

## 黄柏及其酒和盐炙品改善热证大鼠能量代谢及其机制的研究

徐 珊<sup>1,2,3</sup>, 张 凡<sup>1,2,3\*</sup>, 刘蓬蓬<sup>1,2,3</sup>, 孙 娜<sup>1,2,3</sup>, 贾天柱<sup>1,2,3</sup>

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
3. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600

**摘要:** 目的 探索黄柏、酒黄柏及盐黄柏对热证大鼠能量代谢的作用规律。方法 黄柏及其酒和盐炙品水煎液 9.519、1.058 g/kg ig 大鼠 7 d, 测定生制黄柏对 2,4-二硝基苯酚所致热证大鼠肛温, 以及血浆中三碘甲腺原氨酸(T<sub>3</sub>)、四碘甲腺原氨酸(T<sub>4</sub>)、促甲状腺激素 (TSH)、促甲状腺激素释放激素 (TRH)、肝组织中乳酸脱氢酶 (LDH)、琥珀酸脱氢酶 (SDH)、肝糖原、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶的含量。结果 生黄柏、盐黄柏均可以降低热证大鼠肛温, 而酒黄柏的作用不明显。生黄柏、盐黄柏可以有效降低热证大鼠的血浆中甲状腺功能轴 (T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、TSH、TRH) 和肝组织中 LDH、SDH、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶的含量, 并能增加热证大鼠肝组织中糖原含量, 而酒炙后对能量代谢指标含量作用减弱。结论 生黄柏能够改善热证大鼠的能量代谢, 且与甲状腺途径有关。盐炙后寒性增强, 对热证大鼠的能量代谢有进一步的改善作用, 而酒炙后, 缓和黄柏的寒性, 对能量代谢改善效果不显著。

**关键词:** 黄柏; 酒黄柏; 盐黄柏; 能量代谢

中图分类号: R285.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)12-1334-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.12.002

## Improvement of *Phellodendri Cortex* and its products processed by yellow wine and salt on energy metabolism in fever rats and its mechanism

XU Shan<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Fan<sup>1,2,3</sup>, LIU Peng-peng<sup>1,2,3</sup>, SUN Na<sup>1,2,3</sup>, JIA Tian-zhu<sup>1,2,3</sup>

1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China
2. Key Laboratory of Processing Theory Analysis of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China
3. Engineering Technology Research Center of Traditional Chinese Medicine processing of Liaoning Province, Dalian 116600, China

**Abstract: Objective** To explore the effect regularity of raw *Phellodendri Cortex* and its processed products on energy metabolism in fever rats. **Methods** After ig administration of water extracts from raw *Phellodendri Cortex* with doses of 9.519 and 1.058 g/kg for 7 d, rectal temperatures in fever rats caused by subcutaneous 2,4-dinitrophenol were determined. And then the activities of T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH, and TRH in plasma and LDH, SDH, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, and Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATPase in liver tissue were measured. **Results** Raw *Phellodendri Cortex* and *Phellodendri Cortex* processed by salt could reduce rectal temperature of fever rats, but the effect of *Phellodendri Cortex* processed by yellow wine had no significant effect. Raw *Phellodendri Cortex* and *Phellodendri Cortex* processed by salt could effectively reduce the levels of T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH, and TRH in rat plasma and LDH, SDH, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, and Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATPase in liver tissue. They could increase the content of glycogen in liver tissue. But the effects of *Phellodendri Cortex* processed by yellow wine on the contents of energy metabolism indexes were weaker. **Conclusion** Raw *Phellodendri Cortex* could improve the energy metabolism of fever rats related to thyroxine pathway. Processing by salt could strengthen these effects, while processing by yellow wine could alleviate the cold property of *Phellodendri Cortex* without obvious effect on the energy metabolism of fever rats.

