

广朴止泻液药效学研究

刘 嵩¹, 谭大琦², 卢笑丛³, 李卫星², 李秋华², 严春海²

(1. 武汉科技大学医学院, 430064; 2. 湖北中医学院附属医院中心实验室, 武汉 430060; 3. 湖北省预防医学科学院食品药品安全评价研究所, 武汉 430079)

[摘要] **目的** 观察广朴止泻液的主要药效。**方法** 通过轮状病毒致树鼩腹泻实验、大肠埃希菌致乳兔腹泻实验、大黄致小鼠腹泻实验;小鼠肠推进、胃排空实验、免疫以及体外抑菌实验,观察广朴止泻液的止泻作用和对胃肠运动、免疫功能及抗菌作用的影响。**结果** 广朴止泻液对大黄致小鼠脾虚、树鼩感染轮状病毒所致腹泻具有明显止泻作用,明显延长感染致病性大肠埃希菌乳兔的生存时间,抑制正常小鼠小肠推进及胃排空运动,促进小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能和特异性抗体形成,体外实验还提示该药具有较好的广谱抑菌作用。**结论** 广朴止泻液具有止泻作用,机制可能是通过抑制胃肠道平滑肌而抑制腹泻。

[关键词] 广朴止泻液;腹泻;胃肠运动;免疫功能;抗菌作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2008)07-0778-04

Pharmacological Experiments on Guangpu Zhixie Ye

LIU Song¹, TAN Da-qi², LU Xiao-cong³, LI Wei-xing², LI Qiu-hua², YAN Chun-hai² (1. Medical College, Wuhan University of Science and Technology, 430064, China; 2. Focus Lab of Hubei Provincial TCM Hospital, Wuhan 430060, China; 3. Hubei Academy of Prevention Medicine, Wuhan 430079, China)

ABSTRACT Objective To observe the main effects of *guangpu zhixie ye*. **Methods** Anti-diarrhea and immunity enhancing effects of the drug was investigated by experiments as :① diarrhea induced by Rhubarb in mice, Rotavirus in Tupaia and pathogenic *E. coli* in Rabbit; ②intestine impelling & stomach empty tests in mice; ③immunity test in mice and *in vitro* antibacterial tests. **Results** *Guangpu zhixie ye* significantly reduced the diarrhea frequency in spleen deficiency mice induced by Rhubarb and in Tupaia by Rotavirus, prolonged the survival time of rabbits remarkably, inhibited intestine impelling and stomach empty, and improved the phagocytic index of peritoneal macrophage and specific antibody forming ability in mice. Moreover, the drug also showed an excellent broad-spectrum bacteriostasis effect *in vitro*. **Conclusion** *Guangpu zhixie ye* has anti-diarrhea effects, the mechanism underlying might be related to inhibiting the gastrointestinal motility of smooth muscle.

KEY WORDS *Guangpu zhixie ye*; Diarrhea; Gastrointestinal motility; Immune function; Antibacterial effect

小儿腹泻为儿科常见多发病,传统中医认为其主要由脾胃虚弱,湿邪入里有关,现代医学认为其主要由轮状病毒感染或饮食不洁等因素有关。广朴止泻液是湖北中医学院附属医院儿科名医倪珠英教授的验方,能迅速有效控制小儿腹泻症状,缩短病程。笔者在本实验通过多种途径验证广朴止泻液的止泻疗效,探讨其作用机制,现将结果报道如下。

1 实验材料

1.1 药物 广朴止泻液(以下简称止泻液规格:每1 mL含生药1.5 g,批号:0983)由广藿香、厚朴等多味中药组成。由湖北中医学院附属医院提供。阿片酊(西南药业股份有限公司);盐酸吗啡片(上海集成制药厂);硫酸庆大霉素注射液(江苏启东制药厂);硫酸阿托品注射液(武汉远大制药集团有限公司);氨苄西林(联邦制药厂)。

