

# 白术配伍人参前后挥发油调控慢性萎缩性胃炎大鼠 AQP 3、4 表达的比较研究

夏佳, 杨雨, 张世洋, 万彦, 吴姣姣, 许金凤, 唐飞, 敖慧\*

成都中医药大学药学院, 成都 611137

**摘要:**为探究参术药对配伍治疗慢性萎缩性胃炎的增效机制, 本文就白术配伍人参前后挥发油成分物质基础变化及对慢性萎缩性胃炎大鼠胃组织水通道蛋白 3(AQP 3)、水通道蛋白 4(AQP 4) 的影响进行了比较研究。采用水蒸气蒸馏法提取人参白术配伍前后挥发油, 以 GC-MS 法表征挥发油化学特征, 并随机将大鼠分成空白组、模型组、白术挥发油组及配伍挥发油组, 使用 MNNG 建立慢性萎缩性胃炎模型, 给药后观察各组胃黏膜组织显微、超微结构变化以及 AQP 3、AQP 4 的表达。结果显示, 白术配伍人参后挥发油的提取量升高, 经 GC-MS 测定, 配伍后苍术酮相对含量降低, 新增少量人参挥发油成分。显微及超微观察显示, 模型组大鼠胃组织黏膜折叠皱起, 黏膜层和固有层腺体萎缩严重, 胃小凹形态改变, 上皮细胞破损, 炎症细胞大面积浸润, 且病理评分明显高于正常组 ( $P < 0.05$ ); 各药物组与模型组相比, 均缓解或改善上述病理结果, 且配伍挥发油组表现更优。免疫组化结果显示, 模型组大鼠胃黏膜 AQP 3、AQP 4 表达明显低于空白组 ( $P < 0.05$ ); 相较模型组, 各药物组对胃黏膜 AQP 3、AQP 4 蛋白的表达有增加趋势或明显增加, 且配伍挥发油组优于白术挥发油组。上述结果表明, 白术配伍人参前后挥发油对慢性萎缩性胃炎均具有治疗作用, 且配伍后效果更佳。其增效机制可能与苍术酮比例的减少、人参挥发油成分的少量加入及 AQP 3、AQP 4 表达的上调相关。

**关键词:**白术; 人参; 配伍; 水通道蛋白; 慢性萎缩性胃炎

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022)1-0033-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.1.005

## Comparative study on the regulation of volatile oil of Rhizoma Atractylodis Macrocephalae on AQP 3 and 4 in rats with chronic atrophic gastritis before and after compatibility with Ginseng Radix et Rhizoma

XIA Jia, YANG Yu, ZHANG Shi-yang, WAN Yan, WU Jiao-jiao, XU Jin-feng, TANG Fei, AO Hui\*

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

**Abstract:** To explore the synergistic mechanism of Rhizoma Atractylodis Macrocephalae (RAM) combined with Ginseng Radix et Rhizoma (GRR) in the treatment of chronic atrophic gastritis (CAG), this article comparatively studied the composition of volatile oil RAM and volatile oil after RAM combined with GRR and their effects on expressions of aquaporin (AQP) 3 and AQP 4 in gastric tissue of rats with CAG. The volatile oil of RAM and the volatile oil after RAM combined with GRR were extracted by steam distillation, and characterized by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) technology. Rats were randomly divided into blank group, model group, RAM volatile oil group and compatible volatile oil group. MNNG was used to establish the CAG model. The microscopic and ultrastructural changes of the gastric mucosa and the expression of AQP 3 and AQP 4 in each group were observed after administration. The results showed that the amount of volatile oil extracted from RAM was increased when combined with GRR. According to the records of GC-MS, the relative contents of atractylone was decreased after combination, and a small amount of GRR volatile oil was added. Microscopic and ultramicroscopic observations showed that gastric mucosa of rats in the model group were folded and wrinkled, and the glands in the mucosal surface and

收稿日期: 2021-07-19

接受日期: 2021-10-19

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81503272); 四川省中医药管理局项目 (2020JC0031)

\* 通信作者 E-mail: aohui2005@126.com

lamina propria were atrophied seriously, resulting in the morphological changes of gastric pits and damage of epithelial cells. In addition, gastric mucosa was accompanied by extensive infiltration of inflammatory cells, so the pathological score was significantly higher than that of the normal group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the two administration groups improved the above pathological results, and the compatible volatile oil group performed better. The immunohistochemistry results showed that expression of AQP 3 and AQP 4 in the gastric mucosa of the model group was significantly lower than that of the blank group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, expressions of AQP 3 and AQP 4 protein in the gastric mucosa of each drug group tended to increase or significantly increase, and the compatible volatile oil group is better than the RAM volatile oil group. The above results indicated that the volatile oil of RAM before and after combined with GRR had therapeutic effects on CAG, and the oil after combination possessed better effects. The increasing efficiency might be due to the decrease of the ratio of atractylone the addition of a small amount of GRR volatile oil and the up-regulation of AQP 3 and AQP 4 expression.