**Key words:** *Phellodendri Cortex*; *Phellodendri Cortex* processed by yellow wine; *Phellodendri Cortex* processed by salt; energy metabolism

黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮, 主产于四川、云南、贵州、广西等地, 习称“川黄柏”。黄柏始载于《神农本草经》, 原名“檟木”, 列为上品, 性寒, 味苦,

收稿日期: 2014-08-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274083)

作者简介: 徐 珊 (1988—), 女, 硕士研究生, 从事中药炮制方向研究。Tel: 13050731621 E-mail: xushan\_1@163.com

\*通信作者 张 凡 (1985—), 男, 讲师, 硕士, 从事中药炮制方向研究。Tel: (0411) 85890135 E-mail: zhangfan11123@163.com

归肾、膀胱、大肠经，具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮之效，为中医传统的清热燥湿药<sup>[1]</sup>。生黄柏具苦寒之性，清热燥湿作用较强；酒炙缓和苦寒之性，以热制寒，属相反为制；盐炙可增加苦寒之性，增强滋阴降火作用，是寒者益寒，属相资为制。为了研究黄柏炮制后能量代谢的变化，本实验以大鼠血浆中甲状腺功能轴（T3、T4、TSH、TRH），肝组织中LDH、SDH、肝糖原、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶的含量为指标探讨黄柏不同炮制品清热作用的原理。

## 1 材料

### 1.1 仪器与试剂

直线往复式切药机（杭州海善制药设备有限公司）；SHA—C（7084）型恒温振荡器（常州国华电器有限公司）；TGL—16C型离心机（上海安亭科学仪器厂）；XW—80A涡旋混合器（上海青浦沪西仪器厂）；FA1004B型电子天平（上海精密科学仪器有限公司）；Mettler AE240型十万分之一分析天平（瑞士Mettler公司）；U—3010紫外可见分光光度计（Hitachi）；Multiskan-MK3型酶标仪（赛默飞世尔仪器有限公司）；-80℃Lnova U570超低温冰箱（美国NBS公司）。

黄酒购自浙江古泉酿酒有限公司，批号201301；精制盐购自江苏井神盐化股份有限公司，批号201212；生理盐水购自辽宁民康制药有限公司，批号A13021202；对乙酰氨基酚片购自东北制药集团沈阳第一制药有限公司，批号121115；大鼠三碘甲腺原氨酸（T3）试剂盒、大鼠四碘甲腺原氨酸（T4）试剂盒、大鼠促甲状腺激素（TSH）试剂盒、大鼠促甲状腺激素释放激素（TRH）试剂盒均购自上海科兴贸易有限公司，批号201305；Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶试剂盒、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶试剂盒、肝糖原试剂盒、乳酸脱氢酶（LDH）试剂盒、琥珀酸脱氢酶（SDH）试剂盒及考马斯蛋白定量试剂盒均购自南京建成科技有限公司，批号20130605。

### 1.2 实验动物

Wistar大鼠88只，雌雄各半，体质量180~200g，6~8周龄，由辽宁长生生物技术有限公司提供，许可证号SCXK（辽）2010-0001。大鼠适应性喂养1周，预养期间测定大鼠肛温，淘汰肛温异常者。预养期间自由饮食饮水，室温（22±2）℃。

### 1.3 药材

黄柏药材购自四川省药材公司，经辽宁中医大

学王冰教授鉴定为芸香科黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid.的干燥树皮。选取大小均一药材。

## 2 方法

### 2.1 样品的制备

**2.1.1 生黄柏的制备** 取原药材，洗净，润透，切4mm丝，干燥。

**2.1.2 酒黄柏的制备** 取净黄柏丝，放入适宜的容器中，加黄酒、蒸馏水拌匀（100g药材加20%黄酒、30%蒸馏水<sup>[2]</sup>），闷润2h，药透汤尽。取出，于150~160℃温度条件下置锅内炒制6min，取出，放凉，即得。

**2.1.3 盐黄柏的制备** 取净黄柏丝，放入适宜的容器中，加盐水拌匀（100g药材加2%盐、30%蒸馏水<sup>[3]</sup>），闷润2h，药透汤尽。取出，于150~160℃条件下置锅内炒制6min，取出，放凉，即得。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 水煎液的制备** 分别取黄柏各样品适量，置于砂锅中，加入10倍蒸馏水浸泡30min，快速加热至沸腾，而后保持微沸状态60min，趁热滤过；药渣中加入8倍蒸馏水，再次煎煮60min，趁热滤过。合并2次滤液，分别水浴浓缩至0.96、0.11g/mL（含生药分别为9.519、1.058g/kg），作为黄柏及其酒和盐炙品的高、低剂量，4℃储存备用。

