

厚朴叶水提物抗腹泻效果研究

谢静¹, 费正彬¹, 陈玉莲¹, 曾云鸿¹, 李红¹, 盖文惠¹, 杨蒙¹, 马林^{1,2*}

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621010; 2. 四川省生物质资源利用与改性工程技术研究中心, 四川绵阳 621010)

摘要 [目的]为合理利用厚朴叶资源,研究不同剂量厚朴叶水提物对小鼠蓖麻油诱导腹泻的影响。[方法]以蒸馏水为阴性对照、盐酸洛哌丁胺为阳性对照,研究厚朴叶水提物低、中、高剂量组处理对蓖麻油诱导腹泻小鼠(5组×6只)的腹泻率、起效时间、稀便次数、稀便级数和腹泻指数的影响。[结果]厚朴叶水提物低剂量组和阳性对照组均具有显著降低腹泻率的作用;随着厚朴叶水提物剂量的增加,对小鼠腹泻的稀便次数有抑制作用;厚朴叶水提物也能显著降低小鼠的稀便率,且与其剂量高低有关;厚朴叶水提物能显著降低小鼠的平均稀便等级和腹泻指数。但总的来说,厚朴叶水提物的效果不及盐酸洛哌丁胺,且对蓖麻油所致小鼠的起效时间无影响。[结论]厚朴叶水提物对蓖麻油所致的小鼠腹泻具有显著的抑制作用,且存在一定的量效关系。

关键词 厚朴叶;水提物;蓖麻油;抗腹泻中图分类号 S567.1⁺1;R285.5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)19-0107-03**Anti-diarrhea Effect of Aqueous Extract of *Magnolia officinalis* Leaves**XIE Jing¹, FEI Zheng-bin¹, CHEN Yu-lian¹, MA Lin^{1,2*} et al (1. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010; 2. Engineering Research Center for Biomass Resource Utilization and Modification of Sichuan Province, Mianyang, Sichuan 621010)

Abstract [Objective] The research aimed to study the effects of different doses of aqueous extraction from *Magnolia officinalis* leaves (AEMOL) on rats diarrhea caused by castor oil, fully utilizing this resource. [Method] Using distilled water as the negative control, loperamide hydrochloride as the positive control, the effects of three different doses (low, middle and high) of AEMOL on loose stools rate, onset time, numbers of loose, loose stools series and diarrhea index of the loose rats (5 groups × 6) were studied. [Result] The group of low doses AEMOL and the positive control group showed significantly inhibition ratio to diarrhoea. With the doses increase, it showed inhibitory effect to the number of loose; besides, AEMOL could also decrease the loose stools rate (the specific effects depend on its doses); meanwhile, AEMOL could also significantly reduce the average level of loose stools and diarrhea index. But in general the effect of AEMOL was lower than hydrochloric acid, and it showed no effect on the onset time of mice induced by castor oil. [Conclusion] The AEMOL has a significant inhibitory effect on the rat diarrhea caused by castor oil with dose-effect relationship.

Key words *Magnolia officinalis* leaves; Aqueous extraction; Castor oil; Anti-diarrhea

厚朴作为我国传统药材,入药部位为木兰科植物厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils.)或凹叶厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils.)的干燥干皮、枝皮或根皮^[1-3]。厚朴酚及和厚朴酚在厚朴药材中占5%~12%,可从厚朴叶中提取获得^[4],研究表明其是厚朴用于抗腹泻治疗的主要活性成分。厚朴叶资源丰富^[2],但利用率较低,其常作为腐叶而废弃,不仅浪费厚朴资源,也极大地破坏了生态环境。基于此,人们逐渐开始重视对厚朴叶的开发和利用,对其进行了较多的研究^[5],刘存芳^[6]在利用超声辅助法提取秦巴山区采集的野生厚朴树叶中的厚朴酚后,分别用显色法和薄层色谱法对其进行定性鉴定,最后用反相高效液相色谱法对其含量进行测定,其含量与刘晓鹏等^[7]和叶锦霞等^[8]用不同方法测得的厚朴酚含量存在差异,而厚朴叶提取物对植物病原真菌具有较强的抑制活性,且通过分离、纯化、鉴定发现该较强的抑菌活性是厚朴叶中的厚朴酚与和厚朴酚的功效^[9-11]。由于厚朴叶与厚朴树皮中均具有厚朴酚与和厚朴酚,曾红等^[12]通过比较同分异构体厚朴酚和和厚朴酚对小鼠腹泻和胃肠排空抑制的影响,得出厚朴酚与和厚朴酚的抗腹泻能力相似;丁婉萍等^[13]研究发现厚朴酚与和厚

