

不同折算剂量桂枝汤对酵母致大鼠发热模型的影响

程先宽¹ 范吉平² 韩振蕴³ 陈志刚³

(1. 首都医科大学康复医学院中国康复研究中心, 北京市丰台区角门北路10号, 100068;

2. 中国中医科学院; 3. 北京中医药大学东方医院)

[摘要] **目的** 比较不同折算剂量桂枝汤对酵母致大鼠发热模型的影响。**方法** 40只 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、桂枝汤大剂量组(大剂量组)和桂枝汤小剂量组(小剂量组), 每组10只。观察酵母致发热模型大鼠不同时点体温的改变, 检测血清白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、血浆及下丘脑组织前列腺素 E_2 (PGE₂) 的变化。**结果** 大鼠颈背部皮下注射酵母4.5h 体温明显升高($P < 0.05$); 6.5h 模型组体温升高较桂枝汤大剂量组明显($P < 0.05$); 7.5h 大、小剂量组较模型组体温下降($P < 0.05$); 8.5h 大剂量组体温基本接近正常。模型组大鼠血清 IL-1、TNF- α 血浆和下丘脑 PGE₂ 水平明显升高; 大剂量组较小剂量组降低血清 IL-1、TNF- α 血浆和下丘脑 PGE₂ 水平明显。**结论** 按照“1两=13.8g”折算的桂枝汤, 解热作用明显, 其作用可能与降低血清 IL-1、TNF- α 血浆和下丘脑 PGE₂ 有关。

[关键词] 桂枝汤; 不同剂量; 发热大鼠; 药效学

Effect of Guizhi Decoction of Different Dosage on the Rats with Fever Induced by Yeast

CHENG Xiankuan¹, FAN Jiping², HAN Zhenyun³, et al.

(1. China Rehabilitation Research Center, Capital Medical University, Beijing 100068; 2. China Academy of Chinese Medicine Sciences)

ABSTRACT **Objective** To compare the pharmacologic effect of Guizhi Decoction with dosage of different convert criterion. **Methods** The 40 Wistar rats were randomized into blank group, model group, Guizhi Decoction large and small dosage groups, with 10 in each. The effect of Guizhi Decoction on the body temperature of rats with fever induced by yeast at different time points and the changes in concentration of interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum and prostaglandin E_2 (PGE₂) in plasma and hypothalamus were observed. **Results** The body temperature of rats with yeast injection through nape at the time point of 4.5h was significantly increased ($P < 0.05$); the body temperature of rats in the model group at the time point of 6.5h was increased more significantly than that in Guizhi Decoction large dosage group ($P < 0.05$); compared with the model group, the body temperature of rats in Guizhi Decoction large and small dosage groups decreased at the time point of 7.5h ($P < 0.05$); the body temperature of rats in Guizhi Decoction large dosage group was nearly normal at the time point of 8.5h. The concentration of IL-1 and TNF- α and PGE₂ of rats in model group was significantly higher. The decrease of IL-1 and TNF- α and PGE₂ of rats in Guizhi Decoction large dosage group was more significant than that in Guizhi Decoction small dosage group. **Conclusion** Guizhi Decoction at the convert criterion of 1Liang = 13.8g has a significant effect of clearing heat. Its mechanism may be related to its function in decreasing IL-1 and TNF- α and PGE₂.

Key Words Guizhi Decoction; Dosage; Fever rats; Pharmacodynamical study

中药剂量或称用量, 是依据传统经验为达到一定治疗作用所应用的药量。理想的剂量要求有最好、最大的疗效, 最小的不良反应。根据笔者对《伤寒杂病论》方剂剂量折算标准的研究^[1]可知, 考证的经方剂量折算标准“1两=13.8g”与习惯认为的“1两=3g”折算方法差异近5倍。因此, 通过实验研究的方法比较不同折算标准经方剂量药效及毒理, 推定安全、有效的剂量折算标准, 势必为确定经方剂量又提供了有益的实证。

1 材料

1.1 中药制剂

桂枝汤(由桂枝、白芍、炙甘草、生姜、大枣等组成)水煎浓缩至1g/ml混悬液, 由北京中医药大学东

直门医院重点实验室配制。所用药材购于同仁堂, 桂枝汤按《伤寒论》^[2]中的桂枝3两(去皮)、芍药3两、甘草2两(炙)、生姜3两(切)、大枣12枚, 参考伤寒论煎取汤剂(上5味, 㕮咀3味, 以水7升, 微火煮取3升, 去滓, 适寒温, 服1升), 自来水浸泡40min, 第一遍煎煮时加7倍的水, 第二遍加5倍的水。每次煎煮后, 保持微沸30min。合并两次煎液, 水浴浓缩, 4℃冰箱保存, 临用时配制。

