

高良姜不同部位胃肠解痉及镇痛作用的比较研究

桂蓓¹, 高振虎¹, 贾真¹, 李坤平², 杨超燕¹, 吴嘉华¹, 黄娟¹, 陈琳¹, 陈艳芬^{1,3} (1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广东药科大学中医药研究院, 广东 广州 510006; 3. 广州市新药筛选模型体系构建应用重点实验室, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 比较高良姜水煎液及不同部位(黄酮、二芳基庚烷、挥发油)的胃肠解痉及镇痛作用, 为探讨高良姜调理脾胃的药效物质基础提供依据。**方法** 采用小肠炭末推进法观察高良姜不同部位对正常小鼠小肠运动的影响; 以冰番泻叶致小鼠脾胃虚寒泄泻模型考察其抗寒证腹泻作用; 采用扭体法及甲醛致痛法考察其镇痛作用; 采用兔体外回肠试验观察其对正常肠肌收缩和氯化乙酰胆碱(Ach)、氯化钡(BaCl₂)所致体外肠肌收缩及对Ach诱导兔回肠平滑肌内钙释放和外钙收缩的解痉作用。**结果** 高良姜水煎液、黄酮部位、二芳基庚烷部位能明显降低脾胃虚寒小鼠的腹泻指数($P < 0.01$, $P < 0.05$); 仅黄酮部位高剂量对正常小鼠小肠推进运动有明显抑制($P < 0.05$); 高良姜水煎液、黄酮部位、二芳基庚烷部位能不同程度减少小鼠的扭体次数, 缩短甲醛致痛后小鼠舔后足时间($P < 0.01$, $P < 0.05$), 其中二芳基庚烷部位作用最强; 高良姜水煎液、黄酮部位、二芳基庚烷部位能明显抑制正常情况下体外肠收缩($P < 0.01$, $P < 0.05$); 高良姜3个提取物的低、中、高浓度组对Ach、BaCl₂所引起的体外肠收缩均有明显抑制作用($P < 0.01$, $P < 0.05$), 抑制率与药物终浓度呈一定量效关系; 对Ach诱导兔回肠平滑肌内钙释放和外钙收缩均有明显抑制作用($P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** 高良姜黄酮部位和二芳基庚烷部位为其解痉止痛治疗脾胃寒证相关疾病的主要有效部位, 其中胃肠解痉作用以黄酮类较强, 镇痛作用则以二芳基庚烷部位更强。

关键词: 高良姜; 脾胃虚寒证; 药效部位; 黄酮; 二芳基庚烷; 胃肠解痉; 镇痛; 小鼠; 兔

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)02-0158-07

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783.2021.02.002

Comparative Study on Gastrointestinal Spasmolysis and Analgesic Effects of Different Extracts from *Alpinia officinarum*

GUI Bei¹, GAO Zhenhu¹, JIA Zhen¹, LI Kunping², YANG Chaoyan¹, WU Jiahua¹, HUANG Juan¹, CHEN Lin¹, CHEN Yanfen^{1,3} (1. College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Institute of Chinese Medicine Sciences, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 3. Guangzhou Key Laboratory of New Drug Screening Model System and Application, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To compare the gastrointestinal spasmolysis and analgesic effects of *Alpinia officinarum* decoction and different extracts (flavonoids, diarylheptane, volatile oil), and provide a basis for exploring the material basis of *Alpinia officinarum* regulating spleen and stomach. **Methods** The effects of different extracts of *Alpinia officinarum* on the movement of small intestine in normal mice were observed by small intestinal propulsion of charcoal powder, the effect of anti-cold syndrome diarrhea was investigated on the model of spleen-stomach deficiency cold with diarrhea induced by icy Folium Sennae, and the analgesic effect was assessed in writhing test and formaldehyde-induced pain model. *In vitro* ileal test was used to observe the antispasmodic effects on normal intestinal muscle contraction, intestinal muscle contraction induced by acetylcholine (Ach) and barium chloride (BaCl₂), and calcium release and contraction in rabbit ileal smooth muscle induced by Ach. **Results** *Alpinia*

收稿日期: 2020-04-22

作者简介: 桂蓓, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药消化系统药理研究。Email: 673306223@qq.com。通信作者: 陈艳芬, 女, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 中药药效评价及作用机制研究。Email: xwnai@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81302894)。

officinarum decoction, flavonoid fraction and diarylheptane fraction could significantly reduce the diarrhea index of spleen and stomach deficiency cold mice ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and only the high dose of flavonoids could significantly inhibit the propulsive movement of small intestine in normal mice ($P < 0.05$). *Alpinia officinarum* decoction, flavonoid fraction and diarylheptane fraction could reduce the writhing times of mice and shorten the time of licking hind feet of mice ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Among the other fractions, diarylheptane fraction had the strongest effect. The decoction, flavonoid fraction and diarylheptane fraction of *Alpinia officinarum* could significantly inhibit the intestinal contraction *in vitro* under normal conditions, and the low, middle and high concentration groups of three different extracts of *Alpinia officinarum* could significantly inhibit the intestinal contraction induced by Ach and BaCl_2 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and showed certain dose-effect relationship. Three different extracts of *Alpinia officinarum* could significantly inhibit the intracellular calcium release and external calcium contraction of rabbit ileal smooth muscle induced by Ach ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion** The flavonoids and diarylheptane fraction of *Alpinia officinarum* are the main effective constituents in the treatment of diseases with spleen-stomach cold syndrome. The flavonoids are effective in relieving spasm, while diarylheptane fraction is responsible for the analgesic effect.

