

厚朴及姜厚朴乙酸乙酯提取部位对小鼠胃肠运动功能的影响

程弘夏¹, 李佩², 许腊英^{2*}

(1. 武汉理工大学 华夏学院, 武汉 430223; 2. 湖北中医药大学 药学院, 武汉 430065)

[摘要] **目的:**比较厚朴与姜厚朴乙酸乙酯提取部位对促进胃肠运动功能的药效。**方法:**SPF级昆明种小鼠随机分为阴性(或模型)对照组、阳性药多潘立酮 $35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 或雷尼替丁 $45.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组和厚朴高、中、低剂量($0.678, 0.452, 0.226\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),姜厚朴高、中、低剂量($0.708, 0.472, 0.236\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)给药组,各组小鼠均连续 $ig\ 3\text{ d}$,比较小肠推进率、盐酸性溃疡率、血清胃泌素含量。**结果:**厚朴和姜厚朴乙酸乙酯提取部位均能不同程度促进胃肠动力功能,在促进小肠推进率上,各给药组与阴性组有显著差异($P < 0.05$),与阳性药组无显著差异。在抑制溃疡上各给药组与模型组有显著差异($P < 0.05$)。胃泌素含量厚朴低、中剂量与姜厚朴中剂量组血清胃泌素升高与阴性组存在显著差异($P < 0.05$)。**结论:**姜厚朴与厚朴乙酸乙酯提取部位具有促进胃肠运动功能保护胃黏膜的作用,姜厚朴药效优于厚朴。

[关键词] 厚朴; 姜厚朴; 乙酸乙酯提取部位; 胃肠运动功能; 药效学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0143-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240143

Effect of Ethyl Acetate Fractions in *Magnolia officinalis* and Ginger *Magnolia officinalis* on Gastrointestinal Motility Function in Mice

CHENG Hong-xia¹, LI Pei², XU La-ying^{2*}

(1. Wuhan University of Technology Huaxia College, Wuhan 430223, China;

2. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the effect of ethyl acetate fractions in *Magnolia officinalis* and ginger *M. officinalis* on gastrointestinal motility function. **Method:** SPF Kunming mice were randomly divided into high, medium and low dose group, positive and negative control group. The dosage for mice was 1, 2 and 3 times the highest *M. officinalis* for adult. After 3 days of administration, the effect of gastrointestinal motility function was evaluated by the intestinal propulsion rate, ulceration caused by hydrochloric acid and contents of the gastrin. **Result:** There was significant difference between test groups and negative contrast groups in the intestinal propulsion rate ($P < 0.05$), and no significant difference between test groups and positive contrast groups. There was significant difference between test groups and negative contrast groups on inhibition of gastric ulcer ($P < 0.05$). There was significant difference between medium dosage of ginger *M. officinalis*, low dosage of *M. officinalis* and negative contrast group on contents of the gastrin ($P < 0.05$). There was no significant difference between medium dosage of ginger *M. officinalis* and positive contrast groups. **Conclusion:** The ethyl acetate fractions extracted from *M. officinalis* and ginger *M. officinalis* may promote gastrointestinal motility and protect gastric mucosa. The effect of ginger *M. officinalis* is better than that of *M. officinalis*.

[Key words] *Magnolia officinalis*; ginger *Magnolia officinalis*; ethyl acetate fractions; gastrointestinal motility function; pharmacodynamic

[收稿日期] 20140521(015)

[基金项目] 国家中医药行业科研专项[201007012-2]

