

· 基础研究 ·

隔山消水溶性部位对阿托品抑制小鼠胃肠功能的影响\*

刘 亭<sup>1,2</sup>, 杨淑婷<sup>1,3</sup>, 黎 娜<sup>1,3</sup>, 潘 洁<sup>2,4</sup>, 陆 苑<sup>1,2</sup>, 李勇军<sup>2,4</sup>, 钟民宽<sup>1,3</sup>,  
孙 佳<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 贵州医科大学 贵州省药物制剂重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学 药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学 药学院, 贵州 贵阳 550004; 4. 贵州医科大学 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550004)

**[摘 要]** **目的:** 研究隔山消水溶性部位对阿托品所致小鼠胃肠运动及胃肠激素分泌抑制的影响。**方法:** 将实验小鼠随机分为空白组、模型组(硫酸阿托品)、阳性药组(多潘立酮组)、隔山消水溶性部位低、中、高剂量组, 多潘立酮组以 0.5 mg/10 g 灌胃给予多潘立酮混悬液, 隔山消低、中、高组灌胃分别给予 0.18、0.36 及 0.72 g/kg 隔山消水溶性部位提取物混悬液, 空白组和模型组均给予生理盐水, 连续给药 4 d, 每天 2 次; 末次给药 30 min 后, 除空白组外其余 5 组小鼠均腹腔注射硫酸阿托品建立胃肠功能障碍模型(0.5 mg/kg), 取血、取胃及小肠组织, 采用酚红测定各组胃排空率、小肠推进率, 同时检测血清中胃动素(MTL)、胃泌素(GAS)、血管活性肠肽(VIP)的含量。**结果:** 与模型组相比, 隔山消水溶性部位低、中、高剂量组胃排空率和小肠推进率均显著提高( $P < 0.01$ ), 其中中剂量组与多潘立酮组相当; 胃肠激素水平测定结果表明隔山消水溶性部位中、高剂量组显著提高了模型小鼠的 MTL、GAS 含量( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 降低了 VIP 含量( $P < 0.05$ )。**结论:** 隔山消水溶性部位提取物能促进小鼠胃排空和肠推进, 其机制可能与促进胃肠道 MTL 及 GAS 的释放和抑制 VIP 的释放有关。

**[关键词]** 隔山消; 水溶性部位; 胃排空; 肠推进; 胃动素; 胃泌素; 血管活性肠肽

**[中图分类号]** R29; R244 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)11-1252-04

**DOI:**10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.11.003

The Inhibitory Effects of Water-soluble Fraction of *Cynanchum Wilfordii* on Atropine-induced Gastrointestinal Dysfunction in Mice

LIU Ting<sup>1,2</sup>, YANG Shuting<sup>1,3</sup>, LI Na<sup>1,3</sup>, PAN Jie<sup>2,4</sup>, LU Yuan<sup>1,2</sup>, LI Yongjun<sup>2,4</sup>, ZHONG Minkuan<sup>1,3</sup>, SUN Jia<sup>1,2</sup>

(1. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceuticals, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 4. Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM (Ministry of Education), Guizhou Medical University, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of water-soluble fraction of *Cynanchum wilfordii* on atropine-induced gastrointestinal motility and gastrointestinal hormones in mice. **Methods:** The mice were randomly divided into the blank group, the model group, the domperidone group and three groups of water-soluble fraction of *Cynanchum wilfordii* with low dose, medium dose and high dose (0.18, 0.36 and 0.72 g/kg). In the inhibiting state caused by atropine, the content of phenol red was determined to measure the rate of gastric emptying and small intestinal propulsion and serum levels of the motilin (MTL), gastrin (GAS) and vasoactive intestinal peptide (VIP) were measured in mice. **Results:** Compared with the blank group, the rates of gastric emptying and small intestinal propulsion significantly increased in the low, medium and high dose groups ( $P < 0.01$ ), and the medium dose group

\*[基金项目] 国家自然科学基金项目(81760700/81760699), 黔科合平台人才[(2016)5613\5677]

\*\* 通信作者 E-mail: sunjia1202@126.com

网络出版时间: 2018-11-15 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20181115.2126.015.html>

was equivalent to the positive one. The MTL and GAS significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) and VIP decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in the medium and high dose groups. **Conclusions:** Water-soluble fraction of *Cynanchum wilfordii* can promote the gastric emptying and small intestinal propulsion, and its mechanism is likely to be related with the promotion of MTL and GAS levels and the release of VIP level in gastrointestinal tract.