Keywords: *Alpinia officinarum*; spleen-stomach deficiency-cold syndrome; effective parts; flavonoids; diarylheptane; gastrointestinal spasmolysis; analgesic effect; mice; rabbits

温里药高良姜别名良姜、小良姜,是姜科植物高良姜 *Alpinia officinarum* Hance 的根茎,始载于《名医别录》,历版《中国药典》均有收载,是广东的道地药材,十大广药之一^[1]。因为高良姜具有温胃、散寒、止痛的功效,临床常用于治疗脘腹冷痛、暖气吞酸、胃寒呕吐等病证,药理研究表明其有抗溃疡、抗腹泻、抗炎、镇痛等作用^[2],但有关其调理脾胃的药效物质基础研究较少^[2-3]。本课题组前期对高良姜、干姜、肉桂、吴茱萸等温里药的温中止痛作用系列研究^[4]表明,综合评价高良姜的药效最强,但其药效物质研究有待开展。现有研究^[2]表明高良姜的化学成分有黄酮类、挥发油类和二芳基庚烷类,糖苷类和苯丙素类、萜类以及有机酸类等,其中主要是前 3 类,因此目前高良姜的生物活性研究也主要集中在这 3 类化学成分,其他鲜有报道。根据本实验室前期高良姜的药理及化学成分相关研究工作^[5-7],针对高良姜调理脾胃临床疗效的特点,采用经典的化学分离方法,提取高良姜的 3 类有效部位(黄酮、二芳基庚烷、挥发油),在体内外实验中比较其传统水煎液及不同部位的胃肠解痉及镇痛作用,研究高良姜温中解痉止痛的有效部位和作用机制,以期为该药的临床运用和进一步研究开发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级昆明小鼠,28~32 d,雌雄兼用,

体质量 18~22 g,广州中医药大学实验动物中心提供。动物许可证号:SCXK(粤)2013-0020,动物质量合格证号:44005900002414、44005800004244;SPF 级新西兰兔,80 d,雌雄各半,体质量 1.8~2.2 kg,广东省医学实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK(粤)2014-0035,动物质量合格证号:44411600003179。

1.2 药物及试剂 高良姜(康美药业股份有限公司,批号:160202851),经中药鉴定教研室李书渊教授鉴定。称取高良姜药材 500 g,加水浸泡 30 min 后煎煮至沸腾,再改用温火保持微沸,30 min 后倒出药液,双层纱布过滤;药渣再次加水同样的方法煎煮 30 min,过滤,合并两次煎煮液;浓缩至 500 mL,即为 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 高良姜水煎液。挥发油部位制备方法:称取高良姜药材 500 g,粉碎,采用挥发油提取器水蒸汽蒸馏法提取,得挥发油 3 mL。黄酮部位制备方法:称取高良姜药材 200 g,粉碎,加入 4 倍量 50%乙醇,浸泡过夜后回流提取 2 次,每次 2 h,合并提取液;减压浓缩至约三分之一后加入 3 倍量水,静置,减压抽滤,收集沉淀并用少量 95%乙醇超声溶解,过滤;滤液离心浓缩干燥,即得。以高良姜素计,总黄酮含量 54.64%。二芳基庚烷部位制备方法:称取高良姜粗粉 200 g,用溶剂(正己烷:二氯甲烷:甲醇=45:50:5)2 000 mL,冷浸 7 d,浸提液减压回收溶剂后硅胶柱层析;用乙酸乙酯和

环己烷进行梯度洗脱,以二苯基庚烷 A 为对照,TLC 板跟踪分析,合并相同流份,减压浓缩后置于通风橱自然挥干即得。

醋酸(天津市百世化工有限公司,批号:20150505);甲醛(天津市致远化学试剂有限公司,批号:20150907);番泻叶(康美药业股份有限公司,批号:151001);台氏液(用蒸馏水配成含有 NaCl 8.0 g, KCl 2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.26 g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.065 g, NaHCO_3 1.0 g, CaCl_2 0.20 g, 葡萄糖 1.0 g 的 1 000 mL 溶液);无钙台氏液(除不含氯化钙外,其他成分与台式液相同);氯化乙酰胆碱(Ach, 购自广州市齐云生物技术有限公司,批号:20130608);氯化钡(BaCl_2 , 购自广州化学试剂厂,批号:20130301);氯化钙(CaCl_2 , 购自天津市福晨化学试剂厂,批号:20110111)。

