

不同矿物成因禹余粮的止泻作用

马瑜璐¹，刘圣金^{1*}，房方¹，王宇华¹，杨文国¹，林瑞超²，吴德康¹，吴超颖¹
(1. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心，中药资源产业化与方剂
创新药物国家地方联合工程研究中心，国家中医药管理局中药资源循环利用重点研究室，
江苏省中药功效物质重点实验室，南京 210023；2. 北京中医药大学，北京 100029)

[摘要] 目的:对不同矿物成因禹余粮止泻药效及对胃肠运动的影响进行研究,从止泻药效角度选择出最优的矿物成因禹余粮,为临床使用禹余粮提供理论依据。方法:选用研究样品为淋滤浸染型、沉积型 2 种不同矿物成因药用禹余粮,分别包括禹余粮原药材、水煎液及水煎后药渣。以 0.2 mL·(10 g)⁻¹蓖麻油制备引起小鼠腹泻模型,以 4 mg·kg⁻¹盐酸洛哌丁胺为阳性对照组,观察给药后小鼠抗腹泻的药效差异,并研究其对小鼠胃肠运动的影响。结果:腹泻实验,与模型组比较,淋滤浸染型禹余粮水煎液 2.5,5,10 g·kg⁻¹组及淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 2.5 g·kg⁻¹组的腹泻指数明显减小($P<0.05$),可以减缓小鼠的腹泻程度;沉积型禹余粮粉末 5,10 g·kg⁻¹组,淋滤浸染型禹余粮粉末 10 g·kg⁻¹组及水煎药渣 2.5,5,10 g·kg⁻¹组的首次排便时间均明显延长($P<0.05$);淋滤浸染型禹余粮粉末 5 g·kg⁻¹组和水煎液 2.5 g·kg⁻¹组的小鼠粪便总质量均明显降低($P<0.05$)。胃肠运动实验,沉积型禹余粮水煎液 5 g·kg⁻¹组,沉积型禹余粮水煎药渣 2.5,5,10 g·kg⁻¹,淋滤浸染型禹余粮粉末 2.5,5 g·kg⁻¹,淋滤浸染型禹余粮水煎液 2.5,5,10 g·kg⁻¹以及药渣的 10 g·kg⁻¹的小肠推进率明显小于模型组($P<0.05$);淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 10 g·kg⁻¹组小肠内容物含量明显大于模型组($P<0.05$);沉积型禹余粮水煎液 10 g·kg⁻¹组、淋滤浸染型水煎液 2.5,5 g·kg⁻¹组的炭末胃内残留率较模型组明显减小($P<0.05$);与模型组相比,沉积型禹余粮粉末 5 g·kg⁻¹组、沉积型禹余粮水煎药渣 5 g·kg⁻¹组大肠水分含量明显降低($P<0.05$)。淋滤浸染型禹余粮在 0.003 3 g·mL⁻¹增大了乙酰胆碱诱导的回肠收缩,其他各组在 0.003 3,0.006 7,0.013 3 g·mL⁻¹均能抑制乙酰胆碱诱导的家兔的回肠收缩。结论:矿物药禹余粮对由蓖麻油引起的小鼠腹泻具有一定的治疗作用,淋滤浸染型禹余粮的止泻作用最佳。

[关键词] 矿物药;禹余粮;腹泻;止泻;蓖麻油;回肠收缩
[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2019)05-0021-08
[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20190524
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181119.1156.014.html>
[网络出版时间] 2018-11-20 13:28

Antidiarrheal Effect of Limonitum with Different Mineral Genesis

MA Yu-lu¹，LIU Sheng-jin^{1*}，FANG Fang¹，WANG Yu-hua¹，YANG Wen-guo¹，
LIN Rui-chao²，WU De-kang¹，WU Chao-ying¹

(1. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory of Chinese Medicine Resource Recycling Utilization, Jiangsu Key Laboratory for Functional Substance of Chinese Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;
2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[收稿日期] 20180830(021)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573556,81673566);中医药公共卫生服务补助专项(财社[2017]66号);国家中医药管理局全国中药资源普查项目(GZY-KJS-2018-004);中医药行业专项(2015468004-2-1);江苏高校“青蓝工程”项目;江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX18-1608);江苏高校品牌专业建设工程资助项目(PPZY2015A070);江苏高校优势学科建设工程资助项目
[第一作者] 马瑜璐,在读博士,实验师,从事中药鉴定、质量标准及矿物药研究,E-mail: scutmayulu@163.com
[通信作者] *刘圣金,博士,副教授,从事中药鉴定、质量标准及矿物药研究,E-mail: 13770653305@139.com

