

計畫編號：CCMP89-RD-032

行政院衛生署中醫藥委員會八十八年下半年及八十九年度
委託研究計畫成果報告

小柴胡湯對急性熱中暑大鼠體溫調節作用 與相關生理參數變化之影響

執行機構：中國醫藥學院

計畫主持人：闕甫仔

研究人員：邵立珠、闕甫仁

執行期限：88年7月1日至89年6月30日

＊＊ 本研究報告僅供參考，不代表本會意見 ＊＊

表 7. 小柴胡湯全方 (XCHT) 對麻醉下急性熱中暑大鼠下視丘 serotonin 及 dopamine 濃度變化之影響：

Treatment	DA	5-HT
	% baseline	
Normothermic control rats		
0.9% Saline i.p.		
65 min before testing	100.0±5.9	100.0±21.0
20 min after testing	94.4±4.1	83.0±19.3
Heat stroke rats		
Vehicle i.p.		
65 min before HS	105.5±8.4	108.4±9.0
At onset of HS	187.2±15.0*	380.4±30.2*
20 min after HS	268.8±20.1**	2795.3±56.8***
XCHT 0.25 g/kg i.p.		
65 min before HS	99.3±14.6	110.7±14.6
At onset of HS	118.4±18.3 [#]	275.6±33.1 [#]
20 min after HS	155.0±20.8 [#]	1240.5±7.6 ^{***#}

HS indicates heat stroke; DA, dopamine; 5-HT, serotonin. The values are mean±SEM of 5 rats. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, significantly different from control values (normothermia control group), ANOVA. [#]P<0.05, ^{##} P<0.01, significantly different from control values (heat stroke-vehicle group), ANOVA.

目 錄

摘 要

中文摘要.....	1
英文摘要.....	2

目 次

前 言.....	3
材料與方法.....	6
結 果.....	13
討 論.....	15
結論與建議.....	19
參考文獻.....	20
中醫藥委員會八十八年度委辦研究計畫成果報告自我評估表.....	32

表目錄

表 1. 小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡之萃取率.....	25
表 2. 小柴胡湯全方 (XCHT)、柴胡單味 (CH) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH) 對室溫下正常大鼠體溫變化之影響.....	26
表 3. 小柴胡湯全方 (XCHT)、柴胡單味 (CH) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH) 對室溫下 lipopolysaccharide (LPS) 誘發發燒大鼠體溫變化之影響.....	27
表 4. 小柴胡湯全方 (XCHT)、柴胡單味 (CH) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH) 對室溫下 interleukin-1 β (IL-1 β) 誘發發燒大鼠體溫變化之影響.....	28
表 5. 小柴胡湯全方 (XCHT)、柴胡單味 (CH) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH) 對室溫下 prostaglandin E2 (PGE2) 誘發發燒大鼠體溫變化之影響.....	29
表 6. 小柴胡湯全方 (XCHT)、柴胡單味 (CH) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH) 對急性熱中暑大鼠中暑 (onset) 及存活 (survival time) 時間之影響.....	30
表 7. 小柴胡湯全方 (XCHT) 對麻醉下急性熱中暑大鼠下視丘 serotonin 及 dopamine 濃度變化之影響.....	31

計畫編號：CCMP89-RD-032

小柴胡湯對急性熱中暑大鼠體溫調節作用與相關生理參數變化之影響

關甫仔

中國醫藥學院

摘要

小柴胡湯 (Xiao-Chai-Hu-Tang; XCHT) 出典於傷寒論，由柴胡、黃芩、人參、半夏、炙甘草、生薑與大棗等七味藥物所組成，中醫臨床上常用來治療發熱、流行性感冒、胃炎、肝炎、膽囊炎及腎炎等症。現代藥理學研究亦顯示小柴胡湯具保肝、調節機體免疫機能、抗發炎及降血壓等作用；此外，小柴胡湯對正常家兔雖不具降溫作用，但對傷寒副傷寒混合菌誘發發熱家兔具明顯之解熱作用。因此，本研究乃利用急性熱中暑大鼠之實驗動物模式，評估小柴胡湯對於急性熱中暑大鼠之血壓、心跳、肛溫及存活時間 (survival time) 等相關生理參數之影響與療效，並進一步測定小柴胡湯對下視丘 serotonin 與 dopamine 濃度變化之影響，以及致熱原 LPS、IL-1 β 、PGE₂ 誘發發熱之動物模式之解熱作用，以探討小柴胡湯對大鼠體溫調節作用之作用機轉。

實驗結果顯示，小柴胡湯具明顯之解熱降溫作用，且具劑量依存性，其解熱作用之作用機轉可能與抑制 LPS 所誘發之內生性熱原 IL-1 β 與 PGE₂ 二者之活性有關。小柴胡湯亦具預防熱中暑之作用，而其作用機轉則可能與抑制下視丘 serotonin 與 dopamine 之濃度有關；且此二作用仍以小柴胡湯全方效果最強，而柴胡應為小柴胡湯解熱作用之主要來源。

關鍵詞：小柴胡湯，急性熱中暑，體溫調節

CCMP89-RD-032

**Effects of Xiao-Chai-Hu-Tang on the
Thermoregulatory and Physiological Parameters
During Onset of Acute Heatstroke in Rats**

