

# 六味地黄汤对小鼠血浆中环核苷酸的影响

肖子曾<sup>1</sup>, 戴冰<sup>2</sup>, 黄开颜<sup>2</sup>, 宋旭如<sup>3</sup>

(1. 湖南中医学院, 湖南长沙 410007; 2. 湖南中医学院第一附属医院, 湖南长沙 410007;  
3. 湖南省九芝堂制药有限公司, 湖南长沙 410007)

**摘要:**目的: 研究六味地黄汤(丸)对阴虚病证模型小鼠血浆中环核苷酸的影响, 以探讨六味地黄汤补阴作用的部分机理。方法: 采用糖皮质激素致小鼠阴虚模型, 观察其煎剂、丸剂大小剂量组对环核苷酸(cAMP)的影响, 以放射免疫法进行测定。结果: 六味地黄汤(丸)有恢复血浆中cAMP、cGMP水平及其比值的作用, 且以高剂量组的作用为优。结论: 六味地黄汤能改善和调节cAMP系统, 此是其补阴作用的机理之一。

**关键词:** 六味地黄汤; 环核苷酸; 小鼠

**中图分类号:** R285.5    **文献标识码:** B    **文章编号:** 1005-9903(2004)01-0044-03

六味地黄汤系中医补阴之名方, 尤擅长于补益肝肾之阴, 临床运用非常广泛, 后世不少滋阴补肾之方皆由六味地黄汤衍化而成, 近年来, 国内学者对六味地黄汤的药理作用进行了多方面的深入研究, 其中的研究表明, 恶性肿瘤细胞内cAMP含量较低时, 六味地黄汤可增高癌细胞内cAMP的含量<sup>[1]</sup>。提示它可能对环核苷酸这种生物调节系统有某种作用。为了进一步探讨该方补阴作用与环核苷酸系统之间的关系, 我们观察了六味地黄汤(丸)剂对阴虚病证模型小鼠血浆中环核苷酸的影响, 以期揭示六味地

黄汤补阴作用的机理。

## 1 材料

**1.1 动物** MIH 纯种小鼠, 体重 18~22g, 由湖南中医学院实验动物中心提供, 雌雄均用。

**1.2 药物** 六味地黄汤煎剂: 熟地黄 24g、山茱萸 12g、山药 12g、泽泻 9g、牡丹皮 9g、茯苓 9g, 上述中药饮片全部由湖南省药材公司一次供应, 浓度分别为 1.0g/ml, 0.33g/ml; 六味地黄丸(浓缩丸), 由湖南省长沙九芝堂制药有限公司生产, 批号为 011207, 浓度分别为 1.0g/ml, 0.33g/ml。

**1.3 试剂** 醋酸氢化可的松规格: 5ml: 125mg, 由湖南洞庭制药厂生产, 批号 980625; 异丙肾上腺素, 规

格 2ml: 1mg, 上海禾丰制药有限公司, 批号 021102; 环磷酸腺苷(cAMP)放射免疫分析试剂盒一个, 批号 020711; 上海中医学院同位素室提供。

1.4 仪器 50cm × 36cm × 25cm 的玻璃缸、负重物、温度计 200ml 磨口广口瓶、秒表、凡士林、液体闪烁计数器、减压抽滤装置、冷冻离心机、微量注射器、半自动微量进样器、TE-3S 光点显示测量仪、MettlerAE-163 电子天平。

## 2 方法

2.1 煎剂制备 取六味地黄汤 5 剂, 加 6 倍量水, 浸泡 20min, 煮沸后改用文火慢煎, 煎煮 30min, 过滤, 取滤液, 药渣再加 4 倍量水, 煎煮 30min, 过滤, 二次滤液合并, 将药液浓缩至 1.0g/ml, 供实验用。

2.2 六味地黄丸药液的制备 取六味地黄丸 120 丸加纯净水约 300ml, 搅拌, 煮沸, 使之完全溶解后, 添加纯净水至 375ml, 使其药液浓缩至 1.0g/ml, 供实验用。

2.3 造模 将 60 只小鼠, 雌雄各半, 分别称重, 编号, 按体重、性别随机分成 6 组, 每组 10 只, 其中五组用可的松 1~ 1.25mg/只灌胃, 连续 4d。

