

黄连与吴茱萸经典配伍系列解热作用研究*

张柏娥^{1,2}, 张琳², 孙敏¹, 王京昆^{1△}

(1. 云南省药物研究所/云南白药集团创新研发中心/云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室,
云南 昆明 650111; 2. 大理大学, 云南 大理 671000)

摘要: **目的** 观察黄连与吴茱萸不同配伍系列对致热大鼠解热效果的差异。**方法** 将配制好的 15% 干酵母混悬液以背部皮下注射到大鼠体内, 注射 4.0h 后, 各给药组立即灌服黄连、吴茱萸、左金丸、甘露散、茱萸丸、反左金丸和阿司匹林(Acenterine), 观察记录在给药后 0.5、1.0、2.0、3.0 和 4.0h 各组大鼠体温变化。**结果** 左金丸能显著抑制大鼠体温升高, 甘露散次之, 而黄连、吴茱萸、茱萸丸和反左金丸无明显抑制作用。**结论** 黄连、吴茱萸配伍系列对大鼠解热有显著作用, 左金丸解热效果最强。

关键词: 左金丸; 黄连; 吴茱萸; 配伍; 解热

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)04-0043-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.04.010

黄连与吴茱萸经典配伍系列为我国中药宝库的经典名方, 早在朱丹溪《丹溪心法·火六》中, 以黄连与吴茱萸 6:1 的配伍比例——左金丸方已有记载。后世得左金丸方之启发, 调整两味药配伍比例, 分别得到主治暑气证、寒痢证和胃寒证的甘露散(2:1)、茱萸丸(1:1)和反左金丸(1:6)^[1-2]。其中左金丸中重用黄连为君, 清肝泻火, 佐以辛热之吴茱萸条达肝气, 开散郁结, 且能抑制黄连之苦寒, 使泻火而无凉遏之弊。两药相伍一温一寒, 辛开苦降, 共奏清肝泻火, 降逆止呕之良效。古人多用于“泻肝火”。反左金丸用于治脘痞嘈杂泛酸, 又呕吐清水, 畏寒, 舌苔白滑, 偏于胃寒甚者, 主治胃寒证。而甘露散治疗暑气证, 茱萸丸治疗虚寒下痢水泻^[3-5]。由此看出, 黄连和吴茱萸药味配伍的微妙变化, 则产生清热或祛寒的不同效应, 治疗的病证也明显不同。笔者利用左金丸泻火的功效特点, 结合黄连、吴茱萸系列其他类方, 从解热角度, 探讨左金丸及类方对干酵母致热大鼠解热效果的差异性。

1 实验材料

1.1 仪器及试剂

分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司, 型号: AL204), 电子体温计(欧姆龙(大连)有限公司制造)。

阿司匹林肠溶片(湖南新汇制药有限公司, 批号: 140602), 干酵母(购自 OXOID LTD. Eerland, 批号: LP0042), 灭菌注射用水(吉林康乃尔药业有限公司, 批号: 140101), 氯化钠注射液(武汉市福星生物药业有限公司, 批号: 140401)

1.2 实验动物及饲养条件

清洁级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 180~200g^[6-7], 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物合格证号 SCXK(京)2013-2016。动物自由摄食饮水, 饲养室光照 12h, 黑暗 12h, 室温为 25~27℃。

1.3 黄连、吴茱萸及其经典类方供试药物的制备

称取黄连、吴茱萸的粗粉各 210g, 再按不同组方比例 6:1(左金丸)、2:1、(甘露散)、1:1(茱萸丸)、1:6(反左金丸)称取二者粗粉共 210g。将上述样品分别加入 10 倍量 40℃ 去离子水浸泡 30min, 回流提取 3 次(10 倍量水 2h, 8 倍量水 1h, 6 倍量水 0.5h), 合并各提取液, 75℃ 减压浓缩, 待浓缩液密度至 1.15

* 基金项目: 云南省科技领军人才培养计划项目(2014HA001)

收稿日期: 2017-07-21

作者简介: 张柏娥(1990-), 女, 云南曲靖人, 助理工程师, 研究方向: 中药临床与药理。

△通信作者: 王京昆, E-mail: wjkyimm@163.com

$\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 放于 50°C 真空减压干燥条件下进行干燥, 待恒重后, 分别得黄连、吴茱萸及各类方的干浸膏, 作为供试药品备用^[8-10]。

1.4 供试溶液的配制

干酵母混悬液^[6-7]取干酵母 15.0g, 加注射用水后, 振摇, 使其混合均匀, 配制成浓度为 15% 的干酵母混悬液发热剂。另外在给小鼠注射之前, 应先反复振摇, 使其充分均匀后, 方能小鼠进行注射。

