

Effect of *Radix Tetrastigma hemsleyanum* Oligosaccharides on Gastrointestinal Tract of Experimental Mice

Chang Li, Yue Yao, Jiayang Wan, Xiaojuan Huang, Fangmei Zhou, Zhishan Ding*

Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou Zhejiang
Email: *582754297@qq.com

Received: Aug. 5th, 2018; accepted: Aug. 20th, 2018; published: Aug. 27th, 2018

Abstract

Objective: To investigate the effect of *Radix Tetrastigma hemsleyanum* oligosaccharides on gastrointestinal function in mice. **Methods:** 50 mice of ICR species were randomly divided into 5 groups: blank control group, model group, *Radix Tetrastigma hemsleyanum* oligosaccharides with low, middle and high dose group. Except the blank control group and the model group which were given physiological saline, the rest of the group were gavaged the different doses of *Tetrastigma hemsleyanum* oligosaccharides. We observe the effect of different doses of *Tetrastigma hemsleyanum* oligosaccharides on defecation function, small intestine propulsion rate, gastric residual rate and defecation function of temporary constipation mice induced by loperamide hydrochloride in normal condition. **Results:** Compared with the normal group and the model group, low and high doses of *Tetrastigma hemsleyanum* oligosaccharides can significantly shorten the normal mice and constipation model mice first defecation time, increasing the number of mice black particles and melena water content ($P < 0.05$). All doses of *Tetrastigma hemsleyanum* oligosaccharides significantly increased the small intestine propulsion rate and gastric residual rate ($P < 0.05$) in normal mice, and had no significant effect on body weight and organ index ($P > 0.05$). **Conclusion:** *Tetrastigma hemsleyanum* oligosaccharides can improve defecation, and promote intestinal propulsion and gastric emptying in mice.

Keywords

Radix Tetrastigma hemsleyanum, Oligosaccharides, Gastrointestinal Tract, Gastric Emptying, Intestinal Propulsion

三叶青低聚糖对小鼠胃肠道功能的影响

李昶, 姚玥, 万嘉洋, 黄晓娟, 周芳美, 丁志山*

浙江中医药大学, 浙江 杭州

*通讯作者。

Email: 582754297@qq.com

收稿日期: 2018年8月5日; 录用日期: 2018年8月20日; 发布日期: 2018年8月27日

摘要

目的: 探究三叶青低聚糖对小鼠胃肠道功能的影响。方法: 50只ICR小鼠随机分为正常组、模型组、三叶青低聚糖低、中、高剂量组, 除正常组和模型组灌胃生理盐水外, 其余各组按剂量灌胃三叶青低聚糖。观察不同剂量三叶青低聚糖对正常状态下小鼠排便功能、小肠推进率、胃残留率和盐酸洛哌丁胺所致暂时性便秘小鼠排便功能的影响。结果: 与正常组和模型组相比较, 低、高剂量的三叶青低聚糖可显著缩短正常小鼠和便秘模型小鼠首次排便时间, 增加小鼠黑便粒数和黑便水分含量($P < 0.05$); 不同剂量三叶青低聚糖均可显著增加正常小鼠的小肠推进率并降低胃残留率($P < 0.05$), 且对小鼠的正常生长无明显影响。结论: 三叶青低聚糖具有通便作用, 并可促进小鼠小肠推进和胃排空。

关键词

三叶青, 低聚糖, 胃肠道, 胃排空, 小肠推进

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Open Access

1. 引言

三叶青(*Radix Tetrastigma hemsleyanum*), 葡萄科崖爬藤属植物, 是我国特有的珍稀药用植物, 主要分布于浙江、江西、福建等地[1], 地下块根或全草均可入药, 有较长应用历史, 现代药理学研究已证明三叶青具有解热、抗炎、抗肿瘤、抗病毒、保肝、免疫调节[2] [3]等多种药理作用。三叶青的化学组成较复杂, 主要含有黄酮、甾体、萜类、糖类等多种活性成分[4] [5], 其中糖类又可分为单糖、低聚糖和多糖。

