

莪术对大鼠结肠平滑肌收缩的促进作用及机制

吕涛, 魏睦新

■背景资料

促胃肠动力中药的研究近年来取得了许多有意义的研究结果, 大多集中在理气药、补益药等方面的研究, 对于活血化瘀药物的研究不是很多。本文以莪术为研究对象, 探讨其对胃肠运动的促进作用及机制, 拓宽了促胃肠运动中药的范围。

吕涛, 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

江苏省兴卫工程中医药领军人才基金资助项目, No. 苏卫规财2007/158

江苏省六大人才高峰专项基金资助项目, No. 07-B-015 (IB07)

作者贡献分布: 此课题由魏睦新教授指导, 吕涛设计并实施; 数据分析及论文写作由吕涛完成, 魏睦新教授审核。

通讯作者: 魏睦新, 教授, 博士生导师, 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。

weimuxin@njmu.edu.cn

电话: 025-86862919

收稿日期: 2009-07-09 修回日期: 2009-08-27

接受日期: 2009-08-31 在线出版日期: 2009-09-18

Rhizoma curcumae promotes the contraction of rat colonic smooth muscle strips *in vitro*

Tao Lv, Mu-Xin Wei

Tao Lv, Mu-Xin Wei, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Special Fund for Outstanding Academic Leaders in Chinese Medicine in Jiangsu Province, Su Wei Gui Cai No. 2007/158; and the "Six Great Talents" Research Foundation of Jiangsu Province, No. 07-B-015(1B07)

Correspondence to: Professor Mu-Xin Wei, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn

Received: 2009-07-09 Revised: 2009-08-27

Accepted: 2009-08-31 Published online: 2009-09-18

Abstract

AIM: To determine the effect of *Rhizoma curcumae* (RC) on the contraction of rat colonic smooth muscle strips *in vitro* and investigate the mechanisms involved.

METHODS: Rat colonic longitudinal smooth muscle strips were prepared and treated with sodium chloride solution (9 g/L, control group) or different concentrations of RC (treatment group) to observe the effects of RC on the spontaneous contraction of the strips. Besides, the impact of verapamil, phentolamine and atropine on RC-induced contraction of colonic smooth muscle strips was examined by incubating each of these drugs with the strips.

■同行评议者

任超世, 研究员, 中国医学科学院生物医学工程研究所

RESULTS: RC of different concentrations (0.01-10 g/L) promoted the spontaneous contraction of colonic muscle strips *in vitro* in a dose-dependent manner. The peak contraction amplitude and the area under the curve of contraction of colonic smooth muscle strips were significantly lower in the treatment group (RC at a concentration of 1 or 10 g/L) than in the control group ($63.92\% \pm 2.06\%$ and $76.27\% \pm 2.28\%$ vs 100% , and $44.09\% \pm 11.10\%$ and $55.66\% \pm 10.29\%$ vs 100% , respectively; $P < 0.05$ or 0.01). Atropine and verapamil could significantly decrease the peak contraction amplitude and the area under the curve of contraction of colonic smooth muscle strips treated with RC ($87.35\% \pm 50.49\%$ and $73.80\% \pm 9.37\%$ vs 100% , and $33.97\% \pm 15.18\%$ and $27.55\% \pm 11.56\%$ vs 100% , respectively; all $P < 0.05$ or < 0.01).

CONCLUSION: RC promotes the spontaneous contraction of rat colonic smooth muscle strips *in vitro* perhaps via an calcium- and M-cholinergic receptor-dependent but α -adrenoceptor receptor-independent mechanism.

Key Words: Chinese medicine; *Rhizoma curcumae*; Smooth muscle; Colon

Lv T, Wei MX. *Rhizoma curcumae* promotes the contraction of rat colonic smooth muscle strips *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(26): 2718-2821

摘要

目的: 观察莪术对离体大鼠结肠平滑肌收缩运动的影响, 并初步探讨其作用机制。

方法: 制备大鼠结肠平滑肌肌条, 以9 g/L NaCl溶液(NS)为对照组, 观察不同浓度莪术对结肠平滑肌的收缩效应; 以莪术为对照组, 分别观察酚妥拉明、维拉帕米和阿托品3种阻断剂孵育肌条后, 莪术对肌条的收缩效应。

