

花生衣提取液对离体血管环和心脏活动的影响

高良才*, 王欣怡, 林泽杰, 宋宁宁

华东师范大学, 上海 200241

摘要:研究花生衣提取液及其有效成分对离体血管环及心脏的影响。以大鼠离体胸主动脉血管环及蛙类离体心脏为研究对象,观察花生衣提取液及其有效成分对血管环张力、心脏心率和平均张力的影响,利用高效液相色谱法分析其有效成分。结果显示,花生衣提取液对血管环及KCl和NE所致的主动脉环收缩反应具有显著的舒张作用;可明显降低离体心脏心搏频率和平均张力。HPLC结果显示白藜芦醇是花生衣提取液有效成分之一,且与花生衣提取液的作用效果一致。实验结果表明花生衣提取液呈内皮依赖性舒张血管平滑肌,可明显降低离体心脏的心跳频率和收缩力,具有一定的舒张血管和保护心脏的效果,其有效成分为白藜芦醇。

关键词:花生衣;离体血管环;离体心脏;白藜芦醇

中图分类号:R932

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.10.004

Effect of Peanut Skin Extract on Vascular Rings and Heart

GAO Liang-cai*, WANG Xin-yi, LIN Ze-jie, SONG Ning-ning

East China Normal University, Shanghai 200241, China

Abstract: To study the effect of peanut skin extracts on vascular rings and heart. The perfusion model of thoracic aorta rings of rats and isolated frog heart were applied to observe the response of artery contraction of peanut skin extract and its active ingredient. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to analyze and determine the active ingredient. The result showed that peanut skin extract can significantly relax the contraction of rat aortic ring induced by HCL and NE, and significantly reduce the heart rate and mean tension of frog isolated heart. The HPLC analysis results showed that resveratrol was one of the effective ingredients of peanut skin extract, which was consistent with the effect of peanut extract. In conclusion, peanut skin extract can significantly relax rat aortic ring, reduce the heart rate and mean tension of frog isolated heart. Peanut skin had the effect of vasorelaxation and heart protection. Its effective ingredient was resveratrol.

Key words: peanut skin; isolated vascular rings; isolated; resveratrol

花生(*Arachis hypogaea* Linn),蔷薇科目豆科一年生草本植物,是全球最重要油料作物之一。其表面种皮花生衣,富含丰富的营养成分,有健脾和胃、止血、散瘀、消肿、的功效^[1]。花生衣主要成分为儿茶素、原花青素、白藜芦醇等生物活性物质^[2]。有研究表明花生衣能减低毛细血管通透性,有良好的抗氧化及止血效果。实验证实,花生衣对大鼠有短暂的降压作用,并能降低离体兔肠的张力,提示花生衣可能具有舒张血管、减低心率和减低心脏收缩的功能^[3]。本论文通过离体大鼠胸主动脉血管环、蛙类离体心脏实验,探究花生衣对血管环及心脏的保

护作用,并利用高效液相色谱仪探究其有效成分,为花生衣的临床研究及相关保健品或药物开发提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 药物与试剂

红皮花生、去甲肾上腺素(NE,上海禾丰制药有限公司)、Krebs-Henseleit 营养液(K-H液)、任氏液(Ringer's solution)、金纳多(银杏叶提取物注射液,德国威玛舒培博士药厂)、白藜芦醇(上海瑞齐生物科技有限公司)。

1.2 仪器

旋转蒸发器 RE-2000(上海中生科技有限公司)、SHB-III 循环水式真空泵(上海豫康科教仪器设备有限公司)、张力传感器(JZJ-01)、生物信号采

收稿日期:2017-03-30 接受日期:2017-04-19

基金项目:上海市科委科研基金(16DZ2348900);国家大学生创新项目资助

* 通信作者 E-mail:lchgao@bio.ecnu.edu.cn

集处理系统(RM6240B/C)、离体组织器官恒温灌流系统(HV-4)均为成都仪器厂产品。

1.3 动物

雄性SD大鼠40只,体重180~200 g,七周龄,合格证编号:SCKX(沪)2007-0005,由上海斯莱克实验动物有限公司提供。

2 实验方法

2.1 血管环制备

大鼠脱颈椎处死,迅速分离胸主动脉,并将其剪成2~5 mm长的动脉环,置于4℃充有95% O₂ + 5% CO₂混合气体的K-H缓冲液中,使用眼科剪取出多余结缔组织及脂肪组织。解剖镜下进行血管内皮完整性检测后,将血管环穿入不锈钢三角环,置于37℃K-H液中并持续通入混合氧,一端固定于浴槽玻璃固件,另一端与张力换能器连接,调节血管张力至2 g,平衡1 h,期间每隔15 min换一次液。之后通过生物信号采集系统记录血管环张力变化。

