

木蝴蝶水提物对家兔离体肠平滑肌活动的影响

黄永毅¹, 罗世顺², 罗莹¹, 潘勇³

1. 右江民族医学院机能实验教学中心, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院药学院 2014 级本科 1 班, 广西 百色 533000;
3. 右江民族医学院有机化学与药物化学教研室, 广西 百色 533000)

摘要:目的 观察木蝴蝶水提物对家兔离体十二指肠平滑肌活动的影响, 探讨其作用机制。方法 以家兔离体十二指肠平滑肌收缩活动的平均张力和收缩频率为指标, 观察木蝴蝶水提物在低、高浓度下对平滑肌的影响; 以 0.01% 乙酰胆碱溶液(先加入)+8 g/L 木蝴蝶水提物(后加入); 0.01% 阿托品溶液(先加入)+8 g/L 木蝴蝶水提物(后加入)作用于离体肠平滑肌, 并记录平均张力和收缩频率。结果 低(4 g/L)、高(8 g/L)浓度的木蝴蝶水提物均能够明显抑制离体小肠平滑肌的收缩活动, 平均张力下降($P < 0.01$), 但无浓度依赖性, 且对频率无影响; 8 g/L 木蝴蝶水提物对乙酰胆碱诱导的平滑肌收缩活动有拮抗作用, 使平均张力下降($P < 0.01$); 它对阿托品诱导的平滑肌舒张活动有协同作用, 进一步促使平均张力下降($P < 0.05$), 对频率均无影响。结论 木蝴蝶水提物可减弱家兔离体小肠平滑肌的自发性收缩活动; 可明显拮抗乙酰胆碱诱导的平滑肌收缩活动, 可协同阿托品诱导的平滑肌舒张活动, 对频率无影响。

关键词:木蝴蝶水提物; 家兔; 离体小肠; 平滑肌; 乙酰胆碱; 阿托品

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2019)06-0605-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2019.06.002

Effect of aqueous extract from semen oroxyli on the activity of isolated intestinal smooth muscle of rabbits

Huang Yongyi¹, Luo Shishun², Luo Ying¹, Pan Yong³

1. Functional Experimental Teaching Center of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Undergraduate of Class 1, Grade 2014, College of Pharmacy, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
3. Teaching and Research Section of Organic Chemistry and Medicinal Chemistry, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of aqueous extract from semen oroxyli on the activity of isolated duodenal smooth muscle in rabbits, and explore its mechanism. **Methods** The average tension and contraction frequency of contractile activity of isolated duodenal smooth muscle in rabbits were used as the indexes to observe the effect of low- and high-concentration aqueous extract of semen oroxyli on smooth muscle. The 0.01% acetylcholine solution (added first)+8 g/L aqueous extract of semen oroxyli (added later) and 0.01% atropine solution (added first)+8 g/L aqueous extract of semen oroxyli (added later) were applied on the isolated intestinal smooth muscle, and the average tension and contraction frequency were recorded. **Results** Both low-concentration(4 g/L) and high-concentration(8 g/L) aqueous extract from semen oroxyli could significantly inhibit the contraction activity of isolated small intestine smooth muscle, and the mean tension decreased (P

基金项目: 广西高校科学技术研究项目(YB2014299)

第一作者简介: 黄永毅(1977-), 男, 实验师, 研究方向: 中药药效学, E-mail: jnhyy@139.com

通讯作者简介: 潘勇(1978-), 男, 讲师, 研究方向: 中药药效学, E-mail: 285806805@qq.com

<0.01), but there was no concentration dependence and no effect on frequency. The 8 g/L aqueous extract of semen oroxyli had an antagonistic effect on acetylcholine-induced smooth muscle contraction activity and decreased the average tension ($P < 0.01$), moreover, it had a synergistic effect on atropine-induced smooth muscle diastolic activity, and could further promote the decrease of average tension ($P < 0.05$), but had no effect on frequency. **Conclusion** The aqueous extract from semen oroxyli can reduce spontaneous contractile activity of isolated small intestine smooth muscle in rabbits; in addition, it can obviously antagonize the contractile activity of smooth muscle induced by acetylcholine, and cooperate with atropine induced relaxation activity of smooth muscle, but has no effect on the frequency.

