中图分类号：R932；R284.1；R286.0　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2025)09－0034－06
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2025.09.008

黄连制吴茱萸炮制前后抗炎、抗氧化、抑菌作用研究*

刘舒凌，李秀连，梁灵南，刘玉兰，廖美东，吴燕春△

（广西中医药大学，广西 南宁　530200）

摘要：目的　探讨吴茱萸经黄连炮制前后的抗炎、抗氧化及抑菌作用。**方法**　制备净制吴茱萸饮片、黄连制吴茱萸饮片。采用二甲苯致小鼠耳肿胀模型评价体内抗炎作用及对脏器指数的影响，将66只KM小鼠随机分为空白对照组（A组，等体积生理盐水），阳性药对照组（B组，醋酸地塞米松5 mg/kg），吴茱萸高、低剂量组（C_1组、C_2组，5，1 g/kg），黄连制吴茱萸高、低剂量组（D_1组、D_2组，5，1 g/kg），各11只，灌胃相应药物或20 mL/kg生理盐水，每日1次，连续5 d。采用脂多糖（LPS）诱导小鼠单核巨噬细胞（RAW 264.7）炎性反应，检测空白对照（G组，接种细胞，含等体积DMEM培养液）及不同质量浓度（4，2，1，0.5，0.25 mg/mL）吴茱萸（E_1组、E_2组、E_3组、E_4组、E_5组）和黄连制吴茱萸（F_1组、F_2组、F_3组、F_4组、F_5组）对细胞存活率的影响；比较空白组（H组，1 mL DMEM培养液），模型组（I组，含1 μg/mL LPS的DMEM培养液1 mL），吴茱萸高、中、低剂量组（J_1组、J_2组、J_3组，含2，1，0.5 mg/mL药液和1 μg/mL LPS的DMEM培养液1 mL），黄连制吴茱萸高、中、低剂量组（K_1组、K_2组、K_3组，含2，1，0.5 mg/mL药液和1 μg/mL LPS的DMEM培养液1 mL）一氧化氮（NO）、白细胞介素6（IL－6）、肿瘤坏死因子－α（TNF－α）的水平。采用1，1－二苯基－2－三硝基苯肼（DPPH）评价体外抗氧化活性，采用纸片法和微量二倍稀释法评价对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的体外抑菌活性。**结果**　与A组比较，B组、C_1组、C_2组、D_1组、D_2组小鼠耳肿胀度均显著降低（$P<0.05$），B组、D_1组、D_2组小鼠胸腺指数均显著降低（$P<0.01$），B组、C_1组、D_1组、D_2组小鼠脾指数均显著降低（$P<0.05$），且D_1组、D_2组小鼠以上指标分别显著低于C_1组、C_2组（$P<0.05$）。与G组比较，E_1组和F_1组的吸光度均显著降低（$P<0.01$），E_5组的吸光度显著升高（$P<0.05$）。与I组比较，J_1组、J_2组、J_3组、K_1组、K_2组、K_3组NO水平均显著降低（$P<0.01$），J_1组、J_3组、K_1组、K_3组IL－6水平均显著降低（$P<0.05$），J_1组、K_1组TNF－α水平均显著降低（$P<0.05$）；与J_1组比较，K_1组IL－6水平显著降低（$P<0.05$）。吴茱萸和黄连制吴茱萸均对DPPH自由基有清除作用，半数抑制浓度（IC_{50}）分别为0.074 3，0.106 7 mg/mL。吴茱萸和黄连制吴茱萸均对金黄色葡萄球菌的抑制高敏感，抑菌圈直径分别为（22.83±1.88）mm、（25.00±2.48）mm；而对大肠杆菌的抑制低敏感，抑菌圈直径分别为（7.83±0.85）mm、（7.17±0.94）mm。吴茱萸对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度（*MIC*）为15.63 mg/mL，低于黄连制吴茱萸的31.25 mg/mL，而最低杀菌浓度（*MBC*）均为62.5 mg/mL；对大肠杆菌的*MIC*和*MBC*均相同，分别为62.5，125.0 mg/mL。**结论**　吴茱萸及黄连制吴茱萸均有抗炎、抗氧化、抑菌作用，但后者药性更缓和，且抗炎作用更强。

关键词：黄连制吴茱萸；炮制；抗炎作用；抗氧化作用；抑菌作用

Anti－Inflammatory, Anti－Oxidation, and Anti－Bacterial Effects of Evodiae Fructus Before and After Processing with Coptidis Rhizoma

LIU Shuling, LI Xiulian, LIANG Lingnan, LIU Yulan, LIAO Meidong, WU Yanchun

(Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China　530200)

Abstract: Objective　To investigate the anti－inflammatory, anti－oxidation and anti－bacterial effects of Evodiae Fructus before and after processing with Coptidis Rhizoma. **Methods**　Products of Evodiae Fructus (EF) and Evodiae Fructus processed with Coptidis

*基金项目：广西自然科学基金[2025GXNSFAA069558，2018GXNSFBA281179]；2022年中央补助广西中药炮制技术传承基地建设资助项目[桂中医药发〔2022〕9号]；广西中医药大学校级科研项目[2023MS019]。

第一作者：刘舒凌，女，博士，副教授，研究方向为中药炮制原理，（电子信箱）799247687@qq.com。

△通信作者：吴燕春，女，博士，副教授，研究方向为中药药效学，（电子信箱）wuyanchun_3333@126.com。

in patients with indolent non－hodgkin lymphomas and mantle cell lymphoma receiving bendamustine and rituximab[J]. Br J Haematol, 2019, 184(2): 223－231.

