

皱皮木瓜总黄酮松弛胃肠平滑肌的效应机制

柳蔚, 杨兴海, 周敏, 李从德

柳蔚, 杨兴海, 三峡大学医学院药理教研室 湖北省宜昌市 443002

周敏, 李从德, 三峡大学医学院生理教研室 湖北省宜昌市 443002

湖北省教育厅基金资助项目, No. 2004J001

通讯作者: 柳蔚, 443002, 湖北省宜昌市大学路8号, 三峡大学医学院药理教研室. liuwe_i_sdx@163.com

电话: 0717-6397466

收稿日期: 2006-11-02 接受日期: 2006-11-21

Pharmacodynamical mechanisms of total flavonoids from *Chaenomeles Lagenaria Koidz* in the relaxation of gastrointestinal smooth muscles

Wei Liu, Xing-Hai Yang, Min Zhou, Cong-De Li

Wei Liu, Xing-Hai Yang, Department of Pharmacology, Medical College of Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China

Min Zhou, Cong-De Li, Department of Physiology, Medical College of Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China

Supported by the Fund from Education Department of Hubei Province, No. 2004J001

Correspondence to: Wei Liu, Department of Pharmacology, Medical College of Three Gorges University, 8 Daxue Road, Yichang 443002, Hubei Province, China. liuwe_i_sdx@163.com

Received: 2006-11-02 Accepted: 2006-11-21

Abstract

AIM: To elucidate the mechanisms of total flavonoids from *Chaenomeles Lagenaria Koidz* (FLC) in relaxing gastrointestinal smooth muscle.

METHODS: The relaxant effect of 2, 4 and 8 g/L FLC on the contraction induced by acetylcholine (ACh), high potassium chloride (KCl) and calcium chloride (CaCl₂) in the isolated taenia coli, jejunum and ileum from rabbits.

RESULTS: FLC and Verapamil inhibited the contraction of the isolated rabbit taenia coli and ileum induced by high K⁺ depolarization in a dose-dependent manner, and they also decreased the maximal responses. FLC at the

concentration of 8 g/L inhibited the auto-rhythmic contraction of the isolated rabbit jejunum (frequency: 5.83 ± 2.64 vs 12.52 ± 0.41 , $P < 0.01$; tension: 0.76 ± 0.26 g vs 2.13 ± 0.21 g, $P < 0.01$) and Ach-induced contraction (frequency: 7.00 ± 2.44 vs 13.10 ± 0.90 , $P < 0.01$; tension: 0.87 ± 0.34 g vs 3.47 ± 0.57 g, $P < 0.01$). FLC also inhibited the contraction of the isolated ileum in a concentration-dependent way, and the contraction extents were significantly decreased as compared with those in the controls (2.53 ± 0.45 , 1.35 ± 0.57 mm vs 5.41 ± 0.64 mm, $P < 0.01$).

CONCLUSION: FLC can relax the contraction of gastrointestinal smooth muscle via voltage dependant calcium channel (VDC).

Key Words: Total flavonoids from *Chaenomeles Lagenaria Koidz*; Gastrointestinal smooth muscle; Calcium antagonist; Acetylcholine

Liu W, Yang XH, Zhou M, Li CD. Pharmacodynamical mechanisms of total flavonoids from *Chaenomeles Lagenaria Koidz* in the relaxation of gastrointestinal smooth muscles. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):165-167

摘要

目的: 探讨皱皮木瓜总黄酮(FLC)松弛胃肠平滑肌作用机制及其与Ca²⁺的关系。

方法: 采用家兔离体空肠、回肠和结肠带生物测定法, 在离体标本灌流槽中以Tyrode's液平衡家兔空肠、回肠和结肠带, 分别观察FLC对空肠自律性收缩、对Ach诱导空肠收缩、对高钾所致结肠带收缩、以及CaCl₂诱导回肠平滑肌收缩的影响。

结果: FLC和Ver对高K⁺去极化所致结肠带收缩呈剂量依赖性松弛作用, 压低最大效应(E_{max}); FLC(8 g/L)对空肠自律性收缩(频率: 5.83 ± 2.64 vs 12.52 ± 0.41 , $P < 0.01$; 张力: 0.76 ± 0.26 g vs 2.13 ± 0.21 g, $P < 0.01$)和Ach诱导的收缩反应(频率: 7.00 ± 2.44 vs 13.10 ± 0.90 , $P < 0.01$; 张力: 0.87 ± 0.34 g vs 3.47 ± 0.57 g, $P < 0.01$)均具抑制作用; FLC剂量依赖性抑制

