省级项目平台

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.03.043

盐制法炮制对地黄滋阴清热主要功效的增效作用探索

龙冰玉[1],张月月[1],王君明[1,2,3],巫晓慧[1],何庆文[1],李亚敏[1],宋玲玲[1]
(1.河南中医药大学药学院,河南 郑州 450046;2.河南中医药大学呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心,河南 郑州 450046;3.豫药全产业链研发河南省协同创新中心,河南 郑州 450046)

摘要:目的 探索盐制法炮制对地黄滋阴清热主要功效的增效作用。方法 结合盐制法古籍记载和现代演变制备地黄盐制炮制品,在此基础上,在相对最为公认也是应用最为广泛的左旋甲状腺素钠(160 mg·kg^{-1})灌胃诱导的小鼠阴虚内热模型上,通过对小鼠大体体征观察、饮水量、肛温、趋热性,以及对血清三碘甲状腺原氨酸(Tri-iodothyronine,T3)、甲状腺素(Thyroxine,T4)、环磷酸腺苷(Cyclic adenosine monophosphate,cAMP)、环磷酸鸟苷(Cyclic guanosine monophosphate,cGMP)、Na^+-K^+-ATP(Sodium-Potassium Pump)酶、$Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$(Calcium pump)酶等与阴虚内热相关指标的检测,综合评价盐制法炮制对地黄滋阴清热主要功效的增效作用。结果 模型引起了小鼠饮水量、肛温,以及血清T3、T4、cAMP、cAMP/cGMP比值、Na^+-K^+-ATP酶、$Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$酶的水平均显著升高($P<0.01$),冷热板趋热性显著下降($P<0.01$);地黄生品及其各盐制炮制品对模型引起的以上指标的异常均能够起到明显改善作用($P<0.05$或$P<0.01$),其中地黄盐制品的改善作用均优于其生品,且尤以盐闷冻干法炮制的地黄盐制品的作用为佳。结论 盐制法炮制能够对地黄滋阴清热的主要功效起到增效作用,其中尤以盐闷冻干法炮制对地黄主要功效的增效作用为佳。

关键词:盐制法;盐制地黄;滋阴清热;盐制增效
中图分类号:R285.1 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)03-0223-04

Exploration of Enhancing Effect of Salt Processing on Nourishing Yin and Clearing Heat Effects of Dihuang(Rehmanniae Radix)

LONG Bingyu[1],ZAHNG Yueyue[1],WANG Junming[1,2,3],WU Xiahui[1],HE Qingwen[1],LI Yamin[1],SONG Lingling[1]
(1. College of Pharmacy,Henan University of Chinese Medicine,Zhengzhou 450046,Henan,China;
2. Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases by Henan & Education Ministry of P. R. China,Henan University of Chinese Medicine,Zhengzhou 450046,Henan,China;
3. Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu Medicine,Henan Province,Zhengzhou 450046,Henan,China)

Abstract:*Objective* To exploring the enhancing effect of salt processing on the nourishing Yin and clearing heat effects of Dihuang(Rehmanniae Radix). *Methods* Based on the ancient records of salt preparation method and modern evolution,the salt-processed products of Dihuang(Rehmanniae Radix) were prepared. On this basis,a mouse model of Yin deficiency and internal heat induced by oral administration of levothyroxine sodium(160 mg·kg^{-1}),which was relatively recognized and widely used,was studied by observing the gross signs,water intake,anal temperature,thermotropism as well as serum triiodothyronine(T3),thyroxine(T4),cyclic adenosine monophosphate(cAMP),cyclic guanosine monophosphate(cGMP),Na^+-K^+-ATP(Sodium Potas) and other factors to comprehensively evaluate the synergistic effect of salt processing on the main efficacy of nourishing Yin and clearing heat in Dihuang(Rehmanniae Radix). *Results* The model caused a significant increase in water intake,anal temperature,serum levels of T3,T4,cAMP,cAMP/cGMP,$Na^+-K^+-ATPase$ and $Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase$ in mice($P<0.01$),and the thermalization of the hot and cold board was significantly reduced($P<0.01$). Raw Dihuang(Rehmanniae Radix) and its various salt-processed products can significantly improve the abnormalities in the above indicators caused by the model($P<0.05$ or $P<0.01$),among which the improvement effect of Dihuang(Rehmanniae Radix) salt-products was better than that of their raw products,and the effect of Dihuang(Rehmanniae Radix) salt-products processed by salt sealing freeze-drying method was particularly good. *Conclusion* The processing with salt can enhance the main effect of Dihuang(Rehmanniae Radix) in nourishing Yin and clearing heat. In particular,the enhancing effect of salt sealing freeze-drying processing method on the main effects of Dihuang(Rehmanniae Radix) is the best.