朴酚抗运动型腹泻作用可能通过影响对胃肠功能而发挥作用,因此厚朴叶也具有显著的抗腹泻作用,从而拓宽了厚朴叶的开发利用前景。但是,目前对厚朴叶的抗腹泻活性研究较少,其抗腹泻机理尚不明确。因此,该研究拟建立腹泻小鼠模型,研究厚朴叶的药效活性,考察厚朴叶的抗腹泻效应,为进一步阐明厚朴酚与和厚朴酚的抗腹泻机理提供依据,从而对厚朴叶的药用价值进行综合评价,指导厚朴叶的开发利用,为厚朴药材的全面深入开发及临床应用奠定基础。

1 材料与方法**1.1 供试材料**

1.1.1 试验动物与饲养条件。普通昆明系无菌小鼠,雌雄(♀/♂)各半,购自四川简阳达硕生物科技有限公司。采用标准饲料饲养于室温为26℃、相对湿度为40%且通风良好的普通级动物室中,雌雄分笼,每笼10只,试验于安静环境下进行。

1.1.2 试验药材。厚朴叶于2015年10月采自四川省绵阳市平武县五星村,由绵阳师范学院罗明华教授鉴定。

1.1.3 主要仪器。电热恒温水浴锅(北京市永明医疗仪器有限公司);旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-D(III)循环水式多用真空泵(上海道京仪器有限公司)。

1.1.4 主要试剂。蓖麻油(成都市科龙化工试剂厂,批号014120201);盐酸洛哌丁胺(中国食品药品检定研究院,批号100300-200001);其余试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 厚朴叶水提物制备。厚朴叶于60℃干燥后粉碎。

基金项目 绵阳市科技局重点项目(15N-02-4);西南科技大学生命科学与工程学院大学生创新实践项目(201508)。**作者简介** 谢静(1995—),女,四川营山人,本科生,专业:制药工程。
*通讯作者,教授,博士,硕士生导师,从事生物质天然产物研究。**收稿日期** 2017-04-14

取 100 g 厚朴叶粉末,按 1:10 料液比与蒸馏水混合,60 ℃ 水浴浸提 5 h,趁热抽滤,收集滤液,滤渣再次浸提 5 h。合并 2 次浸提所得滤液,用旋转蒸发器减压浓缩至一定体积后,在 60 ℃ 水浴锅上缓慢蒸干,得厚朴叶水提固形物,于 4 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 厚朴叶水提物抗腹泻作用。取小鼠 30 只,禁食 12 h 后,随机分为 5 组,每组 6 只,雌雄各半,将小鼠单独放在垫有滤纸的饲养盒中,分别灌胃 0.6 mL/只的厚朴叶水提物(100、200、400 mg/kg)、盐酸洛哌丁胺(5 mg/kg)和蒸馏水。0.5 h 后,每只小鼠灌胃 0.4 mL 蓖麻油,每隔 1 h 更换滤纸 1 次,记录每只小鼠 6 h 内每小时腹泻次数、稀便级数、腹泻持续时间、首次腹泻时间^[14-15]。其中小鼠粪便可分为 5 种:正常便、外型正常含水较多的软便、外型不正常的软便、水样便及黏液便。将前 2 种视为正常便,后 3 种视为异常便。

1.2.3 试验观察指标^[16]。

1.2.3.1 腹泻率。腹泻动物的只数与总动物数之比。

1.2.3.2 稀便率。每只动物排稀便数与总便数之比(滤纸上每粒或每堆粪便为排便 1 次)。

1.2.3.3 稀便等级。以稀便污染滤纸面积直径(cm)定级,分为 4 级:1 级(<1.0 cm)、2 级(1.0~1.9 cm)、3 级(2.0~3.0 cm)、4 级(>3.0 cm)。统计时先逐个统计每一堆稀便的级数,然后将该鼠所有稀便级数相加,除以稀便次数得到稀便的平均级数。

1.2.3.4 腹泻指数。稀便率与稀便平均等级的乘积。

1.3 数据处理 计算各项考察指标的平均值,利用 DPS 2006 统计分析软件进行数据处理,采用 LSD 法进行处理间多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 厚朴叶水提物对蓖麻油致腹泻小鼠腹泻率、起效时间和稀便次数的影响 观察各处理组的小鼠腹泻情况,记录灌胃蓖麻油后的首次排稀便时间(起效时间),统计 6 h 内的排稀便次数,结果见表 1。

