

促结肠动力中药筛选及其机制

衣兰娟, 田琳, 梁宁霞, 魏睦新

衣兰娟, 田琳, 梁宁霞, 魏睦新, 南京医科大学第一附属医院
中医科 江苏省南京市 210029
衣兰娟, 2002年山东中医药大学学士, 南京医科大学硕士研究生在读, 住院医师, 主要从事胃肠动力方面研究。
江苏省“135”工程重点人才项目, No. RC2002049
通讯作者: 魏睦新, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院中医科. yilanjuanhj@163.com
电话: 025-83716602 传真: 025-83716602
收稿日期: 2006-07-04 接受日期: 2006-07-31

Selection of Chinese medicine with procontractile activity on colonic muscle and its mechanism

Lan-Juan Yi, Lin Tian, Ning-Xia Liang, Mu-Xin Wei

Lan-Juan Yi, Lin Tian, Ning-Xia Liang, Mu-Xin Wei,
Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by the Key Talent Foundation of the “135” Project from the Government of Jiangsu Province, No. RC2002049
Correspondence to: Dr. Mu-Xin Wei, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. yilanjuanhj@163.com
Received: 2006-07-04 Accepted: 2006-07-31

Abstract

AIM: To determine the procontractile activity of six Chinese herbal medicines, including Rhizoma Atractylodis Macrocephalae (RAM), Fructus Foeniculi (FF), Herba Taraxaci (HT), Semen Raphani (SR), Pericarpium Arecae (PA) and Rhizoma Curcumae (RC) on the colonic muscle strips isolated from guinea pigs, and study the possible mechanisms.

METHODS: The colonic longitudinal muscle strips of guinea pigs were prepared. Sodium chloride (9 g/L) and acetylcholine were used in the controls. The effects of six Chinese herbal medicines (RAM, FF, HT, SR, PA, RC) and the control medicine on the contraction of isolated colonic strips from guinea pigs were observed. The results were expressed with contraction amplitude (g), contraction time, and area under curves (AUC, $g \cdot s$), and the maximal wave

height was analyzed 5 min within the addition of drugs.

RESULTS: The six Chinese herbal medicines (PA, SR, HT, FF, RC, and RAM, respectively) induced a significant elevation of colonic contractile response in comparison with normal saline did (contraction amplitude: 0.97 ± 0.40 , 0.95 ± 0.26 , 0.87 ± 0.49 , 0.85 ± 0.26 , 0.78 ± 0.39 , 0.60 ± 0.25 vs 0.03 ± 0.04 , $P < 0.01$; AUC: 1.40 ± 1.00 , 0.75 ± 0.79 , 0.62 ± 0.54 , 0.64 ± 0.59 , 0.40 ± 0.37 , 0.29 ± 0.15 vs 0.11 ± 0.06 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$), of which PA had the strongest effect, and the contraction time was 175 ± 238.07 s. Atropine and verapamil caused an evident suppression of colonic contraction induced by the Chinese medicines ($P < 0.01$).

CONCLUSION: All the six Chinese herbal medicines PA, SR, HT, FF, RC, and RAM have procontractile activity on colon smooth muscle, which is mediated by M receptor and depends on the presence of extracellular calcium.

Key Words: Chinese herbal medicine; Gastrointestinal motility; Smooth muscle; Colon; Guinea pig

Yi LJ, Tian L, Liang NX, Wei MX. Selection of Chinese medicine with procontractile activity on colonic muscle and its mechanism. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(32):3093-3097

摘要

目的: 探讨中药生白术、小茴香、蒲公英、莱菔子、大腹皮、莪术的促结肠动力作用, 以筛选出具有开发价值的促结肠动力药物, 并探讨其初步机制。

方法: 制备豚鼠结肠纵肌, 以9 g/L氯化钠溶液和乙酰胆碱为对照, 观察6味中药对离体结肠肌条收缩活性的效应。实验结果以振幅(g)、时间(s)和曲线下面积(g·s)表示。分析对象为加药后5 min内出现的最大波形。

结果: 该6味中药对肌条均有不同程度的兴奋效应, 中药组(依次为大腹皮、莱菔子、蒲公

■背景资料

中医中药有着2000余年经验的积累, 近年来人们对中药的胃肠动力影响及其调节机制也作了一些探索, 并提出了“胃肠动力中药”这一概念。从中药中探索寻找胃肠活性中药及其先导化合物, 将是一条高效的研发渠道, 国外对此也很关注。

■相关报道

近来一些学者作了一些实验研究,取得了一定的成绩.如在离体器官水平朱氏等通过测定标记物葡萄糖蓝在大鼠胃内的残留量及小肠推进情况,研究了15味中药的促胃肠动力作用.为我们中药研究提供了参考.