低聚糖(Oligosaccharides)又称寡糖, 指由 2~10 个相同或不同的单糖通过糖苷键连接而成的低度聚合糖, 分为功能性低聚糖和普通低聚糖[6]。其中, 功能性低聚糖具有一定甜度、黏度和水溶性等糖类的特性, 但因人体肠道不具备消化酶而不能被消化吸收, 能够直接进入肠道内为有益菌发酵利用, 并转化成短链脂肪酸以及乳酸等小分子, 经过人体代谢与吸收, 具有保护胃肠道的功能[7]。目前, 植物低聚糖对胃肠道的调节作用已有一些研究报道, 如香蕉低聚糖[8] [9]、魔芋葡甘低聚糖[10]、芦笋低聚糖[11]、大豆低聚糖[12]、大枣低聚糖[13]等均具有良好的保护胃肠道功效, 而有关三叶青低聚糖的对胃肠道功能的调节作用尚未有报道。

为探明三叶青低聚糖对胃肠道的保健功效, 本研究探究三叶青低聚糖对正常小鼠排便功能、小肠推进和胃排空功能的影响, 并采用盐酸洛哌丁胺制造暂时性功能便秘小鼠模型, 探究三叶青低聚糖对便秘小鼠排便功能的影响。

2. 实验材料与方法

2.1. 仪器

精密电子天平(型号: ME403E, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); 旋转蒸发仪(型号: RE-52AA,

上海亚荣有限公司); 4℃冰箱(型号: BCD-269WPB, 合肥美菱股份有限公司)等。

2.2. 试剂

阿拉伯树胶(法国 Nexira 公司, 批号: 170968); 盐酸洛哌丁胺(西安杨森制药有限公司, 批号: 国药准字 H10910085)。

墨汁制备: 准确称取阿拉伯树胶 50 g, 加水 400 mL, 煮沸至溶液透明, 称取活性炭 25 g 加至上述溶液中煮沸 3 次, 用玻棒搅拌混匀, 待溶液凉后加水定容到 500 mL, 4℃冰箱保存, 用前摇匀。

半固体营养糊制备: 取 10 g 羧甲基纤维素钠, 溶于 250 mL 蒸馏水中, 分别加入 16 g 奶粉、8 g 糖、8 g 淀粉和 2 g 活性炭末, 搅拌均匀, 配制成 300 mL 约 300 g 的黑色半固体糊状物。

2.3. 实验动物与药材

SPF 级 ICR 小鼠, 雌雄各半, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 许可证号: SCXK (沪) 2015-0002。三叶青源自浙江省杭州市富阳区, 经丁志山教授鉴定为葡萄科植物三叶崖爬藤, 置于烘箱中 55℃烘干, 打粉后过 60 目筛, 得三叶青粗粉。

2.4. 实验方法与步骤

2.4.1. 三叶青低聚糖的提取[14]

称取干燥三叶青粗粉, 按料液比 1:15 加入 95%乙醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 趁热抽滤。滤渣按料液比 1:15 加水连续回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 八层纱布趁热过滤, 合并滤液, 减压浓缩至适宜体积, Sevage 法去蛋白后分级醇沉, 将三叶青 85%醇沉上清浓缩后再用 95%乙醇沉淀, 减压干燥得到三叶青低聚糖。

2.4.2. 动物分组及受试物灌服

实验小鼠适应性饲养一周后, 随机分为 5 组, 每组 10 只。实验设正常组、便秘模型组、三叶青低聚糖低、中、高剂量组。正常组和模型组每天灌胃生理盐水, 低、中、高剂量组的三叶青低聚糖剂量分别为 5、10、20 mg/kg·bw, 均用生理盐水将制得的三叶青低聚糖配制成相应剂量的灌胃溶液, 连续给药 14 d, 观察各组小鼠粪便性状, 定期测量各组小鼠体重并记录。

2.4.3. 对正常小鼠排便功能的影响

“2.4.2”项中除模型组外其余四组实验小鼠在末次给药后禁食不禁水 16 h, 各组给予含相应受试物的碳墨悬液 0.8 mL/只。各组小鼠均单独饲养, 正常饮水和进食, 观察并记录每只小鼠首次排黑便所需时间、6 h 内排黑便粒数, 收集黑便称量湿重, 60℃烘干后称量干重。

2.4.4. 对便秘小鼠排便功能的影响

“2.4.3”项实验结束后, 各组小鼠正常饲养一天, 再次禁食不禁水 16 h。除正常组外其余 4 组给药盐酸洛哌丁胺 20 mg/kg, 30 min 后给予含相应受试物的碳墨悬液 0.8 mL/只。各组小鼠均单独饲养, 正常饮水和进食, 观察并记录每只小鼠首次排黑便所需时间、6 h 内排黑便粒数, 收集黑便称量湿重, 60℃烘干后称量干重。

