

干姜、高良姜、丁香 3 种提取物对寒证大鼠 交感神经-肾上腺机能的影响

秦华珍¹, 李世阳¹, 黄燕琼², 时博¹, 梁艳君¹, 柳俊辉¹, 刘磊¹, 郑作文¹

(1. 广西中医学院, 南宁 530001; 2. 广西中医学院附属瑞康医院, 南宁 530011)

[摘要] 目的: 观察干姜、高良姜及丁香各自 3 种不同提取物(挥发油、水提液、去挥发油水提液)对交感神经-肾上腺机能的影响, 探讨这 3 种药物的挥发油与其药性、功效的相关性, 及其以汤剂入药的合理性。方法: 设空白对照组、模型对照 I 组、模型对照 II 组、阳性对照组、干姜(高良姜、丁香)3 种不同提取物高、低剂量组, 用寒凉药复制大鼠寒证模型, 采用酶联免疫法测尿内 17-羟皮质类固醇(17-OHCS)的含量, 荧光分光光度法测尿内儿茶酚胺(CAs)类物质肾上腺素(A)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)的含量。结果: 干姜挥发油与水提液高、低剂量组, 高良姜挥发油与去挥发油水提液高、低剂量组, 丁香挥发油与水提液高、低剂量组、去挥发油水提液高剂量组能显著增加 17-OHCS 的排出量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。干姜水提液高、低剂量组, 挥发油高剂量组, 高良姜水提液高剂量组、去挥发油水提液高、低剂量组, 丁香挥发油高、低剂量组、水提液与去挥发油水提液高剂量组能显著增加 A 的排出量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。干姜挥发油与水提液高、低剂量组, 高良姜水提液与去挥发油水提液高、低剂量组, 丁香挥发油与水提液高、低剂量组、去挥发油水提液高剂量组能显著增加 NE 的排出量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。干姜挥发油与水提液高剂量组, 高良姜水提液高剂量组, 丁香 3 种提取物高剂量组能显著增加 DA 的排出量($P < 0.05$ 或 $P < 0.05$)。结论: 干姜的有效成分主要集中在挥发油和水提液部分, 高良姜、丁香的有效成分在 3 种提取物中都有存在, 3 药以水煎剂入药具有科学依据。干姜所含的挥发油与温热药性、功效有密切的相关性。高良姜所含的挥发油与温热药性、功效的相关性不显著, 丁香所含的挥发油与温热药性、功效有一定的相关性。

[关键词] 干姜; 高良姜; 丁香; 挥发油; 水提液; 去挥发油水提液; 寒证; 交感神经-肾上腺机能

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0124-04

干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的根茎; 高良姜为姜科植物高良姜 *Alpinia officinarum* Hance 的根茎; 丁香为桃金娘科植物丁香 *Eugenia caryophyllata* Thunb. 的花蕾。它们的药性均为温热, 属于温里药, 皆具有温中散寒止痛的功效, 临床常用于脘腹冷痛等寒证。这 3 味药的主要化学成分都是挥发油, 其传统用法常以水煎剂入药。但挥发油在水中的溶解度很小。为了探讨这 3 味药的挥发油与它们温热药性与功效的关系, 为其入煎剂寻求科学依据, 笔者对这 3 味药各自 3 种不同提取物(水提液、挥发油、去挥发油水提液)对寒证大鼠交感神经-肾上腺机能的影响进行了实验研究。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠, 清洁级, 体重(200 ± 20)

g, 雌性, 广西医科大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(桂)2003-0003。

1.2 药品的制备 干姜(产地云南, 批号 20071220), 高良姜(产地广西, 批号 20071021), 丁香(产地四川德阳, 批号 20070201), 生石膏(产地湖北, 批号 20070601), 知母(产地河北, 批号 20070801), 黄柏(产地黑龙江, 批号 20070701), 龙胆草(产地广西, 批号 20070501), 附子(产地四川, 批号 20070906)。以上所用药材均购自南宁市景昌中药饮片有限公司。经本院中药鉴定学教研室蔡毅教授鉴定为正品。

1.2.1 水提液制备 取干姜饮片 1 kg, 分别剪成约 1.5 cm × 1.0 cm × 0.5 cm 大小, 加 10 倍量水浸透药材, 煎煮 30 min, 趁热过滤, 残渣加 8 倍量水, 煎煮 20 min, 趁热过滤, 合并滤液, 冷却; 加入 2 倍量的乙醇除去杂质, 60 °C 回收乙醇, 浓缩成浸膏, 密封, 于 4 °C 冰箱保存, 用时以蒸馏水配制所需浓度。