[**Key words**] *Cynanchum wilfordii*; water-soluble fraction; gastric emptying; intestinal propulsion; motilin; gastrin; vasoactive intestinal peptide

隔山消为萝藦科白前属植物耳叶牛皮消 (*Cynanchum auriculatum* Royle. et. Wight) 的块状根, 又名飞来鹤、过山消等, 为云贵地区少数民族用药, 民间常用于治疗肠炎、红白痢疾、厌食、消化不良等消化系统疾病<sup>[1]</sup>。隔山消化学成分主要为苯乙酮类、甾体苷类、有机酸类、香豆素类、木脂素类等<sup>[2]</sup>, 现代药理研究证实其具有治疗消化不良、慢性萎缩性胃炎、肠易激综合症等功效<sup>[1,3]</sup>, 目前已收入国家药品标准的民族药品种中以隔山消为主药的制剂有“隔山消积颗粒”、“胃可安胶囊”、“消痞和胃胶囊”、“复方隔山消颗粒”等。其中, 复方隔山消颗粒可以通过抑制白细胞介素  $1\beta$  (IL- $1\beta$ )、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等细胞因子的活性, 发挥治疗慢性萎缩性胃炎的作用<sup>[4]</sup>。关于隔山消药理活性的研究发现, 21 甾体皂苷类成分可能具有抗抑郁、抗肿瘤的作用外<sup>[5]</sup>, 但其他药理活性的物质基础尚不明确, 且目前关于隔山消水溶性活性成分的研究较少。因此, 基于中药传统的用药方式, 选择对隔山消水溶性部位进行研究, 探讨其对阿托品所致胃肠功能障碍模型小鼠胃肠动力、胃肠激素等影响, 为进一步阐明隔山消药效物质基础提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** SPF 级昆明种小鼠, 体质量 18 ~ 22 g, 雌雄各半, 由贵州医科大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(黔)2012-0001。

**1.1.2 药品与试剂** 隔山消 *Cynanchum wilfordii*. (产地为贵州凯里) 经龙庆德副教授(贵州医科大学药学院生药学教研室) 鉴定为萝藦科植物耳叶牛皮消的干燥块根, 硫酸阿托品(云南植物药业有限公司), 多潘立酮片(西安杨森制药有限公司), 苯酚红(上海馨晟试工化科技有限公司), 血清胃动素(MTL)试剂盒、胃泌素(GAS)试剂盒、血管活性肠肽(VIP)试剂盒均购自南京建成生物工程研

究所。

**1.1.3 仪器** Model 680 酶标仪(美国 Bio Rad 公司), AE240 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), TG20 医用离心机(湖北平凡科技有限公司), Allegra X30 离心机(美国贝克曼库尔特有限公司), UV-2401PC 紫外可见分光光度计(日本岛津仪器公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 药物的制备** 取隔山消干燥药材 1 000 g, 采用 70% 乙醇回流提取 3 次, 滤液减压回收乙醇至无醇味, 残留物加水至 1 g 生药/mL, 离心, 取上清液过 D101 大孔树脂柱, 依次用水、60% 乙醇、85% 乙醇为洗脱剂, 收集 60% 乙醇洗脱液, 减压回收溶剂至稠膏。

**1.2.2 分组及给药方案** 参考文献[6], 取 SPF 级昆明种小鼠, 随机分为 6 组, 分别为空白组、模型组(硫酸阿托品)、阳性药组(多潘立酮组)、隔山消水溶性部位低、中、高剂量组, 每组 10 只, 各组小鼠均在相同条件下适应性饲养 3 d 后, 多潘立酮组以 0.5 mg/10 g 灌胃给予多潘立酮混悬液, 隔山消低、中、高组灌胃分别给予 0.18、0.36、0.72 g/kg 隔山消水溶性部位提取物混悬液, 空白组和模型组均以 20 mL/kg 灌胃给予 0.9% 生理盐水。以上各实验组均连续给药 4 d, 每天 2 次, 第 3 次给药后 24 h 开始禁食不禁水; 末次给药 30 min 后, 除空白组外均腹腔注射硫酸阿托品(0.5 mg/kg) 建立胃肠功能障碍模型。30 min 后均分别按要求灌胃给予 0.04% 酚红 0.25 mL/只。30 min 后, 取血, 腹腔取出胃及小肠(幽门前端至回盲部的部分)。