Chueh Fu-Yu

China Medical College

ABSTRACT

Xiao-Chai-Hu-Tang (XCHT), was made up of Bupleuri Radix, Suctellariae Radix, Ginseng Radix, Pinelliae Tuber, Glycyrrhizae Radix, Zingiberis Rhizoma Recens and Zizyphi Fructus, was used as a febrile prescription by the traditional Chinese physicians. It was firstly described in Shang-Han-Lun, an ancient Chinese medical book, to cure infection-induced fever. It was reported to have sedation, anti-inflammation, anti-tumor, anti-epilepsy, anti-hypertension, anti-agglutination and antipyretic effects. The purpose of the present study was intended to investigate the thermoregulatory mechanism of XCHT, Bupleuri Radix (Chai-Hu; CH) and XCHT-CH (XCHT except CH) on pyrogenic fever and heat stroke in rats.

In unanesthetized rats, intraperitoneal administration of XCHT, CH and XCHT-CH caused a dose-related fall in colonic temperature at room temperature (24°C). The fever induced by lipopolysaccharide (100µg/kg, intraperitoneal injection) or interleukin-1β (10ng, lateral cerebral ventricle injection) was attenuated by treatment with XCHT, CH and XCHT-CH in unanesthetized rats. Only XCHT and CH could inhibit the fever induced by PGE₂ (100µg, i.c.v.) in unanesthetized rats. The onset and survival time was prolonged and the hypothalamic serotonin and dopamine concentration were inhibited by XCHT pretreatment on the rats with heatstroke. In conclusion, XCHT exerts its anti-heatstroke and antipyretic effects mainly through the central nervous IL-1β, PGE₂, serotonergic and dopaminergic mechanism.

Keywords : Xiao-Chai-Hu-Tang, Heatstroke, Thermoregulatory

壹、前言

發燒 (fever) 一般是指體溫不正常的升高，為人體生病時最常發生之反應。通常發燒是人體正常功能的表現，當受到外來物的侵入時，體內就會產生一連串的抵抗反應，進而引起發燒。臨床上，一些感染的疾病如：神經性梅毒 (neurosyphilis)、慢性關節炎及癌症等，發燒有助於體內對這些疾病的抵抗 (增加體內免疫系統活性)；然而過高或過久之發燒對於人體尤其是腦神經往往會造成無法彌補的傷害⁽¹⁾；因此適時適量的給予解熱劑，在臨床上是有其必要性。

我國傳統醫學之“熱証”並不等於“發燒”，凡發熱及不發熱的一些“熱象”均屬“熱証”；又分為表熱和裏熱，表熱宜用解表藥，裏熱則需用清熱藥，其範圍更廣泛且複雜。但一般所謂“發燒”之患者辨証大多仍屬“熱証”。因此，“解熱”作用 仍是清熱瀉火、清熱解毒、清熱燥濕及清虛熱或暑熱等清熱與解表藥物或方劑於中藥藥理研究上常用的指標之一⁽²⁾。

小柴胡湯 (Xiao-Chai-Hu-Tang; XCHT) 出典於傷寒論，由柴胡 (Bupleuri Radix)、黃芩 (Suctellariae Radix)、人參 (Ginseng Radix)、半夏 (Pinelliae Tuber)、炙甘草 (Glycyrrhizae Radix)、生薑 (Zingiberis Rhizoma Recens) 與大棗 (Zizyphi Fructus) 等七味藥物所組成，方中柴胡透達少陽半表之邪為君，黃芩清泄少陽半裏之熱為臣，配半夏、生薑以和胃降逆，伍人參、草、棗以扶正達邪為佐使，且薑、棗相配，可調和營衛，通行津液^(3,4)。主和解少陽，扶正祛邪，和胃降逆⁽⁵⁾。中醫臨床上常用來治療發熱、流行性感冒、肺結核、支氣管炎、胃炎、肝炎、膽囊炎及腎炎等症⁽⁶⁾。現代藥理學研究顯亦示小柴胡湯對藥物或酒精等實驗性肝損害具保護作用⁽⁷⁻⁹⁾、調節機體免疫機能^(10,11)、抗病原體⁽¹²⁾、抗發炎⁽¹³⁻¹⁵⁾、興奮垂體—腎上腺功能^(16,17)、鎮靜⁽¹⁸⁾、抗癲癇⁽¹⁹⁾及抗腫瘤^(20,21)、抑制胃酸分泌^(22,23)等作用；此外，

小柴胡湯對正常家兔雖不具降溫作用⁽²⁴⁾，但對傷寒副傷寒混合菌誘發發熱家兔具明顯之解熱作用⁽²⁵⁾；在心血管方面小柴胡湯對膠原誘發之血小板凝集作用及實驗性高血脂動物具抗血小板凝集⁽²⁶⁾、降血壓及降低血液黏稠度、改善血液流變性之作用^(27,28)，亦有研究指出小柴胡湯對正常動物之血壓、心跳、血液黏度、血小板凝集及出血時間則無影響⁽²⁹⁾，可能具雙向調節之作用⁽³⁰⁾。因此，本研究首先乃利用正常大鼠或外生性致熱原 (exogenous pyrogens) lipopolysaccharide (簡稱為LPS, 又稱細菌內毒素 (bacterial endotoxin)) 和主要內生性熱原 (endogenous pyrogens) IL-1 β 、PGE₂ 等誘發發熱之動物模式，探討小柴胡湯全方 (XCHT)、柴胡單味 (CH) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH) 於室溫下解熱降溫作用之機轉，以及柴胡在此作用中扮演之角色。

