

枳壳不同炮制品的燥性比较及其对功能性消化不良大鼠胃肠功能的影响

祝婧, 钟凌云*, 叶喜德, 龚千锋, 张金莲
(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

[摘要] **目的:**比较枳壳不同炮制品的燥性,考察其对功能性消化不良(FD)大鼠胃肠功能的影响。**方法:**以大鼠饮水量、排尿量、肾水通道蛋白3(AQP3)含量、血清环磷酸腺苷(cAMP)与血清环磷酸鸟苷(cGMP)比值为评价指标,观察不同剂量的枳壳生品、麸炒枳壳、蜜麸枳壳对健康大鼠水液代谢的影响;以胃黏膜损伤指数,血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素6(IL-6),IL-8含量为评价指标,观察不同剂量枳壳生品、麸炒枳壳、蜜麸枳壳对健康大鼠胃黏膜损伤的影响;以大鼠胃残留率和小肠推进率,血清胃动素(MTL),血管活性肠肽(VIP),降钙素基因相关肽(CGRP)含量为评价指标,观察不同剂量枳壳生品、麸炒枳壳、蜜麸枳壳对FD大鼠胃肠功能的影响。**结果:**在水液代谢方面,同等剂量给药组与空白组相比,差异性排序为枳壳生品>麸炒枳壳>蜜麸枳壳,且高剂量组>低剂量组;在胃黏膜损伤方面,不同剂量枳壳生品、麸炒枳壳、蜜麸枳壳组各项指标与空白组比较均无显著性差异;在促胃肠动力方面,同等剂量给药组与模型组相比,差异性为麸炒枳壳>枳壳生品>蜜麸枳壳,且低剂量组>高剂量组。**结论:**枳壳生品的燥性主要表现为对机体津液的损伤,且强度与剂量有关,对健康大鼠胃黏膜未见明显直接刺激。炮制后可在一定程度上缓和伤津之弊,且以蜜麸枳壳缓和作用最佳;枳壳生品和炮制品均可促进FD大鼠胃肠功能的恢复,麸炒枳壳治疗作用优于生品与蜜麸制品。

[关键词] 枳壳; 炮制品; 燥性; 胃肠功能; 麦麸; 蜂蜜; 肾水通道蛋白3; 白细胞介素

[中图分类号] R283;R943.1;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)22-0020-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017220020

Comparison of Dryness in Different Processed Products of Aurantii Fructus and Investigation of Their Effect on Gastrointestinal Function in Rats with Functional Dyspepsia

ZHU Jing, ZHONG Ling-yun*, YE Xi-de, GONG Qian-feng, ZHANG Jin-lian

(School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the dryness in different processed products of Aurantii Fructus, and investigate their effect on gastrointestinal function of functional dyspepsia (FD) rats. **Method:** Taking water intake, urinary output, aquaporin 3 (AQP3) content in kidney and serum cyclic adenosine monophosphate (cAMP) /serum cyclic guanosine monophosphate (cGMP) as indexes, effect of crude and processed products of Aurantii Fructus with different doses on the water metabolism of healthy rats was observed. Taking gastric mucosal damage index and contents of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), IL-8 as indexes, effect of crude and processed products of Aurantii Fructus with different doses on gastric mucosal injury of healthy rats was observed. Taking gastric remnant rate, intestinal propulsive rate and contents of serum motilin (MTL), vasoactive intestinal peptide (VIP), calcitonin gene-related peptide (CGRP) as indexes, effect of crude and processed products of Aurantii Fructus with different doses on gastrointestinal function of functional dyspepsia rats

[收稿日期] 20170807(021)

[基金项目] 国家中医药管理局公益性行业科研专项(201507002-2)

[第一作者] 祝婧,在读博士,讲师,从事中药饮片炮制机制研究,Tel:0791-87118995,E-mail:277836041@qq.com

[通讯作者] *钟凌云,博士,教授,博士生导师,从事中药饮片质量标准研究,Tel:0791-87118939,E-mail:ly1638163@163.com

was observed. **Result:** In the aspect of water metabolism, the same dose of medicine compared with the blank group, difference was in the order of Aurantii Fructus > Aurantii Fructus fried with bran > Aurantii Fructus fried with honey and bran, and the high dose group is higher than the low dose group. In indexes of gastric mucosal injury, there was no significant difference between processed products of Aurantii Fructus and the blank group. In the aspect of gastrointestinal motility, the same dose of medicine compared with the model group, difference was in the order of Aurantii Fructus fried with bran > Aurantii Fructus > Aurantii Fructus fried with honey and bran, and the low dose group > the high dose group. **Conclusion:** The dryness of Aurantii Fructus is mainly performance for body fluid injury, the degree is related to the drug dosage, and it has no obvious stimulation of stomach. After being processed, Aurantii Fructus can relax the body fluid injury to a certain extent, and Aurantii Fructus fried with honey and bran has the best effect to ease the adverse reaction. Different processed products of Aurantii Fructus all can promote the recovery of gastrointestinal function of FD rats, and the treatment of Aurantii Fructus fried with bran is stronger than the crude and honey-bran products.