**1.2.3 小肠推进率检测** 取出小肠后, 将小肠置于含有少量生理盐水的培养皿上用镊子分离肠系膜, 后将其铺展在被少量生理盐水润湿的玻璃板上, 用直尺测量小肠总长度及从幽门前端到酚红前沿的距离(即酚红推进距离), 计算小肠推进率<sup>[7]</sup>。

**1.2.4 胃排空率检测** 将胃取出后, 用手术剪沿胃大弯轻轻的将胃剪开, 置于 30 mL NaOH(0.5%) 溶

液中,充分清洗胃内容物,清洗干净后取清洗液 5 mL 于 1.5 mL 离心管中,离心(3 000 r/min,10 min),取上层澄清液体,用紫外分光光度计在波长为 560 nm 处比色,测定其吸光度值,为胃小鼠胃酚红 A。另取空白组小鼠,灌胃给予等体积酚红后立即处死,同法处理,测定其吸光度值,为酚红 A 基值。通过胃排空率 = (1 - 小鼠胃酚红 A/酚红 A 基值) × 100%,计算胃排空率<sup>[7-8]</sup>。

**1.2.5 胃肠激素水平检测** 各组小鼠给药后,用 1.5 ml 离心管收集血液,将血液在室温下静置 30 min后 3 000 r/min 离心 5 min,取上层澄清液体,将其储存于 -20 ℃ 冰箱中待用,临用前将其取出并按照试剂盒所附说明书的要求测定血清 MTL、GAS 及 VIP 水平<sup>[9]</sup>。

1.3 统计学处理

数据采用 SPSS 18 统计软件进行分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,单因素方差分析法比较组间差异,两组间比较用 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小肠推进率

与空白组比较,模型组小肠推进率明显降低(*P* < 0.01),表明造模成功。与模型组比较,隔山消低、中、高剂量组小肠推进率明显升高(*P* < 0.01),表明隔山消水溶性部位能够明显促进阿托品致胃肠功能抑制状态下的小鼠小肠推进,且中剂量组与多潘立酮组作用相当,见表 1。

表 1 各组小鼠小肠推进率( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Tab. 1 The effect of water-soluble fraction of *Cynanchum wilfordii* on small intestinal propulsion

组别	小肠全长(cm)	推进长度(cm)	推进率(%)
空白组	43.10 ± 4.97	28.80 ± 3.62	67.49 ± 10.78
模型组	45.70 ± 5.68	16.10 ± 3.70	35.03 ± 6.06 <sup>(1)</sup>
多潘立酮组	40.70 ± 3.58	24.90 ± 3.81	61.12 ± 11.28 <sup>(2)</sup>
隔山消低剂量组	43.30 ± 4.36	25.30 ± 3.72	58.82 ± 9.96 <sup>(2)</sup>
隔山消中剂量组	39.90 ± 5.72	27.00 ± 4.52	67.67 ± 6.44 <sup>(2)</sup>
隔山消高剂量组	40.30 ± 5.80	23.30 ± 4.76	58.39 ± 12.11 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>与空白组比较,*P* < 0.01;<sup>(2)</sup>与模型组比较,*P* < 0.01

2.2 胃排空率

与模型对照组比较,隔山消低、中、高剂量组胃排空率明显升高,差异均有统计学意义(*P* < 0.01),表明隔山消水溶性部位能够明显加快阿托

品致胃肠功能抑制状态下的小鼠胃排空,且中剂量组与多潘立酮组作用相当,见表 2。

表 2 各组小鼠胃排空率( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Tab. 2 The effect of water-soluble fraction of *Cynanchum wilfordii* on gastric emptying

组别	胃排空率(%)
空白组	81.48 ± 4.31
模型组	36.37 ± 5.34 <sup>(1)</sup>
多潘立酮组	71.69 ± 8.51 <sup>(2)</sup>
隔山消低剂量组	61.72 ± 4.81 <sup>(2)(2)</sup>
隔山消中剂量组	73.61 ± 2.31 <sup>(2)</sup>
隔山消高剂量组	59.70 ± 8.56 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>与空白组比较,*P* < 0.01;<sup>(2)</sup>与模型组比较,*P* < 0.01