熱中暑 (heatstroke) 一般是指過多熱量聚積體內發散不良而引起全身各個器官功能障礙之症狀⁽³¹⁾。動物長期暴露於高溫之環境下，當熱量之產生超過熱量之散失時，會導至高溫、過度換氣現象，使得動脈中大量二氧化碳喪失，血液之酸鹼失調；體溫不斷增高，造成各器官組織嚴重受傷，或是熱刺激增加靜脈壓和週邊血管擴張、心跳加速，進而造成心衰竭，血壓下降（亦即熱中暑產生），各器官血流不足，腎、肝、肺、肌肉等組織壞死；其中循環之改變以及直接高溫傷害腦組織，會導致腦血管充血、腦水腫和其他神經傷害。而腦水腫和腦充血則會引起顱內壓增加⁽³²⁾。平均血壓下降和顱內壓增加，則會使腦通流壓 (cerebral perfusion pressure) 減少，進而造成腦血流量減少或腦缺血，並促使下視丘 IL-1 β 、5-HT 和 DA 濃度的增加，中樞神經系統受到傷害，一系列複雜之作用導致熱中暑病症於焉產生，甚或死亡^(32,33)。

臺灣地處亞熱帶，夏季高溫多雨，加上全球性之溫室效應，更

使得氣溫連創新高，中暑患者日益增加，輕則影響日常生活與工作，重則導致死亡，不可不慎。一般而言，熱中暑之治療仍以急速降低體溫、支持心血管循環系統或減少中樞神經傷害等對症療法為主，惟死亡率仍高⁽³¹⁾；我國傳統中醫藥對於熱中暑之治療則以解熱利尿為主，強調預防勝於治療。因此本研究最後擬針對探討小柴胡湯全方 (XCHT)、柴胡單味 (CH) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH) 於室溫下預防急性熱中暑大鼠之療效進行評估，俾有助於開發中藥之新用途。

貳、材料與方法

一、實驗試劑

1. Serotonin, Dopamine, Sodium 1-octanesulfonate (SOS, C8), Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), Urethane, Heparin, Ascorbic acid; (Sigma)。
2. Interleukin-1 β ; (R&D)。
3. Acetonitrile (ACN), Methanol (MeOH), Hydrochloric acid (HCl); (E. Merk)。
4. Sodium pentobarbital; (東京化成工業株式會社)。
5. 小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡藥物之製備：

將柴胡 (Bupleuri Radix)、黃芩 (Suctellariae Radix)、人參 (Ginseng Radix)、半夏 (Pinelliae Tuber)、炙甘草 (Glycyrrhizae Radix)、生薑 (Zingiberis Rhizoma Recens) 與大棗 (Zizyphi Fructus) 等七味藥材，皆購自台中市興隆藥材行，以 4 : 3 : 2 : 3 : 2 : 3 : 2 (1200g : 900g : 900g : 900g : 600g : 900g : 600g) 之比例，以50%酒精浸潤之，在50°C下迴流抽取，每次約4小時，用紗布過濾，收集濾液，如此反覆3次，合併濾液，再經減壓濃縮至乾，即得小柴胡湯全方提取物 (XCHT) 備用。

柴胡單味 (CH) 及小柴胡湯去柴胡 (比例同上; XCHT-CH) 抽取方法同上。

二、小柴胡湯組成藥材之基原鑑定

本研究所使用藥材之基原經本所 (中國醫藥學院 中國藥學

研究所) 陳所長忠川教授鑑定如下：

1. 柴胡 (Bupleuri Radix)：為傘形科植物柴胡 *Bupleurum chinese* DC. 之乾燥根。
2. 黃芩 (Scutellariae Radix)：為唇形科植物黃芩 *Scutellaria baicalensis* GEORGI. 之乾燥根。
3. 人參 (Ginseng Radix)：為五加科植物人參 *Panax ginseng* C. A. MEY. 之乾燥根。
4. 半夏 (Pinelliae Tuber)：為天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (THUNB.) BREIT. 之塊莖。
5. 炙甘草 (Glycyrrhizae Radix)：為豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* FISCH 之根或根狀莖。
6. 生薑 (Zingiberis Rhizoma Recens)：為薑科植物薑 *Zingiber officinale* ROSCOE 之鮮品根莖。
7. 大棗 (Zizyphi Fructus)：為鼠李科植物大棗 *Zizyphus vulgaris* LAMARCK var. *inermis* BUNGE 之乾燥成熟果實。

三、實驗動物

本實驗採用 Sprague-Dawley (S.D.)大鼠，均選用雄性，體重約為 200-280 g，4-5 隻一籠，飼養室溫度維持 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照與黑暗各為 12 小時 (06:00 亮燈，18:00 關燈)，飲水及飼料均不加以限制，全部實驗皆在白天燈亮情形下進行。