结果: 莪术高浓度组对离体大鼠结肠平滑肌的促进作用明显, 与NS对照组比较, 莪术1 g/L、10 g/L组引起的肌条最大收缩振幅和曲线下面积均有统计学意义(63.92 ± 2.06 , 76.27 ± 2.28 vs 100% ; 44.09 ± 11.10 , 55.66 ± 10.29 vs

100%, $P < 0.05$ 或 < 0.01); 与单独莪术组比较, 阻断剂维拉帕米和阿托品对莪术引起的肌条收缩有抑制作用, 其最大收缩振幅和曲线下面积均有统计学意义($87.35\% \pm 50.49\%$, $73.80\% \pm 9.37\%$ vs 100% , $33.97\% \pm 15.18\%$, $27.55\% \pm 11.56\%$ vs 100% , $P < 0.05$ 或 < 0.01).

结论: 莪术对大鼠结肠平滑肌的收缩活动有兴奋作用, 且与剂量呈正相关, 其引起的收缩效应可被阿托品和维拉帕米阻断, 而未能被酚妥拉明阻断.

关键词: 中药; 莪术; 结肠; 平滑肌; 促进

吕涛, 魏睦新. 莪术对大鼠结肠平滑肌收缩的促进作用及机制. 世界华人消化杂志 2009; 17(26): 2718–2721
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2718.asp>

0 引言

近年来我国功能性胃肠病的发病呈上升趋势, 由于中医药在治疗中通过辨证施治, 能调整脏腑功能的失衡, 改善消化系症状且不良反应小, 因此中药对胃肠运动的调节作用逐渐受到人们的关注. 随着对胃肠动力学生理、病理的深入研究, 学者们^[1-3]在中药促胃肠动力的作用及其调节机制方面做了许多有益的探索和研究. 魏兰福 *et al*^[1]通过在体实验发现25%莪术(*Rhizoma curcumae*, RC)水煎剂对胃电节律失常有改善作用, 可提高胃窦、空肠组织中胃动素的含量及降低血管活动肠肽的含量, 具有促进胃动力的作用. RC性辛、苦、温, 归肝脾经, 具有行气破血, 消积止痛作用, 在中药书中一直被列为活血破瘀类药物, 日本将其归为助消化类, 临床上可用于改善胃动力, 加强胃肠运动功能. 但RC对离体结肠平滑肌活动作用的报道较少, 本文通过RC对大鼠离体结肠平滑肌收缩活动的影响, 探讨其作用的量效关系及可能机制.

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD大鼠6只, 雌雄各半, 体质量(200 ± 20) g, 由南京医科大学实验动物中心提供; RC颗粒由江阴天江药业有限公司生产, 批号0807033. 实验前将RC溶解于纯水, 经充分震荡混匀, 离心, 浓缩上清液, 制备成含生药1、10、100、1000 g/L 4个梯度的RC溶液; 氯化乙酰胆碱(Ach), 上海三爱思试剂有限公司, 批号20060328; 酚妥拉明(FTLM), Novartis Pharma Schweiz AG, Switzerland, 批号S0046; 维拉帕米(WLPM), 上

海禾丰制药有限公司, 批号070901; 硫酸阿托品(ATP), 上海禾丰制药有限公司, 批号080901; 9 g/L NaCl溶液(NS), 南京小营药业集团有限公司; Krebs液: NaCl 112.08 mmol, KCl 5.90 mmol, CaCl_2 1.97 mmol, MgCl_2 1.18 mmol, NaH_2PO_4 1.22 mmol, NaHCO_3 25.0 mmol, Glu 11.49 mmol, 所用试剂均为国产分析纯AR级, 实验时新鲜配制, 给予950 mL/L O_2 加50 mL/L CO_2 15 min, 调整pH至7.4; 微量多导体外器官水平浴槽及配套器材(日本国立生理研究所); JZ101肌肉张力换能器(新航机电公司); RM-6240四道生理记录仪(成都仪器厂); 艾科浦 P系列纯化水机(重庆市颐洋企业发展有限公司); 洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司).

1.2 方法

1.2.1 实验药物RC浓度的确定: 参照RC临床常用剂量每次10 g, 假设服药后主要成分全部吸收循环到体内, 以此浓度为基准. 根据人体与动物的换算标准, 确定RC的实验浓度范围.

