

胃肠安丸抗炎活性研究

王磊^{1,2}, 张静泽¹, 刘振¹, 高文远^{1*}

1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072

2. 天津中新药业集团股份有限公司乐仁堂制药厂, 天津 300380

摘要: **目的** 研究胃肠安丸抗炎活性, 初步分析其活性成分。 **方法** 采用 HPLC 法对胃肠安丸甲醇提取物进行成分分析; 采用二甲苯致小鼠耳肿胀、角叉菜胶致大鼠足趾肿胀、冰醋酸致小鼠毛细血管通透性增加 3 种急性炎症模型以及大鼠棉球肉芽肿慢性炎症模型, 研究胃肠安丸甲醇提取物对急性慢性炎症的作用。 **结果** 胃肠安丸甲醇提取物中有 12 个主要成分, 分别为来源于木香中的木香烃内酯、去氢木香内酯, 来源于厚朴中的厚朴酚、和厚朴酚, 来源于枳壳中的柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷, 来源于大黄中的芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚。胃肠安丸甲醇提取物 800 mg/kg 时, 对小鼠耳肿胀的抑制率达 39.46%, 对冰醋酸所致小鼠毛细血管通透性增加的抑制率为 35.37%; 并对角叉菜胶致炎大鼠足趾致炎后 1 h 显现抗炎活性; 对大鼠棉球肉芽肿显示抑制活性。 **结论** 胃肠安丸对动物急性慢性炎症均具有较好的抗炎作用。

关键词: 胃肠安丸; 抗炎; 耳肿胀; 足趾肿胀; 肉芽肿

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)08-1017-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.08.019

Anti-inflammatory activity of Weichang'an Pill

WANG Lei^{1,2}, ZHANG Jing-ze¹, LIU Zhen¹, GAO Wen-yuan¹

1. School of Pharmaceutical Sciences and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2. Tianjin Lerentang Pharmaceutical Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300380, China

Abstract: **Objective** To study the active constituents in the methanol extract of Weichang'an Pill (MEWP) and their anti-inflammatory activity. **Methods** The HPLC method was used to analyze the constituents in MEWP. The anti-inflammatory effects of MEWP were observed on the acute anti-inflammatory models of xylene-induced ear edema, carrageenan-induced paw edema, and acetic acid-induced vascular permeability; Meanwhile the chronic anti-inflammatory model of granuloma was induced by cotton pellet implantation. **Results** Twelve active constituents in MEWP were analyzed, including costunolide and dehydro- α -curcumene from *Aucklandiae Radix*; naringin, hesperedin, and neohesperedin from *Aurantii Fructus*; magnolol and honokiol from *Magnoliae Officinalis Cortex*; aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, and physcion from *Rhei Radix et Rhizoma*. At the dose of 800 mg/kg, the MEWP showed the inhibitory rate of 39.46% on the ear edema and 35.37% on the increasing of capillary permeability induced by acetic acid in mice. It could decrease the paw edema caused by carrageenan after 1 h and inhibit the granuloma induced by cotton pellet implantation. **Conclusion** The MEWP could antagonize the reaction of inflammation.

Key words: Weichang'an Pill; anti-inflammation; ear edema; paw edema; granuloma

功能性腹泻的致病因素很多, 腹泻型肠易激综合征是一种常见的功能性腹泻, 其发病与内脏高敏感性、脑-肠轴神经作用异常、炎症、感染等多种原因有关^[1-4]。虽然目前尚不能阐明功能性腹泻的病因, 然而非感染性炎症反应不仅是功能性腹泻的发病原因之一, 也是腹泻发生后的一种病理表现。因

此抗炎是其治疗药物的主要研究内容之一。

胃肠安丸源自古方“十香丹”, 由木香、沉香、枳壳(麸炒)、檀香、大黄、厚朴(姜制)、麝香、巴豆霜、大枣(去核)、川芎 10 味中药组成, 具有芳香化浊、理气止痛、健胃导滞的作用, 用于治疗各种功能性胃肠疾病所致腹痛、腹泻、腹胀等不适

收稿日期: 2012-06-07

基金项目: 天津市科技攻关计划重大科技工程项目 (05ZHCGCX01000)