Key words: aqueous extract from semen oroxyli; rabbit; isolated small intestine; smooth muscle; acetylcholine; atropine

木蝴蝶是紫葳科木蝴蝶属木蝴蝶 [*oroxylum indicum* (L.) Vent] 的成熟种子, 种子极扁薄, 呈椭圆形片状, 外种皮除基部一边外, 其余三边延长成膜翅状, 形如蝶翅, 边缘多破裂, 长 5.5~8 cm, 横径约 4 cm, 白色有绢样光泽, 并有放射状纹理, 气微、味苦^[1]。木蝴蝶又名海船、牛脚筒等, 其最早记载于《滇南本草》, 距今已有几百年的药用历史。木蝴蝶分布于广西、广东、云南、贵州等地, 作为一种中药, 可用于喉咙痛、肺热咳嗽、肝胃胀痛等^[2]。木蝴蝶对胃肠平滑肌自发性收缩的影响及作用机制研究未见报道, 本次实验通过使用 BL-420F 生物信号采集与分析系统采集信号并处理实验结果的方法, 观察低、高浓度木蝴蝶水提物对十二指肠平滑肌收缩活动的影响。旨在为该药的药效研究及临床应用提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 动物 健康家兔 8 只, 体重 1.5~2.0 kg, 雌雄兼半, 由右江民族医学院动物实验中心提供, 动物许可证号: SYXK 桂 2017-0004。

1.2 实验仪器及器械 HW-400E 型恒温平滑肌槽 (成都泰盟科技有限公司), BL-420F 生物信号采集与分析系统 (成都泰盟科技有限公司), BS600L 电子天平 (上海友声衡器有限公司), 培养皿, 移液器, 玻璃器皿, 手术刀、手术剪、手术镊、组织钳。

1.3 实验试剂 按《实验生理学》^[3] 方法配制的台氏液; 0.01% 乙酰胆碱溶液 (国药集团化学试剂有限公司); 0.05% 硫酸阿托品注射液 (河南润弘制药有限公司)。

1.4 实验药材 木蝴蝶采自广西壮族自治区南宁市武鸣区, 经右江民族医学院生药学教研室刘春荣老师鉴定为紫葳科木蝴蝶属木蝴蝶。

1.5 方 法

1.5.1 木蝴蝶水提物制备 称取 10 g 木蝴蝶, 加适量水浸润 30 min, 在电炉上煎煮微沸 1 h, 滤出滤液, 再次加水适量煎煮微沸 30 min, 滤出滤液, 两次滤液合并蒸发浓缩, 加水调制至 10 ml, 即得每毫升水提液

含生药 1.0 g 木蝴蝶煎剂。

1.5.2 离体肠管标本的制备 取洁净家兔 8 只, 实验前 24 h 禁食不禁水, 用木槌敲击后枕部致其昏迷, 快速使用手术解剖器械剖开腹腔, 在胃幽门和十二指肠交界处为起点剪取一段约 16 cm 的十二指肠, 放入装有 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 台氏液的器皿中, 通入空气, 用台氏液洗去肠内容物, 除去肠系膜和脂肪, 后剪取长约 2 cm 的小段^[4], 每只家兔取 8 段肠管做样本进行实验, 放置于台氏液中备用。

1.5.3 木蝴蝶水提物对家兔离体小肠平滑肌活动的影响 将 BL-420F 生物信号采集与分析系统与电脑连接好, 打开系统, 在一通道连接好张力换能器, 调零, 定标, 调节好 HW-400E 型恒温平滑肌槽, 加入台氏液, 至液面到加药筒刻度线上沿, 水温设定在 38°C ; 取一节肠段, 肠段一端连接在换能器上, 另一端连接在 L 型通气钩上^[5], 标本垂直悬挂于液面下, 不触碰加药筒内壁, 保持外周恒温液面与加药筒内的液面相平, 调节通气量, 保持出气泡的速度以不冲动肠段标本为合适^[6]。调节收缩基线, 以前负荷 1 g, 平衡 10 min, 等待曲线描记稳定好开始实验。

