

醋灸法对商陆毒性和药效影响的实验研究

钦建伟 陈琳

(苏州大学附属第一医院,江苏苏州 215006)

摘要 目的:研究商陆醋灸前后毒性和药效的变化情况。方法:按照2010版《中国药典》商陆项下炮制方法——醋灸法对商陆进行炮制,得炮制品醋商陆。给予小鼠单次不同剂量生、醋商陆煎液灌胃,3h后检测小鼠消化系统脏器变化情况。给予家兔不同浓度生商陆混悬液和15.0%醋商陆混悬液滴眼,检测药物对家兔眼结膜的刺激性强度。大鼠制作盐水负荷模型,分别给予同体积生理盐水、氢氯噻嗪和生商陆、醋商陆煎液灌胃后,比较各组5h总尿量。小鼠随机分组后分别灌胃同体积加入墨汁的生理盐水、10%芒硝溶液和生商陆、醋商陆煎液,15min后检测墨汁推进率。结果:单次30倍日用量(35.1g/kg)灌胃生商陆后,小鼠消化系统脏器病变率为66.7%,而醋商陆各剂量组未见明显病变。各剂量生商陆混悬液滴眼后,家兔均表现出充血、水肿、分泌物等眼结膜刺激性,有确切量效关系;等剂量生、醋商陆混悬液滴眼后,生商陆组眼结膜刺激性强于醋商陆组。大鼠灌胃生、醋商陆后,尿量均增加,高剂量醋商陆组尿量显著高于高剂量生商陆组。小鼠灌胃生、醋商陆后小肠墨汁推进率均明显高于生理盐水组,生商陆组明显高于醋商陆组。结论:醋灸法能够降低商陆对黏膜的刺激性,增强利尿功效,缓和泻下作用。

关键词 商陆 醋灸 药理学 毒性

中图分类号 R282.71

文献标识码 A

文章编号 1672-397X(2015)01-0077-03

商陆系商陆科植物商陆 *Phytolacca acinosa* Roxb. 或垂序商陆 *Phytolacca americana* L. 的干燥根,为历版《中国药典》收载品种,具有逐水消肿、通利二便的功效。但由于其药性峻猛、毒副作用较大,故须经严格炮制后方可入药。商陆的炮制工艺以醋灸为主^[1],本研究对商陆醋灸前后的黏膜刺激性以及利尿、泻下作用的变化情况进行了对比研究,以期验证该炮制方法的科学性。

1 实验材料

1.1 药材 生商陆购自安徽省亳州市永刚饮片有限公司(山西产,批号20100122),经南京中医药大学王春根教授鉴定为商陆科植物商陆 *Phytolacca acinosa* Roxb. 的干燥块根。取生商陆饮片适量,按2010年版《中国药典》“醋灸法”项下炮制:加入30%醋拌匀,闷润至醋被吸尽,置炒制容器内,120℃炒制30min,取出放凉,得醋商陆^[2]。

参考文献

- [1] 张文鸿,王晓梅,黄朝荣.56例胆结石行胆囊切除术患者胆汁反流指数(BRI)分析.中国实用医药,2014,9(7):14
- [2] 沙鑫.胆囊切除术后综合征的病因分析及对策.中外医学研究,2013,11(9):103
- [3] Chen H, Li X, Ge Z, et al. Rabepazole combined with hydrotalcite is effective for patients with bile reflux? gastritis after cholecystectomy. Can J Gastroenterol, 2010, 24(3):197
- [4] 颜延凤,陈昱倩,刘万里.中西医结合治疗胆囊切除术后胆汁反流性胃炎42例临床观察.吉林中医药,2012,32(1):53
- [5] Baillie J. Sphincter of Oddi dysfunction. Curr Gastroenterol Rep, 2010, 12(2):130
- [6] Fan MM, Li F, Zhang XW. Changes of the sphincter of Oddi motility in dog after cholecystectomy. J Dig Dis, 2012, 13(1):40

- [7] 毕冬松,高海东,宋科英,等.胆囊切除对大白兔奥狄氏括约肌运动影响的实验研究.中国普外基础与临床杂志,2001(4):封二
- [8] 禹建峰,李智华,李晓武,等.犬双侧迷走神经干切断术对Oddi括约肌肌电的影响.消化外科,2006,5(3):211
- [9] 何谦,李智华,王铁虎,等.兔胆囊切除术后Oddi括约肌离体收缩及肌球蛋白重链表达变化.第四军医大学学报,2009,30(9):778
- [10] 王铁虎,李智华,何谦,等.钙调神经磷酸酶在兔胆囊切除术后早期Oddi括约肌改变中的作用.华南国防医学杂志,2008,22(5):17

