

## 十七、有助于润肠通便检验方法

### 1 动物实验

#### 1.1 小肠运动实验

##### 1.1.1 原理

经口灌胃给予造模药物复方地芬诺酯或洛哌丁胺，建立小鼠小肠蠕动抑制模型，计算一定时间内小肠的墨汁推进率，来判断模型小鼠胃肠蠕动功能。

##### 1.1.2 仪器和材料

###### 1.1.2.1 仪器和试剂

手术剪、眼科镊、直尺、注射器、天平、活性炭粉、阿拉伯树胶、复方地芬诺酯或洛哌丁胺。

###### 1.1.2.2 试剂配制

1.1.2.2.1 墨汁的配制：准确称取阿拉伯树胶 100g，加水 800mL，煮沸至溶液透明，称取活性炭（粉状）50g 加至上述溶液中煮沸三次，待溶液凉后加水定容到 1000mL，于冰箱中 4℃ 保存，用前摇匀。

1.1.2.2.2 复方地芬诺酯混悬液的配制：浓度为 0.025%。

复方地芬诺酯片，每片含复方地芬诺酯 2.5mg，取复方地芬诺酯片 25mg（10 片），用研钵研碎呈粉末后加水至 100mL，临用前配制。

###### 1.1.2.2.3 洛哌丁胺溶液的配制

洛哌丁胺剂量为 2-4mg/kg BW。依据洛哌丁胺的实用剂量取用，按实验所需浓度配制，可加热待溶质完全溶解、充分摇匀后使用。

##### 1.1.3 实验方法

###### 1.1.3.1 实验动物

选用成年雄性小鼠，体重 18—22g，每组 10—15 只。

###### 1.1.3.2 剂量分组及受试样品给予时间

实验设三个剂量组，一个阴性对照组和一个模型对照组。以人体推荐量的 10 倍为其中的一个剂量组，另设二个剂量组，必要时设阳性对照组。阴性对照组和模型对照组同样途径给蒸馏水。受试样品给予时间 7 天，必要时可延长至 15 天。

###### 1.1.3.3 实验步骤

###### 1.1.3.3.1 模型的建立

给受试样品 7 天后，各组小鼠禁食不禁水 16 小时。

模型对照组和三个剂量组灌胃给予复方地芬诺酯（5mg/kg BW）或洛哌丁胺（2~4mg /kg BW），空白对照组给蒸馏水。

###### 1.1.3.3.2 指标测定的方法

给复方地芬诺酯或洛哌丁胺后 0.5 小时后，剂量组分别给予含相应受试样品的墨汁（含 5%的活性炭粉、10%阿拉伯树胶），阴性和模型对照组给墨汁灌胃。

25 分钟后立即脱颈椎处死动物，打开腹腔分离肠系膜，剪取上端自幽门、下端至回盲部的肠管，置于托盘上，轻轻将小肠拉成直线，测量肠管长度为“小肠总长度”，从幽门至墨汁前沿为“墨汁推进长度”。按下式计算墨汁推进率：

$$\text{墨汁推进率(\%)} = \frac{\text{墨汁推进长度 (cm)}}{\text{小肠总长度 (cm)}} \times 100\%$$

###### 1.1.4 数据处理及结果判定

墨汁推进率需进行数据转换,  $X = \text{Sin}^{-1} \sqrt{p}$ , 式中  $P$  为墨汁推进率, 用小数表示。在进行方差分析时, 需按方差分析的程序先进行方差齐性检验, 方差齐, 计算  $F$  值,  $F$  值  $< F_{0.05}$ , 结论: 各组均数间差异无显著性;  $F$  值  $\geq F_{0.05}$ ,  $P \leq 0.05$ , 用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计; 对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换, 待满足正态或方差齐要求后, 用转换后的数据进行统计; 若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的, 改用秩和检验进行统计。

在模型成立的前提下, 受试样品组小鼠的墨汁推进率显著高于模型对照组的墨汁推进率时, 可判定该项实验结果阳性。

## 1.2 排便时间、粪便粒数和粪便重量的测定

### 1.2.1 原理

经口灌胃给予造模药物复方地芬诺酯或洛哌丁胺, 建立小鼠便秘模型, 测定小鼠的首粒排黑便排便时间、5 或 6 小时内排便粒数和排便重量, 来反映模型小鼠的排便情况。