**2.2.2 对乙酰氨基酚溶液的制备** 取对乙酰氨基酚片研细，加蒸馏水制成混悬液，得0.02g/mL（相当于0.2g/kg）的阳性药物，4℃储存备用。

### 2.3 动物分组及造模

大鼠随机分成11组，每组8只。分别为对照组，模型组，黄酒组，盐水组，对乙酰氨基酚组，生黄柏高、低剂量组，酒黄柏高、低剂量组，盐黄柏高、低剂量组。给药组每天ig给药，给药容积为10mL/kg，阳对组给予对乙酰氨基酚溶液，对照组和模型组给予相应剂量的生理盐水，黄酒组和盐水组给予与高剂量组相对应的辅料用量。连续给药1周，第7天除对照组外其余各实验组在ig给药30min后立即给予2,4-二硝基苯酚0.025g/kg，对照组给予相应剂量的生理盐水，给予2,4-二硝基苯酚1.5h，大鼠体温明显上升且达到峰值。

### 2.4 检测指标

于实验开始前、给药3d、造模后1.5、3.5、5.5h测量大鼠肛温；第7天造模6h后，乙醚麻醉，腹主动脉取血5mL，肝素抗凝，全血3000r/min离心10min，取上清液，-20℃保存待测。分离肝脏，

生理盐水清洗血污，铝箔纸包好，-80 °C 保存待测。

**2.4.1 血液样本的测定** 将冷冻保存的血浆样本平衡至室温，按照试剂盒说明书操作步骤，采用全自动酶标仪法测定计算大鼠血浆中 T3、T4、TSH 以及 TRH 的含量。

**2.4.2 肝组织样本的测定** 取-80 °C 中保存的肝组织匀浆室温解冻，按照试剂盒说明书操作，采用化学比色分光光度法测血浆 LDH、SDH、肝糖原、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶和蛋白的含量。

**2.5 统计处理**

实验数据用 SPSS 19.0 进行分析，所测数据以  $\bar{x} \pm s$  表示；采用单因素方差分析与组间 *t* 检验，判断各组差异的统计学意义。

**3 结果**

**3.1 对大鼠肛温的影响**

实验前各组大鼠基础肛温差异无显著性。给药

3 d 后，与同剂量生黄柏比较，酒黄柏组大鼠肛温显著升高 ( $P < 0.01$ )，说明酒黄柏相对于生黄柏对大鼠肛温有升高作用；盐黄柏高剂量 (9.519 g/kg) 组显著降低 ( $P < 0.01$ )，说明盐黄柏高剂量组对大鼠肛温的降低作用比生黄柏更显著。造模 1.5 h 后，与对照组比较，模型组大鼠肛温极显著升高 ( $P < 0.01$ )，说明造模成功。

与模型组比较，除酒黄柏低剂量组外其他各给药组大鼠肛温均显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )；造模 3.5 h 后各给药组大鼠肛温均有降低趋势，至 5.5 h 后各给药组大鼠肛温均明显降低。结果表明，黄柏盐炙品和生品均能降低大鼠肛温，酒炙品不具有明显的作用。与同剂量生黄柏组比较，酒黄柏组大鼠肛温高于生黄柏组和盐黄柏组 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，说明盐黄柏和生黄柏对大鼠肛温的降低作用优于酒黄柏，见表 1。

表 1 黄柏对热证大鼠肛温的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Table 1 Effects of *Phellodendri Cortex* on anal temperature of fever rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	实验前 肛温/°C	第 3 天 肛温/°C	第 7 天肛温/°C		
				造模 1.5 h	造模 3.5 h	造模 5.5 h
对照	—	37.15±0.21	37.21±0.29	37.20±0.42	37.17±0.25	37.30±0.25
模型	—	37.12±0.23	37.13±0.19	39.22±0.52 <sup>###</sup>	38.81±0.24 <sup>###</sup>	38.02±0.17 <sup>###</sup>
黄酒	—	37.05±0.30	37.53±0.17	39.46±0.29 <sup>**</sup>	38.87±0.27 <sup>**</sup>	38.34±0.34 <sup>**</sup>
盐水	—	37.25±0.09	37.20±0.25	38.98±0.34 <sup>**</sup>	38.41±0.18 <sup>**</sup>	37.52±0.24 <sup>**</sup>
对乙酰氨基酚	0.2	37.06±0.11	36.65±0.15	38.53±0.28 <sup>**</sup>	37.47±0.31 <sup>**</sup>	36.78±0.29 <sup>**</sup>
生黄柏	9.519	37.24±0.32	37.00±0.15	39.10±0.33 <sup>**</sup>	38.76±0.23 <sup>**</sup>	37.31±0.30 <sup>**</sup>
	1.058	37.21±0.16	37.00±0.26	39.20±0.39 <sup>*</sup>	38.83±0.28 <sup>**</sup>	37.20±0.28 <sup>**</sup>
酒黄柏	9.519	37.15±0.29	37.33±0.22 <sup>△△</sup>	39.11±0.33 <sup>*</sup>	38.73±0.36 <sup>**△△</sup>	37.34±0.24 <sup>**△</sup>
	1.058	37.12±0.15	37.23±0.30 <sup>△△</sup>	39.14±0.30	38.74±0.27 <sup>**</sup>	37.31±0.27 <sup>**△</sup>
盐黄柏	9.519	37.13±0.20	36.75±0.27 <sup>△△</sup>	38.96±0.27 <sup>**</sup>	38.22±0.28 <sup>**△△</sup>	37.24±0.29 <sup>**</sup>
	1.058	37.08±0.30	36.80±0.49	39.00±0.59 <sup>**</sup>	38.43±0.26 <sup>**△△</sup>	37.17±0.16 <sup>**</sup>

