

芩术四物汤中抗痛经有效成分的筛选[△]

黄道秋^{1*}, 牟华明^{1#}, 秦旭华², 彭 腾², 万维海², 贺元元², 杨 力²(1.重庆三峡中心医院, 重庆 404000; 2.成都中医药大学药学院, 成都 610072)

中图分类号 R285;R97 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)11-0997-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.11.13

摘要 目的:筛选芩术四物汤中抗痛经的有效部位与成分。方法:灌胃痛经模型小鼠(缩宫素诱发)芩术四物汤乙酸乙酯提取物(230、120 mg/kg)、正丁醇提取物(1 040、520 mg/kg)、水提取物(3 000、1 500 mg/kg),测定小鼠扭体反应次数,计算抑制率,以筛选有效提取物;灌胃痛经模型小鼠(缩宫素诱发)汉黄芩素(134、67 mg/kg)、黄芩素(144、72 mg/kg)、没食子酸(68.6、34.3 mg/kg)、黄芩苷(120、60 mg/kg),测定小鼠扭体反应次数,计算抑制率,以筛选有效成分;灌胃痛经模型小鼠[前列环素(PGF_{2a})诱发]没食子酸(68.6、34.3、17.2 mg/kg)、黄芩苷(120、60、30 mg/kg),测定小鼠扭体反应次数,计算抑制率。结果:230、120 mg/kg 芩术四物汤乙酸乙酯提取物、68.6、34.3 mg/kg 没食子酸、120 mg/kg 黄芩苷可明显减少模型小鼠(缩宫素诱发)扭体次数,降低模型小鼠扭体抑制率($P<0.01$ 或 $P<0.05$);68.6、34.3 mg/kg 没食子酸、120、60 mg/kg 黄芩苷可明显减少模型小鼠(PGF_{2a}诱发)扭体次数,降低模型小鼠扭体抑制率($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论:芩术四物汤乙酸乙酯提取物中没食子酸、黄芩苷可能是芩术四物汤治疗痛经的有效成分。

关键词 芩术四物汤;痛经;有效部位;成分

Selection of Anti-algomenorrhea Components of Qinshu Siwutang

HUANG Dao-qiou¹, Mou Hua-ming¹, QIN Xu-hue², PENG Teng², WAN Wei-hai², HE Yuan-yuan², YANG Li²(1. Chongqing Three Gorges Central Hospital, Chongqing 404000, China; 2. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To select the effective components of Qinshu siwutang to algomenorrhea. METHODS: Algomenorrhea model (induced by oxytocin) mice were given ethyl acetate extract (23, 12 mg/kg), *n*-butyl alcohol extract (1 040, 520 mg/kg) and water extract (3 000, 1 500 mg/kg) of Qinshu siwutang intragastrically; the times and inhibitory rate of writhing response in mice were determined to select effective extracts. Algomenorrhea model mice were given wogonin (134, 67 mg/kg), baicalin (144, 72 mg/kg), gallic acid (68.6, 34.3 mg/kg), baicalin (120, 60 mg/kg) intragastrically; the inhibitory rate of writhing response in mice was determined to select effective components. Algomenorrhea model (induced by PGF_{2a}) mice were given gallic acid (68.6, 34.3, 17.2 mg/kg) and baicalin (120, 60, 30 mg/kg); the inhibitory rate of writhing response in mice was determined. RESULTS: 230, 120 mg/kg ethyl acetate extract of Qinshu siwutang, 68.6, 34.3 mg/kg gallic acid and 120 mg/kg baicalin could significantly decrease the times and inhibitory rate of writhing response in mice; there was statistical significance ($P<0.01$ or $P<0.05$). 68.6, 34.3 mg/kg gallic acid and 120, 60 mg/kg baicalin could decrease the times and inhibitory rate of writhing response in model (induced by PGF_{2a}) mice; there was statistical significance ($P<0.01$ or $P<0.05$). CONCLUSIONS: The gallic acid and baicalin in ethyl acetate extract of Qinshu siwutang maybe the effective composition in the treatment of algomenorrhea.