1.2 动物 SPF级KM小鼠,体重18~22 g;大耳白家兔,体重180~220 g,均由湖北省实验动物中心提供。云南树鼩:由中国科学院昆明动物研究所提供。

1.3 病毒及细菌 轮状病毒:由中国医学科学院流行病研究所提供。大肠埃希菌 055:K59/B5Y:H-44416:由武汉生物制品研究所提供。福氏痢疾杆菌、伤寒杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌:由湖北中医学院附属医院微生物室提供。

2 方法与结果

2.1 止泻作用

2.1.1 对感染轮状病毒所致腹泻的影响^[1] 健康云南树鼩56只,雌雄各半,动物分组及给药剂量见表1。除正常对照组外其他各组接种轮状病毒(接种前电镜观察有轮状病毒颗粒存在,ELISA法检测轮状病毒阳性),治疗组在接种后立即给药,其余各感染组树鼩致病3 d后,进行药物治疗实验,正常对照组和模型对照组给予0.9%氯化钠溶液(以下实验给药方法均同),连续给药6 d,再持续观察3 d。逐日观察腹泻症状,精神状况、食欲等情况。结果表明:各治疗组树鼩止泻时

[收稿日期] 2007-11-09

[作者简介] 刘嵩(1979-),男,湖北武汉人,助教,硕士,主要从事生药学的教学与研究工作。电话:027-68893515, E-mail: wilsonliu027@yahoo.com.cn。

间均较模型组短,提示广朴止泻液具有显著抗轮状病毒性腹泻作用。

表 1 广朴止泻液对感染轮状病毒的云南树鼩的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	树鼩/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	开始给药时间	止泻时间/d
正常对照组	8	10 mL·kg ⁻¹	第 3 天	0.00 ± 0.00
模型对照组	8	10 mL·kg ⁻¹	第 3 天	7.88 ± 1.10
吗啉胍组	8	0.1	第 3 天	3.75 ± 2.71 ^{*1}
止泻液立即治疗组	8	28	第 1 天	2.25 ± 1.16 ^{*2}
止泻液高剂量组	8	28	第 3 天	3.00 ± 1.07 ^{*1}
止泻液中剂量组	8	21	第 3 天	3.25 ± 1.67 ^{*1}
止泻液低剂量组	8	14	第 3 天	4.00 ± 1.73

与模型对照组比较, ^{*1}P < 0.05, ^{*2}P < 0.01

2.1.2 对感染致病性大肠埃希菌所致腹泻的影响 取 13 日龄大耳白乳家兔 42 只,体重 180 ~ 220 g,动物分组及给药剂量见表 2。每组均有一只母兔为乳兔哺乳),除正常对照组外,其余各组动物分别灌服大肠埃希菌含量为 4 × 10⁹ 个·mL⁻¹ 的致病液 2.5 mL。立即治疗组于灌服大肠埃希菌后立即给药,其余治疗组均于 4.5 h 后灌胃给药, qd, 给药 6 d。模型对照组和正常对照组给予等量 0.9% 氯化钠溶液,停药后继续观察 5 d。结果表明:模型对照组与正常对照组比较,乳兔存活时间显著缩短,接种菌液后 10 h 开始出现腹泻,并在 36 h 内全部死亡,表明造模成功;广朴止泻液高剂量组、立即治疗组和氨苄西林组与模型对照组比较存活时间明显延长;其中立即治疗组死亡率最低。

表 2 广朴止泻液对大肠埃希菌感染乳兔的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	乳兔/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	开始给药时间/h	存活时间/d	死亡数/只	死亡率/%
模型对照组	6	10 mL	4.5	1.17 ± 0.42	6	100.00
氨苄西林组	6	0.50	4.5	7.00 ± 4.88 ^{*1}	5	83.33
止泻液立即治疗组	6	28	立即	10.10 ± 4.49 ^{*2}	1	16.67
止泻液高剂量组	6	28	4.5	8.33 ± 5.68 ^{*1}	2	33.33
止泻液中剂量组	6	21	4.5	5.17 ± 5.42	4	66.67
止泻液低剂量组	6	14	4.5	4.67 ± 5.68	4	66.67
正常对照组	6	10 mL	4.5	12.00 ± 0.00 ^{*2}	0	0.00

