

利用兔离体肠模型研究山莓叶的抗腹泻作用机理

张瑞莲¹, 刘晓娟¹, 张苗¹, 熊平², 陈雪香¹, 曹庸¹

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (2. 华南农业大学资源与环境学院, 广东广州 510642)

摘要: 以山莓叶醇提取物 (RE) 和对羟基肉桂酸乙酯 (EC, 活性跟踪分离到的山莓叶中活性较强的物质) 为材料, 以兔离体肠运动为模型, 研究了 RE 和 EC 抑制肠管运动的剂量效应, 同时考察了 RE 和 EC 分别与抗腹泻相关的 4 个关键通道的 4 种致痉剂 (乙酰胆碱、酚妥拉明、组胺和氯化钡) 对肠管运动的影响。结果表明: RE 浓度为 1~10 mg/mL 范围内, 肠管的张力增量变化率 (TVP) 均为 30% 以上, 且 RE 浓度为 4 mg/mL 时, TVP 达到 45.37%; 浓度 10~800 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, EC 对肠管运动的抑制作用均极显著高于阿托品 ($P < 0.01$), 且 EC 浓度为 400 $\mu\text{g/mL}$ 时, TVP 达到最大 (70.45%); RE 主要通过作用于乙酰胆碱通道胆碱能 M 受体和组胺通道来抑制肠管运动; EC 主要通过作用于肾上腺素 α 受体、组胺通道和钙离子通道来抑制肠管运动。因此, RE 和 EC 是抗腹泻的高效的多靶点药物, 且 RE 中的 EC 的抗腹泻效果极显著优于阿托品。

关键词: 山莓叶; 兔离体肠; 抗腹泻; 作用机理

文章编号: 1673-9078(2015)8-18-24

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.8.004

Mechanism of Anti-diarrheal Effect of *Rubus corchorifolius* Leaves on Isolated Rabbit Intestine

ZHANG Rui-lian¹, LIU Xiao-juan¹, ZHANG Miao¹, XIONG Ping², CHEN Xue-xiang¹, CAO Yong¹

(1. College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

(2. College of Resource Environment, South China Agriculture University, Guangzhou, 510642, China)

Abstract: Ethyl *p*-coumarate (EC), a compound with a relatively strong activity was extracted from *Rubus corchorifolius* leaves by bioactivity-guided isolation. Dose responses of *Rubus corchorifolius* leaf extract (RE) and EC for inhibition of intestinal movement were studied in terms of movement of isolated rabbit intestine model. The effects of RE and EC as well as four spasmogenic agents (acetylcholine, phentolamine, histamine, and barium chloride) that are related to four key channels in antidiarrheal effects on the movement of isolated intestine were also investigated. The results showed that the tensional variation percentage (TVP) of intestine was above 30% when RE concentration was in the range of 1 to 10 mg/mL and reached maximum (45.37%) at 4 mg/mL. When the concentration of EC was in the range of 10 to 800 $\mu\text{g/mL}$, the inhibitory effect on intestinal movement was significantly higher than that of atropine ($p < 0.01$) at the same concentration and TVP value reached the maximum (70.45%) when the concentration of EC was 400 $\mu\text{g/mL}$. Thus, the inhibition of intestinal movement by RE was mainly achieved through its effects on the cholinergic M receptor of acetylcholine and histamine channels, whereas that by EC was mainly achieved through its effects on the adrenergic α -receptor, histamine channel, and calcium ion channel. Therefore, RE and EC act on different targets and are effective antidiarrheal drugs, where EC in RE exerts a significantly stronger effect than atropine.

Key words: *Rubus corchorifolius* leaves; isolated rabbit intestine; antidiarrheal; mechanism

山莓 (*Rubus corchorifolius* L.f.) 是蔷薇科悬钩子属植物, 俗称“三月泡”, 在我国大部分地区均

收稿日期: 2014-09-12

项目基金: 广东省科技计划农业公关项目 (2012A020602038); 高等学校博士学科点专项科研基金联合资助课题 (20114404120022)

作者简介: 张瑞莲 (1991-), 女, 在读研究生, 研究方向食品化学及功能食品

通讯作者: 刘晓娟 (1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向食品化学及功能食品

有分布, 野生资源蕴藏量相当大。早在 17 世纪, 欧洲就有将悬钩子叶片制成茶和茶汤用来治疗腹泻、喉病、感冒受凉等作用的记载。山莓在我国的利用历史也很悠久, 在古书《本草纲目》、《食疗本草》等中都有关于山莓叶抗腹泻的记载。山莓是湘西、鄂西北等地区少数民族长期用来治疗腹泻的传统中草药。山莓叶的抗腹泻作用机制广泛, 对番泻叶、蓖麻油和致泻大肠埃希氏菌导致的小鼠腹泻均有显著抑制作用, 表明其是一种很好的抗腹泻

