

几种中药复方提取物对仔猪腹泻的防治作用及相关机理

董世山¹ 蔡辉益¹ 刘作华² 张世华² 陈春林² 刘国华¹ 曹国文² 刘宗慧²

(1. 中国农业科学院 饲料研究所,北京 100081; 2. 重庆市畜牧科学院,重庆 402460)

摘要 试验观察了几种中药复方提取物的抗仔猪腹泻作用,并对抗腹泻机理进行了深入探讨。结果表明:白头翁、苦参、黄芪、三颗针、黄柏、党参等复方提取物能够显著降低仔猪腹泻发生率($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),对 K88 大肠杆菌明显抑制;能够极显著地降低番泻叶及蓖麻油所致小鼠实验性腹泻的频率($P < 0.01$);对乙酸所致小鼠腹膜的急性炎性渗出具有显著抑制作用($P < 0.01$);能够极显著地抑制小鼠小肠的运动($P < 0.01$)。试验结果提示:这几种中药复方提取物对仔猪腹泻的防治作用与促进水、钠向肠上皮细胞转运,抑制肠道炎性渗出及抑制小肠运动有关。

关键词 中药; 仔猪; 腹泻; 抗腹泻机理

中图分类号 S 854.51

文章编号 1007-4333(2005)03-0060-05

文献标识码 A

Antidiarrheal effects and mechanisms of several Chinese medicinal herb extractions

Dong Shishan¹, Cai Huiyi¹, Liu Zuohua², Zhang Shihua², Chen Chunlin², Liu Guohua¹,
Cao Guowen², Liu Zonghui²

(1. Feed Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. Chongqing Academy of Animal Science, Chongqing 402460, China)

Abstract The extracts were obtained from several Chinese medicinal herb of Pulsatilla chinensis, Sophora flavescens, Phellodendron amurense, Radix Astragali and Codonopsis pilosula (Franch) Nannf. Their antidiarrheal effects and mechanisms were investigated. The results showed that the occurrence frequency of diarrhea of piglet was significantly reduced by giving the extracts ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Some extracts had significant effect on inhibiting the proliferation of K88 E coli. The diarrhea incidence of mice induced by castor oil or Cassia angustifolia leaf was significantly reduced by feeding extracts ($P < 0.01$). The acute inflammatory exudation in mouse peritoneum induced by acetic acid was significantly inhibited by some extracts ($P < 0.01$ or 0.05). The herb extracts also inhibited alvine movement of mice ($P < 0.01$). These roles of the Chinese herb extracts on the tested animals might be related to the transport of water and sodium ion from intestinal cavity to the epithelial cells of intestinal mucosa.

Key words Chinese medicinal herbs; piglet; diarrhea; antidiarrheal mechanism

病原微生物和各种应激引起的仔猪腹泻对仔猪成活率和后期增重都有严重影响,是制约养猪业发展的重要疾病。目前主要使用恩诺沙星、氟甲砜、土霉素、卡那霉素、庆大霉素及磺胺类药物等进行控制^[1]。随着耐药菌株的不断出现,有的猪场利用现有药物控制腹泻效果不佳。

中药在抗菌同时具有改善和调节机体状态的特性,因此,利用我国特有的中医理论和丰富的植物药资源开发控制仔猪腹泻制剂已经成为维持和发展养猪业的重要课题。

在兽医临床实践中经常采用中药治疗腹泻。文献报道中药效观察多数是针对中药组方效果的观察

收稿日期: 2004-11-04

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划延续项目(2004BA514A13)

作者简介: 董世山,博士,副教授,主要从事动物疾病病理及防治研究。

或用单味药物提取的某种成分进行药效学研究^[2-3],而中兽医经常利用不同的组方治疗腹泻,取得良好效果。选择不同药性的中药配伍对阐明中药治疗腹泻机制及减少耐药菌株出现具有理论和实践意义,但是相关的系统研究报告尚不多见。本试验旨在研究中药复方提取物对仔猪腹泻的控制作用及其机理。

