

知母盐炙前后滋阴作用比较

吴莹^{1,2}, 宋泽璧^{1,2}, 徐月^{1,2}, 高慧^{1,2*}, 贾天柱^{1,2}

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600;

2. 国家中医药管理局中药炮制原理解析重点实验室, 辽宁 大连 116600)

[摘要] **目的:**比较知母、盐知母对甲亢阴虚大鼠的影响,以阐明盐知母增强滋阴降火作用的炮制原理。**方法:**SD 雄性大鼠,随机分为空白对照组,模型对照组,生知母、盐知母低剂量组($1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),生知母、盐知母高剂量组($2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$);各组大鼠每天 ig 甲状腺素溶液($1.25\times 10^{-2}\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)与相应样品水煎液($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$),空白组 ig 等体积的生理盐水,模型组 ig 等体积的甲状腺素溶液和生理盐水,连续 3 周,眼眶取血,分离血清,抗原抗体反应法测游离三碘甲状腺原氨酸(FT3),游离甲状腺素(FT4),收集尿液,取上清液,紫外-可见分光光度计(410 nm)测定 17-羟皮质类甾醇(17-OHCS)的含量。**结果:**与空白组比较,模型组的 FT3,FT4 均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,除生品低剂量组的 FT3 外,其余各给药组的 FT3,FT4 均有显著性差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$);各给药组尿 17-OHCS 均有下降趋势,盐知母高剂量组与模型组比较有显著性差异($P<0.01$),优于生知母组;与生知母等剂量组比较,盐知母各剂量组 FT3,FT4 及尿 17-OHCS 均低于生知母组,其中盐知母高剂量组的 17-OHCS 较生知母有显著性差异($P<0.05$)。**结论:**知母、盐知母均有滋阴作用,盐炙后作用增强。

[关键词] 知母; 盐知母; 滋阴

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0211-04

[doi] 10.11653/syjf2013240211

Comparison of Nourishing Yin Effect of Anemarrhenae Rhizoma before and after Processing

WU Ying^{1,2}, SONG Ze-bi^{1,2}, XU Yue^{1,2}, GAO Hui^{1,2*}, JIA Tian-zhu^{1,2}

(1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM),

Dalian 116600, China; 2. Key Laboratory of Processing Theory Analysis of

State Administration of TCM, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the nourishing Yin effect of Anemarrhenae Rhizoma before and after processing. **Method:** Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group, model group, high dose group of Anemarrhenae Rhizoma and the one processed with salt-water ($2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), low dose group of Anemarrhenae Rhizoma and the one processed with salt-water ($1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). The treatment groups were gavaged with thyroxine solution ($1.25\times 10^{-2}\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and the water decoction of corresponding sample ($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$) every day, and the control group was gavaged with the same volume of physiological saline, the model group was gavaged with the same volume of thyroxine solution and physiological saline. Three weeks later, blood serum was collected, then free T3 (FT3) and free T4 (FT4) were measured by antigen-antibody reaction, and urine and the supernatant were collected, then the content of 17-hydroxycorticosteroid (17-OHCS) was measured by UV-spectrophotometry meter (410 nm). **Result:** Compared with the control group, the FT3, FT4 of model groups were significantly increased ($P<0.01$); Compared with model group, in addition to FT3 of raw low dose group,

[收稿日期] 20130514(024)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81102810);国家教育部博士学科点专项基金(20012133120009)

[第一作者] 吴莹, 硕士研究生, 从事中药炮制原理研究, Tel:0411-87586115, E-mail:823209547@qq.com

[通讯作者] *高慧, 副教授, 博士, 从事中药炮制原理研究, Tel:0411-87586011, E-mail:gaohuitem@163.com

others were significant decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); The contents of 17-OHCS in each group were decreased. The salt Anemarrhena Rhizoma high dose group had significant difference compared with model group ($P < 0.01$), and is superior to that of Anemarrhena Rhizoma group. Compared with the same dose of raw Rhizoma Anemarrhenae group, FT3, FT4 and urine 17-OHCS of the salt Anemarrhena Rhizoma group were lower, in which high dose group had significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion:** Both Anemarrhenae Rhizoma and the one processed with salt-water can nourish Yin, and the effect increase after processing.