第一作者:刘万里(1972-),男,医学博士,主任中医师,研究方向:中医脾胃病。

通讯作者:许立, njxyjhy@126.com

收稿日期:2014-07-23

编辑:吴宁

分别取生商陆、醋商陆饮片 100g,加水 800mL 煎煮 30min,过滤。滤渣再加水 600mL 煎煮 30min,过滤。合并滤液,浓缩至 100mL,得 1g/mL 水煎液,作为原液。家兔眼刺激性试验中将生商陆、醋商陆饮片真空干燥并粉碎过 200 目筛,备用。

1.2 动物 ICR 雄性小鼠,体重(20±2)g,SPF 级;SD 雄性大鼠,体重(200±20)g,SPF 级。大鼠小鼠均由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,许可证号 SCXK(沪)2007-0005。大耳白种家兔,雌雄不限,体重(1.5±0.2)kg,健康,双眼清亮无红肿,由南京市青龙山动物繁殖场提供,许可证号 SCXK(苏)2007-0008。

1.3 试剂 生理盐水(南京小营药业集团有限公司,批号 2010031702);甲醛(分析纯,上海久亿化学试剂有限公司,批号 20100301)。

1.4 仪器 BP211D 电子天平(德国 Sartorius 公司),注射器,兔笼,大鼠代谢笼。

2 实验方法

2.1 生商陆和醋商陆单次不同剂量给药后对小鼠消化道黏膜的刺激作用 ICR 小鼠实验前禁食(不禁水)12h,按体重随机分为 9 组,每组 6 只,分别为生理盐水组、生商陆水煎液(1.17、11.7、23.4、35.1g/kg,分别相当于临床日用剂量的 1、10、20、30 倍)组和醋商陆水煎液(1.17、11.7、23.4、35.1g/kg,分别相当于临床日用剂量的 1、10、20、30 倍)组。各组小鼠灌胃给药 1 次,生理盐水组灌胃等容量生理盐水,3h 后采集各组小鼠食管、胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠等消化系统脏器,生理盐水冲洗,并立即浸泡在 4%甲醛溶液中,固定 3d。常规取材,脱水,石蜡包埋,制片,HE 染色,光学显微镜下阅片,检查有无毒性作用引起上述脏器病变。

2.2 生商陆和醋商陆对家兔眼结膜刺激作用 取生商陆饮片适量,粉碎后过 200 目筛,用生理盐水分别配成 7.5%、10%、12.5%和 15%浓度的混悬液,调节 pH 值至中性,备用。取醋商陆饮片适量,粉碎后过 200 目筛,用生理盐水配成 15%浓度的混悬液,调节 pH 值至中性,备用。

家兔随机分为生理盐水组、各浓度生品组、15%醋商陆组,每组 6 只。将兔固定于兔笼内,试验时撩起上下眼睑,使成杯状,将药液分别滴加到兔眼中,每只眼给药 50μL,生理盐水组予生理盐水滴眼。给药后,轻轻使上下眼睑被动闭合 10s,使药液和眼充分接触,10min 后用 20mL 左右生理盐水冲洗眼睛至眼中无任何异物,随后观察 3h 内兔眼情况,拍照记录家兔眼的刺激反应情况并打分评定眼刺激性强度,家兔眼结膜刺激性试验评分标准见表 1。

2.3 生商陆和醋商陆的利尿作用 将雄性 SD 大鼠称重后,随即放入已标号的代谢笼中(1 只/笼),喂养

1~2d,自由饮水,观察大鼠尿量是否稳定。实验前 18h 禁食,自由饮水。用药前以 2.5mL/100g 蒸馏水灌胃,收集 2h 尿量,尿量超过蒸馏水灌胃量 40%者为合格动物。

表1 家兔眼结膜刺激试验评分标准

得分	充血	水肿	分泌物
0	血管水肿	无水肿	无分泌物
1	血管充血呈鲜红色	轻微水肿	少量分泌物
2	血管充血呈鲜红色,血管不易分辨	明显水肿,伴部分眼睑外翻	分泌物使眼睑和睫毛潮湿或粘着
3	弥漫性充血呈紫红色	水肿至眼睑近半闭合	分泌物使整个眼区潮湿或粘着
4	-	水肿至眼睑超过半闭合	-

