

番泻苷 A 对慢传输型便秘大鼠肠动力的影响

李 冀^{1,2} 王景杰² 张 超³ 张 蓉² 张静瑜²

(1 西安市第六医院消化内科, 西安, 710000; 2 空军军医大学唐都医院消化内科, 西安, 710000; 3 西安市第三医院消化内科, 西安, 710000)

摘要 目的:探讨番泻苷 A 对慢传输型便秘(STC)大鼠肠动力的影响。方法:选取 5 周龄 SD 大鼠 30 只并随机分为对照组、模型组、番泻苷 A 组、番泻苷 A + ZD7288 组和莫沙比利组;除对照组,其余各组均用冰水灌胃法建立 STC 大鼠模型;以肠道炭沫推进百分率、离体结肠肌条收缩振幅和频率作为观察指标,采用电生理学法测定各组大鼠结肠肌条的电生理数据,同时通过使用超极化激活性环核苷酸门控性阳离子非选择性通道(HCN1)的特异阻断剂 ZD7288 观察结肠肌条电生理活动的变化。结果:番泻苷 A 组炭沫推进百分率高于模型组、番泻苷 A + ZD7288 组、莫沙比利组($P < 0.05$);番泻苷 A 组的离体肌条收缩频率较模型组、番泻苷 A + ZD7288 组、莫沙比利组明显增多($P < 0.05$);模型组、番泻苷 A + ZD7288 组与番泻苷 A 组比较,其离体结肠肌条收缩的振幅降低($P < 0.05$);番泻苷 A 组与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:番泻苷 A 通过提高大鼠肠平滑肌收缩的频率和振幅来促进肠道运动,促动力效果好于莫沙比利,HCN1 离子通道可能是番泻苷 A 的一个作用靶点。

关键词 番泻苷 A;慢传输型便秘;肠动力;大鼠;HCN1 通道;莫沙比利;肠平滑肌

Effects of Sennoside A on Intestinal Motility in Rats with Colonic Slow Transit Constipation

Li Ji^{1,2}, Wang Jingjie², Zhang Chao³, Zhang Rong², Zhang Jingyu²

(1 Department of Gastroenterology, Sixth Hospital of Xi'an, Xi'an 710000, China; 2 Department of Gastroenterology, Tangdu Hospital of Air Medical University, Xi'an 710000, China; 3 Department of Gastroenterology, Third Hospital of Xi'an, Xi'an 710000, China)

Abstract Objective: To observe the effects of Sennoside A on intestinal motility in rats with colonic slow transit constipation (STC). **Methods:** Thirty SD rats were randomly divided into five groups: normal control group, model group, Sennoside A group, Sennoside A + ZD7288 group and mosapride group. The STC rat model was established with ice water stimulation by gavage. The electrophysiology was used to detect the intestinal electrical activity. Percentage of carbon propelling, contraction amplitude and frequency of the muscle segments in vitro were observed. At the same time, the electrophysiological changes of the colonic muscle strips were observed by using the blockers of HCN1 (ZD7288), and the data were statistically analyzed. **Results:** The percentage of carbon propelling in the Sennoside A group was higher than those in the model group, Sennoside A + ZD7288 group and Mosapride group ($P < 0.05$). Compared with the Sennoside A group, the contraction frequency of the muscle segments in the model group, Mosapride group and Sennoside A + ZD7288 group decreased obviously ($P < 0.05$). The contraction amplitude of the muscle segments in the Sennoside A group was higher than those in the model group and ZD7288 + Sennoside A group ($P < 0.05$). However, there was no significant difference between the Sennoside A group and the normal control group ($P > 0.05$). **Conclusion:** Sennoside A could promote colon motility by increasing the contraction frequency and amplitude of the smooth muscle. The prokinetic effect of Sennoside A is better than mosapride. HCN1 may be a target ion channel of sennoside A.

Key Words Sennoside A; Slow transit constipation; Intestinal motility; Rats; HCN1; Mosapride; Intestine smooth muscle

中图分类号:R284 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.08.041

随着社会发展,人类生活节奏越来越快,加之饮食结构改变和人口老龄化,便秘对人类健康的影响也越来越显著;慢传输型便秘(STC)已成为世界范围内影响人们生命质量的重要因素之一^[1]。目前研究认为,STC 的病因及发病机制与肠神经系统异常、结肠平滑肌异常、结肠 Cajal 间质细胞(ICC)功能异常有关^[2]。番泻叶作为导泻剂,在我国已有千余年的应用历史,目前临床应用仍很广泛,临床实践发

