

## 番泻总甙对豚鼠结肠带平滑肌细胞电活动的影响

R 965.2

杨文修, 金正根, 许文胜, 田在善<sup>1</sup>, 郭士铎<sup>2</sup> (南开大学物理系生物物理室, 天津300071, 中国)

## Effects of sennosides on cellular electric activities in smooth muscle cells of guinea pig taenia coli

YANG Wen-Xiu, JIN Zheng-Gen, XU Wen-Sheng, TIAN Zai-Shan, GUO Shi-Duo

(Division of Biophysics, Department of Physics, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**ABSTRACT** The effects of sennosides (Sen, an extract of Chinese rhubarb) on cellular spontaneous electric activities of guinea pig taenia coli were studied by intracellular microelectrode technique. Sen 0.1–20 mmol·L<sup>-1</sup> improved the depolarization of cell membrane, quickened the burst of slow wave potential, and increased notably the frequency of spike potentials. Sen (20 mmol·L<sup>-1</sup>) induced spontaneous spike potentials. These results provide direct evidence for the enhancing effect of Sen on intestinal peristalsis at cellular level.

**KEY WORDS** rhubarb; polysaccharides; colon; smooth muscle; microelectrodes; electrophysiology

**A** 摘要 用细胞内微电极技术研究了 rhubarb 提取物番泻总甙 (sennosides, Sen) 对豚鼠结肠带细胞自发电活动的影响。该药能促进细胞膜去极化, 加快慢波电位的发放, 显著增加峰电位的发放频率, Sen (20 mmol·L<sup>-1</sup>) 能诱发自发的峰电位。本结果对 Sen 促进肠道蠕动作用提供了细胞水平的直接证据。

**关键词** 大黄; 多糖; 结肠; 平滑肌; 微电极; 电生理学

蓼科大黄属 (*Rheum*) 植物大黄 (rhubarb) 在中医药临床中有广泛的应用, 是治疗急腹症

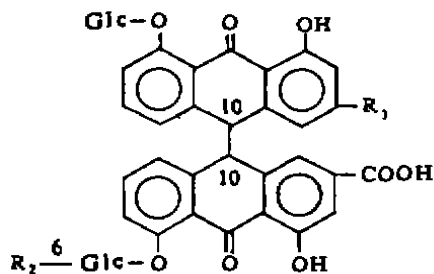
Received 1991-04-25

Accepted 1992-12-24

<sup>1</sup> Division of Pharmacology, Tianjin Institute of Acute Abdomen by Integrated Traditional and Western Medicine, Tianjin 300100, China.

<sup>2</sup> Department of Pharmacology, Tianjin Medical College, Tianjin 300070, China.

下法的代表性药物<sup>(1,2)</sup>, 动物实验证明, rhubarb 的泻下作用主要是增强肠道的蠕动<sup>(3)</sup>。泻下的有效成份是蒽醌类衍生物, 主要是双蒽醌类衍生物番泻总甙 (sennosides, Sen)<sup>(4)</sup>。该药药效恒定<sup>(4)</sup>。



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	10-10'
Sennoside A	COOH	H	threo
Sennoside B	COOH	H	erythro
Sennoside C	CH <sub>2</sub> OH	H	threo
Sennoside D	CH <sub>2</sub> OH	H	erythro
Sennoside E	COOH	OC-COOH	threo
Sennoside F	COOH	OC-COOH	erythro

在结构式中, 由于 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> 的不同及异构体而可区分为番泻甙 A–F 诸成份。

现尚未见有对 Sen 的单细胞水平药理实验研究的报道。为了解 Sen 是否直接影响肠道平滑肌细胞的兴奋、收缩功能, 本工作用细胞内微电极技术观测了 Sen 对结肠带平滑肌细胞自发电活动的作用。

## METHODS

健康豚鼠 20 只, 体重 280 ± 20 g, ♀♂ 不拘, ip 25% 乌拉坦 7 ml·kg<sup>-1</sup> 麻醉后, 取结肠带<sup>(5)</sup>, 在解剖显微镜下剥离掉带上的神经。实验用结肠带长 10–15 mm, 固定于浴槽中。用充以 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 的 Krebs 液 2 ml·min<sup>-1</sup> 灌流, 36.0 ± 0.5°C, pH 7.2。经 1 h 灌流后开始测量。

采用本实验室建立的平滑肌细胞内微电极记录技术<sup>[6]</sup>, 测量结肠带单细胞的自发电活动。玻璃微电极(坯料为# 6020, A-M Systems Inc, USA)尖端为0.2 μm, 充以KCl 3 mol·L<sup>-1</sup>, 阻抗30--60 MΩ, 用液压微推进器(MO-102型, Narishige, Japan)将微电极插入细胞内, 引出单细胞自发电活动信号。经放大器(JWF-2A型, 高精度微电极放大器, 南开大学, 天津)放大后, 用记忆示波器(5113型, Tektronix, USA)观测, 同时用磁带记录仪(DFR-3415型, Sony, Japan)记录。细胞自发电活动的指标有: 细胞膜静息电位(rest potential, RP), 慢波电位(slow-wave potential, SWP)和峰电位(spike potential, SP)的幅值及频率。

