

柴胡不同炮制品对虚热证大鼠的干预作用

王煊镇¹, 史毅², 张博文², 郑红梅², 刘波², 于欢², 叶耀辉^{2*}

(1. 九江市柴桑区中医医院, 江西九江 332100; 2. 江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] 目的:综合评价柴胡的不同炮制品对于热性中药致虚热大鼠的干预作用。方法:SD健康雄性大鼠46只,随机分为正常组(6只),模型组(40只),模型组采用灌胃热性中药附子、干姜、肉桂(20 g·kg⁻¹)方法建立虚热动物模型,成功造模后,随机将其分为正常组,模型组,知柏地黄丸组(知柏地黄丸,0.5 g·kg⁻¹),生品柴胡组,鳖血炒柴胡组,鳖血润柴胡组,酒柴胡组,醋柴胡组。各炮制品给药量均为3.15 g·kg⁻¹,正常组灌以等量的双蒸水,治疗11 d,每日1次,观测大鼠的一般情况及代谢笼指标,通过测定并比较血清中D-木糖,血清三碘甲状腺原氨酸(T₃),甲状腺素(T₄),血浆环磷酸腺苷(cAMP),环磷酸鸟苷(cGMP)含量,乳酸(LD),乳酸脱氢酶(LDH),三磷酸腺苷(ATP)酶活力等的含量及大鼠各脏器指数。结果:与正常组比较,模型组大鼠体质量增长缓慢,肛温、饮水量、尿液量、体液消耗量增高,饮食量,D-木糖含量下降,血浆cAMP含量,cGMP含量,血清LD含量,LDH活力,肝组织中Na⁺-K⁺-ATP酶活力,Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活力,血清T₃和T₄含量均上升(P<0.05),说明成功复制虚热模型;与模型组比较,柴胡不同炮制品及知柏地黄丸组的D-木糖均上升(P<0.05),血浆cAMP含量和cGMP含量均降低(P<0.05),LD和LDH含量均上升(P<0.05),各组中的ATP,T₃,T₄含量均降低(P<0.05)。结论:柴胡的不同炮制品对于热性中药致虚热大鼠的各个生理指标均有趋于正常水平回转的趋势,对于大鼠的虚热证具有治疗作用,而不同的炮制品对于各个生理指标的影响效果不同,由此可见,不同的炮制品对于虚热大鼠具有不同程度地干预作用。

[关键词] 柴胡炮制品; 虚热证; D-木糖; 血清三碘甲状腺原氨酸; 甲状腺素; 环核苷酸; 乳酸; 乳酸脱氢酶

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R2-0 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)12-0099-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181048

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180309.1038.036.html>

[网络出版时间] 2018-03-09 11:55

Effect of Different Processed Products of Bupleuri Radix on Deficiency Heat Syndrome Rats

WANG Xuan-zhen¹, SHI Yi², ZHANG Bo-wen², ZHENG Hong-mei², LIU Bo², YU Huan², YE Yao-hui^{2*}

(1. Jiujiang Chaisang District Traditional Chinese Medicine (TCM) Hospital, Jiujiang 332100, China;

2. Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the intervention effect of different processed products of Bupleuri Radix on heat-induced deficiency heat syndrome rats. **Method:** Totally 46 healthy male rats were randomly divided into two groups: normal group (6 rats), and model group (40 rats). The model group was intragastrically administered with intragastrically Aconiti Lateralis Radix Praeparata, Zingiberis Rhizoma and Cinnamomi Cortex (20 g·kg⁻¹) to establish the internal heat model. After the successful modeling, they were randomly divided into normal group, model group, positive group (Zhibai Dihuangwan, 0.5 g·kg⁻¹), raw Bupleuri Radix group, Turtle blood Bupleuri Radix group, turtle blood combined with Bupleuri Radix group, wine Bupleuri Radix group, and vinegar Bupleuri Radix group. The dosage of each processed product was 3.15 g·kg⁻¹. In the normal group, rats were administered with the same amount of double-distilled water once a day for 11 days. The general conditions and metabolic cage index of rats were measured, and the radix bupleuri basal metabolic changes, D-xylose in

[收稿日期] 20171023(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81260642);江西省研究生创新专项(YC2015-B066)

[第一作者] 王煊镇,主管中药师,从事中药学研究,E-mail:jjxzYYYjk@163.com

[通信作者] *叶耀辉,博士,教授,从事中药炮制机制研究,Tel:0791-87118716,E-mail:55925368@qq.com

serum, triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), cAMP, cGMP content, cortisol, lactic acid (LD), lactate dehydrogenase (LDH), activity of adenosine triphosphate (ATP) enzyme content and organ indexes of rats were compared. **Result:** Compared with the normal group, the body weight of rats in the model group increased slowly, the rectal temperature, water intake, urine volume and body fluid consumption elevated, and food intake and *D*-xylose content decreased; cAMP, cGMP content, LD in serum, LDH activity, adenosine triphosphate activity, T₃ and T₄ content increased ($P < 0.05$). This indicated that the internal heat model was successfully established ($P < 0.05$). Compared with the model group, the *D*-xylose in different processed product groups and positive drug group increased ($P < 0.05$); the levels of cAMP and cGMP decreased ($P < 0.05$); the levels of lactate and lactate dehydrogenase increase and the levels of ATP, T₃, T₄ in each group decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Bupleuri Radix's different processed products can make the physiological indicators of the internal heat induced by traditional Chinese medicine in rats to return to normal, indicating a therapeutic effect on the internal heat syndrome in rats. However, the effects of different processed products vary on different physiological indexes. Therefore, different processed products have different degrees of intervention on the internal heat of rats.

