

· 研究简报 ·

枇杷花黄酮提取液缓解小鼠肠道运动障碍的作用

姜帆¹,高慧颖²,郭小玲³,陈亮^{4*},郑少泉^{1*}

(1.福建省农业科学院果树研究所,福建省龙眼枇杷育种工程技术研究中心,福建 福州 350013;

2.福建省农业科学院农业工程技术研究所,福建 福州 350003;3.厦门大学环境与生态学院,福建 厦门 361102;

4.厦门大学生命科学学院,厦门市植物遗传重点实验室,福建 厦门 361102)

摘要:以枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.)花黄酮提取液(EjFF)为受试物,采用复方地芬诺酯建立小鼠便秘模型,通过小鼠小肠推进实验和排便实验,评估其对小鼠的首粒排便时间、5 h 内排便粒数和排便量、小肠墨汁推进率以及小鼠结肠突触素(SY)含量的影响。结果显示:EjFF 不影响小鼠体重,但能显著缩短小鼠排便时间,增加 5 h 内排便粒数和排便量,提高小肠墨汁推进率,并提高小鼠结肠 SY 含量($p < 0.05$)。上述结果表明 EjFF 可以有效缓解小鼠肠道运动障碍。

关键词:枇杷花;黄酮提取液;肠道运动障碍;小鼠结肠突触素

中图分类号:S 38

文献标志码:A

文章编号:0438-0479(2019)04-0621-04

慢性功能性肠道障碍以排便困难、排便不适感及排便时间延长为主要症状,其病因不明且无特征性病理改变,经常引起肠道微生态失衡,增加诱发肠癌的概率^[1]。目前的治疗以泻药为主,但副作用明显,长期服用甚至出现依赖性便秘^[2]。植物源食物含有丰富的生物活性物质,能有效抵抗高血压、肠胃疾病、癌症等多种疾病的发生,保持机体良好的代谢状态,已成为园艺学、食品营养学和医学等学科交叉的新研究领域,逐步形成园艺学发展新的学科增长点^[3]。近年来低聚木糖^[4]、膳食纤维^[5-7]、低聚麦芽糖^[8]、阿拉伯糖^[9]等生物活性物质越来越多地应用于改善功能性便秘,但是黄酮的相关作用还未见报道。

枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.)是起源于我国的亚热带特色果树,其花作为传统中草药,味淡,性平,入肺经,具有润五脏、利肺气的功效^[10]。已有研究表明,枇杷花含有丰富的黄酮和三萜类成分^[11-12],在抗氧化、抑菌、消炎等方面具有显著功效^[10,13-15]。2018 年国家卫健委已将枇杷花列入新资源食品名录。

本研究以枇杷花黄酮作为功能因子,利用小鼠便秘模型分析其提取液促进肠蠕动、改善排便的功能,以期枇杷花的功能化开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

昆明种小鼠,清洁级,雄性,体质量 18~22 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司(许可证号 SCXK(沪)2012-0002),常规饲养。复方地芬诺酯片购自长春长江制药有限公司(国药准字 H22022037,批号 20130901)。小鼠结肠突触素(SY)酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒购自北京安迪华泰生物科技有限公司(批号 20170209)。

实验用枇杷为枇杷属普通枇杷种,品种为白肉枇杷新品种“贵妃”,样品来源于国家果树种质福州龙眼枇杷圃(编号 GPPP0260)。盛花期采集无病虫害、发育正常的果序,70 °C 烘干至恒量,粉碎后密封保存备用。

收稿日期:2018-05-02 录用日期:2019-03-23

基金项目:福建省农业科学院青年英才计划(C2017-04);农业部物种品种资源保护(热带作物)项目(151721301354051701);国家农作物种质资源共享服务平台项目(NICGR2018-054)

*通信作者:chenlg@xmu.edu.cn(陈亮);zsq333555@163.com(郑少泉)

引文格式:姜帆,高慧颖,郭小玲,等.枇杷花黄酮提取液缓解小鼠肠道运动障碍的作用[J].厦门大学学报(自然科学版),2019,58(4):621-624.

