

## 不同煎煮方法黄连阿胶汤对口腔溃疡大鼠的影响

李凯<sup>1</sup>, 贾利利<sup>1</sup>, 李赫宇<sup>2</sup>, 张振凌<sup>1</sup>

(1. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008; 2. 天津市益倍建生物技术有限公司, 天津 300457)

**摘要:**目的: 研究不同煎煮方法黄连阿胶汤对口腔溃疡模型大鼠作用的差异。方法: 将SD大鼠分为空白对照组、口腔溃疡模型组、口炎清组、黄连阿胶汤传统煎煮、机械常压、机械高压组, 选用甲状腺和苯酚综合造模阴虚型口腔溃疡, 取大鼠全血分离血清, 采用酶免法测定三碘甲状腺原氨酸(T<sub>3</sub>)、甲状腺素(T<sub>4</sub>)、肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )和血管内皮生长因子(VEGF)含量。结果: 黄连阿胶汤模型组与对照组之间T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>具有显著升高( $P < 0.01$ ); TNF- $\alpha$ 、VEGF具有显著性差异( $P < 0.01$ ); 传统煎煮组、机械常压组、机械高压组之间T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、TNF- $\alpha$ 、VEGF含量没有显著性差异( $P > 0.05$ )。结论: 黄连阿胶汤对阴虚口腔溃疡大鼠有治疗作用, 但不同煎煮方法样品治疗作用无显著差异。

**关键词:** 黄连阿胶汤; 口腔溃疡; 传统煎煮; 机械常压煎煮; 机械高压煎煮

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-7717(2014)01-0041-02

### Effects of Huanglian Ejiao Decoction with Different Decoction Methods on Mouth Ulcer Rats

LI Kai<sup>1</sup>, JIA Lili<sup>1</sup>, LI Heyu<sup>2</sup>, ZHANG Zhenling<sup>1</sup>

(1. Henan College of Traditional Chinese Medicine Zhengzhou 450008, Henan, China;

2. Tianjin Ubasichealth Nutrition Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

**Abstract:** Objective: To study the effects of Huanglian Ejiao Decoction with different decoction methods on mouth ulcer rats. Methods: SD rats were divided into blank control group, mouth ulcer model group, Kouyanqing group and Huanglian Ejiao Decoction traditional decoction group, mechanical atmospheric pressure group, mechanical high-pressure group. The rat model was created by thyroxine and phenol. Contents of triiodothyronine(T<sub>3</sub>), thyroxine(T<sub>4</sub>), tumor necrosis factor(TNF- $\alpha$ ) and vascular endothelial growth factor(VEGF) were measured and compared. Results: Compared to blank group, contents of T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> were higher in mouth ulcer group ( $P < 0.01$ ). TNF- $\alpha$  and VEGF had significant difference ( $P < 0.01$ ). Traditional decoction group, mechanical atmospheric pressure group and mechanical high-pressure group had no significant difference ( $P > 0.05$ ). Conclusion: Huanglian Ejiao Decoction was effective to mouth ulcer, and different decoction methods had no significant difference.

**Key words:** Huanglian Ejiao Decoction; mouth ulcer; traditional decoction; mechanical atmospheric pressure decoction; mechanical high-pressure decoction

黄连阿胶汤出自张仲景的《伤寒论》,由黄连、黄芩、芍药、阿胶、鸡子黄组成<sup>[1]</sup>,临床上常用于神经精神系统疾患且多伴有阴虚火旺、心肾不交之失眠<sup>[1]</sup>,出血性疾患,热性疾患包括口腔溃疡等症<sup>[2]</sup>。目前,汤剂的煎煮方法主要有传统煎煮、机械常压煎煮、机械高压煎煮等。为了研究不同煎煮方法之间的差异,探讨机械煎煮能否可以达到与传统煎煮方法一致的效果,本文采用甲状腺和苯酚综合造模阴虚型口腔溃疡实验<sup>[3]</sup>,研究不同煎煮方法黄连阿胶汤样品灌胃给药后大鼠三碘甲状腺原氨酸(T<sub>3</sub>)、甲状腺素(T<sub>4</sub>)、肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )和血管内皮生长因子(VEGF)含量的变化,分析黄连阿胶汤不同煎煮方法对口腔溃疡作用

