \pm 0.17	-0.13 \pm 0.29*	-0.74 \pm 0.15**

Puerarin was injected 90 mins before PGE₂ injected and 10 mins after 8-Bromo-cAMP injected. The value are mean \pm SEM. of 8 rats per group. Δ , denote the difference between the control value before 120 mins after the start of puerarin injected. *P<0.05, **P<0.01, significantly different from the corresponding control value (vehicle group), ANOVA.

第四章 討 論

葛根素 (puerarin) 為祛風解表中藥葛根之主要成分之一，係 isoflavonoids；近年來相關藥理研究頗多，然有關 puerarin 解熱降溫作用之機轉至今仍未有研究報告提出；因此，本研究針對 puerarin 解熱降溫作用之機轉進行探討。

實驗結果發現腹腔給予 puerarin 對室溫下正常大鼠之體溫具明顯之降溫作用，給藥後約 120 分鐘體溫降至最低，其後則慢慢回復，持續時間則會隨劑量增加而延長，而側腦室給予 puerarin (100 μ g/10 μ l, i.c.v.) 對室溫下正常大鼠之體溫也具明顯之降溫作用。

1957 年 Brodie & Shore 與 1961 年 Von Euler 先後提出下視丘 (hypothalamus) 可能在體溫調節作用上扮演一控制的角色⁽⁴⁵⁾，及腦內單胺神經系統可能參與下視丘體溫恆定 (thermostat) 設定的機制後⁽⁴⁶⁾，於 1980 年 Myers 等學者發現下視丘 serotonin 之含量與熱的產生有關⁽⁴⁷⁾，1991 年 Gorden 進一步報告指出當動物下視丘之 serotonin 活性增加時可使代謝產熱增加散熱減少 (表皮血管收縮)，反之，當動物下視丘 serotonin 活性降低會使代謝產熱減少散熱增加 (表皮血管擴張，呼吸散熱率增加)⁽⁴⁸⁾，可知下視丘之 serotonergic system 在體溫調節系統中扮演一重要之角色。為探討 puerarin 之降溫作用與體溫調節中樞 (下視丘) serotonergic system 間之關係，本研究利用微透析法配合高壓液相層析儀，針對 puerarin 對於室溫下正常清醒大鼠肛溫與下視丘 serotonin 濃度變化進行同步偵測，實驗結果發現當 puerarin 降低大鼠肛溫時，其下視丘 serotonin 之濃度亦有降低之現象，故 puerarin 之降溫作用可能與降低下視丘 serotonin 之濃度有關。

5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) 為 serotonin 之 neurotoxin⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾，是神經科學研究上常用之工具藥，由大鼠側腦室一次給予5,7-DHT (200 μ g)，七天後可明顯降低下視丘 serotonin 之濃度，但不會影響下視丘 dopamine 之濃度，且對大鼠之體溫並無明顯之影響⁽⁵²⁾。由於 puerarin 之降溫作用，會因 5,7-DHT 破壞腦中 serotonin 神經而減弱，可推知突觸後 serotonergic receptor 亦可能參與 puerarin 降溫作用之產生。

目前已知腦中至少存在有七種不同之 serotonergic receptor (5-HT_{1A/B/D/E/F}, 5-HT_{2/A/B/C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ 及 5-HT₇)⁽⁵³⁾。相關研究發現 serotonergic receptor 與體溫調節作用之關係會因使用動物品種、藥物劑量大小、給藥途徑及部位之不同等而有所差異。(-)-pindolol 為 5-HT_{1A} 受體及 β adrenoceptor 之拮抗劑，可拮抗 5-HT_{1A} 受體之致效劑 (8-OH-DPAT, gepirone, (+)S-20499) 所誘發之降溫作用⁽⁵⁴⁾；8-OH-DPAT 為突觸前及突觸後 5-HT_{1A} 受體之致效劑^(55,56)，腹腔或皮下給予可引起明顯之降溫作用⁽⁵⁷⁻⁶⁰⁾，並降低腦中 serotonin 之釋放⁽⁶¹⁾；近來研究指出 8-OH-DPAT 降溫作用之機轉大鼠與小鼠並不相同，在大鼠 8-OH-DPAT 之降溫作用不會因 5,7-DHT 前處理破壞 serotonin neurons 或利用 *p*-chlorophenylalanine (5-HT synthesis inhibitor) 排空腦內 serotonin 含量而消失，亦不因給予選擇性之 5-HT uptake 抑制劑、5-HT precursor 或 5-HT releasing agent 提高腦內 serotonin 之釋放所影響，故其對大鼠降溫作用是藉由興奮突觸後 5-HT_{1A} 受體所達成^(62,63)；而小鼠則剛好相反是藉由興奮突觸前 5-HT_{1A} 受體所致^(63,64)。實驗結果發現 puerarin 誘發之降溫作用可被 5-HT_{1A} 受體之拮抗劑 (-)-pindolol 所拮抗，或為 5-HT_{1A} 受體之致效劑

