

## 重楼水提物对大鼠胃肠运动功能的影响及作用机制

黄彦峰, 黄丽娟, 黄永毅, 阳秀英, 黄俊杰, 黎昀

(右江民族医学院机能实验教学中心, 广西 百色 533000)

**摘要:**目的 观察重楼水提液对正常大鼠胃肠运动功能的影响及作用机制。方法 采用碳末推进试验法, 测定大鼠胃肠运动功能。将40只SD大鼠分为正常对照组(等体积双蒸水)、阳性组(吗丁啉0.003 g/kg)、重楼水提液低剂量组(2.0 g/kg)和重楼水提液高剂量组(4.0 g/kg), 每组10只。药物组连续灌胃给药14 d, 末次给药30 min后, 予各组大鼠5%碳末悬液0.25 ml/100 g灌胃, 然后测定大鼠小肠推进率、胃内容物残留率及血清胃动素(MTL)、胃泌素(GAS)、一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)的含量; 制备10%肝脏组织匀浆, 检测肝脏组织葡萄糖、丙酮酸含量和琥珀酸脱氢酶活性。结果 重楼水提液高、低剂量组可明显增加大鼠的胃内残留率, 抑制大鼠胃排空, 对小肠推进率没有明显影响; 不同程度降低血清胃动素、胃泌素含量及肝组织中丙酮酸、葡萄糖含量和琥珀酸脱氢酶活性。结论 重楼水提液对正常大鼠胃肠功能的影响与胃肠激素和糖代谢有关。

**关键词:** 重楼水提液; 胃肠运动; 药理作用分子作用机制

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2018)05-0423-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.05.005

## The effects of Paris polyphylla water extract on gastrointestinal motility in normal rats and the functional mechanism

Huang Yanfeng, Huang Lijuan, Huang Yongyi, Yang Xiuying, Huang Junjie, Li Yun

(The Functional Experiment Teaching Center of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To observe the effect of water extract of Paris polyphylla var. yunnanensis on gastrointestinal motility in healthy rats and the functional mechanism. **Methods** The carbon propelling test was used to detect the rat gastrointestinal motility in this experiment. Forty SD rats were divided into a normal control group (equal volume of double-distilled water), positive group (domperidone, 0.003 g/kg), low-dose Paris polyphylla water extract group (2.0 g/kg) and high-dose Paris polyphylla water extract group (4.0 g/kg), and each group consisted of 10 rats. The drug groups received continuous intragastric administration of corresponding drug for 14 days. Thirty minutes after the last drug administration, all the rats were given intragastric administration of 0.25 ml/100 g carbon powder. Then we measured the small intestinal propulsion and gastric content residual rate, and the serum motilin (MTL), gastrin (GAS), nitric oxide (NO) and nitric oxide synthase (NOS) content were also detected for the rats. The preparation of 10% liver tissue homogenate was performed for detection of glucose, pyruvate content and succinate dehydrogenase activity in liver tissues.

**Results** The high- and low-dosage Paris polyphylla water extract could obviously increase the gastric content residual rate and inhibit the gastric emptying in normal rats, but could not obviously affect the small intestinal propulsion; and could reduce the liver tissue gastrin and motilin content and serum glucose, pyruvate content and succinate dehydrogenase activity in different degree. **Conclusion** The effects of Paris polyphylla water

基金项目: 广西高校中青年教师基础能力提升项目(KY2016YB349)

第一作者简介: 黄彦峰(1977-), 女, 高级实验师, 研究方向: 生理学实验技术及中草药药效学, E-mail: huangyf238@126.com

extract on normal rats gastrointestinal function are related with gastrointestinal hormone and glucose metabolism.

