

苍朴口服液的药效学实验研究

王海军,王胜义,王慧,齐志明,刘世祥,荔霞,刘永明*
(中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所 农业部兽用药物创制重点实验室
/甘肃省中兽药工程技术中心,兰州 730050)

[摘要] 目的:验证苍朴口服液的止泻、涩肠、抗炎、镇痛及免疫功效。方法:50 只小鼠随机分为 5 组,苍朴口服液低、中、高剂量组分别按 5,10,20 g·kg⁻¹灌胃给药,分别采用番泻叶致小鼠腹泻模型,二甲苯致小鼠耳肿胀模型、热板实验、巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验观察苍朴口服液的药效作用。结果:与对照组比较,苍朴口服液能减少番泻叶致小鼠腹泻的湿粪数,给药后 2 h 内作用最明显($P<0.05$, $P<0.01$);能缩短碳末在肠道内的推进距离($P<0.01$);能抑制耳廓肿胀程度($P<0.05$, $P<0.01$),抑肿率略低于醋酸泼尼松;能不同程度的延长小鼠舔足反应时间($P<0.05$, $P<0.01$),提高小鼠痛阈;能明显增强“脾虚”动物腹腔巨噬细胞的吞噬作用($P<0.01$),呈量效关系。结论:苍朴口服液具有止泻、涩肠、抗炎、镇痛和增强免疫的作用,与临床功效相符。

[关键词] 苍朴口服液;止泻;涩肠;抗炎;镇痛;免疫

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)08-0190-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014080190

Experimental Study on Pharmacodynamics of Cangpo Oral Liquid

WANG Hai-jun, WANG Sheng-yi, WANG Hui, QI Zhi-ming, LIU Shi-xiang, LI Xia, LIU Yong-ming*
(Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutics Discovery, Ministry of Agriculture, Engineering & Technology
Research Center of Traditional Chinese Veterinary Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Animal
Science and Veterinary Pharmaceutics of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] Objective: To assess the anti-diarrhea, astringing intestine, analgesia anti-nociception and immunity pharmacodynamics of Cangpo oral liquid. Method: Fifty mice were randomly divided into five groups: control group (normal saline), positive control group and low, middle, high dosage groups of Cangpo oral liquid (5, 10, 20 g·kg⁻¹). The effect on the diarrhea induced by Senna leaf was evaluated by the amount of mouse wet dejecta. The effect on the propulsive motility of small intestine was evaluated by push distance of the charcoal powder in intestine. Xylene-induced mouse ear edema was conducted to assess the anti-inflammatory effect of the liquid. Hot plate test were conducted to assess the anti-nociception effect of the liquid. Immunity function was investigated by the phagocytes' phagocytosis of chicken RBC on animal model of spleen deficiency caused by Rhubarb. Result: Compared with the control group, Cangpo oral liquid reduced the amount of mouse wet dejecta ($P<0.01$, $P<0.05$), the most significant effect happened in 2 hours after administration. Cangpo oral liquid debased push distance of the charcoal powder in intestine, the high-dose group played the strongest role in three groups ($P<0.01$). Cangpo oral liquid could inhibit the mice auricle swelling by xylene ($P<0.05$, $P<0.01$), and acetate prednisone showed slightly stronger effect than the liquid. Cangpo oral liquid also delayed the latencies

[收稿日期] 20121221(001)

[基金项目] 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目(BRF110301);国家科技支撑计划子课题项目(2012BAD12B03);公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303040-17)

[第一作者] 王海军,在读硕士生,从事中兽药制剂的研究与开发工作,Tel:18210356797,E-mail:wanghaijun86@yahoo.cn

[通讯作者] *刘永明,研究员,从事中兽药开发和微量元素代谢病研究工作,Tel:0931-2115268,E-mail:myslym@sina.com

of licking paws and prolonged pain threshold in hot plate pain test in mice ($P < 0.05$, $P < 0.01$). In addition, the liquid improved the phagocytic index of peritoneal macrophage in animal pathological model of spleen deficiency caused by Rhubarb ($P < 0.01$), and it showed a dosage-effect relationship. **Conclusion:** Cangpo oral liquid has the functions of anti-diarrhea, astringing intestine, anti-inflammatory, anti-nociception, and immunity effect, which provides the pharmacodynamic basis for treating calf spleen deficiency diarrhea in clinic.

