

麸炒苍术不同提取物对小鼠脾虚泄泻的影响

马潇¹, 康安¹, 徐珊², 狄留庆^{1*}, 汪受传²

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; 2. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023)

摘要:目的 探究麸炒苍术水提取物、醇提取物、二氯甲烷部位对脾虚泄泻模型小鼠的治疗作用。方法 选用番泻叶水煎液灌胃制备大鼠脾虚模型。考察麸炒苍术水提取物、醇提取物、二氯甲烷萃取物对脾虚小鼠体质量、腹泻等级、粪便含水率、血清淀粉酶、D-木糖水平及肠内短链脂肪酸(SCFAs)含量的影响,并做肠道病理学进行观察。结果 与模型组比较,麸炒苍术水提取物、醇提取物、二氯甲烷部位均可显著减轻腹泻等级、缓解脾虚引起的体质量增长迟缓,降低粪便含水率,增加血清 D-木糖及肠内短链脂肪酸含量,减轻肠黏膜损伤,此外麸炒苍术二氯甲烷部位组血清淀粉酶水平较模型组显著提高。结论 麸炒苍术水提取物、醇提取物、二氯甲烷部位均能明显拮抗番泻叶所致小鼠脾虚泄泻,麸炒苍术二氯甲烷部位对于脾虚泄泻引起消化吸收功能降低能起到最好的改善作用。

关键词:麸炒苍术;脾虚泄泻;血清淀粉酶;D-木糖;短链脂肪酸

中图分类号:R285.5 文献标志码:A 文章编号:1672-0482(2018)03-0292-06

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2018.0292

Effect of Bran Stir-Baked Atractylodis Rhizoma Water Extract, Ethanol Extract and CH₂Cl₂ Active Parts on Spleen-Deficiency Diarrhea in Mice

MA Xiao¹, KANG An¹, XU Shan², DI Liu-qing^{1*}, WANG Shou-chuan²

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Study of bran stir-baked Atractylodis Rhizoma water extract, ethanol extract and CH₂Cl₂ active parts on Efficacy with Spleen-deficiency Diarrhea(SDD) in mice. **METHODS** The spleen deficiency mouse models were established by extract of Sennae Folium and treated by bran stir-baked Atractylodis Rhizoma water extract, ethanol extract and CH₂Cl₂ active parts. Body weight, diarrhea index, fecal moisture, levels of serum amylase, D-xylose in serum and short chain fatty acids (SCFAs) contents in cecum of mice were studied, and intestinal pathology examination were observed. **RESULTS** Compared with model group, the body weights, the levels of D-xylose and SCFAs contents in the water extract, ethanol extract and CH₂Cl₂ active parts from bran stir-baked Atractylodis Rhizoma obviously increased. but the levels of diarrhea index, fecal moisture and relieve intestinal mucosal injury were significantly decreased. moreover, the level of serum amylase in the CH₂Cl₂ active parts group increased compared with model group. **CONCLUSION** The water extract, ethanol extract and CH₂Cl₂ active parts from bran stir-baked Atractylodis Rhizoma have obvious anti diarrhea effect in mice caused by extract of Sennae Folium. CH₂Cl₂ active parts show best improvement in digestion and absorption function.

KEY WORDS: bran stir-baked Atractylodis Rhizoma; spleen-deficiency diarrhea; serum amylase; D-xylose; short chain fatty acids

苍术始载于《神农本草经》,列为上品,为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.)DC.或北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎。味辛、苦,温。归脾、胃、肝经。燥湿健脾,祛风散寒,明目。用于湿阻中焦,脘腹胀满,泄泻,水肿,风湿痹痛,风寒感冒,夜盲,眼目昏涩^[1]。苍术经麸炒后,辛燥减弱,燥性缓和,气变芳香,增强了健脾和

胃的作用,是临床上治疗脾虚的常用中药之一。苍术中主含挥发油和难挥发性成分,目前文献报道多以挥发油为主,难挥发性成分关注较少,而苍术在临床上多以煎服为主,难挥发性成分是煎剂中的主要物质基础,应该给予足够重视,其不同提取物对药效学的贡献度如何,有必要深入研究。药理研究表明苍术醇提取物有抗腹泻作用^[2]。二氯甲烷部位健脾作

