

黄连胆汁炙前后对热证模型大鼠血清甲状腺激素水平和体温的影响

王静, 陈悦, 袁子民* (辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

摘要: 目的 观察黄连经猪胆汁炮制前后对热证模型大鼠血清中甲状腺激素水平及体温变化的影响。方法 采用口服附子、干姜、肉桂水煎液与皮下注射外源性致热因子(干酵母混悬液), 复制热证模型大鼠。灌胃给予黄连、猪胆汁和胆黄连药液, 测定大鼠血清中游离三碘甲腺原氨酸(FT3)、血清游离甲状腺素(FT4)、逆-三碘甲腺原氨酸(rT3)及大鼠体温。结果 与空白对照组比较, 模型组大鼠体温显著性增高($P<0.001$), 血清 FT3、FT4、rT3 含量均显著性降低($P<0.01$); 与模型组大鼠比较, 3 h 的猪胆汁组和胆黄连组体温显著性降低($P<0.01$), 黄连、胆黄连可显著升高 FT3 含量($P<0.05$), 猪胆汁可显著性降低 FT4 含量($P<0.05$), rT3 无显著性变化。结论 猪胆汁和胆黄连在 3 h 内可拮抗大鼠体温的升高, 黄连和胆黄连可拮抗热证大鼠血清中 FT3 含量的降低。

关键词: 热证大鼠; 黄连; 胆黄连; 甲状腺激素; 体温

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2015)12-1417-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.12.001

Influence on Serum Thyroid Hormone and Body Temperature Before and after Coptidis Rhizoma Processed with the Pig's Bile on the Febrile Rats

WANG Jing, CHEN Yue, YUAN Zimin* (Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of serum thyroid hormone and body temperature before and after Coptidis Rhizoma processed with the pig's bile on the febrile rats. **METHODS** A febrile type model was established with *Aconitum carmichaeli* Debx., *Zingiber officinale* Rosc. and *Cinnamomum cassia* Presl. decoction in rats, and then were given an injection of dry yeast subcutaneously to produce and release pyrogen, and the body temperature of adjusting point was raised up, so the febrile model was established successfully. The febrile model rats were administrated with Coptidis Rhizoma, pig's bile and the bile processed Coptidis Rhizoma, respectively. Recording the body temperature of every rat, blood sample were drawn for detection of serum FT3, FT4 and rT3. **RESULTS** Compared with the normal group, the model group had significantly higher levels of body temperature($P<0.001$), but lower levels of serum FT3, FT4 and rT3($P<0.01$). Compared with the model group, the body temperature after 3 h decreased significantly($P<0.01$) in the pig's bile group and the bile processed Coptidis Rhizoma group. Coptidis Rhizoma and the bile processed Coptidis Rhizoma could significantly increase the level of FT3($P<0.05$), the pig's bile could significantly reduce the level of FT4($P<0.05$), there was no significantly difference on rT3. **CONCLUSION** The pig's bile and the bile processed Coptidis Rhizoma can antagonize the increase of the body temperature of rats. Coptidis Rhizoma and the bile processed Coptidis Rhizoma can improve metabolism in febrile rats by antagonizing the decrease of FT3 levels.

KEY WORDS: febrile rats; Coptidis Rhizoma; the bile processed Coptidis Rhizoma; thyroid hormone; body temperature

黄连味苦、性寒, 具有清热燥湿、泻火解毒之功效。历代本草对黄连加工炮制方法的记载颇多, 其中, 经猪胆汁炮制后的胆黄连, 药性改变, 寒性增强, 是中药炮制理论中“寒者益寒”的经典实例。本实验采用附子、干姜、肉桂的水煎液与外源性致热因子(干酵母混悬液)相结合, 复制热证大鼠模型^[1-2]。通过给予黄连、猪胆汁、胆黄连寒性药进行治疗, 观察黄连经猪胆汁炮制前后对

热证模型大鼠体温、血清中游离三碘甲腺原氨酸(FT3)、血清游离甲状腺素(FT4)和逆-三碘甲腺原氨酸(rT3)的影响, 为研究胆黄连的炮制及作用机制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

MC-3B 电脑数字式体温计(欧姆龙大连有限公司); HC-2062 高速离心机(安徽中科中佳科学仪

基金项目: 国家自然科学基金项目(81303225)

作者简介: 王静, 女, 博士, 副教授 Tel: (0411)85890139
Tel: (0411)85890145 E-mail: yuanzmin@163.com

E-mail: wjyuanmeng@163.com

*通信作者: 袁子民, 男, 博士, 副教授

器有限公司); 分离胶管(分离胶+促凝剂, 江苏康捷医疗器械有限公司)。

1.2 试剂与药品

黄连、附子、干姜、肉桂均购自大连权健中药饮片有限公司, 经辽宁中医药大学鉴定教研室李峰教授鉴定黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎; 附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 的子根; 干姜为姜科多年生草本植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎; 肉桂为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮。干酵母(安琪酵母有限公司, 批号: 20140302); 猪胆汁购于大连猪肉市场。

