

麸炒苍术不同部位对大鼠脾虚的影响

庞雪, 刘玉强, 刘小丹, 才谦*, 管美玉

辽宁中医药大学 药学院, 辽宁 大连 116600

摘要: 目的 明确麸炒苍术健脾的活性部位。方法 选用番泻叶水煎液 ig 制备大鼠脾虚模型。考察麸炒苍术挥发油、二氯甲烷萃取物、正丁醇萃取物和多糖对脾虚大鼠体质量、血清胃泌素、血管活性肠肽、血清淀粉酶和 D-木糖水平的影响。

结果 与模型组比较, 除多糖组外其余各给药组在治疗后体质量均明显增加 ($P < 0.05$); 大鼠血清淀粉酶、D-木糖、血清胃泌素水平显著增加, 血管活性肠肽水平降低, 差异均具有显著性 ($P < 0.05$)。结论 除多糖无健脾作用外, 麸炒苍术其余各部位健脾作用明显, 并且健脾的活性部位主要为低极性成分。

关键词: 麸炒苍术; 脾虚; 大鼠; 挥发油; 二氯甲烷萃取物; 正丁醇萃取物; 多糖; 体质量; 血清胃泌素; 血管活性肠肽; 血清淀粉酶; D-木糖

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)07-0763-05

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2015.07.003

Effect of various active parts from *Atractylodes Rhizoma* stir-baked with bran on spleen insufficiency in rats

PANG Xue, LIU Yu-qiang, LIU Xiao-dan, CAI Qian, GUAN Mei-yu

College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

Abstract: Objective To confirm active parts from *Atractylodes Rhizoma* stir-baked with bran on invigorating the spleen. **Methods** Spleen insufficiency model was made by ig administration with extract of *Sennae Folium*. Body weight and levels of gastrin, vasoactive intestinal peptide, serum amylase, and D-xylose in the serum of rats were studied after ig administration with volatile oil, CH₂Cl₂ active parts, n-BuOH active parts, and polysaccharide. **Results** Compared with model group, the body weights in the volatile oil group, CH₂Cl₂ active parts, and n-BuOH active parts obviously increased ($P < 0.05$). And the levels of gastrin, serum amylase, and D-xylose were increased, but the levels of vasoactive intestinal peptide significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Active parts except polysaccharide from *Atractylodes Rhizoma* stir-baked with bran show the functions of vigorating the spleen, and low polarity components are active.

Key words: *Atractylodes Rhizoma* stir-baked with bran; insufficiency of spleen; rats; volatile oil; CH₂Cl₂ active parts; n-BuOH active parts; polysaccharide; body weight; gastrin; vasoactive intestinal peptide; serum amylase; D-xylose

苍术为菊科植物苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.或北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz.的干燥根茎, 味辛、苦, 性温, 归脾、胃、肝经, 具有燥湿健脾、祛风散寒、明目等功效^[1]。苍术富含挥发油, 主要成分包括倍半萜类、聚乙烯炔类、糖苷类以及多糖类等。本课题组前期对苍术中多种化学成分进行了炮制前后变化规律的研究, 明确了苍术麸炒后多个成分的变化规律^[2-6]。药效学实验表明生

苍术和麸炒苍术均有健脾作用, 但麸炒苍术的药效明显优于生苍术^[7]。本实验采用番泻叶水煎液制备大鼠脾虚模型, 考察麸炒苍术各部位的健脾活性, 以期后续比较生苍术和麸炒苍术健脾活性部位药效和化学成分, 进而深入解析苍术的麸炒机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级别 SD 大鼠 200 只, 雌雄各半, 体质量

收稿日期: 2015-05-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202919); 国家中医药管理局中医药行业科研专项项目 (20110700712)

作者简介: 庞雪 (1990—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药化学和中药炮制学研究。Tel: 15142340621 E-mail: xue1344993515@163.com