2.4.5. 对正常小鼠小肠推进和胃排空功能的影响

“2.4.4”项实验结束后, 各组小鼠正常饲养一周, 按“2.4.2”项方法继续灌胃给药。第 6 d 给药后禁食不禁水 24 h, 于第 7 d 再给受试物一次。给药 30 min 后, 各组小鼠均按 0.8 mL/只给予半固体营养糊。再间隔 25 min 后, 小鼠脱颈处死, 并剖开腹腔分离肠系膜, 剪取小鼠贲门至幽门全胃, 用滤纸拭干后称量胃全重, 然后沿胃大弯剪开胃体, 洗去胃内容物后擦干, 称净重。以胃全重和胃净重之差为胃内残留

物重量, 计算胃内残留物占所灌半固体糊的重量的百分比为胃内残留率, 如公式(1)所示。

$$\text{胃残留率} = \frac{(\text{胃全重} - \text{胃净重})}{\text{胃全重}} \times 100\% \quad (1)$$

剪取贲门至回盲部的肠管, 轻轻拉成直线, 平铺于玻璃板上, 测量肠管长度为小肠总长度, 幽门至碳末前沿为碳末推进长度, 计算小肠推进率, 如公式(2)所示。

$$\text{小肠推进率} = \frac{\text{墨汁推进长度}}{\text{小肠总长度}} \times 100\% \quad (2)$$

2.5. 统计学方法

用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计学处理。所有实验数据均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间比较采用单因素方差分析, 多重比较时若各组方差齐, 采用 LSD 法; 若方差齐性不能满足, 采用 Dunnett T3 法统计; $P < 0.05$ 说明有统计学意义。

3. 结果

3.1. 三叶青低聚糖对小鼠状态与粪便性状的影响

实验小鼠给予三叶青低聚糖后 14 d 内, 各组小鼠的状态均未有明显改变, 精神状态良好, 行动敏捷。与正常对照组相比, 三叶青低聚糖各剂量组小鼠粪粒较软, 外观饱满圆润, 感官正常, 为黑褐色麦粒状。各组小鼠均未有腹泻现象。

3.2. 三叶青低聚糖对正常小鼠排便功能的影响

实验结果如表 1 所示。与正常对照组相比, 三叶青低聚糖各剂量组小鼠的首次排黑便时间均有所缩短, 三叶青低聚糖低、高剂量组存在显著差异 ($P < 0.01$)。各剂量组小鼠 6 h 内黑便粒数均有显著增加 ($P < 0.01$), 且黑便水分含量也有所增加, 呈软便。其中, 三叶青低聚糖低、高剂量组小鼠的黑便水分含量与正常对照组相比存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

3.3. 三叶青低聚糖对便秘小鼠排便功能的影响

实验小鼠首次排出黑便的时间和 6 h 内黑便粒数的结果如表 2 所示。与正常对照组相比, 模型组小鼠首黑便时间有明显滞后, 6 h 内黑便粒数明显减少, 且均存在显著性差异 ($P < 0.05$), 说明小鼠便秘模型造模成功。与模型组相较, 三叶青低聚糖各剂量组小鼠的首次黑便时间均有所缩短, 6 h 内黑便粒数均有所增加, 且黑便水分含量也有所增加, 呈软便。说明各剂量的三叶青低聚糖能够改善盐酸洛哌丁胺所致的暂时性便秘。其中, 三叶青低聚糖低、高剂量组小鼠的三项指标与模型组相比均存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

3.4. 三叶青低聚糖对实验小鼠小肠推进和胃排空功能的影响

3.4.1. 三叶青低聚糖对实验小鼠小肠碳墨推进功能的影响

如表 3 所示, 与正常对照组小鼠比较, 三叶低聚糖低、中、高剂量组小鼠的小肠推进率与正常组相比均存在显著性增高 ($P < 0.01$), 且分别提高了 25.83%、20.64%、25.41%, 说明各剂量三叶青低聚糖均能够显著促进小鼠小肠的蠕动。其中低、高剂量改善小鼠小肠推进能力的效果较中剂量更好。

3.4.2. 三叶青低聚糖对实验小鼠胃排空功能的影响

如表 4 所示, 与正常对照组小鼠比较, 三叶低聚糖低、中、高剂量组小鼠的胃残留率均存在显著性降低 ($P < 0.05$), 分别减少了 16.45%、9.94%、16.62%, 说明各剂量的三叶青低聚糖均能有效降低小鼠胃

