

乌药提取物对胃实寒模型大鼠 cAMP, cGMP, GAS, MTL 水平的影响

聂子文^{1,2}, 郭建生^{1,2,3*}, 陈君^{1,2}, 张猛^{1,2}, 刘红艳^{1,2}

(1. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208; 2. 湖南省教育厅中药现代化研究重点实验室, 长沙 410208; 3. 国家中药管理局药性与药效研究三级实验室, 长沙 410208)

[摘要] 目的: 观察乌药对胃实寒模型大鼠血浆中环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)、胃泌素(GAS)、胃动素(MTL)的影响。方法: 模型组大鼠采用寒冷刺激法造模 3 d 制备胃实寒模型, 按前后体重差随机分成 8 组, 分别为模型对照组、吗丁啉组、红花水煎液组、乌药水煎液组、乌药挥发油组、乌药醇提液组、乌药水提乙醚萃取物组、乌药醇提乙醚萃取物组, 乌药各提取物给药剂量均为生药 $1.64 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 第 4 d 造模后 10 min, 给药组 ig 相应药液 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 空白对照组及模型对照组给予等体积蒸馏水, 1 h 后进行第 2 次给药, 以酚红法测定胃排空率。采用酶联免疫法测定大鼠血浆中 cAMP, cGMP, MTL 和血清 GAS 的含量。结果: 与正常组比较, 模型组胃排空率显著降低 ($P < 0.05$), cGMP, cAMP / cGMP 降低 ($P < 0.05$), cAMP, GAS, MTL 值无显著差异。与模型组比较, 乌药水煎液、乌药挥发油、乌药醇提乙醚萃取物能明显抑制胃排空率 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 乌药水煎液和乌药挥发油能明显升高 cAMP 含量 ($P < 0.01$), 乌药水煎液、乌药挥发油、乌药醇提液、能够明显降低 cGMP 含量 ($P < 0.01$), 乌药水煎液、乌药挥发油、乌药醇提乙醚萃取物能明显升高 cAMP/cGMP ($P < 0.01$)。结论: 乌药水煎液、挥发油和醇提乙醚萃取物组能够明显抑制胃排空, 明显升高 cAMP/cGMP。

[关键词] 乌药; 胃实寒; 环磷酸腺苷; 环磷酸鸟苷; 胃泌素; 胃动素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0162-04

Effect of Extraction of Linderae Radix on cAMP cGMP GAS MTL Level in Rat Stomach Cold Models

NIE Zi-wen^{1,2}, GUO Jian-sheng^{1,2,3*}, CHEN Jun^{1,2}, ZHANG Meng^{1,2}, LIU Hong-yan^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine(TCM), Changsha 410208, China; 2. Hunan province Education Department Key Laboratory of modernization of TCM Research, Changsha 410208, China; 3. State Administration of TCM Tertiary Laboratory of Property and Efficacy Research of TCM, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the influence of Linderae Radix on cyclic adenosine monophosphate (cAMP), cyclic guanosine monophosphate (cGMP), gastrin (GAS), motilin (MTL) of plasma in rat stomach cold models. **Methods:** The rats of model group were prepared by using cold stimulation method for three days. According to the difference of weight between before and after modelling, the rats were randomly divided into eight groups: model group, domperidone group, water decoction of Safflower group, the water decoction group, the

[收稿日期] 20110422(002)

[基金项目] 国家科技部 973 资助项目(2007CB512603); 国家重点基础研究发展计划项目(2007CB512600); 湖南省科技计划项目(2007WK3033); 湖南省中药重点学科

[第一作者] 聂子文, 在读硕士, 从事中药新药研究与开发, Tel: 15874074617, E-mail: ziwenbluesky@163.com

[通讯作者] * 郭建生, 教授, 博士研究生导师, 从事中药新药研究与开发, Tel: 13017183627, E-mail: gjs7878@126.com