[**Key words**] Aurantii Fructus; processed products; dryness; gastrointestinal function; wheat bran; honey; aquaporin 3; interleukin

枳壳为芸香科植物酸橙及其栽培变种的干燥未成熟果实,以枳实之名始载于《神农本草经》,至《新修本草》中首次将枳实与枳壳功效进行了区分。枳壳具有理气宽中、行滞消胀之功效,主治胸胁气滞、胀满疼痛、食积不化等证^[1]。生品偏于行气宽中除胀,主要用于气实壅满所致之脘腹胀痛或胁肋胀痛;麸炒后可增强理气健胃消食之功效,用于宿食停滞、呕逆暖气、风疹瘙痒。枳壳生品燥性较强,经炮制后可缓和其峻烈之性。目前枳壳主流炮制品为生品与麸炒品,此外尚有蜜麸枳壳、盐炙枳壳、醋炙枳壳等炮制品种^[2]。其中蜜麸枳壳为江西樟帮特色炮制品种^[3],以双重辅料对药物进行炮制,以达到减燥增效的目的。

燥性为中药的固有性能之一,已有文献在传统理论方面对其进行了研究^[4],但关于枳壳的燥性科学内涵以及具体检测指标则尚未见报道。《黄帝内经》记载“燥胜则干”,据此推断枳壳燥性可能是该药物可导致机体津液损伤的原因,即可能产生伤津之弊;另据《本草蒙筌》所载“麦麸皮制抑醋性勿伤上隔”,燥性强烈的药物服用后会损伤脾胃,易引起恶心、呕吐等副作用,从而推测枳壳燥性可能与药物对胃黏膜的直接刺激有关。为论证以上推断,本实验选取饮水量及排尿量、肾水通道蛋白 3,血清环磷酸腺苷,血清环磷酸鸟苷含量等为评价指标,考察枳壳不同炮制品对机体津液代谢的影响;选取胃黏膜损伤指数及血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6 (IL-6), IL-8 为评价指标,考察枳壳不同炮制品对局部胃黏膜刺激的影响。在枳壳炮制增效的研究中,基于枳壳行气宽中除胀的主要功效,考察了枳

壳不同炮制品对功能性消化不良 (FD) 大鼠胃残留率、小肠推进率及血清胃动素、血管活性肠肽、降钙素基因相关肽含量的影响,比较枳壳不同炮制品宽中除胀药效指标的差异,为阐明枳壳“减燥增效”的炮制机制奠定基础,并为优选具有确切疗效的枳壳饮片品种提供实验依据。

1 材料

TGL-16B 型高速冷冻离心机 (上海安亭科学仪器厂), DG5033A 型酶标仪 (南京华东电子集团医疗装备有限责任公司), FA1004B 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司)。枳壳购自江西樟树天齐堂中药饮片有限公司,经江西中医药大学中药炮制学科组龚千锋教授鉴定为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* 的干燥未成熟果实;麸炒枳壳、蜜麸枳壳均为实验室自制,麦麸 (淮阳县梁记农产品有限公司), 蜂蜜 (江西汪氏蜂蜜园有限公司), 肾水通道蛋白 3 (AQP3) 酶联免疫吸附试剂盒 (南京建成生物工程研究所,批号 20160324), 多潘立酮片 (西安杨森制药有限公司,国药准字 H10910003); 血清胃动素 (MTL), 血管活性肠肽 (VIP), 降钙素基因相关肽 (CGRP) 酶联免疫吸附试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司,批号分别为 K21036596, K18036595, K20036539); 血清环磷酸腺苷 (cAMP), 血清环磷酸鸟苷 (cGMP), TNF- α 酶联免疫吸附试剂盒 (批号 20170523) 和 IL-6, IL-8 酶联免疫吸附试剂盒 (批号 20170512) 均购自南京建成生物工程研究所。

清洁级 SD 大鼠,雌雄各半,体重 (200 \pm 20) g,由南昌大学动物实验中心提供,饲养于江西中医药大学实验动物实验中心屏障环境内,合

格证号 SCXK(赣)2016-0007。所有动物实验研究均符合江西中医药大学伦理委员会有关动物研究指导原则。

2 方法与结果

2.1 药物的制备

2.1.1 麸炒枳壳^[2] 取麸皮均匀撒入热锅内,中火加热,起烟时加入枳壳,不断翻动,炒至淡黄色时取出,筛去麸皮,晾凉。枳壳每 100 kg 用麦麸 10 kg。