与模型对照组比较, ^{*1}P < 0.05, ^{*2}P < 0.01

2.1.3 对大黄所致腹泻的影响^[2] 取 KM 小鼠 50 只,雌雄各半,动物分组及给药剂量见表 3。每天灌胃给药 1 次,连续给药 2 d,于末次给药后 1 h 用生大黄液(湖北中医学院附属医院中心实验室配制,浓度相当于生药 1 g·mL⁻¹) 25 g·kg⁻¹ 灌胃,随即将小鼠单个分隔放置笼内,笼下垫滤纸,观察给大黄液后 5 h 内滤纸上稀粪数。结果表明:止泻液有明显止泻作用,其止泻作用与阿片酞相当。

2.2 肠、胃运动作用

2.2.1 小肠推进运动实验^[3] 取 KM 小鼠 50 只,雌雄

各半,动物分组及给药剂量见表 4。实验前禁食 24 h,灌胃给药 1 h 后,分别用炭末阿拉伯胶混悬液灌胃,于炭末液灌胃后 20 min,处死动物,剖腹取出胃肠,测量自幽门至直肠末端的推进距离,计算炭末推进距离占胃肠全长的百分率,作为小肠推进率。结果表明:止泻液和阿片酞对大肠推进功能有明显抑制作用,止泻液高剂量组对小肠推进功能的抑制作用明显高于阿片酞。

表 3 止泻液对大黄所致小鼠腹泻的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	小鼠/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	稀粪数	腹泻抑制率/%
止泻液高剂量组	10	60	5.0 ± 2.1 ^{*1}	60.0
止泻液中剂量组	10	40	5.2 ± 3.4 ^{*1}	58.4
止泻液低剂量组	10	20	5.9 ± 3.0 ^{*1}	52.8
阿片酞组	10	2 mL·kg ⁻¹	5.1 ± 2.9 ^{*1}	59.0
模型对照组	10	20 mL·kg ⁻¹	12.5 ± 4.2	-

与模型对照组比较, ^{*1}P < 0.01

表 4 广朴止泻液对小鼠肠运动的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	小鼠/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	炭末推进率/%	抑制率/%
止泻液高剂量组	10	60	13.0 ± 18.7 ^{*1*2}	81.7
止泻液中剂量组	10	40	49.1 ± 13.7 ^{*3}	31.1
止泻液低剂量组	10	20	52.7 ± 6.8 ^{*3}	25.3
阿片酞组	10	2 mL·kg ⁻¹	34.5 ± 21.1 ^{*3}	50.7
正常对照组	10	20 mL·kg ⁻¹	70.7 ± 12.6	-

与正常对照组比较, ^{*1}P < 0.01, ^{*3}P < 0.05;与阿片酞组比较, ^{*2}P < 0.05

2.2.2 胃排空实验^[4] 取 KM 小鼠 50 只,雌雄各半,动物分组及给药剂量见表 5。实验前禁食 16 h,皮下给药(避免中药本身颜色的干扰)。给药后 50 min 用甲基橙水溶液灌胃,于灌胃后 20 min 处死小鼠,将胃内容物洗入 10 mL 纯化水中,用碳酸氢钠调节 pH 值至 6.0 ~ 6.5。离心,取上清液,比色测定吸光度,计算胃残留率。结果表明:高剂量止泻液有抑制胃排空作用。

表 5 广朴止泻液对正常小鼠胃排空运动的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	小鼠/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	胃甲基橙残留率/%	胃排空抑制率/%
止泻液高剂量组	10	40	58.8 ± 19.8 ^{*1}	78.8
止泻液中剂量组	10	20	46.9 ± 22.6	42.5
止泻液低剂量组	10	10	45.3 ± 18.2	37.6
阿托品组	10	0.01	47.5 ± 16.7 ^{*2}	44.3
正常对照组	10	20 mL·kg ⁻¹	32.9 ± 13.6	-

与正常对照组比较, ^{*1}P < 0.01, ^{*2}P < 0.05

2.3 免疫作用

2.3.1 对脾虚小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响^[4] 取 KM 小鼠 60 只,雌雄各半,分别灌服生大黄液 3 g·kg⁻¹, qd, 连续 7 d,造成脾虚模型。动物分组及给药剂量见表