现,番泻叶对许多胃肠动力障碍的疾病有明显的治疗作用,而且有着良好的临床治疗效果^[3-5]。番泻苷 A、B、C、D 是番泻叶主要的导泻成分,其中番泻苷 A 和 B 互为同分异构体,番泻苷 A 的含量较多,相对易于提取,此外番泻苷 A 不仅仅存在于番泻叶中,大黄和诃子中也含有大量的番泻苷 A,存在潜在的市场利用价值^[6-7]。本研究通过动物实验证实番泻苷 A 具有促进慢传输型便秘的肠道蠕动作用,且促肠

道动力作用强于莫沙必利,同时预测番泻苷 A 在肠道的作用靶点,为番泻苷 A 促肠道动力提供新的理论。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选取 SD 大鼠(5 周龄)30 只,SPF 级,雌雄各半,体重 120 ~ 140 g,第四军医大学动物试验中提供(生产许可证号:SYXK(军)-2012-0023,动物合格证号 SCXK(军)-2012-0007),常规实验室饲养,自由饮食。

1.1.2 药物 番泻苷 A(陕西药物研究所植物生化室提供,纯度为 95% 以上),先用少量 60% 乙醇助溶,然后用磷酸缓冲液将其配成 11.6 μmol/L,调 pH 为 7。根据《中华人民共和国药典》(一部)^[8] 计算出中药人鼠等效剂量,对照药物选用莫沙必利(成都康弘药业,生产批号:170615),规格:5 mg/片,实验时用生理盐水溶解成浓度为 0.05 g/L 药液。

1.1.3 试剂与仪器 恒温平滑肌槽(成都泰盟科技公司),多道生理记录仪(成都仪器厂),张力换能器(北京新航兴业科技公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和模型制备 选取 SD 大鼠 30 只,采用随机分组法随机分成对照组、模型组、番泻苷 A + ZD7288 组(HCN1 的特异性阻断剂)、番泻苷 A 组、莫沙必利组,每组 6 只;除对照组外,其余各组参考文献^[9-10] 采用冰水灌胃法建立 STC 模型,给予大鼠 0 ~ 4 ℃ 生理盐水 2 mL 灌胃,1 次/d,共 14 d。

1.2.2 给药方法 炭沫推进实验和离体肌条制备。实验前各组大鼠禁食 24 h,实验前 2 h,番泻苷 A + ZD7288 组大鼠尾静脉给予 HCN1 的特异性阻断剂 ZD7288(0.5 mmol/L)干预;实验前 1 h,对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、番泻苷 A + ZD7288 组(1.0 mg/mL)、番泻苷 A 组(1.0 mg/mL)、莫沙比利组(0.05 mg/mL),以上各组均灌服同体积液体(0.1 mL/100 g)。灌药 30 min 后给予活性炭混悬液(100 g/L)1 mL 灌胃,灌胃 20 min 后将大鼠脱颈处死,立即剖腹,截取从幽门到肛门的全部肠道,测量肠道全长和活性炭在肠道内推进长度,计算炭沫推进百分率;同时在距离肛门 5 ~ 10 cm 处截取一段结肠,放入盛有 4 ℃ Krebs 液的培养皿中,持续通入 5% CO₂ 和 95% O₂ 的混合气体,保持标本活性;快速剔除肠系膜,纵行剖开肠腔,用 Krebs 液洗净肠道内容物,将黏膜层朝上,用眼科镊和玻棒剥除黏膜层及黏膜下层组织,获得平滑肌片,并将其制备成 3 mm(宽)

