

止痢散及其拆方对胃肠运动的影响

王玉坤^{1,2},冯 将^{1,2},魏玉好^{1,2},胡冰野^{1,2},杨夜阳^{1,2},姜玲玲³,周思旋^{2,3},王 鲁^{2*}

(1. 贵州大学 动物科学学院, 贵阳 550025; 2. 贵州省生化工程中心, 贵阳 550025; 3. 贵州省畜牧兽医研究所, 贵阳 550005)

[收稿日期] 2016-05-12 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 07-0057-05 [中图分类号] S853.74

[摘 要] 为了研究家畜新兽药止痢散及其拆方中多叶勾儿茶、地榆和乌药组方对胃肠运动的影响,评价家畜新兽药止痢散及其拆方的抗腹泻作用并初步探索其抗腹泻的作用机制,采用动物模型观察止痢散及其多叶勾儿茶、地榆和乌药组方的抗腹泻效果,对正常或新斯的明致胃肠痉挛小鼠肠推进、胃残留率的影响,对家兔离体回肠平滑肌收缩活动的影响。结果表明,止痢散及多地组、多地乌组都可极显著减少小鼠腹泻次数($P < 0.01$);同时可显著减少正常小鼠肠推进率和胃排空率($P < 0.01$);但不能显著减少新斯的明致胃肠痉挛模型小鼠肠推进率和胃排空率($P > 0.05$)。止痢散及多地组、多地乌组都可显著减小家兔离体回肠平滑肌收缩张力的变化($P < 0.01$)。综上所述,止痢散及其拆方的抗腹泻作用是与其抑制肠推进和胃排空,减小肠平滑肌收缩张力有关,但都不能对抗痉挛性胃肠运动,止痢散的这一作用与方剂中的多叶勾儿茶、地榆和乌药关系密切,这为止痢散的组方和在临床上的进一步开发利用提供了数据参考。

[关键词] 止痢散;拆方;肠推进;胃残留率

Experiment Research in Anti-diarrhoea Effects of Jiachu Zhili San and Its Disassemble Prescription

WANG Yu-kun^{1,2}, FENG Jiang^{1,2}, WEI Yu-hao^{1,2}, HU Bing-ye^{1,2},
YANG Ye-yang^{1,2}, JIANG Ling-ling³, ZHOU Si-xuan^{2,3}, WANG Lu^{2*}

(1. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang, China 550025;

2. Biochemistry Engineering Center of Guizhou Province, Guizhou University, Guiyang, China 550025

3. Husbandry and Veterinary Research Institute, Guiyang, China 550005)

Abstract: To evaluate the anti-diarrhea action of Jiachu Zhili San and its disassemble prescription, containing by three components, berchemia polyphylla, burnet and lindera, the paper studies the gastroin-testinal motility effect of Jiachu Zhili San and its disassemble prescription. The method of rat diarrhea by senna were carried out to evaluate the effects of Jiachu Zhili San and its disassemble prescription on the times of diarrhea in healthy mice and the effects of them on gastric emptying and small bowel peristalsis in healthy mice and neostigmine-treated

基金项目: 贵州省重大专项(黔科合重大专项字[2013]6014);贵州省农业类工程技术研究中心项目(黔科合农G字[2015]4001)

作者简介: 王玉坤,硕士研究生,从事中兽医学及中药药理学方面研究。

通讯作者: 王 鲁。E-mail: wanglu7007@163.com

mice *in vivo* and smooth muscle of ileum of rabbits *in vitro*. The results showed that both Jiachu Zhili San and its disassemble prescription could extremely significantly reduce the times of diarrhea ($P < 0.01$), and all dose groups could extremely significant suppress alvine pushing rate and gastric emptying rate of healthy mice ($P < 0.01$). However, all the dose groups could not significantly suppress intestinal propulsion and gastric emptying rate in neostigmine - treated mice ($P > 0.05$). Both Jiachu Zhili San and its ingredients could extremely significant reduce contractive activities of smooth muscle of ileum in rabbits *in vitro* ($P < 0.01$). The conclusion of the study is that Jiachu Zhili San has good anti - diarrhea effect, which makes it mainly by inhibiting the propulsion of the gastrointestinal and reduce contractive activities of smooth muscle of ileum, and this has a close relation to berchemia polyphylla, burnet and lindera, hoping this can provide reference data for clinical therapy and its further development.

