

红芪与炙红芪补中益气作用对比及成分差异分析

牛江涛^{1,2}, 曹 瑞^{1,2}, 边甜甜^{1,2}, 司昕蕾^{1,2}, 辛二旦^{1,2}, 张爱霞^{1,2}, 李越峰^{1,2*}

1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室, 甘肃 兰州 730000

摘要: **目的** 比较红芪与炙红芪补中益气作用及成分差异, 初步揭示红芪蜜炙炮制机制。**方法** 建立大鼠脾气虚模型, 通过红芪与炙红芪不同剂量水提液干预, 以大鼠血清木糖(*D*-xylose)、胃泌素(GAS)、白细胞介素-2(IL-2)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)为指标, 对红芪与炙红芪补中益气药效作用进行比较。基于 HPLC 法分析红芪和炙红芪醇提液中的差异成分。**结果** 与对照组相比, 模型组大鼠血清 *D*-xylose、GAS 水平均显著降低 ($P < 0.01$), 与模型组相比, 除红芪低剂量组外, 各给药组大鼠血清 *D*-xylose、GAS 水平均显著升高 ($P < 0.01$), 且炙红芪中剂量组 *D*-xylose、GAS 水平均显著高于红芪中剂量组 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与对照组相比, 模型组大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平均显著升高 ($P < 0.01$), 与模型组相比, 各给药组大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与红芪中剂量组相比, 炙红芪中剂量组大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。HPLC 检测结果表明红芪炮制前后成分发生变化。**结论** 炙红芪和红芪均可以明显干预和改善大鼠脾气虚证, 且炙红芪的药效作用优于红芪, 炙红芪与红芪中存在差异成分。

关键词: 红芪; 炙红芪; 差异成分; 补中益气; 脾气虚; 木糖; 胃泌素; 白细胞介素-2; 肿瘤坏死因子- α

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)13-3107-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.13.016

Comparison of effects of *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* on Buzhong Yiqi and differential analysis of its chemical compositions

NIU Jiang-tao^{1,2}, CAO Rui^{1,2}, BIAN Tian-tian^{1,2}, SI Xin-lei^{1,2}, XIN Er-dan^{1,2}, ZHANG Ai-xia^{1,2}, LI Yue-feng^{1,2}

1. Pharmacy of College, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Key Laboratory of Quality and Standard of TCM of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To compare the effects of *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* in Buzhong Yiqi and its chemical composition, and preliminarily reveal the mechanism of *Hedysari Radix* processed with honey. **Methods** A rat model of spleen qi deficiency was established. The rats were treated with different doses of water extracts of *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* and the content of serum D-xylose, GAS, IL-2, TNF- α were used as indicators to study the differences in the efficacy of *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* in Buzhong Yiqi. Based on HPLC techniques, the different components in methanol extract of *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* were analyzed. **Results** Compared with the blank group, the serum xylose, gastrin content in the model group were significantly decreased. Compared with the model group, except for the low dose group of *Hedysari Radix*, the serum xylose, and gastrin content of the rats in each administration group were significantly increased ($P < 0.01$), and the results in the middle dose group of *Hedysari Radix* were significantly higher than those in the middle dose group of *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the blank group, the serum IL-2 and TNF- α levels in the model group were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the serum IL-2 and TNF- α levels in the rats in each drug group were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); Compared with the medium dose group of *Hedysari Radix*, the serum IL-2 and TNF- α levels in the medium dose group of honey-processing *Hedysari Radix* were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). There were differences in the chromatographic peaks in the fingerprints of *Hedysari Radix* and *Hedysari*

收稿日期: 2018-12-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81460611); 自然科学基金创新基地和人才计划项目 (18JR3RA197); 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室开放基金 (ZYZL18-008)

作者简介: 牛江涛 (1990—), 男, 甘肃成县人, 博士研究生, 研究方向为中药及复方加工炮制机制及活性成分研究。

Tel: 13993112451 E-mail: 1090459314@qq.com

***通信作者** 李越峰, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药及复方加工炮制机制及活性成分研究。Tel: (0931)8765585 E-mail: lyfyxk@126.com

Radix Praeparata Cum Melle. **Conclusion** Both *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* can significantly intervene and improve the syndrome of spleen qi deficiency in rats and the pharmacodynamics effect of *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* is better than that of *Hedysari Radix*. There are differences in the components of *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* and these differences may be the active substances that cause differences in the efficacy.