1 材料

1.1 中药组方及制备

依据中兽医理论对仔猪腹泻辨证施治,设计下列组方。所用药材均购自重庆市药材公司。

方1由白头翁、秦皮、三颗针、黄柏、甘草组成。全方共奏清热解毒、燥湿止痢之功效。

方2由党参、白术、茯苓、丹参、黄芪组成。具有补中益气、健脾养胃、扶正祛邪、燥湿止痢之效。

方3由白头翁、丹参、赤芍、苍术、干姜、陈皮组成。全方共奏活血散瘀、健脾补气、燥湿利水止痢之效。

方4由白头翁、白术、车前子、苦参、陈皮等组成。全方体现清热解毒、燥湿止痢之功效。

方5由盐酸小檗碱、苦参碱、黄芪多糖配制。全方达到调理肠道微生态环境,增强免疫力的作用。

制备方法:方1~4的各组方药物分别加适量水浸润后,加8倍量水加热煮沸,沸腾后改文火煮1h,倒出药液后加3倍量水煮2次,各0.5h^[4]。合并药液后浓缩,按10%(体积分数)比例加入0.1%(质量分数)甲壳素沉淀,静置过夜,2500 r/min离心10 min获得上清液。

上清液一部分用喷雾干燥机制成干粉,用轻质碳酸钙调整提取物干粉质量为原药重的1/3,分装后用于控制仔猪腹泻试验;上清液的另一部分浓缩至含量为1 mL相当于原生药1 g。分装,流通蒸汽灭菌40 min。4 保存,用于药理学试验。

方5中将盐酸小檗碱、苦参碱、黄芪多糖按比例混合,分装后用于控制仔猪腹泻试验。同比例药品加热溶解于水中,分装,流通蒸汽灭菌40 min。4 保存,用于药理学试验。

1.2 致泻剂制备

番泻叶(购自重庆市药材公司)加适量蒸馏水煎煮5 min,纱布过滤,滤液50 浓缩成1:1的煎剂。蓖麻油,分析纯,南昌白云医药化工有限公司产品。

1.3 试剂

冰乙酸,分析纯。依文思兰,Sigma 产品进口分装。药敏片,上海生化试剂厂。

1.4 实验动物

昆明种健康小鼠,体重(20 ±2)g,雌雄各半。

1.5 主要试验仪器

中药多功能提取罐,TQ100L,湖南医药设备有限公司;离心压力喷雾干燥机,无锡医药设备厂;紫外分光光度计,BIO-TEK KONTRON 瑞士。

1.6 数据统计分析

数据用 SPSS11.0 进行分析

2 方法

2.1 提取物散剂对仔猪腹泻的防治作用试验

选择年龄胎次近似、健康母猪所生产日期相近的仔猪60窝,每组10窝。1~5组从断奶前7d开始到断奶后14d为止,每天在饲料中按每kg体重添加相应组的药物0.5g。每天早晚定时观察仔猪粪便情况,粪便分为正常、稀软、黏稠、水样和血便5个等级,后4个等级均判定为腹泻。计算仔猪腹泻发生率和死亡率。仔猪腹泻发生率=(试验期间腹泻次数/(仔猪数×试验时间))×100%;仔猪死亡率=(试验仔猪死亡数/试验初仔猪数)×100%。

2.2 提取物体外抑菌试验

将K88大肠杆菌涂布于营养琼脂平板上,一块板用打孔器在琼脂上打出直径5mm加药孔。在孔内加入5种组方的提取物溶液;另一块板放置药敏纸片。置37 培养箱中培养,12h后观察测量抑菌圈的大小。

2.3 提取物抗实验性腹泻作用试验

1)对番泻叶所致小鼠腹泻的影响。小鼠随机分为方1~5和对照共6组,每组10只,雌雄各半。禁食12h后,每只小白鼠灌服0.3mL相应组方的提取物,对照组灌服等量的生理盐水,0.5h后每只灌服番泻叶煎剂0.3mL,灌服完毕将小白鼠单个放在垫有报纸的鼠笼内,观察腹泻情况。小鼠大便大致可分为5种:正常便、外形正常但含水分较多、外形不正常的软便、水样便及黏液便。前2种视为正常便,后3种为腹泻便。小鼠每腹泻1次换1次垫纸,每隔1h累积计算小鼠腹泻次数,连续观察4h。

2)对蓖麻油所致小鼠腹泻的影响。小鼠60只,分组同前。禁食12h后,每只小白鼠灌服0.3mL对应组方的提取物,对照组灌服等量的生理盐水,

0.5 h 每只小鼠灌服蓖麻油 0.2 mL,灌服完毕将小白鼠单个放在垫有报纸的鼠笼内,观察腹泻情况。观察方法同前一试验。

2.4 提取物对肠系膜毛细血管炎性渗出的抑制试验

小鼠 60 只,分组同前。各药物组小鼠连续灌服相应药物 3 d,每天 1 次 0.3 mL。对照组灌服等量的生理盐水。末次给药后 0.5 h 每鼠尾静脉注射 0.5%(质量分数)依文思兰生理盐水溶液 0.1 mL,随后腹腔注射 0.7%(体积分数)乙酸 0.2 mL,0.5 h 后将小鼠处死,用生理盐水冲洗腹腔,收集冲洗液并定容至 10 mL,离心,取上清液用分光光度计 610 nm 比色,并计算出冲洗液中依文思兰含量。

