

2,4,6-三硝基苯磺酸和葡聚糖硫酸钠诱导的大鼠肠炎模型比较

曾健梅^{1*}, 黄敏聪¹, 李杨玲², 张博², 林能明^{1,2#}(1.浙江中医药大学附属杭州市第一人民医院临床药理学研究室, 杭州 310006; 2.浙江中医药大学附属杭州市第一人民医院转化医学研究中心临床药理学研究室, 杭州 310006)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)10-1353-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.10.15

摘要 目的:比较2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)和葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的两种肠炎大鼠模型。方法:SD大鼠随机分为正常对照组、TNBS模型组和DSS模型组,每组10只。TNBS模型组大鼠采用TNBS 50%乙醇溶液以100 mg/kg一次性灌肠法建立肠炎模型,DSS模型组大鼠采用4%DSS水溶液连续7 d自由饮用建立肠炎模型。观察各组大鼠一般情况,检测血清总胆固醇(TC)和三酰甘油(TG)含量、结肠长度及质量、结肠组织中髓过氧化物酶(MPO)活性,肉眼观察结肠大体外观形态,苏木精-伊红染色观察结肠病理学变化。结果:与正常对照组比较,TNBS模型组大鼠体质量明显减轻,结肠长度明显缩短、单位长度质量明显增加,粪便性状评分、血清TG含量、MPO活性、结肠大体外观评分和病理学评分均明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);DSS模型组大鼠体质量明显减轻,结肠长度明显缩短,粪便性状和结肠病理学评分均明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与DSS模型组比较,TNBS模型组大鼠结肠长度明显缩短、单位长度质量明显增加,血清TC、TG含量和结肠大体外观评分、病理学评分明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$),组织病理学检查可见明显肠道溃疡与粘连。结论:DSS诱导肠炎模型大鼠粪便评分较TNBS诱导模型低,TNBS诱导肠炎模型大鼠在肠道组织损伤方面较DSS诱导模型更严重、恢复更慢。

关键词 2,4,6-三硝基苯磺酸;葡聚糖硫酸钠;结肠炎;大鼠;5-氨基水杨酸

通过阻止炎症细胞聚集、抑制炎症介质的过度释放、清除氧自由基,起到减轻创伤、休克、多器官功能不全时器官组织的进一步损害及改善微循环和组织灌注等药理作用。已有多项研究表明乌司他丁在肺纤维化发病过程中发挥着重要的作用^[7-8]。

AQP-1是与水通透性有关的细胞膜转运蛋白,广泛分布于哺乳动物和植物细胞膜上。AQP-1在多种器官的生理和病理中发挥着重要作用,其主要功能是介导自由水被动跨生物膜转运,对保持细胞内外环境的稳态平衡起重要作用。研究发现,肺组织AQP-1表达下降可能造成肺泡内水分清除下降、肺部水代谢失衡,导致炎症水肿的进一步发生、发展^[9]。

本研究结果表明,乌司他丁可缓解矽肺大鼠肺组织病理状态,上调肺组织中AQP-1表达和下调MMP-2、MMP-9表达。

参考文献

[1] Li Y, Li SY, Li JS, et al. A rat model for stable chronic obstructive pulmonary disease induced by cigarette smoke inhalation and repetitive bacterial infection[J]. *Biol Pharm*

* 硕士研究生。研究方向:肿瘤药理学。电话:0571-56007809。E-mail:1429880171@qq.com

通信作者:教授,博士。研究方向:肿瘤药理学。电话:0571-56007809。E-mail:lnm1013@163.com

Bull, 2012, 35(10):1752-1760.

- [2] Wright JL, Cosio M, Churg A. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295(1):1-15.
- [3] 薛洋,周清华,张尚福,等. MMP-2、MMP-9在肺癌中的表达及其与肺癌转移和预后关系的研究[J]. *华西医学*, 2008, 23(2):225-226.
- [4] 石晓明,吴胜春,唐雷,等. 结肠癌组织AQP1与MMP-2、MMP-9、TIMP-1表达的关系及意义[J]. *河北医药*, 2013, 35(5):653-654.
- [5] 周从阳,谢姝,罗雅娟,等. 百草枯中毒大鼠肺组织中的4-羟基壬烯醛表达和乌司他丁的影响[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2012, 30(6):457-459.
- [6] 王刚,陈安宝,胡强,等. 乌司他丁对急性百草枯中毒大鼠的影响[J]. *广东医学*, 2013, 34(5):687-690.
- [7] 毛刚,吴清安,刘磊. 乌司他丁的药理作用机制及临床应用进展[J]. *山东医药*, 2015, 55(30):94-96.
- [8] 凌成亮. 乌司他丁临床研究进展[J]. *现代临床医学*, 2013, 39(4):243-244.
- [9] 张静,马宏博,司国民,等. 加味清营颗粒对急性肺损伤大鼠肺组织AQP-1表达的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2014, 9(12):1289-1295.

