

益母草治疗痛经机制探索

金若敏,陈兆善,陈长勋,张海桂(上海中医药大学,上海 201203)

摘要:目的 探讨益母草治疗痛经的药理作用及机制。方法 经十二指肠给予益母草水提液,观察豚鼠在体子宫收缩频率及幅度的变化。分别采用由缩宫素及 15 甲基-PGF_{2α}所致的子宫痉挛模型,观察小鼠口服益母草提取液后的作用。采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀及实验性大鼠子宫炎症模型,分别观察小鼠、大鼠口服益母草提取液的抗炎作用。用放射免疫法及化学分析法分别检测大鼠口服益母草水提液后血液雌、孕激素及子宫平滑肌 PGF_{2α}及 PGE₂含量的变化。结果 益母草水提液能增强未孕正常豚鼠在体子宫的收缩。益母草能在一定程度上缓解由 15 M PGF_{2α}及缩宫素所致的小鼠子宫痉挛,能减轻二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀的程度,改善实验性子宫炎症状况,且能降低子宫炎症时其平滑肌上 PGE₂的含量,亦能降低大鼠子宫平滑肌上 PGF_{2α}的含量。益母草水提液能升高血液孕激素的水平,而对雌激素却无明显影响。结论 益母草对子宫具有比较广泛的药理作用,可能通过抑制痉挛子宫的活动、抗炎、降低子宫平滑肌上 PGF_{2α}、PGE₂的含量及升高体内孕激素水平等多种途径缓解痛经症状。

关键词:益母草;子宫;痛经;PGF_{2α};PGE₂

中图分类号:R285.5;R711.51

文献标识码:A

文章编号:1007-7693(2004)02-0090-04

Effects of motherwort on dysmenorrhea

JIN Ruomin, CHEN Zhao-shan, CHEN Chang-xun, ZHANG Hai-gui (Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To investigate the pharmacological actions and mechanisms of motherwort on dysmenorrhea. **METHOD** In vivo, the effects of motherwort on uterine constriction were observed after giving the decoction via duodenum in guinea pigs. Effect on alleviating pain was measured in mice treated with i. p. administration of oxytocin and 15 M PGF_{2α} respectively. Anti-inflammatory action was examined with the models of auricular swelling in mice induced by dimethyl benzene, and of the experimental inflammatory uteri in rats. The influence on the concentrations of PGF_{2α}, PGE₂ in the uterine smooth muscle was measured. The levels of serum estradiol, progesterone in rats were determined by radioimmunoassay. **RESULTS** The data showed that the motherwort decoction increased the constrictive force of normal uterus in guinea pigs in vivo. It obviously reduced the twisting reaction of mice induced by oxytocin or 15 M PGF_{2α}. The decoction could alleviate the auricular edema in mice and inflammation of uterus in rats. It reduced PGF_{2α} and PGE₂ concentrations in uterine smooth muscle of rats. The motherwort decoction increased serum progesterone level in rats, but had no significant effect on estradiol level. **CONCLUSION** Motherwort has intensive pharmacological effects on uteri. It had the effects on relaxing uterus spasm, anti-inflammation, reducing PGF_{2α} and PGE₂ concentrations in uterus smooth muscle, increasing the serum progesterone level. These effects may play important roles in treating dysmenorrhea.

KEY WORDS: motherwort; uterus; dysmenorrhea; PGF_{2α}; PGE₂

益母草(Leonurus artemisia)为中医妇科要药,用于月经不调、痛经、经闭、恶露不尽等。益母草治疗痛经具有确切的临床疗效。但至今,益母草对子宫的药理研究仅限于发现有增加子宫的收缩频率及幅度的作用^[1],益母草的兴奋子宫作用较难用来阐明其治疗痛经的机制。故本课题旨在通过益母草水提液对子宫药理作用的研究,探明这一传统良药用于治

疗痛经的机制。为临床上更好地使用该药提供一定的实验依据。

1 实验材料

1.1 受试药

益母草由上海中医药大学药用植物教研室周秀佳教授鉴定为 Leonurus artemisia,制备成水提液(以下简称 YMC),浓

作者简介:金若敏,女,53岁,1975年毕业于原上海第一医学院药学专业,现为上海中医药大学中药新药药理毒理研究中心主任,教授,博士生导师。主要从事中药新药药理毒理工作。

