

复方山楂水提物与醇提物有效成分及促消化效果的对比研究

雷静, 熊瑞, 张秀, 谭昕, 邱泽昱, 喻永琪, 夏岚, 张丹

(西南医科大学药学院, 四川泸州 646000)

摘要: 本文建立了复方山楂中绿原酸和橙皮苷的含量测定方法, 并对比了复方山楂水提物和醇提物的有效成分含量和促消化效果。采用高效液相色谱法测定复方山楂水提物和醇提物中绿原酸和橙皮苷的含量, 并进行综合评分; 通过保健食品功效学研究中的急性毒性、小鼠小肠运动、大鼠摄食量、食物利用率、胃蛋白酶测定等实验对比复方山楂水提物和醇提物的促消化效果。结果表明, 复方山楂水提物有效成分含量综合评分(93.78)高于醇提物(80.04); 水提物和醇提物对大鼠、小鼠均无急性毒性, 均能显著增加大鼠摄食量($p<0.05$); 水提物的中、高剂量组及醇提物的高剂量组小鼠小肠推进率提高了26.88%、28.00%、26.55%($p<0.05$ 、 $p<0.01$ 、 $p<0.05$), 大鼠胃蛋白酶排出量增加了38.59%、53.29%、36.64%($p<0.05$ 、 $p<0.01$ 、 $p<0.05$), 醇提物的其他剂量组小肠推进率和大鼠胃蛋白酶排出量无显著性差异($p\geq 0.05$); 水提物和醇提物的中、高剂量组大鼠胃蛋白酶活性分别增强了75.96%、125.07%、70.38%、109.38%($p<0.05$ 、 $p<0.01$ 、 $p<0.05$ 、 $p<0.01$)。复方山楂水提物有效成分含量和促消化效果优于醇提物。

关键词: 消化; 胃蛋白酶; 有效成分; 小肠运动

文章编号: 1673-9078(2019)11-52-59

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.008

Comparative Study of Active Ingredients and Digestive Promotion Effect of Water- and Ethanol- Extract from Fufang Shanzha

LEI Jing, XIONG Rui, ZHANG Xiu, TAN Xin, QIU Ze-yu, YU Yong-qi, XIA Lan, ZHANG Dan

(Pharmacy School of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China)

Abstract: A method for the determination of chlorogenic acid and hesperidin in Fufang Shanzha was established in this work. And compare the content of active ingredients in Fufang Shanzha prepared by different solvents (ethanol and water) and their digestive promotion effect was investigated. The contents of chlorogenic acid and hesperidin were determined by HPLC. The comprehensive score was carried out based on their content and paste-forming rate. According to the principles of functional food, the acute toxicity, the distance of ink movement in small intestine in mice, the body weight, food intakes, food efficiency ratio and the secretion amount of gastric juice and pepsin activity were evaluated. The results showed that the comprehensive score of active ingredients of water extraction (93.78) was higher than ethanol extraction (80.04). Water extraction and ethanol extraction had no acute toxicity to mice and rats. All of them could significantly increase the food intake of rats ($p<0.05$). The small intestine movement rates in middle dosage, high dosage group of water extraction and high dosage group of ethanol extraction increased by 26.88%, 28.00%, 26.55% ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$), respectively. In addition, the secretion of pepsin in rats in middle dosage, high dosage group of water extraction and high dosage group of ethanol extraction increased by 38.59%, 53.29%, 36.64% ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$), respectively. However, there was no significant difference in small intestinal movement rates and pepsin excretion of rats in other dose groups of ethanol extraction ($p\geq 0.05$). The activity of pepsin increased by 75.96%, 125.07%, 70.38%, 109.38% ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$) in the middle dosage, high dosage group of water extraction and ethanol extraction, respectively. For the content of active ingredients and the digestive promotion effect, the water extract from Fufang Shanzha was superior to the ethanol extract.

Key words: digestion; pepsin; active ingredients; small intestine movement

收稿日期: 2019-07-03

基金项目: 四川省宜宾县人民政府-西南医科大学科技专项项目[2017-YBXNYD-3(8/13)]; 四川省叙州区人民政府-西南医科大学科技专项项目(2019-YBXNYD-4); 西南医科大学大学生创新创业训练计划项目(2019465)

作者简介: 雷静(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药制剂工艺、中药制剂质量控制

通讯作者: 张丹(1975-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药新工艺、中药新剂型、中药炮制

消化不良是指一组慢性或复发性上腹疼痛或不适的症状,是临床上常见的功能性胃肠疾病,在中医学理论中属于“胃脘痛”、“积滞”的范畴,辨证分可为脾虚气滞证、肝胃不和证和脾胃湿热证等^[1]。有文献报道消化不良的发病基础在于脾虚,肝郁为其诱因,而其临床症状产生的原因则在于胃气不降,主要与胃肠道蠕动、胃酸分泌有关,治疗上以健脾、疏肝、和胃为其治则^[2]。随着人们的生活水平不断提高,暴饮暴食、日常作息不规律都会造成消化不良。长期消化不良对人们的生理和心理健康都有不可忽视的影响,因此有必要对促消化的药物或功能性食品进行研究,以提高人类健康水平和生活质量。随着人们对养生与保健的日益重视,保健食品的种类和产量日趋增长,因此,开发预防消化不良的保健食品具有十分现实的意义^[3]。

