

益智仁盐炙对水负荷多尿模型大鼠缩尿作用的研究

李文兵, 胡昌江*, 吴珊珊, 高源, 余凌英
(成都中医药大学药学院, 成都 611137)

[摘要] **目的:**通过比较盐炙益智仁对水负荷多尿模型大鼠的缩尿作用,进一步验证益智仁盐炙入肾传统炮制理论的正确性。**方法:**SD 大鼠按尿量、体重均匀分成正常组、模型组、缩泉丸组、益智仁石油醚部位生品(低、中、高剂量)组、盐炙品(低、中、高剂量)9 组,缩泉丸组剂量为 $1.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,益智仁石油醚部位生品和盐炙品低、中、高剂量分别为含生药 $4.5, 9, 18 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。各组按 $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体积灌胃给药 1 周后,用 1% 盐水造成大鼠水负荷多尿模型。采用代谢笼法测定大鼠尿量、首次排尿时间,并计算 6 h 排泄率;放免法测定大鼠血清精氨酸加压素(AVP)含量。**结果:**与模型组相比,益智仁生、炙品(除生品低剂量组外)能显著降低 0~1 h 段大鼠尿量($P < 0.01$),延长大鼠首次排尿时间(生品高剂量组 $P < 0.05$,盐炙品低、中、高剂量组 $P < 0.01$),显著降低大鼠 6 h 排泄率(生品高剂量组 $P < 0.05$,盐炙品高剂量组 $P < 0.01$)。与模型组相比,各组 AVP 含量均升高,其中生品高剂量、盐炙品中、高剂量组有极显著性差异($P < 0.01$)。**结论:**益智仁石油醚部位具有缩尿作用,盐炙能增强其作用。

[关键词] 益智仁; 盐炙; 水负荷; 缩尿; 首次排尿时间; 排泄率; 精氨酸加压素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0261-04

[doi] 10.11653/syfy2013110261

Study on Urine Reduction of Fructus Alpiniae Oxyphyllae Stir-frying with Salt Water in Water-loading Diuresis Model Rats

LI Wen-bing, HU Chang-jiang*, WU Shan-shan, GAO Yuan, YU Ling-ying
(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** Comparing urine reduction of Fructus Alpiniae Oxyphyllae (FAO) after stir-frying with salt water in water-loading diuresis model rats, so as to prove the correction of traditional processing theory that the FAO would effect on kidney after salt processing. **Method:** According to the weight and volume of urine, Sprague Dawley rats were divided into 9 groups: normal group; model group; Suoquanwan group; low, middle and high dose group of FAO before and after salt processing. The dose of Suo Quan Wan group was $1.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. The dose of low, middle and high dose group of FAO before and after salt processing was $4.5, 9, 18 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ of raw FAO respectively. The metabolism cage method was used to determine the urine volume and the initial excretion time of rats. The excretion rate in 6 h was calculated, and (AVP) content in rat serum was determined by radioimmunoassay. **Result:** Compared with the model group, FAO before and after salt processing groups (in addition to FAO low dose group) could reduce volume of urine in 0-1 h significantly ($P < 0.01$), and prolong the first excretion time (for high dose group of FAO, $P < 0.05$; for low, middle, high dose group of FAO after salt processing, $P < 0.01$), and also decrease excretion rate in 6 h significantly (for high dose group of FAO, $P < 0.05$; for high dose group of FAO after salt processing, $P < 0.01$). Compared with model group, the content of AVP of each group was increased, and high dose group of raw FAO, middle and high dose group of FAO after salt

[收稿日期] 20120829(001)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(30973941)

[第一作者] 李文兵, 博士生, 从事中药学研究工作, Tel:13540876731, E-mail:greetli510804@163.com

[通讯作者] * 胡昌江, 教授, 从事中药炮制学的教学和科研工作, Tel:13980980796, E-mail:hhccjj@hotmail.com

processing had significant difference ($P < 0.01$). **Conclusion:** Fructus Alpiniae Oxyphyllae has the effect of urine reduction, and this effect could be enhanced after salt processing.