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the antidiarrheal effect and the gastrointestinal motility of two kinds of Limonitum with different mineral genesis, so as to select the optimal mineral genesis, and provide a theoretical basis for clinical use. **Method:** The selected research samples were leaching type and sedimentary type Limonitum with different mineral genesis, including powder, water decoction and dregs. In the experiment, castor oil (0.2 mL/10 g) was used to induce diarrhea, loperamide (4 mg·kg⁻¹) was used for positive control, and then the antidiarrheal activity and the gastrointestinal motility were observed. **Result:** In the castor oil-induced diarrhea experiment, the diarrhea index of the water decoction (2.5, 5, 10 g·kg⁻¹) and the dregs (2.5 g·kg⁻¹) of leaching type Limonitum significantly reduced (*P* < 0.05), and so did the degree of diarrhea in mice; the powder of sedimentary type Limonitum, the powder (10 g·kg⁻¹) of leaching type limonitum and the dregs (2.5, 5, 10 g·kg⁻¹) of the leaching type Limonitum were significant different at the first defecation (*P* < 0.05); the powder (5 g·kg⁻¹) and the water decoction (2.5 g·kg⁻¹) of leaching type Limonitum, and the total feces weight of the mice were significantly decreased (*P* < 0.05). In the gastrointes motility experiment, the water decoction (5 g·kg⁻¹), the dregs (2.5, 5, 10 g·kg⁻¹) of the sedimentary, the powder (2.5, 5 g·kg⁻¹), the water decoction (2.5, 5, 10 g·kg⁻¹) and the dregs (10 g·kg⁻¹) of leaching type Limonitum were significantly lower than those of the model group on the intestinal motility, with charcoal as a marker (*P* < 0.05); the dregs (10 g·kg⁻¹) of leaching type Limonitum was significantly higher than that of the model group on the content of small intestine contents (*P* < 0.05); the water decoction (10 g·kg⁻¹) of sedimentary type limonitum, and the water decoction (2.5, 5 g·kg⁻¹) of leaching type Limonitum were significantly lower than those of the model group on gastric residual rate (*P* < 0.05); the powder (5 g·kg⁻¹), the dregs (5 g·kg⁻¹) of sedimentary type Limonitum were significantly reduced on the water content of large intestine compared with the model group (*P* < 0.05). The 0.003 3, 0.006 7, 0.013 3 g·mL⁻¹ of Limonitum can inhibit the contraction of isolated ileum induced by acetylcholine in rabbits except 0.003 3 g·mL⁻¹ water decoction of leaching type. **Conclusion:** Mineral medicine Limonitum has a certain therapeutic effect in castor oil-induced diarrhea. Leaching type limonitum has the best antidiarrheal effect.

[**Key words**] mineral Chinese medicine; Limonitum; diarrhea; antidiarrheal; castor oil; contraction of ileum

2017 年世界卫生组织报道,腹泻病是造成 5 岁以下儿童死亡的第 2 大原因,每年约有 52.5 万名 5 岁以下儿童死于腹泻病,全球每年约有 17 亿例儿童期腹泻病,腹泻是造成 5 岁以下儿童营养不良的主要原因。矿物药是传统中药的特色组成部分,在祖国传统中医药学中,疗效广泛,有悠久的历史^[1]。部分矿物药对腹泻有显著的治疗效果。《中药大辞典》《中华本草》《中国药典》等记载了有 20 多种矿物药有止泻作用,其中铁类、铝类矿物药最多,共 9 种。禹余粮是临床常用矿物药之一,又称禹粮石,为氢氧化物类矿物褐铁矿,主含碱式氧化铁 FeO(OH),属铁类矿物药。主要产于山东、江苏、河北、河南、山西等省。始载于《神农本草经》,性甘、涩,微寒;归胃、大肠经;具有涩肠止泻、收敛止血之功效,用于久泻久痢、大便出血、崩漏白带下,且疗效确切。《本草纲目》曰:“崔生,固大肠。”《药性论》曰:“主治崩中。”历版《中国药典》均有收载。化学成分

研究表明,禹余粮主要成分为 FeO(OH) 及黏土类物质,含有 Fe,Ca,Al,K,Na,Mg,Mn,Zn,P,Si,Cu,Mo,V,Sr,Si,Ba,Ti 等 40 多种元素。临床应用禹余粮治疗腹泻^[2-4],疗效明确。然而,禹余粮涩肠止泻的效应机制及物质基础仍不明确。课题组前期对禹余粮的质量评价及止血药效进行了较为深入研究^[5-11],本实验以禹余粮的止泻疗效及其临床应用经验为基础,首先选择蓖麻油腹泻模型作为体内研究的动物模型,从腹泻实验,胃肠运动情况对不同矿物成因禹余粮的止泻作用进行基础研究,然后从体外离体实验禹余粮对乙酰胆碱诱导的离体回肠实验,以期从体内药效角度和离体回肠实验筛选出止泻药效最佳的矿物成因禹余粮。

1 材料
1.1 动物 SPF 级 ICR 小鼠 168 只,体质量 20 ~ 22 g,雌雄各半,购于南京市江宁区青龙山动物繁殖场,合格证号 SCXK(苏)2017-0001,合格证编号

201722264,动物饲养于南京中医药大学安全性评价研究中心,许可证号 SYXK(苏)2014-0003,室内温度(23 ± 2)℃,湿度(55 ± 5)%,实验前适应性饲养 1 周。动物实验经南京中医药大学伦理委员会审核通过,批准号 ACU171004。

普通级新西兰兔 10 只,体质量 2.0~2.5 kg,雄性,购于南京市江宁区青龙山动物繁殖场,合格证号 SCXK(苏)2017-0001,动物饲养于南京中医药大学安全性评价研究中心,许可证号 SYXK(苏)2014-0003,室内温度(23 ± 2)℃,湿度(55 ± 5)%,实验前适应性饲养 1 周。动物实验经南京中医药大学伦理委员会审核通过,批准号 ACU171005。

1.2 药物与试剂 沉积型禹余粮样品采自河南南阳市栾川县伏牛山一带(批号 20160507),淋滤浸染型禹余粮样品购自河南禹州市银泉药材站(批号 20160510),产地为河南禹州,经南京中医药大学中药鉴定学教研室吴德康教授鉴定均为矿物药禹余粮 Limonitum,矿物成因由南京大学地球科学与工程学院胡文瑄教授鉴定,样品保存于南京中医药大学中药鉴定学教研室。盐酸洛哌丁胺(西安杨森制药有限公司,批号 170421880);蓖麻油(上海凌峰化学试剂有限公司,批号 20170118);炭粉购于江苏竹溪活性炭有限公司,许可证号(苏)XK13-011-00047(Ⅱ);氯化乙酰胆碱(Acetylcholine Chloride 公司,批号 20170412)。

