

## 泽泻麸制前后健脾作用研究

张宏达, 谢雪, 陈昱竹, 任国杰, 王晓玲, 许枬\*  
(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** **目的:**对比泽泻炮制前后对大鼠胃泌素含量以及十二指肠  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性的影响,探讨泽泻炮制前后健脾作用的变化。**方法:**取 50 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、泽泻生品低剂量组、泽泻生品高剂量组、泽泻麸制品低剂量组、泽泻麸制品高剂量组,空白组 ig 给予生理盐水,各低、高剂量组每次 ig 给予对应药物  $2.0, 6.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。每天 ig 给药 2 次,7 d 后测定大鼠血清胃泌素水平及十二指肠中  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性。采用离体器官实验法,以大鼠离体十二指肠平滑肌的收缩幅度、相对张力及收缩频率为指标,观察在克氏液中泽泻炮制前后提取液对大鼠离体十二指肠平滑肌的影响。**结果:**泽泻麸制品高剂量组血清胃泌素含量为  $(3.77 \pm 0.49) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ,明显高于相同剂量生品组  $(3.24 \pm 0.13) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $P < 0.05$ );麸制品高剂量组  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶含量为  $(13.31 \pm 1.99) \text{ pmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ,明显高于相同剂量生品组  $(11.77 \pm 1.37) \text{ pmol} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $P < 0.05$ );生品和麸制品在高浓度时,对大鼠离体十二指肠收缩振幅及相对张力都有增强 ( $P < 0.05$ )。**结论:**泽泻能增加大鼠血清胃泌素含量、提高十二指肠  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性,以及大鼠离体十二指肠肠管的运动功能,且呈剂量依赖关系,炮制后作用增强。

**[关键词]** 泽泻; 炮制; 健脾作用; 胃泌素;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0187-04

## The Invigorating Spleen Function by *Alisma orientalis* before and after Processing

ZHANG Hong-da, XIE Xue, CHEN Yu-zhu, REN Guo-jie, WANG Xiao-ling, XU Nan\*  
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the influence of *Alisma orientalis* gastrin content and  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  enzyme activity, and to explore the invigorating spleen function of *A. orientalis* before and after processing. **Method:** Fifty healthy male SD rats were divided randomly into the control group, the bown product low dose group, born product high dose group, the processed products low dose group, the processed products high dose group, and control group was given physiological saline, the low dose groups were given corresponding drugs at dose of  $2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , the high dose groups were given corresponding drugs at dose of  $6.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  twice a day for 7 days. Then, the gastrin levels and duodenal  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  enzyme activity, contraction amplitude, tension and the frequency of the isolated duodenal's smooth muscle of rats were measured in the Krebs solutions. **Result:** The gastrin content of processed products of high dose group was  $(3.77 \pm 0.49) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ , that was higher than that in born product high dose group s  $(3.24 \pm 0.13) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $P < 0.05$ ). The  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  enzyme activity in processed products of high dose group was  $(13.31 \pm 1.99) \text{ pmol} \cdot \text{g}^{-1}$ , that was higher than that in born product high dose group  $(11.77 \pm 1.37) \text{ pmol} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $P < 0.05$ ). High concentration in processed and born product groups could increase amplitude and relative tension of duodenum ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The influence of *A. orientalis* on gastrin level, duodena  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  enzyme and duodenal's smooth muscle is obvious, and after processed, and the actions can be enhanced.

**[Key words]** *Alisma orientalis*; processing; strengthening spleen function; gastrin;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  enzyme

**[收稿日期]** 20111222(018)

**[基金项目]** 国家公益性中医药行业科研专项课题(200807039)

**[第一作者]** 张宏达,在读研究生,从事中药化学成分及活性研究,E-mail:grandzhang@163.com

**[通讯作者]** \*许枬,副教授,从事中药化学成分及活性研究,E-mail:xudanbs@163.com

泽泻为泽泻科植物泽泻的干燥块茎。具有利水渗湿,泄热,化浊降脂之功效<sup>[1]</sup>。泽泻治疗高血脂、眩晕、肝腹水等多种病症疗效确切,引起国内外学者广泛的兴趣,因而对其化学成分和药效作用均进行了深入的研究<sup>[2-3]</sup>,为泽泻的药效作用提供了重要依据。泽泻在临床上有两种使用方法,即生用和炮制使用,而且麸炒是泽泻的最重要炮制方法之一。中医用药非常强调生熟功效的差异,认为“泽泻麸炒后可缓和寒性,长于渗湿和脾”。为进一步研究泽泻炮制前后“和脾”作用功效变化的机制,为临床用药提供确证的实验依据,本文依据“脾主运化”的中医理论,以健康大鼠胃泌素、十二指肠  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性、离体十二指肠肠管等实验,从“运化水谷”的角度,探讨泽泻麸制前后健脾作用的差异。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 大鼠,雄性,体重(180 ~ 220)g,由大连医科大学实验动物中心提供,合格证号为 SCXK(辽)2008-0002。