高良姜、丁香水提液的制法同干姜。

1.2.2 挥发油提取^[1] 取干姜饮片 1 kg, 分别剪成约 1.5 cm × 1.0 cm × 0.5 cm 大小, 加 10 倍量水浸透

[收稿日期] 20100309(008)

[基金项目] 广西中医学院高层次人才科研启动基金课题

[第一作者] 秦华珍, 中药学博士, 教授, 研究方向为中药基础理论与中药药效研究, Tel: 13807816597, E-mail: qinhuazhen@126.com

药材,采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,连续回流至油量不再增加为止,收集挥发油,用棕色瓶装,密封,4℃冰箱保存,用时以 5% 吐温-80 配制成所需浓度。

高良姜、丁香挥发油的制法同干姜。

1.2.3 去挥发油水提液制备 将 1.2.2 中提取挥发油后剩余的水提液,趁热过滤,冷却,加 2 倍量的乙醇除去杂质,回收乙醇,浓缩成浸膏,密封,4℃冰箱保存,用时以蒸馏水配制成所需浓度。

1.2.4 阳性药的制备 取附子饮片 1 kg,加 10 倍量水浸透药材,煎煮 1 h,过滤;残渣加 8 倍量水,煎煮 1 h,过滤,合并滤液,于 4℃冰箱静置过夜。取上清液减压浓缩至密度为 1.05(20℃);加入 2 倍量的乙醇除去杂质,回收乙醇,浓缩至无醇味,加蒸馏水配制成按生药量计质量浓度为 4 g·mL⁻¹ 药液,密封,于 4℃冰箱保存。用时以蒸馏水配制成所需质量浓度。

1.3 试剂 17-OHCS 酶免试剂盒,批号 RT110371,南京建成生物工程研究所;氧化铝(中性),批号 20070509,天津市科密欧化学试剂开发中心;EDTA,批号 0708261,广东汕头市西陇化工厂。吐温-80、冰醋酸、碘、盐酸、醋酸钠、碱性亚硫酸钠、氢氧化钠均为分析纯。

1.4 仪器 荧光分光光度计,型号 RF5301PC,日本岛津;台式低速离心机,型号 LD4-18,北京离心机有限公司;旋转蒸发器,型号 ER-52AA,上海亚荣生化仪器厂;酶标仪,型号 ELX-800,美国宝特。

2 方法

2.1 动物分组及给药途径 取 SD 大鼠 100 只(干姜、高良姜、丁香分别实验),随机分为空白对照组、

模型生理盐水对照 I 组、模型吐温-80 对照 II 组、阳性对照组、水提液高、低剂量组、挥发油高、低剂量组、去挥发油水提液高、低剂量组(以下简称为空白、模型 I、模型 II、阳性、水高、水低、挥高、挥低、去挥高、去挥低)共 10 个组,每组 10 只。均 ig 给药,给药体积为 20 mL·kg⁻¹。

2.2 模型建立及实验操作 除空白组外,以上各组大鼠均 ig 寒凉药(知母:石膏:龙胆草:黄柏按 1.5:2:1:1)水提液,按生药量计质量浓度为 1.5 g·mL⁻¹ 给药体积 20 mL·kg⁻¹ 造模^[2]。空白组 ig 给予等量蒸馏水。每日 1 次,连续 ig 给药 14 d。第 15 d 给造模药物 3 h 后对应各组分别 ig 给予干姜(高良姜、丁香)各种提取液;阳性组给予附子水提醇沉液 8 g·kg⁻¹;空白与模型 I 组均 ig 给等量生理盐水,模型 II 组 ig 给等量 5% 吐温-80 溶液。连续给药 7 d,末次给药前各组大鼠禁食不禁水 12 h,给药后立即放入代谢笼内收集 24 h 尿液。24 h 后取出尿液,2 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,吸取上清液 1 mL,按照 17-OHCS 酶免试剂盒的操作说明测定尿液中 17-OHCS 含量;剩余尿液用 6 mol·L⁻¹ HCl 调 pH 至 3 以下,按文献^[3]测定方法,用荧光分光光度计测定尿液中肾上腺素(A),去甲肾上腺素(NE)及多巴胺(DA)的含量。

2.3 统计学处理 实验数据采用 *t* 检验进行统计学分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。*P* < 0.05 差异有统计学意义。

3 结果

3.1 干姜对寒证大鼠尿内 17-OHCS, CAs 含量的影响 结果见表 1。寒证造模各组的尿中 17-OHCS, A, NE, DA 的含量均较空白组减少。干姜挥发油与

