

益母草注射液提取物对流产大鼠离体子宫的影响

李 丹, 谢晓芳, 彭 成*, 熊 亮, 赵小梅, 刘 娟

成都中医药大学 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 研究益母草注射液浸膏及其提取部位对大鼠流产子宫的作用。**方法** 采用化学提取分离方法由益母草注射液中提取分离得到益母草生物碱部位(LH-1-B)、非生物碱部位(LH-1-A)。早孕大鼠ig米非司酮(8.3 mg/kg)和米索前列醇(100 µg/kg)造成不完全流产, 24 h后颈椎脱臼处死动物, 迅速剖取子宫, 用BL-420E生物机能实验系统记录大鼠离体子宫平滑肌的收缩活动; 采用累积给药方式, 分别给予益母草注射液浸膏(37.5、37.5、150.0 µL)或LH-1-A、LH-1-B(75.0、75.0、150.0 µL), 每次给药后记录10 min收缩曲线, 比较给药前后收缩张力、频率和活力的变化。**结果** 益母草注射液浸膏可使流产大鼠离体子宫的活力和收缩张力增强($P < 0.01$); LH-1-A使流产大鼠离体子宫收缩活力、张力及频率降低($P < 0.05$ 、 0.01); LH-1-B高剂量具有增加流产子宫收缩张力最小值作用($P < 0.05$)。**结论** 益母草注射液浸膏可显著增强流产大鼠子宫收缩活动, 但其内含有促进流产子宫收缩和抑制流产子宫收缩的活性部位, 其中水溶性生物碱部位是其缩宫的主要部位, 作用机制有待进一步研究。

关键词: 益母草注射液; 流产子宫; 生物碱; 非生物碱

中图分类号: R965.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2014)01-0021-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.01.005

Effects of extract from *Leonurus japonicus* Injection on uterus of rats after abortion

LI Dan, XIE Xiao-fang, PENG Cheng, XIONG Liang, ZHAO Xiao-mei, LIU Juan

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development, and Utilization of Chinese Medicine Resources, Ministry of Education., Chengdu 611137, China

Abstract: **Objective** To study the effects of the extract from *Leonurus japonicus* Injection (LJI) on uterus of rats after abortion. **Methods** The alkaloids fraction (LH-1-B) and non-alkaloid fraction (LH-1-A) were separated from LJI by chemical extraction. Pre pregnancy rats were ig administered with Mifepristone (8.3 mg/kg) and Misoprostol (100 µg/kg) to induce incomplete abortion model. After 24 h, the rats were executed with cervical dislocation and the uterus was taken. The contraction activity of uterine smooth muscle in rats was recorded by BL-420E Biological Function Experimental System. The doses of extracts were 37.5, 75, and 150 µL and the doses of LH-1-A and LH-1-B were 75, 150, and 300 µL by using cumulative mode of administration. The constriction curve for 10 min was recorded including the amplitude, frequency, and mobility in uterine smooth muscle movement track. **Results** The extract from LJI could enhance the activity of abortion uterus ($P < 0.01$); The LH-1-A extract could decrease the activity of abortion uterus ($P < 0.05$ or 0.01); The high-dose LH-1-B could increase the minimum of uterus contraction ($P < 0.05$). **Conclusion** The extract from LJI could significantly enhance the contraction of uterus in rats after abortion, and contains the components with the effects of promoting and inhibiting contraction of uterus. The alkaloid fraction is the main part with the promoting effect. Further investigations are needed to explore the action mechanism.

Key words: *Leonurus japonicus* Injection; abortion uterus; alkaloid; non-alkaloid

人工流产作为一种避孕失败的补救措施, 是妇产科最常用的终止早期妊娠的方法, 术后阴道流血是最主要的并发症之一^[1]。益母草是传统的缩宫调

经、活血化瘀药, 益母草注射液是益母草单方制剂, 临床治疗产后和流产后子宫出血, 疗效显著^[2-3]。但益母草注射液调节子宫活动的药理研究及有效部

收稿日期: 2013-09-03

基金项目: 国家“十一五”重点科技支撑计划项目(2009BAI84B00)

作者简介: 李 丹, 在读硕士, 从事中药复方药理毒理研究。Tel: 13558661832 E-mail: fdqlidan@163.com

*通信作者 彭 成, 教授, 博士生导师, 从事中药复方药理与疾病动物模型研究。Tel: (028)61800018 E-mail: pengchengchengdu@126.com

