

辛热药和苦寒药对阳虚大鼠的不同药性生物学表达特征研究

刘欣¹, 张冰², 刘小青², 崔一然², 张晓萍², 谢菲²

1. 兰州大学基础医学院 中西医结合研究所, 甘肃 兰州 730000

2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029

摘要: **目的** 通过观察附子、仙茅、肉桂、黄柏、栀子对阳虚模型大鼠下丘脑-垂体-靶腺轴各项功能指标的影响, 揭示在阳虚状态下辛热药、苦寒药不同药性的生物学表征特点。**方法** 辛热药附子、仙茅、肉桂和苦寒药黄柏、栀子水煎液每天 ig 给予阳虚模型大鼠 1 次, 连续给药 7 d, 检测各组大鼠血清中促甲状腺激素 (TSH)、三碘甲腺原氨酸 (T₃)、甲状腺素 4 (T₄)、17-羟皮质类固醇 (17-OHCS)、皮质醇 (COR)、睾酮 (T)、雌二醇 (E₂) 等指标的变化。**结果** 附子、仙茅、肉桂组均能显著升高阳虚大鼠 T₃、17-OHCS、COR、T、T/E₂ 值, 降低 E₂ 指标; 附子、肉桂组显著升高阳虚大鼠 T₄ 水平, 肉桂组显著降低阳虚大鼠 TSH 水平, 黄柏、栀子组显著降低阳虚大鼠 COR 水平, 黄柏组显著降低阳虚大鼠 E₂ 指标。**结论** 辛热药附子、仙茅、肉桂和苦寒药黄柏、栀子干预阳虚大鼠时表现出不同的药性, 其中辛热药附子、仙茅、肉桂对阳虚状态的下丘脑-垂体-靶腺轴指标具有明显调节作用, 而苦寒药黄柏、栀子无明显作用。

关键词: 辛热药; 苦寒药; 阳虚; 药性; 下丘脑-垂体-靶腺轴

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)10-1295-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.10.017

Different biological expression characteristics of pungent-hot and bitter-cold herbs on *Yang*-deficiency rats

LIU Xin¹, ZHANG Bing², LIU Xiao-qing², CUI Yi-ran², ZHANG Xiao-ping², XIE Fei²

1. Institute of Integrated Chinese and Western Medicine of School of Preclinical Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: **Objective** To initially explore the drug biological characteristics of pungent-hot and bitter-cold herbs on the various functions of hypothalamus-hypophysis-target gland axes in *Yang*-deficiency rats, according to the pungent-hot herbs, *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* (ALRP), *Curculiginis Rhizoma* (CR), *Cinnamomi Cortex* (CC), and bitter-cold *Phellodendri Chinensis Cortex* (PCC), and *Gardeniar Fructus* (GF) and to investigate their biological expression characteristic on *Yang*-deficiency state. **Methods** The decoctions of ALRP, CR, CC, PCC, and GF were ig administered to *Yang*-deficiency rats once daily for 7 d. The indexes of thyroid-stimulating hormone (TSH), triiodothyronine (T₃), tetraiodothyronine (T₄), 17-hydroxycorticosteroids (17-OHCS), cortisol (COR), testosterone (T), and estradiol (E₂) in serum of animals in each group were detected. **Results** The T₃, 17-OHCS, COR, T, and T/E₂ values of *Yang*-deficiency rats in ALRP, CR, and CC groups were obviously increased, while E₂ was decreased. ALRP and CC could significantly increase T₄ of *Yang*-deficiency rats, TSH in *Yang*-deficient rats was decreased by CC, the COR of *Yang*-deficiency rats in CC and GF groups was decreased, and E₂ in *Yang*-deficiency rats was decreased by CC. **Conclusion** The pungent-hot herbs of ALRP, CR, and CC and bitter-cold herbs of PCC, GF show the different drug property in intervention of *Yang*-deficiency rats. The pungent-hot herbs have an obvious regulation on hypothalamus-hypophysis-target gland axes, while the bitter-cold herbs have no significant role.

