

川芎提取物对实验性痛经的镇痛机制

林乔¹, 陈建南¹, 赖小平^{1,3}, 桂蜀华¹, 方春平¹, 赵爱国^{1,2,3*}

(1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广州 510006;

2. 清远医药集团, 广东 清远 511518;

3. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

[摘要] 目的: 考察川芎提取物对实验性痛经模型小鼠、大鼠的镇痛作用, 初步探讨其治疗痛经的作用机制。方法: 制备小鼠、大鼠痛经模型, 扭体法观察不同剂量川芎提取物对受试动物的镇痛作用; Elisa 法考察川芎提取物对模型动物血浆前列腺素 $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$)、前列腺素 E_2 (PGE_2)、血栓素 B_2 (TXB_2)、6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ (6-Keto- $PGF_{1\alpha}$) 含量的影响。结果: 川芎提取物各剂量组对实验性痛经动物均有明显镇痛作用, 可明显减少受试动物的扭体次数, 延长潜伏期, 镇痛作用有明显的剂量依赖关系; 可使痛经大鼠血浆 PGE_2 含量显著上升 ($P < 0.01$), $PGF_{2\alpha}$ 含量显著性下降 ($P < 0.01$), $PGF_{2\alpha}/PGE_2$ 比值减小; TXB_2 含量显著性下降 ($P < 0.01$), $TXB_2/6\text{-Keto-}PGF_{1\alpha}$ 比值减小 ($P < 0.01$)。结论: 川芎提取物对实验性痛经动物有明显的镇痛作用, 其镇痛机制与其对血浆 PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$, TXB_2 , 6-Keto- $PGF_{1\alpha}$ 水平的调节作用相关。

[关键词] 川芎; 实验性痛经; 扭体实验; 机制; Elisa

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0161-04

Analgesic Mechanism of Rhizoma Chuanxiong Extract for Experimental Dysmenorrhea

LIN Qiao¹, CHEN Jian-nan¹, LAI Xiao-ping^{1,3}, GUI Shu-hua¹, FANG Chun-ping¹, ZHAO Ai-guo^{1,2,3*}

(1. New Drug R&D Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Qingyuan Medicine Group, Qingyuan 511518, China;

3. Dongguan Institution for Mathematics and Theoretics Engineering Research, Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the therapeutic effects of Rhizoma Chuanxiong extract on rodent's experimental dysmenorrhea and to reveal the extract's analgesic mechanism. **Method:** Rodent's experimental dysmenorrhea was induced with oxytocin. A writhing test was employed to evaluate the analgesic effects of Rhizoma Chuanxiong extract, which was designed into different doses, in animal subjects. The contents of $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 , TXB_2 , 6-keto- $PGF_{1\alpha}$ in the blood were observed by Elisa assay. **Result:** The extract has a significant analgesic effect on experimental dysmenorrhea with dose-dependent manner. Latent period was delayed significantly, the number of writhing response was evidently decreased as well. Besides, PGE_2 were significantly increased, and $PGF_{2\alpha}$, $PGF_{2\alpha}/PGE_2$, TXB_2 , $TXB_2/6\text{-keto-}PGF_{1\alpha}$ decreased in the treated groups ($P < 0.01$). **Conclusion:** Rhizoma Chuanxiong extract had a significant analgesic effect on experimental dysmenorrhea. Its analgesic mechanism is mediated by regulating the plasma levels of $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 , TXB_2 and 6-Keto- $PGF_{1\alpha}$.

[Key words] Rhizoma Chuanxiong; experimental dysmenorrhea; writhing reaction; mechanism; Elisa

[收稿日期] 20101113(005)

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(5300044)

[第一作者] 林乔, 在读硕士研究生, 从事中药新药开发与研究, Tel:13631326400, E-mail: zilytdj@163.com

[通讯作者] * 赵爱国, 博士, 副研究员, 从事中药药理学研究, Tel:13660132332, E-mail: zaghyp@hotmail.com

原发性痛经是危害女性健康的最常见疾病,其周期性重复发作与子宫肌肉活动增强所导致的子宫张力增加和过度痉挛性收缩有关,一般采用非特异性止痛药、口服避孕药、钙离子通道阻滞剂以及前列腺素合成酶抑制剂进行治疗,川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,具有活血行气、祛风止痛之功效^[1]。可能对痛经有潜在的治疗作用,尚未见文献报道。本研究旨在通过考察川芎提取物对实验性痛经模型小鼠、大鼠的镇痛作用,评估其抗痛经作用,并初步探讨其治疗痛经的作用机制,为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 试验药物 川芎提取物由广州中医药大学新药开发研究中心提供,含量以藁本内酯计,纯度 81%, -20℃ 避光保存,临用时以 2% 吐温-80 生理盐水溶解。罗通定,山西云鹏制药有限公司,批号 A090701;月月舒痛经宝颗粒,宛西制药股份有限公司,批号 091201;己烯雌酚片,合肥久联制药有限公司,批号 20090824;戊酸雌二醇片,拜耳医药保健有限公司广州分公司,批号 170A13;缩宫素注射液(1 mL:10 U),上海禾丰制药有限公司,批号 091202。