作者简介: 王磊 (1971—), 女, 博士研究生, 研究方向为中药复方质量标准研究。

*通信作者 高文远 Tel/Fax: (022)87401895 E-mail: pharmgao@tju.edu.cn

症状^[5], 已有数十年的临床药用历史, 疗效显著。对胃肠安丸止泻作用及其机制研究结果显示, 胃肠安丸甲醇提取物对小鼠小肠运动具有双向调节作用: 既可以增加正常小鼠小肠推进率, 又可抑制新斯的明致泻小鼠的小肠蠕动^[6]。研究表明胃肠安丸对复合性腹泻大鼠小肠消化酶和胃肠激素具有调节作用^[7], 且对腹泻型肠易激综合征大鼠具有止泻作用^[8]。本实验对胃肠安丸甲醇提取物 (methanol extract of Weichang'an Pill, MEWP) 进行 HPLC 分析, 并以二甲苯所致小鼠耳肿胀、角叉菜胶致大鼠足趾肿胀、冰醋酸致小鼠毛细血管通透性增加 3 种急性炎症模型以及大鼠棉球肉芽肿慢性炎症模型, 研究胃肠安丸甲醇提取物对急慢性炎症的作用, 以期阐明胃肠安丸治疗腹泻的物质基础提供实验参考。

1 材料

1.1 药品与试剂

胃肠安丸, 天津中新药业集团股份有限公司乐仁堂制药厂, 批号 D109002; 醋酸地塞米松片, 天津力生制药股份有限公司, 批号 1206016。二甲苯, 天津市赢达稀贵化学试剂厂; 角叉菜胶 (以生理盐水配成 1% 的溶液), Sigma 公司; 伊文思蓝 (以生理盐水配成 0.5% 的溶液), 上海蓝季科技发展有限公司, 进口分装, 批号 100528; 乙腈、甲醇、冰醋酸为色谱纯。

1.2 动物

昆明种小鼠, 雌性, 18~22 g; SD 大鼠, 雌性, 180~220 g, 均由中国军事医学科学院实验动物研究所提供, 许可证号: SCXK-2007-004。

1.3 仪器

高效液相色谱仪 (包括 Waters 2414 型高效液相色谱仪; Waters 2998 紫外-可见检测器); CP225D 微量分析天平, Sartorius 公司; 微量进样器 (25 μ L), Hamilton 公司; LDZ5-2 离心机, 北京雷勃尔离心机厂; 754 紫外-可见分光光度计, 天津市普瑞斯仪器有限公司。

2 方法

2.1 胃肠安丸化学成分分析

2.1.1 胃肠安丸甲醇提取物制备 胃肠安丸粉碎后加入 10 倍量甲醇回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 回收甲醇后得胃肠安丸甲醇提取物, 得率为 22.1%。用 0.5% 羧甲基纤维素将胃肠安丸甲醇提取物制成 100 mg/mL 的混悬液, 备用。称取适量胃肠安

丸甲醇提取物, 加甲醇定容后进行 HPLC 分析。

2.1.2 色谱条件 Kromasil 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相 A 为乙腈, B 为 1% 醋酸水溶液; 梯度洗脱: 0~15 min, 5%~22.5% B; 15~35 min, 22.5% B; 35~41 min, 22.5%~25.6% B; 41~56 min, 25.6%~58% B; 56~71 min, 58% B; 71~100 min, 58%~80% B; 100~120 min, 80%~100% B; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 体积流量 0.8 mL/min; 检测波长 254 nm。各对照品对应色谱峰理论塔板数不小于 4 000。

2.2 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

小鼠随机分为 5 组: 模型组 (给予 0.5% 羧甲基纤维素), 地塞米松片 (10 mg/kg) 阳性对照组, 胃肠安丸甲醇提取物 200、400、800 mg/kg 给药组, 每组 10 只。各组均每天 ig 给药 1 次, 连续给药 3 d。末次给药后 45 min, 小鼠乙醚麻醉下将 100% 二甲苯 0.1 mL 均匀涂在小鼠右耳前后两面, 左耳作对照。1.5 h 后将小鼠脱颈处死, 沿耳廓基线剪下两耳, 用 8 mm 直径打孔器分别在左右耳的同一部位打下圆耳片, 电子天平称质量, 以两耳片的质量差作为耳肿胀度, 计算肿胀抑制率。

