

舒胆通颗粒对实验动物胆汁分泌及胆囊平滑肌的影响

陆红¹, 张信岳², 刘芳芳¹, 金少圣¹(¹浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; ²浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013)

摘要: 目的 观察舒胆通(SDT)颗粒对大鼠胆汁分泌及胆囊平滑肌的影响。方法 采用在体胆汁引流法, 观察单次给予SDT对大鼠胆汁分泌以及总胆红素(TB)的影响;采用离体试验法观察SDT对豚鼠胆囊平滑肌条的直接作用及其对阿托品、酚妥拉明、苯海拉明、雷尼替丁的拮抗作用。结果 SDT 5, 10, 20 g·kg⁻¹剂量能使大鼠给药后30~90 min时段胆汁分泌增加, 但胆汁中TB水平无明显改变;终浓度为 2.5×10^{-4} , 5×10^{-4} , 1×10^{-3} mg·mL⁻¹的SDT能使离体豚鼠胆囊肌条张力增高、收缩频率加快、收缩幅度增加, 并呈现明显的量效关系, 其兴奋作用可被阿托品完全阻断, 也可被酚妥拉明部分阻断, 但不能被苯海拉明、雷尼替丁所阻断。结论 SDT能增强胆囊平滑肌的兴奋性, 促进胆汁分泌;其利胆作用可能主要经由胆碱能M受体介导, 部分经由肾上腺素能α受体介导、而与组胺H₁受体、前列腺素受体等途径无关。

关键词: 舒胆通颗粒; 胆汁分泌量; 胆囊平滑肌

中图分类号: R965; R975.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)05-0380-05

The Effect of Shudantong Granules on Animals' Bile Secretion and Gallbladder Smooth Muscle

LU Hong¹, ZHANG Xinyue², LIU Fangfang¹, JIN Shaosheng¹(¹College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; ²Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effect of Shudantong granules(SDT) on animals' bile secretion and gallbladder smooth muscle. **METHODS** Biliary drainage method *in vivo* was applied to detect the bile secretion and total bilirubin (TB) level of rats before and after single administration of SDT; and the direct effect of SDT on gallbladder smooth muscle of guinea pig and its antagonistic effect on atropine, phentolamine, diphenhydramine and ranitidine were observed *in vitro*. **RESULTS** SDT can increase bile secretion of rats at the dosage of 5, 10, 20 g·kg⁻¹ within 30~90 min after administration, but the level of TB in bile had no significant change; SDT can also enhance the strain, contraction range and contraction frequency of gallbladder smooth muscle of guinea pig at the final concentration of 2.5×10^{-4} , 5×10^{-4} , 1×10^{-3} mg·mL⁻¹, and these effects could be completely blocked by atropine, partially blocked by phentolamine, but not blocked by diphenhydramine and ranitidine. **CONCLUSION** SDT can enhance the excitability of gallbladder smooth muscle, promoting bile secretion; its choleric effect might be mediated mainly by cholinergic M receptor, partly by epinephrine a receptor, but unrelated with histamine H₁ or prostaglandin receptor.

KEY WORDS: Shudantong granules; bile secretion; gallbladder smooth muscle

随着饮食习惯的改变和人口老龄化程度的增加, 胆石症(gallstones)的发病率呈明显上升趋势。目前西医常用消炎、止痛及手术疗法等, 但无法起到根治的效果, 术后极容易复发再生结石^[1]。因此, 传统中医药在治疗胆石症方面的一些独特优势逐渐受到人们关注^[2]。舒胆通颗粒(Shudantong granules, SDT)是根据著名的肝胆病专家、国家级名老中医陆芷青教授的经验方研制而成的现代中药, 临床应用该方治疗胆石症四十余年, 证实确有良好的镇痛消炎、利胆排石功效。本试验研究SDT颗粒利胆作用及其机制, 为临床推广应用以及新药开发提供实验依据。

基金项目: 浙江省中医药管理局资助项目(2006C021)

作者简介: 陆红, 女, 硕士, 副教授 Tel: (0571)86613603

1 材料

1.1 动物及饲养

SD 大鼠, ♂, 体重 200~250 g, 购自浙江省实验动物中心, 动物许可证号: SCXK(浙)2008-0033; 动物饲养条件: 温度 18~28 °C, 湿度 60%~80%, 12 h 明暗交替, 自来水置于饮水瓶中自由饮用, 灭菌大鼠全价营养颗粒饲料自由采食, 饲料来源于浙江省实验动物中心。