2.5 提取物对小鼠小肠运动的影响

小鼠 60 只,分组同前。禁食 24 h 后,每只鼠灌服 0.3 mL 相应组方的提取物,对照组灌服等量生理盐水,0.5 h 后每只鼠灌服碳素墨水 0.1 mL。20 min 后处死小鼠,打开腹腔,从小肠下将小鼠躯干剪成 2 截,牵直小肠,测量幽门到墨水最远运行端及幽门到回盲端长度,两者之比即为墨水推进率。

3 结果

3.1 提取物显著降低仔猪腹泻发生率和死亡率

对照组仔猪死亡率和腹泻率分别为 21% 和 27%;方 1、2 和 5 组的仔猪死亡率和腹泻率显著低

于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);方 3 和 4 组死亡率和腹泻率有降低,但差异不显著 ($P > 0.05$,表 1)。

表 1 中药提取物对仔猪腹泻的防治作用

Table 1 Antidiarrheal effects of Chinese herb extracts in piglets

组别	样本量(窝/仔猪数)	腹泻次数	死亡数	死亡率/%	腹泻率/%	腹泻抑制率/%
1	9/88	267	8	10 ±3**	17 ±4*	37.0
2	10/62	222	7	12 ±3*	17 ±4*	37.0
3	8/68	315	12	18 ±2	22 ±2	18.5
4	10/84	379	15	18 ±2	22 ±3	18.5
5	10/93	258	10	11 ±3*	13 ±2**	51.0
对照	9/75	389	15	21 ±3	27 ±4	

注: *表示与对照组比较差异显著 $P < 0.05$; **表示与对照组比较差异极显著 $P < 0.01$ 。死亡率和腹泻率数据为 $\bar{X} \pm SE$,下同。

3.2 提取物对大肠杆菌具有较好抑制作用

本试验中,除方 4 之外其余各组方药物对大肠杆菌均具有较好的抑制作用,抑菌圈在 16 mm 以上(表 2)。

3.3 提取物能够显著抑制番泻叶引起的小鼠腹泻

方 1、2 和 5 组平均腹泻次数分别为 2.33 ± 0.47 、 2.40 ± 0.76 和 2.89 ± 0.51 ,均极显著低于对照组的 5.80 ± 0.63 ($P < 0.01$);方 4 组腹泻平均次数为 3.70 ± 0.83 ,显著低于对照组 ($P < 0.05$);方 3

表 2 中药提取物对大肠杆菌的抑菌试验

Table 2 Effects of Chinese herb Extracts on *E. coli.* proliferation

药品	方 1	方 2	方 3	方 4	方 5	环丙沙星	氟哌酸	氯霉素	痢特灵	丁胺卡那	庆大霉素	四环素
抑菌圈直径 <i>d</i> /mm	18	16	18	0	18	32	24	22	20	20	14	12

注:抑菌圈直径 $d > 20$ mm 为极敏,15~20 mm 为高敏,10~15 mm 为中敏,<10 mm 为低敏、不敏感。

组与对照组差异不显著(表 3)。

3.4 提取物能够显著抑制蓖麻油引起的小鼠腹泻

方 2、3 和 5 组平均腹泻次数分别为 3.33 ± 0.78 、 3.10 ± 0.5 和 3.33 ± 0.65 ,均极显著低于对照组的 6.0 ± 0.49 ($P < 0.01$);方 1 组平均腹泻次数为 3.78 ± 0.86 ,显著低于对照组 ($P < 0.05$);方 4 组与对照组差异不显著(表 4)。

3.5 提取物能够显著抑制小鼠肠系膜毛细血管的炎性渗出

方 2、5 组腹水中伊文思兰含量分别为 $(1.56 \pm$

$0.16)$ 和 $(1.29 \pm 0.24) \mu\text{g}/\text{mL}$,均极显著低于对照组的 $(2.95 \pm 0.27) \mu\text{g}/\text{mL}$ ($P < 0.01$);方 1 组腹水中伊文思兰含量为 $(2.03 \pm 0.65) \mu\text{g}/\text{mL}$,显著低于对照组 ($P < 0.05$);方 3、4 组与对照组差异不显著(表 5)。