目前中医药治疗消化不良的主要方剂有柴胡疏肝散、香砂六君子汤、逍遥散、保和丸等。其中《丹溪心法》记载的经典名方保和丸在治疗消化不良、饮食积滞方面具有独特的优势,临床疗效显著^[4-6]。保和丸由山楂、神曲、半夏、茯苓、陈皮、连翘、莱菔子共七味药组成,其中山楂和陈皮是保和丸中的主要成分,能增加胃肠蠕动,排除消化道中的积气。山楂具有消食健胃、化浊降脂等功效,能收缩胃肠道平滑肌,增强消化道酶的活性^[7]。陈皮中的挥发油,具有行气健脾,芳香化湿的作用^[8]。本研究以保和丸化裁而成的山楂、陈皮等中药的组合物为研究对象,初步研究复方山楂的促消化效果。

不同溶剂的性质各异,所以同一物质经不同溶剂提取后的成分和含量也存在明显差别,水和乙醇作为最常用的溶剂,二者的极性存在明显差别,因此在提取工艺中对提取物的成分和含量有较大影响^[9]。本实验旨在从水和乙醇中筛选出合适的提取溶剂,初步探究复方山楂对消化不良的预防效果,为预防消化不良相关产品的开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

绿原酸(批号:110753-201817,纯度96.8%),中国食品药品检定研究院;橙皮苷(批号:PS1441-0025MG,纯度99.0%),成都普思生物科技股份有限公司;健胃消食片(批号18111030),江中药业股份有限公司;盐酸洛哌丁胺胶囊(批号180830698),西安杨森制药有限公司;乙醇、盐酸、吐温80(分析纯),成都市科隆化学品有限公司;乙

腈、甲醇(色谱纯),damas-beta;活性炭粉;戊巴比妥钠,成都里来生物科技有限公司。

山楂、陈皮等饮片均购于四川天植中药股份有限公司,上述饮片经西南医科大学生药学教研室庄元春副教授鉴定为正品,均符合《中国药典》2015年版规定。

1.2 仪器设备

游标卡尺,美耐特;LC-2030C 岛津高效液相色谱仪;DZF-6020 真空干燥箱,上海乔跃电子有限公司。

1.3 动物

SPF级昆明种小鼠,体质量18~20 g, SPF级SD大鼠,体质量120~150 g,均购于成都达硕实验动物有限公司,许可证号SYKX(川)2018-065,上述动物均饲养于西南医科大学药学院 SPF 动物房,模拟自然环境昼夜交替12 h。本研究所有动物实验操作经西南医科大学实验动物伦理委员会批准。

1.4 实验方法

1.4.1 复方山楂水提物与醇提物的制备

水提物的制备:称取陈皮及其他含挥发油的药材,采用水蒸气蒸馏提取法提取挥发油,药渣再和山楂混匀加10倍量水回流提取90 min,提取2次,合并三次药液,减压浓缩后定容。

醇提物的制备:称取陈皮及其他含挥发油的药材,采用水蒸气蒸馏提取法提取挥发油,药渣再和山楂加10倍量70%乙醇回流提取90 min,提取2次,合并三次药液,离心得上清液,减压浓缩后定容。

1.4.2 HPLC 色谱条件

色谱柱 SHIMADZU Shim-pack GIST C18 (250×4.6 mm, 5 μm);流动相 A:乙腈,流动相 B:0.1%磷酸水;洗脱条件:0~25 min:10%~17% A;25~26 min:17%~20% A;26~50 min:20%~25% A。流速1 mL/min,柱温30℃,检测波长:橙皮苷283 nm,绿原酸327 nm。

1.4.3 对照品及供试品溶液的制备

分别精密称取一定量的绿原酸对照品和橙皮苷对照品置同一25 mL容量瓶中,用甲醇溶解制成含绿原酸0.1207 mg/mL,橙皮苷0.1017 mg/mL的溶液作为绿原酸和橙皮苷混合对照品溶液。直接取复方山楂水提物和醇提物定容后的溶液作为供试品溶液,对照品及供试品均用0.22 μm微孔滤膜滤过后,取续滤液进行高效液相色谱(High performance liquid chromatography, HPLC)分析。

1.4.4 干膏率

分别精密吸取提取液 10 mL, 置于干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 转移至 105 °C 烘箱中干燥 3 h, 取出至干燥器中冷却至室温, 冷却后精密称定重量 W, 计算干膏率。

$$\text{干膏率}(\%) = \frac{W \times 1000}{\text{药材} \times 10} \times 100\%$$

1.4.5 水提物和醇提物有效成分含量测定

按照“1.4.2”项下色谱条件分别对水提物和醇提物供试品进样 6 μL 测定峰面积, 根据线性回归方程计算复方山楂水提物和醇提物中绿原酸和橙皮苷的含量。以绿原酸、橙皮苷含量和干膏率三项为评价指标, 以权重系数分别为 0.5、0.2、0.3 进行综合评分。综合评分 = $A \times 0.5 + B \times 0.2 + C \times 0.3$ (A = 绿原酸含量 / 绿原酸含量最大值, B = 橙皮苷含量 / 橙皮苷含量最大值, C = 干膏率 / 干膏率最大值)。

1.4.6 动物实验样品的配制

阳性药物: 将健胃消食片用研钵研磨成细粉, 用水制成 0.133 g/mL 的混悬液。

模型药物: 去掉洛哌丁胺胶囊的胶囊壳, 其粉末用水溶解, 造模剂量为 5 mg/kg。

墨汁: 称取阿拉伯胶 10 g, 加水 80 mL, 煮沸至溶液透明, 称取活性炭粉末 10 g 加至上述溶液中煮沸 3 次, 室温冷却后定容至 100 mL, 置于 4 °C 冰箱中保存, 临用前摇匀。