**1.2 药品及试剂** 泽泻生品饮片,购自安徽亳州,经辽宁中医药大学鉴定教研室翟延君教授鉴定为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep.。麸制泽泻,将生泽泻饮片依照《中国药典》2010 年版附录 II D 中麸制工艺,进行炮制。泽泻生品和麸制品提取液,分别取泽泻生品和麸制品,加水煎煮二次,滤过,滤液浓缩成  $2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液;用时用 0.3% 的羧甲基纤维素钠溶液稀释至需要浓度。大鼠胃泌素 (GAS) ELISA 试剂盒,批号 DZE855577;大鼠  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶 ELISA 试剂盒,批号 DZE856657,均由厦门慧嘉生物科技有限公司提供。

**1.3 仪器** Sunrise 型酶标仪(瑞士帝肯集团公司);YCP-50S 型恒温孵箱(长沙华曦电子科技有限公司),Innova U570 型  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱(武汉理想科学仪器有限公司),RM6240B 生物信号采集系统(四川成都仪器厂)。

## 2 方法

**2.1 正常大鼠血清胃泌素含量的测定** 取大鼠 50 只随机分为空白对照组、泽泻生品低剂量组、泽泻生品高剂量组、泽泻麸制品低剂量组、泽泻麸制品高剂量组,共 5 组。各组大鼠 ig 给药,空白对照组给予 0.3% 的羧甲基纤维素钠溶液,低剂量组大鼠每次给药量为  $2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,高剂量组大鼠每次给药量为  $6.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各给药组每天 ig 2 次。给药 7 d 后,腹主动脉取血,  $4 \sim 8 \text{ }^\circ\text{C}$  静置 10 min 后,  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心,小心取血清;同时取十二指肠,清洗干净。血清

及十二指肠样品  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。测定时将  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  保存的血清复融后,混匀,于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 3 min,取上清,严格按照试剂盒说明的操作程序测定血清的 GAS 水平。

**2.2 正常大鼠十二指肠  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶含量的测定** 取 2.1 中各组大鼠小肠组织 5 ~ 20 mg 置匀浆器中,加无水乙醇与生理盐水按 1:9 比例制成 10% 的匀浆,  $1500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清 0.2 mL,加 0.8 mL 生理盐水稀释成 2% 的匀浆,测定  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶含量<sup>[4]</sup>。

**2.3 大鼠离体十二指肠平滑肌运动功能指标测定**

实验分 5 组:泽泻生品低剂量组 ( $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),泽泻生品高剂量组 ( $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),泽泻炮制品低剂量组 ( $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),泽泻炮制品高剂量组 ( $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和空白组,各组药液浓度均为终质量浓度,每组 8 段肠管。实验前大鼠禁食 24 h,自由饮水,脱颈椎处死后,立即沿腹中线打开腹腔,迅速找到胃下部,在距胃下部约 1 cm 处取长约 2 cm 的一段十二指肠,置于盛有冷克氏液的平皿中,平皿置于冰块上,平皿中通以 95%  $\text{O}_2$  和 5%  $\text{CO}_2$  混合气体。小心去除肠系膜及脂肪组织,洗净肠内容物。将肠管两端对角穿线结扎,下端引线连于固定钩上,上端引线于微拉力换能器簧片连接固定,负荷 3 g,将肠管完全浸入  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温的营养液中,浴槽内持续通以 95%  $\text{O}_2$  和 5%  $\text{CO}_2$  混合气体,气流量 (60 ~ 80) 个气泡/min。肠管收缩稳定后浴槽内先加入  $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的乙酰胆碱(终浓度)检验肠管的活动力,待其作用明显后用新鲜的  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  克氏液冲洗 3 遍,稳定 1 h 后开始给药。打开 RM6240B 生物机能实验系统,选择通道,并选择“张力”信号,设置控制参数,滤波 F:30Hz,扫描速度:  $1 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ,负荷:3 g。以离体回肠收缩幅度、张力及收缩频率为统计指标,采用区间测量法计算各剂量组给药后 3 min 内与给药前 3 min 内回肠收缩幅度及收缩频率均值的差值,比较泽泻炮制前后不同剂量与对照组有无显著性差异<sup>[5-6]</sup>。

**2.4 统计学处理** 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 15.0 软件包进行相关分析,数据资料率的比较用 *t* 检验和方差分析,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对正常大鼠血清胃泌素含量的影响** 与空白组比较,泽泻麸制品高剂量组均可使大鼠血清胃泌素含量明显升高 ( $P < 0.01$ );在高剂量给药时,泽泻麸制品对大鼠血清胃泌素的含量有升高作用 ( $P < 0.05$ ),且在低剂量给药时,泽泻麸制品组对大鼠血清