[12] SONG SH, GOO YJ, BAE EH. Tracheobronchial calcification in a patient treated with warfarin[J]. Korean J Intern Med, 2022, 37(5): 1090－1091.

[13] NOUR SA, NOUR HA, MEHTA J, et al. Tracheobronchial calcification due to warfarin therapy[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2014, 189(12): e73.

[14] THOONGSUWAN N, STERN EJ. Warfarin－induced tracheobronchial calcification[J]. J Thorac Imaging, 2003, 18(2): 110－112.

[15] BEPARI A, NIAZI SK, RAHMAN I, et al. The comparative evaluation of knowledge, attitude, and practice of different health－care professionals about the pharmacovigilance system of India[J]. J Adv Pharm Technol Res, 2019, 10(2): 68－74.

[16] 王　快，黎　丽，潘碧彬，等. 信息化监测模式对某三级甲等医院药品不良反应报告质量的影响[J]. 中国药业，2022，31(5)：23－28.

（收稿日期：2024－07－26；修回日期：2024－12－14）

Rhizoma (EFCR) were prepared. The anti - inflammatory effect *in vivo* and its effect on organ indexes were evaluated by the xylene - induced ear edema model in mice. A total of 66 KM mice were randomly divided into the blank control group (group A, equal volume of normal saline), the positive drug control group (group B, 5 mg / kg dexamethasone acetate), the EF high - and low - dose groups (groups C_1, C_2; 5, 1 g / kg), and the EFCR high - dose and low - dose group (groups D_1, D_2; 5, 1 g / kg), with 11 mice in each group. The mice in each group were orally administered with the corresponding drug or 20 mL / kg normal saline once a day for 5 d. Lipopolysaccharide (LPS) was used to induce inflammatory reaction in mice mononuclear macrophages (RAW 264.7), and the effects of the blank control (group G, inoculated cells, containing equal volume of DMEM culture medium) and different mass concentrations (4, 2, 1, 0.5, 0.25 mg / mL) of EF (groups E_1, E_2, E_3, E_4, E_5) and EFCR (groups F_1, F_2, F_3, F_4, F_5) on cell survival rate were detected. The levels of nitric oxide (NO), interleukin - 6 (IL - 6), and tumor necrosis factor - α (TNF - α) in the blank group (group H, 1 mL of DMEM culture medium), model group (group I, 1 mL of DMEM culture medium containing 1 μg / mL LPS), EF high - , medium - , and low - dose groups (groups J_1, J_2, J_3; 1 mL of DMEM culture medium containing 1, 0.5, 0.25 mg / mL liquid medicine, and 1 μg / mL LPS), and EFCR high - , medium - , and low - dose groups (groups K_1, K_2, K_3; 1 mL DMEM culture medium containing 1, 0.5, 0.25 mg / mL liquid medicine, and 1 μg / mL LPS) were compared. The *in vitro* anti - oxidant activity was evaluated by 1, 1 - diphenyl - 2 - picrylhydazy (DPPH), and the *in vitro* anti - bacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was evaluated by the disk diffusion method and micro double dilution method. **Results** Compared with those in group A, the ear swelling degree of mice in groups B, C_1 and C_2 significantly decreased ($P < 0.05$), the thymus index the spleen index of mice in groups B, D_1, D_2 significantly decreased ($P < 0.01$), the spleen index of mice in groups B, C_1, D_1, and D_2 significantly decreased ($P < 0.05$), and the above indexes in groups D_1 and D_2 were significantly lower than those in groups C_1 and C_2, respectively ($P < 0.05$). Compared with those in group G, the absorbance values in groups E_1 and F_1 significantly decreased ($P < 0.01$), while the absorbance value in group E_5 significantly increased ($P < 0.05$). Compared with those in group I, the levels of NO in groups J_1, J_2, J_3, K_1, K_2, and K_3 significantly decreased ($P < 0.01$); the levels of IL - 6 in groups J_1, J_3, K_1, and K_3 significantly decreased ($P < 0.05$), while the levels of TNF - α in groups J_1 and K_1 significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with those in group J_1, the level of IL - 6 in group K_1 significantly decreased ($P < 0.05$). Both EF and EFCR had a scavenging effect on DPPH free radicals, with half maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of 0.074 3 mg / mL and 0.106 7 mg / mL, respectively. Both EF and EFCR were highly sensitive to the inhibition of *Staphylococcus aureus*, with inhibition zone diameters of (22.83 ± 1.88) mm and (25.00 ± 2.48) mm, respectively. However, they were less sensitive to the inhibition of *Escherichia coli*, with inhibition zone diameters of (7.83 ± 0.85) mm and (7.17 ± 0.94) mm, respectively. The minimum inhibitory concentration (*MIC*) of EF against Staphylococcus aureus was 15.63 mg / mL, which was lower than the 31.25 mg / mL of EFCR, while the minimum bactericidal concentration (*MBC*) of the two herbs was 62.5 mg / mL; the *MIC* and *MBC* for *Escherichia coli* were the same (62.5 mg / mL and 125.0 mg / mL, respectively). **Conclusion** Both EF and EFCR have anti - inflammatory, anti - oxidant, and anti - bacterial effects, but the latter has milder medicinal properties and stronger anti - inflammatory effect.