volatile medicine group, the medicine ethanol-extraction liquid group, the potions mention ether extract group, the medicine ethanol-extraction ether extract group. At 10 minutes after modeling of the fourth day, treatment group was given corresponding solution $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, normal group and model group were given distilled water e, the second administration was carried out after one hour, the gastric emptying rate was identified through Phenol red method. the content of plasma cAMP, cGMP, MTL and serum GAS was examined. **Result:** Compared with the normal group, the gastric emptying rate of model group significantly reduced ($P < 0.05$), levels of cGMP, cAMP / cGMP were reduced ($P < 0.05$), and levels of CAMP, GAS, MTL had no significant difference. Compared with model group, treatment groups like the medicine decoction, volatile oil and uriah medicine ethanol-extraction ether extract of *Linderae Radix* significantly suppressed gastric emptying rate ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The medicine decoction and volatile oil of *Linderae Radix* could obviously increase the content of cAMP ($P < 0.01$); the medicine decoction, volatile oil, lindera root alcohol extract and alcohol extraction ether extract of *Linderae Radix* could obviously reduce the content of cGMP ($P < 0.01$); the medicine decoction and volatile oil of *Linderae Radix* could significantly increased the ratio of cAMP/cGMP ($P < 0.01$). **Conclusion:** The medicine decoction, volatile oil and uriah medicine ethanol-extraction ether extract of *Radix Linderae* can inhibit significantly gastric emptying, and can markedly elevate cAMP/cGMP.

[**Key words**] *Linderae Radix*; stomach real cold; cyclic adenosine monophosphate; cyclic guanosine monophosphate; gastrin; motilin

乌药为樟科山胡椒属植物乌药 *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. 的膨大块根, 是重要的温胃理气止痛药。产于浙江、安徽、江苏、陕西等地。全年均可采挖, 除去细根, 洗净, 趁鲜切片, 晒干即得。性辛、温, 入肺、脾、肾、膀胱经。具有行气止痛, 温肾散寒的功效, 主治寒凝气滞、胃寒气滞、胸闷脘痛、呃逆、气厥头痛, 以及一切气痛等症^[1-2]。乌药对胃肠道的作用比较明显, 但是研究较少。为探讨和进一步确定其有效部位, 本研究主要考察乌药不同提取部位和萃取物对胃实寒模型大鼠的影响。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠, SPF 级, 体重 $180 \sim 220 \text{ g}$, 雌雄各半, 动物合格证号 HNACSDC20100707。许可证号 SCXK(豫)2009-0012。由湖南长沙市开福区东创实验动物科技服务部提供。

1.2 药物及试剂 乌药 *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm, 红花 *Carthami Flos* (购于湖南省岳阳医药总公司中药饮片加工厂长沙经营部) 经本校中药资源教研室刘塔斯教授鉴定为正品。莫沙比利 (批号 20100601 鲁南贝特制药有限公司), 酚红 (批号 20090505 南化化学试剂厂), 明胶、氢氧化钠 (天津市大茂化学试剂厂), 环磷酸鸟苷试剂盒 (cGMP, 批号 20101106), 环磷酸腺苷试剂盒 (cAMP, 批号 20101106), 胃泌素 (GAS, 批号 20101106); 胃动素

(MTL 批号 20101106) 购自长沙力生科贸有限公司实验试剂耗材部。

1.3 仪器 UV-1750 型岛津紫外-可见分光光度计 (岛津公司), AL204 型电子分析天平 (梅特勒托利多公司), 移液枪 (太龙医疗设备有限公司), 酶标仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司), 洗板机 (深圳雷杜生命科学股份有限公司)。

2 方法

2.1 分组与给药^[3-7] 取体重 $180 \sim 220 \text{ g}$ SD 大鼠 90 只, 雌雄各半, 随机分为 9 组, 每组 10 只。随机设一空白对照组, 其余各组均为模型组。空白组正常饲养, ig 给予蒸馏水 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。其余各模型组大鼠采用寒冷刺激法造模, 用 $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰水浸泡大鼠 30 min, 水深为 2 cm, 浸泡后立即 ig $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰水 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 1 日 2 次。造模期间, 每天记录动物的体重、饮食。于第 3 天造模后按造模前造模后体重差值随机分成 8 组, 分别为正常空白组、模型对照组、吗丁啉组 ($2.8 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、红花水煎液组 (按生药计 $1.82 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、乌药水煎液组、乌药挥发油组、乌药醇提液组、乌药水提乙醚萃取物组, 给药剂量按生药量计均为 $1.64 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、乌药醇提乙醚萃取物组 (1.64 g 生药/kg)。末次造模前 18 h 各组大鼠禁食。于第 4 d 造模后 10 min 给药组 ig 相应药液 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 空白对照组及模型对照组给予等体积蒸