四、實驗方法

1. 大鼠之訓練與肛溫之測量方法：

將大鼠固定於老鼠固定架上訓練 4 至 7 天使大鼠習慣於固定架上不動，選擇較適應之大鼠置於恆溫箱（24 °C）中，以一外包 PE-200 的 copper-constantan 熱電偶線插入大鼠肛門內約 6 公分，另一端連接至溫度記錄器（portable hybrid recorder, Yokogawa Hokushin Electric, Japan）測量並記錄大鼠之直腸溫度（肛溫）。

2. 室溫下對正常清醒大鼠肛溫變化之影響：

選擇上述較適應之大鼠，將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱（24 °C）中，依方法1，測量並記錄大鼠之肛溫，待溫度穩定後，腹腔分別給予小柴胡湯全方 (XCHT; 0.1-2 g/kg, i.p.)、柴胡單味 (CH; 0.05-1 g/kg, i.p.) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH; 0.1-2 g/kg, i.p.) 抽取物，觀察並記錄 4 小時，對照組投與同體積之 vehicle。

3. 對室溫下 Lipopolysaccharide (LPS) 誘發高溫大鼠體溫變化之影響

依方法1，訓練並選擇較適應之大鼠，將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱（24±1°C）中，依方法1，測量並記錄大鼠之肛溫，待溫度穩定後，給予 LPS（100 µg/kg, i.p.）誘發高溫，10 分鐘後，腹腔分別給予小柴胡湯全方 (XCHT; 0.05-1 g/kg, i.p.)、柴胡單味 (CH; 0.05-1 g/kg, i.p.) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH; 0.1-1 g/kg, i.p.)，繼續觀察並記錄大鼠之直腸溫度變化 4 小時；對照組投與同體積同給藥途徑之 vehicle。

4. 大鼠腦內給藥管之安裝技術

依方法1，訓練並選擇較適應之大鼠以 sodium pentobarbital (45 mg/kg; i.p.) 麻醉，並以恆溫板維持其體溫於 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，利用定位圖譜，定出側腦室 (lateral ventricle; LV) 的座標 (LV：函門往後 0.08 cm，左側或是右側移動 0.15 cm，深 0.35-0.4 cm)，準確地將給藥管管置入，並以牙粉將其與二螺絲固定於大鼠頭上，給予 0.2ml procaine penicillin G (200 IU/ml/day; i.m.) 三天，以預防感染。手術後，第三天恢復上架訓練，一星期後即開始正式實驗。

5. 對 Interleukin-1 β (IL-1 β) 誘發高溫清醒大鼠肛溫之影響：

選擇上述較適應之大鼠，將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱 (24 $^{\circ}\text{C}$) 中，依方法1，測量並記錄大鼠之肛溫，待溫度穩定後，側腦室給予 interleukin-1 β (10ng/rat) 誘發高溫，120 分鐘後，腹腔分別給予小柴胡湯全方 (XCHT; 0.05-1 g/kg, i.p.)、柴胡單味 (CH; 0.05-1 g/kg, i.p.) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH; 0.05-1 g/kg, i.p.)，繼續觀察並記錄大鼠之直腸溫度變化 4 小時；對照組投與同體積之 vehicle。

6. 對 Prostaglandin E₂ (PGE₂) 誘發大鼠發燒溫度變化之影響

將大鼠固定於大鼠固定架上置於恆溫箱中，依方法一，測量並記錄大鼠之肛溫，待溫度穩定後，腹腔分別給予小柴胡湯全方 (XCHT; 0.1-2 g/kg, i.p.)、柴胡單味 (CH; 0.05-1 g/kg, i.p.) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH; 0.1-2 g/kg, i.p.) 60 分鐘後側腦室給予

PGE₂ (100µg/10µl) 誘發高溫，繼續觀察並記錄大鼠之直腸溫度變化 4 小時；對照組投與同體積之 vehicle。

7. 室溫下對麻醉大鼠血壓和心跳之影響：

將 S.D. 大鼠以 urethane (1.4 g/kg, ip) 麻醉後，固定四肢使之仰躺於手術盤上，將鼠蹊部皮膚剪開一小口，並用止血鉗將肌肉層撐開使股動脈及股靜脈顯現，將動、靜脈分別分離出，血管上端以動脈夾夾緊，下端則以3號縫線綁緊，於動脈夾下端之股動脈剪一“<”型小口，再將充滿肝素溶液 (heparin solution, 30 units/ml) 之導管 (PE-50)，沿著“<”型小口插入股動脈血管中，放開動脈夾，以細縫線綁緊固定之；實驗時將此導管利用三向接頭 (three-way stopcock) 與壓力轉換器 (Bridge Amp, ADInstruments) 連接，電腦化血壓計記錄器 (MacLab/4e, Version 3.5, MacLab System, ADInstruments) 直接記錄動脈血壓，並再將此血壓訊號換算成平均動脈血壓與平均心跳，分別記錄。重覆股動脈插管之技術，將含有生理食鹽水溶液或肝素溶液之導管(PE-50) 插入股靜脈，以備靜脈注射藥物之需。