表 1 不同剂量厚朴叶水提物对蓖麻油致腹泻小鼠腹泻情况的影响

Table 1 Effects of different doses of AEMOL on diarrhea induced by castor oil in mice

组别 Group	剂量 Dose//mg/kg	腹泻率 Diarrhea rate//%	起效时间 Onset time//min	稀便次数 Stool frequency
阴性对照组(蒸馏水)Negative control group(distilled water)	—	100.00 ± 0.00 a	97.00 ± 24.48 b	7.95 ± 1.75 a
低剂量组 Low dose group	100	70.83 ± 20.97 b	108.87 ± 20.69 b	5.61 ± 3.08 ab
中剂量组 Middle dose group	200	87.50 ± 25.00 ab	109.54 ± 27.20 b	4.58 ± 3.25 b
高剂量组 High dose group	400	87.50 ± 15.95 ab	98.77 ± 22.81 b	4.27 ± 2.86 b
阳性对照组(盐酸洛哌丁胺)Positive control group(loperamide hydrochloride)	—	20.83 ± 31.55 c	312.12 ± 78.20 a	0.87 ± 1.43 c

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Notes: Different lowercase letters after the same column data mean significant difference($P < 0.05$)

从表 1 可看出,与阴性对照组相比,厚朴叶水提物低剂量组和阳性对照组腹泻率显著降低($P < 0.05$),而厚朴叶水提物中、高剂量组差异均不显著($P > 0.05$),但盐酸洛哌丁胺能明显降低腹泻率,是因为阴性与阳性对照组之间差异显著($P < 0.05$)。起效时间,厚朴叶水提物不同剂量组与阴性对照组无显著性差异($P > 0.05$),但数值上比阴性对照组略高,表明厚朴叶水提物对起效时间也有一定的影响。稀便次数,厚朴叶水提物中、高剂量组较阴性对照组显著减少($P < 0.05$),而厚朴叶水提物低剂量组和阴性对照组相比无显著性差异($P > 0.05$),从数值的大小可知,稀便次数与厚朴叶水提物的剂量成反比,因此厚朴叶水提物能显著降低蓖麻油致

小鼠腹泻的稀便次数。

2.2 厚朴叶水提物对蓖麻油致腹泻小鼠稀便率、稀便等级和腹泻指数的影响 根据小鼠的腹泻情况考察腹泻小鼠的稀便率、稀便平均等级和腹泻指数,不仅可以考虑稀便量的变化,还能考虑到质的因素,从而更能全面和客观地反映厚朴叶水提物对蓖麻油致腹泻小鼠的影响。因此在 DPS 数据处理系统对稀便率、稀便等级、腹泻指数进行了单因素下的 LSD 多重比较分析,结果见表 2。

由表 2 可知,与阴性对照组相比,厚朴叶水提物各剂量组的稀便率均显著降低($P < 0.05$),虽然数值上比阳性对照组大,但明显小于阴性对照组,因此厚朴叶水提物能显著降

表 2 不同剂量厚朴叶水提物对蓖麻油致腹泻小鼠腹泻程度的影响

Table 2 Effects of different doses of AEMOL on diarrhea induced by castor oil in mice

组别 Group	剂量 Dose//mg/kg	稀便率 Loose stools rate//%	稀便等级 Stool grade	腹泻指数 Diarrhea index
阴性对照组(蒸馏水)Negative control group(distilled water)	—	0.79 ± 0.15 a	1.94 ± 0.60 a	1.61 ± 0.77 a
低剂量组 Low dose group	100	0.37 ± 0.11 c	1.26 ± 0.44 b	0.88 ± 0.55 b
中剂量组 Middle dose group	200	0.59 ± 0.16 b	1.68 ± 0.48 ab	1.24 ± 0.76 ab
高剂量组 High dose group	400	0.55 ± 0.03 b	1.40 ± 0.15 ab	0.91 ± 0.23 b
阳性对照组(盐酸洛哌丁胺)Positive control group(loperamide hydrochloride)	—	0.12 ± 0.20 d	0.43 ± 0.53 c	0.23 ± 0.37 c

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Notes: Different lowercase letters after the same column data mean significant difference($P < 0.05$)

