

力较有丝分裂原 Con A 明显减弱,提示 HAPS 和 APS 均有有丝分裂原样作用。

参考文献:

[1] 单俊杰,王顺春,刘 涤,等. 黄芪多糖的化学和药理学研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2000, 14(3): 61-64.  
 [2] 刘星谱,王美英,吴厚生,等. 黄芪多糖的分离及其免疫活性的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1994, 16(1): 23-28.  
 [3] Michel D. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-355.  
 [4] 曹培让,吴祖道,王汝聪. 金针菇 *Flammulina velutipes* (Curt.

Fr.) Sing. 子实体多糖 PA3DE 的分离、纯化和分离 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1989, 21(2): 152-156.  
 [5] 张罗修,徐维敏,潘胜利,等. 韭叶柴胡多糖对小鼠胸腺、脾脏重量、淋巴细胞增殖和空斑形成的影响 [J]. 中国药理学报, 1986, 7(5): 479-483.  
 [6] Ryoko G, Masashi T, Noriko S, et al. Characterization of an acidic polysaccharide from the seeds of *Malva verticillata* stimulating the phagocytic activity of cells of the RES [J]. *Planta Medica*, 1990, 56: 73-76.  
 [7] 李先荣,康 永,牛艳艳,等. 注射用黄芪多糖药理作用的研究 2 对免疫药理作用的研究 [J]. 中成药, 1989, 11(5): 26-30.  
 [8] 王洪斌,郑钦岳,钱定华,等. 商陆多糖 I 对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中国药理学报, 1993, 14(3): 243-247.

## 菟丝子黄酮对应激大鼠卵巢内分泌的影响

王建红,王敏璋,伍庆华,闵建新,陈晓凡,欧阳栋\*

(江西中医学院,江西 南昌 330006)

**摘要:** 目的 观察菟丝子黄酮对心理应激引起卵巢内分泌功能降低的调节作用。方法 采用声-光-电复合应激刺激制造大鼠卵巢内分泌功能降低模型,观察菟丝子黄酮对模型大鼠血清 E<sub>2</sub>、P 水平,肾上腺抗坏血酸含量以及垂体、卵巢、子宫重量的影响。结果 菟丝子黄酮明显提高模型大鼠血清 E<sub>2</sub>、P 水平,增加垂体、卵巢、子宫的重量,但对肾上腺抗坏血酸含量没有明显的影响。结论 菟丝子黄酮能够明显改善卵巢内分泌功能。

**关键词:** 菟丝子黄酮;卵巢内分泌;心理应激

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)12-1099-03

### Effects of flavonoids from *Cuscuta chinensis* on ovarian endocrine in female rats exposed to psychologic stress

WANG Jian-hong, WANG Min-zhang, WU Qing-hua,

MIN Jian-xin, CHEN Xiao-fan, OUYANG Dong

(Jiangxi College of TCM, Nanchang 330006, China)

**Abstract Object** To observe the effects of the flavonoids extracted from *Cuscuta chinensis* Lam. (FC) on the ovarian endocrine functions in female rats exposed to psychologic stress. **Methods** Sound, light and electricity were combined into a stressful stimulus to induce dysfunction on ovarian endocrine functions in female rats; to observe the effects of FC on the ovarian endocrine functions in female rats exposed to psychologic stress, by determining the changes of serum E<sub>2</sub>, P and ascorbic acid levels in adrenal gland, and by weighing the pituitaries, ovaries and uteruses. **Results** FC increased the serum E<sub>2</sub>, P and the weight of pituitaries, ovaries and uteruses obviously, but did not increase ascorbic acid levels in adrenal gland in female rats exposed to psychologic stress. **Conclusion** FC improves the ovarian endocrine functions in female rats.