合格的 SD 大鼠按体重随机分为 6 组,每组 8 只,分别为生理盐水组、阳性药组(0.009g/kg 氢氯噻嗪)、生商陆和醋商陆低剂量组(相当于临床日用剂量,即 0.8g/kg)、生商陆和醋商陆高剂量组(相当于临床日用剂量的 2 倍,即 1.6g/kg)。实验前将各组动物禁食不禁水 24h,每组按 2.5mL/100g 生理盐水灌胃,形成盐水负荷模型。30min 后,各给药组均按 1mL/100g 体重给药,生理盐水组给予同等体积的生理盐水。给药后,立即将大鼠放入代谢笼中,每隔 1h 计 1 次尿量,共计 5h,收集 5h 总尿量。^{[3]335}

2.4 生商陆和醋商陆的泻下作用 ICR 小鼠按体重随机分为 4 组,每组 10 只,分别为生理盐水组、阳性药组(10%芒硝)、生商陆和醋商陆组(相当于临床日用剂量,即 0.8g/kg)。实验前将各组药液中均滴入数滴墨汁起指示作用,实验小鼠禁食不禁水 24h,每组按 0.2mL/10g 体重灌胃给药,生理盐水组给予同等体积的生理盐水。15min 后脱颈处死,打开腹腔分离肠系膜,剪取上端至幽门、下端至回盲部的肠管,置于托盘上轻轻摆成直线,测量所取肠管首尾长度为“小肠总长度”,从幽门至墨汁前沿的距离作为“墨汁在肠内推进距离”。用公式计算墨汁推进百分率,并注意观察各组小鼠小肠容积膨胀程度差异。^{[3]326}

墨汁推进率(%)=墨汁在肠内推进距离/小肠全长×100%

3 实验结果

3.1 生商陆和醋商陆单次不同剂量给药后对小鼠消化道黏膜的刺激比较 病理切片结果显示,单次大剂量给药后商陆会造成的病变主要位于胃。生商陆 35.1g/kg 组(相当于临床日用剂量的 30 倍)有 4 只小鼠出现局部胃黏膜上皮细胞坏死、脱落,可见小灶状出血,病变率为 66.7%;生商陆 23.4g/kg 组(相当于临床日用剂量的 20 倍)有 2 只小鼠出现局部胃黏膜上皮细胞坏死、脱落,病变率为 33.3%;生商陆 11.7、1.17g/kg 组(分别相当于临床日用剂量的 10 倍、1 倍)未见明显病变。

而醋商陆各剂量组均未见明显病变,表明商陆经醋炙后对小鼠胃黏膜的刺激性显著减弱。见图1。

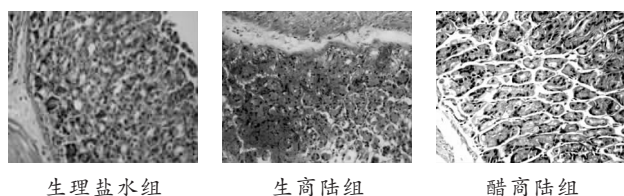


图1 各组大鼠胃组织改变情况(HE染色,×200倍)

3.2 生商陆和醋商陆对家兔眼结膜的刺激性比较 见表2。结果显示,在一定浓度范围内,生商陆混悬液的浓度和对家兔的眼刺激性强度呈现确切的量-效关系,即浓度越高,对兔眼的刺激性越强。浓度达到15%时,对兔眼结膜具有重度刺激性;与15%浓度生商陆混悬液比较,15%浓度醋商陆混悬液对兔眼的刺激性强度显著减弱($P<0.01$)。

3.3 生商陆和醋商陆的利尿作用比较 见表3。结果显示,生商陆和醋商陆低剂量组排尿量未见显著差异,生商陆和醋商陆高剂量组在给药3h后排尿量差异显著($P<0.05$),醋商陆组排尿量显著高于生商陆组,表明商陆经醋炙后其利尿功效增强。

3.4 生商陆和醋商陆泻下作用

比较 见表4。结果显示,与生商陆比较,醋商陆对小鼠小肠的推动作用减弱($P<0.01$),即商陆经醋炙后泻下作用缓和。

4 讨论

商陆临床中毒症状主要表现为胃肠道反应,如恶心呕吐、腹痛腹泻,严重者可出现胃肠道糜烂、溃疡及出血等^[4]。本研究通过小鼠单次大剂量给药后消化系统脏器病理切片检查可知,这种急性刺激性作用主要作用于胃。本研究结果亦表明,商陆经醋炙后,对动物胃黏膜的刺激性显著减弱。