**Key words:** Rhizoma Atractylodis Macrocephalae; Ginseng Radix et Rhizoma; compatibility; aquaporin; chronic atrophic gastritis

配伍是中药临床给药的主要特点之一。通过合理配伍和适当煎煮,中药饮片的物质基础将发生一定程度的变化,从而达到增效减毒的目的<sup>[1]</sup>。其具体机制可通过经典药对有效部位或有效部位群配伍前后物质基础和生物活性的变化加以科学阐释。

传统中医认为,慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)的基本病机为脾胃气虚<sup>[2]</sup>。临床常治以健脾益气药物。单一药物疗效往往并不理想,多以相须药对配伍而协同增效。人参白术是临床治疗脾胃虚证的主要药对<sup>[3]</sup>,白术健脾益气、燥湿利水,配伍补脾益气、养阴生津的人参,润燥相济,相须为用。研究发现,以人参白术为主要药物组成的方剂能显著治疗慢性萎缩性胃炎,如四君子汤<sup>[4]</sup>和桂枝人参汤<sup>[5]</sup>,两方中两药均以1:1等量配伍。白术挥发油是白术的主要活性成分,有促进胃肠运动、抗炎、抗肿瘤等作用<sup>[6,7]</sup>。但是否可作为治疗慢性萎缩性胃炎的物质基础目前仍未可知。

水通道蛋白(aquaporins, AQPs)与机体的水液代谢调节相关。据报道,AQP 3、AQP 4的表达减弱会导致体内水分丢失,加重CAG胃黏膜腺体萎缩程度<sup>[8]</sup>。由此可见,AQP 3、AQP 4的表达异常可能是脾失运化水液的分子生物学基础,也可能是CAG的产生机制之一<sup>[9]</sup>。故白术挥发油配伍人参前后是否通过上调AQP 3、AQP 4表达来达到治疗慢性萎缩性胃炎及增效的目的亦有待研究证实。

基于此,本实验采用气质联用技术、电镜技术和免疫组化技术比较研究白术与人参配伍前后挥发油成分的物质基础和生物活性(显微结构、超微结构和AQP 3、AQP 4表达)的影响,揭示中药合理配伍的科学内涵。

## 1 材料

### 1.1 主要试验药物与试剂

白术干燥根茎和人参干燥根:购于成都国际商贸城中药材市场,已由成都中医药大学陈璐副教授鉴定并确认。1-甲基-3-硝基-1-亚硝基-胍(MNNG)(批号:NH8JH-DR,东京化成工业株式会社);兔抗鼠Aquaporin3(AQP3)、Aquaporin4(AQP4)多克隆抗体(批号:AB5300211、HPA015784)(美国Abcam公司);DAB显色试剂盒(批号:AR1022,武汉博士德生物工程有限公司);山羊抗鼠IgG二抗(批号:170725,赛默飞世尔科技公司);正己烷(批号:2015111701)、羧甲基纤维素钠(批号:2014033101)和无水硫酸钠(批号:2015051801)均购自成都市科龙化工试剂厂。

### 1.2 动物

SPF级SD大鼠(180 g~220 g),雌雄各半,四川省中医药科学院研究所提供,生产许可证号:SCXK(川)2013-15。

### 1.3 主要仪器与设备

BX53显微镜和CCD DP73显微镜成像系统(日本奥林巴斯公司);E-1045离子溅射装置(日本株式会社日立高新技术事务所);Inspect扫描电子显微镜(美国FEI);7890A-5975C气相色谱-质谱联用仪及GC-MSD工作站(美国安捷伦科技公司)。

## 2 方法

### 2.1 挥发油的提取与制备

在水蒸气蒸馏提取器中分别放入900 g白术粉末及白术人参(比例1:1,各900 g)混合粉末,掺入8倍水量摇匀,置于电热套中煎煮8 h,整个过程保持微沸状态,至不再出油后,分离挥发油,回收上层油

状物,多余水分加入适量的无水硫酸钠去除,最后分别采集白术挥发油和配伍后挥发油,密封后存于4℃冰箱,记录挥发油的提取量。

## 2.2 GC-MS 分析

### 2.2.1 供试品溶液的制备

分别向1 mL正己烷中加入20 μL上述挥发油,通过微孔膜过滤后,将其置于气体样品瓶中,作为气相色谱-质谱法(GC-MS)的样品。

### 2.2.2 色谱质谱条件

HP-5-MS 型号毛细管质谱柱(30 m×250 μm×0.25 μm);以高纯氦气作为载气,体积流量每分钟1 mL;离子源温度230℃;采用程序升温法,将初始温度设定为到100℃,以3℃每分钟将温度升高至120℃,并保持20 min,再以3℃每分钟将温度升高至220℃;以分流比1:20进样;注入量1 μL;全扫描模式扫描;电离方式EI,电子能量70 eV。

## 2.3 CAG 模型制备、分组及给药

将SD大鼠分为4组,分别为空白组、模型组、白术挥发油组(RAM)及白术人参配伍挥发油组(RAM-GRR),每组8只。其中模型组与各药物组皆用1-甲基-3-硝基-1-亚硝基-胍(MNNG)建立CAG模型<sup>[10]</sup>,使用含浓度为166.67 mg/L MNNG的蒸馏水代替大鼠日常饮用水,自由饮食70天。造模结束前随机抽取模型组大鼠,进行胃黏膜病变形态学检查,确认造模成功。白术挥发油和配伍后挥发油用含0.1%羧甲基纤维素钠的蒸馏水配制成生药量为0.15 g/mL的溶液备用(根据四君子汤中白术与人参(1:1)各9 g的剂量,换算为动物给药剂量配置)。白术挥发油组给予配伍前挥发油20.1 mg/kg灌胃,配伍后挥发油组给予配伍后挥发油22.5 mg/kg灌胃,给药体积为10 mL/kg,每日1次,持续60日,给药最后一日,用10%水合氯醛麻醉大鼠,快速剖取胃组织,部分放入10%甲醛溶液固定,用于HE染色和免疫组化,部分放入4-戊二醛固定,用于电镜观察。