1.2 实验动物

Wistar 大鼠40只, 雄性, 体重(220±20)g, 北京维通利华实验技术有限公司提供[合格证号 SCXX(京) 2002-2003]。

表1 各组大鼠不同时间点体温比较(℃, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	基础体温	3.5h	4.5h	5.5h	6.5h	7.5h	8.5h
空白组	10	37.92±0.24	38.15±0.31	37.83±0.14	37.70±0.14	37.74±0.10	37.70±0.19	37.81±0.12
模型组	10	37.99±0.23	38.35±0.25	38.79±0.21*	39.05±0.34*	38.96±0.42*	38.96±0.42*	38.78±0.47*
小剂量组	10	37.97±0.19	38.43±0.46	38.86±0.49*	39.00±0.48*	38.90±0.41*	38.45±0.45*△	38.40±0.28*△
大剂量组	10	37.84±0.21	38.17±0.46	38.65±0.53*	38.99±0.77*	38.63±0.35*△	38.26±0.56*△	37.89±0.31*▲

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,△ $P<0.05$;与小剂量组比较,▲ $P<0.05$

0110。干酵母稀释于蒸馏水,配制成20%酵母悬液,临用时配制。德国勃朗红外线体温计(国药管械进字99第0075号)。

2 方法

2.1 动物分组

大鼠每日测量体温(耳温)2次,连续3日,取6次体温的平均值记为基础体温。单次体温超过38.3℃或2次体温差别超过0.5℃的动物剔除不用,取两次体温的平均值记为基础体温。选取基础体温(37.5±0.5)℃的大鼠,采用随机数字表法随机分为4组,即空白组、模型组、桂枝汤大剂量组(大剂量组)、桂枝汤小剂量组(小剂量组),每组10只。

2.2 动物造模及给药

实验前6h禁食不禁水。空白组大鼠颈部以下的背部皮下注射生理盐水10ml/kg;模型组和大、小剂量组大鼠分别在大鼠颈部以下的背部皮下注射20%酵母悬液10ml/kg,按摩注射部位以使悬浮液在皮肤下扩散^[3,4]。造模同时大、小剂量组分别灌胃7g/kg、1.5g/kg体重(大剂量组按照笔者考证推定的经方剂量折算标准计算^[1],即1两=13.8g;小剂量组则参考习惯认为1两=3g。按照人鼠给药换算标准^[5]得出相当于人临床等效剂量),空白组和模型组给予同体积蒸馏水。注射酵母悬液后3.5h后测体温,并重复灌胃1次,第2次灌胃给药后每1h后测1次体温,连续监测5h。

2.3 观察指标及方法

测定血清肿瘤坏死因子αTNF-α、白细胞介素1(IL-1);血浆及下丘脑组织前列腺素E₂(PGE₂)。均在北京中医药大学东直门医院核医学科采用放免法检测上述指标。

2.4 统计学方法

采用SPSS11.0统计软件处理,计量数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据均采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组大鼠不同时间体温变化比较

表1示,模型组、大、小剂量组大鼠颈背部皮下注射酵母造模后3.5h体温有增高趋势,与空白组比较亦无

统计学差异;随后体温继续升高,4.5h左右体温升高超过0.8℃,5.5h左右升高超过1℃,体温达到峰值,与空白组比较差异均有统计学差异($P<0.05$)。6.5h后各组大鼠体温开始有下降趋势,但仍与空白组比较差异有统计学意义($P<0.05$);6.5h模型组体温高于大剂量组($P<0.05$);7.5h大、小剂量组较模型组体温下降($P<0.05$)。8.5h大剂量组体温基本接近正常,与空白组比较差异无统计学意义;小剂量组较模型组明显降低体温($P<0.05$),但其作用没有大剂量组明显($P<0.05$)。

3.2 各组大鼠血清IL-1、TNF-α血浆及下丘脑PGE₂比较

表2示,模型组大鼠血清IL-1、TNF-α血浆PGE₂、下丘脑PGE₂均水平明显升高,与空白组比较差异均有统计学意义($P<0.05$);大、小剂量组均有降低血清IL-1、血浆PGE₂、下丘脑PGE₂水平,但以大剂量组最为明显,与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

