

赤雹果总有机酸治疗原发性痛经作用机制研究

赵盼¹, 佟继铭², 刘玉玲², 宋素英^{1*}

(1. 河北联合大学中医学院, 河北 唐山 063000; 2. 承德医学院中药研究所, 河北 承德 067000)

[摘要] **目的:**探讨赤雹果总有机酸(FTDBP)治疗原发性痛经作用机制。**方法:**将 Wistar 雌性大鼠 48 只随机分为正常对照组、模型组、元胡止痛片对照组、FTDBP 高、中、低剂量组(剂量分别为 0.13, 0.26, 0.52 g·kg⁻¹)。以 20 U·kg⁻¹ 缩宫素腹腔注射建立大鼠痛经模型,采用酶联免疫分析法检测大鼠血清和子宫组织中前列腺素 F_{2α}(PGF_{2α})含量和子宫组织中内皮素(ET)含量;运用甲基百里香酚蓝比色法(MTB)检测大鼠子宫组织中钙离子(Ca²⁺)含量。**结果:**FTDBP 高剂量组大鼠血清和子宫组织中前列腺素 PGF_{2α}含量均显著低于模型对照组($P < 0.01$),FTDBP 中、低剂量组大鼠血清和子宫组织中 PGF_{2α}含量均显著低于模型对照组($P < 0.05$);子宫组织中 Ca²⁺和 ET 含量显著低于模型对照组($P < 0.01$)。**结论:**FTDBP 治疗原发性痛经的作用机制可能是通过抑制大鼠的 PGF_{2α}, Ca²⁺和 ET 的释放或合成。

[关键词] 赤雹果总有机酸; 原发性痛经; 机制; 酶联免疫

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0193-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1153.025.html>

[网络出版时间] 2012-08-27 11:53

Therapeutic Mechanism of Total Organic Acid of *Thladiantha dubia* Bunge on Experimental Primary Dysmenorrhea

ZHAO Pan¹, TONG Ji-ming², LIU Yu-ling², SONG Su-ying^{1*}

(1. College of Chinese Medicine of Hebei Unite University, Tangshan 063000, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica of Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the therapeutic mechanism of the total organic acid of *Thladiantha dubia* Bunge (FTDBP) on the primary dysmenorrhea. **Method:** The primary dysmenorrhea model was induced by oxytocin in rat. The content of prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) and endothelin (ET) were detected by Elisa assay, and the Ca²⁺ were detected by Methyl thymol blue (MTB). **Result:** Compare with model group, the content of PGF_{2α} both in rat serum and uterus tissue decreased obviously by the FTDBP. And the content of ET and Ca²⁺ in uterus tissue were also significantly decreased compared to model group. **Conclusion:** Therapeutic mechanism of FTDBP on experimental primary dysmenorrheal may be related to restraining release or synthesis of PGF_{2α}, Ca²⁺ and ET.

[Key words] total organic acid of *Thladiantha dubia* Fruits; primary dysmenorrhea; mechanism; ELISA

赤雹果为多年生葫芦科植物 *Thladiantha dubia* Bunge 的干燥成熟果实,具有理气、活血、祛痰、利湿、止痛等作用,主要用于治疗痛经、乳房肿痛、风湿

痛等多种疼痛疾病,在满族民间沿用已久,疗效显著,且无明显的毒副作用。前期研究证明赤雹果对多种慢性炎症和疼痛有显著的抗炎镇痛作用^[1],其抗炎镇痛作用主要有效成分为总有机酸^[2],赤雹果对缩宫素诱发的原发性痛经有明显的防治作用,并可抑制由缩宫素诱发的大鼠离体子宫的收缩幅度和频率^[3-4],明显降低原发性痛经模型小鼠腹腔液中的前列腺素 E₂(PGE₂)含量^[5]。本研究旨在通过检测 FTDBP 对大鼠前列腺素 F_{2α}(PGF_{2α})、钙离子

[收稿日期] 20120417(001)

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目(C2006000863)