3.6 提取物能够显著抑制小鼠小肠运动

方 1、2 和 5 组小肠推进率分别为 0.54 ± 0.05 、 0.52 ± 0.08 和 0.44 ± 0.08 ,均极显著低于对照组的 0.78 ± 0.04 ($P < 0.01$);方 4 组小肠推进率为 0.56 ± 0.08 ,显著低于对照组 ($P < 0.05$);方 3 组与对照组差异不显著(表 6)。

表3 中药提取物对小鼠番泻叶性腹泻的抑制作用

Table 3 Effects of Chinese herb extracts on mice diarrhea induced by *Cassia angustifolia* leaf

组别	样本量/ 只	腹泻次数				腹泻 总次数	腹泻平均次数	腹泻抑制率/ %
		第1小时	第2小时	第3小时	第4小时			
1	9	0	10	9	2	21	2.33 ±0.47**	59
2	10	0	4	12	8	24	2.40 ±0.76**	58
3	10	0	0	26	19	45	4.50 ±0.96	22
4	10	0	13	15	9	37	3.70 ±0.83*	36
5	9	0	0	17	9	26	2.89 ±0.51**	50
对照	10	0	25	24	9	68	5.80 ±0.63	

表4 中药提取物对小鼠蓖麻油性腹泻的抑制作用

Table 4 Effects of Chinese herb extracts on mice diarrhea induced by castor oil

组别	样本量/ 只	腹泻次数				腹泻 总次数	腹泻平均次数	腹泻抑制率/ %
		第1小时	第2小时	第3小时	第4小时			
1	9	5	9	14	6	34	3.78 ±0.86*	37
2	9	4	7	15	4	30	3.33 ±0.78**	45
3	10	7	11	9	4	31	3.10 ±0.5**	48
4	8	7	22	7	6	42	5.25 ±0.75	12
5	9	6	12	8	4	30	3.33 ±0.65**	45
对照	10	10	26	15	8	59	6.0 ±0.49	

表5 中药提取物对小鼠毛细血管通透性的影响

Table 5 Effects of Chinese herbs extracts on blood vessel permeability of mice peritoneum

组别	样本量/ 只	伊文思兰含量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	渗出抑制率/ %
1	7	2.03 ±0.65*	31
2	8	1.56 ±0.16**	47
3	8	2.33 ±0.36	21
4	7	2.84 ±0.21	4
5	7	1.29 ±0.24**	56
对照	5	2.95 ±0.27	

表6 中药提取物对小鼠小肠运动抑制作用

Table 6 Effects of Chinese herbs extracts on intestinal movement of mice

组别	样本量/ 只	小肠推进比率	运动抑制率/ %
1	10	0.54 ±0.05**	31
2	10	0.52 ±0.08**	33
3	10	0.65 ±0.06	17
4	10	0.56 ±0.08*	28
5	10	0.44 ±0.08**	44
对照	10	0.78 ±0.04	

4 结论与讨论

4.1 提取物能够有效地控制仔猪腹泻

在医疗实践中利用中药治疗腹泻有许多成功的经验。本试验根据中兽医理论和实践经验,对仔猪腹泻进行辨证论治。从补中益气、健脾养胃、清热

解毒、燥湿止痢、调理肠道微生态环境、增强免疫力等方面组方^[5],采用复方共提取技术,将提取物喷雾干燥后用于临床控制仔猪腹泻。试验结果显示方1和2对腹泻抑制率达到37%,方5的腹泻抑制率达到51%,试验组腹泻率比对照组极显著降低。表明白头翁、苦参、三颗针、黄柏、党参、黄芪等中药复

方提取物能够有效控制仔猪腹泻,在一定程度上可以替代抗生素的使用。因此,在目前限制使用抗生素的情况下,深入研究和开发利用中药控制仔猪腹泻是非常必要的。

4.2 提取物控制仔猪腹泻作用可能与其抑制大肠杆菌有关

大肠杆菌是引起仔猪腹泻的主要病原菌,利用抗生素抑制大肠杆菌一直是猪场控制仔猪腹泻的手段。本试验中除方4无抗菌作用之外,其余4个组方提取物的抑菌圈直径均在16~18 mm,比临床常用的抗生素如环丙沙星、痢特灵、丁胺卡那的抑菌效果弱,但是比庆大霉素、四环素抑菌效果稍强。组方药物中含有小檗碱、白头翁素及苦参碱等物质,均具有一定的抗菌作用^[6-7]。提取物显示的抗菌效应可能是这些抗菌成分综合作用的结果。