位、有效成分的系统研究较少, 主要物质基础尚不明, 作用机制亦不清楚。本课题用化学分离方法, 将益母草注射液浸膏分离成生物碱和非生物碱不同部位, 采用大鼠流产离体子宫模型找寻其缩宫作用的物质基础, 从而为提升其制备工艺、质量标准和指导临床合理用药提供科学依据。

1 材料

1.1 药物

益母草注射液中间体浸膏(由成一药业集团提供, 批号 120701) 每克相当于制成 5 mL 注射液, 与成品每支换算为 0.2 g/支; 益母草注射液浸膏中非生物碱部位(LH-1-A)、水溶性生物碱部位(LH-1-B)的含量分别为 25%、20.8%; 益母草注射液浸膏 LH-1-A、LH-1-B 与成品的换算分别为 0.046 7、0.038 9、 5.46×10^{-3} g/支。用前均按 0.2 支/mL, 即分别配成 0.043、 9.34×10^{-3} 、 7.78×10^{-3} g/mL, 备用。

1.2 动物

健康 SD 大鼠, 清洁级, 雌鼠体质量 220~260 g, 雄鼠体质量 260~300 g。由成都中医药大学实验动物研究中心提供, 质量合格证号 SCXK(川) 2008-11, 检疫后用。

1.3 主要试剂及仪器

米非司酮(浙江仙琚制药股份有限公司, 批号 120201); 米索前列醇(北京紫竹药业有限公司, 批号 43120S03)。NaCl、KCl、CaCl₂、NaHCO₃、无水葡萄糖试剂均由成都市科龙化工试剂公司生产, 用于配置洛氏液(1 000 mL 含 NaCl 9.2 g、KCl 0.42 g、CaCl₂ 0.24 g、NaHCO₃ 0.15 g、无水葡萄糖 1.0 g)。BX50 光学显微镜(Olympus 公司); AL104 电子天平(Mettler Toledo 公司); BL—420E 生物机能系统、HW—400E 张力换能器、恒温水浴平滑肌槽, 均由成都泰盟科技有限公司生产。

2 方法

2.1 分离制备提取物

将益母草注射液浸膏 1 200 g, 稀释至 1 300 mL 过大孔树脂柱, 用 100% 纯水洗脱得到 LH-1, 将 LH-1 过离子交换树脂, 用纯水洗脱得到 LH-1-A, 用 3 mol/L NaCl 溶液洗脱得到 LH-1-B。

2.2 离体子宫标本的制作

大鼠于每日 18:00 时按雌雄 2:1 比例合笼, 次日晨 8:00 进行阴道涂片检查, 以观察到精子认为妊娠第 1 天, 于妊娠第 7 天按体质量 ig 米非司酮 8.3 mg/kg(8:00)和米索前列醇 100 μ g/kg(18:00),

造成人工不完全流产^[4]。24 h 后颈椎脱臼处死动物, 迅速剖取子宫置于盛有洛氏液的玻璃皿中, 轻轻剥离子宫上附有的结缔组织和脂肪组织, 取中间段子宫 2~3 cm, 一端固定于盛有洛氏液 20 mL 的浴槽, 另一端连接张力换能器, 浴槽中营养液保持在 (37 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C, 并通以 95% O₂+5% CO₂ 的混合气体, 速度 1~2 个小气泡/s, 前负荷 1 g, 用 BL—420E 生物机能系统记录子宫收缩曲线^[5]。

2.3 给药方法

待离体子宫自发性活动曲线稳定 30 min 后, 加入益母草注射液浸膏、益母草注射液 LH-1-A 或 LH-1-B 部位药液, 采用累加给药方式(浸膏给药剂量依次为 37.5、37.5、75 μ L, LH-1-A、LH-1-B 给药剂量为 75、75、150 μ L), 每次加药后记录 10 min 离体子宫平滑肌的收缩活动。一组药物记录完后换去营养液, 冲洗 3 次, 待曲线稳定 30 min 后, 继续进行下一受试药物的实验。比较给药前后离体子宫收缩活力、频率和抑制率的变化。

抑制率 = (给药前参数 - 给药后参数) / 给药前参数^[6-7]

2.4 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 17.0 统计软件进行配对 *t* 检验统计分析给药前后的变化。

3 结果

3.1 不同提取物对离体子宫收缩活力的影响

与给药前比较, 益母草注射液浸膏低、中、高剂量可促进流产子宫收缩活力 ($P < 0.01$), 抑制率变化明显; LH-1-A 高剂量能显著降低子宫收缩活力 ($P < 0.05$), 抑制率与剂量成正相关; LH-1-B 对流产子宫收缩活力无明显影响, 呈增加的趋势。结果见表 1。