手術後，以恆溫板控制大鼠肛溫在 37±1°C 左右，待血壓、心跳穩定後，腹腔分別給予小柴胡湯全方 (XCHT; 0.05-2 g/kg, i.p.)、柴胡單味 (CH; 0.025-0.5 g/kg, i.p.) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH; 0.05-0.5 g/kg, i.p.)，觀察並記錄其對血壓、平均血壓與平均心跳之影響；對照組投與同體積之 vehicle。

8. 對麻醉下急性熱中暑大鼠之影響：

同方法7，將雄性 S.D. 大鼠以 urethane (1.4g/kg; i.p.) 麻醉，進行股動脈插管手術，以電腦化血壓計記錄器 (MacLab System) 記

錄血壓、平均動脈壓及心跳。另外以一外包PE-200的Copper-constantan熱電偶線插入動物直腸約6-7公分，另一端連接到溫度記錄器，測量並記錄直腸溫度。準備工作完成後，將大白鼠放入可調控之恆溫箱 (Model IB-81; YAMATA)，箱內溫度先維持於24°C，使大鼠適應一段時間（至少一小時以上），待穩定後，腹腔分別給予小柴胡湯全方 (XCHT; 0.05-2 g/kg, i.p.)、柴胡單味 (CH; 0.025-0.5 g/kg, i.p.) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH; 0.05-0.5 g/kg, i.p.)，並將恆溫箱溫度上升固定於 42°C，觀察大鼠血壓，心跳及肛溫變化，當直腸溫度上升達42°C左右、平均動脈壓急劇下降時，視為中暑發生（大約1小時左右），此時將恆溫箱門打開，使恆溫箱內溫度降至24°C，觀察並記錄一切參數變化及存活時間（survival time；熱中暑發生至死亡之時間）；對照組投與同體積之 vehicle。

9. 對麻醉下急性熱中暑大鼠下視丘 serotonin 及 dopamine 濃度變化之影響：

本實驗使用之儀器包括HPLC (Beckman 126 pump, Taiwan Co.)、BAS-4C 電化學安培偵測器(amperometric detector, Bioanalyticalsystems, West Lafayette IN., U.S.A.)、微口徑逆向管柱 (microbore reversed-phase column, GSK-C18.5 μ m ODS, 1.0 \times 150 mm I.D.)、微量注射幫浦 (microinjection pump, CMA/100, Carnegie Medicin)、微量收集器(microfraction collector, CMA/140, Carnegie Medicin) 及微透析探針 (CMA/12, Carnegie Medicin) 等。

依方法7，將大鼠股動脈插管後，將頭部以立體定位儀 (kopf stereotaxic apparatus) 固定，利用定位圖譜定出下視丘位置 (囟門往後 0.18 mm，左側或右側 0.8 mm，深 9 mm)，插入微透析探

針，並將 CMA/100 微量注射和 CMA/140 微量收集器同時連接到微透析探針每 20 min 接收一管，開始收集一小時後，腹腔給予小柴胡湯全方 (XCHT) 抽取物 (0.25 g/kg)，正常組則維持於 24°C 下，急性熱中暑組則依方法 8，升溫至 42°C，同步收集透析液至老鼠死亡或大於 3 小時。對照組給 vehicle。

以上透析所得下視丘單胺及其代謝物濃度，以外標準法，使用高速液態層析儀 (HPLC) 及 Electrochemical Detectors 測定之分離所用移動相為 50ml acetonitrile (ACN), 9.45g monochloroacetic acid (CH_2ClCOOH), 186mg ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA) 和 160mg sodium 1-octanesulfonate (SOS, C8)，以二次蒸餾水配成一升溶液，再以 NaOH 調整 pH 值到 3.0；配製好之溶液以 0.22 μm 之濾膜過濾後，再以高純度之氮氣去除溶在溶液中的氣體 10-20 分鐘。

測量時，高壓液相層析儀之流速為 80 $\mu\text{l}/\text{min}$ ，電化學安培偵測器之工作電極電位設定為 0.75 伏特。

10. 統計學分析：

本實驗所得之數據，大鼠腦內 serotonin 與 dopamine 濃度用 student's test 檢定，其餘以 one-way ANOVA 法分析其變異數，再以 scheffe's test 檢定其間差異之顯著性，凡 P 值小於 0.05 以下時，則認為有統計意義。

參、結果

一、小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡之萃取率

如表 1 所示，小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡之萃取率，分別為 29.21%、16.60%、30.51% 左右。

二、小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡對室溫下正常大鼠體溫變化之影響

如表 2 所示，小柴胡湯 (0.1-2g/kg; i.p.)、柴胡單味(0.05-1g/kg; i.p.) 及小柴胡湯去柴胡 (0.1-2g/kg; i.p.) 三者對室溫下正常清醒大鼠均具有劑量依存性之降溫作用。其中以小柴胡湯全方之降溫作用最強，起始時間最早，持續時間亦最長。

三、小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡對室溫下 lipopolysaccharide (LPS)、interleukin-1 β (IL-1 β) 及 Prostaglandin E₂ (PGE₂) 誘發高溫大鼠體溫變化之影響正常大鼠體溫變化之影響