$$\text{耳肿胀度} = \text{右耳片质量} - \text{左耳片质量}$$

$$\text{耳肿胀抑制率} = (\text{模型组耳肿胀度} - \text{给药组耳肿胀度}) / \text{模型组耳肿胀度}$$

2.3 对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀的影响

大鼠随机分为 5 组: 模型组 (给予 0.5% 羧甲基纤维素), 地塞米松片 (10 mg/kg) 阳性对照组, 胃肠安丸甲醇提取物 400、800、1 600 mg/kg 给药组, 每组 10 只。各组每天 ig 给药 1 次, 连续给药 3 d。于末次给药后 1 h, 每只大鼠左后足趾 sc 1% 角叉菜胶 0.1 mL, 分别于致炎前和致炎后 0.5、1、2、4、6 h 游标卡尺测定左后足趾厚度, 计算足肿胀度。

$$\text{足肿胀度} = (\text{致炎后足趾厚度} - \text{致炎前足趾厚度}) / \text{致炎前足趾厚度}$$

2.4 对冰醋酸致小鼠毛细血管通透性增加的影响

小鼠分组与给药同“2.2”项。于末次给药后 1.5 h, 小鼠尾 iv 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 10 mL/kg, 10 min 后 ip 0.7% 冰醋酸 10 mL/kg。给予冰醋酸 20 min 后小鼠脱颈处死, 每只 ip 生理盐水 5 mL, 轻揉腹部 3 min, 收集腹腔洗出液 3 mL (冲洗液如被血液污染, 则弃去不用), 1 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 用紫外-可见分光光度计测定 590 nm 处吸光度 (A) 值。

2.5 对大鼠棉球肉芽肿的影响

大鼠分组同“2.3”项。大鼠乙醚麻醉后腹部用75%乙醇消毒，于腹部正中切一小口，将20 mg经高温灭菌的棉球从切口分别植入左右腹股沟处，随即缝合。次日开始，各组大鼠每天ig给药1次，连续给药7 d。末次给药后1 h，打开原切口取出棉球及周围结缔组织，剔除脂肪组织，60℃烘干并称质量，计算肉芽肿抑制率。

肉芽肿抑制率 = (模型组肉芽肿质量 - 给药组肉芽肿质量) / 模型组肉芽肿质量

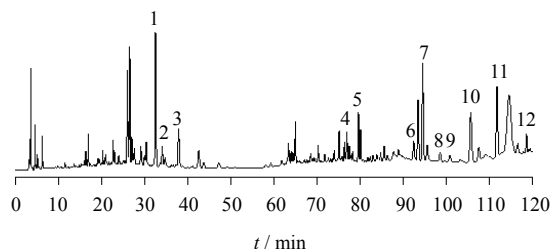
2.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用SPSS 11.5软件处理，两样本均数比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 胃肠安丸化学成分分析

通过与对照品的保留时间、紫外光谱等信息进行比较，鉴定了胃肠安丸甲醇提取物中的12个主要成分，分别为柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、厚朴酚、和厚朴酚、木香烃内酯、去氢木香内酯、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚（图1）。其中木香烃内酯、去氢木香内酯来自于木香；厚朴酚、和厚朴酚来自于厚朴；柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷来自于枳壳；芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚来自于大黄。



1-柚皮苷 2-橙皮苷 3-新橙皮苷 4-芦荟大黄素 5-大黄酸 6-大黄素 7-和厚朴酚 8-去氢木香内酯 9-木香烃内酯 10-厚朴酚 11-大黄酚 12-大黄素甲醚
1-naringin 2-hesperidin 3-neohesperidin 4-aloe-emodin 5-rhein 6-rhein 7-honokiol 8-dehydro- α -curcumene 9-costunolide 10-magnolol 11-chrysophanol 12-modinonemethyl ether

图1 胃肠安丸甲醇提取物 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatogram of MEWP

3.2 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

与模型组相比，胃肠安丸甲醇提取物高、中、低剂量（800、400、200 mg/kg）组均较强抑制二甲苯致小鼠耳肿胀（ $P < 0.05$ 、 0.01 ），且耳肿胀抑制率与剂量呈正相关。地塞米松片 10 mg/kg 对二甲苯