2.3 胃肠激素水平

与模型组比较,隔山消中、高剂量组能明显提高小鼠血清中的 MTL、GAS 含量,并降低 VIP 含量(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),隔山消低剂量组也能提高小鼠血清中的 MTL 含量(*P* < 0.01)。隔山消中剂量组 MTL 含量高于多潘立酮组,差异有统计学意义(*P* < 0.01),见表 3。

表 3 隔山消水溶性部位对小鼠胃肠激素的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Tab. 3 The effect of water-soluble fraction of *Cynanchum wilfordii* on Gastrointestinal hormones

组别	MTL(ng/L)	GAS(ng/L)	VIP(ng/L)
空白组	130.46 ± 25.08	20.25 ± 3.18	113.35 ± 21.04
模型组	83.62 ± 4.90 <sup>(1)</sup>	14.99 ± 0.86 <sup>(2)</sup>	154.93 ± 22.14 <sup>(1)</sup>
多潘立酮组	114.05 ± 29.69	22.30 ± 2.58 <sup>(3)</sup>	92.33 ± 20.15 <sup>(3)</sup>
隔山消低剂量组	132.97 ± 29.70 <sup>(3)</sup>	16.29 ± 2.91	131.80 ± 32.14
隔山消中剂量组	201.42 ± 37.15 <sup>(3)(5)</sup>	22.97 ± 2.73 <sup>(4)</sup>	115.88 ± 26.92 <sup>(4)</sup>
隔山消高剂量组	179.81 ± 38.97 <sup>(3)</sup>	24.34 ± 3.82 <sup>(3)</sup>	111.48 ± 29.01 <sup>(4)</sup>

与空白组比较,<sup>(1)</sup>*P* < 0.05,<sup>(2)</sup>*P* < 0.01;与模型组比较,<sup>(3)</sup>*P* < 0.01,<sup>(4)</sup>*P* < 0.05,与多潘立酮组比较,<sup>(5)</sup>*P* < 0.01

3 讨论

胃肠道疾病是一种常见病、多发病,随着近年胃肠病学研究进展,人们逐渐意识到的胃肠功能性疾病与许多因素如内脏敏感性的改变、炎症功能的改变以及中枢神经系统和肠神经系统调节功能的变化相关<sup>[10]</sup>。通过对消化不良发病机制的深入研究,发现中枢神经系统、肠神经系统分泌的脑肠肽在该类疾病中起着非常重要的作用。脑肠肽是一种肽类物质,包括 MTL、GAS、VIP、P 物质、5 羟色胺等,广泛分布于胃肠道中<sup>[11-12]</sup>。MTL 主要分布

在十二指肠和上端空肠,促进胃肠运动及加速胃排空,参与调控摄食与情绪<sup>[13]</sup>,故 MTL 水平升高,肠道蠕动加快,肠内容物通过加快。GAS 主要由胃窦和十二指肠黏膜的 G 细胞分泌,是目前发现的唯一在肠神经系统、中枢神经系统以及外周神经系  
统上均表现为对胃运动有兴奋作用的胃肠激素。GAS 分泌增加能增强迷走神经对胃肠平滑肌的兴奋作用<sup>[13]</sup>。在胃肠道中,VIP 分布于胃肠黏膜,对胃肠道平滑肌和括约肌具有较强的抑制作用,可抑制胃蠕动和胆囊收缩<sup>[14]</sup>。VIP 分泌增加会抑制胃肠道运动<sup>[15]</sup>。

中药的传统使用方法主要为水煎煮法<sup>[16]</sup>,但由于隔山消干燥后呈粉性,用水煎煮增加了实验操作难度,因此课题组前期就提取富集方法进行了探讨,分别用 70% 乙醇提取和水煎煮得到的提取液在 220 nm 下进行 HPLC 指纹图谱扫描,结果显示 70% 乙醇能将其水溶性部位提取完全,因此选择 70% 乙醇作为提取溶剂。进一步将上清液经 D101 大孔树脂分离水、60% 乙醇和 85% 乙醇 3 个洗脱部位,3 个部位在 220 nm 下的色谱图显示,隔山消水溶性部位化学成分主要集中在 60% 乙醇洗脱部位中。