收稿日期:2017-12-11

基金项目:国家自然科学基金(81403433);江苏省高校自然科学基金项目(12KJD360004);南京中医药大学科技创新风险基金项目(CX201203);南京中医药大学中医儿科重点学科开放课题(EZK2012004, EZK2012015)

作者简介:马潇(1992—),男,硕士研究生。*通信作者:狄留庆,男,教授,博士生导师,主要从事中药高效给药系统设计与评价研究, E-mail: diluqing@126.com

用也较为明显^[3]。本实验采用番泻叶水煎液制备小鼠脾虚泄泻模型,比较麸炒苍术水提物、醇提物及二氯甲烷部位对小鼠脾虚泄泻的治疗作用,阐述麸炒苍术燥湿健脾作用机制,也为麸炒苍术的临床疗效提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级ICR小鼠,雄性,体质量18~22g,由南京青龙山实验动物中心提供,合格证号:SCXK(苏)2017-0001。

1.2 药物与试剂

麸炒苍术饮片(安徽万生中药饮片有限公司,批号:161001);乙醇(药用级,南京化学试剂股份有限公司);二氯甲烷(江苏强盛功能化学股份有限公司,批号:20160809);聚山梨酯80(国药集团化学试剂有限公司,批号:20161219);氢氧化钠(西陇科学股份有限公司,批号:160705);1-丙醇(99.7%)、氯甲酸正丙酯(98%),均购自北京百灵威有限公司;异丁酸(含量>99.0%)、异戊酸(含量>99.0%)、戊酸(含量>>98.0%),均购自东京化成工业株式会社;庚酸(含量>98.0%)、丁酸(含量>99.0%),均购自梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;丙酸(含量>98.3%)购自德国Dr Ehrenstorfer公司;己酸(含量>99.0%)、吡啶(含量≥99.9%)、正己烷(含量≥97.0%),均购自美国Sigma公司,小鼠D-木糖试剂盒(江苏菲亚生物科技有限公司,批号:201705),小鼠血清淀粉酶试剂盒(江苏菲亚生物科技有限公司,批号:201705)。

1.3 仪器

酶标仪(Thermo MULTISKAN GO型),离心机(Thermo CL21R型),显微镜(Nikon ECLIPSE Ti型),旋转蒸发仪(巩义市予华仪器有限责任公司RE-2000A型),真空干燥箱(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司BGZ-140型),三重四极杆气质联用仪(Thermo TSQ 8000 Evo型);电子天平(Sartorius CPA225D型);涡旋振荡器(Scientific Industries Allegra 64R型);超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司KQ-500B型);超纯水系统(Millipore Synergy UV型)。

2 方法

2.1 麸炒苍术醇提物及二氯甲烷萃取物的制备

取麸炒苍术,粉碎,过60目筛,然后称取过筛粉末100g,用6倍量95%乙醇水浴回流提取,共提取

3次,每次1h合并提取液,将提取液减压浓缩至无醇味,取出1/2作为醇提物(出膏率42.46%),其余用等量二氯甲烷萃取,重复3~5次,分出上层,合并,萃取液浓缩成浸膏,得到麸炒苍术二氯甲烷部位(出膏率4.08%),麸炒苍术水提物依上法提取、浓缩、干燥制备(出膏率51.68%)。根据各提取部位出膏率,称取浸膏,加少量聚山梨酯80制成混悬液^[4]。

2.2 动物分组、造模与给药

健康小鼠,雄性,适应性饲养3d后随机分为空白对照组、模型组、麸炒苍术水提物组、醇提物组及二氯甲烷部位组,共5组。除空白对照组外,其余各组均按每20g灌胃0.5mL给予1g/mL番泻叶水煎液,1次/d,连续7d,对照组给予等量生理盐水。每日造模5h后麸炒苍术水提物组、醇提物组及二氯甲烷部位组按生药量14.94g/kg灌胃给药,模型组与空白对照组给予等量生理盐水,每日1次,连续给药1周^[5]。