[**Key words**] Bupleuri Radix processed product; heat syndrome due to insufficiency; *D*-xylose; serum triiodothyronine; thyroxine; cyclic nucleotide; lactate; lactate dehydrogenase

虚热证(阴虚内热证)是以阴液亏虚,虚热内生为主要病机的一类病症^[1]。虚热证动物模型是中医证候动物模型中研究较多的一种,目前关于其模型的构建方法主要有灌胃热性中药、注射致热药物、激素类药物造模、行劳伤阴法造模等^[2]。中医学认为热性中药易助阳耗阴,灌胃热性中药造模更加符合中医药理论中虚热证发病的病因学、病机学。柴胡为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* 或狭叶柴胡 *B. scorzonifolium* 的干燥根,习惯称“北柴胡”和“南柴胡”,其具有镇痛、解热、镇咳、抗炎、抗病原体、抗溃疡等作用,还有保肝、调节免疫功能及心血管系统作用^[3]。目前柴胡饮片有生品柴胡、醋制柴胡、酒制柴胡、鳖血柴胡、炒柴胡、柴胡炭、蜜制柴胡等,产生于不同的历史年代。不同炮制品各有侧重,临床应用各有差异。如生品柴胡,多用于外感;醋制柴胡,可增强其疏肝活血、止痛之功效,多用于肝郁气滞的胁痛、腹痛及月经不调等;酒制柴胡,可借酒升提之力上行,清抑郁之气,升散退热,令血虚之热自退,多用于升阳举陷;蜜制柴胡,可协同和解之功增强其疗效,还可润肺、止咳;鳖血柴胡,可抑制其升浮之性,增强清肝退热、截疟之功效,多用于热入血室、骨蒸劳热;炒柴胡,使其易于粉碎加工,并缓和药性^[4]。宁艳梅等^[5]通过解热实验及热板、扭体实验观察、比较鳖血柴胡不同比例炮制品对小鼠肛温、痛阈、扭体次数的影响,从而比较鳖血柴胡不同比例炮制品的解热镇痛作用。除了上述的研究外,目前在柴胡解热作用方面的研究多集中于研究其柴胡成分的作用机制,如薛燕^[6]利用腹腔注射柴胡挥发油、

皂苷、皂苷元对皮下注射酵母致热大鼠的解热作用进行研究,结果表明三者都有解热作用。孙秀萍等^[7]认为,柴胡的解热作用,是其调节下丘脑体温调节中枢、影响致热原、抗病原微生物、抗炎及调节机体免疫功能等多途径共同作用的结果。本实验则主要是在中医药理论的指导下,结合柴胡药性特点及合适的中医证候特点的动物模型,选用文献灌胃热性中药(附子、干姜、肉桂)^[8]复制出虚热证模型,研究不同炮制品对大鼠虚热证型发热的干预作用,以期临床合理运用柴胡的炮制品治疗虚热证提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠,48 只,体质量 180 ~ 220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(湘)2013-0004,动物实验经江西中医药大学实验动物伦理委员会批准,许可证编号 SYXK(赣)2014-0008。

1.2 药材 柴胡(批号 20151012)购于陕西省宝鸡市陈仓区种植基地;附子(批号 20110015),干姜(批号 20160076),肉桂(批号 20160076)购自江西江中中药饮片有限公司;中华鳖(批号 20151131)购于江西省军山湖甲鱼养殖基地,饮片经江西中医药大学龚千锋教授鉴定柴胡为伞形科植物柴胡 *B. chinense* 的根茎,附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 的子根,干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* 的干燥根茎,中华鳖为鳖科动物中华鳖 *Trionyx sinensis*;执行《中国药典》2015 年版一部标准;知柏地黄丸(河南省宛西制药股份有限公司,批

号 150603)。

1.3 仪器 YP20001 型电子天平(上海光正医疗仪器有限公司),MC-347 型电子体温计(欧姆龙大连有限公司),JW-3021HR 型高速冷冻离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司),DW-86L626 型超低温保存箱(青岛海尔特种电器有限公司),GC-911 型 γ -放射计数器(中国科大中佳公司)。

1.4 试剂 大鼠碘 [^{125}I] 甲状腺素(T4)放射免疫分析药盒(批号均为 20150820),大鼠碘 [^{125}I] 三碘甲状腺原氨酸(T3)放射免疫试剂盒(批号 20161021)购自上海瑞齐生物科技有限公司;cAMP,cGMP 试剂盒(批号均为 20170112)购自北京华英生物技术研究所;*D*-木糖含量测试盒(批号 20161011),乳酸(LD)试剂盒(批号 20161201),乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(批号 20161210)购自南京建成生物工程研究所。