Key words: *Hedysari Radix*; *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle*; differences in compositions; Buzhong Yiqi; spleen qi deficiency; xylose, gastrin; IL-2; TNF- α

红芪 *Hedysari Radix* 为豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand. -Mazz. 的干燥根, 其药用历史悠久, 临床与黄芪通用^[1], 具有补气升阳、固表止汗、利水消肿等功效^[2]。现代药理研究表明红芪具有抗肿瘤、调节免疫功能、抗衰老、抗纤维化等多种药理作用^[3-5]。炙红芪 *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* 为红芪的蜜炙炮制加工品, 具有补中益气的功效, 主要用于气虚乏力、食少便溏^[2]。中医药理论认为, 蜜炙能和中益元, 增强药物的补中益气作用^[6], 可见红芪蜜炙前后主要的功效发生了改变。为了研究红芪蜜炙前后补中益气作用差异, 揭示其功效差异是否可能与其所含化学成分差异有关, 本研究基于脾气虚大鼠模型, 以白细胞介素-2 (IL-2)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 以及木糖 (*D*-xylose) 吸收实验和血清胃泌素 (GAS) 含量为指标比较红芪和炙红芪补中益气作用差异, 并采用 HPLC 技术分析其化学成分差异。以期为进一步研究红芪蜜炙前后补中益气作用差异的分子机制、揭示红芪蜜炙炮制机制以及指导临床合理用药提供实验基础。

1 材料

1.1 药材

红芪药材样品采自甘肃省陇南市武都区米仓山, 经甘肃中医药大学药学院中药鉴定教研室王明伟副教授鉴定为豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand. -Mazz. 的干燥根。大黄饮片和黄芪饮片均购于惠仁堂兰州二十一分店, 经甘肃中医药大学药学院中药鉴定教研室王明伟副教授分别鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根与根茎切片和豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根切片。

1.2 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 90 只, 体质量 (200 $\pm$ 20) g, 由中国农业科学院兰州兽医研究所提供, 动物合格证号 SCXK (甘) 2015-0002。饲养室的环境温度控制在 (23 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度控制在 45%~50%。

1.3 试剂

水合氯醛 (批号 20160105)、*D*-xylose (批号 20160302), 天津市凯信化学工业有限公司; 大鼠 *D*-xylose 酶联免疫试剂盒 (批号 201704SU-B30087)、大鼠 GAS 酶联免疫试剂盒 (批号 201704SU-B30839)、大鼠 IL-2 酶联免疫试剂盒 (批号 201705SU-B30208)、大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫试剂盒 (批号 201704SU-B31063), Wksbio 公司; 毛蕊异黄酮 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 150629)、芒柄花素 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 150629), 北纳创联生物技术研究院; 毛蕊异黄酮苷 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 PS000687)、芒柄花苷 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 PS000672)、香草酸 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 PS010559), 成都普思生物科技股份有限公司; 甲醇 (色谱级, 批号 20160305)、乙腈 (色谱级, 批号 20151201)、磷酸 (色谱级, 批号 20150707), 天津大茂化学试剂厂。

1.4 仪器

BT125D 十万分之一分析天平 (北京赛多利斯科学仪器有限公司); Epoch 酶标仪 (美国博腾仪器有限公司); MDF-U71V 型-70 $^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱 (日本三洋公司); Biofuge Stratos 高速冷冻离心机 (美国科峻仪器公司); Agilent1260 高效液相色谱仪、HC-C₁₈ 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)、DAD 检测器, Agilent 公司。

2 方法

2.1 炙红芪的制备

将采到的红芪药材抖去泥土, 快速冲洗干净, 稍晾, 趁鲜切成厚片 (0.2~0.4 cm), 在阴凉通风干燥处阴干。取一定量上述红芪干燥饮片, 加沸蒸馏水稀释过的炼蜜闷润 1 h, 红芪每 100 克用炼蜜 25 g, 水为蜜的 20%。设定烘箱温度 70 $^{\circ}\text{C}$, 烘制时间 2.5 h, 饮片铺设厚度 3 cm, 按照上述条件用烘箱烘制完成后, 取出放凉, 备用。

