

利胆止痛胶囊对小鼠抗抑菌炎、镇痛和利胆作用研究

马加庆¹⁾, 陈鹏²⁾, 沈志强²⁾, 杨仁华²⁾, 王娜²⁾, 李丽³⁾

(1) 昆明医学院基础医学院药理教研室, 云南昆明 650031; 2) 昆明医学院药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650031; 3) 昆明医学院第三附属医院药剂科, 云南昆明 650118)

[摘要] **目的** 观察云南永孜堂制药有限公司生产的利胆止痛胶囊的利胆、抑菌和抗炎镇痛作用。 **方法** 采用摘除小鼠胆囊直接称重的方法观测利胆止痛胶囊对正常小鼠胆汁量的影响。采用试管两倍稀释法观测利胆止痛胶囊在体外对甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌及痢疾杆菌、大肠杆菌和沙门菌生长的影响。采用小鼠耳廓肿胀、大鼠足跖肿胀模型, 观测利胆止痛胶囊抗炎消肿作用。运用小鼠热板法及醋酸扭体方法评价利胆止痛胶囊的镇痛作用。 **结果** 0.72、1.44 g/kg 的利胆止痛胶囊明显减轻正常小鼠的胆囊重量, 低剂量的利胆止痛胶囊对小鼠胆囊重量无明显影响。利胆止痛胶囊对金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、痢疾杆菌和大肠杆菌的 MIC 分别为 25、50、50、25 和 12.5 mg/mL, 对沙门菌无明显抑菌作用。0.72、1.44 g/kg 利胆止痛胶囊明显减轻小鼠耳廓肿胀度。对大鼠足跖肿胀模型, 高剂量 (0.72 g/kg) 的利胆止痛胶囊于给药后 1 h 起效, 作用至少可持续 4 h; 中、低剂量无明显影响。0.72 和 1.44 g/kg 的利胆止痛胶囊明显减少小鼠扭体次数, 热板法结果表明于给药后 60~120 min 均显著延长小鼠置入圆筒至开始舔后足时间。 **结论** 利胆止痛胶囊具有抑菌、抗炎、消肿、镇痛和利胆作用。

[关键词] 利胆止痛胶囊; 胆汁分泌; 抑菌作用; 抗炎作用; 镇痛作用

[中图分类号] R973 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2011) 01-0010-06

Anti-inflammatory, Analgesic and Choloretic Effect of Lidan Zhitong Capsulen Mice

MA Jia-qing¹⁾, CHEN Peng²⁾, SHEN Zhi-qiang²⁾, YANG Ren-hua²⁾, WANG Na²⁾, LI Li³⁾

(1) Dept. of Pharmacology, School of Basic Medicine, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031; 2) Pharmaceutical School & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031; 3) Dept of Pharmacy, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650118, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the anti-inflammatory, analgesic and choloretic effect of Lidan zhitong capsule. **Methods** The mouse gallbladder was removed after medication and weighed directly to measure the effect of Lidan zhitong capsule on bile secretion and excretion. The test tube dilution method was used to observe the bacteriostatic effect on staphylococcus aureus, alpha hemolytic streptococcus, beta-hemolytic streptococci, shigella dysenteriae, escherichia coli and salmonella. The anti-inflammation and detumescence of Lidan zhitong capsule were evaluated by using the xylene-caused mouse ear swelling and carrageenin-challenged paw edema, respectively. The analgesic effect was evaluated by the hot plate and the acetic acid twist in mice. **Results** Lidan zhitong capsule at 0.72 and 1.44 g/kg significantly decreased the weight of mouse gallbladders, while 0.36 g/kg of Lidan zhitong capsule had no effect. The minimal inhibitory concentrations, MIC) of Lidan

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30660212)

[作者简介] 马加庆 (1981~), 男, 云南巍山县人, 在读硕士研究生, 实验师, 主要从事药理学研究工作。

[通讯作者] 李丽. E-mail: 123456wjj@sina.cn

zhitong capsule on staphylococcus aureus, alpha hemolytic streptococcus, beta-hemolytic streptococci, shigella dysenteriae and escherichia coli were 25 mg/mL, 50 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL and 12.5 mg/mL, respectively. 0.72 and 1.44 g/kg of Lidan zhitong capsule lightened the dimethylxylene-caused mouse ear swelling and carrageenin-challenged paw edema in rats, in a dose-dependent manner. Lidan zhitong capsule at 0.72 and 1.44 g/kg obviously decreased twist times of the mice. After the mice had been medicated 60 ~ 120 min, Lidan zhitong capsule, (0.72 and 1.44 g/kg) significantly increased the time that the mice began to lick the hindleg after the mice inserted in the cylinder. **Conclusion** Lidan zhitong capsule has obvious choleric effect, bacteriostasis on common pathogenic bacteria in digestive tract, and significant anti-inflammatory, detumescent effect as well as analgesic effect.