1.2.2 结肠平滑肌条的制备: 动物购进后适应性饲养1 wk, 每次取1只, 禁食不禁水24 h, 颈椎脱臼处死, 开腹, 迅速自肛门上2 cm处取长约8 cm结肠, 用Krebs液轻柔洗净, 剪成小段置于4℃ Krebs液中, 沿肠系膜剪开结肠, 取肠系膜对侧结肠纵肌肌条($10 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$), 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10 mL)硅胶座中, 另一端与张力换能器相连. 用恒流泵以1 mL/min的流速持续灌流Krebs液, 持续给予950 mL/L O_2 加50 mL/L CO_2 , 给平滑肌条施加500 mg预初张力, 平衡60 min, 以结肠平滑肌自律性规则、稳定的自发收缩为平衡标准.

1.2.3 实验顺序: 以NS为空白对照, 肌条平衡后, 滴加药物于浴槽中: 依次加入NS、Ach及4个浓度梯度的RC, 每种药物每次均滴加100 μL , 其终末浓度分别为0.09 g/L, 1×10^{-6} mol/L, 0.01、0.1、1、10 g/L, 加入药物并记录收缩曲线. 药物每次均重复加2-3次, 取均数后作为实验数据. 滴加药物时要等待肌条平衡至基础张力引发的收缩基本回到零位. 分析对象为加药后5 min内出现的最大收缩振幅(g)和曲线下面积(g·s). 实验数据以最大收缩振幅和曲线下面积占Ach引发的收缩百分率表示.

1.2.4 阻断剂加入顺序: 以RC引起的肌条收缩作为空白对照, 重新调整肌条平衡, 5 min后依次滴加FTLM(终浓度 1×10^{-5} mol/L), WLPM(终浓度1

■研发前沿

现代研究发现莪术根茎含有挥发油约1%-2.5%, 还含有莪术酮、 β -榄香烯、莪术醇和姜黄素等20余种化学成分以及微量元素. 药理研究显示, 莪术具有降脂、抗炎、镇痛、抗肿瘤等一系列药理作用. 莪术有促胃运动的作用, 但对肠道平滑肌的研究还未见报道, 有待于进一步研究.

■创新盘点

莪术是一味具有广泛药效作用的活血祛瘀药, 其挥发油具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌、抗早孕、降酶等功用, 且毒性低, 但本实验重点讨论了莪术对肠道的作用, 发现其有明确的促进结肠平滑肌运动的作用.

■应用要点

本实验在对古今中医文献记载的初步研究的基础上,就莪术对肠道动力的促进作用进行了初步探索,在方法学方面的改进(多导水平离体实验系统),可以广泛应用于各种胃肠活性药物的研究,以及其他平滑肌(如气管、血管、子宫等)活性药物的研究,便于推广运用。

表 1 不同浓度RC对大鼠结肠平滑肌自发收缩的影响 (mean ± SD)

RC(g/L)	最大收缩振幅(%)	P值 ¹	收缩曲线下面积(%)	P值 ¹
0.01	48.95 ± 4.91	0.9610	29.76 ± 12.91	0.994
0.1	50.23 ± 4.04	0.5230	30.82 ± 10.66	0.881
1	63.92 ± 2.06	0.0001	44.09 ± 11.10	0.043
10	76.27 ± 2.28	0.0001	55.66 ± 10.29	0.001

¹与对照组比较。

表 2 阻断剂孵育后对RC促结肠平滑肌收缩的影响 (mean ± SD)

阻断剂	最大收缩振幅(%)	P值 ¹	收缩曲线下面积(%)	P值 ¹
FTLM	98.85 ± 3.82	0.8120	98.67 ± 3.61	0.7670
WLPM	87.35 ± 50.49	0.0160	73.80 ± 9.37	0.0010
ATP	33.97 ± 15.18	0.0001	27.55 ± 11.56	0.0001

¹与对照组比较。

$\times 10^{-7}$ mol/L), ATP(终浓度 1×10^{-6} mol/L) 进行孵育,并皆于1 min后滴加RC(终浓度10 g/L),每次加入药物并记录收缩曲线5 min,待波形平衡后再加入下一种药物。分析对象为加入RC后5 min内的收缩曲线,实验数据以最大收缩振幅和曲线下面积占RC空白组的百分率表示。