[第一作者] 程弘夏,博士,副教授,从事药物制剂及活性成分与生物大分子作用机制研究, E-mail:chenghx70@aliyun.com

[通讯作者] *许腊英,教授,从事中药化学分析及中药炮制质量标准研究, E-mail:xly@163.com

厚朴是木兰科植物厚朴或凹叶厚朴的干燥干皮、枝皮及根皮^[1]。具有行气燥湿、降逆平喘的功效,现代药理学证明厚朴具有促进胃肠动力的功效^[2],临床主要用于湿阻气滞,脘腹胀满或呕吐泻痢,积滞便秘,痰饮喘咳等。厚朴的辛香燥烈之性有损胃阴之虞,而姜制后可减轻其对咽喉的刺激性,并可增强宽中和胃的功效,故临床上常用姜制品^[3-4]。厚朴含多种活性成分如木质素类、挥发油类、生物碱等。目前厚朴的研究多集中于炮制前后总提液的药效对比及厚朴酚、和厚朴酚含量的变化,而针对炮制前后,不同提取部位成分及药理作用的改变研究甚少。临床研究证明促进胃肠动力是厚朴的主要药效之一^[4]。本文采用前期优选的提取方法得到厚朴、姜厚朴乙酸乙酯部位,在该部位成分进行分析的基础上,开展了药效学研究,为进一步阐明炮制机制及临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药品及试剂 厚朴、姜厚朴(湖北中医学院炮制研究室提供,厚朴来自湖北省厚朴 GAP 示范基地,经湖北省中医药大学张林碧教授鉴定为厚朴 *Magnolia officinalis* 干燥干皮。厚朴,姜厚朴乙酸乙酯部位(自制,浸膏收率分别为 16.6%,17.3%)、多潘立酮片(西安杨森制药有限公司,批号 131030207)、盐酸雷尼替丁(江西汇仁药业有限公司,批号 131223)、活性炭(购自国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 动物 SPF 级昆明种小鼠,雌雄各半,体重(20±2)g,购自华中科技大学同济医学院实验动物中心,合格证号 SCXK(鄂)2004-0007。

1.3 仪器 DT-5 型离心机(北京时代北利离心机有限公司),胃泌素放射免疫分析试剂盒(北京北方生物技术研究所),HH6003-放射免疫分析仪(北京核海高技术开发公司)。

1.4 药液的制备 根据 2010 年版《中国药典》记载临床上厚朴饮片入药剂量为 3~10 g·d⁻¹^[5],本实验将 9 g 厚朴饮片作为成人每天用剂量,多潘立酮成人剂量为 150 mg·d⁻¹,成人体重以 60 kg 计,小鼠以 20 g 计。

供试品溶液的制备:设定小鼠的低、中、高剂量分别为成人日厚朴饮片高剂量的 1,2,3 倍。分别称取 3 剂量厚朴和姜厚朴乙酸乙酯部位提取物,用 2% 聚山梨酯的双蒸水溶解,制备成含厚朴 11.3,22.6,33.9 g·L⁻¹,含姜厚朴 11.8,23.6,35.4 g·L⁻¹ 低、中、高 3 个质量浓度。

多潘立酮溶液的制备:取多潘立酮数片,置研钵内,研成细粉,加入蒸馏水搅拌均匀,配置成 1.75 g·L⁻¹ 的溶液备用。

盐酸雷尼替丁溶液制备:取盐酸雷尼替丁数片,置研钵内,研成细粉,加入蒸馏水搅拌均匀,配置成 2.275 g·L⁻¹ 的溶液备用。

炭末糊的制备:分别取阿拉伯胶 1 g,活性炭粉末 2 g,慢慢加入 20 mL 的蒸馏水,一起慢慢研磨,至完全混均,转移到烧杯中,备用。

2 方法

2.1 对小肠碳末推进及血清胃泌素含量的影响

2.1.1 动物及分组 小鼠 80 只,雌雄各半,随机分成 8 组,每组 10 只,分别为:①阴性组,②多潘立酮阳性组(0.035 g·kg⁻¹),③~⑤厚朴乙酸乙酯低、中、高剂量组(0.226,0.452,0.678 g·kg⁻¹),⑥~⑧姜厚朴乙酸乙酯低、中、高剂量组(0.236,0.472,0.708 g·kg⁻¹),其中阴性组给予 0.9% 的生理盐水,阳性对照组给予多潘立酮片混悬液 0.035 g·kg⁻¹。