[Key words] Lidan zhitong capsule; Choleric effect; Bacteriostasis; Anti-inflammation; Analgesia

利胆止痛胶囊主要由柴胡(炒)、赤芍、枳壳(炒)、甘草等组成,具有清热利胆,理气止痛之功效.临床用于肝胆湿热所致的胁痛,急、慢性肝炎、胆囊炎所致的黄疸.本试验主要研究利胆止痛胶囊的利胆作用,同时观测其抑菌、镇痛抗炎等作用,评价利胆止痛胶囊与清热利胆、理气止痛功能主治相关的药效学作用,为利胆止痛胶囊临床用于防治肝胆湿热所致的胁痛提供药效学实验依据.

1 资料与方法

1.1 一般资料

利胆止痛胶囊(云南永孜堂制药有限公司). 国药准字 Z20090489. 供试品药料批号: 20091001. 主要药材: 柴胡(炒)、赤芍、枳壳(炒)、甘草、茵陈、延胡索(炒)、苍术、川楝子(炒)、仙鹤草、板蓝根、蒲公英、姜黄组成. 为黄褐色至棕褐色的颗粒及粉末; 味苦、微涩. 0.4 g/粒. 临床成人用量: 3 粒/次, 3 次/d, 即 3.6 g/(60 kg·d). 样品保存条件: 密闭, 凉暗处保存. 阳性对照品: 清肝利胆胶囊, 国药准字 Z19991028, 规格: 0.35 g/粒, 一次 7 粒, 1~2 次/d, 江西天施康中药股份有限公司生产. 阿司匹林结晶购自 Sigma 化学公司. 注射用氨苄西林钠由哈药集团制药总厂出品, 批号 A02060918; 黄连素片剂由昆明亨利泰康药业有限公司出品.

1.2 主要试剂

二甲苯购自武汉有机合成工厂, 规格: 500 mL, 分析纯; 角叉菜胶, 5 g/瓶, 编号 122K1444, Sigma 公司产品.

1.3 动物与供试菌种

1.3.1 动物品系 雄性 ICR 小鼠, 体重 25~28 g, 用于耳廓肿胀试验, 雌性 ICR 小鼠, 体重 18~22 g, 用于热板致痛试验, ICR 小鼠, 体重 18~22 g, 雌雄各半, 用于其它试验. SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 200~240 g.

1.3.2 动物来源 昆明医学院实验动物中心. 合格证号: 滇实动证字第 2005017 号(小鼠), 2005018 号(大鼠).

1.3.3 饲养管理条件 全价营养颗粒饲料(昆明医学院实验动物中心提供), 自由饮水. 室温(24 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 40%~50%.

1.3.4 供试菌种 甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎球菌(31003)、金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、大肠杆菌和沙门菌由北京生物制品检定所菌种中心提供, 昆明医学院微生物教研室保存.

1.3.5 培养基 营养琼脂; 营养肉汤、小牛血清由浙江省军区后勤卫生防疫检验所提供, 新鲜绵羊血由昆明医学院实验动物中心提供, 常规配制, 高压灭菌备用.

1.4 统计学处理

数据采用 SPSS 统计软件对数据进行统计学处理, 实验所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 给药途径

小鼠以 0.2 mL/10 g 体重灌胃给药, 大鼠以 1 mL/100 g 体重灌胃给药. 空白对照组以等容量生理盐水灌胃. 各测试指标的给药次数分别参见下述实验方法.