Key words: pungent-hot herb; bitter-cold herb; *Yang*-deficiency; drug property; hypothalamic-hypophysis-target gland axes

收稿日期: 2012-08-12

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(2007CB512605); 高等学校博士学科点专项科研基金博导类资助课题(20100013110011); 高等学校博士学科点专项科研基金新教师类资助课题(20120211120046); 甘肃省科技计划资助(1208RJYA056); 兰州大学自然科学类“中央高校基本科研业务费专项资金”自由探索项目-面上项目(lzujbky-2012-151, lzujbky-2012-153)

作者简介: 刘欣(1977—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为中药药性理论实质研究。Tel: 18811072630 E-mail: xinliu@lzu.edu.cn

中药药性是药物作用于机体状态的、与化学成分相关的生物学效应的概括和归纳^[1]。本研究采用阳虚大鼠模型,结合不同药性中药的比较药理学^[2],通过观察辛热药、苦寒药对下丘脑-垂体-靶腺轴相关指标的影响,揭示在机体阳虚状态下不同药性中药的生物学表征,从而揭示辛热药、苦寒药药性在阳虚状态下的表达特点,为中药药性理论研究提供实验依据和参考。

1 材料

1.1 药物与试剂

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根加工品,购于四川江油药材有限公司;仙茅为仙茅属植物 *Curculigo orchoides* Gaertn. 的根茎,购于云南保山市医药有限责任公司;肉桂,为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮,购于云南河口药材有限公司;黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 除去栓皮的树皮,购于四川江油药材有限公司;栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的成熟果实,购于北京同仁堂望京店;以上药材均经北京中医药大学药系闫永红教授鉴定。注射用氢化可的松琥珀酸钠(批号 20100110),天津生物化学制药有限公司;氯化钠注射液(批号 B09041406),山东华鲁制药有限公司。

皮质醇(COR)、促甲状腺激素(TSH)、三碘甲腺原氨酸(T_3)、甲状腺素4(T_4)、睾酮(T)、雌二醇(E_2)放免试剂盒,均购于北京北方生物技术研究所;正丁醇,北京化工厂;活性炭,上海活性炭厂;盐酸苯肼,北京市兴津化工厂。

1.2 动物

7周龄雄性SD大鼠,体质量240~260 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2006-0009。

1.3 主要仪器

Xh6080 放免分析仪,西安核仪器厂;UV2000 紫外可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;恒温高速离心机,法国 Jouan 公司;恒温水浴箱,北京医疗设备厂。

2 方法

2.1 水提取物的制备

附子称质量,加8倍量水浸泡1 h,煎煮1 h,8层纱布滤过,滤渣再加6倍量水煎煮0.5 h,滤过,合并2次滤液,水浴浓缩至生药2 g/mL^[3]。仙茅、

肉桂、黄柏、栀子称质量,加10倍量水浸泡1 h,煎煮0.5 h,8层纱布滤过,滤渣加8倍量水煎煮0.5 h,滤过,合并2次滤液,水浴浓缩至生药2 g/mL^[4]。以上水提取液4℃冰箱冷藏备用。

2.2 造模、分组与给药

SD大鼠84只按体质量随机分为7组:对照组、模型组、附子组、仙茅组、肉桂组、黄柏组、栀子组,每组12只。模型组及各给药组每天上午im氢化可的松琥珀酸钠粉针剂20 mg/kg(用0.9%氯化钠溶液配制),对照组im等量0.9%氯化钠溶液,持续造模21 d。在造模第15天,对照组、模型组大鼠眼眶取血,检测相关指标,以确定模型是否成功^[5]。并且各给药组每天下午ig附子(6 mL/kg)、仙茅(15 mL/kg)、肉桂(15 mL/kg)、黄柏(2.5 mL/kg)、栀子(0.5 mL/kg)水煎液(相当于生药12、30、30、5、2 g/kg),对照组和阳虚模型组ig等体积蒸馏水,持续给药7 d。

2.3 血样采集与指标检测

给药结束后,各组大鼠用2%戊巴比妥钠溶液ip麻醉,腹股静脉取血(均于上午取血),取血前夜大鼠禁食不禁水,在取血前大鼠进行同一强度的游泳处理(游泳容器为直径32 cm、高54 cm的圆缸,水深35 cm,水温为16℃,游泳时间2.5 min)。血样于1 006×g离心15 min,得到血清,血清置于4℃冰箱保存,待测。采用同位素放免法检测COR、TSH、 T_3 、 T_4 、T、 E_2 ;用紫外分光光度计检测17-羟皮质类固醇(17-OHCS)^[6]。

2.4 大鼠一般症状观察

在造模第15~22天期间观察大鼠的毛发、精神状态、自主活动、体质量和大便等情况。

2.5 统计学方法

采用SPSS19.0软件进行统计分析,首先进行方差齐性检验,然后进行One-way ANOVA方差分析,若有差异进行Dunnett-*t*检验或两组间比较的SNK检验,若方差不齐,采用非参数检验。数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对大鼠一般症状的影响

与对照组相比,模型组大鼠毛色枯槁、精神状态萎靡、自主活动减少、畏寒、便溏,体质量有减轻的趋势但不明显。与模型组相比,附子、仙茅、肉桂组大鼠整体症状有所改善;而黄柏、栀子组大鼠整体症状未见明显改善。