复方山楂水提取物和醇提物的制备: 将“1.4.1”项下定容后的提取物减压浓缩至含生药量 1.35 g/mL, 将提取所得的挥发油加至浓缩后的药液中, 同时向药液中加入相当于药液总体积 2% 的吐温 80, 混合均匀置于 4 °C 冰箱中保存, 临用前用含 2% 吐温 80 的水溶液稀释至给药浓度。

1.4.7 急性毒性实验

参照文献方法^[10]进行急性毒性试验, 分别取昆明小鼠 40 只、SD 大鼠 40 只, 雌雄各半, 小鼠、大鼠均按性别随机分为 2 组 (水提物组和醇提物组), 每组雌雄各 10 只, 适应性喂养 3 d 后开始急性毒性实验。所有动物给药前禁食 12 h, 正常饮水。小鼠灌胃给予 108 g/kg (按生药量计) 的水提物和醇提物, 分 2 次给药, 每次间隔 6 h; 大鼠灌胃给予 45 g/kg 的水提物和醇提物, 分 3 次给药, 每次间隔 4 h; 所有动物给药后观察一周, 每天定时称其体重并观察动物状态。

1.4.8 小肠运动实验

取雄性小鼠 100 只, 按体重分为 10 个组, 分别为空白组、模型组、阳性组、吐温组、水提物低中高剂量组及醇提物低中高剂量组, 水提物和醇提物低中

高剂量分别为 (按生药量计) 2.7 g/kg、13.5 g/kg、27 g/kg。连续灌胃 15 d, 每天定时灌胃一次, 空白组和模型组给予蒸馏水, 吐温组给予 2% 吐温。实验结束前禁食不禁水 16 h, 实验结束当天, 给药组给予一次药物, 空白及模型组给予一次蒸馏水, 吐温组给予一次吐温; 30 min 后, 给药组、模型组和吐温组给予洛哌丁胺造模, 空白组给予同体积蒸馏水; 30 min 后, 每组均给予墨汁, 25 min 后处死动物, 迅速打开腹腔分离肠系膜, 剪取自幽门至回盲部的小肠, 置于白纸上, 分别测量小肠全长和从幽门到墨汁前沿的距离, 计算墨汁推进率和墨汁推进率转换值^[11]。

$$\text{墨汁推进率}(\%) = \frac{\text{墨汁推进长度}(\text{cm})}{\text{小肠总长度}(\text{cm})} \times 100\%$$

$$\text{推进率转换值: } X = \sin^{-1} \sqrt{P}$$

注: P = 小鼠小肠推进率。

1.4.9 大鼠体重、体重增重、摄食量和食物利用率的测定

取雄性 SD 大鼠, 分为空白组、阳性组、吐温组、水提物低中高三个剂量组及醇提物低中高三个剂量组, 每组 10 只。水提物和醇提物低中高剂量分别为 0.95 g/kg、1.89 g/kg、9.45 g/kg (按生药量计), 空白组给予蒸馏水, 阳性组给予 2 g/kg 的健胃消食片, 吐温组给予含 2% 吐温 80 的蒸馏水, 所有动物连续灌胃 30 d, 每天定时灌胃一次, 每周记录两次大鼠体重和食物摄取量, 并根据体重变化调整给药量, 实验结束时计算体重增重、摄食量和食物利用率^[11]。

$$\text{食物利用率} = \frac{\text{体重增加量}}{\text{摄食量}} \times 100\%$$

1.4.10 大鼠胃蛋白酶的测定

1.4.10.1 蛋白管的制备

用内径 1 mm, 长 100 mm 的毛细玻璃管吸满新鲜鸡蛋清, 然后在热水中使鸡蛋清凝固, 即得蛋白管, 放入 4 °C 冰箱保存, 临用前制成 40 mm 的长度。

1.4.10.2 胃蛋白酶活性及排出量的测定

按“1.4.9”项下方法分组及给药, 实验结束时将所有大鼠禁食不禁水 24 h, 用戊巴比妥钠麻醉大鼠, 结扎大鼠幽门收集 3 h 胃液并测定其体积, 用 Mett 氏法测定胃蛋白酶活性, 具体方法如下: 将收集的胃液按每 1 mL 加入 0.05 mol/L 的盐酸溶液 15 mL 置于离心管中混匀, 加入新鲜制备好的蛋白管 2 根, 密封, 37 °C 恒温孵育 24 h 后取出, 用游标卡尺测量每根蛋白管两端透明部分的长度, 求出四端的平均值, 根据胃蛋白酶活性单位公式计算胃蛋白酶活性, 根据胃蛋白酶排出量公式计算胃蛋白酶排出量^[11]。

$$\text{胃蛋白酶活性单位}(\text{U/mL}) = \frac{\text{四端蛋白管透明部分长度均值}^2 \times 16}{\text{胃液体积}(\text{mL})}$$

胃蛋白酶排出量 (U/h) = 胃蛋白酶活性 × 胃液量/h

1.4.11 数据统计分析

实验所得数据以均数±标准差 ($\bar{X} \pm S$) 表示, 数据采用 Graphpad prism 5.0 软件统计分析, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析 (one way analysis of variance, ANOVA), 以 $p < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 有效成分含量

2.1.1 复方山楂水提物和醇提物的 HPLC 图谱

对照品和供试品溶液按照“1.4.2”项的色谱条件进样 6 μL 进行分析, 结果如图 1 所示, 对照品和供试品 HPLC 图谱达到基线完全分离, 各色谱峰未出现明显重叠或拖尾, 分离度良好。