[**Key words**] Fructus Alpiniae Oxyphyllae; salt processing; water-loading; reduction of urine; first excretion time; excretion rate; arginine vasopressin

益智为姜科植物益智的干燥成熟果实,具有暖肾固精缩尿,温脾止泻摄唾的功效^[1],是中医临床上常用中药。传统炮制理论认为,益智仁生品辛温而燥,主归脾经,以温脾止泻、收摄涎唾力胜,如临床上用于治伤寒阴盛,呕吐泻痢的益智散^[2];盐炙后辛燥之性缓和,主入肾经,以温肾固精缩尿为主,如治疗下元虚冷,小便频数,小儿遗尿的缩泉丸^[3]。课题组前期采用小鼠水负荷多尿模型表明盐炙益智仁缩尿作用物质基础是“石油醚部位+盐”。本实验拟通过比较益智仁盐炙前后对水负荷多尿模型大鼠缩尿作用影响,进一步验证益智仁盐炙入肾的传统理论的正确性。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠,雌雄各半,体质量 200~220 g,由四川达硕动物实验中心提供,动物生产许可证号 SCXK(川)2008-24。动物在成都中医药大学中药药理三级科研实验室饲养。

1.2 药品与试剂 缩泉丸(广东华天宝药业集团有限公司 批号 1005101,粉碎过 100 目筛,用蒸馏水配置成 15% 混悬液);益智药材(产地海南琼中,经成都中医药大学药学院生药教研室卢先明教授鉴定为姜科植物益智 *Alpinia oxyphylla* Miq. 的干燥成熟果实);盐炙品按实验室筛选出的最佳工艺条件制得^[4]。益智仁石油醚部位制备方法为 8 倍量乙醇提取 3 次,每次 1 h,减压回收乙醇,浓缩液用石油醚(60~90 ℃)萃取至上层无色,所得石油醚部位减压回收后于水浴锅上挥至无醚味,用吐温 80 配成相应

给药浓度;精氨酸加压素(AVP)放免试剂盒,北京华英生物技术研究所,批号 20110915。

1.3 仪器 γ -911 型全自动放免计数仪(中国科技大学实业总公司)。

2 方法

2.1 动物筛选 SD 大鼠,实验前 18 h 禁食不禁水,仿 Aston 法对动物进行筛选,即按体重灌注去离子水 22 mL·kg⁻¹,使实验动物体内水平衡。收集 2 h 尿液,凡尿量超过 40% 水负荷者为合格^[5]。

2.2 分组及给药 取筛选合格的大鼠 72 只,按尿量、体重均匀分成 9 组:正常组、模型组、缩泉丸组、益智仁生品和盐炙品石油醚提部位低、中、高剂量组,每组 8 只动物。各组按 10 mL·kg⁻¹灌胃给药 1 周,正常组和模型组给予等体积生理盐水。末次给药前动物禁食不禁水 18 h,给药 1 h 后按 50 mL·kg⁻¹灌胃 1% 氯化钠溶液,正常组动物不给水负荷,挤尽膀胱余尿,置于大鼠代谢笼中观察 6 h 尿量及首次排尿时间。试验结束后,大鼠眼眶静脉丛取血 1 mL,分离血清,4 ℃ 保存待测。缩泉丸给药剂量为 1.5 g·kg⁻¹,益智仁生品和盐炙品低、中、高剂量分别为生药 4.5, 9, 18 g·kg⁻¹,相当成人日服剂量的 30, 60, 120 倍。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本组间比较采用 One-Way ANOVA 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对尿量的影响 在 0~1 h 段,与模型组相比,

表 1 益智仁盐炙前后石油醚提部位对水负荷多尿模型大鼠尿量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	尿量					
		0~1 h	1~2 h	2~3 h	3~4 h	4~5 h	5~6 h
正常	-	0.87 ± 0.68 ²⁾	-	0.72 ± 0.57	-	-	-
模型	-	4.02 ± 1.77 ²⁾	2.74 ± 1.52	1.77 ± 0.58	0.97 ± 0.78	1.20 ± 0.81	0.83 ± 0.70
益智仁生品	4.5	2.72 ± 0.91	3.26 ± 0.60	1.58 ± 0.69	1.34 ± 0.76	0.87 ± 0.56	0.95 ± 0.58
	9.0	1.54 ± 1.22 ²⁾	2.42 ± 1.05	1.88 ± 1.22	1.66 ± 0.84	0.65 ± 0.64	0.66 ± 0.39
	18.0	0.90 ± 0.56 ²⁾	1.19 ± 0.86	1.52 ± 0.75	1.50 ± 0.62	1.44 ± 0.76	0.84 ± 0.77
益智仁盐炙品	4.5	1.19 ± 0.87 ²⁾	2.04 ± 1.71	1.33 ± 0.75	1.62 ± 1.26	0.82 ± 0.69	1.23 ± 0.32
	9.0	0.84 ± 0.83 ²⁾	2.53 ± 1.94	2.41 ± 1.18	1.50 ± 0.70	1.70 ± 0.94	0.81 ± 0.55
	18.0	1.39 ± 0.48 ²⁾	2.90 ± 0.40	2.09 ± 0.55	1.94 ± 0.55	0.87 ± 0.54	0.59 ± 0.94
缩泉丸	1.5	2.11 ± 0.95 ²⁾	2.46 ± 0.78	1.80 ± 0.83	1.60 ± 0.61	0.64 ± 0.65	0.54 ± 0.34