KEYWORDS Qinshu siwutang; Algomenorrhea; Effective part; Components

痛经亦称行经腹痛,是妇科临床常见多发病,严重影响广大妇女正常的学习、工作和生活。对于此症西医并无特效治疗方法,常用的非甾体抗炎药可引起消化道溃疡,其发生率为15%~30%,其次为肝肾损害,严重者可导致患者死亡^[1]。据统计,在美国每年大约有107 000例由非甾体抗炎药引起的严重消化道损伤和16 500例与非甾体抗炎药相关的死亡^[2]。中医学在本病的治疗方面有着悠久的历史,积累了丰富的临床经验,同时传统中药具有疗效好、副作用少的特点^[3]。因此,对痛经

经验方芩术四物汤进行药效物质基础的深入研究不仅是中医药现代研究的需要,更是临床的迫切需求。本研究采用有机溶剂系统分离提取法,将芩术四物汤分为乙酸乙酯、正丁醇、水提取物,以缩宫素复制小鼠痛经模型为对象,初步确定芩术四物汤治疗痛经的有效部位;在此基础上对其有效部位再次进行分离提取,通过药效学实验进一步筛选其有效成分。

1 材料

1.1 仪器

DSY-1-2型电热恒温水浴锅(北京国华医疗器械厂); SHB-III型循环水式多用真控泵(郑州长城科工贸有限公司); BUG25-12型超声波清洗器(必能信超声上海有限公司); FA2004N型电子天平(上海民怡仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

[△] 基金项目:重庆市科委科技计划攻关项目(No.CSTC,2011AC5141)

* 主任药师。研究方向:中药制剂及质控标准。E-mail:hyaojk@163.com

通信作者:主任医师。研究方向:中药药理学。E-mail:mouhm2002@aliyun.com

芩术四物汤乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物、水提取物、汉黄芩素、黄芩素、没食子酸、黄芩苷均由成都中医药大学中药化学教研室彭腾副教授提供;己烯雌酚片(合肥久联制药有限公司,批号:20130208);缩宫素注射液(河南辅仁怀庆堂制药有限公司,批号:20121217);布洛芬胶囊(中美天津史克制药有限公司,批号:09100248);前列环素(PGF_{2α})测试盒(美国Sigma公司)。

1.3 动物

SPF级KM种小鼠,♀,体质量18~22g,由成都中医药大学动物实验中心提供[实验动物使用合格证号:SCXK(川)2008-11]。

2 方法

2.1 芩术四物汤提取物对模型小鼠(缩宫素诱发)扭体反应的影响

参考文献^[4-5]方法,将小鼠ig己烯雌酚(2mg/kg),每天1次,连续12d,人工促使其处于动情期或动情前期,以提高小鼠子宫平滑肌对缩宫素的敏感性,末次ig己烯雌酚60min后ip缩宫素20u/kg以复制小鼠痛经模型。80只小鼠随机均分为8组,即模型(等容含0.5%吐温80的蒸馏水)组,布洛芬(180mg/kg)组,芩术四物汤乙酸乙酯提取物高、低剂量(230、120mg/kg)组,芩术四物汤正丁醇提取物高、低剂量(1040、520mg/kg)组,芩术四物汤水提取物高、低剂量(3000、1500mg/kg)组。ig己烯雌酚第6天开始ig给药,每天1次,连续7d。观察ip缩宫素30min内小鼠扭体反应次数,并计算抑制率。抑制率%=(模型组扭体反应次数-给药组扭体反应次数)/模型组扭体反应次数。

2.2 芩术四物汤乙酸乙酯提取物中单体化合物对模型小鼠(缩宫素诱发)扭体反应的影响

复制模型同“2.1”项下方法。100只小鼠随机均分为10组,即模型(等容含0.5%吐温-80的蒸馏水)组,布洛芬(180mg/kg)组,汉黄芩素高、低剂量(134、67mg/kg)组,黄芩素高、低剂量(144、72mg/kg)组,没食子酸高、低剂量(68.6、34.3mg/kg)组,黄芩苷高、低剂量(120、60mg/kg)组。给药方法与测定指标同“2.1”项下方法。

2.3 没食子酸与黄芩苷对模型小鼠(PGF_{2α}诱发)扭体反应的影响

小鼠ig己烯雌酚(2mg/kg),每天1次,连续12d,人工促使其处于动情期或动情前期,以提高小鼠子宫平滑肌对PGF_α的敏感性,末次ig己烯雌酚60min后ipPGF_{2α}1.3mg/kg以复制小鼠痛经模型。80只小鼠随机均分为8组,即模型(等容含0.5%吐温80的蒸馏水)组,布洛芬(180mg/kg)组,没食子酸高、中、低剂量(68.6、34.3、17.2mg/kg)组,黄芩苷高、中、低剂量(120、60、30mg/kg)组。给药方法与测定指标同“2.1”项下方法。

2.4 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用PEMS3.1软件处理分析实验数据。多组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以