1.3 仪器 Q-250B3 型高速多功能粉碎机(上海冰都电器有限公司);TD6002C 型百分之一电子天平(中国天津天马衡基仪器有限公司);ALC-T3 型恒温组织浴槽,ALC-M 型离体组织器官实验装置,MPA2000 型多通道生物信号分析系统(上海奥尔科特生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 实验用药的制备 将禹余粮药材磨成细粉,过 100 目筛,用 0.5% CMC-Na 溶液配成制成质量浓度为 0.5,0.25,0.125 g·mL⁻¹的禹余粮粉末混悬液。将禹余粮药材敲成约 1 cm,取 250 g 置不锈钢锅内,加相当于样品量 10 倍的水武火加热煮沸后,保持微沸 1 h,滤过,得到第 1 次的煎出液;再往药渣中加 8 倍量水武火加热煮沸后,保持微沸 1 h,滤过,得到第 2 次的煎出液,合并 2 次煎出液,加热浓缩至质量浓度为 0.5 g·mL⁻¹的禹余粮水煎液,然后将 0.5 g·mL⁻¹的禹余粮水煎液稀释成 0.25,0.125 g·mL⁻¹的禹余粮水煎液。将水煎后得到的药渣磨成细粉,过 100 目筛,用 0.5% CMC-Na 溶液配制 0.5,0.25,0.125 g·mL⁻¹的

禹余粮药渣混悬液^[11]。

2.2 体内实验分组与给药 健康 ICR 小鼠 168 只,雌雄各半,随机分为空白组和模型组。空白组不做处理,模型组每天上午 9:00 灌胃给药蓖麻油,给药剂量 0.2 mL·(10 g)⁻¹,连续给药 6 d 以后,均出现体质量减轻,大便溏泄,严重者出现脱肛,腹泻模型造模成功。造模成功后随机分为模型组、洛哌丁胺组、沉积型禹余粮粉末低、中、高剂量(2.5,5,10 g·kg⁻¹)组,沉积型禹余粮水煎液低、中、高剂量(2.5,5,10 g·kg⁻¹)组,沉积型禹余粮药渣低、中、高剂量(2.5,5,10 g·kg⁻¹)组,淋滤浸染型禹余粮粉末低、中、高剂量(2.5,5,10 g·kg⁻¹)组,淋滤浸染型禹余粮水煎液低、中、高剂量(2.5,5,10 g·kg⁻¹)组,淋滤浸染型禹余粮水煎药渣低、中、高剂量(2.5,5,10 g·kg⁻¹)组共 20 组,每组 8 只,小鼠给药剂量根据临床给药剂量,药理实验方法学及文献[12]换算。除模型组外,其他各组均每天上午 9:00 灌胃给药 0.2 mL·(10 g)⁻¹,给药 14 d。

2.3 禹余粮对由蓖麻油引起的小鼠腹泻检测 ICR 小鼠给药 2 周后,给蓖麻油,给药后实验小鼠单只烧杯关起,笼下垫双层滤纸,禁食禁水,5 h 之内一直观察,每 1 h 更换 1 次滤纸。观察每只小鼠的粪便情况,记录首次排便时间,排便次数和小鼠笼下滤纸上留下的稀便印记,测量印记的直径,算出稀便率、稀便级和腹泻指数,进行组间比较。其中,粪便次数以每粒或每堆(不能分清粒数者)为 1 次,干便与稀便的区分以滤纸上有无污迹为标准。稀便率指每只动物所排的稀便数与总便数之比。稀便级表示稀便的程度,以稀便污染滤纸形成污迹面积的大小定级。分为 4 级,标准级数(污染直径)Ⅰ(<1 cm);Ⅱ(1~1.9 cm);Ⅲ(2~3 cm);Ⅳ(>3 cm)。统计时先逐个统计每一堆稀便的级数,然后将该鼠所有稀便级数相加除以稀便次数得稀便的平均级数。腹泻指数指稀便率与稀便级的乘积^[13-22]。

2.4 禹余粮对蓖麻油致腹泻小鼠胃肠运动检测 ICR 小鼠给药 2 周后,禁食不禁水 12 h 后,给蓖麻油,灌完蓖麻油 1 h 后给予 0.5% 炭末;灌完炭末 30 min 后脱颈椎处死,解剖取小肠、胃和大肠置于洁净托盘。

2.4.1 小肠推进率^[13-25] 将小肠轻轻拉直,测量小肠全长,小肠全长为从大鼠的胃部幽口端至回盲部的距离,小肠的推进距离为从小鼠的胃部幽口端至黑色营养糊最前端的距离。小肠推进率=推进距离/小肠全长×100%。

2.4.2 小肠内容物含量^[13-17] 将取出的小肠置于天平上,称得小肠总质量,再将小肠内容物挤出后称量,得小肠净重。小肠内容物含量 = (小肠总重 - 小肠净重)/小肠总重 × 100%。

2.4.3 胃内残留量^[19,20,25] 将取出的胃,用滤纸试干后称得胃全重。沿胃大弯剪开胃体,洗去胃内容物后用滤纸试干,称胃净重,胃全重和胃净重差值为胃内残留物质量。炭末胃内残留率 = (胃全重 - 胃净重)/(炭末质量 + 蓖麻油质量) × 100%。

2.4.4 大肠水分含量 将取出的大肠置于天平上,称得各鼠的大肠湿重,然后放入干燥箱(80 ℃)烘干,至恒重。大肠内水分含量计算公式,大肠水分含量 = (大肠湿重 - 大肠干重)/大肠干重 × 100%。