6, 每天给药 1 次, 连续 5 d。末次给药后 1 h, 腹腔注射 5% 绵羊红细胞 1 mL, 于 3 h 后注射 0.9% 氯化钠溶液 2 mL, 处死小鼠取出腹腔液, 离心、涂片、镜检, 计算出吞噬率和吞噬指数。结果表明: 广朴止泻液有促进脾虚小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能作用。

表 6 止泻液对脾虚小鼠腹腔巨噬细胞吞噬的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	小鼠/只	剂量/ (g · kg ⁻¹)	吞噬率/ %	吞噬指数
四君子汤组	10	5	22.80 ± 2.30 ^{*1}	0.93 ± 0.10 ^{*1}
止泻液高剂量组	10	60	18.28 ± 1.42 ^{*1}	0.63 ± 0.07 ^{*1}
止泻液中剂量组	10	40	17.50 ± 1.88 ^{*1}	0.68 ± 0.08 ^{*1}
止泻液低剂量组	10	20	20.30 ± 3.00 ^{*1}	0.57 ± 0.09 ^{*1}
正常对照组	10	20 mL · kg ⁻¹	24.85 ± 3.82 ^{*1}	0.75 ± 0.09 ^{*1}
模型对照组	10	20 mL · kg ⁻¹	12.70 ± 1.40	0.39 ± 0.06

与模型对照组比较, ^{*1}P < 0.01

2.3.2 对脾虚小鼠溶血素抗体形成的影响^[4] 取 KM 小鼠 60 只, 雌雄各半, 造脾虚模型同“2.3.1”。动物分组及给药剂量见表 7, 连续灌胃 8 d, 在给药第 3 天用 10% 绵羊红细胞 0.5 mL 免疫 1 次, 末次给药 24 h 后, 取血分离血清, 测定血清半数溶血值(HC₅₀)。结果止泻液有促进脾虚小鼠外周血中溶血素抗体形成的作用。

表 7 止泻液对脾虚小鼠溶血素抗体形成的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	小鼠/只	剂量/ (g · kg ⁻¹)	HC ₅₀
正常对照组	10	20 mL · kg ⁻¹	531 ± 189
模型对照组	10	20 mL · kg ⁻¹	270 ± 158
四君子汤组	10	5	640 ± 328 ^{*1}
止泻液高剂量组	10	60	782 ± 262 ^{*1}
止泻液中剂量组	10	40	670 ± 226 ^{*1}
止泻液低剂量组	10	20	496 ± 120 ^{*1}

与模型对照组比较, ^{*1}P < 0.01

2.4 体外抑菌作用 采用试管液体稀释法^[6], 将止泻液和硫酸庆大霉素用无菌 0.9% 氯化钠溶液作倍比稀释, 分别用无菌纯化水作倍比稀释, 各取 1 mL 加入双倍营养液肉汤 1 mL 中, 使药液的稀释度依次为 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8, …, 1 : 1 024 (10 个管), 止泻液的相应浓度为 780, 390, 145, …, 1.532 mg · mL⁻¹, 硫酸庆大霉素的相应浓度为 20, 10, 5, …, 0.039 μg · mL⁻¹。另设药液、培养基和菌液三种对照管, 在每一稀释管内接种 18 h 孵育的细菌肉汤培养物 (10⁻³ 稀释菌液) 5 mL, 混匀, 置 37 °C 温箱培养。于接种后 24, 48 h 分别从各管取一接种环液体, 转种于相应琼脂平板上, 培养 24 h 后观察结果, 以无菌生长的药物提高稀释度作为该药的最低抑菌浓度 (MIC) (表 8)。结果表明: 广朴止泻液对福氏痢疾杆菌、伤寒杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌均有一定抑菌作用。

表 8 止泻液体外抑制菌实验

菌株	最低抑菌浓度 (MIC)	
	止泻液/ (mg · mL ⁻¹)	硫酸庆大霉素/ (μg · mL ⁻¹)
福氏痢疾杆菌	195.0	0.312
伤寒杆菌	195.0	0.156
大肠埃希菌	195.0	5.000
铜绿假单胞菌	195.0	0.156
金黄色葡萄球菌	97.5	0.039