2.2 离体蛙心制备

双毁髓蟾蜍,暴露心脏,斯氏蛙心插管法制备离体心脏,固定于支架上,用蛙心夹夹住心尖,并与张力换能器相连,生理信号处理系统记录正常心搏曲线。分别用花生衣提取液(终浓度5 mg/mL、10 mg/mL、200 mg/mL)和金纳多(终浓度100 μg/mL)灌流,并做好加药标记,观察心搏曲线变化。

2.3 花生衣提取液的制备

用水浸泡花生,剥取花生衣,晾干后用95%乙醇浸泡过滤,滤液放入旋转蒸发仪蒸发5 h,最后获得1 g/mL原液,稀释后进行实验。

2.4 HPLC分析条件

Diamonsil TM C18 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm, Dikma Technologies, Beijing, China); 进样量20 μL,柱温30℃;流速1.0 mL/min;以甲醇-水梯度为流动相进行梯度洗脱,检测波长306 nm。取白藜芦醇标准品10 mg,甲醇溶解定容至10 mL,梯度稀释至3000倍,经0.45 μm微孔滤膜过滤后取20 μL进样,以吸收峰的峰高值对含量作线性回归。花生衣提取物原液萃取、浓缩后经甲醇溶解稀释后0.45 μm微孔滤膜过滤。进行高效液相测定。

2.5 统计学处理

采用SPSS软件进行统计学分析,实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较用配对t检验。

3 实验结果

3.1 花生衣提取液对离体大鼠胸主动脉环收缩的影响

3.1.1 花生衣提取液对胸主动脉环的舒张作用

阳性组加入100 μg/mL金纳多,实验组加入不同浓度花生衣提取液,对照组加入等体积K-H液。观察胸主动脉血管环张力降低情况,以张力降低幅度表示。如图1所示,与对照组相比,金纳多具有明

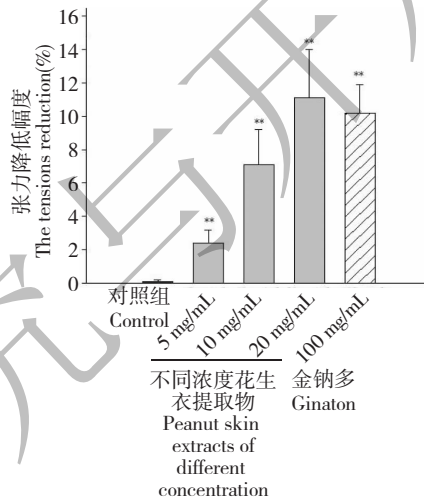


图1 花生衣提取液对血管环的直接作用 ($n = 10$, $** P < 0.01$)

Fig. 1 Direct effect of peanut-skin extract on vascular ring ($n = 10$, $** P < 0.01$)

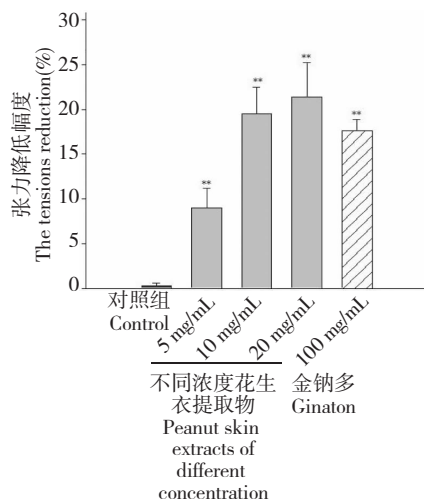


图2 花生衣提取液对抗KCl引起的收缩作用 ($n = 10$, $** P < 0.01$)

Fig. 2 Effect of peanut-skin extract on the contraction of KCl ($n = 10$, $** P < 0.01$)

显的舒张血管作用($P < 0.01$)不同浓度的花生衣提取液对血管环均有显著的舒张作用($P < 0.01$),且浓度越高,舒张作用越明显。

3.1.2 花生衣提取液对 KCl 所致的主动脉环收缩反应的影响

内皮完整的血管环,加入 60 mmol/L KCl 进行预收缩,待血管环收缩稳定后,各组进行相应试剂处理,记录血管环张力变化,以张力降低幅度表示。如图 2 所示,与对照组相比,不同浓度的花生衣提取液同样具有显著的舒张作用($P < 0.01$),且浓度越高,舒张作用越明显。100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 金纳多具有同样的舒张作用。