药物^[1]。目前国内外对山莓叶活性成分的研究相当活跃,山莓叶主要含有多糖及其甙类、鞣质、黄酮类、酚类物、强心甙、有机酸以及香豆素、甾体、萜类等成分^[2~5]。我们前期的研究表明,采用兔离体肠活性跟踪,山莓叶中抗腹泻活性物质主要在乙酸乙酯层,进一步采用柱层析、制备高效液相色谱、重结晶等方法,分离到活性较强的单体化合物为对羟基肉桂酸乙酯,其抗腹泻活性优于阿托品^[6]。

山莓叶作为抗腹泻应用历史悠久,且研究表明山莓叶的抗腹泻效果显著,迄今为止,山莓叶及其活性物质的抗腹泻作用机制尚不明确。离体肠模型是目前国内外最常用的研究抗腹泻的模型之一,离体肠在合适的营养液环境中仍表现出自主肌源性舒缩活动,从而模拟药物对肠管的作用^[7~9]。本研究以山莓叶醇提物(RE)和活性跟踪分离到的山莓叶中活性较强的物质对羟基肉桂酸乙酯(EC)为试验材料,以兔离体肠运动为模型,研究了RE和EC分别与4个通道的4种致痉剂(乙酰胆碱、酚妥拉明、组胺和氯化钡)对肠管运动的影响,揭示RE和EC在肾上腺素通道、乙酰胆碱通道、组胺通道和钙离子通道4个调控腹泻的关键通道的作用机理,从而阐明山莓叶的抗腹泻作用机理,为山莓叶的抗腹泻应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验材料

新西兰兔,雌雄不限,4~6月,体重2~2.5 kg,购于广州中医药大学实验动物中心,合格证号为SCXK(粤)2008-0020。

1.1.2 药品与试剂

山莓叶采于湖南张家界;无水乙醇,分析纯,购自天津市富宇精细化工有限公司;氯化钠、磷酸二氢钠,分析纯,购自天津大茂化工;无水葡萄糖、氯化钾、氯化钙、碳酸氢钠、氯化镁、氯化钡,分析纯,购自天津市福晨化学试剂厂;氯化乙酰胆碱(Ach),99%纯,组胺(His),97%纯,购自美国Sigma-Aldrich贸易有限公司;甲磺酸酚妥拉明(Phe),98%纯,购自东京化成工业株式会社;对羟基肉桂酸乙酯(EC),98%纯,购自上海阿达马斯试剂公司;硫酸阿托品,98.5%纯,购自阿拉丁试剂有限公司。

1.1.3 仪器

BL-420F型生物信号采集处理系统,成都泰盟

科技有限公司;FT-100型张力传感器,成都泰盟科技有限公司;AL104电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;R204B3型旋转蒸发器,上海申生科技有限公司;SH-D循环水式多用真空泵,河南省予华仪器有限公司;FD-1型冷冻干燥机,北京博医康技术公司;WZ-100恒温水浴锅,上海申生科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 山莓叶醇提物(RE)的制备及药液配制

RE的制备:将山莓叶阴干去杂,粉碎,过80目筛。称取适量山莓叶粗粉置于瓶中,按料液比1:10加入80%乙醇,常温下浸提24h,四层纱布过滤,滤渣用同样方法再提取2次,合并提取液,用旋转蒸发器在60℃,120 r/min的条件下真空浓缩至原体积的1%,将浓缩液于-45℃,-30 Pa条件下冷冻干燥72h,得RE^[6]。分别称取0.05 g、0.10 g、0.20 g、0.40 g、0.50 g用1 mL含30%乙醇的台氏液溶解,配制成浓度为0.05 g/mL、0.10 g/mL、0.20 g/mL、0.40 g/mL、0.50 g/mL的药液。

对羟基肉桂酸乙酯(EC)溶液的配制:准确称取0.5 mg、1.0 mg、5.0 mg、10.0 mg、20.0 mg EC,分别溶于1 mL含30%乙醇的台氏液中,配制成0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、5.0 mg/mL、10.0 mg/mL和20.0 mg/mL的药液。

硫酸阿托品(Atr)溶液的配制:准确称取0.5 mg、1.0 mg、5.0 mg、10.0 mg、20.0 mg Atr,分别溶于1 mL含30%乙醇的台氏液中,配制成0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、5.0 mg/mL、10.0 mg/mL和20.0 mg/mL的药液。

工具药的配制:准确称取氯化乙酰胆碱(Ach)、甲磺酸酚妥拉明(Phe)、组胺(His)各10.0 mg,分别溶于1 mL含30%乙醇的台氏液中,配制成10.0 mg/mL的药液,再用台氏液分别稀释至100 μg/mL的药液备用。准确称取10 mg BaCl₂,溶于1 mL含30%乙醇的台氏液中,配制成10.0 mg/mL的药液备用。