2.3 观察指标

2.3.1 小鼠一般状态观察 上午给药前观察小鼠的一般状态,包括毛发光泽度,精神状态,进食量,活动情况,大便形态等情况,并记录小鼠体质量。小鼠腹泻程度按照以下等级评分:0分表示无腹泻,粪便正常,圆柱形;1分表示有腹泻发生,粪便稀软、有形;2分表示有腹泻发生,粪便黏稠、不成形、水分含量高;3分表示有腹泻发生,粪便液态、不成形、水样稀粪。

2.3.2 粪便含水率测定 实验第2、4、8天,上午灌胃前收集每只小鼠新鲜粪便,置烘箱中105℃干燥5h,测定粪便含水率。

粪便含水率=(干燥前湿质量-干燥后干质量)/干燥前湿质量×100%。

2.3.3 血清D-木糖含量、淀粉酶活性检测 给药1周后,12h禁食不禁水,于第8天,小鼠给予10% D-木糖试剂10mL/kg,1h后小鼠自眼眶后静脉丛取血0.6mL,自然凝固后5000r/min离心5min,收集上层血清,分装于2个1.5mL离心管中。置于-80℃冰箱冻存待测。按照试剂盒说明书方法测定上述血清中淀粉酶活性、D-木糖的含量。

2.3.4 小鼠肠道内短链脂肪酸测定

2.3.4.1 色谱条件 色谱柱:TR-SQC色谱柱(15m×0.25mm);进样口温度:260℃;载气:氦气;柱内载气流量:1.2mL/min;分流比为10:1;进样量1μL;程序升温:50℃保持2min;10℃/min升温至

70 °C; 3 °C/min 升温至 85 °C; 5 °C/min 升温至 110 °C; 30 °C/min 升温至 290 °C, 保持 8 min。

2.3.4.2 质谱条件 离子源: EI 电子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 290 °C; 离子源温度: 230 °C; 质量扫描范围 m/z : 30~600。

2.3.4.3 对照品溶液配制 精密吸取乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸、3-甲基戊酸、4-甲基戊酸、2-甲基己酸和庚酸适量加入 10 mL 容量瓶中, 用 0.005 mol/L 的 NaOH 溶液稀释至刻度线, 配成各成分浓度分别为 585、288.6、112.7、168.6、78.6、195.9、32.9、17.4、18.7、511.6 $\mu\text{g/mL}$ 的母液。吸取含 600 $\mu\text{g/mL}$ 的己酸-d3(内标: IS) 的 0.005 mol/L NaOH 溶液 10 μL 于 EP 管中, 加入上述混标溶液 1 mL, 振荡 10 min, 13 200 g 4 °C 离心 20 min。吸取上清 500 μL 置于 10 mL 离心管中, 加入 300 μL 超纯水, 涡旋 30 s, 混匀。

2.3.4.4 供试品溶液配制 取实验第 8 天的 5 组小鼠盲肠内容物 60 mg 于 1.5 mL EP 管中, 加入含 600 $\mu\text{g/mL}$ 的己酸-d3(内标) 溶液 700 μL , 振荡 10 min, 13 200 g 4 °C 离心 20 min。吸取上清 500 μL 置于 10 mL 的玻璃离心管中, 加入 300 μL 超纯水, 涡旋 30 s, 混匀。

2.3.4.5 衍生化过程 在上述溶液中依次加入 500 μL 1-丙醇/吡啶(3:2, v/v) 试剂和 100 μL 氯甲酸。正丙酯, 涡旋 30 s, 超声 1 min。衍生化后, 加入 300 μL 正己烷萃取衍生化物质, 涡旋 1 min, 2 000 \times g

离心 5 min, 取上层溶液 200 μL 。再加入 200 μL 正己烷, 涡旋 1 min, 2 000 g 离心 5 min, 取 200 μL 上层溶液, 合并 2 次溶液, 混匀, 2 000 \times g 离心 5 min, 取上清即得^[6], 置于 4 °C 冰箱保存, 备用。

2.3.5 小鼠肠道病变情况 取各组小鼠近端空肠组织, 用生理盐水漂洗, 洗去肠内容物, 用滤纸吸去多余水分, 置于 10% 甲醛溶液固定超过 24 h。随后采用石蜡包埋、切片, HE 染色后, 在光学显微镜下检查空肠病变情况, 并对各组小鼠肠上皮绒毛长度进行测量比较。