2.1.2 蜜麸枳壳^[3] 将麦麸与炼蜜(加适量开水稀释)拌匀,搓散,过筛,干燥至不粘手为度。麸皮每 100 kg 用炼蜜 30 kg。中火将锅预热后均匀撒入蜜麸,至起烟时投入枳壳,炒至药物表面老黄色时取出,筛去麦麸,放凉。枳壳每 100 kg 用蜜麸 10 kg。

2.1.3 药物提取液 称取适量枳壳生品、麸炒品和蜜麸品,分别加入 10 倍量水煎煮 30 min,重复 2 次,合并滤液,减压浓缩成 1 g·mL⁻¹ 的药液,低剂量给药时稀释 10 倍,配成 0.1 g·mL⁻¹ 的药液;多潘立酮片粉碎后过 120 目筛,加水溶解,制成 0.2 g·L⁻¹ 的溶液。

2.1.4 半固体糊 取羧甲基纤维素钠 20 g,置于 500 mL 水中,加热超声至完全溶解,加入奶粉 16 g,淀粉 8 g,蔗糖 8 g 及活性炭粉末 2 g,搅拌均匀,即得。

2.2 枳壳不同炮制品的燥性比较

2.2.1 分组与造模 取 SD 大鼠 80 只,平均分成 8 组,分别为空白组,生品枳壳高、低剂量组,麸炒枳壳高、低剂量组,蜜麸枳壳高、低剂量组及模型组,每组 10 只,分别放入代谢笼中。模型组采用乙醇致胃黏膜损伤法^[5]复制胃黏膜损伤病理模型,每天上午按剂量 10 mL·kg⁻¹ 灌胃 60% 乙醇,连续给药 28 d。

2.2.2 给药方式 给药组每天上午给大鼠灌服相应药物。生品枳壳、麸炒枳壳、蜜麸枳壳低剂量组大鼠按 1 g·kg⁻¹,高剂量组按 10 g·kg⁻¹ 的剂量灌服相应药液,模型组、空白组大鼠均按 10 mL·kg⁻¹ 的剂量灌服生理盐水,全部实验动物均连续给药 28 d。

2.2.3 对健康大鼠饮水量与排尿量的影响 取空白组,生品枳壳高、低剂量组,麸炒枳壳高、低剂量组,蜜麸枳壳高、低剂量组共 7 组大鼠作为实验对象($n = 10$),于给药第 26 天开始记录大鼠每日从 9:00 至 21:00 共计 12 h 的累积饮水量和排尿量,持续记录 3 d。采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,结果见表 1。

表 1 各组大鼠的总饮水量与总排尿量($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Total water intake and total urinary output of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

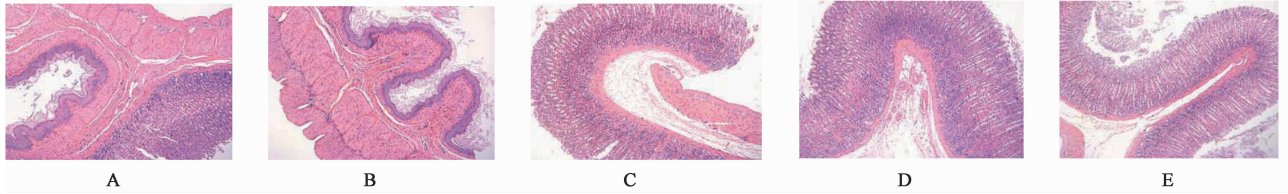
组别	剂量 /g·kg ⁻¹	总饮水量	总排尿量
空白	-	56.74 ± 5.78	20.75 ± 2.19
生品枳壳	1	68.50 ± 4.16 ²⁾	9.32 ± 2.16 ²⁾
	10	83.28 ± 8.99 ²⁾	5.50 ± 0.56 ²⁾
麸炒枳壳	1	62.16 ± 8.21 ¹⁾	18.01 ± 2.99 ¹⁾
	10	67.52 ± 6.35 ¹⁾	13.82 ± 2.65 ¹⁾
蜜麸枳壳	1	57.62 ± 3.13	20.84 ± 4.10
	10	60.83 ± 4.11 ¹⁾	15.52 ± 2.81 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

由表 1 可知,在总饮水量方面,各给药组大鼠与空白组相比均有不同程度的增加,同等剂量给药组总饮水量排序为生品 > 麸炒品 > 蜜麸制品,且随剂量的增高而增加。其中生品枳壳不同剂量组与空白组相比均有极显著性差异,表明长期灌胃枳壳生品可使大鼠饮水量增加,经炮制后则可显著减轻大鼠消渴症状;在总排尿量方面,各给药组大鼠与空白组相比有不同程度的减少,同等剂量给药组总排尿量排序为生品 < 麸炒品 < 蜜麸制品,且随剂量的增高而减少。生品枳壳高、低剂量组排尿量与空白组相比具有极显著性差异,其中蜜麸枳壳低剂量组与空白组相比无显著性差异,表明长期灌服枳壳生品可使大鼠排尿量减小,经蜜麸制后可降低对正常大鼠排尿量的影响而使之接近正常水平。