LSD法进行统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芩术四物汤提取物对模型小鼠(缩宫素诱发)扭体反应的影响

与模型组比较,芩术四物汤乙酸乙酯提取物高、低剂量组与芩术四物汤正丁醇提取物高剂量组小鼠扭体次数减少,抑制率升高,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明芩术四物汤乙酸乙酯提取物抑制痛经作用较强。芩术四物汤提取物对模型小鼠(缩宫素诱发)扭体反应的影响见表1。

表1 芩术四物汤提取物对模型小鼠(缩宫素诱发)扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Effect of different extracts of Qinsu siwutang of writhing response in model(induced by Oxytocin) mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	扭体次数,次/30min	抑制率,%
模型组		22.6±9.3	
布洛芬组	180	6.7±6.8**	70.04**
芩术四物汤乙酸乙酯提取物高剂量组	230	9.1±7.3**	59.73**
芩术四物汤乙酸乙酯提取物低剂量组	120	11.6±8.8*	48.67*
芩术四物汤正丁醇提取物高剂量组	1040	10.6±8.7*	50.10*
芩术四物汤正丁醇提取物低剂量组	520	16.2±10.9	28.32
芩术四物汤水提取物高剂量组	3000	17.4±10.6	23.01
芩术四物汤水提取物低剂量组	1500	15.1±7.6	33.19

与模型组比较: * $P < 0.05$

vs.model group: * $P < 0.05$

3.2 芩术四物汤乙酸乙酯提取物中单体化合物对模型小鼠(缩宫素诱发)扭体反应的影响

与模型组比较,没食子酸高、低剂量组与黄芩苷高剂量组小鼠扭体次数减少,抑制率升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明没食子酸、黄芩苷抑制痛经作用较强。芩术四物汤乙酸乙酯提取物中单体化合物对模型小鼠(缩宫素诱发)扭体反应的影响见表2。

表2 芩术四物汤乙酸乙酯提取物中单体化合物对模型小鼠(缩宫素诱发)扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Effect of ethyl acetate parts of Qinsu siwutang of writhing response in model(induced by oxytocin) mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	扭体次数,次/30min	抑制率,%
模型组		24.6±10.1	
布洛芬组	180	10.5±6.8*	57.13*
汉黄芩素高剂量组	134	22.3±15.8	9.35
汉黄芩素低剂量组	67	14.5±6.5	41.06
黄芩素高剂量组	144	21.0±9.0	14.63
黄芩素低剂量组	72	19.9±11.2	19.11
没食子酸高剂量组	68.6	11.9±9.8*	51.63*
没食子酸低剂量组	34.3	13.4±6.5*	45.53*
黄芩苷高剂量组	120	12.3±8.7*	50.00*
黄芩苷低剂量组	60	16.8±12.3	31.71

与模型组比较: * $P < 0.05$

vs.model group: * $P < 0.05$

3.3 没食子酸与黄芩苷对模型小鼠(PGF_{2α}诱发)扭体反应的影响

影响

与模型组比较,没食子酸高、中剂量组与黄芩苷高、中剂量组小鼠扭体次数减少,抑制率升高,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。没食子酸与黄芩苷对模型小鼠(PGF2a 诱发)扭体反应的影响见表3。

表3 没食子酸与黄芩苷对模型小鼠(PGF2a 诱发)扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 3 Effect of gallic acid and baicalin of writhing response in model (induced by PGF2a) mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,mg/kg	扭体次数,次/30min	抑制率,%
模型组		39.6 ± 12.4	
布洛芬组	180	15.0 ± 9.9**	62.12**
没食子酸高剂量组	68.6	16.5 ± 10.0**	58.33**
没食子酸中剂量组	34.3	25.0 ± 11.6*	36.87*
没食子酸低剂量组	17.2	33.1 ± 16.5	16.42
黄芩苷高剂量组	120	20.7 ± 12.5*	47.72*
黄芩苷中剂量组	60	23.1 ± 8.8*	41.67*
黄芩苷低剂量组	30	29.2 ± 14.5	26.26

与模型组比较: * $P < 0.05$

vs.model group: * $P < 0.05$

4 讨论

芩术四物汤是多年临床经验的简化方,由古方芩术丸和四物汤裁减方构成,由黄芩、白术、当归、川芎、白芍等药构成。该方药味精简,药物配伍平和而巧妙,养血活血,行气利水,寓意深刻,凡证见血虚、血瘀、湿阻、肝郁、脾虚等虚实夹杂者,均可用之。该方的物质基础及药效学研究在国内均属空白,因此开展该方面的实验研究,不仅有可能进一步阐明传统方治疗痛经的现代机制,通过现代的分离和提取技术,更有可能从传统方中寻找并开发出新型安全治疗痛经的有效药物。