2.2 红芪、炙红芪、炙黄芪及大黄水提液的制备

分别取红芪饮片 600、400、200 g, 置于提取锅

内,第1次加入10倍量的水煎煮1 h,趁热滤过,第2次向滤渣中再加8倍量的水煎煮1 h,趁热滤过,第3次向滤渣中再加6倍量的水煎煮1 h,趁热滤过^[7]。分别将3次滤液合并,分别浓缩至含生药量0.54、1.08、1.62 g/mL,放凉,分别瓶装封口,于4℃冰箱保存备用。炙红芪水提液制备方法同红芪水提液。

取炙黄芪饮片400 g置于提取锅内,第1次加入10倍量的水煎煮1 h,趁热滤过,第2次向滤渣中再加8倍量的水煎煮1 h,趁热滤过,第3次向滤渣中再加6倍量的水煎煮1 h,趁热滤过^[7]。将3次滤液合并,浓缩至含生药量1.08 g/mL,放凉,瓶装封口,于4℃冰箱保存备用。

取大黄饮片5.5 kg置于提取锅内,加10倍量的沸水,加热煮沸10 min,趁热滤过,将滤液浓缩至含生药量1 g/mL,放凉,瓶装封口,于4℃冰箱保存备用。

2.3 补中益气作用比较

2.3.1 实验分组 大鼠适应性饲养7 d后,按计算机随机数字表法,将90只SD雄性大鼠随机分为对照组10只、造模组80只。模型复制成功后,将造模组大鼠随机分为模型组、炙黄芪(阳性对照)组及红芪低、中、高剂量(生药剂量5.4、10.8、16.2 g/kg)组和炙红芪低、中、高剂量(生药剂量5.4、10.8、16.2 g/kg)组,每组10只。

2.3.2 模型复制 对造模组大鼠,采用饮食失节、泻下加疲劳3因素复合造模方法^[8]进行模型复制。具体方法:造模组大鼠单日禁食,自由饮水;双日按75 g/kg给食,自由饮水;每天中午ig给予1 g/mL的大黄水煎液20 mL/kg,下午置于(25±1)℃、水深50 cm的游泳缸中负重(于大鼠尾根部缠绕质量为该大鼠体质量10%的保险丝)游泳至力竭(力竭的判定标准为大鼠鼻部没入水下,身体下沉不能上浮,动作明显失调)^[9]。力竭后将大鼠取出,擦干其身上的水。对照组常规饲养,自由饮水、给食,连续14 d。

2.3.3 药物干预 模型复制成功后,炙黄芪组ig给予10.8 g/kg的炙黄芪水提液,红芪和炙红芪高、中、低剂量组分别ig给予16.2、10.8、5.4 g/kg的红芪或炙红芪水提液。各药物组大鼠每天早晨以10 mL/kg ig给予相应的药物,对照组和模型组大鼠ig给予等剂量的蒸馏水,每天1次,连续给药15 d。给药期间除对照组外,其余各组持续施加造模条件。

2.3.4 样品采集 给药第15天各组大鼠均禁食、自

由饮水,同天晚上给各组大鼠称体质量,给药后第16天,按1 mL/kg分别ig 5% *D*-xylose溶液,1 h后,经腹主动脉取血5 mL置于非抗凝真空采血管中,室温放置3 min,4 000 r/min、4℃离心15 min,取上清液置2 mL EDTA管中,存于-20℃冰箱备用。采血完成后脱颈处死大鼠。

2.3.5 指标检测 经腹主动脉采集处理得到的血清样品分别进行IL-2、TNF-α、*D*-xylose和GAS水平测定,检测方法均采用酶联免疫(ELISA)试剂盒检测,具体步骤按照相应试剂盒说明方法操作。