与对照组比较：<sup>###</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较：<sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ；同剂量组与生品比较：<sup>△</sup> $P < 0.05$  <sup>△△</sup> $P < 0.01$   
<sup>###</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group; <sup>△</sup> $P < 0.05$  <sup>△△</sup> $P < 0.01$  vs raw sample group with same dose

**3.2 对大鼠肝组织中能量代谢的影响**

与对照组比较，模型组大鼠肝组织中 SDH、LDH、肝糖原、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶含量均有显著性差异 ( $P < 0.01$ )，说明 2,4-二硝基苯酚所致热证模型大鼠的能量代谢指标发生显著变化。与模型组比较，各治疗组 (除酒黄柏高剂量组外) 指标的差异均有显著性，生黄柏、盐黄柏均能显著改善热证大鼠的能量代谢，且盐黄柏较优，但

酒黄柏作用不显著。与同剂量生黄柏组比较，酒黄柏在肝组织中 SDH、LDH、肝糖原、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶含量差异均有显著性 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，盐黄柏肝组织中 SDH、LDH、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶含量差异有显著性 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，说明酒黄柏对能量代谢指标的改善作用较弱，盐黄柏对能量代谢指标改善作用显著。见表 2。

表 2 黄柏对热证大鼠 SDH、LDH、肝糖原和 ATP 酶含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 2 Effects of *Phellodendri Cortex* on levels of LDH, SDH, liver glycogen, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, and Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATPase in liver tissue of fever rats ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	SDH/(U·mg <sup>-1</sup> )	LDH/(U·g <sup>-1</sup> )	肝糖原/(mg·g <sup>-1</sup> )	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATP 酶/( $\mu\text{molPi}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	Ca <sup>2+</sup> -Mg <sup>2+</sup> -ATP 酶/( $\mu\text{molPi}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )
对照	—	6.39±1.19	20.38±0.53	6.18±0.48	0.55±0.08	0.36±0.07
模型	—	12.39±0.82 <sup>##</sup>	32.40±0.60 <sup>##</sup>	4.19±0.28 <sup>##</sup>	2.24±0.10 <sup>##</sup>	1.71±0.10 <sup>##</sup>
黄酒	—	13.70±0.51 <sup>**</sup>	33.13±0.79 <sup>*</sup>	3.67±0.44 <sup>*</sup>	2.33±0.10	1.83±0.07 <sup>*</sup>
盐水	—	11.99±0.60	30.97±0.65 <sup>**</sup>	4.76±0.49 <sup>*</sup>	2.14±0.15	1.62±0.07
对乙酰氨基酚	0.2	6.96±0.52 <sup>**</sup>	21.68±0.41 <sup>**</sup>	5.96±0.37 <sup>**</sup>	0.67±0.11 <sup>**</sup>	0.54±0.10 <sup>**</sup>
生黄柏	9.519	8.97±0.55 <sup>**</sup>	26.38±0.53 <sup>**</sup>	5.39±0.68 <sup>**</sup>	1.82±0.10 <sup>**</sup>	1.14±0.13 <sup>**</sup>
	1.058	7.78±0.65 <sup>**</sup>	25.25±0.73 <sup>**</sup>	5.41±0.50 <sup>**</sup>	1.20±0.09 <sup>**</sup>	0.84±0.14 <sup>**</sup>
酒黄柏	9.519	12.16±0.89 <sup>△△</sup>	28.11±0.74 <sup>**△△</sup>	4.81±0.60 <sup>*△</sup>	2.24±0.09 <sup>△△</sup>	1.37±0.10 <sup>**△△</sup>
	1.058	10.70±0.63 <sup>**△△</sup>	27.36±0.48 <sup>**△△</sup>	4.73±0.49 <sup>*△△</sup>	1.62±0.08 <sup>**△△</sup>	1.35±0.09 <sup>**△△</sup>
盐黄柏	9.519	8.05±0.64 <sup>**△</sup>	25.07±0.64 <sup>**△△</sup>	5.79±0.41 <sup>**</sup>	1.52±0.20 <sup>**△△</sup>	0.93±0.12 <sup>**△△</sup>
	1.058	7.27±0.64 <sup>**</sup>	24.17±0.62 <sup>**△△</sup>	5.60±0.70 <sup>**</sup>	1.03±0.09 <sup>**△△</sup>	0.65±0.13 <sup>**△△</sup>