胃泌素的含量也表现出一定的升高趋势(表1)。

表1 泽泻生品及麸制品对正常大鼠血清胃泌素含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	含量/ $ng \cdot L^{-1}$
空白	-	3.01 ± 0.38
泽泻生品	2	2.87 ± 0.35
	6	3.24 ± 0.13
泽泻麸制品	2	3.28 ± 0.34
	6	3.77 ± 0.49 <sup>1, 2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与相同剂量泽泻生品组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ (表2~3同)。

**3.2 对正常大鼠十二指肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶含量的影响** 与空白组比较,泽泻麸制品组有显著升高大鼠十二指肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶含量的作用( $P < 0.01$ )。相同给药量下,泽泻麸制品组与泽泻生品组比较,泽泻麸制品组可升高大鼠十二指肠 $Na^+ -$

$K^+ - ATP$ 酶含量( $P < 0.05$ ),见表2。

表2 泽泻生品及麸制品对大鼠十二指肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶含量影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	含量/ $\mu mol \cdot g^{-1}$
空白	-	10.39 ± 0.54
泽泻生品	2	10.15 ± 2.90
	6	11.77 ± 1.37
泽泻麸制品	2	11.37 ± 1.63 <sup>2)</sup>
	6	13.31 ± 1.99 <sup>1, 2)</sup>

**3.3 对大鼠离体十二指肠平滑肌运动的影响** 与空白组比较,麸制泽泻具有提高大鼠离体十二指肠平滑肌收缩幅度和相对张力作用( $P < 0.05$ ),对收缩频率影响较小。与泽泻生品比较,泽泻麸制后对于大鼠离体十二指肠相对收缩张力的影响变化不大,见表3。

表3 泽泻生品及麸制品对大鼠离体十二指肠平滑肌的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	终质量浓度/ $g \cdot L^{-1}$	振幅/g	相对张力/%	频率/次/min
空白	-	0.595 ± 0.029	98.0 ± 4.4	32.46 ± 0.59
泽泻生品	2	0.622 ± 0.015 <sup>1)</sup>	103.6 ± 4.5	31.95 ± 0.63
	6	0.632 ± 0.012 <sup>1)</sup>	111.6 ± 7.2 <sup>1)</sup>	32.43 ± 0.55
泽泻麸制品	2	0.627 ± 0.015 <sup>1)</sup>	103.9 ± 6.4	32.27 ± 0.81
	6	0.638 ± 0.010 <sup>1)</sup>	114.3 ± 4.9 <sup>1)</sup>	32.44 ± 0.54

#### 4 讨论

以健康大鼠的胃肠激素分泌和运动为指标,探讨药物健脾作用是研究中药健脾作用的可行方法<sup>[7]</sup>,因此本实验采用健康大鼠为动物模型,进行泽泻炮制前后健脾作用研究。

胃肠运动和消化酶活性是胃肠消化吸收功能正常的基础。胃泌素是已知的与消化系统功能密切相关的胃肠激素之一。胃泌素的生理功能为引起胃底舒张、胃窦收缩,延迟胃排空<sup>[8]</sup>。药理剂量胃泌素可延缓人和狗的胃排空<sup>[9]</sup>。十二指肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性增强,有利于ATP的水解,释放能量,可增强肠蠕动。胃肠运动的影响因素较多,各因素综合影响胃肠运动。离体肠管的运动不受激素水平等因素的影响,单纯性反应药物对其的直接作用。离体十二指肠平滑肌的收缩作用不仅包括收缩幅度还包括收缩频率和相对张力,综合性反应药物对肠管的直接作用。因此,胃泌素、十二指肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性和离体肠管的收缩作用是常用指标,用于药物的健脾作用研究<sup>[8]</sup>。

实验结果显示,给予高剂量泽泻麸制品时,大鼠

血清胃泌素含有明显的增加,同时也可明显增加大鼠十二指肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性,但生品作用较弱。泽泻生品和麸制品均能够增强大鼠离体十二指肠平滑肌收缩幅度,但炮制前后无明显变化。

总之,泽泻的健脾作用可能是通过增加胃泌素分泌,提高十二指肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性,增强十二指肠平滑肌收缩作用,从而提高通过延长食物胃排空,促进肠蠕动,加速食糜在肠内的吸收速度而实现的,且炮制后作用增强。泽泻炮制前后只对消化酶的活性和含量有较大影响,而对离体十二指肠平滑肌的收缩作用无明显影响,这也许就是泽泻麸制后“渗湿和脾”作用增加的表现,即泽泻对胃肠运动的影响较弱,其“和脾”作用可能主要表现为消化酶活性的调节。