× 8 mm(长)的结肠平滑肌肌条标本备用^[11-12]。

1.2.3 检测指标与方法 1)活性炭推进试验:炭沫推进百分率(%) = (炭沫前端与幽门的距离/肠道全长) × 100%;2)离体肠肌条动力测定:将制备好的肌条标本移入含有 37 ℃ Krebs 液中的恒温槽中,持续通以 95% 氧气和 5% 二氧化碳混合气体,在肌条两端分别用 5-0 号医用丝线扎牢,一端固定在平滑肌槽下端的弯钩,另一端固定于拉力换能器,标本的初始负荷为 1.0 g,肌条放入含有持续充氧的台氏液容器中,15 min 换 1 次新鲜的 Krebs 液,待肌条收缩活动稳定后,描记活动曲线 2 min,通过生理记录仪记录张力变化,统计肌条收缩的振幅及频率。番泻苷 A 组给予同前剂量的番泻苷 A(1.0 mg/L),番泻苷 A + ZD7288 组先给予 HCN1 阻断剂 ZD7288(0.5 mmol/L)后再给予番泻苷 A(1.0 mg/L),2 组药物加入间隔时间为 20 min,莫沙必利组给予莫沙比利(0.05 mg/mL),观察各组药物对平滑肌收缩幅度和频率的影响。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件对数据进行分析;计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验;计数资料以百分率表示,采用 χ^2 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肠道炭沫推进百分率 与对照组比较,模型组、番泻苷 A + ZD7288 组、莫沙必利组肠道炭沫推进率降低(*P* < 0.05);与模型组比较,番泻苷 A 组和莫沙必利组肠道炭沫推进率升高(*P* < 0.05);与番泻苷 A + ZD7288 组比较,番泻苷 A 组和莫沙必利组肠道炭沫推进率升高(*P* < 0.05);与莫沙必利组比较,番泻苷 A 组肠道炭沫推进率升高(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 各组大鼠炭沫推进百分率比较($\bar{x} \pm s$, %, *n* = 6)

组别	肠道炭沫推进率
对照组	65.37 ± 4.47
模型组	53.45 ± 4.18 *
番泻苷 A + ZD7288 组	53.10 ± 3.18 *
番泻苷 A 组	64.83 ± 4.48 [△] [□]
莫沙必利组	60.26 ± 5.04 * [△] [△]

注:与对照组比较, * *P* < 0.05,与模型组比较, [△] *P* < 0.05,与番泻苷 A + ZD7288 组比较, [▲] *P* < 0.05,与莫沙必利组比较, [□] *P* < 0.05

2.2 离体结肠肌条收缩频率 与对照组比较,模型组、番泻苷 A + ZD7288 组、莫沙必利组离体结肠肌条收缩频率降低(*P* < 0.05);与模型组比较,番泻苷 A 组和莫沙必利组离体结肠肌条收缩频率升高(*P* < 0.05);与番泻苷 A + ZD7288 组比较,番泻苷 A 组和

莫沙必利组离体结肠肌条收缩频率升高 ($P < 0.05$);与莫沙必利组比较,番泻苷 A 组肠道炭沫推进率升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠离体结肠肌条收缩频率比较
($\bar{x} \pm s, c/\min, n=6$)

组别	收缩频率
对照组	4.83 ± 0.75
模型组	1.67 ± 0.52 *
番泻苷 A + ZD7288 组	2.00 ± 0.89 *
番泻苷 A 组	4.33 ± 0.52 $\Delta \blacktriangle \square$
莫沙必利组	3.17 ± 0.75 * $\Delta \blacktriangle$

注:与对照组比较, * $P < 0.05$,与模型组比较, $\Delta P < 0.05$,与番泻苷 A + ZD7288 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$,与莫沙必利组比较, $\square P < 0.05$

2.3 离体结肠肌条收缩振幅 与对照组比较,模型组、番泻苷 A + ZD7288 组离体结肠肌条收缩振幅降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,番泻苷 A 组和莫沙必利组离体结肠肌条收缩振幅升高 ($P < 0.05$);与番泻苷 A + ZD7288 组比较,番泻苷 A 组离体结肠肌条收缩振幅升高 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠离体结肠肌条收缩振幅比较($\bar{x} \pm s, g, n=6$)

组别	振幅
对照组	0.63 ± 0.088
模型组	0.36 ± 0.063 *
番泻苷 A + ZD7288 组	0.39 ± 0.067 *
番泻苷 A 组	0.60 ± 0.07 $\Delta \blacktriangle$
莫沙必利组	0.55 ± 0.061 Δ

注:与对照组比较, * $P < 0.05$,与模型组比较, $\Delta P < 0.05$,与番泻苷 A + ZD7288 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

3 讨论

番泻叶是我国一味常用中药,在《本草纲目》中记载:番泻叶性味苦、寒,归大肠经,有泻秘热,利肠腑,通大便之功;很久以来就在临床上予以应用。有研究表明,番泻叶提取物,番泻苷 A 在一定剂量情况下,可以促进大鼠的胃肠运动,其中正丁醇部位的肠道推进率甚至高于莫沙必利;而且临床上运用含有番泻苷 A 的中药汤剂,在治疗慢传输型便秘过程中取得良好的效果^[13]。研究还发现番泻苷具有增加粪便含水量,可以抑制水通道蛋白(AQP3)的表达,抑制水从管腔到血管一侧,导致了通便的作用^[14]。Kobayashi 等^[15]发研究现,番泻苷 A 抑制近端结肠蠕动,增强远端结肠蠕动。