Keywords:processing with salt;salt-processed Dihuang(Rehmanniae Radix);nourishing Yin and clearing heat;enhancing effect of processing with salt

基金项目:河南省自然科学基金优势学科培育联合基金培育项目(222301420085)
作者简介:龙冰玉(1997-),女(回族),河南周口人,硕士在读,研究方向:中药药性药效机理及毒效相关性。
通讯作者:王君明(1980-),男,河南洛宁人,教授,博士研究生导师,博士后合作导师,博士,研究方向:中药药性药效机理及毒效相关性。E-mail:mjw98_2010@163.com。

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根，为著名的四大怀药之一，也是临床常用的滋阴清热中药之一。结合盐制法炮制具有能够增强中药滋阴清热功效的实例（如盐知母、盐黄柏），加之元·《世医得效方》[1]、明·《普济方》[2]、清·《玉楸药解》[3]等古籍中记载有盐制地黄炮制品，我们推测盐制法炮制有望能够增强地黄滋阴清热的主要功效。本研究在制备地黄盐制炮制品的基础上，以相对最为公认也是应用最为广泛的左旋甲状腺素钠[4-6]诱导的小鼠阴虚内热模型为载体，通过对与阴虚内热相关指标的检测分析，旨在首次综合评价盐制法炮制对地黄滋阴清热主要功效的增效作用，以期为盐制法炮制地黄的科学合理应用提供临床前初步的实验基础。

1 材料

1.1 动物

ICR 小鼠，雄性，SPF 级，体质量 16～18 g，购自济南朋悦实验动物繁育有限公司，动物许可证号 SCXK（鲁）20230002。本实验所有操作程序均严格按照中华人民共和国《实验动物使用和护理法》以及河南中医药大学实验动物研究所制定的指南进行，并经大学动物实验委员会批准，批准编号为 DWLL20220815，批准日期为 2022 年 8 月 31 日。

1.2 药物及试剂

生地黄饮片，产地河南省焦作市，批号：210201；六味地黄丸，北京同仁堂科技发展股份有限公司，批号：41022128；左甲状腺素钠片，默克制药（江苏）有限公司，批号：C10007400；未加碘盐，四川乐山联峰盐化有限责任公司，批号：GB/T 5461；三碘甲状腺原氨酸（Tri－iodothyronine，T3，批号：202303）、甲状腺素（Thyroxine，T4，批号：202303）、环磷酸腺苷（Cyclic adenosine monophosphate，cAMP，批号：202303）、环磷酸鸟苷（Cyclic guanosine monophosphate，cGMP，批号：202303）ELISA 检测试剂盒，均购自江苏酶免实业有限公司；超微量 ATP 酶（Sodium－Potassium Pump、Calcium pump、Adenosine 5’－triphosphate，Na^+-K^+、$Ca^{2+}-Mg^{2+}$、总）测试盒（批号：202303），购自南京建成生物工程研究所。

1.3 主要仪器

HX－1000A 型高速中药粉碎机（永康市溪岸五金药具厂），N－110 型旋转蒸发仪（上海爱朗仪器有限公司），FA2004B 型电子天平（上海佑科仪器仪表有限公司），AB1458 型分析天平（上海海康电子仪器厂），DK－8D 型水浴锅（上海精宏实验设备有限公司），TGL－16M 型高速冷冻离心机（常州金坛良友仪器有限公司），881Y－1 型远红外恒温干燥箱（吴江市华银烘箱制造厂），FDU－2200 冷冻干燥机（东京理化器械株式会社），EPOCH2NSC－SN 酶标仪，美国伯腾仪器有限公司，LRB003 型冷热板动物行为示差检测仪（北京圆融科技有限公司），DTCC8 型医用电子体温计（广州市北倍尔康医疗器械有限公司）。