[**Key words**] Cangpo oral liquid; anti-diarrhea; astringing intestine; anti-inflammatory, analgesia; immunity

苍朴口服液是根据中兽医传统理论专门针对犊牛虚寒型腹泻而研制的中药治疗处方,由苍术、厚朴、黄连、陈皮等9味药组成,具有健脾和胃、涩肠止泻、抗炎镇痛等功效,用于脾胃虚寒导致的腹泻不止、粪便淡白如水等症状的治疗,临床疗效确切。本研究观察了苍朴口服液止泻、涩肠、抗炎、镇痛和免疫等方面的作用,以期为合理应用提供实验支持。

1 材料

1.1 药物 苍朴口服液,中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所中兽医室制备,批号20121013,含复方生药量 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,并以生理盐水稀释至 $0.5, 0.25 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$;复方地芬诺酯片,新乡市常乐制药有限公司,批号1205185,实验前配制成 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;醋酸泼尼松片,浙江仙琚制药股份有限公司,批号120546,实验前配制成 $0.425 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液;阿司匹林肠溶片,合肥久联制药有限公司,批号20111217,实验前配制成 $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液;5%鸡红细胞自制;番泻叶和大黄,均购于兰州市黄河药材市场,100%番泻叶水煎剂:番泻叶加水煮2次,每次约10 min,2层纱布过滤,减压浓缩成含生药 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$;100%生大黄水煎剂:取生大黄300 g加适量温水浸泡24 h,煮沸2次,每次煮沸10 min,合并2次水煎液,药棉过滤,50℃下减压浓缩成含生药量 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$;除苍朴口服液外,以上药液均在4℃存放。

1.2 试剂与仪器 碳末阿拉伯胶混悬液,用5%碳末与10%阿拉伯胶用生理盐水配成混悬液,二甲苯(天津市富宇精细化工有限公司,批号101227)。HH-6型数显恒温水箱(国华电器有限公司);AL104型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

1.3 动物 清洁级昆明种小鼠,体重18~22 g,动物许可证号SCXK(甘)20009-0004;全价纯鼠颗粒饲料,均购于兰州大学GLP实验楼。

2 方法

2.1 止泻试验^[1](番泻叶致泻) 取试验前1~2 d内无腹泻的小鼠50只,雌雄各半,体重18~22 g,随机分为5组:苍朴口服液高、中、低剂量组(20,10,5

$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)每次灌胃体积为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,1次/d,分别相当于临床用药量的10,5,2.5倍),空白对照组和阳性对照组分别ig同体积生理盐水和复方地芬诺酯药液 $5 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。预给药3 d,末次药前禁食(不禁水)12 h,末次药后30 min后,小鼠以100%番泻叶水煎剂 0.4 mL/只 ,ig,然后将每只小鼠单独放于一铺有白纸的鼠笼内,每隔2 h换垫纸1次。以垫纸上湿粪多少表示腹泻次数(湿粪指近似圆形的糊状软粪,在垫纸上出现棕色环带)^[2],分别统计0~2,2~4,4~6 h 3个时间段内腹泻次数及6 h内腹泻总计次数。

2.2 肠推进试验^[3](碳末法) 取小鼠50只,雌雄各半,体重18~22 g,随机分为5组,每组10只,动物分组、给药剂量同2.1。实验前禁食不禁水12 h,然后ig给药1次,给药30 min后,予碳末阿拉伯胶混悬液 0.2 mL/只 ig,30 min后脱颈处死,开腹,分离肠系膜,剪取上自幽门、下至回盲部的肠管,不加牵引地平铺于托盘上,测量肠管长度作为“小肠总长度”,从幽门至碳末在肠管前沿的距离作为“碳末在肠道内的推进距离”,计算碳末在肠道内的推进率。