腹腔給予 LPS (100 μ g/kg) 或側腦室給予 IL-1 β (10 ng/2 μ l) 或 PGE₂ (100 μ g/10 μ l)，可誘發一明顯之高溫。如表3 及表4 所示，腹腔給予小柴胡湯全方、柴胡單味或小柴胡湯去柴胡均可顯著降低 LPS 與 IL-1 β 所誘發之高溫，但僅小柴胡湯全方、柴胡單味可抑制 PGE₂ 所誘發之高溫 (表5)。

四、小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡對室溫下對麻醉大鼠血壓和心跳之影響

腹腔分別給予小柴胡湯全方 (XCHT; 0.05-2 g/kg, i.p.)、柴胡

單味 (CH; 0.025-0.5 g/kg, i.p.) 及小柴胡湯去柴胡 (XCHT-CH; 0.05-0.5 g/kg, i.p.) 對室溫下對麻醉大鼠血壓和心跳均無影響。

五、小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡對熱中暑大鼠體溫及其相關生理參數變化之影響

如表 6 所示，當麻醉大鼠暴露於高溫 (42°C) 下，血壓、肛溫以及心跳均會隨著暴露時間之增加而升高，大約 63 分鐘左右則會導致熱中暑的產生，此時因高環境溫度刺激而上升之血壓會急速下降，肛溫仍維持高溫，直至動物死亡，其存活時間約 15 分鐘左右。於升溫前腹腔給予小柴胡湯、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡三者均可顯著延長大鼠之存活時間，其中以小柴胡湯全方 0.25 g/kg 與小柴胡湯去柴胡 0.1g/kg 效果最好，且量效之間有呈倒“V”字之現象；而在大鼠中暑之時間方面僅小柴胡湯全方在 0.25 g/kg 時具延長之效果。而小柴胡湯全方、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡在上述有效劑量下對熱中暑大鼠體溫、血壓及心跳等相關生理參數均無影響。

六、對麻醉下急性熱中暑大鼠下視丘 serotonin 及 dopamine 濃度變化之影響：

如表 7 所示，在升高環境溫度前預先給予小柴胡湯全方 (0.25 g/kg; i.p.)，對於熱中暑時下視丘 serotonin 及 dopamine 濃度升高之現象，均有明顯的抑制作用。

肆、討論

小柴胡湯在中醫臨床上常用來治療發熱、流行性感冒、肺結核、支氣管炎、胃炎、肝炎、膽囊炎及腎炎等疾病⁽⁶⁾。目前有關小柴胡湯在體溫調節作用方面之研究報告指出小柴胡湯對正常家兔雖不具降溫作用⁽²⁴⁾，但對傷寒副傷寒混合菌誘發發熱家兔則具明顯之解熱作用⁽²⁵⁾。本研究實驗結果則顯示小柴胡湯在大鼠的體溫調節作用方面對於室溫下正常大鼠體溫方面，小柴胡湯全方及君藥柴胡單味與小柴胡湯去柴胡三者腹腔給予均具劑量依存性之降溫作用，且不論是在有效劑量或起效時間 (onset)、作用強度與持續時間 (duration) 等方面亦以全方為佳。

在解熱作用方面，發燒 (fever) 是臨床上常被描述的疾病症狀，定義為提昇下視丘體溫調節中樞之“置點” (set-point)，使得體溫高於正常之恆定溫度。傳統上將能引起人體或動物發熱的物質，通稱為致熱原 (pyrogen)，一般可分為外生性致熱原 (exogenous pyrogens) 及內生性致熱原 (endogenous pyrogens)⁽³⁴⁾。外生性致熱原 (如：endotoxin) 之分子較大且較複雜，無法直接作用於體溫調節中樞，但可促使白血球 (leukocytes) 與巨噬細胞 (phagocytic macrophage) 等釋放內生性致熱原，如 interleukin-1、tumor necrosis factor、interferon 和 platelet-activating factor 等⁽³⁵⁻³⁸⁾，這些內生性致熱原再藉由 prostaglandins、somatostatin、thyrotropin releasing factor、monoamines 以及其他未知之 protein factors 等內生性物質作用於體溫調節中樞內對熱敏感之神經元，進而引起發熱機轉而產熱⁽³⁹⁾。

1923 年 Seibert 指出引起動物體發燒的物質主要是來自葛蘭氏陰性菌細胞壁受破壞所游離出的毒素，稱為細菌內毒素 (bacterial endotoxin)，其會造成動物畏寒、發燒等症狀，甚至導致敗血性休克 (septic shock) 而死亡；1943 年 Shear 根據細菌內毒素結構上特性，

另命名為 lipopolysaccharide (LPS)⁽⁴⁰⁾，LPS 可增加體內 cytokines (TNF- α 、IL-6、IL-1 β)、prostaglandins、histamine、serotonin、kinins 及 platelet-activating factor 等過敏性毒素的釋放，並抑制葡萄糖及脂質代謝，活化 protein kinase C，造成脂質過氧化，藉以增加自由基形成及誘發基因毒性；此外，LPS 也會刺激 nitric oxide synthase (NOS) 活性，從而增加 nitric oxide (NO) 之產生⁽⁴¹⁻⁴⁵⁾。由週邊或側腦室給予 LPS 均可使實驗動物體溫升高，為實驗上常用之誘發發燒模式⁽⁴⁶⁾，由實驗結果發現，腹腔給予小柴胡湯全方及君藥柴胡單味與小柴胡湯去柴胡三者對 LPS 誘發發燒之大鼠均具明顯之解熱效果。