2.5 禹余粮对乙酰胆碱诱导的家兔离体回肠收缩检测 家兔回肠标本的制备^[26],家兔禁食 12 h,击头处死,立即剪开腹腔取出回肠,弃去近盲肠部约 10 cm 回肠后,置于冰冷的营养液中,用营养液冲去肠腔内容物。将回肠剪成 3 ~ 4 cm 数段,然后将回肠段悬挂于恒温平滑肌槽内含 Krebs 液 30 mL 的麦氏浴管中,通入氧气(95% O₂ + 5% CO₂)。将回肠段下端固定于麦氏浴管底部钩上,上端轻轻地挂在张力换能器的金属片上,通过张力换能器与二道生理曲线记录仪连接,记录回肠段张力的变化。水浴 37.5 ℃,每 15 min 更换 1 次 Krebs 液。实验开始前,先使回肠标本在 1 g 静止张力下平衡 15 min。

乙酰胆碱诱导回肠收缩反应的影响,将离体家兔回肠加入 1% 乙酰胆碱即可引起离体家兔回肠的收缩张力明显增加,再加入不同矿物成因的禹余粮粉末,水煎液和药渣,使其终质量浓度分别为 0.003 3,0.006 7,0.013 3 g·mL⁻¹,观察离体回肠的收缩反应,记录回肠收缩曲线的张力、频率和振幅,计算给药前后的张力差、频率差、振幅差。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析处理,各组数据均进行单因素方差分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 禹余粮对蓖麻油引起的腹泻作用的影响 与模型组比较,洛哌丁胺组、沉积型禹余粮粉末 5, 10 g·kg⁻¹组,淋滤浸染型禹余粮粉末 10 g·kg⁻¹组以及淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 2.5,5,10 g·kg⁻¹组的首次排便时间均明显延长($P < 0.05$)。其中,沉积型禹余粮粉末 5,10 g·kg⁻¹组首次排便用时大于洛哌丁胺组,能明显抑制由蓖麻油引起的小鼠腹泻。见表 1。

与模型组比较,沉积型禹余粮粉末 5 g·kg⁻¹组,沉积型禹余粮水煎液中 5,10 g·kg⁻¹组,沉积型禹余粮水煎药渣 2.5,5 g·kg⁻¹组,淋滤浸染型禹余粮水煎液 2.5,5 g·kg⁻¹组和淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 10 g·kg⁻¹组的小鼠粪便总质量均明显提升($P < 0.05$),表明以上组别药可能会明显加重小鼠的腹泻情况,与禹余粮的止泻作用相反。淋滤浸染型禹余粮粉末 5 g·kg⁻¹组和水煎液 2.5 g·kg⁻¹组的小鼠粪便总质量相对于模型组明显降低($P < 0.05$),能明显抑制小鼠排便量。见表 1。

与空白组比较,模型组小鼠的稀便率、稀便级和腹泻指数均明显增大($P < 0.05$),造模效果明显;与模型组比较,沉积型禹余粮水煎药渣 5,10 g·kg⁻¹组,淋滤浸染型禹余粮 2.5 g·kg⁻¹组的腹泻指数显著增大($P < 0.05$),说明该 3 组样品可能会加重小鼠腹泻程度。淋滤浸染型禹余粮粉末 5,10 g·kg⁻¹组和水煎液 2.5,5,10 g·kg⁻¹组以及淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 2.5 g·kg⁻¹组的腹泻指数则明显减小($P < 0.05$),表明该 6 组药可能可以减缓小鼠的腹泻程度。见表 1。

3.2 禹余粮对蓖麻油致泻小鼠胃肠运动的影响

3.2.1 禹余粮对蓖麻油致腹泻小鼠的小肠推进率的影响 与空白组比较,模型组小鼠小肠推进率明显增大($P < 0.05$);与模型组比较,沉积型禹余粮水煎液的 5 g·kg⁻¹组、沉积型禹余粮的药渣 2.5,5, 10 g·kg⁻¹组、淋滤浸染型禹余粮粉末的 2.5,5 g·kg⁻¹组,淋滤浸染型禹余粮的水煎液 2.5,5,10 g·kg⁻¹组以及淋滤浸染型禹余粮水煎药渣的 10 g·kg⁻¹组小肠推进率明显降低($P < 0.05$),其他给药组与模型组相比均无显著性差异。证明两种成因的禹余粮均能降低由蓖麻油引起的腹泻小鼠的小肠推进率,与禹余粮“涩肠止泻”功能相符。见表 2。

3.2.2 禹余粮对蓖麻油致腹泻小鼠的小肠内容物含量的影响 与空白组比较,模型组小肠内容物含量明显降低($P < 0.05$),说明蓖麻油造模成功;与模型组比较,淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 10 g·kg⁻¹组明显增大($P < 0.05$),其中,空白组增幅更大,可能与造模时间较长及小鼠的自我恢复能力有关。从结果可看出淋滤浸染型禹余粮水煎药渣的 10 g·kg⁻¹能够显著减缓腹泻情况。见表 2。

3.2.3 禹余粮对蓖麻油致腹泻小鼠的胃内残留率的影响 与空白组比较,模型组炭末胃内残留率并无显著性差异;与模型组比较,沉积型禹余粮水煎液 10 g·kg⁻¹组炭末胃内残留率明显减小($P < 0.05$),