3 结果

3.1 体质量与腹泻情况

造模第 2 天, 与对照组相比, 模型组与各治疗组均出现明显腹泻。第 4 天, 模型组与各治疗组均出现体质量增长缓慢, 除麸炒苍术水提物组外, 与对照组比较具有显著差异($P < 0.05$), 各治疗组腹泻情况有所好转。第 8 天, 模型组小鼠精神萎靡不振, 倦怠懒动, 食欲减退, 拱背, 便溏, 毛色污秽失泽, 体毛脱落, 呆纳、反应迟钝, 畏寒蜷卧, 喜扎堆, 肛门粘有粪便, 个别小鼠出现脱肛现象, 参考国家中医药管理局制定的《中医病证诊断疗效标准》^[7], 说明脾虚泄泻模型建立成功。各治疗组小鼠精神尚佳, 腹泻程度好转, 与模型组相比, 差异具有显著性($P < 0.05$), 各治疗组间腹泻等级无明显差异。空白对照组小鼠皮毛光亮, 活泼好动, 精力旺盛, 进食及粪便形态正常。具体见表 1。

表 1 各组小鼠体质量与腹泻情况($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体质量/g			腹泻情况		
		第 2 天	第 4 天	第 8 天	第 2 天	第 4 天	第 8 天
对照组	12	22.12 \pm 0.72	25.59 \pm 0.90* Δ	28.57 \pm 1.72* Δ	0* Δ	0* Δ	0* Δ
模型组	10	22.15 \pm 0.75	23.98 \pm 1.15 $\#$	24.91 \pm 1.93 $\#$	1.9 \pm 0.74 $\#$	1.8 \pm 0.79 $\#$	1.8 \pm 0.63 $\#$ Δ
麸炒苍术醇提物组	10	22.07 \pm 1.28	24.16 \pm 1.81 $\#$	25.53 \pm 2.48 $\#$	1.5 \pm 0.85 $\#$	1.4 \pm 0.84 $\#$	1.1 \pm 0.74* $\#$
麸炒苍术二氯甲烷部位组	11	21.87 \pm 1.19	23.96 \pm 1.82 $\#$	24.58 \pm 2.36 $\#$	1.45 \pm 0.82 $\#$	1.36 \pm 0.81 $\#$	0.91 \pm 0.70* $\#$
麸炒苍术水提物组	9	21.70 \pm 1.32	24.37 \pm 1.51	25.37 \pm 1.82 $\#$	1.67 \pm 0.71 $\#$	1.56 \pm 0.88 $\#$	1.22 \pm 0.67* $\#$

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$; 与对照组比较, $\#P < 0.05$; 与水提物组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

3.2 粪便含水率

造模第 2 天, 模型组及各给药组小鼠粪便含水率较空白对照组有显著升高($P < 0.05$)。第 4 天, 模型组、麸炒苍术水提物组及二氯甲烷部位组粪便含水率仍明显高于对照组($P < 0.05$), 而麸炒苍术醇提物组相较对照组已无明显差异。第 8 天, 与对照组相比, 模型组小鼠粪便含水率仍处于较高水平,

差异具有显著性($P < 0.05$), 各给药组粪便含水率明显降低, 与模型组相比具有显著性($P < 0.05$), 与对照组相比含水率略高, 但无显著差异。表明麸炒苍术水提物、醇提物及二氯甲烷部位都能在一定程度上对抗番泻叶所致小鼠脾虚泄泻, 而模型组小鼠产生渗透性腹泻现象, 大便稀溏。具体见表 2。

表2 各组小鼠粪便含水率($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	剂量/(g·kg ⁻¹)	第2天	第4天	第8天
对照组	12	—	5.44±0.90*	5.26±1.15* [△]	5.22±1.14*
模型组	10	14.94	8.04±1.96 [#]	7.32±1.15 [#]	7.05±1.26 ^{#△}
麸炒苍术醇提物组	10	14.94	7.14±1.34 [#]	6.17±0.81*	5.39±0.68*
麸炒苍术二氯甲烷部位组	11	14.94	6.90±1.17 [#]	6.97±1.10 [#]	5.58±1.40*
麸炒苍术水提物组	9	4.45	6.93±1.67	7.03±1.20 [#]	5.36±0.86*