2 方法

2.1 模型药物制备 按照 1:1:1 的比例称附子、干姜和肉桂各饮片适量,先加入 8 倍量蒸馏水(双蒸水)于砂锅中浸泡附子 60 min,武火加热煮沸 30~40 min,口尝无麻感为止,再将等量的干姜、肉桂放置,注入 8 倍量蒸馏水浸泡 60 min,与附子共同武火加热至沸腾,然后文火煎煮 30~40 min,趁热将药物煎出液过滤。剩余药渣再加入 5 倍量蒸馏水,武火加热至沸腾,而后文火保持微沸 20~30 min,趁热将药渣过滤,合并 2 次滤液,减压浓缩至生药质量浓度 $2\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (200% 浓度), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存,备用^[8]。

2.2 炮制药物制备 鳖血润柴胡^[9]:采用本课题组摸索过的炮制方法制备鳖血柴胡饮片,每 100 g 柴胡用 15 g 鳖血浸润炮制。待鳖血吸尽后,取出晾干。鳖血炒柴胡^[9]:采用本课题组摸索过的炮制方法制备鳖血柴胡饮片,每 100 g 柴胡用 15 g 鳖血,浸润炮制。待鳖血吸尽后, $110\text{ }^{\circ}\text{C}$,炒制 15 min,取出晾干。醋炙柴胡:按照 2015 年版《中国药典》炮制醋柴胡,加入定量米醋拌匀(每 100 g 用米醋 20 g),闷透,置炒制容器内,用文火加热,炒干,取出,放凉备用。生品柴胡:取柴胡药材,净制,除去杂质及残茎,切厚片待用。酒柴胡:按照《全国中药炮制规范》炮制酒柴胡,取柴胡饮片,加入定量黄酒拌匀(每 100 g 用黄酒 10 g),稍焖润,待酒被吸尽后,置炒制容器内,用文火加热,炒干,取出冷却。

分别称取以上各炮制品适量,注入 8 倍体积的蒸馏水浸泡 30 min,武火加热至沸腾,然后文火保持微沸状态煎煮 10~15 min,趁热过滤,剩余药渣再注

入 5 倍量蒸馏水,武火加热煮沸后煎煮 5~10 min,趁热过滤,合并 2 次滤液,浓缩成质量浓度为含生药 $0.315\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 药液。

2.3 分组及给药 大鼠单只于代谢笼中正常饲养,采用昼夜节律自然照明,室温 $22\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度 40%~75%,实验开始前适应性饲养 1 周。在实验开始前 3 d 采集大鼠的体质量、肛温、饮水量等指标,剔除个别体质异常的大鼠,剩余 46 只大鼠随机分为正常组(6 只),模型组(40 只)。依照本课题造模实验结果^[9],于每天上午给模型组动物灌胃造模药物,灌胃体积为 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,复制虚热动物模型,连续 25 d 后,以体质量、体温、饮水量、体液消耗量为依据,对模型进行初步评价。进而将其随机配伍分为模型组、知柏地黄丸组、生品柴胡组、鳖血炒柴胡组、鳖血润柴胡组、酒柴胡组、醋柴胡组,每组 6 只动物,于每天下午灌胃各炮制品柴胡药材治疗药物,正常组灌胃等量双蒸水,知柏地黄丸组灌胃知柏地黄丸 $0.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,灌胃体积均为 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,治疗 11 d。同时继续每天上午灌胃温热造模药。

2.4 指标检测 观察并记录各组动物的活动状态、毛发洁净度、毛发疏密度、毛发光泽、爪色、尿液颜色、粪便质地等情况。

2.5 代谢笼指标 将大鼠装入代谢笼(单只每笼),每天定时定量对大鼠投食喂水,24 h 后分别收集并测定每只动物 1 d 的饮食量、饮水量、尿量及粪便量,测定肛温,观察粪便质地。

2.6 生化指标样品采集与检测 在连续造模给药 36 d 造模后每只动物置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右水温的桶内,自由游泳 5 min,记录游泳期间每只动物的“冒泡”次数。各组动物顺序随机。各组动物于末次给药后,禁食不禁水 12 h,腹腔注射质量分数为 10% 的水合氯醛麻醉,固定后腹主动脉取血,于温度 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$,转速 $3\ 500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上清分离血清样品,肝素抗凝分离血浆样品, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。取肝脏、脾脏、胸腺、肾上腺脏器称质量,并计算其脏器指数。再按照试剂盒说明书分别测定大鼠血清 *D*-木糖含量,血清 cAMP,cGMP 含量,乳酸含量,乳酸脱氢酶活力,皮质醇,T3,T4 含量, $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATP}$, $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶活力。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件对测得的数据进行统计学分析。资料经过方差齐性检验,数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 造模药物对动物一般状况的影响 实验前各

组大鼠外观及一般状况均无明显差异。造模过程中持续对各组动物一般状况进行观察,正常组动物整体比较温顺,毛色洁净,体质量增长较稳定;模型组动物稍显狂躁,灌胃给药时较正常组反抗激烈,且毛发污秽,毛色晦暗,喜饮,尿液颜色偏黄,部分大鼠粪便干硬。

