

# 枸杞多糖抗溃疡活性部位筛选研究

张一芳<sup>1\*</sup>, 冯怡<sup>2</sup>, 徐德生<sup>2</sup>, 周淑琴<sup>1</sup>

(1. 上海医药高等专科学校, 上海 201318; 2. 上海中医药大学, 上海 201203)

**[摘要]** 目的: 筛选枸杞多糖抗溃疡的活性部位。方法: 采用 DEAE-纤维素柱层析法将枸杞多糖分成了 4 个部分 (LBP-1, LBP-2, LBP-3, LBP-4), 将昆明种小鼠 60 只按体重性别均衡随机分为 6 组: 模型组, 阳性对照组, LBP-1 组, LBP-2 组, LBP-3 组, LBP-4 组, 采用无水乙醇 (10 mL·kg<sup>-1</sup>) 或消炎痛 (20 mg·kg<sup>-1</sup>) 溃疡模型对枸杞多糖抗溃疡有效部位进行筛选, 给药剂量为阳性对照组 100 mg·kg<sup>-1</sup>, 枸杞多糖组 250 mg·kg<sup>-1</sup>, 连续给药 7 d, 每日 2 次。结果: LBP-2 和 LBP-4 能够显著抑制无水乙醇造成的小鼠胃溃疡 ( $P < 0.05$ ), 抑制率分别为 77.7%, 80.1%, LBP-2 也能够显著抑制消炎痛造成的小鼠胃溃疡 ( $P < 0.05$ ), 抑制率为 64.7%。结论: LBP-2 和 LBP-4 为枸杞多糖抗溃疡的活性部位, LBP-2 的活性最强。

**[关键词]** 枸杞多糖; 抗溃疡; 活性部位

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0209-03

## Screening of Effective Part of Anti-ulcer Activity from *Lyeium barbarum* Polysaccharide

ZHANG Yi-fang<sup>1\*</sup>, FENG Yi<sup>2</sup>, XU De-sheng<sup>2</sup>, ZHOU Shu-qin<sup>1</sup>

(1. Shanghai Institute of Health Sciences, Shanghai 201318, China;

2. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective:** To screen the effective part of anti-ulcer activity from *Lyeium barbarum* polysaccharide (LBP). **Method:** We divided LBP into four parts (LBP-1, LBP-2, LBP-3, LBP-4) by DEAE-cellulose ion exchange chromatography. Sixty mice were randomly divided into six groups: normal control group, positive control group, LBP-1 group, LBP-2 group, LBP-3 group, LBP-4 group. The anti-ulcer components were screened by the experiments of absolute alcohol and indomethacid inducing gastric mucosa ulcer of mice. Positive control group received 100 mg·kg<sup>-1</sup> sucralfate or ranitidine and LBP groups received 250 mg·kg<sup>-1</sup> LBP by ig, twice per day for 7 days. **Result:** LBP-2 and LBP-4 could inhibit gastric ulcer induced by absolute alcohol significantly ( $P < 0.05$ ), with the inhibition rate of 77.7% and 80.1%. LBP-2 had also the inhibitory effect on gastric ulcer induced by indomethacid ( $P < 0.05$ ), with the inhibition rate of 64.7%. **Conclusion:** LBP-2 and LBP-4 can be considered as active parts from LBP, and LBP-2 has a better activity.

**[Key words]** *Lyeium barbarum* polysaccharide (LBP); anti-ulcer activity; effective part

枸杞多糖 (*Lyeium barbarum* polysaccharide, LBP) 是枸杞的重要活性成分, 近年来又发现其具有抗消化性溃疡的药理作用<sup>[1]</sup>, 本实验采用 DEAE-纤维素柱层析法对枸杞多糖进行分级, 以乙醇和消炎痛所致小鼠实验性胃溃疡的药效为指标, 筛选出抗

溃疡的有效部位。

### 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 (18 ~ 22) g, 由上海中医药大学动物中心提供, 动物许可证号 SYXK(沪) 2004-0005, 饲养于温度 25 ℃、湿度为 60% 的空调房间, 给予标准的实验室饲料和自由饮水。

**1.2 药物** 硫糖铝片, 上海延安万象药业; 盐酸雷尼替丁胶囊, 上海衡山药业有限公司; 消炎痛, 上海

**[收稿日期]** 20110830(008)

**[通讯作者]** \* 张一芳, 讲师, 硕士, 从事中药鉴定与活性成分研究, Tel: 021-33755125, E-mail: yifangz@163.com

辛帕斯制药有限公司。

**1.3 枸杞多糖** 枸杞由中国宁夏农科院枸杞研究所提供,经上海中医药大学冯怡教授鉴定为宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L.。提取方法<sup>[2]</sup>:枸杞粉碎后加 6 倍量水,温度 80 ℃,提取 0.5 h,共提取 3 次。合并提取液,浓缩至 1:1,加 5 倍量 95% 乙醇醇沉 2 次,沉淀经 Sevag 法脱蛋白,真空干燥即得枸杞总多糖。用 DEAE-纤维素柱对枸杞多糖进行分离,分别用水,0.05,0.1,0.5 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaCl 洗脱,得到 4 个不同的枸杞多糖组分 LBP-1, LBP-2, LBP-3, LBP-4。