公英、小茴香、莪术、生白术)与生理盐水组相比,振幅峰值(0.97 ± 0.40 , 0.95 ± 0.26 , 0.87 ± 0.49 , 0.85 ± 0.26 , 0.78 ± 0.39 , 0.60 ± 0.25 vs 0.03 ± 0.04 , $P < 0.01$)和曲线下面积(1.40 ± 1.00 , 0.75 ± 0.79 , 0.62 ± 0.54 , 0.64 ± 0.59 , 0.40 ± 0.37 , 0.29 ± 0.15 vs 0.11 ± 0.06 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)均有显著性差异,以大腹皮作用最强,时间长达 175 ± 238.07 s.在阿托品和维拉帕米分别预孵育情况下,加入各中药后与单独中药组的肌条收缩幅度增强的幅度明显减弱,两组间差异有显著性(中药+拮抗剂组 vs 中药组, $P < 0.05$).

结论:该6味中药对结肠平滑肌均有不同程度的兴奋效应,引起的收缩效应可被M受体阻断剂阿托品部分阻断,通过细胞外 Ca^{2+} 内流介导.

关键词: 中药; 胃肠动力; 平滑肌; 结肠; 豚鼠

衣兰娟, 田琳, 梁宁霞, 魏睦新. 促结肠动力中药筛选及其机制. 世界华人消化杂志 2006;14(32):3093-3097
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3093.asp>

0 引言

脾胃为气血生化之源,后天之本.消化系统疾病与脾胃运化、升降失常有密切关系.消化道常见症状如胃脘痛、腹胀、纳呆、嗝气等均是脾胃运化失常的结果.研究中药的胃肠动力作用对消化系疾病的治疗具有重要意义.生白术、蒲公英、小茴香、莱菔子、大腹皮、莪术对在体胃肠运动及离体胃活动的影响已有一定报道^[1-4].关于这些中药对离体结肠活动作用的报道较少.本文初步探讨上述6味中药对大鼠离体结肠纵肌肌条收缩活动的影响,并初步探讨其作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级Hartley系豚鼠(上海斯莱克实验动物有限公司提供),体质量 240 ± 30 g, δ .生白术、蒲公英、小茴香、莱菔子、大腹皮、莪术(购自江苏省药材公司,符合《中华人民共和国药典》1995年版的有关规定).氯化乙酰胆碱(Sigma公司),制备成 1×10^{-2} mol/L的溶液备用.生白术、蒲公英、小茴香、莱菔子4味中药先用4倍左右的蒸馏水浸泡1 h,然后煎煮2次,分别为30 min和20 min,合并煎液,水浴浓缩成100%的药液(含生药1 kg/L),4000 r/min离心30 min,取上清液,4℃保存备用.取配制好的生白术、蒲

公英、小茴香、莱菔子各1 mL 10倍稀释3次,浓度为0.1-0.001 kg/L.微量多导离体器官水平浴槽及配套器材(日本国立生理学研究所),RM-6240型四导生理记录仪及配套软件(成都仪器厂),肌肉张力换能器(JZ101型,新航机电设备有限公司),HL-2B数显恒流泵(上海沪西分析仪器厂有限公司).