致小鼠耳肿胀也具有显著抑制作用（ $P < 0.01$ ），抑制率为 52.31%。结果见表 1。

表 1 胃肠安丸甲醇提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响（ $\bar{x} \pm s$, $n = 10$ ）

Table 1 Effects of MEWP on ear edema induced by xylene in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	耳肿胀度 / mg	抑制率 / %
模型	—	14.70 ± 3.22	—
胃肠安丸甲	200	12.32 ± 2.31*	13.61
醇提取物	400	10.19 ± 3.38*	30.68
	800	8.90 ± 2.75**	39.46
地塞米松片	10	7.01 ± 1.72**	52.31

与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ，下表同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as below

3.3 对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀的影响

与模型组相比，胃肠安丸甲醇提取物高、中、低剂量（1 600、800、400 mg/kg）组对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀有较好的抑制作用（ $P < 0.01$ ），在大鼠致炎后 1 h 即显现出抗炎活性；地塞米松片给药组在给药后 30 min 表现出显著的抗炎活性（ $P < 0.01$ ）。结果见表 2。

3.4 对冰醋酸致小鼠毛细血管通透性增加的影响

与模型组相比，胃肠安丸甲醇提取物低、中、高剂量（200、400、800 mg/kg）组显著抑制冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性异常增加（ $P < 0.05$ 、 0.01 ）；地塞米松片组对冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性异常增加也具有显著抑制作用（ $P < 0.01$ ）。结果见表 3。

3.5 对大鼠棉球肉芽肿的影响

与模型组相比，胃肠安丸甲醇提取物对棉球肉芽肿慢性炎症也具有抑制作用（ $P < 0.05$ 、 0.01 ），其高剂量（1 600 mg/kg）的作用与地塞米松片相当。结果见表 4。

4 讨论

胃肠安丸对功能性腹泻有较好的治疗作用。方中木香、檀香等能抑制小肠平滑肌痉挛；枳壳、厚朴等不仅能够止泻，而且对醋酸致小鼠扭体反应有一定的镇痛作用，并能调节胃及十二指肠的异常运动（如运动过快、过缓、不协调等），恢复正常的胃肠功能；木香、川芎改善肠黏膜的微循环，增强屏障作用，减少内毒素吸收^[9-11]。

本实验发现，胃肠安丸甲醇提取物高、中、低

表2 胃肠安丸甲醇提取物对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Effects of MEWP on paw edema induced by carrageenan in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	足肿胀度 / %				
		0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
模型	—	67.18 ± 2.50	59.41 ± 5.20	43.28 ± 4.53	36.48 ± 5.81	30.35 ± 2.45
胃肠安丸甲醇	400	52.57 ± 3.90**	40.09 ± 3.26**	34.17 ± 3.28**	26.94 ± 4.51**	21.37 ± 2.59**
提取物	800	44.30 ± 3.12**	32.62 ± 3.29**	29.89 ± 3.60**	23.08 ± 1.85**	15.26 ± 2.55**
	1 600	38.59 ± 1.84**	28.89 ± 2.24**	22.44 ± 2.02**	17.41 ± 0.79**	9.80 ± 2.00**
地塞米松片	10	36.72 ± 4.81**	29.60 ± 4.21**	24.27 ± 1.75**	20.95 ± 4.83**	10.19 ± 3.38**

表3 胃肠安丸甲醇提取物对冰醋酸致小鼠毛细血管通透性增加的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 Effects of MEWP on increased capillary permeability induced by acetic acid ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	A 值	抑制率 / %
模型	—	1.455 ± 0.167	—
胃肠安丸甲醇	200	1.221 ± 0.153*	16.24
提取物	400	1.103 ± 0.225**	23.19
	800	0.924 ± 0.164**	35.37
地塞米松片	10	0.651 ± 0.201**	50.89

表4 胃肠安丸甲醇提取物对大鼠棉球肉芽肿的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Effects of MEWP on granuloma induced by cotton pellet implantation ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	肉芽肿质量 / mg	抑制率 / %
模型	—	91.33 ± 2.89	—
胃肠安丸甲醇提取物	400	80.72 ± 4.11*	11.62
	800	69.38 ± 3.95**	24.03
	1 600	63.51 ± 3.47**	30.46
地塞米松片	10	56.35 ± 3.29**	38.30