2 方法

2.1 地黄盐制品的制备

取生地黄饮片适量（如 50 g），分别加浓度为 10% 的不含碘食盐水适量（10 mL/50 g）拌匀，闷润至药透水尽，无硬心，置预热炒制容器内，以文火加热，炒至近干，表面有焦斑时取出，放凉，即得地黄盐制品－1（盐炙地黄炮制品）。

取生地黄饮片适量（如 50 g），分别加浓度为 10% 的不含碘食盐水适量（10 mL/50 g）拌匀，闷润至药透水尽，无硬心，置 60 ℃烘箱内，烘至八成干，取出，放凉，即得地黄盐制品－2（盐闷烘干地黄炮制品）。

取生地黄饮片适量（如 50 g），分别加浓度为 10% 的不含碘食盐水适量（10 mL/50 g）拌匀，闷润至药透水尽，无硬心，于－80 ℃冰箱冷冻 24 h 后，置冷冻干燥机干燥，冻干至八成干，即得地黄盐制品－3（盐闷冻干地黄炮制品）。

经检测，地黄生品、地黄盐制品－1、地黄盐制品－2、地黄盐制品－3 中梓醇含量依次为 0.71%、0.52%、0.63%、0.89%[7]，地黄苷 D 含量依次为 0.20%、0.25%、0.21%、0.22%[7]，均符合 2020 版《中华人民共和国药典》对地黄中梓醇、地黄苷 D 含量的限量规定。

2.2 地黄生品及盐制品水提物的制备

取地黄生品、地黄盐制品－1、地黄盐制品－2、地黄盐制品－3 粗粉适量，分别加入 10 倍、8 倍量的蒸馏水，连续回流提取 2 次，每次 1 h，过滤，合并两次滤液，减压干燥，60 ℃烘箱烘干，即得地黄生品、地黄盐制品－1、地黄盐制品－2、地黄盐制品－3 的水提物，经计算，得率依次为 54.1%、55.0%、51.2%、57.2%。

2.3 动物实验处理过程

小鼠适应性饲养 7 d 后，按体质量被随机被分为 5 组，即正常对照组、模型组、地黄生品组、地黄盐制品－1 组、地黄盐制品－2 组、地黄盐制品－3 组，除正常组外，其余 5 组均灌胃给予相对较为公认的也是应用较多的左旋甲状腺素钠（160 $mg \cdot kg^{-1}$）[6]连续 14 d，1 次/d，以复制阴虚内热模型，以肛温升高、饮水量增加、趋热性下降为成模重要特征。地黄生品、地黄盐制品－1 组、地黄盐制品－2 组、地黄盐制品－3 组均灌服对应的水提物，剂量按生药计均为 3 $g \cdot kg^{-1}$，连续给药 14 d，1 次/d。末次给药后 1 h 先后进行肛温、冷热板对趋热性等测试，禁食 12 h 后摘眼球取血，分离血清，以供血清指标检测。

2.4 指标检测

2.4.1 相关体征大体观察 观察小鼠的日常表现，例如毛发状态、大便小便、精神、情绪变化以及尾巴颜色等，并记录第 14 天小鼠的饮水量、饮食量、体质量。

2.4.2 肛温测定 采用电子体温计测定肛温。测试时，将医用电子体温计金属头对准小鼠的肛门，轻轻缓慢地插入小鼠的肛门口，深度大概 1 cm，待温度稳定后读数，即为小鼠肛温。

2.4.3 趋热性测试 参考文献[8]，采用常用的冷热板法测试温度趋向性，本研究用趋热性表征温度趋向性。测试时，将小鼠放入冷热板上各通道内，通过冷热板智能化对寒热温区温度趋向性活动，获得动物的趋热性信息，趋热性＝高温区停留时间（s）/总监测时间（s）。

