

小儿健脾膏整方及其单味药对大鼠离体胃、回肠平滑肌作用的比较研究

谢海燕^{1,2}, 陈婉姬³, 杨明华^{4*} (1.浙江中医药大学, 杭州 310053; 2.衢州市第三医院, 浙江 衢州 324000; 3.浙江省立同德医院儿科, 杭州 310012; 4.浙江省中药研究所, 杭州 310023)

摘要: 目的 观察比较小儿健脾膏整方及其单味药对大鼠离体胃、回肠平滑肌的作用, 辨识该方中具有促胃肠动力的味药, 为探讨其药效物质奠定基础。方法 用生物信号采集系统记录小儿健脾膏整方及其单味药对正常大鼠胃、回肠平滑肌收缩张力的变化, 并比较其作用大小。结果 整方及其单味药对胃肌收缩的促进作用: 整方>丁香>山楂>肉桂, 白胡椒作用不显著; 对回肠平滑肌的促进作用: 丁香>整方>山楂, 肉桂、白胡椒作用不显著; 吴茱萸对胃、回肠收缩呈双向调节, 小剂量促进, 大剂量抑制。结论 小儿健脾膏整方对离体胃、回肠平滑肌收缩有促进作用; 单味药中有明显促进作用的是丁香和山楂, 吴茱萸呈双向调节作用; 丁香和山楂是该方中促胃肠动力作用的主要味药。

关键词: 小儿健脾膏; 离体胃、回肠平滑肌; 收缩张力

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)05-0670-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.05.011

引用本文: 谢海燕, 陈婉姬, 杨明华. 小儿健脾膏整方及其单味药对大鼠离体胃、回肠平滑肌作用的比较研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(5): 670-673.

Comparative Study on the Effect of Xiaoe Jianpi Plaster Recipe and Its Ingredients on the Gastric and Ileum Smooth Muscle of Rats *in Vitro*

XIE Haiyan^{1,2}, CHEN Wanji³, YANG Minghua^{4*} (1.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.The Third Hospital of Quzhou, Quzhou 324000, China; 3.Department of Pediatrics, Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China; 4.Zhejiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine Co, Ltd, Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate and compare the effect of Xiaoe Jianpi plaster recipe and its ingredients on the gastric and ileum smooth muscle of rats *in vitro*, and identify the herbs that promote gastrointestinal motility in this prescription, so as to lay a foundation for the study of its effective substances. **METHODS** The biological signal acquisition system was used to record the changes of the tension of the normal gastric and ileum smooth muscle of the rats, and the effects were compared. **RESULTS** The promoting effects of the whole recipe and its ingredients on the gastric muscle contraction: the whole recipe > clove > hawthorn > cinnamon, and the effect white pepper was not obvious. The promoting effects on the contraction of ileum smooth muscle: clove > the whole recipe > hawthorn, the effects of cinnamon and white pepper were not obvious. Evodia had a bidirectional regulation of the gastric and ileum smooth muscle contraction, it could promote in the small dose, while the dose increased, it had an inhibitory effect. **CONCLUSION** The Xiaoe Jianpi plaster recipe can promote gastric and ileum smooth muscle contraction; in the single ingredient, there are notable effects of clove and hawthorn, evodia has a bidirectional regulation; clove and hawthorn are the main ingredients that promote the gastrointestinal motility in this prescription.

KEY WORDS: Xiaoe Jianpi plaster; gastric and ileum smooth muscle *in vitro*; contraction tension

消化系统疾病是儿科常见病、多发病, 中医药对此具有明显优势。小儿健脾膏是浙江省立同德医院陈婉姬主任的专利方(专利号: 201310164308.5), 主要由丁香、吴茱萸、山楂、肉桂、白胡椒组成, 是以穴位贴敷治疗小儿消化不良的中药制剂。前期研究表明, 临床上该药对改善小儿厌食, 促进消化具有良好的疗效^[1]; 该药能明显增强大鼠胃肌和豚鼠回肠的收缩^[2]; 该药还能

明显增加功能性消化不良大鼠摄食量, 增强胃肌收缩节律与强度^[3]。为辨识该药促胃肠动力的药效物质, 本研究通过生物信号采集系统观察整方及其单味药对正常大鼠胃、回肠平滑肌收缩的影响。

1 材料

1.1 动物

清洁级 SD 大鼠 30 只, ♀♂各半, 体质量为 (200±20)g, 合格证号为 SCXK(浙)2014-0001, 由

基金项目: 浙江省科技计划项目(2017C33156)

