

柴芩合煎液与分煎液对 LPS 诱导的大鼠发热模型的影响

高琳, 谢鸣, 孙明瑜
(北京中医药大学, 北京 100029)

摘要: 柴胡、黄芩是古方小柴胡汤“和解少阳”的核心药对。本实验通过观察柴芩合煎液(CQHJ)与分煎液(CQFJ)(剂量为10g/kg)对20μg/kg和80μg/kg LPS诱导的大鼠发热模型的影响,考察了它们的解热作用。结果发现,CQHJ与CQFJ对不同剂量的LPS诱导的大鼠发热均有显著的解热作用;但CQHJ与CQFJ在起效时间和作用效度上有所区别,总体上以CQHJ更具优势。

关键词: 柴胡;黄芩;合、分煎;LPS;解热

中图分类号:R285.5 文献标识码:B 文章编号:1005-9903(2003)06-0022-04

Experimental Research on the Anti-febrile Effect of Mingled Decoction and Separated Decoction of Bupleurium Root and Scutellaria Root on the Fever Induced by LPS in Rats

GAO Lin, XIE Ming, SUN Ming-yu
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

Abstract: Bupleurium root and Scutellaria root is the core paired component of the Minor Chaihu decoction. In the experiment we observed the effects of anti-febrile of the Bupleurium root and Scutellaria root mingled decoction and separated decoction on the fever induced by LPS intraperitoneally injected at the dose of 20μg/kg and 80μg/kg, respectively. Both of the decoctions orally administrated can significantly inhibited the fever induced by LPS at both doses ($P < 0.05$ or 0.01) at the dose of 10g/kg, and there is no significance between the both decoctions. But analyzing the effects comprehensively, we found that the mingled decoction presented the anti-febrile effect earlier than the separated decoction, and indicated a better efficacy in trend.

Key words: Bupleurium root; Scutellaria root; mingled decoction and separated decoction; LPS; anti-febrile

小柴胡汤是仲景和解少阳的著名古方,主治往来寒热,胸胁苦满,口苦咽干目眩,心烦喜呕等伤寒少阳证,临床常用于治疗肝胆、消化、神经、呼吸等系统的多种疾病^[1],具有解热、抗炎、抗肝损伤、免疫调节等多种药理作用^[2-3]。柴胡-黄芩是小柴胡汤中的重要功能药对,能“外解半表之邪、内清半里之热”,体现着小柴胡汤和解少阳作用的主要方面。现代研究也证明,单味柴胡、黄芩及其成分有解热、抗炎、保肝等活性^[4-7]。本次实验考察了柴芩合煎液与分煎液对LPS诱导的大鼠发热模型的影响,并对其作用特点进行了分析。

1 材料

1.1 动物 雄性SD大鼠,250~300g,购自北京市维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK

(京)2002-0003。

1.2 药品 脂多糖(*Escherichia coli* endotoxin O₅₅B₅, L2880, LPS), Sigma公司生产;柴胡(伞形科植物 *Bupleurum Chinese* DC. 的干燥根)、黄芩(唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi. 的干燥根),购自北京同仁常药店,由北京中医药大学中药学院生药系刘春生副教授鉴定。

1.3 仪器 电脑数字温度计MC-3B型,由OMROM欧姆龙(大连)有限公司生产。

2 方法

2.1 柴芩合煎液(CQHJ)和柴芩分煎液(CQFJ)的制备

CQHJ:柴胡-黄芩(4:3)饮片混合,8倍量水浸泡30min,加热保持微沸30min,过滤;药渣加5倍量水,

微沸30min, 过滤, 合并两次滤液。滤液浓缩至折合原药材浓度1g/ml。

CQFJ: 柴胡、黄芩分别依上法提取、浓缩, 浓缩液按4:3比例混合。

2.2 动物分组及造模 大鼠室温饲养, 每日光照12h, 自由取食、饮水。适应性喂养5d后, 随机分为正常(N.S)、模型(LPS)、CQHJ和CQFJ共四组。

实验1: LPS、CQHJ、CQFJ各组动物以20μg/kg剂量腹腔注射浓度为20μg/ml的LPS生理盐水溶液, N.S组注射同体积生理盐水; 造模同时, 给药组分别灌胃给予CQHJ和CQFJ(剂量为10g/kg体重), N.S与LPS组给予同体积生理盐水。

实验2: LPS、CQHJ、CQFJ各组动物以80μg/kg剂量腹腔注射20μg/ml的LPS溶液, N.S组注射同体积生理盐水; 造模后120min, 给药组分别灌胃给予CQHJ和CQFJ(按10g/kg体重), 正常与模型组给予同体积生理盐水。