Key words: Evodiae Fructus processed with Coptidis Rhizoma; processing; anti - inflammatory effect; anti - oxidant effect; anti - bacterial effect

吴茱萸性热，味辛、苦，有小毒，具有散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻功效[1]。吴茱萸的炮制方法较多，黄连制吴茱萸为传统炮制方法之一，此方法源于黄连 - 吴茱萸（连 - 萸）配伍，二者药性相反，一寒一热，一降一升，有反佐之效。经黄连汁炮制后，吴茱萸的辛燥之性被黄连的苦寒沉降之性所抑制，是以寒制热之典范[2]。“饮片入药、生熟异治”是中医用药特色。吴茱萸生品有小毒，多外用，以散寒定痛力强[3]。黄连制吴茱萸能缓和其燥性和毒性，供内服，长于“止呕”[4]和“疏肝胃”[5]。临床常将吴茱萸及其炮制品用于治疗头痛、腹痛、消化性溃疡、脚气等寒湿凝滞阴证[6]。药理学研究表明，吴茱萸有镇痛、抗炎、保护胃肠道、抑菌等作用[6-7]。吴茱萸适应证中，腹痛、消化性溃疡疾病等与炎症、氧化损伤、细菌感染密切相关[8]。目前，有关黄连制吴茱萸的炮制研究以成分变化为主[9-10]，少有关于药效变化的报道，生、制饮片的药效是否有差异仍不明确。因此，本研究中比较了吴茱萸经黄连炮制前后的抗炎、抗氧化、抑菌作用，为其临床合理应用提供参考。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试药、动物、细胞系与菌株

仪器：MULTLSKAN Sky型全波长酶标仪（美国Thermo Fisher公司）；SW - CJ - 1F型超净台（苏州安泰空气技术有限公司）；SQP型电子天平（赛多利斯科学仪器 < 北京 > 有限公司，精度为0.1 mg）；KQ5200B型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司，功率为200 W，频率为40 kHz）；DMi8型相差倒置显微镜（德国Leica公司）；MCO - 18AIC型二氧化碳培养箱（日本Sanyo电气公司）；HR1200 - IIB2型生物安全柜（青岛海尔股份有限公司）。

试药：吴茱萸饮片（广西紫云轩中药科技有限公司，批号为GX220101）；黄连饮片（四川新荷花中药饮片股份有限公司，批号为D2106027）；醋酸地塞米松片（浙江仙琚制药有限公司，批号为LB2107）；*L*（+）-抗坏血酸（成都市科隆化学品有限公司，批号为2021081101）；二甲苯（天津富宇化工有限公司，批号为20200312）；1，1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）清除能力试剂盒（苏州格锐思生物科技有限公司，批号为G20211129G）；M-H琼脂培养基（批号为1103581），M-H肉汤培养基（批号为1103531），均购自广东环凯微生物科技有限公司；2，3，5-氯化三苯基四氮唑（TTC，中国Biosharp公司，批号为21337530）；胎牛血清（浙江天杭生物科技股份有限公司，批号为22040703）；DMEM培养液（美国Gibco公司，批号为8122346）；白细胞介素6（IL-6）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）酶联免疫吸附试验（ELISA）检测试剂盒（欣博盛生物科技有限公司，批号分别为M220810-004a，M8419-6C）；CCK-8试剂盒（批号为5130011），脂多糖（LPS，批号为426Y037），均购自北京索莱宝科技有限公司；Griess试剂（美国Sigma公司，批号为SLCH0575）；亚硝酸钠标准液（阿拉丁试剂有限公司，批号为A1903053）；实验用水为纯水，乙醇为分析纯。

动物：健康SPF级KM小鼠66只，雄性，4周龄，体质量（20±2）g，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，实验动物生产许可证号为SCXK（湘）2019-0002。饲养于广西中医药大学动物实验中心（动物使用许可证号为SYXK桂2019-0001），温度23~25 ℃，相对湿度40%~50%，昼夜节律12 h/12 h。动物实验获广西中医药大学动物学伦理委员会批准（批准号为DW 20190927-124），实验设计及实施过程严格遵循3R原则。

细胞系与菌株：小鼠单核巨噬细胞RAW 264.7购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心；金黄色葡萄球菌CMCC（B）26003、大肠杆菌LWCC1033均购自广东环凯微生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 净制吴茱萸饮片、黄连制吴茱萸饮片制备