与对照组比较: <sup>##</sup>P<0.01; 与模型组比较: <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*</sup>P<0.01; 同剂量组与生品比较: <sup>△</sup>P<0.05 <sup>△△</sup>P<0.01

<sup>##</sup>P<0.01 vs control group; <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*</sup>P<0.01 vs model group; <sup>△</sup>P<0.05 <sup>△△</sup>P<0.01 vs raw sample group with same dose

### 3.3 对大鼠甲状腺功能轴的影响

与对照组比较,模型组大鼠血浆中 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、TSH、TRH 含量差异均有显著性 (P<0.01),说明 2,4-二硝基苯酚所致热证模型大鼠的甲状腺功能轴指标发生显著变化。与模型组比较,各治疗组(除酒黄柏组外)均有显著性差异 (P<0.05、0.01),说明生黄

柏和盐黄柏都有降低热证大鼠血浆中 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、TSH、TRH 含量的作用,但酒黄柏效果不显著。与同剂量生黄柏比较,盐黄柏的差异没有显著性,而酒黄柏的差异有显著性 (P<0.05、0.01),说明酒黄柏对热证大鼠甲状腺功能轴的作用不显著,生黄柏和盐黄柏优于酒黄柏。见表 3。

表 3 黄柏对热证大鼠血浆 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、TSH、TRH 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 3 Effects of *Phellodendri Cortex* on levels of T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH, and TRH in plasma of fever rats ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	T <sub>3</sub> /(ng·mL <sup>-1</sup> )	T <sub>4</sub> /( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	TSH/(mU·L <sup>-1</sup> )	TRH/( $\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
对照	—	76.01±9.14	185.79±13.63	10.79±1.19	5.36±0.56
模型	—	100.12±7.61 <sup>##</sup>	215.70±15.72 <sup>##</sup>	16.59±0.76 <sup>##</sup>	7.05±0.69 <sup>##</sup>
黄酒	—	110.39±7.81 <sup>**</sup>	223.83±14.86	18.54±0.51 <sup>**</sup>	7.61±0.34 <sup>*</sup>
盐水	—	93.94±5.53	207.97±10.74	15.67±0.82	7.27±0.35
对乙酰氨基酚	0.2	73.36±7.54 <sup>**</sup>	191.62±10.30 <sup>**</sup>	11.30±0.85 <sup>**</sup>	5.89±0.47 <sup>**</sup>
生黄柏	9.519	82.51±6.77 <sup>**</sup>	196.87±10.43 <sup>**</sup>	13.80±0.90 <sup>**</sup>	6.47±0.38 <sup>*</sup>
	1.058	88.22±5.44 <sup>**</sup>	198.49±12.12 <sup>*</sup>	14.49±0.95 <sup>**</sup>	6.54±0.46 <sup>*</sup>
酒黄柏	9.519	103.39±6.02 <sup>△△</sup>	207.76±13.93	17.40±1.02 <sup>△△</sup>	7.02±0.19 <sup>△</sup>
	1.058	99.05±6.46 <sup>△△</sup>	209.78±17.78	18.48±0.81 <sup>**△△</sup>	7.12±0.61 <sup>△</sup>
盐黄柏	9.519	80.42±6.19 <sup>**</sup>	191.93±11.30 <sup>**</sup>	13.56±0.79 <sup>**</sup>	6.11±0.36 <sup>**</sup>
	1.058	87.55±6.77 <sup>**</sup>	193.55±13.14 <sup>**</sup>	13.97±0.90 <sup>**</sup>	6.86±0.40