2.2 药物配制方法

受试药品及阳性对照品分别以 0.2 mL/10 g 体重和 1 mL/100 g 体重给小鼠和大鼠灌胃给药。根据设置的药物剂量及给药体积，称取适量的药粉，用生理盐水溶解并稀释至适宜浓度，现配现用。

2.3 剂量及其设置依据

利胆止痛胶囊的临床成人用量为 3.6 g/(人·d)，按成人 60 kg 体重计算，有效剂量为 0.06 g/(kg·d)。按体重体表面积转换，折算成动物的等效有效剂量分别为：小鼠 0.72 g/kg 体重，大鼠 0.36 g/kg 体重。因此，本实验供试品剂量设置如下：小鼠：0.36、0.72 和 1.44 g/kg，大鼠：0.18、0.36 和 0.72 g/kg。

2.4 利胆作用

采用摘除小鼠胆囊直接称重的方法^[1]，以测量利胆止痛胶囊对胆汁分泌量和排泄量的影响。ICR 小鼠，18~22 g，雌雄各半，随机分成五组，每组 10 只，即生理盐水组、利胆止痛胶囊 0.36、0.72、1.44 g/kg 组和 0.72 g/kg 清肝利胆胶囊阳性对照组。各动物均按 0.2 mL/10 g 体重灌胃，1 次/d，连续 7 d，末次给药 12 h（禁食不禁水）后，脱臼处死小鼠，摘除胆囊并称重。

结果显示，高剂量的利胆止痛胶囊和清肝利胆胶囊均明显减轻正常小鼠的胆囊重量，低剂量的利胆止痛胶囊无明显影响（见表 1）。

表 1 利胆止痛胶囊对小鼠胆囊重量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of Lidan zhitong capsule on the weight of mouse gallbladders ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g/kg)	胆囊重 (mg)
生理盐水	10	-	10.37 ± 1.34
利胆止痛胶囊	10	0.36	9.70 ± 1.19
	10	0.72	7.88 ± 1.39**
	10	1.44	5.16 ± 1.16**
清肝利胆胶囊	10	0.72	4.87 ± 1.35**

与生理盐水组比较，** $P < 0.01$ 。

2.5 体外抑菌试验

2.5.1 供试菌株的复苏、接种、培养和制备

将冷冻干燥保存的标准菌株在血清肉汤培养基中复苏后，转种到营养琼脂平板及血琼脂平板，37 °C 培养 24 h；取出用 McFar Land 标准比浊管目测比

浊为 3×10^8 cfu/mL，再稀释为 3×10^6 cfu/mL 备用。

2.5.2 最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 的测定^[2,3]

称取利胆止痛胶囊药料 100 mg 加 1 mL 注射用水溶解后置 8 磅 30 min 高压灭菌，得 100 mg/mL 浓度备用。取氨苄西林钠 10 mg，用 10 mL 注射用水溶解后浓度为 1 mg/mL，作为阳性对照。黄连素片剂由昆明亨利泰康药业有限公司出品，实验前配制为 10 mg/mL 备用。按试管两倍稀释法将受试药及阳性对照品分别稀释 8 个浓度梯度，即第一支试管加入药液 1.0 mL 与 1.0 mL 培养基混匀后，吸取 1.0 mL 加入第 2 管，同法依次稀释至第八管，以上操作完毕置 37 °C 培养 24 h 取出观察，再次取各试管中的液体转种相应的平板进行培养，检测利胆止痛胶囊在体外对甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、大肠杆菌和沙门菌生长的影响（最小抑菌浓度，MIC）。

结果显示，利胆止痛胶囊对金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、痢疾杆菌及大肠杆菌的 MIC 分别为 25、50、50、25 和 12.5 mg/mL，对沙门菌无明显抑菌作用，见表 2。

2.6 抗炎作用

2.6.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响^[4]

雄性 ICR 小鼠，体重 25~28 g，随机分成五组，每组 10 只，即等体积的生理盐水组、0.36、0.72、1.44 g/kg 的利胆止痛胶囊组和 0.2 g/kg 阿司匹林组。试验各组按 0.2 mL/10 g 体重灌胃给药，1 次/d，连续 7 次。末次给药后 45 min 用微量加样器吸取二甲苯（0.05 mL/只）滴于小鼠右耳，15 min 后处死动物。用直径 9 mm 的打孔器沿左右耳廓相同部位打孔取耳片。分别称重，以两耳片重差值作为肿胀程度指标。比较给药组与对照组的差异，并求出肿胀度 (mg)。

结果显示，0.72、1.44 g/kg 利胆止痛胶囊明显减轻小鼠耳廓肿胀度。与生理盐水组比较，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 3。

2.6.2 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响^[5]

SD 大鼠，体重 200~240 g，雌雄各半，随机分 5 组，每组 10 只，即等体积生理盐水组、0.18、0.36 和 0.72 g/kg 的利胆止痛胶囊组和 0.1 g/kg 阿司匹林组。各组动物均以 1 mL/100 g 体重灌胃给药，1 次/d，连续 7 次。于末次给药 45 min 后，