本研究结果显示,通过腹腔注射硫酸阿托品致胃肠功能抑制模型,小鼠出现典型的胃排空、肠推进功能障碍,同时血液中促进胃肠运动的激素 MTL、GAS 降低,抑制胃肠运动的激素 VIP 升高。而隔山消水溶性部位低、中、高剂量组均能改善胃肠功能抑制的状态,通过胃排空、肠推进实验数据显示,中剂量组药效最好,通过胃肠激素水平测定显示,中高剂量组药效较好。由于有多种胃肠激素,各种激素的作用不是孤立的,各种胃肠激素通过互相调节共同作用于胃肠道<sup>[17]</sup>。本研究初步阐明隔山消水溶性部位对 MTL、GAS、VIP 激素具有调节作用。

综上所述,隔山消水溶性部位提取物能促进小鼠胃排空和肠推进,其机制可能与促进胃肠道 MTL 及 GAS 的释放和抑制 VIP 的释放有关。实验为阐明隔山消抗消化不良的药效物质基础提供了依据。

#### 4 参考文献

[1] 李艳,黎开燕. 隔山消的药理作用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(2):213-214.  
[2] 邓余,何江波,管开云,等. 牛皮消化学成分研究

[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(9):729-732.  
[3] 赵义雄,唐春娥,田振华. 苗药隔山消治疗胃肠疾病的研究进展—附隔山消积颗粒的开发与应用[J]. 中国民族医药杂志, 2012, 7(7):70-71.  
[4] 罗兴菊,李文胜,陈骏,等. 复方隔山消颗粒对慢性萎缩性胃炎模型大鼠白细胞介素-1 $\beta$  和肿瘤坏死因子- $\alpha$  的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, (11): 1156-1157,1252.  
[5] GU X J, HAO D C. Recent advances in phytochemistry and pharmacology of C21 steroid constituents from Cynanchum plants[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2016, 14(5):321-334.  
[6] 耿玲,李洪文,陈俊雅,等. 隔山消对小鼠小肠推进作用的研究[J]. 大理学院学报, 2015, (4):5-7.  
[7] 杨少军,王晓敏,刘建鸿. 胃安胶囊对功能性消化不良大鼠胃排空及胃动素,胃泌素的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9):2156-2157.  
[8] 张猛,郭建生,王小娟,等. 云木香不同提取物对小鼠胃排空和小肠推进功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 2(18):136-139.  
[9] 赵丽,刘世雄,王嘉图,等. 增龄对胃排空的影响及与血浆胃泌素和胃动素的关系[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(15):3800-3801.  
[10] TOMOVA A, PIVOVARCIOVA A, BAOINSKA K, et al. Intestinal microbiota and the brain: multilevel interactions in health and disease[J]. Cesk Fysiol, 2015, 64(1):23-34.  
[11] FANG J, WANG D, ZHAO Q, et al. Brain-gut axis modulation of acupuncture in functional dyspepsia: A preliminary resting-state fMRI study[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 11(8):23-26.  
[12] 毛兰芳,汪龙德,张宏伟,等. 功能性消化不良与脑肠肽的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(4):570-576.  
[13] 刘末艾,刘密,何亚敏,等. 功能性胃肠病脑肠肽的研究进展[J]. 中国中医急症, 2012, 21(6):951-953.  
[14] 甄建华,李晓菲,于河,等. 食积因素对昆明小鼠血清 IgA 及肺脏与结肠组织 SIgA、SP、VIP 含量的影响[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(9):3862-3865.  
[15] 范亚楠,黄玉秋,贾天柱,等. 肉苁蓉炮制前后对便秘大鼠的通便作用[J]. 中成药, 2016, 38(12):2684-2687.  
[16] 王亮,窦立雯,郭威,等. 基于中药传统用法的毒性 Q-Marker 发现:以吴茱萸为例[J]. 中草药, 2017, 48(6):1159-1166.  
[17] 段永强,成映霞,梁玉杰,等. 益气健脾中药对脾虚大鼠骨骼肌组织中 Ca<sup>2+</sup>/CaMK II 通路关键分子的干预作用[J]. 中药材, 2015, 38(3):562-566.  
(2018-08-25 收稿,2018-10-29 修回)  
中文编辑:周 凌;英文编辑:丁廷森