[**Key words**] Anemarrhenae Rhizoma; Anemarrhenae Rhizoma processing with salt-water; nourishing Yin

知母为百合科植物知母的干燥根茎。味苦、甘,性寒,归肺、胃、肾经,具有清热泻火、滋阴润燥的功效^[1]。现代研究表明知母具有清热、抗炎、降血糖、抗血小板聚集、提高学习记忆力、对心肌缺血再灌注损伤的保护作用等^[2-6]。历版《中国药典》记载及临床上常用的炮制品种均为盐知母,传统理论认为知母盐炙后能够引药入肾经,增强滋阴降火的作用^[7]。关于知母炮制前后滋阴作用的比较未见报道,本实验以血清中游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)及尿 17-羟皮质类甾醇(17-OHCS)为指标,研究生知母、盐知母对甲状腺系统及内分泌系统的影响,比较知母、盐知母的滋阴作用。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠 48 只,雄性,180~200 g,由大连医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(辽)2009-0005。

1.2 药材与试剂 知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge 购自河北省易县太行植物开发有限公司(批号 1105065),经本院翟延君教授鉴定。盐知母按前期优选的炮制工艺^[8]自行炮制:每 100 g 知母饮片加入 30 mL(含 3 g 食盐)的盐水拌匀润透,在 150~160 °C 下炒制 8 min。甲状腺素片(山东中泰药业生产,批号 120101),氢化可的松注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号 1112031),正丁醇(天津市科密欧化学试剂厂,批号 20100513),乙二胺四乙酸(EDTA,成都市科龙化工试剂厂,批号 20100603),游离三碘甲状腺原氨酸(FT3,天津九鼎医学生物工程有限公司,批号 20100322),游离甲状腺素(FT4,天津九鼎医学生物工程有限公司,批号 20100527)。

1.3 仪器 KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);TGL-16C 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);U-3010 紫外-可见分光光度计(HITACHI);电热恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表公司)。

2 方法

2.1 知母水煎液制备及试液配制 生知母水煎液制备:取生知母 10 g,加 100 mL 水,煎煮 2 次,每次 1 h,合并煎液适当浓缩,制成生知母低、高剂量组水煎液(质量浓度分别为 100,200 g·L⁻¹)。

盐知母水煎液制备:取盐知母,同上法制成盐知母低、高剂量组水煎液(质量浓度分别为 100,200 g·L⁻¹)。

氢化可的松标准液:取氢化可的松注射液 0.5 mL 加甲醇至 5 mL,4 °C 存放备用。

活性炭:将医用活性炭用蒸馏水洗 2~3 次,用 1% HCl 回流 2 h,用蒸馏水洗至 pH 6 左右,抽滤,100 °C 烘干。

显色剂:将 65 mg 盐酸苯胍溶于 100 mL 质量浓度为 56% 的 H₂SO₄ 中即得。

脱醛正丁醇:取 500 mL 正丁醇,加入新鲜配制的上述显色剂 100 mL,充分混匀,于室温中静置 1 周后,用蒸馏水洗 3 次,重蒸,取沸点 116~117 °C 馏分备用。

2.2 动物分组 将大鼠随机分成 6 组:空白对照组,模型对照组,生知母低、高剂量组(1,2 g·kg⁻¹),盐知母低、高剂量组(1,2 g·kg⁻¹),每组 8 只。

2.3 对甲亢阴虚大鼠甲状腺系统影响的比较研究^[9-10] 给药组、模型组每天上午 ig 甲状腺素液(1.25 × 10⁻² g·kg⁻¹),空白组 ig 等体积生理盐水,下午各给药组按 10 mL·kg⁻¹ ig 相应的药液,空白组、模型组 ig 等体积的生理盐水。3 周后将大鼠眼眶取血,加 EDTA 抗凝剂抗凝,离心后取上层血清,采用抗原抗体反应法,测定各组大鼠血清中 FT3,FT4。

2.4 对甲亢阴虚大鼠内分泌系统影响的比较研究^[11-12] 连续灌胃 3 周后,收集尿液。精密吸取尿液 0.5 mL 依次放入试管内,再加入 0.5 mL 蒸馏水,依次加入 0.3 g 无水 Na₂SO₄,加塞,超声 2 min,加入脱醛正丁醇 4 mL,再超声 10 min,离心 10 min(2 000

$r \cdot \text{min}^{-1}$),吸出上清液(正丁醇)放入试管中,加入 30 mg 活性炭,摇匀,静置 3 min,脱去色素,离心 10 min($4\ 000\ r \cdot \text{min}^{-1}$),吸取上清液为供试品,按试剂盒方法测定。选试管数支,分为比色空白(A)、试剂空白(B)、标准空白(C)、尿空白(E)、标准管(D)、测定管(F)组^[12],紫外-分光光度计(410nm)检测。