2.3 检测指标 造模前2d, 每日早晚测量各组大鼠的肛温, 选取体温在36.6~38.0℃, 且连续体温变化<0.3℃的大鼠, 取其平均值作为正常基础体温(T_0); 造模后, 每隔30min测定肛温(T_i), 连续测量330~450min, 计算体温变化值 ΔT ($\Delta T = T_i - T_0$)。

2.4 统计学方法 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间的均值比较用 q 检验。全部数据使用Spss软件系统处理。

3 结果

3.1 CQHJ、CQFJ对20μg/kg剂量LPS诱导的大鼠发热的影响 结果见表1和图1。

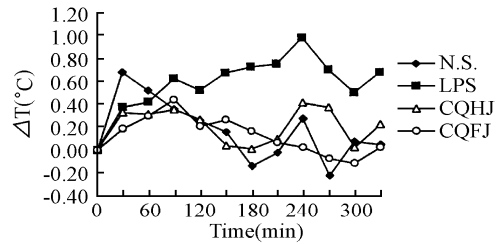


图1 CQHJ与CQFJ作用于LPS(20μg/kg)大鼠发热模型的 ΔT 时间曲线(室温:20℃)

结果见表1和图1。从表1可看出, 与正常组相比, 模型组大鼠在注射LPS后180~270min中的4个观察点的体温明显升高, 差异显著($P < 0.05$; $P < 0.005$); 与模型组相比, CQHJ组大鼠在注射LPS并给药后180~270min中的4个观察点的体温明显降低, 差异显著($P < 0.05$), CQFJ组大鼠在注射LPS并给药后210~330min中的4个观察点的体温明显降低, 差异显著($P < 0.05$); CQFJ组大鼠在注射LPS并给药后270min时的体温较CQHJ组明显降低, 差异显著($P < 0.05$)。

从图1中可看出, 模型组大鼠在注射LPS后 ΔT 曲线持续上升, 90min后的 ΔT 曲线较正常组明显上移; 并在90min和240min处出现两个明显的发热峰, 第二峰达最高值; 与模型组比较, CQHJ和CQFJ组 ΔT 曲线均明显下移, CQHJ组 ΔT 曲线中的第一个

表1 CQHJ与CQFJ对大鼠腹腔注射20μg/kg LPS后不同时间 ΔT 值的影响(室温:20℃)

时间(min)	ΔT											
	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	
空白对照组	0.68 ± 0.22	0.52 ± 0.33	0.36 ± 0.53	0.26 ± 0.62	0.16 ± 0.68	-0.14 ± 0.82	-0.02 ± 0.75	0.28 ± 0.10	-0.22 ± 0.09	0.08 ± 0.46	0.05 ± 0.30	
模型组	0.38 ± 0.43	0.42 ± 0.26	0.62 ± 0.44	0.52 ± 0.40	0.68 ± 0.52	0.72 ± 0.22 [#]	0.75 ± 0.21 [#]	0.98 ± 0.26 [#]	0.70 ± 0.42 ^{# #}	0.05 ± 0.22	0.68 ± 0.21 [#]	
CQHJ	0.33 ± 0.50	0.31 ± 0.57	0.36 ± 0.17	0.27 ± 0.21	0.04 ± 0.26 [*]	0.01 ± 0.36 [*]	0.10 ± 0.25 [*]	0.41 ± 0.31 [*]	0.37 ± 0.30	0.03 ± 0.66	0.23 ± 0.44	
CQFJ	0.24 ± 0.18	0.30 ± 0.22	0.44 ± 0.26	0.21 ± 0.29	0.27 ± 0.30	0.17 ± 0.26	0.07 ± 0.44 [*]	0.03 ± 0.54 ^{***}	-0.07 ± 0.46 ^{*** Δ}	0.03 ± 0.66	0.03 ± 0.42 [*]	

注: 生理盐水($n = 6$); LPS($n = 6$); CQHJ+LPS($n = 8$); CQFJ+LPS($n = 8$); 与空白对照组比[#] $P < 0.05$, ^{# #} $P < 0.005$; 与模型组比^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; 与CQHJ组比^Δ $P < 0.05$ 。

表2 CQHJ与CQFJ对大鼠腹腔注射80μg/kg LPS后不同时间点的 ΔT 值影响(室温:18℃)

时间(min)	ΔT							
	30	60	90	120	150	180	210	240
空白对照组	0.62 ± 0.19	0.38 ± 0.25	0.25 ± 0.58	0.12 ± 0.74	0.02 ± 0.70	-0.30 ± 0.39	-0.20 ± 0.67	0.28 ± 0.10
模型组	0.28 ± 0.22 [#]	0.64 ± 0.17	0.58 ± 0.19	0.36 ± 0.34	0.62 ± 0.23	0.78 ± 0.19 ^{# #}	0.88 ± 0.31 ^{# #}	0.74 ± 0.35 [#]
CQHJ	0.29 ± 0.22 [#]	0.61 ± 0.31	0.51 ± 0.40	0.40 ± 0.30	0.02 ± 0.52	0.06 ± 0.48 ^{**}	-0.02 ± 0.45 ^{**}	-0.14 ± 0.38 ^{***}
CQFJ	0.33 ± 0.26	0.62 ± 0.26	0.53 ± 0.32	0.35 ± 0.47	0.23 ± 0.65	0.17 ± 0.47	0.18 ± 0.28 [*]	0.17 ± 0.23 ^{**}