3.2 造模药物对大鼠体质量、肛温的影响 正常组大鼠体质量增长较快,而给予热性中药的模型组与正常组比较,从造模第 17 天开始,大鼠体质量增长变缓($P < 0.05$);且经造模后,在造模第 25 天后,肛温有增高的趋势($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 造模药物对大鼠饮水量、饮水量、尿液量、体液消耗量的影响 模型组动物经连续灌胃造模药物后,与正常组比较,在造模第 25 天,饮水量明显降低($P < 0.01$),同时出现喜饮现象,饮水量呈现增多的

表 1 造模药物对大鼠体质量、肛温的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Influence of molding drug on weight and temperature of rats($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	n	时间/d	体质量/g	肛温/ $^{\circ}C$
正常	-	6	造模前	231.67 ± 8.16	36.60 ± 0.26
			造模第 17 天	387.67 ± 8.92	36.23 ± 0.29
			造模第 25 天	423.33 ± 4.69	35.56 ± 0.47
模型	20	40	造模前	232.78 ± 17.85	36.73 ± 0.65
			造模第 17 天	363.00 ± 20.80 ¹⁾	36.22 ± 0.80
			造模第 25 天	396.56 ± 18.78 ¹⁾	35.89 ± 0.33 ¹⁾

注:与正常组相应时间点比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

趋势,尿液量、体液消耗量也明显升高。综合造模药物对大鼠的体质量和肛温的影响,可初步判断动物出现虚热证的证候。见表 2。

表 2 造模药物对大鼠饮水量、饮水量、尿液量、体液消耗量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Influence of molding drug on food, drink, urine and fluid consumption of rats($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	n	时间/d	饮水量/g	饮水量/mL	尿液量/mL	体液消耗量/mL
正常	-	6	造模前	32.57 ± 6.32	46.75 ± 8.05	19.00 ± 2.00	31.67 ± 4.94
			造模第 17 天	35.38 ± 2.14	39.25 ± 5.43	18.67 ± 3.07	22.83 ± 3.86
			造模第 25 天	37.14 ± 1.51	38.33 ± 3.14	18.17 ± 2.31	23.50 ± 5.31
模型	20	40	造模前	33.58 ± 4.35	45.58 ± 4.18	16.36 ± 6.62	32.70 ± 7.58
			造模第 17 天	32.15 ± 3.84	41.86 ± 9.85	20.06 ± 4.21	24.64 ± 6.68
			造模第 25 天	32.31 ± 3.27 ²⁾	45.38 ± 8.54	22.53 ± 4.64 ¹⁾	27.15 ± 5.25

注:与正常组相应时间点比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 柴胡不同炮制品对动物基础代谢的影响 经不同柴胡炮制品治疗后,各组动物的基础代谢变化不尽相同。与正常组比较,模型组大鼠的体质量、饮水量显著降低,体温、饮水量、尿液量、体液消耗量显

著升高。较模型组,各治疗组动物体质量呈现增长趋势;体温和饮水量变化趋势不明显;饮水量呈现降低的趋势,其中鳖血炒柴胡给药治疗组降低明显($P < 0.05$);体液消耗量也均有所降低。见表 3。

表 3 柴胡不同炮制品对动物基础代谢的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of different processed products of Bupleuri Radix on animal basic metabolism($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	n	体质量/g	体温/ $^{\circ}C$	饮水量/g	饮水量/mL	尿液量/mL	体液消耗量/mL
正常	-	6	446.67 ± 13.93	35.06 ± 0.32	35.08 ± 0.91	37.50 ± 7.50	20.00 ± 3.16	19.33 ± 4.42
模型	-	6	406.60 ± 14.45 ¹⁾	35.44 ± 0.36	33.16 ± 1.95	41.67 ± 11.70	22.17 ± 8.93	20.83 ± 4.11
知柏地黄丸	0.5	6	423.40 ± 20.83	34.81 ± 0.51 ²⁾	33.47 ± 2.37	38.50 ± 9.83	23.50 ± 6.25	15.00 ± 4.33 ²⁾
鳖血炒柴胡	3.15	6	417.00 ± 16.67	35.31 ± 0.49	33.00 ± 5.45	30.50 ± 7.52 ²⁾	17.67 ± 5.81	12.83 ± 4.70 ^{1,2)}
酒柴胡	3.15	6	428.67 ± 14.68	34.99 ± 0.25	33.42 ± 1.90	40.50 ± 6.62	21.00 ± 3.09	19.50 ± 7.23
醋柴胡	3.15	6	408.80 ± 20.37	35.02 ± 0.60	30.70 ± 7.11	32.17 ± 14.11	24.50 ± 3.87	10.00 ± 5.41 ^{1,2)}
生品柴胡	3.15	6	416.83 ± 13.30	35.15 ± 0.47	30.74 ± 5.54	36.33 ± 8.95	19.67 ± 7.09	16.67 ± 4.22
鳖血润柴胡	3.15	4	416.75 ± 13.38	35.25 ± 0.56	31.30 ± 2.52	38.25 ± 2.06	21.25 ± 2.75	17.00 ± 3.16