*通信作者 才谦 (1972—), 女, 教授, 博士, 从事中药化学和中药炮制学研究。Tel: (0411)85890125 E-mail: caiqianmail@sina.com

(200±20) g, 由辽宁长生生物技术有限公司提供, 动物生产许可证 SCXK (辽) 2010-0001。

1.2 药物

苍术购自北京同仁堂大药房大连分店, 经辽宁中医药大学鉴定教研室李峰教授鉴定为苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 的干燥根茎, 苍术麸炒方法参考《中国药典》2010年版附录 II D 麸炒法。番泻叶由安徽省本草国药饮片有限公司提供, 产地为云南省, 批号 140802。胃泌素酶联免疫分析试剂盒 (批号 201410)、大鼠活性肠肽酶联免疫分析试剂盒 (批号 201410) 均购自上海科兴商贸有限公司, *D*-木糖试剂盒 (批号 20140908)、血清淀粉酶试剂盒 (批号 20140908) 均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器

UV1800 紫外可见分光光度计 (北京瑞利分析仪器公司); 高速低温离心机 (德国 Biofuge 公司); Model 550 Microplate Reader 酶标仪 (Biorad 公司); RE-52C 旋转蒸发仪 (巩义市予华仪器有限责任公司)。

2 方法

2.1 药液的制备

取麸炒苍术粉末适量 (过 50 目筛), 加水 8 倍量浸泡 1 h, 水蒸气蒸馏法提取挥发油, 至挥发油量不再增加视为提取完全。结果表明麸炒苍术挥发油的收率为 4.25%。提取挥发油后的水提液滤过, 滤液减压浓缩, 作为水提液, 备用。取上述水提液适量, 依次以二氯甲烷、正丁醇等体积萃取 3 次, 萃取液减压浓缩呈稠膏, 分别作为二氯甲烷萃取物、正丁醇萃取物, 收率分别为 0.123%、2.107%, 备用。再将经萃取后的剩余水液以 95%乙醇调节乙醇体积分数至 80%, 进行醇沉, 冷藏静置 12 h, 抽滤, 风干至没有醇味, 沉淀低温干燥, 得粗多糖, 备用^[8]。前期实验已证明麸炒苍术确有健脾作用^[7], 故本实验采用麸炒苍术水煎液作为对照药。取麸炒苍术粉末适量 (过 50 目筛), 加水 8 倍量浸泡 1 h, 煎煮 30 min, 滤过; 药渣再加水 3 倍量煮沸 20 min, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩, 作为水煎液, 备用。由于各萃取物部位出膏率不同, 为保证动物 ig 的各个部位折合成相同的生药量, 需要配制含生药量相同但质量浓度不同的溶液。临用前将不同萃取物和水煎液制成含生药 0.747、0.249、0.083 g/mL 水溶液; 挥发油、二氯甲烷萃取物由于极性过小, 需要

加入少量聚山梨酯 80 助溶, 4 °C 冰箱中冷藏, 备用。

2.2 分组

通过 Excel 软件产生的随机数将 200 只大鼠随机分为 20 组, 每组 10 只, 分别为对照组, 模型组, 挥发油 0.83、2.49、7.47 g/kg 组 (2%聚山梨酯 80), 2%聚山梨酯 80 组, 二氯甲烷萃取物 0.83、2.49、7.47 g/kg 组 (0.1%聚山梨酯 80), 0.1%聚山梨酯 80 组, 正丁醇萃取物 0.83、2.49、7.47 g/kg 组, 多糖 0.83、2.49、7.47 g/kg 组, 蒸馏水组, 水煎液 0.83、2.49、7.47 g/kg 组。

2.3 造模^[9]