1.2 试剂 前列腺素 $F_{2\alpha}$ (PGF_{2 α})、前列腺素 E₂ (PGE₂)、血栓素 B₂ (TXB₂)、6-酮-前列腺素 F_{1 α} (6-Keto-PGF_{1 α}) 酶联免疫分析试剂盒, Assay Designs, Inc。

1.3 动物 昆明种小白鼠体重(18~22)g;SD 大白鼠,体重(200~220)g,雌性。由广州中医药大学实验动物中心提供。许可证号 SCXK(粤)20080020。

1.4 仪器 DKZ-1 型电热恒温振荡水槽,上海精宏实验设备有限公司;RT-2100C 酶标分析仪,深圳雷杜生命科学股份有限公司。

2 方法

2.1 对小鼠痛经模型的作用 根据文献[2-4],选取最佳造模条件:昆明雌性小鼠 105 只,己烯雌酚 2 mg·kg⁻¹ ig 给药,每天 1 次,连续 12 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),末次给药 1 h 后 ip 缩宫素 20 U·kg⁻¹,记录注射后 30 min 内小鼠扭体次数和潜伏期,筛选出扭体次数大于 5 次的小鼠,按扭体次数将小鼠分层随机分成 7 组:正常组,痛经模型组,月月舒对照组,罗通定对照组,川芎提取物高、中、低(100, 60,

20 mg·kg⁻¹,剂量以藁本内酯计算,下同)3 个剂量组。从第 13 d 开始,正常组和模型组每天上午 ig 等体积的 2% 吐温-80 生理盐水,下午 ig 己烯雌酚 1 mg·kg⁻¹,其他组上午给予对应药物,下午给予己烯雌酚,连续给药 3 d 后 ip 缩宫素 20 U·kg⁻¹,记录 30 min 内各小鼠的扭体次数、潜伏期及各组小鼠扭体发生率。

2.2 对大鼠痛经模型的作用 将动物按体重随机分为正常对照组(简称正常组),痛经病理模型组(简称模型组)、月月舒阳性对照组、川芎提取物 50, 25 mg·kg⁻¹,共 5 组,每组 12 只。除正常组外,模型组、阳性对照组、川芎提取物各组均连续 10 d 给大鼠 ig 给予戊酸雌二醇片(第 1,10 天 ig 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,余日均为 1 mg·kg⁻¹·d⁻¹),从 ig 给予戊酸雌二醇片第 7 天起按组分别 ig 给予对应的药物,正常组、模型组每天 ig 等体积 2% 吐温-80 生理盐水溶液;其余各组按上述分组剂量 ig 给药,按 10 mL·kg⁻¹ig 给药,每天 1 次,连续给药 7 d。末次给药 1 h 后,ip 用 2% 吐温-80 生理盐水稀释的缩宫素 2 U/只,观察 30 min 内各组大鼠疼痛反应,记录各组扭体动物只数及平均扭体数。扭体反应以大鼠腹部收缩内凹,躯干与后肢伸展,臀部与一侧肢体内旋为子宫强烈收缩(痛经)的指标(注:不发生扭体反应大鼠的潜伏期按 30 min 计)。大鼠 ip 缩宫素 1 h 后,ip 10% 水合氯醛进行麻醉,打开腹腔,腹主动脉取血 4 mL 置于肝素钠管中,置 4℃,2 500 r·min⁻¹,离心 10 min,分离血浆,得到血清 2 mL,以备检测 PGF_{2 α} , PGE₂, 6-keto-PGF_{1 α} , TXB₂ 的含量。

2.3 数据统计 各组数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS Statistics V 17.0 统计软件进行数据处理,单因素方差分析,均数间两两比较。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 川芎提取物对小鼠扭体反应的影响 与模型组比较,川芎提取物 3 个剂量组都能明显减少小鼠 ip 缩宫素 30 min 内扭体发生的次数($P < 0.05$),延长了扭体发生的潜伏期,各剂量组镇痛作用与罗通定组及月月舒组比较,差异无显著性。见表 1。

3.2 川芎提取物对大鼠扭体反应的影响 由于大鼠的耐受性比小鼠的强,故扭体反应不太明显,发生率较低。在 ip 缩宫素后,大鼠的腹部(子宫)位置,用手触摸,有紧张感。与模型组比较,川芎提取物 2 个剂量组都能明显减少大鼠 30 min 内扭体发生的次数