**Key words** flavonoids of *Cuscuta chinensis* Lam. (FC); ovarian endocrine; psychologic stress

菟丝子是旋花科植物 *Cuscuta chinensis* Lam. 的成熟种子,为温补肾阳的要药,在中医临床上应用广泛,尤其在治疗生殖内分泌失调类疾病方面<sup>[1]</sup>。菟丝子主要成分为黄酮类化合物<sup>[2]</sup>,本实验研究了菟

丝子总黄酮对心理应激大鼠卵巢内分泌的调节作用。

#### 1 材料

1.1 药物:菟丝子经本院中药鉴定教研室鉴定为

\* 收稿日期: 2002-05-05

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (39960026);江西省卫生厅资助项目 (2000A21)

作者简介:王建红 (1963-),女,江西南昌人,江西中医学院基础部副教授,现为生理教研室主任,硕士生导师,主要从事中药对人类生殖内分泌功能调控方面研究工作。Tel (0791) 6836406 E-mail wangjh69@hotmail.com

\* 江西中医学院 2000级研究生

*C. chinensis* Lam. 的成熟种子,经溶剂提取,聚酰胺柱分离得总黄酮提取物,聚酰胺薄层析表明含有槲皮素、金丝桃苷、紫云英苷和槲皮素-3-O $\beta$ -半乳糖-7-O $\beta$ -葡萄糖 4个组分,与文献报道一致<sup>[2]</sup>;以芦丁为对照品,比色法测定总黄酮含量在 40%~45%之间,实验中配成浓度为 10和 5 mg/mL悬混液(相当于生药 2和 1 g)

1.2 主要试剂与仪器: E<sub>2</sub>(雌二醇)、P(孕酮) 放免药盒由中美合资天津九鼎医学生物工程有限公司提供, FJ-2008P $\gamma$  放射免疫计数器(国营 262厂生产), 722分光光度计(上海第三分析仪器厂), AE240电子分析天平(瑞士 Mettler公司,分度值 0.01 mg)

1.3 动物及分组: SD雌性大鼠,体重 160~180 g,由本院实验动物中心提供。室温(20 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,自然光照,自由进水进食。随机分为 4组: 正常对照组、模型组、大剂量菟丝子总黄酮组、小剂量菟丝子总黄酮组, 每组 10只

## 2 方法

2.1 造模及给药方法: SD大鼠购进适应 2 d后,每天检查阴道涂片观察动情周期变化,选择连续有 2个正常动情周期的大鼠用于造模实验。正常对照组不造模。模型组、菟丝子大、小剂量组造模。用声光-电复合应激刺激大鼠,首先声光刺激同时出现, 10 s以后出现电击足底 60 s,此时声光刺激同时存在,以后声光刺激停止,电击足底继续维持 5 s。每次时间 75 s,每日 3次,3次间隔时间不定,在 1 h内完成。应激实验环境与饲养环境分开,应激实验环境光照强度恒定,与外界隔音。声、光、电 3种刺激参数恒定:①声音强度 65 dB;②光照强度 500 lx,为闪烁状,频率 1次/s,亮时 500 lx 灭时 300 lx(环境光照强度);③ 36 V 安全电压。选择大鼠动情期开始造模,造模时间 20 d,造模同时给药。模型组、正常对照组,ig 蒸馏水 2 mL/d。菟丝子大、小剂量组以菟丝子黄酮悬混液 ig,剂量分别为 10和 5 mg/mL, 2 mL/d,共 25 d,即造模 20 d后,停止心理应激刺激,继续给药 5 d。实验期间,每天定时检查阴道涂片,观察动情周期的变化。选择在停止给药后的大鼠第 1个动情期处死动物,取血清于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存,用放射免疫分析法测 E<sub>2</sub>、P;迅速取肾上腺称重后,用 2,4-二硝基苯肼比色法<sup>[3]</sup>测抗坏血酸含量;取动物垂体、卵巢、子宫称重。

2.2 统计学方法: 各组数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用方差分析,所有统计资料在 SPSS 软件包上完成。

## 3 结果

3.1 菟丝子黄酮对心理应激大鼠动情周期的影响: 正常组大鼠动情周期规则,5 d为一个周期,模型组动情周期紊乱,主要表现为动情周期延长,可达 7~8 d,尤其以间情期延长为主。而用菟丝子黄酮组动情周期比较规则,尤以高剂量组明显。