8-OH-DPAT 所加強,故可推知 puerarin 對室溫下正常大鼠之降溫作用可能是藉由致效突觸後 5-HT_{1A} 受體所致。

其次,全身性給予 5-HT_{2A/C} 受體之致效劑 DOI、MK-212 或 quipazine 等均會引起體溫上升之作用^(59,65-67),且此升溫作用可為事先給予 5-HT_{2A/C} 受體之拮抗劑 ketanserin、LY53857、mianserin、ritanserin 或 5-HT_{1A/2} 及 D₂ 受體之拮抗劑 spiperone 所阻斷^(68,69),而 5-HT₂ 受體之拮抗劑 ketanserin 或 pirenperone 單獨給藥時則具降溫之作用⁽⁷⁰⁾,顯示 5-HT₂ 受體在體溫調節作用上扮演一與 5-HT_{1A} 受體相反之升溫的角色;進一步的研究發現 DOI 不論中樞或周邊給予均可誘發大鼠之升溫作用⁽⁵²⁾,且其升溫作用不受 5-HT_{1A/1B/2C} 受體及 β -adrenoceptor 之拮抗劑 propranolol 與 5-HT₃ 受體之拮抗劑 MDL-72222 或 ondansetron 所影響,可知 DOI 是藉由興奮突觸後 5-HT_{2A} receptor 誘發大鼠之升溫作用⁽⁶⁹⁾;而 quipazine 不僅為 5-HT_{1B/1C/2} 受體之致效劑亦為 5-HT₃ 受體之拮抗劑⁽⁷¹⁾與 5-HT-uptake 之抑制劑⁽⁷⁴⁾,可增加突觸間 serotonin 之濃度⁽⁷³⁻⁷⁵⁾,其誘發之升溫作用亦是藉由興奮突觸後 5-HT₂ 受體所致^(59,76,77)。實驗結果發現 puerarin 誘發之降溫作用可被腹腔或側腦室給予 DOI 及腹腔給予 quipazine 之 5-HT₂ 受體致效劑所拮抗,或為 pirenperone、ketanserin 之 5-HT₂ 受體拮抗劑所加強,可知 puerarin 對室溫下正常大鼠之降溫作用可能與阻斷突觸後 5-HT₂ 受體有關。

由上述實驗結果,可知 puerarin 可能藉由降低下視丘 serotonin 之濃度,並作用於 postsynaptic serotonin receptor,致活 5-HT_{1A} 受體及阻斷 5-HT₂ 受體,而達到降低體溫之作用。

發燒 (fever) 是臨床上常被描述的疾病症狀，定義為提昇下視丘體溫調節中樞之“置點” (set-point)，使得體溫高於正常之恆定溫度。傳統上將能引起人體或動物發熱的物質，通稱為致熱原 (pyrogen)，一般可分為外生性致熱原 (exogenous pyrogens) 及內生性致熱原 (endogenous pyrogens)⁽⁷⁸⁾。外生性致熱原 (如：endotoxin) 之分子較大且較複雜，無法直接作用於體溫調節中樞，但可促使白血球 (leukocytes) 與巨噬細胞 (phagocytic macrophage) 等釋放內生性致熱原，如 interleukin-1、tumor necrosis factor、interferon 和 platelet-activating factor 等⁽⁷⁹⁻⁸²⁾，這些內生性致熱原再藉由 prostaglandins、somatostatin、thyrotropin releasing factor、monoamines 以及其他未知之 protein factors 等內生性物質作用於體溫調節中樞內對熱敏感之神經元，進而引起發熱機轉而產熱⁽⁸³⁾。

1923 年 Seibert 指出引起動物體發燒的物質主要是來自葛蘭氏陰性菌細胞壁受破壞所游離出的毒素，稱為細菌內毒素 (bacterial endotoxin)，其會造成動物畏寒、發燒等症狀，甚至導致敗血性休克 (septic shock) 而死亡；1943 年 Shear 根據細菌內毒素結構上特性，另命名為 lipopolysaccharide (LPS)⁽⁸⁴⁾，LPS 可增加體內 cytokines (TNF- α 、IL-6、IL-1 β)、prostaglandins、histamine、serotonin、kinins 及 platelet-activating factor 等過敏性毒素的釋放，並抑制葡萄糖及脂質代謝，活化 protein kinase C，造成脂質過氧化，藉以增加自由基形成及誘發基因毒性；此外，LPS 也會刺激 nitric oxide synthase (NOS) 活性，從而增加 nitric oxide (NO) 之產生⁽⁸⁵⁻⁸⁹⁾。由週邊或側腦室給予 LPS 均可使實驗動物體溫升高，為實驗上常用之誘發發燒模式⁽⁹⁰⁾，由實驗結果發現 puerarin 對 LPS 誘發發燒之大鼠具明顯之解熱效果。