表 1 干姜对寒证大鼠 24 h 内尿内 17-OHCS, CAs 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	17-OHCS /μmol·L ⁻¹	A/μg	NE/μg	DA/μg
空白	-	0.679 ± 0.065	0.041 ± 0.001	0.333 ± 0.091	0.679 ± 0.082
模型 I	-	0.410 ± 0.049 ¹⁾	0.021 ± 0.005 ²⁾	0.207 ± 0.032 ²⁾	0.500 ± 0.099 ²⁾
模型 II	-	0.395 ± 0.031 ¹⁾	0.023 ± 0.007 ²⁾	0.208 ± 0.047 ²⁾	0.463 ± 0.087 ²⁾
阳性	8	0.562 ± 0.060 ⁴⁾	0.040 ± 0.006 ⁴⁾	0.310 ± 0.042 ⁴⁾	0.615 ± 0.056 ⁴⁾
水低	20	0.508 ± 0.076 ³⁾	0.028 ± 0.008 ³⁾	0.269 ± 0.069 ³⁾	0.585 ± 0.074
水高	60	0.533 ± 0.065 ⁴⁾	0.030 ± 0.007 ⁴⁾	0.287 ± 0.079 ³⁾	0.611 ± 0.069 ³⁾
挥低	20	0.459 ± 0.061 ⁵⁾	0.032 ± 0.008	0.263 ± 0.045 ⁵⁾	0.590 ± 0.125
挥高	60	0.473 ± 0.082 ⁵⁾	0.036 ± 0.010 ⁵⁾	0.299 ± 0.062 ⁶⁾	0.614 ± 0.074 ⁵⁾
去挥低	20	0.451 ± 0.076	0.027 ± 0.010	0.250 ± 0.061	0.480 ± 0.060
去挥高	60	0.433 ± 0.070	0.029 ± 0.010	0.252 ± 0.092	0.556 ± 0.057

注:与空白组相比¹⁾*P* < 0.05, ²⁾*P* < 0.01;与模型 I 相比³⁾*P* < 0.05, ⁴⁾*P* < 0.01;与模型 II 相比⁵⁾*P* < 0.05, ⁶⁾*P* < 0.01(表 2~3 同)。

水提液高、低剂量组都可以增加寒证大鼠尿液中 17-OHCS 的排出量;分别与模型 I, II 组比较,挥发油高、低剂量组、水提液低剂量组有显著性差异 ($P < 0.05$),水提液高剂量组有非常显著性差异 ($P < 0.01$);而去挥发油水提液高、低剂量组与模型 I 组比较,17-OHCS 排出量增加,但无统计学意义。水提液高剂量组可以增加寒证大鼠尿液中 CAs 类物质 A, NE, DA 的排出量,与模型 I 组比较,增加 A 的排出量有非常显著性差异 ($P < 0.01$),增加 NE, DA 的排出量有显著性差异 ($P < 0.05$)。水提液低剂量组可以增加 A, NE 的排出量,与模型 I 组比较有显著性差异 ($P < 0.05$);对 DA 排出量的影响虽有增加的

趋势,但与模型组 I 组比较无统计学意义。挥发油高剂量组可以增加 A, NE, DA 的排出量,与模型 II 组比较,增加 NE 的排出量有非常显著性差异 ($P < 0.01$),增加 A, DA 的排出量有显著性差异 ($P < 0.05$)。挥发油低剂量组可以增加 NE 的排出量,与模型组 II 比较,有显著性差异 ($P < 0.05$);对 A, DA 排出量的影响虽有增加的趋势,但与模型 II 组比较无统计学意义。而去挥发油高、低剂量组对 A, NE, DA 排出量的影响都没有统计学意义。

3.2 高良姜对寒证大鼠尿内 17-OHCS, CAs 含量的影响 结果见表 2。寒证造模各组的尿中 17-OHCS, A, NE, DA 含量均较空白组减少。高良姜挥