1.2 方法 动物购进且适应性饲养1 wk后,每次取豚鼠1只,禁食不禁水24 h,颈动脉放血处死,开腹,迅速自肛门上2 cm处取长约15 cm结肠,轻柔洗净,剪成小段置于4℃ Krebs液中,通950 mL/L O_2 加50 mL/L CO_2 备用.沿肠系膜剪开结肠,取肠系膜对侧结肠纵肌肌条(7 mm×1 mm),浴槽中同时悬挂4根肌条,每根肌条一端以非弹性细丝固定于浴槽(容积为4 mL)中,另一端与张力换能器相连.以1 mL/min的流速持续灌流Krebs液,并通950 mL/L O_2 加50 mL/L CO_2 .施加500 mg预初张力,平衡60 min,以结肠自律性收缩不明显或轻微时为平衡标准.平衡后,滴加药物于浴槽中.加药顺序如下: 9 g/L氯化钠溶液(空白对照)、 1×10^{-2} mol/L氯化乙酰胆碱(ACh)、生白术、小茴香、蒲公英、莱菔子、大腹皮、莪术(以上药物均为100%).每种药物每次均加入40 μL 且重复2-3次,取均数后作为实验数据.平衡至基础张力引发的收缩基本回到零位后滴加下一药物.依次加入浓度为0.001-1 kg/L 4个梯度的生白术、小茴香、蒲公英、莱菔子,每一浓度加入40 μL ,观察不同浓度对肌条的收缩效应.加入 1×10^{-2} mol/L ACh 40 μL 以标化肌条活力(即同一肌条其加药收缩占ACh引发的收缩百分比作为实验数据).RM6240型生理记录仪实时记录.实验结果以振幅、时间和曲线下面积表示.分析对象为加药后5 min内出现的最大波形.

统计学处理 所有数据均经SSPS 12.0软件处理并以mean±SD表示,采用配对t检验作各组比较.以ACh的观察指标为100%分别标准化相应纵肌的观察指标作图.

2 结果

2.1 中药对平滑肌纵肌的作用比较 各味中药对肌条均有不同程度的兴奋作用(实时记录曲线见图1,图中纵坐标表示收缩振幅,用g表示,每一格表示1 g,横坐标表示收缩时间,用s表示,每一格表示50 s),与NS对照组相比有显著性差异($P < 0.05$).其中以大腹皮作用最强,峰值为 0.97 ± 0.40 g,收缩时间最长,为 175 ± 238.07 s.其他药

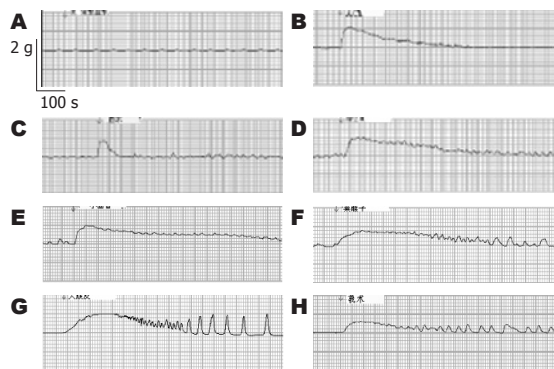


图1 各中药对结肠平滑肌收缩作用的实时描记曲线。A: NS; B: ACh; C: 生白术; D: 蒲公英; E: 小茴香; F: 莱菔子; G: 大腹皮; H: 莪术。

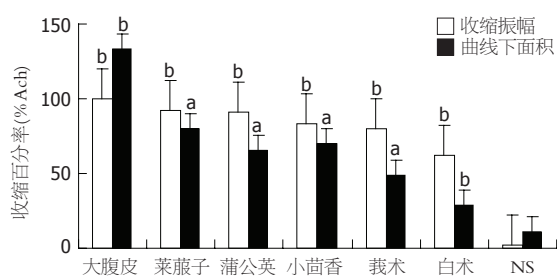


图2 不同中药对结肠纵肌收缩作用的影响(mean \pm SD, $n = 10$). ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs NS.

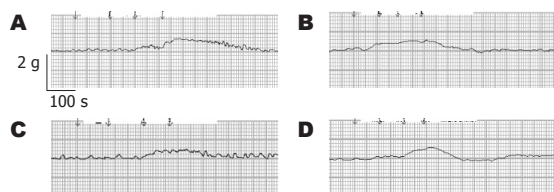


图3 中药的量效实时描记曲线。A: 莱菔子; B: 小茴香; C: 生白术; D: 蒲公英。

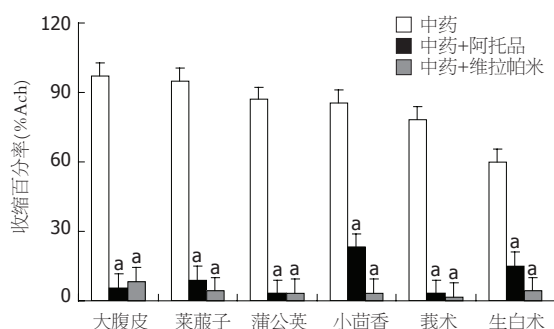


图4 不同阻断剂对中药增强纵肌收缩幅度的影响(mean \pm SD, $n = 6$). ^a $P < 0.05$ vs 中药组。

物对纵肌收缩效应的峰值由大到小依次为莱菔子、蒲公英、小茴香、莪术、生白术(表1, 图2)。莱菔子、小茴香、生白术、蒲公英的结肠平滑

表1 不同药物对纵肌的作用($n = 10$, mean \pm SD)