**Key words:** Paris polyphylla water extract; gastrointestinal motility; molecular mechanisms of pharmacological action

随着现代生活节奏和工作压力的加速,人们饮食、休息越来越来不规律,从而增加胃肠道疾病的发病率,胃痉挛是常见病症之一,中药治疗胃肠运动障碍性疾病已逐渐得到认可。重楼为百合科植物云南重楼(*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*)的干燥根茎,又名七叶一枝花(*Paris polyphylla* var. *chinensis*)、草河车、海螺七、蚤休、白甘遂等,以蚤休之名始载于《神农本草经》<sup>[1]</sup>。主要含甾体皂苷类(为主要活性成分,占86%)、黄酮苷类化合物、植物蜕皮激素、多糖及脂肪酸酯、氨基酸、蜕皮激素等<sup>[2-3]</sup>,具有抗病毒、抗菌、抗肿瘤、抗氧化、镇痛、镇静、清除活性氧及肾脏保护等多种药理作用<sup>[4-6]</sup>。我们前期实验研究显示,肾上腺素能受体、M胆碱能受体与重楼水提液对小鼠胃肠运动功能的影响有关<sup>[7]</sup>,为了探讨其是否与胃泌素(GAS)、胃动素(MTL)、一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)、糖代谢等有关,我们进行了此实验。

## 1 材料与方 法

1.1 试剂 重楼(广西省百色市市售药材,产地:云南,批号:150701);吗丁啉(西安杨森制药有限公司,批号:151015856);活性碳(西陇化工股份有限公司,批号:150114);羧甲基纤维素钠(成都市科龙化工试剂厂,批号:20120727);琥珀酸脱氢酶、丙酮酸试剂盒、考马斯亮兰试剂盒均购于南京建成生物工程研究所;葡萄糖测定试剂盒(上海荣盛生物药业有限公司);大鼠胃泌素、胃动素检测试剂盒(北京雅安达生物技术有限公司)。

1.2 动物 SD大鼠40只,体重180~220g,雌雄各半,均为本校实验动物中心提供,合格证号:SCXK桂2012-0003。

1.3 仪器 RAYTO酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司);离心机(上海安亭科学仪器厂);梅特勒电子天平[托利仪器(上海)有限公司];PR0200型可调高速电动匀浆机(江苏金坛市环宇科学仪器厂);电热恒温水浴箱(上海新苗医疗器械制造有限公司);722型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 重楼水提液的制备<sup>[7]</sup> 称取重楼饮片100g,加入1000ml蒸馏水常温浸泡18h,大火煮沸后慢火

煎煮1h,过滤,取滤渣再加水800ml煮沸后慢火煎煮1h,过滤弃滤渣,合并两次滤液用16层纱布过滤,隔水蒸发浓缩,定容为100ml,冰箱储存,用时恢复室温。

1.2.2 碳末悬液的制备<sup>[7]</sup> 称取活性碳末10g、羧甲基纤维素钠2g溶于双蒸水中,搅拌均匀后定容至200ml碳末悬液,冰箱储存,用时恢复室温。

1.2.3 分组及给药 取40只大鼠随机分4组,即正常对照组、阳性组(吗丁啉0.003g/kg)、重楼水提液低剂量组(2.0g/kg)、重楼水提液高剂量组(4.0g/kg),每组10只。每组大鼠均按每千克体质量剂量灌胃给药,正常对照组给予等体积双蒸水,1次/天,连续14d。末次给药前12h大鼠禁食不禁水,灌胃给药30min后,再予5%碳末悬液0.25ml/100g灌胃。20min后用20%氨基甲酸乙酯麻醉,腹主动脉取血,离心取血清备用,同时结扎贲门和幽门,取出胃和小肠,称量胃的全重和胃净重,并记录小肠全长和碳末前沿到幽门的距离。

1.2.4 胃肠推进运动功能的测定<sup>[7]</sup> 计算公式:胃内容物残留率(%)=[(胃全重-胃净重)/半固体米糊]×100%。以胃内容物残留率来评价食物在胃内排空的速度。碳末推进比(%)=碳末在小肠内推进距离(cm)/小肠总长度(cm)×100%。以碳末推进比来评价食物在小肠内推进的速度。

1.2.5 生化指标检测 取血清,按试剂盒说明书用酶联免疫吸附法测定大鼠血清MTL、GAS、NO、NOS的含量。

1.2.6 肝脏组织中葡萄糖、丙酮酸、琥珀酸脱氢酶的检测 大鼠取血后迅速解剖,取出肝脏,将肝脏组织与冷冻生理盐水(1:9)匀浆,3500rpm,4℃离心,取上清液,严格按试剂盒说明书测定。