馏水, 1 h 后进行第 2 次给药, 给药体积为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 空白对照组及模型对照组 ig 等体积蒸馏水, 20 min 后, 每只大鼠 ig 2 mL 0.01% 酚红溶液(含 20% 明胶), 20 min 后颈静脉取血并处死大鼠, 并取胃置 50 mL 的 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液中, 沿胃大弯剪开胃, 充分洗下胃内容物, 取 5 mL 离心 ($3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min)。吸上层溶液用 UV-1750 岛津紫外-可见分光光度计于 560 nm 波长测其吸光度(A), 计算胃排空率。采用酶联免疫法分别测定血清中 GAS, 血浆中 MTL, cAMP, cGMP 含量。

另取 10 只大鼠, 每只大鼠 ig 2 mL 0.01% 酚红溶液(含 20% 明胶), 立刻处死, 按上述方法处理, 测吸光度, 取其均值作为标准值(胃酚红排空为零)。按下式计算胃酚红排空率。

$$\text{胃排空率} = (1 - A_{560\text{试验组}} / A_{560\text{标准}}) \times 100\%$$

2.2 统计方法 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计分析采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计处理。符合正态性和方差齐性的资料, 采用单因素方差分析; 不符合正态性和方差齐性的资料, 采用非参数检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对胃实寒模型大鼠胃排空的影响 与空白对照组比较模型组的排空率降低有显著性差异($P < 0.01$), 提示模型成功; 与模型对照组比较乌药水煎液、乌药挥发油和乌药醇提乙醚萃取物能明显抑制

胃酚红排空率, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 对胃实寒模型大鼠排空率的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	排空率/%
空白对照	-	$65.7 \pm 9.7^{1)}$
模型对照	-	52.9 ± 13.5
吗丁啉	2.8×10^{-3}	$68.1 \pm 8.0^{1)}$
红花水煎液	1.82	$33.0 \pm 12.5^{2)}$
乌药水煎液	1.64	$31.1 \pm 22.3^{1)}$
乌药挥发油	1.64	$30.9 \pm 23.2^{1)}$
乌药醇提液	1.64	53.9 ± 15.9
乌药水提乙醚萃取物	1.64	45.8 ± 20.5
乌药醇提乙醚萃取物	1.64	$35.3 \pm 19.3^{1)}$

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

3.2 对胃实寒模型大鼠血浆 cAMP, cGMP 的影响

与空白对照组比较, 模型组的 cAMP 没有统计学意义, cGMP 和 cAMP/cGMP 水平有显著性差异; 与模型对照组比较, 乌药水煎液和乌药挥发油能够明显升高胃实寒模型大鼠血浆 cAMP 含量, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 乌药水煎液、乌药挥发油、乌药醇提液、乌药醇提乙醚萃取物能够明显降低胃实寒模型大鼠血浆 cGMP 含量, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 乌药水煎液和乌药挥发油能明显升高胃实寒模型大鼠 cAMP/cGMP, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 对胃实寒大鼠模型血浆 cAMP, cGMP 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	cAMP/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	cGMP/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	cAMP / cGMP
空白对照	-	1.02 ± 0.29	$10.97 \pm 1.91^{1)}$	$0.095 \pm 0.023^{1)}$
模型对照	-	0.82 ± 0.37	12.60 ± 1.25	0.066 ± 0.028
吗丁啉	2.8×10^{-3}	$1.07 \pm 0.34^{1)}$	10.97 ± 1.64	$0.099 \pm 0.032^{2)}$
红花水煎液	1.82	$1.27 \pm 0.71^{2)}$	12.65 ± 1.98	$0.100 \pm 0.048^{1)}$
乌药水煎液	1.64	$1.29 \pm 0.44^{1)}$	$10.92 \pm 2.21^{1)}$	$0.121 \pm 0.047^{2)}$
乌药挥发油	1.64	$1.19 \pm 0.46^{1)}$	$10.48 \pm 2.10^{1)}$	$0.119 \pm 0.059^{2)}$
乌药醇提液	1.64	0.83 ± 0.27	$10.41 \pm 1.97^{1)}$	0.081 ± 0.022
乌药水提乙醚萃取物	1.64	0.87 ± 0.22	11.11 ± 1.84	0.079 ± 0.020
乌药醇提乙醚萃取物	1.64	0.81 ± 0.12	$10.86 \pm 1.70^{1)}$	0.076 ± 0.017

3.3 对胃实寒模型大鼠血清 GAS, 血浆 MTL 的影响 与空白对照组 GAS(79.91 ± 42.46) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, MTL(571.38 ± 91.81) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 比较, 模型组的 GAS, MTL 含量分别为 (71.25 ± 20.13), (508.94 ± 60.17) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 变化没有统计学意义, 但有明显降低趋势; 与模型对照组比较, 乌药各提取物组 GAS 和