DHA 豚鼠, 体重 300 g 左右, 购自无锡市惠山江南实验动物场, 动物许可证号: SCXK(苏)2004-0003; 动物饲养条件: 温度 18~28 °C, 湿度 60%~80%, 12 h 明暗交替, 自来水置于水瓶中

自由饮用，饲料来源于浙江省实验动物中心。

1.2 药品与试剂

SDT(浸膏粉)，黄褐色粉末，每克相当于生药3.5 g，由浙江省医学科学院药物研究所中试车间生产，批号：20080918，临用前以蒸馏水配制成相应浓度的混悬液供试验用；消炎利胆片(吉林敖东延边药业股份有限公司，规格：0.25 g·片⁻¹，批号：070803)；氯化乙酰胆碱(美国Sigma公司，批号：123K2625)；硫酸阿托品注射液(江苏盐城制药有限公司，批号：20060901)；盐酸苯海拉明注射液(上海福达制药有限公司，批号：070503)；注射用甲磺酸酚妥拉明(上海复旦复华药业公司，批号：070612)；盐酸雷尼替丁注射液(华北制药集团制剂有限公司，批号：051117)；乌拉坦(上海化学试剂厂，批号：030412)；总胆红素(TB)试剂盒(宁波赛克生物技术有限公司)。

1.3 主要仪器

AT-738PLUS 半自动生化仪(上海安泰分析仪器有限公司)；MEDLAB 生物信号采集分析系统(南京美易科技公司)；SC-15 数控超级恒温槽(宁波天恒仪器厂)；JZ101 型张力换能器(北京新航兴业科贸有限公司)；medease 改良型四通道离体灌流实验系统(南京美易科技公司)。

2 方法

2.1 大鼠利胆实验^[2]

取 SD 大鼠 50 只，♂，随机分为正常组、消炎利胆片组，SDT 高、中、低 3 个剂量组，每组 10 只；禁食不禁水 12 h，乌拉坦($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉后，仰位固定，沿腹正中线切口 2 cm，找到胃幽门部，翻转十二指肠，在十二指肠降部肠系膜中找到白色有韧性的胆管。在胆管下穿 2 根丝线，结扎乳头部，向肝脏方向作一“V”形切口，插入塑料管(可见有淡黄色胆汁流出)，结扎固定，收集胆汁。术后用止血钳夹闭腹壁，盐水纱布覆盖；术后稳定 20 min，先收集 30 min 胆汁作为给药前数据，然后各组大鼠由十二指肠分别给药，SDT 高、中、低 3 剂量组分别给予 SDT 混悬液 20, 10, 5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，阳性对照组给予消炎利胆片 2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，给药体积均为 10 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重，正常组给等容量的生理盐水。给药后每 30 min 收集胆汁 1 次，共 3 次，记录胆汁分泌量，并测定各时段胆汁中的总胆红素浓度。

2.2 豚鼠胆囊平滑肌实验^[3]

中国现代应用药学 2010 年 5 月第 27 卷第 5 期

豚鼠击头处死后，立即取出胆囊并连带部分胆管，置于充满 krebs 缓冲液的培养皿中操作，将胆囊剪一小口放尽胆汁，以 krebs 缓冲液洗净，每个胆囊可纵向剖成 3 个肌条，将胆囊肌条标本悬挂于(35 ± 1)℃盛有 krebs 缓冲液的浴槽中，下端固定，上端通过张力换能器连接 Medlab 生物信号采集分析系统，给予负荷张力 0.5 g，通氧气每分钟 30 个气泡，用乙酰胆碱确认肌条活性后，用 MEDLAB 生物信号采集分析系统记录正常收缩曲线，然后依次加入终浓度为 2.5×10^{-4} , 5×10^{-4} , 1×10^{-3} , 2×10^{-3} $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SDT 混悬液，记录加药后肌条收缩曲线，每次加药前均充分冲洗，并恢复至正常收缩曲线后试验，分别统计给药前后的最大张力、收缩幅度以及收缩频率，并计算给药后上述指标的变化率。