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

各给药组大鼠(除生品低剂量组)尿量显著降低($P < 0.01$)。其余时间段,尿量降低不明显。表明生、炙益智仁对水负荷多尿模型大鼠均有缩尿作用,盐炙能降低缩尿作用的起效剂量。见表1。

3.2 对首次排尿时间和排泄率的影响 与模型组相比,各给药组大鼠首次排尿时间延长,其中生品高剂量组有显著性差异($P < 0.05$),盐炙品各剂量组有极显著性差异($P < 0.01$);大鼠6 h 排泄率(6 h 尿量/水负荷量),各给药组与模型组相比均不同程度降低,生品高剂量组有显著性差异($P < 0.05$),盐炙品高剂量组有极显著性差异($P < 0.01$),表明益智仁能延长水负荷多尿模型大鼠首次排尿时间,相同剂量下,盐炙后作用增强。见表2。

表2 益智仁盐炙前后对水负荷多尿模型大鼠尿量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	首次排尿时间/ min	排泄率/%
正常	-	55.45 ± 12.41 ²⁾	-
模型	-	14.50 ± 3.99	96.35 ± 19.69
益智仁生品	4.5	21.17 ± 4.88	86.58 ± 14.03
	9.0	31.5 ± 16.33	73.95 ± 15.68
	18.0	38.33 ± 17.53 ¹⁾	60.84 ± 7.74 ¹⁾
益智仁盐炙品	4.5	49.5 ± 22.21 ¹⁾	69.54 ± 28.16
	9.0	50.83 ± 20.17 ²⁾	78.55 ± 19.92
	18.0	57.66 ± 7.26 ²⁾	59.20 ± 13.12 ²⁾
缩泉丸	1.5	43.00 ± 17.33 ²⁾	79.96 ± 8.55

3.3 对血清中 AVP 含量的影响 模型组采用水负荷造模后,血清 AVP 含量显著降低($P < 0.01$),益智仁盐炙前后各剂量组血清 AVP 含量有升高趋势,其中生品高剂量组和盐炙品中、高剂量组与模型组相比具统计学差异($P < 0.01$),见表3。

表3 益智仁盐炙前后对水负荷多尿模型大鼠血清 AVP 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	AVP/ $ng \cdot L^{-1}$
正常	-	23.49 ± 2.51 ¹⁾
模型	-	14.02 ± 4.43
益智仁生品	4.5	16.32 ± 3.27
	9.0	19.16 ± 5.61
	18.0	23.23 ± 4.38 ²⁾
益智仁盐炙品	4.5	18.99 ± 4.90
	9.0	22.82 ± 6.24 ²⁾
	18.0	24.43 ± 4.99 ²⁾
缩泉丸	1.5	20.10 ± 3.18 ¹⁾

4 讨论

中医在长期临床实践中,对于益智仁的应用积累了丰富的用药经验,形成了“生品入脾,盐炙入肾,生熟有别”的传统认识,即生品主归脾经,以温脾止泻、收摄涎唾力胜;盐炙后主归肾经,专行下焦,长于固精、缩尿。作者前期对益智仁盐炙“缩尿”作用进行了系统深入研究,结果表明益智仁盐炙后能增强“缩尿”作用,且物质基础为“益智仁石油醚部位+食盐”,初步证明了益智仁“盐炙入肾·缩尿”中医药理论的正确性^[6]。但前期结果仅在小鼠实验中得到,尚未使用其他动物验证。因此,本实验选用大鼠为实验对象,以大鼠尿量、首次排尿时间、排泄率为指标,比较盐炙对益智仁缩尿作用的影响。结果表明益智仁本身具有缩尿作用,而盐炙后作用增强,主要体现在降低缩尿作用的起效剂量(生品起效剂量为 $9 g \cdot kg^{-1}$,盐炙品起效剂量为 $4.5 g \cdot kg^{-1}$),延长首次排尿时间。AVP 又称抗利尿激素(ADH)、血管升压素,是由下丘脑的视上核和室旁核的神经细胞分泌的9肽激素,具有抗利尿、缩血管、加强记忆^[7-8]、参与体温调节^[9-10]等生理功能。其抗利尿作用主要是通过提高远曲小管和集合管对水的通透性,促进水的吸收,是尿液浓缩和稀释的关键性调节激素^[11-12]。实验结果表明,益智仁生、炙品对水负荷多尿模型大鼠血清 AVP 含量有上调作用,且盐炙能降低对 AVP 调节作用的起效剂量,说明对 AVP 调节作用可能是益智仁盐炙增强缩尿的机制之一。

[参考文献]

- [1] 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,2010:274.
- [2] 龚千峰. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:216.
- [3] 郭炜,董文亮. 中医药治疗小儿神经性尿频研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2012,14(9):158.
- [4] 李兴迎,胡昌江,林辉,等. 中药益智仁盐炙工艺的正交实验法研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(7):1574.
- [5] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:1223.
- [6] 黄勤挽. 益智仁盐炙“缩尿”作用的研究[D]. 成都:成都中医药大学,2008:59.
- [7] 钱会南,胡雪琴,沈丽波,等. 健脾与补肾对脑内精氨酸加压素水平和基因表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(11):30.