Key words: Jiachu Zhili San; divided - form; intestinal propulsion; gastric emptying rate

家畜止痢散是以多叶勾儿茶为主要组成辅以地榆、乌药等中草药组合的新复方中药制剂。多叶勾儿茶作为传统中药,具有清肺化痰功效,现代药理研究表明其具有保肝、抑菌、止咳平喘、抑制酶活性等多种作用^[1]。地榆作为传统中药,其味苦酸,性寒,入肝、大肠经^[2],药理作用主要有止血、止吐、抗炎、抑菌、抗实验性腹泻^[3]和对离体兔肠,低浓度使收缩减弱,高浓度则使收缩加强,甚至呈痉挛状态^[2]等。乌药作为传统中药,其味辛带微苦,性温,药理作用主要有抗炎镇痛、促进胃肠动力、缓解胃肠痉挛和抑制溃疡等^[4]。前期研究表明家畜新兽药止痢散具有明显的抑菌效果且抗菌成分较稳定,不易被热、酸、碱等所破坏。对仔猪腹泻、牛羊腹泻具有较好的治疗效果^[5],具有抗腹泻的作用与其抑制胃肠运动有关,但不能对抗痉挛的胃肠运动^[6]。本文进一步观察了止痢散及多叶勾儿茶、地榆和乌药组方对在体正常及胃肠痉挛小鼠胃排空、肠推进的影响和对家兔离体回肠平滑肌收缩活动的影响,以期评价多叶勾儿茶、地榆和乌药对止痢散的抗腹泻贡献,为多叶勾儿茶在抗腹泻方面的研究填补了数据,同时为止痢散的组方和在临床上的进一步开发利用提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级昆明小白鼠,体重 20 ± 2 g,购自解放军第三军医大学实验动物中心(动物许可证号:SCXK(渝)2012 - 0003),在贵州大学贵州省生

化工程中心 SPF 级动物实验室(动物使用许可证号:SYXK(黔)2013 - 0001)饲养,新西兰大耳兔,体重 2.5 ~ 3.0 kg,贵阳医学院,试验过程中对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见(2006)》的规定。

1.2 药品与试剂 止痢散、多叶勾儿茶、地榆和乌药均由贵州省农业科学院畜牧兽医研究所提供;番泻叶购于贵阳市同济堂药店,盐酸哌洛丁胺胶囊(国药准字 H10910085,由西安杨森制药有限公司生产,批号为 141111266);甲硫酸新斯的明注射液(国药准字 H31022770,由上海信谊金朱药业有限公司生产,批号为 080723);毛果芸香碱注射液(国药准字 H12021239,由天津金耀药业有限公司生产,批号为 1407111)。

1.3 仪器 数显恒温水浴锅(型号:HH - 2,金坛市城西崢嵘实验仪器厂);多功能恒温离体肠管及平滑肌实验槽(型号:PHJ - 1,成都仪器厂);电子天平(型号:HZT - A100,美国康州 HZ 电子科技有限公司);BL - 420E 生物机能实验系统(型号:BM6240BD,成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 止痢散、多地和多地乌对番泻叶引起小鼠腹泻的影响 参照文献^[7]方法制备生药浓度 1 g/mL 番泻叶煎液。将 120 只小鼠随机分为 6 组,每组 20 只(雌雄各半),设空白组、模型组、阳性药物组、止

痢散组、多地组(多叶勾儿茶和地榆配药前摇匀,按照 2:1 的体积比配成)和多地乌组(多叶勾儿茶、地榆和乌药配药前摇匀,按照 10:5:2 的体积比配成)。除空白组给予 0.3 mL 生理盐水灌胃外,各组均以番泻叶生药 0.3 mL 灌胃。0.5 h 后,止痢散组予止痢散 0.4 g/kg(体质量)灌胃 0.4 mL,多地组、多地乌组和空白对照组分别予等体积多地、多地乌、生理盐水灌胃,阳性药物组予盐酸哌洛丁胺胶囊 32 mg/kg(体质量)灌胃(按人的用量换算小鼠的用量)0.4 mL。参考文献^[8],小鼠单笼饲养,笼下铺设滤纸,观察 4 h,每次拉稀都将换纸一次,统计小鼠的腹泻次数。