统计学处理 采用SPSS软件进行统计分析,数据以mean ± SD表示,并作One-way ANOVA统计处理,用Fisher LSD法多重比较。分别以Ach组、RC空白组的观察指标为100%分别标准化相应的观察指标作图,以减少实验动物个体差异带来的误差。

2 结果

2.1 不同浓度RC对大鼠结肠平滑肌自发收缩的影响 以Ach激发的平滑肌的收缩指标为100%,标准化处理实验数据。结果随RC浓度增大,其促进大鼠结肠平滑肌收缩的作用逐渐增强。各组最大收缩振幅及曲线下面积与NS对照组比较,其中RC 1 g/L, RC 10 g/L组的比较均有统计学意义($P < 0.05$ 或 < 0.01 ,表1,图1)。

2.2 三种阻断剂孵育后对RC促进离体大鼠结肠平滑肌收缩效应的影响 以RC (10g/L)引起的平滑肌的收缩指标为100%,并作为对照组。与RC组相比,ATP组、WLPM组对肌条的收缩有抑制作用,其最大收缩振幅和曲线下面积的比较均有统计学意义($P < 0.05$ 或 < 0.01 ,表2,图2),可

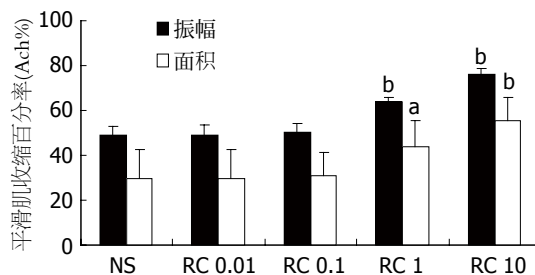


图 1 不同浓度RC(g/L)对结肠平滑肌自发收缩的影响。
^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs NS组。

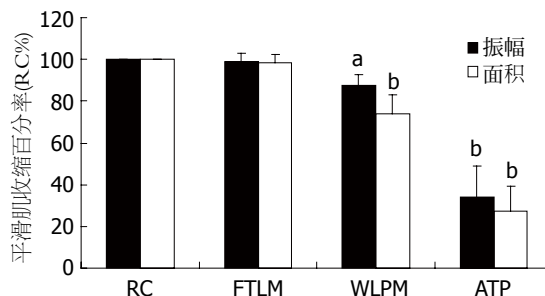


图 2 阻断剂孵育后对RC促结肠平滑肌收缩的影响。
^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs RC组。

以认为其有阻断作用;而FTLM组的比较则没有统计学意义。

3 讨论

胃肠道运动是消化系生理功能的重要组成部分,也是消化系最重要的功能之一,其调节机制非常复杂,包括中枢神经系统的作用、肠神经系统的作用以及众多脑肠肽(胃肠激素)的调节。胃肠动力障碍性疾病主要病理过程包括胃排空延迟及肠道排空减慢,胃肠协调运动紊乱等,其功能紊乱是引起消化系统症状的重要因素之一。正因为胃肠运动调节的多靶点特性,擅长于多靶点调节机体功能的中医中药,在胃肠动力障碍疾病中的运用,越来越引起人们的关注。

随着胃肠动力中药研究的深入,人们对各类中药的作用特点和机制进行了大量的研究。其中理气药、温里药等的机制比较明确。而在消化病中医临床实践中,活血行气法是一类应用普遍、疗效较好的治法。莪术为姜科植物蓬莪术、广西莪术或温郁金的干燥根茎。中医药学理论认为,其性辛、苦、温,具有行气活血的双重作用,兼有消积止痛的功效。在古代本草文献中,记载RC有健胃消食行气的作用。《药性论》云:“治一切气,开胃。”《药鉴》载:“气温,味苦辛,无毒。主心膈腹痛,饮食不消……止呕吐酸水。”《景岳全书》载:“在中焦攻饮食气滞