净制吴茱萸饮片：除去脱落的枝梗，筛去杂质，即得。

黄连制吴茱萸饮片[11]：取黄连饮片10 g，加20倍量水，煎煮2次，每次0.5 h，滤过，合并滤液，浓缩成70 mL黄连汁，备用。另取净吴茱萸饮片100 g，加黄连汁70 mL，拌匀，闷润至黄连汁吸尽、吴茱萸果实膨胀后，置热锅中，文火炒至裂开、稍鼓起时取出，晾凉，即得。

1.2.2 二甲苯致小鼠耳廓肿胀

溶液制备：取净制吴茱萸饮片、黄连制吴茱萸饮片各100 g，加20倍量水，煎煮2次，每次60 min，滤过，合并2次滤液，浓缩成质量浓度以生药量计分别为0.25 g/mL和0.05 g/mL的药液，备用。

分组、给药与建模[12]：将66只KM小鼠随机分为空白对照组（A组，等体积生理盐水），阳性药对照组（B组，醋酸地塞米松5 mg/kg），吴茱萸高、低剂量组（C_1组、C_2组，5，1 g/kg），黄连制吴茱萸高、低剂量组（D_1组、D_2组，5，1 g/kg），各11只。吴茱萸[1]和黄连制吴茱萸[11]的临床人用量均为2~5 g，以每日人用量5 g计，体质量为60 kg成人的用量为0.083 3 g/kg，高、低剂量组分别约等于临床人用药等效剂量的5倍和1倍[13]。各组连续灌胃相应药物或20 mL/kg生理盐水，每日1次，连续5 d。末次给药1 h后，各组小鼠左耳正反面均匀涂抹二甲苯40 μL，右耳不予处理作为对照。致炎1 h后脱颈椎处死，用直径6 mm打孔器在左、右耳同一部位打下圆耳片，精密称定质量，计算耳肿胀度。耳肿胀度（mg）=左耳片质量-右耳片质量。解剖小鼠，取出胸腺、脾，用滤纸擦干，精密称定质量，计算脏器指数。脏器指数（mg/g）=脏器质量/小鼠体质量。

1.2.3 RAW 264.7细胞体外抗炎作用

溶液制备：取净制吴茱萸饮片、黄连制吴茱萸饮片各适量，粉碎，过3号筛，取2.00 g，精密称定，置100 mL锥形瓶中，加50 mL 70%乙醇浸泡1 h，超声40 min，过滤[14]。在水浴锅上挥干，浓缩成浸膏，用二甲基亚砜（DMSO）溶解，定容于2 mL容量瓶中，制得以生药计质量浓度为0.5 g/mL的药液。使用前以DMEM培养液稀释，0.22 μm微孔滤膜滤过，除菌。

细胞培养：取RAW 264.7细胞，加入含10%胎牛血清的DMEM培养液，于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养，2~3 d传代1次。

CCK-8法测定细胞存活率：取对数生长期的RAW 264.7细胞，调整密度为2×10^5个/mL，每孔100 μL，接种于96孔板，培养24 h后吸弃原培养液，加终质量浓度为4，2，1，0.5，0.25 mg/mL的吴茱萸（E_1组、E_2组、E_3组、E_4组、E_5组）和黄连制吴茱萸（F_1组、F_2组、F_3组、F_4组、F_5组）培养液100 μL（各组均用无血清DMEM培养液配制，使细胞同步化[15]），每组4个复孔，同时设置空白孔（G组，接种细胞，含等体积DMEM培养液）。加药24 h后吸弃上清液，每孔加10% CCK-8，37 ℃培养箱中孵育60 min，用酶标仪在450 nm波长处测定吸光度（*A*），并计算细胞存活率。细胞存活率（%）=（$A_{给药组均值}/A_{空白组均值}$）×100%。选取细胞存活率≥90%[16]的药液浓度作为药物对巨噬细胞的安全浓度，进行下一步抗炎试验。

一氧化氮（NO）、IL-6、TNF-α水平测定[17]：

RAW 264.7细胞以密度为5×10⁵个/mL，每孔0.5 mL接种于24孔板，分为空白组（H组），模型组（I组），吴茱萸高、中、低剂量组（J_1组、J_2组、J_3组，2，1，0.5 mg/mL），黄连制吴茱萸高、中、低剂量组（K_1组、K_2组、K_3组，2，1，0.5 mg/mL），每组4个复孔。24 h细胞贴壁后吸弃原培养液，H组加DMEM培养液1 mL，I组加含LPS（质量浓度为1 μg/mL）的DMEM培养液1 mL，给药组加含LPS（质量浓度为1 μg/mL）和各含药DMEM培养液组成的混合液1 mL，培养24 h后收集细胞上清液，采用Griess法检测NO含量，采用ELISA法检测IL-6和TNF-α水平。