表2 各组大鼠血清IL-1、TNF-α血浆及

下丘脑 PGE ₂ 比较($\bar{x} \pm s$)					
组别	鼠数	IL-1 (ng/ml)	TNF- α (ng/ml)	血浆 PGE ₂ (pg/ml)	下丘脑 PGE ₂ (pg/ml)
空白组	10	0.21 $\pm$ 0.01	1.22 $\pm$ 0.18	36.62 $\pm$ 5.71	38.28 $\pm$ 1.82
模型组	10	0.28 $\pm$ 0.02 [*]	1.67 $\pm$ 0.24 [*]	52.84 $\pm$ 5.63 [*]	51.82 $\pm$ 1.01 [*]
小剂量组	10	0.24 $\pm$ 0.03 [*]	1.39 $\pm$ 0.12 Δ	41.61 $\pm$ 4.50 [*] Δ	39.97 $\pm$ 1.69 [*] Δ
大剂量组	10	0.22 $\pm$ 0.02 Δ	1.33 $\pm$ 0.05 Δ	38.43 $\pm$ 5.19 Δ	38.86 $\pm$ 1.43 Δ

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,△ $P<0.05$

4 讨论

桂枝汤为张仲景群方之冠,是滋阴和阳,调和营卫,解肌发汗的总方。药虽五味,结构严谨,发中有补,散中有收,邪正兼顾,阴阳并调,体现了经方组方配伍法度之谨严、巧妙,故而“外证得之,解肌和营卫;内证得之,化气调阴阳”。本研究结果显示,与模型组比较,桂枝汤对酵母致发热大鼠升高体温有显著的下调作用,给药后体温与模型组比较均有统计学差异,提示桂枝汤有解热作用。与桂枝汤小剂量比较,桂枝汤大剂量解热效果明显,使酵母致发热大鼠体温趋于正常体温,与相关文献报道^[6]相符合。

有研究表明,IL-1可诱发动物高热^[7,8],下丘脑中

PGE₂在发热中起着重要的中介作用^[9]。PGE₂作为最后的内源性致热原,兴奋CNS而诱导发热^[10,11]。本实验结果也表明,血清细胞因子IL-1、TNF- α 、血浆PGE₂、下丘脑PGE₂与酵母致发热密切相关,具体表现为酵母致发热大鼠这些因子含量升高,可能系酵母颈背部注射后,体内这些因子、介质水平升高,从而介导发热反应。按照考证的1两折合13.8g计算的桂枝汤大剂量组能够明显下调升高的IL-1、PGE₂水平而起到解热作用,下调升高的体温,接近正常组体温,并且较小剂量组作用明显;而按照习惯认为的1两折合3g计算的桂枝汤小剂量组解热作用不明显。可以看出,不同折算剂量桂枝汤药效差异明显,桂枝汤解热作用与剂量有关,从而一定程度上说明按照考证的1两折合13.8g计算,桂枝汤有较好的解热作用。

考证经方剂量折算的增大,虽然符合经方剂量的事实,但令人难以接受的是随剂量增大是否会带来的安全性问题,因为按此剂量折算标准折算,经方用量明显超过《中国药典》规定范围。因此,有必要进行毒理学安全性实验,确定经方剂量的增大与其安全性的关系。

参考文献

[1]程先宽.《伤寒杂病论》方剂剂量折算标准研究[EB/OL].中国博士学位论文全文数据库.(2006-11-30)[2008-06-12].<http://epub.cnki.net/grid2008/detail.aspx?filename=2006085668.nh&dbname=CDFD2007>.
[2]李培生,刘渡舟.伤寒论讲义[M].上海:上海科学技术出版