## 2.4 胃黏膜组织病理学检查

取出用10%甲醛溶液固定的胃组织,石蜡包埋切片。HE染色后,使用显微镜观察切片并评分。评分等级以我国制定的标准与悉尼系统直观模拟评分法并用而定<sup>[11,12]</sup>。按炎症细胞侵袭和散布程度划分:炎症细胞弥漫侵袭,多面积肿大隆起,计为4分;呈灶性分布的炎症细胞大量侵袭,计为3分;固有膜以下2/3部位被炎症细胞多灶性侵袭,计为2分;

固有膜浅层少量炎症细胞(以浆细胞和淋巴细胞为主)侵袭,计为1分;未见或偶见炎症细胞,计为0分。以黏膜固有层及腺体萎缩程度作为评分标准:胃窦部和大小弯原有腺体大面积或完全萎缩,黏膜变薄明显(重度),计为4分;胃窦部2/3腺体萎缩和数量减少,大小弯腺体也部分萎缩(中度),计为3分;胃窦部表层腺体小面积萎缩和数量减少,计为2分;少量胃窦部浅表腺体细胞体积缩小,计为1分;腺体紧密排列,未见萎缩,计为0分。病理学炎症评分结果为两者得分之和。

## 2.5 胃黏膜扫描电镜检查

磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤胃组织,5 min/次,共2次,用蔗糖溶液冲洗5 min,再用一系列梯度乙醇(30%、50%、70%、90%、100%)脱水,10 min/梯度。将组织样品轻贴于导电粘合剂上,临界点干燥,真空喷镀,电镜下进行观察。

## 2.6 免疫组织化学染色分析

将10%甲醛溶液处理的胃组织石蜡包埋切片(5 μm)进行脱蜡;放于枸橼酸盐缓冲液进行抗原修复,后用PBS洗涤,加入3%的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>去除内源性过氧化氢酶活性,再用山羊血清进行15 min的封闭;甩干封闭液,孵育一抗,4℃过夜,复用PBS洗涤,干燥后滴加二抗,处于室温孵育1 h,DBA显色,双蒸水冲洗,终止显色反应,用苏木精复染,盐酸酒精分化,脱水,干燥,封片,显微镜观察目标蛋白表达并采集图像。使用半定量法评分,每张切片通过高倍镜观察并随机选取10个视野,每个视野记录100个细胞,最后再结合阳性细胞占比和显色程度进行判定<sup>[13]</sup>:①以阳性细胞在同类细胞中的百分占比评分:占比75%以上,4分;处于50%至75%之间,3分;处于10%至50%之间,2分;占比10%以内,1分;无占比,0分。②根据细胞染色强度评分:色深棕—3分;色棕黄—2分;色浅黄—1分;不显色—0分。两者乘积为目标蛋白表达强度。

## 2.7 统计方法

采用软件SPSS 21.0对结果进行统计分析,数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,使用Kruskal-Wallis测试和分析等级数据组之间的比较,其余数据通过单因素方差分析比较,检验方法为SNK法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 挥发油提取量

白术挥发油与配伍后挥发油的提取量分别为

12.06 mL 和 13.50 mL, 配伍后挥发油提取量升高。

### 3.2 GC-MS 测定结果

白术挥发油和配伍后挥发油总离子流图可见图 1。经 NIST14 质谱数据系统搜索和人工分析, 各组分的相对比例采用峰面积归一化方法确定, 详见表 1。

由表 1 可见, 苍术酮是白术配伍人参前后挥发油中相对含量最高成分, 在白术挥发油中占比 51.67%, 而在配伍后挥发油中占比 45.94%, 经配伍后苍术酮相对含量降低。除苍术酮外, 烯类化合

物是共煎煮前后挥发油中相对含量和种类均较大的一类成分。其中, 人参炔醇(1.01%)、 $\alpha$ -古芸烯(0.76%)、 $\beta$ -人参烯(0.61%)、异长叶烯(0.59%)、双环吉马烯(0.59%)和(E)- $\beta$ -金合欢烯(0.39%)等是配伍后人参挥发油的少量加入成分。与白术挥发油相对比, 配伍后挥发油中茴香脑和  $\gamma$ -榄香烯相对含量升高, 苍术酮、桉叶烷-3,7(11)-二烯、二十一烷、二十二烷的相对含量降低, 其中苍术酮成分相对含量差异量最大。