2.4 分组 给药 造模前一天起每天按六味地黄丸高剂量组(简称丸剂高)和低剂量组(简称丸剂低), 六味地黄汤高剂量组(简称煎剂高)和低剂量组(简称煎剂低), 分别灌胃给药一次, 共 5d, 模型组、空白组每天用纯净水灌胃。

2.5 取材及实验检测 60 只小鼠分组入笼及末次给药后 30min, 每鼠皮下注射一次异丙肾上腺素 0.1μg/g, 10min 后断头采血, 测其 cAMP 系统对异丙刺激的反应强度。血浆处理, 标准曲线制作及 cAMP、cGMP 的测定步骤按所购“cAMP 测定放射免疫分析试剂盒”使用说明书进行。整个加样操作在冰浴中开展, 将实验数据进行成组 t 检验, 统计学处理, 结果见下表。

表 1 对小鼠血浆中环核苷酸的影响

组别	剂量 (g/kg)	cAMP(ppmol/ml)	cGMP(ppmol/ml)	cAMP/cGMP
空白组	—	1.14 ± 0.02**	1.47 ± 0.08**	0.80 ± 0.05**
模型组	—	2.35 ± 0.29 <sup>ΔΔ</sup>	5.11 ± 0.61 <sup>ΔΔ</sup>	0.48 ± 0.04 <sup>ΔΔ</sup>
丸剂高	30	1.13 ± 0.02**	1.35 ± 0.06**	0.86 ± 0.05**
丸剂低	10	1.16 ± 0.03**	1.90 ± 0.16** <sup>Δ</sup>	0.66 ± 0.06*
煎剂高	30	1.40 ± 0.11* <sup>Δ</sup>	1.67 ± 0.11**	0.86 ± 0.06**
煎剂低	10	1.15 ± 0.03**	2.28 ± 0.33** <sup>Δ</sup>	0.61 ± 0.08

注: 与空白对照组比较 <sup>Δ</sup>P < 0.05, <sup>ΔΔ</sup>P < 0.01; 与模型对照组比较 \* P < 0.05, \*\* P < 0.01。

## 3 结果

上表所示: 空白组与模型组比较, cAMP、cGMP 值, 有显著性差异, 提示, 注射异丙后, 可的松阴虚模型中, 小鼠血浆 cAMP、cGMP 值明显高于正常组, 表明外源性 β 激动剂可造成小鼠血浆 cAMP 系统升高。

同时, 各药物组与模型组比较, cAMP、cGMP 值, 均有显著性差异, 其比值除煎剂低外, 其他药物组与模型组比较, 都有显著性差异, 提示, 六味地黄汤(丸)均有恢复 cAMP 水平、cGMP 水平及其比值的作用; 与空白组比较, 各药物组除煎剂高外, cAMP 及 cAMP/cGMP 比值均无显著性差异, 提示, 丸剂高、丸剂低及煎剂低恢复 cAMP 及其比值能力一致。各药物组与空白组 cGMP 值比较, 丸剂低、煎剂低均有显著性差异, 提示, 丸剂高、煎剂高恢复 cGMP 水平明显优于二剂型低剂量组, 从而表明: 六味地黄汤煎剂及丸剂均能恢复血浆 cAMP、cGMP 水平及其比值的作用, 且高剂量组优于低剂量组。

总之, 本实验研究发现, 六味地黄汤煎剂及丸剂对糖皮质激素阴虚型小鼠均有恢复其血浆 cAMP、cGMP 水平及其比值的作用, 且六味地黄汤两剂型上述作用皆以浓度高者为优。提示六味地黄汤对细胞的 cAMP 系统有一定的影响作用。

## 4 讨论

近年来, 生物学上认识到许多神经递质、激素及一些生物活性物质对靶细胞发挥生理效能是通过细胞内的介质——环核苷酸(即 cAMP、cGMP)达到的, 它是整体性调节机制影响细胞功能的中间枢纽。不少实验资料表明, 当他们中的一方发生含量变化或二者比值变化时, 细胞功能也随之发生明显变化<sup>[2]</sup>。在对中医“虚证”的本质研究中, 有人发现: 阴虚时血浆 cAMP 升高, cAMP/cGMP 比值无明显变化; 阳虚时, cAMP 降低, cGMP 升高, cAMP/cGMP 比值下降<sup>[1]</sup>。国内对某些疾病患者的研究也有类似结果<sup>[2]</sup>。