[第一作者] 赵盼,学士,在读硕士研究生,从事中医血症研究, Tel:0314-2290076, E-mail:472167106@qq.com

[通讯作者] * 宋素英,教授,硕士生导师,从事中医血症研究, Tel:0314-2290076, E-mail:plmmssy@163.com

Ca²⁺、内皮素(ET)水平的影响,探讨其治疗实验性痛经大鼠的作用机制。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,清洁级,雌性,48 只,体重(200 ± 20)g,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,动物生产许可证 SCXK(京)2009-0008

1.2 药品与试剂 缩宫素(批号 H34022979,安徽宏业药业有限公司),己烯雌酚(批号 0806021,天津金耀氨基有限公司),元胡止痛片(批号 Z42020501,襄樊隆中药业有限责任公司),赤芍果总有机酸(由承德医学院中药研究所提供,赤芍果总有机酸的平均质量分数为 55.84%,批号 20110315),PGF_{2α} ELISA 试剂盒、Ca²⁺ 测定试剂盒(采用甲基百里香酚蓝比色法)和 ET ELISA 试剂盒(均购自上海江莱生物科技有限公司)。

1.3 仪器 AG-245 分析天平(瑞士 Metter 公司),80-2B 离心机(上海安亭科学仪器厂),Multiskan MK3 酶标仪(美国 Thermo Electron Corporation)。

2 方法

2.1 赤芍果总有机酸的制备 取水量赤芍果,粉碎为粗粉,回流提取法制备赤芍果水提取物,717 阴离子交换树脂静态饱和吸附,以 30% 乙醇为洗脱剂,洗脱流速为 2.0 mL·min⁻¹,收集洗脱液。减压回收溶剂,赤芍果总有机酸提取率为 10.4%,总有机酸的平均质量分数为 55.84%。赤芍果总有机酸的主要成分为熊果酸、齐墩果酸、草酸、酒石酸、苹果酸、抗坏血酸、乳酸、醋酸、柠檬酸、丁二酸。

2.2 造模及给药^[6-8] 将 48 只大鼠随机分为 6 组: FTDBP 高、中、低剂量组(剂量分别为 0.13, 0.26, 0.52 g·kg⁻¹; 分别相当生药剂量为 1.25, 2.5, 5 g·kg⁻¹)、元胡止痛片(YHZTP)对照组(0.6 g·kg⁻¹)、模型组、正常对照组。除正常对照组外,其余组动物均皮下注射己烯雌酚 0.2 mg/只(第 1 天和第 6 天 0.5 mg/只)连续 6 d(人工造成动物处于相同的动情期,以便提高子宫平滑肌对药物的敏感性),注射己烯雌酚第 3 天,各组动物灌胃给予相应的药物,模型组灌胃给予等量蒸馏水,连续 5 d,各组于第 7 天给药 1 h 后,ip 缩宫素 20 U·kg⁻¹。

2.3 检测指标 注射缩宫素 30 min 后,各组大鼠均 ip 4% 水合氯醛(5 mL·kg⁻¹)麻醉。各组大鼠腹主动脉取血 5 mL,室温血液自然凝固 2 h,2 500 r·min⁻¹,4 ℃ 离心 20 min,分离血清,置于 -20 ℃ 保存,待测。取血后,立即开腹暴露子宫,分离子宫周围脂肪和系膜,取出子宫,用眼科剪刀将子宫剪一小

口,使子宫内组织液流出,用滤纸吸净子宫内外组织液及血液,用电子分析天平称重。剪碎,按质量体积比 1:3 加入冰生理盐水,研磨匀浆,2 500 r·min⁻¹,4 ℃ 离心 20 min,取上清液,置于 -20 ℃ 保存,待测。标本具体方法严格按照试剂盒操作。

2.4 统计分析 实验结果采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,两两比较采用 LSD 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对血清及子宫组织中 PGF_{2α} 含量的影响 模型组动物血清和子宫组织中 PGF_{2α} 含量显著高于空白对照组($P < 0.01$),提示缩宫素诱发原发性痛经模型动物血清和子宫组织中 PGF_{2α} 含量显著升高; YHZTP 组和 FTDBP 各剂量组动物血清和子宫组织中 PGF_{2α} 含量明显低于模型组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 FTDBP 对实验性痛经大鼠血清及子宫组织中