1.3 动物

SPF 级 Wistar 大鼠, ♀, 体质量(200±20)g, 由辽宁长生生物技术有限公司提供, 合格证号: SCXK(辽)2010-0001。大鼠适应性喂养自由饮水, 室温(23±2)℃下放置 1 周, 预养期间测定大鼠肛温, 2 次测定时间间隔 30 min, 剔除体温波动大于 0.5℃者。

2 方法

2.1 造模药物及中药水煎液的制备

2.1.1 造热证模型药物的制备 将附子、干姜、肉桂按 1:1:1 的比例合煎, 浓缩成 1 g·mL⁻¹。

2.1.2 黄连水煎液的制备 取黄连饮片, 加水闷润 1 h(每 100 g 黄连片, 加水 40 mL), 95℃下翻炒 19 min 后, 取适量称重, 加 10 倍量水浸泡 0.5 h, 煎煮 1 h, 绢布滤过, 药渣再加 8 倍量水煎煮 1 h, 滤过, 合并 2 次滤液, 浓缩成 0.1 g·mL⁻¹(相当于黄连生药量)。

2.1.3 胆黄连水煎液的制备 取黄连饮片, 加猪胆汁水溶液(猪胆汁:水=6 g:40 mL)拌匀, 闷润 1 h(每 100 g 黄连片, 加胆汁水溶液 40 mL), 95℃下翻炒 19 min, 即得胆黄连炮制饮片。同上述黄连水煎液提取法制成 0.1 g·mL⁻¹(相当于黄连生药量)的胆黄连水煎液。

2.1.4 猪胆汁液 取鲜猪胆汁适量, 加水混合均匀, 制成 0.006 g·mL⁻¹猪胆汁溶液。

2.2 分组与造模

50 只 Wistar 大鼠适应性饲养 3 d 后, 随机分为空白对照组、模型组、黄连组、猪胆汁组、胆黄连组 5 组, 每组 10 只。

每日早 8:00, 空白对照组每鼠每日灌胃 4 mL 生理盐水, 其余各组大鼠每只每日灌胃 4 mL 造热

证模型药物, 持续造模 15 d。造模第 16 天开始, 除空白对照组外, 其他组每日上午 8:00 灌胃造热证模型药物, 每日 16:00, 黄连组、猪胆汁组、胆黄连组分别灌以黄连水煎液 4 mL、猪胆汁液 4 mL、胆黄连水煎液 4 mL, 空白对照组和模型组分别给予等量生理盐水, 中药预防治疗连续 15 d。

2.3 体温测定

实验第 31 天, 模型组、黄连组、猪胆汁组、胆黄连组皮下注射 20%干酵母混悬液[2 mL·(200 g)⁻¹], 记录每组大鼠在 0, 3, 6, 9 h 的体温变化。并于第 31 天晚上禁水禁食。

2.4 标本采集及测定

于实验第 32 天, 模型组、黄连组、猪胆汁组、胆黄连组上午 8:00 皮下注射 20%干酵母混悬液[2 mL·(200 g)⁻¹], 30 min 后, 黄连组、猪胆汁组、胆黄连组分别灌以黄连水煎液 4 mL、猪胆汁液 4 mL、胆黄连水煎液 4 mL, 于 11:00 颈动脉取血, 室温放置, 2 500 r·min⁻¹离心 15 min, 取血清, -20℃保存。血清中 FT3、FT4 和 rT3 含量由沈阳金域医学检验所测定。

2.5 数据处理

用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 体温测定结果

模型组与空白对照组大鼠相比, 体温显著性增高($P < 0.001$); 与模型组比较, 在 3 h 内黄连组、胆汁组和胆黄连组体温显著性降低, 其中胆黄连组体温降低最显著($P < 0.001$)。结果见表 1。

表 1 黄连胆汁炙前后对热证模型大鼠体温的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Influence on bodies' temperature of the febrile rats before and after *Coptidis Rhizoma* processed with the pig's bile($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ g·kg ⁻¹	体温/℃			
		0 h	3 h	6 h	9 h
空白对照组	—	37.90±0.62	37.91±0.62	37.92±0.77	37.89±0.55
模型组	—	38.20±0.45	39.48±0.64 ¹⁾	39.90±0.58 ¹⁾	39.35±0.35 ¹⁾
黄连组	2	37.92±0.88	38.96±0.37 ²⁾	39.84±0.54 ¹⁾	39.36±0.65
猪胆汁组	0.12	38.49±0.79	38.47±0.57 ³⁾	40.26±0.30 ¹⁾	39.78±0.43
胆黄连组	2	38.09±0.48	38.29±0.62 ⁴⁾	39.42±1.08 ¹⁾	39.10±0.51

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P < 0.001$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.001$ 。

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P < 0.001$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.001$ 。

3.2 血清生化指标改变

模型组大鼠血清 FT3、FT4 和 rT3 与空白对照组相比显著降低($P<0.01$), 黄连组和胆黄连组大鼠血清 FT3 与模型组比明显增高($P<0.05$), 猪胆汁组大鼠血清 FT4 与模型组相比明显降低($P<0.05$), rT3 没有显著性变化, 结果见表 2。