$$\text{碳末推进率} = \frac{\text{碳末在肠道内推进距离}}{\text{小肠全长}} \times 100\%$$

2.3 抗炎试验^[4](二甲苯致小鼠耳廓肿胀) 小鼠50只,雌雄各半,随机分为5组,每组10只,动物分组及给药剂量同2.1,除阳性对照组为泼尼松 $8.5 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 外,连续给药3 d,1次/d,末次给药1 h后右耳双面涂二甲苯 0.03 mL/只 ,30 min后脱颈处死,用6 mm打孔器沿小鼠左右耳廓相同位置打下圆耳片,于分析天平上立即称其质量,以左、右耳廓圆片质量之差作为肿胀度,并计算小鼠耳廓肿胀率及抑肿率^[5]。

$$\text{肿胀率} = \frac{\text{右耳片质量} - \text{左耳片质量}}{\text{左耳片质量}} \times 100\%$$

$$\text{抑肿率} = \frac{\text{空白组耳廓肿胀度} - \text{给药组耳廓肿胀度}}{\text{空白组耳廓肿胀度}} \times 100\%$$

2.4 镇痛试验^[4](热板法) 将恒温水浴锅加热到

(55 ± 0.5)℃,烧杯的底部接触水面,加热后作为热板刺激,用秒表记录小鼠自投入烧杯至出现舔后足的时间作为该鼠的痛阈。取体重 18 ~ 22 g 的雌性小鼠,预先测定每只小鼠的正常痛阈,舔足时间 < 5 s > 30 s 者弃之不用,测 2 次取平均值。选出 50 只小鼠,随机分为 5 组,除阳性药为阿司匹林 0.12 g·kg⁻¹ 外分组及给药剂量给药方式同 2.1。1 次/d,连续 3 d,末次给药 1 h 后,测量各组小鼠痛阈,若 60 s 仍无反应,其痛阈以 60 s 计算。各组小鼠测量 3 次,每次间隔 15 min,最后计算其平均值。

2.5 巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验^[6] 取小鼠 50 只,雌雄各半,体重 18 ~ 22 g,分为 5 组:空白组、模型组、苍朴口服液 20,10,5 g·kg⁻¹ 组,每组 10 只,除空白对照组外,其余小鼠以 100% 大黄水煎液 1 mL/只 ig,1 次/d,连续 8 d,造成脾虚模型^[7]。再按分组 ig 给药,1 次/d,连续 5 d。末次给药 2 h 后,小鼠以 5% 鸡红细胞 0.4 mL/只,ip,30 min 后脱颈处死,立即 ip 灭菌生理盐水 2 mL/只,轻揉腹部后剖开腹腔,取腹腔液,涂片,冷风吹干后,瑞氏染色,油

镜下观察,计算巨噬细胞吞噬率及吞噬指数。
吞噬率 = 吞噬鸡红细胞的巨噬细胞/200 个巨噬细胞
× 100%
吞噬指数 = 被吞噬的鸡红细胞总数/200 个巨噬细胞
× 100%

2.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 对小鼠腹泻次数的影响 与空白组比较,在 0 ~ 2 h 内苍朴口服液低剂量组能明显减少腹泻次数($P < 0.05$),中、高剂量组及复方地芬诺酯组均能极显著减少腹泻次数($P < 0.01$),其中高剂量组的效果优于中剂量组及地芬诺酯组;在 2 ~ 4,4 ~ 6 h 内各给药组与空白组比较无显著性差异;6 h 内累计腹泻次数与空白组相比,苍朴口服液中、高剂量组均减少腹泻次数($P < 0.01$)。结果表明,苍朴口服液能显著降低番泻叶所致小鼠腹泻的次数,在 0 ~ 2 h 内效果最明显($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 苍朴口服液对番泻叶所致小鼠腹泻次数的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)					次
组别	剂量/g·kg ⁻¹	0 ~ 2 h	2 ~ 4 h	4 ~ 6 h	6 h 总计
空白对照	—	5.63 ± 1.30	2.00 ± 1.41	1.57 ± 0.53	8.75 ± 1.83
复方地芬诺酯	5 × 10 ⁻³	3.75 ± 0.87 ²⁾	2.00 ± 1.31	1.13 ± 0.83	6.88 ± 1.64
苍朴口服液	5	4.00 ± 1.31 ¹⁾	1.63 ± 1.60	1.25 ± 1.04	6.87 ± 2.53
	10	3.75 ± 1.16 ²⁾	1.00 ± 1.07	1.00 ± 1.41	5.75 ± 1.83 ²⁾
	20	3.00 ± 1.51 ²⁾	1.62 ± 0.92	1.25 ± 1.39	5.88 ± 2.47 ²⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