同上制备豚鼠胆囊肌条，待稳定后分别加入阿托品(终浓度 $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、酚妥拉明(终浓度 $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、苯海拉明(终浓度 $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、雷尼替丁(终浓度 $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)等阻断剂作用 2 min 再加入终浓度为 2×10^{-3} $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SDT 混悬液，记录加药前后胆囊肌条收缩曲线，分别统计给药前后的最大张力、收缩幅度以及收缩频率，并计算给药后上述指标的变化率。

2.3 数据处理

数据表示为均数±标准差($\bar{x} \pm s$)；采用组间 t 检验， $P < 0.05$ 为组间差别有显著意义。

3 结果

3.1 SDT 对大鼠胆汁分泌以及总胆红素的影响

SDT 各剂量组给药后 30~90 min 时段胆汁分泌量较正常组有所增加，其中高剂量组给药 90 min 累计胆汁分泌量与正常组相比有统计学差异($P < 0.05$)；低剂量组给药后 30~90 min 各时段累计胆汁分泌量与正常组相比有统计学差异($P < 0.05$)，表明 SDT 可促进大鼠胆汁分泌，高、中、低剂量组之间促进胆汁分泌作用量效关系不明显，见表 1。SDT 高、中、低剂量组给药后，胆汁中胆红素的浓度与正常组比较无明显改变，见表 2。

3.2 SDT 对离体豚鼠胆囊平滑肌的影响

在盛有 krebs 缓冲液的浴槽中依次加入终浓度为 2.5×10^{-4} , 5×10^{-4} , 1×10^{-3} , 2×10^{-3} $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SDT 后，给药前后胆囊肌条最大张力、收缩幅度、收缩频率的变化率与正常组相比均有统计学差异，其中最大张力、收缩频率变化率随着 SDT 终浓度

的增加逐渐增大，有较明显的量效关系，提示有一定的兴奋作用，但再增加剂量到终浓度 $2 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，作用则不再增强，见表3, 4, 5。

3.3 阻断剂对 SDT 作用的影响

在浴槽中依次加入阿托品、酚妥拉明、苯海拉明、雷尼替丁 2 min 后再加入终浓度为 $2 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SDT 混悬液，阿托品+SDT 组离

体胆囊肌条的最大张力、收缩幅度、收缩频率的变化率与正常组和 SDT $2 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组比较均有统计学差异($P<0.05$)，显示阿托品能完全阻断 SDT 兴奋胆囊肌条的兴奋作用；酚妥拉明能阻断 SDT 大部分的兴奋作用，而苯海拉明、雷尼替丁只有部分的阻断作用或对 SDT 的作用几无明显影响，见表3, 4, 5。

表 1 SDT 对大鼠胆汁流量的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of SDT on bile secretion in rats ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	药前流量/ mL	药后不同时间累计流量/ mL		
			30 min	60 min	90 min
正常组	-	0.39 \pm 0.10	0.30 \pm 0.11	0.67 \pm 0.19	1.05 \pm 0.24
消炎利胆片组	2	0.40 \pm 0.10	0.40 \pm 0.10 ¹⁾	0.82 \pm 0.13	1.27 \pm 0.19 ¹⁾
SDT 高剂量组	20	0.41 \pm 0.11	0.39 \pm 0.11	0.79 \pm 0.21	1.31 \pm 0.24 ¹⁾
SDT 中剂量组	10	0.38 \pm 0.08	0.38 \pm 0.08	0.79 \pm 0.16	1.20 \pm 0.22
SDT 低剂量组	5	0.42 \pm 0.09	0.41 \pm 0.07 ¹⁾	0.84 \pm 0.10 ¹⁾	1.26 \pm 0.10 ¹⁾

注：与正常组比较，¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.05$

表 2 SDT 对大鼠总胆红素的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of SDT on TB in rats ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	总胆红素(TB)/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$		
		给药前	药后 30 min	药后 60 min
正常组	-	7.05 \pm 2.46	7.99 \pm 2.36	8.01 \pm 4.67
消炎利胆片组	2	9.48 \pm 3.42	8.69 \pm 2.98	8.69 \pm 1.92
SDT 高剂量组	20	10.10 \pm 3.61	9.36 \pm 3.62	11.65 \pm 2.26
SDT 中剂量组	10	6.88 \pm 1.37	7.95 \pm 2.57	8.81 \pm 2.42
SDT 低剂量组	5	9.76 \pm 3.76	9.20 \pm 4.13	8.97 \pm 4.25