Table 1. Effect of *Tetragymna hemsleyanum* oligosaccharides on defecation function in normal mice**表 1.** 三叶青低聚糖对正常小鼠排便功能的影响(n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	首便时间(min)	6 h 黑便粒数(粒)	黑便水分含量(%)
正常组	117.65 ± 18.71	11.62 ± 1.81	34.23 ± 3.16
三叶青低聚糖低剂量组	78.23 ± 14.42**	18.63 ± 2.32**	43.18 ± 4.54*
三叶青低聚糖中剂量组	105.54 ± 24.92	15.87 ± 2.10**	37.96 ± 4.38
三叶青低聚糖高剂量组	85.41 ± 14.15**	16.64 ± 2.25**	42.47 ± 4.88*

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Table 2. Effect of *Tetragymna hemsleyanum* oligosaccharides on defecation function in constipation mice**表 2.** 三叶青低聚糖对便秘小鼠排便功能的影响(n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	首便时间(min)	6 h 黑便数量(粒)	黑便水分含量(%)
正常组	115.59 ± 21.29	10.25 ± 4.49	35.25 ± 9.25
模型组	183.75 ± 24.65 ^{##}	6.03 ± 3.11 [#]	29.45 ± 7.67
三叶青低聚糖低剂量组	120.52 ± 20.41**	12.54 ± 3.03*	49.87 ± 9.63*
三叶青低聚糖中剂量组	147.28 ± 22.71*	9.84 ± 2.20	56.43 ± 9.14**
三叶青低聚糖高剂量组	125.56 ± 23.82**	15.79 ± 2.76**	50.81 ± 9.37*

注: 与正常组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Table 3. Effect of *Tetragymna hemsleyanum* oligosaccharides on intestinal propulsive function in constipation mice**表 3.** 三叶青低聚糖对实验小鼠小肠碳墨推进功能的影响(n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	小肠总长度(cm)	小肠墨汁段长度(cm)	小肠推进率(%)
正常组	45.74 ± 2.09	22.00 ± 6.30	41.71 ± 5.88
三叶青低聚糖低剂量组	48.34 ± 2.78	32.45 ± 3.23**	67.54 ± 5.32**
三叶青低聚糖中剂量组	46.55 ± 3.23	29.23 ± 4.54**	62.35 ± 8.04**
三叶青低聚糖高剂量组	47.32 ± 3.15	31.67 ± 3.12**	67.12 ± 6.71**

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Table 4. Effect of *Tetragymna hemsleyanum* oligosaccharides on gastric emptying function in constipation mice**表 4.** 三叶青低聚糖对实验小鼠胃排空功能的影响(n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	胃全重(g)	胃净重(g)	胃内残留率(%)
正常组	0.55 ± 0.09	0.22 ± 0.03	52.18 ± 7.61
三叶青低聚糖低剂量组	0.49 ± 0.06	0.22 ± 0.02	34.45 ± 5.32**
三叶青低聚糖中剂量组	0.52 ± 0.07	0.21 ± 0.02	42.27 ± 6.65*
三叶青低聚糖高剂量组	0.51 ± 0.07	0.22 ± 0.03	35.43 ± 5.43**

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

残留率, 改善小鼠胃排空能力, 其中低、高剂量改善小鼠胃排空功能的效果较中剂量更好。

4. 讨论

本实验采用盐酸洛哌丁胺制造小鼠便秘模型, 其作用时间长, 较地芬诺酯起效更快, 可减缓结肠蠕动, 抑制结肠传输, 增加肠道的吸水作用, 减少粪粒含水量[15] [16]。实验中采用半固体营养糊法观察小鼠小肠推进和胃排空, 半固体营养糊在营养组成上更加接近于小鼠日常食物, 因而与碳墨混悬液相比能

更真实地反映小鼠小肠推进的生理功能[17]。

由实验结果可见,三叶青低聚糖可显著缩短正常小鼠与盐酸洛哌丁胺所致便秘模型小鼠的首次排便时间,增加其黑便粒数和黑便水分含量,并可显著促进正常小鼠的小肠蠕动与胃排空,同时不影响小鼠的正常生长,表明三叶青低聚糖具有一定程度的润肠通便作用。其原因可能为三叶青低聚糖可以促进肠道内乳酸杆菌和双歧杆菌等有益菌的生长,这类菌在代谢过程中能够产生短链脂肪酸,进而调节肠道内pH,维持肠道内酸性环境,抑制病原菌的生长繁殖,使肠道内的渗透压增加,促进肠道蠕动,起到维持肠道内微生态的平衡、防止便秘的作用[18][19][20]。实验发现,三叶青低聚糖低、高剂量对小鼠胃肠道功能的调节作用较中剂量更大,其原因有待进一步探究说明。