2.4.4 血清生化指标检测 末次给药结束后禁食 12 h，于第 15 天摘眼球取血，置于离心管中，室温下静置 2 h，4000 r·min^{-1}离心 10 min 分离血清，测定血清中 T3、T4、cAMP、cGMP 水平，Na^+-K^+－ATP 酶、$Ca^{2+}-Mg^{2+}$－ATP 酶水平，并计算 cAMP/cGMP 比值，具体操作按照试剂盒内说明书进行。

2.5 统计学处理

采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析，各组数据用平均值±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。组间比较采用单因素方差分析，方差齐时采用最小显著性差异法（LSD），方差不齐时采用 Dunnett’s *T*3 法，$P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 盐制炮制增强地黄滋阴清热功效的探索

3.1.1 对小鼠大体体征的影响 与正常对照组比较，给药 14 d 后，模型组小鼠表现出毛发枯槁，易反咬，乱蹦，不易抓取，大便干结，小便发黄等状态，且体质量下降，饮食量显著升高（$P<0.01$），阴虚内热症状明显。与模型组小鼠比较，给予地

黄生品及其盐制品 -1、盐制品 -2、盐制品 -3 的小鼠其毛发相对密集,精神状态较安稳些,且体质量明显上升,饮食量显著下降($P<0.01$)。与地黄生品比较,三种地黄盐制品对小鼠阴虚内热症状的改善作用增强。以上结果提示盐制后能增强地黄生品对阴虚内热症状的改善作用。

3.1.2 对小鼠饮水量、肛温、趋热性的影响 与正常对照组比较,模型组小鼠饮水量显著升高($P<0.01$),表现出明显的阴虚症状;肛温异常升高,趋热性显著降低($P<0.01$),表现异常活跃,跟"热证"的特点一致。与模型组小鼠比较,给予地黄生品及其盐制品 -1、盐制品 -2、盐制品 -3 的小鼠饮水量显著下降($P<0.01$),肛温下降,趋热性显著升高($P<0.01$)。与地黄生品组比较,三种地黄盐制品对能够进一步增强地黄生品对以上指标异常的改善作用($P<0.01$)。三种地黄盐制品互相比较,地黄盐制品 -3 在改善上述指标方面作用更明显($P<0.05$,$P<0.01$)。结果见表 1。

表 1 盐制炮制对小鼠饮水量、肛温、趋热性的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	剂量/(g·kg^{-1})	饮水量/(mL)	肛温/(℃)	趋热性
正常对照组	10	-	9.3±0.2	35.3±0.4	48.00±1.24
模型组	10	-	12.8±0.2$^{2)}$	38.8±0.7$^{2)}$	7.20±0.42$^{2)}$
地黄生品组	10	3	10.5±0.2$^{4)}$	36.5±0.8$^{3)}$	46.40±1.43$^{4)}$
地黄盐制品 -1 组	10	3	9.4±0.2$^{4)}$	34.0±1.4$^{4)5)}$	54.30±0.48$^{4)6)}$
地黄盐制品 -2 组	10	3	9.7±0.1$^{3)5)8)}$	35.8±0.8$^{3)7)}$	46.10±0.32$^{4)7)}$
地黄盐制品 -3 组	10	3	8.3±0.5$^{4)5)7)10)}$	32.7±0.7$^{4)6)8)10)}$	65.10±0.32$^{4)6)8)10)}$

注:2)与正常对照组比较,$P<0.01$;3)与模型组比较,$P<0.05$;4)与模型组比较,$P<0.01$;5)与地黄生品组比较,$P<0.05$;6)与地黄生品组比较,$P<0.01$;7)与地黄盐制品 -1 组比较,$P<0.05$;8)与地黄盐制品 -1 组比较,$P<0.01$;10)与地黄盐制品 -2 组比较,$P<0.01$。

3.1.3 对小鼠血清 T3、T4 水平的影响 与正常对照组比较,模型组小鼠血清 T3、T4 水平明显升高($P<0.01$)。与模型组比较,给予地黄生品及其盐制品 -1、盐制品 -2、盐制品 -3 的小鼠血清 T3、T4 水平显著下降($P<0.01$),并且地黄盐制品相较地黄生品对上述指标逆转作用更明显($P<0.01$)。三种地黄盐制品互相比较,地黄盐制品 -1 与地黄盐制品 -2 无显著差异($P>0.05$),但均显著低于地黄盐制品 -3($P<0.05$,$P<0.01$)。结果见表 2。