2.2.4 对健康大鼠胃黏膜损伤指数的影响 取空白组,生品枳壳高、低剂量组,麸炒枳壳高、低剂量组,蜜麸枳壳高、低剂量组及模型组共 8 组大鼠作为实验对象($n = 10$)。各组大鼠连续灌服相应药物 28 d,末次给药后将全部实验动物禁食不禁水 12 h,而后用 10% 水合氯醛按 3 mL·kg⁻¹ 进行麻醉,经腹主动脉取血后取胃,用 10% 甲醛溶液 1.5 mL 固定 30 min,沿胃大弯剪开并展平,按 Guth 标准评分^[6]计算胃黏膜损伤指数,并取相同部位胃组织经 10% 甲醛溶液固定 48 h,石蜡包埋,利用苏木精-伊红(HE)染色后进行组织病理学观察,见图 1。

结果显示模型组动物出现胃黏膜损伤,经 HE 染色后光镜下可见局部黏膜上皮细胞坏死、增厚,有少量炎细胞浸润,损伤指数 7.56 ± 1.23,提升造模成功概率。各给药组大鼠胃黏膜外观形态正常,未见肉眼可见溃疡或出血性病灶,HE 染色光镜下胃壁形态结构完整,腺体排列规则,未见腺体变形与坏



A. 空白组; B. 模型组; C. 生品枳壳高剂量组; D. 麸炒枳壳高剂量组; E. 蜜麸枳壳高剂量组

图 1 不同组别大鼠的胃黏膜组织形态(HE, ×40)

Fig. 1 Histological morphology of gastric mucosa in 5 groups of rats(HE, ×40)

死等病理改变,无明显炎细胞浸润,提示枳壳生品和炮制品各剂量组对健康大鼠胃黏膜均未造成损伤。

2.2.5 对健康大鼠肾 AQP3 含量及血清 cAMP/cGMP 水平的影响 取上述 8 组共 80 只大鼠作为实验对象,连续给药 28 d,末次给药后全部大鼠禁食 12 h,麻醉后经腹主动脉取血,不作抗凝处理制备血清^[7]。取血后迅速取肾,分离肾浆膜,加入生理盐水研磨匀浆并离心(15 000 r·min⁻¹, 3 min),取上清液^[8],分别采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒测定大鼠肾 AQP3 及血清 cAMP, cGMP 的含量,计算 cAMP/cGMP。采用 SPSS 13.0 软件进行分析,结果见表 2。

表 2 各组大鼠的肾 AQP3 水平及血清 cAMP/cGMP 水平($\bar{x} \pm s$, n = 10)

Table 2 Levels of AQP3 and serum cAMP/cGMP of rats in each group($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	AQP3 /ng·L ⁻¹	cAMP /cGMP
空白	-	5.24 ± 1.12	2.09 ± 0.43
生品枳壳	1	8.30 ± 0.82 ²⁾	2.20 ± 0.36 ¹⁾
	10	9.01 ± 0.18 ²⁾	2.25 ± 0.31 ¹⁾
麸炒枳壳	1	6.55 ± 0.89 ¹⁾	2.14 ± 0.24 ¹⁾
	10	6.91 ± 1.11 ¹⁾	2.21 ± 0.19 ¹⁾
蜜麸枳壳	1	5.19 ± 0.67	2.10 ± 0.11
	10	5.76 ± 1.28	2.16 ± 0.35 ¹⁾

由表 2 可知,与空白组比较,各给药组肾 AQP3 含量有不同程度的升高,同等剂量给药组 AQP3 含量的排序均为生品 > 麸炒品 > 蜜麸制品,且增幅与给药剂量成正比,提示蜜麸制品对机体正常水液代谢的影响最小;各给药组血清 cAMP/cGMP 较空白组均有所升高,同等剂量给药组比值的排序均为生品 > 麸炒品 > 蜜麸制品,且增幅与给药剂量呈正比,提示枳壳生品可使健康大鼠产生津液损伤,且用药剂量越大对津液损伤程度越强。经炮制后可缓和伤津之弊,且在缓和生品燥性方面蜜麸枳壳炮制作用

强于麸炒枳壳。

2.2.6 对健康大鼠血清 TNF-α, IL-6, IL-8 含量的影响 按 2.2.5 项下方法测定血清 TNF-α, IL-6, IL-8 的含量,采用 SPSS 13.0 软件进行分析,见表 3。结果与空白组相比,模型组血清 TNF-α, IL-6, IL-8 含量升高,且具有显著性差异,提示造模成功。枳壳生品、炮制品各剂量组的血清 TNF-α, IL-6, IL-8 含量较空白组均无显著性差异,表明长期高剂量或低剂量服用枳壳生品、炮制品均不会对胃黏膜造成损伤,即不会产生炎症反应。

