

大黄各炮制品提取物泻下作用的比较研究

李燕^{1,2}, 隋峰^{2*}, 刘亮亮², 林娜^{2*}, 肖永庆², 李丽², 马超英¹

(1. 西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:**分析和比较大黄 4 种炮制品(生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭)提取物的泻下作用异同。**方法:**昆明小鼠单次给药,比较大黄 4 种炮制品提取物泻下效应的 ED₅₀及观察各组小鼠服药后首次泻下时间、5 h 内泻下次数及总排便次数;用炭末推进法比较大黄各炮制品提取物对小鼠小肠推进率的影响;大鼠给药 5 d 后测定结肠肠壁细胞 Na⁺-K⁺-ATP 酶的活性。**结果:**生大黄与酒大黄 ED₅₀相当,熟大黄和大黄炭即使在生大黄全致泻量(2ED₅₀)的 20 倍下也无致泻作用。生大黄和酒大黄两者均在给药后 3 h 左右产生泻下作用,但酒大黄从泻下时间和泻下次数上都较生大黄有所延迟和减少。生大黄高剂量、酒大黄的高、低剂量组以及大黄炭的低剂量组均能明显提高小鼠的小肠炭末推进率,与空白组比较差异显著;而熟大黄的高、低剂量组及大黄炭的低剂量组能降低小鼠的小肠炭末推进率,但与空白组比较均未见显著差异。对大鼠结肠肠壁细胞 Na⁺-K⁺-ATP 酶的活性,各炮制品都对其产生明显抑制作用,生大黄的酶抑制作用强于其他。**结论:**大黄 4 种炮制品提取物均有一定的泻下作用,但泻下作用强度有所不同。生大黄泻下效力最强,酒大黄次之,而熟大黄和大黄炭作用最弱。

[关键词] 大黄炮制品;泻下作用;大黄提取物

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0151-04

Comparative Study on Purgative Effect Among Different Extracts of Processed Rhez Radix et Rhizoma

LI Yan^{1,2}, SUI Feng^{2*}, LIU Liang-liang², LIN Na^{2*}, XIAO Yong-qing², LI Li², MA Chao-ying¹

(1. School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the different purgative effect among different extracts of processed Rhez Radix et Rhizoma (Rhez Radix et Rhizoma, Rhez Radix et Rhizoma wine, cooked Rhez Radix et Rhizoma and Rhez Radix et Rhizoma carbon extracts). **Method:** The different samples were administered to mice for examining the purgative ED₅₀ and observing the first purgative time, the 5 hour purgative times and defecation quantity; the effects on small intestinal propulsion were determined by charcoal powder rates in mice; the effects on Na⁺-K⁺-ATPase in rat colon wall cell membrane were determined after the rat was administered for 5 days. **Result:** The purgative ED₅₀ of Rhez Radix et Rhizoma was equivalent to Rhez Radix et Rhizoma wine, the cooked Rhez Radix et Rhizoma and Rhez Radix et Rhizoma carbon were not purgative. The mice would be purgative when administered Rhez Radix et Rhizoma and Rhez Radix et Rhizoma wine for 3 hours, but judging from the first purgative time and the 5-hour purgative times, the purgative effect of Rhez Radix et Rhizoma was greater than Rhez Radix et Rhizoma wine. Compared with control group, the high dose of Rhez Radix et Rhizoma, the Rhez Radix et Rhizoma wine and the low dose of Rhez Radix et Rhizoma carbon could significantly promote the small intestinal propulsion in mice, but the

[收稿日期] 20110330(004)

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(30472143,30672666)

[通讯作者] * 隋峰, Tel:010-64041008, E-mail: suifeng2136@126.com

* 林娜, Tel:010-64011692, E-mail: linna888@163.com

cooked Rhez Radix et Rhizoma and the low dose of Rhez Radix et Rhizoma carbon could not. The four processed products of Rhez Radix et Rhizoma can inhibit $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in rat colon wall cell membrane, but the Rhez Radix et Rhizoma showed the best inhibitory effect. **Conclusion:** The four extracts of processed Rhez Radix et Rhizoma have different purgative effects. The Rhez Radix et Rhizoma was the best, next came the Rhez Radix et Rhizoma wine, and the cooked Rhez Radix et Rhizoma and Rhez Radix et Rhizoma carbon were poor.