青蒿琥酯对肝纤维化大鼠肝脏基质金属蛋白酶-2 表达的影响

来丽娜^{1*}, 任泽恩², 宋晓亮¹, 刘芳¹, 郭春花¹, 范毅敏¹, 王黎敏¹

(1. 长治医学院药理学系, 山西 长治 046000; 2. 长治市第二人民医院, 山西 长治 046000)

[摘要] **目的:**探讨青蒿琥酯(Art)影响基质金属蛋白酶-2(MMP-2)的抗肝纤维化作用机制。**方法:**采用二甲基亚硝胺(DMN)ip 6 周,制备大鼠肝纤维化模型。动物随机分为 6 组:正常对照组、模型对照组、Art(5,15,45 mg·kg⁻¹)组、阳性对照秋水仙碱(Col, 0.1 mg·kg⁻¹)。检测肝组织中羟脯氨酸(Hyp)的含量、动物血清透明质酸(HA),层连蛋白(LN),Ⅲ型前胶原肽(PⅢP)水平及肝组织 MMP-2 mRNA 和蛋白的表达。**结果:**与模型组相比,Art 各组能降低肝组织 Hyp 含量($P < 0.01$),同时血清 HA, LN, PⅢP, 肝组织 MMP-2-mRNA 和蛋白的表达水平下降($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:** Art 能有效抑制 DMN 诱导的大鼠肝纤维化及肝脏中 MMP-2 的表达。

[关键词] 青蒿琥酯; 肝纤维化; 基质金属蛋白酶 2; 羟脯氨酸

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0264-04

[doi] 10.11653/syfy2013110264

Effects of Artesunate on Matrix Metalloproteinase 2 Expression in Rat of Liver Fibrosis

LAI Li-na^{1*}, REN Ze-en², SONG Xiao-liang¹, LIU Fang¹, GUO Chun-hua¹, FAN Yi-min¹, WANG Li-min¹

(1. Faculty of Pharmacy of Changzhi Medical Collage, Changzhi 046000, China;

2. Changzhi Second Peoples Hospital, Changzhi 046000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of artesunate (Art) on Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) activity, explore the mechanism against liver fibrosis. **Method:** Liver fibrosis model of rats was induced by injecting *N*-nitroso dimethylamine (DMN) for 6 weeks. Rats were randomly divided into 6 groups: the normal group, the model group, the positive control group treated by colchicine (0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹), and the three Art groups (5, 15, 45 mg·kg⁻¹·d⁻¹). The content of hydroxyproline (Hyp) of liver tissue, hyaluronic acid (HA), laminin (LN), collagen type III peptide (PⅢP) of serum were analyzed. Expressions of MMP-2 protein and mRNA were assayed by Western blot and RT-PCR. **Result:** The content of Hyp in liver and HA, LN, PⅢP of

[收稿日期] 20120911(006)

[基金项目] 山西省高校科技研究开发项目(20081032);长治市科技项目(20123057)

[通讯作者] *来丽娜,副教授,从事中药药理学、心血管药理学的研究工作, Tel:0355-3151022, E-mail:lailina@126.com

- [8] 曲敏,蒋正尧,何学斌.低剂量精氨酸血管加压素提高大鼠空间学习与记忆能力研究[J].医药导报,2008,27(8):905.
- [9] 万素君,陈朝,郑军.等.柴荆注射液的解热作用机理研究-对下丘脑中精氨酸加压素及前列腺素 E₂ 含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(12):31.
- [10] 杨永录,赖雁,唐瑜.等.内源性精氨酸加压素在昼光期大鼠紧张性体温调节中的作用[J].中国病理生理杂志,2011,27(12):2345.
- [11] 苏文,胡爱霞,徐辉甫.等.利尿方对肾阳虚遗尿大鼠抗利尿激素的调节作用[J].中国医院药学杂志,2010,30(10):825.
- [12] 杨伟,赵锋仓,杨永彦.等.芪苈强心胶囊对慢性充血性心力衰竭患者心功能及血浆抗利尿激素的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):200.

[责任编辑 李玉洁]