3.2 对小鼠小肠蠕动的的影响 与空白对照组比较,苍朴口服液低、中剂量组能显著减慢小肠蠕动速度,明显缩短碳末在肠道内的推进距离($P < 0.05$),高剂量组和阳性对照组抑制作用相当,均能极显著降低碳末的推进率($P < 0.01$)。结果表明,苍朴口服液对小肠蠕动有明显的抑制作用($P < 0.05$, $P < 0.01$),即有涩肠功能。见表 2。

表 2 苍朴口服液对小鼠小肠蠕动的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)		
组别	剂量/g·kg ⁻¹	碳末推进率/%
空白对照	—	73.53 ± 13.78
复方地芬诺酯	5 × 10 ⁻³	64.50 ± 10.81 ²⁾
苍朴口服液	5	67.19 ± 8.95 ¹⁾
	10	66.32 ± 10.88 ¹⁾
	20	64.05 ± 12.79 ²⁾

3.3 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响 与空白对照组比较,苍朴口服液低剂量组能显著抑制耳廓肿胀($P < 0.05$),其余各给药组均能极显著抑制二甲苯所致的耳廓肿胀($P < 0.01$),醋酸泼尼松组优

于高剂量组,高剂量组优于中剂量组。结果表明,苍朴口服液对二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀有明显的抑制作用。见表 3。

表 3 苍朴口服液对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)				%
组别	剂量/g·kg ⁻¹	肿胀率	抑肿率	
对照	—	82.12 ± 8.46	—	
醋酸泼尼松	8.5 × 10 ⁻³	64.79 ± 11.47 ²⁾	21.10	
苍朴口服液	5	70.51 ± 12.38 ¹⁾	14.15	
	10	66.60 ± 10.86 ²⁾	18.90	
	20	65.89 ± 13.07 ²⁾	19.76	

3.4 对小鼠耐热痛阈的影响 与空白对照组相比,给药后 15 min 时,苍朴口服液各给药组和阿司匹林组均能显著提高小鼠痛阈($P < 0.05$, $P < 0.01$);给药后 30 min 时中、高剂量可显著提高,痛阈($P < 0.05$, $P < 0.01$);给药后 45 min 时,高剂量组和阿司

匹林组仍有显著提高痛阈作用($P < 0.05$);3次测量平均值显示,各给药组均能明显延长舔足反应时间,中、高剂量组与阿司匹林组作用相当,结果说明,

苍朴口服液各给药组在各时间段内均能不同程度的提高痛阈,发挥镇痛作用,但镇痛作用随时间延长而下降。见表4。

表4 苍朴口服液对小鼠耐热痛阈的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前痛阈	给药后痛阈			
			15 min	30 min	45 min	平均
对照	—	17.75 $\pm$ 2.71	18.38 $\pm$ 3.42	18.50 $\pm$ 3.42	16.23 $\pm$ 4.24	17.83 $\pm$ 3.58
阿司匹林	0.12	18.13 $\pm$ 3.72	24.63 $\pm$ 5.10 ²⁾	23.00 $\pm$ 2.31 ¹⁾	20.88 $\pm$ 2.64 ¹⁾	21.27 $\pm$ 4.52 ²⁾
苍朴口服液	5	18.33 $\pm$ 4.65	23.13 $\pm$ 5.44 ¹⁾	20.50 $\pm$ 2.39	17.44 $\pm$ 3.28	19.59 $\pm$ 4.58 ¹⁾
	10	18.14 $\pm$ 6.19	23.63 $\pm$ 3.93 ¹⁾	22.13 $\pm$ 3.18 ¹⁾	19.75 $\pm$ 3.77	20.47 $\pm$ 4.39 ²⁾
	20	16.86 $\pm$ 5.30	26.75 $\pm$ 4.43 ²⁾	22.50 $\pm$ 4.47 ²⁾	19.83 $\pm$ 3.76 ¹⁾	21.47 $\pm$ 5.26 ²⁾