大肠杆菌毒素在诱发仔猪腹泻过程中具有重要作用,吴立夫等报道丹参提取物对细菌毒素具有拮抗作用^[6]。本试验显示复方提取物具有良好的控制腹泻效果。除提取物对大肠杆菌能够直接抑制外,可能与拮抗大肠杆菌毒素有关。这种推测尚需进一步研究。

4.3 提取物控制仔猪腹泻作用可能与其改善肠黏膜状态及肠运动的作用有关

番泻叶所含蒽甙在大肠内细菌酶的作用下还原成蒽酮(或蒽酚),后者刺激肠黏膜并能抑制钠离子从肠腔向肠黏膜上皮细胞的转运,使大肠内水分增加蠕动亢进而致腹泻^[8]。提取物能极显著或显著地降低番泻叶所致小鼠腹泻的频率,提示提取物能够拮抗番泻叶衍生物对肠道的刺激,促进水、钠从肠腔向肠黏膜上皮细胞转运的作用,从而抑制了大肠水分急剧增加导致的腹泻。对于提取物促进水、钠向上皮细胞转运的机制有待进一步研究。

蓖麻油内服后在肠道内受胰脂肪酶作用,分解生产甘油和蓖麻油酸,后者又转成蓖麻油酸钠,刺激小肠黏膜感受器,引起小肠蠕动,导致下泻。其主要作用部位是小肠^[8]。本试验结果显示提取物能够显著抑制蓖麻油引起的腹泻,提示提取物可能缓解了蓖麻油酸钠对小肠黏膜的刺激,减弱小肠蠕动强度,使得腹泻状况明显改善。同时在测定小鼠小肠运动试验中,提取物也显示出明显的抑制小肠运动功能,2个试验结果说明提取物抑制腹泻作用与改善肠道蠕动状况有关。

小檗碱和苦参碱均具有拮抗肠道运动特性^[9],2种生物碱是复方提取物的主要成分,本试验结果与前人研究相似。

4.4 提取物控制仔猪腹泻作用可能与其抑制炎症渗出有关

仔猪腹泻多为感染性腹泻和消化性腹泻,肠道炎症渗出在腹泻的发生发展过程中具有重要作用。在乙酸所致小鼠腹膜的急性炎症渗出试验中,方1、2和5的提取物均能够显著抑制小鼠腹膜的急性炎症渗出。结合临床试验中上述各组良好的控制仔猪腹泻效果,表明中药复方提取物控制仔猪腹泻作用可能与其抑制炎症渗出作用有关。

小檗碱和苦参碱对肠道炎症渗出具有一定的抑制效果^[10-11]。本试验中复方提取物抑制炎症渗出的作用可能与其含有小檗碱和苦参碱有关。

参 考 文 献

- [1] 张炳钦,吴张杰. 浅谈养猪场仔猪腹泻病的综合防治经验[J]. 福建畜牧兽医,2004,26(1):23
- [2] 陈英. 中草药治疗猪腹泻[J]. 贵州畜牧兽医,2004,28(1):26
- [3] 于桂阳,黄杰河,陈松明. 复方白头翁注射液对仔猪白痢的疗效观察[J]. 湖南畜牧兽医,2002(1):7,21
- [4] 孟宪纾. 中药制剂学[M]. 北京:人民卫生出版社,1986.192-212
- [5] 吴君,丁一生,李淑芳,等. 复方小檗碱治疗急、慢性腹泻的疗效及体外抗菌活性评价[J]. 中国新药与临床杂志,2001,20(5):360-362
- [6] 吴立夫,张向鹏. 金银花连翘提取物对大肠杆菌热敏肠毒素的拮抗作用[J]. 畜牧兽医学报,1996,27(5):475-479
- [7] 刘玉清,宋晓东. 苦参的药理活性及临床应用[J]. 中国分子心脏病学杂志,2003,3(3):234-237
- [8] 吴立夫. 几种中草药的抗腹泻作用治疗仔猪白痢及其机理的研究[J]. 畜牧兽医学报,1998,29(6):553-559
- [9] 张明发,沈雅琴. 非处方药小檗碱抗腹泻作用的再评价[J]. 中国医院用药评价与分析,2003,3(3):148-153
- [10] 张明发,沈雅琴. 苦刺总生物碱的抗腹泻和抗炎作用[J]. 中国药理学杂志,1991,26(1):20-22
- [11] 刘梅,刘雪英. 苦参碱的药理研究进展[J]. 中国中药杂志,2003,28(9):801-804