3 讨论

腹泻是儿科临床常见病症, 其病因病情均较复杂。一般以小儿排便次数增多, 大便稀薄或水泻为其主证。中医学认为腹泻多由外感六淫、内伤饮食致脾胃运化失常所致。脾胃主运化精微, 升清降浊, 脾胃功能失调, 则轻浊不分而致泄泻, 故有“泄泻之本无不由于脾胃”之说^[7]。小儿气血未充, 脏腑娇嫩, 突出表现在脾常不足, 脾胃功能薄弱, 饮食稍过, 则易引起消化不良, 出现食滞吐泻, 甚至造成痞积、慢脾风、气脱液竭等严重疾病。其发病原因虽可能是感寒、受暑或伤食而致脾胃失节, 但主要还是脾胃虚弱, 治疗应以“扶正治本”为主, 祛邪为次。广朴止泻液针对上述病因以“健脾止泻, 化湿导滞, 固本驱邪”为指导思想, 在临床中取得较好的治疗效果。

本研究 3 种不同模型腹泻的实验显示, 广朴止泻液对各种常见腹泻均具有很好的治疗作用; 结合对正常小鼠胃排空实验, 小肠推进运动实验中该药所表现出的显著的调整肠道活动紊乱, 抑制胃肠道推进功能的作用, 表明广朴止泻液治疗腹泻的作用机制与抑制胃肠推进运动有关, 同时该药能显著提高实验动物机体免疫能力, 具有广谱抗菌作用。

通过本研究结果的分析, 笔者认为, 止泻液具有明显止泻作用, 能抑制胃肠道推进功能, 调整紊乱的肠道活动, 这是止泻液控制腹泻的重要机制之一; 该药还具有良好的广谱抗菌作用及提高机体免疫功能等多重疗效。以上这些功效可全面调节小儿胃肠道功能, 健脾固本, 扶正驱邪, 对小儿腹泻起到了标本兼治的理想作用。

[参考文献]

[1] 万新邦, 庞其芳, 丘福禧, 等. 成年的中国云南树鼩对人轮状病毒易感性的实验研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1985, 5(4): 304 - 306.

[2] 李国辉, 马伯良, 徐慧波. 小儿止泻口服液对脾虚小鼠止泻作用的实验研究[J]. 空军总医院学报, 1999, 15(2): 115.

[3] 徐叔云, 芑如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 11.

[4] 沈雅琴, 张明发. 异紫堇定的抗腹泻和抗炎作用[J]. 西

北药学杂志,1998,13(2):67.

- [5] 吴小丽,蔡云清,赵岩,等.蒲公英提取物对小鼠免疫功能的调节作用[J].南京医科大学学报(自然科学版),2005,15(2):163-165.
- [6] 周邦靖.常用中药的抗菌作用及其测定方法[M].重庆:

科学技术文献出版社重庆分社,1987:27-28.

- [7] 郭健,杨燕,赵淑英,等.运脾止泻颗粒抗腹泻主要药效学研究[J].北京中医药大学学报,2005,9(5):60-62.

炮制对牵牛子有效成分及药效的影响

王初,孙建宇

(杭州市中医院药剂科,310007)

[摘要] 目的 探讨炮制对牵牛子成分、泻下作用及毒性的影响。方法 以水浸出物、脂肪油、泻下实验及毒性实验对牵牛子样品进行综合分析评定。结果 牵牛子炒品水浸出物含量较高,脂肪油含量降低,泻下作用较强,毒性较小。结论 牵牛子入药以炒后为宜,为其临床用药提供参考依据。