度为 1g 生药/mL, 临用前以蒸馏水配制成所需浓度。

1.2 试剂、药品

15-甲基 PGF_{2α}注射液: 上海五洲制药厂孙桥分厂产品, 临用前用注射用油配制成 0.1 mg/mL。苯甲酸雌二醇(以下简称 E₂): 上海第九制药厂产品, 批号 950501, 临用前用注射用油配制成 0.1 mg/mL。快诺酮片(妇康片): 上海信谊药厂产品, 批号 971001 甲, 用含 1% 聚山梨酯 80(吐温 80)的蒸馏水配制成 0.07 mg/mL。缩宫素: 为上海和丰制药有限公司产品, 批号 970102。阿司匹林(Aspirin): 上海第九制药厂产品。临用前用蒸馏水配制成 2% 浓度的混悬液。吲哚美辛(消炎痛): 上海第六制药厂产品。临用前用蒸馏水配制成 1 mg/mL 浓度的混悬液。雌二醇(Estradiol)放射免疫检测试剂盒, 批号 KE2DI0055, 孕酮(Progesterone)放射免疫检测试剂盒, 批号 KPGDI0027, 均由中国天津德普公司(DPC)提供。PGF_{2α}放射免疫检测试剂盒由中国医学科学院基础医学研究所同位素室提供, 批号 981205。

1.3 动物

昆明种小鼠 18~22g, 雌性; SD 或 Wistar 大鼠, 雌性, 180~220g; 豚鼠, 雌性, 300~400g, 均由上海中医药大学实验动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 对正常豚鼠子宫的影响

取 300~400g 雌性未孕豚鼠 16 只, 随机分成两组, 称重, 按 1.25g/kg 腹腔注射乌拉坦麻醉。打开腹腔, 找到子宫。参照文献[2]方法略加修改, 进行在体子宫试验。子宫张力变化通过张力换能器(LW20-1 型, 上海医用电子仪器厂), 记录于自动平衡记录仪(LMI4-264 型, 上海大华仪表厂)。标本稳定 30 min 后, 先记录正常子宫的活动曲线, 然后按 6g 生药/kg 体重从十二指肠注入 YMC 或生理盐水(NS), 1h 后观察子宫收缩频率及幅度的变化, 结果表明, 益母草对正常子宫有一定的兴奋作用, 见表 1。

2.2 对痉挛状态下子宫的影响

2.2.1 对缩宫素所致小鼠扭体反应的影响: 参照文献[3], 取 18~22g 小鼠 40 只, 随机分为 4 组, 第 1, 2 组每天灌服 NS 10 mL/kg, 第 3, 4 组每天分别灌服不同剂量的 YMC 10, 5g/kg。每天一次, 连续 8d。第 2~4 组于第 6, 7 天腹腔注射 E₂ 50μg/只。第 8 天, 灌服 NS 或 YMC 1.5h 后, 每只小鼠腹腔注射缩宫素 200 IU/kg, 记录注射缩宫素后 20 min 内各小鼠的扭体次数。并与模型组比较, 结果见表 2。

表 1 YMC 对豚鼠在体子宫收缩频率及幅度的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of motherwort decoction on constrictive frequency and force of uterus in guinea pigs ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	用药前		用药后	
		频率(次/min)	幅度(g)	频率(次/min)	幅度(g)
NS	8	1.0 ± 0.7	1.91 ± 0.57	0.6 ± 0.5	1.71 ± 0.62
YMC	8	1.1 ± 0.6	1.75 ± 1.21	0.9 ± 0.6	2.84 ± 1.21 ¹⁾

注: 与 NS 对照组比较¹⁾ P < 0.05

Note: Compared with NS group, ¹⁾ P < 0.05

表 2 YMC 对缩宫素所致小鼠扭体反应的影响

Tab 2 Effect of motherwort decoction on twisting reaction of mice induced by oxytocin in mice

组别	剂量 (生药 g/kg)	动物数 (只)	扭体次数 ($\bar{x} \pm s$, 次)
NS	10 mL	10	4.5 ± 4.4
E ₂ + NS	10 mL	10	9.4 ± 6.0
E ₂ + YMC	5	10	7.7 ± 5.7
E ₂ + YMC	10	10	3.2 ± 2.4 ¹⁾