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 4,5,7 同)。

3.5 柴胡不同炮制品对脏器指数的影响 与正常组比较,模型组肝脏指数无明显变化,脾脏指数、

胸腺指数显著增高($P < 0.05$),肾上腺指数下降;与模型组比较,各治疗组脾脏指数、胸腺指数下

降,肾上腺指数上升,其中醋柴胡肾上腺指数上升明显($P < 0.05$)。与阳性治疗药物比较,鳖血炒柴

胡和酒柴胡的肝脏指数上升明显($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 柴胡不同炮制品对脏器指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	肝脏指数	脾脏指数	胸腺指数	肾上腺指数
正常	-	6	2.839 ± 0.10	0.186 ± 0.021	0.092 ± 0.010	0.019 ± 0.003
模型	-	6	2.867 ± 0.18	0.233 ± 0.031 ¹⁾	0.123 ± 0.011 ¹⁾	0.017 ± 0.001
知柏地黄丸	0.5	6	2.899 ± 0.09	0.202 ± 0.031	0.112 ± 0.025	0.021 ± 0.005
鳖血炒柴胡	3.15	6	3.114 ± 0.10 ^{2,3)}	0.224 ± 0.026	0.105 ± 0.018	0.022 ± 0.007
酒柴胡	3.15	6	3.101 ± 0.15 ^{2,3)}	0.208 ± 0.022	0.118 ± 0.014	0.021 ± 0.004
醋柴胡	3.15	6	2.924 ± 0.12	0.192 ± 0.037	0.110 ± 0.015	0.025 ± 0.006 ²⁾
生品柴胡	3.15	6	2.865 ± 0.17	0.217 ± 0.062	0.121 ± 0.015	0.020 ± 0.003
鳖血润柴胡	3.15	4	3.001 ± 0.10	0.188 ± 0.014	0.114 ± 0.016	0.019 ± 0.004

注:与知柏地黄丸组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

3.6 柴胡不同炮制品对血清 D-木糖含量的影响

D-木糖能够反映肾脏功能以及小肠吸收能力。与正常组比较,模型组的 D-木糖显著降低($P < 0.05$),经给药治疗后,各治疗组动物 D-木糖含量均呈现上升趋势,其中知柏地黄丸组、鳖血炒柴胡组、酒柴胡组上升显著($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 柴胡不同炮制品对血清 D-木糖含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of different processed products of Bupleuri Radix on serum D-xylose content($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	D-木糖/ $nmol \cdot L^{-1}$
正常	-	6	0.849 7 ± 0.218 8
模型	-	6	0.467 3 ± 0.096 4 ¹⁾
知柏地黄丸	0.5	6	0.840 7 ± 0.221 3 ²⁾
鳖血炒柴胡	3.15	6	0.833 3 ± 0.219 0 ²⁾
酒柴胡	3.15	6	0.845 9 ± 0.429 5 ²⁾
醋柴胡	3.15	6	0.569 2 ± 0.126 3
生品柴胡	3.15	6	0.638 6 ± 0.131 0
鳖血润柴胡	3.15	4	0.769 9 ± 0.358 9

3.7 柴胡不同炮制品对血浆 cAMP, cGMP 含量的影响 cAMP, cGMP 的含量反应血浆环核苷酸系统的功能水平。与正常组比较,模型组的 cAMP, cGMP 含量显著增高($P < 0.05$), cAMP/cGMP 含量下降;与模型组比较,各治疗组血浆 cAMP, cGMP 含量显著降低($P < 0.05$),鳖血润柴胡组 cAMP/cGMP 含量显著上升($P < 0.05$);与阳性药物知柏地黄丸组比较,各组 cAMP, cGMP 显著下降,鳖血润柴胡组

cAMP/cGMP 含量显著上升($P < 0.05$)。见表 6。

表 6 柴胡不同炮制品对血浆 cAMP, cGMP 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of different processed products of Bupleuri Radix on serum cAMP and cGMP contents($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	cAMP/ $nmol \cdot L^{-1}$	cGMP/ $nmol \cdot L^{-1}$	cAMP/cGMP/%
正常	-	6	21.90 ± 0.36	4.371 ± 0.272	5.699 ± 0.361
模型	-	6	35.61 ± 1.42 ¹⁾	6.679 ± 0.704 ¹⁾	5.365 ± 0.403
知柏地黄丸	0.5	6	31.99 ± 3.26 ²⁾	6.157 ± 0.751	5.285 ± 0.996
鳖血炒柴胡	3.15	6	26.61 ± 5.85 ^{2,3)}	4.817 ± 0.710 ²⁾	5.513 ± 0.785
醋柴胡	3.15	6	23.80 ± 1.65 ^{2,3,5)}	4.254 ± 0.855 ^{2,3,5)}	5.753 ± 0.985 ⁵⁾
酒柴胡	3.15	6	27.26 ± 2.53 ^{2,3)}	5.378 ± 0.422 ^{2,3,5)}	5.080 ± 0.467 ⁵⁾
生品柴胡	3.15	6	29.53 ± 1.83 ^{2,5)}	5.521 ± 0.486 ^{2,5)}	5.372 ± 0.417 ⁵⁾
鳖血润柴胡	3.15	4	20.68 ± 0.54 ^{2,3,4)}	3.016 ± 0.296 ^{2,3,4)}	6.922 ± 0.907 ^{2,3,4)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;与知柏地黄丸组比较³⁾ $P < 0.05$;与鳖血炒柴胡组比较⁴⁾ $P < 0.05$;与鳖血润柴胡组⁵⁾ $P < 0.05$ (表 8,9 同)。