2.4 差异成分分析

2.4.1 供试品溶液的制备 采用四分法分别取红芪和炙红芪饮片适量,粉碎,过20目筛。粉末60℃干燥,至恒定质量。精密称取红芪和炙红芪样品粉末各3.0 g,置150 mL锥形瓶中,加入甲醇30 mL,于75℃水浴加热回流提取1 h,滤过,滤液减压浓缩后,定容至10 mL量瓶中,编号,备用^[10]。

2.4.2 混合对照品溶液的配制 分别精密称取毛蕊异黄酮、芒柄花素、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、香草酸对照品2.98、5.96、0.72、2.22、0.34 mg,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇超声溶解,定容于10 mL量瓶中,作为母液A、B、C、D、E。分别精密吸取这5种对照品贮备液各2 mL,定容至10 mL,制成混合对照品溶液F,备用^[11]。

2.4.3 HPLC 色谱条件 色谱柱为Agilent HC-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.01%磷酸水溶液,体积流量1.0 mL/min;检测波长280 nm;柱温30℃;进样量10 μL。梯度洗脱程序见表1。在此色谱条件下,色谱峰分离度良好。

表1 HPLC 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution of HPLC

时间/min	乙腈/%	0.01%磷酸水溶液/%
0	2	98
5	5	95
20	16	84
35	18	82
36	30	70
66	60	40
80	90	10

2.5 统计学方法

数据结果若符合正态分布,则所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐,则多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA);数据不符合正态分布且方差不齐则用W-H秩和检验。以上数据均用SPSS

19.0 软件进行统计分析。

3 结果

3.1 补中益气作用比较

3.1.1 对模型大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 的影响 细胞因子测定结果显示,与对照组相比,模型组大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平均显著升高 ($P<0.01$);与模型组相比,各药物组大鼠血清 IL-2 水平均不同程度降低,除红芪低剂量组差异显著 ($P<0.05$) 外,其余各药物组差异均非常显著 ($P<0.01$);各药物组大鼠血清 TNF- α 水平也均不同程度降低,除红芪低剂量组外,其他各药物组差异均具有统计学意义 ($P<0.05$ 、 0.01),其中,红芪中剂量组和炙红芪低剂量组差异显著 ($P<0.05$),其他各药物组差异均非常显著 ($P<0.01$);与红芪中剂量组相比,炙红芪中剂量组大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平均明显降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。结果见表 2。

3.1.2 对模型大鼠血清 D-xylose 和 GAS 的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清 D-xylose 和 GAS 水平均显著降低 ($P<0.01$);与模型组比较,各药物组大鼠血清 D-xylose 和 GAS 水平不同程度升高。其中 D-xylose 检测结果显示,除红芪低剂量组外,其他各药物组差异均非常显著 ($P<0.01$);与红芪中剂量组相比,炙红芪中剂量组大鼠血清 D-xylose 水平较高,差异显著 ($P<0.01$)。血清 GAS 测定结果显示,除红芪低剂量组外,其他各药物组差异均非常显著 ($P<0.05$ 、 0.01);与红芪中剂量组相比,炙红芪中剂量组大鼠血清 GAS 水平显著升高 ($P<0.05$)。结果见表 2。

3.2 红芪与炙红芪差异成分分析

采用四分法精密称取红芪和炙红芪样品各 10 份,按“2.4.1”项下方法制成供试品,按“2.4.3”项下色谱条件测定。色谱图见图 1。根据各样品

表 2 各组大鼠血清 IL-2、TNF- α 、D-xylose 和 GAS 水平测定结果

Table 2 Determination of serum IL-2, TNF- α , D-xylose, and GAS levels in serum of rats in each group