表 2 盐制炮制对小鼠血清 T3、T4 水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	剂量/(g·kg^{-1})	T3/(pg·mL^{-1})	T4/(ng·mL^{-1})
正常对照组	10	-	1 322.04±63.31	25.01±1.02$^{2)}$
模型组	10	-	1 436.28±7.27$^{2)}$	31.07±1.05$^{2)}$
地黄生品组	10	3	1 239.24±0.19$^{4)}$	28.26±1.49$^{3)}$
地黄盐制品 -1 组	10	3	1 088.46±0.27$^{4)6)}$	26.46±2.19$^{4)5)}$
地黄盐制品 -2 组	10	3	1 102.35±0.35$^{4)6)}$	27.40±0.92$^{4)}$
地黄盐制品 -3 组	10	3	937.07±0.21$^{4)6)8)9)}$	25.22±1.61$^{4)6)7)9)}$

注:2)与正常对照组比较,$P<0.01$;3)与模型组比较,$P<0.05$;4)与模型组比较,$P<0.01$;5)与地黄生品组比较,$P<0.05$;6)与地黄生品组比较,$P<0.01$;7)与地黄盐制品 -1 组比较,$P<0.05$;8)与地黄盐制品 -1 组比较,$P<0.01$;9)与地黄盐制品 -2 组比较,$P<0.05$。

3.1.4 对小鼠 cAMP、cGMP 水平和 cAMP/cGMP 比值的影响 与正常对照组比较,模型组小鼠血清 cGMP 水平明显下降,cAMP 水平和 cAMP/cGMP 比值明显升高($P<0.01$)。与模型组比较,给予地黄生品及其盐制品 -1、盐制品 -2、盐制品 -3 的小鼠血清 cGMP 水平明显升高,cAMP 和 cAMP/cGMP 比值显著下降($P<0.01$),并且地黄盐制品相较地黄生品对上述指标的逆转作用显著($P<0.05$,$P<0.01$)。三种地黄盐制品互相比较,地黄盐制品 -1 与地黄盐制品 -2 无显著差异($P>0.05$)但均显著低于地黄盐制品 -3($P<0.05$,$P<0.01$)。结果见表 3。

表 3 盐制炮制对小鼠血清 cAMP、cGMP 水平和 cAMP/cGMP 比值的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	剂量/(g·kg^{-1})	cAMP/(ng·mL^{-1})	cGMP/(ng·mL^{-1})	cAMP/cGMP
正常对照组	10	-	8.23±0.17	12.10±0.04	0.68±0.03
模型组	10	-	9.41±0.23$^{2)}$	10.46±0.07$^{2)}$	0.90±0.00$^{2)}$
地黄生品组	10	3	8.73±0.20$^{4)}$	11.05±0.28$^{4)}$	0.79±0.04$^{4)}$
地黄盐制品 -1 组	10	3	7.86±0.34$^{4)6)}$	10.48±0.15$^{4)6)}$	0.75±0.07$^{4)5)}$
地黄盐制品 -2 组	10	3	8.26±0.34$^{4)5)7)}$	10.87±0.03$^{4)5)7)}$	0.76±0.05$^{4)5)}$
地黄盐制品 -3 组	10	3	7.16±0.35$^{4)6)8)10)}$	10.08±0.23$^{4)6)9)}$	0.71±0.08$^{4)6)7)9)}$

注:2)与正常对照组比较,$P<0.01$;4)与模型组比较,$P<0.01$;5)与地黄生品组比较,$P<0.05$;6)与地黄生品组比较,$P<0.01$;7)与地黄盐制品 -1 组比较,$P<0.05$;8)与地黄盐制品 -1 组比较,$P<0.01$;9)与地黄盐制品 -2 组比较,$P<0.05$;10)与地黄盐制品 -2 组比较,$P<0.01$。