3.2 不同提取物对离体子宫收缩频率的影响

与给药前比较, LH-1-A 低、中、高剂量可降低流产子宫收缩频率 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 益母草注射液浸膏、LH-1-B 对流产子宫收缩频率无明显影响。结果见表 2。

3.3 不同提取物对离体子宫收缩张力的影响

与给药前比较, 益母草注射液原药低、中、高剂量显著增加收缩张力平均值 ($P < 0.01$), 中、高剂量可增加收缩张力最小值 ($P < 0.05$ 、0.01); LH-1-A 高剂量能减小收缩张力的平均值和增加最小值 ($P < 0.05$ 、0.01); LH-1-B 高剂量具有增加流产子宫收缩张力最小值作用 ($P < 0.05$)。结果见表 2。

表1 益母草注射液不同部位对流产大鼠离体子宫收缩活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effects of extract from *LJI* on contraction activity of abortion uterus *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ μL	收缩活力/(g·s)		抑制率/%
		给药前	给药后	
空白	—	1 358.30 $\pm$ 202.13	1 315.80 $\pm$ 171.71	3.13
	—	1 358.30 $\pm$ 202.13	1 305.50 $\pm$ 144.21	3.89
	—	1 358.30 $\pm$ 202.13	1 316.90 $\pm$ 161.17	3.05
益母草浸膏	37.5	1 255.20 $\pm$ 386.35	1 333.40 $\pm$ 429.05**	-6.23
	75.0	1 255.20 $\pm$ 386.35	1 416.30 $\pm$ 468.43**	-12.83
	150.0	1 255.20 $\pm$ 386.35	1 545.70 $\pm$ 557.18**	-25.53
LH-1-A	75.0	1 269.60 $\pm$ 305.92	1 279.30 $\pm$ 301.93	-0.76
	150.0	1 269.60 $\pm$ 305.92	1 132.00 $\pm$ 217.78	10.83
	300.0	1 269.60 $\pm$ 305.92	1 049.00 $\pm$ 194.91*	17.37
LH-1-B	75.0	1 456.00 $\pm$ 516.48	1 414.50 $\pm$ 470.74	2.85
	150.0	1 456.00 $\pm$ 516.48	1 405.90 $\pm$ 399.39	3.44
	300.0	1 456.00 $\pm$ 516.48	1 423.10 $\pm$ 373.87	2.26

与给药前比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs before administration

表2 益母草注射液不同部位对流产大鼠离体子宫收缩频率、收缩张力及收缩张力最小值的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of different fractions of extract from *LJI* on contraction frequency, average contraction, and minimum contraction of abortion uterus ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ μL	收缩频率/(次·10 min ⁻¹)		收缩张力/N		收缩张力最小值/N	
		给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后
空白	—	4.90 $\pm$ 1.66	4.90 $\pm$ 1.60	2.26 $\pm$ 0.34	2.19 $\pm$ 0.29	1.33 $\pm$ 0.22	1.42 $\pm$ 0.27
	—	4.90 $\pm$ 1.66	4.90 $\pm$ 0.99	2.26 $\pm$ 0.34	2.16 $\pm$ 0.24	1.33 $\pm$ 0.22	1.41 $\pm$ 0.26
	—	4.90 $\pm$ 1.66	5.30 $\pm$ 1.16	2.26 $\pm$ 0.34	2.19 $\pm$ 0.27	1.33 $\pm$ 0.22	1.46 $\pm$ 0.29
益母草浸膏	37.5	4.70 $\pm$ 1.95	5.60 $\pm$ 1.51	2.08 $\pm$ 0.64	2.22 $\pm$ 0.72**	1.49 $\pm$ 0.43	1.50 $\pm$ 0.43
	75.0	4.70 $\pm$ 1.95	5.40 $\pm$ 1.07	2.08 $\pm$ 0.64	2.36 $\pm$ 0.78**	1.49 $\pm$ 0.43	1.54 $\pm$ 0.45*
	150.0	4.70 $\pm$ 1.95	4.90 $\pm$ 1.10	2.08 $\pm$ 0.64	2.58 $\pm$ 0.94**	1.49 $\pm$ 0.43	1.65 $\pm$ 0.46*
LH-1-A	75.0	5.60 $\pm$ 1.26	4.90 $\pm$ 1.20*	2.11 $\pm$ 0.51	2.12 $\pm$ 0.51	1.36 $\pm$ 0.31	1.37 $\pm$ 0.30
	150.0	5.60 $\pm$ 1.26	3.40 $\pm$ 2.01*	2.11 $\pm$ 0.51	1.88 $\pm$ 0.36	1.36 $\pm$ 0.31	1.39 $\pm$ 0.33
	300.0	5.60 $\pm$ 1.26	1.10 $\pm$ 1.37**	2.11 $\pm$ 0.51	1.74 $\pm$ 0.32*	1.36 $\pm$ 0.31	1.53 $\pm$ 0.33**
LH-1-B	75.0	4.90 $\pm$ 1.79	4.90 $\pm$ 2.51	2.43 $\pm$ 0.86	2.33 $\pm$ 0.80	1.45 $\pm$ 0.42	1.46 $\pm$ 0.45
	150.0	4.90 $\pm$ 1.79	5.10 $\pm$ 1.97	2.43 $\pm$ 0.86	2.34 $\pm$ 0.66	1.45 $\pm$ 0.42	1.44 $\pm$ 0.44
	300.0	4.90 $\pm$ 1.79	5.30 $\pm$ 1.83	2.43 $\pm$ 0.86	2.37 $\pm$ 0.62	1.45 $\pm$ 0.42	1.47 $\pm$ 0.45*