结合金元时期著名医家李东垣在《脾胃论》中提出: “苦寒之药内伤脾胃”, 且据文献记载苦寒药是以番泻叶作为脾虚模型的首选药^[10]。因此选取番泻叶水煎液进行大鼠脾虚造模。除对照组外, 其余各组均按 10 mL/kg ig 给予 0.4 g/mL 番泻叶水煎液, 2 次/d, 连续 7 d。7 d 后将给药量提高至原质量浓度 1.5 倍, 每只 0.6 g/mL, 10 mL/kg, 2 次/d, 连续给药 7 d, 共需造模 14 d。对照组大鼠同法 ig 给予等量蒸馏水。对照组大鼠选用正常垫料, 其余造模组大鼠选用自制潮湿垫料。

2.4 给药

造模结束后, 各给药组大鼠分别按 10 mL/kg ig 给药, 1 次/d, 连续 7 d; 2%聚山梨酯 80 水溶液、0.1%聚山梨酯 80 水溶液、蒸馏水组均 ig 等量相应溶剂。

2.5 观察指标

2.5.1 动物一般情况观察 观察大鼠造模前后及给药治疗后的一般状态, 包括体质量、进食量、活动情况、精神状态、大便形态及是否存在脱肛现象等。

2.5.2 血清胃泌素和血管活性肠肽的测定 模型组造模成功后, 12 h 禁食不禁水, 大鼠自眼眶后静脉丛取血 1 mL/只, 分别装于 2 个 1.5 mL EP 管内, 每管 0.5 mL。室温自然凝固 0.5~1.0 h, 5 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液。按照试剂盒说明书方法测定血清胃泌素、血管活性肠肽的含量。

2.5.3 血清淀粉酶和 *D*-木糖活性的测定 模型组造模成功后, 12 h 禁食不禁水, 大鼠自眼眶后静脉丛取血 1 mL, 分别装于 2 个 1.5 mL EP 管内, 每管 0.5 mL。室温自然凝固 0.5~1.0 h, 5 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 待测血清淀粉酶、*D*-木糖 (口

服前)。然后大鼠 ig 给予 3% *D*-木糖试剂 15 mL/kg, 1 h 后, 自大鼠眼眶后静脉丛取血 0.5 mL, 室温自然凝固 0.5~1.0 h, 5 000 r/min 离心 10 min 收集上清液, 待测血清 *D*-木糖 (口服后)。按照试剂盒说明书方法测定上述血清中淀粉酶、*D*-木糖的含量, 将待测血清置于-20 ℃冰箱中保存。其余各组在末次给药结束 2 h 后, 重复上述操作。

2.6 统计学方法

应用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理分析, 各组实验数据都以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数比较采用单因方差分析, 当方差齐性时选用 LSD 法进行两组间比较; 当方差不齐时, 选用 Dunnett T3 矫正检验法进行两组间比较。

3 结果

3.1 造模的行为学比较

对照组大鼠精神饱满, 皮毛色白密泽, 行动灵活, 摄食及大便形状均无异常。造模组大鼠均出现眯眼, 精神倦怠, 纳呆, 嗜卧, 扎堆, 头重脚轻, 四肢不收, 体质量明显下降, 皮毛无光泽、枯黄、易脱毛, 稀便、便溏、肛门污秽并多数伴随脱肛等。鉴于以上观察, 结合中医虚证的参考标准^[11]和中医脾虚症动物模型的造模^[12], 此造模结果在行为学指征上基本符合脾虚评判标准, 认为造模成功。

3.2 大鼠给药前后体质量变化

各组大鼠造模后, 与对照组比较差异均具有显著性 ($P<0.05$), 但各造模组造模后组间比较无显著差异, 表明大鼠造模成功并且各组大鼠条件均衡。2%聚山梨酯 80、0.1%聚山梨酯 80 与模型组比较均无显著差异, 提示聚山梨酯 80 无药效活性; 大鼠造模后 ig 给予蒸馏水, 体质量前后比较无显著差异, 提示不经药物治疗依靠大鼠自然恢复是无法恢复的, 也进一步说明其他组体质量增加是因为药物产生的药效而非来源于大鼠自然恢复。除多糖组大鼠体质量比较差异无显著性外, 其余各组均明显增加 ($P<0.05$), 证实大鼠脾虚症状已经得以缓解。给药组 3 个剂量组之间对于大鼠体质量恢复情况无显著影响, 见表 1。