分组	峰值 (g)	收缩时间 (s)	曲线下面积 (g \cdot s)
大腹皮	0.97 \pm 0.40 ^b	175 \pm 238.07	1.40 \pm 1.00 ^b
莱菔子	0.95 \pm 0.26 ^b	162.91 \pm 91.69	0.75 \pm 0.79 ^a
蒲公英	0.87 \pm 0.49 ^b	74.75 \pm 31.12	0.62 \pm 0.54 ^a
小茴香	0.85 \pm 0.26 ^b	53.25 \pm 11.73	0.64 \pm 0.59 ^a
莪术	0.78 \pm 0.39 ^b	75.75 \pm 66.35	0.40 \pm 0.37 ^a
生白术	0.60 \pm 0.25 ^b	58.5 \pm 37.62	0.29 \pm 0.15 ^b
生理盐水	0.03 \pm 0.04	11.41 \pm 2.29	0.11 \pm 0.06

药物组 vs 空白对照组, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

肌收缩作用呈剂量依赖性的加强趋势(图3)。

2.2 不同拮抗剂对收缩效应的影响 将 1×10^{-6} mol/L阿托品和 1×10^{-6} mol/L维拉帕米孵育肌条,加入各中药后其收缩效应减弱,与单独中药组相比,两组间差异有显著性($P < 0.01$, 图4)。

3 讨论

结肠是消化道的重要组成部分,主要生理功能为吸收水分、某些电解质、短链脂肪酸和细菌的代谢产物,贮存和排泄粪便。结肠的精确运动形式主要表现为袋状往返运动、分节推进运动、多袋推进运动和蠕动等4种类型^[5]。其运动的调控主要依赖于电活动在肠肌内的扩散,肠内神经的反射,交感、副交感神经的反射和激素调节。当今许多疾病是由于结肠的动力紊乱引起或伴随有结肠动力的异常,例如:便秘、腹泻、肠易激综合征、结肠憩室症、溃疡性结肠炎等,对结肠正常动力的研究将帮助我们了解多种结肠动力有关的结肠疾病,并有助这些疾病的治疗。在临床上常用的消化道动力药物中,西沙必利由于对心脏和其他方面的毒副作用^[6-7],使其应用受到限制,传统中药可有效地治疗上腹胀满、纳差、嗝气等症状,并且近些年的实验研究表明,很多种类的中药如理气药、芳香化湿药、补益药、活血化瘀药等对胃肠动力具有不同程度的促进作用^[8]。本研究着重于从传统药物中寻找有效的结肠动力药物,有助于进一步指导临床,并对其机制作初步探讨,为深入发掘并开发具有我国自主知识产权的结肠动力中药打下基础。从离体实验着手,排除中枢神经、体液因素的影响,观察各味中药对结肠收缩效应的影响。

本实验用 37°C 恒温、 950 mL/L O_2 加

■应用要点

本研究在方法学方面的研究成果,可以广泛地运用于各种胃肠活性药物的研究,以及其他平滑肌(如气管、胆囊、血管和子宫等)活性药物的研究。除细胞学研究需要一定的条件外,整体实验和平滑肌实验对实验室条件要求不高,便于推广应用。通过课题研究,能够在胃肠活性中药先导化合物探索领域,进行初步尝试,构筑筛选研究的实验体系和实验平台,为临床新药研发奠定基础。

在对古今中医医药文献记载的初步研究的基础上,对槟榔、大腹皮、莱菔子、小茴香、生白术、蒲公英、莪术等相关中药胃肠动力作用进行药理活性的筛选,并进行槟榔组分槟榔碱的胃肠活性研究,研究结果为指导临床辨证论治用药提供了客观依据。