細菌內毒素所引起的發燒機制，所媒介之內生性熱原中，以 IL-1 β 最受學者重視，IL-1 receptors 拮抗劑能有效阻斷細菌內毒素所引起的發燒反應⁽⁹¹⁾，IL-1 β 所引起的發燒反應模式 (pattern) 也和細菌內毒素所引起的發燒反應最為相近，因而 IL-1 β 被學者譽為媒介細菌內毒素所引起的發燒反應中的真正媒介物質 (true mediator)⁽⁹²⁻⁹⁴⁾。IL-1 源自於巨噬細胞、免疫性T淋巴細胞、B淋巴細胞和血管內皮細胞等，隨著血液循環分佈全身⁽⁹⁴⁾，亦可由中樞星狀細胞 (astrocyte) 和微小神經膠細胞 (microglia) 所合成⁽⁹³⁻⁹⁶⁾。下視丘或腦室給予低劑量 IL-1 均可誘發發燒反應^(94,97-100)。IL-1 可分為 IL-1 α 與 IL-1 β 二種，IL-1 β 是由細胞內 31kDa 的前驅物分解後分泌到細胞外的 17kDa polypeptides，循環中的 IL-1 β 主要是和 type II IL-1 receptors 結合，進入中樞之 IL-1 β 也能和 type I IL-1 receptors 結合，和受體結合之 IL-1 β 能啟動一連串複雜的細胞內訊息反應，包括活化 cyclic AMP、Ca²⁺-calmodulin、inositolphosphate hydrolysis、diacylglycerol、eicosanoids、oxygen radicals、nitric oxide 和 Na⁺/H⁺ antiporter 等，同時 IL-1 β 也能藉由細胞內訊息傳遞過程，誘導基因活化來調節細胞功能⁽¹⁰¹⁾；除此之外，在大鼠腎小球環間膜細胞 IL-1 β 可藉活化 tyrosine phosphorylation，增加 prostaglandin endoperoxide synthase 2 (COX-2) mRNA 之表現及 prostaglandin E₂ 的產生⁽¹⁰²⁾。由大鼠側腦室給予 IL-1 β 可誘發一具劑量依存性、明顯持久之發燒反應 (大於6小時)⁽¹⁰³⁾，並明顯升高大鼠下視丘單胺 (epinephrine、norepinephrine、dopamine、serotonin) 及其代謝物之濃度⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾；由實驗結果發現側腦室給予 puerarin (100 μ g/10 μ l, i.c.v.) 可以降低 IL-1 β 誘發之發燒反應，且腹腔給予 puerarin (10, 30mg/kg, i.p.) 不僅可以降低 IL-1 β 誘發之發燒反應，對 IL-1 β 誘發之

下視丘 serotonin 濃度增加現象亦具有抑制作用。

1993 年 Salvemini 等學者指出不論體內或體外試驗均顯示 LPS 或 cytokines 能藉由酪胺酸激 (tyrosine kinases) 路徑將訊息傳入細胞內,除了會引起 cyclooxygenase (COX) 之合成增加外,亦會增加 NO synthase (NOS) 之合成⁽¹⁰⁷⁾。NOS 為 L-arginine 形成 nitric oxide (NO) 時之合成⁽¹⁰⁸⁾; 依據性質之不同,可將 NOS 區分為兩大類:(1) 原構形一氧化氮合成 (constitutive nitric oxide synthase; cNOS),又可細分為主要分佈於神經細胞之 neurons NOS (nNOS)⁽¹⁰⁹⁻¹¹¹⁾ 和分佈於內皮細胞之 endothelial NOS⁽¹⁰⁹⁾ (eNOS), nNOS 會增加細胞內 Ca^{2+} 濃度,進而與 calmodulin 結合產生 NO,而 eNOS 則受到副交感神經支配血管所活化,使細胞內 Ca^{2+} 濃度增加,進而與 calmodulin 結合產生 NO,並擴散至平滑肌及活化 soluble guanylate cyclase (sGC),使 cGMP 釋放降低 Ca^{2+} 濃度造成平滑肌鬆弛;(2) 誘導型一氧化氮合成 (inducible nitric oxide synthase; iNOS)。LPS、cytokines (IL-1、IL-2、IL-6、tumor necrosis factor) 會與免疫細胞、巨噬細胞及內皮細胞受體作用,活化 DNA-directed mRNA,誘導 iNOS 的合成,大量產生 NO^(110,111)。NO 在中樞神經系統中,除了扮演神經調節因子 (neuromodular) 的角色外,也具有神經毒性作用 (neurotoxicity),能活化腦細胞製造 cyclic GMP 作為神經傳遞物質⁽¹¹²⁻¹¹³⁾;此外,LPS 及 cytokines 能刺激腦內衛星膠原細胞 (astroglia),經由 NO 精胺酸路徑合成大量的 cyclic GMP (cGMP)⁽¹¹⁴⁻¹¹⁷⁾,且 NO 會活化 sGC 誘導 cGMP 形成⁽¹¹⁰⁻¹¹²⁾。1994 年 Reimers 報告指出 IL-1 β 誘發之大鼠發燒反應,可為 NOS inhibitors 所阻斷⁽¹¹⁸⁾;腦室注射 cyclic GMP 的類似物能引起發燒反應⁽¹¹³⁾。而 NO 釋放劑 (SNP) 會增加下視丘 cGMP 釋

放,使細胞內 Ca^{2+} 濃度增加,活化 phospholipase A_2 使 phospholipids 形成 arachidonate,再分別活化 cyclooxygenase 及 lipoxygenase 形成 PGE_2 及 leukotrienes⁽¹¹⁹⁾。實驗結果發現 puerarin 可明顯降低 NO donor (SNAP)、NO 釋放劑 (SNP) 和 cGMP 之類似物 8-Bromo-cGMP 等藥物所誘發之發燒作用。