3.2 菟丝子黄酮对心理应激大鼠血清 E<sub>2</sub>、P的影响: 见表 1。模型组大鼠 E<sub>2</sub>水平明显降低,与正常对照组比较有显著差异( $P < 0.01$ );菟丝子高、低剂量组 E<sub>2</sub>水平明显高于模型组,有显著差异( $P < 0.01$ );高剂量组 E<sub>2</sub>水平明显高于低剂量组,有显著差异( $P < 0.01$ )。模型组大鼠 P水平明显降低有显著差异( $P < 0.01$ );菟丝子高、低剂量组 P水平明显高于模型组,有显著差异( $P < 0.01$ );高、低剂量组 P水平无显著差异( $P > 0.05$ )。

表 1 各组血清 E<sub>2</sub>、P的变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	n	E <sub>2</sub> (ng/mL)	P(pg/mL)
正常	-	9	48.60 $\pm$ 4.95	13.47 $\pm$ 1.06
模型	-	9	25.89 $\pm$ 3.09*	7.39 $\pm$ 0.43*
菟丝子	0.1	8	43.57 $\pm$ 3.28 $\Delta\Delta$	11.83 $\pm$ 0.70 $\Delta\Delta$
	0.05	9	36.64 $\pm$ 2.64 $\Delta\Delta\Delta$	10.98 $\pm$ 0.58 $\Delta\Delta$

与正常组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较:  $\Delta\Delta$   $P < 0.01$ ;  
与菟丝子高剂量组比较:  $\Delta\Delta\Delta$   $P < 0.01$

3.3 菟丝子黄酮对心理应激大鼠肾上腺抗坏血酸含量的影响: 见表 2。模型组肾上腺抗坏血酸含量明显降低,与正常对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ );菟丝子高、低剂量组肾上腺抗坏血酸含量与模型组比较无显著差异( $P > 0.05$ )。

表 2 各组肾上腺抗坏血酸含量变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	n	抗坏血酸( $\mu$ g/100 mg组织)
正常	-	9	306.45 $\pm$ 54.62
模型	-	9	226.3 $\pm$ 71.33
菟丝子	0.1	8	257.18 $\pm$ 78.97
	0.05	9	246.43 $\pm$ 98.67

与正常组比较: \*  $P < 0.05$

3.4 菟丝子黄酮对心理应激大鼠垂体、卵巢、子宫重量的影响: 见表 3。模型组大鼠垂体重量明显降低,与正常对照组比较有显著差异( $P < 0.01$ );菟丝子高、低剂量组垂体重量明显高于模型组,有显著差异( $P < 0.01$ )。模型组大鼠卵巢重量明显降低,与正常对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ );高剂量组卵巢重量高于模型组,有显著差异( $P < 0.05$ );但低剂量组卵巢重量与模型组相比无显著差异( $P > 0.05$ )。模型组大鼠子宫重量明显降低,与正常对照组比较有显著差异( $P < 0.01$ );高剂量组子宫重量明显高于模型组,有显著差异( $P < 0.01$ );低剂量组

子宫重量与模型组无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 高、低剂量组子宫重量有显著差异 ( $P < 0.05$ )

表 3 各组垂体、卵巢与子宫重量 ( $\bar{x} \pm s$ ) mg/100g 体重

组别	剂量 (g/kg)	n	垂体	卵巢	子宫
正常	-	9	3.12 ± 0.63	36.56 ± 8.32	266.03 ± 52.65
模型	-	9	1.35 ± 0.35*	26.29 ± 2.37	191.02 ± 30.63*
菟丝子	0.1	8	3.00 ± 0.70 <sup>△△</sup>	32.95 ± 4.19 <sup>△</sup>	274.45 ± 35.46 <sup>△△</sup>
	0.05	9	2.94 ± 0.73 <sup>△△</sup>	29.72 ± 5.24	218.6 ± 55.45 <sup>▲</sup>

与正常组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>△</sup>  $P < 0.05$  <sup>△△</sup>  $P < 0.01$ ; 与菟丝子高剂量组比较: <sup>▲</sup>  $P < 0.05$

#### 4 讨论

中医认为卵巢功能降低与“肾”有密切关系,强调肾虚是该病的根本原因,治疗上多以补肾为主。现代中西医结合基础研究表明,“肾”与下丘脑-垂体-卵巢轴、与生殖内分泌相关;而应激是指机体在外界环境的不利因素或有害因素刺激下,机体出现神经内分泌和免疫系统等的综合应激状态,长期慢性应激可引起疾病,心理应激可引起生殖内分泌的改变<sup>[4,5]</sup>,继而引发诸多妇科内分泌疾病,如闭经、月经紊乱、不孕症、经前期综合症、无排卵、卵巢早衰等。