剂量给药后,对急性炎症及慢性炎症均具有较好的抑制作用,证实了对腹泻的治疗作用与其抗炎作用相关。木香 75%乙醇提取物能抑制二甲苯引起的小鼠耳肿胀、角叉菜胶引起的小鼠足趾肿胀^[12],推测抗炎是木香抗腹泻的主要机制之一。厚朴为胃肠安丸中的主要组成药味,厚朴中的厚朴酚具有较强的抗炎活性,其通过阻断花生四烯酸代谢,抑制膜肥大细胞前列腺素 D₂ (PGD₂) 的合成,进而发挥抗炎活性^[13]。枳壳中主要成分柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷等黄酮类化合物具有较强的抗炎活性,且

柚皮苷及其体内代谢产物柚皮素能够显著抑制葡聚糖硫酸钠诱导的大鼠溃疡性结肠炎的炎症反应^[14]。大黄为方中佐使药,含蒽醌类成分约 1 mg/g^[15]。大黄中鞣质类成分对大黄蒽醌的泻下作用可产生抑制,因此由于蒽醌和鞣质的共存使大黄具有泻下和止泻的双重作用^[16];此外大黄主要成分大黄酸、大黄素等具有显著抗炎活性^[17]。综上所述,胃肠安丸的止泻作用可能与其抗炎活性有密切关系。

参考文献

- [1] 陈仕珠. 肠易激综合征的流行病学和病因研究 [J]. 华人消化杂志, 1998, 6: 913-914.
- [2] Aecarino A M, Apiroz F, Malagelada J R. Attention and distraction effects on gut perception [J]. *Gastroenterology*, 1997, 113(2): 415-422.
- [3] Bueno L, Fioramonii J, Delvaux M, et al. Mediator and phannacology of visceral sensitivity: from basic to clinical investigations [J]. *Gastroenterology*, 1997, 112(5): 1714-1743.
- [4] 胡品津. 从脑-肠互动的高度认识肠易激综合征 [J]. 中华消化杂志, 2003, 23(5): 261-262.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [6] Hu J, Gao W Y, Ling N S, et al. Antidiarrhoeal and intestinal modulatory activities of Wei-Chang-An-Wan extract [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 125(3): 450-455.
- [7] 胡瑞, 唐方. 胃肠安丸对复合性腹泻大鼠小肠消化酶和胃肠激素的调节作用 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2292-2295.
- [8] 胡瑞, 张桐茂, 唐方. 胃肠安丸对腹泻型肠易激综合征大鼠的止泻作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2010, 41(12): 2039-2043.
- [9] 王永兵, 王强, 毛福林, 等. 木香的药效学研究 [J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(2): 146-148.
- [10] 刘良, 刘中秋. 引种栽培进口“南药”药材质量的药理学评价 [J]. 中药药理与临床, 1996, 12(6): 24-28.

- [11] 官福兰, 王汝俊, 王建华. 枳壳及辛弗林对兔离体小肠运动的影响 [J]. 中药药理与临床, 2002, 18(2): 9-11.
- [12] 张明发, 沈雅琴, 朱自平, 等. 木香的抗腹泻和抗炎作用 [J]. 中国药业, 1999, 8(6): 16-17.
- [13] Wang J P, Raung S L, Chen C C, *et al.* The inhibitory effect of magnolol on cutaneous permeability in mice is probably mediated by a nonselective vascular hyporeactivity to mediators [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1993, 348(6): 663-669.
- [14] Maria I A, Joao R, Helder V, *et al.* Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesized naringenin in a model of DSS-induced colitis in mice [J]. *Food Res Int*, 2009, 42(8): 1010-1017.
- [15] 张静泽, 高文远, 王 磊, 等. 中药胃肠安丸中五种蒽醌类成分的定量分析 [J]. 中成药, 2010, 32(10): 77-81.
- [16] Qin Y, Wang J B, Jun W, *et al.* The diarrhoeogenic and antidiarrhoeal bidirectional effects of rhubarb and its potential mechanism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(3): 1096-1120.
- [17] 吕冠华, 王长洪, 王立新, 等. 大黄及其复方对重症急性胰腺炎大鼠促炎抗炎细胞因子调节作用的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 2009, 16(4): 265-267.