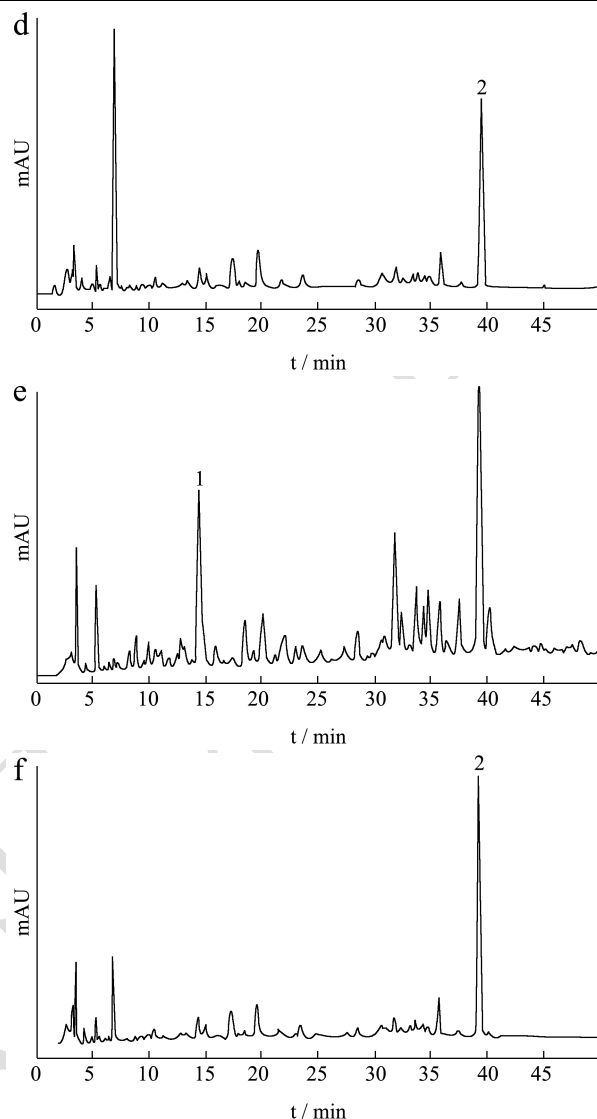
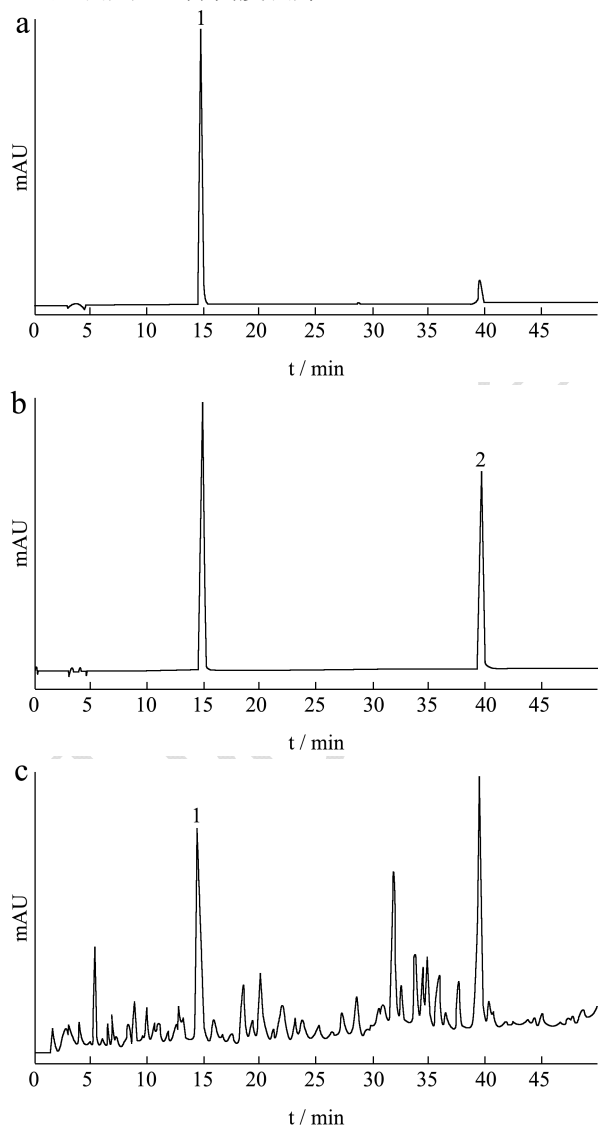


图 1 复方山楂水提物和醇提物的 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatograms of water- and ethanol- extract from Fufang Shanzha

注: a、b 绿原酸和橙皮苷混合对照品的高效液相色谱图; c、d 复方山楂水提物供试品的高效液相色谱图; e、f 复方山楂醇提物供试品的高效液相色谱图; 1: 绿原酸, 2: 橙皮苷; a、c、e 为 327 nm, b、d、f 为 283 nm。

2.1.2 含量测定结果

表 1 复方山楂水提物和醇提物中绿原酸和橙皮苷的含量测定

Table 1 Content determination of water- and ethanol- extract from Fufang Shanzha

提取方法	绿原酸/(mg/g)	橙皮苷/(mg/g)	浸膏率/%	综合评分
水提	0.39	15.37	48.48	93.78
醇提	0.37	20.48	21.44	80.04

按“1.4.4”项下方法测定干膏率, 按“1.4.5”项

下含量测定方法分别对复方山楂水提物和醇提物中绿原酸和橙皮苷进行含量测定, 所得结果见表 1。结果表明, 水提物中绿原酸和橙皮苷含量分别为 0.039% 和 1.537%, 干膏率为 48.48%; 醇提物中绿原酸和橙皮苷含量分别为 0.037% 和 2.048%, 干膏率为 21.44%; 对水提物和醇提物的绿原酸、橙皮苷含量和干膏率进行综合评分, 结果表明水提物综合评分 (93.78) 比醇提物 (80.04) 高 17.2%。