最新基础和临床研究表明,胃肠道节律蠕动速率的减慢以及节律顺序紊乱是胃肠道动力低下的发生机制,胃肠道内 ICCs 是胃肠道平滑肌慢波的产生细胞,ICCs 控制胃肠道蠕动节律^[16-17];ICCs 的节律起始通道-HCN1 是其产生节律电活动的始发离子通

道^[17],而 ICCs 在肠道中的结构、形态或数量的改变可能是 STC 的发病机制^[18-19],因此 ICCs 将可能成为治疗 STC 的靶点。

本研究显示,当给予一定剂量番泻苷 A 的情况下,STC 大鼠的炭沫推进率明显好于莫沙必利;而且给予一定剂量番泻苷 A 刺激 STC 大鼠结肠离体肌条,离体肌条收缩频率和幅度均有显著增加,与对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),但是给予 HCN1 特异性阻断剂干预后,再给予番泻苷 A 刺激,STC 大鼠炭沫推进率没有明显提高,而且结肠离体肌条收缩频率和幅度也没有明显增加。根据实验结果,单独使用番泻苷 A,结肠离体肌条收缩振幅和频率明显提高,由此可推断番泻苷 A 对结肠的 Cajal 细胞可能有激活作用;而 Cajal 细胞的节律电活动是由 HCN1 离子通道产生的,当给予 HCN1 特异性阻断剂对 HCN1 通道进行阻断后,再给予番泻苷 A 刺激,结肠离体肌条的收缩幅度和频率没有产生明显的变化;进一步说明番泻苷 A 是通过激活结肠黏膜 Cajal 细胞上的 HCN1 通道来促进结肠运动的,提示 HCN1 是番泻苷 A 作用靶点,为进一步研究番泻苷 A 提供了理论基础。

综上所述,番泻苷 A 通过提高大鼠肠平滑肌收缩的频率和振幅来促进肠道运动,促动力效果好于莫沙必利,HCN1 离子通道可能是番泻苷 A 的一个作用靶点。

参考文献

[1] Tack J, Müller-Lissner S, Stanghellini V, et al. Diagnosis and treatment of chronic constipation--a European perspective[J]. Neurogastroenterol Motil, 2011, 23(8):697-710.

[2] 徐可,翟春宝,田利军,等.慢传输型便秘发病机制研究进展[J].山西医药杂志,2015,44(14):1634-1636.

[3] 惠琅,李聪,申烨华,等.番泻叶不同提取部位促胃肠动力作用研究[J].安徽农业科学,2010,38(13):6707-6708,6711.

[4] 沃联群,方琳,杨明华,等.番泻叶不同煎煮时间的水提物对小鼠便秘模型的影响[J].中药新药与临床药理,2013,24(5):449-451.

[5] 张水寒,邵怡,易剑,等.番泻叶不同粉体的化学成分和泻下作用比较[J].药物评价与研究,2011,34(5):356-359.

[6] 张水寒,邵怡,梁雪娟,等.番泻叶超微饮片与不同粉体溶出度的比较研究[J].中国药房,2012,23(11):989-991.

[7] 卢少欢,龙晓英,胡燕.番泻苷的研究进展[J].广东药学院学报,2014,30(1):118-122.

[8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2015 年版(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:347.

[9] 涂星,柴玉娜,唐洪梅,等.肝郁脾虚型肠易激综合征便秘大鼠模型的建立和评价[J].中国实验动物学报,2015,23(1):30-34.

[10] 姬甜丽,钱海华.两种不同慢传输便秘大鼠模型构建方法比较及对水通道蛋白的影响[J].中国康复理论与实践,2017,23(5):

529-533.

- [11] 刘颖,梁成柏,全晓静,等. 内源性硫化氢对慢性应激结肠高动力的影响[J]. 生理学报,2015,67(1):65-73.
- [12] 操寄望,余光,罗和生,等. 吴茱萸碱对大鼠结肠运动的影响[J]. 武汉大学学报:医学版,2017,38(6):987-990,994.
- [13] 关波,秦明,张明鑫,等. 大承气汤促胃肠动力的研究[J]. 山西医科大学学报,2014,45(6):453-455,546.
- [14] Kon R, Ikarashi N, Nagoya C, et al. Rheinanthrone, a metabolite of sennoside A, triggers macrophage activation to decrease aquaporin-3 expression in the colon, causing the laxative effect of rhubarb extract [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 152(1):190-200.
- [15] Kobayashi M, Yamaguchi T, Odaka T, et al. Regionally differential