计算公式:

$$17\text{-OHCS} = \frac{(F-B) - (E-A)}{(D-B) - (C-A)} \times \frac{10}{1\ 000} \times \frac{4}{0.8} \times \frac{24\ \text{h}\ \text{尿液}}{0.5} (\text{mg}/24\ \text{h})$$

2.5 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 软件进行单因素方差分析与组间 t 检验, $P <$

0.05 为有显著性差异。

3 结果

与空白组相比,模型组的 FT3, FT4 显著升高 ($P < 0.01$),说明甲亢模型造模成功。与模型组比较,除生知母低剂量组外,其余给药组的 FT3, FT4 均有显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中盐知母高剂量组差异最显著 ($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组尿 17-OHCS 均有下降趋势,其中盐知母高剂量组有显著性差异 ($P < 0.01$)。相同剂量的生知母与盐知母比较,盐知母各剂量组的 FT3, FT4, 17-OHCS 均低于生知母组,其中盐知母高剂量组的 17-OHCS 较生知母有显著性差异 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 知母对甲亢阴虚大鼠血清中 FT3, FT4, 尿 17-OHCS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | FT3/ $\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ | FT4/ $\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ | 17-OHCS/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ |
|------|-------------------------------------|--|--|--|
| 空白对照 | - | 3.32 ± 2.08 | 23.85 ± 6.07 | 0.165 ± 0.09 |
| 模型对照 | - | 7.43 ± 2.19 ²⁾ | 36.19 ± 7.82 ²⁾ | 0.352 ± 0.14 ²⁾ |
| 生知母 | 1 | 5.65 ± 0.95 ¹⁾ | 28.18 ± 4.53 ³⁾ | 0.286 ± 0.16 ¹⁾ |
| | 2 | 5.09 ± 1.14 ^{1,3)} | 27.60 ± 6.09 ³⁾ | 0.215 ± 0.11 ³⁾ |
| 盐知母 | 1 | 5.05 ± 0.38 ^{1,3)} | 25.14 ± 7.80 ³⁾ | 0.195 ± 0.09 ³⁾ |
| | 2 | 4.38 ± 0.82 ⁴⁾ | 23.26 ± 8.19 ⁴⁾ | 0.143 ± 0.12 ^{4,5)} |

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与生知母等剂量组比较⁵⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

关于阴虚造模药及滋阴作用指标的选择 甲状腺亢进时,多会出现阴虚火旺,如兴奋中枢神经系统,出现紧张、烦躁、亢奋等症状,与中医阴虚症状有很多相似之处。所以常用甲亢来模拟中医的阴虚,实验发现此模型表现出的症状及各种生化指标变化与“阴虚”临床表现相似^[13],故本实验采用甲亢阴虚模型,模拟中医的阴虚。甲亢阴虚证的临床症状表现在很多方面,例如神经系统表现为心率加快,痛阈降低;内分泌系统表现为甲状腺、胸腺、肾上腺及脾脏质量减轻,血浆皮质醇含量升高;血液系统表现为血浆黏度增加;机体免疫系统表现为淋巴细胞转化率及血清 IgG 含量降低;环核苷酸系统表现为血浆 cAMP, cGMP 含量增加^[14]。本实验在甲状腺系统和内分泌系统方面分别选择了血清中 FT3, FT4 和尿 17-OHCS 为指标来考察知母和盐知母的滋阴作用。

关于知母、盐知母对甲亢阴虚大鼠的影响 模型组大鼠在灌胃甲状腺素溶液大约 2 周后,开始出现紧张、烦躁、情绪激动、饮水量增加、尿量增多、身

体消瘦等现象。模型组 FT3, FT4 与空白组相比显著升高 ($P < 0.01$),

说明甲亢模型造模成功。与模型组比较,生知母低剂量组无差异,其余给药组的 FT3, FT4 均有差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中盐知母高剂量组有显著差异 ($P < 0.01$),优于生知母组。各给药组尿 17-OHCS 均有下降趋势,无论是低剂量组还是高剂量组均是盐制后下降明显,其中盐知母高剂量组与模型组比较差异最显著 ($P < 0.01$),优于生知母组。相同剂量的盐知母与生知母比较,其 FT3, FT4 及 17-OHCS 均较低,作用好于生知母。

综上,生知母、盐知母均能使甲亢阴虚大鼠血清中 FT3, FT4, 尿 17-OHCS 含量降低,二者均具有滋阴作用,且盐炙后作用增强。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:197.
- [2] 陈万生,韩军,李力,等. 知母总多糖的抗炎作用[J]. 第二军医大学学报,1999,20(10):758.