3.3 大鼠给药前后血清指标

模型组大鼠血清胃泌素、血管活性肠肽、血清淀粉酶、*D*-木糖的含量与对照组比较差异均具有显著性 ($P<0.05$), 证实湿阻脾胃模型造模成功。与模型组比较, 2%聚山梨酯 80、0.1%聚山梨酯 80、蒸馏水组均无显著差异, 证实溶剂无药效产生。

表 1 各组大鼠体质量治疗前后比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Comparison on body weights of rats before and after treatment ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂 量/ (mg·kg ⁻¹)	体质量/g	
		治疗前	治疗后
对照	—	202.2±9.8	224.0±9.8
模型	—	170.5±4.1 [*]	170.5±4.3 [*]
挥发油	0.83	171.8±4.3 [*]	205.2±2.7 ^{#△}
	2.49	172.5±4.7 [*]	205.3±9.5 ^{#△}
	7.47	171.5±5.1 [*]	202.4±6.9 ^{#△}
2%聚山梨酯 80	—	171.2±4.8 [*]	171.1±3.9
二氯甲烷萃取物	0.83	170.2±4.5 [*]	205.2±2.7 ^{#△}
	2.49	172.4±3.5 [*]	203.7±8.8 ^{#△}
	7.47	171.2±5.2 [*]	208.1±4.9 ^{#△}
0.1%聚山梨酯 80	—	170.7±4.1 [*]	171.5±4.4
正丁醇萃取物	0.83	172.0±2.7 [*]	204.6±3.1 ^{#△}
	2.49	172.5±2.5 [*]	198.5±5.3 ^{#△}
	7.47	171.6±4.5 [*]	199.1±6.0 ^{#△}
蒸馏水	—	173.0±3.5 [*]	174.6±2.9
多糖	0.83	171.5±3.0 [*]	172.6±2.8
	2.49	171.3±2.9 [*]	173.0±1.5
	7.47	171.2±3.5 [*]	172.4±2.8
水煎液	0.83	172.1±4.2 [*]	200.5±5.1 ^{#△}
	2.49	172.3±3.1 [*]	200.5±5.9 ^{#△}
	7.47	171.2±2.7 [*]	202.4±9.9 ^{#△}

与对照组比较: ^{*} $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与各自溶剂组比较: [△] $P<0.05$

^{*} $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group; [△] $P<0.05$ vs respective solvent group

与模型组、各自溶剂组比较, 除多糖组外各给药组大鼠血清淀粉酶、*D*-木糖、血清胃泌素水平显著增加, 血管活性肠肽水平降低, 差异均具有显著性 ($P<0.05$), 说明大鼠脾虚症状已经得以改善; 经统计学软件分析各萃取物与传统正常煎煮使用时的药效比较, 发现有些萃取物部位的健脾活性是优于整体正常煎煮使用时产生的药效, 而且差异具有显著性 ($P<0.05$)。挥发油组、二氯甲烷组和正丁醇组相比较的结果表明: 挥发油组和二氯甲烷组的药效优于正丁醇组, 由此可以推断出麸炒苍术健脾的活性部位主要处于低极性成分中。二氯甲烷萃取物存在较好的量效关系, 其他部位的量效关系不明显。见表 2。