注:与模型组比较,*P<0.05;与对照组比较,#P<0.05;与水提物组比较,△P<0.05。

3.3 血清D-木糖含量、淀粉酶活性水平

与空白对照组比较,模型组小鼠血清淀粉酶活性及血清D-木糖含量均明显降低(P<0.05),进一步佐证小鼠脾虚泄泻模型造模成功。麸炒苍术二氯甲烷部位组可抑制番泻叶所致脾虚小鼠模型血清淀粉酶活性降低,较模型组有显著差异(P<0.05),其

余给药组抑制效果不明显。与模型组相比,各给药组均能明显减轻腹泻所致小鼠血清D-木糖含量降低,各治疗组之间,麸炒苍术醇提物组与二氯甲烷部位组血清D-木糖含量明显高于水提物组(P<0.05);醇提物组与二氯甲烷部位组之间无明显差异。

表3 各组小鼠血清淀粉酶和血清D-木糖含量水平($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/(g·kg ⁻¹)	血清淀粉酶活性/(U·mL ⁻¹)	血清D-木糖含量/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
对照组	12	—	63.54±4.66*	22.96±1.74* [△]
模型组	10	14.94	58.92±5.5 [#]	17.64±2.22 ^{#△}
麸炒苍术醇提物组	10	14.94	60.85±5.02	21.48±1.26* ^{#△}
麸炒苍术二氯甲烷部位组	11	14.94	64.13±4.38*	20.88±0.96* ^{#△}
麸炒苍术水提物组	9	4.45	63.32±5.74	19.45±1.07* [#]

注:与模型组比较,*P<0.05;与对照组比较,#P<0.05;与水提物组比较,△P<0.05。

3.4 短链脂肪酸含量测定

3.4.1 气相色谱图 总离子流图谱显示各短链脂肪酸有较好的分离与响应,内源性物质不干扰样品的检测。其中乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸、3-甲基戊酸、4-甲基戊酸、2-甲基己酸、庚酸及己酸-d3的保留时间分别为2.53、3.72、6.46、5.23、6.41、7.89、9.56、9.64、11.77、13.97、10.68 min。见图1~2。

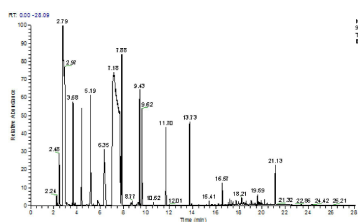


图1 对照品溶液 GC-MS 总离子流图谱

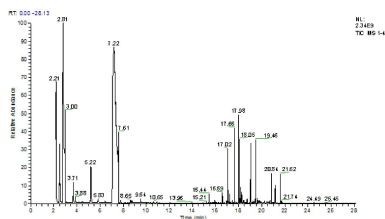


图2 样品溶液 GC-MS 总离子流图谱

3.4.2 线性关系 以检测到的短链脂肪酸对照品

与内标的峰面积的比值(Y)对浓度(X)进行线性回归,计算回归方程,结果呈现良好的线性,见表4。

表4 各对照品线性关系

化合物	回归方程	R ²	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
乙酸	Y=0.175 8X+0.466 7	0.991 4	0.087 1~446.2
丙酸	Y=0.213 1X+6.571 2	0.998 9	0.548 4~280.8
异丁酸	Y=0.108 5X+0.167 2	0.996 5	0.280 3~143.5
丁酸	Y=0.241 0X+0.103 6	0.998 7	0.548 0~280.6
异戊酸	Y=0.174 3X+0.205 3	0.998 4	0.261 3~133.8
戊酸	Y=0.144 9X-0.020 2	0.999 2	0.275 6~141.1
3-甲基戊酸	Y=0.107 0X+0.134 1	0.991 3	0.064 3~32.92
4-甲基戊酸	Y=0.117 2X-0.008	0.999 5	0.033 9~17.36
2-甲基己酸	Y=0.092 4X-0.001	0.999 5	0.018 2~9.344
庚酸	Y=0.132 8X-0.088 9	0.999 1	0.081 8~102.32