表1 川芎提取物对缩宫素诱发小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	扭体潜伏期/min	30 min 内扭体数/次	扭体数/只	镇痛率/%	扭体发生率/%
正常对照	-	30	0	0	-	0
模型	-	3.12 ± 0.60	24.30 ± 7.86	10	-	100.00
罗通定	0.02	8.07 ± 2.02	10.90 ± 5.90 ^{2,4)}	10	50.42	100.00
月月舒	10	7.90 ± 2.87	10.80 ± 5.67 ^{2,4)}	10	48.33	100.00
川芎提取物	0.1	9.39 ± 11.06	11.10 ± 6.81 ^{1,4)}	8	50.83	80.00
	0.06	8.35 ± 11.42	11.90 ± 6.76 ^{1,4)}	9	45.42	90.00
	0.02	7.06 ± 2.43	12.40 ± 5.27 ^{1,4)}	10	39.17	100.00

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与正常组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表2~4同)。

($P < 0.05$),延长了扭体发生的潜伏期,各剂量组镇痛作用与月月舒组比较,差异无显著性。见表2。

3.3 血浆前列腺素 $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 含量及比值的变化

模型组大鼠血浆中 $PGF_{2\alpha}$ 含量明显高于正常对照组;与模型组比较,月月舒组的大鼠血浆中 $PGF_{2\alpha}$ 含

量明显降低,川芎提取物不同剂量均可不同程度地降低血浆 $PGF_{2\alpha}$ 水平($P < 0.01$)。模型组大鼠血浆 PGE_2 含量与正常组比较明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,月月舒组、川芎提取物高、低的大鼠血浆中 $PGF_{2\alpha}$ 含量明显升高($P < 0.01$),见表3。

表2 川芎提取物对缩宫素诱发大鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	扭体潜伏期/min	30 min 内扭体次数/次	扭体数/只	镇痛率/%	扭体发生率/%
正常对照	-	30	0 ²⁾	0	-	0
模型	-	13.98 ± 10.45	9.83 ± 7.63	9	-	75.00
月月舒	5	23.67 ± 9.04	1.83 ± 2.76 ¹⁾	5	81.36	41.67
川芎提取物	0.05	25.40 ± 8.14	1.50 ± 2.75 ¹⁾	4	84.75	33.33
	0.025	24.75 ± 7.78	1.91 ± 2.94 ¹⁾	5	80.51	41.67

表3 各组动物血浆 $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 含量比较($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	$PGF_{2\alpha}/ng \cdot L^{-1}$	$PGE_2/ng \cdot L^{-1}$	$PGF_{2\alpha}/PGE_2$
正常对照	-	1 963.10 ± 402.94 ²⁾	1 576.54 ± 133.74 ²⁾	1.24
模型对照	-	11 029.88 ± 358.42	321.95 ± 38.75	34.26
月月舒对照	5	3 324.14 ± 396.85 ²⁾	1 653.18 ± 124.68 ²⁾	2.01
川芎提取物	0.05	3 336.73 ± 336.40 ²⁾	1 691.84 ± 120.30 ²⁾	1.97
	0.025	6 969.77 ± 570.05 ²⁾	799.77 ± 79.77 ²⁾	8.71

3.4 血浆前列腺素 6-Keto- $PGF_{1\alpha}$, TXB_2 含量及比值的变化 结果表明,模型组与正常组比较, TXB_2 显著升高($P < 0.01$),结果具有统计学差异。与模型组比较,用药各组 TXB_2 水平显著降低($P < 0.01$)。阳性组、川芎提取物各剂量组 T/K 比值较模型组显著降低。见表4。

4 讨论

原发性痛经(primary dysmenorrhoea)即功能性痛经(dysmenorrhea),是指月经期疼痛,常呈痉挛性,集中在下腹部其他症状包括头痛乏力、头晕、恶心呕

吐、腹泻、腰腿痛,是年轻女性十分常见的病症。流行病学研究表明原发性痛经是目前妇科最常见疾病,国外报道妇女原发性痛经的比例高达43%~90%,国内报道痛经发病率为33.1%,其中原发性痛经占53.2%。因此,重视痛经的治疗十分必要^[5]。

大量研究表明,痛经患者血中 $PGF_{2\alpha}$ 含量及 $PGF_{2\alpha}/PGE_2$ 比值增高是造成痛经的直接原因,降低 $PGF_{2\alpha}$ 水平可在一定程度上缓解疼痛。子宫内膜细胞是合成PGs的功能细胞和靶细胞,在激素和某些