(收稿日期:2016-07-18 修回日期:2016-09-22)

(编辑:邹丽娟)

Comparison on the Model Rats with Colitis Induced by 2, 4, 6-three Nitrobenzene Sulfonic Acid and Dextran Sulfate Sodium

ZENG Jianmei¹, HUANG Mincong¹, LI Yangling², ZHANG Bo², LIN Nengming^{1,2} (1. Dept. of Clinical Pharmacology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310006, China; 2. Dept. of Clinical Pharmacology, Translational Medicine Research Center, Hangzhou First People's Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the model rats with colitis induced by 2, 4, 6-three nitrobenzene sulfonic acid (TNBS) and dextran sulfate sodium (DSS). METHODS: SD model rats were randomly divided into normal control group, TNBS model group and DSS model group, 10 in each group. Rats in TNBS model group received 100 mg/kg disposable enema by TNBS 50% ethanol solution to induce colitis model, DSS model group received 4% DSS ethanol solution for 7 d by themselves to induce colitis model. The general conditions of rats were observed, total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) contents, colon length and weight, myeloperoxidase (MPO) activity in colon tissue were detected, general appearance of colon was visually observed, and hematoxylin-eosin staining was used to observe the pathological changes. RESULTS: Compared with normal control group, body mass of rats in TNBS model group was reduced; colon length was shortened, and unit length quality was increased; feces character index, serum TG content, MPO activity, general appearance score and pathology score of colon were obviously increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Body mass of rats in DSS model group was reduced; colon length was shortened; feces character and pathology score of colon were obviously increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with DSS model group, colon length of rats in TNBS model group was shortened; unit length quality was increased; serum TC, TG contents, general appearance score and pathology score of colon were obviously increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); histopathological examination showed obvious intestinal ulcers and adhesions. CONCLUSIONS: The feces score of model rat with colitis induced by DSS is lower than those induced by TNBS, while model rats induced by TNBS are more serious and slowly recover in terms of intestinal tissue injury than those induced by DSS. **KEYWORDS** 2,4,6-three nitrobenzene sulfonic acid; Dextran sulfate; Colitis; Rats; 5-aminosalicylic acid

炎症性肠病(IBD)是一种发病机制仍不十分确切,以肠黏膜的慢性炎症和溃疡性改变为特征的慢性非特异性炎性肠病^[1]。IBD可能为感染、遗传、环境、免疫等综合因素所致,其主要症状有腹泻、便血和体质量减轻等^[2-5]。理想的、类似于人类的IBD动物模型对于寻找有效治疗IBD的药物至关重要。IBD动物模型研究已有许多报道^[6-9],然而各种IBD动物模型在药效学试验中的应用仍有一些疑问尚未解决,如恰当的检测时间点及指标的选择。本文通过采用两种常用方法[2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)灌肠法和葡聚糖硫酸钠(DSS)饮水法]建立大鼠肠炎模型,比较在建模后不同时期两种模型在一般症状(体质量等)、粪便性状、病程发展、结肠组织病理学改变等方面的异同,为进行抗肠炎药理学研究及药效学评价等试验时选择合适的检测时间点及指标提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Hitachi 7100生化仪(日本日立公司);Synergy HT酶标仪(美国BioTek公司);BPH-9042恒温箱(上海一恒科技有限公司);DM3000显微镜及病理全套设备(德国Leica公司)。

1.2 药品与试剂

TNBS溶液(美国Sigma-Aldrich公司,批号:SLBK-1620V,纯度:5%);DSS(美国MP Biomedicals公司,批号:216008120,分子量:36 000~50 000);无水乙醇(安徽安特食品股份有限公司,批号:1602073407);隐血试

剂盒和髓过氧化物酶(MPO)测试盒(南京建成科技有限公司,批号:20160111、20160103);总胆固醇(TC)试剂盒和三酰甘油(TG)试剂盒[德赛诊断系统(上海)有限公司,批号:07284/00002350、07236/00001238]。