3.1.5 对小鼠 Na^+-K^+-ATP 酶、$Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶水平的影响 与正常对照组比较,模型组小鼠血清 Na^+-K^+-ATP 酶、$Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,给予地黄生品及其盐制品 -1、盐制品 -2、盐制品 -3 的小鼠血清 Na^+-K^+-ATP 酶、$Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶水平显著下降($P<0.01$),并且盐制地黄炮制品相较地黄生品对上述指标的逆转作用显著($P<0.05$,$P<0.01$)。三种地黄盐制品互相比较,地黄盐制品 -1 与地黄盐制品 -2 无显著差异($P>0.05$)但均显著低于地黄盐制品 -3($P<0.05$,$P<0.01$)。结果见表 4。

表 4 盐制炮制对小鼠血清 Na^+-K^+-ATP 酶、$Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	剂量/(g·kg^{-1})	Na^+-K^+-ATP 酶/(U·mg^{-1})	$Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶/(U·mg^{-1})
正常对照组	10	-	0.26±0.07	0.12±0.02
模型组	10	-	0.46±0.06$^{2)}$	0.30±0.06$^{2)}$
地黄生品组	10	3	0.43±0.02$^{3)}$	0.27±0.03$^{4)}$
地黄盐制品 -1 组	10	3	0.37±0.07$^{4)6)}$	0.20±0.03$^{4)6)}$
地黄盐制品 -2 组	10	3	0.38±0.05$^{4)6)}$	0.20±0.04$^{4)6)}$
地黄盐制品 -3 组	10	3	0.35±0.08$^{4)6)7)10)}$	0.19±0.03$^{4)6)7)9)}$

注:2)与正常对照组比较,$P<0.01$;3)与模型组比较,$P<0.05$;4)与模型组比较,$P<0.01$;6)与地黄生品组比较,$P<0.01$;7)与地黄盐制品 -1 组比较,$P<0.05$;9)与地黄盐制品 -2 组比较,$P<0.05$;10)与地黄盐制品 -2 组比较,$P<0.01$。

4 讨论

如前文所述,盐制法炮制具有能够增强中药滋阴清热功效的实例(如盐知母、盐黄柏),加之元·《世医得效方》、明·《普济方》、清·《玉楸药解》等古籍又有盐制地黄的记载,本研究首次探索了盐制法对地黄滋阴清热主要功效的影响,初步证实了盐制法炮制能够增强地黄的滋阴清热功效,其中尤以现代演变的盐制法(盐闷冻干炮制法)制备的盐制地黄炮制品的增效作用为佳。

阴虚内热常表现为甲状腺亢进,兴奋中枢神经系统,出现紧张、烦躁、亢奋等状态[9-10]。故本实验采用相对最为公认的应用最广的左旋甲状腺素钠(160 mg·kg^{-1})灌胃复制符合中医临床辨证的阴虚内热模型小鼠,造模 14 d 后,模型小鼠表现出毛发枯槁,易反咬,乱蹦,不易抓取,大便干结,小便发黄等状态,且体质量下降,饮食量显著升高($P<0.01$),阴虚内热症状明显。给予地黄生品及其盐制品 -1、盐制品 -2、盐制品 -3 后上述阴虚内热症状得到改善,给予盐制品的各组小鼠状态更安稳些,可以初步表明盐制炮制增强地黄滋阴清热功效。

中医认为阴虚内热多因机体内阴液亏虚,水不制火,致使阳气亢盛,机体代谢加快,产热增加,从而导致虚热内生的发

热[11]。大量的研究表明[12-14],饮水量是阴虚证检测的指标之一。通过检测肛温变化和冷热板温度趋向性可以反映动物机体的寒热变化[15]。本实验模型小鼠饮水量显著升高($P<0.01$),表现出明显的阴虚症状;肛温异常升高,趋热性显著降低($P<0.01$),表现出明显的内热症状。给予地黄生品及盐制品-1、盐制品-2、盐制品-3后上述阴虚内热症状得到改善,达到滋阴清热的目的。3种地黄盐制品对上述指标的改善作用优于地黄生品,且地黄盐制品-3对阴虚内热症状的改善作用显著优于地黄盐制品-1、地黄盐制品-2($P<0.05$,$P<0.01$),即盐制炮制能增强地黄生品的滋阴清热作用,3种盐制法尤以盐闷冻干法炮制为佳。