1.2.4 DPPH自由基清除能力

溶液制备：取净制吴茱萸饮片、黄连制吴茱萸饮片各适量，粉碎，过3号筛，取2.50 g，精密称定，加20倍量水回流提取2次，每次30 min，滤过，合并2次的滤液，浓缩成质量浓度以生药量计为50 mg/mL的药液，备用。

DPPH自由基清除能力测定：用19 mL无水乙醇溶解DPPH工作液，将吴茱萸和黄连制吴茱萸药液分别加水稀释成质量浓度以生药量计分别为1，0.5，0.25，0.125，0.062 5，0.031 25 mg/mL的系列样品工作液，以维生素C为阳性对照。将离心管标记为$A_{测定}$，$A_{对照}$，$A_{空白}$。$A_{测定}$为150 μL样品+150 μL DPPH溶液，$A_{对照}$为150 μL样品+150 μL水，$A_{空白}$为150 μL水+150 μL DPPH溶液。各管混匀后避光静置30 min，以12 000 r/min的转速离心5 min，取上清液，517 nm波长处读取吸光度（A），计算2种样品的DPPH自由基清除率[18]，并采用改良寇氏法计算半数抑制浓度（IC_{50}）。DPPH自由基清除率（%）=[(1-($A_{测定}$-$A_{对照}$)/$A_{空白}$)]×100%。

1.2.5 体外抑菌作用

溶液制备：按1.2.2项下方法制备吴茱萸、黄连制吴茱萸溶液，浓缩成质量浓度以生药量计为0.5 g/mL的药液，121 ℃高压灭菌，备用。

菌液制备：分别从活化好的2种菌株（金黄色葡萄球菌、大肠杆菌）中挑取1～2个菌落置装有无菌生理盐水的试管中，稀释为1×10⁸ cfu/mL的菌悬液，用于纸片法抑菌试验。上述菌悬液用肉汤按1∶100稀释为1×10⁶ cfu/mL的菌悬液，用于微量二倍稀释法抑菌试验。

纸片法检测抑菌圈直径[19]：在无菌操作台上，吸取100 μL菌悬液，涂于M-H琼脂培养平板上，取直径为6 mm的无菌滤纸片，吸取吴茱萸、黄连制吴茱萸药液各30 μL，分别滴在滤纸片上，待其干燥，将滤纸片贴于固体培养基上，空白对照为灭菌水，37 ℃孵育24 h后，采用十字交叉法检测抑菌圈直径（d）。平行试验3次，取平均值。$d \geqslant 20.00$ mm为极高敏，15 mm $\leqslant d < 20$ mm为高敏，10 mm $\leqslant d < 15$ mm为中敏，6 mm $< d < 10$ mm为低敏，$d \leqslant 6$ mm为不敏感[20]。

微量二倍稀释法检测最低抑菌浓度（*MIC*）、最低杀菌浓度（*MBC*）[21]：在无菌96孔板中，分别将质量浓度以生药量计为500 mg/mL的吴茱萸、黄连制吴茱萸溶液用M-H肉汤培养基倍比稀释成250.00，125.00，62.50，31.25，15.63，7.81，3.91，1.95，0.98 mg/mL系列质量浓度，置1-9号孔中，每孔100 μL。第10号孔为药液对照（含药液和M-H肉汤培养基），第11号孔为菌液对照（含M-H肉汤培养基和菌液），第12号孔为阴性对照（只含M-H肉汤培养基）。取1×10⁶ cfu/mL的菌悬液20 μL，分别加入以上1-9号、11号孔中，37 ℃生化培养箱中培养24 h后，每孔加质量浓度为2.5 mg/mL的TTC 10 μL，混匀，培养3 h，孔内不显红色的最低药物浓度即为*MIC*。取无菌生长孔的液体培养物50 μL，涂于琼脂平板上培养24 h，无菌落生长的最低药物浓度即为*MBC*。每个质量浓度及对照均平行试验3次。

1.3 统计学处理

采用SPSS 25.0统计学软件分析。计量资料以$\overline{X} \pm s$表示，多组间比较行单因素方差分析（One-Way ANOVA），不符合正态分布且方差不齐行W-H秩和检验。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠耳肿胀度与脏器指数

耳肿胀度：与A组比较，B组、C_1组、C_2组、D_1组、D_2组小鼠的耳肿胀度均显著降低（$P < 0.05$）；与B组比较，C_1组、C_2组小鼠的耳肿胀度均显著升高（$P < 0.05$）；与C_1组、C_2组比较，D_1组、D_2组小鼠的耳肿胀度分别显著降低（$P < 0.05$）。详见表1。

脏器指数：与A组比较，B组、D_1组、D_2组小鼠的胸腺指数、脾指数显著降低（$P < 0.01$），C_1组的脾指数显著降低（$P < 0.05$）；与B组比较，C_1组、C_2组、D_1组、D_2组小鼠的胸腺指数和脾指数均显著升高（$P < 0.01$）；与C_1组、C_2组比较，D_1组、D_2组小鼠的胸腺指数、脾指数分别显著降低（$P < 0.05$）。详见表1。