3.8 柴胡不同炮制品对乳酸(LD)含量,乳酸脱氢

酶(LDH)活力的影响 LD, LDH 是用来衡量无氧代

谢的指标。与正常组比,模型组中 LD,LDH 含量均明显升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,知柏地黄丸组、鳖血炒柴胡组 LD 含量显著降低 ($P < 0.05$);各治疗组 LDH 显著降低 ($P < 0.05$)。见表 7。

表 7 柴胡不同炮制品对血清乳酸含量、乳酸脱氢酶 (LDH) 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Effect of different processed products of Bupleuri Radix on serum lactate content and lactate dehydrogenase (LDH) activity ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	LD/mmol·L ⁻¹	LDH × 10 ³ /U·L ⁻¹
正常	-	6	6.451 ± 1.075	3.457 ± 2.283
模型	-	6	9.068 ± 1.590 ¹⁾	7.301 ± 2.690 ¹⁾
知柏地黄丸	0.5	6	6.847 ± 1.193 ²⁾	3.750 ± 1.762 ²⁾
鳖血炒柴胡	3.15	6	6.872 ± 0.529 ²⁾	3.635 ± 2.588 ²⁾
酒柴胡	3.15	6	8.221 ± 1.585	3.351 ± 2.728 ²⁾
醋柴胡	3.15	6	9.403 ± 2.198	3.918 ± 2.290 ²⁾
生品柴胡	3.15	6	7.223 ± 1.200	4.989 ± 1.260
鳖血润柴胡	3.15	4	7.573 ± 1.165	3.032 ± 1.231 ²⁾

3.9 柴胡不同炮制品对 Na⁺-K⁺-ATP 酶, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶活力的影响 Na⁺-K⁺-ATP 酶, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶是衡量 ATP 活性、反映机体能量代谢水平的指标。与正常组比较,模型组 Na⁺-K⁺-ATP 酶, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶活力明显增高 ($P < 0.05$);与模型组比较,各治疗组的 Na⁺-K⁺-ATP 酶, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶活力均显著降低 ($P < 0.05$);与鳖血炒柴胡组比较,酒柴胡组 Na⁺-K⁺-ATP 酶, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶活力明显降低 ($P < 0.05$),醋柴胡组 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶活力明显上升 ($P < 0.05$);与鳖血润柴胡组比较,醋柴胡组 Na⁺-K⁺-ATP 酶活力明显上升 ($P < 0.05$)。见表 8。

3.10 柴胡不同炮制品对 T3, T4 含量的影响 T3, T4 是衡量甲状腺激素功能的指标,与正常组比较,模型组的 T3, T4 含量均上升;与模型组比较,阳性药物组 T3 含量上升,其他各治疗组 T3 含量均下降,其中鳖血炒柴胡组和生品柴胡组 T3 含量明显下降 ($P < 0.05$);醋柴胡组和鳖血润柴胡组 T4 含量上升,其他各治疗组 T4 含量均下降,其中鳖血炒柴胡组 T4 含量明显下降 ($P < 0.05$);与知柏地黄丸组比较,鳖血柴胡、生品柴胡组 T3 含量明显下降 ($P < 0.05$);与鳖血炒柴胡组比较,正常组、模型组、醋柴胡组、鳖血润柴胡组 T4 含量明显增高 ($P < 0.05$)。见表 9。

表 8 柴胡不同炮制品对 ATP 酶活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 8 Effects of different processed products of Bupleuri Radix on Adenosine triphosphate activity ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	Na ⁺ -K ⁺ -ATP	Ca ²⁺ -Mg ²⁺ -ATP
正常	-	6	0.268 3 ± 0.171 0	0.208 6 ± 0.140 8
模型	-	6	0.881 2 ± 0.358 6 ¹⁾	0.610 6 ± 0.144 2 ¹⁾
知柏地黄丸	0.5	6	0.413 1 ± 0.072 9 ²⁾	0.275 2 ± 0.050 4 ²⁾
鳖血炒柴胡	3.15	6	0.364 1 ± 0.027 7 ²⁾	0.246 3 ± 0.069 1 ²⁾
酒柴胡	3.15	6	0.289 9 ± 0.061 7 ^{2,4)}	0.183 4 ± 0.037 0 ^{2,4)}
醋柴胡	3.15	6	0.576 6 ± 0.130 3 ^{2,5)}	0.365 8 ± 0.109 7 ^{2,4)}
生品柴胡	3.15	6	0.166 7 ± 0.034 0 ²⁾	0.361 1 ± 0.075 1 ²⁾
鳖血润柴胡	3.15	4	0.415 1 ± 0.120 6 ²⁾	0.298 5 ± 0.058 8 ²⁾