3.2 对阳虚大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴功能指标的影响

与对照组相比, 模型组大鼠在造模第 15、22 天, 血清中 T_3 、 T_4 水平显著下降 ($P<0.05$ 、 0.01)、TSH 量仅在第 15 天显著降低 ($P<0.01$); 黄柏、栀子组大鼠在造模第 22 天血清中 T_3 、 T_4 水平也显著

下降 ($P<0.05$ 、 0.01)。与模型组相比, 在造模第 22 天, 附子组大鼠 T_3 、 T_4 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01); 仙茅组大鼠 T_3 水平显著升高 ($P<0.05$); 肉桂组大鼠 TSH 水平显著降低 ($P<0.05$), T_3 、 T_4 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01); 而黄柏、栀子组 TSH 水平显著降低 ($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 辛热药和苦寒药对阳虚大鼠血清 TSH、 T_3 、 T_4 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effects of pungent-hot and bitter-cold herbs on TSH, T_3 , and T_4 levels in blood serum of Yang-deficiency rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组 别	TSH / (ng·mL ⁻¹)		T_3 / (ng·mL ⁻¹)		T_4 / (ng·mL ⁻¹)	
	第 15 天	第 22 天	第 15 天	第 22 天	第 15 天	第 22 天
对照	0.46±0.15	0.40±0.16	0.40±0.08	0.32±0.06	39.78±11.47	36.75±3.62
模型	0.25±0.12**	0.39±0.11	0.28±0.12**	0.24±0.06**	28.12±6.63**	33.16±3.37*
附子	—	0.42±0.18	—	0.32±0.07 ^{▲▲}	—	38.41±6.89 [▲]
仙茅	—	0.37±0.07	—	0.32±0.09 [▲]	—	34.96±6.42
肉桂	—	0.30±0.05 [▲]	—	0.31±0.05 ^{▲▲}	—	36.32±4.04 [▲]
黄柏	—	0.29±0.09 [▲]	—	0.24±0.04**	—	32.75±4.36*
栀子	—	0.29±0.09 [▲]	—	0.24±0.07*	—	31.29±5.63**

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$, 表 3 同

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$ vs model group, same as Table 3

3.3 对阳虚大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴功能指标的影响

与对照组相比, 模型组大鼠在造模第 15、22 天血清中 17-OHCS、COR 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01); 黄柏、栀子组大鼠在造模第 22 天, 血清中 17-OHCS、COR 水平极显著降低 ($P<0.001$)。与模型组相比, 在造模第 22 天, 附子、仙茅、肉桂组大鼠血清中 17-OHCS、COR 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.001), 而黄柏、栀子组大鼠 COR 水平显著下降

($P<0.01$)。结果见表 2。

3.4 对阳虚大鼠下丘脑-垂体-性腺轴功能指标的影响

与对照组比较, 模型组大鼠在造模第 15、22 天血清中 T 水平和 T/E₂ 值显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01), E₂ 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。与模型组相比, 在造模第 22 天, 附子、仙茅、肉桂组大鼠血清中 T 水平、T/E₂ 值显著升高 ($P<0.05$), E₂ 水平显著下降 ($P<0.01$), 黄柏组大鼠 E₂ 水平显著下降 ($P<0.01$)。结果见表 3。

表 2 辛热药和苦寒药对阳虚大鼠血清中 17-OHCS 和 COR 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effects of pungent-hot and bitter-cold herbs on 17-OHCS and COR levels in serum of Yang-deficiency rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组 别	17-OHCS / (μg·mL ⁻¹)		COR / (ng·mL ⁻¹)	
	第 15 天	第 22 天	第 15 天	第 22 天
对照	14.7±0.5	12.8±0.8	26.56±5.16	19.46±1.50
模型	13.8±0.7*	10.5±0.9**	21.38±5.26*	17.58±2.10*
附子	—	12.5±1.0 ^{▲▲▲}	—	19.40±1.76 [▲]
仙茅	—	12.4±0.9 ^{▲▲▲}	—	19.63±2.68 [▲]
肉桂	—	12.3±0.6 ^{▲▲▲}	—	19.54±2.09 [▲]
黄柏	—	11.2±1.0***	—	14.69±2.18 ^{***▲▲}
栀子	—	10.1±0.2***	—	14.66±2.01 ^{***▲▲}

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$; 与模型组比较: [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$ ^{▲▲▲} $P<0.001$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs control group; [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$ ^{▲▲▲} $P<0.001$ vs model group