低小鼠的稀便率。从平均稀便等级来看,厚朴叶水提物低剂量组与阴性对照组相比显著降低($P < 0.05$),而厚朴叶水提物中、高剂量组与阴性对照组相比无显著性差异($P > 0.05$),厚朴叶水提物剂量组均低于阴性对照组,但明显高于阳性对照组,因此厚朴叶水提物能显著降低小鼠的平均稀便等级。腹泻指数,厚朴叶水提物低、中、高剂量组均低于阴性对照组,多重比较分析显示厚朴叶水提物低、高剂量组与阴性对照组相比有显著性差异($P < 0.05$),因此厚朴叶水提物能显著降低小鼠的腹泻指数。

3 讨论与结论

厚朴作为我国传统的中药材,在传统中药中占有重要的地位,同时厚朴资源丰富,分布广泛,且易得,为其药用价值的研究与开发奠定了基础。现代药理研究试验表明,厚朴具有重要的抗腹泻药理作用^[17-19],其植物体内的厚朴酚与和厚朴酚的抗腹泻是辛温(热)合归脾胃经中药药性中的一项共同药效^[20]。而腹泻的病理基础在于感染或非感染因素的刺激使肠道黏膜发炎、水肿,引起肠分泌和运动功能亢进,最终表现出稀便和便秘等系列症状^[21]。由于厚朴的乙醇提取物(主要成分为厚朴酚与和厚朴酚)在小鼠试验性溃疡、药物性小鼠腹泻的影响中对消化系统有显著的促进作用^[22],因此,该研究考察了不同剂量厚朴叶水提物对蓖麻油诱导小鼠腹泻的抗腹泻影响,发现厚朴叶水提物低剂量组和阳性对照组均有显著降低腹泻率的作用。厚朴叶水提物对蓖麻油所致小鼠的起效时间无影响;对于稀便次数,厚朴叶水提物中剂量组和高剂量组与阴性对照组相比均呈显著差异,且厚朴叶水提物不同剂量组之间的稀便次数与剂量成反比,表明随着厚朴叶水提物剂量的增加,对小鼠排稀便起到了抑制作用。从稀便率来看,厚朴叶水提物3个剂量组与阴性对照组相比也均显著下降;对于平均稀便等级,低剂量组与阴性对照组存在显著差异;对于腹泻指数,低剂量组和高剂量组与阴性对照组相比也均有显著差异,表明厚朴叶水提物具有拮抗小鼠腹泻的作用。由此可见,除起效时间以外,厚朴叶水提物对小鼠腹泻的抑制明显低于阳性对照组(盐酸洛哌丁胺),但在不同程度上高于阴性对照组(蒸馏水),厚朴叶水提物低、中、高剂量组的不同考察指标数据未呈现一定的规律性,这可能与药物的量效依赖性有关^[23]。

综上所述,厚朴叶水提物对蓖麻油所致的小鼠腹泻具有显著的抑制作用。有学者运用小鼠腹泻和抗炎模型对半夏、厚朴、木香、苍术、莲须等十余种中草药进行抗腹泻作用研究,提出“炎症介质是病人体内产生的一类致泻性物质”一说,并认为厚朴等中药治疗多数感染性和非感染性腹泻是通过抑制炎症的发生、发展或炎症介质的合成与释放或对抗炎症介质的泻下作用产生抗腹泻作用^[22,24-26]。庞月兰等^[27]分析指出厚朴酚与和厚朴酚可能是通过调节胃肠蠕动和以 Ca^{2+} 拮抗剂的形式抑制炎症的发生以发挥抗腹泻作用。Gilani等^[28]研究野扇花生物碱的抗腹泻活性,也认为抗腹泻机制是生物碱阻断了 Ca^{2+} 通道而发挥作用。该研究仅进行了厚朴叶水提物抑制小鼠腹泻的初步研究,有待进一步进行