1.3 仪器 MedLab[®]-U/4C501H 生物信号采集系统,南京美易科技有限公司;XH200 型等长收缩换能器,北京新航兴业科贸有限公司;501 超级恒温水浴,江苏金坛宏华仪器厂;万分之一天平,日本 AUY120 岛津电子分析天平;LG-04 四两装高速中药粉碎机,瑞安市百信药机械厂。

1.4 高良姜不同部位对小鼠肠推进运动的影响 取昆明小鼠 108 只,随机分为 9 组,即对照组,高良姜水煎液高、低剂量组(分别为 $8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,各有效部位按提取率折合成生药量,高、低剂量组含生药量等同水煎液),高良姜黄酮部位高、低剂量组,高良姜二芳基庚烷部位高、低剂量组,高良姜挥发油部位高、低剂量组,连续灌胃给药 7 d($20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),对照组给予等体积的蒸馏水,每天 1 次。第 7 天给药前禁食 18 h,末次给药后 1 h 每组灌服 5% 活性炭混悬液,每只 0.6 mL,20 min 后脱臼处死动物,打开腹腔分离肠系膜,剪取自幽门到回盲部小肠,不加牵引地平铺于玻璃平板上;测其全长及幽门至炭末前沿距离,计算其与全长的百分率,即炭末推进率=炭末肠内推进距离/小肠总长度 $\times 100\%$ 。

1.5 高良姜不同部位对冰番泻叶所致小鼠脾胃虚寒泄泻的影响 取昆明小鼠 108 只,分组及给药方法同“1.4”项下。但所有小鼠给药同时每天给予冰番泻叶(4°C , $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),连续 7 d,造成脾胃虚寒泄泻模型^[8]。末次给药前禁食 12 h,给药 1 h 后,小鼠灌服冰番泻叶并分笼饲养,每笼 1 只,笼下垫有滤纸做湿粪计数,每隔 1 h 更换滤纸。观察 6 h 内小鼠的便数、稀便数,按照周氏法确定稀便级数^[9]:污染直径 $<1 \text{ cm}$ 为 1 级,1~1.9 cm 为 2 级,2~

3 cm 为 3 级, $>3 \text{ cm}$ 为 4 级。稀便率=稀便数/总便数 $\times 100\%$,腹泻指数=稀便率 $\times$ 稀便级。

1.6 高良姜不同部位对小鼠醋酸致痛的影响 昆明小鼠 108 只,分组及给药方法同“1.4”项下,连续 7 d。末次给药后 1 h,每只腹腔注射 0.6% 醋酸溶液 0.2 mL,观察并记录 15 min 内的扭体次数。

1.7 高良姜不同部位对小鼠甲醛致痛的影响 昆明小鼠 108 只,分组及给药方法同“1.4”项下,连续 7 d。末次给药 30 min 后,于每只小鼠左侧足趾处注射 1% 甲醛 25 μL ,并观察记录小鼠注射甲醛后 0~10 min 和 20~30 min 两个时间段的累计舔足时间。

1.8 高良姜不同部位对兔体外回肠收缩活动的影响

1.8.1 高良姜不同部位对兔体外回肠自发收缩的影响

取新西兰兔实验前禁食 24 h(不禁水),处死后,快速剖腹取近回盲部的回肠 10 cm,立即放入含饱和混合气体(氧气占 95%,二氧化碳占 5%)的台氏液中,冲洗干净,分离肠系膜。用时取长 1 cm 的小段,置于含台氏液的 20 mL 的恒温平滑肌槽中,上端连接张力换能器,持续通饱和混合气体,恒温($37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$),张力负荷 1.0 g,平衡 30 min。用生物信号采集处理系统先描记一段正常肠平滑肌自律曲线,待收缩稳定后用移液器依次向浴槽中分别加入高良姜水煎液(浓度为 9.901、29.126、82.569 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)和高良姜各有效部位,使各有效部位加药后浴槽内终浓度分别为 0.015、0.045、0.135 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。给药后 5 min 冲洗肠段,描记收缩曲线后,立即用新鲜台氏液冲洗 2 或 3 次,待肠段收缩恢复正常后才可进行下一次给药。无法恢复正常收缩的肠段弃去更换新的肠段。用 MedLab 系统软件提供的区间测量方法测量给药前 1 min 内和给药后 3 min 内的平均张力,并根据平均张力值计算抑制率:抑制率($\%$)=(给药前平均张力-给药后平均张力)/给药前平均张力 $\times 100\%$ 。

1.8.2 高良姜不同部位对 Ach、 BaCl_2 所致兔体外回肠收缩的影响 前期处理同“1.8.1”项下。生物信号采集系统先描记一段正常肠平滑肌自律曲线,待收缩稳定后分别向浴槽中加入 Ach、 BaCl_2 (终浓度分别 2×10^{-3} 、 $9.53 \times 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$),1 min 后,分别加入高良姜水煎液和高良姜各有效部位,记录 5 min 后冲洗肠段,计算抑制率。