[**Key words**] processed Rhez Radix et Rhizoma; purgative effect; Rhubarb extract

大黄药用历史悠久,是中医临床上最古老、最常用、最重要的中药之一,常以不同的炮制品组方入药,发挥其独特的治疗作用^[1]。生大黄苦寒沉降,泻下作用峻烈,具有攻积导滞、泻火解毒的功能;大黄酒炙后其苦寒泻下作用稍缓,并借酒升提之性,引药上行,善清上焦血分热毒;熟大黄泻下作用缓和,减轻腹痛、恶心、呕吐等不良反应,并能增强活血祛瘀之功;大黄炭泻下作用极微,并有凉血化瘀止血作用。大黄化学成分复杂,主要含有蒽醌苷及苷元,蒽酮类成分,二苯乙炔苷及其苷元,以及鞣质等多种化学成分^[2]。大黄不同炮制品所具有的功效特点,与其内在物质基础的变化有着密切的关系。前期我们课题组以大黄炮制品粉末为对象,进行了药效学的比对分析研究,本文进一步针对大黄的 4 种常用炮制品乙醇提取物的泻下作用进行药效学及机制研究,为挖掘大黄的物质基础以及进一步的开发利用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 健康昆明种小鼠,雌雄各半,体重(20~22)g;健康 SD 大鼠,雄性,体重(180~200)g,均由中国人民解放军医学科学院实验动物中心提供,许可证号 SCXK(军)2007-004;均饲养于中国中医科学院基础理论研究所实验动物中心。

1.2 药品 掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的根及根茎,按照《中国药典》规定的炮制方法制备成生大黄、熟大黄及大黄炭饮片。大黄生、酒、熟、炭饮片粗粉各 5 kg,以 75% 乙醇 15 倍量渗漉提取,低温减压回收溶剂,得到各饮片提取物(由中国中医科学院中药研究所炮制室肖永庆研究员提供),临用前用温水配制成所需浓度。

1.3 仪器及试剂 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);小鼠代谢笼(意大利 TECNIPLAST 公司);3k15 高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司);unic7200 型可见分光光度计(龙尼柯上海仪器有限公司);考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒(南京建成生物工程研究

所); $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

2 方法

2.1 对正常小鼠泻下作用^[3] 小鼠适应性喂养 2 d 后,随机分组,每组 10 只。泻下试验当日小鼠禁食 4 h,除空白组给予蒸馏水外,其余给药组均给予相应的药物高剂量($5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),低剂量($3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),容积 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,然后将小鼠单个放入代谢笼中(底下铺有滤纸)观察致泻作用。按粪便性状分为:正常、软便、溏便、水便^[4]。我们指定溏便和水便为泻下的阳性反应,分别观察 5 h 内各组泻下只数、各小鼠首次泻下时间、5 h 内泻下次数及总排便次数。为了进一步比较生大黄和酒大黄提取物泻下效力,增加了剂量后,比较生大黄与酒大黄泻下的 ED_{50} ,观察各剂量下 5 h 内的泻下只数。

2.2 对小鼠肠推进作用 采用炭末推进方法^[5]。小鼠禁食 24 h(不禁水),按剂量(高剂量 $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,低剂量 $3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)给药 30 min 后,ig 5% 炭末与 10% 的阿拉伯凝胶($0.2 \text{ mL}/\text{只}$)作指示剂,20 min 后脱颈椎处死,打开腹腔,取出自幽门至回盲部的小肠,不加牵引地平铺于玻璃板上,测其全长和炭末前沿至幽门的距离,计算其与全长的百分比,即推进率。

炭末推进率 = 炭末在肠内推进距离(cm)/小肠全长(cm) × 100%

2.3 对大鼠结肠壁细胞 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的影响^[6] 雌性大鼠适应性喂养 2 d,随机分成 9 组,每组 10 只。除空白组蒸馏水 ig 外,其余各实验组按剂量连续 ig 5 d,ig 体积 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。于第 6 天末次给药 30 min 后,大鼠断头处死打开腹腔,取全段结肠,矢状剖开,生理盐水冲洗干净,滤纸吸干,用消毒铝箔包好迅速放入液氮 10 min 中,然后保存于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中。按试剂盒操作方法,取 0.2 g 结肠用于 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的测定。

ATP 酶活力($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) = (测定管 A - 对照管 A) / 标准管 A × 标准管浓度($1 \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$) × 反应体系中样品稀释倍数 × 6 (水浴时间 10 min,酶活力定义为 1 h,故乘以 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)。

