

阳春砂杂交新种“春选1号”药理活性研究

张丹雁, 严娅娟, 鲁 轮, 赖小平

广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006

摘要:目的 探讨阳春砂杂交新种“春选1号”挥发油的药理活性, 并与其母本“长果2号”进行比较。方法 采用10%番泻叶致小鼠腹泻模型、二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型、0.6%醋酸溶液致小鼠扭体模型, 观察“春选1号”挥发油的止泻、抗炎、镇痛作用, 以及对小鼠胃肠动力的影响; 并与其母本阳春砂“长果2号”进行对比分析。结果 “春选1号”与“长果2号”的挥发油均具有显著的止泻作用, 其效果与阳性药蒙脱石散相当; 抗炎作用与醋酸地塞米松片差异不明显; 镇痛效果均显著; 对胃排空均有双向调节作用, 高剂量对小肠推进有促进作用, 低剂量无明显影响。结论 阳春砂杂交新种“春选1号”与其母本“长果2号”挥发油药理活性无明显差异, 可媲美传统品种阳春砂。

关键词: 阳春砂; 春选1号; 止泻; 抗炎; 镇痛; 胃肠动力

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)04-0554-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.04.017

Study on pharmacological activity of new hybrids *Amomum villosum* (Spring No.1)

ZHANG Dan-yan, YAN Ya-juan, LU Lun, LAI Xiao-ping

School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To explore the pharmacological activities of volatile oil in new hybrids of *Amomum villosum* (Spring No.1) and compare to the female parent “Longfruit No.2”. **Methods** The auricle swelling model of mice was induced by xylene, the diarrhea model of mice was induced by 10% Senna, the writhing body model of mice was induced by 0.6% acetic acid solution to observe the pharmacological actions of volatile oil in “Spring No.1”. **Results** The volatile oil in both “Spring No.1” and “Longfruit No.2” had significant antidiarrheal effect, their effect was equivalent to the positive drug (Montmorillonite Powder). There was no significant difference in anti-inflammatory effect compared with the control group, the analgesic effect was significant. Both of them had the bidirectional regulation on gastric emptying. High dose of them had the stimulative effect in the small intestinal propulsion, and low dose of them had no significant effect. **Conclusion** There is no significant difference in pharmacological activity between the new hybrid species “Spring No.1” and its female parent. It could be comparable to the traditional cultivars of *A. villosum*. This study provides a scientific basis for expanding *A. villosum* medicinal resources.

Key words: *Amomum villosum* Lour.; “Spring No.1”; antidiarrhea; anti-inflammation; analgesia; gastrointestinal motility

阳春砂为姜科植物阳春砂 *Amomum villosum* Lour. 的干燥成熟果实^[1], 主要分布于广东、广西、云南、福建等地, 以广东阳春所产为佳, 为我国著名“四大南药”之一^[2]。长期以来阳春地区春砂仁种植主要依赖人工授粉, 种植成本高, 产量低, 严重制约了阳春砂的生产和可持续发展^[3]。为解决阳春砂授粉难题, 提高产质, 本课题组先后开展了阳春砂杂交育种研究, 以种性最佳的传统品种阳春砂“长果2号”(阳春地区阳春砂主流产品, 分布量>

99%^[3])为母本, 以抗病性较强的海南砂为父本进行杂交, 获得杂交新种“春选1号”^[4], 同时对“春选1号”化学成分^[5]及其与母本的形态、分子特性等^[6]进行对比研究, 表明“春选1号”不仅遗传了母本的优良种性, 而且具有自然授粉率高、抗性强及高产质优等特点。但目前尚缺乏药理药效实验证明, 为此本实验根据砂仁的主要临床功能主治, 从抗炎、镇痛、止泻及对胃肠蠕动影响4个方面考察杂交新种“春选1号”的药效, 以期丰富及完善“春选1

收稿日期: 2014-06-28

基金项目: 国家科技部“十二五”国家科技支撑计划(2011BAI01B02)