前列腺素 (prostaglandin ; PG) 是最早被證實具有中樞性熱原特性之物質⁽¹²⁰⁻¹²¹⁾,主要是細胞膜之磷脂質 (phospholipid),經由 phospholipid A_2 (PLA_2) 分解成 arachidonic acid,再經 cyclooxygenase (COX) 分解所得之產物,屬於 eicosanoid system 一環⁽¹²²⁾。PGE 受體 (EP) 可分為 EP_1 、 EP_2 、 EP_3 和 EP_4 四種,其細胞內訊息傳遞路徑主要是影響 cyclic AMP 和細胞內 Ca^{2+} 的濃度作為 second messengers 來調節細胞功能,其中 EP_1 為媒介發燒主要的受體^(123,124)。由於內生性致熱原 (IL-1) 之致熱作用可能是經由促進下視丘內 PGE_2 之合成所致⁽¹²⁵⁾,將直接注入大鼠之側腦室可引起一快速之升溫之現象;其次,1982 年林茂村教授研究指出 PGE_2 誘發之升溫作用可能是經由下視丘之 cyclic AMP (cAMP) 路徑來媒介訊息傳遞⁽¹²⁶⁾。由實驗結果發現 puerarin 可明顯抑制由側腦室給予 PGE_2 或由下視丘給予 cAMP 之類似物 8-Bromo-cAMP 誘發之發燒反應。

綜如上述,puerarin 具有明顯之解熱與降溫作用,其解熱機轉可能與抑制中樞 serotonin、 PGE_2 與 NO 等熱原媒介系統之活性有關;另外,puerarin 則可能藉由降低下視丘 serotonin 之濃度,並作用於 postsynaptic serotonin 受體,致活 5-HT $_1\text{A}$ 受體及阻斷 5-HT $_2$ 受體,而達到降低體溫之作用。

第五章 結 論

葛根素 (puerarin) 為中醫臨床上常用之清熱解表藥物葛根之主要成分之一，具有解痙、降血壓、抗心率不整等心血管作用，及解酒、解熱等效用；但有關 puerarin 解熱降溫作用之機轉至今仍並未見有研究報告提出，因此本研究之目的即是針對 puerarin 解熱降溫作用之機轉進行探討。獲致結果如下：

1. 室溫下 (24 ± 1) 正常清醒大鼠由腹腔給予 puerarin (5-30mg/kg) 可引起一劑量依存性之降溫作用，並同步降低大鼠下視丘 serotonin 之濃度，而側腦室給予 puerarin ($100\mu\text{g}/10\mu\text{l}$, i.c.v.) 對室溫下正常大鼠之體溫也具明顯之降溫作用。
2. 5,7-DHT (serotonin neurotoxin) 破壞腦中 serotonin 神經後，會減弱 puerarin 在室溫下對正常清醒大鼠之降溫作用。
3. Puerarin 誘發之降溫作用可被 5-HT_{1A} 受體之拮抗劑 (-)-pindolol 及 5-HT₂ 受體之致效劑 DOI、quipazine 所拮抗，或為 5-HT_{1A} 受體之致效劑 8-OH-DPAT 及 5-HT₂ 受體之拮抗劑 pirenperone、ketanserin 所加強。
4. 由上述 (1-3) 實驗結果，可知 puerarin 可能藉由降低下視丘 serotonin 之濃度，並作用於 postsynaptic serotonin receptor，致活 5-HT_{1A} 受體及阻斷 5-HT₂ 受體，而達到降低體溫之作用。
5. Puerarin 對室溫下細菌內毒素 LPS 誘發發燒之大鼠，具有明顯及

劑量依存性之解熱作用。

6. Puerarin 可顯著降低內生性致熱原 IL-1 β 誘發之發燒反應，對 IL-1 β 誘發之下視丘 serotonin 濃度增加現象亦具有抑制作用。
7. Puerarin 可明顯降低 NO donor (SNAP)、NO 釋放劑 (SNP) 和 cGMP 之類似物 8-Bromo-cGMP 等藥物所誘發之發燒作用。
8. Puerarin 可明顯抑制由側腦室給予 PGE₂ 或由下視丘給予 cAMP 之類似物 8-Bromo-cAMP 誘發之發燒反應。

綜合以上結果，顯示 puerarin 具明顯之解熱降溫作用，其作用機轉可能是藉由抑制中樞 serotonin, nitric oxide 及 prostaglandin 等系統之活性所達成。



參考文獻

1. 吳培基：發燒。醫院藥學 1985; 2: 85-91。
2. Done AK. Treatment of fever in 1982: a review. Am J Med. 1983; 7 : 14-7.
3. 中藥大辭典(下冊)：葛根，上海科學技術出版社，上海 1986； pp.2307-10。
4. 賴祥林、唐冰：葛根的實驗研究與臨床應用新進展。中國中藥雜誌 1989; 14 (5) : 52-5。
5. 宋振玉主編：中草藥現代研究 第一卷，北京醫科大學和中國協和醫科大學聯合出版社，北京 1995; pp.258-305。
6. 周遠鵬：葛根的藥理作用和臨床應用研究進展。中西醫結合雜誌 1984; 4 (11) : 699-702。
7. 范禮理、趙德化、趙敏崎、曾貴云：葛根黃酮抗心律失常作用作用。藥學學報 1985; 20 (9) : 647-51。
8. 呂欣然、高爾、許蘭芝、李華洲、康白、陳維寧、陳淑梅：葛根素對含 β 腎上腺素受體的離體器官和整體動物的阻斷作用。中國藥理學報 1986; 7 (6) : 537-9。
9. 呂寶彰、高爾、單京瑞、陳征途：葛根素對 β 腎上腺受體結合作用和腺酸環化活性的影響。解放軍醫學雜誌 1985; 10 (2) : 97-101。
10. Shen XL, Witt MR, Nielsen M, Sterner O. Inhibition of [3H] flunitrazepam binding to rat brain membranes in vitro by puerarin and daidzein. Acta Pharmaceutica Sinica. 1996; 31 (1) : 59-62.
11. 段重高、李宏傳、徐理納：葛根素對金黃地鼠腦微循環的影響。中華醫學雜誌 1991; 71 (9) : 517-9。
12. 姜秀蓮、徐理納：葛根素對小鼠實驗性微循環障礙的改善作用。藥學學報 1989; 24 (4) : 251-4。
13. 賀風義、陳煥春、王書民、王瓊：葛根素治療心絞痛。新藥與臨