■背景资料

木瓜为蔷薇科植物贴梗海棠的干燥成熟果实, 主产安徽、山东、浙江、湖北、云南、贵州、四川等地, 其外表棕红色, 皱纹深, 质地坚硬, 味酸, 气味清香, 因其形态得名“皱皮木瓜”, 历史上以资丘木瓜和川木瓜为道地药材而畅销于药市。其味酸温, 入肝、脾经, 有祛风、活络健脾、舒肝止痛、和胃化湿之功效, 可用于预防和治疗风湿病、霍乱、痢疾、肠炎、脚气病及维生素C缺乏症等。生物类黄酮具有多种生物活性, 配合维生素C在临床上应用已久。随着研究方法和技术的不断提高, 不断发现许多新的种类和作用, 使生物类黄酮的研究进入了一个新的阶段, 掀起了研究、开发和利用的热潮。

■创新亮点

本文立足于观察皱皮木瓜总黄酮对高钾致家兔结肠带收缩的影响、对空肠自律性收缩的影响、对ACh及CaCl₂诱导回肠平滑肌收缩的影响,判断皱皮木瓜黄酮舒张胃肠道平滑肌的作用机制。

Ca²⁺诱导回肠收缩作用, 4、8 g/L时收缩幅度显著低于对照组(2.53±0.45, 1.35±0.57 mm vs 5.41±0.64 mm, $P<0.01$)。

结论: FLC抑制胃肠平滑肌的功能与阻断电压依赖性的钙通道有关。

关键词: 皱皮木瓜总黄酮; 胃肠平滑肌; 钙拮抗剂; 乙酰胆碱

柳蔚, 杨兴海, 周敏, 李从德. 皱皮木瓜总黄酮松弛胃肠平滑肌的效应机制. 世界华人消化杂志 2007;15(2):165-167

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/165.asp>

0 引言

皱皮木瓜(*Chaenomeles Lagenaria Koidz*)为一常用中药, 主要产于我国安徽、浙江、湖北和四川等地, 因产地不同, 分别有宣木瓜(安徽宣城)、资本瓜(湖北长阳资丘)和川木瓜等命名。皱皮木瓜中主要成分包括有机酸、黄酮类和皂甙等^[1]。资本瓜种植历史悠久, 现已被湖北省科技厅列入十大道地药材。为了深入探讨皱皮木瓜中的有效部位及其生物活性成分对胃肠平滑肌的影响, 本实验利用皱皮木瓜总黄酮(FLC)进行药效学机制的深入分析。

1 材料和方法

1.1 材料 健康家兔, ♀ ♂ 不拘, 体质量2.5±0.5 kg, 由本校实验动物中心提供。FLC由三峡大学化学学院提供。氯化乙酰胆碱(acetylcholine chloride, ACh), 上海试剂三厂产品。维拉帕米(Verapamil, Ver), 天津药业集团公司产品。其他普通试剂均为市售分析纯。实验用Tyrode's液(mmol/L): NaCl 136.9, KCl 2.68, CaCl₂ 1.80, MgCl 1.05, NaH₂PO₄ 0.42, glucose 5.55。无钙Tyrode's液除无钙外, 其他成分与标准Tyrode's液相同。PowerLab离体器官灌流仪(澳大利亚)。

1.2 方法 取禁食不禁水24 h家兔, 猛击头部致昏后, 迅速取出与十二指肠相邻的空肠约1.5-2.0 cm, 用营养液反复冲洗肠内容物备用, 同时取出升结肠肠段约4-5 cm, 冲洗肠腔至净, 沿结肠带的走行取结肠带约1.5 cm备用。标本分别置于含10 mL的Tyrode's液(37±0.5℃)的浴槽中, pH7.2-7.4, 标本前负荷1 g, 连续通950 mL/L O₂+50 mL/L CO₂混合气体, 通过肌力传感器将标本张力记录于PowerLab离体器官灌流仪。