在用现代科学技术探讨中医理论工作中, 设计中医阴虚动物模型用于探讨一些补阴药的作用, 被人们广泛使用, 而所采用的模型主要有皮质激素阴虚型、甲亢阴虚型<sup>[3]</sup>。而已有的研究发现, 此两种动物模型的 cAMP 系统会反应性升高, 但滋阴药(生地龟板合剂)能使之改善<sup>[4]</sup>。本实验即证明了这一点。

本实验中用可的松对小鼠连续灌胃 4d 后, 即造成可的松阴虚模型, 在该实验第 5d 每鼠皮下注射一定剂量的异丙, 其目的是利用异丙造成小鼠血浆

cAMP 系统升高, 来观察用中药处理后, 小鼠 cAMP 系统对  $\beta$  肾上腺素能的反应, 实验表明, 灌服六味地黄汤(丸)剂后, 可使阴虚型小鼠血浆 cAMP 峰值降低, 这可能与环核苷酸系统的变化主要是细胞对相应激动剂的反应发生了变化<sup>[4]</sup>, 而中药的作用则可能是由于改变了细胞的反应性有关。

本实验研究发现, 六味地黄汤能降低糖皮质激素阴虚型小鼠血浆中 cAMP/cGMP 水平及其比值, 表明六味地黄汤能改善和调节阴虚型小鼠血浆 cAMP 系统, 因此提示其补阴作用的机理之一是通过调节细胞内的环核苷酸系统而达到的。同时实验中发现各剂型以高浓度者为优, 这可能是由于六味地黄汤(丸)是口服制剂, 故浓度高者吸收得多些, 疗效则好些。

一般认为 cAMP/cGMP 比值的有无变化是区别阴虚、阳虚的一项非常重要的特征。本实验发现模型组与正常组比较, cAMP/cGMP 有显著性差异, 即 cAMP/cGMP 明显升高, cAMP/cGMP 明显下降, 说明 cAMP 系统的变化即有阴虚特点, 又有阳虚特点。分析其原因, 可能有以下两点, 其一, 从六十年代开始, 人们在实验中即使用大剂量肾上腺皮质激素制造动物虚损模型, 一般认为, 给动物大剂量使用皮质激素后的 4~5 天, 为“阴虚”, 5~10 天为“阳虚”<sup>[4]</sup>。但并没有具体的病理和生理学指标来进行判断, 然而, 在实验中, 由于使用的动物品系有差别, 体重、驯养环

境有不同等因素, 给药后动物出现“阴虚”或“阳虚”的时间是会有差异的。因此, 在造阴、阳虚动物模型时, 应有具体的生理、病理指标进行判断, 而不仅仅靠使用用皮质激素的天数来判定阴虚、阳虚, 故这种虚证模型的确认还有待于进一步研究。其二, 目前报道的阴虚造模, 多是以可的松 1.25mg/鼠, 肌肉注射持续 4 天而成。然笔者在实验中发现, 有的小鼠经肌肉或皮下注射后, 不久即死亡, 故本实验给药改为 1mg/鼠灌胃造模: 这两种不同的给药途径和剂量, 造成的阴虚模型是否完全一致, 造模存在着什么差别, 暂不得而知。

#### 参考文献:

- [1] 姜廷良. 六味地黄汤防治肿瘤的实验研究[J]. 中医杂志, 1983, (6): 71.
- [2] 夏宇勤, 朱玫, 胡雅儿, 等. 中医“虚证”理论的初步探讨[J]. 中医杂志, 1979, 11: 2.
- [3] 邝安方, 丁霆, 陈家伦, 等. 阴虚(甲状腺功能减退)和阴虚(甲状腺功能亢进)病人血浆环核苷酸酶的对比[J]. 中医杂志, 1979, (7): 21.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 982.
- [5] 夏宇勤, 胡镇球, 胡雅儿, 等. 四种“虚证”模型的建立及其与环核苷酸系统的关系[J]. 中西医结合杂志, 1984, 4(9): 543-545.