作者简介: 张丹雁(1964—), 女, 辽宁开原人, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药品种及真伪鉴别研究、中药质量标准研究、中药材规范化种植(GAP)研究及中药种质资源研究。E-mail: danyan64@21cn.com

*通信作者 赖小平(1960—), 男, 研究员, 博士生导师。Tel: (020)39358045 E-mail: vip.lxp88@gzhtcm.edu.cn

号”的质量评价,为解决阳春砂自然授粉难题、扩大阳春砂种质资源奠定基础。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级昆明种小鼠,体质量18~22 g,雌雄各半,由广州中医药大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(粤)2013-0020。饲养于广州中医药大学中药学院实验动物观察室(国家中医药管理局中药科研实验室三级认证),喂以标准的颗粒鼠料。

1.2 仪器

Bs110S 万分之一分析天平(香港佳立国际有限公司);JY09 电子天平(广州市君宇家用电子衡器有限公司);DT62067 微量移液器(大龙医疗设备有限公司,20~200 μ L);UV Blustar A 型紫外-可见分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司)。

1.3 药品及试剂

蒙脱石散(天津博福-益普生制药有限公司,批号F00024);醋酸地塞米松片(广东华南药业集团有限公司,批号130101);罗通定片(四川康富来药业集团有限公司,批号20110113);西沙比利(浙江京新药业股份有限公司,批号1108132);聚山梨酯-80(天津市大茂化学试剂厂,批号120328);二甲苯(天津市富宇精细化工有限公司,批号100506);冰醋酸(天津市大茂化学试剂厂,批号110537);葡聚糖蓝-2000(瑞典 Pharmacia 公司)。

1.4 样品

“春选1号”与“长果2号”均于2012年8月采自阳春市砂仁示范试验场,经广州中医药大学中药鉴定教研室张丹雁教授鉴定,均为姜科植物阳春砂 *Amomum villosum* Lour. 的干燥成熟果实,凭证标本存于广州中医药大学中药鉴定实验室。挥发油按《中国药典》2010年版(一部)附录XD甲法提取,“春选1号”及“长果2号”挥发油的提取率分别为4.14%、3.63%,挥发油中主要成分为乙酸龙脑酯,分别占挥发油总量的53.5%、55.2%^[7]。实验以聚山梨酯-80为助溶剂配成O/W型的药物水溶液,以8%聚山梨酯-80溶液作空白对照品。临用时分别用蒸馏水把上述药物配成所需浓度的药液。

实验所用番泻叶经广州中医药大学张丹雁教授鉴定为豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl 的干燥小叶,取10 g干燥小叶,加8倍量水煎煮2次,每次15 min,合并2次煎煮液,真空浓缩至100 mL,即得10%番泻叶煎剂。

1.5 方法

1.5.1 对番泻叶致小鼠腹泻的影响 取昆明种小鼠70只,雌雄各半,随机分为7组:对照组、模型组、蒙脱石散(1.500 g/kg)组、“春选1号”挥发油高和低剂量(270、90 mg/kg)组、“长果2号”挥发油高和低剂量(270、90 mg/kg)组,每组10只。各组小鼠分别ig给药,对照组和模型组ig给予8%聚山梨酯-80水溶液,给药60 min后,除对照组外,其余各组小鼠ig 10%番泻叶煎剂30 mL/kg,而后各小鼠分别单独置笼中,笼下铺吸水纸,观察并记录4 h内各小鼠排出的湿粪粒数。