作者简介: 谢海燕, 女, 硕士生, 主管药师 Tel: 15869098260
授 Tel: 13857181369 E-mail: ymh702@126.com

E-mail: 1071201402@qq.com *通信作者: 杨明华, 男, 博士, 教

浙江省医学科学院实验动物中心提供。

1.2 药物与试剂

小儿健脾膏处方药材主要有丁香(广西, 批号: 1611087)、吴茱萸(浙江, 批号: 1704212)、山楂(辽宁, 批号: 1702066)、肉桂(广西, 批号: 1611168)、白胡椒(广西, 批号: 1612186), 由杭州方回春堂提供, 经浙江省中药研究所徐建中高级工程师鉴定。

台氏液(每1 L 台氏液含 NaCl 8.0 g、KCl 0.2 g、MgSO₄·7H₂O 0.26 g、NaH₂PO₄ 0.065 g、NaHCO₃ 1.0 g、CaCl₂ 0.2 g、C₆H₁₂O₆ 1.0 g), 以去离子水配制。NaCl(批号: 20161222)、KCl(批号: 20161013)、MgSO₄·7H₂O(批号: 20161102)、NaH₂PO₄(批号: 20161116)、NaHCO₃(批号: 20170117)、CaCl₂(批号: 20161018)、C₆H₁₂O₆(批号: 20170427)均购自上海国药试剂, 均为分析纯。

1.3 仪器

MD3000 生物信号采集处理系统(安徽正华生物仪器设备有限公司); HU-1 肌张力传感(换能)器(安徽正华生物仪器设备有限公司); YJ501S 型超级恒温水槽(上海跃进医疗器械厂)。

2 方法

2.1 整方及其单味药水煎液的制备

将整方及其单味药各 100 g 用蒸馏水分别浸泡 1 h 后, 先用猛火煎至沸腾, 2~5 min 后收至小火, 煎煮 30 min 过滤, 第 2 次煎煮 20 min, 合并滤液, 浓缩成 1.0 g·mL⁻¹ 的水煎剂, 置冰箱保存备用。

2.2 药物对离体大鼠胃、回肠平滑肌的影响

参考文献[4]方法, 实验前大鼠禁食 24 h, 饮水不限。实验时重击其头部致死, 立即剖开腹腔, 取出胃迅速放入预冷充满氧的台氏液中, 沿胃小弯剪开胃腔, 洗净, 去除黏膜。在胃底沿垂直于胃长轴方向剪取得到胃底肌条。采用相同方法, 在距回盲部 1 cm 处剪断, 取回肠 10 cm 置入预冷充满氧的台式液中, 分离肠系膜, 用台式液将肠内容物冲净, 制备 1~2 cm 的肠段。分别将胃肌条、回肠平滑肌条下端固定于不同的浴槽下部通气侧弯钩上, 上端与换能器相连, 放入(37±0.5)℃台式液浴槽中, 并通以 95% O₂ 和 5% CO₂(浴槽灌液为 20 mL, 通气调节速度为每秒 1~2 个气泡), 施加 1 g 前负荷进行定标后, 将描记线调节至 1 g 左右, 胃肌条温浴并稳定约 50 min, 回肠平滑肌条稳定

20 min, 记录张力曲线, 给予不同剂量的中药水煎液, 药物作用 5 min 后, 以台式液冲洗 2~3 次, 待张力稳定回到基础张力, 开始加下一药物。记录加药前曲线平均张力值为对照值, 记录加药后的曲线平均张力值为效应值, 收缩平均幅度和张力变化以变化百分数来表示, 变化百分数=(效应值-对照值)/对照值×100%。

2.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行处理, 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, “对照值”与“效应值”之间的比较采用双尾的 *t* 检验, 各给药组的“变化百分数”均数间的比较采用单因素方差(one-way ANOVA)分析, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 药物对胃肌的作用

整方、小剂量吴茱萸、丁香、山楂、肉桂能显著增加离体胃肌的自发运动, 白胡椒作用不明显, 结果见表 1 和图 1。吴茱萸浓度<4.5×10⁻³ g·mL⁻¹ 促进胃肌收缩, 张力增加; 吴茱萸浓度>5.5×10⁻³ g·mL⁻¹ 则抑制, 呈双向调节作用, 结果见图 2。由 Graphpad Prism5 作图(图 3)得出整方、小剂量吴茱萸、丁香、山楂、肉桂、白胡椒的 EC₅₀ 分别为 3.00~9.09×10⁻⁴ g·mL⁻¹、3.33~6.27×10⁻⁵ g·mL⁻¹、4.63~9.92×10⁻⁴ g·mL⁻¹、7.45~30.53×10⁻³ g·mL⁻¹、8.26~46.65×10⁻³ g·mL⁻¹、1.44~6.69×10⁻² g·mL⁻¹。各给药组均数间由单因素方差分析(两两分析采用 *t* 检验)及给药前后采用 *t* 检验可得出, 作用由强到弱依次为小剂量吴茱萸>整方>丁香>山楂>肉桂>白胡椒。