台氏液的配制:称取氯化钠8.0 g、氯化钾0.2 g、氯化钙0.2 g、碳酸氢钠1.0 g、磷酸二氢钠0.05 g、氯化镁0.1 g、葡萄糖1.0 g,加蒸馏水至1000 mL,搅拌至充分溶解,低温存放。

1.2.2 兔离体肠模型的建立^[10]

1.2.2.1 离体肠段的制备

实验前将家兔禁食24 h,用静脉注射空气法使

家兔死亡，迅速剖开腹腔，距胃幽门 5cm 为起点，剪取十二指肠约 8 cm，放入 38 °C 台氏液中，剪成约 2~3 cm 的肠段。将离体肠段放在通气的 38 °C 台氏液中，充分洗去内容物后，移入 38 °C 新鲜台氏液中通气备用。

1.2.2.2 观察方法和指标

在 (38±0.5) °C 条件下，不断往台氏液中通气，用生物信号采集处理系统记录肠段收缩曲线。观察在正常情况下离体肠管的自动节律性收缩稳定后，然后加入 100 μL 1.2.1 中配置好的药液，以收缩张力 (g) 为指标，记录 3 min。在加样前后各选 10 个波形，分别计算张力增量。

$$\text{张力增量变化率} = \frac{(\text{加样前张力} - \text{加样后张力}) \times 100}{\text{加样前张力}}$$

1.2.3 不同浓度 RE 和 EC 对兔离体肠管运动的影响

在正常情况下离体肠管的自动节律性收缩稳定后，于麦氏浴槽中分别加入 100 μL 1.2.1 配置好的不同浓度的 RE 溶液、EC 溶液、Art 溶液，记录离体肠管的运动情况，计算张力增量变化率。RE 的终浓度分别为 1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL、8 mg/mL、10 mg/mL，EC 和 Art 的终浓度分别为 10 μg/mL、20 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL。

1.2.4 RE 与 EC 的抗腹泻作用机理研究

在正常情况下离体肠管的自动节律性收缩稳定后，每次均先在麦氏浴槽中加入 100 μL 0.20 g/mL 的 RE (终浓度为 4 mg/mL)，记录 3 min 后，再分别加入 100 μL 的 100 μg/mL 的 Ach、His、Phe (终浓度为 2 μg/mL)，或 100 μL 的 10 mg/mL BaCl₂ (终浓度为 200 μg/mL)，用生物信号采集处理系统记录肠管的运动情况。

1.2.5 数据处理

实验数据以“平均数±标准差”表示，用 SPSS 17.0 统计分析软件进行 t 检验和组间多重比较。

2 结果与分析

2.1 EC 和 RE 对兔离体肠管运动的影响

前期试验结果表明，山莓叶乙醇提取物(RE)成分复杂，主要含有多糖类及其甙类、鞣质、黄酮类等成分，且 RE 具有较强的抑制兔离体肠运动的活性^[2,6]。为了进一步明确 RE 抑制兔离体肠运动的剂量效应，在预实验的基础上，选定 RE 终浓度为 1~10 mg/mL 范围。不同浓度的 RE 对兔离体肠管运动的

影响如图 1 所示。由图 1 可以看出，RE 浓度在 1~10 mg/mL 范围内，离体肠管的张力增量变化率均为 30% 以上，随着浓度的升高，抑制肠管运动的效果越明显。当 RE 的浓度为 4 mg/mL 时，离体肠管的张力增量变化率为 45.37%，当进一步提高浓度时，抑制肠管运动没有显著提高 (P>0.05)，因此采用 4 mg/mL 的 RE 溶液开展后续山莓叶抗腹泻作用机理的研究。

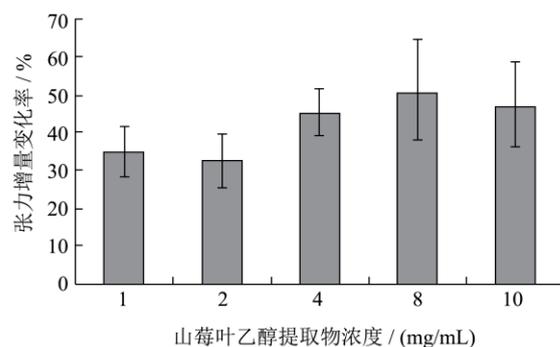


图 1 RE 对兔离体肠管张力增量变化率的影响

Fig.1 Effects of RE on the tensional variation percentage of isolated rabbit intestine

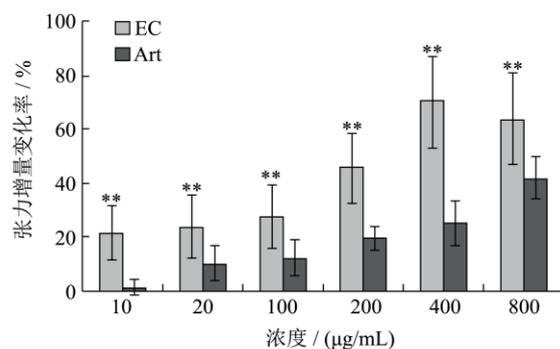


图 2 EC 和 Art 对兔离体肠管张力增量变化率的影响

Fig.2 Effects of EC and atropine on the tensional variation percentage of isolated rabbit intestine