[关键词] 牵牛子;水浸出物;脂肪油;泻下作用;毒性

[中图分类号] R282.71

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2008)07-0781-02

牵牛子系旋花科植物裂叶牵牛 *Pharbitis nil* (L.) Choisy 或圆叶牵牛 *Pharbitis purpurea* (L.) Voigt 的干燥成熟种子。牵牛子性寒味苦,有小毒。具有泻下通便、消痰涤饮、杀虫攻积等作用^[1]。据报道,“圆叶牵牛种子颜色与花色无关,做牵牛子入药无本草依据”^[2],本研究选用裂叶牵牛种子。临床多以生品和炮制品入药应用,为进一步研究牵牛子炮制前后有效成分和毒性的变化,本研究对牵牛子炮制前后的水浸出物、脂肪油含量等项目进行测试,并初步探讨炮制前后牵牛子泻下作用及毒性变化情况,从而为牵牛子临床用药提供一定的科学依据。

1 材料

1.1 药材 牵牛子为辽宁产,购自浙江中医药大学中药饮片厂,经张云副主任中药师鉴定为旋花科植物裂叶牵牛 *Pharbitis nil* (L.) Choisy 的黑色种子。生品:取样品,除去杂质,洗净,干燥。炒品:按文献^[3]方法将生品于 230 ℃炒 11 min。

1.2 动物 昆明种健康小白鼠,雌雄不限,体重 18~20 g。由浙江中医药大学动物实验中心提供。

1.3 仪器与试剂 中药炮制控温炉(哈尔滨市电器厂制造);活性炭(广东台山化工厂)。

2 方法与结果

2.1 成分测定

2.1.1 浸出物的测定 按《中华人民共和国药典》2005 年版一部附录 X A 醇溶性浸出物测定法项下的冷浸法测定,以乙醇作溶剂^[1],以干品计算牵牛子生品及炮制品中浸出物的百分含量。结果生品浸出物含量(18.23±0.58)%,炒品浸出物含量(25.05±0.59)%。表明牛蒡子炒品较生品浸出物含量有明显提高($P < 0.01$)。

2.1.2 脂肪油的测定 取牵牛子粗粉 1 g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚适量,回流提取(8 h)至脂肪油提尽,收集提取液,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上低温挥去溶剂,在 100 ℃干燥 1 h,移置干燥器中,冷却 30 min,精密称定,计算,同时按《中华人民共和国药典》2005 年版一部测定各样品水分,以干燥品计算样品脂肪油含量,结果生品脂肪油含量(18.23±0.49)%,炒品脂肪油含量(17.55±0.58)%。表明牛蒡子炒后脂肪油含量较生品未见有显著增加($P > 0.05$)。

2.1.3 醇提成分薄层分析 取样品粉末 2 g,置索氏提取器中,用石油醚(60~90 ℃)回流提取 2 h,弃去石油醚,药渣挥干溶剂,加入甲醇提取 5 h,提取液回收溶剂至少量,作为点样溶液,分别取生品和炮制品的提取点样溶液各 5 μL,点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-醋酸-水(4:1:5)为展开剂展开,展距 15 cm,取出,晾干,喷以 5% 磷钼酸试液,115 ℃烘至斑点显现。见图 1,生品与炮制品色谱中,在相同位置均显相同的蓝黑色斑点。且炮制品斑点较生品斑点小,颜色浅。提示:牵牛子在高温炮制后,生物碱等有效成分的含量有减少。

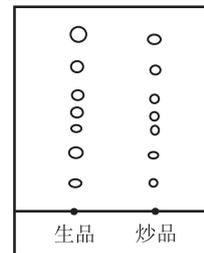


图 1 牵牛子炮制前后醇提成分薄层分析

2.2 牵牛子水浸液对小鼠小肠运动的影响

2.2.1 牵牛子水浸液制备 取牵牛子不同炮制品 100 g,以水浸没,冷浸 24 h 后,过滤,40 ℃水浴浓缩至 1 g·mL⁻¹。药品制备:炭末 0.9% 氯化钠溶液混悬液 0.1 g·mL⁻¹、生牵牛子水浸液 1 g·mL⁻¹ (含炭末 0.1 g·mL⁻¹)、炒牵牛子水浸液 1 g·mL⁻¹ (含炭末 0.1 g·mL⁻¹)。

[收稿日期] 2007-09-10

[作者简介] 王初(1964-),男,浙江宁海人,副主任中药师,主要从事医院中药学工作。电话:0571-85827810, E-mail:wchu6404@163.com。