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	n	IL-2/(pg· μ L ⁻¹)	TNF- α /(pg· μ L ⁻¹)	D-xylose/(ng·mL ⁻¹)	GAS/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	10	203.69 $\pm$ 8.06	41.52 $\pm$ 2.09	4.51 $\pm$ 0.32	55.26 $\pm$ 4.73
模型	—	8	276.64 $\pm$ 10.29 ^{$\Delta\Delta$}	52.01 $\pm$ 2.19 ^{$\Delta\Delta$}	3.17 $\pm$ 0.22 ^{$\Delta\Delta$}	34.76 $\pm$ 5.26 ^{$\Delta\Delta$}
炙黄芪	10.8	10	231.68 $\pm$ 10.12 ^{**}	44.75 $\pm$ 0.45 ^{**}	3.85 $\pm$ 0.33 ^{**}	50.14 $\pm$ 5.30 ^{**}
红芪	5.4	9	259.86 $\pm$ 11.17 [*]	49.70 $\pm$ 2.39	3.32 $\pm$ 0.31	37.71 $\pm$ 4.76
	10.8	10	245.32 $\pm$ 4.73 ^{**}	46.98 $\pm$ 3.03 [*]	3.50 $\pm$ 0.32 ^{**}	41.95 $\pm$ 5.29 [*]
	16.2	10	232.60 $\pm$ 12.91 ^{**}	45.36 $\pm$ 2.78 ^{**}	3.73 $\pm$ 0.28 ^{**}	48.44 $\pm$ 3.50 ^{**}
炙红芪	5.4	10	244.33 $\pm$ 10.79 ^{**}	47.45 $\pm$ 2.48 [*]	3.63 $\pm$ 0.28 ^{**}	43.06 $\pm$ 5.30 [*]
	10.8	10	229.47 $\pm$ 7.20 ^{***}	44.25 $\pm$ 0.84 ^{***}	3.90 $\pm$ 0.30 ^{***}	49.79 $\pm$ 4.60 ^{***}
	16.2	10	228.29 $\pm$ 6.36 ^{**}	44.20 $\pm$ 1.03 ^{**}	3.91 $\pm$ 0.29 ^{**}	51.94 $\pm$ 3.50 ^{**}

与对照组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$; 与红芪相同剂量组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$

$\Delta\Delta P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs same-dose of *Hedysari Radix*

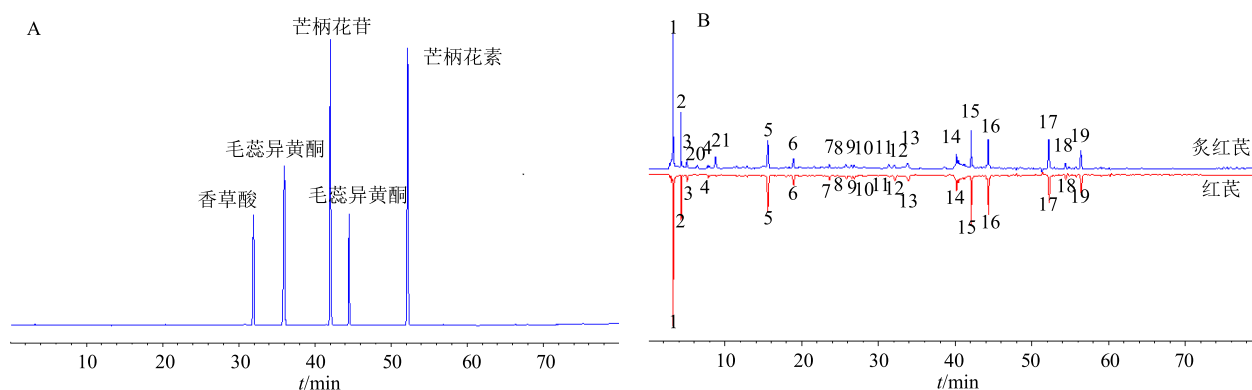


图 1 混合对照品 (A) 和红芪、炙红芪样品 (B) HPLC 图

Fig. 1 HPLC diagram of mixed reference substance (A) and samples of *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* (B)

HPLC 色谱图, 从红芪和炙红芪 HPLC 色谱图中共鉴定了 19 个共有峰, 经与对照品对照, 其中 12 号峰为香草酸, 13 号峰为毛蕊异黄酮苷, 15 号峰为芒柄花苷, 16 号峰为毛蕊异黄酮, 17 号峰为芒柄花素; 20 号和 21 号峰为炙红芪中新出现的色谱峰。红芪和炙红芪 HPLC 色谱图的 19 个共有峰的峰面积见表 3, 除 1、4、6、18 和 19 号峰外、其余共有峰峰面积差异均显著。与红芪相比, 炙红芪 9 号共有峰峰面积显著增加 ($P<0.05$); 2、3、8、10、11、16、17 号共有峰峰面积增加, 差异非常显著 ($P<0.01$); 5、7、12、13、14、15 号共有峰峰面积减少, 差异非常显著 ($P<0.01$)。