2.1.2 小肠推进及胃残留测定 各组小鼠每天 ig 给药 1 次,每次 0.4 mL,连续 3 d。末次给药前 24 h 开始禁食不禁水,最后 1 次给药后 1 h 小鼠 ig 0.4 mL 黑色炭末糊,20 min 后脱颈椎处死小鼠。迅速眼球后血管丛取血,血液放 EP 管备用。

小心剪开腹腔,迅速取出小肠,轻轻剥离肠系膜后将小肠拉直,测量幽门至炭末前沿的距离及幽门至回盲部的小肠全长,根据公式(1)计算小肠推进率。

$$\text{小肠推进率} = \frac{\text{炭末推进长度}(\text{cm})}{\text{小肠长度}(\text{cm})} \times 100\% \quad (1)$$

2.1.3 血清胃泌素的测定 将前述待用血液 3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min 分离血清,用放射免疫法测定血清中胃泌素的含量(按放射免疫试剂盒操作说明书方法操作)。

2.2 盐酸胃溃疡试验

2.2.1 动物及分组 小鼠 60 只,雌雄各半,随机分成 6 组,每组 8 只,分别为:①模型组,②盐酸雷尼替丁阳性组,③~④厚朴乙酸乙酯低、高剂量组,⑤~⑥姜厚朴乙酸乙酯低、高剂量组,其中模型组给予 0.9% 的生理盐水,阳性对照组给予盐酸雷尼替丁混悬液(0.045 5 g·kg⁻¹),给药组剂量按 2.1.1 各组项下剂量。各组小鼠每天 ig 给药 1 次,每次 0.4 mL,连续 3 d,最后 1 次 ig 前 24 h 禁食不禁水。最后 1 次 ig 1 h 后 ig 0.6 mol·mL⁻¹ 盐酸,1 h 后眼球后血管丛取血后脱颈椎处死,血液待用。

2.2.2 胃条状损害长度的测定 小心解剖出胃,用剪刀沿胃大弯剪开,用生理盐水清洗,应激性胃溃疡在腺胃部沿着血管走行分布,表面覆盖凝血,用滤纸擦拭凝血后镜检,以深褐色条索状溃疡的长度总和(mm)表示溃疡指数,溃疡抑制率按公式2计算。

$$\text{溃疡抑制率} = (\text{对照组溃疡长度总和} - \text{实验组溃疡长度总和}) / \text{对照组溃疡长度总和} \times 100\% \quad (2)$$

2.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学处理,实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较均采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

3 结果

3.1 对小肠推进率及血清胃泌素的影响 小肠推进结果显示,各剂量给药组与阴性组比较小肠推进率显著增加($P < 0.05$)。厚朴的药效低剂量组效果好,而姜厚朴的药效是中剂量 > 低剂量 > 高剂量。中、高剂量姜厚朴在促进小肠推进率上优于对应剂量的厚朴,且中剂量存在显著差异,见表1。

胃泌素测定结果显示,厚朴低剂量组与姜厚朴中剂量组胃泌素分泌增加,与阴性组有显著差异($P < 0.05$),其他剂量组虽无显著差异,但较阴性组对小鼠胃泌素的分泌上有不同程度促进。厚朴乙酸乙酯提取部位在对胃泌素分泌上低剂量组胃泌素分泌多,而姜厚朴的药效呈现中剂量 > 高剂量 > 低剂量,且中剂量的药效与阳性对照组无显著差异,见表1。

