

慢胆舒止痛作用的实验研究

朱重光 周世印(河南省人民医院 郑州 450003)

朱宝珠(河南省药品检验所 郑州 450003)

慢胆舒是治疗慢性无结石性胆囊炎的中药口服液,由柴胡、白芍、枳实、茵陈、姜黄等中草药按制剂工艺加工而成,有疏肝理气、活血化瘀、利湿消积等功能,临床服用每日3次,每次10ml,1月1疗程,服用2个疗程,评定疗效。根据中华人民共和国卫生部1993年发布的《中药新药临床研究指导原则》所定疗效评定标准,总显效率75.49%,总有效率92.16%。经观察,本药有明显的止痛、消炎、利胆作用。为了进一步探讨其作用机理,我们

选取与止痛有关的药效学指标进行实验研究。

1 实验材料

1.1 试药 慢胆舒,由河南省人民医院制剂室提供,批号950102,实验时以注射用水配制,每ml含生药0.5g。Earle液,临用时配制。新斯的明,由上海信谊制药厂生产,批号950406。Fura-2/AM美国Sigma公司产品。RPMI1640,美国Gibco公司产品。

1.2 动物 豚鼠:体重350~450g,雌雄兼

用,由中国科学院上海动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 对豚鼠胆囊平滑肌的影响

2.1.1 标本的制备 将禁食 24h 的豚鼠击头致死,迅速取出胆囊,去除附着的脂肪,放在充氧(含 5%CO₂)、保温 37℃左右的保养液中,洗净其内容物,制成长 2cm、宽 0.5cm 的胆囊肌片。

2.1.2 测试方法 将肌片的一端固定于支持杆上,另一端连线于描记杠杆。将肌片放在 LQY-Ⅲ-2 型离体器官浴槽中,加预应力 1.0g,通过 XWP-264 台式平衡记录仪,记录描记运动曲线。离体豚鼠胆囊肌片在浴槽中经 Earle 液培育 30min 后,首先在不加慢胆舒的 Earle 液中,逐渐加入新斯的明,其浓度从 0.01~0.1mg/ml,连续记录描记出运动曲线,重复做 8 次,取每次运动曲线的中值计算平均值,结果为 25.25±11.03%。之后,在 Earle 液中加入慢胆舒 100μl/ml,再重复第一次作法(加入相同剂量的新斯的明)8 次,结果为 11.43±5.67%(*n*=8)。经统计学处理 *P*<0.05。

2.2 对豚鼠胆囊平滑肌细胞内钙离子浓度的影响

2.2.1 胆囊平滑肌单细胞的分离、培养 无菌条件下取出胆囊清洗,将胆囊肌片切成 1mm 的组织块,加 PBS 吹打后,吸出 PBS,然后用弯头吸管吸数小块放入培养瓶中,翻转培养瓶,令瓶底在上(勿使组织块流开,置 37℃温箱中 2~4h。)在浑液中含有许多细胞团,可吸出培养,再在瓶中加入培养液,翻转培养瓶继续培养,直至单细胞培养生长良好。

2.2.2 Fura-2 的标记及 Ca⁺⁺ 的检测 将分离、培养好的原代胆囊平滑肌细胞传代,最初

培养在一块 2×1cm 的载玻片上,培养基为含小牛血清的 1640 液,2~3d 后,培养基改为 0.5%的小牛血清,37℃培养 2~3d,取出玻片,置于自制的内含 Fura-2/AM 10μmol/L 的 PBS 液中,37℃避光孵育 30~40min,然后用 PBS 液彻底冲洗未水解的荧光染料,将玻片置于含 PBS 缓冲液的标准比色杯中,测定开始几秒后,加入无菌慢胆舒(10μl/ml, 25μl/ml)。检测波长:激发波长为 340nm,发射波长为 510nm。

结果,加入慢胆舒后,测得细胞内钙离子浓度 Ca⁺⁺ 均值较未加药前明显下降,且与用药浓度有关。见下表。

组别	剂量 (μl/ml)	<i>n</i>	细胞内钙离子浓度 ($\bar{x} \pm s$, nmol/L)
未加药组		3	27.81±2.10
加药 I 组	10	3	20.15±1.98*
加药 II 组	25	3	8.32±1.30**

P*<0.05 *P*<0.001

注:表中“*n*”为每组的玻片数,亦即检测次数,作法是:将传代后的对数生长细胞收集,混在一个较大的培养瓶,然后较均匀的分入小瓶(共 18 瓶),放入玻片,经二次培养后,倒置显微镜观察每个玻片上细胞生长情况,取细胞相对一致的 9 个玻片进行试验。

3 小结

3.1 慢胆舒可拮抗新斯的明引起的含钙溶液中胆囊肌片的收缩幅度,证明其有松弛胆囊平滑肌的功能,提示其缓解胆囊疼痛的机制与此有关。

3.2 慢胆舒能降低胆囊平滑肌细胞内钙离子的浓度,以达到松弛胆囊平滑肌,从而起到止痛作用的。为该药缓解胆囊炎疼痛,提供了药效学依据。

(本研究承上海铁道大学附属甘泉医院消化内科王炳芳教授相助,谨表示感谢。)

(收稿:1997-05-26)