表 3 红芪和炙红芪 HPLC 色谱图共有峰峰面积比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Compariison on common peak area of *Hedysari Radix* and *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

峰号	峰面积/(mAU·min)		化学成分
	红芪	炙红芪	
1	1 462.87±43.25	1 498.85±38.79	—
2	349.20± 9.26	458.13±15.53**	—
3	132.42± 3.52	146.53± 5.58**	—
4	65.38± 2.32	65.03± 2.49	—
5	1 044.57±46.51	761.97±22.00**	—
6	305.72±11.97	297.12± 9.96	—
7	136.32± 3.86	78.67± 2.34**	—
8	116.30± 2.95	127.87± 3.47**	—
9	100.90± 4.77	111.08± 4.19*	—
10	82.77± 1.84	99.47± 3.68**	—
11	130.95± 2.90	165.62± 3.98**	—
12	234.98± 8.63	147.67± 5.18**	香草酸
13	547.07±13.89	244.68± 6.70**	毛蕊异黄酮苷
14	320.38±10.03	190.73± 5.27**	—
15	633.02±20.53	495.60±17.83**	芒柄花苷
16	516.10± 5.60	692.80±21.01**	毛蕊异黄酮
17	932.02±11.18	1 097.95±13.97**	芒柄花素
18	143.00± 5.34	145.60± 2.03	—
19	446.38±17.70	438.17±19.08	—
20	—	130.45± 3.00	—
21	—	356.98±10.20	—

与红芪比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs *Hedysari Radix*

4 讨论

中医理论认为, 脾气虚包括 2 部分, 即气虚和脾虚, 气虚则卫气不足, 卫气不足则不能抵御外邪侵入身体, 故而生病, 所以气虚则会引起免疫功能

下降。脾脏是人体最大的免疫器官, 对机体的免疫功能起重要的调节作用, 若脾脏的功能受到影响, 则机体的免疫功能必然会受到影响^[12]。细胞因子 TNF- α 和 IL-2 与机体免疫调节有重要关系^[13], 血清 IL-2 和 TNF- α 水平能直观地反映机体的免疫功能, IL-2 和 TNF- α 水平高于正常值, 表明机体免疫功能紊乱, 免疫力降低^[14]。脾主运化, 脾与消化系统密切相关, 脾虚证是以消化吸收功能低下为主的多器官、多系统功能减弱的综合性病理变化^[15]。脾虚则运化吸收不良, 临床表现为脾胃消化吸收功能受损, 胃肠道激素分泌功能受损, 胃肠道激素异常^[16]。D-xylose 吸收实验是反映脾胃消化、吸收功能较为公认的指标^[17]。GAS 是最常见的胃肠肽类激素之一, 能够促进壁细胞分泌胃酸, 促进黏膜上皮细胞生长, 加速胃黏膜损伤组织的修复以及参与胃黏膜炎症反应等^[18], 并对胃排空有重要的促进作用^[19]。

由药效实验结果显示, 与对照组相比, 模型组大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平均显著升高, D-xylose 和 GAS 水平显著降低, 提示模型组大鼠免疫功能减弱, 脾胃吸收和消化功能受损, 大鼠出现明显的脾气虚症状, 大鼠脾气虚模型复制成功。与模型组相比, 各给药组大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平均不同程度降低, D-xylose 和 GAS 水平均不同程度升高, 提示红芪和炙红芪均能不同程度促进脾气虚大鼠免疫功能恢复, 并增强脾气虚大鼠脾胃吸收和消化功能; 与红芪中剂量组相比, 炙红芪中剂量组大鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平均显著降低, D-xylose 和 GAS 水平显著升高, 提示炙红芪对脾气虚大鼠免疫和脾胃吸收消化功能的正向调节作用强于红芪。

