

知母与盐知母对甲亢阴虚大鼠红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶影响的比较研究

佟连琨, 高慧, 姜永粮, 张凡, 贾天柱*
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的:比较知母及盐知母对甲亢阴虚大鼠红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活力的影响,从能量代谢方面探讨知母盐炙后增强滋阴降火作用的炮制原理。方法:SD 大鼠,雌雄各半,随机分为空白组,模型组,六味地黄丸组(2.2 g·kg⁻¹),生知母、盐知母高剂量组(2 g·kg⁻¹),生知母、盐知母低剂量组(1 g·kg⁻¹);各组大鼠每天上午 ig 甲状腺素液 2 mL(1.25 g·L⁻¹),空白组 ig 生理盐水;下午各给药组 ig 相应的药液(10 mL·kg⁻¹),空白组、模型组 ig 等体积生理盐水,3 周后测定红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性。结果:与模型组相比,生知母及盐知母各剂量组均能显著降低 Na⁺-K⁺-ATP 酶的活性(P<0.05),其中低剂量组盐知母作用优于生知母(P>0.05);高剂量组结果相反,即盐炙后作用降低(P>0.05),且高剂量组作用弱于低剂量组(P<0.05)。结论:知母及盐知母均具有滋肾阴清虚热的作用。

[关键词] 知母;盐知母;Na⁺-K⁺-ATP 酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0184-03

[收稿日期] 20101207(006)

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI09B06-09)

[第一作者] 佟连琨,硕士研究生,从事中药炮制原理研究,Tel:0411-87586011,E-mail:tonystar310@163.com

[通讯作者] *贾天柱,教授,博士生导师,从事中药炮制原理研究,Tel:0411-87586499,E-mail:jiatz@lnutcm.edu.cn

低 ALT, AST 水平,抑制甘油三酯蓄积,降低 MDA,从而保护急性酒精性肝损伤。此外为进一步探讨 CGB 保肝机制,选用体外 H₂O₂ 诱导肝细胞氧化损伤模型,结果显示银杏叶提取物与刺梨配伍后可显著减轻 H₂O₂ 对肝细胞氧化损伤,抗氧化效果优于单味 GBE。该作用可能是银杏与刺梨均具有强大的抗氧化功能^[6-7],两者配伍可能系银杏提取物使 VitC 破坏减少、制剂稳定性增强^[8],从而使抗氧化协同而具有肝脏保护作用。由此认为,将刺梨与银杏配伍,对减轻肝脏等消化道不良反应,提高银杏叶制剂的用药安全是有益的。

[参考文献]

- [1] Yao Ping, Song Fangfang, Li Ke, et al. Ginkgo biloba extract prevents ethanol induced dyslipidemia[J]. Am J Chin Med, 2007,15(4):643.
- [2] 李又林,李成健,高伯春.金纳多不良反应[J].实用医

技杂志,2004,11(7):1386.

- [3] Tada Y, AU-Kagota S, Kubota Y. et al. Long-term feeding of Ginkgo biloba extract impairs peripheral circulation and hepatic function in aged spontaneously hypertensive rats [J]. Biol Pharm Bull,2008,31(1):68.
- [4] 潘苏华,牛文明,吴丽,等.银杏叶提取物与刺梨配伍抗实验性肝损伤作用[J].药学实践杂志,2009,27(6):437.
- [5] 潘苏华,吴丽.复方银杏叶制剂配伍减毒初步研究[J].南京中医药大学学报,2007,23(6):389.
- [6] 刘晓平.银杏叶提取物双重抗氧化作用的研究[J].中成药,2009,31(7):1004.
- [7] 戴支凯,余丽梅.刺梨的药理作用[J].中国药房,2007,18(21):1668.
- [8] 沈源,潘苏华.温度对复方银杏叶胶囊中维生素 C 含量的影响[J].南京中医药大学学报,2004,20(4):233.