社,1985:15.
[3]李沧海,周军,霍海如,等.发热大鼠脑组织15-羟基前列腺素脱氢酶活性的时相变化及桂枝汤的影响[J].中国实验方剂学杂志,2004,10(1):22-25.
[4]齐云,李沧海,郭淑英,等.桂枝汤对体温双向调节作用机理探讨——对发热及低体温大鼠下丘脑PGE₂含量及COX活性的影响[J].中国实验方剂学杂志,2002,8(1):390-394.
[5]陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:277.
[6]沈映君.中药解表方药研究[M].北京:中国医药科技出版社,2004:80.
[7]Klir JJ, McClellan JL, Kluger MJ. Interleukin-1 beta causes the increase in anterior hypothalamic interleukin-6 during LPS-induced fever in rats[J]. Am J Physiol, 1994, 266(6 Pt 2):1845-1848.
[8]Long NC, Otterness I, Kunkel SL, et al. Roles of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor in lipopolysaccharide fever in rats[J]. Am J Physiol, 1990, 259(4 Pt 2):724-728.
[9]Ushikubi F, Segi E, Sugimoto Y, et al. Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP₃[J]. Nature, 1998, 395(6699):281-284.
[10]Bernheim HA, Gilbert TM, Stitt JT. Prostaglandin E levels in third ventricular cerebrospinal fluid of rabbits during fever and changes in body temperature[J]. J Physiol, 1980, 301:69-78.
[11]Kluger MJ. Fever: role of pyrogens and cryogens[J]. Physiol Rev, 1991, 71(1):93-127.

(收稿日期:2008-06-13;修回日期:2008-10-23)

[编辑:邓媛]

中国第三届中医、中西医结合暨非药物疗法防治心脑血管病、肿瘤、糖尿病高级论坛征文通知

由中国人体健康科技促进会、中国人体健康科技促进会医药科技专业委员会、《世界中医药》杂志社联合主办,北京华盛国际医药信息交流中心承办的海峡两岸及港澳“中国第三届中医、中西医结合暨非药物疗法防治心脑血管病、肿瘤、糖尿病高级论坛”拟于2009年8月在新疆乌鲁木齐举办。

1. 会议征文内容:(1) 中医药治疗心脑血管病的理论研究与临床经验;(2) 中医、中西医结合治疗心脑血管病的新疗法、新进展;(3) 中医药治疗心脑血管病的实验研究;(4) 针灸推拿等非药物疗法治疗心脑血管病的体会;(5) 中医、中西医结合治疗糖尿病的理论研究与临床进展;(6) 肿瘤、糖尿病及心脑血管病的中医诊疗规范;(7) 中医药、中西医结合治疗肿瘤的基础及临床研究;(8) 中医、中西医结合抗肿瘤的理论与临床探讨;(9) 名老中医经验和民间中医验方防治心脑血管病、肿瘤、糖尿病经验总结;(10) 抗肿瘤中药的研究与开发;(11) 肿瘤止痛及晚期肿瘤患者生存质量与养生方法研究;(12) 中医非药物疗法的基础研究和理论研究探讨;(13) 中医非药物疗法在临床中的应用研究与总结;(14) 针灸在各科临床的经验总结;(15) 推拿按摩及其他治疗方法在各科临床的运用;(16) 非药物康复疗法经验总结;(17) 中风后遗症的中医特色治疗经验;(18) 老年痴呆症、顽固性失眠、血管性头痛的论治精神及特色疗法;(19) 名老中医临床经验总结;(20) 中医成才经验介绍;(21) 临床应用经方、成方、验方的体会;(22) 中医养生保健、食疗方法介绍及理论研究;(23) 中医药教学经验介绍;(24) 中国医学史研究;(25) 中药研究及其现代应用;(26) 复方制剂的开发与研究。

2. 征文要求:(1) 论文要求论点明确,论据充分,结构严密,文字精炼,实用性;(2) 征文请附医院或主管单位介绍信;(3) 征文截止日期为2009年6月30日;(4) 每位作者只限投一篇论文(要求2000字以内);(5) 文稿中的计量单位均须采用法定计量单位;(6) 文题下署作者姓名,作者单位名称、地址、邮编、电话请写在文稿末尾,请在投稿信封左下角注明“会议”字样;(7) 论文尽量不用表格及图片;(8) 欢迎使用计算机软盘或电子邮件投稿;(9) 征文经专家评审后,录用文章刊登在《世界中医药》杂志2009年增刊上(被录用的第1、第2作者,分别授予国家Ⅱ级继续教育学分),并邀请参加会议,入选论文将安排在大会交流,参加会议者颁发证书并授予国家Ⅰ级继续教育学分。

3. 投稿地址:北京市朝阳区小营路19号财富嘉园A座302室《世界中医药》杂志社,邮政编码:100101,电话:(010) 58239055,传真:(010) 58239066, E-mail: wfcmss@163.com, 联系人:王炳岐、赵和爱、徐晖