

## 核桃叶提取液对离体小肠收缩功能的实验研究

黄永毅<sup>1</sup>, 王彩冰<sup>2①</sup>, 黄彦峰<sup>1</sup>, 刘亭秀<sup>3</sup>

(1. 右江民族医学院机能实验教学中心, 广西 百色 533000 E-mail: jnhyy@139.com;

2. 右江民族医学院生理学教研室, 广西 百色 533000;

3. 右江民族医学院 2011 级临床医学本科生, 广西 百色 533000)

**摘要:** **目的** 探讨核桃叶提取液对家兔离体小肠收缩功能的影响。**方法** 制备离体小肠段, 用常规离体小肠灌流方法, 分别给正常对照组、乙酰胆碱组、肾上腺素组、核桃叶组、核桃叶+乙酰胆碱组、核桃叶+肾上腺素组的小肠用相应的药液进行灌流, 通过张力传感器与 BL-420F 生物机能实验系统连接, 观察给药前与给药后小肠的收缩幅度及收缩频率的变化。**结果** 核桃叶组和乙酰胆碱组给药后小肠收缩幅度明显高于给药前、正常对照组、肾上腺素组 ( $P < 0.01$ ); 核桃叶+乙酰胆碱组给药后小肠收缩幅度明显高于核桃叶组和乙酰胆碱组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 肾上腺素组给药后的小肠收缩幅度明显低于正常对照组 ( $P < 0.05$ ), 核桃叶+肾上腺素组给药后的小肠收缩幅度与正常对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 但核桃叶+肾上腺素组与肾上腺素组的小肠收缩幅度比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 各组给药前和给药后的小肠收缩频率两两比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。**结论** 核桃叶增强小肠收缩幅度的作用与乙酰胆碱的效应相当, 核桃叶既能与乙酰胆碱联合增强小肠收缩幅度有协同作用, 也能在一定程度上对抗肾上腺素抑制小肠收缩幅度的拮抗作用, 对小肠收缩频率无明显影响。

**关键词:** 核桃叶提取液; 家兔; 离体小肠; 收缩幅度; 收缩频率

**中图分类号:** R285.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2015)06-0789-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.06.009

核桃(*Juglans Regia* L.)也称为胡桃, 为胡桃科植物, 主要种植于广西、山东、山西、河南、河北、新疆、贵州等地。有文献报道, 核桃叶(Walnut Leaf)具有抗氧化、改善记忆功能、增强免疫、抗炎和降低心收缩力等作用<sup>[1-4]</sup>。为了探讨核桃叶对小肠收缩影响及影响机制, 本实验通过核桃叶提取液对小肠灌流, 观察核桃叶对小肠收缩幅度和收缩频率的影响, 并与促进小肠收缩的乙酰胆碱药物和抑制小肠收缩的肾上腺素药物作比较分析, 旨在为核桃叶的开发应用提供实验依据。

### 1 材料和方法

1.1 实验动物 健康家兔 10 只, 体重 1.5~2.0 kg, 雌雄不限, 由右江民族医学院动物实验中心提供, 动物许可证号: SCXK 桂 2012-0003。

1.2 药材、试剂、仪器 核桃叶在百色市郊区采集, 晒干备用。氢氧化钠(西陇化工股份有限公司, 批号: 1404012); pH 试纸(杭州特种纸业有限公司)。HW-400E 恒温平滑肌槽(成都泰盟科技有限公司, 型号: HW-400E); BL-420F 生物信号采集与分析系统(成都泰盟科技有限公司, 型号: BL-420F); FT-100 生物张力传感器(成都泰盟软件有限公司); BS600L 电子天平(上海友声衡器有限公司)。

1.3 核桃叶提取液的制备 把 100 g 核桃叶放入 4 000 ml 的水中浸泡 40 min, 文火煮沸 2 h, 先用 16 层

纱布过滤, 滤出液体再用滤纸过滤, 用文火将滤液隔水浓缩到 100 ml(相当于生药 1 g/ml), 冷却后存放在 4 ℃ 冰箱, 实验时用 0.01 mol/ml NaOH 把水提液 pH 调至 7.5。