实验分成 3 组: 正常对照组、木蝴蝶水提物低浓度 (4 g/L) 组和高浓度 (8 g/L) 组。在每只家兔取出的肠管中, 随机取 3 段肠管, 随机分入正常对照组、低浓度组和高浓度组中, 其中, 正常对照组给予等容积台氏液, 受试药浓度为 1 g/ml 的木蝴蝶水提液, 每次加入 100 μl , 给药浓度累积变大 (即换算成 50 ml 麦氏浴槽中药物的终浓度分别为 4 g/L、8 g/L), 记录小肠平滑肌收缩的平均张力和频率, 在每次给完药后, 用清洁的台氏液冲洗标本至少 3 次, 等待标本恢复收缩后, 再进行下一步的实验。

1.5.4 木蝴蝶水提物对乙酰胆碱诱导平滑肌收缩活动的影响 在正常台氏液环境下, 实验分成 3 组, 正常对照组、乙酰胆碱组、乙酰胆碱加木蝴蝶组。在每只家兔取出的肠管中, 随机取 3 段肠管, 随机分入正常对照组、乙酰胆碱组、乙酰胆碱加木蝴蝶组中, 其中, 正常对

照组给予等容积台氏液,待小肠平滑肌自主活动稳定后,先加入工具药 0.01% 乙酰胆碱^[5] (即换算成 50 ml 麦氏浴槽中药物的终浓度为 2 g/L) 记录 1 min,然后再逐步加入 1 g/ml 的木蝴蝶水提物,每次 100 μ l,当达到高(8 g/L)浓度的木蝴蝶水提物药液时,分别记录 2 min。

1.5.5 木蝴蝶水提物对阿托品诱导平滑肌舒张活动的影响 在正常台氏液环境下,实验分成 3 组,正常对照组(与 1.5.4 共用对照组)、阿托品组、阿托品加木蝴蝶组。在每只家兔取出的肠管中,随机取 2 段肠管,随机分入阿托品组,阿托品加木蝴蝶组中,等待小肠平滑肌自主活动稳定后,加入工具药 0.05% 硫酸阿托品^[5] 50 μ l(即换算成 50 ml 麦氏浴槽中药物的终浓度为 1 g/L)。记录 1 min,然后再逐步加入 1 g/ml 的木蝴蝶水提物,每次 100 μ l,当达到高浓度(8 g/L)的木蝴蝶水提物药液时,分别记录 2 min。

1.5.6 实验数据测量 测量 1 min 内的活动曲线平均张力(g),测量 1 min 内的活动曲线波形个数为收缩频率(次/分)。给药前和给药后 1 min 分别测量平均张力和收缩频率^[6]。

表 1 木蝴蝶水提物对离体小肠平滑肌自主活动的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	质量浓度 (g/L)	平均张力(g)		收缩频率(次/分钟)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组	—	1.73 \pm 0.05	1.70 \pm 0.05	12.88 \pm 0.35	12.25 \pm 1.04
木蝴蝶低浓度组	4	1.68 \pm 0.03	1.35 \pm 0.06 ^{ab}	11.88 \pm 0.64	12.00 \pm 1.07
木蝴蝶高浓度组	8	1.73 \pm 0.05	1.29 \pm 0.09 ^{ab}	12.38 \pm 0.74	12.88 \pm 1.36
<i>F</i>		3.605	91.969	5.502	1.203
<i>P</i>		0.051	<0.001	0.051	0.320