与给药前比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs before administration

4 讨论

益母草是一味常用的活血调经、利水消肿的中药, 常用于治疗月经不调、产后腹痛、小便不利、水肿等^[8]。在现代临床运用中, 益母草及其制剂主要应用在妇产临床方面, 如治疗女性生殖内分泌疾病、加强子宫收缩和促进子宫复旧、防止产后出血和尿潴留、辅助终止早期妊娠等。关于益母草及其制剂的现代药理研究较多^[9-10], 主要集中在其对子宫的作用、对血液流变学的作用、对心血管的作用

等。益母草注射液作为子宫收缩药广泛用于产后出血, 临床研究表明可明显减少产后出血量^[11-12], 但对子宫调节作用的药理研究远远落后于临床应用。因此, 本实验采用流产后大鼠离体子宫研究益母草注射液中不同提取物对子宫活动的影响, 以期明确益母草注射液对流产子宫的调节作用及可能的物质基础。

在本实验的剂量范围内, 益母草注射液流浸膏剂量是其不同部位剂量的 50%。实验结果显示, 益

母草注射液浸膏和水溶性生物碱(LH-1-B)对流产大鼠子宫有兴奋作用,二者的兴奋作用都主要是通过增强子宫收缩张力增强其活动力,对收缩频率无明显影响。益母草注射液非生物碱部位(LH-1-A)对流产大鼠子宫活动均呈现抑制作用,明显降低大鼠子宫活力、收缩幅度及频率。以上结果表明,益母草注射液浸膏中存在着促进子宫收缩和抑制子宫收缩的不同物质,其中水溶性生物碱(LH-1-B)是益母草注射液缩宫作用的主要有效部位,提示今后可通过增加此部位含量以提高益母草注射液的药理作用强度。

参考文献

- [1] 俞 涓. 益母草注射液在人工流产术后的应用 [J]. 中国实用医药, 2007, 2(35): 138.
- [2] 袁娇桂. 益母草注射液在人工流产术后的临床应用 [J]. 海峡药学, 2010, 22(2): 86-88.
- [3] 张奕梅, 方 刚, 何玉明. 益母草注射液在减少人工流产术后出血中的应用 [J]. 实用药物与临床, 2008, 11(3): 161-162.
- [4] 李 晖, 陈建设. 清宫胶囊对药物不全流产大鼠子宫组织匀浆内皮素的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 219-220.
- [5] 徐叔云, 陈 修, 卞如谦. 药理实验方法学 [J]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1582-1585.
- [6] 朱 敏, 段金彪, 唐玉平, 等. 四物汤及其组方药物对小鼠离体子宫收缩的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 149.
- [7] 张建英, 楚更五, 刘秀萍, 等. 当归散对正常和缩宫素处理大鼠离体子宫活动力的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 201.
- [8] 田双彦, 冉卫兵, 井文贵. 益母草临床应用研究综述 [J]. 临床误诊误治, 2008, 21(7): 73-75.
- [9] 顾月丽, 顾江红. 益母草药理作用的研究进展 [J]. 中国中医药科技, 2008, 15(4): 320.
- [10] 魏丽春, 李庆军. 益母草的药理与临床研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2009, 24(4): 333-334.
- [11] 何进来, 张庭广, 赵富花. 益母草注射液的临床应用 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(2): 117.
- [12] 邵迎春. 益母草注射液预防产后出血临床研究 [J]. 吉林中医药, 2011, 31(9): 862-863.