统计学处理 数据以mean±SD差表示, 应用SPSS10.0软件, 组间比较用 t 检验; 作图工具用

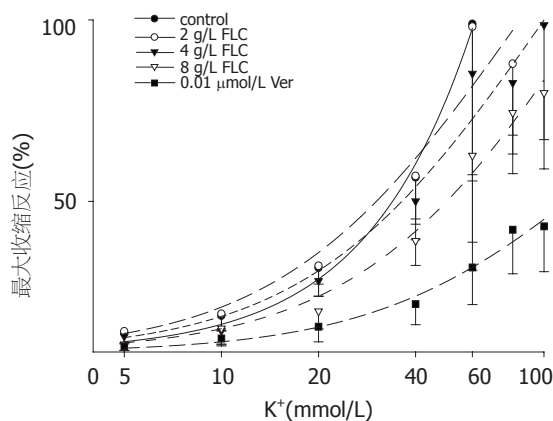


图1 FLC和Ver对高钾致家兔结肠带收缩的影响。

SigmaPlot 2001软件。

2 结果

2.1 FLC和Ver对高钾致家兔结肠带收缩的影响^[2] 结肠带在Tyrode's液中平衡30 min后, 累加递增浓度的KCl(5-100 mmol/L), 建立KCl累积量效曲线, 然后用Tyrode's液冲洗至肌张力恢复, 分别加入2, 4, 8 g/L的FLC和0.01 μmol/L Ver, 15 min后重测KCl累积量效曲线。结果FLC浓度依赖性压低E_{max}, 其中8 g/L FLC对40, 60, 80和100 mmol/L KCl致收缩与对照组比较差异显著($P<0.05$), 其作用类似于Ver, 呈非竞争性拮抗(图1)。

2.2 FLC对家兔空肠自律性收缩和ACh诱导收缩的影响^[3] 空肠在Tyrode's液平衡30 min后, 产生规律而衡定的自律性收缩, 加入0.01 mmol/L ACh后收缩频率与正常无异, 但张力增加约30%, 然后分别加入2, 4, 8 g/L FLC, 记录在不同实验条件下空肠收缩频率和张力的变化, 观察10 min。FLC无论是对空肠自律性收缩, 还是ACh诱导收缩均剂量依赖性抑制其功能。对收缩频率与收缩张力相比, 张力抑制更明显(表1)。

2.3 FLC对CaCl₂诱导回肠平滑肌收缩的影响^[4] 实验方法和条件同2.1, 标本温育后换无钙Tyrode's液, 可见回肠自律性收缩逐渐减弱, 当收缩频率和张力明显受抑制后, 加入CaCl₂ 2.0 mmol/L, 可见回肠收缩作用迅速恢复, 记录收缩幅度和张力的变化, 用无钙Tyrode's液冲洗标本3次, 分别加入2, 4, 8 g/L的FLC, 5 min后同法加入Ca²⁺, 比较给药前后标本对CaCl₂收缩作用的影响。对照组: 5.41±0.64 mm; 当FLC浓度为2 g/L, 收缩幅度为4.88±0.79 mm, 当FLC浓度分别为4 g/L, 8 g/L时, 回肠的收缩张力明显减弱

■应用要点

目前生物类黄酮的研究呈现热潮, 在多种植物中发现黄酮类成分, 但其含量均不相同。作为传统道地药材的皱皮木瓜中主要成分包括有机酸、黄酮类和皂甙等, 随着生物黄酮类研究的进一步深入, 皱皮木瓜将具有更加广阔的开发利用前景。

表 1 FLC对家兔空肠自律性收缩和Ach诱导收缩的影响 (mean±SD, n = 6)

分组	自律性收缩频率(次/min)		张力(g)		Ach诱导收缩频率(次/min)		张力(g)	
	给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后
2 g/L	12.72 ± 0.46	12.17 ± 1.25	2.78 ± 0.26	2.42 ± 0.41	13.00 ± 0.61	12.00 ± 0.83	3.87 ± 0.61	2.85 ± 0.42
4 g/L	12.71 ± 0.45	11.00 ± 1.37	2.34 ± 0.25	1.67 ± 0.43	13.00 ± 0.91	11.00 ± 1.15	3.51 ± 0.63	1.94 ± 0.42 ^a
8 g/L	12.52 ± 0.41	5.83 ± 2.64 ^b	2.13 ± 0.21	0.76 ± 0.26 ^b	13.10 ± 0.90	7.00 ± 2.44 ^b	3.47 ± 0.57	0.87 ± 0.34 ^b

^aP<0.05; ^bP<0.01 vs 给药前.

(2.53 ± 0.45 mm, 1.35 ± 0.57 mm)且具有剂量依赖性(P<0.01), 高浓度时作用明显.

3 讨论

皱皮木瓜为传统中药, 用药历史悠久, 具有多方面的药理作用, 但其中的化学成分复杂, 药理作用机制不清, 其潜在的价值未得到充分开发与利用. 本实验室在对皱皮木瓜的乙醇提取物进行研究时, 发现其对胃肠道平滑肌的舒张作用可能和钙拮抗有关. 因此利用FLC对胃肠运动功能的作用进行了进一步的探讨.

平滑肌细胞膜上钙通道分为5类: 电压依赖性钙通道(VDC)、受体操纵钙通道(ROC)、第二信使操纵钙通道(SMOC)、牵张激活钙通道(SAC)以及背景钙通道^[5]. 其中, VDC是主要的通道^[6-7], 可为高K⁺所激活^[8-9]. 高钾引起标本的收缩是由于K⁺使细胞膜除极化, 导致电压依赖性的钙通道(VDC)开放, 使外钙内流和内钙释放增加而收缩. 这一作用不仅对胃肠平滑肌, 而且对血管、子宫和气管等平滑肌亦有类似作用^[10-13].