表 2 利胆止痛胶囊在体外对金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、痢疾杆菌、大肠杆菌和沙门菌 MIC 的测定

Tab. 2 MIC of Lidan zhitong capsule on staphylococcus aureus, alpha hemolytic streptococcus, beta-hemolytic streptococci, shigella dysenteriae, escherichia coli and salmonella

试管号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
培养基 (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
药物 (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0
稀释度	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/2	1/2
排毒化肿胶囊 (mg/mL)	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	50	0
氨苄西林钠 (mg/mL)	0.5	0.25	0.125	0.063	0.031	0.0156	0.0078	0.0039	0.5	0
黄连素 (mg/mL)	5.0	2.5	1.25	0.625	0.313	0.156	0.078	0.039	5.0	0
菌液 (3×10^6 Cfu/mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

注: 利胆止痛胶囊: 试管 1~8 号表示浓度分别为 50、25、12.5、6.25、3.125、1.56、0.78、0.39 mg/mL; 氨苄西林钠: 试管 1~8 号表示浓度分别为 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313、0.0156、0.0078、0.0039 mg/mL; 黄连素: 试管 1~8 号表示浓度分别为 5.0、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156、0.078、0.039 mg/mL; 第 9 管为药物对照, 只加药物不加细菌, 主要观察药物有无杂菌污染; 第 10 管为细菌对照只加细菌不加药物, 主要观察细菌在同等条件下的生长情况。

大鼠一侧后肢足跖皮下注射 1% 角叉菜胶混悬液 0.1 mL。于注射角叉菜胶前及注射后 1 h、2 h、3 h 和 4 h 分别用毛细管放大法测量注射侧足跖体积。以注射后足跖体积与注射前足跖体积的差值作为足跖肿胀度 (mL)。

结果表明, 高剂量的利胆止痛胶囊, 于给药后 1 h 起效, 作用至少可持续 4 h; 中、低剂量无明显影响, 见表 4。

2.7 镇痛作用

表 3 利胆止痛胶囊对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effects of Lidan zhitong capsule on ear swelling induced by xylene in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g/kg)	肿胀度 (mg)
生理盐水	10	等体积	20.2 ± 4.6
利胆止痛胶囊	10	0.36	17.7 ± 6.0
	10	0.72	13.6 ± 4.7*
	10	1.44	10.1 ± 5.8**
阿司匹林	10	0.2	7.6 ± 3.9**

与生理盐水组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 4 利胆止痛胶囊对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Effects of Lidan Zhitong capsule on carrageenin-challenged paw edema in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g/kg)	足跖体积 (mL)				
			0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
生理盐水	10	等体积	1.15 ± 0.18	1.82 ± 0.21	2.08 ± 0.27	2.21 ± 0.27	2.31 ± 0.15
利胆止痛胶囊	10	0.18	1.19 ± 0.12	1.86 ± 0.11	2.10 ± 0.14	2.19 ± 0.19	2.34 ± 0.12
	10	0.36	1.16 ± 0.20	1.68 ± 0.13	1.95 ± 0.16	2.07 ± 0.16	2.21 ± 0.17
	10	0.72	1.21 ± 0.17	1.58 ± 0.22*	1.71 ± 0.19**	1.84 ± 0.20*	2.07 ± 0.18*
阿司匹林	10	0.20	1.13 ± 0.13	1.41 ± 0.16**	1.56 ± 0.18**	1.65 ± 0.16**	1.68 ± 0.15**

与等时间点的生理盐水组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.7.1 醋酸扭体法^[6] ICR 小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 随机分为五组, 每组 10 只, 即生理盐水组、0.36、0.72、1.44 g/kg 的利胆止痛胶囊组和 0.2 g/kg 阿司匹林组。各组动物均以 0.2 mL/10 g

体重灌胃给药, 1 次/d, 连续 7 次。于末次给药 45 min 后, 各鼠均以 0.1 mL/10 g 体重腹腔注射 0.6% 的醋酸。观察 15 min 内各动物出现扭体反应的次数。