注：**表示同一剂量下加 EC 与加 Art 比较差异极显著 (P<0.01)。

在抑制兔离体肠运动活性跟踪下，从 RE 中分离到活性较强的单体化合物对羟基肉桂酸乙酯 (EC)，通过 HPLC 分析，EC 在 RE 中的含量较低，RE 中可能还存在其它活性较强的物质有待进一步分离确定。预实验结果表明，EC 在微克级别的浓度下即可达到很强的活性。选取工具药阿托品 (Art) 为对照，进一步研究 RE 抑制离体肠运动的作用效果。Art 为有代表性的 M 胆碱能受体阻滞药，能使胃肠道平滑肌受到抑制。由图 2 可以看出，在 10~800 μg/mL 浓度范围内，相同浓度下，EC 对离体肠管运动的抑制作用均极显著高于阿托

品 ($P < 0.01$)。当 EC 浓度为 $400 \mu\text{g/mL}$ 时, 离体肠管的张力增量变化率达到最大, 为 70.45% 。迄今为止, EC 的生物活性研究主要集中在抗菌、抗氧化等方面, 其在抑制肠管运动方面的活性尚未开展^[11~12]。本研究首次表明, EC 在抑制兔离体肠管运动方面的能力极显著优于 Art。

2.2 RE 和 EC 的抗腹泻作用机理研究

2.2.1 RE 和 EC 对胆碱能受体的作用

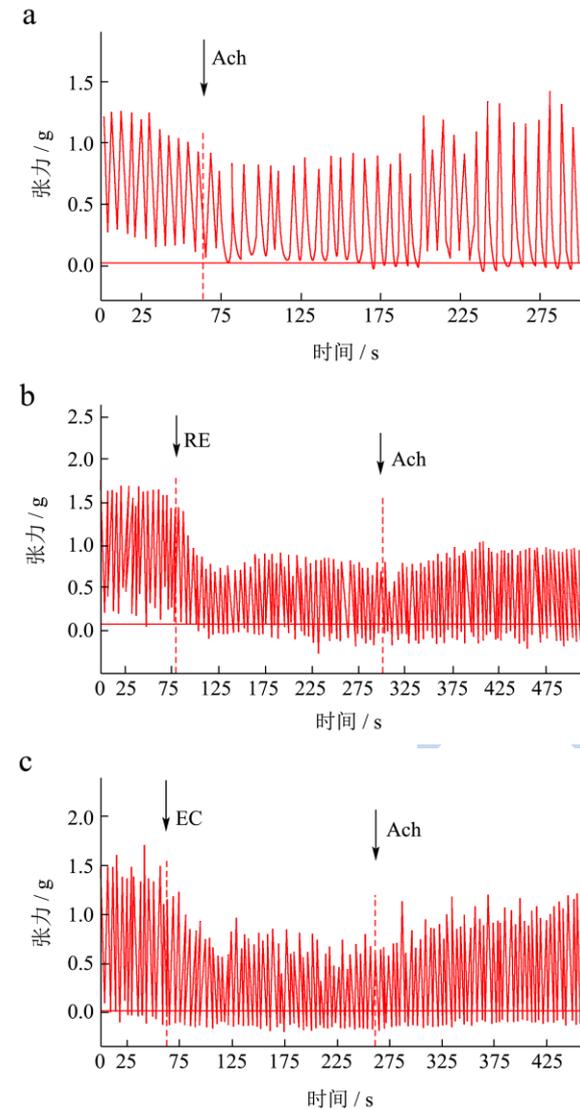


图 3 RE 和 EC 对胆碱能受体的作用效果

Fig.3 Effects of RE and EC on the cholinergic receptor

注: ↓表示加样; RE 代表山莓叶乙醇提取物; EC 代表对羟基肉桂酸乙酯; Ach 代表乙酰胆碱; a 为加入 Ach 的波形图; b 为加入 RE 后再加入 Ach 的波形图; c 为加入 EC 后再加入 Ach 的波形图。

乙酰胆碱是肠神经系统的一种主要神经递质, 是 M 胆碱能受体激动剂, 作用于平滑肌 M 受体肠神经丛, 引起肠道运动加快^[13]。从图 3a 可以看出,

乙酰胆碱的加入引起肠管明显痉挛。图 3b 结果表明, 先在肠管中加入 RE, 肠管的张力明显降低, 再加入乙酰胆碱后, 肠管的张力没有明显增加, 从而说明 RE 通过作用于 M 胆碱能受体来抑制肠管运动, 是 M 胆碱能受体抑制剂。由图 3c 分析, EC 明显抑制肠管蠕动张力, 再加入乙酰胆碱后, 肠管蠕动明显激动起来, 从而说明 EC 并没有通过 M 胆碱能受体来抑制肠管蠕动。