表 3 SDT 对豚鼠离体胆囊平滑肌最大张力的影响($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of SDT on maximum tension of the guinea pig ileum *in vitro* ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	终浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	最大张力/ mg		变化率/%
		药前	药后	
正常组	-	685 \pm 78	686 \pm 75	0.2 \pm 2.8
SDT 组	2.5×10^{-4}	767 \pm 191	824 \pm 239	6.5 \pm 4.9 ²⁾
SDT 组	5×10^{-4}	592 \pm 101	654 \pm 92	10.9 \pm 3.5 ²⁾
SDT 组	1×10^{-3}	687 \pm 201	897 \pm 128 ¹⁾	39.2 \pm 12.9 ²⁾
SDT 组	2×10^{-3}	591 \pm 142	759 \pm 191 ¹⁾	27.9 \pm 11.6 ²⁾
阿托品+SDT	$10^{-6} + 2 \times 10^{-3}$	586 \pm 42	479 \pm 103 ¹⁾	-17.9 \pm 8.4 ^{2) 3)}
苯海拉明+SDT	$10^{-6} + 2 \times 10^{-3}$	433 \pm 179	514 \pm 163	23.7 \pm 9.1 ²⁾
酚妥拉明+SDT	$10^{-6} + 2 \times 10^{-3}$	661 \pm 92	705 \pm 97	7.2 \pm 5.8 ^{2) 3)}
雷尼替丁+SDT	$10^{-4} + 2 \times 10^{-3}$	546 \pm 37	626 \pm 38 ¹⁾	15.3 \pm 7.7 ²⁾

注：与给药前比较，¹⁾ $P<0.05$ ；与正常组比较，²⁾ $P<0.05$ ；与 SDT 2×10^{-3} 组比较，³⁾ $P<0.05$

Note: Compared with premedication, ¹⁾ $P<0.05$; compared with normal group, ²⁾ $P<0.05$; compared with SDT 2×10^{-3} group, ³⁾ $P<0.05$

表4 SDT对豚鼠离体胆囊平滑肌收缩幅度的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)Tab 4 Effect of SDT on contraction amplitude of the guinea pig ileum *in vitro* (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	终浓度/mg·mL ⁻¹	收缩幅度/mg		变化率/%
		药前	药后	
正常组	-	210±43	209±42	-0.1±2.7
SDT组	2.5×10 ⁻⁴	203±64	256±29	30.0±15.7 ²⁾
SDT组	5×10 ⁻⁴	209±60	260±72	25.4±9.0 ²⁾
SDT组	1×10 ⁻³	226±56	387±127 ¹⁾	93.7±22.2 ²⁾
SDT组	2×10 ⁻³	173±40	292±93 ¹⁾	74.7±12.3 ²⁾
阿托品+SDT	10 ⁻⁶ +2×10 ⁻³	187±8	121±53 ¹⁾	-34.1±11.3 ²⁽³⁾
苯海拉明+SDT	10 ⁻⁶ +2×10 ⁻³	195±57	268±60 ¹⁾	47.7±23.9 ²⁽³⁾
酚妥拉明+SDT	10 ⁻⁶ +2×10 ⁻³	241±67	289±22	24.4±15.0 ²⁽³⁾
雷尼替丁+SDT	10 ⁻⁴ +2×10 ⁻³	171±21	328±78 ¹⁾	83.7±23.4 ²⁾

注: 与给药前比较, ¹⁾P<0.05; 与正常组比较, ²⁾P<0.05; 与SDT 2×10⁻³组比较, ³⁾P<0.05

Note: Compared with premedication, ¹⁾P<0.05; compared with normal group, ²⁾P<0.05; compared with SDT 2×10⁻³ group, ³⁾P<0.05