3.4.3 小鼠肠道中短链脂肪酸含量 短链脂肪酸测定结果表明,与正常对照组相比,模型组小鼠肠内的乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸的含量明显降低;与模型组相比,麸炒苍术醇提物组小鼠肠内的乙酸、丁酸、异戊酸、戊酸含量明显升高,此外二氯甲烷部位还能显著提高丙酸、异丁酸、3-甲基戊酸、4-甲基戊酸、2-甲基己酸、庚酸含量。麸炒苍术水提物能显著提高小鼠肠道中丁酸、异丁酸、异戊酸、庚

酸水平,与模型组比较有显著差异。与水提物组比较,二氯甲烷部位小鼠肠内的异丁酸、异戊酸、戊酸、

3-甲基戊酸、4-甲基戊酸和庚酸含量明显升高。具体结果见表 5。

表 5 各组小鼠肠内短链脂肪酸的含量($\bar{x} \pm s, \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}, n=9$)

组别	乙酸	丙酸	异丁酸	丁酸	异戊酸
对照组	6 193±740.8*	1 007±175.8*	71.81±18.32*	2 752±259.0*	60.23±18.82*
模型组	2 442±626.7#	626.0±173.3#	17.69±8.446#	466.3±116.3#	5.878±3.250#
麸炒苍术醇提物组	3 399±1 254*	820.1±368.8	30.80±13.20 Δ	1 358±435.8*	31.72±10.58* Δ
麸炒苍术二氯甲烷部位组	3 584±1 171*	1 047±427.7*	62.86±21.18* Δ	1 166±533.4*	69.18±26.55* Δ
麸炒苍术水提物组	2 849±302.7	846.6±268.8	47.40±10.48*	1 238±389.6*	48.12±9.464*

组别	戊酸	3-甲基戊酸	4-甲基戊酸	2-甲基己酸	庚酸
对照组	129.1±20.13*	7.512±2.561	20.18±2.776	0.476±0.093	1.136±0.253
模型组	15.18±3.054#	6.225±2.779	19.15±2.929	0.586±0.101	1.459±0.467
麸炒苍术醇提物组	52.98±25.70* Δ	3.717±1.790	18.80±2.483	0.627±0.060	1.745±0.431 Δ
麸炒苍术二氯甲烷部位组	59.89±29.02* Δ	12.58±4.177* Δ	25.63±3.813* Δ	0.802±0.228*	4.206±1.155* Δ
麸炒苍术水提物组	17.34±5.377	4.920±1.758	20.37±3.524	0.7285±0.1074	2.905±0.4090*

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与对照组比较,# $P<0.05$;与水提物组比较, $\Delta P<0.05$ 。

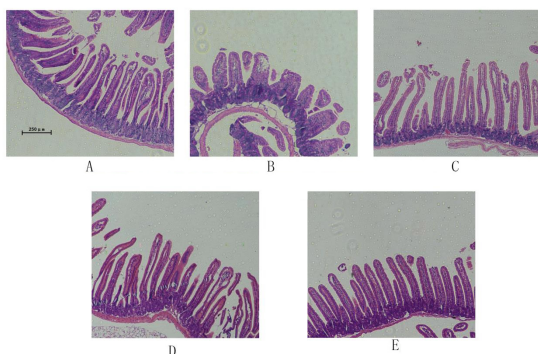
3.5 小肠组织学变化

与空白对照组相比,模型组小鼠空肠上皮绒毛明显缩短($P<0.05$),并伴有肿胀、变性。麸炒苍术水提物、醇提物及二氯甲烷部位组小肠绒毛明显长于模型组($P<0.05$),各给药组与对照组之间无明显差异,表明麸炒苍术水提物、醇提物及二氯甲烷部位均能抑制脾虚泄泻引起的肠微绒毛缩短,减轻肠黏膜损伤,保护肠道。见表 6。

表 6 各组小鼠小肠绒毛长度($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	空肠绒毛长度/ μm
对照组	9	—	547.11±51.29*
模型组	9	14.94	361.33±21.45# Δ
麸炒苍术醇提物组	9	14.94	534.67±47.71*
麸炒苍术二氯甲烷部位组	9	14.94	539.56±43.84*
麸炒苍术水提物组	9	4.45	527.11±69.88*

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与对照组比较,# $P<0.05$;与水提物组比较, $\Delta P<0.05$ 。



A.对照组;B.模型组;C.麸炒苍术醇提物组;
D.二氯甲烷部位物组;E.水提物组
图 3 小鼠空肠 HE 染色情况($\times 200$)