的影响。

#### 1 材料

1.1 实验动物 健康雌性SD大鼠,体重(200 $\pm$ 20)g,由郑州大学医学院实验动物中心提供,合格证号:SCX(豫)2010-0002。

1.2 实验药品 黄连(南京海源饮片公司,批号L110523H);黄芩(南京海源饮片公司,批号110217H);白芍(南京海源饮片公司,批号110508H);阿胶(山东福胶集团东阿镇阿胶有限公司,批号1009074);鸡子黄(郑州市政四街思达超市,批号S20120215);甲状腺片(上海实业联合集团长城药业有限公司,20110303);口炎清颗粒(广州白云山和记黄埔中药有限公司生产,批号P20111115155830826);乌拉坦(北京化工厂,批号20010328);大鼠(Rat)VEGF、TNF- $\alpha$ 、T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>ELISA检测试剂盒(R&B有限公司,批号分别为20120302A、20120302A、20120302A、20120302A)。

1.3 实验仪器 BS210S型万分之一电子天平(北京SARTORIUS有限公司, max210g,  $\mu$ l 0.1mg), DHL-A(3+1)型

收稿日期: 2013-08-15

基金项目: 国家中医药行业科研专项项目(201007010); 河南中医学院博士基金项目(BSJJ2010-06)

作者简介: 李凯(1982-),男,河南许昌人,讲师,博士,研究方向: 中药学相关研究。

通讯作者: 张振凌(1957-),女,河南开封人,教授,研究方向: 中药炮制学教学与研究。E-mail: zhangzl6758@163.com。

北京东华原十功能煎药机(北京东华原医疗设备有限公司),BMG型多功能酶标仪(德国)。

## 2 实验方法

2.1 试药的制备 传统煎煮黄连阿胶汤制备:取处方量黄连饮片12g、黄芩饮片6g、白芍饮片6g,加水15倍量,浸泡30min后,文火煎煮30min,二煎加水13倍量,煎煮20min,分别过滤,合并两次水煎液,浓缩至每毫升含生药0.5g,在不低于60℃的温度条件向合煎液中加入阿胶粗粉9g,搅拌烩化5min;待温度降至50℃以下,加入鸡子黄2枚,搅拌均匀即得。

机械常压煎煮黄连阿胶汤的制备:取五倍处方量黄连饮片60g、黄芩饮片30g、白芍饮片30g,加水18倍量,浸泡30min后,文火煎煮40min,二煎加水16倍量,煎煮40min,分别过滤,合并两次水煎液,量取体积得1870mL,取出374mL,浓缩至每毫升含生药0.5g,在不低于60℃的温度条件向合煎液中加入阿胶粗粉9g,搅拌烩化5min;待温度降至50℃以下,加入鸡子黄2枚,搅拌均匀即得。

机械高压煎煮黄连阿胶汤的制备:取五倍处方量黄连饮片60g、黄芩饮片30g、白芍饮片30g,加水12倍量,浸泡30min后,文火煎煮30min,二煎加水10倍量,煎煮30min,分别过滤,合并两次水煎液,量取体积得2000mL,取出400mL,浓缩至每毫升含生药0.5g,在不低于60℃的温度条件向合煎液中加入阿胶粗粉9g,搅拌烩化5min;待温度降至50℃以下,加入鸡子黄2枚,搅拌均匀即得。

