

白术茯苓汤中用生白术或熟白术对湿困脾阻模型大鼠的影响[△]

吴 慧^{1*}, 赵文龙¹, 单国顺¹, 贾天柱^{1,2#} (1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)07-0587-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.07.04

摘要 目的: 研究白术茯苓汤中用生白术或熟白术对湿困脾阻模型大鼠的影响。方法: 复制大鼠湿困脾阻模型。50只SD大鼠分为正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、白术茯苓汤(生, 8 g/kg)组、白术茯苓汤(熟, 8 g/kg)组、平胃散(8 g/kg)组。测量大鼠体质量、腹围、腿围、平均进食量、饮水量, 检测大鼠血清Na⁺-K⁺-ATP酶活性, 神经降压素(NT)、P物质(SP)、血管活性肠肽(VIP)含量。结果: 与正常对照组比较, 模型组大鼠体质量减少, 腹围、腿围增加, 平均进食量、平均饮水量减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 大鼠血清Na⁺-K⁺-ATP酶活性减弱, SP含量减少, NT、VIP含量增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较, 白术茯苓汤(生)组大鼠体质量增加、腹围减少, 平均进食量、平均饮水量增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 大鼠血清Na⁺-K⁺-ATP酶活性增强, NT、VIP含量减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 生白术之白术茯苓汤对湿困脾阻模型大鼠的保护作用较熟白术之白术茯苓汤为好, 其作用机制可能是通过同时调节Na⁺-K⁺-ATP酶、NT及胃肠激素(SP、VIP)的分泌而达到治疗湿困脾阻的目的, 白术茯苓汤中的生白术不可用熟白术替代。

关键词 白术; 白术茯苓汤; 湿困脾阻; Na⁺-K⁺-ATP酶; 神经降压素; P物质; 血管活性肠肽

Effects of Baizhu Fuling Tang with Raw *Atractylodes macrocephala* or Processed *A. macrocephala* on Spleen Disorder due to Dampness Model Rats

WU Hui¹, ZHAO Wen-long¹, SHAN Guo-shun¹, JIA Tian-zhu^{1,2} (1. School of Pharmacy, Liaoning University of TCM, Liaoning Dalian, 116600, China; 2. Chinese Material Processing Engineering Center of Liaoning Province, Liaoning Dalian 116600, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effects of Baizhu fuling tang with raw *Atractylodes macrocephala* or processed *A. macrocephala* on control disorder due to dampness model rats. **METHODS:** Spleen disorder due to dampness model was established. 50 SD rats were divided into normal control group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), Baisu fuling tang group (raw *A. macrocephala*, 8 g/kg), Baizhu fuling tang group (processed *A. macrocephala*, 8 g/kg) and Pingwei powder group (8 g/kg). Body weight, abdominal perimeter, leg perimeter, average food-intake and the amount of drinking water were all determined; the activity of Na⁺-K⁺-ATP enzyme was detected; the contents of NT, SP and VIP were measured. **RESULTS:** Compared with normal control group, body weight of rats decreased significantly in model group, while abdominal perimeter and leg perimeter increased significantly; average food-intake and the amount of drinking water decreased significantly; there was statistical significance ($P < 0.05$); the activity of Na⁺-K⁺-ATP enzyme and SP content in serum decreased significantly, while the contents of NT and VIP increased significantly; there was statistical significance ($P < 0.05$). Compared with model group, body weight, average food-intake and the amount of drinking water of rats in Baizhu fuling tang group (raw *A. macrocephala*) increased significantly, while abdominal perimeter decreased significantly; there was statistical significance ($P < 0.05$). The activity of Na⁺-K⁺-ATPase in serum increased significantly, while the contents of NT and VIP decreased significantly; there was statistical significance ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS:** Baizhu fuling tang with raw *A. macrocephala* is better than that with processed *A. macrocephala* in the treatment of spleen disorder due to dampness. Its mechanism may be associated with the secretion regulation of Na⁺-K⁺-ATP enzyme, NT, SP and VIP. Raw *A. macrocephala* in Baisu fuling tang can not be replaced by processed *A. macrocephala*.