1.3 动物

SD大鼠,SPF级,♂,体质量为230~260 g,5~6周龄,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,许可证号:SCXK(沪)2012-0002。

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 TNBS溶液 量取50 mg/mL的TNBS溶液15 mL,与等体积无水乙醇混匀,制得25 mg/mL的TNBS 50%乙醇溶液。

2.1.2 DSS溶液 称取40 g DSS,溶解并定容至1 000 mL饮用水中,制备成4% DSS溶液。

2.2 建模与给药

大鼠适应性饲养7 d后,按体质量随机分为正常对照组、TNBS模型组和DSS模型组,每组10只。TNBS模型组大鼠禁食24 h后麻醉,将一直径2 mm的橡胶管充分润滑后由肛门轻柔插入深约8 cm,按4 mL剂量灌肠给予25 mg/mL的TNBS 50%乙醇溶液(折算建模剂量为100 mg/kg),完毕后缓慢拔出塑料胶管,用手捏住肛门,提起大鼠尾部,持续倒置1 min,使建模剂充分渗入大鼠肠腔内。DSS模型组大鼠每天自由饮用4% DSS水溶液连续7 d,随后给予正常饮用水。

2.3 检测指标

2.3.1 一般情况和粪便性状 从建模第1天起,每天观察各组大鼠的一般情况、体质量、粪便形状、粪便隐血情况,连续观察25 d,并进行粪便性状评分。评分标准:正常(暗褐色,硬,呈椭圆形)为0分;松软隐血阴性为1分;松软隐血阳性为2分;稀溏隐血阴性为3分;稀溏隐血阳性为4分。

2.3.2 血清TC、TG和结肠组织MPO活性测定 观察25 d后,各组大鼠腹主动脉采血,测定血清TC、TG水平;取各组大鼠结肠病变部位,检测结肠组织MPO活性。

2.3.3 结肠长度、质量及指数测定 观察25 d后,各组大鼠解剖剪取结肠,剪开肠腔,生理盐水冲洗后用滤纸吸干,测量结肠长度、称质量,并计算结肠指数[结肠质量(g)/体质量(g)×100%]和单位长度质量。

2.3.4 结肠组织大体观察及病理学变化 观察25 d后,解剖时肉眼大体观察各组大鼠结肠外观形态变化,并进行大体观察评分。评分标准:无损伤为0分;黏膜充血、水肿、未出现溃疡为1分;黏膜充血、水肿、轻度糜烂、无溃疡为2分;黏膜充血、水肿、中度糜烂、有单个溃疡为3分;黏膜充血、水肿、高度糜烂、有多处溃疡为4分;黏膜充血、水肿、重度糜烂、有1 cm以上溃疡为5分。取各组大鼠结肠病变部位组织进行石蜡包埋、切片,苏木精-伊红(HE)染色,显微镜下观察,并进行组织病理学评分。评分标准:未见明显损伤为0分;炎性浸润血管增生为1分;黏膜细胞坏死为2分;溃疡为3分。

2.4 统计学方法

采用SPSS 16软件进行数据统计,正态计量指标采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般情况和粪便性状

正常对照组大鼠活跃,毛发光泽,食欲良好,大小便正常,粪便质地较硬、暗褐色、呈椭圆形。TNBS模型组大鼠于建模后第2天即出现活动减少、倦怠懒动、反应迟缓、肛周污秽,粪便质地为黏液便、脓血便或稀便;粪便性状评分在建模后第3天达到峰值,第8天开始明显下降,第15天左右逐渐恢复正常。DSS模型组大鼠于建模后第2天部分大鼠开始出现软便或稀便,随着饮用DSS溶液的时间增加而加剧,于第7天全部大鼠均出现稀溏血便,粪便性状评分达到峰值,停饮DSS溶液后粪便性状评分下降,第21天基本恢复正常。结果显示,TNBS灌肠法和DSS饮水法均能影响大鼠粪便性状,引起泄泻,出现稀便甚至血便,并在建模后一定时间内会自行恢复。但是两种方法建模后大鼠粪便最严重性状出现的时间不同,且DSS饮水法引起大鼠便血情况较TNBS灌肠法更为严重。各组大鼠粪便评分趋势见图1。

