

大黄素葡甲胺对大鼠实验性肠黏连的治疗作用

蒋王林, 傅风华*, 田京伟

(山东省天然药物工程技术研究中心 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003)

大黄素为大黄的有效成分之一, 大黄素能显著抑制醋酸所致的小鼠毛细血管通透性增加^[1]; 促进豚鼠离体肠管收缩^[2]; 呈剂量依赖性加强豚鼠结肠带平滑肌细胞电和收缩活动, 其机制与抑制细胞膜 K_{ATP} 等钾通道的活性相关^[3]; 另外大黄素有抑制大鼠肝纤维化形成的作用^[4]。由于大黄素水溶性差, 故将大黄素与葡甲胺反应, 制成大黄素葡甲胺盐给药, 具有水溶性好, pH 适宜、稳定、使用方便等特点。药理研究发现大黄素静脉给药对大鼠实验性肠黏连有较好的治疗作用, 为了对大黄素进一步开发及应用, 探讨其作用机制, 本实验就其对大鼠实验性肠黏连的治疗作用及机制进行了初步研究。

1 材料

1.1 药品与试剂: 大黄素葡甲胺冻干粉针 (山东省天然药物工程技术研究中心制剂室提供, 批号 020712, 质量分数 > 95%); 甲基硫酸新斯的明注射液 (淄博市周村制药厂, 批号 020725); 乌拉坦 (中国医药集团上海化学试剂公司, 批号 010118); 吗丁啉 (每粒 10 mg, 西安杨森制药有限公司, 批号 010214002); 地塞米松磷酸钠注射液 (每支 5 mg, 天津药业涟水有限公司, 批号 0105305); 10% 水合氯醛溶液 (烟台市烟台山医院提供, 批号 020415); 羟脯氨酸 (OHP) 测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 20030825); 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 测定试剂盒、白细胞介素 1 β (IL-1 β) 测定试剂盒 (北京北方生物技术研究所, 批号 20030901)。

1.2 动物: Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体重 180~220 g, 山东省天然药物工程技术研究中心实验动物中心提供, 动物合格证: 鲁动质字 200106005 号。

2 方法与结果

2.1 对大鼠结肠推动的影响: 取大鼠 50 只, 随机分 5 组, 即生理盐水 (NS) 组、甲基硫酸新斯的明注射液组 (阳性对照组)、大黄素葡甲胺 (20、10、5 mg/kg) 组。大鼠以 20% 乌拉坦 ip 麻醉 (0.5 mg/100 g), 沿大鼠腹中线剪开, 找出回盲端, 沿回盲端中部注射墨汁, 每只 0.5 mL, 随后给药组立即 iv 给

药, 体积 0.4 mL/100 g, NS 组给予同体积 NS, 阳性对照组 iv 甲基硫酸新斯的明注射液, 体积为 0.20 mL/100 g, 2 h 后处死大鼠, 测定墨汁在结肠中的推进距离, 以墨汁在结肠中的推进距离与结肠总长度的比值 (推进率) 为指标, 进行组间 t 检验, 结果见表 1。结果表明大黄素葡甲胺 20、10 mg/kg 可以明显促进大鼠结肠墨汁的推进, 与 NS 组比较差异显著 ($P < 0.05$); 大黄素葡甲胺 5 mg/kg 对大鼠结肠墨汁推进没有显著作用, 但有一定推进趋势。

表 1 大黄素葡甲胺对大鼠结肠推动的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of meglumine emodin on colon boosting in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	推进距离/cm	结肠长度/cm	推进率/%
NS	—	2.5±2.1	14.3±0.9	17.2±14.8
阳性对照	0.10	5.9±1.1	15.6±0.8	37.5±5.9 ^{△△}
大黄素葡甲胺	20	4.9±2.7	14.5±0.8	33.6±18.7 [△]
	10	4.4±1.9	14.5±0.7	30.2±10.6 [△]
	5	3.6±2.0	13.8±0.7	26.6±14.7