1.8.3 高良姜不同部位对 Ach 诱导兔体外回肠平滑肌两种收缩成分的影响 前期处理同“1.8.1”项下。生物信号采集系统先描记一段正常肠平滑肌自律曲线,待收缩稳定后,先加入 Ach(终浓度为 $2 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$),曲线上升稳定后继续加入氯化钙溶液(终浓度为

9.53×10⁻² g·mL⁻¹), 使回肠进一步收缩并稳定, 记录这两次曲线升高的高度的张力为对照。用无钙的台氏液冲洗 3 次并稳定 30 min 后分别加入高良姜水煎液和高良姜各有效部位, 观察其对两种收缩成分所致张力的影响。

1.9 统计学处理方法 采用 SPSS 19.0 统计软件, 计量资料结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高良姜不同部位对正常小鼠肠推进运动的影响

见表 1。与对照组比较, 仅高良姜黄酮部位高剂量组(8 g·kg⁻¹)对正常小鼠小肠推进运动有明显抑制作用($P < 0.05$), 其余各药物组均无明显差异。

表 1 高良姜不同部位对正常小鼠肠推进的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)
Table 1 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on intestinal propulsion in normal mice($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	炭末推进率/%
对照组	—	65.25 ± 13.29
高良姜水煎液低剂量组	4	59.99 ± 12.02
高良姜水煎液高剂量组	8	60.79 ± 7.37
高良姜黄酮部位低剂量组	4	62.35 ± 8.45
高良姜黄酮部位高剂量组	8	53.02 ± 7.28*
高良姜二芳基庚烷部位低剂量组	4	63.09 ± 9.53
高良姜二芳基庚烷部位高剂量组	8	68.47 ± 11.96
高良姜挥发油部位低剂量组	4	67.32 ± 11.64
高良姜挥发油部位高剂量组	8	63.14 ± 6.21

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 高良姜不同部位对冰番泻叶所致小鼠脾胃虚寒泄泻的影响 见表 2。与模型组比较, 高良姜水煎液、黄酮部位、二芳基庚烷部位对小鼠脾胃虚寒泄泻均有明显的治疗效果, 能明显减轻腹泻指数($P < 0.05$, $P < 0.01$); 其中尤以黄酮部位抑制效果最好, 高、低剂量组稀便级数和和模型组比较有明显差异($P < 0.01$)。

2.3 高良姜不同部位对醋酸所致小鼠扭体的影响 见表 3。醋酸扭体法是外周镇痛作用研究的经典模型, 与对照组比较, 高良姜水煎液、黄酮部位、二芳基庚烷部位对醋酸所致小鼠扭体反应均有明显抑制作用($P < 0.05$, $P < 0.01$), 提示高良姜有明显的外周镇痛作用。二芳基庚烷部位镇痛作用更明显些($P < 0.01$)。

2.4 高良姜不同部位对小鼠甲醛致痛的影响 见表 4。甲醛致痛试验也是一种重要的慢性疼痛模型,

表 2 高良姜不同部位对冰番泻叶所致小鼠脾胃虚寒泄泻的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Table 2 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on diarrhea of mice with spleen-stomach deficiency-cold induced by icy *Folium Senna*($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	稀便率/%	稀便级数	腹泻指数
对照组	—	81.60 ± 7.85	2.36 ± 0.25	1.92 ± 0.24
高良姜水煎液低剂量组	4	64.74 ± 10.78**	2.25 ± 0.23	1.44 ± 0.26**
高良姜水煎液高剂量组	8	78.03 ± 17.62	2.14 ± 0.24	1.66 ± 0.37**
高良姜黄酮部位低剂量组	4	76.00 ± 20.78	1.98 ± 0.37**	1.48 ± 0.40**
高良姜黄酮部位高剂量组	8	79.94 ± 11.70	1.82 ± 0.32**	1.43 ± 0.24**
高良姜二芳基庚烷部位低剂量组	4	84.47 ± 7.01	2.01 ± 0.55*	1.70 ± 0.51*
高良姜二芳基庚烷部位高剂量组	8	81.74 ± 17.10	2.15 ± 0.22	1.73 ± 0.29*
高良姜挥发油部位低剂量组	4	88.68 ± 12.02	2.11 ± 0.30	1.85 ± 0.32
高良姜挥发油部位高剂量组	8	88.82 ± 6.07	2.11 ± 0.36	1.86 ± 0.29

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 高良姜不同部位对醋酸所致小鼠扭体的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Table 3 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on writhing of mice induced by acetic acid($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体次数/次
对照组	—	25.70 ± 12.40
高良姜水煎液低剂量组	4	15.10 ± 8.10*
高良姜水煎液高剂量组	8	13.60 ± 7.70*
高良姜黄酮部位低剂量组	4	11.20 ± 11.00**
高良姜黄酮部位高剂量组	8	15.50 ± 8.60*
高良姜二芳基庚烷部位低剂量组	4	11.00 ± 6.20**
高良姜二芳基庚烷部位高剂量组	8	11.70 ± 11.70**
高良姜挥发油部位低剂量组	4	19.50 ± 7.04
高良姜挥发油部位高剂量组	8	16.90 ± 13.80