本研究显示芩术四物汤乙酸乙酯提取物在 230、120 mg/kg 剂量下,正丁醇提取物在 1 040 mg/kg 剂量下,可明显对抗缩宫素诱发的模型小鼠子宫激烈收缩疼痛所致的小鼠扭体反应,与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。通过对比筛选实验,可初步认为乙酸乙酯部位、正丁醇部位为芩术四物汤治疗痛经的有效部位,但乙酸乙酯部位作用更为明显,在此基础上对芩术四物汤的乙酸乙酯部位进一步分离,得到了汉黄芩素、黄芩素、没食子酸、黄芩苷 4 个单体化合物,并再

次进行药效学的对比筛选。结果表明,没食子酸在 68.6、34.3 mg/kg 剂量下,黄芩苷在 120 mg/kg 剂量下,均能明显减少缩宫素与 PGF2a 所致痛经小鼠扭体反应次数,与模型对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。本研究结果表明,芩术四物汤乙酸乙酯部位的单体成分没食子酸、黄芩苷可能是其发挥临床治疗作用的有效成分。近年来研究表明,没食子酸还具有抗肿瘤作用^[6],在一定剂量范围内对 H₂O₂ 诱导的人神经母细胞瘤细胞素 SH-SY5Y 神经细胞损伤具有明显的保护作用^[7],同时具有较强的体外抗氧化作用^[8];黄芩苷对人肝癌 HepG2.0 细胞生长具有明显抑制作用^[9],对急性肺损伤大鼠具有保护作用^[10],上述结论与本研究结果一致,可为临床用药提供一定参考。

参考文献

- [1] 高玉洁.非甾体抗炎药物的临床应用及安全性评价[J].实用药物与临床,2009,12(2):122.
- [2] 祝丹.非甾体抗炎药物的进展[J].中国医院药学杂志,2002,22(6):369.
- [3] 宋李冬,赵莉.中医药治疗痛经临床研究进展[J].河北中医,2010,32(11):1 737.
- [4] 孙海燕,曹永孝,刘静,等.小鼠痛经模型的建立[J].中国药理学通报,2002,18(2):233.
- [5] 华永庆,段金殿,朱荃,等.缩宫素诱导的小鼠离体痛经模型的实验方法研究[J].中国药理学通报,2008,24(4):489.
- [6] 李沐涵,殷美琦,冯靖涵,等.没食子酸抗肿瘤作用研究进展[J].中医药信息,2011,28(1):109.
- [7] 郭春燕,张丹参.没食子酸对 H₂O₂ 诱导的 SH-SY5Y 神经细胞损伤保护作用的研究[J].神经药理学报,2012,2(2):7.
- [8] 谢晓艳,刘洪涛,张吉,等.没食子酸体外抗氧化作用研究[J].重庆医科大学学报,2011,36(3):319.
- [9] 刁浩,刘荣静,麦飘予,等.黄芩苷对人肝癌细胞 HepG2.0 的抑瘤作用[J].广东医学,2013,34(10):1 493.
- [10] 潘永利.黄芩苷对急性肺损伤大鼠的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(3):69.

(收稿日期:2013-11-25 修回日期:2014-01-15)

2014 年全国卫生计生综合监督工作会议在京召开

本刊讯 2014年2月12日—13日,2014年全国卫生计生综合监督工作会议在京召开。会议全面总结了2013年全国卫生计生综合监督工作,部署2014年重点任务,通报医疗卫生、公共卫生专项监督检查工作情况。国家卫生和计划生育委员会(以下简称国家卫生计生委)副主任陈啸宏出席会议并讲话。

陈啸宏在讲话中指出,2013年是卫生计生事业改革发展的重要1年,国家卫生计生委在深化改革中注重加强综合监督工作,结合党的群众路线教育实践活动,围绕服务百姓健

康,统筹推进公共卫生、医疗卫生以及计划生育各项监督工作。

陈啸宏强调,要进一步认清形势,不断强化责任意识,以开拓创新精神全力做好2014年综合监督工作。要紧紧围绕全委工作部署,抓好落实,加快卫生计生综合监督体系建设,加大公共卫生、医疗卫生和计划生育监督执法力度,开展卫生计生法律法规落实情况的监督检查。要重点在“谋、实、新、快”等方面积极探索,努力开创综合监督工作新局面,为推进卫生计生事业发展作出新的贡献。