注:与给药前比较,a; $P < 0.01$;与给药后的正常对照组比较,b; $P < 0.01$

2.2 木蝴蝶水提物对乙酰胆碱诱导平滑肌收缩活动的影响 组内比较,正常对照组给药前后平均张力变化无差异($P > 0.05$);乙酰胆碱组给药前后比较,平均张力上升,差异有统计学意义($P < 0.01$);乙酰胆碱+木蝴蝶高浓度组给药前后比较,平均张力下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);各组给药前后频率变化不明显($P > 0.05$);组间比较,给药前的平均张力比较,三个组两两比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);给药后平均张力比较,与正常对照组比较,乙酰胆碱组给药后平滑肌平均张力上升,差异有统计学意义($P < 0.01$);与乙酰胆碱组比较,乙酰胆碱+木蝴蝶水提物高浓度组给药后离体小肠平滑肌平均张力下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);各组间离体小肠平滑肌活动频率差异无统计学意义($P > 0.05$);实验结果显示,本实验剂量下的木蝴蝶水提物对乙酰胆碱诱导的平滑肌收缩活动有拮抗作用,但对频率无影响,见表

1.6 统计学方法 实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 24.0 软件处理,组内比较用配对样本 *t* 检验;组间比较用单因素方差分析,用 LSD 法进行组间两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 木蝴蝶水提物对家兔离体小肠平滑肌活动的影响 组内比较,正常对照组给药前后平均张力变化无差异($P > 0.05$);木蝴蝶低、高浓度组给药前后比较,平均张力均下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);收缩频率组内比较无显著变化($P > 0.05$);组间比较,给药前平均张力组间两两比较,无明显变化($P > 0.05$);给药后木蝴蝶低、高浓度组平均张力较正常对照组明显降低,差异均有统计学意义(P 均 < 0.01);低、高浓度组互相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);给药前后的小肠平滑肌活动频率组间两两比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);实验结果显示,木蝴蝶水提物在本实验剂量下,对离体小肠平滑肌的活动有抑制作用,使其平均张力下降,对频率无影响,且无量效关系,见表 1。

2。

2.3 木蝴蝶水提物对阿托品诱导平滑肌舒张活动的影响 组内比较,正常对照组给药前后平均张力和频率变化无差异($P > 0.05$);阿托品组给药前后比较,平均张力下降,频率减少,差异有统计学意义($P < 0.01$);阿托品+木蝴蝶高浓度组给药前后比较,平均张力下降,频率减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);组间比较,给药前平均张力三个组两两比较差异不明显($P > 0.05$);给药后平均张力比较,与正常对照组比较,阿托品组给药后平滑肌平均张力下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);与阿托品组比较,阿托品+木蝴蝶水提物高浓度组平滑肌平均张力下降,差异有统计学意义($P < 0.01$),给药前后频率组间差异无统计学意义($P > 0.05$);实验结果显示,本实验剂量下的木蝴蝶水提物对阿托品诱导的平滑肌舒张活动有协同作用,促使平滑肌平均张力进一步下降,见表 3。

表2 木蝴蝶水提取物对乙酰胆碱诱导平滑肌收缩活动的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	质量浓度 (g/L)	平均张力(g)		收缩频率(次/分钟)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组	—	2.70±0.24	2.66±0.20	14.50±0.76	14.25±0.71
乙酰胆碱组	2	2.79±0.11	3.17±0.10 ^{ab}	14.75±1.16	13.63±0.52
乙酰胆碱组+木蝴蝶组	2+8	2.84±0.09	2.37±0.32 ^{ac}	14.50±0.76	12.88±1.36
F		1.612	26.160	0.200	4.363
P		0.223	<0.001	0.820	0.051