50 mL/L CO_2 及Krebs液浸浴组织等方法模拟生态环境,记录到的离体肌条活动稳定可靠.以NS和ACh为对照,观察6味中药对豚鼠离体结肠平滑肌肌条的收缩活性的效应.结果表明,在6味中药的刺激下肌条均呈现兴奋性效应.其中以大腹皮的效应最强,峰值、作用时间、曲线下面积均超过标准对照品ACh,大肚皮兴奋肌条后,其兴奋作用维持时间较久,不易洗去.这种在一定范围内延长结肠收缩时间促进结肠收缩运动的方式,是一种缓解便秘较为温和的方式,具有重要临床意义.大肚皮属棕榈科植物槟榔的果皮部分,我们课题组曾对槟榔进行研究^[9],发现其收缩结肠的动力作用很强,故对大腹皮的进一步研究具有重要的临床意义.

消化道平滑肌上胆碱能受体均属M型,阿托品是最常用的M型受体阻断剂.上述6味中药对结肠的平滑肌的收缩效应可被阿托品阻断,提示各中药的作用部分由M受体介导.离子通道的信号传递也是细胞外信号调控胃肠道平滑肌细胞活动的一种重要途径,有赖于 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 等多种离子的存在,其中 Ca^{2+} 是肠道平滑肌的兴奋-收缩耦联者,当胞质内 Ca^{2+} 浓度至一定水平时,即使没有膜电位变化,也可触发肠道平滑肌收缩.L型 Ca^{2+} 通道是 Ca^{2+} 进入结肠细胞的主要通道,应用调控离子通道类药物将是今后治疗胃肠动力类药的新方向^[10].现已明确,ACh是胃肠道最重要的神经递质之一,其可以与毒蕈碱的 M_2 型受体结合.副交感神经节后纤维释放ACh作用于平滑肌M受体后可开放质膜上L型 Ca^{2+} 通道,产生内流致肌收缩^[11].加入 Ca^{2+} 通道阻断剂维拉帕米后,6味中药对结肠的平滑肌的收缩效应明显减弱.

在以往报道中,具有促胃肠动力的中药绝大部分具有行气功能,但总体上难以寻找规律.我们在药物的选择上根据文献报道及药物不同的炮制方法会影响药效的发挥,在实验中选择生白术和炒莱菔子.古籍中记载治疗泄泻多用炒白术,治疗便秘以生白术居多.张印^{et al}^[12]报道,观察不同炮制品对小鼠小肠运动的影响,发现生白术水煎剂较炒白术有更明显的促进动物小肠运动的功能.丹溪云,“莱菔子治痰有冲墙倒壁之功,必取其生用耳……味辛能升,熟则能降,入肺生用,吐风痰散风寒,发疮疹,降则定喘嗽,调下痢后重止气痛.”李文惠^{et al}^[13]报道,莱菔子的不同制品均能使离体兔肠的收缩幅度增高,且临床常用炒制品,故在实验

中我们选取生白术和炒莱菔子.

关于实验中使用药物的最佳浓度,尚无统一的参考标准,我们根据临床用药的常用剂量进行折算,选择人体给药量的200倍作为最终灌流液的最高加药浓度,各实验药物出现剂量依赖性的收缩效应,拮抗剂的使用也呈现了明显的抑制效应,我们认为该方法可以作为离体器官的实验用药剂量参考,加以推广应用.实验中我们也对部分中药探讨最低效应浓度,发现最低有效剂量为最高活性加药浓度的1/1000.

本实验所用浴槽为多导微量离体器官浴槽,由日本国立生理研究所开发.在国内,由本实验室魏睦新教授率先引进并加以改进.此装置可将4根微小肌条置于同一浴槽中,实现了多标本药效作用的同步观察^[5],4根肌条可相互参照,大大提高了实验数据的准确性和可靠性及实验效率.浴槽容积仅4 mL,可在很大程度上节约昂贵的实验试剂,并且实现了试剂的均匀溶解,均匀作用.此外,由于标本水平配置,便于加装标本.该系统具有高效、操作简便、节约试剂等优点.