Citation:JIANG F,GAO H Y,GUO X L,et al. Effect of *Eriobotrya japonica* flower flavonoides extract on intestinal motility disorders in mice[J]. J Xiamen Univ Nat Sci,2019,58(4):621-624. (in Chinese)



<http://jxmu.xmu.edu.cn>

1.2 方法

1.2.1 枇杷花黄酮提取液(EjFF)的制备

EjFF的制备参考文献[11]的方法,枇杷花经干燥、粉碎后,采用70%(体积分数)乙醇提取3次,提取液合并后减压真空浓缩至1 mL/g(干枇杷花)备用,分光光度计法测定总黄酮质量分数为1.03%。

1.2.2 复方地芬诺酯便秘模型小鼠构建

选用成年雄性小鼠,共设5个组别,其中低、中、高剂量组枇杷花黄酮的质量分数依次为100,200,400 mg/kg(以人体推荐量的10倍为中剂量),另设一个对照组和一个模型组。每组12只,给予受试样品15 d后,各组小鼠禁食不禁水16 h。模型组和3个剂量组灌胃给予复方地芬诺酯5 mg/kg^[16](按小鼠体质量,下同),对照组给蒸馏水。

1.2.3 排便功能和小肠推进实验

提取浓缩的EjFF并用蒸馏水稀释后按相应剂量给药,对照组和模型组以同样方式给蒸馏水。受试样品给予时间15 d。给予复方地芬诺酯0.5 h后,各剂量组分别给予含相应受试样品的墨汁(含5%质量分数的活性炭粉和10%(质量分数)阿拉伯树胶),对照组和模型组给予墨汁灌胃。小鼠均单笼饲养,正常饮水进食。从灌墨汁开始,记录每只小鼠首粒排便时间、5 h内排便粒数和排便质量。参考金鑫等^[17]的方法测量小肠总长度和墨汁推进长度,计算墨汁推进率(墨汁推进长度/小肠总长度×100%)。

若5 h内排便质量和粒数中任一项显著高于模型组,且墨汁推进率和首粒排便时间中任一项显著高于模型组,则可判定该受试物具有润肠通便的功能^[18]。

1.2.4 小鼠结肠SY含量测定

小肠推进实验结束后另分离大肠,参考金鑫等^[17]的方法测定SY含量。

1.2.5 数据统计分析

使用DPS 7.05软件进行数据统计分析。计算平均值和标准差,并通过Duncan新复极差法进行组间差异显著性分析, $p < 0.05$ 表示差异显著, $p < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 EjFF对小鼠体质量的影响

灌胃给予EjFF及药物后,各组小鼠体质量变化见表1。结果显示:各组小鼠的初始体质量与对照组相

比均无显著性差异($p > 0.05$),说明实验前的小鼠分组随机均衡;经灌胃处理15 d后,各组小鼠体质量与对照组相比差异也不显著($p > 0.05$),说明受试样品不影响小鼠体质量的正常增加。这与枇杷花水提取物的实验结果^[19]一致。

表1 实验前后小鼠的体质量($n=12$)

Tab. 1 Body weights of mice before and after experiment ($n=12$)

| 组别 | 体质量/g | |
|------|------------|------------|
| | 实验前 | 实验后 |
| 对照组 | 21.73±1.06 | 36.23±4.04 |
| 模型组 | 21.17±1.17 | 35.26±2.61 |
| 低剂量组 | 21.40±0.90 | 35.23±2.60 |
| 中剂量组 | 21.28±0.81 | 34.52±2.65 |
| 高剂量组 | 20.97±1.04 | 33.38±4.22 |

2.2 EjFF对便秘模型小鼠排便的影响

由表2可知,与对照组相比,模型组小鼠的首粒排便时间延长72.79%($p < 0.05$),5 h内排便粒数和排便质量分别减少13.67%($p < 0.01$)和30.56%($p < 0.05$),表明便秘模型构建成功。与模型组相比,3个剂量组均能不同程度地缩短便秘模型小鼠的首粒排便时间,增加5 h内排便粒数和质量,其中,中、高剂量组小鼠的首粒排便时间显著缩短($p < 0.05$),高剂量组小鼠的5 h内排便质量显著增加($p < 0.05$),3个剂量组小鼠的5 h内排便粒数均显著增加($p < 0.05$)。上述结果表明EjFF对便秘小鼠具有很好的润肠通便作用。