2.2 体外抗炎作用

RAW 264.7细胞活力：与G组比较，E_1组和F_1组的吸光度均显著降低（$P < 0.01$），E_5组的吸光度值显著升高（$P < 0.05$）。结果表明，吴茱萸、黄连制吴茱萸质量浓度为2，1，0.5，0.25 mg/mL时，其细胞存活率均>90%，表明这些质量浓度基本没有细胞毒性，是对RAW 264.7细胞作用的安全浓度。详见表2。

NO含量：与H组比较，I组、J_1组、J_2组、J_3组、K_1组、K_2组、K_3组的NO含量均显著增加（$P < 0.01$）；与I组比

表1 各组小鼠耳肿胀度与脏器指数比较($\bar{X} \pm s$, $n = 11$)

Tab. 1 Comparison of mice's ear swelling degree and organ indexes in each group ($\bar{X} \pm s$, $n = 11$)

组别	剂量	耳肿胀度(mg)	脏器指数(mg/g)	
			胸腺	脾
A组		8.82 ± 2.38	4.20 ± 1.18	5.15 ± 1.63
B组	5 mg/kg	3.07 ± 1.24**	0.95 ± 0.43**	1.45 ± 0.31**
C_1组	5 g/kg	4.90 ± 1.76**△	4.48 ± 1.12△△	3.81 ± 0.67*△△
C_2组	1 g/kg	6.15 ± 1.96*△△	4.11 ± 0.79△△	4.14 ± 0.47△△
D_1组	5 g/kg	2.79 ± 1.06**▲▲	1.88 ± 0.60**△△▲▲	2.35 ± 0.34**△△▲▲
D_2组	1 g/kg	4.18 ± 1.83**▲	3.00 ± 0.51**△△▲	3.55 ± 0.54**△△▲

注:与A组比较,*$P < 0.05$,**$P < 0.01$;与B组比较,△$P < 0.05$,△△$P < 0.01$;与C_1组比较,▲▲$P < 0.01$;与C_2组比较,▲$P < 0.05$。

Note: Compared with those in group A, *$P < 0.05$, **$P < 0.01$; Compared with those in group B, △$P < 0.05$, △△$P < 0.01$; Compared with those in group C_1, ▲▲$P < 0.01$; Compared with those in group C_2, ▲$P < 0.05$.

表2 对RAW 264.7细胞活力的影响($n = 4$)

Tab. 2 Effect on cell viability of RAW 264.7 ($n = 4$)

组别	质量浓度(mg/mL)	吸光度($\bar{X} \pm s$)	细胞存活率(%)	组别	质量浓度(mg/mL)	吸光度($\bar{X} \pm s$)	细胞存活率(%)
G组		0.814 ± 0.101	100.00	F_1组	4	0.537 ± 0.095**	65.94
E_1组	4	0.401 ± 0.027**	49.29	F_2组	2	0.930 ± 0.035	114.22
E_2组	2	0.790 ± 0.076	97.05	F_3组	1	0.874 ± 0.017	107.34
E_3组	1	0.807 ± 0.087	99.14	F_4组	0.5	0.823 ± 0.067	101.11
E_4组	0.5	0.906 ± 0.085	111.36	F_5组	0.25	0.924 ± 0.072	113.48
E_5组	0.25	1.003 ± 0.061*	123.22				

注:与G组比较,*$P < 0.05$,**$P < 0.01$。

Note: Compared with those in group G, *$P < 0.05$, **$P < 0.01$.

较,J_1组、J_2组、J_3组、K_1组、K_2组、K_3组的NO含量均显著减少($P < 0.01$)。详见表3。

IL-6和TNF-α水平:与H组比较,I组、J_1组、J_2组、J_3组、K_1组、K_2组、K_3组的IL-6和TNF-α水平均显著升高($P < 0.05$);与I组比较,J_1组、J_3组、K_1组、K_3组的IL-6水平均显著降低($P < 0.05$),J_1组、K_1组的TNF-α水平均显著降低($P < 0.05$);与J_1组比较,K_1组的IL-6水平显著降低($P < 0.05$)。详见表3。

2.3 DPPH自由基清除能力

结果见图1。可见,吴茱萸与黄连制吴茱萸对DPPH自由基的清除率均随药液质量浓度的升高而升高。当药液质量浓度为0.031 25~0.25 mg/mL时,同等质量浓度下吴茱萸比黄连制吴茱萸对DPPH自由基的清除率高;当药液质量浓度为0.5~1.0 mg/mL时,两者对DPPH自由基的清除率基本相同。详见图1。吴茱萸与黄连制吴茱萸的IC_{50}分别为0.074 3,0.106 7 mg/mL。

表3 各组细胞NO含量与IL-6,TNF-α水平比较($\bar{X} \pm s$, $n = 4$)

Tab. 3 Comparison of NO, IL-6 and TNF-α levels in each group ($\bar{X} \pm s$, $n = 4$)