注:与给药前比较,a: $P < 0.01$;与正常对照组比较,b: $P < 0.01$;与乙酰胆碱组比较,c: $P < 0.01$

表3 木蝴蝶水提取物对阿托品诱导平滑肌舒张活动的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	质量浓度 (g/L)	平均张力(g)		收缩频率(次/分钟)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组	—	2.70±0.24	2.66±0.20	14.50±0.76	14.25±0.71
阿托品组	1	2.56±0.04	1.91±0.14 ^{bc}	15.38±0.52	12.88±1.36 ^b
阿托品组+木蝴蝶组	1+8	2.54±0.04	1.66±0.12 ^{bd}	14.75±0.89	12.75±2.12 ^a
F		2.942	88.934	3.000	2.431
P		0.075	<0.001	0.071	0.112

注:与给药前比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$;与正常对照组比较,c: $P < 0.01$;与阿托品组比较,d: $P < 0.01$

3 讨论

木蝴蝶是紫葳科木蝴蝶属木蝴蝶植物,其性凉,味甘、苦。常用于肝胃胀痛、肺热咳嗽等病症。有文献^[2,7]报道,木蝴蝶的化学成分较为复杂,以苷类化合物、黄酮多见,也有一些如有机酸类化合物、对羟基苯乙醇等化合物,其多数药理作用得以在临床应用。本实验结果显示,本实验浓度的木蝴蝶水提取物对平滑肌自主收缩活动有抑制作用,能够拮抗乙酰胆碱诱导的平滑肌收缩作用,同时对于阿托品诱导的平滑肌舒张活动有协同作用,这一实验结果在一定程度上与民间药用效果是一致的。

小肠的常见运动形式有紧张性收缩、蠕动和分节运动,其节律性收缩活动易受神经递质和激素等因素的影响,小肠离体后,虽然失去了外来神经支配,但其壁内神经丛还存在,如果将小肠放置于适宜的环境条件下,小肠依然可以自主收缩活动。我们通过小肠平滑肌收缩和舒张活动情况以及频率变化来判断小肠兴奋性^[8]。

本实验中,在乙酰胆碱的作用下,离体小肠平滑肌出现了胆碱能激动的效果,表现为平滑肌收缩加强,平均张力上升;在阿托品作用下,出现了胆碱能阻断效果,表现为收缩减弱,平均张力下降,这些结果显示实验用的离体小肠对药物反应正常^[9]。实验中设定乙酰胆碱和阿托品为模型对照组,旨在探明木蝴蝶水提取物的作用位点。多数研究认为,平滑肌上有M受体, α 、 β 受体,组胺受体等,以及一些离子通道,如钙离子通道

等^[10-11]。乙酰胆碱激动M受体后,可促使细胞中的第二信使三磷酸肌醇和二酰甘油浓度增加,导致细胞内钙离子的释放,引发收缩反应。使得平滑肌张力上升。乙酰胆碱引起的小肠平滑肌收缩,跟细胞中的钙离子浓度增多有关^[11-12]。所以,推测木蝴蝶水提取物抑制小肠平滑肌收缩活动也有可能降低细胞中钙离子浓度有关。

阿托品是胆碱能M受体的阻断剂,可与M受体结合并占领其位点而导致竞争性拮抗乙酰胆碱的激动作用^[13-14]。本实验结果显示,先加入阿托品,阻断小肠平滑肌M受体使其舒张,平均张力下降,再加入木蝴蝶水提取物,其平均张力进一步下降,实验结果提示,木蝴蝶水提取物有可能是通过阻断M受体而导致小肠平滑肌收缩活动受到抑制。

综上所述,本实验研究结果显示,木蝴蝶水提取物可抑制离体小肠平滑肌的自主收缩活动,降低平均张力,可能与降低平滑肌细胞中钙离子浓度,以及阻断M受体有关。是否还有其它作用机制,有待于进一步研究。本实验也为木蝴蝶用于治疗胃肠痉挛性疾病提供实验依据。

参考文献:

- [1] 林善远. 木蝴蝶药材质量标准研究[J]. 世界中医药, 2014, 9(9):1228-1230.
- [2] 陈关凤, 侯晓杰, 李玮. 木蝴蝶质量标准及药理作用研究进展[J]. 农技服务, 2019, 36(5):46-48, 51.
- [3] 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.