与 NS 组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

$\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs NS group

2.2 对大鼠肠黏连的影响: 大鼠 60 只, 雄性, 取 50 只大鼠参照文献方法^[5,6]制备肠黏连模型, 随机分 5 组, 即模型组、地塞米松组、大黄素葡甲胺 (20、10、5 mg/kg) 组, 随后立即给药, 分笼饲养。每天 iv 给药一次, 体积 0.4 mL/100 g, 模型组给予同体积 NS, 地塞米松组隔天给药, 剂量为 10 mg/kg。另 10 只大鼠作为正常对照组。连续给药 5 d, 术后第 7 天处死大鼠, 腹部取“n”形切口开腹, 分别进行黏连程度分级评分。分级判断标准参考 Nair^[7]制定的 5 级分类法, 即 0 分: 完全无黏连; 1 分: 内脏间或内脏与腹壁间 1 条黏连带; 2 分: 内脏间或内脏与腹壁间 2 条黏连带; 3 分: 多于 2 条黏连带而内脏未直接黏连至腹壁; 4 分: 内脏直接黏连至腹壁, 不管黏连带多少。黏连程度结果进行组间秩和检验, 结果见表 2。结果表明, 大鼠 iv 给予大黄素葡甲胺 20、10 mg/kg 对大鼠肠黏连有明显抑制作用 ($P < 0.05, 0.01$)。

2.3 肠黏连大鼠血清 TNF- α 和 IL-1 β 测定: 大鼠 60 只, 按 2.2 项方法造模、分组、给药, 第 2 天给药

表2 大黄素葡甲胺对大鼠术后肠粘连的影响

Table 2 Effect of meglumine emodin on experimental postoperative intestinal adhesion in rats

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	黏连程度/只					T (秩和值)	P
		0分	1分	2分	3分	4分		
正常	—	10	0	0	0	0	—	—
模型	—	0	0	0	8	2	—	—
地塞米松	10	0	1	8	1	0	59 ^{△△}	0.0001 ^{△△}
大黄素葡甲胺	20	1	3	3	3	0	67 ^{△△}	0.0009 ^{△△}
	10	0	1	3	6	0	79 [△]	0.02 [△]
	5	0	0	1	9	0	91	0.09

与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group

后1 h, 各组大鼠腹主动脉采血, 分离血清, 按 TNF- α 和 IL-1 β 测定试剂盒说明书测定。结果见表3。肠黏连大鼠血清 TNF- α 和 IL-1 β 水平明显升高, 与正常组比较差异非常显著 ($P < 0.01$); 大黄素葡甲胺 (20, 10 mg/kg) iv 给药对肠黏连大鼠血清 TNF- α 和 IL-1 β 水平有明显抑制作用, 与模型组比较, 差异显著 ($P < 0.01$)。

2.4 肠黏连大鼠腹壁组织 OHP 鉴定: 取 2.2 项各组大鼠腹部创面的腹壁组织样品, 称质量, 放在匀浆管口部, 用小剪刀剪碎, 加入 9 倍 NS 冲入匀浆管中, 缓慢上下旋转拧磨, 每次 30 s, 反复 5 次。匀浆后以 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清液 0.1 mL 加 0.4 mL NS, 稀释成 2% 匀浆按 OHP 试剂盒说明书测定。结果见表3。肠黏连大鼠腹壁组织中 OHP 明显升高, 与正常组比较, 差异非常显著 ($P < 0.01$), 大黄素葡甲胺各剂量组对肠黏连大鼠腹壁组织中 OHP 无明显影响。

表3 大黄素葡甲胺对肠黏连大鼠血清 TNF- α 和 IL-1 β 水平及腹壁组织中 OHP 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 3 Effect of meglumine emodin on TNF- α and IL-1 β levels in serum and OHP level in abdominal wall tissue of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	OHP/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)	IL-1 β / (ng·mL ⁻¹)	TNF- α / (ng·mL ⁻¹)
正常	—	0.125 $\pm$ 0.032	1.19 $\pm$ 0.27	1.35 $\pm$ 0.03
模型	—	0.237 $\pm$ 0.041**	2.39 $\pm$ 0.53**	2.17 $\pm$ 0.53**
地塞米松	10	0.227 $\pm$ 0.048	1.39 $\pm$ 0.33 ^{△△}	1.61 $\pm$ 0.30 ^{△△}
大黄素葡甲胺	20	0.235 $\pm$ 0.052	1.60 $\pm$ 0.30 ^{△△}	1.64 $\pm$ 0.27 ^{△△}
	10	0.243 $\pm$ 0.050	1.60 $\pm$ 0.30 ^{△△}	1.68 $\pm$ 0.30 ^{△△}
	5	0.240 $\pm$ 0.069	2.01 $\pm$ 0.38	1.94 $\pm$ 0.38