### 1.2.2 仪器和材料

#### 1.2.2.1 仪器和试剂

眼科镊、注射器、分析天平、活性炭粉、阿拉伯树胶、复方地芬诺酯、洛哌丁胺。

#### 1.2.2.2 试剂配制

##### 1.2.2.2.1 墨汁的配制: 同小肠运动实验。

##### 1.2.2.2.2 复方地芬诺酯混悬液的配制: 浓度为 0.05%。

复方地芬诺酯片, 每片含 2.5mg 复方地芬诺酯。

取复方地芬诺酯片 50mg (20 片), 用研钵研碎后加蒸馏水至 100mL, 临用前配制。

##### 1.2.2.2.3 洛哌丁胺溶液的配制:

洛哌丁胺剂量为 4-7mg/kg BW。依据洛哌丁胺的实用剂量取用, 按实验所需浓度配制, 可加热待溶质完全溶解、充分摇匀后使用。

### 1.2.3 实验方法

#### 1.2.3.1 实验动物

选用成年雄性小鼠, 体重 18—22g, 每组 10—15 只。

#### 1.2.3.2 剂量分组及受试样品给予时间

实验设三个剂量组, 一个阴性对照组和一个模型对照组。以人体推荐量的 10 倍为其中的一个剂量组, 另设二个剂量组, 必要时设阳性对照组。阴性对照组和模型对照组同样途径给蒸馏水。受试样品给予时间 7 天, 必要时可适当延长至 15 天。

#### 1.2.3.3 实验步骤

##### 1.2.3.3.1 模型的建立

给受试样品 7 天后, 各组小鼠禁食不禁水 16 小时。

阴性对照组给蒸馏水, 模型对照组和三个剂量组灌胃给予复方地芬诺酯 (10mg/kg BW) 或洛哌丁胺 (4~7mg/kg BW)。

##### 1.2.3.3.2 指标测定的具体方法

给复方地芬诺酯或洛哌丁胺 0.5 小时后, 阴性对照组和模型对照组小鼠用墨汁灌胃, 剂量组给予含受试样品的墨汁, 动物均单笼饲养, 正常饮水进食。

从灌墨汁开始, 记录每只动物首粒排黑便时间、5 或 6 小时内排黑便粒数及重量。

#### 1.2.4 数据处理及结果判定

资料可用方差分析, 需按方差分析的程序先进行方差齐性检验, 方差齐, 计算  $F$  值,  $F$  值  $< F_{0.05}$ , 结论:

各组均数间差异无显著性； $F$  值  $\geq F_{0.05}$ ， $P \leq 0.05$ ，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

在小肠便秘模型成立的前提下，受试样品组小鼠的首粒排黑便时间明显短于模型对照组，即可判定该项指标结果阳性。

5 或 6 小时内排黑便粒数明显高于模型对照组，可判定该项指标结果阳性。

5 或 6 小时内排黑便重量明显高于模型对照组，可判定该项指标结果阳性。

### 1.2.5 结果判定

5 或 6 小时内排粪便重量和粪便粒数任一项结果阳性，同时小肠运动实验和排便时间任一项结果阳性，可判定该项实验结果阳性。

### 1.2.6 注意事项

1.2.6.1 实验中应将复方地芬诺酯悬液不断振荡，以保持其浓度均一。洛哌丁胺溶液在 4℃ 保存有时会出现结晶，放置室温一段时间或加热后可溶解。

1.2.6.2 墨汁配制时待阿拉伯胶加热透明后再加入碳末。

1.2.6.3 应去除小鼠排出第一粒黑便前的粪便。

### 1.3 粪便性状感官描述

## 2 人体试食试验

### 2.1 纳入受试者标准

2.1.1 排便次数减少和粪便硬度增加者。

2.1.2 大便一周少于 3 次者。

2.1.3 无器质性便秘者。

2.1.4 习惯性便秘者。

### 2.2 受试者排除标准

2.2.1 不能经口进食者或不能按规定服用受试样品者。

2.2.2 主诉不清者。

2.2.3 体质虚弱无法进行试验者。

2.2.4 30 天内进行过外科手术引起便秘症状发生者。

2.2.5 因严重器质病变引起的近期排便困难者（结肠癌，严重的肠炎、肠梗阻，炎症性肠病等）

2.2.6 便秘困难并伴有疼痛者。

2.2.7 30 天内发生过急性胃肠道疾病者。

2.2.8 孕期及经期妇女。

2.2.9 合并有心血管、肝、肾和造血系统等严重全身疾病患者。

2.2.10 有其它伴随疾病正在治疗者。

2.2.11 短期内服用与受试功能有关的物品，影响到对结果的判断者。

### 2.3 试验设计及分组要求

采用自身和组间对照两种试验设计。接受试者的便秘症状（排便次数、粪便性状、症状持续时间等）随机分为试食组和对照组，尽可能考虑到影响结果的主要因素如年龄、性别、日常饮食、便秘原因等，进行均衡性检验，以保证组间的可比性。每组受试者不少于 50 例。