表 3 各组大鼠的血清 TNF-α, IL-6 和 IL-8 水平检测($\bar{x} \pm s$, n = 10)

Table 3 Levels of serum TNF-α, IL-6 and IL-8 of rats in each group($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TNF-α	IL-6	IL-8
空白	-	184.08 ± 20.13	7.87 ± 1.83	0.51 ± 0.17
生品枳壳	1	185.78 ± 14.45 ³⁾	7.84 ± 1.16 ³⁾	0.53 ± 0.15 ³⁾
	10	187.44 ± 18.99 ³⁾	7.82 ± 1.11 ³⁾	0.48 ± 0.13 ³⁾
麸炒枳壳	1	185.89 ± 20.01 ³⁾	7.84 ± 0.98 ³⁾	0.49 ± 0.09 ³⁾
	10	185.45 ± 19.76 ³⁾	7.69 ± 0.87 ³⁾	0.52 ± 0.11 ³⁾
蜜麸枳壳	1	182.79 ± 16.11 ³⁾	7.84 ± 1.34 ³⁾	0.54 ± 0.15 ³⁾
	10	185.65 ± 15.32 ³⁾	7.87 ± 1.29 ³⁾	0.47 ± 0.08 ³⁾
模型	-	198.93 ± 18.87 ¹⁾	13.01 ± 0.29 ²⁾	1.02 ± 0.06 ²⁾

注:与模型组比较³⁾ P < 0.01。

2.3 枳壳不同炮制品对 FD 大鼠胃肠功能的影响

2.3.1 分组与造模 取 SD 大鼠 90 只,平均分成 9 组,分别为空白组,生品枳壳高、低剂量组,麸炒枳壳高、低剂量组,蜜麸枳壳高、低剂量组,多潘立酮片组(阳性组)和 FD 模型组,每组 10 只。除空白组外,其余各组采用复合病因造模法(夹尾激怒 + 饮食失节 + 饮用盐酸水溶液)^[9]复制 FD 大鼠模型,连续给药 14 d。

2.3.2 给药方式 造模成功后,自从第 15 天起,各给药组每天上午给大鼠灌服相应药物,低剂量组按 1 g·kg⁻¹ 给药,高剂量组按 10 g·kg⁻¹ 给药,阳性组按

10 mL·kg⁻¹ 给予多潘立酮片溶液,空白组、模型组大鼠按 10 mL·kg⁻¹ 灌服生理盐水,共 14 d。

2.3.3 对 FD 大鼠胃残留率及肠推进率的影响
实验第 28 天,末次给药后禁食 12 h,所有实验动物均灌胃给予营养性半糊剂 2 mL,30 min 后用 10% 水合氯醛按剂量 3 mL·kg⁻¹ 进行麻醉,腹主动脉取血,结扎胃贲门和幽门,取胃囊及小肠,按文献[10]的方法操作,计算胃排空率[胃残留率 = (胃全重 - 胃净重)/半固体糊质量 × 100%]和小肠推进率(小肠推进率 = 炭末推进距离/小肠全长 × 100%),采用 SPSS 13.0 软件进行分析,结果见表 4。

表 4 各组大鼠的胃残留率和肠推进率考察 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Gastric remnant rate and intestinal propulsive rate of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$) %

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	胃残留率	小肠推进率
空白	-	51.87 ± 10.23	46.23 ± 8.87
生品枳壳	1	57.65 ± 11.52 ^{1,4)}	42.14 ± 8.76 ^{1,4)}
	10	61.12 ± 10.98 ^{2,3)}	40.11 ± 9.01 ^{1,4)}
麸炒枳壳	1	51.82 ± 9.94 ⁴⁾	44.78 ± 7.59 ^{1,4)}
	10	55.64 ± 12.12 ^{1,4)}	41.56 ± 8.07 ^{1,4)}
蜜麸枳壳	1	60.99 ± 11.36 ^{2,3)}	39.79 ± 6.99 ^{2,3)}
	10	68.01 ± 13.01 ^{2,3)}	38.10 ± 8.19 ^{2,3)}
FD 模型	-	65.13 ± 13.09 ²⁾	34.99 ± 6.81 ²⁾
多潘立酮片	0.002	53.45 ± 9.77	48.66 ± 9.01

注:与 FD 模型组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01(表 5 同)。

由表 4 可知,与空白组相比,FD 模型组大鼠胃残留率与肠推进率均具有极显著性差异,表明造模成功。与 FD 模型组相比,枳壳生品与炮制品对 FD 大鼠胃残留率与肠推进率均具有显著影响。在同等给药剂量时,麸炒枳壳组与空白组相比差异性最小,提示枳壳经麸炒后对 FD 大鼠的治疗作用优于生品和蜜麸制品。枳壳生制品高剂量组与低剂量组相比,均可使 FD 大鼠胃残留率增加,肠推进率降低,且组间具有显著性差异,说明若给药剂量过高,反而会使药物对 FD 大鼠的治疗作用降低。