3.1.3 花生衣提取液对 NE 所致的主动脉环收缩反应的影响

内皮完整的血管环中,加入 10^{-6} mol/L NE,待血管环收缩达到稳定后,以各组进行相应试剂处理,如图 3 所示,与对照组相比,花生提取液对 NE 引起的主动脉环收缩反应有显著的舒张作用($P < 0.01$),且浓度越高,舒张作用越明显。100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 金纳多具有同样的舒张作用。

3.1.4 花生衣提取液对蛙类离体心脏活动的影响

分别向各组灌流液中加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 金纳多,

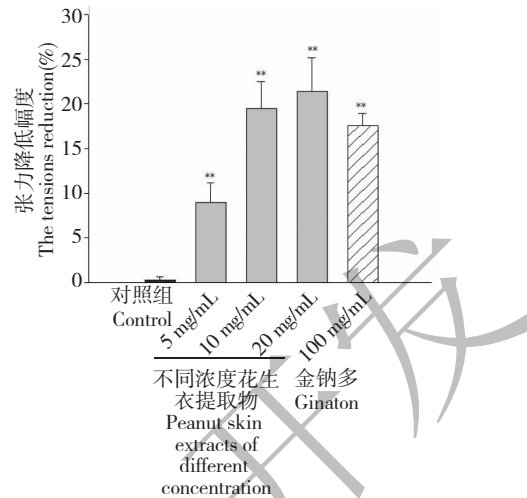


图 3 花生衣提取液对抗 NE 引起的收缩作用 ($n = 10$, ** $P < 0.01$)

Fig. 3 Effect of peanut-skin extract on the contraction of NE ($n = 10$, ** $P < 0.01$)

不同浓度花生衣提取液及等量 K-H 溶液。如表 1 所示,与对照组相比,花生衣组蟾蜍心脏搏动的速度明显减慢($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),平均收缩力显著降低,且浓度越高,作用越明显。金纳多同样可以明显减缓心脏的搏动和收缩。

表 1 花生衣提取液对蛙类离体心脏活动的影响

Table 1 Effect of peanut-skin extract on frog cardiac

组别 Group	浓度 Concentration	心率(次/分) Heart rate	平均收缩力 Average contraction (g)
对照组 Control		28.4 \pm 3.2	1.56 \pm 0.10
金纳多组 Ginaton	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.6 \pm 3.1 *	1.25 \pm 0.14 **
花生衣组 Peanut-skin	5 mg/mL	21.6 \pm 2.4 *	1.02 \pm 0.11 **
	10 mg/mL	18.6 \pm 3.1 **	0.87 \pm 0.15 **
	20 mg/mL	18.7 \pm 1.8 **	0.65 \pm 0.10 **

注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

3.2 花生衣提取液中白藜芦醇的分离与含量测定

如图 4 所示, A、B 分别为白藜芦醇及花生衣提取液的 HPLC 色谱图。结果显示,花生衣提取液与白藜芦醇标准品均在 6.896 min 处出峰,表明花生衣提取液中含白藜芦醇。经白藜芦醇标准曲线回归方程计算,花生衣干品中白藜芦醇的含量为 320 $\mu\text{g}/\text{g}$ 干品。表明白藜芦醇为花生衣提取液的主要成分之一。

3.3 白藜芦醇对离体大鼠胸主动脉环收缩的影响

如图 5 所示,与对照组相比,白藜芦醇对离体大

鼠胸主动脉环收缩及对 KCl 和 NE 所致的预收缩均有显著的舒张作用($P < 0.01$),与花生衣提取液和金纳多的作用效果一致。表明白藜芦醇为花生衣提取液的有效成分之一。

3.4 白藜芦醇对蛙类离体心脏活动的影响

如表 2 所示,与对照组相比,白藜芦醇组蛙类心脏搏动的速度明显减慢,平均收缩力显著降低($P < 0.01$)。与花生衣及金纳多的作用效果一致。表明白藜芦醇是花生衣提取液的有效成分之一。