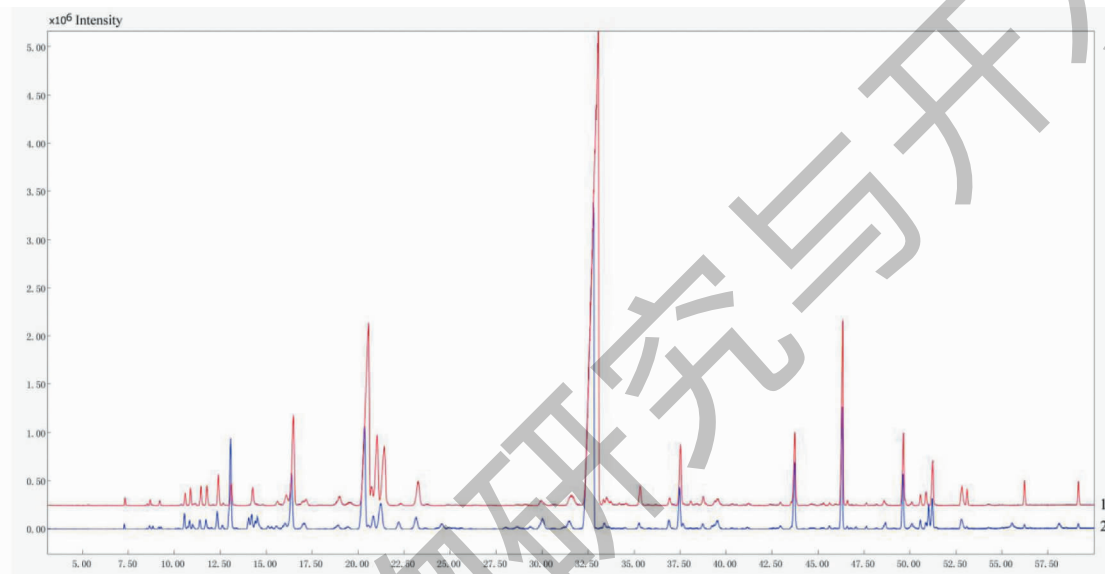


图 1 白术配伍人参前后挥发油总离子流图

Fig. 1 The volatile oil of RAM before and after compatible with GRR total ion current diagram

注: 1: 白术挥发油; 2: 配伍后挥发油。Note: 1: RAM volatile oil; 2: RAM-GRR volatile oil.

表 1 白术配伍人参前后主要挥发油成分的变化

Table 1 Changes of main volatile oil of RAM before and after compatibility with GRR

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物名称 Compound name	白术挥发油 相对含量 Relative content of RAM volatile oil (%)	配伍后挥发 油相对含量 Relative content of compatible volatile oil (%)	差异量 Difference value (%)
1	7.298	茴香脑 Anethole	0.11	0.12	0.01 ↑
2	10.539	$\beta$ -人参烯 $\beta$ -Panasinene	-	0.61	0.61
3	13.133	$\gamma$ -榄香烯 $\gamma$ -Elemene	0.62	4.89	4.27 ↑
4	14.039	异长叶烯 Isolongifolene	-	0.59	0.59
5	14.416	(E)- $\beta$ -金合欢烯 (E)- $\beta$ -Farnesene	-	0.39	0.39
6	14.510	$\alpha$ -古芸烯 $\alpha$ -Gurjunene	-	0.76	0.76
7	17.068	双环吉马烯 Bicyclogermacrene	-	0.59	0.59
8	20.697	(1aR)-1a $\beta$ , 甲基-2,3,3a,4,5,6,7b- $\beta$ 八氢 1,1,3a $\beta$ ,7-四甲基-1H-环丙[a]萘 (1aR)-1a $\beta$ ,2,3,3a,4,5,6,7b- $\beta$ -Octahydr-1,1,3a $\beta$ , 7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphthalene	0.70	-	0.70 ↓

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物名称 Compound name	白术挥发油 相对含量 Relative content of RAM volatile oil (%)	配伍后挥发 油相对含量 Relative content of compatible volatile oil (%)	差异量 Difference value (%)
9	21.009	桉叶烷-3,7(11)-二烯 Eudesma-3,7(11)-diene	3.35	1.02	2.33 ↓
10	22.280	大根香叶烯-b Germacrene-b	-	0.59	0.59
11	24.556	桉油烯醇 Espatulenol	-	0.54	0.54
12	33.038	苍术酮 Atractylone	51.67	45.94	5.73 ↓
13	48.790	棕榈酸 Palmitic acid	-	0.40	0.40
14	50.990	人参炔醇 Panaxynol	-	1.01	1.01
15	53.084	二十一烷 Heneicosane	0.35	-	0.35 ↓
16	56.207	二十二烷 Docosane	0.52	-	0.52 ↓

### 3.3 胃黏膜层组织病理学变化

如图 2 所示,空白对照组大鼠胃黏膜层无变薄现象,其上腺管排列整齐紧密,胃腺体中主壁细胞界限分明,没有或偶见炎细胞,且无坏死或水肿现象(见图 2A)。模型组大鼠在未给药处理状态下,表现出严重的胃黏膜萎缩和炎症(见图 2B)。具体表现为黏膜层变薄,黏膜固有层原有腺体数量减少或部分完全萎缩,代之以化生腺体;黏膜下层壁细胞及主细胞数量大量降低,间质成分相对增多,出现坏死及水肿,以淋巴细胞和浆细胞为主的炎细胞在胃黏膜大面积侵袭。与模型组相比,各药物组均使病理