3.2 大鼠体质量

与正常对照组比较,TNBS模型组大鼠建模后25 d

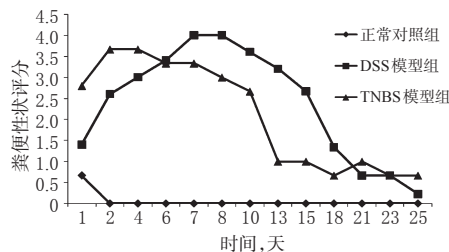


图1 各组大鼠粪便评分趋势图

Fig 1 Trend graph of feces score of rats in each group

内体质量均降低,DSS模型组大鼠建模后15 d内体质量均降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果显示,TNBS灌肠法和DSS饮水法均能造成大鼠体质量减轻,但是相对于TNBS灌肠法,DSS饮水法减轻大鼠体质量的程度较轻且缓慢($P < 0.05$)。各组大鼠体质量变化情况见表1。

表1 各组大鼠体质量变化情况($\bar{x} \pm s, n = 10, g$)

Tab 1 Body mass changes of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10, g$)

组别	检查时期				
	0 d	4 d	8 d	15 d	25 d
正常对照组	249 ± 7.7	276 ± 11.0	300 ± 15.6	345 ± 21.4	395 ± 27.7
DSS模型组	249 ± 6.1	255 ± 13.9**	263 ± 10.7**	309 ± 13.0**	381 ± 17.7
TNBS模型组	248 ± 7.2	229 ± 22.0***	254 ± 17.6**	310 ± 25.0*	367 ± 17.4*

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与DSS模型组比较,# $P < 0.05$

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

3.3 大鼠结肠长度、质量及指数

与正常对照组比较,TNBS模型组大鼠结肠长度明显缩短,单位长度质量明显升高($P < 0.01$),结肠质量增加、结肠指数增大,但差异无统计学意义;DSS模型组大鼠结肠长度明显缩短($P < 0.05$),结肠质量、单位长度质量及结肠指数未见明显变化。结果显示,TNBS灌肠法引起的大鼠结肠长度缩短及结肠单位长度质量增加较DSS模型更为严重($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组大鼠结肠长度、质量及指数测定结果见表2。

表2 各组大鼠结肠长度、质量及指数测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Determination results of colon length, weight and index of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	结肠长度,cm	结肠质量,g	单位长度质量,g/cm	结肠指数,%
正常对照组	15.82 ± 2.71	1.914 ± 0.264	0.124 ± 0.027	0.488 ± 0.086
DSS模型组	13.42 ± 0.49*	1.830 ± 0.383	0.137 ± 0.029	0.480 ± 0.099
TNBS模型组	11.33 ± 1.26***	2.348 ± 0.746	0.208 ± 0.061***	0.637 ± 0.191

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与DSS模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

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

3.4 大鼠血清TC、TG含量与结肠组织MPO活性

与正常对照组比较,TNBS模型组大鼠血清TG含量及结肠组织MPO活性明显升高($P < 0.05$);DSS模型组

大鼠上述指标无明显变化。与DSS模型组比较,TNBS模型组大鼠血清TG含量明显升高($P<0.05$)。各组大鼠血清TC、TG含量与结肠组织MPO活性测定结果见表3。

表3 各组大鼠血清TC、TG含量与结肠组织MPO活性测定结果($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab 3 Determination results of serum TC, TG and MPO activity in intestinal tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	血清TC,mmol/L	血清TG,mmol/L	结肠组织MPO,u/g(组织湿质量)
正常对照组	0.911±0.189	0.625±0.063	0.389±0.091
DSS模型组	0.808±0.078	0.547±0.149	0.459±0.096
TNBS模型组	1.071±0.193*	0.887±0.338**	0.559±0.170*

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与DSS模型组比较,** $P<0.05$

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

3.5 大鼠结肠组织大体观察及病理学变化

3.5.1 结肠组织大体观察 正常对照组大鼠结肠黏膜呈淡红色,光滑、完整;TNBS模型组大鼠结肠肠壁增厚,结肠表现为充血水肿、溃疡形成、结肠组织粘连,部分肠壁扩大,黏膜溃疡损伤明显,其大体观察评分明显高于正常对照组和DSS模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);DSS模型组大鼠结肠肉眼大体观察则未见明显异常。正常对照组、DSS模型组和TNBS模型组大鼠肠道组织大体观察评分分别为0、 0.333 ± 0.516 、 1.500 ± 1.049 。

