

谢指标——血清 LDH 和 CPK 活性也呈下降趋势;明显改善垂体后叶素所致心肌缺血、缺氧小鼠的生存时间。

综上所述,舒心胶囊明显缩小犬心肌梗范围,明显保护大鼠急性心肌缺血,证明该方抗心肌缺血作用明显,为临床防治冠心病、心绞

痛等疾病奠定了坚实基础。

#### 参考文献

- 1 李连达,等.新医学杂志,1978,(7):345
- 2 徐叔云,等.药理实验方法学(第二版).北京:人民卫生出版社,1991:933
- 3 徐叔云,等.药理实验方法学.北京:人民卫生出版社,1982:713

(1999-05-19 收稿)

## 大承气汤颗粒剂对大鼠肠平滑肌细胞内三磷酸肌醇的影响

武警医学院药理教研室(天津 300162) 谢文利\* 林秀珍\*\* 齐刚

**摘要** 观察了大承气汤颗粒剂对大鼠肠平滑肌细胞内三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>)的影响。体内外实验发现:50%,100%,250%大承气汤可使肠梗阻大鼠肠平滑肌细胞内 IP<sub>3</sub>含量明显升高( $P < 0.05$ )。IP<sub>3</sub>可介导肠道平滑肌的收缩,大承气汤的通里攻下,增强胃肠道推进功能的作用很可能是通过激活肌醇脂质 IP<sub>3</sub>信号转导系统使胃肠平滑肌细胞内 Ca<sup>2+</sup>释放增加,再通过钙调蛋白间接地激活一系列的蛋白激酶而实现的。

**关键词** 大承气汤 IP<sub>3</sub> 肠道平滑肌

大承气汤是《伤寒论》中重要方剂之一,由大黄、枳实、厚朴、芒硝4味中药组成。功擅通胃结,救胃阴,承顺胃气之下行,散结通便。大承气汤能增强胃肠道推进功能,从而产生显著泻下作用<sup>[1]</sup>,近年来,人们发现肌醇脂质(肌醇磷脂和肌醇磷酸酯的总称)在细胞跨膜信号传递中起着重要作用,被称为新的信息通路——肌醇脂质信号系统。其中的三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>)促进肌收缩的作用机制也已阐明<sup>[2]</sup>。由此可见,IP<sub>3</sub>是参与调节消化道平滑肌活动的重要物质。笔者采用了放免分析法测定了大承气汤作用下肠道平滑肌细胞内 IP<sub>3</sub>的变化,以探讨大承气汤的通里攻下作用是否与肌醇脂质信号系统的作用有关,从而为进一步阐明大承气汤泻下作用的机制提供理论依据。

### 1 材料与方

1.1 试剂和药品:大承气汤颗粒剂,浓度为100%。(相当于1g生药/mL),天津市南开

医院制剂室提供(实验所用50%大承气汤由100%大承气汤颗粒剂加双蒸水稀释1倍制成,250%大承气汤由100%大承气汤颗粒剂加热浓缩2.5倍制成)。IP<sub>3</sub>测定试剂盒:Amersham公司出品;胶原酶:Sigma公司出品;HEPES:Gibco公司出品;谷氨酰胺:天象人公司出品;牛血清白蛋白:中国医药公司北京公司出品;PPO:Serva公司出品;POPOP:上海试剂厂出品;TritonX-100:上海试剂采购供应站出品;MEM:日本制药株式会社出品;其余化学试剂均系国产、分析纯。

1.2 仪器:Packard 2000CA液闪仪;GL-20G-II型全自动高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;HZS-H水浴振荡器,哈尔滨东联电子技术开发有限公司;旋涡振荡器(USA);液闪瓶(20 mL),南通塑料制品厂

1.3 动物:Wistar大鼠,雌雄兼用,体重190~250g,天津药物研究院动物室提供。

### 2 方法与结果

\* Address: Xie Wenli. Department of Pharmacology, Medical College of CPAPF, Tianjin