表 4 各组动物血浆 6-keto-PGF_{1α}, TXB₂ 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TXB ₂ /ng·L ⁻¹	6-keto-PGF _{1α} /ng·L ⁻¹	TXB ₂ /6-keto-PGF _{2α}
正常对照	-	1 045.68 ± 82.96 ²⁾	3 224.65 ± 288.25 ²⁾	0.32
模型对照	-	3 465.54 ± 176.17	3 881.50 ± 139.22	0.89
月月舒对照	5	855.65 ± 78.96 ²⁾	1 932.98 ± 114.61 ²⁾	0.44
川芎提取物	0.05	840.59 ± 73.26 ²⁾	1 924.49 ± 167.88 ²⁾	0.44
	0.025	1 003.23 ± 96.53 ²⁾	2 763.67 ± 178.07 ²⁾	0.36

介质的特定作用下,产生各种不同的前列腺素物质,调节子宫肌细胞的收缩和舒张。子宫合成和释放前列腺素的增加是原发性痛经的重要原因,尤其是 PGF_{2α}增高, PGE₂下降时会导致两者比值过度升高。PGF_{2α}作用于螺旋小动脉壁上的 PGF_{2α}受体,引起子宫过度收缩,子宫血流不足,子宫肌肉组织缺血,刺激子宫自主神经疼痛纤维而发生痛经。正常情况下,血栓素(TXA₂)、前列腺环素(PGI₂), TXA₂/PGI₂处于平衡状态,维持适当的血管张力及血小板内环境稳定, TXA₂/PGI₂失衡将引起血小板与血管壁相互作用即痛经患者存在异常激活的高凝状态,引发血管痉挛、血栓形成、缺血等,导致痛经的发生和加重。由于 TXA₂, PGI₂在体内极不稳定,短时间内水解成稳定的 TXB₂和 6-Keto-PGF_{1α},所以检测 TXB₂, 6-Keto-PGF_{1α}的含量即可反映 TXA₂, PGI₂的水平^[3]。

目前,用于治疗原发性痛经的一些药物长期应用会产生明显的不良反应,如前列腺素合成酶抑制剂有消化道反应和中枢神经系统症状等副作用;而阿司匹林类、阿托品等解痉镇静剂容易导致成瘾性。中医药有着作用温和,副作用少的特点和优点,在治疗痛经方面有用汤剂、中成药以及外用膏剂^[6]、贴剂^[7],乃至穴位^[8]、针灸疗法^[9]来治疗痛经。原发性痛经属于中医的经行痛范畴,究其病因,虽复杂,根据“不通则痛”的理论,主要是由于气血运行不畅所致。川芎性味辛温,归肝、胆、心包经,具有活血行气、祛风止痛之功效^[1],使气血运行通畅,从而达到“通则不痛”之目的,故可用于月经不调、癥瘕腹痛等。在本研究中,川芎提取物治疗痛经的作用并非

是某方面单一作用的结果,而是多方面共同作用的综合效应。它既可显著降低实验性大鼠血浆中的 PGF_{2α}的含量以及 PGF_{2α}/PGE₂ 比值,也可显著降低痛经大鼠子宫组织的 TXB₂,调节 TXB₂和 6-Keto-PGF_{1α}两者的比例,使其达到适宜的有效浓度,稳定其比值,以抑制血小板聚集和血栓形成,改善子宫微循环,恢复子宫平滑肌的正常舒缩状态,可能是其治疗痛经作用的重要机制之一。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:38.
 [2] 嵇波,张露芬,朱江,等.痛经模型建立和评价方法的思考[J].中国药理学通报,2008,24(6):711.
 [3] 方玲,朱新冰,尹菊.经前三剂止痛方治疗实验性痛经模型大鼠作用机制研究[J].天津中医药,2010,27(1):46.
 [4] 叶其正,沈明勤,罗宇慧.痛经宝胶囊对实验性痛经模型的镇痛作用及其机理初探[J].江苏中医药,2009,41(6):67.
 [5] 刘冬,谭秦莉,李玉宝,等.桃红四物汤治疗原发性痛经实验研究[J].安徽中医学院学报,2009,28(2):46.
 [6] 王澍欣,李艳慧.中药穴位贴敷治疗原发性痛经实证患者31例临床观察[J].中医杂志,2009,50(6):526.
 [7] 倪建刚,吴敏,阎秀菊.“痛经安”敷贴剂治疗原发性痛经的临床研究[J].上海中医药杂志,2007,41(7):49.
 [8] 付希满,范风云.耳穴贴压内生殖器单穴及相关群穴治疗原发性痛经的对比观察[J].中国民间疗法,2010,18(8):16.
 [9] 金锦兰.针灸治疗原发性痛经[J].辽宁中医杂志,2009,36(10):1783.

[责任编辑 聂淑琴]