组别	PGF _{2α} 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)		
	剂量/g·kg ⁻¹	血清 PGF _{2α}	组织 PGF _{2α}
正常对照	-	165.93 ± 37.55 ²⁾	137.99 ± 21.95 ²⁾
模型对照	-	225.02 ± 30.27	213.27 ± 52.19
FTDBP	0.52	133.06 ± 38.51 ²⁾	131.76 ± 42.41 ²⁾
	0.26	162.93 ± 48.45 ²⁾	141.47 ± 50.04 ¹⁾
	0.13	179.89 ± 35.66 ¹⁾	155.59 ± 49.70 ¹⁾
元胡止痛片	0.6	144.75 ± 37.73 ²⁾	138.84 ± 50.44 ¹⁾

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 对子宫组织中 ET 和 Ca²⁺ 含量的影响 模型组动物子宫组织中 ET 和 Ca²⁺ 含量显著高于空白对照组($P < 0.01$),提示缩宫素诱发原发性痛经模型动物子宫组织中 ET 和 Ca²⁺ 含量显著升高; YHZTP 和 FTDBP 组动物子宫组织中 ET 和 Ca²⁺ 含量明显低于模型组($P < 0.01$),提示 YHZTP 和 FTDBP 对缩宫素引起的子宫组织中 ET 和 Ca²⁺ 的升高有显著的抑制作用,见表 2。

表 2 FTDBP 对实验性痛经大鼠子宫组织中

组别	ET 和 Ca ²⁺ 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)		
	剂量/g·kg ⁻¹	ET /μg·L ⁻¹	Ca ²⁺ /mmol·L ⁻¹
正常对照	-	75.83 ± 16.83 ²⁾	0.52 ± 0.14 ²⁾
模型对照	-	107.17 ± 13.16	0.86 ± 0.21
FTDBP	0.52	69.78 ± 19.17 ²⁾	0.26 ± 0.01 ²⁾
	0.26	76.45 ± 16.85 ²⁾	0.28 ± 0.08 ²⁾
	0.13	82.64 ± 15.17 ²⁾	0.40 ± 0.18 ²⁾
元胡止痛片	0.6	74.66 ± 20.61 ¹⁾	0.33 ± 0.10 ²⁾

4 讨论

原发性痛经即功能性痛经,是指妇女正值经期或经期前后,出现周期性小腹疼痛,或痛引腰骶,严重者可伴有恶心呕吐、冷汗淋漓、手足厥冷,甚至剧痛晕厥。好发于15~25岁及初潮后的6个月至两年内,是青春期常见症状之一。流行病学调查发现,其发病率在20%~90%之间,国外报道妇女原发性痛经的比例高达43%~90%^[9],我国妇女中痛经的发生率为33.1%,其中原发性痛经占53.2%^[10],严重影响妇女正常工作和生活质量。目前临床上西医对原发性痛经有多种治疗方法,常用的药物有非甾体抗炎药、口服避孕药、钙离子通道阻滞药、解痉镇痛药、受体激动药、维生素E等^[11],以非甾体抗炎镇痛药和口服避孕药为主,副作用大,且远期效果不理想。手术治疗如骶前神经节切除术虽有疗效,但有一定局限性难以推广。探索原发性痛经的病理生理,开发有效治疗药物,尤为重要。

原发性痛经的发生主要与经期子宫内膜合成和释放前列腺素增加有关。痛经多发生在有排卵的周期,而无排卵周期的月经则多无痛经,这是因为排卵后在孕激素的作用下,分泌期内膜合成较多的PGF_{2α},能刺激子宫收缩。据报道,痛经患者子宫内膜及经血中PGE₂,PGF_{2α}的浓度显著高于正常妇女,经血中PGF_{2α}的水平与痛经程度呈正相关^[12],在月经开始的最初2d其症状最明显,PGF_{2α}水平达到高峰^[13]。高浓度的PGF_{2α}作用于螺旋小动脉壁上的PGF_{2α}受体,引起子宫异常收缩、缺血及缺氧,酸性代谢产物堆积于肌层而致痛经^[14]。Ca²⁺在原发性痛经中也起到重要作用,近年来细胞和分子水平调节肌肉收缩功能的研究成果表明,原发性痛经的关键是子宫肌反应性过高,发生缺血-再灌注损伤^[15-16],使大量钙离子进入细胞内,细胞内钙超载,引起细胞的能量耗竭、细胞膜受损,导致细胞核钙离子稳态失衡,此外还可以导致子宫肌挛缩,这一切均引起并加重了子宫肌缺血一再灌注损伤,从而引起痛经^[17-18]。ET是子宫内膜中的血管活性因子,以旁分泌方式局部调节子宫血管张力和血流量,是子宫血管的强烈收缩剂,ET与靶细胞受体结合,促进子宫平滑肌和血管收缩,导致疼痛的发生。