组别	质量浓度(mg/mL)	NO(μmol/L)	IL-6(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)
H组		1.110 ± 0.352	33.25 ± 2.36	955.06 ± 148.13
I组		17.180 ± 0.402**	1 689.39 ± 195.99**	42 367.32 ± 1 189.12**
J_1组	2	3.233 ± 0.254**##	1 053.94 ± 176.69**##	26 851.45 ± 3 976.04**#
J_2组	1	9.246 ± 1.084**##	1 195.62 ± 597.70**	33 631.19 ± 3 979.43**
J_3组	0.5	12.036 ± 0.390**##	1 086.79 ± 377.91**#	34 604.68 ± 2 520.71**
K_1组	2	3.264 ± 0.505**##	806.12 ± 54.62**##▲	24 278.35 ± 4 087.06**##
K_2组	1	9.587 ± 0.544**##	1 298.72 ± 784.22*	33 102.99 ± 4 674.84**
K_3组	0.5	11.881 ± 0.491**##	1 212.29 ± 315.90**#	31 633.55 ± 6 404.18**

注:与H组比较,*$P < 0.05$,**$P < 0.01$;与I组比较,#$P < 0.05$,##$P < 0.01$;与J_1组比较,▲$P < 0.05$。

Note: Compared with those in group H, *$P < 0.05$, **$P < 0.01$; Compared with those in group I, #$P < 0.05$, ##$P < 0.01$; Compared with those in group J_1, ▲$P < 0.05$.

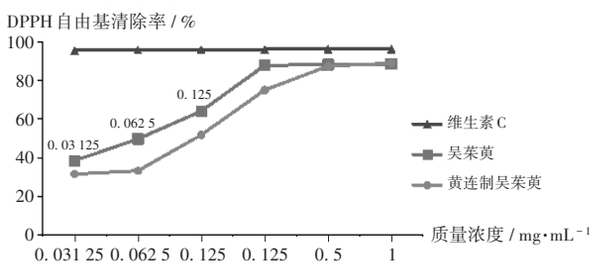


图1 吴茱萸与黄连制吴茱萸对DPPH自由基的清除能力

Fig. 1 Scavenging ability of DPPH free radicals by Evodiae Fructus and Evodiae Fructus processed with Coptidis Rhizoma

2.4 体外抑菌作用

抑菌圈直径:吴茱萸、黄连制吴茱萸对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为(22.83 ± 1.88)mm、(25.00 ± 2.48)mm,抑菌效果属极高敏;对大肠杆菌的抑菌圈直径分别为(7.83 ± 0.85)mm、(7.17 ± 0.94)mm,抑菌效果属低敏。

*MIC*和*MBC*:吴茱萸对金黄色葡萄球菌的*MIC*为15.63 mg/mL,低于黄连制吴茱萸的31.25 mg/mL,而*MBC*均为62.5 mg/mL;吴茱萸与黄连制吴茱萸对大肠杆菌的*MIC*和*MBC*均相同,分别为62.5,125.0 mg/mL。

3 讨论

黄连制吴茱萸是一种特色饮片,是"药汁制"炮制法之一,其体现了"以寒制热""生熟异用"的炮制原则。传统认为,药汁制不仅能改变药物的性味归经,解毒增效,还能增加适应证[22]。尽管黄连制吴茱萸有炮制用药经验记载,但其炮制前后的药理学作用、临床应用效果

的差异均不明确。

二甲苯致耳肿胀为常用急性炎症模型，有造模简单、重复率高等特点。LPS 刺激巨噬细胞 RAW 264.7 是经典的炎性细胞模型，能释放多种炎性因子，使炎性/抗炎介质失衡而诱发炎症[23]。在抗炎试验中，尽管吴茱萸和黄连制吴茱萸均能抑制二甲苯炎性耳肿胀，减少 RAW 264.7 细胞释放炎性因子 NO，IL－6，TNF－α，但与吴茱萸比较，黄连制吴茱萸抑制小鼠耳肿胀度及降低小鼠胸腺指数、脾指数的作用均显著更强（$P<0.05$）；高剂量黄连制吴茱萸降低 RAW 264.7 细胞炎性因子 IL－6 水平的作用显著更强（$P<0.05$）。提示黄连制吴茱萸炮制后的抗炎药效较强。分析原因，推测与辅料黄连汁的引入、“以药制药”的增效作用有关，吴茱萸炮制前后对脏器指数和部分炎性因子水平影响的差异可能与“以寒制热”的炮制药性变化及辅料黄连汁的用量相关，但具体作用机制还需进一步深入研究。

DPPH 法是广泛用于自由基清除能力的定量分析法，纸片法是抑菌效力的定性鉴别方法，微量二倍稀释法能较精确地测得受试物的抑菌活性。本研究结果显示，吴茱萸与黄连制吴茱萸均有体外清除 DPPH 自由基的活性，但黄连制吴茱萸的清除能力弱于吴茱萸；吴茱萸与黄连制吴茱萸均对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌有相似的体外抑菌效力，但黄连制吴茱萸的抑菌作用稍弱于吴茱萸。分析原因，吴茱萸中所含酚类化合物总量能影响其抗氧化活性[24]，吴茱萸中含有的挥发油成分具有抑菌作用[25]，黄连制吴茱萸炮制后酚类成分（绿原酸、金丝桃苷）和挥发油含量下降[9,26]，故黄连制吴茱萸炮制后的体外抗氧化作用和抑菌作用稍降可能与炮制引起酚类化合物、挥发油等成分含量变化相关。