2.2 复方山楂水提物和醇提物的促消化效果

比较

2.2.1 急性毒性实验结果

复方山楂水提物和醇提物的急性毒性实验结果显示: 给药后 7 天内小鼠、大鼠均未见中毒表现, 对小鼠体质量增长无明显影响, 动物的行为及外观均未见异常, 观察期内无小鼠、大鼠死亡, 说明复方山楂水提物和醇提物对小鼠最大耐受量 (Maximal tolerable dose, MTD) >108 g/kg, 对大鼠 MTD>45 g/kg, 根据急性毒性剂量分级标准^[10], 该样品的水提物和醇提物属无毒级。

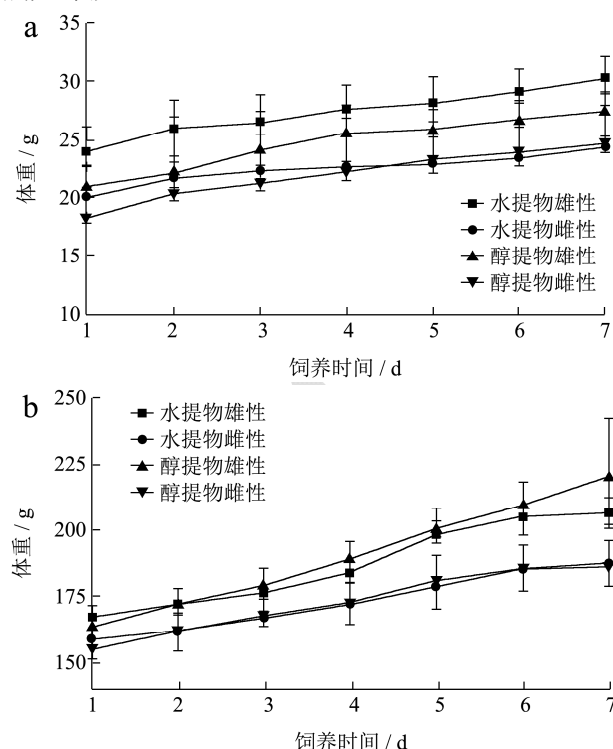


图 2 急性毒性实验中复方山楂水提物和醇提物对小鼠 (a) 和大鼠 (b) 体质量的影响

Fig.2 Effects of water- and ethanol- extract from Fufang Shanzha on body weight of mice (a) and rats (b) in acute toxicity experiment

2.2.2 复方山楂水提物和醇提物对小鼠小肠运

动的影响

消化不良与胃排空和肠蠕动有关^[12], 因此可通过测定小肠运动功能评价消化功能状态。洛哌丁胺为临床常用止泻药, 过量服用则可导致便秘, 有文献报道, 洛哌丁胺能够引起小鼠胃肠蠕动明显减弱, 可用于构建消化不良模型^[13]。为对比复方山楂水提物和醇提物对小鼠小肠运动功能的影响, 本实验对小鼠连续灌胃给药 15 d 后, 用洛哌丁胺构建消化不良模型, 通过测定墨汁推进率评价复方山楂水提物和醇提物的促消化效果。结果如图 3 所示, 与空白组 59.27% 相比, 模型组小肠推进率 39.25% 降低了 33.78%, 具有统计学意义 ($p<0.001$), 表明本实验的消化不良模型构建成功; 与模型组相比, 吐温组 40.82% 未见明显差异 ($p\geq 0.05$), 阳性组 56.55%、复方山楂水提物的中剂量组 49.8%、高剂量组 50.24% 显著提高小肠推进率 ($p<0.05$), 相对于模型组分别提高了 44.08%、26.88%、28.00%, 而醇提物仅在高剂量 49.67% 时显著提高小肠推进率 ($p<0.05$), 相对于模型组提高了 26.55%, 且水提物中剂量组与醇提物中剂量组相比具有统计学意义 ($p<0.05$)。

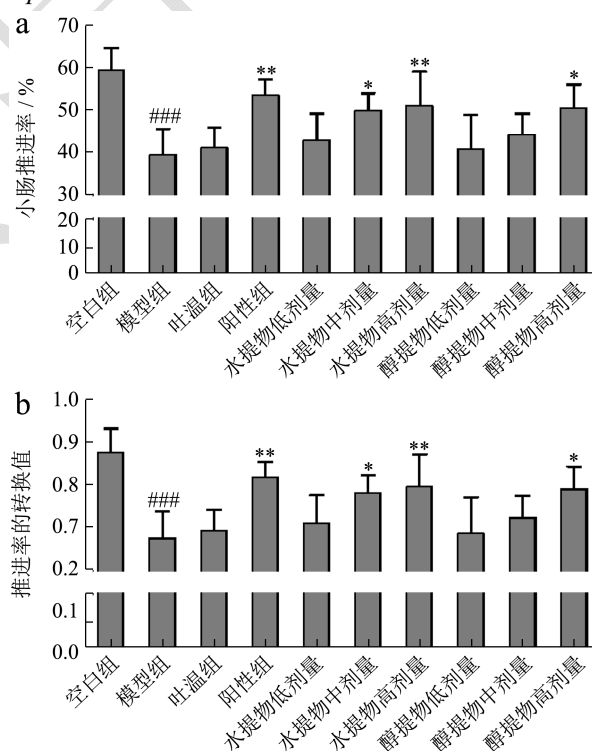


图 3 复方山楂水提物和醇提物对小鼠小肠运动功能的影响 ($\bar{X} \pm S$, $n=10$)