1.4 家兔小肠标本的制备 家兔实验前禁食 24 h, 自由饮水。用木槌猛击家兔头枕部使其昏迷, 然后在其剑突稍下方快速沿腹正中中线剖开腹腔, 找到胃幽门与十二指肠交界处, 以此处为起点取小肠一段约 15 cm, 将小肠剪成约 1.5 cm 的肠管数段, 分离出脂肪和肠系膜并用清洁室温台氏液(参照实验生理科学<sup>[5]</sup>的方法配制)将肠管内容物冲洗干净, 而后将肠管放入盛有清洁室温冲有氧气的台氏液的培养皿中浸泡备用。

1.5 实验方法 将每只家兔的肠段均随机一段分入正常对照组、乙酰胆碱组、肾上腺素组、核桃叶组、核桃叶+乙酰胆碱组、核桃叶+肾上腺素组, 共 6 组。平滑肌槽的反应筒内先加入清洁室温台氏液, 取一段肠管, 肠管标本的一端固定在上进气标本挂片下端, 另一端用蛙肌夹夹住用丝线连接于肌张力传感器并与 BL-420F 生物机能实验系统以及计算机连接, 反应筒内的肠段标本要垂直悬挂并保持在台氏液液面以下, 标本尽量不要与反应筒内壁接触, 并且保持药筒内的液面与外周恒温液面相平, 调节恒温温度在  $(38 \pm 0.5)$  ℃, 调节反应药筒内通入氧气的气泡, 其出气泡速度以不

① 通讯作者, E-mail: wangcb4444@163.com

冲动标本为宜,调节小肠收缩基线,使其前负荷力在 2 g 水平,待小肠收缩活动曲线稳定后,在反应筒内加入相应的液体(正常对照组加入 0.4 ml 的台氏液;乙酰胆碱组加入 1/10 000 的乙酰胆碱 0.05 ml;肾上腺素组加入 1/10 000 的肾上腺素 0.05 ml;核桃叶组加入 1 g/ml 的核桃叶提取液 0.4 ml;核桃叶+乙酰胆碱组加入 1 g/ml 的核桃叶提取液 0.4 ml 和 1/10 000 乙酰胆碱 0.05 ml;核桃叶+肾上腺素组加入 1 g/ml 的核桃叶提取液 0.4 ml 和 1/10 000 肾上腺素 0.05 ml),描记小肠收缩曲线。

1.6 实验数据测量 测量 1 min 内的曲线所有收缩波平均张力作为收缩幅度(g),测量 1 min 内的曲线收缩波个数为收缩频率(次/分)。给药前和给药后 2 min 分别测量收缩幅度和收缩频率。

1.7 统计学方法 实验数据用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析,数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用方差分析,实验组与对照组两两比较采用 LSD-*t* 检验,任意两组间比较采用 SNK 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

各组给药前的小肠收缩幅度比较差异无统计学意义( $F = 0.002, P > 0.05$ );给药后小肠收缩幅度比较差异有统计学意义( $F = 8.562, P < 0.01$ ),乙酰胆碱组给药后小肠收缩幅度明显高于给药前及正常对照组( $P < 0.01$ );肾上腺素组给药后小肠收缩幅度明显低于给药前、正常对照组、乙酰胆碱组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );核桃叶组给药后小肠收缩幅度明显高于给药前、正常对照组和肾上腺素组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),与乙酰胆碱组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );核桃叶+乙酰胆碱组给药后小肠收缩幅度明显高于给药前、正常对照组、乙酰胆碱组、肾上腺素组、核桃叶组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );核桃叶+肾上腺素组给药后小肠收缩幅度明显低于乙酰胆碱组、核桃叶组、核桃叶+乙酰胆碱组( $P < 0.01$ ),与给药前、正常对照组、肾上腺素组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。各组给药前及给药后的小肠收缩频率比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 核桃叶提取液对兔离体小肠运动影响的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (ml)	收缩幅度(g)		收缩频率(次/分)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组	0.4	1.83±0.73	1.86±0.64	13.60±2.46	13.60±2.41
乙酰胆碱组	0.05	1.84±0.75	3.62±2.28 <sup>bd</sup>	13.40±2.72	14.50±1.72
肾上腺素组	0.05	1.82±0.76	0.66±0.38 <sup>acf</sup>	13.50±2.95	13.20±2.94
核桃叶组	0.4	1.82±0.77	3.07±1.16 <sup>ach</sup>	13.40±3.10	13.10±2.81
核桃叶+乙酰胆碱组	0.4+0.05	1.84±0.75	4.77±3.24 <sup>bdehn</sup>	13.30±3.27	13.80±3.01
核桃叶+肾上腺素组	0.4+0.05	1.82±0.75	1.05±0.39 <sup>iny</sup>	14.30±2.79	13.80±2.70