由于甲醇既具有一定的亲脂性又具有较强的亲水性, 能够较大程度地提取红芪中的各种化学成分。并且, 目前红芪指纹图谱研究中样品提取方法大多采用甲醇回流提取, 所以本研究中采用甲醇作为样品提取溶剂^[20-21]。由红芪和炙红芪醇提液 HPLC 色谱图及统计分析可知, 红芪和炙红芪中存在差异成分。红芪蜜炙后部分苷类成分峰面积减少而相应苷元峰面积增加, 提示红芪蜜炙过程中部分苷类成分产生分解生成了游离的苷元。红芪蜜炙后生成了 2 个新的成分, 且部分色谱峰峰面积存在显著差异, 表明红芪蜜炙前后化学成分含量及种类存在差异, 红芪蜜炙后有可能产生了新的化学成分。

化学成分是药物产生药效作用的物质基础, 药效产生差异必然是药物所含化学成分种类或含量的

差异所引起。上述分析表明,炙红芪和红芪均可以明显干预和改善大鼠脾气虚证,且炙红芪的药效作用优于红芪,炙红芪与红芪中存在明显的差异成分,故这些差异成分有可能是导致炙红芪与红芪药效产生差异的活性物质,值得深入研究。

参考文献

- [1] 李俊岳,强正泽,李成义. 红芪的本草考证 [J]. 中国药房, 2015, 26(34): 4860-4862.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 赵昱波,陈俊,许浚,等. 红芪的化学成分及抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(22): 3434-3440.
- [4] 崔方,韩增护,刘小花,等. 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] 陈心悦,李继平,柳小亚,等. 红芪多糖对CCl₄致小鼠肝纤维化及骨丢失的防治作用 [J]. 中草药, 2016, 47(2): 290-296.
- [6] 龚千锋. 中药炮制学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012.
- [7] 肖满珊. 蜜炙黄芪化学成分分析及作用于脾气虚大鼠的药效学评价 [D]. 广州: 广东药学院, 2015.
- [8] 吕晓明,宋囡,王德山,等. 脾气虚证与肾气虚证大鼠小肠组织cAMP-PKA信号转导通路变化的比较研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2018, 41(7): 579-584.
- [9] 赵思达,王彩霞,于漫,等. 脾气虚证大鼠病理表现内在机制的实验探索 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(11): 2635-2638.
- [10] 牛江涛,曹瑞,司昕蕾,等. 不同蜜炙方法对红芪中毛蕊异黄酮和芒柄花素含量的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(9): 59-62.
- [11] 李成义,王燕,强正泽,等. 红芪与黄芪中两个异黄酮类成分含量的比较研究 [J]. 中国现代中药, 2014, 16(7): 534-537.
- [12] Zheng X F, Tian J S, Liu P, *et al.* Analysis of the restorative effect of Bu-zhong-yi-qi-tang in the spleen-qi deficiency rat model using ¹H-NMR-based metabonomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(2): 912-920.
- [13] 刘芬,刘艳菊,田春漫. 苍术麸炒前后对脾虚证模型大鼠免疫系统及胃肠激素影响的比较研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(6): 1371-1373.
- [14] 郭元彪,应海峰,郑岚,等. 健脾克癌宁联合四君子汤加减治疗脾气虚型胃癌术后患者疗效及对机体免疫功能的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(12): 1280-1282.
- [15] 蔡莹. 超微生晒参对脾虚小鼠小肠形态及其运动的影响 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2007.
- [16] 祝婧,钟凌云,龚千锋,等. 升麻不同炮制品对脾气虚动物胃肠功能的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(21): 1-4.
- [17] 黄玉贤. 血清法木糖吸收试验在脾虚证辨证中的价值及其可行性分析 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- [18] 施旭光,王闽予,翟理祥,等. 补中益气汤配伍对脾气虚大鼠胃泌素及其基因表达的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(6): 609-612.
- [19] 王欢,黄永坤,刘梅. 胃肠激素与胃肠道功能及疾病的关系 [J]. 医学综述, 2013, 19(15): 2735-2738.
- [20] 王燕. 甘肃地产药材红芪的质量评价研究 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2015.
- [21] 许京,叶迎,王瑞海,等. 甘肃一年生、二年生红芪和黄芪HPLC-ELSD指纹图谱比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 71-76.