\*\* 天津医科大学药理教研室

2.1 体内实验:取大鼠随机分为5组。肠梗阻模型组:取大鼠在乙醚麻醉下,沿腹中线耻骨联合上2~3 cm处打开腹腔,以回盲部为界,在其向头端2 cm处穿线结扎1/2回肠,造成不完全性肠梗阻模型。手术后立即用生理盐水 ig,剂量1 mL/100 g,肠管梗阻24 h后再用相同剂量生理盐水 ig 1次。1 h后处死动物。手术对照组:手术方法同肠梗阻模型组,只是用粗线穿过1/2回肠,但不结扎肠管,没有造成实验性肠梗阻。50%,100%,250%大承气汤治疗组:分别用50%,100%,250%大承气汤代替生理盐水 ig,剂量为1 mL/100 g(分别相当于5,10,25 g生药/kg),其余步骤同肠梗阻模型组。按文献方法<sup>[3]</sup>略加修改:将大鼠断头处死,立即从原切口处打开腹腔,自结扎部位向上剪取梗阻肠管或相应对照组肠管一段,用HEPES-Ringer缓冲液(mmol/L,pH 7.4;HEPES,24.5;NaCl;101;KCl;13;NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;2.5;CaCl<sub>2</sub>;1.8;MgCl<sub>2</sub>;1.2;glutamine;5;glucose;11.5;0.1%wt/vol albumin)将肠管内粪便冲洗干净,除掉大网膜,小心剥去浆膜、纵行肌,刮掉粘膜后,将环行肌剪成2 mm<sup>2</sup>小块,温育于10 mL含0.05%胶原酶的消化液中,在30℃振荡水浴中,通入95% O<sub>2</sub>和5% CO<sub>2</sub>消化20 min,弃去消化液。同等条件再消化一次,用无酶的HEPES-Ringer液洗3次,每次10 mL。最后重新悬浮于HEPES-Ringer液中,50 μm尼龙网过筛,收集于充O<sub>2</sub>的烧杯中用白血球计数板确定细胞浓度。调整细胞浓度为5×10<sup>5</sup>/mL,每管2 mL。用Amersham公司IP<sub>3</sub>(1,4,5)<sup>3</sup>H测定试剂盒测定肠平滑肌细胞内IP<sub>3</sub>含量,结果见表1。模型组肠平滑肌细胞内IP<sub>3</sub>含量明显低于手术对照组( $P < 0.05$ ),50%,100%,250%大承气汤治疗组肠平滑肌细胞内IP<sub>3</sub>含量明显高于模型组( $P < 0.05$ )。表明:在肠梗阻模型中,大承气汤可使肠平滑肌细胞内IP<sub>3</sub>含量升高。

2.2 体外实验:取大鼠,按文献方法<sup>[4]</sup>略加

改动制备肠平滑肌细胞悬液:断头处死大鼠,以回盲部为界。在其向头端2 cm以上取出一段回肠。用HEPES-Ringer液将肠管冲洗干净,除去大网膜,小心剥去浆膜和粘膜,纵行肌,将环行肌剪成小块。放入MEM培养液中(pH 7.4),加入0.1%胶原酶,在振荡式水浴中温育15 min,250×g离心5 min。同法再温育15 min。分散的平滑肌细胞用50 μm尼龙网过筛,重新悬浮于MEM液中。取4支试管,加入肠平滑肌细胞悬液,使细胞浓度为5×10<sup>5</sup>/mL,总体积2 mL。前3管分别加入50%,100%,250%大承气汤各100 μL(分别相当于生药0.05,0.1,0.25 g),第4管加入双蒸水100 μL作为空白对照。摇匀各管,在pH 7.4,37℃水浴温育15 min,迅速液氮冷冻终止反应。250×g离心5 min,弃去上层液。用HEPES-Ringer液洗2次,重新悬浮试管内沉淀的细胞,测定IP<sub>3</sub>含量。IP<sub>3</sub>的提取和测定方法同体内实验。表2结果显示:100%,250%大承气汤组IP<sub>3</sub>含量升高( $P < 0.05$ ),50%大承气汤组与对照组相比统计学分析差异虽不显著( $P > 0.05$ ),但IP<sub>3</sub>含量也有所提高,提示在本实验条件下大承气汤可使肠平滑肌细胞内IP<sub>3</sub>含量增高。

表1 大承气汤体内对IP<sub>3</sub>含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g生药/kg)	例数	IP <sub>3</sub> 含量 (pmol/管)
手术对照	—	7	8.93±3.69*
模型对照	—	7	4.25±2.21
大承气汤	5	7	7.97±2.16*
	10	7	9.58±3.53*
	25	7	17.67±4.88*

与模型组比较: \* $P < 0.05$

表2 大承气汤体外对IP<sub>3</sub>含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g)	例数	IP <sub>3</sub> 含量 (pmol/管)
正常对照组	—	7	9.35±4.31
大承气汤	0.05	7	13.07±5.50
	0.1	7	17.46±6.47*
	0.25	7	22.57±5.90*