注:与给药前比较:a:  $q = 1.99, 2.08, a: P < 0.05$ ; b:  $q = 3.00, 4.94, b: P < 0.01$ ;与正常对照组比较:c:  $q = 2.02, 2.03, c: P < 0.05$ ; d:  $q = 2.97, 4.91, d: P < 0.01$ ;与乙酰胆碱组比较:e:  $q = 1.98, e: P < 0.05$ ; f:  $q = 4.99, 4.33, f: P < 0.01$ ;与肾上腺素组比较:g:  $q = 4.06, 6.93, g: P < 0.01$ ;与核桃叶组比较:h:  $q = 2.88, 3.40, h: P < 0.01$ ;与核桃叶+乙酰胆碱组比较:i:  $q = 6.28, i: P < 0.01$

## 3 讨论

离体小肠在没有神经和体液调节之下仍能进行自动节律性收缩,而乙酰胆碱通过激动小肠的 M 受体增强小肠收缩活动,肾上腺素通过激动小肠的  $\alpha, \beta$  受体抑制小肠收缩活动<sup>[6-8]</sup>,小肠收缩活动的这些现象在本实验中得到了进一步的证实。

本实验结果显示:核桃叶组给药后的小肠收缩幅度明显高于给药前和正常对照组,但对小肠收缩频率无显著影响,提示核桃叶具有增强小肠收缩幅度的功能,不影响小肠收缩频率,这与有关文献的报道一致<sup>[9]</sup>;核桃叶组与乙酰胆碱组的小肠收缩幅度无显著性差异,但它们给药后的小肠收缩幅度又明显高于正常对照组,核桃叶+乙酰胆碱组给药后的小肠收缩幅

度明显高于核桃叶组和乙酰胆碱组,提示核桃叶增强小肠收缩幅度的功能与乙酰胆碱的效果相当,其两者对增强小肠收缩幅度功能有协同作用;肾上腺素组给药后的小肠收缩幅度明显低于给药前和正常对照组,核桃叶+肾上腺素组给药后的小肠收缩幅度与正常对照组比较差异无统计学意义,但核桃叶+肾上腺素组与肾上腺素组给药后的小肠收缩幅度比较差异无统计学意义,提示核桃叶有一定程度地拮抗肾上腺素对小肠收缩幅度的抑制功能。

乙酰胆碱增强小肠收缩活动是通过其与小肠 M 受体结合后耦联细胞膜的 G 蛋白,致使钙离子释放同时引起底物蛋白发生磷酸化,肌浆中的钙离子增高,激

(下转第 795 页)