肾阴虚证往往表现为甲状腺轴(HPT)功能失调与下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)功能紊乱[16-17]。T3、T4作为甲状腺系统中的重要指标,是评价阴虚证模型常用的检测指标之一[18-19]。本实验模型小鼠血清T3、T4水平明显升高($P<0.01$)。给予地黄生品及其盐制品-1、盐制品-2、盐制品-3后,均能逆转阴虚内热小鼠血清T3、T4水平的异常变化,达到滋阴目的。3种地黄盐制品对上述指标的逆转作用优于地黄生品,且地黄盐制品-3逆转作用显著优于地黄盐制品-1、地黄盐制品-2($P<0.05$,$P<0.01$),即盐制炮制能增强地黄生品的滋阴作用,3种盐制法尤以盐闷冻干法炮制为佳。

血液中的cAMP、cGMP水平和cAMP/cGMP比值常作肾阴虚证动物模型建立的评判标准[20-21]。本实验模型组小鼠血清cGMP水平明显下降,cAMP水平和cAMP/cGMP比值明显升高($P<0.01$)。给予地黄生品及盐制品-1、盐制品-2、盐制品-3后可逆转上述指标的异常变化,达到滋阴目的。三种地黄盐制品对上述指标的逆转作用优于地黄生品,且地黄盐制品-3逆转作用显著优于地黄盐制品-1、地黄盐制品-2($P<0.05$,$P<0.01$),即盐制炮制均能进一步增强地黄生品的滋阴作用,三种盐制法尤以盐闷冻干法炮制为佳。

目前大量研究表明,阴虚内热小鼠的症状与能量[22]、代谢[23]、内分泌[24-25]以及环核苷酸的水平[26-27]相关。ATP酶是反映机体能量代谢的可靠指标之一,虚热证表现出ATP酶活性增高[28]。本实验结果也表明模型组小鼠血清Na^+-K^+-ATP酶、$Ca^{2+}-Mg^{2+}$-ATP酶水平显著升高($P<0.01$),热证明显。给予地黄生品及其盐制品-1、盐制品-2、盐制品-3后可逆转上述指标的异常变化,达到清热目的。三种地黄盐制品对上述指标的逆转作用优于地黄生品,且地黄盐制品-3逆转作用显著优于地黄盐制品-1、地黄盐制品-2($P<0.05$,$P<0.01$),即盐制炮制均能进一步增强地黄生品的清热作用,三种盐制法尤以盐闷冻干法炮制为佳。

综上,本研究在盐制法炮制具有能够增强中药滋阴清热功效的实例以及古籍又有盐制地黄的记载的基础上,首次探索了盐制法对地黄滋阴清热主要功效的影响,初步证实了盐制法炮制能够增强地黄的滋阴清热功效,其中尤以现代演变的盐制法(盐闷冻干炮制法)制备的盐制地黄炮制品的增效作用为佳。本研究为盐制法炮制地黄的科学合理应用提供了临床前的实验支撑。