2.2.2 RE 和 EC 对肾上腺素能受体的作用

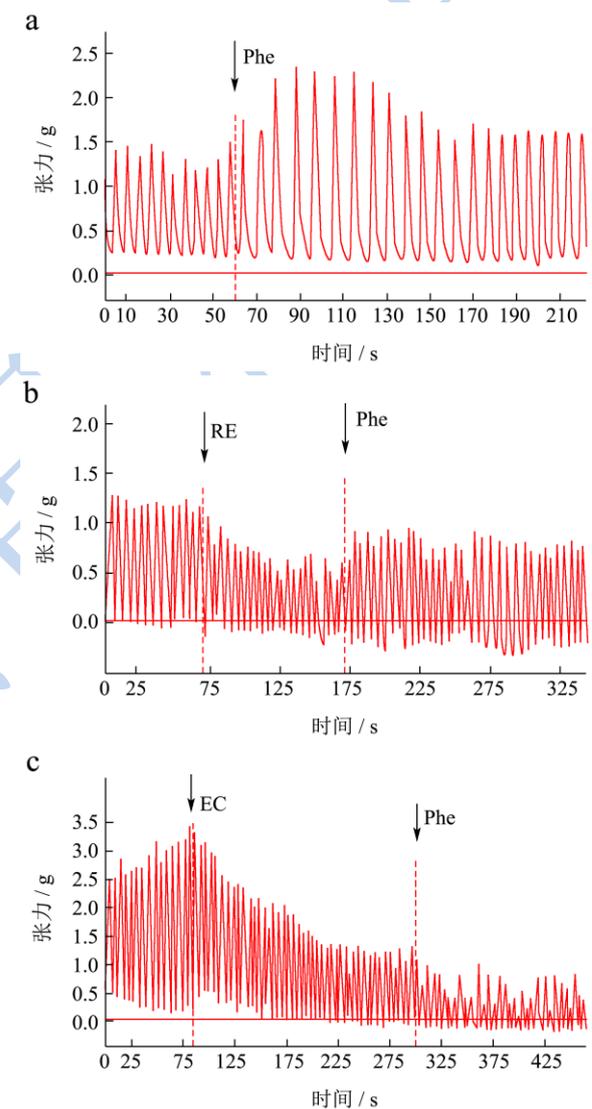


图 4 RE 和 EC 对肾上腺素能受体的作用效果

Fig.4 Effects of RE and EC on the adrenergic receptor

注: ↓表示加样; RE 代表山莓叶醇提取物; EC 代表对羟基肉桂酸乙酯; Phe 代表酚妥拉明; a 为加入 Phe 的波形图; b 为加入 RE 后再加入 Phe 的波形图; c 为加入 EC 后再加入 Phe 的波形图。

酚妥拉明是一种肾上腺素 α 受体阻断剂, 能选择性与肾上腺素 α 受体结合, 拮抗激动剂对 α 受体的激动作用, 而对 β 受体无作用, 同时, 具有拟

胆碱样作用，可以兴奋胃肠平滑肌。从图 4a 可以看出，酚妥拉明可以引起肠管明显痉挛^[4]。图 4b 结果表明，先在肠管中加入 RE，肠管的张力明显降低，再加入酚妥拉明，肠管的张力明显增加，从而说明 RE 不是作用于肾上腺素 α 受体。由图 4c 分析，EC 明显抑制肠管运动张力，再加入酚妥拉明，肠管运动没有激动起来，从而说明 EC 通过肾上腺素 α 受体来抑制肠管蠕动。