现代医学研究表明,影响胃肠消化吸收功能的因素复杂,除胃肠激素分泌及 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性外,还包括调节胃肠运动的蛋白功能、胃肠细胞内外电位差等多种因素,而且除胃泌素之外还有其他胃肠分泌激素<sup>[9]</sup>,这些因素相互影响,关系复杂。因此,泽泻麸炒后健脾作用增强的机制研究还需要从

# 左归丸对去卵巢骨质疏松大鼠肾脏 TGF- $\beta_1$ /Smad4 mRNA 表达的影响

任艳玲<sup>1\*</sup>, 李娅玲<sup>1</sup>, 吕海波<sup>1</sup>, 刘立萍<sup>1</sup>, 赵金茹<sup>1</sup>, 王良辰<sup>2</sup>

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110032; 2. 东北育才双语学校, 沈阳 110164)

**[摘要]** 目的:研究左归丸对去卵巢骨质疏松大鼠的治疗作用及其机制。方法:SD 雌性大鼠分为正常组,假手术组,模型组,左归丸高、中、低剂量组,及尼尔雌醇组,采用去卵巢的方法建立绝经后骨质疏松症模型,术后 21 d 开始给药:正常组,假手术组 ig 生理盐水;左归丸高、中、低剂量组分别 ig 6.4,3.2,1.6 g·kg<sup>-1</sup>,1 次/d;尼尔雌醇组 ig 0.021 g·kg<sup>-1</sup>,1 次/周,连续 60 d。取大鼠左后肢股骨远端 1/3 做病理切片,光镜下观察骨组织形态学变化,测定骨小梁面积百分比(Tb·Ar);采用双能 X 射线骨密度仪测定右后肢离体股骨近端 1/3 及股骨整体的骨密度(BMD);采用 RT-PCR 法检测大鼠肾脏质的转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )/Smad4 mRNA 表达。结果:与模型组比较,左归丸高、中剂量组骨小梁面积百分率(Tb·Ar)显著升高( $P < 0.05$ ),左归丸高、中剂量组的股骨的骨密度显著升高( $P < 0.05$ );各组肾脏组织病理形态学未见明显病理变化;与正常组相比,模型空白组 TGF- $\beta_1$ ,Smad4 mRNA 水平过高表达( $P < 0.05$ );与模型组相比,各给药组肾组织中 TGF- $\beta_1$ ,Smad4 mRNA 表达均显著下调( $P < 0.05$ ),且左归丸各剂量组的下调力度均强于尼尔雌醇组,但以左归丸低剂量组下调最为显著。结论:左归丸能有效防治绝经后骨质疏松症,其作用机制之一可能与其干预肾组织中 TGF- $\beta_1$ /Smad4 的信号转导通路有关。

**[关键词]** 左归丸;绝经后骨质疏松症;转化生长因子- $\beta_1$ ;Smad4

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0190-05

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20120313.1302.007 **[网络出版时间]** 2012-03-13 13:02

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120313.1302.007.html>

**[收稿日期]** 20111010(011)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30873226);教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20102133110001);辽宁省高等学校优秀人才支持计划(LR201025)

**[通讯作者]** \*任艳玲,教授,博士后,从事方药配伍规律及作用机制的研究,Tel:024-31207267,E-mail:yanlingren@tom.com

其他影响胃肠运动、消化吸收功能方面,尤其要从缓和寒性的角度,进行深入研究,将有利于对其炮制前后健脾作用的差异有深入的揭示。

## [参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:212.  
[2] 肖飞艳,冯育林,杨世林,等.泽泻化学成分的研究进展[J].中药新药与临床药理,2009,20(5):491.  
[3] 禹建春,叶红梅,林西西.泽泻的药理研究概况[J].海峡药学,2011,23(2):92.  
[4] 樊凯芳,唐迎雪,曹淑霞.三化汤对脑缺血-再灌注老龄大鼠胃肠组织 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性及 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性的影响[J].时珍国医国药,2009,20(6):1367.  
[5] 韩坚,陈孝健.离体肠管实验的研究概况[J].中医药

导报,2008,14(3):94.

[6] 刘妍妍,崔志清.牛磺酸对小鼠肠推进及大鼠离体回肠平滑肌运动的影响[J].天津医科大学学报,2008,14(4):441.  
[7] 麻晓慧,缪红,商亚珍,等.枳术丸煎剂与枳术汤对大鼠胃动素的影响[J].承德医学院学报,2007,24(3):273.  
[8] 史琪荣,于少云,孙晓迪,等.黄连干姜药对对功能性消化不良大鼠胃排空和血清胃泌素的影响[J].中国药杂志,2011,46(13):988  
[9] 王承党.胃肠激素对胃运动和排空的调节作用[J].国外医学:消化系疾病分册,1995,(2):77.

[责任编辑 聂淑琴]