表 1 禹余粮对蓖麻油致小鼠腹泻对粪便情况的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 Effect of Limonitum on faces count in castor oil induced diarrhea in mice($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	首次排便 /min	粪便总质量 /g	稀便率	稀便级	腹泻指数
空白	—	4.60 ± 0.55	1.10 ± 0.24	0.19 ± 0.02	1.17 ± 0.23	0.21 ± 0.01
模型	—	2.50 ± 0.58	1.24 ± 0.27	0.35 ± 0.14 ¹⁾	2.19 ± 0.34 ¹⁾	0.77 ± 0.34 ¹⁾
盐酸洛哌丁胺	0.004	6.00 ± 1.15 ²⁾	1.14 ± 0.38	0.29 ± 0.13 ¹⁾	1.98 ± 0.87 ¹⁾	0.66 ± 0.50 ¹⁾
沉积型禹余粮粉末	2.5	4.17 ± 0.41	1.31 ± 0.30	0.37 ± 0.06 ¹⁾	2.16 ± 0.45 ¹⁾	0.80 ± 0.24 ¹⁾
	5	8.29 ± 1.70 ^{1,2)}	1.72 ± 0.85 ^{1,2)}	0.37 ± 0.07 ¹⁾	2.30 ± 0.45 ¹⁾	0.84 ± 0.24 ¹⁾
	10	10.86 ± 5.98 ^{1,2)}	1.30 ± 0.29	0.35 ± 0.10 ¹⁾	2.53 ± 0.44 ¹⁾	0.89 ± 0.32 ¹⁾
沉积型禹余粮水煎液	2.5	4.13 ± 2.47	1.30 ± 0.20 ¹⁾	0.37 ± 0.05 ¹⁾	2.12 ± 0.23	0.79 ± 0.15
	5	4.80 ± 0.84	1.73 ± 0.24 ^{1,2)}	0.36 ± 0.06	1.60 ± 0.44 ^{1,2)}	0.60 ± 0.25 ¹⁾
	10	4.00 ± 1.15	2.20 ± 0.58 ^{1,2)}	0.33 ± 0.06	2.15 ± 0.43 ¹⁾	0.73 ± 0.25 ¹⁾
沉积型禹余粮药渣	2.5	3.50 ± 1.00	1.83 ± 0.58 ^{1,2)}	0.32 ± 0.06	2.42 ± 0.48 ¹⁾	0.77 ± 0.20 ¹⁾
	5	3.71 ± 1.50	1.68 ± 0.47 ²⁾	0.59 ± 0.17 ^{1,2)}	2.13 ± 0.37 ¹⁾	1.27 ± 0.45 ^{1,2)}
	10	1.67 ± 0.82	1.53 ± 0.32	0.60 ± 0.14 ^{1,2)}	2.22 ± 0.30 ¹⁾	1.32 ± 0.35 ^{1,2)}
淋滤浸染型禹余粮粉末	2.5	3.83 ± 1.17	1.51 ± 0.45	0.57 ± 0.17 ^{1,2)}	2.35 ± 0.35	1.37 ± 0.57 ²⁾
	5	3.86 ± 0.38	1.14 ± 0.53 ²⁾	0.39 ± 0.11 ¹⁾	1.07 ± 0.15 ²⁾	0.41 ± 0.12 ²⁾
	10	6.29 ± 2.75 ²⁾	1.48 ± 0.31	0.41 ± 0.06 ¹⁾	1.06 ± 0.12 ²⁾	0.43 ± 0.06 ²⁾
淋滤浸染型禹余粮水煎液	2.5	5.17 ± 1.47	1.03 ± 0.26 ²⁾	0.36 ± 0.07 ¹⁾	1.15 ± 0.42 ²⁾	0.40 ± 0.08 ²⁾
	5	2.00 ± 1.31	1.76 ± 0.40 ^{1,2)}	0.36 ± 0.07 ¹⁾	1.24 ± 0.29 ²⁾	0.44 ± 0.12 ²⁾
	10	4.38 ± 3.29	1.46 ± 0.43	0.33 ± 0.08	1.21 ± 0.23 ²⁾	0.40 ± 0.15 ²⁾
淋滤浸染型禹余粮水煎药渣	2.5	6.56 ± 0.88 ²⁾	1.33 ± 0.40	0.29 ± 0.10	1.23 ± 0.37 ²⁾	0.34 ± 0.10 ²⁾
	5	5.89 ± 4.17 ²⁾	1.62 ± 0.40 ¹⁾	0.39 ± 0.06 ¹⁾	2.19 ± 0.36 ¹⁾	0.86 ± 0.19 ¹⁾
	10	6.22 ± 4.47 ²⁾	1.94 ± 0.57 ^{1,2)}	0.38 ± 0.07 ¹⁾	1.92 ± 0.36 ¹⁾	0.73 ± 0.18 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

表明沉积型禹余粮水煎液的 10 g·kg⁻¹可能会加重小鼠腹泻的程度,没有治疗作用。沉积型禹余粮水煎药渣 5,10 g·kg⁻¹组,淋滤浸染型禹余粮粉末 2.5 g·kg⁻¹组,淋滤浸染型禹余粮水煎液 5,10 g·kg⁻¹组以及淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 2.5 g·kg⁻¹组的炭末胃内残留率与模型组有一定差异,但并不显著。胃内残留量可能不是评价该腹泻模型的一个有效指标。见表 2。

3.2.4 禹余粮对蓖麻油致腹泻小鼠的大肠水分含量的影响 与空白组比较,沉积型禹余粮水煎药渣 5 g·kg⁻¹组大肠水分含量明显降低($P < 0.05$),淋滤浸染型禹余粮水煎液 5 g·kg⁻¹组,淋滤浸染型禹余粮水煎药渣的 2.5,5 g·kg⁻¹组大肠水分含量均显著升高($P < 0.05$);与模型组相比,沉积型禹余粮粉末 5 g·kg⁻¹组,沉积型禹余粮药渣 5 g·kg⁻¹组大肠水分含量明显降低($P < 0.05$),淋滤浸染型禹余粮水煎液5 g·kg⁻¹组、淋滤浸染型禹余粮水煎药渣的

2.5,5 g·kg⁻¹组使大肠水分含量明显上升($P < 0.05$),从大肠水分含量来看,沉积型禹余粮可能对蓖麻油引起的小鼠腹泻有治疗作用,而淋滤浸染型禹余粮可能会加重小鼠的腹泻。见表 2。