与正常对照组比较: \* $P < 0.05$

### 3 讨论

大承气汤具有通里攻下,泻热除满等作

用,为治疗阳明腑实证的主方。动物实验证明大承气汤有明显的胃肠推进及增加肠容积的效应。用正交设计  $L_9(3^4)$  方法对本方进行小鼠还纳、泻下、肠容积、肠内容物移行速度实验,认为此 4 项指标与中医“通里攻下”相符<sup>[5]</sup>。同时,人体研究也证明,本药可兴奋小肠肠管的运动功能,导泻的成功与否常是大承气汤取得疗效的关键<sup>[6]</sup>。因此其临床应用绝大多数都与它的泄下作用有关。可见在大承气汤的作用中,增强胃肠道推进功能是最基本、最主要的作用,在其临床治疗中也主要是利用它的这一通里攻下作用。

以往研究已证明:消化道平滑肌活动主要由两个信号转导系统调节。其中环核苷酸系统(cAMP、cGMP)介导舒张、肌醇脂质信号系统介导收缩的机制已经阐明。在肌醇脂质信号系统中, $IP_3$ 是介导肌收缩的主要物质。它和 cAMP 一样,也是一种细胞信号传递的第二信使,可广泛地参与各种细胞活动,如:肌肉收缩,分泌,细胞分裂,膜运输,电生理现象,膜融合和受精等过程<sup>[7]</sup>。三磷酸肌醇受体( $IP_3R$ )至少有 4 个成员: $IP_3R-I, II, III, IV$ 。它广泛分布于各组织细胞。但各型受体在不同组织的分布和多寡不尽相同,在肠道平滑肌中  $IP_3R-III$  最丰富。

细胞对外界刺激,诸如激素、神经递质、

细胞因子等应答对。通过细胞膜上的 G 蛋白偶联或酪氨酸偶联受体接受刺激信号。激活磷脂酶 C (PLC) 水解  $PIP_2$  产生  $IP_3$ 。目前已知  $IP_3R$  主要位于内质网(ER)膜上,而内质网又是  $IP_3$  敏感钙池<sup>[8]</sup>。这样水解产生的  $IP_3R$  就可与内质网膜上的  $IP_3R$  结合。完整的  $IP_3R$  是由相同亚单位构成的同质四聚体。四聚体  $IP_3$  的每个亚单位均含有一个独立的  $IP_3$  结合位点,并能结合一分子  $IP_3$  各亚单位与  $IP_3$  分子相互作用,引起四聚体  $IP_3R$  构象改变,使  $Ca^{2+}$  通道开放,将  $Ca^{2+}$  从内质网中释放出来,使细胞内  $Ca^{2+}$  浓度升高。直接或通过钙调蛋白(CaM)间接地激活一些蛋白激酶,调节蛋白的磷酸化,对细胞外信号作出应答反应——平滑肌收缩<sup>[9,10]</sup>

#### 参考文献

- 1 吴威中,等. 急腹症研究. 上海:上海科学技术出版社,1988:186
- 2 Berzidge M R. Biochem J, 1984,220:345
- 3 方福德,等. 现代医学实验技巧全书. 下册. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1996:157
- 4 Agnieszka L, et al. Comp Biochem Physiol, 1992, 101A:661
- 5 邓文龙,等. 中成药研究,1986,(5):36
- 6 王茂音主编. 实用生物化学实验. 合肥:安徽科技出版社,1991:22
- 7 Knemmerle J F, et al. Am J Physiol, 1994,266:c1421
- 8 Kudo Y, et al. Biomed Res, 1988,9(suppl. 2):153
- 9 Furuichi T, et al. Nature, 1989,265:342
- 10 Zorzato F, et al. J Bio Chem, 1990,265:2244

(1999-05-19 收稿)

### 全国老年病防治经验学术交流会议征稿

资料显示,我国老龄人口的比重已接近 10%,社会老龄化问题已迫在眉睫,对老年病的研究成果急需整理和提高。受中国中医药学会委托,安徽中医临床杂志社拟于 2000 年 7~8 月举办全国老年病防治经验学术交流会议,本次会议已列入中国中医药学会学术部 2000 年学术计划。现面向全国中医中西医结合临床工作者广泛征稿。

#### 1 征稿主要内容

1)老年病现代研究进展及研究发展思路探讨;2)有关老年生理、病理的基础研究、临床研究及实验研究;3)临床各科老年病诊治经验总结及名医经验介绍;4)老年养生保健及老年病防治护理经验介绍;5)其他相关内容。

#### 2 征稿注意事项

1)来稿体裁不限,资料必须真实,并请附 200 字左右作者简介。截稿:2000 年 5 月 30 日;2)来稿由会议专家组集体评审,入选论文汇编论文专辑,在具 CN 刊号杂志上公开发表,参会代表由中国中医药学会颁发征文证书,并授中医 1 类继续教育学分;3)来稿请寄中医临床杂志社,地址:合肥市大通路明光小区 5 幢 邮编:230011 联系人:汪新安 电话:0551-4475775