細菌內毒素所引起的發燒機制，所媒介之內生性熱原中，以 IL-1 β 最受學者重視，IL-1 receptors 拮抗劑能有效阻斷細菌內毒素所引起的發燒反應⁽⁴⁷⁾，IL-1 β 所引起的發燒反應模式 (pattern) 也和細菌內毒素所引起的發燒反應最為相近，因而 IL-1 β 被學者譽為媒介細菌內毒素所引起的發燒反應中的真正媒介物質 (true mediator)⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾。IL-1 源自於巨噬細胞、免疫性T淋巴細胞、B淋巴細胞和血管內皮細胞等，隨著血液循環分佈全身⁽⁵⁰⁾，亦可由中樞星狀細胞 (astrocyte) 和微小神經膠細胞 (microglia) 所合成⁽⁴⁹⁻⁵²⁾。下視丘或腦室給予低劑量 IL-1 均可誘發燒反應^(50,53-56)。IL-1 可分為 IL-1 α 與 IL-1 β 二種，IL-1 β 能啟動一連串複雜的細胞內訊息反應，包括活化 cyclic AMP、Ca²⁺-calmodulin、inositolphosphate hydrolysis、diacylglycerol、eicosanoids、oxygen radicals、nitric oxide 和 Na⁺/H⁺ antiporter 等，同時 IL-1 β 也能藉由細胞內訊息傳遞過程，誘導基因活化來調節細胞功能⁽⁵⁷⁾；除此之外，在大鼠腎小球環間膜細胞 IL-1 β 可藉活化 tyrosine phosphorylation，增加 prostaglandin endoperoxide synthase 2 (COX-2) mRNA 之表現及 prostaglandin E₂ 的產生⁽⁵⁸⁾。由大鼠側腦室給予 IL-1 β 可誘發一具劑量依存性、明顯持久之發燒反應 (大於6小時)⁽⁵⁹⁾。實驗結果發現腹腔給予小柴胡湯全方及君藥柴胡單味與小

柴胡湯去柴胡三者可以降低 IL-1 β 誘發之發燒反應。

前列腺素 (prostaglandin ; PG) 是最早被證實具有中樞性熱原特性之物質^(60,61)。由於內生性致熱原 (IL-1) 之致熱作用可能是經由促進下視丘內 PGE₂ 之合成所致⁽⁶²⁾，將 PGE₂ 直接注入大鼠之側腦室可引起一快速之升溫之現象⁽⁶³⁾。由實驗結果發現腹腔給予小柴胡湯全方及君藥柴胡單味與小柴胡湯去柴胡三者，僅小柴胡湯全方及君藥柴胡單味可抑制 PGE₂ 誘發之發燒反應。

動物長期暴露於高溫之環境下 (>42°C)，當熱量之產生超過熱量之散失時，會導至高溫，動物不斷藉喘氣來散熱，因而表現出過度換氣 (hyperventilation) 現象，使得 Pco₂ 下降，動脈中大量二氧化碳喪失，血液之酸鹼失調，pH 值上升，由於體溫不斷增高，可能直接造成各器官組織嚴重受傷，或是熱刺激增加靜脈壓(venous pressure) 和週邊血管擴張(peripheral vasodilatation)、心跳加速，進而造成心衰竭、心輸出量減少，血壓下降（亦即熱中暑產生），各器官血流不足，sGOT、sGPT、k⁺、BUN 和 glucose 等增加，腎、肝、肺、肌肉等組織壞死。其中循環之改變以及直接高溫傷害腦組織，會導致腦血管充血 (vasocongestion)、腦水腫 (cerebral edema) 和其他神經傷害 (neuron damage)。而腦水腫和腦充血則會引起顱內壓增加 (intracranial hypertension, ICP)⁽³²⁾。平均血壓下降 (MAP) 和顱內壓 (ICP) 增加，則會使腦通流壓 (cerebral perfusion pressure, CPP) 減少 (MAP-ICP=CPP)，進而造成腦血流量減少或腦缺血，並促使下視丘 IL-1 β 、5-HT 和 DA 濃度的增加，中樞神經系統受到傷害，一系列複雜之作用導致熱中暑病症於焉產生，甚或死亡^(32,33)。實驗結果顯示，於升溫前腹腔給予小柴胡湯、柴胡單味及小柴胡湯去柴胡三者均可顯著延長大鼠之存活時間，其中以小柴胡湯全方與小柴胡湯去柴胡效果最好，且量效之間有呈倒“V”字之現象；而在大鼠

中暑之時間方面僅小柴胡湯全方具延長之效果，具預防熱中暑之開發與運用價值；此外，小柴胡湯亦可明顯降低熱中暑時大鼠下視丘 serotonin 與 dopamine 濃度增加之現象，故小柴胡湯延長熱中暑大鼠存活時間之機轉可能與抑制腦內下視丘 serotonin 與 dopamine 之濃度有關。