4 讨论

中医认为脾主运化,胃司受纳,通主水谷,皆为仓禀之官。若脾胃升降失职,水湿水谷合污而下,而成泄泻。一旦病情反复,病程迁延,就会导致脾胃虚弱,而成脾虚泄泻。麸炒苍术是苍术的炮制品,燥性减弱,健脾和胃功能增强,用于脾胃不和、痰饮停滞、脘腹痞满、泻泄等^[8]。现代药理研究认为,利用番泻叶造成的动物模型较为符合中医脾虚泄泻证候范畴^[9],故本实验选用灌胃番泻叶浓缩液建立小鼠腹泻模型。本实验结果显示,麸炒苍术水提物、醇提物及二氯甲烷部位都能改善腹泻所致小鼠体质量增长缓慢,减轻小鼠腹泻等级,降低粪便含水率,与模型组对照有显著差异。表明麸炒苍术水提物、醇提物及二氯甲烷部位均具有良好的腹泻抑制作用。

目前,血清淀粉酶(AMS)的活性和 D-木糖的吸收能力是反映脾虚患者消化、吸收功能的指标。淀粉酶属于糖苷链水解酶,由唾液腺和胰腺分泌,是参与消化的重要酶类,AMS 是其在血清中的主要分型,淀粉酶活性是反映消化酶分泌情况较为敏感和特异的检测指标^[10]。D-木糖是一种戊糖,正常情况下,在血液中几乎不存在。口服 D-木糖后,经小肠吸收入血,不参与肝脏代谢,大部分随即经肾排出体外,D-木糖的肾排出量与其在血中的浓度成正比^[11],因而口服一定剂量 D-木糖后间隔特定时间测定其在血清中的含量可用于评价肠道吸收功能^[12],亦有研究表明 D-木糖含量降低是脾虚证的病理表现之一^[13]。血清指标检测结果显示研究结果显示模型组小鼠血清淀粉酶(AMS)的活性和 D-木糖含

量较对照组明显降低,麸炒苍术醇提物组与二氯甲烷部位组血清 D-木糖含量明显高于模型组,与水提物组相比也有显著差异。

短链脂肪酸(SCFAs)是由 1~6 个碳原子组成的有机脂肪酸,包括乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、戊酸、异戊酸等^[14],是肠道细菌发酵未消化碳水化合物的主要产物,也是蛋白质降解和氨基酸发酵的主要产物,是肠道菌群代谢产物中最主要的标志物之一^[15-16]。在对肠道功效方面,SCFAs 不仅具有氧化供能的作用,而且还有维持水电解质平衡、抗病原微生物及抗炎、调节肠道菌群平衡、改善肠道功能、调节免疫、抗肿瘤和调控基因表达等重要作用^[17]。短链脂肪酸的代谢活动,可能是肠道细菌与宿主间相互作用最重要的体现,乙酸、丙酸、丁酸是肠道 SCFAs 的主要组成部分,三者约占 SCFAs 总量的 90%~95%^[18]。其中丁酸是结肠、盲肠上皮细胞的特别重要的能量来源,在细胞分化和生长中起着非常重要的作用^[19]。肠道内 SCFAs 的含量高低不仅对肠道上皮细胞的代谢具有重要影响,还能反映肠道细菌的活力、体现肠道功能的变化^[20]。SCFAs 测定结果显示,模型组小鼠肠内的乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸的含量较对照组明显降低,暗示番泻叶所致小鼠脾虚泻引起肠道菌群失调、肠道功能紊乱、肠道黏膜损伤等情况。与模型组相比,麸炒苍术水提物能显著提高小鼠肠道内丁酸、异丁酸、异戊酸、庚酸水平。与模型组相比,二氯甲烷部位组小鼠肠内各短链脂肪酸含量均有不同程度的升高,表明二氯甲烷部位可能是麸炒苍术发挥燥湿健脾和胃功效,治疗脾虚泄泻的最重要部位之一。