1.3 统计学方法 用SPSS 19.0版统计软件进行统计学分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 重楼水提液对正常大鼠胃内残留率和小肠推进率的影响 由表1可知,与正常对照组比较,吗丁啉组

大鼠胃内残留率明显降低 ( $P < 0.01$ ), 小肠推进率明显加快 ( $P < 0.01$ ); 重楼水提液高、低两个剂量组的大鼠胃内残留率明显升高 ( $P < 0.01$ ), 小肠推进率没有明显变化 ( $P > 0.05$ )。提示重楼水提液能减慢大鼠胃排空速度, 从而抑制胃的运动。与吗丁啉组比较, 重楼水提液高、低剂量组胃内残留率明显增加, 小肠推进率明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。重楼低剂量组与重楼高剂量组大鼠胃内残留率、小肠推进率比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表1 重楼水提液对正常大鼠胃内残留率和小肠推进率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 (g/kg)	胃内残留率 (%)	小肠推进率 (%)
正常对照组	10	—	22.40 ± 4.21	59.31 ± 2.66
吗丁啉组	10	0.003	14.67 ± 2.29 <sup>a</sup>	68.47 ± 5.21 <sup>a</sup>
重楼低剂量组	10	2.000	30.18 ± 5.51 <sup>ab</sup>	57.80 ± 4.52 <sup>b</sup>
重楼高剂量组	10	4.000	41.35 ± 4.99 <sup>ab</sup>	58.86 ± 6.11 <sup>b</sup>

注: 与正常对照组比较, a:  $P < 0.01$ ; 与吗丁啉组比较, b:  $P < 0.01$

2.2 重楼水提液对正常大鼠胃肠激素的影响 由表2可知, 与正常对照组比较, 吗丁啉组 MTL、GAS 明显增加 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 这与吗丁啉的药理作用(直接作用于胃肠壁, 增加胃肠道的震动和张力, 促进胃排空)相符。给予高、低两个剂量重楼水提液后, 大鼠 MTL、GAS 明显降低 ( $P$  均  $< 0.01$ )。提示重楼水提液能抑制大鼠血清 MTL 和 GAS 的产生。与吗丁啉组比较, 重楼低、高剂量组 MTL 与 GAS 值明显降低 ( $P$  均  $< 0.01$ )。重楼低剂量组与重楼高剂量组大鼠 MTL、GAS 值比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表2 重楼水提液对正常大鼠胃肠激素的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 (g/kg)	MTL (ng/L)	GAS (ng/L)
正常对照组	10	—	66.29 ± 14.17	75.64 ± 7.14
吗丁啉组	10	0.003	98.82 ± 21.09 <sup>a</sup>	113.03 ± 6.33 <sup>a</sup>
重楼低剂量组	10	2.000	47.19 ± 16.89 <sup>ab</sup>	62.95 ± 6.67 <sup>ab</sup>
重楼高剂量组	10	4.000	43.09 ± 6.10 <sup>ab</sup>	59.87 ± 4.70 <sup>ab</sup>

注: 与正常对照组比较, a:  $P < 0.01$ ; 与吗丁啉组比较, b:  $P < 0.01$

2.3 重楼水提液对正常大鼠血清 NO、NOS 的影响 由表3可知, 正常大鼠给予吗丁啉后, 血清 NO、NOS 无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 给予高、低两个剂量重楼水提液后, 大鼠血清 NO、NOS 明显升高 ( $P$  均  $< 0.01$ )。与吗丁啉组比较, 重楼高、低剂量组 NO 及 NOS

值明显升高 ( $P < 0.01$ )。重楼低剂量组与重楼高剂量组 NO、NOS 值比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表3 重楼水提液对正常大鼠血清 NO、NOS 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 (g/kg)	NO ( $\mu\text{mol/L}$ )	NOS ( $\mu\text{mol/ml}$ )
正常对照组	10	0.000	38.21 ± 3.02	36.85 ± 3.02
吗丁啉组	10	0.003	39.27 ± 4.01	39.07 ± 3.29
重楼低剂量组	10	2.000	52.11 ± 6.50 <sup>a</sup>	48.82 ± 2.28 <sup>a</sup>
重楼高剂量组	10	4.000	47.18 ± 4.66 <sup>a</sup>	45.39 ± 1.70 <sup>a</sup>