MTL 含量差异无统计学意义。

4 讨论

模型组与空白组相比排空率, cGMP 和 cAMP / cGMP 水平有显著性差异, 说明胃实寒模型是成功的。但是 cAMP, GAS, MTL 水平无统计学意义, 有降

低趋势,在一定程度上可用来评价胃实寒模型是否成功。

MTL 是的生理作用主要是促进胃肠运动,提高胃肠道、胆道、oddis 括约肌的收缩力和张力,促进胃排空。MTL 是公认的启动胃肠收缩活动的脑肠态^[5],在消化期间呈周期性释放,通过作用于肠道神经系统中的胃动素神经元,触发胃肠道消化间期移行性复合运动Ⅲ相的发生,引起胃强烈收缩和小肠明显的分节运动,可将胃肠内残渣、脱落的细胞碎片和细菌等清理干净,起着“清道夫”作用。乌药水煎液、乌药挥发油、乌药醇提液、乌药水提乙醚萃取物和乌药醇提乙醚萃取物的 MTL 水平无统计学意义,仅有一定程度的降低趋势。

胃泌素是一种重要的胃肠激素,主要由 G 细胞分泌^[6]。胃泌素几乎对整个胃肠道均有作用,它可促进胃肠道的分泌功能。可提高幽门泵的活动,使幽门扩张,因而对胃排空有重要的促进作用。在胃实寒模型大鼠试验中,模型组胃排空功能减弱,胃肠运动功能要差乌药挥发油和乌药醇提液能够促进胃实寒模型大鼠胃泌素的分泌,乌药水提乙醚萃取物和乌药醇提乙醚萃取物抑制胃实寒模型大鼠血清 GAS 的分泌。乌药各提取物虽不能明显改善胃泌素和胃动素的含量,但能在一定程度上调节。

环核苷酸 cAMP, cGMP 是细胞内调节代谢的重要物质,是生命信息传递的“第二信使”,两者具有相互拮抗、相互制约的生物学效应^[7]。正常情况下,二者必须维持一定的比例,若比例发生改变(偏高或降低)就会引起机体功能失调而导致疾病,这与中医的阴阳学说非常相似。研究发现许多中药通过调节体内环核苷酸而起作用,从环核苷酸的含量变化,可观察到中药对机体的影响以及对疾病的疗效。与模

型组比较,乌药水煎液和乌药挥发油水平差异有统计学意义($P < 0.05$),能够明显升高胃实寒模型大鼠血浆 cAMP 含量;乌药水煎液、乌药挥发油、乌药醇提液、乌药醇提乙醚萃取物的 cGMP 水平差异具有统计学差异($P < 0.05$),能够明显降低胃实寒模型大鼠血浆 cGMP 含量;乌药水煎液和乌药挥发油 cAMP/cGMP 差异具有统计学意义($P < 0.01$)能明显升高胃实寒模型大鼠 cAMP/cGMP;乌药提取物能够抑制胃实寒模型大鼠 cGMP 的合成,明显升高胃实寒模型大鼠 cAMP/cGMP,促进胃实寒模型大鼠 cAMP 的合成。

[参考文献]

- [1] 好桂新,王峥涛,徐璐珊,等. 乌药的化学成分及药理作用[J]. 中国野生植物资源. 1999. 18(3): 5.
- [2] 周继斌,周文波. 乌药挥发油化学成分测定[J]. 中国野生植物资源, 1999. 18(2): 48.
- [3] 魏睦新,魏兰福,邹百仓,等. 胃肠动力中药作用机制研究[J]. 江苏中西医结合学报. 2004. 2(3): 163.
- [4] 祝捷,李宇航,王庆国,等. 半夏泻心汤对功能性消化不良大鼠胃排空及血浆胃动素的影响[J]. 中华中医药杂志, 2005, 20(6): 335.
- [5] 叶仁群,张光奇. 二金汤对实验性功能性消化不良大鼠胃排空和胃肠激素的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2005, 29(2): 357.
- [6] 张吉仲. 藏药余甘子、诃子和毛诃子对实验动物脏腑 cAMP, cGMP 含量的影响[J]. 云南中医中药杂志, 2009, 30(6): 53.
- [7] 王瑞萍,唐方. 藿香与陈皮不同比例合煎水提物对大鼠胃肠运动的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 98.

[责任编辑 聂淑琴]