2.3.4 对 FD 大鼠血清 VIP, CGRP, MTL 含量的影响
全部实验动物腹主动脉血,不作抗凝处理制备血清^[7]。采用 ELISA 试剂盒测定大鼠血清 VIP, CGRP, MTL 的含量。数据采用 SPSS 13.0 软件进行分析,见表 5。结果发现 FD 模型组与空白组相比,血清中 VIP, CGRP, MTL 含量均存在极显著性差异,提示造模成功。与模型组相比,枳壳生制品对 FD

大鼠血清 VIP, CGRP, MTL 含量均具有极显著或显著性影响;与空白组比较,麸炒枳壳组血清 VIP, CGRP, MTL 含量较之同剂量生品和蜜麸制品均更接近正常水平,且低剂量组对血清指标的调节作用好于高剂量组。其中麸炒枳壳低剂量组与空白组比较均无显著性差异,提示麸炒枳壳低剂量组对 FD 大鼠的治疗作用最佳;枳壳生、制品高剂量组与空白组比较均具有极显著性或显著性差异,提示给药剂量过高时,枳壳对于 FD 大鼠血清 VIP, CGRP, MTL 含量的调节作用不佳。

表 5 各组大鼠血清 VIP, CGRP 和 MTL 质量浓度的测定 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Levels of VIP, CGRP and MTL of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$) ng·L⁻¹

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	VIP	CGRP	MTL
空白	-	0.58 ± 0.08	148.64 ± 16.78	702.82 ± 34.23
生品枳壳	1	0.98 ± 0.11 ^{2,4)}	157.92 ± 18.89 ^{1,4)}	685.18 ± 33.21 ^{1,4)}
	10	1.47 ± 0.18 ^{2,3)}	175.88 ± 16.23 ^{2,3)}	665.76 ± 29.10 ^{1,3)}
麸炒枳壳	1	0.56 ± 0.05 ⁴⁾	148.17 ± 12.98 ⁴⁾	694.38 ± 28.25 ⁴⁾
	10	1.33 ± 0.09 ^{2,4)}	159.91 ± 18.10 ^{1,3)}	674.51 ± 33.01 ^{2,3)}
蜜麸枳壳	1	0.95 ± 0.08 ^{2,4)}	150.31 ± 17.36 ⁴⁾	684.59 ± 37.72 ^{1,4)}
	10	1.46 ± 0.18 ^{2,3)}	173.35 ± 19.12 ^{2,3)}	649.77 ± 29.99 ^{2,3)}
FD 模型	-	1.86 ± 0.15 ²⁾	181.94 ± 17.88 ²⁾	645.99 ± 36.73 ²⁾
多潘立酮片	0.002	0.78 ± 0.10	143.56 ± 19.04	689.99 ± 35.56

3 讨论

枳壳为中医临床常用理气药,功擅行气宽中、除胀。生用燥性较强,易伤阴液,为达到减燥增效的炮制目的,扩大临床应用范围,临床常以炮制品组方入药。麸炒枳壳为 2015 年版《中国药典》收载的炮制品种,临床广泛使用;蜜麸枳壳是江西樟帮特色饮片,为盱江医学广泛应用的炮制品种。本文通过比较枳壳生品、麸炒枳壳与蜜麸枳壳在津液代谢、脾胃刺激、宽中除胀等方面的作用,优选临床所用优势炮制品,为探明枳壳炮制机制奠定基础。

2015 年版《中国药典》中枳壳处方用量 3 ~ 10 g,以体重 60 kg 成人日服枳壳 10 g 计,根据人与实验动物之间药物剂量换算关系^[11],大鼠与人每 1 kg 体重剂量折算系数为 6.25,计算大鼠每日常规给药剂量约 1.0 g·kg⁻¹,本文以枳壳正常剂量作为低剂量给药组,10 倍于正常剂量组作为高剂量给药组,比较枳壳炮制品不同给药剂量对各项评价指标的影响。同法计算大鼠每日多潘立酮片常规给药剂

量为 $0.002 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 并将此设置为阳性组给药剂量, 与枳壳低剂量组对比具有统计学意义。

通过分析比较大鼠饮水量及排尿量可知, 枳壳生品可使大鼠饮水量显著增加且排尿量显著降低, 表明生品可燥湿但不利水, 其燥性可直接导致机体津液总量减少。其中干渴、少尿的表征符合津液亏虚证的特点, 表明枳壳燥性可能导致机体津液损伤。麸炒品、蜜麸制品各剂量组饮水量较之生品组同等剂量组有不同程度降低, 排尿量有不同程度升高, 表明炮制可在一定程度上缓和生品苦燥伤津之弊, 其中以蜜麸枳壳对机体津液的损伤最小, 调节作用最佳, 且随给药剂量增大而燥性增强。在实验过程中, 枳壳生品及炮制品各剂量组大鼠均未出现呕吐、食欲不振等症, 结合胃黏膜损伤实验结果显示各给药组均未导致健康大鼠胃黏膜损伤。初步证明枳壳的燥性可导致机体津液损伤, 并未明显表现出对局部胃黏膜的刺激作用。