结果得到缓解,具体表现为胃黏膜固有层中腺体变形数量减少以及炎细胞浸润降低(见图 2C、2D),且以配伍挥发油组表现最佳。

慢性萎缩性胃炎病理评分结果如表 2 所示,模型组病理评分显著高于空白组( $P < 0.05$ );各药物组病理评分均显著低于模型组( $P < 0.05$ ),且配伍挥发油组较白术挥发油组可能具有下降趋势。表明配伍前后挥发油可显著改善大鼠慢性萎缩性胃炎的病理状况,且配伍后挥发油的疗效较配伍前有一定提高趋势。

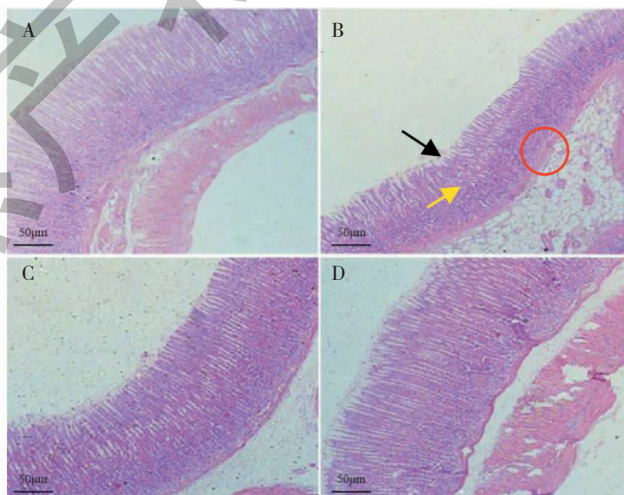


图 2 各组大鼠胃组织病理学变化(HE,40×)

Fig. 2 Pathological changes of rat stomach in each group (HE,40×)

注:A:空白组;B:模型组;C:白术挥发油组;D:配伍挥发油组。黑色箭头:黏膜层变薄;黄色箭头:黏膜固有层腺体萎缩;红圈:炎症因子及坏死分泌物。Note:A:Blank group;B:Model group;C:RAM volatile oil group;D:RAM-GRR volatile oil group. Black arrow: Mucosa becomes thinner; Yellow arrow: Atrophy of lamina propria glands; Red ring: Inflammatory factors and necrotic secretions.

表2 各组大鼠慢性萎缩性胃炎病理学炎症评分( $\bar{x} \pm s, n=8$ )Table 2 The pathological inflammatory score of chronic atrophic gastritis in each group of rats( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别 Groups	N	评分 Score
空白组 Blank group	8	0.000 ± 0.000 <sup>**#</sup>
模型组 Model group	8	6.875 ± 0.350 <sup>#</sup>
白术挥发油组 RAM volatile oil group	8	2.250 ± 0.840 <sup>**</sup>
配伍挥发油组 RAM-GRR volatile oil group	8	1.875 ± 0.581 <sup>**</sup>

注:与模型组相比,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ;与白术挥发油相比,<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

Note:Compared with model group,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ;Compared with RAM volatile oil,<sup>#</sup> $P < 0.05$ .

### 3.4 胃扫描电镜观察

电镜扫描结果如图3所示,正常组大鼠胃黏膜呈现出大量网状胃小区,由交叉纵横的小沟分隔而出,胃小凹大小均匀,其壁上附有类圆形且排列规则的上皮细胞(见图3A)。模型组大鼠胃黏膜折叠隆起,腺细胞表面不平滑,腺腔间黏膜增厚,且伴有局部黏膜剥脱现象,胃小凹开口变形显著,大小不等,

小凹壁上皮细胞萎缩,细胞表面大多破溃且糜烂(见图3B)。与模型组相比,各药物组大鼠胃黏膜细胞萎缩程度减轻,胃小凹形状和大小趋向规整,少量细胞破溃(见图3C、3D)。配伍挥发油组较白术挥发油组相比,萎缩程度较轻,上皮偶见脱落(见图3D)。

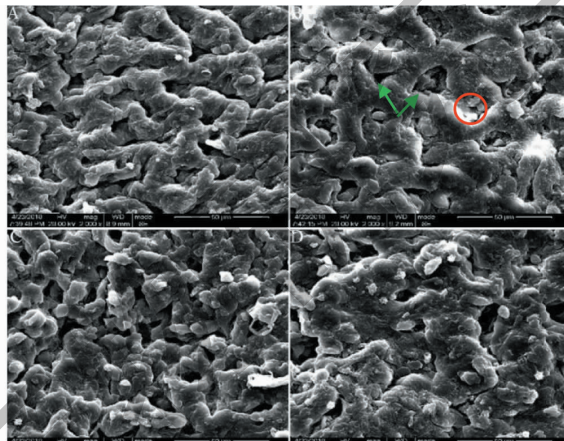


图3 大鼠胃黏膜扫描电镜观察结果(2 000 ×)

Fig. 3 Scanning electron microscope observation results of rat gastric mucosa (2 000 ×)

注:A:空白组;B:模型组;C:白术挥发油组;D:配伍挥发油组。绿色箭头:胃小凹大小不等;红圈:上皮细胞破溃糜烂。Note:A:Blank group; B:Model group;C:RAM volatile oil group;D:RAM-GRR volatile oil group. Green arrow:Gastric pits vary in size;Red ring:Epithelial cells broken erosion.