黄连、吴茱萸及其经典类方供试溶液 取黄连、吴茱萸、左金丸 (ZJW)、甘露散 (GLS)、茱萸丸 (ZYW) 和反左金丸 (AZJ) 干浸膏各 5.0g, 加蒸馏水使其全部溶解, 配制成各类方浓度均为 $0.20\text{g}/\text{mL}$ 的解热供试液。

阿司匹林溶液 取阿司匹林肠溶片 5 片 ($40\text{mg}/\text{片}$), 进行粉碎后, 取 0.893g , 加蒸馏水经超声波振荡, 充分溶解后, 过滤, 最终于 100mL 容量瓶中配成 $2\text{mg}/\text{mL}$ 的阿司匹林溶液。

2 实验方法

2.1 实验大鼠的选择

取雄性大鼠, 于实验前置于实验室环境, 并每日测定其肛内温度 2~3 次, 以了解大鼠体温恒定与否, 并使大鼠能适应测定肛温操作的这种刺激, 可避免因测量操作导致的体温较大幅度波动。连续测量 3d 以上可明显减弱皮下注入酵母后的低体温反应, 而不影响发热反应, 大鼠于实验前 8~10h 开始禁食, 但不禁水, 实验当日每隔 1h 测体温 1 次, 连续 2~3 次, 取平均值为正常体温。选取体温变化不超过 0.3°C 的大鼠 60 只供实验用。

2.2 发热过程考察

随机取 6 只大鼠, 从背部皮下注射 15% 干酵母混悬液^[11-12] $10\text{mL}/\text{kg}$, 测定注射后, 大鼠体温的变化情况。结果见表 1。

2.3 分组及给药

将剩余 54 只大鼠随机分为 9 组 ($n=6$), 即阴性对照组、阳性对照组、黄连组、阿司匹林组、左金丸组、甘露散组、茱萸丸组、反左金丸组及吴茱萸组。

在给药前除阴性对照组外, 其余 8 组分别背部皮下注射 15% 干酵母混悬液, 使大鼠产生制热反应。注射 4h 后, 对 9 个不同实验组分别灌胃给予 $10\text{mL}/\text{kg}$ 的生理盐水、生理盐水、黄连、阿司匹林、左金丸、甘露散、茱萸丸、反左金丸、吴茱萸, 给药后分别在 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0h 时间点测定药物对各组大鼠解热效果的影响。结果见表 2。

2.4 统计方法

统计结果以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 检验水准 $\alpha=0.05$, 结果采用 SPSS 17.0 统计软件进行方差分析, 方差齐用 LSD 分析, 方差不齐则采用秩和检验, 计数资料采用卡方检验。

3 结果

3.1 注射致热剂后, 对大鼠发热过程进行综合考察

根据表 1 统计可以看出, 大鼠在注射致热剂 (15% 的干酵母混悬液) 后, 体温先有一个迅速而明显的下降阶段, 平均温度下降约 0.5°C , 在 2~4h 之间达到最低点, 在 3.5h 左右恢复到正常体温, 4h 大鼠平均体温已经高正常体温, 并且随后体温开始快速上升, 至 6h 左右达到体温上升的最高点, 在以后的 16h, 体温较峰值略有降低, 但体温仍然很高。由此, 选择在大鼠致热后 4h 给药。

表 1 不同时间对大鼠发热影响 ($^\circ\text{C}$, $n=6$)

时间/h	动物编号						$(\bar{x} \pm s)$
	1#	2#	3#	4#	5#	6#	
0.0	38.11	38.35	38.23	38.47	38.22	38.24	38.27 ± 0.12
0.5	38.02	38.14	38.21	38.16	38.07	38.19	38.13 ± 0.07
1.0	37.89	37.92	37.94	38.03	38.00	37.96	37.96 ± 0.05
2.0	37.66	37.65	37.53	37.88	37.89	37.71	37.72 ± 0.14
4.0	38.21	38.13	37.93	38.45	38.22	38.25	38.20 ± 0.17
6.0	41.03	41.21	41.12	40.88	40.45	41.34	41.01 ± 0.31
8.0	40.79	40.95	40.87	40.44	40.01	41.20	40.71 ± 0.42
12.0	39.84	40.38	40.14	39.99	39.41	40.73	40.08 ± 0.45
16.0	39.56	39.82	39.63	39.43	39.38	40.07	39.65 ± 0.26
24.0	39.43	39.65	39.58	39.44	39.43	39.54	39.51 ± 0.09

3.2 致热大鼠给药后,各解热药物解热效果比较

下面记录了阴性对照组、阳性对照组和各给药

组大鼠给药后4h内不同时间段各组大鼠的平均体温变化。

表2 不同解热药物对大鼠干酵母人工发热的影响($\bar{x} \pm s$, $^{\circ}\text{C}$, $n=6$)