原发性痛经属于中医经行痛范畴,究其原因,虽然复杂,根据“不通则痛”的理论,主要是气血运行不畅,使经行涩滞所致。赤菥果味酸苦,性平,具有理气、活血、止痛等功效,使气血运行通畅,从而达到“痛则不通”的目的,故多用于治疗痛经、乳房肿痛

等疾病。本实验中FTDBP高、中、低剂量组和元胡止痛片组均可调节大鼠血清和子宫组织中前列腺素PGF_{2α}含量及子宫组织中Ca²⁺和ET含量,显著降低大鼠PGF_{2α},Ca²⁺和ET含量,从而使子宫组织细胞功能趋于正常,甚至有可能导致前列腺素、内皮素等活性物质的生成相应减少,对抗子宫的痉挛,有效缓解疼痛症状。此外,原发性痛经的发生机制还与加压素、β-内啡肽、一氧化氮及免疫等因素有关。李亚洲等报道,赤菥果对子宫内膜炎继发性痛经也有较强的治疗作用^[21-22],由此推测其治疗痛经作用机制是多方面的,本文证明FTDBP治疗原发性痛经的作用机制与抑制大鼠的PGF_{2α},Ca²⁺和ET的释放或合成有关,对其他方面因素的影响有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 佟继铭,李兰芳,宋利萍,等.赤菥果镇痛作用的研究[J].承德医学院学报,2006,23(1):1.
- [2] 亢炎,佟继铭.阴离子交换树脂分离纯化赤菥果中的总有机酸[J].承德医学院学报,2009,26(3):237.
- [3] 佟继铭,李兰芳,刘玉玲,等.满药赤菥果乙醇提取物治疗原发性痛经的实验研究[J].时珍国医国药,2008,19(11):2688.
- [4] 佟继铭,刘玉玲,陈光晖.满药赤菥果水提取物治疗原发性痛经的实验研究[J].时珍国医国药,2010,21(12):3050.
- [5] 陈光晖,佟继铭,刘玉玲.赤菥果水提取物镇痛作用与前列腺素E₂关系研究[J].时珍国医国药,2009,20(4):818.
- [6] 柯琴,阮诗兰,李大剑.原发性痛经的动物实验研究进展[J].临床医学,2009,29(8):101.
- [7] 李萍,胡叶芬.经痛停治疗原发性痛经的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(12):71.
- [8] 彭芝配,滕久祥,党海珍,等.理气活血止痛法对痛经大鼠血液流变性和前列腺素变化的影响研究[J].中国中西医结合急症杂志,2002,9(2):95.
- [9] 华永庆,洪敏,朱荃.原发性痛经研究进展[J].南京中医药大学学报,2003,19(1):62.
- [10] 魏爱平,曾韵兰,陈妮妮.原发性痛经的中药临床应用规律分析[J].北京中医药大学学报,2011,18(1):24.
- [11] 熊压莉.原发性痛经的治疗进展[J].医药导报,2011,30(2):232.
- [12] 李亚洲,佟继铭.原发性痛经的机制[J].承德医学院学报,2011,28(2):193.
- [13] 杨继红,陈英,胡佳贞.中学女生外周血前列腺素与原发性痛经的关系[J].中国公共卫生,2011,27(8):1042.