不消,胃寒吐酸膨胀。”现代研究发现RC根茎含有挥发油约1%-2.5%,还含有RC酮、 β -榄香烯、RC醇和姜黄素等20余种化学成分以及微量元素。药理研究显示,RC具有降脂、抗炎、镇痛、抗肿瘤等一系列药理作用^[4]。近年有报道用于改善胃动力,加强胃肠功能的报道^[5]。实验发现25%RC水煎剂有明显的促胃动力作用且最强,其机制可能与其调节肽能神经的体液有关^[6],这些研究为RC的临床应用提供了一定的实验依据。除胃动力障碍外,功能性便秘(functional constipation, FC)也是常见的功能性胃肠病。学术界根据功能性胃肠病的发病机制、诊断和治疗等方面研究的进展,2005年制定了罗马III标准^[7],中医临床提示,RC不仅对于胃病,而且对于肠道的促进作用也是明显的^[8]。本文结果,在RC的4个浓度组中,2个高浓度组对离体大鼠结肠平滑肌收缩表现的促进作用较明显,并呈正相剂量效应关系。消化系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。RC对结肠平滑肌的收缩效应可被阿托品阻断,提示其作用部分由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^{+} 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。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 Ca^{2+} 通道,产生内流,致平滑肌收缩^[9]。实验中加入 Ca^{2+} 阻断剂WLPM后,结肠平滑肌的收缩效应有明显减弱。FTLM为竞争性的非选择性 α -受体阻断剂,其孵育肌条后,RC对肌条的收缩效应无明显变化,提示RC对肌条的促进作用与 α -受体关系不大。从离体实验着手,可排除中枢神经、体液因素等的影响,能更好地观察中药的作用。本文对于RC的研究还不是很全面,其起作用的有效组分、作用的最佳剂量,以及在胃、肠调节方面的差异等问题尚需要进一步研究,其在细胞生物学方面的研究可能是今后的方向之一。

一般认为中药是多组分、多靶点作用的,本文还只是初步研究,对于功能性胃肠病的中药

新药研发,还有必要做更加深入的研究。目前一系列研究表明肠神经系统病变^[10],乙酰胆碱^[11]、P物质^[12]、一氧化氮(NO)^[13]等肠神经递质异常,Cajal细胞分布和功能异常^[14],以及水通道蛋白功能及分布异常^[15]等均可能与功能性胃肠病的发病有关。这可以为中医药作用的靶点以及研究的方向提供参考,提高中医药对功能性胃肠病的研究水平。

4 参考文献

- 1 魏兰福,邹百仓,魏睦新. 莪术对实验性功能消化不良大鼠胃排空的影响. 南京医科大学学报 2003; 23: 350-352
- 2 戴高中. 中医药治疗功能性便秘探析. 辽宁中医杂志 2008; 35: 839-842
- 3 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
- 4 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 化学工业出版社, 2005: 196
- 5 杨国利. 半夏厚朴汤加味治疗功能性消化不良66例. 陕西中医 2005; 26: 29-30
- 6 魏睦新,魏兰福,邹百仓. 莪术对大鼠胃动力及脑肠肽调节作用的实验研究. 中国中西医结合消化杂志 2008; 16: 292-294
- 7 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390
- 8 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: 3093-3097
- 9 周吕,柯美云. 胃肠动力学: 基础与临床. 第1版. 北京: 科学出版社, 1999: 21
- 10 Wedel T, Roblick UJ, Ott V, Eggers R, Schiedeck TH, Krammer HJ, Bruch HP. Oligoneuronal hypoganglionosis in patients with idiopathic slow-transit constipation. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 54-62
- 11 Tomita R, Fujisaki S, Ikeda T, Fukuzawa M. Role of nitric oxide in the colon of patients with slow-transit constipation. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 593-600
- 12 Porter AJ, Wattchow DA, Hunter A, Costa M. Abnormalities of nerve fibers in the circular muscle of patients with slow transit constipation. *Int J Colorectal Dis* 1998; 13: 208-216
- 13 Faussone-Pellegrini MS, Infantino A, Matini P, Masin A, Mayer B, Lise M. Neuronal anomalies and normal muscle morphology at the hypomotile ileocecolonic region of patients affected by idiopathic chronic constipation. *Histol Histopathol* 1999; 14: 1119-1134
- 14 袁维堂,刘金波,杨会峰. 少量钡餐胃肠传输功能检查及其临床意义. 中国医师进修杂志外科版 2006; 29: 14-16
- 15 方秀才,柯美云,胡品津. 聚乙二醇4000治疗成人功能性便秘疗效及安全性评价. 中国新药杂志 2002; 11: 479-483

■同行评价

本文实验方法和结果可信,对莪术促进胃动力机制研究有较好的指导及参考意义。

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