表2 复方地芬诺酯便秘模型小鼠的排便实验结果($n=12$)

Tab. 2 Results of defecation experiments in mouse models of diphenoxylate-induced constipation ($n=12$)

| 组别 | 首粒排便时间/min | 5 h内排便质量/g | 5 h内排便粒数 |
|------|--------------|-------------|-----------|
| 对照组 | 61.88±27.26* | 0.36±0.11** | 30.0±8.2* |
| 模型组 | 106.92±58.22 | 0.25±0.18 | 25.9±8.8 |
| 低剂量组 | 78.50±57.57 | 0.29±0.07 | 33.5±8.8* |
| 中剂量组 | 68.42±35.29* | 0.32±0.12 | 33.8±7.8* |
| 高剂量组 | 60.75±26.16* | 0.35±0.07* | 33.3±7.3* |

注:与模型组相比,*表示 $p < 0.05$,**表示 $p < 0.01$,下同。

2.3 EjFF对便秘模型小鼠的小肠推进效果

由图1可知:模型组小鼠给予复方地芬诺酯后,

<http://jxmu.xmu.edu.cn>

墨汁推进率为 52.26%, 与对照组相比具有极显著差异 ($p < 0.01$); 低、中、高剂量组的墨汁推进率分别为 63.47%, 71.62%, 78.08%, 与模型组相比均显著增加 ($p < 0.05$, $p < 0.01$). 上述结果表明 E_jFF 具有良好的促进肠蠕动作用。

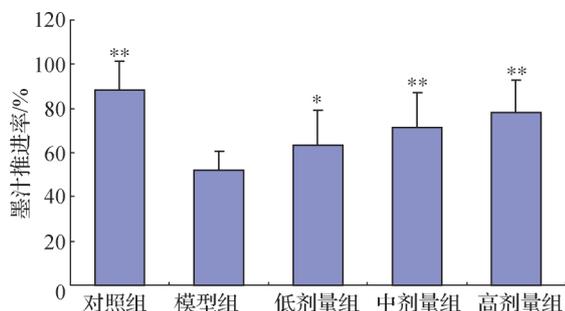


图1 复方地芬诺酯便秘模型小鼠的小肠推进实验结果
Fig.1 Results of bowel movement experiment in mouse models of diphenoxylate-induced constipation

2.4 E_jFF 对便秘模型小鼠结肠 SY 含量的影响

根据 ELISA 试剂盒测试结果, SY 含量在合适浓度范围内与吸光度具有良好的线性关系, 当 SY 含量在 15~180 pg/mL 之间时, 回归方程为 $y = 27.322x + 0.4172$ ($R^2 = 0.9969$). 检测结果显示(图2): 模型组小鼠结肠 SY 含量比对照组降低了 25.78%, 差异极显著 ($p < 0.01$); 与模型组相比, 低、中、高剂量组小鼠结肠 SY 含量分别提高了 14.26%, 18.77%, 23.72%, 其中, 中、高剂量组与模型组差异显著 ($p < 0.05$).

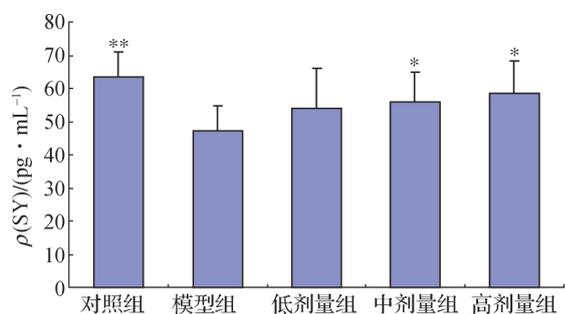


图2 复方地芬诺酯便秘模型小鼠结肠 SY 含量
Fig.2 Colonic SY contents in mouse models of diphenoxylate-induced constipation