结果表明,阿司匹林和中、高剂量的利胆止痛胶囊明显减少小鼠扭体次数(见表5)。

2.7.2 小鼠热板法^[6] 测痛装置系紫铜圆筒,置于56℃恒温水浴内,每次测试60s。以雌性ICR小鼠(体重18~22g)舔后足为痛反应指标,挑选在5~30s内出现舔足反应的敏感小鼠,并记录给药前小鼠舔后足的开始时间(s)。

上述合格小鼠,随机分为五组,每组10只,即生理盐水组、0.36、0.72、1.44g/kg的利胆止痛胶囊组和0.2g/kg阿司匹林组。各组动物均以0.2mL/10g体重灌胃给药,1次/d,连续7次。末次灌胃后60min,将动物置上述测痛装置内,分别记录给药后60、90和120min小鼠自放入紫铜圆筒到舔后足的时间(s)。

结果表明,0.72和1.44g/kg的利胆止痛胶囊

于给药后60~120min均显著延长小鼠置入圆筒至开始舔后足时间。与给药前或生理盐水组比较,差异有统计学意义(见表6)。

表5 利胆止痛胶囊对醋酸致小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s$)
Tab. 5 Effects of Lidan Zhitong capsule on acetic acid-induced writhing reaction in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量(g/kg)	扭体次数
生理盐水	10	等体积	42.80 ± 9.10
利胆止痛胶囊	10	0.36	39.60 ± 5.3
	10	0.72	31.30 ± 7.10*
	10	1.44	25.80 ± 6.70**
阿司匹林	10	0.20	19.10 ± 5.90**

与生理盐水组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表6 利胆止痛胶囊对热板法致小鼠疼痛反应时间的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 6 Effects of Lidan Zhitong capsule on hot plate-induced pain reaction in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量(g/kg)	小鼠开始舔后足时间(s)			
			给药前(min)	给药后(min)		
				60	90	120
生理盐水	10	等体积	16.70 ± 3.80	17.80 ± 3.30	17.00 ± 2.90	16.80 ± 2.60
利胆止痛胶囊	10	0.36	17.30 ± 4.00	21.80 ± 7.10	18.10 ± 3.10	17.90 ± 4.20
	10	0.72	17.10 ± 3.60	25.60 ± 6.80*	23.60 ± 7.20*	24.90 ± 8.20*
	10	1.44	16.20 ± 4.00	25.90 ± 4.40**	32.20 ± 5.30**	43.20 ± 7.40**
阿司匹林	10	0.20	16.80 ± 3.30	29.80 ± 5.10**	38.30 ± 8.20**	41.60 ± 7.20**

与给药前或生理盐水组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

3 讨论

胆汁是一种重要的消化液,机体内一些大分子及脂类物质等经肝脏代谢处理后,通过胆汁排出体外。肝脏分泌胆汁后储存于胆囊中,然后经总胆管流入十二指肠。胆道感染、胆石病是常见病多发病,包括急慢性胆囊炎、急慢性胆管炎、胆囊、胆管、肝管、肝内胆管结石、梗阻性急性化脓性胆管炎等。其发病与细菌或寄生虫等诱发胆汁代谢障碍、胆汁淤滞、胆囊收缩功能下降或胆道梗阻、神经因素等相关。本实验显示,0.72、1.44g/kg的利胆止痛胶囊明显减轻正常小鼠的胆囊重量,提示利胆止痛胶囊能加快胆汁的排出,具有明显的利胆作用。

胆囊炎属于中医的“胁痛”范畴,《景岳全

书》将胁痛病因分为外感、内伤两类,并提出以内伤为多见。患者主要临床表现:腹痛,开始时主要在上腹部,逐渐转移至右上腹,呈阵发性疼痛或持续性疼痛,阵发性加剧并向右肩、腰、背部放射。现代医学认为,本病发生与胆汁成分改变和胆道动力障碍有关,使胆囊壁增厚,肌肉纤维萎缩,故胆囊的收缩功能减退。因此,该疾病的治疗难点是胆囊壁的不良重构而引起胆囊收缩功能的丧失,单纯应用西药抗感染很难达到恢复胆囊收缩功能的目的^[7]。胆囊排空异常是胆囊炎、胆结石成因之一。胆囊收缩功能下降或胆汁浓聚,不利于胆汁的排泄,从而加剧胆囊炎的急性发作^[8]。应用具有促进胆囊收缩的药物能显著降低胆管阻力,显著改善胆囊排空,说明胆囊收缩力下降是引起胆囊排空障碍的关键动力学因素,而胆囊排空异常可导致胆汁淤滞,结石形成。利胆止