注: 与正常对照组比较, a:  $P < 0.01$

2.4 重楼水提液对正常大鼠糖代谢功能的影响 由表4可知, 正常大鼠给予吗丁啉后, 肝组织中丙酮酸、葡萄糖和琥珀酸脱氢含量均升高 ( $P < 0.05$ ), 给予高、低两个剂量重楼水提液后, 大鼠肝组织中丙酮酸、葡萄糖和琥珀酸脱氢含量均降低 ( $P < 0.01$ )。与吗丁啉组比较, 重楼低、高剂量组丙酮酸、琥珀酸脱氢酶及葡萄糖明显降低 ( $P < 0.01$ )。重楼低剂量组与重楼高剂量组丙酮酸、琥珀酸脱氢酶、葡萄糖比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表4 重楼水提液对正常大鼠糖代谢功能的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 (g/kg)	丙酮酸 (U/mg prot)	琥珀酸脱氢酶 (U/mg prot)	葡萄糖 (mmol/L)
正常对照组	10	—	0.06 ± 0.01	23.91 ± 2.78	41.39 ± 4.08
吗丁啉组	10	0.003	0.07 ± 0.01 <sup>a</sup>	26.71 ± 2.79 <sup>b</sup>	53.58 ± 4.03 <sup>a</sup>
重楼低剂量组	10	2.000	0.04 ± 0.01 <sup>ac</sup>	15.25 ± 3.02 <sup>ac</sup>	34.06 ± 2.41 <sup>ac</sup>
重楼高剂量组	10	4.000	0.04 ± 0.01 <sup>ac</sup>	15.82 ± 3.11 <sup>ac</sup>	35.50 ± 3.19 <sup>ac</sup>

注: 与正常对照组比较, a:  $P < 0.01$ , b:  $P < 0.05$ ; 与吗丁啉组比较, c:  $P < 0.01$

### 3 讨论

胃肠运动受中枢神经系统、肠神经系统、自主神经系统、胃肠激素的调控, 属于多种因素调控的复杂运动。胃肠激素可调控胃肠道的运动, 是调节消化器官活动的主要体液因素, 其分泌失调是胃肠动力障碍发病机制之一。其中 GAS、MTL 是主要反映指标之一。GAS 是由胃窦与小肠黏膜 G 细胞分泌, 能刺激胃酸分泌, 改善胃黏膜血供, 营养胃肠黏膜, 促进胃黏膜和胃壁细胞增殖, 促进胃肠运动<sup>[8]</sup>。MTL 是胃窦和小肠上皮细胞分泌的一种肽类激素, 在消化期呈周期性释放, 可引起胃和上部小肠产生消化期移动性运动复合波(MMC) III 相并诱发胃收缩和小肠分节运动。其机制是增加细胞内三磷酸肌醇含量, 提高细胞内  $\text{Ca}^{2+}$

浓度,从而诱发胃肠规律性和周期性的收缩运动<sup>[9]</sup>。本实验结果显示,重楼水提液高、低两个剂量组能明显降低正常大鼠血清中 GAS 和 MTL 的水平,表明重楼可能通过降低血清中 GAS 和 MTL 的水平,抑制胃酸分泌,减慢胃黏膜血供,抑制胃黏膜和胃壁细胞增殖,减慢胃的排空,从而抑制胃的运动,是否与细胞内三磷酸肌醇含量、Ca<sup>2+</sup> 浓度有关需要对其机制进一步探讨。

NO 是胃肠道一种主要的非肾上腺素能及非胆碱能抑制性神经递质,对全消化道平滑肌均有舒张作用,对胃肠 MMC 也有影响。NO 还具有对抗乙酰胆碱和 MTL 对胃的收缩作用,影响胃的缩张、蠕动和排空<sup>[10]</sup>。NOS 是一种黄素蛋白,参与调节 NO 生成的重要环节,可催化 L-精氨酸产生 NO<sup>[11]</sup>, NOS 含量增多或活性增强则合成释放 NO 增加。本实验结果显示,重楼水提液高、低两个剂量组对 NO 和 NOS 均有促进作用,表明重楼可能通过提高 NO 和 NOS 的水平来舒张消化道平滑,从而抑制胃的缩张、蠕动和排空活动。这与 Rocha 等<sup>[12]</sup>报道的 NO 可引起胃平滑肌松弛的观点一致。