表 2 各组大鼠血清 FT3、FT4 和 rT3 测定结果($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Results of FT3, FT4 and rT3 of the rats' serum in all the groups($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	FT3/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	FT4/ $\text{ng} \cdot \text{dL}^{-1}$	rT3/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
空白对照组	3.53 \pm 1.00	2.03 \pm 0.45	0.16 \pm 0.05
模型组	1.92 \pm 0.13 ²⁾	1.14 \pm 0.22 ²⁾	0.10 \pm 0.02 ²⁾
黄连组	2.40 \pm 0.39 ²⁾³⁾	0.98 \pm 0.17 ²⁾	0.12 \pm 0.03 ¹⁾
猪胆汁组	2.01 \pm 0.57 ²⁾	0.86 \pm 0.22 ²⁾³⁾	0.11 \pm 0.03 ²⁾
胆黄连组	2.66 \pm 0.95 ²⁾³⁾	0.90 \pm 0.29 ²⁾	0.12 \pm 0.07

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ³⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with model group, ³⁾ $P<0.05$.

4 讨论

根据中医临床“物极必反”原则, 选用温理药造模, 借鉴酵母制热原理的造模方法, 造成热证模型, 使模型组大鼠体温、血清中 FT3、FT4 和 rT3 均与空白对照组产生显著性差异($P<0.01$, $P<0.05$)。黄连味苦性寒, 具有清热燥湿, 泻火解毒的作用, 成分主要含有季胺型生物碱^[3], 猪胆汁具有清热、润燥、解毒的功效^[4], 主要含有胆汁酸及胆酸盐类化学成分, 故用猪胆汁炮制黄连, 不但起协同作用增加黄连的寒性, 也同样增加生物碱在小肠内的吸收, 增强解热疗效。

由结果可知, 猪胆汁和胆黄连解热效果最好, 黄连在 3 h 时解热效果较好, 可以看出猪胆汁不单

单是只起到辅助作用的辅料, 还具有一定的药效协同作用, 可以更深入地影响主药的性味^[5]。但可能由于黄连主要含有的小檗碱极性较大, 在肠道的吸收较差, 所以只是在 3 h 内体现了显著的解热效果。在生化指标方面, 模型组均呈现甲状腺功能减弱, 黄连与胆黄连的治疗可以促使其恢复正常水平, 这与有关文献报道实热证早期时是交感神经和垂体-肾上腺系统机能增强, 随后垂体-甲状腺系统机能也随之提高^[6], 会呈现甲状腺功能亢进相违背, 其原因可能是实热证的研究进展还只是处于发展阶段, 对于实热证的造模方法及检测指标还未有相对统一的标准, 每个报道的结果只能说明单一方面的问题, 对于实热证的确切发热机制及多种指标的内在联系也还未明确, 所以对于实热证还需进一步研究。

REFERENCES

- [1] GUAN Z H, SONG J M. Research and improvement ideas of traditional Chinese medicine real heat syndrome [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(22): 349-353.
- [2] WANG C G, HAN B B, WANG Y, et al. Evaluation on animal model of deficiency cold syndrome and deficiency heat syndrome by using partial least squares-discriminant analysis [J]. Liaoning J Tradit Chin Med(辽宁中医杂志), 2014, 41(6): 1275-1278.
- [3] HU S P, WANG Y, YU P Y, et al. Study on *in vitro* anti-inflammatory mechanism of the essential component of Huanglian Jiedu Decoction [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(10): 1171-1174.
- [4] 袁帅, 赵文静, 旺建伟. 猪胆的药理作用和临床应用研究进展[J]. 中医药学报, 2014, 42(3): 166-168.
- [5] 白宗利, 任玉珍, 陈彦琳, 等. 胆南星的研究[J]. 中国现代中药, 2010, 12(4): 15-16.
- [6] 徐志伟, 陈群, 孙琪, 等. 中医热证实质研究[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(3): 53-57.

收稿日期: 2015-06-26

PI3K α 抑制剂 BYL719 抑制脐静脉血管内皮细胞增殖及血管生成的研究

王西双, 庄梦玮, 姜文艳, 张翠, 王凤泽* (泰山医学院生命科学院, 山东 泰安 271016)

摘要: 目的 探讨 PI3K α 抑制剂 BYL719 对人脐静脉血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)增殖与血管生成的影响。方法 采用 MTT 法测定 BYL719 对 HUVEC 活力的抑制作用; 用流式细胞术检测 BYL719 对其细胞周期的影响; 体外小管形成实验观察 BYL719 对血管生成的影响; Western blot 检测 Akt、p-Akt、cyclinD1 和 CDK4 蛋白

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81272683)

作者简介: 王西双, 女 Tel: (0538)6236075 E-mail: erik1974@163.com *通信作者: 王凤泽, 男, 博士, 教授 Tel: (0538)6236075 E-mail: wfz221@sina.com