1.5.2 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 取昆明小鼠60只,雌雄各半,随机分为6组:模型组、醋酸地塞米松片(20 mg/kg)组、“春选1号”挥发油高和低剂量(270、90 mg/kg)组、“长果2号”挥发油高和低剂量(270、90 mg/kg)组,每组10只。各组小鼠分别ig给药,每天1次,连续3 d,末次给药后1 h,于小鼠右耳涂二甲苯0.04 mL,左耳不作任何处理,15 min后脱颈椎处死,剪下双耳,用8 mm直径打孔器分别在同一部位打下圆耳片,精密称质量,以左右耳片质量之差为肿胀度,计算耳肿胀率及肿胀抑制率。

$$\text{肿胀率} = (\text{右耳片质量} - \text{左耳片质量}) / \text{左耳片质量}$$

$$\text{肿胀抑制率} = (\text{模型组肿胀率} - \text{给药组肿胀率}) / \text{模型组肿胀率}$$

1.5.3 对醋酸致小鼠扭体反应的影响 取昆明种小鼠60只,雌雄各半,随机分为6组:模型组、罗通定组(80 mg/kg)、“春选1号”挥发油高和低剂量(270、90 mg/kg)组、“长果2号”挥发油高和低剂量(270、90 mg/kg)组,每组10只。各组小鼠分别ig给药,给药90 min后,每只小鼠ip 0.6%醋酸溶液0.2 mL,使小鼠出现伸展后肢、腹部收缩内凹、躯体扭曲的疼痛反应,观察并记录注射醋酸后20 min内小鼠因疼痛扭体次数。计算扭体反应抑制率。

$$\text{抑制率} = (\text{模型组扭体反应均数} - \text{给药组扭体反应均数}) / \text{模型组扭体反应均数}$$

1.5.4 对小鼠胃肠动力的影响 取昆明种小鼠80只,雌雄各半,随机分为8组:对照组,西沙必利(2.5 mg/kg)组,“春选1号”挥发油高、中、低剂量(90、60、30 mg/kg)组,“长果2号”挥发油高、中、低剂量(90、60、30 mg/kg)组,每组10只。各组小鼠分别ig给药,给药4 d。实验前均禁食不禁水12 h,第4天ig给药30 min后,每只再分别

ig 0.4 mL 20 mg/L (2%) 葡聚糖蓝-2000。15 min 后脱颈处死, 开腹取出全胃肠。自幽门括约肌处取胃, 沿大弯侧剪开, 将胃内色素残留物充分洗于 4 mL 去离子水中, 3 500 r/min 离心 15 min, 取上清液, 采用分光光度计于 620 nm 波长处检测, 所测吸光度 (A) 值代表胃内色素残留量, 并计算色素残留率。同时量取幽门括约肌至色素最前端及至盲肠的距离, 以二者之比为小肠推进比。

色素残留率 = 给药组 A 值 / 对照组 A 值

1.5.5 数据处理

实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 组内比较采用配对样本 *t* 检验法, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 对番泻叶致小鼠腹泻的影响

对照组小鼠无湿粪 (正常干燥粪便), 与对照组比较, 模型组小鼠出现明显湿粪, 说明实验造模成功; 与模型组比较, 阳性药蒙脱石散可显著减少小鼠湿粪粒数 ($P < 0.01$), “春选 1 号”与“长果 2 号”挥发油高、低剂量组亦可显著减少小鼠的湿粪粒数 ($P < 0.01$), 说明两者挥发油对番泻叶致小鼠腹泻均有显著的抑制作用。与蒙脱石散组比较, 2 种砂仁挥发油高、低剂量组小鼠湿粪粒数均无显著差异 ($P > 0.05$)。与“长果 2 号”挥发油高、低剂量组比较, “春选 1 号”挥发油高、低剂量组小鼠湿粪粒数均无显著差异, 提示 2 种挥发油对番泻叶致小鼠腹泻的抑制效果相当。见表 1。

2.2 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

表 2 结果显示, 与模型组比较, 阳性药醋酸地塞米松片可显著抑制二甲苯致小鼠的耳肿胀程度

表 1 “春选 1 号”及“长果 2 号”挥发油对番泻叶致小鼠腹泻的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of volatile oil in “Spring No.1” and “Longfruit No.2” on diarrhea of mice induced by 10% Senna ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	湿粪数/粒
对照	—	0
模型	—	10.8 ± 3.3
蒙脱石散	1 500	5.5 ± 1.6**
春选 1 号	270	4.8 ± 1.9**
	90	5.7 ± 2.3**
长果 2 号	270	5.0 ± 2.5**
	90	5.2 ± 1.7**