时间(min)	ΔT						
	270	300	330	360	390	420	450
空白对照组	0.05 ± 0.31	-0.20 ± 0.28	0.25 ± 0.07	0.25 ± 0.07	0.05 ± 0.07	0.08 ± 0.46	0.12 ± 0.30
模型组	0.92 ± 0.57 ^{# #}	0.84 ± 0.71 [#]	0.50 ± 0.14	0.45 ± 0.21	0.70 ± 0.57	0.76 ± 0.62 [#]	0.70 ± 0.56 [#]
CQHJ	0.16 ± 0.30 ^{***}	-0.05 ± 0.42 [*]	-0.20 ± 0.71	-0.08 ± 0.32 [*]	0.42 ± 0.58	0.12 ± 0.47 [*]	0.01 ± 0.39 ^{**}
CQFJ	0.03 ± 0.22 ^{***}	-0.20 ± 0.30 [*]	-0.27 ± 0.21	-0.07 ± 0.15	-0.06 ± 0.12	0.17 ± 0.23 [*]	0.22 ± 0.27

注: 生理盐水($n = 6$); LPS($n = 6$); CQHJ+LPS($n = 8$); CQFJ+LPS($n = 8$)。

峰消失,第二峰的峰顶也明显降低;CQFJ组第一个峰的峰值降低,从90min后曲线持续下降,第二峰完全消失。

3.2 CQHJ、CQFJ对80 μ g/kg剂量LPS诱导大鼠发热的影响 结果见表2和图2。

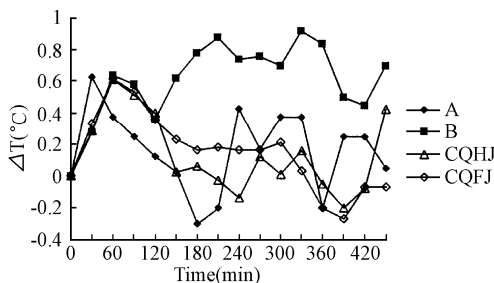


图2 CQHJ与CQFJ作用于LPS(80 μ g/kg)大鼠发热模型的 ΔT -时间曲线(室温:18 $^{\circ}$ C)

从表2中可以看出,与对照组相比,模型组大鼠在注射LPS(80 μ g/kg)后的30min、60min、180~360min观察点的 ΔT 明显升高,差异显著。与模型组相比,CQHJ大鼠在注射LPS后的30min、90min、180~360min、420min观察点的 ΔT 明显降低,差异显著;CQFJ大鼠在注射LPS后的60min、90min、210~270min、330min、360min观察点的 ΔT 明显降低,差异显著。

从图2中可以看出,对照级 ΔT 曲线在注射后LPS后的30min、240min、390min处出现峰;与对照组相比,模型组 ΔT 曲线明显上移,并于注射后LPS后的60min、210min和330min处形成3个峰,第3个峰值达到0.84;与模型组相比,CQHJ和CQFJ组 ΔT 曲线明显下移,分别在注射后LPS后的30min、150~180min、270~330min处出现3个峰,但峰高明显降低;较CQFJ组,CQHJ组在注射后LPS后的30~270min和270~450min的 ΔT 曲线段分别下移和上移。

4 讨论

4.1 不同剂量LPS诱导的发热模型

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰氏阴性细菌的内毒素(endotoxin, ET)的活性成分,微量的LPS即能引起剂量依赖性发热。LPS诱导的大鼠发热模型是目前考察药物解热作用的较为常用的模型,本实验中采用了两个常用剂量20 μ g/kg和80 μ g/kg。实验观察到,大鼠腹腔注射LPS后迅速出现寒战、蜷缩、被毛直立等恶寒现象,且高剂量时更为明显。20 μ g/kg LPS引起大鼠发热曲线为两相,第二峰较第一峰峰值明显升高;80 μ g/kg LPS引起的发热曲线为三相,三峰的峰值较为接近,且其总体发热水平较高,维持时间较

长。值得注意的是,正常组在注射生理盐水后30~60min会出现短时应激性发热,随后体温逐渐下降,至150min左右恢复至正常水平。实验中20 μ g/kg LPS模型大鼠第一相发热峰被应激性发热掩盖,80 μ g/kg LPS模型大鼠第一相发热峰延迟30min出现,但峰值有所升高。