与对照组比较: <sup>##</sup>P<0.01; 与模型组比较: <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*</sup>P<0.01; 同剂量组与生品比较: <sup>△</sup>P<0.05 <sup>△△</sup>P<0.01

<sup>##</sup>P<0.01 vs control group; <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*</sup>P<0.01 vs model group; <sup>△</sup>P<0.05 <sup>△△</sup>P<0.01 vs raw sample group with same dose

## 4 讨论

### 4.1 模型药物的选择

实热证造模方法研究是比较广泛的,主要有热

性药物灌胃法、细菌病毒注射法、激素、化学药物及复合模型法等。其中 2,4-二硝基苯酚法是近年来新开展的一种造模方法。卢芳<sup>[4]</sup>采用大鼠 sc 不同剂

量的 2,4-二硝基苯酚溶液, 结果显示, 随着剂量的加大, 体温升高幅度增加, 热程延长。参考文献报道<sup>[5]</sup>并通过多个剂量造模条件的比较, 2,4-二硝基苯酚在 25 mg/kg 时, 大鼠体温升高幅度与持续时间均较适中。此剂量 2,4-二硝基苯酚诱导下的大鼠热病证候模型体温在给药后 1.5 h 达到峰值, 此后开始逐渐下降, 可持续发热约 3 h。结果证实 2,4-二硝基苯酚是短程热病证候模型的代表造模试剂, 且诱导的大鼠发热类型为无菌性发热。

#### 4.2 阳性对照药物的选择

对乙酰氨基酚片主要成分是对乙酰氨基酚, 其通过抑制环氧化酶、选择性抑制下丘脑体温调节中枢前列腺素的合成, 导致外周血管扩张、出汗而达到解热的作用, 为传统解热镇痛药物, 故本实验以对乙酰氨基酚片作为阳性对照药物。

#### 4.3 黄柏给药剂量的选择

根据实验室前期研究结果以及预实验, 黄柏水煎液给药剂量按照《中国药典》2010 年版一部黄柏人用最高剂量的 6.17 倍 (相当于生药 1.058 g/kg) 等效剂量作为低剂量给大鼠 ig<sup>[6]</sup>, 黄柏高剂量为生药 9.519 g/kg。

#### 4.4 辅料对热证大鼠各项生理生化指标的影响

中药炮制可以缓和、改变或增强药性。用药性相反的辅料来炮制可以使寒性或热性缓和或改变, 称为“以热制寒”或“以寒制热”; 而用药性相同的辅料来炮制则可以使寒性或热性增强, 称为“寒者益寒”或“热者益热”<sup>[7]</sup>。生黄柏为寒性中药, 黄酒为辛热之品, 酒炙则缓和了寒性, 为“以热制寒”; 食盐为咸寒之性, 盐炙则增加了寒性, 为“寒者益寒”。从实验结果可以看出, 黄柏酒炙后寒性减弱, 对热证大鼠的各项生理生化指标的改善和缓解作用较弱, 且黄酒本身具辛热之性, 增强了大鼠的热证, 减弱了黄柏的苦寒之性, 降低了黄柏的清热之功。盐炙后黄柏的苦寒之性增强, 能进一步缓解热证大鼠的生理生化指标。盐水单用效果不佳, 但与黄柏结合后能增强黄柏清热之功。

#### 4.5 实验药物对大鼠肛温的影响

在寒热证的研究中, 体温为基本指标。寒热体征的变化常作为辨证的重要依据。有学者指出药物作用于机体引起的体温变化可客观地反映中药寒热性质的强弱<sup>[8]</sup>。本研究结果显示, 在灌胃寒性中药 3 d 后, 大鼠肛温有所下降, 且除酒黄柏低剂量组外其他各给药组与对照组比较差异都有显著性, 说明