2.2 止痢散、多地和多地乌对正常小鼠胃残留率和肠推进的影响 将 100 只小鼠随机分为 5 组,每组 20 只(雌雄各半),设空白组、阳性药物组、止痢散组、多地组和多地乌组。止痢散组予止痢散 0.4 g/kg(体质量)灌胃 0.4 mL,多地组、多地乌组和空白组分别予等容量多地、多地乌、生理盐水灌胃,阳性药物组予盐酸哌洛丁胺胶囊 32 mg/kg(体质量)灌胃 0.4 mL,1 次/d,连续 5 d,末次给药前禁食 18~24 h,禁食期间自由饮水,末次给药 40 min 后实验各组予 40 mg/kg(体质量)炭末糊^[9](羧甲基纤维素 10 g,淀粉 8 g,葡萄糖 8 g,奶粉 16 g,碳末 2 g 拌匀,加蒸馏水 300 mL 成糊)。灌胃 20 min 后脱颈处死小鼠,量取幽门括约肌至炭末糊最前端和盲肠的距离。计算小肠推进率(%) = (炭末营养固体糊推进距离/幽门至盲肠的距离) × 100 %^[10];再自幽门括约肌处取出各组小鼠的胃,滤纸拭干称重,沿大弯侧剪开,将胃内残留物充分洗净,滤纸再次拭干称重。计算胃残留率(%) = [(胃全重 - 胃净重)/半固体营养糊] × 100 %^[11]。

2.3 止痢散、多地和多地乌对胃肠痉挛模型小鼠胃残留率和肠推进的影响 将 120 只小鼠随机分为 6 组,每组 20 只(雌雄各半),设空白组、模型组、阳性药物组、止痢散组、多地组和多地乌组。空白组和模型组予等容量生理盐水灌胃,止

痢散组、多地组、多地乌组和阳性药物组及实验各组炭末糊的给药方法同 2.2。末次给药 20 min 后,空白组小鼠皮下注射生理盐水 0.2 mg/kg(体质量),其余各组小鼠皮下注射甲硫酸新斯的明注射液 0.2 mg/kg(按人的用量换算小鼠的用量),20 min 后炭末糊灌胃,然后 20 min 后脱颈处死小鼠,检测指标同 2.2。

2.4 止痢散、多地和多地乌对家兔离体回肠平滑肌收缩活动的影响 家兔试验前禁食 24 h,期间自由饮水,猛击后脑致死后立即解剖,剪取回肠并将其分剪成 2.5~3 cm 的肠段,然后将其置于 38 ℃ 台氏液中除去肠系膜及内容物并存放至新鲜台氏液中备用。保持浴槽内温度 38 ± 0.5 ℃ 并调节供氧阀为 80~100 个气泡/min。调试张力换能器及生物信号采集系统,使其正常采集信号。取一段肠管对角线分别穿线,其一端与张力换能器相连,另一端固定在盛有新鲜台氏液的浴槽内,调节线的松紧度,稳 3~5 min 后,记录一段正常曲线,然后依次加入毛果芸香碱、阳性组、止痢散、多地、多地乌,每次换药后用台氏液冲洗标本 3~5 次^[12]。

2.5 统计方法 各组数据均以($\bar{x} \pm S$ 或 $\bar{x} \pm E$)表示,应用 SPSS 17.0 统计软件行方差分析,组间比较采用方差齐性检验及单因素方差分析。

3 结果

3.1 止痢散、多地和多地乌对番泻叶引起小鼠腹泻的影响 结果如表 1 所示,在 4 h 内,与模型组相比,阳性药物组小鼠分别在 1、2、3、4、1~4 h 的腹泻次数差异显著或极显著减少($P < 0.05$, $P < 0.01$);止痢散组小鼠分别在 3、1~4 h 的腹泻次数差异极显著减少($P < 0.01$),多地组与多地乌组小鼠在 1~4 h 的腹泻次数差异极显著减少($P < 0.01$),另外多地组小鼠 3 h 的腹泻次数差异极显著减少($P < 0.01$)。与阳性组相比,止痢散组、多地组、多地乌组小鼠分别在 1、2、4、1~4 h 的腹泻次数差异显著或极显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表1 止痢散、多地和多地乌对番泻叶引起的小鼠腹泻的影响 (n=20, $\bar{x} \pm SE$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	腹泻次数				
		1 h	2 h	3 h	4 h	1~4 h
空白组	—	0	0	0	0	0
模型组	—	4.5±1.6	12.6±1.6	10.1±1.7	3.1±0.6	30.2±1.1
阳性组	32	0.2±0.2 [*]	1.2±0.5 ^{**}	3.3±0.8 ^{**}	0.8±0.3 ^{**}	5.5±1.1 ^{**}
止痢散组	400	3.8±1.3 [#]	10.4±1.7 ^{##}	4.8±1.1 ^{**}	3.6±0.7 ^{##}	22.6±1.9 ^{***}
多地组	—	5.4±1.4 ^{##}	9.6±1.6 ^{##}	5.1±1.2 ^{**}	2.1±0.5	22.3±1.5 ^{***}
多地乌组	—	3.6±1.1 [#]	8.9±1.4 ^{##}	7.0±1.1 [#]	3.4±0.6 ^{##}	22.8±1.6 ^{***}