表2 各组大鼠治疗前后血清胃泌素、血管活性肠肽、D-木糖、血清淀粉酶水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 2 Comparison on serum gastrin, vasoactive intestinal peptide, D-xylose, and serum amylase in rats before and after treatment ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	胃泌素/(ng·L ⁻¹)	血管活性肠肽/(ng·L ⁻¹)	D-木糖/(mmol·L ⁻¹)	血清淀粉酶/(U·dL ⁻¹)
对照	—	67.66±3.86	85.90±8.03	1.29±0.07	2 398.50±93.59
模型	—	35.04±2.35*	221.45±13.39*	0.39±0.06*	1 164.23±90.12*
挥发油	0.83	70.48±4.80 ^{#△}	104.72±2.82 ^{#△}	2.32±0.14 ^{#△}	2 480.77±224.81 ^{#△}
	2.49	62.23±7.06 ^{#△}	105.22±2.38 ^{#△}	1.69±0.07 ^{#△}	2 242.92±110.41 ^{#△}
	7.47	53.66±2.77 ^{#△}	106.51±2.71 ^{#△}	1.72±0.08 ^{#△}	2 162.14±122.42 ^{#△}
2%聚山梨酯 80	—	34.02±1.74	215.75±11.43	0.39±0.04	1 160.20±87.81
二氯甲烷萃取物	0.83	50.22±6.42 ^{#△}	106.72±3.40 ^{#△}	1.47±0.05 ^{#△}	2 093.57±123.45 ^{#△}
	2.49	52.94±8.86 ^{#△}	105.35±3.28 ^{#△}	1.49±0.05 ^{#△}	2 248.65±94.73 ^{#△}
	7.47	64.31±4.21 ^{#△}	105.18±2.66 ^{#△}	2.11±0.10 ^{#△}	2 485.73±83.35 ^{#△}
0.1%聚山梨酯 80	—	34.05±2.00	217.32±11.80	0.39±0.04	1 135.45±61.28
正丁醇萃取物	0.83	46.44±3.17 ^{#△}	145.06±6.31 ^{#△}	0.68±0.10 ^{#△}	1 598.59±72.87 ^{#△}
	2.49	51.31±3.88 ^{#△}	148.04±6.05 ^{#△}	0.90±0.08 ^{#△}	1 600.83±84.09 ^{#△}
	7.47	54.02±4.57 ^{#△}	145.70±6.43 ^{#△}	0.95±0.09 ^{#△}	1 667.74±138.44 ^{#△}
蒸馏水	—	33.74±1.47	228.84±12.07	0.39±0.04	1 114.09±82.53
多糖	0.83	35.22±3.42	214.21±17.97	0.39±0.05	1 124.55±104.45
	2.49	34.82±2.31	214.89±20.67	0.39±0.02	1 189.58±137.68
	7.47	34.14±2.02	214.29±10.41	0.38±0.03	1 095.99±76.11
水煎液	0.83	48.52±4.85 ^{#△}	106.95±3.36 ^{#△}	1.21±0.09 ^{#△}	2 027.45±76.78 ^{#△}
	2.49	51.63±2.50 ^{#△}	106.92±3.04 ^{#△}	1.22±0.10 ^{#△}	2 204.56±122.68 ^{#△}
	7.47	59.69±6.55 ^{#△}	105.30±2.97 ^{#△}	1.26±0.08 ^{#△}	2 220.16±84.88 ^{#△}

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与各自溶剂组比较: [△] $P<0.05$ * $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group; [△] $P<0.05$ vs respective solvent group

4 讨论

目前,血清淀粉酶的活性和D-木糖的吸收能力是公认的能够反映脾虚患者消化、吸收功能的指标^[7]。淀粉酶是人体消化过程中重要消化酶之一,淀粉酶的分泌不足必将影响食物的消化和吸收;D-木糖是一种戊糖,在正常情况下,在血液中几乎不存在。口服木糖后,小肠以易化扩散的方式进行吸收,吸收后不参与肝脏代谢,大部分随即经肾排出体外。因此,在规定时间内口服一定剂量的木糖后,间隔特定的时间测定血或尿中木糖含量可以评价肠黏膜的吸收功能强弱^[13]。实验结果显示,脾虚模型组与空白对照组大鼠比较,血清淀粉酶的活性及D-木糖的吸收能力均明显降低($P<0.05$);经给药治疗后,与模型组比较除多糖组外,其余各给药组均可明显提升血清淀粉酶的活性和D-木糖的吸收功能,并且差异具有显著性($P<0.05$)。说明除了多