阳性组口炎清颗粒的制备:取一袋口炎清颗粒相当于10g原药材,溶解于25mL蒸馏水中,混匀即可。

2.2 动物分组 购买之后进行适应性饲养3d后,随即分为6组:空白对照组、模型组、阳性口炎清组、黄连阿胶汤传统煎煮组、黄连阿胶汤机械常压组、黄连阿胶汤机械高压组(以下简称对照组、模型组、阳性组、传统煎煮组、机械常压组、机械高压组)每组10只,共60只。实验室温度20~26℃,相对湿度40%~60%。大鼠自由饮水。

表1 黄连阿胶汤对口腔溃疡大鼠T3、T4、TNF-α、VEGF的影响(n=10, x̄±s)

组别	T3 (ng/mL)	T4 (ng/mL)	TNF-α (pg/mL)	VEGF (pg/mL)
对照组	2.29 ± 0.38 <sup>#ΔΔ</sup>	58.68 ± 7.50 <sup>#</sup>	14.61 ± 2.94 <sup>#Δ</sup>	5.65 ± 3.56 <sup>#</sup>
模型组	3.95 ± 0.61 <sup>**ΔΔ</sup>	85.51 ± 13.10 <sup>**Δ</sup>	38.12 ± 2.09 <sup>**ΔΔ</sup>	15.06 ± 4.75 <sup>**Δ</sup>
阳性组	2.93 ± 0.55 <sup>*#</sup>	69.10 ± 10.14 <sup>#</sup>	21.93 ± 5.68 <sup>*#</sup>	9.01 ± 3.57 <sup>#</sup>
传统煎煮组	2.68 ± 0.19 <sup>*#</sup>	68.52 ± 6.98 <sup>*#</sup>	21.94 ± 6.04 <sup>*#</sup>	9.11 ± 1.44 <sup>*#</sup>
机械常压组	2.68 ± 0.23 <sup>*#</sup>	69.01 ± 8.60 <sup>*#</sup>	22.75 ± 6.41 <sup>*#</sup>	9.33 ± 1.21 <sup>*#</sup>
机械高压组	2.67 ± 0.14 <sup>*#</sup>	68.49 ± 5.82 <sup>*#</sup>	22.24 ± 5.67 <sup>*#</sup>	9.17 ± 2.57 <sup>#</sup>

注:与对照组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与模型组比较,#P<0.05,##P<0.01;与阳性组比较,ΔP<0.05,ΔΔP<0.01。

## 4 讨论

T3和T4升高是甲亢的重要诊断指标,甲状腺素造模可以模拟临床常见疾病甲状腺机能亢进,多属于阴虚证。TNF-α是炎症反应中很重要的损伤性细胞因子,炎症细胞所分泌的TNF-α能进一步损伤组织,放大炎症反应,故抑制TNF-α的合成、分泌,能有效地抑制局部炎症反应。VEGF可特异性作用于血管内皮细胞上的受体结合,可引起内皮细胞增殖、血管通透性提高等效应,可在炎症部位表皮修复过程中发挥促进血管生成的作用,加速炎症部位的愈合。也就是说在炎症形成过程中会分泌较多的VEGF。故本文选取与阴虚型口腔溃疡密切相关的T3、T4、TNF-α、VEGF指标,分析黄连阿胶汤不同煎煮方法对阴虚型口腔溃疡的影响。

2.3 给药情况 第4d开始进行阴虚造模,除对照组外其余各组大鼠ig给予甲状腺片溶液(1.25mg/100g体重),对照组大鼠ig给予等量生理盐水连续14天,在第18天,除对照组外其余各组大鼠iv给予20%乌拉坦(0.5mL/100g),将一小棉球置于直径为5mm的玻璃管一端(使之与管口平齐),玻璃管放在90%苯酚溶液中,使药液浸透棉球吸取约2mL,然后将玻璃管的棉球端置于大鼠一侧颊黏膜上,烧灼30s,48h后观察黏膜溃疡面积大小和炎症充血情况<sup>[4]</sup>。口腔溃疡造模后第二天进行灌胃给药,各组动物药物灌胃剂量如下:对照组ig给予生理盐水溶液;阳性组ig给予口炎清混悬液4g/kg;传统煎煮组ig给予黄连阿胶汤传统煎煮混悬液3g/kg;机械常压组ig给予黄连阿胶汤机械常压混悬液3g/kg;机械高压组ig给予黄连阿胶汤机械高压混悬液3g/kg。给药体积均为1mL/100g,给药时间1周。