Fig.3 Effects of water- and ethanol- extracts from Fufang Shanzha on small intestine movement in mice

注: ###表示与空白组比较 $p<0.001$; *表示与模型组比较 $p<0.05$; **表示与模型组比较 $p<0.01$ 。

小肠推进率经转换后, 与空白组 0.88 相比, 模型

组 0.68 小肠转换值降低了 22.72%，具有统计学意义 ($p<0.001$)，显示本实验便秘模型造模成功；与模型组对比，吐温组 0.69 小肠转换值无明显差异 ($p\geq 0.05$)，阳性组 0.85、复方山楂水提取物中剂量组 0.78、水提取物高剂量组 0.80、醇提取物高剂量组 0.82 与模型组有统计学差异 ($p<0.05$)。醇提取物中剂量组的小肠推进率

43.88%和小肠推进转换值 0.75 均无统计学差异 ($p\geq 0.05$)，表明复方山楂水提取物促进小肠运动的效果优于醇提取物。

2.2.3 复方山楂水提取物和醇提取物对大鼠体重、体重增重、摄食量和食物利用率的影响

表 2 复方山楂水提取物和醇提取物对大鼠体重、体重增重、摄食量和食物利用率的影响

Table 2 Effects of water- and ethanol- extract from Fufang Shanzha on body weight, weight gain, food intake and food utilization in rats

(X±S, n=10)					
组别	初始体重/g	末次体重/g	增重/g	摄食量/g	食物利用率/%
空白组	125.3±3.2	326.3±16.1	201.0±14.8	637.1±27.7	31.5±1.8
吐温组	124.6±4.0	329.2±15.4	204.6±14.6	642.5±24.0	31.8±1.9
阳性组	121.4±2.3	349.6±14.9	228.2±14.8	702.3±28.7*	32.5±2.3
水提低剂量组	124.0±2.6	335.0±20.6	210.9±19.7	697.8±33.8*	31.4±1.3
水提中剂量组	123.8±2.8	346.8±22.6	223.0±23.2	713.1±35.1**	31.7±2.1
水提高剂量组	127.8±3.7	341.8±20.2	214.0±19.5	717.0±31.0**	32.1±2.1
醇提低剂量组	127.6±3.1	346.6±15.3	219.0±15.7	702.2±46.9*	31.1±1.6
醇提中剂量组	124.0±3.5	353.5±21.8	229.5±20.8	722.5±35.3**	31.7±1.6
醇提高剂量组	122.7±2.7	358.5±9.6	235.8±9.9	732.5±19.8**	32.2±1.1

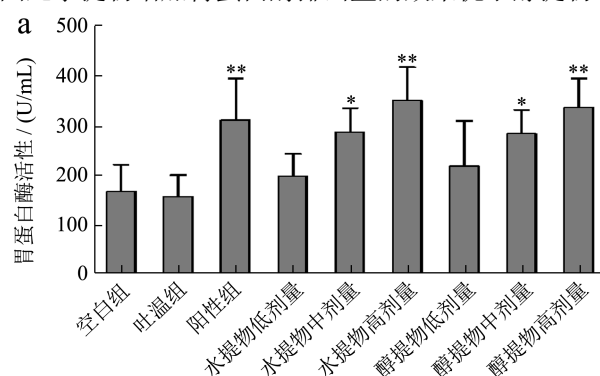
注：*表示与空白组比较 $p<0.05$ ；**表示与空白组比较 $p<0.01$ 。

胃排空时间延长是消化不良的又一典型症状，消化不良导致食欲减退、摄食量明显减少，由此导致体重减轻、食物利用率下降；反之，消化功能越好则摄食量、体重增重越大、食物利用率越高。本研究连续灌胃给予大鼠复方山楂水提取物或醇提取物 30 d，通过测定摄食量、体重增重、食物利用率评价复方山楂水提取物和醇提取物的促消化效果。结果如表 2 所示：阳性组、复方山楂水提取物和醇提取物对大鼠体重增重和食物利用率均无明显影响 ($p\geq 0.05$)，但均能显著增加摄食量 ($p<0.05$)，与空白组相比，吐温组摄食量无显著变化 ($p\geq 0.05$)，阳性组摄食量增加了 10.23% ($p<0.05$)，水提取物低、中、高剂量组摄食量分别增加了 9.53%、11.93%、12.54%，醇提取物低、中、高剂量组摄食量分别增加了 10.22%、13.4%、14.97%，水提取物与醇提取物相同剂量组之间相比均无统计学差异 ($p\geq 0.05$)，表明水提取物与醇提取物增加摄食量的效果相当。

2.2.4 复方山楂水提取物和醇提取物对大鼠胃蛋白酶活性和胃蛋白酶排出量的影响

食物在胃肠中进行消化主要是通过消化酶的消化和胃肠运动，本研究通过测定胃蛋白酶活性和胃蛋白酶排出量来对比复方山楂水提取物和醇提取物的促消化效果^[11]。结果如图 4 所示：与空白组的胃蛋白酶活性 167.2 U/mL 和胃蛋白酶排出量 76.97 U/h 相比，吐温