实验用 Sennosides (Sen)为天津市医药科学研究所制备, 纯度为95%以上, 余量主要成份是大黄素(emodin)。药物先用少量双蒸馏水加温溶解后, 再用Krebs液稀释到所需浓度。记录细胞正常自发电活动以作对照, 然后用药物灌流标本, 同时连续记录细胞电活动。统计数据取自每次给药后1 min的记录, 所有参数均以给药前为对照值进行配对t检验分析。

RESULTS

**对 RP 的影响** 离体豚鼠结肠带标本的自发电活动有随机发生的特点。当微电极插入的细胞无自发电活动时, 用 Sen 0.1-20 mmol·L<sup>-1</sup>灌流, 可使 RP 的数值减小2-20 mV。随着 Sen 浓度的增加, 细胞膜去极化的程度加强(Tab 1)。用 Sen 20 mmol·L<sup>-1</sup>灌流, 有时能促使细胞产生自发性 SP, 与正常的 SP 发放频率基本相同, 但幅值略小(Fig 1)。

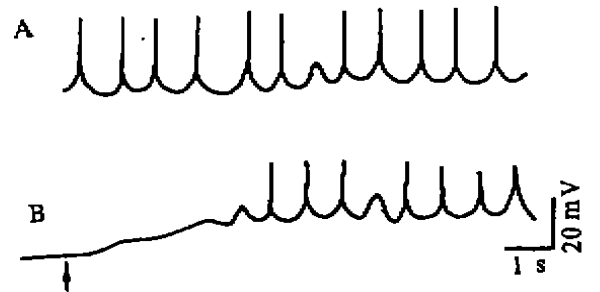


Fig 1. Spike potentials of smooth muscle cell membrane in guinea pig taenia coli. A) Normal; B) After sennosides 20 mmol·L<sup>-1</sup>.

**对 SWP 的影响** 本实验观测到结肠带平滑肌细胞电活动有三种表现类型: 1) 单纯 SWP, 2) SWP 上叠加小幅值的 SP 3) 单纯大幅值的 SP。在只有 SWP 的情况下, 用不同浓度 Sen 后, SWP 均出现发放频率(SWPF)增加, 时程缩短, 其幅值(SWPH)略有减小(Fig 2), 该变化程度随 Sen 浓度的增加而加强。

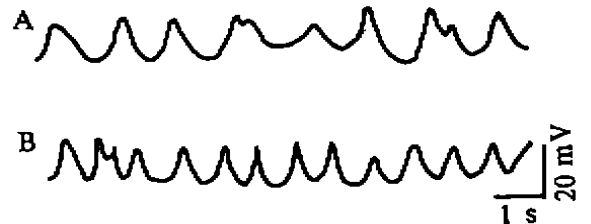


Fig 2. Slow-wave potential of smooth muscle cell in guinea pig taenia coli. A) Control; B) After sennosides 5 mmol·L<sup>-1</sup>.

Tab 1. Effects of sennosides on rest potential (RP), spike potential frequency (SPF), and spike potential height (SPH) of smooth muscle cell in guinea pig taenia coli. n<sub>1</sub>=taenia coli, n<sub>2</sub>=guinea pig,  $\bar{x} \pm s$ . \*P>0.05, <sup>b</sup>P<0.05, <sup>c</sup>P<0.01 vs control.

Sennosides / mmol·L <sup>-1</sup>	Rest potential		Small amplitude spike potential			Large amplitude spike potential					
	n <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	RP/mV	n <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	SPF/s <sup>-1</sup>	SPH/mV	n <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	SPF/s <sup>-1</sup>	SPH/mV
Control	6	6	58±5	7	6	3.5±1.4	18±5	8	8	0.9±0.4	45±6
0.1	5	3	56±6 <sup>c</sup>	5	5	3.7±1.2 <sup>c</sup>	17±3 <sup>c</sup>	4	4	1.1±0.5 <sup>a</sup>	43±5 <sup>c</sup>
1.0	6	4	49±4 <sup>c</sup>	7	6	4.7±1.0 <sup>b</sup>	14±4 <sup>a</sup>	6	5	2.2±0.3 <sup>c</sup>	37±5 <sup>b</sup>
5.0	6	4	42±4 <sup>c</sup>	7	5	4.9±1.3 <sup>b</sup>	12±3 <sup>b</sup>	7	5	2.7±0.5 <sup>c</sup>	35±4 <sup>c</sup>
20.0	6	5	38±6 <sup>c</sup>	6	5	5.2±1.2 <sup>c</sup>	11±3 <sup>c</sup>	8	7	2.9±0.5 <sup>c</sup>	32±4 <sup>c</sup>