KEYWORDS *Atractylodes macrocephala*; Baizhu fuling tang; Spleen disorder due to dampness; Na⁺-K⁺-ATP enzyme; NT; SP; VIP

白术味苦、甘, 性温, 归脾、胃经, 具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎的功效。生白术以健脾燥湿、利水消肿为主, 多

用于痰饮、水肿、风湿痹痛; 熟白术(又称熟白术)以健脾消食、和胃作用为主, 用于治疗脾胃不和、运化失常、食少胀满^[1-2]。

中药饮片的炮制作用, 除了直接研究其化学成分和药理药效的变化外, 还应该进行间接层次的研究。所以, 为了深入比较生、熟白术的作用, 笔者在国家中医药行业专项“生、熟异用饮片临床规范使用研究”课题中首次提出新的研究思路: 将生、熟饮片纳入方剂进行研究, 将相同饮片纳入不同方剂, 将

△ 基金项目: 中医药行业科研专项项目(No.201107007)

* 硕士研究生。研究方向: 中药炮制。E-mail: wuhui611@126.com

通信作者: 教授, 博士研究生导师。研究方向: 中药炮制。电话: 0411-87586499。E-mail: jiatz@lnutcm.edu.cn

不同饮片纳入相同方剂,进而深入比较研究,力图揭示两者在方剂中的作用差别,解释其炮制作用和配伍作用,从更深层次阐释中药炮制的意义。

白术茯苓汤由白术(生)、茯苓组成,二药配伍应用始见于张仲景的《伤寒杂病论》,明代徐春甫命名为白术茯苓汤而载入《古今医统大全》,谓“白术茯苓汤治湿泻”。现代临床上主要用于治疗脾虚湿滞、肝脾不和等证^[3]。笔者将生白术、熟白术同时纳入白术茯苓汤中进行研究,制成生白术之白术茯苓汤(生白术、茯苓)和熟白术之白术茯苓汤(熟白术、茯苓),分别观察其对湿困脾阻模型大鼠水电盐代谢及胃肠激素分泌的影响,以期进一步说明白术的炮制作用。

1 材料

1.1 仪器

YP5102型电子天平(上海光正医疗仪器有限公司);101型电热鼓风干燥箱(北京市永光明医疗仪器厂);FA10048型万分之一天平(上海精密科学仪器有限公司);手提式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司);UV-3100型紫外-可见分光光度仪(上海分析仪器总厂);B型离心机(上海安亭科学仪器有限公司);移液枪、Multiskan FC型酶标仪[赛默飞世尔仪器(中国)有限公司]。

1.2 药材

白术(批号:111018)、茯苓(批号:120716)、苍术(批号:120203)、厚朴(批号:120104)、陈皮(批号:120104)、甘草(批号:110608)饮片,均购自安徽济人药业有限公司。

1.3 试剂

Na⁺-K⁺-ATP酶试剂盒、神经降压素(NT)试剂盒、血管活性肠肽(VIP)试剂盒、P物质(SP)试剂盒(美国RD公司)。

1.4 动物

清洁级SD大鼠,♂,体质量180~220 g,由辽宁长生生物技术有限公司提供[实验动物使用许可证号:SCXK(辽)2010-0001]。

2 方法

2.1 药物的制备

2.1.1 熟白术^[1] 先将炒制容器中火加热至均匀撒入麦麸10 g即刻烟起,随之投入净白术饮片100 g,不断翻炒,至白术呈焦黄色,逸出香气,取出,筛去麦麸,放凉,即得。

2.1.2 白术茯苓汤的制备^[4] 取生白术、茯苓饮片(1:1, m/m)适量,加10倍量的水浸泡30 min,煎煮2次,每次15 min;将2次滤液合并,减压浓缩至0.4 g/ml,4℃贮藏,备用。同法制得熟白术之白术茯苓汤。用生白术者称白术茯苓汤(生),用熟白术者称白术茯苓汤(熟)。