表1 厚朴、姜厚朴乙酸乙酯提取部位对小鼠小肠推进率及胃泌素水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	小肠推进率 /%	胃泌素 /ng·L ⁻¹
阴性	-	22.60 ± 14.06	56.79 ± 6.80
多潘立酮	0.035	49.67 ± 10.28 ¹⁾	79.28 ± 6.97
厚朴	0.678	43.33 ± 15.14 ¹⁾	59.05 ± 8.52
	0.452	47.96 ± 15.32 ^{1,2)}	60.52 ± 9.14 ²⁾
	0.226	48.33 ± 19.00 ¹⁾	64.92 ± 7.29 ¹⁾
姜厚朴	0.708	45.02 ± 12.43 ¹⁾	63.17 ± 8.14
	0.472	52.13 ± 17.28 ¹⁾	75.28 ± 9.38 ¹⁾
	0.236	46.25 ± 21.51 ¹⁾	61.45 ± 7.13

注:与阴性组比较¹⁾ $P < 0.05$;与姜厚朴对应剂量组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 对盐酸致胃损伤的影响 与模型组比较,各给药组溃疡指数均有显著降低($P < 0.05$)。姜厚朴较厚朴在溃疡指数降低上有显著差异($P < 0.05$)。见表2。

表2 厚朴、姜厚朴乙酸乙酯提取部位对盐酸性胃溃疡溃疡指数及抑制率比较($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	溃疡指数 /mm	溃疡抑制率 /%
模型	-	54.6 ± 11.5	-
雷尼替丁	0.045 5	8.2 ± 2.1 ¹⁾	82.6 ± 6.7 ¹⁾
厚朴	0.678	29.6 ± 5.8 ^{1,2)}	45.8 ± 10.7 ^{1,2)}
	0.226	23.1 ± 2.8 ^{1,2)}	57.9 ± 5.1 ^{1,2)}
姜厚朴	0.708	19.4 ± 4.8 ¹⁾	64.5 ± 8.9 ¹⁾
	0.236	11.9 ± 6.5 ¹⁾	78.2 ± 11.9 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$;与姜厚朴对应剂量组间比较²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

厚朴主要的功效是作用于胃肠道,具有宽中和胃的作用。研究结果显示净制和姜炙厚朴的乙酸乙酯提取部位在增强小肠推进率、抑制盐酸对胃溃疡的损害均显著优于模型组,说明厚朴炮制前后乙酸乙酯提取部位对小肠运动功能有促进作用。

通过研究发现给药组对血清胃泌素含量影响不显著,只有厚朴低剂量和姜厚朴中剂量组与阴性组存在显著差异。这可能是因为虽然脑肠肽类激素常作为评价胃肠动力的一个敏感指标,但该类激素包括胃泌素、胃动素、血管活性肠肽、P物质等。小肠运动功能受多种激素综合作用影响,单一激素不能充分反映小肠的运动功能的原因^[6-7]。

在促进胃肠运动功能上厚朴低剂量组优于高剂量组。研究发现姜厚朴乙酸乙酯提取部位在对各项影响胃动力指标中总体药效趋势优于厚朴,特别是中剂量组,在影响小肠推进率和胃泌素上与阳性组无显著差异。

综合分析,厚朴炮制前后乙酸乙酯提取部位均对小肠运动功能有促进作用,且姜厚朴药效优于厚朴。说明炮制后有助于胃肠功能活性成分或含量产生了变化,也进一步说明了炮制的必要性。实验结果也提示在临床使用上要根据使用厚朴的种类选择合适的剂量。

在以往关于厚朴药效研究中,多集中在水提液上。前期研究发现,厚朴和姜厚朴的乙酸乙酯部位较其水提液多出两组成分,且活性成分含量高。通过对比过去厚朴、姜厚朴水提药效研究^[3],结果显示对溃疡抑制率上乙酸乙酯提取部位优于水提液,而对小肠推进上正好相反。这可能与乙酸乙酯提取部位新成分增加及相同成分含量不同有关,今后就乙酸乙酯提取部位成分确认及其他提取部位药效

灭幽汤对 HP 相关性胃炎脾胃湿热证小鼠模型中 NF- κ B p65 蛋白, IL-8 的表达的影响

喻斌, 夏蓉, 王小娟*, 郭璇, 徐寅, 杜中华, 罗燕, 尹娇
(湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007)