注: 与 E₂ + NS 组比较¹⁾ P < 0.05

Note: Compared with E₂ + NS group, ¹⁾ P < 0.05

结果显示, 10g/kg YMC 能抑制缩宫素所致小鼠扭体反应, 与 NS + E₂ 组比较有显著意义。

2.2.2 对 15-甲基 PGF_{2α}所致小鼠子宫痉挛的作用: 取 18~22g 雌性小鼠 40 只, 随机分为 4 组。第 1, 2 组每天灌服 NS 10 mL/kg, 第 3, 4 组每天分别予以 YMC 10, 5g/kg 灌胃。每天一次, 连续 7d。第 6, 7 天, 第 2, 3, 4 组分别腹腔注射 E₂ 50μg/只, 第 1 组给以等量 NS, 每天一次, 连续 2d, 第 8 天灌服 NS 或 YMC 1.5h 后, 腹腔注射 15-甲基 PGF_{2α} 1.5 mg/kg。参照文献^[4]观察 30 min 内小鼠反应, 以小鼠腹部收缩内凹, 臀部抬高作为观察子宫收缩致痛的指标, 计算各组疼痛小鼠数, 并与模型组比较, 作 χ^2 检验。结果显示, 口服 10g/kg YMC 有缓解 15-甲基 PGF_{2α} 所致小鼠子宫痉挛的作用。对照组小鼠腹部收缩内凹, 臀部抬高, 而服药组上述症状明显减轻, 两组比较有显著性差异(P < 0.05), 见表 3。

表 3 YMC 对 15-甲基 PGF_{2α} 所致小鼠子宫痉挛的影响

Tab 3 Effect of motherwort decoction on uterus spasm induced by 15-M-PGF_{2α} in mice

组别	剂量 (生药 g/kg)	动物数 (只)	30 min 内疼痛小鼠数 (只)
NS		10	8
E ₂ + NS		10	9
E ₂ + YMC	5	10	6
E ₂ + YMC	10	10	3 ¹⁾

注: 与 E₂ + NS 组比较¹⁾ P < 0.05

Note: Compared with E₂ + NS group, ¹⁾ P < 0.05

2.3 对实验性炎症模型的影响

2.3.1 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响: 取 18~22g 雄性小鼠 40 只, 随机分为 4 组。分别灌胃给予 NS 10 mL/kg, YMC 5, 2.5g/kg, Aspirin 0.2g/kg, 每天一次, 连续 3d。末次给药或 NS 1.5h 后, 将 30μL 二甲苯涂于小鼠右耳正反面。0.5h 后处死动物, 用 9mm 打孔器沿左右耳廓相同部位打孔。两侧耳廓圆片分别称重, 以两耳廓圆片重量差作为肿胀程度指标, 比较药物组与对照组间的差异。结果显示, 5, 2.5g/kg 体重的 YMC 能减轻二甲苯所致小鼠耳廓肿胀程度, 且与对照组比较有显著性差异(见表 4)。

表4 YMC对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响

Tab 4 Effect of motherwort decoction on the auricular edema in mice induced by dimethyl benzene

组别	剂量 (生药 g/kg)	动物数 (只)	耳廓肿胀度 ($\bar{x} \pm s$, mg)
NS	10 mL	10	21.8 ± 4.1
Aspirin	0.2	10	14.6 ± 5.3 ²⁾
YMC	2.5	10	17.0 ± 2.4 ²⁾
YMC	5.0	10	18.0 ± 3.8 ¹⁾

注:与 NS 组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

2.3.2 对实验性大鼠子宫炎症模型的影响: 参照文献^[5], 取雌性, 体重 180 ~ 220g 的 Wistar 大鼠 56 只, 用 4% 的戊巴比妥钠按 1 mL/kg 体重麻醉大鼠, 剪去下腹部毛发, 乙醇消毒皮肤, 沿下腹部正中中线切开 2cm, 暴露子宫, 距右侧子宫角顶端 1cm 处作一横切口, 将一管径 2mm, 长 5mm, 重 5mg 的塑料管放置在子宫内, 将子宫切口缝合, 伤口处滴入青霉素 0.1mg 以防止感染。手术后 72 只大鼠随机分为 4 组, 每组 18 只, 分别予以 NS 10 mL/kg, YMC5g 生药/kg, YMC10g 生药/kg, Aspirin 0.2g/kg 灌胃。7d 后, 处死大鼠, 分离其子宫称重, 比较左右侧子宫角重量的差异, 计算出其肿胀百分率 = [(右侧子宫重量 - 左侧子宫重量) / 左侧子宫重量] × 100%, 结果见表 5。

表5 YMC对大鼠实验性子宫炎症的影响

Tab 5 Effect of motherwort decoction on the experimental inflammatory uteri in rats