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

注射甲醛后可引起两个时相的疼痛, 第 1 相主要是直接刺激神经纤维所致, 第 2 相反应主要是炎症介质前列腺素等释放参与的疼痛反应。与对照组比较, 高良姜水煎液高剂量组(8 g·kg⁻¹), 二芳基庚烷部位低、高剂量组(4、8 g·kg⁻¹)对舔足反应第 1 相段体现明显的镇痛效果($P < 0.01$), 黄酮部位高剂量组(8 g·kg⁻¹)对第 1 相段也有明显的镇痛效果($P < 0.05$); 黄酮部位、二芳基庚烷部位对第 2 相段均体现明显的镇痛效果($P < 0.05$, $P < 0.01$)。提示二芳基庚烷类可能是高良姜镇痛作用的主要有效部位。

2.5 高良姜不同部位对兔体外回肠自发收缩的影响 见表 5。高良姜水煎液与黄酮部位的中、高浓度组及二芳基庚烷类部位对体外回肠自发收缩有明显抑制效果($P < 0.05$, $P < 0.01$); 经组间比较, 黄酮类中浓

表4 高良姜不同部位对小鼠甲醛致痛的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)Table 4 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on pain induced by formaldehyde of mice($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	舔后足时间/s	
		0~10 min	20~30 min
对照组	—	68.00 ± 30.51	72.10 ± 43.48
高良姜水煎液低剂量组	4	59.50 ± 30.35	58.10 ± 36.58
高良姜水煎液高剂量组	8	34.20 ± 17.93**	46.63 ± 38.06
高良姜黄酮部位低剂量组	4	47.88 ± 29.99	28.12 ± 36.08**
高良姜黄酮部位高剂量组	8	44.40 ± 23.90*	35.70 ± 20.18*
高良姜二芳基庚烷部位低剂量组	4	35.20 ± 11.54**	41.10 ± 26.86*
高良姜二芳基庚烷部位高剂量组	8	39.50 ± 16.78**	24.30 ± 32.20**
高良姜挥发油部位低剂量组	4	49.80 ± 24.45	51.60 ± 12.04
高良姜挥发油部位高剂量组	8	47.80 ± 22.68	50.40 ± 42.32

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 表5 高良姜不同部位对兔体外回肠自发收缩的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 5 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on spontaneous contraction of rabbit ileum *in vitro*($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别		终浓度/(g·L ⁻¹)	平均张力/g		抑制率/%
			给药前	给药后	
高良姜水煎液	低浓度	9.901	1.96 ± 0.31	1.79 ± 0.31	8.46 ± 5.10
	中浓度	29.126	2.06 ± 0.20	1.66 ± 0.19**	19.34 ± 7.10*
	高浓度	82.569	2.22 ± 0.18	1.80 ± 0.19**	18.27 ± 8.28
高良姜黄酮部位	低浓度	0.015	2.19 ± 0.42	1.84 ± 0.42	16.22 ± 4.30
	中浓度	0.045	2.38 ± 0.54	1.59 ± 0.47**	33.94 ± 9.20
	高浓度	0.135	2.47 ± 0.32	1.70 ± 0.09**	31.34 ± 7.02
高良姜二芳基庚烷部位	低浓度	0.015	2.53 ± 0.26	2.25 ± 0.21*	11.13 ± 3.06
	中浓度	0.045	2.57 ± 0.29	1.85 ± 0.17**	24.78 ± 10.17*
	高浓度	0.135	2.54 ± 0.37	1.68 ± 0.22**	32.94 ± 10.22
高良姜挥发油部位	低浓度	0.015	2.18 ± 0.32	2.02 ± 0.31	7.25 ± 7.42
	中浓度	0.045	1.97 ± 0.24	1.79 ± 0.29	9.32 ± 8.79**
	高浓度	0.135	1.98 ± 0.25	1.78 ± 0.29	10.45 ± 5.60

注: 与本组给药前张力比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与中浓度的黄酮组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.7 高良姜不同部位对 Ach 诱导兔体外回肠平滑肌两种收缩成分的影响 见表 8。结果显示, 各浓度的高良姜水煎液均可明显抑制 Ach 诱导的内钙释放和外钙内流作用, 从而影响离体回肠的收缩运动($P < 0.05$, $P < 0.01$); 各浓度黄酮或二芳基庚烷类部位对 Ach 诱导的内钙释放和外钙内流亦均具有明显抑制作用($P < 0.01$), 黄酮部位的中、高浓度组效果尤佳。