[摘要] 目的: 建立幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*, HP) 相关性胃炎脾胃湿热证小鼠模型, 探讨其与核因子 (NF)- κ B p65 蛋白表达及下游的炎症因子白介素-8 (IL-8) 相关性, 及灭幽汤的作用。方法: 60 只 8 周龄 BALB/c 小鼠, 雌雄各半, 按体重分层随机分为 6 组: 正常组、模型组、灭幽汤组低、中、高剂量 (6.2, 12.4, 24.8 g·kg⁻¹)、胃三联组 (280 mg·kg⁻¹), 对实验组小鼠进行 HP 相关性胃炎脾胃湿热证造模: 适应性饲养 3 d 予高脂饲养, 第 11 天放入湿热箱中, 第 16 天接种 HP, 隔日灌胃 1 次, 共 3 次, 定植 2 周后以胶体金法检测血清 HP 抗体, 第 36 天药物组予相应浓度药物灌胃, 每天 1 次, 连续 14 d, 其他组正常饲养, 第 53 天处死所有小鼠。观察小鼠一般情况及进食量、饮水量、体重、肛温等变化, 光镜下 HE 染色观察胃黏膜情况并进行积分, 免疫组化法检测胃组织中 NF- κ B p65 蛋白表达, 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清中 IL-8。结果: 与对照组比较, 模型组小鼠胃窦部胃黏膜慢性炎症积分, NF- κ B p65 蛋白, IL-8 升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 中、高剂量灭幽汤组及胃三联组的胃窦部胃黏膜慢性炎症积分, NF- κ B p65 蛋白, IL-8 降低 ($P < 0.05$), 而低剂量灭幽汤组的变化无统计学差异。结论: HP 相关性胃炎脾胃湿热证发生的机制可能与 NF- κ B p65 蛋白过度表达及 IL-8 升高而引发炎症反应相关; 灭幽汤可能通过抑制 NF- κ B p65 蛋白表达及 IL-8 而发挥其抗炎作用。

[关键词] HP 相关性胃炎; 灭幽汤; 脾胃湿热; 核因子- κ B p65 蛋白; 白介素-8

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0146-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240146

Effect of Mieyou Decoction on the Expression of NF- κ B p65 Protein and IL-8 in HP Related Gastritis of Spleen Stomach Damp Heat Syndrome Mouse Model

YU Bin, XIA Rong, WANG Xiao-juan*, GUO Xuan, XU Yin, DU Zhong-hua, LUO Yan, YIN Jiao
(The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

[收稿日期] 20140511(001)

[基金项目] 湖南省科技厅项目(2011SK3096); 湖南省自然科学基金重点项目(12JJ2046); 湖南省科普计划项目(2013KP0111)

[第一作者] 喻斌, 教授, 主任医师, 从事脾胃病研究, Tel: 13507314549

[通讯作者] *王小娟, 教授, 主任医师, Tel: 0731-85369048, E-mail: 1609175798@qq.com

展开深入研究, 为进一步阐明厚朴药理作用奠定基础。

[参考文献]

- [1] 彭博, 贺蓉, 李建荣, 等. 厚朴和凹叶厚朴对实验性胃肠动力障碍的药效作用差异研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(19): 2624.
- [2] 张永太, 吴皓. 厚朴药理学研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(5): 96.
- [3] 郭健, 晏仁义, 杨滨, 等. 炮制对厚朴主要化学成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 117.
- [4] 许腊英, 胡静, 翁德会, 等. 净厚朴与姜厚朴水煎液主

要药理学比较[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(11): 1503.

- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 235.
- [6] 王志刚, 刘凤林. 胃动素受体的研究进展[J]. 国外医学: 药学分册, 2001, 28(6): 344.
- [7] 魏睦新, 魏兰福, 邹百仓, 等. 胃肠动力中药作用机制研究[J]. 中西医结合学报, 2004, 2(3): 163.

[责任编辑 聂淑琴]