表 9 柴胡不同炮制品对 T3, T4 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 9 Effect of different processed products of Bupleuri Radix on T3 and T4 contents ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	T3	T4
正常	-	6	0.290 ± 0.076	53.78 ± 6.64
模型	-	6	0.343 ± 0.035	55.91 ± 9.17 ¹⁾
知柏地黄丸	0.5	6	0.367 ± 0.178	44.23 ± 12.98
鳖血炒柴胡	3.15	6	0.163 ± 0.123 ^{2,3)}	37.37 ± 10.28 ²⁾
酒柴胡	3.15	6	0.238 ± 0.140	50.27 ± 9.58
醋柴胡	3.15	6	0.250 ± 0.200	57.37 ± 25.20 ⁴⁾
生品柴胡	3.15	6	0.206 ± 0.068 ^{2,3)}	47.00 ± 5.66
鳖血润柴胡	3.15	4	0.232 ± 0.066	56.03 ± 12.73 ⁴⁾

4 讨论

柴胡的不同炮制品功效有所侧重,一般生用长于解表,醋制宜于疏肝,酒制偏于升阳,鳖血制能够以阴液之性缓和柴胡的劫阴之性,对于真脏虚损之邪热疗效显著等^[10]。为了探索不同的炮制品对虚热大鼠的干预作用,本研究以中医学基本理论为基础,成功复制大鼠虚热证模型,观察虚热证大鼠在不同的柴胡炮制品治疗后各个不同指标的变化。本研究选用的指标,不只有能量代谢的指标,而且还有一般用于反映虚证机能下降的指标,如 D-木糖值, cAMP/cGMP, T3/T4 值及 ATP 酶活性等。

本研究前期采用了中药附子、干姜、肉桂复制虚热模型^[4],造模结果显示模型组大鼠的体质量显著低于正常大鼠的体质量。而在治疗药物的研究中发现服用不同炮制品的大鼠体质量有所回升,其中知柏地黄丸组和酒柴胡组回升的最大。模型组与正常

组比较,体温和饮食量变化趋势不明显,中医认为阴虚内热是由于体内阴液亏虚,水不制火所致,证见不以高热为主,故实验结果显示不同炮制品对于阴虚内热大鼠体温调节无明显影响。但饮水量和体液消耗量,在造模后,有所上升,而给予不同炮制柴胡药物治疗后,饮水量和体液消耗量均有减少的趋势。脏器指数变化中,肝脏指数、脾脏指数及肾上腺指数的变化均无治疗性的意义,而胸腺指数则表明模型组显著高于正常组,在经不同炮制品药物治疗后,呈现下降趋势。

D-木糖能够反映肾脏功能以及小肠吸收能力。阴虚发热模型组血清 *D*-木糖含量明显降低,正常组、鳖血炒柴胡组、酒柴胡组能够提高阴虚发热动物血清 *D*-木糖含量,使其趋于正常值。维持健康的免疫系统也需要丝氨酸,木糖常能够在小鼠肝素、软骨素以及糖蛋白中发现,其是糖蛋白中糖链与丝氨酸的连接单位。实验发现柴胡不同炮制品能提高血清 *D*-木糖水平,从而提高机体的免疫能力。实验结果显示与阳性药物组比较,酒柴胡 *D*-木糖值的提高范围更高,这表明了酒柴胡比其他炮制品更侧重于机体免疫能力的提高。

cAMP 是重要的细胞内第二信使,能够调节细胞代谢。阴虚发热动物模型中 cAMP 含量明显升高^[11-12],cAMP/cGMP 比值减小^[13]。实验发现阴虚发热模型组 cAMP 含量明显高于空白组,造模动物服用柴胡炮制品均能降低动物体内 cAMP 含量。鳖血润柴胡能够使 cAMP 含量降低并趋近于正常值,且使得体内 cAMP/cGMP 明显升高,说明与其他的炮制品药物比较,鳖血润柴胡药物能够更好地通过改变 cAMP 与 cGMP 含量恢复正常的物质能量代谢,从而发挥治疗阴虚发热的作用。

在生理状态下,机体外在的寒热现象可反映能量生成及利用的平衡关系,其中 ATP 的生成、利用及产热作用对于调控机体的寒热起到了非常重要的作用。体内 ATP 存在于组织细胞或生物膜上的酶蛋白,是组织细胞生命活动所需能量的直接来源,能够为机体储存和传递能量。在体内物质合成、维护细胞正常生理功能以及热量代谢方面具有重要的意义,也是反映机体能量代谢的可靠指标^[14-16]。Na⁺-K⁺-ATP 酶与 ATP 分解供能相关,该酶的活力能够直接反应体内代谢的程度,是衡量代谢功能的重要指标,酶的活性越高,体内耗能产热越多;Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶的活力反应细胞线粒体代谢的活力。大鼠虚热证模型组 Na⁺-K⁺-ATP 酶与 Ca²⁺-Mg²⁺-

ATP 酶的活力明显高于正常组大鼠,服用鳖血炒柴胡的虚热大鼠 Na⁺-K⁺-ATP 酶与 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶的活力明显降低,且与正常组无差别。Na⁺-K⁺-ATP 酶与 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶的活力升高是造成虚热证的主要原因之一,而鳖血炒柴胡、鳖血润柴胡均能够有效降低该酶的活性,使机体能量代谢趋于正常水平。