2.4 统计方法 结果以 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组与组之间的比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 泻下作用 只有生大黄和酒大黄提取物产生泻下作用,而熟大黄和大黄炭提取物即使在生大黄提取物全致泻量($2ED_{50}$)的 20 倍下也无致泻作用。

生大黄和酒大黄提取物两者均在给药后 3 h 左右产生泻下作用,但生大黄多在 160 min,而酒大黄从泻下时间和排稀便次数上都稍有所延迟和减少($P < 0.05$)。从排便性状上比较,生大黄和酒大黄泻下时多为溏便(略成形或不成形呈糊状),而熟大黄与大黄炭有稀便产生,但多为正常便,同时也有黑便产生(体积小,干瘪,圆形)。见表 1。

表 1 大黄 4 种炮制品提取物 5 h 内首次泻下时间,泻下次数及总排便次数比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	泻下只数	首次泻下时间/min	5 h 泻下数/次	5 h 总排便数/次
空白	-	0	-	-	5.50 ± 1.04
生大黄	5	9	161.81 ± 33.72	4.18 ± 1.32	$9.33 \pm 1.92^{4)}$
	3	9	180.18 ± 35.75	4.36 ± 1.12	$10.5 \pm 1.97^{4)}$
酒大黄	5	8	$199.36 \pm 28.91^{1)}$	$2.91 \pm 1.64^{1)}$	$11.67 \pm 2.05^{2,4)}$
	3	9	$202.90 \pm 30.46^{1)}$	$2.30 \pm 0.94^{2)}$	$10.67 \pm 2.10^{3)}$
熟大黄	5	0	-	-	7.33 ± 1.36
	3	0	-	-	7.10 ± 1.47
大黄炭	5	0	-	-	$6.33 \pm 2.54^{3)}$
	3	0	-	-	$8.67 \pm 2.16^{4)}$

注:与生大黄比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与空白组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 泻下 ED_{50} 测定 结果单次 ig 小鼠生大黄提取物泻下 ED_{50} 为 $1.26 g \cdot kg^{-1}$,95% 可信区间为 $0.96 \sim 1.58 g \cdot kg^{-1}$;酒大黄提取物泻下 ED_{50} 为 $1.43 g \cdot kg^{-1}$,95% 可信区间为 $1.05 \sim 1.83 g \cdot kg^{-1}$;效价强度之比为 1.14:1,泻下效应大致相当。熟大黄和大黄炭提取物泻下效力较弱,没有求出 ED_{50} 。

3.3 小鼠肠推进作用 生大黄提取物高剂量组,酒大黄提取物高、低剂量组以及大黄炭提取物低剂量组均能明显提高小鼠的小肠推进率,与空白组比较差异显著($P < 0.01$,或 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 大黄各炮制品对小鼠小肠推进率的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	炭墨推进率
	/ $g \cdot kg^{-1}$	/%
空白	-	52.20 ± 3.37
生大黄	5	$55.60 \pm 5.00^{1)}$
	3	54.10 ± 5.80
酒大黄	5	$57.60 \pm 4.53^{1,4)}$
	3	$55.60 \pm 3.30^{1)}$
熟大黄	5	51.50 ± 7.79
	3	$50.80 \pm 4.70^{3,5)}$
大黄炭	5	49.00 ± 9.60
	3	$59.90 \pm 6.10^{2,3)}$

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与生大黄组比较³⁾ $P < 0.05$;与大黄炭组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 大鼠结肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性测定 生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭提取物高低剂量对大鼠结肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶的活性都有显著的抑制作用($P < 0.01$,或 $P < 0.05$)。见表 3。

表 3 大黄各炮制品提取物对大鼠结肠 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	$Na^+ - K^+ - ATP$ 酶/ $U \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$
空白	-	5.45 ± 0.78
生大黄	5	$4.29 \pm 0.44^{2,3)}$
	3	$4.45 \pm 0.62^{1)}$
酒大黄	5	$4.40 \pm 0.37^{2,3)}$
	3	$4.66 \pm 0.39^{1)}$
熟大黄	5	$4.64 \pm 0.45^{1)}$
	3	4.71 ± 0.59
大黄炭	5	$4.76 \pm 0.70^{1)}$
	3	$4.61 \pm 0.80^{1)}$

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与大黄炭组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

本研究采用首次泻下时间、泻下只数、5 h 内泻下次数、总排便次数、半数泻下量、小肠推进率及 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活力等不同指标和参数,分别对大黄各炮制品提取物泻下环节的作用强度进行了分析和比较。总体看,生大黄与酒大黄提取物泻下作用明显,两者相比,后者的首次泻下时间明显延长,泻下次数也减少,但从总排便次数、肠推进率及 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活力来看,后者泻下效力又强于前者;熟大黄和大黄炭提取物的泻下作用较弱,且表现出抑制肠推进的作用。