表 1 小儿健脾膏整方及其单味药对离体胃肌张力的影响(*n*=8)

Tab. 1 Influence of Xiaoer Jianpi plaster recipe and its ingredients on the tension of gastric muscle *in vitro* (*n*=8)

组别	浴槽终浓度/ g·mL ⁻¹	对照值/g	效应值/g	变化百分数/ %
空白组	80 μL 去离子水	0.973±0.054	0.997±0.066	2.43±4.39
整方组	4×10 ⁻³	0.988±0.029	1.700±0.129 ¹⁾	72.21±14.15 ²⁾
丁香组	4×10 ⁻³	0.939±0.100	1.433±0.128 ¹⁾	54.32±11.30 ²⁾
山楂组	4×10 ⁻³	1.067±0.069	1.500±0.254 ¹⁾	41.81±9.36 ²⁾
肉桂组	4×10 ⁻³	0.978±0.061	1.218±0.240 ¹⁾	23.90±18.82 ²⁾
吴茱萸组	2×10 ⁻⁴	1.002±0.059	1.870±0.074 ¹⁾	87.03±9.59 ²⁾
白胡椒组	4×10 ⁻³	0.989±0.076	1.084±0.126	9.67±10.91

注: 与对照值比较, ¹⁾*P*<0.05; 与空白组比较, ²⁾*P*<0.05。

Note: Compared with the control value, ¹⁾*P*<0.05; compared with the blank group, ²⁾*P*<0.05.

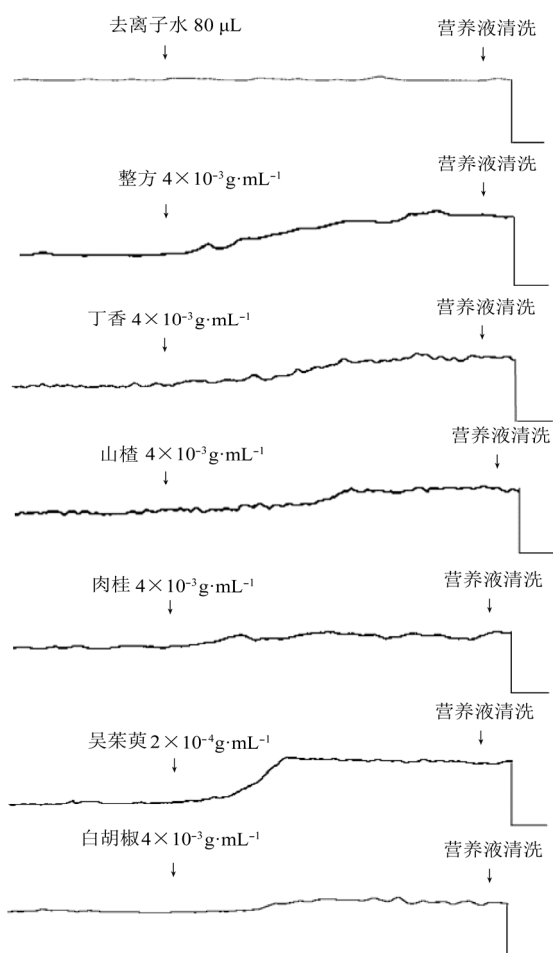


图 1 小儿健脾膏整方及其单味药对大鼠胃肌的自主收缩活动的影响

Fig. 1 The effects of Xiaoer Jianpi plaster recipe and its ingredients on the contraction of gastric muscle of rats

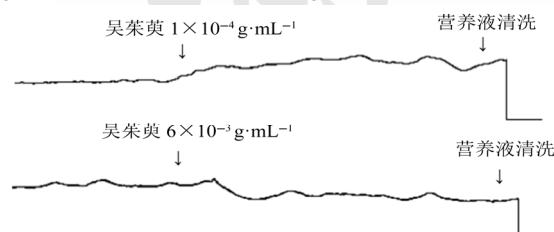


图 2 吴茱萸在低剂量和高剂量下对胃肌自主收缩的作用

Fig. 2 Effects of evodia on spontaneous contraction of gastric muscle in a low dose and a high dose