3.3 禹余粮对乙酰胆碱诱导的家兔回肠收缩的影响 给药前后家兔回肠张力差,除 0.003 3 g·mL⁻¹淋滤浸染型禹余粮的水煎液能增大家兔离体回肠的收缩张力外,其他 17 组均能降低回肠平滑肌张力。从给药前后振幅差来看,淋滤浸染型禹余粮水煎液 0.003 3,0.006 7 g·mL⁻¹,淋滤浸染型禹余粮粉末混悬液 0.006 7,0.013 3 g·mL⁻¹,淋滤浸染型禹余粮水煎后药渣 0.003 3,0.006 7,0.013 3 g·mL⁻¹,沉积型禹余粮水煎液 0.013 3 g·mL⁻¹沉积型禹余粮粉末混悬液 0.006 7,0.013 3 g·mL⁻¹,沉积型禹余粮药渣 0.003 3,0.013 3 g·mL⁻¹ 12 组给药前后家兔回肠收缩振幅减小,其他 6 组给药前后振幅增大。从给药前后家兔回肠收缩频率来看,淋滤浸染型禹余

表 2 禹余粮对蓖麻油腹泻小鼠小肠推进率、小肠内容物含量、炭末胃内残留、大肠水分含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of Limonitum on intestinal motility, contents of intestine, gastric residual rate, large intestine moisture content in castor oil diarrhea mice($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	小肠推进比 /%	小肠内容物 质量/g	胃内残留率 /%	大肠水分含量 /%
空白	—	53.34 ± 15.91	0.85 ± 0.25	75.30 ± 29.61	79.44 ± 5.03
模型	—	78.70 ± 15.87 ¹⁾	0.62 ± 0.08 ¹⁾	84.80 ± 25.06	80.20 ± 4.21
盐酸洛哌丁胺	0.004	74.40 ± 12.30 ¹⁾	0.69 ± 0.10 ¹⁾	82.89 ± 18.45	78.78 ± 1.64
沉积型禹余粮粉末	2.5	83.79 ± 6.09 ¹⁾	0.54 ± 0.10 ¹⁾	77.00 ± 24.35	77.00 ± 4.99
	5	75.44 ± 6.06 ¹⁾	0.55 ± 0.12 ¹⁾	69.67 ± 15.23	75.83 ± 3.06 ²⁾
	10	84.14 ± 11.67 ¹⁾	0.66 ± 0.16 ¹⁾	94.44 ± 28.87	79.33 ± 2.60
沉积型禹余粮水煎液	2.5	84.01 ± 13.24 ¹⁾	0.65 ± 0.06 ¹⁾	89.57 ± 32.11	77.29 ± 2.14
	5	62.30 ± 22.77 ²⁾	0.67 ± 0.13 ¹⁾	83.89 ± 20.36	78.00 ± 5.53
	10	83.45 ± 15.21 ¹⁾	0.62 ± 0.24 ¹⁾	60.89 ± 23.04 ²⁾	78.33 ± 4.98
沉积型禹余粮药渣	2.5	57.32 ± 18.08 ²⁾	0.73 ± 0.21	86.20 ± 18.64	79.70 ± 2.71
	5	54.49 ± 12.23 ²⁾	0.53 ± 0.07 ¹⁾	67.50 ± 16.11	75.60 ± 4.79 ^{1,2)}
	10	52.38 ± 16.43 ²⁾	0.67 ± 0.12 ¹⁾	78.11 ± 21.09	79.56 ± 3.91
淋滤浸染型禹余粮粉末	2.5	54.07 ± 17.73 ²⁾	0.55 ± 0.08 ¹⁾	78.90 ± 22.05	80.40 ± 4.03
	5	60.00 ± 19.50 ²⁾	0.65 ± 0.07 ¹⁾	82.20 ± 28.24	80.60 ± 2.84
	10	61.80 ± 7.80	0.70 ± 0.08 ¹⁾	79.89 ± 29.41	79.44 ± 2.79
淋滤浸染型禹余粮水煎液	2.5	57.97 ± 13.55 ²⁾	0.56 ± 0.05 ¹⁾	66.10 ± 24.85 ²⁾	81.20 ± 8.28
	5	54.09 ± 12.16 ²⁾	0.61 ± 0.15 ¹⁾	65.00 ± 22.17 ²⁾	84.56 ± 2.83 ^{1,2)}
	10	57.96 ± 17.37 ²⁾	0.56 ± 0.19 ¹⁾	71.10 ± 15.26	81.80 ± 3.58
淋滤浸染型禹余粮水煎药渣	2.5	61.69 ± 18.62	0.57 ± 0.08 ¹⁾	69.70 ± 26.04	86.20 ± 3.49 ^{1,2)}
	5	65.67 ± 18.98	0.60 ± 0.05 ¹⁾	82.57 ± 39.91	85.57 ± 2.30 ^{1,2)}
	10	54.39 ± 24.67 ²⁾	0.81 ± 0.12 ²⁾	91.00 ± 9.33	82.25 ± 3.96

粮水煎液 0.003 3,0.013 3 g·mL⁻¹,淋滤浸染型禹余粮粉末混悬液 0.003 3,0.006 7 g·mL⁻¹,淋滤浸染型禹余粮水煎后药渣 0.003 3,0.006 7,0.013 3 g·mL⁻¹,沉积型禹余粮水煎液 0.006 7 g·mL⁻¹,沉积型禹余粮粉末混悬液 0.003 3 g·mL⁻¹,沉积型禹余粮药渣 0.003 3,0.013 3 g·mL⁻¹11 组给药前后的收缩频率减小,其他 7 组的收缩频率增大。

4 讨论

禹余粮涩肠止泻,近年来临床应用多用于久泻久痢^[2-4],但其药理作用研究很少。本文从药理角度出发,针对市场上常见的 2 种不同成因的矿物药,从体内和体外两部分实验研究其止泻作用机制,体内实验选择蓖麻油腹泻模型研究其抗腹泻作用,体外实验研究其对乙酰胆碱诱导的家兔离体回肠的收缩情况的影响。