AQP3 在肾脏内外髓质的整个集合管均有表达, 其作用是促使水在细胞内外转运, 促进肾小管对水重吸收^[12]。中医理论认为肾为“主水之脏”, 其在调节体内水液方面起着极为重要的作用。AQP3 可通过调节肾脏对水的重吸收以浓缩尿液, 进而影响机体排尿量。在比较枳壳不同炮制品各剂量组对 SD 大鼠结肠黏膜 AQP3 含量的影响后发现, 与空白组相比, 同等剂量给药组中生品枳壳组含量最高, 麸炒品组次之, 蜜麸制品组含量最低, 且含量与给药剂量成正比。究其原因, 推测枳壳生品通过调控 AQP3 含量升高, 使肾小管对水重吸收增加而导致排尿量减少, 经过炮制后使对肾 AQP3 含量影响降低而使排尿量恢复正常, 其中以蜜麸枳壳对肾 AQP3 含量的影响最小, 炮制作用最佳。此外, 实验结果表明肾 AQP3 含量可随给药剂量增加而升高, 故高剂量给药可使机体水分重吸收增加而减少排尿量。

根据传统中医理论, 津液亏虚属于“阴虚”范畴。在正常生理状态下, cAMP/cGMP 相对恒定, 若其比值发生改变则提示机体生理功能失调, 与中医“阴阳”特点类似^[13]。据文献报道, 阴虚患者的 cAMP/cGMP 普遍升高^[14]。本文通过比较枳壳生品、炮制品不同剂量组对大鼠血清 cAMP/cGMP 的影响, 结果发现各给药组较空白组均有不同程度上升, 且高剂量组增幅均高于低剂量组。其中生品高剂量组增幅最大, 蜜麸制品低剂量组最接近正常水平。这一结果可能是由于实验动物长期灌服枳壳生

品水煎液, 因药物燥性而至津液亏虚, 可促使其交感神经- β 受体-cAMP 系统功能亢进, 使血中 cAMP 活性增加, 进而导致 cAMP/cGMP 升高。用药剂量越高, 则阴虚程度越重, 对交感神经- β 受体-cAMP 系统功能的影响越大。以上结果再次证明枳壳燥性主要表现为对机体的津液损伤, 炮制后可在一定程度上得以缓和, 且以蜜麸枳壳的减燥作用最好。

TNF- α 是在炎症刺激下由特定细胞产生的促炎细胞因子, 在直接的局部胃黏膜刺激所导致炎症的发生和发展中发挥重要作用^[15]。IL-6 与 IL-8 均可参与炎症反应与机体免疫反应, 是表达机体组织炎症反应的重要指标^[16]。本实验结果表明, 枳壳生品、炮制品不同剂量组对血清 TNF- α , IL-6 与 IL-8 含量均无显著影响, 表明长期高剂量服用枳壳生品、炮制品均不会对胃黏膜产生直接刺激, 进而也不会产生炎症反应, 证实枳壳的燥性与药物对胃黏膜的刺激性无关。

基于枳壳宽中除胀的主要功效, 本文模拟其痞满、胃脘痛的特点, 采用复合病因造模法复制 FD 大鼠模型。实验动物在造模后 3 d 开始表现出易怒、饮食量减少、毛发枯乱, 至 1 周后出现便溏、毛色发黄、活跃程度减弱、扎堆甚至倦卧、情绪低落。造模结束后随机取 5 只 FD 大鼠进行解剖, 均未发现胃肠组织器质性病变, 提示造模成功。给予枳壳生品、炮制品不同剂量水煎液 1 周后, 各给药组大鼠上述症状均有明显改善, 各项体征趋于正常, 初步说明枳壳生品、炮制品可在一定程度上缓解 FD 大鼠的病理症状。

VIP 为胃肠道肽类激素, 可松弛消化道平滑肌, 对胃肠运动有抑制作用; CGRP 是调节胃机械感觉过敏的神经递质, 具有抑制胃酸分泌、减缓胃肠运动及调节胃肠激素分泌等方面的作用。研究表明, 血清 VIP, CGRP 水平升高能抑制胃排空与肠推进作用, 进而导致胃动力降低, 提示 VIP 与 CGRP 含量升高可能为 FD 发病的主要因素之一^[17]。结果显示 FD 模型组大鼠 VIP 与 CGRP 含量与空白组相比均极显著性升高, 给药后可使其接近正常水平, 在 3 种不同枳壳炮制品中, 以麸炒枳壳组疗效最好, 且低剂量给药组对 FD 大鼠血清 VIP 与 CGRP 含量的调节作用好于高剂量组, 即疗效与与给药剂量成反比关系。MTL 是一种具有促进胃排空及小肠运动、促进胰腺分泌等作用的活性多肽。结果与空白组相比, FD 模型组大鼠 MTL 含量极显著性降低, 原因可能与 FD 大鼠食量减少而导致 MTL 分泌减少有