表3 辛热药和苦寒药对阳虚大鼠血清中 T、E₂ 水平和 T/E₂ 值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 3 Effects of pungent-hot and bitter-cold herbs on T and E₂ levels, and T/E₂ value in Yang-deficiency rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	T / (ng·mL ⁻¹)		E ₂ / (pg·mL ⁻¹)		T/E ₂	
	第15天	第22天	第15天	第22天	第15天	第22天
对照	2.92±1.95	1.43±1.11	161.82±36.82	130.40±23.43	20.45±16.81	11.70±9.95
模型	0.86±0.35**	0.73±0.29*	213.68±50.47*	182.11±50.29**	4.48±1.95**	4.46±2.32*
附子	—	1.18±0.65 [▲]	—	135.52±17.30 ^{▲▲}	—	8.82±5.06 [▲]
仙茅	—	1.66±1.11 [▲]	—	134.40±31.38 [▲]	—	13.26±11.08 [▲]
肉桂	—	1.52±1.23 [▲]	—	132.55±25.89 ^{▲▲}	—	12.35±11.89 [▲]
黄柏	—	0.94±0.46	—	131.36±22.33 ^{▲▲}	—	6.27±3.58
栀子	—	0.85±0.52	—	157.55±38.13*	—	6.41±3.60

4 讨论

本实验根据文献方法^[7-8], 采用糖皮质激素诱导大鼠产生毛色枯槁、精神状态萎靡、少动、畏寒、大便溏稀等类似中医阳虚症状, 并发现模型大鼠肾上腺皮质、甲状腺功能、物质能量代谢、性激素出现病理生理学改变。通过研究辛热药附子、仙茅、肉桂和苦寒药黄柏、栀子对糖皮质激素诱导的阳虚模型大鼠下丘脑-垂体-靶腺轴各项功能指标的调整, 考察阳虚状态下辛热药和苦寒药不同药性的生物学表征差异。结果显示, 阳虚模型组大鼠出现毛色枯槁、精神状态萎靡、自主活动减少、畏寒、大便溏稀等症状; 附子、仙茅、肉桂组大鼠整体症状有所改善, 而黄柏、栀子组大鼠整体症状未见明显改善。附子、仙茅、肉桂组大鼠血清 T₃、17-OHCS、COR、T 水平和 T/E₂ 值均显著升高, E₂ 水平降低; 附子、肉桂组大鼠血清 T₄ 显著升高, 肉桂组大鼠血清 TSH 水平显著降低; 黄柏、栀子组鼠血清 COR 水平降低, 黄柏组鼠血清 E₂ 水平降低。表明辛热药附子、仙茅、肉桂不但能改善阳虚模型大鼠整体症状, 还可调节其下丘脑-垂体-靶腺轴功能。提示辛热药对于阳虚状态下大鼠的下丘脑-垂体-靶腺轴具有调节作用和趋势, 均可使低下的下丘脑-垂体-靶腺轴中的甲状腺、肾上腺和性腺功能得到改善, 但改善程度及相关指标各有侧重。而苦寒药黄柏、栀子对阳虚状态低下的大鼠下丘脑-垂体-靶腺轴相关指标不但无明显的纠正作用, 反而使部分指标进一

步降低 (如 TSH、COR), 提示下丘脑-垂体-靶腺轴相关指标可能是辛热药性表达的特异指标。

综上所述, 通过对证、不对证, 正治、错治, 药性表达相反等的关系, 初步揭示了辛热药附子、仙茅、肉桂和苦寒药黄柏、栀子各自的生物学表征, 对其深层次的机制, 还需进一步的研究和探讨。

参考文献

- [1] 张冰, 林志健, 翟华强, 等. 基于“三要素”假说研究中药药性的设想 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(2): 221-223.
- [2] 梁茂新, 范颖. 中药四性研究的现状、问题和对策 [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(7): 565-568.
- [3] 刘欣, 张冰, 刘小青, 等. 辛热药附子对类阳虚状态的干预实验研究 [J]. 天津中医药, 2011, 28(1): 69-71.
- [4] 金锐, 张冰, 刘小青, 等. 基于药性构成“三要素”数理分析模式的中药寒热药性生物学表征差异研究 [J]. 中西医结合学报, 2011, 9(7): 715-724.
- [5] 刘欣, 张冰, 崔一然, 等. 基于垂体-靶腺轴观察氢考诱导大鼠阳虚状态的动态研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2011, 25(1): 53-55.
- [6] 杨勇, 梁月华, 汪长中, 等. 虚寒、虚热证大鼠神经、内分泌、免疫与血液流变学的时相性研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(2): 29-32.
- [7] 卢文丽, 方肇勤. 阳虚证动物模型的造模方法与评析 [J]. 上海中医药大学学报, 2004, 18(4): 45-48.
- [8] 陈英华, 孙琪, 欧阳扶强, 等. 肾阳虚证动物模型造模方法综述 [J]. 中国医药学报, 2003, 18(6): 370-372.