表5 SDT对豚鼠离体胆囊平滑肌收缩频率的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)Tab 5 Effect of SDT on contraction frequency of the guinea pig ileum *in vitro* (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	终浓度/mg·mL ⁻¹	收缩频率/次·min ⁻¹		变化率/%
		药前	药后	
正常组	-	2.95±0.60	2.96±0.56	0.1±0.3
SDT组	2.5×10 ⁻⁴	3.20±0.45	4.80±0.84 ¹⁾	50.0±16.7 ²⁾
SDT组	5×10 ⁻⁴	3.00±0.00	4.95±0.82 ¹⁾	61.1±25.1 ²⁾
SDT组	1×10 ⁻³	3.20±0.45	5.86±1.10 ¹⁾	83.3±33.3 ²⁾
SDT组	2×10 ⁻³	3.01±0.58	5.47±1.13 ¹⁾	88.3±39.5 ²⁾
阿托品+SDT	10 ⁻⁶ +2×10 ⁻³	3.05±0.00	0.76±0.50 ¹⁾	-77.1±15.8 ²⁽³⁾
苯海拉明+SDT	10 ⁻⁶ +2×10 ⁻³	2.20±0.84	2.80±0.45	40.0±21.8 ²⁽³⁾
酚妥拉明+SDT	10 ⁻⁶ +2×10 ⁻³	2.67±0.58	3.19±0.64	27.8±15.5 ²⁽³⁾
雷尼替丁+SDT	10 ⁻⁴ +2×10 ⁻³	3.50±1.00	5.43±0.58 ¹⁾	67.5±20.1 ²⁾

注: 与给药前比较, ¹⁾P<0.05; 与正常组比较, ²⁾P<0.05; 与SDT 2×10⁻³组比较, ³⁾P<0.05

Note: Compared with premedication, ¹⁾P<0.05; compared with normal group, ²⁾P<0.05; compared with SDT 2×10⁻³ group, ³⁾P<0.05

4 讨论

胆石症是临床常见病、多发病之一。外科手术复发率高, 对老年并伴发严重心、脑、肾疾病患者, 很难承受手术创伤。中药治疗可为患者保留胆囊且无不良反应, 治疗方便安全。

SDT 原处方由金钱草、大黄、延胡索等八味中药组成, 现代药理证明金钱草松弛胆道口括约肌, 促进肝细胞分泌胆汁, 增加了胆酸的生成和排泄; 茵陈在促进胆汁分泌的同时也增加胆汁中胆酸、胆红素以及泥沙样胆石等固体物的排出^[4]; 枳壳通过增加肠蠕动, 松弛 oddis 括约肌, 抑制胆固醇结晶聚集和微小结石的聚合, 并且改变胆汁中脂类的含量^[5]。

本试验表明, SDT 颗粒能明显增加在体引流法大鼠的胆汁分泌量, 其中高剂量组给药后 90 min 和低剂量组给药后 30~90 min 各时段累计胆汁分

泌最明显, 能使离体豚鼠胆囊肌条张力增高、收缩频率加快、收缩幅度增加, 并体现良好的量效关系, 表明 SDT 能增强胆囊平滑肌的兴奋性, 促进胆汁分泌作用明显而持久; SDT 兴奋豚鼠胆囊肌条作用, 无论是最大张力、收缩幅度和频率, 均可被阿托品完全阻断, 说明阿托品明显逆转了 SDT 对胆囊收缩的影响; 酚妥拉明能部分阻断, 但不能被苯海拉明、雷尼替丁所阻断, 说明 SDT 利胆作用可能主要经由胆碱能 M 受体介导, 部分经由肾上腺素能α受体介导、而与组胺 H₁ 受体、前列腺素受体等途径无关。

REFERENCES

- CHEN X G, LIU J Q, PENG M H, et al. Intrahepatic cholelithiasis in Guangxi area, an analysis of 8585 cases [J]. Chin J Gen Surg (中华普通外科杂志), 2002, 17(2): 99-101.
- RUAN X X, HUANG G X, ZHAO X J. Experimental study on

- the Lidan role of total extract of Xiaoyan Lidan tablets [J]. Mod Hosp (现代医院), 2008, 18(12): 16-18.
- [3] ZHOU X, QU S Y, LU N Q. Effect of bile on the isolated gallbladder smooth muscle of guinea pig *in vitro* [J]. J Ningxia Med Univ (宁夏医学院学报), 2003, 25(2): 98-99.
- [4] CHEN Y H, HU Z F, LI Q, et al. Curative effect observation on Chinese crude drug combined with Baicaodian capsule baswed on differentiation of symptoms and signs for 50 patients with chronic cholecystitis [J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2008, 26(1): 223-224.
- [5] LIU J J, ZHOU Z, HU G Z, et al. Action of single Chinese herb on the movement of dog gallbladder [J]. Shandong J Tradit Chin Med (山东中医药杂志), 2008, 27(1): 44-45.

收稿日期: 2009-08-27