寒性中药黄柏可以降低大鼠的肛温, 盐炙后黄柏寒性增加, 肛温也明显降低, 但酒炙后缓和了黄柏的苦寒之性, 降温作用不显著。各给药组在 ig 后 1.5、3.5、5.5 h 肛温均显著高于对照组, 但与前一检测时间点比较各组黄柏肛温均呈逐步下降趋势, 说明利用 2,4-二硝基苯酚复制热证模型成功, 发热呈逐步下降趋势, 与以往文献报道及预实验一致。黄酒组大鼠肛温一直高于其他各组, 说明黄酒有升高大鼠肛温, 增加产热作用。余下各组大鼠肛温从高至低的顺序依次为: 酒炙品组 > 生品组 > 盐炙品组 > 阳性对照药物组。以上数据表明, 生黄柏有降低热证大鼠肛温的作用, 而盐黄柏降温作用更显著, 酒炙品降温作用不明显进而从寒热表征上说明了寒性中药可以降低大鼠肛温。

#### 4.6 实验药物对大鼠肝脏中能量代谢水平的影响

中医的寒热证型与机体能量代谢的关系密不可分, 寒热中药可能通过影响能量代谢的某些环节, 实现对寒热证的调节<sup>[9]</sup>。糖的无氧分解为葡萄糖经糖酵解分解成丙酮酸 (第一阶段) 和丙酮酸在乳酸脱氢酶作用下转变成乳酸 (第二阶段) 两个阶段。所以乳酸脱氢酶的含量对乳酸的产生有着直接的关系。有学者给大鼠 ig 不同的寒性中药, 结果发现寒性药物能显著降低大鼠肝组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$  酶活力, 增加 SDH 活力、升高肝糖原含量<sup>[10]</sup>。提示寒性中药的干预可使肝脏 ATP 消耗减少, 可能通过降低肝脏线粒体 SDH 的活性, 从而减少 ATP 的生成, 降低肝脏  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$  酶的活性, 从而减少 ATP 的消耗, 减少产热, 起到调节肝脏能量代谢的作用。

研究结果显示, 热证大鼠体内  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$  酶及 LDH、SDH 活性均增加, 经黄柏各生制品作用后  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$  酶、LDH、SDH 活性均有所降低。提示寒性中药的干预可抑制热证大鼠 ATP 酶、LDH 及 SDH 活性, 使能量代谢降低。寒性药物的解热机制可能是通过降低 ATP 酶活性使 ATP 消耗减少; 降低 SDH 活性使 ATP 生成减少, 从而使能量代谢减慢, 减少热量产生, 起到解热降低体温的作用。寒性中药可能通过调节能量代谢, 纠正热证患者或热证动物模型与能量代谢增高有关的病理生理基础<sup>[11]</sup>。实验结果表明各给药组大鼠肝组织中 ATP 酶含量从高至低依次为酒黄柏 > 生黄柏 > 盐黄柏 > 阳性对照药物组, 表明阳性对照药物组耗能最小, 酒黄柏耗能最多。

在 LDH、SDH 水平上, 盐黄柏最低, 其次是生黄柏, 再次是酒黄柏, 表明盐黄柏耗能最低, 酒黄柏最高。但总观  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$  酶活性的实验结果, 推测黄柏生制品可通过调整酶含量对能量代谢加以作用, 进而体现了上述的结果。

#### 4.7 实验药物对大鼠血浆中甲状腺功能轴的影响

下丘脑 - 垂体 - 甲状腺调节环路是机体调节甲状腺激素分泌相对恒定的功能结构。正常情况下, 在中枢神经系统的调控下, 下丘脑释放促甲状腺激素释放激素 (TRH) 调节垂体促甲状腺激素 (TSH) 的分泌, TSH 则刺激甲状腺细胞分泌  $\text{T}_4$  和  $\text{T}_3$ ; 血液中  $\text{T}_4$  和  $\text{T}_3$  浓度通过负反馈作用调节 TSH 的合成和释放, 影响垂体对 TRH 的反应性, 从而维持血浆中  $\text{T}_3$ 、 $\text{T}_4$  含量相对稳定。甲状腺激素是影响机体能量代谢的主要物质, 能使细胞内氧化速度提高, 耗氧量增加, 产热增多<sup>[12]</sup>。故大鼠甲状腺激素及 TRH 水平的变化可以一定程度上反映其产热及机体能量代谢的变化。有学者研究表明, 寒性中药使大鼠血清 TSH 下降, 而垂体内 TSH 均高于对照组, 反映丘脑下部 TRH 释放减少即垂体 - 甲状腺系统受抑制<sup>[13]</sup>。有学者给大鼠分别 ig 寒药 (知母石膏汤) 和热药 (附子干姜汤) 复方, 结果寒药组的  $\text{T}_3$ 、 $\text{T}_4$  含量下降, 热药组上升<sup>[14]</sup>。表明热性中药可促进大鼠的代谢, 升高体温, 兴奋交感神经和垂体 - 甲状腺系统机能, 寒性药物则相反。