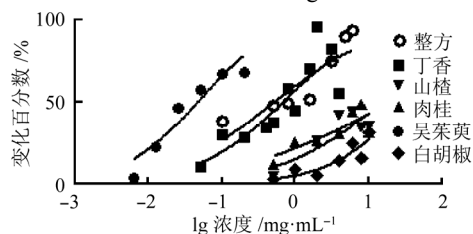


图 3 整方及其单味药的浓度与变化的百分数的非线性拟合图($n=8$)

Fig. 3 Nonlinear fitting of the dose and percentage of change for the whole recipe and its ingredients($n=8$)

3.2 药物对回肠平滑肌的作用

整方、丁香、山楂能显著兴奋回肠平滑肌, 增加张力, 其作用为丁香>整方>山楂; 肉桂、白胡椒增加回肠平滑肌的张力作用不显著, 吴茱萸则抑制回肠平滑肌收缩, 结果见表 2 和图 4。其中吴茱萸浓度 $<5 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 促进回肠平滑肌收缩, 浓度 $>1 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 则抑制, 呈双向调节作用, 结果见图 5。

表 2 小儿健脾膏整方及其单味药对离体回肠平滑肌张力的影响($n=8$)

Tab. 2 Influence of Xiaoer Jianpi plaster recipe and its ingredients on the tension of ileum smooth muscle *in vitro*($n=8$)

组别	浴槽终浓度/ $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	对照值/ g	效应值/ g	变化百分数/ $\%$
空白组	80 μL 去离子水	1.002 ± 0.058	1.018 ± 0.054	1.74 ± 3.77
整方组	4×10^{-3}	1.015 ± 0.116	$1.280 \pm 0.202^{1)}$	$25.71 \pm 8.48^{2)}$
丁香组	4×10^{-3}	1.091 ± 0.145	$1.681 \pm 0.353^{1)}$	$53.37 \pm 20.88^{2)}$
山楂组	4×10^{-3}	0.960 ± 0.054	$1.115 \pm 0.040^{1)}$	$16.37 \pm 5.23^{2)}$
肉桂组	4×10^{-3}	1.034 ± 0.074	1.116 ± 0.120	7.91 ± 8.46
吴茱萸组	4×10^{-3}	0.993 ± 0.097	$0.631 \pm 0.226^{1)}$	$-37.74 \pm 16.87^{2)}$
白胡椒组	4×10^{-3}	0.979 ± 0.067	1.005 ± 0.148	2.59 ± 12.52

注: 与对照值比较, $^{1)}P<0.05$; 与空白组比较, $^{2)}P<0.05$ 。

Note: Compared with the control value, $^{1)}P<0.05$; compared with the blank group, $^{2)}P<0.05$.

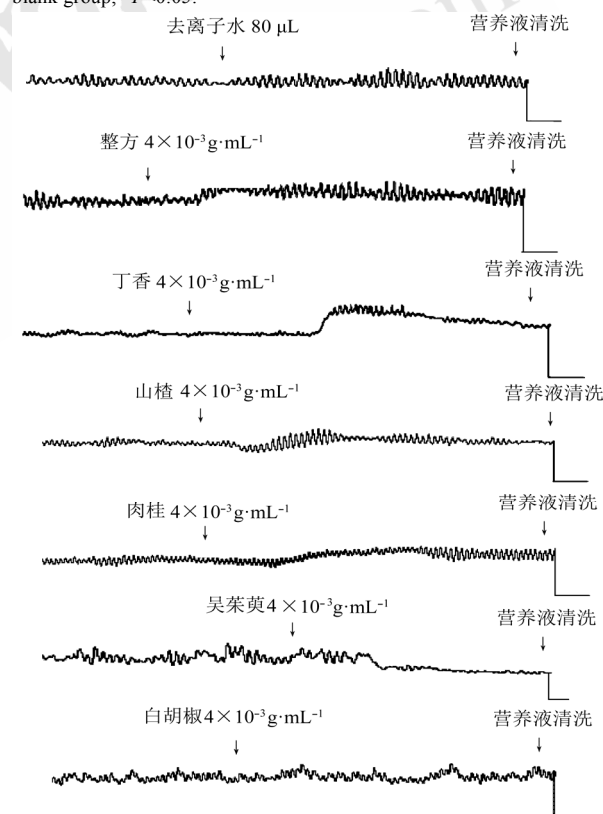


图 4 小儿健脾膏整方及其单味药对大鼠回肠平滑肌的自主收缩活动的影响

Fig. 4 The effects of Xiaoer Jianpi plaster recipe and its ingredients on the contraction of ileum smooth muscle of rats