3.5 对“脾虚”小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响
与模型对照组相比,苍朴口服液各剂量组均能显著提高巨噬细胞对鸡红细胞的吞噬率($P < 0.01$),中、高剂量组能显著提高巨噬细胞的吞噬指数($P < 0.05, P < 0.01$)。结果表明,苍朴口服液能明显提高“脾虚”模型小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力,具有一定的提高免疫功能作用。见表5。

表5 苍朴口服液对“脾虚”小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	吞噬率/%	吞噬指数
对照	—	29.17 $\pm$ 6.82 ²⁾	0.94 $\pm$ 0.42
模型	—	14.03 $\pm$ 5.31	0.89 $\pm$ 0.31
苍朴口服液	5	21.31 $\pm$ 8.09 ²⁾	1.06 $\pm$ 0.27
	10	24.14 $\pm$ 7.42 ²⁾	1.21 $\pm$ 0.34 ¹⁾
	20	26.85 $\pm$ 9.73 ²⁾	1.37 $\pm$ 0.26 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

犍牛虚寒型腹泻常见于犍牛外感风寒或过食冷料等损伤脾胃阳气所致,以温中散寒、化湿止泻为治则,苍朴口服液组方中诸药共奏燥湿健脾、行气止泻之功效。苍朴口服液中含有挥发油、酚类、生物碱等具有收敛、抗炎、镇痛和免疫功能的多种活性成分,可对犍牛虚寒型腹泻症进行治疗。推测其作用机制可能有:通过减慢胃肠道蠕动和对其功能紊乱进行调整^[8],产生涩肠止泻的作用;通过影响下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)的功能或者炎症介质的产生^[9],抑制耳廓肿胀来达到抗炎作用;通过作用于中枢或外周神经系统^[10],提高痛阈以增强镇痛作用;通过增强腹腔巨噬细胞活性来增强其吞噬能力^[11],进而提高动物机体的免疫能力。

利用过量大黄建造的病理模型要达到相应的“脾虚”评价标准,并且模型表现出来的症状尽可能与临床症状吻合,其难点在于试验中动物模型的建造用时较短,能很快恢复正常,而临床病理模型形成

时间长,一般很难自愈。

以上试验结果表明,苍朴口服液具有止泻、涩肠、抗炎、镇痛和增强免疫的作用,与临床上治疗犍牛耳鼻俱冷、粪便稀薄、不时拱腰等虚寒型腹泻症状相对应,提示了药物作用的内在机制,为该口服液进一步开展研究提供了良好的药效学依据。对于苍朴口服液及类似的中药处方与动物机体之间的具体作用机制尚待于进一步的研究。

[参考文献]

[1] 刘晓玲,崔奇珍,李燕舞,等. 康肠灵抗炎、镇痛、止泻作用研究[J]. 中药药理与临床,2006,22(2):58.

[2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:425.

[3] 成志锋,项莹,张巾超,等. 阿是止泻胶囊止泻的药效学及急性毒性实验研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2003,11(2):85.

[4] 黄立中,莫新民,雷晓明. 安痛藤口服液对小鼠镇痛抗炎作用的实验研究[J]. 湖南中医杂志,2000,16(4):54.

[5] 邹玉繁,汪小根. 银黄颗粒抗炎、抗变态反应实验研究[J]. 现代中药研究与实践,2004,18(3):59.

[6] 刘嵩,谭大琦,卢笑丛,等. 广朴止泻液药效学研究[J]. 医药导报,2008,27(7):779.

[7] 张亚杰,韩冬,李丽静. 脾虚泄泻动物模型实验研究进展[J]. 长春中医药,2008,28(7):542.

[8] 成志锋,张巾超,王薇. 阿是止泻胶囊治疗甲状腺功能亢进性腹泻的临床观察[J]. 中国地方病学杂志,2003,22(2):182.

[9] 唐秀能,王乃平,黄仁彬. 中药抗炎作用机制研究进展[J]. 中国药师,2008,11(5):583.

[10] 高冲,刘永平. 中药镇痛作用机制及其发展概况[J]. 承德医学院学报,2010,27(3):321.

[11] 赵洪明,石玉翔,强慧勤,等. 复方中药对肉鸡巨噬细胞吞噬功能和血清溶菌水平影响观察[J]. 人畜共患病与公共卫生专题,2009:786.

[责任编辑 李玉洁]