综上所述，吴茱萸与黄连制吴茱萸均有抗炎、抗氧化、抑菌作用，但炮制后药性更缓和，抗炎作用更强，临床应用时应注意对生、制饮片甄别选用。

参考文献

[1] 国家药典委员会．中华人民共和国药典（一部）[M]．北京：中国医药科技出版社，2020：178.
[2] 张红梅，范　颖．黄连与吴茱萸对药方的应用沿革及配伍内涵探析[J]．陕西中医学院学报，2010，33(6)：107－108.
[3] 钟凌云．中药炮制学（第 5 版）[M]．北京．中国中医药出版社，2021：329.
[4] 黄宫绣．本草求真[M]．北京：中国中医药出版社，1997：159－160.
[5] 凌　奂．本草害利[M]．北京：中医古籍出版社，1982：49－50.
[6] 孔奕丹，齐　英，崔　娜，等．吴茱萸化学成分及药理作用研究进展[J]．中医药信息，2023，40(5)：79－83.
[7] 周红祖，陈永恒，邱裕豪，等．黄连与吴茱萸药对配方颗粒、单煎与共煎对幽门螺杆菌抑制作用的研究[J]．中南药学，2019，17(1)：48－53.
[8] 倪　晶，许异川，朱凌宇，等．基于“量效关系”探讨不同比例黄连－吴茱萸药对的作用[J]．中医药学报，2023，51(11)：63－68.
[9] 赵文燕，张安然，王　蝉，等．基于 UPLC－MS/MS 吴茱萸不同炮制品种的有效成分含量测定及多元统计分析[J]．中华中医药学刊，2023，42(3)：181－185.
[10] 陈　路，冯世鑫，蒋　妮，等．不同炮制方法对吴茱萸生物碱类有效成分含量的影响[J]．中国药业，2021，30(17)：57－60.
[11] 山东省食品药品监督管理局．山东省中药饮片炮制规范[M]．济南：山东科技出版社，2013：196－197.
[12] 李仪奎．中药药理实验方法学（第 2 版）[M]．上海：上海科学技术出版社，2006：765－767.
[13] 陈　奇．中药药理研究方法学[M]．北京：人民卫生出版社，2006：1169.
[14] 惠　慧，陈祺松，田　港，等．基于谱效关联分析的吴茱萸抗炎活性的质量标志物研究[J]．中草药，2021，52(9)：2589－2596.
[15] 赵敏杰，鞠成国，林桂梅，等．狗脊不同炮制品的抗炎作用及其机制研究[J]．中成药，2015，37(9)：1990－1993.
[16] 王琴琴，韩　珊，李新星，等．毛蕊花苷对脂多糖诱导 RAW 264.7 细胞炎症模型的作用及其机制研究[J]．中草药，2020，51(16)：4217－4222.
[17] 刘　洋，郭慧清，杨　乐，等．3 种商品规格羌活体内外抗炎作用差异与谱效关系研究[J]．中草药，2019，50(24)：6052－6058.
[18] 杨艾华，宋姗姗，王微微．湄潭白茶多糖抗氧化活性及稳定性研究[J]．食品科技，2021，46(10)：194－199.
[19] 牛东玲，刘向才，李　艳．蓼子朴花精油体内体外的抗菌活性[J]．现代食品科技，2018，34(4)：63－68.
[20] 林钧艺，宋春莲，张　莹，等．黄芩茎叶发酵黄酮的体外抑菌及抗炎作用研究[J]．饲料研究，2024，47(1)：61－66.
[21] 冯　岭，刘勃兴，赵安奇，等．15 味中草药水煎剂对狐源 O_1 型肠外致病性大肠杆菌体外抑菌效果[J]．野生动物学报，2021，42(4)：1183－1186.
[22] 史　辑，许　栟，曹　晖，等．古今药汁制法演变及现代研究进展[J]．中国药品标准，2023，24(3)：224－239.
[23] 谢治深，黄小虹，袁　永，等．泽泻抑制脂多糖诱导的 RAW 264.7 炎症及作用机制[J]．时珍国医国药，2020，31(7)：1586－1590.
[24] 刘珊珊，周兴清，梁彩霞，等．吴茱萸水提取物化学成分研究[J]．中国实验方剂学杂志，2016，22(8)：58.
[25] 李雯婧，李国军，王　智，等．吴茱萸挥发油抑菌活性及其化学成分研究[J]．湖南农业科学，2014(10)：16－18.
[26] 刘舒凌，廖彭莹，吴燕春，等．不同辅料炮制对吴茱萸指标性成分及体外肝细胞毒性的影响[J]．中华中医药学刊，2022，40(2)：206－210.

（收稿日期：2024－05－29；修回日期：2025－03－09）