细胞内的Ca²⁺浓度的调节由细胞膜钙通道、细胞器钙摄取和释放、钙泵及Na⁺-Ca²⁺交换系统参与. 由于胃肠道平滑肌细胞膜上的钙通道远比骨骼肌细胞膜上的钙通道多, 所以钙通道和钙离子在胃肠平滑肌动作电位中居主导地位^[14]. 静息状态下, Ca²⁺不能自由通过功能正常的细胞膜. 当细胞膜兴奋时, 膜特异的钙通道开放, 细胞内Ca²⁺浓度升高, 同时触发细胞内细胞器钙库释放Ca²⁺, 胞质内Ca²⁺升高达到一定水平(1-50 μmol/L)时, Ca²⁺与肌钙蛋白或肌调蛋白结合, 从而产生细胞收缩活动等. 对于主要是依赖外钙而实现收缩(相对于骨骼肌)的胃肠平滑肌, 一旦影响了外钙浓度或内流, 即会明显影响其收缩活动.

实验中发现, FLC对高钾致结肠带收缩具有剂量依赖性的抑制, 说明他能特异性阻断VDC,

减少外钙内流和内钙释放而松弛平滑肌. 此作用机理为皱皮木瓜用于胃肠解痉提供了理论基础. 目前电压依赖性钙通道的研究较为深入, 并克隆出6种电压依赖的钙通道, 已正式命名的有4种: 即L-, N-, T-和P-型^[15]. FLC通过阻滞哪种VDC发挥其舒张平滑肌的作用, 有待今后深入研究.

4 参考文献

- 1 陈洪超, 丁立生, 彭树林, 廖循. 皱皮木瓜化学成分的研究. 中草药 2005; 36: 30-31
- 2 王红娟, 马欣, 白宇飞, 张小娟. 大豆黄酮血管舒张作用与血管内皮的关系. 中国药理学通报 2005; 21: 946-949
- 3 胡晓, 周俐, 连其深, 曾靖, 杨敬格, 赖飞. 花椒毒酚对家兔离体回肠的作用. 中国中药杂志 2001; 26: 56-58
- 4 朱焰, 王敏伟, 刘铮, 吴静生. 盐酸丙哌维林对豚鼠离体膀胱平滑肌条的钙拮抗作用. 中国药理学通报 2003; 19: 780-783
- 5 吴斌. 平滑肌细胞内钙水平对胃肠动力的调节. 国外医学·消化系疾病分册 2005; 25: 97-100
- 6 Cannell MB, Cheng H, Lederer WJ. The control of calcium release in heart muscle. Science 1995; 268: 1045-1049
- 7 张驰, 张宗明. 钙池操纵的Ca²⁺通道研究中工具药的应用及进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 231-234
- 8 Xiong Z, Sperelakis N. Regulation of L-type calcium channels of vascular smooth muscle cells. J Mol Cell Cardiol 1995; 27: 75-91
- 9 Paoletti R, Govoni S. Classification of calcium antagonists: proposal of the WHO Committee. Pharmacol Res Commun 1987; 19: 195-208
- 10 蒋惠娣, 汝海龙, 王霄霞, 夏强, 屠洁. 木犀草素对大鼠主动脉的舒张作用及相关机制研究. 中国药理学杂志 2005; 40: 427-430
- 11 张团笑, 贺殿, 牛彩琴, 秦晓民. 葡萄籽原花青素舒张家兔离体主动脉的研究. 中草药 2006; 37: 87-89
- 12 李志强, 马力扬, 徐敬东. 北苍术对大鼠子宫平滑肌收缩的影响. 中药药理与临床 2005; 21: 39-40
- 13 王岩, 王麟, 关福兰, 金万宝. 利多卡因对大鼠离体气管平滑肌的作用及机制. 中国医科大学学报 2005; 34: 520-522
- 14 梁宁霞, 衣兰娟, 田琳, 胡凡, 刘翠萍, 魏睦新. 槟榔碱促结肠平滑肌细胞收缩及对胞内钙离子浓度的影响. 世界华人消化杂志 2006; 14: 676-681
- 15 1995 Receptor and ion channel nomenclature supplement. Trends Pharmacol Sci 1995; Suppl: 1-73

电编 李琪 编辑 张焕兰

■同行评价

本文对皱皮木瓜总黄酮对胃肠道平滑肌的调节作用进行研究, 对进一步了解皱皮木瓜的药理作用有重要的意义, 内容有一定的先进性和实用性.