关^[10],推测 MTL 浓度降低而导致胃动力障碍亦可能是 FD 发生的主要原因。给予枳壳生品、炮制品干预后均可使 FD 大鼠血清 MTL 含量有不同程度的回升,且以麸炒枳壳低剂量组效果最好。上述结果说明麸炒枳壳低剂量组对 FD 大鼠的治疗效果最为显著,当给药剂量超过一定范围时,治疗作用降低,这进一步印证了胃排空率及肠推进率以低剂量麸炒枳壳治疗作用为最佳的研究结果。

综上所述,可认为枳壳燥性即为其苦燥伤津之性,经炮制后可缓和其伤津之弊,且以江西樟帮蜜麸枳壳的减燥作用为佳。这可能与炮制中双重辅料所发挥的协同作用有关,具有润燥之功的辅料炼蜜在具有“抑酷性”之效的辅料——麦麸初步发挥减燥作用的基础上,进一步发挥润燥作用,使得蜜麸枳壳较麸炒枳壳能更好地缓和生品燥性。枳壳经炮制后可增强其宽中除胀之功效,且以麸炒枳壳的效果为最佳。原因可能为①炼蜜与麦麸在加热干燥时,破坏了麦麸固有成分而使其“补中”作用减弱;②与蜂蜜甘缓之性对胃肠运动所产生的抑制作用有关。枳壳对 FD 大鼠的治疗作用在高剂量组给药时较之低剂量组降低,可能与枳壳中所含促胃肠动力活性成分挥发油与黄酮类成分的双向调节作用有关。基于本文研究结果,笔者认为在选择枳壳炮制品入药时,如患者为年老体弱者而气滞者宜选蜜麸枳壳,若用于治疗成年人脘腹痞满等证时则以麸炒枳壳为佳,且需注意合理用量。

[参考文献]

[1] 周帧祥,唐德才. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2016:301-302.
[2] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社,2016:285-286.
[3] 龚千锋. 樟树中药炮制全书[M]. 南昌:江西人民出版社,1983:161-162.
[4] 王瑾,王强,李鹏,等. 中药燥性理论溯源及研究思路探讨[J]. 中国中药杂志,2014,39(2):346-349.
[5] 李备,刘华蓉,潘永全,等. 黄连总生物碱对乙醇致大

鼠胃黏膜损伤的保护作用及其机制探讨[J]. 中国中药杂志,2006,31(1):51-54.
[6] 乐桥良,林克荣,张志坚. 一氧化氮在潘托拉唑对大鼠胃黏膜损伤保护中的作用[J]. 第四军医大学学报,2005,26(23):2166-2168.
[7] 张淑洁,钟凌云. 厚朴不同炮制品对胃肠运动功能的影响[J]. 中药材,2014,37(10):1762-1765.
[8] 颜升,曾金祥,毕莹,等. 车前子提取物对正常大鼠利尿活性及肾脏水通道蛋白与离子通道的作用[J]. 中国医院药学杂志,2014,32(12):968-971.
[9] 王煜娇,凌江红,张钰琴,等. 复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型[J]. 世界华人消化杂志,2014,22(2):210-214.
[10] 祝婧,钟凌云,龚千锋,等. 升麻不同炮制品对脾虚虚动物胃肠功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(21):1-4.
[11] 赵伟,孙国志. 不同种实验动物间用药量换算[J]. 畜牧兽医科技信息,2010(5):52-53.
[12] 薛非非,张朔生,马俊楠,等. 商陆不同炮制品对大鼠的利尿作用及其对睾丸、肾脏水通道蛋白的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(9):1-5.
[13] 夏亚楠,余凌英,王德健,等. 补肾脂盐炙对肾虚、脾虚模型动物燥性影响研究[J]. 亚太传统医药,2016,12(4):5-8.
[14] 任永申,赵艳玲,王伽伯,等. 基于动物热活性检测的肾阴虚/肾阳虚模型寒热属性差异研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(12):94-97.
[15] 谢春娥,薛晓轩,王永学,等. 不同方药对大鼠急性酒精性胃黏膜损伤炎症因子的影响[J]. 世界中西医结合杂志,2014,9(6):596-599.
[16] 李多,杜三军,于永强. 白术内酯 I 对慢性萎缩性胃炎大鼠相关炎症因子的影响[J]. 解放军医药杂志,2016,28(8):10-14.
[17] 李晓玲,张声生,杨成,等. 仁术健脾理气方对功能性消化不良大鼠胃排空功能及 Ghrelin、5-HT、CGRP 的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志,2014,22(7):355-359.

[责任编辑 刘德文]