与正常组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs normal group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group

3 讨论

腹部手术是外科最常见的手术, 一般手术后病人的胃肠功能比较虚弱, 肠黏连是腹腔手术后常见

的并发症, 发生率可达 80%~90%, 其中 30% 可形成肠梗阻。因而预防腹部手术后肠黏连, 以减少肠梗阻的发生, 是临床外科的主要研究课题之一。

造成肠黏连的原因是多方面的, 有机械性损伤、组织缺血、外源性物质的植入以及腹膜的炎症等。随着对术后肠黏连发病机制的逐渐认识, 从而为预防打下了基础。目前认为术后肠黏连主要由手术损伤肠浆膜引起。损伤后的炎症反应引起包括纤维蛋白在内的多种成分的炎症渗出, 形成纤维蛋白基质。这些沉积的纤维蛋白基质应被纤溶酶溶解, 但由于缺血伴随着浆膜损伤抑制了纤溶活性, 使纤维蛋白基质持续存在, 最终机化而导致黏连形成。因而术后肠黏连的预防可通过以下途径: (1) 防止组织缺血; (2) 抑制炎症反应; (3) 减少炎症渗出; (4) 溶解沉积的纤维蛋白; (5) 抑制沉积的纤维蛋白转化为纤维组织; (6) 促进胃肠蠕动。可防治黏连的化学药物有非甾体类抗炎药和甾体类抗炎药, 甾体类抗炎药如地塞米松能减轻炎性反应, 减少炎性物质及纤维蛋白渗出, 但同时地塞米松也容易引起消化系统并发症和伤口愈合迟缓、免疫抑制等不良反应, 使创面恢复受到影响。甾体类抗炎药物在减少渗出、抑制肠黏连发生的同时, 严重影响腹腔内手术部位及腹壁切口的愈合。非甾体抗炎药可减少渗出, 但现在临床所使用的剂量常常引起胃肠道不良反应。促进肠蠕动药物能促进肠蠕动, 减少黏连发生, 但不能减轻炎性反应, 减少炎性物质及纤维蛋白渗出。促进纤维蛋白溶解吸收的药物能直接刺激血管内皮细胞释放纤维蛋白溶解酶原激活物, 使纤维蛋白溶解酶原变为纤维蛋白溶酶, 溶解纤维蛋白, 可一定程度抑制纤维蛋白黏连的形成。由于其是血纤维蛋白溶酶原激活剂, 其应用时有出血倾向等不良反应。

本实验研究表明大黄素葡甲胺 iv 给药对麻醉大鼠结肠墨汁有明显的推动作用, 其推动作用与甲基硫酸新斯的明比较, 较和缓、适度, 不至于引起手术后病人胃部不适, 适用于手术后病人胃肠蠕动的需要。

大黄素葡甲胺能有效减轻大鼠术后肠黏连的程度, 而不影响切口愈合, 这不仅从大鼠肠黏连程度分级上, 而且从腹壁愈合组织 OHP 水平反映出来。TNF- α 是一种多肽激素, 它是由巨噬细胞和单核细胞分泌的一种重要细胞因子, 是参与多种生理和免疫过程的重要介质^[8], 可参与机体的免疫病理损伤, 在免疫性疾病的发病机制中具有十分重要的临床价值。腹部手术后 IL-1 β 的增高提示肠道除了黏膜通透性改变外, 可能由于白细胞的激活而导致肠黏膜

上皮细胞、白细胞分泌 IL-1 β , 大黄素葡甲胺 (20, 10 mg/kg) iv 给药能降低肠粘连大鼠血清中 TNF- α 和 IL-1 β 水平。

本实验结果表明大黄素葡甲胺能减轻炎症反应、减少炎症物质及纤维蛋白渗出、促进肠蠕动, 为大黄素葡甲胺的开发和临床应用于治疗手术后肠粘连的病人提供了理论依据。

References:

- [1] Qi H. Anti-inflammation effect of emodin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(7): 522-523.
- [2] Jin Z H, Ma D L, Lin X Z, et al. Study on effect of emodin on isolated intestinal smooth muscle of guinea-pigs [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1994, 14(7): 429-431.
- [3] Li J Y, Yang W X, Hu W W, et al. Effect of emodin on the activity of K channel in guinea pig taenia coli smooth muscle cells [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1998, 33(5): 321-325.
- [4] Zhan Y T, Li D Q, Wei H S, et al. Effect of emodin on development of hepatic fibrosis in rats [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2000, 20(4): 276-278.
- [5] Wang M Y, Li H C, Cheng Z D, et al. Experimental study on preventive effect of Weitong Injection on postoperative adhesion in rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2000, 8(4): 40-42.
- [6] Wang M Y, Li H C, Shi H P, et al. Experimental research on prevention of postoperative intestinal adhesion by sodium aescinate [J]. *Chin J Surg Integr Tradit West Med* (中国中西医结合外科杂志), 1999, 5(6): 382-384.
- [7] Ozogul Y, Baykal A, Onat D, et al. An experimental study of the effect of aprotinin on adhesion formation [J]. *Am J Surg*, 1998, 175: 137-141.
- [8] Bertain T, Abbate M, Zojac X, et al. Tumornecrosis factor induces glomerular damage in the rabbit [J]. *Am Pathol*, 1989, 134(2): 4190.

颈复康片的药理作用

申秀萍, 周 昆, 刘 静, 梅学仁

(天津药物研究院, 天津 300193)

颈复康片是在颈复康颗粒基础上进行的工艺、剂型改进, 该方由羌活、川芎、白芍、丹参、桃仁、红花、乳香、没药、王不留行、地龙、葛根、秦艽、生石决明、黄芪、党参等二十多味中药组成, 功能主治为消肿止痛、活血通络, 用于治疗颈椎病引起的头晕、肩背疼痛、手臂麻木等症状。颈复康颗粒在临床上使用多年, 是目前国内治疗颈椎疾病较理想的药物, 该品种已成为承德颈复康药业集团有限公司的拳头产品, 目前该公司对其进行了工艺剂型改进, 成功研发了新剂型——颈复康片。本实验主要对新剂型颈复康片的药理作用进行探讨, 以证明颈复康片与原剂型颈复康颗粒在主要药理作用方面的一致性, 为颈复康片的临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 药物: 颈复康片原料药, 棕色流浸膏, 由本院中药现代研究部提供, 含生药 6.0 g/mL; 批号 030905, 质控标准为含葛根以葛根素计不得少于每片 1.6 mg, 含白芍药以芍药苷计不得少于每片 1.8 mg。颈复康颗粒, 承德颈复康药业集团有限公司生产提供, 批号 030219。

1.2 试剂: 巴豆油致炎剂 (本院植化室提供, 批号 20000309); 角叉菜胶 (沈阳药科大学植化教研室提供); 棉球 (自制, 称 30 mg 灭菌棉制成球形, 150

kPa 高压灭菌, 临用前用 1% 青霉素液浸泡); 0.67% 冰醋酸 (天津市天河化学试剂厂生产, 批号 20011120)。

1.3 实验动物: 昆明种小鼠, 体重 20~25 g; Wistar 大鼠, 体重 180~250 g, 本院动物室提供, 合格证: W-J 津实动质 R 准字 001 号。杂种犬, 成年, 购自市郊。

2 数据处理

结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两个样本均数比较用 t 检验。

3 方法^[1-3]与结果

3.1 抗炎作用

3.1.1 对小鼠巴豆油性耳肿的影响: 昆明种小鼠 50 只, 雄性, 随机分为 5 组, 每组 10 只。每组小鼠每天按表 1 所示剂量 ig 给药 1 次, 连续给药 7 d, 对照组给予同体积蒸馏水。于末次给药后, 将 2% 巴豆油致炎剂 0.05 mL 滴于每只小鼠右耳壳致炎。致炎 2 h 后脱颈椎处死小鼠, 剪下左、右耳, 用直径 9 mm 打孔器打下同一部位耳片, 称质量, 以两耳质量差作为小鼠耳肿程度, 结果见表 1。颈复康片各剂量组对小鼠耳肿有非常显著的抑制作用, 与原剂型颈复康颗粒作用相一致。

3.1.2 对大鼠角叉菜胶足肿胀的影响: Wistar 大鼠 50 只, 雄性, 分组及给药方式同 3.1.1 项。于末次