LD,LDH 是用来衡量无氧代谢的指标。正常组、鳖血柴胡组、知柏地黄丸组 LD 含量与模型组比较,有显著性差异。正常组、知柏地黄丸组、鳖血柴胡组、酒柴胡、醋柴胡、鳖血润柴胡组 LDH 明显低于模型组。机体代谢过程中乳酸脱氢酶将丙酮酸转换为乳酸,新陈代谢旺盛和剧烈运动中乳酸不断产生并能够在体内积聚,乳酸含量以及乳酸脱氢酶含量直接影响着机体的代谢水平。柴胡不同炮制品均能够显著降低阴虚发热小鼠的乳酸含量,并且抑制乳酸脱氢酶活性,降低机体代谢水平,消除机体的疲劳感,从而实现了对虚热证大鼠的解热作用。

甲状腺激素是影响机体能量代谢的主要物质,能使细胞内氧化速度提高,耗氧量增加,基础代谢率提高,产热增多,主要有 T4 和 T3。陈群等^[17]研究显示,血清 T3,T4 可作为热证虚、实辨证的有效指标,而且对热证的疗效观察有一定意义。与正常组比较,模型组的 T3,T4 均上升,说明虚热大鼠的甲状腺激素都上升,在给予治疗药物后,知柏地黄丸组的 T3 含量继续上升,T4 含量低于正常组大鼠的水平,鳖血炒柴胡、酒柴胡、生品柴胡能将 T3/T4 水平皆下降,而醋柴胡组、鳖血润柴胡组的 T4 含量较模型组含量有所上升。实验结果表明,鳖血炒柴胡、酒柴胡、生品柴胡可以显著降低阴虚发热动物的 T3,T4 水平,降低组织器官耗氧量,抑制糖、脂肪、蛋白质代谢,实现体温下降。在治疗过程中,不同炮制品对于 T3,T4 含量的不同变化,反映了其对于甲状腺激素的影响不同。

综上所述,在经过附子干姜肉桂成功建造阴虚内热的大鼠模型后,通过比较不同炮制品治疗后各指标的变化,初步验证了不同炮制品的在退虚热的方面的侧重点。如酒柴胡、柴胡侧重于调控机体产热方面,鳖血润柴胡则偏向于糖代谢方面的调节、鳖血炒柴胡则主要控制肝脏的能量代谢等。此外,本课题后期将重点侧重于不同炮制品的代谢组学成分分析,以期能够更进一步地探索退热机制与成分之间的相关关系。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国国家标准. 中医临床诊疗术语(证候部分)[M]. 北京: 国家技术监督局, 1997: 7-13.
- [2] 田文慧, 姚晓霞, 陈佳丽, 等. 青蒿-鳖甲药对虚热证大鼠模型的药效学初步研究[J]. 浙江中医杂志, 2016, 51(8): 617-619.
- [3] 尹传明, 李琳, 王勇军. 柴胡及炮制品成分研究[J]. 实用药物与临床, 2001, 4(4): 176-177.
- [4] 周鸿艳. 柴胡研究简史[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2003.
- [5] 宁艳梅, 杨韬. 鳖血柴胡不同比例炮制品解热镇痛作用的实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2014, 31(6): 5-8.
- [6] 薛燕. 柴胡的解热作用药效学研究[J]. 中医学刊, 2003, 21(11): 1897-1897, 1959.
- [7] 孙秀萍, 张宁. 柴胡解热的物质基础、机制及影响因素探讨[J]. 山东中医药大学学报, 2009, 33(4): 345-346.
- [8] 韩冰冰, 王世军, 张发艳, 等. 基于PLS的虚热证大鼠模型表征评价体系的研究[J]. 中医学报, 2012, 27(8): 971-973.
- [9] 叶耀辉, 张博文, 郑红梅, 等. 大鼠虚热证模型的建立与评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 134-139.
- [10] 张雯娟, 邢喜平, 王虎平. 大黄对高脂血症模型大鼠血清总胆固醇、甘油三酯及高密度脂蛋白胆固醇含量的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2014, 31(6): 8-11.
- [11] 李冀, 柴剑波, 李胜志, 等. 大黄黄连泻心汤、理中丸对幽门结扎型胃溃疡寒、热证模型大鼠血清cAMP、cGMP含量的影响[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(11): 2389-2391.
- [12] 黄江荣, 李祥华, 张家均, 等. 六味地黄丸对甲状腺功能亢进肾阴虚型小鼠cAMP、cGMP含量和Na⁺、K⁺-ATP酶活性的影响[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(6): 1-3.
- [13] 聂子文, 郭建生, 陈君, 等. 乌药提取物对胃实寒模型大鼠cAMP、cGMP、GAS、MTL水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 162-165.
- [14] 崔淑兰. 大鼠虚热证模型的建立、评价及知母对虚热证大鼠影响的研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.
- [15] 崔淑兰, 赵俭, 王世军. 知母对虚热模型大鼠血浆T3、T4含量的影响[J]. 河南中医, 2014, 34(10): 1897-1898.
- [16] 崔淑兰, 赵俭, 王永刚, 等. 知母对虚热证模型大鼠肝组织ATP酶活力的影响[J]. 中医药信息, 2013, 30(6): 22-24.
- [17] 陈群, 徐志伟, 刘亚梅. 实热证、虚热证患者血清甲状腺激素和促甲状腺激素水平的对比研究[J]. 广州中医药大学学报, 2003, 20(3): 184-186.

[责任编辑 全燕]