组别	剂量 (生药 g/kg)	动物数 (只)	左右侧子宫差值 ($\bar{x} \pm s$, mg)	肿胀百分率 ($\bar{x} \pm s$, %)
NS	10	14	51.4 ± 24.2	30.8 ± 12.1
Aspirin	0.2	14	24.7 ± 14.1 ²⁾	22.0 ± 10.2 ¹⁾
YMC	5	14	32.6 ± 19.7 ¹⁾	21.2 ± 8.7 ²⁾
YMC	10	14	37.2 ± 22.2	20.1 ± 9.8 ²⁾

注:与 NS 组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

结果表明, 5g 生药/kg 体重, 10g 生药/kg 体重的 YMC 能明显减轻实验性大鼠子宫炎症, 与对照组比较有显著性差异。

2.3.3 对炎症子宫平滑肌上 PGE₂ 含量的影响: 手术、分组及给药同实验“2.3.2”。测量大鼠炎症子宫 PGE₂ 含量的方法参照有关文献进行^[6]。取右侧致炎子宫角, 剪碎, 加 NS 2mL 浸泡 1h, 期间振摇浸泡液五次, 浸泡液 2000r/min 离心 5min, 取上清液 0.1mL, 加 0.5mol/L KOH 甲醇液 2mL, 在 50℃ 温育 20min, 加甲醇 4mL, 混匀后于波长 278nm 处测定吸光度, 以此比较各组前列腺素 E₂ 含量的差异, 结果显示, 5, 10g 生药/kg 体重的 YMC 能明显降低子宫炎症时其平滑肌上 PGE₂ 的含量, 且较对照组有显著性差异, 见表 6。

表6 YMC对子宫炎症时其平滑肌上 PGE₂ 含量的影响

Tab 6 Effect of motherwort decoction on PGE₂ concentrations in inflammatory uterine smooth muscle of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 g/kg)	动物数 (只)	吸光度 ($\bar{x} \pm s$, × 10 ⁻³)	吸光度/毫克子宫重量 ($\bar{x} \pm s$, × 10 ⁻⁵)
NS	10	14	60.1 ± 35.4	32.7 ± 19.8
Aspirin	0.2	14	16.7 ± 9.3 ²⁾	14.8 ± 14.1 ¹⁾
YMC	5	14	19.3 ± 18.6 ²⁾	10.8 ± 10.5 ²⁾
YMC	10	14	21.0 ± 17.4 ²⁾	14.3 ± 10.7 ²⁾

注:与 NS 组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

2.4 对大鼠子宫平滑肌上 PGF_{2α} 含量的影响

取 190 ~ 210g 雌性 Wistar 大鼠 40 只, 随机分为 4 组, 每组 10 只。分别灌服 NS 10mL/kg, 益母草水提液 10g 生药/kg, 5g 生药/kg, Aspirin 0.2g/kg。每天一次, 连续 7d。第 6 天各组分别腹腔注射 E₂ 200μg/只。第 8 天, 灌胃给药 1.5h 后, 腹腔注射 15 甲基-PGF_{2α} 1.5mg/kg。1h 后用戊巴比妥钠麻醉。分离子宫组织, 快速称重, 迅速将之置匀浆管中, 并按 2mL/100mg 子宫重量加入匀浆液(无水乙醇:生理盐水 = 2:8 配成)研制成匀浆, 4℃ 2500r/min 离心 20min, 取上清液 1mL, 加入 0.1mol/L HCl 50μL 酸化, 用醋酸乙酯 3mL 提取以及 2500r/min 4℃ 离心 20min。重复提取一次。收集两次提取液, 冷风吹干, 加入 0.5mL PBS 溶液振荡溶解。再按 PGF_{2α} 放射免疫操作步骤复管测定子宫平滑肌上 PGF_{2α} 的含量^[7], 数据经对数转换, 并比较药物组与对照组间的差异。结果表明, 口服 10g 生药/kg YMC 能明显降低大鼠子宫平滑肌 PGF_{2α} 的含量, 与对照组比较有显著性差异, 结果见表 7。

表7 YMC对大鼠子宫平滑肌 PGF_{2α} 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 7 Effect of motherwort decoction on PGF_{2α} concentrations in uterine smooth muscle of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 g/kg)	动物数 (只)	子宫平滑肌 PGF _{2α} 的含量 (ng/10g, 对数值)
NS	10	10	2.134 ± 0.421
Aspirin	0.2	10	0.726 ± 0.549 ²⁾
YMC	5	10	2.089 ± 0.399
YMC	10	10	1.592 ± 0.511 ¹⁾