与模型组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs model group

表 2 “春选 1 号”及“长果 2 号”挥发油对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of volatile oil in “Spring No. 1” and “Longfruit No. 2” on ear edema of mice induced xylene ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	耳肿胀度/mg	肿胀抑制率/%
模型	—	11.85 ± 2.8	—
醋酸地塞米松片	20	5.96 ± 3.4**	49.7
春选 1 号	270	6.74 ± 1.8**	43.1
	90	7.44 ± 3.8**	37.2
长果 2 号	270	7.15 ± 3.6**	39.7
	90	7.81 ± 2.9**	34.1

与模型组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs model group

($P < 0.01$), 耳肿胀抑制率达到 49.70%, 提示实验方法可行。与模型组比较, “春选 1 号”与“长果 2 号”挥发油均可极显著减轻二甲苯致小鼠的耳肿胀度 ($P < 0.01$), 表明两者均具有显著的抗炎效果。与“长果 2 号”挥发油高、低剂量组比较, “春选 1 号”挥发油高、低剂量组对小鼠耳肿胀度得抑制作用均无显著差异 ($P > 0.05$), 说明两者抗炎效果相当。

2.3 对醋酸致小鼠扭体反应的影响

结果显示, 与模型组比较, 罗通定可显著减少小鼠 20 min 内扭体次数 ($P < 0.01$), 提示造模成功, 实验方法可行。与模型组比较, “春选 1 号”与“长果 2 号”挥发油均可显著减少小鼠 20 min 内扭体次数 ($P < 0.05, 0.01$), 说明两者均能显著抑制醋酸致小鼠的疼痛; 与罗通定组比较, 2 种阳春砂挥发油 20 min 内扭体反应次数均无显著差异。与“长果 2 号”挥发油高、低剂量组比较, “春选 1 号”挥发油高、低剂量组对小鼠 20 min 内的扭体次数均无显著性差异, 提示二者镇痛效果相当。见表 3。

表 3 “春选 1 号”及“长果 2 号”挥发油对醋酸致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of volatile oil in “Spring No. 1” and “Longfruit No. 2” on writhing body reaction of mice induced by acetic acid ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	扭体潜伏期/s	扭体次数/次	抑制率/%
模型	—	153 ± 37	35 ± 14	—
罗通定	80	312 ± 78**	17 ± 10**	52
春选 1 号	270	341 ± 122**	14 ± 9**	60
	90	308 ± 83**	18 ± 9**	49
长果 2 号	270	293 ± 101**	17 ± 10**	53
	90	259 ± 104	24 ± 14*	31

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

2.4 对小鼠胃肠动力的影响

与对照组比较,“春选 1 号”与“长果 2 号”挥发油高剂量均可显著增加小鼠胃内相对色素残留率($P<0.01$),抑制胃排空;中、低剂量均可极显著减少小鼠胃内相对色素残留率($P<0.01$),促进胃排空,说明两者对小鼠胃排空具有双向调节作用,与张宁等^[8]研究结果相一致。与“长果 2 号”挥发油高、中、低剂量组比较,“春选 1 号”挥发油高、中、低剂量组小鼠胃内色素残留率无显著性差异,表明二者对小鼠胃排空的影响作用相当。

与对照组比较,2 种阳春砂挥发油高、中剂量均可极显著增加小鼠小肠推进比($P<0.01$),2 种阳春砂挥发油低剂量也可增加小鼠小肠推进比,但无显著性差异,表明 2 种阳春砂仁挥发油高剂量均具有显著促进小肠推进作用,低剂量则无明显促进小肠推进的功能。与“长果 2 号”挥发油高、中、低剂量组比较,“春选 1 号”挥发油高、中、低剂量组对小鼠小肠推进作用无显著性差异,提示二者对小肠的推进作用相当。见表 4。