2.1.3 平胃散的制备^[5-6] 处方为苍术15 g,陈皮9 g,厚朴9 g,甘草4 g,生姜2片,大枣2枚。取2倍处方量的药材,加10倍量的水浸泡30 min,煎煮2次,每次15 min;将2次滤液合并,减压浓缩至0.4 g/ml,4℃贮藏,备用。

2.2 复制模型与分组、给药

大鼠每天定时放入水深20 cm、水温25~27℃的水槽中游泳15 min,待其游泳完毕,立即ig 4℃蒸馏水2 ml/100 g,然后将其置于笼底积有4 mm水的养笼中饲养,自由进食饮水。上述过程每日1次,连续7 d,复制湿困脾阻模型。50只SD大鼠随机均分为5组,即正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、平胃散(8 g/kg)组、白术茯苓汤(生,8 g/kg)组、白

术茯苓汤(熟,8 g/kg)组。ig给药,每天1次,连续7 d。

2.3 指标的测定^[7]

记录复制模型前后大鼠体质量、腹围、腿围及当日内每只大鼠的平均进食量、饮水量。末次给药前各组大鼠禁食不禁水24 h,末次给药后大鼠眼眶静脉取血,以离心半径8 cm、3 000 r/min离心15 min,分离血清,测定血清中Na⁺-K⁺-ATP酶活性及NT、SP、VIP的含量,具体操作按照试剂盒内说明进行。

2.4 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS19.0软件处理分析实验数据。多组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以LSD法进行统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 白术茯苓汤对模型大鼠体质量、腹围、腿围、进食量、饮水量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠体质量减少,腹围、腿围增加,平均进食量、饮水量减少,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);与模型组比较,白术茯苓汤(生)组大鼠体质量增加,腹围减小,平均进食量、饮水量增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。白术茯苓汤对模型大鼠体质量、腹围、腿围、平均进食量、平均饮水量的影响分别见表1、表2。

表1 白术茯苓汤对模型大鼠体质量、腹围、腿围的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Influence of Baizhu fuling tang on body weight, abdomen circumference and crura circumference of model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量,g/kg | 体质量,g | 腹围,cm | 腿围,cm |
|-----------|---------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 正常对照组 | | 213.95 ± 4.38 | 14.61 ± 0.65 | 5.92 ± 0.27 |
| 模型组 | | 196.64 ± 5.52** | 15.47 ± 0.31* | 6.44 ± 0.26* |
| 白术茯苓汤(生)组 | 8 | 207.05 ± 7.21 [#] | 14.71 ± 0.20 [#] | 6.05 ± 0.33 |
| 白术茯苓汤(熟)组 | 8 | 204.33 ± 4.21 | 15.10 ± 0.26 | 6.08 ± 0.28 |
| 平胃散组 | 8 | 208.00 ± 5.03 [#] | 14.69 ± 0.30 [#] | 5.96 ± 0.30 [#] |

与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较: * $P < 0.05$

vs. normal control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. model group: * $P < 0.05$

表2 白术茯苓汤对模型大鼠平均进食量、平均饮水量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Influence of Baizhu fuling tang on average food-intake and water intake of model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量,g/kg | 平均进食量,g | 平均饮水量,ml |
|-----------|---------|---------------------------|-------------------------|
| 正常对照组 | | 26.72 ± 1.12 | 58.3 ± 4.9 |
| 模型组 | | 16.25 ± 0.80* | 19.8 ± 3.6* |
| 白术茯苓汤(生)组 | 8 | 22.8 ± 2.56 [#] | 36.6 ± 5.2 [#] |
| 白术茯苓汤(熟)组 | 8 | 22.55 ± 3.43 [#] | 32.8 ± 4.5 [#] |
| 平胃散组 | 8 | 24.6 ± 2.76 [#] | 39.8 ± 2.4 [#] |