组的胃蛋白酶活性 157.18 U/mL 和胃蛋白酶排出量 71.63 U/h 无明显影响 ($p\geq 0.05$)，阳性组 311.91 U/mL、复方山楂水提取物和醇提取物的中、高剂量 (294.21、376.31、284.87、350.08) U/mL 胃蛋白酶活性显著增强 ($p<0.05$)，胃蛋白酶活性分别增强了 86.55%、75.96%、125.07%、70.38%、109.38%；阳性组 106.48 U/h、水提取物中、高剂量组和醇提取物高剂量组 (106.67、117.99、105.17) U/h 胃蛋白酶排出量显著增加 ($p<0.05$)，胃蛋白酶排出量分别增加了 38.34%、38.59%、53.29%、36.64%。表明复方山楂水提取物与醇提取物均能显著增强胃蛋白酶活性，二者效果相当；水提取物增加胃蛋白酶排出量的最低有效剂量为本实验的中等给药剂量，而醇提取物的最低有效剂量为其高剂量，因此水提取物增加胃蛋白酶排出量的效果优于醇提取物。



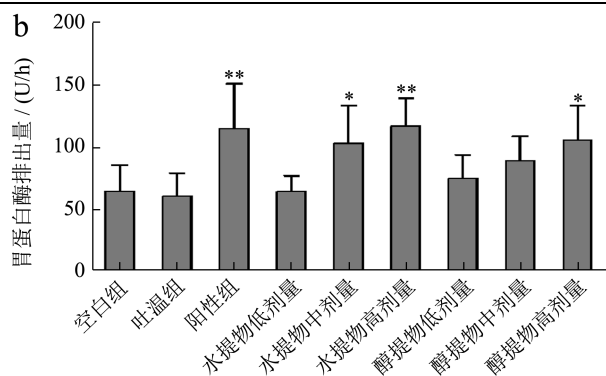


图4 复方山楂水提物和醇提物对大鼠胃蛋白酶活性和胃蛋白酶排出量的影响

Fig.4 Effect of water- and ethanol- extract from Fufang Shanzha on pepsin activity and pepsin excretion in rats ($\bar{X} \pm S$, $n=20$)

注: *表示与空白组比较 $p < 0.05$; **表示与空白组比较 $p < 0.01$ 。

3 结论

3.1 本研究是以保和丸为基础进行化裁,以山楂、陈皮等药食同源的中药配伍成复方山楂制剂为研究对象,山楂和陈皮在中医临床上使用历史悠久,具有显著的促消化效果^[14]。有研究表明,山楂的有机酸部位及水提液可以显著促进胃肠运动作用,收缩大鼠肠平滑肌,增加胃蛋白酶分泌,而绿原酸是山楂有机酸的主要成分,广泛应用于保健食品、日化用品等方面^[15,16]。陈皮中的橙皮苷能明显促进功能性消化不良大鼠胃排空及小肠推进率,且陈皮中的挥发油能够促进大鼠消化液分泌和增加大鼠胃蛋白酶活性^[17,18]。本研究通过水提和醇提两种方法考察其主要有效成分含量及浸膏率,进一步通过小鼠小肠推进率、摄食量、胃蛋白酶活性和胃蛋白酶排出量评价复方山楂水提物和醇提物的促消化效果,得到如下结论:

3.2 含量测定结果及综合评分表明,水提物中绿原酸和橙皮苷含量分别为 0.039%和 1.537%,干膏率为 48.48%;醇提物中绿原酸和橙皮苷含量分别为 0.037%和 2.048%,干膏率为 21.44%;绿原酸和橙皮苷在水提物和醇提物中的含量高低不同可能是由于水与乙醇的极性不同。由有效成分含量和浸膏率的综合评分得出复方山楂水提物得分(93.78)高于醇提物(80.04)。

3.3 急性毒性实验表明复方山楂水提物和醇提物均为无毒级别,对小鼠、大鼠生长无影响。应用洛哌丁胺能够成功构建小鼠消化不良模型($p < 0.001$),复方山楂水提物改善小鼠胃肠运动功能的效果优于醇提物($p < 0.05$)。通过对大鼠摄食量、胃液分泌量和胃蛋白酶活性的测定,结果表明:低、中、高剂量的复方山

楂水提物和醇提物均能显著增加大鼠摄食量($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.01$),且二者效果相当;中、高剂量的水提物和醇提物显著增加胃蛋白酶活性($p < 0.05$, $p < 0.01$),水提物增加胃蛋白酶排出量的最低有效剂量低于醇提物,因此,综合而言,复方山楂水提物促消化效果优于醇提物。

3.4 复方山楂制剂因其促消化功能明确、无毒副作用的特点,在临床及生活中应用广泛,本研究通过对比复方山楂水提和醇提两种提取物的有效成分含量和促消化效果,以期对相关新型产品开发提供更优的提取方法和药效学依据。

参考文献

- [1] 安晓霞,梁尧,王振刚,等.中医药治疗功能性消化不良的临床研究进展[N].中医药学报,2018,46(4):123-126
AN Xiao-xia, LIANG Yao, WANG Zhen-gang, et al. Clinical research progress of Chinese medicine in the treatment of functional dyspepsia [N]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2018, 46(4): 123-126
- [2] 潘炜,于玲,甘淳.近 10 年中医疗治功能性消化不良的研究进展[J].江西中医药,2019,50(6):77-80
PAN Wei, YU Ling, GAN Chun. Research progress on functional dyspepsia treated by traditional Chinese medicine in recent 10 years [J]. Jiangxi Journal of Traditional Chinese medicine, 2019, 50(6): 77-80
- [3] 元霞,赵喆,邓岩浩,等.中药保健食品的现状与开发战略[J].科学咨询,2019,4:62-63
QI Xia, ZHAO Zhe, DENG Yan-hao, et al. The present situation and development strategy of traditional Chinese medicine health food [J]. Scientific advisory, 2019, 4: 62-63
- [4] 陈雅军.香砂枳术丸联用保和丸治疗儿科消化不良疗效观察[J].辽宁中医杂志,2013,40(9):1848-1849
CHEN Ya-jun. Xiangsha Zhizhu pills combined with baohe pills in treatment of functional dyspepsia [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 40(9): 1848-1849
- [5] 张培中.保和丸的临床应用[J].湖南中医杂志,2011,27(2): 72-74
ZHANG Pei-zhong. Clinical application of baohe pill [J]. Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 27(2): 72-74
- [6] 田亚欣,王凤云,张娇,等.功能性消化不良的常用方剂及药对规律总结[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(21): 182-185
TIAN Ya-xin, WANG Feng-yun, ZHANG Jiao. Commonly used prescriptions and herbal pairs for functional dyspepsia [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical

- Formulae, 2016, 22(21): 182-185
- [7] 崔亮,华二伟,薛洁.山楂对消化系统影响的研究进展[J].新疆中医药,2012,30(1):78-79
- CUI Liang, HUA Er-wei, XUE Jie. Research progress on the effect of hawthorn on digestive system [J]. Xinjiang Journal of Traditional Chinese Medicine, 2012, 30(1): 78-79
- [8] 丁洁,沙芮,王爱霞,等.柑橘皮挥发油提取及 HPLC 测定柑橘皮挥发油中的柠檬烯含量[J].湖北农业科学,2017, 56(17):3326-3330
- DING Jie, SHA Rui, WANG Ai-xia, et al. Citrus essential oil extraction and hplc determination of the limonene content of essential oil in orange peel from different habitats [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017, 56(17): 3326-3330
- [9] 叶太生,张莹雯,王秀萍,等.当归补血汤醇提物和水提物调控 BMP-7, TGF- β -1 表达对腺嘌呤诱导的肾间质纤维化大鼠保护作用的比较[J].时珍国医国药,2018,29(11):2619-2622
- YE Tai-sheng, ZHANG Ying-wen, WANG Xiu-pin, et al. Comparison of protective effects of alcohol extract and water extract of angelica buxue decoction on the expression of bmp-7 and TGF-beta-1 in rats with adenine induced renal interstitial fibrosis [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2018, 29(11): 2619-2622
- [10] 李健.中药复方鹤榆止泻散急性毒性、药效学及其颗粒剂型质量控制研究[D].兰州:甘肃农业大学,2016
- LI Jian. The acute toxicity, pharmacodynamics study of Chinese medicine compound Guanyuzhixiesan and the quality control study of its granulated dosage forms [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2016
- [11] 傅曼琴,肖更生,吴继军,等.广陈皮促消化功能物质基础的研究[J].中国食品学报,2018,18(1):56-64
- FU Man-qin, XIAO Geng-sheng, WU Ji-jun, et al. Studies on chemical basis of digestion promoting function of pericarpium citri reticulatae [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(1): 56-64
- [12] 禹玉洪,张国伟,杨晓宁,等.丁桂儿脐贴联合用药对功能性消化不良动物模型的影响[J].中药新药与临床药理,2014, 25(1):23-28
- YU Yu-hong, ZHANG Guo-wei, YANG Xiao-ning, et al. Influence of dingguier umbilical paste combination with oral use of medicine on functional dyspepsia animal model [J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2014, 25(1): 23-28
- [13] 赵宏宇,王玉,刘新宇,等.山楂沙棘片对小鼠通便功能实验研究[J].特产研究,2017,39(2):24-27
- ZHAO Hong-yu, WANG Yu, LIU Xin-yu, et al. Effect of hawthorn and sea-buckthorn tablet on defecation function in mice [J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2017, 39(2): 24-27
- [14] 王建峰.保和丸加减治疗功能性消化不良[J].中国民间疗法,2015,23(7):45-46
- WANG Jian-feng. Baohe pill is used to treat functional dyspepsia [J]. China's Naturopathy, 2015, 23(7): 45-46
- [15] 陈希苗,李美英,许秋莉,等.体外模拟胃肠消化山楂多酚及抗氧化活性的变化[J].食品科学,2019,40(5):31-37
- CHEN Xi-miao, LI Mei-ying, XU Qiu-li, et al. Changes in polyphenol contents and antioxidant activity in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bunge) during simulated gastrointestinal digestion [J]. Food Science, 2019, 40(5): 31-37
- [16] 石晓晨,刘红艳,刘谦,等.一测多评法测定山楂中 7 种成分含量[J].中药材.2019,1:116-121
- SHI Xiao-chen, LIU Hong-yan, LIU Qian, et al. Concent determinations of seven bioactive components in *Crataegus pinnatifida* var. *major* by QAMS [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2019, 1: 116-121
- [17] 林健,林蔚,钟礼云,等.复方陈皮咀嚼片促进机体消化功能的探讨[J].医学动物防制,2017,33(2):175-178
- LIN Jian, LIN Wei, ZHONG Li-yun, et al. Compound pericarpium citri reticulatae chewable tablets on promoting the digestive function and its mechanism [J]. Journal of Medical Pest Control, 2017, 33(2): 175-178
- [18] 张明智,隋海娟,张玲玲,等.橙皮苷对功能性消化不良大鼠胃肠运动及 Ghrelin 表达的影响[J].中药药理与临床, 2014,30(2):30-34
- ZHANG Ming-zhi, SUI Hai-juan, ZHANG Ling-ling, et al. Effects of hesperidin on functional dyspepsia gastrointestinal motility of rats and the expression of Ghrelin [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2014, 30(2): 30-34