- 382(1-2):75-82.
- [6] 黄瑞娜,吴铿,叶少强,等. 可达龙联合琥珀酸美托洛尔缓释片对植入埋藏式自动心脏复律除颤器的致死性室性心律失常患者的疗效观察[J]. 临床心血管病杂志,2014,30(7):626-628.
- [7] 何中涵,周炜,陈曼华. 贝拉普利与琥珀酸美托洛尔治疗左室射血分数正常的心力衰竭临床观察[J]. 临床心血管病杂志,2011,27(9):667-669.
- [8] Guilherme L, Ferreira FM, Kohler KF, et al. A vaccine against *Streptococcus pyogenes*: the potential to prevent rheumatic fever and rheumatic heart disease[J]. *Am J Cardiovasc Drugs*,2013,13(1):1-4.
- [9] 李树春,王槐. 影响美托洛尔治疗效果的药物基因组学研究进展[J]. 吉林大学学报:医学版,2013,39(2):423-426.
- [10] 周娜,光雪峰,张戈,等. 不同剂型美托洛尔片治疗中青年 1 级原发性高血压的临床观察[J]. 中华高血压杂志,2009,17(5):459-460.
- [11] 刘玉学,王巍,王欣,等. 心房纤维化程度对风湿性心脏病永久性心房颤动射频消融治疗疗效的影响[J]. 中国胸心血管外科临床杂志,2010,17(4):267-272.
- [12] 洪浪,王洪,陈章强,等. 球囊扩张术对风湿性心脏病二尖瓣狭窄合并三尖瓣反流患者的近中期疗效分析[J]. 临床心血管病杂志,2010,26(6):470-471.
- [13] 曾静,张俊. 风湿性心脏病患者外周血细胞因子和 Treg 的检测意义[J]. 海南医学院学报,2015,21(4):470-472.
- [14] 汪莲开. 风湿性心脏病患者的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞及细胞因子的改变及意义[J]. 中国免疫学杂志,2015,31(3):389-392.

收稿日期:2015-09-18;修回日期:2015-11-17

(上接第 790 页)

活肌纤蛋白-肌凝蛋白-ATP 系统所致<sup>[7]</sup>。肾上腺素抑制小肠收缩活动的原理有二,一是其与小肠的  $\alpha$  受体结合,使外流的钾离子增多,细胞膜发生超极化兴奋性降低;二是其与小肠  $\beta$  受体结合,激活细胞膜的腺苷酸环化酶,使肌浆中的钙离子浓度降低,促使小肠舒张所致<sup>[10]</sup>。本研究发现,核桃叶增强小肠收缩幅度的功能与乙酰胆碱的效果相当,核桃叶既能与乙酰胆碱联合增强小肠收缩幅度有协同作用,也能在一定程度上对抗肾上腺素抑制小肠收缩幅度的拮抗作用,核桃叶的这些作用机制是通过受体系统(M 受体、 $\alpha$  受体、 $\beta$  受体)发挥效应,还是通过影响第二信使系统发挥作用? 待于今后的进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 何丽波,高海合,尹正仙,等. 核桃叶抗氧化成分的动态分析[J]. 大理学院学报,2012,11(10):31-32.
- [2] 许青松,孟宇,陈新用,等. 核桃叶提取液对衰老模型小鼠记忆力的影响[J]. 延边大学医学学报,2008,31(1):22-24.
- [3] 许青松,陈新用,宋卫锋,等. 核桃叶水提取物对小鼠炎症及免疫功能的影响[J]. 延边大学医学学报,2008,31(2):93-95.
- [4] 宋庆,刘亭秀,李静,等. 核桃叶提取液对离体灌流蛙心活动的实验研究[J]. 中外医学研究,2015,13(2):3-5.
- [5] 陈世民,莫燕娜,赵善民,等. 实验生理科学[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2011:60.
- [6] 朱大年. 生理学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2008:316.
- [7] 郑素玲,王淑元,王亚亚. 乙酰胆碱对心肌和平滑肌的生理作用机制[J]. 唐山师范学院学报,2009,31(2):75-76.
- [8] 邓晓宇,邓福杰. 肾上腺素能受体的临床研究进展[J]. 山东医药,2010,50(9):109-110.
- [9] 刘亭秀,宋庆,李静,等. 核桃叶提取液对家兔离体小肠平滑肌收缩活动的影响[J]. 右江民族医学院学报,2015,37(1):11-13.
- [10] 黄文君,辛敏. 木香对家兔离体小肠平滑肌收缩的影响及机制研究[J]. 华夏医学,2014,27(1):24-26.

收稿日期:2015-09-22;修回日期:2015-12-07