参考文献

[1] 世医得效方[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:348.
[2] 普济方[M]. 北京:人民卫生出版社,1983:300.
[3] 玉楸药解[M]. 北京:人民卫生出版社,2015:76.
[4] 王赛,白明,苗明三. 阴虚证动物模型诊断指标及分析[J]. 中国比较医学杂志,2021,31(1):132-137.
[5] 白茹,刘欣欣,李凤金,等. 阴虚证动物模型的造模方法[J]. 中华中医药学刊,2020,38(2):69-71.
[6] 王志鑫,崔艳艳,宋婷婷,等. 三种肾阴虚证动物模型造模方法比较研究[J]. 山东中医药大学学报,2023,47(3):323-329..
[7] 龙冰玉,张月月,王君明,等. 基于主要质控成分含量分析并结合古籍记载和现代演变的生地黄特色炮制评价[J]. 时珍国医国药,2024,35(4):887-891.
[8] 冯静,李玲玲,崔瑛. 茯苓对阴虚水肿模型大鼠及其热象的影响[J]. 中草药,2023,54(2):586-592.
[9] 梁瑞峰,葛文静,宋献美,等. 玉女煎加减牛膝对阴虚内热型糖尿病大鼠糖脂代谢、炎症反应的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2024,30(2):46-55.
[10] 李晗,高云航,宋玲,等. 龟苓膏对阴虚火旺模型大鼠的滋阴泻火作用研究[J]. 广西中医药大学学报,2022,25(5):4-9.
[11] 杨德富,李七一. 李七一运用清热法治疗汗证之经验[J]. 江苏中医药,2024,56(2):18-20.
[12] 孙晓霞,任威铭,崔荣兴,等. 阴虚证动物模型的建立与评价[J]. 中医杂志,2021,62(13):1156-1163.
[13] 王祥山,朱映黎,吕美豫,等. 鹿鞭对肾阴虚及肾阳虚小鼠抗疲劳作用及PI3K-Akt通路机制研究[J]. 中国中药杂志,2023,48(11):3032-3038.
[14] 张芳芳. 地黄不同炮制品对阴虚动物的影响研究[D]. 济南:山东大学,2019.
[15] 贾荣娣,汪华君,蒋俊,等. 基于动物温度趋向行为学的吴茱萸多组分寒热药性差异研究[J]. 南京中医药大学学报,2020,36(1):63-67.
[16] 徐晓敏,卢芳,张莹,等. 基于物质与能量代谢探讨玄参水提物治疗肾阴虚水肿大鼠的"滋阴、利水"功效内涵[J]. 药物评价研究,2023,46(10):2126-2138.
[17] 严林,欧则民,王艳静,等. 泽泻及其炮制品对肾阴虚水肿模型大鼠的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(24):42-49.
[18] 乐娜,侯燕,张建军,等. 霍山石斛不同提取物对肾阴虚证和肾阳虚证小鼠温度趋向性、环核苷酸及甲状腺激素的影响[J]. 中华中医药杂志,2021,36(2):705-710.
[19] 赵佳慧,葛修通,任文静,等. 黄柏盐炙前后对肾阴虚大鼠肠道菌群的影响[J]. 药学研究,2023,42(9):641-647.
[20] 叶雪珂,单国顺,付郁,等. 靶向代谢组学联合16SrRNA基因测序分析地黄炮制前后对肾阴虚证大鼠肠道菌群的影响[J]. 中药新药与临床药理,2023,34(12):1700-1712.
[21] 毕莹,尚坤. 女贞子不同炮制品对肾阴虚大鼠内分泌系统的影响[J]. 时珍国医国药,2020,31(9):2140-2142.
[22] BANDTLOW C E. Regeneration in the central nervous system[J]. Exp Gerontol,2003,38(1-2):79-86.
[23] GONG P Y,HE Y W,QI J,et al. Synergistic nourishing 'Yin' effect of iridoid and phenylpropanoid glycosides from Radix Scrophulariae in vivo and in vitro[J]. J Ethnopharmacol,2020,246(10):112209.
[24] GAMBERT S R. Effect of age on basal and 3,5,3 triiodothyronine (T3) stimulated human mononuclear cell sodium-potassium adenosine-triphosphatase(Na+-K+-ATPase) activity[J]. Horm Metab Res,1986,18(9):649-650.
[25] TEIXEIRA PFDS,DOS SANTOS P B,PAZOS-MOURA C C. The role of thyroid hormone in metabolism and metabolic syndrome[J]. Ther Adv Endocrinol Metab,2020,13(11):1-33.
[26] 李连珍,刘小青,张倩,等. 辛热药小复方对大鼠物质代谢及第二信使影响的动态研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):154-156.
[27] 李璐,梁永林,安冬,等. 基于"阳中求阴"理论研究左归丸对肾阴虚证能量代谢的影响[J]. 中医药信息,2021,38(3):35-39.
[28] 李慧璇,吕智豪,覃景春,等. 寒证和热证动物模型的建立方法及评价[J]. 中药药理与临床,2020,36(1):222-227.