### 3.5 白术配伍人参前后挥发油成分对 AQP 3、AQP 4 表达的影响

结果如图4所示,空白组大鼠胃黏膜中 AQP 3、AQP 4 的表达显著高于模型组( $P < 0.05$ )。相较于模型组,白术挥发油组中仅 AQP 4 的表达显著升高( $P < 0.05$ );配伍挥发油组中 AQP 3、AQP 4 的表达均明显升高且具有统计学意义( $P < 0.05$ )。与白术挥发油组相比,配伍挥发油组 AQP 3、AQP 4 的表达可能具有升高趋势。结果表明白术配伍人参前后挥发油均可提高慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜 AQP 4 的表达,且配伍后挥发油还显著提高 AQP 3 表达,可见配伍后挥发油对 AQP 3 的总体增强效果优于白

术挥发油。

## 4 讨论

CAG 是多因素引起的慢性消化系统疾病,其发展为胃癌的风险极大<sup>[14]</sup>。在全球癌症统计数据中,胃癌的发病率和相关死亡率均位居前五<sup>[15]</sup>。因此,对 CAG 的诊治是预防胃癌发生发展的重要手段之一。中医认为,脾胃气虚是 CAG 的常见病机<sup>[2]</sup>,临床常以健脾益气的药物相济治疗<sup>[16]</sup>。经典药对白术人参润燥相济,健脾益气,常相须配伍治疗 CAG,临床疗效显著<sup>[4,5]</sup>。白术挥发油是参术药对的主要药效成分,故本研究比较白术配伍人参前后挥发油成分的物质基础和生物活性变化,探究两药配伍治

疗 CAG 的增效机制。

就挥发油提取量而言,配伍后挥发油提取量仅多于配伍前挥发油 1.44 mL,这既可能是配伍导致白术挥发油含量增加的表现,也可能是人参挥发油少量加入或是新成分产生的结果。为探究其物质基础变化原因,对配伍前后挥发油进行了 GC-MS 测定。与既往研究<sup>[17]</sup>类似的是,人参所含挥发油量极少,难以单独提取和测定。故本实验以白术挥发油和配伍后挥发油作为研究对象进行了测定和对比。测定结果显示,白术挥发油成分主要包含苍术酮、桉叶烷-3,7(11)-二烯、二十一烷、二十二烷等,其中苍术酮含量占比最多,高达 51.67%。与人参配伍后,苍术酮的相对含量降低至 45.94%,并有人参挥发油成分(人参炔醇 1.01%、 $\beta$ -人参烯 0.61%、 $\alpha$ -古芸烯 0.76%、异长叶烯 0.59% 和 (*E*)- $\beta$ -金合欢烯 0.39% 等)的少量加入<sup>[18,19]</sup>,表明白术经配伍后,其

活性成分的组成会因含量的增减或新成分的增加而不尽相同。配伍过程中,新成分的加入以及因煎煮温度、水分、含氧量等外在因素的影响而发生的物理或化学反应,可能是一定程度改变药效物质基础的重要原因<sup>[20]</sup>。目前普遍认为中药配伍后多组分通过多靶点、多通路,对病机进行干预和改善,可达到协同增效的目的。前期研究发现,参术配伍可通过增加皂苷含量及新成分的生成提升 CAG 疗效<sup>[21]</sup>,说明参术皂苷成分的变化有助于药效的增强,证实了配伍有助于中药多组分协同增效的观点。另外,挥发油成分也是参术药对的重要药效成分。有研究表明,白术与人参以 1:1 和 1:2 比例配伍后挥发油较白术挥发油具有更强的抗菌活性<sup>[22]</sup>。由此推测,白术配伍人参后挥发油可能由于化学组成改变使其治疗 CAG 的活性发生改变。但尚需动物实验给予证实。