[责任编辑 聂淑琴]

Influences of Anemarrhenae Rhizoma and One Processed with Salt-Water on Na⁺-K⁺-ATP Enzyme in Erythrocyte Membrane in Rats with Hyperthyroidism and Yin Deficiency

TONG Lian-kun, GAO Hui, JIANG Yong-liang, ZHANG Fan, JIA Tian-zhu*
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[**Abstract**] **Objective:** To compare the influences of Anemarrhenae Rhizoma and the one processed with salt-water on erythrocyte membrane Na⁺-K⁺-ATP enzyme activities in rats with hyperthyroidism and yin deficiency, and to clarify the nourishing yin principle by processed Anemarrhenae Rhizoma with salt water. **Method:** SD rats, half male and half female, were randomly divided into control group, model group, Liuwei Dihuang Wan group(2.2 g·kg⁻¹), high dose Anemarrhenae Rhizoma group and the high dose group of Anemarrhenae Rhizoma processed with salt-water (2 g·kg⁻¹), low dose Anemarrhenae Rhizoma group and accordingly the one processed with salt-water group(1 g·kg⁻¹). Each rat was ig given thyroxine liquid 2 mL(1.25 g·L⁻¹) every morning. Control group was ig given physiological saline. The treatment groups were ig given corresponding liquids(10 mL·kg⁻¹) each afternoon. Control group and model group was ig given the same volume of saline. Continuous treatment for three weeks and then the activity of erythrocyte membrane Na⁺-K⁺-ATP enzyme was determined. **Result:** Anemarrhenae Rhizoma and the one processed with salt-water could significantly reduce Na⁺-K⁺-ATP enzyme activity(*P* < 0.05). In the low dose group, the effect for the one processed with salt-water was better, but the effect of the high dose groups appeared to be on the contrary. **Conclusion:** Anemarrhenae Rhizoma and the one processed with salt-water both can nourish kidney yin and clear asthenic fever.

[**Key words**] Anemarrhenae Rhizoma; processing with salt-water; Na⁺-K⁺-ATP enzyme

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 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抗病原微生物、降血糖、解热、抗炎、抗肿瘤等多种药理活性^[2-4]。临床常用品种有知母、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。本实验采用甲亢阴虚大鼠,测定其红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活力,比较知母、盐知母滋肾阴清虚热的作用,从能量代谢方面研究知母盐炙的炮制原理。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠,清洁级,体重 200 ~ 220 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 药物和试剂 知母购自河北易县太行植物开发有限公司,经本校翟延君教授鉴定;盐知母采用本课题组优选炮制工艺(即每 100 g 知母饮片加盐 3 g,150 ~ 160 °C 条件下炒 8 min)进行炮制;知母、盐知母分别制成 0.2 g·mL⁻¹(高剂量组),0.1 g·mL⁻¹

(低剂量组)的水煎液。Na⁺-K⁺-ATP 酶试剂盒购自长春汇力生物技术有限公司,批号 2009001;牛血清白蛋白(BSA)购自北京奥博星生物技术有限公司,批号 20040228;甲状腺素片购自山东中泰药业,批号 090101;六味地黄丸购自北京同仁堂,批号 9030499。

1.3 仪器 UV-3100 紫外-可见分光光度计(HITACHI);TGL-16C 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 方法

2.1 动物分组与给药 大鼠雌雄各半,随机分为 7 组,每组 8 只,即空白组,模型组,六味地黄丸组(2.2 g·kg⁻¹),生知母、盐知母高剂量组(2 g·kg⁻¹),生知母、盐知母低剂量组(1 g·kg⁻¹)。除空白组 ig 生理盐水外,其他组大鼠每天上午 ig 甲状腺素液 2 mL(加蒸馏水制成 1.25 g·L⁻¹悬浊液),下午各给药组按 10 mL·kg⁻¹剂量 ig 相应的药液,空白组、模型组给等体积生理盐水,连续 3 周。

2.2 红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶的制备 试验结束后,大鼠眼眶取血 1 mL,加 EDTA 抗凝,2 500 r·

min⁻¹离心 5 min,弃上层血清及白细胞,将红细胞置于 3 倍体积预冷的生理盐水中,温和搅拌悬浮,离心,弃上清液,重复 2 次。吸取洗涤后的红细胞 200 μL 加 800 μL 蒸馏水,充分溶血,30 min 后测定 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性。上述过程均在 4 ℃ 条件下进行。以牛血清蛋白作为对照品,用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。