体内实验各组实验小鼠的小肠推进率、小肠内

容物含量、炭末胃内残留率、大肠水分含量和腹泻指数作为禹余粮“涩肠止泻”的药效学评价指标,比较了不同矿物成因禹余粮粉末、禹余粮水煎液和禹余粮水煎后药渣的止泻作用强弱。体内实验结果可以看出,首次排便时间和炭末小肠推进率是评价止泻效果最为理想的指标,胃内残留量、大肠水分含量、小肠内容物质量可作为参考指标。有效指标数分别为小肠碳末推进率 > 首次排便时间 > 腹泻指数 > 胃内残留率 > 粪便总质量 > 大肠水分含量 > 小肠内容物质量。从实验结果可知小肠碳末推进率、首次排便时间和腹泻指数是评价止泻效果最为理想的指标,建议对禹余粮不同样品的止泻研究可以选择该 3 个主要指标。不同给药组的有意义的指标数分别为淋滤浸染型禹余粮水煎液 2.5 g·kg⁻¹ > 淋滤浸染型禹余粮 5 g·kg⁻¹ = 淋滤浸染型禹余粮水煎液 5 g·kg⁻¹ = 淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 10 g·kg⁻¹ >

表 3 禹余粮对乙酰胆碱诱导的家兔离体回肠收缩的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of Limonitum on contraction of isolated ileum of rabbits induced by acetylcholine($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度/g·mL ⁻¹	给药前后的张力差/g	给药前后的振幅差/g	给药前后的频率差/次/min
淋滤浸染型禹余粮水煎液	0.003 3	-0.050 5 ± 0.150 6	0.052 9 ± 0.193 0	2.145 9 ± 4.018 6
	0.006 7	0.125 3 ± 0.577 0	0.779 7 ± 2.059 4	-0.520 7 ± 1.325 0
	0.013 3	0.697 1 ± 0.994 8	-0.040 5 ± 0.921 0	0.748 4 ± 0.760 2
淋滤浸染型禹余粮粉末混悬液	0.003 3	0.089 6 ± 0.286 9	-0.031 6 ± 1.503 7	0.492 6 ± 2.687 5
	0.006 7	0.244 3 ± 0.319 2	0.487 8 ± 1.229 6	2.876 0 ± 2.803 4
	0.013 3	0.118 0 ± 0.256 6	0.354 6 ± 0.702 9	-1.372 7 ± 3.859 8
淋滤浸染型禹余粮水煎药渣	0.003 3	0.112 2 ± 0.086 9	0.121 4 ± 0.294 3	1.985 5 ± 5.007 0
	0.006 7	0.095 0 ± 0.197 8	0.191 7 ± 0.496 6	1.224 9 ± 0.447 7
	0.013 3	0.056 2 ± 0.103 4	0.185 5 ± 0.375 5	0.511 0 ± 0.758 0
沉积型禹余粮水煎液	0.003 3	0.095 8 ± 0.136 4	-0.075 1 ± 0.607 2	-0.113 2 ± 2.968 4
	0.006 7	0.207 9 ± 0.432 9	-0.038 0 ± 0.323 3	2.722 0 ± 5.311 6
	0.013 3	0.533 6 ± 0.783 7	0.385 0 ± 0.634 9	-0.329 4 ± 2.802 6
沉积型禹余粮粉末混悬液	0.003 3	0.127 0 ± 0.141 6	-0.198 5 ± 0.558 0	2.013 4 ± 2.637 4
	0.006 7	0.017 9 ± 0.197 3	0.218 7 ± 0.473 0	-0.516 9 ± 2.245 6
	0.013 3	0.304 9 ± 0.229 3	0.476 9 ± 0.553 5	-42.443 3 ± 106.573 4
沉积型禹余粮药渣混悬液	0.003 3	0.116 1 ± 0.190 5	0.143 2 ± 0.694 7	0.774 1 ± 1.455 8
	0.006 7	0.033 9 ± 0.113 9	-0.019 1 ± 0.337 5	-0.163 3 ± 0.827 1
	0.013 3	0.177 8 ± 0.164 4	0.143 5 ± 0.421 2	1.834 5 ± 1.736 4

淋滤浸染型禹余粮 10 g·kg⁻¹ = 淋滤浸染型禹余粮水煎液 10 g·kg⁻¹ = 淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 2.5 g·kg⁻¹ = 沉积型禹余粮粉末 5 g·kg⁻¹ = 沉积型禹余粮水煎 10 g·kg⁻¹ = 沉积型禹余粮药渣 10 g·kg⁻¹ > 淋滤浸染型禹余粮粉末 2.5 g·kg⁻¹ = 淋滤浸染型禹余粮水煎药渣 5 g·kg⁻¹ = 沉积型禹余粮粉末 10 g·kg⁻¹ = 沉积型禹余粮水煎液 5 g·kg⁻¹ = 沉积型禹余粮药渣 2.5 g·kg⁻¹ = 沉积型禹余粮药渣 10 g·kg⁻¹ > 沉积型禹余粮 2.5 g·kg⁻¹ = 沉积型禹余粮水煎液 2.5 g·kg⁻¹。禹余粮对由蓖麻油引起的小鼠腹泻有治疗作用,淋滤浸染型禹余粮的止泻效果比沉积型禹余粮的止泻效果更好。禹余粮性涩,止泻作用可能是通过抑制小肠推进,延长首次排便时间,达到止泻效果。

不同矿物成因的禹余粮对乙酰胆碱诱导的家兔离体回肠的收缩的影响可以看出,2 种矿物成因的禹余粮均能抑制乙酰胆碱诱导的回肠的收缩,从给药前后的张力差可以看出,除了淋滤浸染型禹余粮的水煎液 0.003 3 g·mL⁻¹能增大家兔离体回肠的收缩张力外,其他各组在 0.003 3 ~ 0.013 3 g·mL⁻¹组均能降低回肠平滑肌张力。可见 2 种不同矿物成因的禹余粮的可以抑制乙酰胆碱诱导的肠管收缩,以