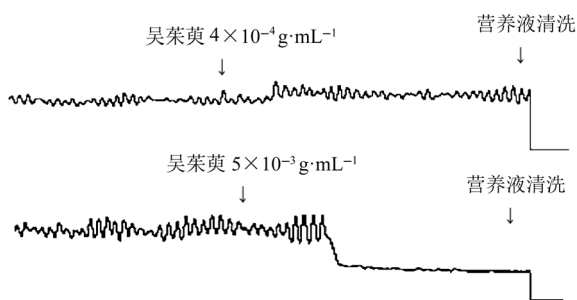


图 5 吴茱萸在小剂量和高剂量下对回肠平滑肌自主收缩的作用

Fig. 5 Effects of evodia on spontaneous contraction of ileum smooth muscle in a low dose and a high dose

4 讨论

研究表明^[5], 功能性消化不良患儿存在胃肠动力障碍。西药主要有多巴胺 D₂ 受体拮抗药(多潘立酮、伊托必利)和选择性 5-HT₄ 受体激动药(莫沙必利), 通过促进乙酰胆碱的释放, 刺激胃肠道发挥促动力作用, 但目前尚未得到满意的疗效, 长期服用会产生一定不良反应, 而中医药经长期临床实践证实对功能性消化不良治疗有一定的优势^[6]。

小儿健脾膏为纯中药制剂, 主要由丁香、吴茱萸、山楂、肉桂、白胡椒组成, 丁香温中降逆, 吴茱萸降逆止呕, 山楂消食化积, 肉桂健胃驱风, 白胡椒散寒健胃。本实验主要观察小儿健脾膏整方及其单味药对正常大鼠胃、回肠平滑肌的作用, 结果表明: ①整方、小剂量吴茱萸、丁香、山楂、肉桂均能显著增强胃肌收缩; ②整方、丁香、山楂能促进回肠平滑肌的收缩, 作用显著; ③整方的作用在一定程度上相当于拆方作用的总和, 各单味药对整方促胃、回肠平滑肌收缩具有不同的贡献度, 丁香和山楂是主要的药效物质。本实验中吴茱萸在小剂量时兴奋胃、回肠平滑肌, 剂量

加大则抑制, 呈双向调节作用, 与文献^[7]表述一致; 山楂增加胃、回肠平滑肌张力, 也与文献^[8]表述一致; 但丁香兴奋胃、回肠平滑肌收缩, 增加张力, 与文献^[9]报道不一致, 原因可能是提取方法不同所得成分和含量不同所致, 需要进一步探究。

本实验仅在离体条件下对正常大鼠促胃肠动力作用进行了比较, 为深入阐明其药效物质, 下一步将通过其他动物及其模型进行研究。

REFERENCES

- [1] CHEN W J, YANG M H, YING J Z. Therapeutic evaluation on Xiao'er Jianpi plaster to treat infantile anorexia [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(6): 888-890.
- [2] LI X D, CHEN W J, YANG M H, et al. Effects of Xiao'er Jianpi cream on promoting gastrointestinal motility [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(10): 1050-1054.
- [3] CHEN W J, YANG M H, LI X D, et al. Effects of Xiao'er Jianpi cream on gastric myoelectric activities, gastric acid secretion and brain-gut peptide in functional dyspepsia rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(9): 1041-1045.
- [4] WEI W, WU X M, LI Y J, et al. The Pharmacological Experimental Methods(药理学实验方法学) [M]. Vol 4. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010: 1093-1094.
- [5] DENG A F, XIAO M T, ZHONG T T. Research on the correlation between gastric motility and electrogastrogram in children with functional dyspepsia [J]. Chin Mater Child Health Care(中国妇幼保健), 2016, 31(24): 5372-5374.
- [6] GAO N Y. Systematic evaluation of traditional Chinese medicine in the treatment of functional dyspepsia [D]. Guangzhou University of Chinese Medicine, 2016.
- [7] 张明发, 范荣培, 郭惠玲, 等. 温里药抑制离体肠管活动的机理探讨[J]. 中成药研究, 1985, 1(5): 25-28
- [8] 张三印, 周艳霞, 孙改侠, 等. 山楂不同炮制品对胃肠平滑肌收缩的影响研究[J]. 中药材, 2009, 32(10): 1519-1522.
- [9] 吴承艳, 李振彬, 石建喜. 木香、丁香和威灵仙镇痛及胃肠动力作用的实验研究[J]. 江苏中医药, 2005, 1(12): 61-63.

收稿日期: 2017-08-30

(本文责编: 蔡珊珊)