六味地黄生物制剂对衰老模型小鼠脑海马区神经元 Bcl-2 和 Bax mRNA 表达的影响

丘婷,李天河,吴思,陈朋,赵越*
(广东药学院中药学院,广州 510006)

[摘要] 目的:观察六味地黄生物制剂(LW-PSB)对衰老模型小鼠脑海马区神经元 Bcl-2 和 Bax mRNA 表达的影响。方法:将昆明种小鼠随机分为模型组、阳性对照维生素 E(VE 0.27 g·kg⁻¹)组、LW-PSB 治疗组(0.50 g·kg⁻¹)和正常对照组,共 4 组,每组各 10 只。造模后第 15 天开始按 0.02 mL·g⁻¹体重灌胃给药,模型组、正常对照组灌胃等体积生理盐水,每日 1 次,连续灌胃 30 d。末次给药 30 min 后处死并分别取各组小鼠脑海马体,采用 RT-PCR 法检测各组小鼠脑海马区神经元 Bcl-2 和 Bax mRNA 的表达。结果:与模型组比较,LW-PSB 治疗组 Bcl-2 2^{- $\Delta\Delta\Delta\Delta$} 显著升高($P < 0.01$),阳性对照组和 LW-PSB 治疗组 Bax 2^{- $\Delta\Delta\Delta\Delta$} 显著降低($P < 0.01$),阳性对照组和 LW-PSB 治疗组 Bcl-2/Bax 比值显著升高($P < 0.01$);与阳性对照组比较,LW-PSB 治疗组 Bcl-2 2^{- $\Delta\Delta\Delta\Delta$} 升高($P < 0.05$)、Bax 2^{- $\Delta\Delta\Delta\Delta$} 降低($P < 0.05$)和 Bcl-2/Bax 比值显著升高($P < 0.01$)。结论:六味地黄生物制剂通过促进脑海马区神经元 Bcl-2 mRNA 的表达和抑制 Bax mRNA 的表达起到抗衰老作用。

[关键词] 六味地黄生物制剂;衰老;Bcl-2;Bax;表达

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0196-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1045.008.html>

[网络出版时间] 2012-08-27 10:45

Effect of Liuwei Dihuang Decoction Metabolized by Photosynthetic Bacteria on the Expression of Bcl-2 and Bax mRNA in Hippocampus Neurons of Aging Model Mice

QIU Ting, LI Tian-he, WU Si, CHEN Peng, ZHAO Yue*

(College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[收稿日期] 20120312(006)

[基金项目] 广东省自然科学基金重点项目(825022401000006)

[第一作者] 丘婷,硕士研究生,从事中药新剂型和新技术研究,Tel:15017559614,E-mail:tingtingshark@yahoo.com.cn

[通讯作者] *赵越,教授,Tel:020-39352173,E-mail:zybmbylk688@163.com

- [14] 姜国云,方玲,贾强华.原发性痛经的病因病机研究进展[J].长春中医药大学学报,2011,27(4):683.
- [15] 陈奇.中药药效研究思路与方法[M].北京:人民卫生出版社,2005:794.
- [16] 肖璐,闫宏宇.宁心缓痛汤对寒凝血瘀型原发性痛经大鼠子宫一氧化氮和钙离子的影响[J].新疆中医药,2011,29(1):10.
- [17] 嵇波,任晓暄,赵雅芳,等.原发性痛经发病机制与预防研究述评[J].中国现代医学杂志,2008,18(13):1856.
- [18] 裴培田,王昕,赵一梅,等.舒经玫瑰胶囊对小鼠原发性痛经 MAD、CA²⁺ 的影响[J].中国中医药信息杂志,2003,10(5):31.
- [19] 朱敏,段金殿,唐于平,等.四物汤及其组方药对与药物对小鼠原发性痛经模型的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(18):109.
- [20] 杜静,王海东.香延止痛方治疗原发性痛经的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):183.
- [21] 李亚洲,高冲,胡晓丞,等.赤芍果乙醇提取物对子宫内膜炎继发性痛经作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):153.
- [22] 李亚洲,高冲,胡晓丞,等.赤芍果乙醇提取物对子宫内膜炎继发性痛经作用机制研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(23):148.

[责任编辑 聂淑琴]