表 2 高良姜对寒证大鼠 24 h 尿内 17-OHCS, CAs 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	17-OHCS /μmol·L ⁻¹	A/μg	NE/μg	DA/μg
空白	-	0.622 ± 0.066	0.045 ± 0.013	0.313 ± 0.073	0.673 ± 0.074
模型 I	-	0.340 ± 0.043 ²⁾	0.019 ± 0.004 ²⁾	0.214 ± 0.045 ²⁾	0.494 ± 0.104 ²⁾
模型 II	-	0.313 ± 0.054 ²⁾	0.022 ± 0.005 ²⁾	0.201 ± 0.057 ²⁾	0.455 ± 0.089 ²⁾
阳性	8	0.501 ± 0.067 ³⁾	0.041 ± 0.005 ⁴⁾	0.338 ± 0.071 ⁴⁾	0.615 ± 0.051 ⁴⁾
水低	20	0.379 ± 0.064	0.027 ± 0.011	0.308 ± 0.072 ⁴⁾	0.587 ± 0.064
水高	60	0.363 ± 0.059	0.031 ± 0.009 ³⁾	0.325 ± 0.072 ⁴⁾	0.606 ± 0.074 ⁴⁾
挥低	20	0.415 ± 0.098 ⁵⁾	0.025 ± 0.006	0.251 ± 0.054	0.422 ± 0.072
挥高	60	0.400 ± 0.084 ⁵⁾	0.025 ± 0.006	0.257 ± 0.095	0.526 ± 0.078
去挥低	20	0.440 ± 0.079 ³⁾	0.028 ± 0.007 ³⁾	0.294 ± 0.054 ⁴⁾	0.467 ± 0.064
去挥高	60	0.479 ± 0.048 ⁴⁾	0.031 ± 0.008 ⁴⁾	0.316 ± 0.067 ⁴⁾	0.543 ± 0.085

发油与去挥发油水提液高、低剂量组都可以增加寒证大鼠尿液中 17-OHCS 的排出量;分别与模型 I, II 组比较,挥发油高、低剂量组、去挥发油水提液低剂量组有显著性差异 ($P < 0.05$),去挥发油水提液高剂量组有非常显著性差异 ($P < 0.01$);而水提液高、低剂量组与模型 I 组比较,17-OHCS 排出量增加,但无统计学意义。水提液高剂量组可以增加寒证大鼠尿液中 CAs 类物质 A, NE, DA 的排出量,与模型 I 组比较,增加 A 的排出量有显著性差异 ($P < 0.05$),增加 NE, DA 的排出量有非常显著性差异 ($P < 0.01$);水提液低剂量组可以增加 NE 的排出量,与模型 I 组比较有非常显著性差异 ($P < 0.01$);但对 A, DA 排出量的影响不明显。去挥发油水提液高、低剂量组可以增加 A, NE 的排出量,与模型 I 组比较,去挥发油水提液高、低剂量组增加 NE 的排出量有非常显著性差异 ($P < 0.01$),而低剂量组增加 A 的排出量有显著性差异 ($P < 0.05$),高剂量组有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。挥发油高、低剂量组对 A, NE, DA 的排出量都没有显著的影响。

3.3 丁香对寒证大鼠尿内 17-OHCS, CAs 含量的影响 结果见表 3。寒证造模各组尿中 17-OHCS, A, NE, DA 含量均较空白组减少。除了丁香去挥发油低剂量组外,其余各给药组均可增加寒证大鼠尿液中 17-OHCS 的排出量;分别与模型 I, II 组比较,挥发油低剂量组、水提液低剂量组、去挥发油水提液高剂量组有显著性差异 ($P < 0.05$),挥发油高剂量组、水提液高剂量组有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。水提液高剂量组可以增加寒证大鼠尿液中 CAs 类物质 A, NE, DA 的排出量,与模型 I 组比较,增加 A, NE, DA 的排出量有非常显著性差异 ($P < 0.01$);水提液低剂量组可以增加 NE 的排出量,与模型 I 组比较,有显著性差异 ($P < 0.05$);对 A, DA 排出量的影响虽有增加,但无统计学意义。挥发油高、低剂量组可以增加 A, NE, DA 的排出量,与模型 II 组比较,低剂量组对 A, NE 的排出量有显著性差异 ($P < 0.05$),对 DA 排出量的影响无统计学意义;高剂量组对 A, NE 的排出量有非常显著性差异 ($P < 0.01$),对 DA 的排出量有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 3 丁香对寒证大鼠 24 h 内尿 17-OHCS, CAs 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组 别	剂量 /g·kg ⁻¹	17-OHCS /μmol·L ⁻¹	A/μg	NE/μg	DA/μg
空 白	-	0.597 ± 0.043	0.038 ± 0.014	0.289 ± 0.204	0.557 ± 0.093
模型 I	-	0.393 ± 0.047 ²⁾	0.017 ± 0.004 ¹⁾	0.113 ± 0.083 ¹⁾	0.428 ± 0.055 ²⁾
模型 II	-	0.367 ± 0.039 ²⁾	0.018 ± 0.003 ¹⁾	0.100 ± 0.087 ¹⁾	0.425 ± 0.073 ²⁾
阳 性	8	0.515 ± 0.063 ⁴⁾	0.319 ± 0.007 ⁴⁾	0.268 ± 0.116 ⁴⁾	0.602 ± 0.091 ⁴⁾
水 低	6	0.437 ± 0.034 ³⁾	0.023 ± 0.009	0.221 ± 0.104 ³⁾	0.493 ± 0.067
水 高	12	0.474 ± 0.059 ⁴⁾	0.031 ± 0.007 ⁴⁾	0.246 ± 0.073 ⁴⁾	0.533 ± 0.052 ⁴⁾
挥 低	6	0.428 ± 0.054 ⁵⁾	0.025 ± 0.007 ⁵⁾	0.245 ± 0.162 ⁵⁾	0.501 ± 0.078
挥 高	12	0.460 ± 0.062 ⁶⁾	0.031 ± 0.008 ⁶⁾	0.260 ± 0.108 ⁶⁾	0.522 ± 0.078 ⁵⁾
去挥发低	6	0.395 ± 0.033	0.023 ± 0.007	0.189 ± 0.089	0.486 ± 0.063
去挥发高	12	0.441 ± 0.037 ³⁾	0.027 ± 0.010 ³⁾	0.234 ± 0.101 ³⁾	0.532 ± 0.086 ³⁾