糖是机体能量的主要来源,胃肠的运动功能直接受到体内能量代谢的影响。糖代谢可以通过有氧氧化、糖酵解、磷酸戊糖途径、合成和分解糖原以及糖异生途径等来完成。肝脏是糖代谢的重要器官,丙酮酸是糖代谢过程重要的中间产物,琥珀酸脱氢酶是糖代谢过程的催化酶,所以,肝组织中的葡萄糖、丙酮酸和琥珀酸脱氢酶的含量对胃肠动力提供能量有密切关系,通过检测这几个指标可以了解机体内组织细胞有氧呼吸状态、糖代谢功能与胃肠动力的关系<sup>[13]</sup>。本实验结果表明:重楼水提液高、低两个剂量组大鼠肝组织中的丙酮酸、葡萄糖和琥珀酸脱氢含量均明显降低,表明重楼水提液可抑制葡萄糖在肝脏有氧氧化,降低葡萄糖的有效利用率,减弱组织细胞有氧呼吸状态,来降低胃肠运动能量的供给,最终减弱胃肠运动功能。

综上所述,重楼水提液对正常大鼠胃肠功能的影响与胃肠动力、胃肠激素和糖代谢三方面有关,其可能机制如下:①通过降低血清中 MTL、GAS 的水平和提高 NO、NOS 含量,从而抑制胃平滑肌收缩;②通过降低葡萄糖的有效利用率及减弱组织细胞有氧呼吸状态,降低胃肠运动能量的供给,最终减弱胃肠运动功

能。此实验研究为治疗胃痉挛等疾病提供一定的药理实验依据,为进一步开发和利用重楼的中药价值提供研究资料。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版 一部 [S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:243-244.
- [2] 刘湘丹,王朝晖,徐玉琴,等. 中药材重楼研究进展[J]. 中医药导报,2015,15(21):90-93.
- [3] 华栋. 宽叶重楼的化学成分研究[D]. 西安:第四军医大学,2015.
- [4] 卢伟,牟雄军,杨光义,等. 中药重楼药理活性研究进展[J]. 中国药师,2017,20(5):896-899.
- [5] Liu ZX, Liu ZX, Tian QJ. Analysis of chemical components of volatile oil from *Paris polyphylla* and their antibacterial activities[J]. Zhong Yao Cai, 2014, 37(4): 612-616.
- [6] 宣群,潘红梅. 滇重楼内生真菌转化万古霉素的研究[J]. 昆明医科大学学报,2014,35(11):10-12.
- [7] 黄彦峰,何显教,晋玲,等. 重楼水提液对小鼠胃肠运动功能的影响[J]. 医药导报,2014,33(4):442-445.
- [8] 杨改琴,贾成文,左甲,等. 针刺背俞穴对 CAG 模型大鼠血清 PG I、PG II 的影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2014,20(7):962-963.
- [9] 张东,郭国栋,高洪波,等. 诃子醇提物对动物胃肠运动和血清胃动素含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(23):243-246.
- [10] 黄敬东,菅小霞,白全召. 四磨汤对功能性消化不良患者血浆促生长素和一氧化氮的影响[J]. 临床医药文献电子杂志,2015,2(21): 4341,4344.
- [11] 李晓媚,付四海,雷艳萍,等. 一氧化氮合酶抑制物在糖尿病大鼠骨骼肌收缩功能损害中的作用[J]. 中国医师杂志,2017,19(10): 1462-1468.
- [12] Rocha BS, Gago B, Barbosa RM, et al. Ethyl nitrite is produced in the human stomach from dietary nitrate and ethanol, releasing nitric oxide at physiological pH: potential impact on gastric motility[J]. Free Radic Biol Med 2015,82: 160-166.
- [13] 陈继兰,满孝奎,张慧慧,等. 藿香及其不同化学组分对小鼠糖代谢功能影响的研究[J]. 中药材,2015,38(6): 1266-1269.

收稿日期:2018-07-26;修回日期:2018-09-26