本研究结果显示, 生黄柏、酒黄柏、盐黄柏均能不同程度的降低热证大鼠的  $\text{T}_3$ 、 $\text{T}_4$ 、TSH、TRH 水平, 并且生黄柏和盐黄柏降低效果明显, 酒黄柏效果不显著, 说明黄柏各生制品均对热证大鼠的下丘脑 - 垂体 - 甲状腺轴的功能有明显的抑制作用。实验结果提示, 黄柏抑制热证大鼠下丘脑 - 垂体 - 甲状腺轴功能, 减少下丘脑 TRH 的合成分泌, 从而降低 TSH 的分泌量, 使甲状腺分泌  $\text{T}_3$ 、 $\text{T}_4$  的量减少, 而甲状腺素可诱导 ATP 酶生成, 促进 ATP 的氧化分解产生能量, 实验结果说明黄柏可以通过影响热证大鼠下丘脑 - 垂体 - 甲状腺轴功能从而降低其机体内的能量代谢水平。

综上所述, 黄柏可以有效降低 2,4-二硝基苯酚所致热证大鼠的肛温、肝脏中  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$  酶、

$\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$  酶、LDH、SDH 以及血浆中  $\text{T}_3$ 、 $\text{T}_4$ 、TSH、TRH 的含量, 并升高肝糖元含量。说明生黄柏可以有效缓解热证大鼠的发热状态, 体现了黄柏的苦寒之性。黄柏生制品可能通过调节甲状腺功能轴相关指标, 进一步调节能量代谢。盐黄柏较生黄柏在改善大鼠肛温等 10 种指标方面效果更加显著, 酒黄柏对这 10 种指标的改善不显著。说明盐黄柏和生黄柏比酒黄柏在缓解热证大鼠发热状态方面更加显著。在作为清热作用方面, 寒性中药的炮制应注重“寒者益寒”。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 286.
- [2] 张凡. 黄柏相反为制的炮制原理研究 [D]. 大连: 辽宁中医药大学, 2011.
- [3] 祁东利. 黄柏炮制原理及质量标准研究 [D]. 大连: 辽宁中医药大学, 2010.
- [4] 卢芳, 董培良, 陈平平, 等. 三种热病证候模型最佳造模方法的探索与评价 [J]. 山东中医杂志, 2009, 28(2): 114-116.
- [5] 刘树民, 卢芳, 王喜军, 等. 基于代谢组学的热病证候模型评价方法研究 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(4): 549-551.
- [6] 魏伟, 吴希美, 李元建, 等. 药理实验方法学 [M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 71.
- [7] 周远征, 徐钢, 鞠成国, 等. 酒炙仙茅“热者益热”作用研究 [J]. 中草药, 2014, 45(10): 1434-1438.
- [8] 程彬彬. 中药四性广义狭义定性定量分析设想 [J]. 国医论坛, 2001, 16(2): 17-19.
- [9] 肖小河. 中药药性研究概论 [J]. 中草药, 2008, 39(4): 481-484.
- [10] 黄丽萍, 彭淑红, 蒙晓芳, 等. 6 种寒性中药对大鼠肝脏能量代谢的影响 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(24): 3255-3258.
- [11] 匡调元, 张伟荣, 丁镛发, 等. 寒体与热体的研究 [J]. 中医杂志, 1995, 36(9): 553-556.
- [12] Liu J, Chen Y, Li M. Thyroid hormones increase liver and muscle thermogenic capacity in the little buntings (*Emberiza pusilla*). [J]. *J Them Biol*, 2006, 31(5): 386-393.
- [13] 梁月华. 三黄汤和知石汤对神经内分泌的影响 [J]. 中药药理与临床, 1993, 9(1): 5-7.
- [14] 王米渠, 严石林, 李炜弘, 等. 寒热性中药对 SD 大鼠的实验研究 [J]. 浙江中医学院学报, 2002, 26(6): 43-45.