现代研究表明,大黄致泻的主要成分为蒽醌类化合物,其中以番泻苷的作用最强,游离型蒽醌泻下

茱萸丸对大鼠实验性 2 型糖尿病的治疗作用

刘瑞丰, 吕建东, 张晓鹏, 喇孝瑾, 王亚, 陈贵良, 殷华, 喇万英*

(河北联合大学中医学院, 河北唐山 063000)

[摘要] 目的: 观察茱萸丸对实验性 2 型糖尿病大鼠降糖、降脂等作用的影响。方法: Wistar 大鼠 110 只, 随机抽取 50 只作为正常大鼠实验组, 其余 60 只为糖尿病大鼠组。糖尿病组以高脂饲料诱导加链脲佐菌素 (STZ) $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 建立 2 型糖尿病模型, 7 d 后选取成模大鼠 50 只。50 只正常大鼠和 50 只糖尿病大鼠各自按随机数字表法分为正常组 (0.9% 生理盐水)、模型组 (0.9% 生理盐水)、药物组 (盐酸二甲双胍 $0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、茱萸丸组 (低、中、高剂量组分别为 $0.75, 1.5, 3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每组 10 只。连续 ig 给药 2 周后, 观察各组大鼠体重、血糖、血脂的变化。结果: 茱萸丸对实验性 2 型糖尿病大鼠血糖有明显降低作用 ($P < 0.01$), 对正常大鼠血糖无明显变化; 能明显改善糖尿病大鼠的血脂 ($P < 0.01$), 明显降低大鼠 TC, TG, 对糖尿病大鼠治疗后期的体重减轻起到延缓的作用 ($P < 0.01$)。结论: 茱萸丸能降低糖尿病大鼠的血糖, 改善糖尿病大鼠的血脂和体重。

[关键词] 茱萸丸; 实验性 2 型糖尿病; 大鼠; 降糖; 降脂; 二甲双胍

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2011)17-0154-04

Therapeutical Effect of Zhuyu Wan on Type 2 Diabetes in Rats

LIU Rui-feng, LV Jian-dong, ZHANG Xiao-peng, LA Xiao-jin,

WANG Ya, CHEN Gui-liang, YIN Hua, LA Wan-ying*

(College of Traditional Chinese Medicine, Hebei United University, Tangshan 063000, China)

[收稿日期] 20110313(001)

[基金项目] 国家科技部国际合作项目(2008DFA31050)

[第一作者] 刘瑞丰, 在读硕士研究生, 从事中医药治疗代谢性疾病研究, Tel: 15176739023, E-mail: 602763962@qq.com

[通讯作者] * 喇万英, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 从事中医药治疗代谢性疾病研究, Tel: 13832873908, E-mail: lwy1948@163.com

作用较弱。大黄经不同工艺炮制后, 蒽醌苷类成分的含量均有不同程度的变化^[7]。本实验采用 75% 乙醇提取物作为试验研究对象, 乙醇提取部位成分的变化可能是导致大黄不同炮制品泻下作用变化的物质基础, 但大黄各炮制品提取物之间化学成分组成和含量以及炮制后化学物质基础与其生物学机制的内在联系尚有待深入研究。

[参考文献]

- [1] 龚千峰. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 170.
- [2] 李丽, 张村, 肖永庆, 等. 大黄 5 种饮片指纹图谱色谱峰的归属与比较[J]. 中国中药杂志, 2009, 34

(13): 1668.

- [3] 吴连英, 江文君, 毛淑杰, 等. 中药大黄炮制 II —— 炮制对大黄泻下作用与泻下成分的影响[J]. 中药通报, 1983, 8(2): 20.
- [4] 高晓山, 王旭华. 配伍对大黄致泻作用的影响[J]. 冶金医学情报, 1999, 7(3): 113.
- [5] 钟华玉, 张勉, 戴岳, 等. 大黄和生首乌鞣质含量对小鼠小肠推进的影响[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(12): 2478.
- [6] 王家葵, 李傲, 王慧, 等. 正品大黄不同品种间泻下效价强度比较研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1987.
- [7] 周现军. 不同炮制工艺对大黄中蒽醌成分含量的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(10): 130.

[责任编辑 聂淑琴]