## 2 方法

### 2.1 对无水乙醇胃溃疡的影响

**2.1.1 动物分组和给药** 小鼠 60 只按体重性别均衡随机分为 6 组:模型组,硫糖铝阳性对照组, LBP-1 组, LBP-2 组, LBP-3 组, LBP-4 组; LBP 给药剂量经前期预实验确定为 250 mg·kg<sup>-1</sup>。

**2.1.2 造模<sup>[3]</sup>** 连续给药 7 d,每日 2 次,最后 1 次给药前小鼠禁食 24 h,禁食期间饮水不限,最后 1 次给药 1 h 后,用无水乙醇灌胃,剂量为每 20 g 体重给 0.2 mL 无水乙醇。1 h 后,将小鼠脱颈处死。剖腹,结扎幽贲门,从幽门处注入 2 mL 4% 的福尔马林溶液。取胃,浸入福尔马林液中固定 30 min 后,沿胃大弯切开,可观察到小鼠腺胃部索状及片状的出血区域。采用溃疡损伤区域记分法:每只胃的损伤程度以记分形式表达,分值越大,溃疡程度越高。损伤区域按如下原则记分:1)每 1 mm 长记 1 分;2)宽度超过 1 mm,则要在相应的分值上乘宽度的分值;3)长度不超过 1 mm 的记 0.5 分;4)最后分值由各溃疡区域分值累加得到。数据进行 *t* 检验和方差齐性检验,并计算抑制率。

### 2.2 对消炎痛胃溃疡的影响

**2.2.1 动物分组和给药** 雷尼替丁作为阳性对照组,其余动物分组及给药情况同 2.1。

**2.2.2 造模<sup>[4-5]</sup>** 连续给药 7 d,每日 2 次,最后 1 次给药前小鼠禁食 24 h,禁食期间饮水不限,最后 1 次给药后 30 min,给小鼠腹腔注射消炎痛 20 mg·kg<sup>-1</sup>,6 h 后处死,处理程序同 2.1.2,观察到点状的出血区域。

## 3 结果

### 3.1 枸杞多糖组分对无水乙醇胃溃疡的影响

LBP-2 和 LBP-4 能够显著抑制无水乙醇造成的小鼠胃溃疡 ( $P < 0.05$ ),抑制率分别为 77.7%,80.1%,见表 1。

表 1 枸杞多糖组分对无水乙醇胃溃疡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / mg·kg <sup>-1</sup>	溃疡指标 / 分	抑制率 / %
模型	-	62.70 ± 50.07	-
硫糖铝	100	22.31 ± 17.36 <sup>1)</sup>	64.4
LBP-1	250	35.05 ± 27.33	44.1
LBP-2	250	14.00 ± 10.22 <sup>1)</sup>	77.7
LBP-3	250	26.85 ± 27.90	57.2
LBP-4	250	12.50 ± 11.82 <sup>1)</sup>	80.1

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$  (表 2 同)。

**3.2 枸杞多糖组分对消炎痛胃溃疡的影响** LBP-2 也能够显著抑制消炎痛造成的小鼠胃溃疡 ( $P < 0.05$ ),抑制率为 64.7%,见表 2。

表 2 枸杞多糖组分对消炎痛胃溃疡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / mg·kg <sup>-1</sup>	溃疡指标 / 分	抑制率 / %
模型	-	9.07 ± 9.07	-
雷尼替丁	100	1.77 ± 3.67 <sup>1)</sup>	80.5
LBP-1	250	8.26 ± 5.82	8.9
LBP-2	250	3.20 ± 3.80 <sup>1)</sup>	64.7
LBP-3	250	9.17 ± 7.05	-
LBP-4	250	4.77 ± 4.14	47.4

## 4 讨论

胃溃疡是常见的消化系统疾病,中医列为“胃脘痛”、“吞酸”范畴。传统以西药为主的抗溃疡药物不能长期服用,停药后易复发,使胃溃疡的彻底治愈较为困难,故寻找一种疗效确切,毒副作用低的新型抗胃溃疡药物十分必要。本文在前期实验发现枸杞总多糖具有抗胃溃疡作用的基础上进一步对有效部位进行了筛选研究,发现枸杞多糖各个组分均对无水乙醇造成的小鼠胃溃疡有一定的抑制作用,但只有两个弱酸性组分 LBP-2, LBP-4 对溃疡的抑制作用与阴性对照组相比有显著性差异,表明对乙醇所致小鼠实验性胃溃疡具有明显的保护作用。为了进一步对枸杞多糖抗溃疡的有效部位进行筛选,又做了消炎痛模型,发现两个弱酸性组分 LBP-2, LBP-4 有一定抑制作用,其中 LBP-2 对溃疡的抑制作用有与阴性对照组相比有显著性差异。综合以上实验结果,可以认为 LBP-2 和 LBP-4 为枸杞多糖抗溃疡的活性部位,而 LBP-2 的活性最强,为今后深入研究和新药开发提供了实验依据。