床 1996; 15 (3) :148-51。

14. 李小鷹、王培仁、邵建華、朱興雷、朱繼方：靜脈注射葛根素對犬急性心肌梗塞範圍的影響。山東醫學院學報 1984; 22 (3) : 9-17。
15. 宋雪鵬、陳平平、柴象樞：葛根素對自發高血壓大鼠的降壓作用及其血漿腎素活性的影響。中國藥理學學報 1988; 9 (1) : 55-8。
16. Chai XS, Wang ZX, Chen PP, Wang LY, Lu XR, Kang B. Antiarrhythmic action of puerarin. *Acta Pharmacologica Sinica*. 1985; 6 (3) : 166-8.
17. Wang LY, Zhao AP, Chai XS. Effects of puerarin on cat vascular smooth muscle in vitro. *Acta Pharmacologica Sinica*. 1994; 15 (2) : 180-2.
18. Overstreet DH, Lee YW, Rezvani AH, Pei YH, Criswell HE, Janowsky DS. Suppression of alcohol intake after administration of chinese herbal medicine, NPI-028, and its derivatives. *Alcohol: Clin Exp Res*. 1996; 20 (2) : 221-7.
19. Dong LP, Wang TY. Effects of puerarin against glutamate excitotoxicity on cultured mouse cerebral cortical neurons. *Acta Pharmacologica Sinica*. 1998; 19 (4) : 339-42.
20. Zhou Y, Su X, Cheng B, Jiang J, Chen H. Comparative study on pharmacological effects of various species of *Pueraria*. *Journal of Chinese Materia Medica*. 1995; 20 (10) : 619-21.
21. Myers RD & Waller MB. Thermoregulation and serotonin, *Health and Disease* (Essman W ed.). Sepectrum, New York. 1978; 1-67.
22. 謝文全：神農本草經（古今功能輯注本），中國藥學研究所，台中 1995; pp.7。
23. 那琦 謝文全：重輯名醫別錄，中國藥學研究所，台中 1977; pp.71。
24. 森立之：本草經集注，南大阪印刷株式會社，日本 1972; pp.64。
25. 岡西為人：重輯新修本草，國立中國醫藥研究所，台北 1964; pp.200。

26. 謝文全：重輯開寶重定本草，中國藥學研究所，台中 1998; pp.106。
27. 那琦：重輯嘉祐補注神農本草，中國藥學研究所，台中 1989; pp.83。
28. 宋·唐慎微、艾晟：經史證類大觀本草，正言出版社，台北 pp.224。
29. 明·李時珍：圖解本草綱目，文光圖書公司印行，台北 1970; pp.740。
30. 清·吳其濬：植物名實圖考長編，世界書局，台北 1962; pp.568。
31. 清·吳其濬：植物名實圖考，世界書局，台北 1974; pp.540。
32. 鄭虎占主編：中藥現代研究與應用（第五卷），學苑出版社，北京 1998; 1: pp.4302-25。
33. 陰健 郭力弓：中藥現代研究與臨床應用 I，學苑出版社，北京 1993; 10: pp.627-32。
34. 王本祥主編：現代中藥藥理學，天津科學技術出版社，天津 1997; 1: pp.145-55。
35. 呂欣然、陳淑梅、孫塘：葛根對腎上腺素能受體阻滯作用的研究。藥學學報 1980; 15 (4) : 218-21。
36. 曾貴云、周遠鵬、張麗英、范禮理：葛根的藥理研究 I 葛根對犬血壓 血管反應性 腦循環及外周循環的作用。中華醫學雜誌 1974; 54 (5) : 265-74。
37. 焦鷺、劉紅岩、韓銳：葛根有效成分 S₈₆₀₁₉ 對 HL-60 細胞的分化誘導及細胞週期移行作用之研究。中華血液學雜誌 1990; 11 (2) : 83-5。
38. 季宇彬主編：中藥有效成分藥理與應用，黑龍江科學技術出版社，哈爾濱 1994; pp.360-4。
39. 趙愛平、王磊一、王福文、柴強、柴向樞：葛根素延緩易中風型自發高血壓大鼠缺血痙攣的發作和死亡。中國中藥雜誌 1998; 23 (7) : 431-44。
40. 久保道德：葛根的藥理。國外醫學中醫中藥分冊 1993; 15 (3) : 23-5。
41. Fan S, Sun L, Zhao H, Zhang F. Effect of both puerarin and gypsum

on the firing of pyrogen-treated thermosensitive neurons in the region POAH of anesthetized cats. *Chung-Kuo Yung Sheng Li Hsueh Tsa Chih.* 1997; 13 (1) : 71-4.