^{*},^{**} 分别表示与模型对照组比较 $P<0.05$, $P<0.01$;[#],^{##} 分别表示与同阳性组比较 $P<0.05$, $P<0.01$;△,△△ 表示与空白组比较 $P<0.05$, $P<0.01$ 。

3.2 止痢散、多地和多地乌对正常小鼠胃残留率和肠推进的影响 结果如表2所示,与空白组相比,阳性药物组、止痢散、多地和多地乌各组小鼠炭末糊的胃残留率极显著增加($P<0.01$),肠推进率极显著减少($P<0.01$)。与阳性组相比,止痢散、

多地和多地乌各组小鼠炭末糊的胃残留率极显著减少($P<0.01$),肠推进率极显著增加($P<0.01$)。止痢散、多地组、多地乌三组相比较,多地乌组可以较好的增加胃残留率,而多地组可以更好的减少肠推进率。

表2 止痢散、多地和多地乌对正常和胃肠痉挛小鼠胃残留率和肠推进的影响 (n=20, $\bar{x} \pm SE$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	正常小鼠		胃肠痉挛小鼠	
		胃残留率/%	肠推进率/%	胃残留率/%	肠推进率/%
空白组	—	24.91±3.02	60.22±2.65	46.16±4.25	55.76±2.03
模型组	0.2	—	—	41.48±9.05	68.55±3.21 [△]
阳性药物组	32	100.00±7.32 ^{△△}	31.21±2.54 ^{△△}	100.00±12.63 ^{△△**}	35.42±5.73 ^{△△**}
止痢散组	400	42.93±3.87 ^{△△##}	50.28±2.21 ^{△△##}	44.39±4.57 ^{##}	62.91±2.50 ^{##}
多地组	—	49.66±4.90 ^{△△##}	48.33±1.63 ^{△△##}	54.65±5.83 ^{##}	60.74±2.96 ^{##}
多地乌组	—	51.97±5.35 ^{△△##}	49.38±1.85 ^{△△##}	44.08±4.32 ^{##}	70.06±2.83 ^{△△##}

^{*},^{**} 分别表示与模型对照组比较 $P<0.05$, $P<0.01$;[#],^{##} 分别表示与同阳性组比较 $P<0.05$, $P<0.01$;△,△△ 表示与空白比较 $P<0.05$, $P<0.01$ 。

3.3 止痢散、多地和多地乌对胃肠痉挛小鼠胃残留率和肠推进的影响 结果如表2所示,与空白组比较,模型组小鼠炭末糊的胃残留率有所减少,但无统计学差异($P>0.05$),肠推进率显著增大($P<0.05$);与模型组比较,阳性药物组的小鼠炭末糊的胃残留率极显著增大($P<0.01$),肠推进率极显著减小($P<0.01$);止痢散、多地和多地乌组小鼠肠推进和胃排空率都有抑制趋势,但无统计学差异($P>0.05$)。与阳性组相比,止痢散、多地和多地乌组小鼠炭末糊的胃残留率极显著减少($P<0.01$),肠推进率极显著增加($P<0.01$)。止痢散、多地组、多地乌三组相比较,多地组可以较好的增加胃残留率,减少肠推进率。

3.4 止痢散、多地和多地乌对家兔离体回肠平滑肌收缩活动的影响 如表3所示,各组之间的收缩频率差异不显著($P>0.05$);与正常组比较,除毛

果芸香碱组张力收缩变化极显著增大($P<0.01$)外,其余各组张力收缩变化极显著减小($P<0.01$)。与阳性组比较,各药物组张力收缩变化极显著增大($P<0.01$)。与毛果芸香碱组比较,各药物组张力收缩变化极显著减小($P<0.01$)。

表3 止痢散、多地和多地乌对家兔离体回肠平滑肌收缩活动的影响 (n=20, $\bar{x} \pm SE$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	平均频率/次	平均张力/g
正常	—	12	1.76±0.01
毛果芸香碱组	—	12	2.52±0.02 ^{△△}
阳性组	32	11	0.75±0.03 ^{**△△}
止痢散组	400	13	1.52±0.03 ^{***△△}
多地组	—	11	1.46±0.02 ^{***△△}
多地乌组	—	12	1.20±0.01 ^{***△△}