组别	剂量 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	正常体温	给药后每组大鼠不同时间平均体温				
			0.5h	1.0h	2.0h	3.0h	4.0h
阴性对照组	/	38.22 ± 0.10	38.18 ± 0.22	38.20 ± 0.18	38.13 ± 0.14	38.23 ± 0.24	38.15 ± 0.17
阳性对照组	/	38.28 ± 0.24	39.53 ± 0.41	40.35 ± 0.26	40.83 ± 0.48	40.65 ± 0.43	40.31 ± 0.38
黄连	2.0	38.18 ± 0.12	39.38 ± 0.27	$39.52 \pm 0.24^*$	39.93 ± 0.66	40.08 ± 0.51	39.89 ± 0.31
阿司匹林	0.40	38.31 ± 0.24	39.43 ± 0.59	39.60 ± 0.18	39.66 ± 0.18	39.36 ± 0.18	38.79 ± 0.49
左金丸	2.0	38.16 ± 0.20	$38.91 \pm 0.22^{**}$	$39.02 \pm 0.20^{**}$	$39.24 \pm 0.53^{**}$	$39.20 \pm 0.45^{**}$	$39.16 \pm 0.31^{**}$
甘露散	2.0	38.15 ± 0.08	$39.16 \pm 0.35^*$	$39.25 \pm 0.30^*$	$39.53 \pm 0.35^*$	$39.50 \pm 0.46^*$	$39.43 \pm 0.44^*$
茱萸丸	2.0	38.23 ± 0.29	$39.14 \pm 0.32^*$	$39.28 \pm 0.68^*$	$39.59 \pm 0.51^*$	$39.54 \pm 0.54^*$	39.49 ± 0.68
反左金丸	2.0	38.16 ± 0.22	$39.21 \pm 0.57^*$	$39.47 \pm 0.51^*$	$39.57 \pm 0.43^*$	39.65 ± 0.58	39.58 ± 0.40
吴茱萸	2.0	38.24 ± 0.20	39.60 ± 0.38	40.19 ± 0.34	40.96 ± 0.42	40.55 ± 0.26	40.58 ± 0.45

注:采用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析,同阳性对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

由表2给出的解热实验结果可以看出,左金丸组给药后4h内能明显抑制干酵母所致大鼠体温升高,与阳性对照组相比,差异极显著($P<0.01$);甘露散组给药后4h内差异显著($P<0.05$),有一定解热作用;茱萸丸组3h内,与阳性对照组相比,差异显著($P<0.05$),有预防大鼠发热作用,黄连和反左金丸解热效果最弱,可以认为无预防大鼠发热的作用。而吴茱萸无解热效果,这可能与吴茱萸本身的药性相关,大鼠由干酵母发热后,再给予吴茱萸会延长大鼠解热的时间。阿司匹林对照组解热作用显著。

4 讨论

黄连和吴茱萸不同配伍各方剂,组方成熟,在我国应用历史悠久,现代学者对其许多药效作用进行了广泛的实验研究论证^[13-14]。本论文从黄连和吴茱萸各类方的解热的药效作用出发,观察干酵母致热大鼠,各类方的解热效果,为其药效作用提供新的研究思路。通过本实验研究表明,黄连与吴茱萸配伍系列经典类方有明显的解热效果,且类方间存在显著差异,各类方在给药剂量完全相同的情况下,均产生一定的解热药效,其中左金丸在给药4.0h,与阳性对照组相比,平均低于阳性对照组约 1.2°C ,将发热温度稳定在 39.20°C ,可以看出左金丸有较好的解热效果,其它3个类方和阿司匹林给药组也将发热温度控制在 39.50°C ,也均有一定的解热效果。各类方解热效果强弱顺序为左金丸>甘露散>茱萸丸>反左金丸,且左金丸解热效果最显著。

在本次实验中,有良好临床上解热效果的阿司匹林对照组对干酵母致热大鼠的解热效果与阳性对照组比较,一开始没有显现出明显的解热效果,在大鼠服药后的3.0h后,解热作用逐渐显现,产生该实验结果可能原因,一种情况是阿司匹林在大鼠胃中的吸收较慢,给药3.0h,在大鼠血液达到峰药浓度,使其解热作用时间延后,最终4.0h达到较好的解热效果。

此外,从现代医学研究表明,机体发热原因有很多种,不同发热原因发热机理也有所不同,从而需要相应的解热药物才能达到使机体有效解热的目的^[12,15-17]。本实验黄连与吴茱萸的不同配伍仅说明了用干酵母致热大鼠模型产生解热作用,对于其他机制所产生的机体发热,或在人体发热模型中,该类方能否起到良好的解热作用,还需要实验来进行观察研究。