42. Lin RC, Guthrie S, Xie CY, Mai K, Lee DY, Lumeng L, Li TK. Isoflavonoid compounds extracted from *Pueraria lobata* suppress alcohol preference in a pharmacogenetic rat model of alcoholism. *Alcohol: Clin Exp Res.* 1996; 20 (4) : 659-63..
43. Kang RX. The intraocular pressure depressive effect of puerarin. *Chin J Ophthalmol.* 1993; 29 (6) : 336-9.
44. *Fever: Basic Mechanisms and Management.* Edited by Philip Mackowiak. Raven Press Ltd, New York. 1991; 1-22.
45. Brodie BB, Shore AA. The concept for a role of serotonin and norepinephrine chemical mediators in the brain. *Ann NY Acad Sci.* 1957; 66 : 631-42.
46. Von EC. Physiology and pharmacology of temperature regulation. *Pharmacol Rev.* 1961; 13 : 361-98.
47. Myers RD. Hypothalamic control of thermoregulation. Neurochemical mechanisms. In Morgane PJ, Panksepp J (eds). *Handbook of the Hypothalamus.* Dekker. New York. 1980; 3 : 83-212.
48. Gorden CJ. Thermal biology of the laboratory rats. *Physiol Behav.* 1991; 47 : 963-91.
49. Lin MT. Effects of brain monoamine depletions on thermoregulation in rabbits. *Am J Physiol.* 1980; 364-71.
50. Fernandez GA, Lopez RC, Perez UJ, Castaneda HG. Evidence for a postsynaptic action of the serotonergic anxiolytics : ipsapirone, indoramate and buspirone. *Brain Res Bull* 1992; 28: 497-501.
51. Frankfurt M, Mendelson SD, Mckittrick CR, Mcewen BS. Alterations of serotonin receptor binding in the hypothalamus following acute denervation. *Brain Res* 1993; 601: 349-52.
52. Hsieh MT, Chueh FY, Lin MT. Magnolol decreases body temperature

by reducing 5-hydroxytryptamine release in the rat hypothalamus. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1998; 25: 813-7.

53. Emile Z, Gilles F. 5-hydroxytryptamine receptor. *Am Pharmacol Exp Therap*. 1992; 44 (3) : 401-58.
54. Scott PA, Chou JM, Tang H, Frazer A. Differential induction of 5-HT_{1A}-mediated responses in vivo by three chemically dissimilar 5-HT_{1A} agonists. *J Pharmacol Exp Therap*. 1994; 270 (1) : 198-208.
55. Hjorth S, Carlsson A, Lindberg P, Sanchez D, Wikstrom H, Arvidsson L-E, Hacksell U, Nilsson JLG. 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, 8-OH-DPAT, a potent and selective simplified ergot congener with central 5-HT-receptor stimulating activity. *J Neural Transm*. 1982; 55: 169-88.
56. Middlemiss DN, Fozard JR. 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin discriminates between subtypes of the 5-HT₁ recognition site. *Eur J Pharmacol*. 1983; 90: 151-3.
57. Goodwin GM, De Souza RJ, Green AR. The pharmacology of the hypothermic response in mice to 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, (8-OH-DPAT): a model of presynaptic 5-HT₁ function. *Neuropharmacology*. 1985; 24: 1187-94.
58. Gudelsky GA, Koenig JJ, Meltzer HY. Thermoregulatory responses to serotonin (5-HT) receptor stimulation in the rats. *Neuropharmacology*. 1986; 25: 1307-13.
59. Hjorth S. Hypothermia in the rat induced by the potent serotonergic agent 8-OH-DPAT. *J Neural Transm*. 1985; 61: 131-5.
60. Hutson PH, Donohoe TP, Curzon G. Hypothermia induced by the putative 5-HT_{1A} agonist LY 165163 and 8-OH-DPAT is not prevented by 5-HT depletion. *Eur J Pharmacol*. 1987; 143: 221-8.
61. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. The biochemical Basis of Neuropharmacology. 1996; 353-407.
62. Martin KF, Phillips I, Hearson M, Prow MR, Heal DJ. Characterization

of 8-OH-DPAT-induced hypothermia in mice as a 5-HT_{1A} autoreceptor response and its evaluation as a model to selectively identify antidepressants. *Br J Pharmacol.* 1992; 107: 15-21.

63. Millan MJ, Rivet JM, Canton H, Le S, Girardon M, Goe.A. Induction of hypothermia as a Model of 5-Hydroxytryptamine 5-HT_{1A} receptor-mediated activity in the rats: A pharmacological characterization of the actions of novel agonists and antagonists. *J Pharmacol Exp Therap.* 1993; 264 (3) : 1364-76.
64. Bill DJ, Knight M, Forster EA, Fletcher A. Direct evidence for an important species difference in the mechanism of 8-OH-DPAT-induced hypothermia. *Br J Pharmacol.* 1991; 103: 1857-64.
65. Nash JF, Meltzer HY, Gudelsky GA. Antagonism of receptor mediated neuroendocrine and temperature responses by atypical neuroleptics in the rat. *Eur J Pharmacol.* 1988; 151: 463-9.
66. Salmi P, Karlsson T, Ahlenius S. Antagonism by SCH 23390 of clozapine-induced hypothermia in the rat. *Eur J Pharmacol.* 1994; 253: 67-73.
67. Yamanaki S, Lai H, Horita A. Dopaminergic and serotonergic mechanisms of thermoregulation: mediation of thermal effects of apomorphine and dopamine. *J Pharmacol Exp Therap.* 1983; 227: 383-8.
68. Mazzolai-Pomietto P, Aulakh CS, Wozniak KM, Hill JL, Murphy DL. Evidence that 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI)-induced hyperthermia in rats is mediated by stimulation of 5-HT_{2A} receptors. *Psychopharmacology.* 1995; 117: 193-9.
69. Peter S, Sven A. Evidence for function interactions between 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor in rats thermoregulatory mechanisms. *Pharmacol Toxicol.* 1998; 82: 122-7.
70. Charanjit SA, Pascale MP, Krystyna MW, James LH, Dennis LM.