解毒扶阳方对 2 型糖尿病大鼠炎症因子的影响

黄江荣¹,李永发¹,杜亚明¹,黄蔚²,李祥华^{1*}

(1. 长江大学医学院,湖北 荆州 434023; 2. 荆州市中医医院,湖北 荆州 434000)

[摘要] **目的:**探讨解毒扶阳方对 2 型糖尿病(T2DM)模型大鼠炎症因子的调节作用。**方法:**取雄性大鼠,随机分为正常对照组,高脂高糖模型(模型)组,模型+二甲双胍(降糖)组,模型+解毒扶阳(试药)高、中、低剂量组,共 6 组,除正常对照组外,其他各组按 60 mg·kg⁻¹剂量尾静脉一次性快速注射链脲佐菌素制备动物模型,并于模型制作当日各给药组大鼠分别 ig 给予药物治疗,每日 1 次,连续 12 周。每 10 d 称量各组动物体重 1 次;给药最后 1 d 取血测定空腹血糖;取血清采用酶联免疫吸附分析方法测定血清瘦素(LEP)、胰岛素(INS)、白细胞介素(IL)-1、IL-6、C-反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平,计算胰岛素敏感指数(ISI)。**结果:**实验结果显示,解毒扶阳方与模型组比较,低剂量组有显著差异。血清 LEP 与模型组比较,试药 3 个剂量组均显示有非常显著的差异。ISI 与模型对照组比较,3 个剂量组均有非常显著性的差异。与模型组比较,中剂量组 IL-1 具有显著差异,高剂量组具有非常显著性差异。解毒扶阳方对 TNF-α 含量有降低作用,与模型组比较,高、中、低 3 个剂量组均有非常显著差异。结果表明,对 CRP 也有调节作用,与模型组比较,高、中、低 3 个剂量组均具有非常显著的差异。**结论:**解毒扶阳方对 T2DM 所致血糖、LEP、INS、IL-1、IL-6、CRP、TNF-α 含量升高,均有一定调节作用,使之降到正常或接近正常水平。提示解毒扶阳方对 T2DM 所致炎症因子含量升高以及糖代谢紊乱,有调节作用。

[关键词] 2 型糖尿病;解毒扶阳方;炎症因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0214-04

[doi] 10.11653/syfy2013240214

[收稿日期] 20130411(016)

[基金项目] 湖北省卫生厅青年科技人才项目(QJX2012-20);荆州市医疗卫生科技发展计划项目(荆州技发[2012]16号)

[第一作者] 黄江荣,博士,副教授,从事中医药防治内分泌与代谢性疾病研究,Tel:0716-8061435,E-Mail:hjiangrong@126.com

[通讯作者] *李祥华,教授,从事中药对平滑肌的影响研究,Tel:0716-8062624,E-mail:yangtzeu_lxh@163.com

- [3] Miura T,Ichiki H,Iwamoto N,et al. Antidiabetic activity of the Rhizoma of *Anemarrhena asphodeloides* and active components, mangiferin and its glucoside [J]. Biol Pharm Bull,24(9):1009.
- [4] 杨丽蓉. 知母的化学成分及药理作用研究进展[J]. 国外医学:中医中药分册,2002,24(4):207.
- [5] 徐建中,陆敏,日照格图,等. 知母甙元 ZMS 对老龄大鼠学习、记忆的影响[J]. 中药药理与临床,1995,1(3):18.
- [6] 胡宇弛,侯家玉. 知母、黄芪对小鼠实验性心肌肥厚及应激反应能力的影响[J]. 中国中药杂志,2003,28(4):369.
- [7] 贾天柱. 中药炮制学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2008:196.
- [8] 高慧. 盐知母炮制原理研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2010.
- [9] 杨梅香,杨勇,乔亭祥,等. 龟板对“甲亢型阴虚证”大鼠的影响[J]. 中药药理与临床,1987,4(4):7.
- [10] 任汉阳,薛春苗,张瑜,等. 黄精粗多糖对温热药致阴虚模型小鼠滋阴作用的实验研究[J]. 山东中医杂志,2005,24(1):36.
- [11] 陈奇. 中药药理实验方法[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:215.
- [12] 曲琰. 椴制人参炮制工艺研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2008.
- [13] 刘婷,侯连兵,钟延松. 因宁片对甲状腺片诱导的甲亢阴虚型大鼠的影响研究[J]. 中草药,2009,28(11):1450.
- [14] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:1509.

[责任编辑 聂淑琴]