通过观察小肠组织形态,作者发现麸炒苍术水提物、醇提物及二氯甲烷部位均能缓解脾虚泻引起的小肠绒毛缩短和肠黏膜损伤,肠微绒毛与机体消化吸收功能密切相关^[21],小肠黏膜具有吸收功能的绒毛长度变短、肿胀,变性势必导致吸收能力的下降,这也验证了血清 D-木糖含量的检测结果。此外,与模型组相比,麸炒苍术二氯甲烷部位可明显提升血清淀粉酶的活性,差异具有显著性($P < 0.05$)。说明麸炒苍术二氯甲烷部位对于腹泻引起消化吸收功能的降低能起到最好的改善作用。

本实验研究表明,麸炒苍术二氯甲烷部位对番泻叶所致小鼠脾虚泻的治疗效果最佳,提示麸炒苍术发挥燥湿健脾和胃功效的物质基础主要源于低极

性部位。麸炒苍术化学成分的研究虽然已经取得了一定成果,但与其功效相吻合的化学成分还不甚清楚,因此寻找药效相关药理活性成分,并阐明其作用机制,对麸炒苍术合理开发应用具有一定意义,值得进一步深入研究。

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,2015:161-162.
- [2] 陆茵,张大方.中药药理学[M].北京:人民卫生出版社,2012:130-133.
- [3] 庞雪,刘玉强,刘小丹.苍术麸炒前后活性部位药效比较研究[J].中国药房,2016,27(10):1308-1310.
- [4] 崔方,韩增护,刘小花.红芪提高免疫功能活性部位的谱效关系研究[J].中草药,2016,47(1):101-105.
- [5] 徐珊,郭晓明,康安,等.温脾化湿助运方对急性腹泻小鼠模型的药效研究[J].中医儿科杂志,2014,10(1):15-18.
- [6] ZHOU SS, XU J, ZHU H, et al. Gut microbiota-involved mechanisms in enhancing systemic exposure of ginsenosides by coexisting polysaccharides in ginseng decoction[J]. Sci Rep, 2016, 6: 22474.
- [7] 国家中医药管理局.中医病证诊断疗效标准[M].南京:南京大学出版社,1994:289-290.
- [8] 蔡宝昌.中药炮制学[M].北京:中国中医药出版社,2008:132-133.
- [9] 刘汶,张敦义.番泻叶致脾虚证动物模型的造模方法[J].中国中西医结合脾胃杂志,1998,6(4):231-232.
- [10] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,2006:1076.
- [11] 田佳鑫,赖庆坤,马增春,等.腹泻康对脾虚泄泻证大鼠免疫和消化吸收功能的影响[J].中国临床康复,2006,10(47):92-94.
- [12] 朱曙东,李彬裴,乔樵.云母粉对脾虚泄泻大鼠淀粉酶、木糖的影响[J].浙江中医学院学报,2002,26(6):46-47.
- [13] 庞雪,刘玉强,刘小丹.麸炒苍术不同部位对大鼠脾虚的影响[J].现代药物与临床,2015,30(7):763-767.
- [14] 贾彦,魏秀秀,赵培.魔芋葡甘露聚糖和香蕉抗性淀粉对小鼠肠道短链脂肪酸分泌及血脂影响的研究[J].现代食品科技,2016,7(32):18-25.
- [15] 王玉蕾,郑跃杰.肠道中短链脂肪酸与过敏性疾病关系的研究进展[J].中国微生态学杂志,2013,25(1):104-108.
- [16] 陈燕,曹郁生,刘晓华.短链脂肪酸与肠道菌群[J].江西科学,2006,24(1):38-69.
- [17] 刘小华.短链脂肪酸对肠道功效及其机制的研究进展[J].肠外与肠内营养,2012,19(1):56-58.
- [18] 徐运杰,方热军,戴求仲.短链脂肪酸的营养生理作用[J].饲料研究,2007(8):26-27.
- [19] CUMMINGS JH, MACFALANE GT. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon[J]. J Appl Bacteriol, 1991, 70(6): 443-459.
- [20] 王晓成,张明,陈善斌.副干酪乳杆菌 L9 对小鼠肠道短链脂肪酸含量的影响[J].食品科学,2017,38(13):238-243.
- [21] 姚永莉,宋于刚,赵彤.大鼠脾虚证模型的胃肠黏膜形态学研究[J].中国中西医结合脾胃杂志,2000,8(1):8-10.

(编辑:董宇)