2.2.3 RE 和对 EC 对组胺通道的影响

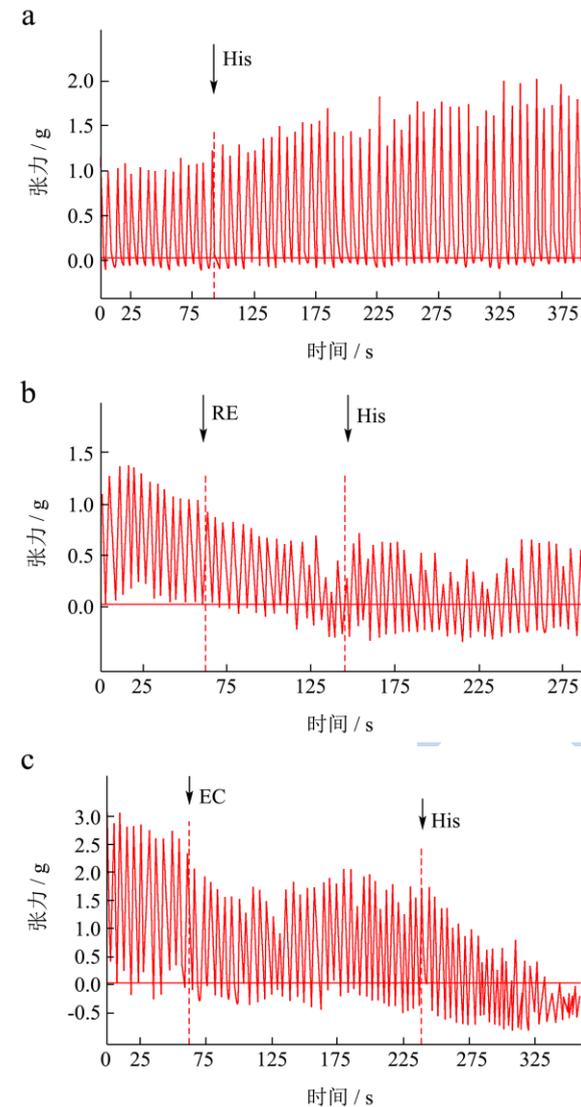


图 5 RE 和 EC 对组胺通道的作用效果

Fig.5 Effects of RE and EC on the histamine channel

注：↓表示加样；RE 代表山莓叶醇提取物；EC 代表对羟基肉桂酸乙酯；His 代表组胺；a 为加入 His 的波形图；b 为加入 RE 后再加入 His 的波形图；c 为加入 EC 后再加入 His 的波形图。

组胺是一种具有明显和广泛生物活性的内源性物质，作用于多种靶器官，组胺能激动平滑肌细胞，对多种胃肠道平滑肌都有兴奋作用。从图 5 a

可以看出，组胺引起肠管明显痉挛。图 5b 结果表明，先在肠管中加 RE，肠管的张力明显降低，再加入组胺，肠管的张力稍有恢复，但是比图 5a 的激动效果要弱，说明 RE 抑制肠蠕动部分通过组胺通道发挥作用。由图 4c 分析，EC 明显抑制肠管蠕动张力，再加入组胺，持续抑制肠蠕动张力，从而说明 EC 通过组胺通道来抑制肠管运动，是组胺通道的抑制剂。

2.2.4 RE 和对 EC 对钙离子通道的影响

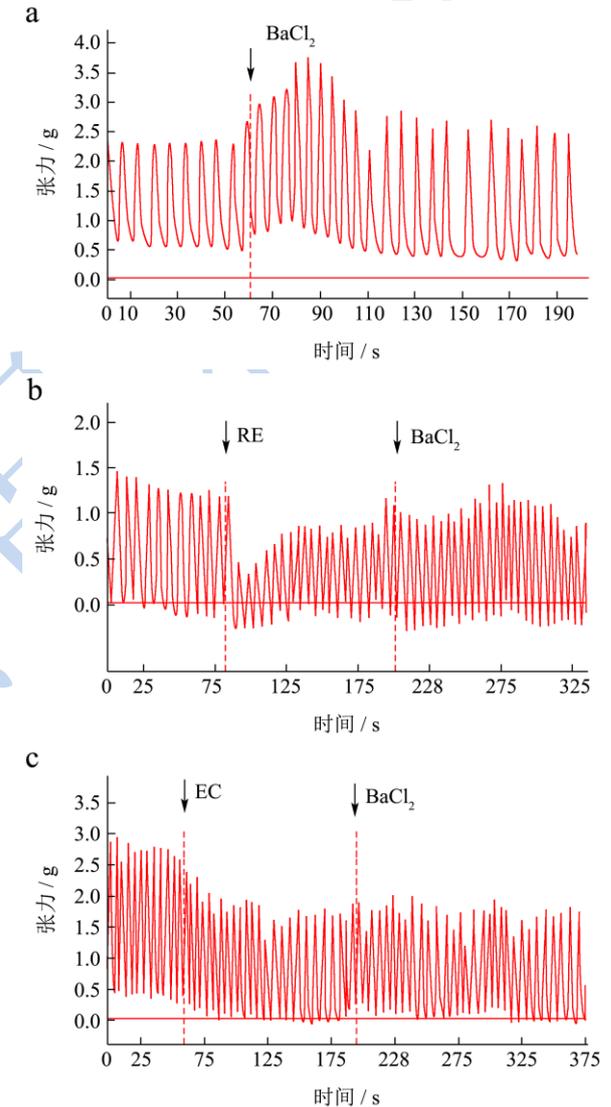


图 6 RE 和 EC 对钙离子通道的作用效果

Fig.6 Effects of RE and EC on the calcium ion channel

注：↓表示加样；RE 代表山莓叶醇提取物；EC 代表对羟基肉桂酸乙酯；BaCl₂ 代表氯化钡；a 为加入 BaCl₂ 的波形图；b 为加入 RE 后再加入 BaCl₂ 的波形图；c 为加入 EC 后再加入 BaCl₂ 的波形图。