3 讨论

植物类黄酮属于实际无毒级生物活性物质^[20], 具有降压、活血化瘀、止咳、祛痰、抗氧化等多种功效^[21],

开发利用前景广阔. 枇杷花作为传统民间用药, 能有效缓解发炎、咳嗽等症状. 贵妃枇杷花茶水提取物具有显著的干预急性炎症的作用, 还能明显促进模型小鼠小肠运动能力^[13]. 枇杷花的 95% 乙醇提取物具有明显的止咳作用, 50% 乙醇提取物和水提取物具有一定止咳效果, 而 75% 乙醇提取物无明显的止咳效果^[14]. 本研究以黄酮为目标因子, 通过小鼠排便、肠推进实验证实黄酮质量分数为 100~400 mg/kg 的 E_jFF 可有效缓解肠道运动障碍, 且对小鼠体质量无影响.

近年来, 探索预防和治疗便秘的活性成分以膳食纤维等多糖类物质居多^[4-9], 而枇杷花黄酮的有效剂量相对较低. 本研究表明枇杷花黄酮改善小鼠便秘的有效剂量为 200 mg/kg, 明显低于低聚麦芽糖(400 mg/kg^[5])、山楂膳食纤维(500 mg/kg^[8])、阿拉伯糖(1 500 mg/kg^[9])等功效成分的有效剂量.

SY 是一种特异性蛋白质, 在神经传导中有重要的连通细胞骨架作用^[22-23], 其抗体能选择性标记结肠肠壁肌层的神经肌肉接头和肌间神经丛的突触, 是评价结肠动力功能单元的一项重要指标. 本研究发现黄酮质量分数为 100~400 mg/kg 的 E_jFF 可以使小鼠结肠 SY 含量相对于模型小鼠提高 14.26%~23.72%, 这与促进小肠蠕动和排便等作用一致, 暗示枇杷花黄酮可能通过激活 SY 使肠管收缩并增强蠕动, 从而达到改善便秘的效果. 已有研究显示肠神经系统主要由胃肠道壁内微小神经节内所含有的各类神经元和节间索组成, 是一个结构和功能独特的系统^[24]. 而 SY 作为特殊蛋白质是如何参与调解肠神经系统中众多神经递质^[25-26]还有待深入研究, 以进一步探讨枇杷花黄酮缓解肠道运动障碍的机制.

参考文献:

- [1] 方玉, 刘刚, 张晓喻, 等. 青刺尖茶汤对便秘模型小鼠润肠通便的效果[J]. 食品科学, 2014, 35(11): 265-268.
- [2] 张上隆, 陈昆松. 果实品质形成与调控的分子生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 208.
- [3] 周峰, 张旗. 慢性功能性便秘的治疗进展[J]. 光明中医, 2010, 25(7): 1310-1311.
- [4] 李解, 陈雪皎, 郭承义, 等. 雅安藏茶和低聚木糖复配物润肠通便作用[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 220-224.
- [5] 陈洪雨, 马蕾, 杨建乔, 等. 山楂膳食纤维改善功能性便秘及预防铅中毒作用[J]. 食品科学, 2013, 34(15): 232-235.
- [6] 杨光, 董立军, 周茜, 等. 膳食纤维强化冻干山楂果对小鼠润肠通便作用研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(5): 8-10, 105.
- [7] 程明明, 黄苇. 西番莲果皮中湿法改性膳食纤维的降脂保