去挥发油水提液高剂量组可以增加 A, NE, DA 的排出量, 与模型 I 组比较, 均有显著性差异 ($P < 0.05$)。去挥发油水提液低剂量组虽增加了寒证大鼠尿液中 A, NE, DA 的排出量, 但与模型 I 组比较无统计学意义。

4 讨论

据报道^[4]: 长期大量 ig 寒凉药后大鼠的交感神经、肾上腺系统机能活动降低, CAs 排出量减少, 呈现出寒证的某些特征; ig 温热药后交感神经、肾上腺系统机能活动增加, CAs 排出量增多。

17-OHCS 主要是肾上腺皮质分泌的皮质醇、皮质素和它们的代谢产物, 主要由肾脏排出, 所以测定尿中 17-OHCS 是反映交感神经-肾上腺皮质功能的一项易行可靠的指标^[5], 当肾上腺皮质功能亢进时, 17-OHCS 的排出量增加。交感神经刺激肾上腺髓质分泌 CAs 所构成的交感-肾上腺髓质系统, 是 CAs 分泌、合成的主要途径。周缘的 CAs 主要由肾上腺髓质和嗜铬细胞分泌, 少量由交感神经节后纤维释放, 大部分被摄取, 少量进入血内或被降解为代谢产物或以 CAs 形式随尿排出。CAs 包括 A, NE 及 DA 3 种物质。肾上腺髓质嗜铬细胞分泌 A 和 NE; DA 主要由交感神经节及中枢神经细胞产生, 是 NE 生物合成的前体, 可促进 NE 释放。24 h 尿中排出量代表 CAs 类物质全天的代谢量, 可以比较准确地反映肾上腺髓质功能。

本研究结果显示: 寒证动物尿中 17-OHCS 与 CAs 类物质排出量减少, 与文献报道结果一致。干姜水提液与挥发油都能促进寒证大鼠尿中 17-OHCS

与 A, NE, DA 的排出量; 而去挥发油水提液对 17-OHCS 与 A, NE, DA 的排出量无明显影响。高良姜除了水提液对 17-OHCS 的排出量无明显影响, 挥发油对 CAs 类物质排出量无明显影响之外, 其他各组都能促进寒证大鼠尿中 17-OHCS 与 A, NE, DA 的排出量。丁香的 3 种提取物都能促进寒证大鼠尿中 17-OHCS 与 A, NE, DA 的排出量。这些结果表明: 干姜的有效成分主要集中在挥发油和水提液部分, 高良姜、丁香的有效成分在 3 种提取物中都有存在, 说明它们以水煎剂入药具有科学依据。实验结果也表明: 干姜所含的挥发油与温热药性、散寒功效之间存在密切的相关性。高良姜所含的挥发油与温热药性、散寒功效之间的相关性不显著, 丁香所含的挥发油与温热药性、散寒功效之间存在一定的相关性。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005:57.
 [2] 梁月华, 谢竹藩. 中医寒热本质的初步研究[J]. 中华医学杂志, 1979, 59(12):705.
 [3] 陈奇. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005:209.
 [4] 梁月华, 王晶, 谢竹藩. 寒凉药与温热药对交感神经肾上腺及代谢机能的影响[J]. 北京医科大学学报, 1987, 19(1):54.
 [5] 北京市中医研究所生化研究室. 尿 17-羟皮质类固醇和 17-酮类固醇测定在临床上的应用[J]. 新医药学杂志, 1974(1):15.

[责任编辑 聂淑琴]