肠平滑肌细胞内钙离子与肠平滑肌兴奋-收缩偶联存在紧密联系，是肠平滑肌收缩的关键调节因子，存在于细胞膜上的钙离子通道主要有电压操纵

性钙通道和受体操纵性钙通道, BaCl₂ 可以引起膜电位的改变, 从而调节电压依赖性钙通道^[7]。从图 6a 可以看出, 氯化钡可以引起肠管明显痉挛。图 6b 结果表明, 先在肠管中加入 RE, 肠管的张力明显降低, 再加入氯化钡, 肠管的张力明显恢复, 说明 RE 并不是通过钙离子通道来抑制肠管运动。由图 6c 分析, EC 明显抑制肠管运动张力, 再加入氯化钡, 肠运动张力没有激动起来, 从而说明 EC 是通过钙离子通道来抑制肠管运动, 是钙离子通道的抑制剂。

2.2.5 RE 和 EC 的抗腹泻作用机制

通过将 RE 和 EC 与工具药共同作用于肠管, 可以推断 RE 和 EC 的抗腹泻作用机制。工具药采用 4 个调控抗腹泻的关键通路的致痉剂, 乙酰胆碱 (Ach) 作用于乙酰胆碱通道胆碱能 M 受体, 酚妥拉明 (Phe) 作用于肾上腺素 α 受体, 组胺 (His) 和 BaCl₂ 分别作用于组胺通道和钙离子通道。

表 1 RE 与致痉剂对兔离体肠管张力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effects of RE and spasmogenic agents on the tension of isolated rabbit intestine ($\bar{x} \pm s, n=10$)

样品	剂量 ($\mu\text{g/mL}$)	张力/g		
		加样前	加 RE	加致痉剂
Ach	2	1.59±0.16	1.00±0.11**	1.09±0.12
Phe	2	1.18±0.06	0.67±0.14**	1.05±0.09#
His	2	1.09±0.10	0.70±0.09**	0.67±0.09
BaCl ₂	200	1.31±0.04	0.80±0.19**	1.22±0.17###

注: **表示与加样前比较差异极显著 ($P < 0.01$); #表示与加 RE 后比较差异显著 ($P < 0.05$); ##表示与加 RE 后比较差异极显著 ($P < 0.01$); RE 代表山莓叶醇提取物; Ach 代表乙酰胆碱; Phe 代表酚妥拉明; His 代表组胺; BaCl₂ 代表氯化钡。

由表 1 可以看出, RE 的加入均使肠管张力极显著降低 ($P < 0.01$)。再加入不同的致痉剂, 其中酚妥拉明和 BaCl₂ 使兔离体肠管显著激动起来外 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 加入乙酰胆碱和组胺没有使肠管痉挛起来, 从而表明 RE 主要通过作用于乙酰胆碱通道胆碱能 M 受体、组胺通道来抑制肠管蠕动, 对肾上腺素 α 受体和钙离子通道不起作用。

由表 2 可以看出, 加入 EC 后, 兔离体肠管的张力均极显著降低 ($P < 0.01$), 再加入不同的致痉剂, 除了加入乙酰胆碱使兔离体肠管极显著激动起来外 ($P < 0.01$), 其它 3 种致痉剂均没有使肠管痉挛起来, 其中酚妥拉明持续抑制肠管运动, 从而表明 EC 主要通过作用于肾上腺素 α 受体、组胺通道

和钙离子通道抑制肠管蠕动, 对乙酰胆碱通道胆碱能 M 受体不起作用。

表 2 EC 与致痉剂对兔离体肠管张力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of EC and spasmogenic agents on the tension of isolated rabbit intestine ($\bar{x} \pm s, n=10$)

样品	剂量 ($\mu\text{g/mL}$)	张力/g		
		加样前	加 EC	加致痉剂
Ach	2	1.20±0.10	0.89±0.08**	1.12±0.08###
Phe	2	2.73±0.39	1.56±0.41**	0.75±0.22ΔΔ
His	2	2.79±0.16	1.92±0.25**	1.42±0.62
BaCl ₂	200	2.62±0.23	1.70±0.25**	1.69±0.14

注: **表示与加样前比较差异极显著 ($P < 0.01$); ##表示与加 EC 后比较差异极显著增加 ($P < 0.01$); ΔΔ表示与加 EC 后比较差异极显著降低 ($P < 0.01$); RE 代表山莓叶醇提取物; Ach 代表乙酰胆碱; Phe 代表酚妥拉明; His 代表组胺; BaCl₂ 代表氯化钡。

综上所述, RE 和 EC 都是抑制兔离体肠管运动的高效的多靶点药物, 但两者作用的靶点有差异,

RE 的作用靶点有乙酰胆碱通道胆碱能 M 受体和组胺通道 2 个, EC 的作用靶点有肾上腺素 α 受体、

组胺通道和钙离子通道 3 个, 通过高效液相色谱分析, 尽管 EC 是活性跟踪分离到的 RE 中活性较强的物质, 但其含量很低, 同时 RE 中还存在其它抑制肠运动的活性物质有待进一步分离, 因此 RE 和 EC 在抑制肠管运动方面存在不同的作用机制。