除了传统的口服中毒外,商陆粉末与眼、鼻和口腔黏膜接触会出现红肿疼痛等局部刺激性反应。本研究亦通过家兔眼结膜刺激性试验考察了商陆醋炙前后的刺激性作用变化,结果表明,商陆经醋炙后,对家兔眼结膜的刺激性显著减弱。

商陆为一味峻下逐水药,功能逐水消肿、通利二便。本研究用大鼠代谢笼试验对同一品种商陆高低剂量组、同一剂量生品商陆和醋炙商陆的利尿作用进行了对比研究,采用小鼠小肠墨汁推进试验对

表2 各组家兔眼结膜刺激性评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	得分			平均得分($\bar{x}\pm s$)
		充血	水肿	分泌物	
生理盐水组	6	0	0	0	0.00±0.00
7.5%生商陆组	6	3	3	4	1.67±0.49**
10.0%生商陆组	6	8	10	6	4.00±0.16**▲▲
12.5%生商陆组	6	10	20	12	7.00±0.09**▲▲
15.0%生商陆组	6	13	30	12	9.17±0.08**▲▲
15.0%醋商陆组	6	10	15	7	5.33±0.10***

注:与生理盐水组比较,** $P<0.01$;与7.5%生商陆组比较,▲▲ $P<0.01$;与15.0%生商陆组比较,### $P<0.01$ 。

表3 各组大鼠给药后不同时段尿量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	给药后尿量(mL)				
			0~1h	0~2h	0~3h	0~4h	0~5h
生理盐水组	8	-	1.78±0.37	2.83±0.50	3.10±0.34	3.20±0.40	3.23±0.39
氢氯噻嗪组	8	0.009	3.85±0.97**	5.08±0.86**	6.03±0.78**	6.90±1.34**	7.05±1.34**
生商陆低剂量组	8	0.8	2.32±0.43*	3.48±0.41*	4.08±0.34**	4.27±0.30**	4.27±0.30**
生商陆高剂量组	8	1.6	2.75±0.48**	4.22±0.44**●	4.70±0.28**●	4.95±0.30**●	5.03±0.24**●
醋商陆低剂量组	8	0.8	2.23±0.40	3.52±0.40*	4.07±0.32**	4.15±0.27**	4.18±0.28**
醋商陆高剂量组	8	1.6	2.97±0.37**●	4.38±0.37**●	5.03±0.19**▲●	5.33±0.24**▲●	5.35±0.22**▲●

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与等剂量生商陆组比较,▲ $P<0.05$;与同一品种低剂量组比较,● $P<0.05$,●● $P<0.01$ 。

表4 各组小鼠小肠墨汁推进运动情况与肠容积变化情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	小肠总长度(cm)	墨汁推进距离(cm)	墨汁推进率(%)	肠容积变化
生理盐水组	10	44.08±1.98	25.79±1.11	58.62±3.66	无变化
10%芒硝组	10	43.86±2.47	31.89±2.17	72.72±3.08**	膨胀
生商陆组	10	44.70±2.30	32.46±2.03	72.61±2.69**	稍膨胀
醋商陆组	10	43.69±2.88	27.70±2.71	63.36±3.95**▲▲	稍膨胀

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与生商陆组比较,▲▲ $P<0.01$ 。

商陆醋炙前后的泻下作用进行了对比研究。结果显示,商陆在一定范围内剂量越高,利尿作用越强,表明商陆的功效之一是利尿。商陆经醋炙后泻下作用有所缓和,利尿作用有所增强。

综上,醋炙法是商陆的传统炮制方法,本研究结果表明,商陆经醋炙后刺激性降低,泻下作用缓和,逐水作用增强,即达到了减毒增效的目的,此结论验证了商陆传统炮制法的科学性。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中国药典(一部).北京:中国医药科技出版社,2010:304
- [2] 陈琳,吴皓,王媚,等.醋商陆饮片的炮制工艺研究.中草药,2011,42(6):1101
- [3] 陈奇.中药药理研究方法论.2版.北京:人民卫生出版社,2006
- [4] 李一飞,姚广涛.商陆药理作用及毒性研究进展.中国实验方剂学杂志,2011,17(13):248

第一作者:钦建伟(1975-),男,本科学历,主管中药师,主要从事中药药理研究。qinjianwei8@126.com

收稿日期:2014-09-15

编辑:吴宁