2.3 Na⁺-K⁺-ATP 酶活力测定 操作按试剂盒说明进行。规定每小时每克红细胞膜中 ATP 酶分解为 ADP,产生 1 μmol·L⁻¹无机磷的量为 1 个 ATP 酶活力单位。即微摩尔磷/克蛋白质/小时(μmol Pi·g⁻¹·h⁻¹)。计算公式如下:

$$\text{ATPase 活性}(\text{U} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{\text{测定值 } A - \text{对照品 } A}{\text{标准值 } A} \times \frac{\text{标准管浓度}}{(800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})} \times 5 \times 6 \div \text{匀浆蛋白含量}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$$

2.4 统计分析 采用统计软件 SPSS10.0 处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

实验过程中,模型组大鼠出现明显的紧张、烦躁、情绪激动、饮水量增加、尿量增多、体重减轻等现象,各给药组症状相对较轻,Na⁺-K⁺-ATP 酶活性测定结果亦表明模型组与空白对照组相比有显著差异($P < 0.05$),说明甲亢阴虚模型造模成功。连续给药 3 周后,各给药组 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性与模型组相比均有显著性差异($P < 0.05$),说明各组均有明显的降低甲亢阴虚大鼠红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的作用,且知母、盐知母各剂量组均优于六味地黄丸组。见表 1。

表 1 知母及盐知母对大鼠红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Na ⁺ -K ⁺ -ATP 酶 /μmol Pi·g ⁻¹ ·h ⁻¹
空白	-	1043 ± 164
模型	-	2281 ± 237 ¹⁾
六味地黄丸	2.2	1830 ± 250 ^{1,2)}
生知母	2	1702 ± 238 ^{1,2)}
	1	1496 ± 121 ²⁾
盐知母	2	1729 ± 330 ^{1,2)}
	1	1440 ± 315 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

知母属传统清热滋阴药,用于阴虚火旺。据报道,甲亢时多会出现与中医阴虚相似的症状,如兴奋中枢神经系统,紧张、烦躁、亢奋等。且滋阴中药六味地黄丸能使上述症状得到改善,从而反证了造模的成功。所以本实验采用甲亢模型来模拟中医的阴虚。

中医阴虚所涉及的范围很广,包括五脏六腑。人阴虚时,物质和能量代谢发生改变,其中基础代谢率增高、热量增加是阴虚的主要表现。Na⁺-K⁺-ATP 酶是基础代谢下产热最主要的酶。阴虚生内热与体内甲状腺水平升高,从而导致红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性增强有直接关系^[5-6]。为此,本实验采用大鼠甲亢阴虚模型,比较知母盐炙前后对 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响,从而比较知母盐炙前后清热滋阴作用的变化。

结果显示,知母和盐知母均能显著降低甲亢阴虚大鼠红细胞膜上 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性,具有滋肾阴清虚热的作用,且优于六味地黄丸组。低剂量组盐炙后作用增强(但无统计学差异),从现代药理学角度验证了知母盐炙后增强滋阴降火作用的古代炮制理论。但对于高剂量组,盐炙后作用反而降低(无统计学差异),且高剂量组作用不及低剂量组。该结果与课题组“知母炮制前后清热作用比较研究”^[7]结果相近。二者有无相关性需要进一步研究。

综上,知母及盐知母均能显著降低 Na⁺-K⁺-ATP 酶的活性,具有明显滋肾阴清虚热的作用。合理的剂量及盐炙可使其作用进一步增强,验证了知母盐炙后增强“滋阴降火”作用的传统炮制理论。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].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.
- [3] 欧阳石,孙莉莎,郭胜蓝,等.知母皂苷元对痴呆模型大鼠的影响[J].第一军医大学学报,2005,25(2):121.
- [4] 李春梅,高永林,李敏,等.知母皂苷对小鼠血糖的影响[J].中药药理与临床,2005,21(4):22.
- [5] 杨梅香,杨勇.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.
- [6] 沈松法.益气养阴泻火药对甲亢大鼠能量代谢的影响[J].上海中医药杂志,1991,(9):46.
- [7] 高慧,贾天柱.知母盐制前后的药效学比较研究[J].时珍国医国药,2010,21(1):41.

[责任编辑 聂淑琴]