4.2 LPS所致大鼠发热特征与少阳证“往来寒热”症相似

LPS诱导的发热模型具有一定的特点,大鼠发热体温并非始终维持在高水平,而是随时间推移呈现上下较大幅度的波动,且热势趋高,与此同时,还可见到动物出现毛发卷缩、寒颤、精神不振等症状,与中医伤寒少阳证中的“往来寒热”症颇为相似。提示该模型用于中医少阳病证研究的可能性。

4.3 CQHJ与CQFJ对LPS发热模型作用及比较

实验1使用小剂量(20 μ g/kg)LPS造模后120min给予CQHJ与CQFJ灌胃,观察到两给药组分别于灌胃后30min和90min出现明显的退热效应,并持续90~20min,两给药组间无显著性差异;实验2使用大剂量(80 μ g/kg)LPS造模,并在造模120min后给予灌胃给予CQHJ与CQFJ灌胃,观察到两给药组整个 ΔT 曲线均明显下移,并使模型大鼠后二相的发热峰消失,显示出明显的对抗发热作用。结果表明CQHJ与CQFJ对LPS所致的发热具有确切防治作用。实验观察到,CQHJ与CQFJ的解热作用有所不同,并因模型不同而有差异。CQHJ作用于20 μ g/kg和80 μ g/kg LPS发热模型中,表现出较CQFJ解热作用起效快(提前30~60min)和前期解热作用强的特点;而CQFJ则在模型发热后期较CQFJ表现出更强的解热作用趋势。结果提示CQHJ和CQFJ的解热作用有显著早晚和持续时间长短方面的差异。

4.4 关于模型选择的思考

曾有报道,柴胡、黄芩醇水提取液对伤寒-副伤寒甲乙三联疫苗引起的家兔发热未见明显的解热作用^[8],本实验观察到柴胡、黄芩的分煎与合煎液对不同剂量LPS引起的大鼠发热均有显著的解热作用。导致实验结果的差异,除了可能的制剂因素外,另一个可能的原因就是模型的适应性问题。从发热曲线的峰形来看,三联疫苗引起的家兔发热只出现单峰,可能更接近中医的里热证^[9-10],本实验观察到腹腔注射20 μ g/kg和80 μ g/kg LPS诱导的大鼠发热模型与中医少阳证的“寒热往来”极为相似,已知柴胡-黄芩药对是中医和解少阳的核心药对,根据中医“方证相关”原理^[11],方药的功用与其所作用的病证特点具有依赖性,由此进

一步推测, LPS 诱导的大鼠发热模型与中医少阳证具有更大的关联性, 若然, 具有和解少阳功用的方药作用于其适应的病证模型显示出疗效则系理在其中。这从某个角度也可提示, 中医方药药理研究中可能存在一个模型的适配性问题。

参考文献:

- [1] 景浩. 小柴胡汤临床应用新进展[J]. 辽宁中医学院学报, 2002, 2(1): 67-69.
- [2] 龙子江, 白玫, 余世春. 小柴胡汤口服液解热抗炎作用的研究[J]. 基层中药杂志, 1995, 9(4): 34-36.
- [3] 王春华, 张爱丽. 小柴胡汤的药理研究现状[J]. 中成药, 1997, 19(2): 47-48.
- [4] 佟继铭, 佟悦, 苏桂兰, 等. 黄芩茎叶总黄酮抗炎及解热作用研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 1999, 总(40): 287-288.
- [5] Dobashi I, Tozawa F, Horiba N, et al. Central administration of saikosaponin d increases corticotropin releasing factor Mrna levels in the rat hypothalamus[J]. Neurosci Lett, 1995, 197(3): 235-238.
- [6] Krakauer T, Li BQ, Young HA. The flavonoid baicalin inhibits superantigen induced inflammatory cytokines and chemokines[J]. FEBS Lett, 2001, 500(1-2): 52-55.
- [7] Chiu HF, Lin CC, Yang CC, Yang F. The pharmacological and pathological studies on several hepatic protective crude drugs from Taiwan (I) [J]. Am J Chin Med, 1988, 16(3-4): 127-137.
- [8] 王胜春, 党峻英, 贾旭东. 柴胡与黄芩伍用清热与抗病毒作用[J]. 中草药, 1997, 29(1): 27-29.
- [9] 古梅, 何正正. 解热注射液的药理实验研究[J]. 中草药, 2000, 31(6): 444-446.
- [10] 刘持年, 孙蓉, 龚彦胜, 等. 紫黄解毒片清热解毒作用的实验研究[J]. 山东中医药大学学报, 2000, 24(1): 71-74.
- [11] 谢鸣. 21 世纪课程教材·方剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 12-13.