与正常对照组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: * $P < 0.05$

vs. normal control group: * $P < 0.05$; vs. model group: * $P < 0.05$

3.2 白术茯苓汤对模型大鼠血清Na⁺-K⁺-ATP酶活性及NT、SP、VIP含量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清Na⁺-K⁺-ATP酶活性减弱,NT、VIP含量增加,SP含量减少,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);与模型组比较,白术茯苓汤(生)组大鼠血清Na⁺-K⁺-ATP酶活性增强,NT、VIP含量减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。白术茯苓汤对模型大鼠血清Na⁺-K⁺-ATP酶活性

及NT、SP、VIP含量的影响见表3。

表3 白术茯苓汤对模型大鼠血清Na⁺-K⁺-ATP酶活性及NT、SP、VIP含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 3 Influence of Baizhu fuling tang on the activity of Na⁺-K⁺-ATP enzyme, the contents of NT, SP and VIP of model rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

| 组别 | 剂量, g/kg | Na ⁺ -K ⁺ -ATP酶, U/ml | NT, ng/L | SP, ng/L | VIP, ng/L |
|-----------|----------|---|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 正常对照组 | | 127.58 ± 19.19 | 57.22 ± 2.81 | 293.56 ± 12.49 | 215.20 ± 20.52 |
| 模型组 | | 94.89 ± 11.41** | 69.14 ± 6.36** | 187.66 ± 17.96** | 254.39 ± 11.05* |
| 白术茯苓汤(生)组 | 8 | 120.08 ± 7.53 [†] | 58.44 ± 3.64 [†] | 214.59 ± 23.77 | 219.92 ± 20.32 [†] |
| 白术茯苓汤(熟)组 | 8 | 113.86 ± 4.78 | 67.46 ± 7.23 | 211.53 ± 21.18 | 256.39 ± 19.04 |
| 平胃散组 | 8 | 122.11 ± 13.27 ^{##} | 56.48 ± 3.41 ^{##} | 238.04 ± 17.81 [†] | 191.86 ± 28.13 ^{##} |

与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [†] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

vs. normal control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. model group: [†] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

4 讨论

“湿”是临床上最常见的病因之一,既可外感,又可内生。中医认为湿为阴邪,其性黏滞,最易阻碍气机而致中焦升降失司。湿邪产生后导致机体的水液运化失调,尤其对中焦脾胃的影响最为明显,水湿停滞,水谷不运,中焦脾胃不健,从而出现湿困脾阻^[8]。本研究采用外湿的方法复制模型,模型组大鼠与正常对照组比较体质量减轻,进食量及饮水量明显下降,腹围和腿围增加,同时出现活动明显减少、倦卧疲乏、毛发松散、便溏等症状,表明该方法复制模型后,大鼠形成标本本虚之湿困脾阻证。用药后,大鼠毛发色泽、大便质地有较大程度的恢复,且其体质量、进食量、饮水量增加,腿围、腹围均减小,大鼠的湿困脾阻状态有所改善,说明生、熟白术之白术茯苓汤对湿困脾阻模型大鼠有一定改善作用。

Na⁺-K⁺-ATP酶是生物体内广泛存在着的一种重要的膜酶,其主要功能是将细胞内钠离子运送到细胞外,将细胞外钾离子转送到细胞内,维持着细胞内、外离子的正常分布和渗透压平衡,进而维持细胞内外的水平衡^[9]。NT是一种含有13个氨基酸残留的单链多肽,具有增加毛细血管通透性、扩张血管、调节小肠电解质转运、增加细胞内Ca²⁺、激活K⁺通道的作用^[5]。本研究观察到生、熟白术之白术茯苓汤均能增强Na⁺-K⁺-ATP酶的活性,但白术茯苓汤(生)组作用较白术茯苓汤(熟)组明显;生、熟白术之白术茯苓汤均能降低NT的含量,抑制NT的恢复,但白术茯苓汤(生)组作用较白术茯苓汤(熟)组明显。提示生白术之白术茯苓汤能更好地通过提高钠钾泵的活性来维持细胞内、外的水平衡,抑制NT的恢复,降低毛细血管通透性,减少组织水肿,起到燥湿的作用,而熟白术之白术茯苓汤的作用较弱,说明白术茯苓汤在用于治疗湿困脾阻时,其中的生白术不可用熟白术替代。