抗腹泻机制等方面研究,从而为厚朴叶的药用研究和资源开发利用提供更充分的理论依据。

参考文献

- [1] 李娜,史彩虹,车晶玉.厚朴的药理活性与临床应用研究进展[J].中国医药指南,2011,9(9):191-193.
- [2] 权婧婧,房芝丹,雷迅,等.厚朴叶的开发利用研究进展[J].安徽农业科学,2011,39(33):20396-20397,20423.
- [3] 张淑洁,钟凌云.厚朴化学成分及其现代药理研究进展[J].中药材,2013,36(5):838-843.
- [4] 吴锦玉,吴岩斌,易骏,等.凹叶厚朴叶的化学成分研究[J].中草药,2013,44(21):2965-2968.
- [5] 龙飞,卫莹芳,刘永,等.厚朴叶化学成分的初步研究[J].华西药学杂志,2010,25(4):387-388.
- [6] 刘存芳.反相高效液相色谱法测定厚朴树叶中的厚朴酚[J].江苏农业科学,2015,43(8):311-313.
- [7] 刘晓鹏,姜宁,向东山,等.厚朴叶中厚朴酚及和厚朴酚的提取与测定[J].中国医院药学杂志,2007,27(5):694-696.
- [8] 叶锦霞,林珊,曾建伟,等.闽产厚朴叶中厚朴酚、和厚朴酚提取工艺研究[J].福建中医学报,2010,20(4):23-26.
- [9] 姜宁,刘晓鹏,滕建勋,等.紫油厚朴叶提取物对马铃薯青枯病菌的抑制作用及防病效果[J].植物保护,2008,34(2):58-60.
- [10] 殷帅文,钱文,朱峰,等.凹叶厚朴不同溶剂提取物对几种植物病原菌的抑制活性[J].江苏农业科学,2009(1):106-108.
- [11] 赵纯森,黄俊斌,周茂繁.厚朴叶中抑菌活性成分鉴别及其防病效果[J].华中农业大学学报,1994,13(4):373-377.
- [12] 曾红,周秋英,罗婷,等.厚朴酚与和厚朴酚对小鼠腹泻及胃肠排空抑制的影响比较[J].中药材,2015,38(10):2160-2162.
- [13] 丁婉萍,唐星,陶秀梅.厚朴提取物中主要成分的小肠吸收特性[J].沈阳药科大学学报,2003,20(6):399-401.
- [14] MADUBUIKE G K, FAVOUR O. Studies on anti-diarrheal activity of *Cassia sieberiana* in mice [J]. Journal of advances in biology & biotechnology, 2015, 3(4): 139-144.
- [15] ANJANEYULU N, GANESH M N, SRAVYA N, et al. Pharmacological evaluation of anti-diarrheal activity of alcoholic and aqueous extract of fruits of *Frageria vesca* Linn. in rats [J]. Asia journal of biomedical and pharmaceutical sciences, 2013, 3(22): 28-30.
- [16] 周干南,胡芝华,汪亚先,等.小鼠腹泻模型的制备与腹泻指数的应用[J].中草药,1994,25(4):195-199.
- [17] NAGASE H, IKEDA K, SAKAI Y. Inhibitory effect of magnolol and honokiol from *Magnolia obovata* on human fibrosarcoma HT-1080. Invasiveness *in vitro* [J]. Planta medica, 2001, 67(8): 705-708.
- [18] SAITO J, SHIBUYA K, NAGASE H. Anti-clastogenic effect of magnolol on benzo(a)pyrene-induced clastogenicity in mice [J]. Food and chemical toxicology, 2008, 46(2): 694-700.
- [19] PARK E J, ZHAO Y Z, NA M K, et al. Protective effects of honokiol and magnolol on tertiary butyl hydroperoxide-or D-galactosamine-induced toxicity in rat primary hepatocytes [J]. Planta medica, 2003, 69(1): 33-37.
- [20] 张明发,沈雅琴,朱自平,等.辛温(热)合归脾胃经中药药性研究(V)抗腹泻作用[J].中药药理与临床,1997,13(5):2-5.
- [21] 张明发,赵更生.炎症介质与腹泻性疾病[J].基础医学与临床,1992,12(3):151-152.
- [22] 朱自平,张明发,沈雅琴,等.厚朴对消化系统的药理作用[J].中国中药杂志,1997,22(11):686-688.
- [23] 赵艳玲,王伽伯,周旭,等.不同工艺制备的桃花止泻冲剂抗腹泻作用比较[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(3):38-40.
- [24] 沈雅琴,张明发,朱自平,等.半夏的抗腹泻和抗炎作用[J].中药药理与临床,1998,14(2):29-31.
- [25] 沈雅琴,张明发,朱自平,等.莲须的抗腹泻和抗炎作用[J].药学实践杂志,1998,16(4):198-200.
- [26] 张明发,沈雅琴,朱自平,等.木香的抗腹泻和抗炎作用[J].中国药业,1999,8(6):16-17.
- [27] 庞月兰,肖文军,韩雪峰,等.厚朴酚与和厚朴酚的抗腹泻作用及其机理研究进展[J].湖南农业科学,2010(7):131-134.
- [28] GILANI A H, GHAYUR M N, KHALID A, et al. Presence of antispasmodic, antidiarrheal, antisecretory, calcium antagonist and acetylcholinesterase inhibitory steroidal alkaloids in *Sarcococca saligna* [J]. Planta medica, 2005, 71(2): 120-125.