此减少排便。

禹余粮性涩,具止血、止泻之功效。淋滤浸染型禹余粮的止泻效果好,主要是通过抑制小肠推进和回肠收缩起到止泻作用,粉末、水煎液、药渣均有一定的止泻作用,而沉积型禹余粮效果较弱。值得注意的是,课题组通过前期研究发现,沉积型禹余粮的止血作用好,而淋滤浸染型禹余粮止血作用弱^[11]。从研究可以看出,不同矿物成因的禹余粮功效的侧重点不同,可能与不同矿物成因禹余粮所含的矿物组成、金属离子的种类、含量、化学形态有一定关系。尚需进一步将不同矿物成因禹余粮的侧重功效指标与其所含矿物成分、无机元素、金属离子等进行关联分析,对不同矿物成因禹余粮对肠道菌群的影响等多方面进行研究,探讨其不同功效的物质基础和效应机制。该研究同时为临床用于止泻功效的禹余粮矿物成因类型的选择提供了依据和参考。

[参考文献]

[1] 王德昌. 近年矿物药研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(6):63-64.
[2] 杨晓庆. 加味赤石脂禹余粮汤联合热敏灸治疗肝硬化腹水合并顽固性腹泻临床研究[J]. 亚太传统医

药,2017,13(6):152-153.

[3] 甘霞,赵新芳,林红,等. 加味赤石脂禹余粮汤对脾肾阳虚证肝硬化腹水患者的影响及疗效分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(6):172-176.

[4] 王红霞,党志博,党中勤,等. 加味赤石脂禹余粮汤联合热敏灸治疗肝硬化腹水并顽固性腹泻疗效观察[J]. 广州中医药大学学报,2015,32(2):255-258.

[5] 刘圣金,杨欢,吴德康,等. 矿物药禹余粮的本草考证与研究进展[J]. 中国现代中药,2014,16(10):788-792.

[6] 刘圣金,杨欢,吴德康,等. 矿物药禹余粮中铁元素价态及含量分析[J]. 时珍国医国药,2015,26(5):1088-1090.

[7] 刘圣金,杨欢,吴德康,等. FTIR 指纹图谱技术在禹余粮质量控制中的应用(英文)[J]. 光谱学与光谱分析,2015,35(4):909-913.

[8] 刘圣金,杨欢,林端超,等. 矿物药禹余粮微波消解/ICP-AES 无机元素分析及综合评价[J]. 中国现代中药,2015,17(9):899-904.

[9] 刘圣金,杨欢,徐春祥,等. 矿物药禹余粮重金属及有害元素含量的矿产资源产地评价研究[J]. 时珍国医国药,2016,27(4):948-950.

[10] 刘圣金,杨欢,徐春祥,等. TG-DSC 分析法在矿物药禹余粮质量控制中的应用[J]. 中药材,2016,39(1):121-123.

[11] 吴超颖,刘圣金,房方,等. 不同矿物成因禹余粮矿物成分分析及止血作用研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(15):2989-2994.

[12] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9(9):1069-1072.

[13] Yacob T, Shibeshi W, Nedi T. Antidiarrheal activity of 80% methanol extract of the aerial part of *Ajuga remota* Benth (Lamiaceae) in mice [J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16(303): 1-8.

[14] Birru E M, Asrie A B, Adinew G M, et al. Antidiarrheal activity of crude methanolic root extract of *Idigofera spicata* Forssk. (Fabaceae) [J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16(1): 1-7.

[15] Jalilzadeh-Amin G, Maham M. Antidiarrheal activity and acute oral toxicity of *Mentha longifolia* L. essential oil[J]. Avicenna J Phytomed, 2015, 5(2): 128-137.

[16] Kabir M S, Hossain M M, Kabir M I, et al. Antioxidant, antidiarrheal, hypoglycemic and thrombolytic activities of organic and aqueous extracts of *Hopea odorata* leaves and in silico PASS prediction of its isolated compounds[J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16(1): 1-13.

[17] Kinuthia D G, Muriithi A W, Mwangi P W. Freeze dried extracts of *Bidens biternata* (Lour.) Merr. and Sheriff. show significant antidiarrheal activity in in-vivo models of diarrhea[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 193: 416-422.

[18] 董智宇. 抚中止泻散治疗腹泻型肠易激综合征的实验研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2012.

[19] 陈鸿平. 土炒白术健脾止泻作用增强的机理研究[D]. 成都:成都中医药大学,2011.

[20] 李兴华. 益智仁温脾止泻作用及盐炙对其影响的研究[D]. 成都:成都中医药大学,2009.

[21] 高长玉. 四神丸方源考析及止泻作用的药效与机理研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2005.

[22] 凌霄,项煜强,陈飞龙,等. 西藏小型猪大肠埃希菌感染性腹泻模型的建立及葛根芩连汤对其作用分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(3):125-131.

[23] Mishra A, Seth A, Maurya S K. Therapeutic significance and pharmacological activities of antidiarrheal medicinal plants mention in Ayurveda: a review[J]. J Intercult Ethnopharmacol, 2016, 5 (3): 290-307.

[24] 潘新. 二神丸中药物炮制后增强“温肾暖脾·涩肠止泻”作用机理研究[D]. 成都:成都中医药大学,2015.

[25] 张旭. 木香生用理气煨熟止泻原理研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2011.

[26] 丁爱华,华永庆,洪敏,等. 海藻与甘草反药组合对大鼠离体回肠收缩及小鼠小肠推进功能的影响[J]. 中华中医药杂志,2014,29(1):87-90.

[责任编辑 张丰丰]