表 4 “春选 1 号”及“长果 2 号”挥发油对小鼠胃排空和小肠推进功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effects of volatile oil in “Spring No. 1” and “Longfruit No. 2” on promoting function of gastric emptying and small intestine propulsion of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	色素残留率/%	小肠推进比/%
对照	—	100	51.30±6.62
西沙必利	2.5	56.52±15.83*	65.86±9.91**
春选 1 号	90	123.10±15.75**	64.41±8.26**
	60	44.10±18.96**	61.51±7.25**
	30	33.10±12.89**	52.57±5.30
长果 2 号	90	115.60±35.75**	63.02±8.67**
	60	44.80±22.69**	63.25±9.15**
	30	29.30±11.30**	52.25±6.44

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group

3 讨论

杂交育种是人们培育优良新品种的常用育种手段,杂交使子代综合了双亲的优良特性,获得在生长势、繁殖力、生产力、抗逆性及品质等方面均较双亲优越的杂交优势。阳春砂具有特殊的花器结构,且开花结果于地表,使其难以自然授粉^[3],为提高阳春砂昆虫授粉率,本课题组采用传统杂交方法获

得的阳春砂新品种“春选 1 号”不仅遗传了母本“长果 2 号”的优良种性,还表现出花期迟、昆虫授粉率高、抗病、抗逆性强、生长周期短及高产质优等特点,更重要的是杂交种开花迟有利于昆虫授粉^[6],初步解决了阳春砂授粉难题。

在此基础上,本实验根据砂仁的主要临床功能主治,从抗炎、镇痛、止泻及对胃肠蠕动影响等方面对二者挥发油进行对比研究,结果显示杂交新种与母本挥发油在上述药理实验中均无显著性差异,说明二者药理药效相当,且杂交新种抗炎效果略优于其母本。杂交新种“春选 1 号”的获得,为解决阳春砂自然授粉难题,降低种植成本,扩大阳春砂药用种质资源,提高产量和质量具有重要意义。

本研究中砂仁挥发油既具有增加胃肠蠕动作用,又具有止泻效果,两者并不矛盾,原因在于其作用机制不同:砂仁的促胃肠动力作用机制与血液及胃肠道胃动素(MTL)及 P 物质(SP)的量增加有关^[9];而砂仁挥发油发挥镇痛止泻机制可能是通过抑制小肠平滑肌产生的^[10]。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 张丹雁,刘军民,熊清平,等. 阳春砂资源调查与分析 [J]. 广州中医药大学学报, 2008, 25(1): 77-80.
- [3] 张丹雁. 阳春砂种质资源研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2008.
- [4] 张丹雁,徐志东,欧阳霄妮,等. 一种阳春砂的培育方法: 中国, 200910193927. 0 [P]. 2012-03-28.
- [5] Zhang D Y, Zheng S Y, Chen Y L. Analysis of volatile oils extracted from “Spring No. 1” by GC-MS: A new cultivar obtained by cross-breeding of *Amomum villosum* Lour. [J]. *Adv Mat Res*, 2012, 550-553: 1837-1840.
- [6] 张丹雁,梁欣健,石莹莹,等. 阳春砂杂交子代与母本的 FTIR 鉴别研究 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 996-999.
- [7] 严娅娟,张丹雁,鲁 轮. 阳春砂杂交新种春选 1 号-F4 挥发油成分研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2014, 31(6): 994-998.
- [8] 张 宁,孙 军,王秀杰,等. 阳春砂挥发油对小鼠胃动力的双向作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(15): 1935-1937.
- [9] 朱金照,桂先勇,冷恩仁,等. 中药砂仁提取液对胃肠激素的影响 [J]. 华西药理学杂志, 2001, 16(6): 417-418.
- [10] 李晓光,叶富强,徐鸿华,等. 砂仁挥发油中乙酸龙脑酯的药理作用研究 [J]. 华西药理学杂志, 2001, 16(5): 356-358.