3.5.2 结肠组织光镜观察 正常对照组结肠黏膜腺体结构清晰,黏膜下血管丰富;TNBS模型组大鼠结肠黏膜糜烂、溃疡,溃疡面大、数量多,黏膜及黏膜下层有大量炎性细胞浸润,腺体破坏;DSS模型组大鼠除了结肠组织黏膜及黏膜下层有少量炎性细胞浸润外,未见明显病理学变化。TNBS模型组结肠组织病理学评分明显高于DSS模型组($P<0.01$)。正常对照组、DSS模型组和TNBS模型组大鼠结肠组织病理学观察评分分别为0、 0.667 ± 0.816 、 2.333 ± 0.816 。各组大鼠结肠组织病理学观察结果见图2。

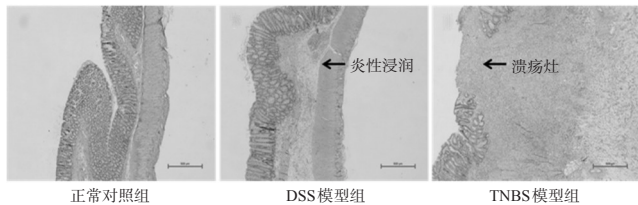


图2 各组大鼠结肠组织病理学观察结果(HE,×40)

Fig 2 Pathological observation results of colon tissue of rats in each group(HE,×40)

4 讨论

选择合适的IBD动物模型以评价药物非临床抗肠炎作用至关重要。本试验结果显示,虽然TNBS和DSS诱导的两种肠炎大鼠模型均会出现与文献报道的泄泻、稀便、体质量减轻、结肠组织病理学改变等症状^[10-12],但

两种肠炎大鼠模型在时间及程度方面呈现出一定的差异及各自的特点。

在模型动物的症状表现上,TNBS灌肠法模型组大鼠在建模后3d粪便性状指数达到峰值,1周后粪便性状指数逐渐开始恢复至接近正常;体质量在第4天减轻达最低点,至试验结束体质量仍未恢复至正常;解剖仍可见结肠肠壁增厚、溃疡、结肠与肠外组织粘连等明显损伤,镜检可见大量炎性细胞浸润、溃疡、腺体破坏等病理改变,表明损伤仍未恢复正常。而DSS饮水法则在连续饮用7d后粪便性状指数达到峰值,基本全部动物出现明显稀便和血便,便血情况较TNBS模型严重,停饮DSS溶液后腹泻症状明显改善;体质量下降程度较TNBS模型轻且缓慢,在建模第10天体质量减轻才达最低点,至试验结束时体质量已基本恢复;解剖时肉眼大体观察未见明显异常,镜检可见少量炎性细胞浸润外,未见明显病理学改变,表明已基本恢复正常。TNBS灌肠法引起的大鼠结肠长度缩短、结肠质量增加及结肠组织MPO活性增加较DSS模型更为严重;且血清TG水平明显增加,这可能与乙醇灌肠后进入血液引起血清TG含量升高有关。此外,在建模操作性及费用方面,TNBS建模法需禁食灌肠操作,技巧要求较高,影响因素多(如肠道有粪便残存导致管子插入深度不够,或致建模液溢出),会导致偶有个别动物建模程度不均一。DSS建模仅需动物自由饮用水溶液,影响因素较少,成模率高,一致性较TNBS模型更好。但是常用试剂DSS基本为美国MP Biomedicals公司生产,价格较昂贵,建模成本较TNBS建模法高。

综上所述,在采用TNBS灌肠法或DSS饮水法建立大鼠肠炎模型进行药物药效学评价时,需注意两种模型各自的特点,尤其是病理病程发展变化,以此来选择合适的时间点进行指标观测。

参考文献

- [1] Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease[J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, doi: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225.
- [2] Di Sabatino A, Biancheri P, Rovedatti L, et al. Recent advances in understanding ulcerative colitis[J]. *Intern Emerg Med*, 2012, 7(2):103-111.
- [3] Sanchez-Munoz F, Dominguez-Lopez A, Yamamoto-Furusho JK. Role of cytokines in inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(27):4280-4288.
- [4] Piechota-Polanczyk A, Fichna J. Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2014, 387(7):605-620.
- [5] Kolios G. Animal models of inflammatory bowel disease: how useful are they really? [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2016, 32(4):251-257.
- [6] Balmus IM, Ciobica A, Trifan A, et al. The implications

藏药甘肃马先蒿有效成分提取工艺研究[△]

曹馨元^{1,2*},李茂星^{1,2#},毛婷^{1,2},陶锐³,王先敏¹,刘延彤¹,马强⁴(1.兰州军区兰州总医院药剂科/全军高原环境损伤防治重点实验室,兰州 730050;2.兰州大学药学院,兰州 730000;3.银川市妇幼保健院药剂科,银川 750001;4.兰州军区兰州总医院消化科,兰州 730050)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)10-1357-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.10.16