注:与 NS 组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

2.5 对大鼠雌、孕激素的影响

取 180 ~ 220g 雌性未孕 SD 大鼠 40 只。均分 4 组, 分别灌胃 NS 10mL/kg, YMC 10g 生药/kg, YMC 5g 生药/kg, 炔诺酮 0.7mg/kg。每天一次, 连续 2 周。第 15d, 用戊巴比妥钠 40mg/kg 麻醉大鼠。腹主动脉取血, 3000r/min 离心, 取血清, 按照雌二醇及孕酮 (Progesterone) 放射免疫检测试剂盒说明书上的步骤操作。反应管在 SN 682 放射免疫 γ 计数器上计数 1min, 然后分别计算出孕酮与雌二醇浓度, 数据经对数转换, 比较药物组与对照组的差异。结果显示, 10g 生药/kg YMC 能升高大鼠体内孕激素水平, 与对照组比较有显著性差异, 但对大鼠体内雌激素无明显的影响, 结果见表 8。

表8 益母草水提液对大鼠雌、孕激素的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 8 Effect of motherwort decoction on serum estradiol and progesterone level in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 g/ kg)	血清雌二醇浓度 (ng/ mL,对数值)	血清孕酮浓度 (ng/ mL,对数值)
NS	10	1.467 ± 0.396	1.068 ± 0.262
快诺酮	0.7	1.164 ± 0.312	1.220 ± 0.213
YMC	5	1.276 ± 0.262	1.219 ± 0.226
YMC	10	1.377 ± 0.350	1.329 ± 0.237 ¹⁾

注: $n=10$, 与 NS 组比较¹⁾ $P < 0.05$

Note: $n=10$, Compared with NS group, ¹⁾ $P < 0.05$

3 讨论

实验结果显示, YMC 对正常豚鼠在体子宫确有一定增强收缩的作用。这与以往的文献报道结果基本一致^[1], 即对正常子宫有兴奋作用。另一方面, 益母草又能缓解由缩宫素及 15 M $\text{PGF}_{2\alpha}$ 所致小鼠子宫痉挛, 从而表明益母草对子宫似有双向调节作用。即当子宫在正常状态下表现为引起兴奋收缩, 而当子宫在痉挛状态时则引起松弛。

继发性痛经多发于盆腔炎之后。为了进一步阐明益母草对治疗痛经的作用机制, 实验选择了一般炎症模型和实验性子宫炎症模型, 观察益母草的抗炎作用。结果显示, YMC 能明显对抗二甲苯所致小鼠耳廓肿胀, 能减轻实验性大鼠子宫炎症, 抑制炎症子宫角的肿胀。

现代医学认为子宫内膜上的前列腺素的含量增高, 会引起子宫过度收缩而致痛经。实验显示益母草能明显减少炎症子宫 PGE_2 的含量, 同时也能减少平滑肌上 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量。 PGE_2 本身又是强炎症介质, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 及 PGE_2 均能引起子宫强烈收缩。益母草能减少 $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGE_2 水平, 从而起到良好的抗痛经效应。

另外, 临床上有联合应用雌激素、孕激素治疗痛经的疗

法。因为雌激素能抑制排卵, 使经前期内膜成为增生期内膜, 内膜的前列腺素含量相对减少从而减轻疼痛; 孕激素可以抑制子宫收缩, 抑制排卵从而起到抗痛经作用。本研究结果显示, 益母草能升高大鼠体内孕激素的水平, 而对雌激素却无明显的影响。

综上所述, 益母草抗痛经作用, 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。松弛痉挛状态下的子宫, 抑制子宫 PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的产生, 缓解炎症和缩宫反应, 以及对大鼠体内性激素的调节等均为益母草治疗痛经的药理学基础。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 精选本下册. 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 1601.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994, 364.
- [3] 郭秋江, 宋翠森, 王鑫国, 等. 新加小腹逐瘀胶囊治疗原发性痛经的机理探讨[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(5): 6.
- [4] 金翠英, 秦红庆, 马豹山, 等. 益母还红丹的药理实验研究[J]. 中国新药杂志, 1993, 2(3): 5.
- [5] 苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997, 254.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994, 370.
- [7] 李晓燕. 痛经片的药理实验研究[J]. 中医药研究, 1993, (6): 53.

收稿日期: 2003-05-01