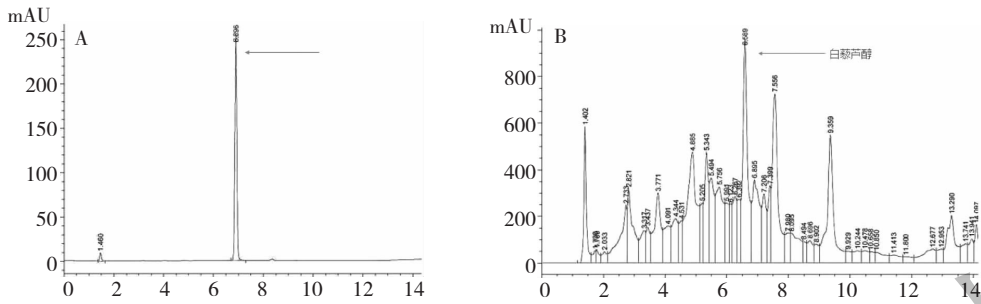
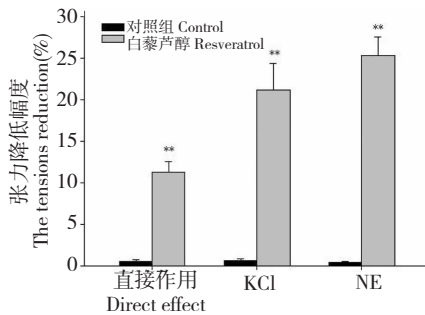


图4 白藜芦醇标准品(A)及花生衣提取液(B)的HPLC色谱图

Fig. 4 HPLC chromatograms of resveratrol standard (A) and peanut-skin extract (B)

图5 白藜芦醇对离体大鼠胸主动脉环收缩的影响 ($n = 10$, ** $P < 0.01$)Fig. 5 Effects of resveratrol on contraction of isolated thoracic aorta rings in rats ($n = 10$, ** $P < 0.01$)

4 讨论与结论

据世界卫生组织报道,全球高血压患者数量高达15亿。高血压被称为“沉默的杀手”,可严重影响着人类健康。研究表明,血压由每搏输出量和周围血管阻力共同决定^[4],高血压患者往往伴随着心率升高和血管过度收缩的现象^[5]。

表2 白藜芦醇对蛙类离体心脏活动的影响

Table 2 Effect of resveratrol on frog cardiac

组别 Group	心率(次/分) Heart rate	平均收缩力 Average contraction (g)
对照组 Control	29.3 ± 2.7	1.71 ± 0.13
白藜芦醇组 Resveratrol (5 μg/mL)	19.1 ± 2.1*	0.70 ± 0.12**

注:* $P < 0.05$ 。

花生是全球公认的健康食品,被认为“十大长寿食品”之一。花生衣作为花生种皮,来源广泛,价格低廉,具有良好的利用价值和应用前景。研究表明,花生衣中活性物质具有防止血小板减少、促凝、抑菌及抗氧化等作用^[3]。本实验采用去甲肾上腺

素或KCl诱导血管收缩,证明花生衣对大鼠胸腔离体血管环具有显著的舒张作用并可明显降低蛙类离体心脏的心率和收缩活动。

研究表明,NE和KCl引起血管收缩分别是通过PDC和ROC促使胞外 Ca^{2+} 内流实现。NE通过 α 受体激活G蛋白与磷脂酶C,引起IP₃增加,继而引起内质网释放 Ca^{2+} ,从而导致平滑肌收缩^[6]。内皮细胞通过释放信使分子NO,NO进入平滑肌细胞,可提高cGMP水平,cGMP依赖性蛋白激酶使钙内流减少,增加钙ATP酶对钙的摄取或直接作用于收缩蛋白,最终引起血管舒张^[7]。本研究结果表明花生衣提取液对NE和KCl引起的收缩均有显著舒张作用,提示花生衣可以通过抑制PDC和ROC、降低IP₃、升高cGMP水平达到舒张血管的效果。

通过HPLC检测发现,白藜芦醇为花生衣提取液的主要成分。已有研究表明,白藜芦醇具有抗氧化、预防和治疗动脉粥样硬化的功能,本实验中,白藜芦醇对KCl和NE所致的血管收缩具有明显的舒张作用,与花生衣提取液和金纳多的作用效果一致。提示白藜芦醇可能为花生衣提取液的主要有效成分。

综上所述,花生衣提取液对离体血管环具有显著的舒张作用,可明显降低离体心脏的心跳频率和收缩力,具有一定的舒张血管和保护心脏的效果,其有效成分可能是白藜芦醇。这为花生衣保健品和降压药物的研发提供了依据。

参考文献

- 1 Zhang XR (张秀尧), Ling LQ (凌罗庆), Dai RX (戴荣兴). Study on chemical constituents of peanut. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1990, 6: 36-38.
- 2 Yan D (严丹), Zhao ZB (赵重博), Xie DS (解达帅), et al. The exploitation and utilization of peanut coat. *Asia-Pacific Tradit Med* (亚太传统药) 2015, 20: 51-54.

(下转第1694页)