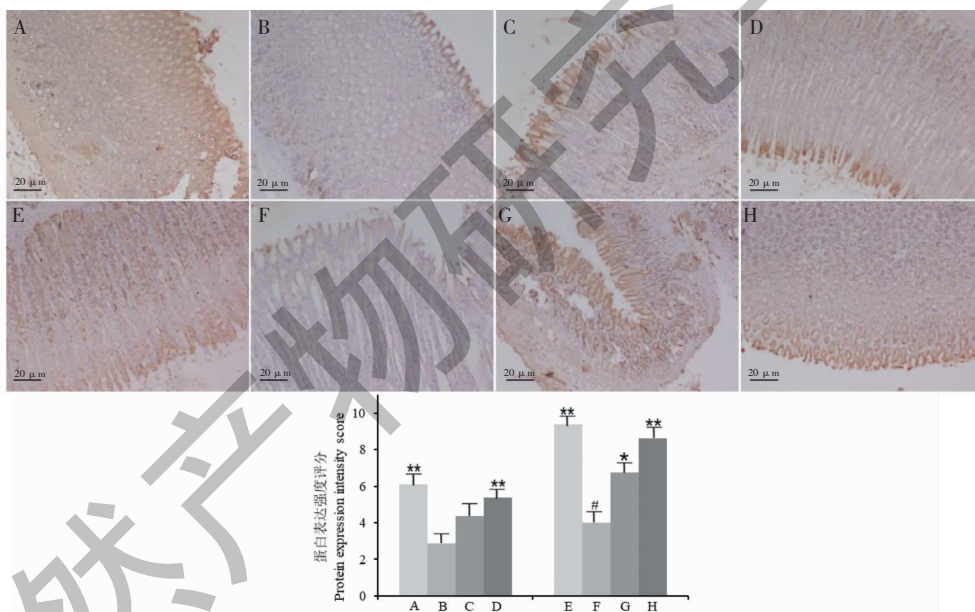


图4 各组大鼠胃黏膜 AQP 3、AQP 4 蛋白免疫组化(100×)及表达评分( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Fig. 4 Immunohistochemistry (100×) and expression scores ( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) of AQP 3 and AQP 4 protein in gastric mucosa of rats in each group

注:AQP 3:A、B、C、D;AQP 4:E、F、G、H;A、E:空白组;B、F:模型组;C、G:白术挥发油组;D、H:配伍挥发油组。与模型组相比,\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ;与白术挥发油组相比,# $P < 0.05$ 。Note:AQP 3:A、B、C、D;AQP 4:E、F、G、H;A、E:Blank group;B、F:Model group;C、G:RAM volatile oil group;D、H:RAM-GRR volatile oil group. Compared with model group,\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ;Compared with RAM volatile oil group,# $P < 0.05$ .

动物实验病理研究结果显示,相较模型组,各药物组胃黏膜腺体变形数量减少,萎缩程度明显减轻,胃小凹形状大小趋于规整,炎细胞浸润面积显著减小,胃组织病理评分亦显著降低( $P < 0.05$ ),且配伍

后挥发油组病理评分较白术挥发油组有下降的趋势。以上结果说明白术与人参配伍前后挥发油均呈现出较好的胃黏膜改善效果,且参术药对配伍后的疗效较配伍前有一定提高趋势。究其原因,前有研

究<sup>[8]</sup>表示,胃黏膜腺体萎缩是 CAG 的主要病理特点,由于炎症细胞(单核细胞和中性粒细胞为主)对胃黏膜的浸润和跨膜迁移加强细胞的通透性,导致水分流失引起。AQP3 与机体内水液平衡的调节密切相关,其中 AQP 3、AQP 4 在正常胃肠道组织中高表达,而在慢性萎缩性胃炎患者胃黏膜中低表达,这可能是胃黏膜水分丢失导致<sup>[9]</sup>。本实验免疫组化结果显示,与模型组相比较,白术挥发油组具有增强胃黏膜 AQP 3 表达的趋势,且显著提升 AQP 4 的表达( $P < 0.05$ );配伍挥发油组胃黏膜 AQP 3、AQP 4 的表达均显著提高( $P < 0.05$ )。由此可见,配伍后挥发油能增强 AQP 3、AQP 4 的表达,阻止水分从组织间隙到细胞内的减少,改善机体水液代谢的失调,并缓解 CAG 胃黏膜细胞萎缩等病理表现,说明 AQP 3 和 AQP 4 的表达失调既可以作为 CAG 发病机制之一,也可能成为 CAG 防治的靶点之一。结合物质基础研究结果,白术-人参配伍可能通过影响挥发油物质基础和水液代谢,从而增强健脾润燥功效,达到增强治疗慢性萎缩性胃炎疗效的目的。这一结果为阐明中药合理配伍的科学内涵提供了科学依据。

综上所述,白术挥发油可缓解慢性萎缩性胃炎大鼠的胃组织病理情况,与人参配伍后作用增强,其机制可能与苍术酮含量占比的降低、人参挥发油的少量加入及水通道蛋白 AQP 3、AQP 4 的表达增强有关。该研究结果从物质基础和药效机制层面阐明了参术药对配伍增效的科学内涵,为临床合理应用提供了依据,亦为类似相关中药配伍研究提供了参考。