中药低聚糖来源及分布广泛,以其特殊的生物活性和化学性质,在营养保健、疾病防治等方面有巨大潜力[21]。三叶青低聚糖作为一种天然药效成分,稳定安全而无毒害,对机体的不良反应较少,具有良好的开发前景和应用价值,然而目前在其药理、药效及作用机制等方面均尚未有相关研究报道。本研究为三叶青低聚糖在调节胃肠道功能方面的应用提供了研究基础,并为传统中药三叶青的精细加工和综合利用提高了附加值,具有重大意义。

参考文献

- [1] 韦树根,董青松,韦莹,马小军,黎颖菁,付金娥. 广西濒危珍稀中药材三叶青资源调查研究[J]. 北方园艺, 2011(21): 162-164.
- [2] 钱丽华,戴丹丽,姜慧燕,林蔚红. 濒危药用植物三叶青研究进展[J]. 浙江农业学报, 2015(7): 1301-1308.
- [3] 杨朔. 中草药三叶青的功用及市场前景分析[J]. 中国农业信息, 2015(20): 141-142.
- [4] 吴舟涛,朱玲燕,吴学谦,张善华,程汝滨. 三叶青化学成分和抗肿瘤作用研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(3): 319-324.
- [5] 蔡伟炜,陈丹,范世明,等. 三叶青地上部分化学成分分析[J]. 康复学报, 2013, 23(5): 34-35.
- [6] 卢旭,张怡,吴小婷,等. Effect of Specific Structure of Lotus Seed Oligosaccharides on the Production of Short-chain Fatty Acids by *Bifidobacterium adolescentis* [J]. 结构化学, 2015, 34(4): 510-522.
- [7] 汪清美,杨海军,赵志军. 功能性低聚糖的发展及其生理功能[J]. 天津农业科学, 2015, 21(6): 70-73.
- [8] 汪雨亭,陈挺强,王娟. 香蕉低聚糖的通便功能评价[J]. 食品工业科技, 2017, 38(3): 357-364.
- [9] 陈挺强. 香蕉低聚糖的通便功能评价及其对肠道微生物的影响研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [10] 王敏,帅天罡,秦清娟,等. 魔芋葡甘低聚糖对大鼠肠道环境的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(7): 197-203.
- [11] 刘丽媛. 芦笋低聚糖润肠通便功能的研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(4): 165-167.
- [12] 张沛,杨桂芹,刘海英. 大豆低聚糖对家禽肠道微生态的影响及作用机制研究进展[J]. 饲料工业, 2016(5): 60-64.
- [13] 刘秀玲,张代. 大枣低聚糖对断奶仔猪生产性能和肠道内环境的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2013(5): 54-56.
- [14] 操然. 低聚糖生理功能及其提取技术的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2015(4): 33-37.
- [15] 郑倩,徐华. 便秘动物模型的研究进展[J]. 临床消化病杂志, 2012, 18(3): 353-356.
- [16] Mokha, J.S. and Hyams, J.S. (2017) Irritable Bowel Syndrome. *Clinical Evidence*, **341**, 556-563. https://doi.org/10.1007/978-3-319-43268-7_37
- [17] 邢建峰,封卫毅,侯家玉. 小鼠胃排空及小肠推进实验方法的探讨[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(4): 50-52.
- [18] 曹敏,雷光鸿,米运宏,等. 低聚果糖的研究进展[J]. 轻工科技, 2017(3): 19-21.
- [19] 胥振国,蔡玉华,刘修树,等. 双歧杆菌研究进展及应用前景[J]. 中国生物制品学杂志, 2017, 30(2): 215-220.
- [20] Fanning, S., Hall, L.J., Cronin, M., et al. (2012) Bifidobacterial Surface-Exopolysaccharide Facilitates Commensal-Host Interaction through Immune Modulation and Pathogen Protection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, 2108-2113. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115621109>
- [21] 王佳,魏晓峰,任晓航,等. 中药寡糖生物活性及炮制过程中化学反应研究概况[J]. 中国中医药信息杂志, 2018(1): 128-131.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2160-441X，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：pi@hanspub.org