摘要 目的:优化藏药甘肃马先蒿提取工艺并比较不同产地甘肃马先蒿中2种成分毛蕊花糖苷及异毛蕊花糖苷的含量差异。方法:以毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷及干膏得率为综合评价指标,通过单因素试验及正交试验对提取溶剂、溶剂量、提取时间及提取次数进行考察以优化提取工艺,并进行验证试验。比较甘肃、青海及四川3个产地的甘肃马先蒿中2种成分毛蕊花糖苷及异毛蕊花糖苷的含量。结果:最优提取工艺为加8倍量的50%乙醇提取3次,每次90 min。验证试验中毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷含量及干膏得率平均值分别为3.49%、1.26%、37.99%(RSD分别为1.28%、1.32%、1.97%,n=3)。以青海产甘肃马先蒿中毛蕊花糖苷及异毛蕊花糖苷含量相对较高。结论:优化的提取工艺合理、稳定、可行,不同产地的甘肃马先蒿中指标成分的含量存在一定的差异。本试验可为甘肃马先蒿提取物的开发利用、药材品质评价的深入研究提供依据。

关键词 甘肃马先蒿;毛蕊花糖苷;异毛蕊花糖苷;正交试验;提取工艺;含量比较

Study on the Extraction Technology for Active Constituents of Tibetan Medicine *Pedicularis kansuensis*

CAO Xinyuan^{1,2}, LI Maoxing^{1,2}, MAO Ting^{1,2}, TAO Rui³, WANG Xianmin¹, LIU Yantong¹, MA Qiang⁴(1.Dept. of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA & Key Laboratory of the Prevention and Cure for the Plateau Environment Damage, PLA, Lanzhou 730050, China; 2.College of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3.Dept. of Pharmacy, Yinchuan Maternity and Child-care Hospital, Yinchuan 750001, China; 4. Dept. of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Tibetan medicine *Pedicularis kansuensis* and compare content of verbascoside and isoverbascoside differences in *P. kansuensis* from various habitats. METHODS: Using verbascoside and isoverbascoside and dry paste yield as comprehensive evaluation indexes, single factor test and orthogonal test were used to investigate the extraction solvent, solvent dosage, extraction time and times to optimize extraction technology, and the verification test was conducted. Contents of the 2 constituents verbascoside and isoverbascoside in *P. kansuensis* from Gansu, Qinghai and Sichuan were



of oxidative stress and antioxidant therapies in inflammatory bowel disease: clinical aspects and animal models[J]. *Saudi J Gastroenterol*, 2016, 22(1):3-17.

[7] Randhawa PK, Singh K, Singh N, et al. A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2014, 18(4): 279-288.

[8] Goyal N, Rana A, Ahlawat A, et al. Animal models of inflammatory bowel disease: a review[J]. *Inflammopharma-*

△基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81374019);甘肃省中医药管理局科研课题(No.GZK-2015-59);全军医药卫生科研基金课题(No.CLZ15JA05)

* 硕士研究生。研究方向:天然药物化学、中药新药研究与开发。电话:0931-8994676。E-mail:caoxy2014@aliyun.com

通信作者:副教授,博士。研究方向:中药活性成分研究与开发。电话:0931-8994676。E-mail:limaox2005@aliyun.com

cology, 2014, 22(4):219-233.

[9] 桑力轩,高楠,常冰,等. DSS、TNBS、OXZ 诱导结肠炎动物模型的对比[J]. *胃肠病学与肝病学杂志*, 2013, 12(22):1221-1224.

[10] Algieri F, Rodriguez-Nogales A, Garrido-Mesa N, et al. Intestinal anti-inflammatory activity of the Serpylli herba extract in experimental models of rodent colitis[J]. *J Crohns Colitis*, 2014, 8(8):775-788.

[11] 贺海辉,沈洪,朱宣宣,等. 2,4,6-三硝基苯磺酸/乙醇法诱导建立溃疡性结肠炎大鼠模型[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(15):4138-4140.

[12] 聂朝宏,温克,赵敏,等. 溃结康对三硝基苯磺酸诱导大鼠炎症性肠病的作用研究[J]. *药物评价研究*, 2016, 39(1): 57-60.

(收稿日期:2016-08-18 修回日期:2016-11-10)

(编辑:邹丽娟)