3 结论

3.1 RE 浓度在 1~10 mg/mL 范围内, 离体肠管的张力增量变化率均为 30% 以上, 随着浓度的升高, 抑制肠管运动的效果越明显。当 RE 的浓度为 4 mg/mL 时, 离体肠管的张力增量变化率达到 45.37%。EC 浓度 10~800 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 相同浓度下, 其对离体肠管运动的抑制作用均极显著高于阿托品 ($P < 0.01$)。当 EC 浓度为 400 $\mu\text{g/mL}$ 时, 离体肠管的张力增量变化率达到最大 (70.45%)。首次研究了 EC 的抗腹泻活性, 并得出 EC 在抑制兔离体肠运动方面明显优于工具药阿托品。

3.2 通过将 RE 和 EC 与工具药共同作用于肠管, 工具药采用 4 个调控抗腹泻的关键通路的致痉剂 (乙酰胆碱、酚妥拉明、组胺、BaCl₂), 从而推断 RE 和 EC 的抗腹泻作用机制。结果表明, RE 主要通过作用于乙酰胆碱通道胆碱能 M 受体和组胺通道来抑制肠管运动, 对肾上腺素 α 受体和钙离子通

道不起作用。EC 主要通过作用于肾上腺素 α 受体、组胺通道和钙离子通道来抑制兔离体肠管运动，对乙酰胆碱通道胆碱能 M 受体不起作用，从而表明 RE 和 EC 是抑制兔离体肠管运动的高效的多靶点药物。

参考文献

- [1] 章丽,刘晓娟,熊平,等.山莓叶醇提物对不同模型小鼠腹泻的影响[J].现代食品科技,2012,28(9):1111-1115
ZHANG Li, LIU Xiao-juan, XIONG Ping, et al. Effects of ethanol extracts from *Rubus corchorifolius* leaves on different models of mice diarrhea [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(9): 1111-1115
- [2] 陈雪香,谭斌,周双德,等.山莓叶抑菌活性物质的提取、抑菌效果及其化学成分初步研究[J].食品科技,2008,9: 192-195
CHEN Xue-xiang, TAN Bin, ZHOU Shuang-de, et al. Preliminary research on extraction, antibiotic effect and chemical constituents of *Rubus corchorifolius* leaves extract [J]. Food Science and Technology, 2008, (9): 192-195
- [3] Chen X X, Zhou S D, Ou Y W, et al. Additional ent-kaurane diterpenoids from *Rubus corchorifolius* L.f [J]. Helvetica Chimica Acta, 2010, 93(1): 84-89
- [4] Zhang M, Ou Y W, Chen X X, et al. Two ent-kaurane diterpenoids from *Rubus corchorifolius* L. f. [J]. Helvetica Chimica Acta, 2011, 94(10): 1820-1824
- [5] Ou Y W, Chen X X, Zhang M, et al. A new ent-kaurane diterpenoid from *Rubus corchorifolius* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2013, 48(6): 999-1001
- [6] 常云佩,刘晓娟,周丽萍,等.山莓叶抑制兔离体肠运动活性物质的提取及活性稳定性研究[J].现代食品科技,2014,30(4):85-92
CHANG Yun-pei, LIU Xiao-juan, ZHOU Li-ping, et al. Inhibitory effect of *Rubus corchorifolius* leaves extract on the movement of isolated intestinal from rabbit and its active stability [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(4): 85-92
- [7] Atta A H, Mounair S M. Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2004, 92: 303-309
- [8] Poonia B S, Sasmal D, Mazumdar P M. Anti-diarrheal activity of methanol extract of *Litsea polyantha* bark in mice [J]. Fitoterapia, 2007, 78(3): 171-174
- [9] Ahmad M, Muhammad N, Mehjabeen, et al. Spasmolytic effects of *Scrophularia nodosa* extract on isolated rabbit intestine [J]. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2012, 25(1): 267-275
- [10] Hu J, Gao W Y, Ling N S, et al. Antidiarrhoeal and intestinal modulatory activities of Wei-Chang-An-Wan extract [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 125: 450-455
- [11] Tawata S, Taira S, Kobamoto N, et al. Synthesis and antifungal activity of cinnamic acid esters [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1996, 60: 909-910
- [12] Ohkatsu Y, Kubota S, Sato T. Antioxidant and photo-antioxidant activities of phenylpropanoids [J]. Journal of the Japan Petroleum Institute, 2008, 51: 348-355
- [13] Abbas S, Bashir S, Khan A, et al. Gastrointestinal stimulant effect of *Urginea indica* Kunth. And involvement of muscarinic receptors [J]. Phytotherapy Research, 2012, 26: 704-708
- [14] Nwafor P A, Bassey A I L. Evaluation of anti-diarrhoeal and anti-ulcerogenic potential of ethanol extract of *Carpolobia lutea* leaves in rodents [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 111: 619-624