Evidence

that

1-(2,5-dimethoxy-4-methylphenyl)-2-amino-propane-induced hypophagia and hyperthermia in rats is mediated by serotonin-2A receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994; 270: 127-32.

71. Hoyer D, Schoeffter P. 5-HT receptors: Subtypes and second messengers. *J Recet Res.* 1991; 11: 197-214.
72. Alhaider AA. New hybrids of quipazine and trazodone as selective inhibitors of uptake of 5-hydroxytryptamine. *J Pharm Sci.* 1992; 81 (1) : 99-103.
73. Apud JA, Grayson DR, De Erausquin E, Costa E. Pharmacological characterization of regulation of phosphoinositide metabolism by recombinant 5-HT₂ receptors in rat. *Neuropharmacology.* 1992; 31: 1-8.
74. Conn PJ, Sanders-Bush E. Serotonin-stimulated phosphoinositide turnover: mediation by the S₂ binding sites in rat cerebral cortex but not in subcortical regions. *J Pharmacol Exp Ther.* 1985; 234: 195-203.
75. Cory RN, Rouot B, Guillon G, Sladeczek F, Balestre MN, Bockaert J. The 5-hydroxytryptamine (5-HT₂) receptor stimulates inositol phosphate formation in intact and broken WRK1 cells: Determination of occupancy-response relationships for 5-HT agonists. *J Pharmacol Exp Ther.* 1987; 241: 258-67.
76. Glennon RA & Luncki I. Behavioral models of serotonin receptor activation. In : the Serotonin Receptors, ed. by E Sanders-Bush. pp. 253-93, Humana Press Clifton, 1988..
77. Pawlowski L. Amitriptyline and femoxetine, but not clomipramine or citalpram, antagonize hyperthermia induced by directly acting 5-hydroxytryptamine-like drugs in heat adapted rats. *J Pharm Pharmacol.* 1984; 36: 197-9.
78. Boulant JA. Thermoregulation. Fever: basic mechanisms and

management. Raven Press. New York. 1991; 1-22.

79. Fontana A, Weber E, Dayer JM. Synthesis of interleukin-1 endogenous pyrogen in the brain of endotoxin-treated mice: A step in fever induction. *J Immunol.* 1984; 133: 1696-8.
80. Saigusa T. Participation of interleukin-1 and tumor necrosis factor in the responses of the sympathetic nervous system during lipopolysaccharide-induced fever. *Pflugers Archiv* 1989; 416: 225-9.
81. Bouchama A, Parhar RS, Yazigi AE, Sheth K, Sedairy SA. Endotoxin and release of tumor necrosis factor and interleukin-1 in acute heat stroke. *J Appl Physiol.* 1991; 70: 2640-4.
82. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experiment endotoxin fever. *J Infect Dis.* 1990; 161: 79-81.
83. Lin MT, Chandra A, Tsay BL, Chern YF. Intracerebroventricular injection of sympathomimetic drugs inhibit both heat production and heat loss mechanisms in the rat. *Can J Physiol Pharmacol.* 1980; 58: 896-902.
84. Rietschel ET, Brade H. Bacterial Endotoxins. *Sci Am.* 1992; 8: 54-61.
85. Kent S, Bluthé RM, Kelley KW, Dantzer R. Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol Sci.* 1992; 13: 24-8.
86. Yirmiya R. Endotoxin produces a depressive like episode in rats. *Brain Res.* 1996; 711: 163-8.
87. Rothwell NJ, Hopkins SJ. Cytokines and the nervous system II: actions and mechanisms of actions. *Trends Neurosci.* 1995; 18: 130-6.
88. Rothwell NJ. CNS regulation of thermogenesis. *Citrc Rev Neurobiol;* 1994; 8: 1-10.
89. Rietschel E, Kirikae T, Schade U et al. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *FASEB J.* 1994; 8:

217-25.

90. Dascombe MJ. The pharmacology of hyperthermia. *Prog Neurobiol.* 1985; 25: 327-73.
91. Ohlsson K, Bjork P, Bergenfeldt M, Hageman R, Thompson RC. Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock. *Nature.* 1990; 348: 550-2.
92. Dinarello CA, Cannon JG, Wolff SM. New concepts on the pathogenesis of fever. *Rev Infect Dis.* 1988; 10: 168-89.
93. Dinarello CA. Endogenous pyrogens: the role of cytokines in the pathogenesis of fever. In: Mackowiak PA, ed. *Fever: basic mechanisms and management.* Raven Press. New York. 1991; 23-48.
94. Kluger MJ. Role of pyrogens, cryogen. *Physiol Rev.* 1991; 71: 93-127.
95. Breder CD, Dinarello CA, Saper CB. Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus. *Science.* 1988; 240: 321-3.
96. Lechan RM, Toni R, Clark BD, Cannon J G, Shaw AR, Dinarello CA, Reichlin S. Immunoreactive interleukin-1 β localization in the rat forebrain. *Brain Res.* 1989; 514: 135-40.
97. Blatteis CM. Neural mechanisms in the pyrogenic and acute phase responses to interleukin-1. *Int J Neurosci.* 1988; 38: 223-32.
98. Rothwell NJ. Mechanisms of the pyrogenic effects of cytokines. *E Cytokin Network.* 1990; 1: 211-3.
99. Busbridge NJ, Dascombe MJ, Tilders FJH. Central activation of thermogenesis and fever by interleukin-1 β and interleukin-1 α involves different mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 162: 591-6.
100. Opp MR, Krueger JM. Interleukin-1 receptor antagonist blocks interleukin-1-induced sleep and fever. *Am J Physiol.* 1991; 260: 453-7.