### 对 SP 的影响

#### 1 对叠加于 SWP 的小幅值 SP 的影响

当细胞呈现 SWP 上叠加小幅值 SP 的自发电活动时,用 Sen 0.1—20 mmol·L<sup>-1</sup>灌流标本,可使 SWP 的频率略有增加,但不显著,对小幅值的 SP 有明显影响.随着 Sen 浓度的增加,每个 SWP 上叠加的小幅值 SP 的数目逐渐增多,即小幅值 SP 的发放频率(SPF)增加,而其幅值(SPH)则略有减小(Tab 1).

#### 2 对大幅值 SP 的影响

当细胞呈现单纯大幅值 SP 自发电活动时,用 Sen 灌流标本,SP 的 SPF 发生显著变化.随着 Sen 浓度从 0.1到20 mmol·L<sup>-1</sup>,SPF 逐渐增加到对照值的3倍,而 SPH 减小约37% (Tab 1).

### DISCUSSION

本实验结果表明,Sen 可以不经中间代谢环节直接作用于结肠带平滑肌细胞,提高其电兴奋性. Sen 影响平滑肌细胞电活动各项指标的共同基础是: Sen 促进了细胞膜的去极化,为易化 SWP 和 SP 的发放提供了条件.提示, Sen 改变了细胞膜对离子的通透性,可能是该药提高细胞电兴奋性的机制,具体的离子机制有待深入研究.与文献[4,7]相比较,本实验用 Sen 溶液直接灌流豚鼠结肠带标本时,0.1

mmol·L<sup>-1</sup>即能影响细胞电活动,与动物实验 ED<sub>50</sub>相近的1—5 mmol·L<sup>-1</sup>浓度可显著提高细胞的电兴奋性.此外,本实验观测到药物接触细胞数秒后,细胞电活动指标即开始变化,表明 Sen 能快速显效.

### REFERENCES

- 1 田在善. 通里功下法的实验研究. 见: 吴咸中, 李世志, 裴德恺, 编. 急腹症研究. 上海: 上海科学技术出版社, 1988; 186—93.
- 2 Jiao DH, Liu XC, Zhang QY, Ma YH, Shu HN, Hu XQ. Reume 1000 emergency cases of three kinds of digestive tract disease treated with a single recipe of Rhubarb. *Chin J Integr Med* 1982; 2 (2) : 85—7.
- 3 Jin BL, Ma GJ, Wang XL. Effects of Rhubarb on electrical and contractive activities of isolated intestine in rats. *Chin J Chin Materia Medica* 1989; 14 (4) : 47—9.
- 4 Takemi T, Hasegawa M, Kumagai A, Otsuka Y, editors. Herbal medicine: Kampo, past and present. Tokyo: Tsumura Juntendo, Inc. 1985; 41—51.
- 5 Bulbring E. Membrane potentials of smooth muscle fibres of the taenia coli of the guinea-pig. *J Physiol (Lond)* 1954; 125 : 302—15.
- 6 Jin ZG, Yang WX, Xu WS, Yu Q, Li ZQ. A method for intracellular recording electric activity of smooth muscle and study of drug's action. *Acta Sci Natur Univ Nankaiensis* 1992; 1 : 70—4.
- 7 Frexinos J, Staumont G, Fioramont J, Bueno L. Effects of sennosides on colonic myoelectrical activity in man. *Dig Dis Sci* 1989; 34 : 214—19.

## 《中国高血压杂志》创刊

高血压是国际医药卫生界共同关注的重大课题,目前是我国大陆第一位慢性病.为推动国人高血压临床与实验研究工作的开展,及时交流该领域学术研究的成果和防治工作的经验,经国内专家学者的积极倡议,《中国高血压杂志》正式创刊.

《中国高血压杂志》设有研究论著、快报简讯、病例报告、综述与高血压药物研究等.内容包括高血压及动脉硬化、心脑血管疾病、糖尿病等相关疾病的临床治疗学、诊断学、流行病学、生物化学、细胞与分子生物学、免疫学、生理学、药理学、传统医药学等学科领域.《中国高血压杂志》将定期与世界高血压联盟交换信息,邀请专家学者解答来自基层医务人员的问题.

《中国高血压杂志》主编刘力生,副主编龚兰生、陈达光.杂志为双月刊,16开,每期60页,胶版印刷.《中国高血压杂志》力求发挥自然科学刊物准确、新颖、及时的作用,向全国征集有学术水平的稿件.编辑部备有投稿规则,有意投稿者请来函索取.地址在福建医学院学报编辑部(福建省福州市交通路88号,350004).