- [4] 王磊,夏帅,宫玉霜,等. 氯丙咪嗪对家兔离体小肠平滑肌自发收缩活动的影响[J]. 滨州医学院学报,2018,41(5):321-325,342.
- [5] 李志东,王慧,张海娟,等. 老龙七水提液对兔离体肠平滑肌收缩的影响[J]. 中国药房,2015,26(4):463-466.
- [6] 黄永毅,王彩冰,黄彦峰,等. 核桃叶提取液对离体小肠收缩功能的实验研究[J]. 右江民族医学院学报,2015,37(6):789-790,795.
- [7] 张昌壮,金银花,佟亚楠,等. 木蝴蝶化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2013,25(5):628-630.
- [8] 李书灵,陆珏秀,余艾虹,等. 儿茶素对家兔离体小肠平滑肌收缩功能和机制的实验研究[J]. 世界最新医学信息文摘,2018,18(28):162-163.
- [9] 杨敏,卢静,牟金金,等. 冬凌草甲素对家兔肠平滑肌活动的影响[J]. 中国药业,2012,21(14):26-28.

- [10] 翟玉荣,刘波,莫镇涛,等. 茉莉花叶水提物对小肠平滑肌的影响[J]. 中国老年学杂志,2015,35(11):2964-2965.
- [11] 王慧,张海娟,李志东. 忍冬藤提取物对兔离体肠平滑肌的舒张作用及其机制[J]. 中国农业科学,2017,50(2):372-379.
- [12] 陈钟权,符春茹,符凤亲,等. 胡椒碱对槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌运动的影响[J]. 世界华人消化杂志,2019,27(1):20-28.
- [13] 向德标,阳漾,刘小娟,等. 地锦草醇提物对兔离体小肠平滑肌作用及机制研究[J]. 中国医院药学杂志,2015,35(15):1371-1375.
- [14] 吴悦,钟雯雅,倪陆桥,等. 桃仁提取液对家兔小肠收缩运动影响的研究[J]. 浙江中医杂志,2018,53(3):178-180.

收稿日期:2019-08-12;修回日期:2019-08-29

(上接第604页)

- [7] Steinbrenner H, Sies H. Protection against reactive oxygen species by selenoproteins [J]. *Biochem Biophys Acta*, 2009,1790(11):1478-1485.
- [8] Coughlan MT, Sharma K. Challenging the dogma of mitochondrial reactive oxygen species overproduction in diabetic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2016,90(2):272-279.
- [9] Huang WY, Wu H, Li DJ, et al. Protective Effects of Blueberry Anthocyanins against H₂O₂-Induced Oxidative Injuries in Human Retinal Pigment Epithelial Cells[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2018,66(7):1638-1648.
- [10] 文丽梅,卢帅,吕国栋,等. 过氧化氢诱导人肝癌细胞 BEL7402 产生氧化应激细胞模型的建立[J]. 安徽医药, 2019,23(1):37-41.
- [11] 曾涵芳,张林,陈孟姣,等. 黄芪多糖对 H₂O₂ 诱导的奶牛乳腺上皮细胞氧化损伤及凋亡的影响[J]. 南京农业

大学学报,2019,42(5):903-910.

- [12] Yang BY, Han W, Han H, et al. Effects of lignans from schisandra chinensis rattan stems against A β 1-42-induced memory impairment in rats and neurotoxicity in primary neuronal cells [J]. *Molecules*, 2018, 23(4): E870.
- [13] Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2003,35(3): 236-256.
- [14] Yang LL, Huang MS, Huang CC, et al. The association between adult asthma and superoxide dismutase and catalase gene activity[J]. *International Archives of Allergy & Immunology*, 2011,156(4): 373-380.
- [15] 张建博,谢雨,杨浩然,等. 五没食子酰基葡萄糖治疗2型糖尿病及其并发症药效机制研究进展[J]. 中国免疫学杂志,2015,34(3):344-348,352.

收稿日期:2019-09-09;修回日期:2019-10-12