SP是由11个氨基酸组成的脑肠肽,其分泌细胞分布于全部胃肠道,是一种兴奋性胃肠激素,具有刺激胃肠平滑肌运动的作用^[9-11]。VIP是一个直链28肽,广泛存在于消化道及神经组织中,是一种抑制性胃肠激素,具有抑制胃肠平滑肌、抑制胃酸分泌的作用^[12-15]。本研究,生、熟白术之白术茯苓汤均能促进SP的分泌,但两者无明显作用;生、熟白术之白术茯苓

汤均能降低VIP的含量,但生白术之白术茯苓汤作用较熟白术之白术茯苓汤明显。提示白术茯苓汤用于治疗湿困脾阻可能是通过促进SP分泌、抑制VIP分泌实现的。

生白术偏于健脾燥湿、利水消肿,熟白术偏于健脾消食、和中缓胃,将两者纳入方剂(白术茯苓汤)生、熟异用后,生白术之白术茯苓汤治疗湿困脾阻作用较熟白术之白术茯苓汤好,可见生白术与茯苓配伍,更能增强燥湿健脾、利水消肿之功。生、熟白术饮片在白术茯苓汤中的作用表现出了其功能的差异性,更显示了中药炮制的意义。

参考文献

- [1] 贾天柱. 中药炮制学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008: 107.
- [2] 沈国庆, 张宏桂. 白术挥发油提取方法改进[J]. 中国药房, 2007, 18(27): 2112.
- [3] 彭腾, 贾波, 邱建平, 等. 白术茯苓汤不同提取方法对脾虚大鼠血管活性肠肽的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7): 1685.
- [4] 罗云波, 贾波, 祝捷, 等. 白术茯苓汤及水煎液提取分离组分对脾气虚大鼠VIP受体的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(5): 1045.
- [5] 黄秀深, 贾波, 张丰华. 平胃散拆方研究对湿阻模型ALD、ANF、NT的结论分析[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 10(24): 140.
- [6] 刘德芳, 黄秀深, 张丰华, 等. 大鼠湿阻中焦证的水盐代谢调节机制[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(1): 2.
- [7] 邱赛红, 陈立峰, 柳克铃, 等. 芳香化湿药开胃作用机制的实验研究Ⅱ: 对湿困动物模型的影响[J]. 中药药理与临床, 1997, 13(2): 1.
- [8] 黄秀深, 赵燕, 张力华, 等. 中焦湿阻证大鼠红细胞膜Na⁺-K⁺-ATP酶活性研究[J]. 成都中医药大学学报, 2000, 23(4): 23.
- [9] 郑学宝, 叶秋丽, 戴世学, 等. 枳术汤对脾虚便秘小鼠P物质和降钙素基因相关肽基因的靶向调控[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2008, 16(3): 155.
- [10] 麻晓慧, 缪红, 程建军, 等. 枳术丸煎剂和枳术汤对大鼠P物质的影响[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7): 1605.
- [11] 张忠兵, 张学庸, 陈希陶, 等. 脾虚泄泻患者肠黏膜中SP和VIP初步探讨[J]. 中西医结合杂志, 1991, 11(3): 144.
- [12] 徐伟, 赵亚华, 孔洁. 血管活性肠肽研究进展[J]. 药物生物技术, 2002, 9(6): 364.
- [13] 贾波, 邓中甲, 黄秀深, 等. 白术茯苓汤不同配伍对脾虚大鼠胃泌素、胃动素、血管活性肠肽的影响[J]. 中医杂志, 2002, 43(12): 939.
- [14] 程晓雯, 郑清华, 李小玲, 等. 血管活性肠肽与某些胃肠动力紊乱性疾病的内在关联研究进展[J]. 中国全科医学, 2012, 15(3): 237.
- [15] 贾波, 罗云波, 祝捷, 等. 白术茯苓汤提取分离组分对脾气虚大鼠VIP的影响[J]. 陕西中医, 2009, 30(12): 1674.

(收稿日期: 2013-04-07 修回日期: 2013-06-03)