#### 参考文献

- Li JB, Zhang L, Zhang J. Overview of drug pair compatibility theory and related research[J]. J Tradit Chin Med(中医杂志),2013,54:1335-1340.
- Liang LL, Zhang Q, Dai M. Discussion on TCM pathogenesis of chronic atrophic gastritis[J]. Med Inf(医学信息),2020,33(1):154-155.
- Zhang B. Research on the application rule of Rhizoma Atractylodis Macrocephalae in Shanghan Zabing Lun[D]. Zhengzhou:Henan University of Traditional Chinese Medicine(河南中医药大学),2017.
- Guo ZL, Su ZN, Wang ZF, et al. Meta-analysis of modified Sijunzi Tang for treating chronic atrophic gastritis[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2015,21(24):204-208.
- Qin JG. Observation of curative effect of Guizhi Renshen Tang on 35 cases of chronic atrophic gastritis[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药),2002,13(3):153.
- Li J, Jin LZ, Jin HG. Effects and mechanism of atractylone from rhizomes of *Atractylodes macrocephala* Koidzumi in LPS-induced neuro-inflammation in BV2 microglial cells[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2020,32:826-830.
- Chen XP, Zhang CL. Overview of pharmacological effects of different chemical constituents of *Atractylodes macrocephala* Koidz[J]. Inf Tradit Chin Med(中医药信息),2011,28(2):124-126.
- Dong X. Correlation analysis of AQP3 and AQP4 expressions and gastritis[J]. Int J Lab Med(国际检验医学杂志),2018,39:2030-2033.
- Mei WX. The study on the relationship between TCM "the spleen's governing transportation and transformation of dampness" and aquaporins(AQP3, AQP4)[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine(广州中医药大学),2006.
- Wei S, Zhu DH, Zhang KS, et al. Experimental research of Rengqing Changjue for treatment of MNNG-induced rat chronic atrophic gastritis[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理),2015,26(1):52-56.
- Zhang SS, Li QG, Tang XD, et al. Consensus on TCM diagnosis and treatment of chronic atrophic gastritis[J]. J Tradit Chin Med(中医杂志),2010,51:749-753.
- Yang HT, Zhang WD. Sydney system: a new classification of gastritis[J]. Chin J Gastroenterol Hepatol(胃肠病学和肝病学杂志),1993,2(1):7-13.
- Liu D, Huang Y, Chen B, et al. Activation of mammalian target of rapamycin pathway confers adverse outcome in non-small cell lung carcinoma[J]. Cancer,2011,117:3763-3773.
- Botezatu A, Bodrug N. Chronic atrophic gastritis: an update on diagnosis[J]. Med Pharm Rep. 2021,94(1):7-14.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,2018,68:394-424.
- Zhu CH, Yu LH. Progress in TCM treatment of chronic atrophic gastritis[J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med(现代中西医结合杂志),2010,19:510-512.
- Zhao Y, Wang H, Cai EB, et al. Research progress on chemical constituents of volatile oil from *Panax ginseng* and pharmacological effects of its main active component polyacetylene[J]. Chin Pharm(中国药房),2017,28:1856-1859.
- Wei AS, Zhao R. Summary of ginseng volatile oil[J]. J Ginseng Res(人参研究),2010,22(2):39-41.
- Wang H, Liu ZQ, Wang JH, et al. Isolation and identification



- of sesquiterpenes from the volatile oil in the stems and leaves of *Panax ginseng* C. A. Mey. [J]. J Jilin Univ; Sci (吉林大学学报:理学版), 2001(1):88-90.
- 20 Peng C. Methods and practice of study on compatibility of TCM[J]. Pharm Clin Chin Mater Med (中药与临床), 2012,3(1):1-4.
- 21 Zhang SY, Liu MC, Tang F, et al. Comparative study on the content of ginsenoside in Ginseng Radix and the effect on chronic atrophic gastritis of ginseng before and after combined with Rhizoma Atractylodis Macrocephalae [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2019,35(1):117-121.
- 22 Zhang SY, Wang J, Sheng YC, et al. Comparative study on chemical constituents and anti-microbial activities of the essential oil of Rhizoma Atractylodis Macrocephalae before and after combined with Ginseng Radix et Rhizoma [J]. Storage Process (保鲜与加工), 2019,19(1):133-139.

## 石斛多糖通过改善肠道屏障功能、调节肠道微生物群、减少氧化应激和炎症反应改善右旋糖酐-硫酸钠诱导的小鼠结肠炎

结肠炎是一种慢性疾病,主要症状表现为腹痛、腹泻和体重减轻。结肠炎的病因很可能是环境因素和遗传易感性共同作用,导致肠上皮屏障瓦解和对肠道菌群的免疫反应失调。在结肠炎条件下,紧密连接蛋白的下调表达会导致肠道对微生物配体和有害代谢物的通透性增加,最终引发全身炎症。治疗结肠炎的传统方法是通过免疫抑制剂、免疫调节剂和生物制剂抑制炎症反应。然而,长期使用它们可能会导致严重的副作用,例如增加对继发感染和癌症的易感性。

石斛多糖具有多种药理活性,如免疫调节、抗氧化等,来自合肥工业大学食品与生物工程学院的罗建平及其团队对石斛多糖的抗结肠炎作用及机制进行了研究。结果表明,石斛多糖通过改善体重减轻、疾病活动指数和结肠病理损伤,保护肠道屏障功能完整性,有效改善小鼠结肠炎。此外,石斛多糖通过增强 *Romboutsia*、*Lactobacillus* 和 *Odoribacter*, 减少 *Parasutterella*、*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* 和 *Acinetobacter* 来调节结肠炎小鼠中肠道微生物群的组成和代谢。此外,石斛多糖恢复了 Th17/Treg 细胞的稳态和特定细胞因子的表达。结肠组织的蛋白质印迹实验结果显示石斛多糖显著上调 Nrf2 的表达并抑制 NF- $\kappa$ B 信号的磷酸化。这些结果表明石斛多糖具有改善结肠炎的潜力,其对缓解结肠炎的作用可能与调节 Nrf2/NF- $\kappa$ B 信号传导有关,这为预防结肠炎提供了有希望的治疗策略。相关研究发表在《Food & Function》杂志上。

胡乃华编译自: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/FO/D1F003003E>

原文标题: Dendrobium fimbriatum Hook polysaccharide ameliorates dextran-sodium-sulfate-induced colitis in mice via improving intestinal barrier function, modulating intestinal microbiota, and reducing oxidative stress and inflammatory responses