2.4 实验方法 连续灌胃1周后,用20%乌拉坦(0.5mL/100g)iv给药,麻醉各组大鼠,自腹主动脉取血,以6000r/min转速离心10min,收集血清。采用酶联免疫双抗体法进行测定,具体步骤按试剂盒说明书进行。用酶标仪在450nm波长下测定各孔吸光度值(A值),绘制标准曲线,依据标准曲线计算出各待测样本中TNF-α、VEGF、T3、T4的含量。

## 3 结果

造模后,观察大鼠溃疡面的黏膜呈凹陷性缺损,大致呈圆形,边缘整齐,表面为黄白色,有伪膜覆盖,周围充血水肿。模型组大鼠出现明显的口腔溃疡,见插页I图1。同时,模型组T3、T4较对照组明显升高,见表1,说明阴虚型口腔溃疡造模成功。

各给药组与模型组相比,大鼠血清中TNF-α、VEGF含量降低,且具显著性差异(P<0.05),但各给药组之间大鼠血清中TNF-α、VEGF含量无显著性差异(P>0.05)。结果见表1。

黄连阿胶汤各给药组大鼠血清中T3、T4、TNF-α、VEGF的含量和模型组有显著性差异,推测黄连阿胶汤对口腔溃疡的作用可能和改善TNF-α、VEGF有关。但各给药组之间均没有明显的差异,提示本文采取的三种煎煮方法制备的黄连阿胶汤对阴虚型口腔溃疡大鼠的作用影响不大。

## 参考文献

- [1] 张海濱,段昱方,吴之煌,等. 加味黄连阿胶汤治疗老年高血压失眠疗效观察[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(8): 1899.
- [2] 司继春,代重庆. 黄连阿胶汤合导赤散治疗重型口疮25例[J]. 中外医疗, 2008, 29: 53.
- [3] 刘四军. 清热降火对阴虚火旺复合型口腔溃疡的影响[D]. 广州: 广州中医药大学, 2008: 26-28.
- [4] 罗列那,刘四军,王倩. 阴虚型口轻溃疡模型大鼠的造模方法与评价[J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(16): 11-12.

## 黄芪种植基地考察研究报告

(正文见 18 - 21 页)



1. 圆形片; 2. 椭圆形片; 3. 柳叶片; 4. 瓜子片; 5. 旋切片; 6. 压切片

图1 黄芪不同规格饮片图

## 不同煎煮方法黄连阿胶汤对口腔溃疡大鼠的影响

(正文见 41 - 42 页)

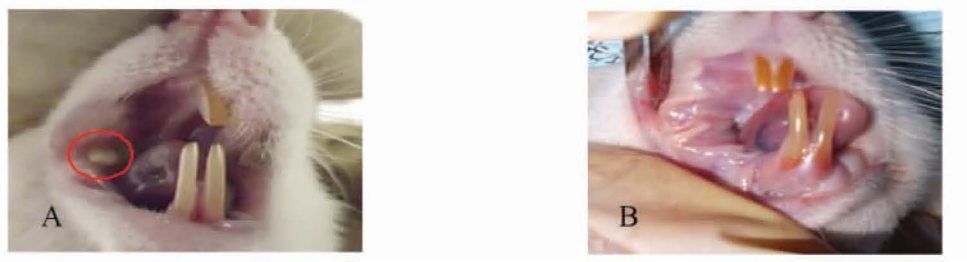


图1 模型组 (A)、对照组 (B)大鼠口腔