綜合上述實驗結果可知小柴胡湯具明顯之解熱、降溫及預防熱中暑之作用，其解熱作用之作用機轉可能與抑制 LPS 所誘發之內生性熱原 IL-1 β 與 PGE₂ 二者之活性有關，而預防熱中暑之作用機轉則可能與抑制下視丘 serotonin 與 dopamine 之濃度有關；且柴胡應為小柴胡湯解熱作用之主要來源。

伍、結論與建議

(一) 結論

小柴胡湯具明顯之解熱、降溫及預防熱中暑之作用，其解熱作用之作用機轉可能與抑制 LPS 所誘發之內生性熱原 IL-1 β 與 PGE₂ 二者之活性有關，而預防熱中暑之作用機轉則可能與抑制下視丘 serotonin 與 dopamine 之濃度有關；且柴胡應為小柴胡湯解熱作用之主要來源。

(二) 建議

1. 小柴胡湯除傳統治療發熱、流行性感冒、肺結核、支氣管炎、胃炎、肝炎、膽囊炎及腎炎等疾病外，其治療及預防熱中暑之作用，亦為一值得進一步進行臨床研究與開發推廣之新療效。
2. 而小柴胡湯對細菌內毒素 LPS 誘發發熱大鼠具解熱作用，亦顯示小柴胡湯在敗血症的治療與應用上，應為一值得進一步研究與開發之方向。

陸、參考文獻

1. Done AK: Treatment of fever in 1982: a review. Am J Med 1983, 7: 14-17.
2. 陳學韶：清熱解毒類中藥質量控制的探討，中藥通報 1984, 9: 3-6。
3. 楊志一：中醫方劑釋義，文光圖書公司，台北，1984，96-8。
4. 邱德文：方劑學，貴州人民出版社，貴陽，1989，76-8。
5. 陳奇：中藥名方藥理與應用，南天書局，台北，1993，92-6。
6. 謝鳴：中醫方劑現代研究，學院出版社，北京，1997，181-97。
7. 鄭希林：小柴胡湯的保肝作用，中成藥，1992，14(9)：47。
8. 加藤正秀等：藥學雜誌，1984，104(7)：798。
9. 何福金：中西醫節結合肝病雜誌，1994，4(3)：19。
10. 席孝賢、賀新懷：中藥抗 I 型變態反應作用，陝西中醫學院學報，1991，14(3)：34-7。
11. 席孝賢、賀新懷：小柴胡湯的免疫調節作用，陝西中醫函授，1995，2：14-6。
12. 馬有度：醫方新解，上海科技出版社，1980，43。
13. 王文健：柴胡劑的藥理學研究 (第 3 報)：柴苓湯對糖皮質激素抗炎作用的影響，國外醫學，中醫中藥分冊，1983，5(2)：37-8。
14. 王而川：柴苓湯對固醇類抗炎作用的影響，國外醫學，中醫中藥分冊，1985，7(5)：13-6。
15. 林華：小柴胡湯之抗炎作用，國外醫學，中醫中藥分冊，1983，5(5)：50。
16. 鄭希林：小柴胡湯的免疫調節作用研究進況，山東中醫學院學報，1992，16(4)：284-6。
17. Hiroko Iwama, et al.: J. Pharacal Dyn, 1986, 9(2): 109.
18. 張傑，張亞芝，衣海峰：近十年來小柴胡湯的藥理研究進展，1994，

10(4) : 62。

19. 小田島肅夫：漢方醫學，1983，7(10)：15。
20. 彭平健：中醫藥增敏減毒在腫瘤化療中的研究應用，1994，5：43-4。
21. 王陽奎，抗癌中藥臨床應用近況，中醫藥信息，1991，8(3)：39-41。
22. 洪纓，侯家玉，朱洪濱：小柴胡湯、香砂六君子湯對胃粘液-碳酸氫鹽屏障功能影響的實驗研究，中藥藥理與臨床，1994，6(10)：3-6。
23. 洪纓，孟紫芊，侯家玉，馮衛紅，趙伯友：小柴胡湯、香砂六君子湯對胃粘膜保護作用的實驗研究，北京中醫藥大學學報，1994，17(5)：345-7。
24. 史正剛等：甘肅中醫學院學報，1991，8(3)：39。
25. 史正剛、杜雨茂：小柴胡湯解熱作用之動物實驗觀察，陝西中醫，1990，11(8)：376-7。
26. 蔡子福、曾子南：漢方方劑對兔子血小板磷脂質 A2 的阻斷作用和對血小板凝集機能亢進的抑制效果，中成藥，1991，11(13)：42。
27. 雨谷榮等：現代東洋醫學，1989，10(4)：80。
28. 陳國利：小柴胡湯對動脈硬化的改善作用，中草藥，1990，10(21)：477。
29. Sakae Amgaya et al.: *Planta Medica*, 1986, (5):345.
30. 廖道發：小柴胡湯對血壓的雙向調節，江西中醫藥，1987，6：57。
31. Mackowiak PA: *Fever :basic mechanisms and management*. Raven Press, New York 1991; 269-71.
32. Shapior HM: *Intracranial hypertension: therapeutic and anesthetic considerations*. *Anesthesiol* 1978; 43: 445-71.
33. Kao TY., Chio CC., Lin MT.: *Hypothalamic dopamine release and local cerebral blood flow during onset of heatstroke in rats*. *Stroke* 1994; 25: 2483-7.