中药种类繁多,我们在实验中探讨了上述6种中药对结肠纵肌运动的影响,为临床用药提供了一定的理论依据,同时本实验观察了几种受体拮抗剂对上述6味中药作用的影响,为今后进一步研究他们的作用机制提供了一定的实验依据.另外,中药成分复杂,其对结肠收缩活动的兴奋作用与哪种成分有关,尚需进一步研究.中药作用程度、作用的肌条类型以及作用于结肠的部位均有一定的差异,从而决定其对结肠运动的作用非常复杂,其作用的有效成分、作用的有效浓度、作用靶点、作用机制等尚需要进一步的深入研究.

4 参考文献

- 1 朱金照,冷恩仁,陈东风,史洪涛,桂先勇. 15味中药促胃肠动力作用的筛选研究. 第三军医大学学报 2000; 22: 436-438
- 2 朱金照,冷恩仁,周文. 大肚皮促胃肠动力作用的机制研究. 解放军医学杂志 2000; 25: 133-134
- 3 王君,孔彦,王辉. 莱菔子对豚鼠离体回肠的动力作用. 大连大学学报 2000; 21: 80-81
- 4 魏兰福,邹百仓,魏睦新. 莪术对大鼠胃动力影响的实验研究. 湖南中医杂志 2003; 19: 58-59
- 5 Wei MX, Naruse S, Nokihara K, Ozaki T, Ando E, Wray V. A study of structure-activity relationship of PACAP. *China Natl J New Gastroenterol* 1996; 2: 131-133
- 6 Benatar A, Feenstra A, Decraene T, Vandenplas Y. Effects of cisapride on corrected QT interval, heart rate, and rhythm in infants undergoing polysomnography. *Pediatrics* 2000; 106: E85

- 7 Enger C, Cali C, Walker AM. Serious ventricular arrhythmias among users of cisapride and other QT-prolonging agents in the United States. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2002; 11: 477-486
- 8 沙建飞. 胃动力中药初探. *中国医药学报* 1993; 8: 5-7
- 9 司春峰, 魏睦新. 中药促结肠动力作用的筛选研究. *中国中西医结合消化杂志* 2003; 11: 346-348
- 10 李彩丽, 徐三平, 侯晓华. 匹维溴铵对人离体横结肠肌条的作用. *胃肠病学和肝病学杂志* 2005; 14: 137-140
- 11 周吕, 柯美云. *胃肠动力学基础与临床*. 北京: 科学出版社, 1999: 216
- 12 张印, 窦永起. 白术不同炮制品对小鼠小肠运动的影响. *国医论坛* 2005; 20: 13-14
- 13 李文惠, 黄维良, 朱训富, 胡昌江, 刘龙成, 谭世德, 叶功伟, 魏宏. 莱菔子不同炮制品对动物胃和小肠运动的影响. *成都中医学院学报* 1985; 2: 47-50

电编 张敏 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2007 中华肝胆胰脾外科(国际)学术论坛征文通知

本刊讯 “2007中华肝胆胰脾外科(国际)论坛”应澳门特区外科学会的盛情邀请于2007-04-13/16在澳门举办, 现将征文通知公布如下:

1 征文内容

(1)肝癌诊断及外科与综合治疗: 新诊断技术-可切除与否的界定-综合治疗与序贯化思路-对复发转移的研究进展-微创技术实际应用的可能性; (2)医源性胆管损伤的预防-胆管下端功能状态对修复及重建的影响-肝胆管结石外科治疗的新经验-肝门胆管癌根治性切除的实施与效果; (3)胰腺炎-重症急性、出血坏死性、“凶险性”-治疗中早期复苏的策略与实施-相关并发症的预防和处理; (4)胰腺癌-早期诊断的思路与进展-根治术在当前的含义和尺度-术前减黄与并发症的处理; (5)脾功能研究进展-保脾和切脾含义和抉择-PH时单纯切脾的指征与价值; (6)肝移植-应用指征的决策-供肝切取与保存-技术性与非技术性并发症-再移植-远期存活的努力。

2 投稿要求及截稿日期

来稿请寄未曾公开发表过4000字以内全文及800字论文摘要各1份(无摘要不入汇编)并请在信封上注明“会议征文”。截稿日期: 2007-01-31. 正式代表发论文证书并授一级继续教育学分. 来稿请寄: 《中华肝胆外科杂志》编辑部。

3 联系方式

地址: 北京市复兴路28号; 邮编: 100853; 电话: 010-66936223; 电传: 010-68177009; E-mail: zhgdwkzz@vip.163.com; 详情请登陆网站: www.zhgdwkzz.net.