- 肝及润肠通便功能研究[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 202-207.
- [8] 周慧, 易翠平. 大米低聚异麦芽糖的润肠通便研究[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2014, 29(6): 28-32.
- [9] 杨子明, 董仲玺, 吴建璋, 等. *L*-阿拉伯糖润肠通便作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(5): 7-9.
- [10] 姜帆, 高慧颖, 郑少泉. 枇杷花茶抗氧化作用及其食品卫生指标检测[J]. 福建农业学报, 2015, 30(2): 146-149.
- [11] 姜帆, 周丹蓉, 高慧颖, 等. 枇杷种质花中黄酮含量分析与评价[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(6): 1031-1035.
- [12] 姜帆, 高慧颖, 陈秀萍, 等. 枇杷花中三萜类物质的分析与评价[J]. 热带亚热带植物学报, 2016, 24(2): 233-240.
- [13] 姜帆, 高慧颖, 郑少泉. 枇杷花茶水提取物消炎与促进小肠运动作用的研究[J]. 福建农业学报, 2016, 31(7): 743-746.
- [14] 王静波, 杨必坤, 张宏, 等. 枇杷花提取物止咳作用研究[J]. 中草药, 2009, 40(7): 1106-1109.
- [15] ZHOU C H, SUN C D, CHEN K S, et al. Flavonoids, phenolics, and antioxidant capacity in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl. [J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(5): 2935-2945.
- [16] 周晓丹, 刘爱萍, 张明, 等. 副干酪乳杆菌 LC-01 对便秘小鼠的通便作用[J]. 乳业科学与技术, 2012, 35(5): 7-11.
- [17] 金鑫, 高擎, 葛亚中. 一种中草药组方保健食品润肠通便功能的研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(1): 77-81, 76.
- [18] 金宗濂. 功能食品教程[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003: 173.
- [19] 姜帆, 邓朝军, 陈秀萍, 等. 贵妃枇杷花茶成分分析及安全性初步评估[J]. 东南园艺, 2016(4): 5-7.
- [20] 董文, 杨晓, 胡尚钦, 等. 变异白色红花总黄酮提取物安全性毒理学评价[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(2): 202-209.
- [21] 周新, 李宏杰. 黄酮类化合物的生物活性及临床应用进展[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(5): 350-355.
- [22] GOUIN S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends[J]. Trends in Food Sci & Tech, 2004, 15(7/8): 330-347.
- [23] 孔利霞, 宋建亭, 赵士彭. 突触素在慢传输型便秘患者结肠壁的表达[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(16): 1726-1729.
- [24] SJOLUND K, FASTH S, EKMAN R, et al. Neuropeptides in idiopathic chronic constipation (slow transit constipation) [J]. Neurogastroent Motil, 1997, 9(3): 143-150.
- [25] 丁义江, 哈楠林, 丁曙晴, 等. 结肠慢传输型便秘与突触素和 P 物质及血管活性肠肽的临床研究[J]. 中华胃肠外科杂志, 2004, 7(6): 485-487.
- [26] 王岚, 彭成, 郭力. 附子大黄配伍对阳虚便秘动物的治疗作用及其机制研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2006, 14(2): 82-85.

Effect of *Eriobotrya japonica* flower flavonides extract on intestinal motility disorders in mice

JIANG Fan¹, GAO Huiying², GUO Xiaoling³, CHEN Liang^{4*}, ZHENG Shaoquan^{1*}

(1. Fujian Fruit Breeding Engineering Technology Research Center for Longan & Loquat, Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350013, China; 2. Institute of Agricultural Engineering Technology, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350003, China; 3. College of the Environment and Ecology, Xiamen University, Xiamen 361102, China; 4. Xiamen Key Laboratory for Plant Genetics, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: *Eriobotrya japonica* flower flavonides extract (*Ej*FF) was studied regarding its ability to mitigate intestinal motility disorders. A mouse model of diphenoxylate-induced constipation was established in the bowel evacuation and intestinal motility experiments. The first evacuation time, the number of fecal pellets and the weight of feces in 5 h, the movement rate of ink in the small intestine, and the effect on colonic synaptophysin (SY) contents were measured. The results showed that *Ej*FF intragastrical administration had no effect on body weights of mice, while compared with the model group, the groups treated with *Ej*FF exhibited a shortened evacuation time, an increased number of fecal pellets, an increased weight of feces in 5 h, an increased movement rate of ink, and increased SY contents ($p < 0.05$). Therefore, the results demonstrate that *Ej*FF can mitigate intestinal motility disorders in mice.

Keywords: *Eriobotrya japonica* flower; flavonides extract; intestinal motility disorders; colonic synaptophysin

<http://jxmu.xmu.edu.cn>