^{*},^{**} 分别表示与毛果芸香碱组比较 $P<0.05$, $P<0.01$;[#],^{##} 分别表示与同阳性组比较 $P<0.05$, $P<0.01$;△,△△ 表示与正常组比较 $P<0.05$, $P<0.01$ 。

4 讨论

本文采用番泻叶致小鼠腹泻试验来评价止痢散及其拆方的抗腹泻能力,结果显示止痢散组、多地组和多地乌组都可以有效地减缓番泻叶所致小鼠的腹泻,其中止痢散的抗腹泻作用与前期报道^[6]的结果一致,再次证明止痢散具有抗腹泻作用。家畜新兽药止痢散是以多叶勾儿茶为主要组成辅以地榆、乌药等中草药组合的新复方中药制剂。虽有文献报道多叶勾儿茶^[5]、地榆^[3]、乌药^[12]都具有抗腹泻作用,但通过拆方结果多地组的抗腹泻效果优于其他组说明止痢散的抗腹泻作用主要通过多叶勾儿茶、地榆来起作用。乌药的加入虽然不能显著的增加抗腹泻效果,但可以增加正常组的胃残留,减缓胃排空。这同前期文献报道乌药对小鼠的体内作用表现为促进胃肠收缩,如降低小鼠胃中甲基橙残留率,促进小肠炭末推进率^[12]的结论是不一致的。可能由于乌药对胃肠平滑肌有双重作用,既能促进肠蠕动加速,收缩加强,又能抑制胃肠平滑肌,缓解其痉挛^[13],至于这种结果的出现是否与剂量有关,作用的机理如何未见文献报道,有待进一步研究。多地组在抗腹泻方面较止痢散组好,提示各药可能在混煎的过程中发生拮抗性变化。

腹泻的发生与胃肠的运动紊乱关系密切,多地和多地乌的组方都显著减少正常状态的肠推进,增加胃残留,抑制胃肠的运动,各组都不能完全抑制新斯的明所致小鼠的肠痉挛。止痢散、多地和多地乌都能极显著减小离体肠平滑肌收缩张力的变化。选用的阳性药物盐酸派洛丁胺为阿片受体激动剂,可以阻止乙酰胆碱和前列腺素的释放,拮抗平滑肌收缩,而减少肠蠕动和分泌。多叶勾儿茶、地榆和乌药这三味的组方可能与这些作用机制有关,但中药复方发挥作用往往是通过多种途径来实现的,本

方是否还存在其它途径而起效,同时至于这三味对止痢散抗腹泻作用机制的直接贡献如何,这都有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 陈立,董俊兴. 勾儿茶属植物化学成分及其生物活性研究进展[J]. 中草药,2006,37(4):627-630.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科技出版社,2001:462,806.
- [3] 金美花. 地榆药理作用与临床应用[J]. 现代医药卫生,2009,25(16):2479.
- [4] 陈方亮,余翠琴. 乌药的药理研究概况[J]. 海峡药学,2011,23(12):44-46.
- [5] 杨何,蒋秀全. 兽用止痢、止泻中草药新制剂的药理试验[J]. 中兽医学杂志,2014(10):86.
- [6] 王玉坤,李欣,冯将,等. 家畜止痢散抗实验性腹泻及对胃肠运动的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医杂志,收录,待见刊。
- [7] 夏旭婷,樊俊阳,王碧玉,等. 脾虚证慢传输型便秘小鼠模型构建方法的比较研究[J]. 湖南中医药大学学报,2014,34(12):4-7,81.
- [8] 张程亮,王砚,向道春,等. 穿心莲内酯对小鼠腹泻模型的治疗作用研究[J]. 中国药师,2011,14(8):1102-1105.
- [9] 张旭,马波,杜钢军,等. 白萝卜提取物对小鼠胃排空、肠推进及家兔离体回肠平滑肌的影响[J]. 河南大学学报(医学版),2011,30(1):36-38.
- [10] 倪竹南,吕圭源,楼招欢,等. 当归挥发油化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2007(7):93-95.
- [11] 吴春福,陈多. 小鼠胃排空模型的探讨[J]. 中国药理学通报,1997,13(3):271-273.
- [12] 好桂新,李庆林,王峥涛,等. 乌药提取物对消化系统的作用[J]. 中国野生植物资源,1999,18(3):52-53,57.
- [13] 王本祥. 现代中药药理与临床[M]. 天津:天津科技翻译出版公司,2004:307.

(编辑:陈希)