枸杞多糖为水溶性酸性杂多糖,故考虑用 DEAE-纤维素柱层析法实施分离。此法适合分离各种酸性、中性多糖和粘多糖。本实验分别用水和不

# 钩藤散对 AD 模型大鼠海马 CA1 区相关指标的影响

钟荣玲, 黄厚才\*, 夏智, 宋捷, 杨德功

(江苏省中医药研究院, 南京 210028)

**[摘要]** **目的:**观察钩藤散对阿尔茨海默病(AD)模型大鼠海马 CA1 区相关指标的影响。**方法:**用  $\beta$ -淀粉样蛋白( $A\beta_{1-40}$ )海马注射建立 AD 大鼠模型,然后分成钩藤散高、中、低剂量、模型、正常对照 5 个组,钩藤散分别用 5, 2.5, 1.25  $g \cdot kg^{-1}$  ig AD 大鼠,每天 1 次,连续给药 15 d,14 d 时迷宫法测定其行为学指标,末次给药后 1 h 将动物麻醉、心脏灌注、取脑、制作海马 CA1 区病理切片,用免疫组化法测定神经细胞数,  $A\beta$ , 突触后密度蛋白-95(PSD-95)阳性细胞数和平均吸光度(A)。**结果:**行为学测试成绩:对照组、各给药组均好于模型组( $P < 0.01$ ),说明模型制作成功并提示钩藤散有益智作用;CA1 区的神经细胞数、PSD-95 阳性细胞数和平均 A:各给药组均高于模型组( $P < 0.001$ ); $A\beta$  阳性细胞数和平均 A:各给药组均低于模型组( $P < 0.01$ ),说明钩藤散能有效降低脑组织  $A\beta$  含量、提高 PSD-95 水平,保护神经细胞。**结论:**钩藤散对 AD 模型大鼠海马组织有一定保护作用。

**[关键词]** 钩藤散; AD 模型大鼠; 海马;  $\beta$ -淀粉样蛋白; PSD-95

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0211-04

## The Effect of Gouteng San on the Related Indicators on the Hippocampal CA1 Area in Alzheimer's Disease Model Rat

ZHONG Rong-ling, HUANG Hou-cai\*, XIA Zhi, SONG Jie, YANG De-gong

(Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the regulatory effect of Gouteng San on the related indicators on the hippocampal CA1 area in Alzheimer's disease (AD) model rat. **Method:** AD rat model was established by hippocampal injection of  $\beta$ -amyloid protein ( $A\beta_{1-40}$ ), and then divided into high, meddlu and low-dosage, the model and normal control group. Oral administration of Gouteng San (5, 2.5, 1.25  $g \cdot kg^{-1}$ ) was started for 15 constitutive days. The maze behavioral indicators were measured at day 14. After administration of Gouteng San for

**[收稿日期]** 20111130(004)

**[基金项目]** 江苏省中医药研究院项目(BK201023126)

**[第一作者]** 钟荣玲, 大学本科, 助理畜牧师, 从事实验动物管理与动物实验, Tel:13770848185, E-mail:wency@163.com.

**[通讯作者]** \* 黄厚才, 硕士, 副研究员, 从事实验动物管理与动物实验, Tel:13372018795, E-mail:huanghoucai@sina.com.

同浓度的 NaCl 溶液作为洗脱剂,取得了较好的分离效果。且 DEAE-纤维素柱层析法较乙醇分部沉淀法,超滤法等非柱层析法分离效能高,DEAE-纤维素的价格也远远低于凝胶,是一种分离酸性多糖的较为理想的方法。

### [参考文献]

[1] 张一芳,冯怡,徐德生. 枸杞多糖对大鼠实验性胃溃疡的作用研究[J]. 中国药业,2011,20(1):14.

[2] 张晓莉,李玉婷,王亚贤,等. 红花多糖的提取与含量

测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):19.

[3] 韦奇志,周智. 胃乐胶囊的抗溃疡作用实验研究[J]. 广东药学院学报,2000,16(4):300.

[4] 陈文,何晓晖,徐泽宇,等. 双蒲散抗溃疡作用的实验研究[J]. 中成药,2008,30(5):654.

[5] 沈鸿,张英华,田甲丽,等. 胃舒安胶囊对动物实验性胃溃疡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(13):174.

[责任编辑] 聂淑琴