糖无健脾作用外,其余给药组均有明显的疗效。

胃泌素是一种重要的胃肠道激素,其生理功能主要是促进胃肠道的分泌功能,可以提升胃肠道动力,促进胃窦、胃体收缩,加快胃黏膜和壁细胞的生长^[14],血清中胃泌素水平降低是脾虚患者消化道功能处于低下或紊乱的主要原因之一;血管活性肠肽是肠神经系统的主要抑制性递质,可以抑制胃酸、胃蛋白酶的分泌,拮抗胰泌素产生的胆汁分泌等作用,从而进行抑制胃肠运动,导致消化不良^[15]。实验结果显示,脾虚模型组与对照组比较,大鼠的胃泌素水平明显降低,并且血管活性肠肽的水平显著升高,且差异具有显著性($P<0.05$)。经给药治疗后,与模型组比较,除多糖组外其余各给药组均可明显增加大鼠胃泌素的水平、降低血管活性肠肽水平,且差异具有显著性($P<0.05$)。说明除多糖组外,其余各给药组均可通过调节胃肠激素水平而使

大鼠脾虚症状得以改善。由表1的结果也可知,大鼠体质量已恢复正常状态,其也可以佐证大鼠脾虚症状得以改善。

实验结果表明:麸炒苍术挥发油、二氯甲烷萃取物和正丁醇萃取物均可以显著提高血清淀粉酶、D-木糖、胃泌素的水平,并降低血管活性肠肽水平,但三者之间经比较可以看出,挥发油组和二氯甲烷萃取物的健脾效果更优,提示麸炒苍术健脾的活性成分主要处于低极性部位,这可以为后续生、熟苍术药效和化学成分差异研究提供理论依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 150-151.
- [2] 刘玉强, 才 谦, 贾天柱. 麸炒前后苍术中3种成分的HPLC测定 [J]. 中成药, 2013, 35(1): 131-135.
- [3] 霍 岩, 刘玉强, 才 谦. 不同来源的苍术麸炒前后多糖的含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 89-91.
- [4] 李爱华, 才 谦. HPLC法测定苍术麸炒前后白术内酯II的含量 [J]. 辽宁科技学院学报, 2013, 15(2): 27-28.
- [5] 刘佳鑫, 李古月, 才 谦. 苍术麸炒后增量成分研究 [J]. 中国医药导报, 2014, 11(5): 105-108.
- [6] 于 艳, 才 谦, 贾天柱. HPLC-ELSD法测定茅苍术生品及麸炒品中苍术苷A的含量 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(9): 1601-1604.
- [7] 王丹凤, 刘玉强, 才 谦. 苍术麸炒前后健脾作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(1): 155-156.
- [8] 韩 丽, 欧阳臻, 李晓昕, 等. 茅苍术多糖的提取工艺研究 [J]. 中成药, 2007, 29(12): 1777-1779.
- [9] 刘 汶, 张敦义. 番泻叶致脾虚证动物模型的造型方法 [J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1998, 6(4): 231-232.
- [10] 曲长江, 林庶如, 夏淑杰. 苦寒泻下两种脾虚模型的免疫学比较研究 [J]. 辽宁中医杂志, 1999, 26(3): 133-134.
- [11] 沈自尹, 王文健. 中医虚证辨证参考标准 [J]. 中西医结合杂志, 1983, 3(2): 117.
- [12] 北京师范大学生物系消化生理科研组. 中医脾虚证动物模型的造模 [J]. 中华医学杂志, 1980, 60(2): 83-86.
- [13] 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.
- [14] 方 圻. 现代内科学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1995: 1848.
- [15] 张忠兵, 张学庸, 陈希陶, 等. 脾虚泄泻患者肠粘膜中SP和VIP初步探究 [J]. 中西医结合杂志. 1991, 11(3): 144-146.