3 讨论

温里药是临床较为常用的一类中药, 其对消化系统的作用如调节胃肠运动、抗溃疡、镇吐止泻、保肝利胆等是其温中散寒功效的主要药理学基础, 然

度组抑制作用明显强于二芳基庚烷类和水煎液的中浓度组($P < 0.05$)。

2.6 高良姜不同部位对 Ach、BaCl₂所致兔体外回肠收缩的影响 Ach 与肠管平滑肌上的 M 受体结合, 可促进肠平滑肌收缩。BaCl₂中钡离子进入细胞与钙调蛋白结合, 使细胞膜发生去极化, 肠平滑肌强直收缩。表 6、表 7、图 1 结果显示, 各浓度的高良姜水煎液、黄酮部位对 Ach、BaCl₂所致兔体外回肠收缩有明显抑制效果($P < 0.01$), 提示高良姜的解痉作用可能与 M 受体及对肠管平滑肌的直接抑制有关。各浓度的二芳基庚烷类部位对 Ach、BaCl₂所致兔体外回肠收缩也有明显的抑制效果($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

而综合众多文献的报道^[10]发现各药的作用特点和作用机制仍不明确。高良姜是临床常用的温中散寒止痛中药, 同时也是卫生部认定的药食同源药材, 当代既用于胃炎、胃溃疡、肠炎、肠易激综合征等消化系统疾病, 也用于腰腿疼痛、牙痛等痛症以及食疗保健, 但是其对胃肠功能的作用及其药效物质基础研究相对较少, 本研究期望通过对该药的研究, 为温里药温中散寒功效的作用机制和物质基础研究提供借鉴。

本研究提取了高良姜含量较高的 3 类主要成分(黄酮、二芳基庚烷、挥发油)作为观察其药效物质基础的受试药, 并传统的水煎剂进行药效比较, 以探讨其解痉止痛作用的药效物质基础。首先探究

表 6 高良姜不同部位对 Ach 所致兔体外回肠收缩的影响
($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 6 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on Ach-induced ileal contraction in rabbits *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别		终浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	平均张力/g		抑制率/%
			给药前	给药后	
Ach 组		2×10^{-3}	0.74 ± 0.07	1.08 ± 0.15	-
高良姜水煎液	低浓度	9.901	1.00 ± 0.10	$0.80 \pm 0.08^{**}$	19.67 ± 6.68
	中浓度	29.126	1.04 ± 0.77	$0.70 \pm 0.07^{**}$	33.23 ± 4.78
	高浓度	82.569	0.98 ± 0.05	$0.53 \pm 0.03^{**}$	45.68 ± 4.91
高良姜总黄酮部位	低浓度	0.015	1.03 ± 0.07	$0.79 \pm 0.08^{**}$	23.31 ± 6.90
	中浓度	0.045	1.06 ± 0.14	$0.71 \pm 0.07^{**}$	33.26 ± 4.31
	高浓度	0.135	1.12 ± 0.13	$0.65 \pm 0.09^{**}$	41.93 ± 6.88
高良姜二芳基庚烷部位	低浓度	0.015	1.24 ± 0.22	$0.98 \pm 0.25^{*}$	21.93 ± 6.67
	中浓度	0.045	1.20 ± 0.11	$0.79 \pm 0.08^{**}$	34.49 ± 3.98
	高浓度	0.135	1.21 ± 0.18	$0.66 \pm 0.15^{**}$	44.57 ± 13.83
高良姜挥发油部位	低浓度	0.015	1.03 ± 0.20	0.95 ± 0.21	8.58 ± 5.31
	中浓度	0.045	1.07 ± 0.27	0.93 ± 0.25	13.33 ± 3.09
	高浓度	0.135	1.09 ± 0.25	0.89 ± 0.24	18.87 ± 5.52

注：与给药前张力比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

表 7 高良姜不同部位对 BaCl₂所致兔体外回肠收缩的影响
($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 7 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on BaCl₂-induced ileal contraction in rabbits *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别		终浓度 /(g·L ⁻¹)	平均张力/g		抑制率/%
			给药前	给药后	
BaCl ₂ 组		9.53×10 ⁻²	0.66±0.07	1.17±0.17	-
高良姜水煎液部位	低浓度	9.901	1.26±0.45	0.62±0.16 ^{**}	48.62±16.20
	中浓度	29.126	1.37±0.55	0.38±0.15 ^{**}	67.51±18.95
	高浓度	82.569	1.18±0.49	0.34±0.15 ^{**}	64.91±19.87
高良姜总黄酮部位	低浓度	0.015	1.03±0.19	0.64±0.14 ^{**}	37.78±11.48
	中浓度	0.045	1.18±0.58	0.53±0.11 ^{**}	49.74±16.96
	高浓度	0.135	1.38±0.44	0.52±0.12 ^{**}	58.98±15.38
高良姜二芳基庚烷部位	低浓度	0.015	1.19±0.20	0.85±0.15 [*]	28.57±6.24
	中浓度	0.045	1.14±0.16	0.65±0.18 ^{**}	45.16±8.22
	高浓度	0.135	1.15±0.15	0.42±0.13 ^{**}	63.28±12.44
高良姜挥发油部位	低浓度	0.015	1.01±0.08	0.94±0.06	6.92±3.66
	中浓度	0.045	1.02±0.09	0.93±0.12	9.05±7.35
	高浓度	0.135	1.03±0.08	0.96±0.09	7.29±7.59