effects of sennoside A on spontaneous contractions of colon in mice

- [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2007, 101(2):121-126.
- [16] 徐纯,张超,秦明,等. HCN1 在胃肠道的分布及特点[J]. 山西医科大学学报,2012,43(8):564-566,634-636.
- [17] 陈健海,仲婕,王凡,等. 胃肠道 Cajal 间质细胞起搏功能的研究进展[J]. 中国病理生理杂志,2017,33(1):184-188.
- [18] Gfroerer S, Rolle U. Interstitial cells of Cajal in the normal human gut and in Hirschsprung disease[J]. Pediatr Surg Int, 2013, 29(9):889-897.
- [19] 程阔菊,罗云,彭雷,等. Cajal 间质细胞在胃肠功能紊乱中的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2015,24(6):749-750.

(2018-04-24 收稿 责任编辑:杨觉雄)

关于举办 2018 年人口健康“共享杯”大学生科技资源共享服务创新大赛的通知

人口健康“共享杯”大学生科技资源共享服务创新大赛是由国家人口与健康科学数据共享服务平台(以下简称“人口健康平台”)主办的全国范围内的大学生竞赛,为大学生的科学数据挖掘分析、毕业论文选题、科研指导、创新创业等提供支持服务。

一、组织机构

1. 主办单位:国家人口与健康科学数据共享服务平台
2. 支持单位:《世界中医药》杂志社、中国卫生信息与健康医疗大数据学会公共卫生信息专业委员会等

二、参赛条件和要求

1. 高等院校和科研院所的在读大学生、硕士研究生、博士研究生。
2. 个人或团队形式参加竞赛,鼓励跨校跨专业组建团队(团队人数不超过 5 人)。
3. 参赛团队或个人可根据需要邀请 1-2 名指导教师给予帮助指导。
4. 每人最多可以参加 2 个作品(不同题目)。
5. 在作品中标注所使用的人口健康平台的数据资源。

或参与自拟题目,在人口健康平台登记注册所使用的数据。

三、报名及日程

登录大赛官网(www.ncmishare.com)或官方微信(ncmi2015)

四、题目类型

- 1、指定题目:登录官网查看
- 2、自拟题目:根据人口健康平台相关资源,围绕深化科技资源开放共享与深度挖掘等方面,自拟参赛题目。参赛者可向人口健康平台提出申请(申请方式见官网),使用相关数据、仪器、文献、生物种质资源和网络计算环境等资源。

八、提交作品

1. 提交作品截止日期:2018 年 10 月 31 日
2. 论文报告类作品:通过作品提交系统在线提交完整论文(word 版),格式符合要求(详见官网论文格式参考模版)。
3. 软件工具、多媒体、智能服务类作品要提交作品介绍、在线运行网址、演示视频(5 分钟左右)、安装包、详细的说明

文档。将文件压缩打包,和邮件主题命名为“报名号+作者+题目”发送至大赛官方邮箱 ncmishare@163.com。

4. 请每位参赛者(个人或团队)在官网下载《声明》后按要求填写作品名称、作者、指导老师姓名,打印后手写签字,扫描或拍照命名为“报名号+作者+题目”发送至大赛官方邮箱 ncmishare@163.com。

九、注意事项

1. 本大赛免除一切费用。
2. 作品需在竞赛期间完成,不得以其他时期作品申报。
3. 以官网发布的科技资源作为作品完成的关键要素。
4. 作品有利于促进人口健康平台科技资源共享服务工作。
5. 不可抄袭、盗用他人作品。
6. 人口健康平台无偿为参赛者提供所需资源。
7. 涉密科技资源,不在本次活动所提供的资源范围。
8. 竞赛组委会和各题目提供单位享有参赛作品和成果的使用权,并选择优秀作品进行集中宣传。

十、联系方式

1. 人口健康共享杯大赛秘书处
联系人:刘佳龙、张晶、李雪莲、李文杰
联系电话:010-58650234,58650237,58650034
大赛官方网站:www.ncmishare.com
电子邮箱:ncmishare@163.com
2. 国家人口与健康科学数据共享服务平台
联系人:刘时谋
联系电话:010-65250541
电子邮箱:rkjkpt@126.com
人口健康平台官方网站:www.ncmi.cn
3. 《世界中医药》杂志社
联系人:张文婷
联系电话:010-58239055
电子邮箱:wjtcmmoffice@vip.126.com
《世界中医药》杂志官方网站:www.sjzyyzz.com
《世界中医药杂志》英文刊官方网站:www.wjtcmm.org