黄连与吴茱萸配伍系列经典类方对干酵母致热大鼠有较好的解热作用,为该中药类方新的临床应用提供了一定的药理学依据。

参考文献:

- [1] 朱震亨. 丹溪心法·自序 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1959: 30.
- [2] 吕景山. 施今墨对药 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1998: 131.
- [3] 杨宏博, 赵艳玲, 李宝才, 等. 基于小鼠温度趋向行为学表征的左金丸及反左金丸寒热属性 [J]. 药学报, 2010, 45(6): 791-796.
- [4] 孔维军, 赵艳玲, 山丽梅, 等. 微量热法研究黄连与吴茱萸煎后配伍时的药性差异 [J]. 中草药, 2009, 40

- (12): 1893-1897.
- [5] 崔金钢, 黄怡文, 金若敏, 等. 左金丸和反左金丸中药药性-证候相关性初步研究 [J]. 陕西中医, 2012, 33(11): 1553-1555.
- [6] 贾德武, 叶寿山. 抗感滴丸主要药效学实验研究[J]. 中医临床杂志, 2007, 19(4): 351-353.
- [7] 楼兰英, 涂秀英, 余日跃, 等. 寒咳宁颗粒剂抗病毒、解热作用的实验研究 [J]. 江西中医学院学报, 2004, 16(4): 57-58.
- [8] 叶富强, 徐颂芬. 黄连、吴茱萸不同配伍的化学成分研究进展[J]. 中成药, 2005, 27(10): 1209-1210.
- [9] 潘浪胜, 徐晓梅, 吕秀阳, 等. 黄连与吴茱萸分煎后配伍时主要组分含量变化规律研究 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(4): 258-261.
- [10] 叶富强, 徐颂芬, 陈蔚文, 等. 黄连与吴茱萸配伍比例对黄连生物碱含量的影响 [J]. 河北中医, 2000, 22(5): 397-398.
- [11] 李欣芮, 宋惠欣. 发热模型的研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2015, 36(4): 77-79.
- [12] 雷玲, 李兴平, 胡竟一, 等. 左金丸对发热的影响[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(2): 20-23.
- [13] 杨宏博. 左金丸及类方寒热属性客观差异的生物热动力学研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2010.
- [14] 叶乃菁, 刘宣, 李琦. 左金丸及其活性成分抗胃癌的实验研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(4): 1162-1164.
- [15] 魏春华, 程虹毓, 朱继孝. 中药解热镇痛抗炎作用机制研究进展[J]. 中医药通报, 2016, 15(4): 59-63.
- [16] 刘亚欧, 黄利, 李利民. 芩术颗粒对发热和疼痛模型鼠的解热镇痛作用 [J]. 中国药房, 2014, 25(23): 2134-2136.
- [17] 高誉珊, 郑丰杰, 李鑫, 等. 基于微量量热法的寒热中药对大肠杆菌生长热谱曲线的影响 [J]. 云南中医学院学报, 2014, 37(2): 10-13.

(编辑: 徐建平)

Study of Relieving Fever Effect on Classical Similar Prescriptions of *Coptis chinensis* and *Evodiae rutaecarpa*

ZHANG Baie^{1,2}, ZHANG Lin², SUN Min¹, WANG Jingkun¹

(1. Yunnan Institute of Materia Medica/Yunnan Bai Yao Group Innovation and R&D Center/Yunnan Province Company Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming 650111, China;
2. Dali University, Dali 671000, China)

ABSTRACT: **Objective** To observe the difference of relieving fever effect on feverish rats to similar prescriptions of *Coptis chinensis* and *Evodiae rutaecarpa*. **Methods** Compounded 15% liquid of the Dried Yeast was injected into the rats by the means of back hypodermic injection, respectively. After 4.0 hours, the rats were orally administered immediately with *Coptis*, *Evodia*, Zuojinwan, Ganlusan, Zhuyuwang, Anti-Zuojinwan and Acenterine, respectively. Temperature change of the groups of the rats was surveyed and recorded in 0.5h, 1.0h, 2.0h, 3.0h and 4.0h. **Results** Zuojinwan can restrain obviously temperature of rats raising, and Ganlusan secondly. There were no apparent effect of control for *Coptis*, *Evodia*, Zhuyuwang, Anti-Zuojinwan. **Conclusion** The difference of relieving fever on the rats is very obviously for the series of similar prescriptions of compatibility, but it is strongest temperature raising of rats obviously.

KEY WORDS: Zuojinwan; *Coptis*; *Evodiae*; compatibility; relieving fever