注：与给药前比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

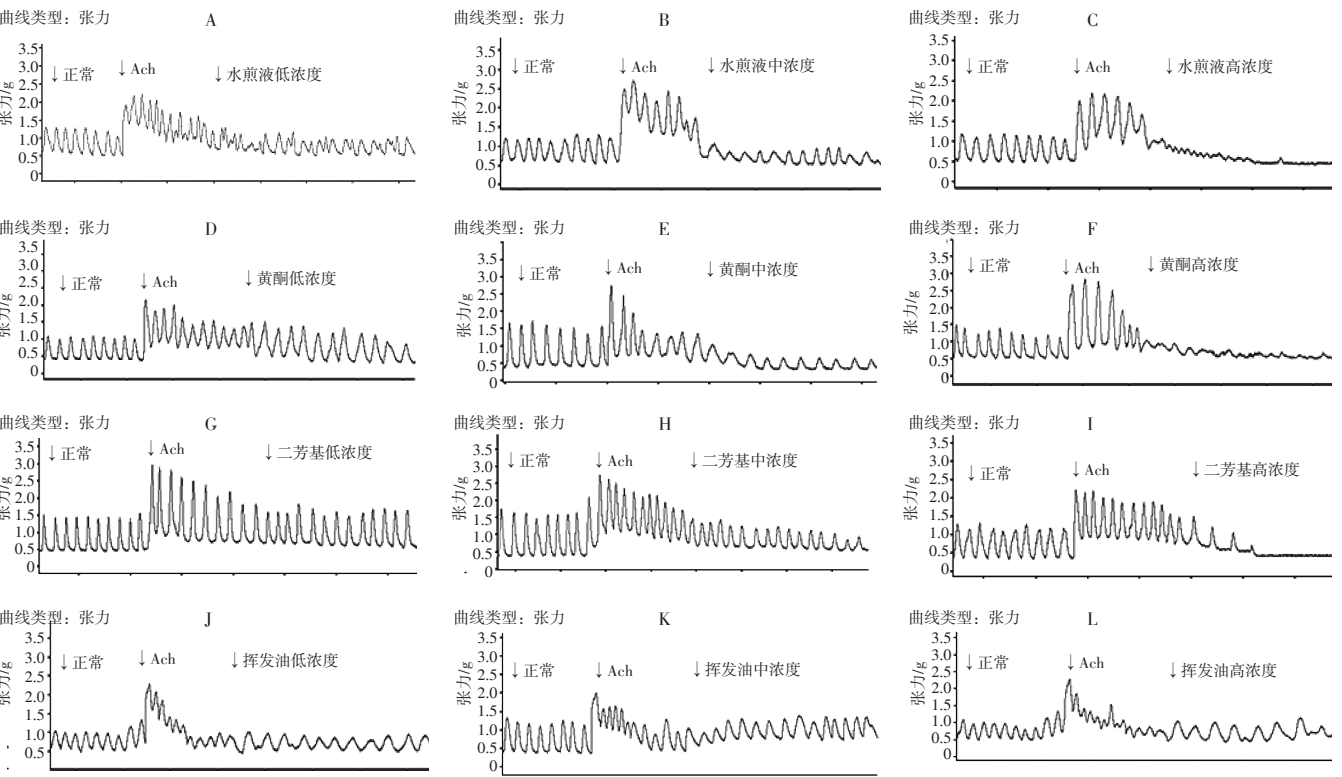


图 1 高良姜不同部位对 Ach 引起的回肠收缩影响曲线图
Figure 1 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on ileal contraction induced by Ach

了高良姜不同部位对正常小鼠肠推进的影响，结果发现仅黄酮类高剂量能明显降低正常小鼠的小肠炭末推进率，提示高良姜黄酮类成分对胃肠运动可能有抑制作用。脾胃为后天之本，气血生化之源，胃

降浊，脾升清，是人体气机升降的枢纽。脾胃虚寒证脾胃气机升降失常，可导致大便溏泄，甚则完谷不化，小便不利，也可导致胃痛的发生^[8]。番泻叶苦寒泄泻，复合冰水因素进一步加重了寒凉因素，所

表 8 高良姜不同部位对 Ach 诱导兔体外回肠平滑肌两种收缩成分的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 8 Effects of different parts of *Alpinia officinarum* on two contractile components of rabbit ileal smooth muscle induced by Ach in vitro($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	终浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	平均张力/g	
		内钙释放	外钙内流
正常对照组	5×10^{-3}	1.94 ± 0.03	1.74 ± 0.04
高良姜水煎液	低浓度	9.901	$1.28 \pm 0.13^{**}$
	中浓度	29.126	$1.05 \pm 0.07^{**}$
	高浓度	82.569	$1.33 \pm 0.11^{**}$
高良姜黄酮部位	低浓度	0.015	$1.39 \pm 0.11^{**}$
	中浓度	0.045	$1.28 \pm 0.14^{**}$
	高浓度	0.135	$1.17 \pm 0.20^{**}$
高良姜二芳基庚烷部位	低浓度	0.015	$1.40 \pm 0.12^{**}$
	中浓度	0.045	$1.31 \pm 0.27^{**}$
	高浓度	0.135	$1.31 \pm 0.22^{**}$
高良姜挥发油部位	低浓度	0.015	1.88 ± 0.05
	中浓度	0.045	1.84 ± 0.12
	高浓度	0.135	1.85 ± 0.03