101. Cunningham ET, De Souza EB. Interleukin 1 receptors in the brain and endocrine tissues. *Immunol Today*. 1993; 14: 171-6.
102. Rzymeiewicz DM, DuMaine J, Morrison AR. IL-1 β regulates rat mesangial cyclooxygenase II gene expression by tyrosine phosphorylation. *Kidney Int*. 1995; 47: 1354-63.
103. Akio M, Naotoshi M, Yoshiyuki S. Functional and structural difference in febrile mechanism between rabbits and rats. *J Physiol (London)* 1990; 427: 227-39.
104. Futoshi S, Shigenobu K. Interleukin-1 β augments release of norepinephrine, dopamine and serotonin in the rat anterior hypo-thalamus. *J Neurosci*. 1993; 13: 3574-81.
105. Carmelina G, Pietro G, Maria GD. Activation of the hypothalamic serotonergic system by central interleukin-1. *Eur J Pharmacol*. 1991; 209: 139-40.
106. Mohankumar PS, Thyagarajana S, Quadri SK. Interleukin-1 β increases 5-hydroxyindoleacetic acid release in the hypothalamus in vivo. *Brain Res Bull*. 1993; 31: 745-8.
107. Salvemini D, Misko TP, Masferrer JL, Seibert K, Currie MG, Needleman P. Nitric oxide activates cyclo-oxygenase enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90: 7240-4.
108. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991; 43: 109-42.
109. Banks WA, Kastin AJ, Broadwell RD. Passage of cytokines across the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation*. 1995; 2: 241.
110. Mccann SM, Rettori V. The role of nitric oxide in reproduction. *Proc Soc Exp Med*. 1996; 211: 7-15.
111. Mcdonald LJ, Murad F. Nitric oxide and cyclic GMP signaling. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1996; 211: 1-6.
112. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger.

Neuron 1992; 8: 3-11.

113. Kandasamy SB, Williams BA. Central effects of dibutyl cyclic AMP and GMP on the temperature in conscious rabbits. *Brain Res.* 1983; 277: 311-20.
114. Boje KM, Arora PK. Microglia-produced nitric oxide and reactive nitrogen oxide mediate neuronal cell death. *Brain Res.* 1992; 587: 250-6.
115. Mollace VM, Colasanti M, Rodino P, Massoud R, Lauro GM, Nistico G. Cytokine-induced nitric oxide generation by cultured astrocytoma cells involves Ca^{2+} /calmodulin-independent NO-synthase. *Biophys Res Commun.* 1993; 191: 327-34.
116. Vigne P, Damais C, Frelin C. IL-1 and TNF α induce cGMP formation in C6 astrocytoma cells via the nitridergic pathway. *Brain Res.* 1993; 606: 332-4.
117. Simmons ML, Murphy S. Cytokines regulate L-arginine-dependent cyclic GMP production in rat glial cells. *Eur J Neurosci.* 1993; 5: 825-31.
118. Reimers JI, Bjerre U, Mandrup-Poulsen T, Nerup J. Interleukin 1 beta induces diabetes and fever in normal rats by nitric oxide via induction of different nitric oxide synthases. *Cytokine.* 1994; 6: 512-20.
119. Canteros G, Rettori V, Franchi A, Genaro A, Cebal E, Faletti A, Gimeno M, Mccann SM. Ethanol inhibits luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) secretion by blocking the response of LHGH neuronal terminals to nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci.* 1995; 92: 3416-20.
120. Milton AS, Wendlandt S. A possible role for prostaglandin E₁ as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat (abstract). *J Physio (Lond).* 1970; 207: 76-7.
121. Milton AS, Wendlandt S. Effects on body temperature of prostaglandins of the A, E and F series on injection into the third

- ventricle of unanaesthetized cats and rabbits. *J Physiol (Lond)*. 1971; 218: 325-36.
122. Smith WL, Marnett LJ, Dewitt D. Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacol Ther*. 1991; 49: 153-79.
 123. Cranston WI, Duff GW, Hellon RF, Mitchell D, Townsend Y. Evidence that brain prostaglandin synthesis is not essential in fever. *J Physiol* 1976; 259: 239-49.
 124. Oka T, Hori T. EP1-receptor mediated mediation of prostaglandin E₂-induced hyperthermia in rats. *Am J Physiol*. 1993; 267: R289-94.
 125. Sirko S, Bishai I, Coceani F. Prostaglandin formation in the hypothalamus in vivo : effect of pyrogens. *Am J Physiol*. 1989; 256: R616-24.
 126. Lin MT, Wu JJ, Chandra A, Tsay BL. A nore-pinephrine-cyclic AMP link in the hypothalamic pathways which mediate fever induced by endotoxin and prostaglandin E₂ in the rat. *J Pharmacol Exp Therap*. 1982; 222: 251-7.