注:与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

造成的腹泻模型比较符合中医的脾胃虚寒证特征。故本实验根据苦寒伤脾胃之说采用冰番泻叶造成了小鼠脾胃虚寒泄泻模型^[11],结果显示高良姜水煎液、黄酮类、二芳基庚烷类均能明显减轻脾胃虚寒小鼠的腹泻。中医讲究对证用药,上述两个实验表明,高良姜温中散寒,对寒证引起的肠运动亢进更有效,同时也提示黄酮类成分可能是其胃肠运动抑制作用的主要药效物质。

中医认为“寒气客于肠胃之间,膜原下,血不得散,小络引急故痛”,脘腹冷痛是临床一种很常见的症状。本研究采用两种经典致痛模型比较不同提取部位的镇痛作用,结果显示高良姜水煎液、黄酮部位、二芳基庚烷部位能不同程度地减少小鼠的扭体次数,缩短甲醛致痛后小鼠舔后足的时间,尤以二芳基庚烷部位效果最佳,这与本课题组前期的研究比较相符,说明高良姜二芳基庚烷类成分可能是其温中而止痛的主要有效成分。

体外回肠试验结果显示,高良姜水煎液、黄酮部位、二芳基庚烷部位均能抑制回肠自发收缩活动。Ach与胃肠道壁层平滑肌上的M受体结合后通过G蛋白与腺苷酸环化酶耦联,降低细胞内环磷酸腺苷(cAMP)浓度从而导致细胞内 Ca^{2+} 增加,引起平滑肌收缩^[12]。BaCl₂中钡离子进入细胞与钙调蛋白结合,

使肠平滑肌强直收缩。游离钙离子通常是由外钙离子内流及细胞内钙离子释放而获得,无钙台式液中Ach所诱导的平滑肌第一时相收缩主要依赖细胞内钙的释放,第二相收缩主要是Ach促进细胞外钙离子经操纵性钙通道内流所致^[13]。高良姜水煎液、黄酮部位、二芳基庚烷部位对Ach和BaCl₂所引起的体外肠收缩有抑制作用,对Ach诱导的依内钙性收缩和依外钙性收缩也有不同程度的抑制作用,提示高良姜对胃肠的解痉作用可能与钙拮抗作用有关,且同等浓度比较以黄酮类提取物药效较佳。

综上所述,临床常用于治疗脘腹冷痛、暖气吞酸、胃寒呕吐等病证的温里药高良姜,其温中解痉止痛的有效部位主要是黄酮类和二芳基庚烷类,其中胃肠解痉作用又以黄酮类较强,镇痛作用以二芳基庚烷类更强。今后可以进一步对相应的化学成分分离鉴定,并深入开展相关药理作用机制研究,筛选出具有明确作用靶点的活性成分。

参考文献:

- [1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 287.
- [2] 李洪福, 李永辉, 王勇, 等. 高良姜化学成分及药理活性的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(7): 236-244.
- [3] 周莹, 朱卫丰, 章明, 等. 高良姜及其化学成分调控物质能量代谢的药理学研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(1): 127-132.
- [4] 明露, 唐春萍, 陈艳芬, 等. 主成分分析法对温里药温中止痛作用的评价[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(4): 1008-1010.
- [5] 陈艳芬, 江涛, 唐春萍, 等. 高良姜总黄酮对胃肠运动的影响研究[J]. 中国药房, 2010, 21(23): 2122-2124.
- [6] 梁万年, 江涛, 唐春萍, 等. 高良姜总黄酮对脾胃虚寒型肠易激综合征的影响[J]. 中成药, 2013, 35(9): 1863-1868.
- [7] 陈平, 郭晓玲, 梁汉明, 等. 高良姜药材中4种有效成分的含量测定[J]. 广东药学院学报, 2008, 24(5): 462-464.
- [8] 陈奇, 张伯礼. 中药药效研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2016: 891.
- [9] 谢静, 费正彬, 陈玉莲, 等. 厚朴叶水提物抗腹泻效果研究[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(19): 107-109.
- [10] 詹嫣然, 熊成成, 陈艳芬, 等. 温里药对消化系统作用的文献再评价[J]. 广东药科大学学报, 2018, 34(3): 398-402.
- [11] 丁庆刚, 高金良. 脾胃虚寒型胃脘痛的中医辨治[J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13(20): 158-159.
- [12] 王迎寒, 张晓峰, 刘玉玲, 等. 健脾化湿颗粒对大鼠离体小肠M受体的作用[C]. //中国实验动物学会. 第八届中国北方实验动物科技年会论文集. 2010: 1-5.
- [13] 周华, 李华, 张敏, 等. 细胞内外钙在激动剂收缩结肠平滑肌中的作用[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(8): 1398-1399.

(编辑: 修春)