菟丝子的生殖内分泌调节作用已经有较多研究,对下丘脑-垂体-性腺轴功能有多方面的作用<sup>[6]</sup>;菟丝子黄酮可明显增加幼年雄鼠睾丸及附睾重量<sup>[7]</sup>;并发现其本身具有类雌激素样活性<sup>[6]</sup>;研究表明,菟丝子黄酮对正常雌性和雄性大鼠生殖内分泌都有作用<sup>[8]</sup>。本文根据巴甫洛夫条件反射理论,在常用心理应激刺激方法<sup>[9,10]</sup>上改进,利用声-光-电复合应激刺激方法,其中声-光作为复合条件信号刺激,电击足底为非条件刺激,产生条件反射性反应,即心理应激反应。随应激刺激时间延长,大鼠卵巢内分泌功能降低,表现为动情周期紊乱或延长,血清  $E_2$ , P

水平降低,动情期的垂体、卵巢、子宫重量变轻,而菟丝子黄酮对心理应激造成的卵巢内分泌功能降低有明显改善作用,如动情周期变得比较规则,血清  $E_2$ , P水平明显升高,动情期的垂体、卵巢、子宫重量均有不同程度增加,且呈药效与剂量的平行关系,即剂量依赖性。

肾上腺抗坏血酸含量与肾上腺皮质功能活跃程度、合成释放肾上腺皮质激素密切相关,是反映肾上腺皮质功能的经典指标。心理应激模型大鼠肾上腺抗坏血酸含量降低,表明此时肾上腺功能活跃,肾上腺皮质激素合成增加,但用菟丝子黄酮后,肾上腺抗坏血酸含量没有明显变化,提示补肾中药菟丝子黄酮的作用主要表现在对卵巢内分泌功能改善上,如果配合疏肝中药使用,可能出现更加理想的调节效果,其机制有待深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 赵瑞华,刘亚绵,杨琳,等. 补肾调经汤促排卵的临床研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(5): 264-266.
- [2] 金晓,李家实,阎文枚. 菟丝子黄酮成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 1992, 17(5): 292-294.
- [3] 陈奇. 中药药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [4] Biller E M, Federoff H J, Koenig J I, et al. Abnormal cortisol secretion and responses to corticotropin-releasing hormone in women with hypothalamic amenorrhea [J]. Clin Endocrinol Metab, 1990, 70(2): 311-317.
- [5] Russell G F. Psychological and nutritional factors in disturbances of menstrual function and ovulation [J]. Postgrad, 1972, 48(555): 10-13.
- [6] 李炳如,余运初. 补肾中药对下丘脑-垂体-性腺轴功能的影响 [J]. 中医杂志, 1984, 25(7): 63.
- [7] Qin D N, She B R, She Y C, et al. Effects of flavonoids of semen cuscutae on the reproductive system in male rats [J]. Asian J Andrology, 2000, 2(2): 99-102.
- [8] 秦达念,余白蓉,余运初. 菟丝子黄酮对实验动物及人绒毛组织生殖功能的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2000, 11(6): 349-351.
- [9] 严进,王春安,叶阿莉,等. 躯体性和心理性应激对大鼠血浆皮质酮变化的影响 [J]. 心理学报, 1991, (4): 418-425.
- [10] 刘焱虹,游国雄,阴大兴. 噪音刺激下 c-fos 癌基因表达及钙拮抗剂防护作用的研究 [J]. 中华神经科杂志, 1997, 30(1): 20-21.

(上接第 1073页)

然强,但是暂时还没有建立标准图谱库,没有对对照品,解谱困难;气相色谱-质谱有标准图谱库,计算机检索方便准确,完成本工作是最好的方法。

2.5 从分析结果来看,超临界  $CO_2$  流体萃取与汽油提取的知母总皂苷元组分与含量具有一致性,提示可用环保的超临界  $CO_2$  流体萃取法替代传统的汽油提取法。

#### 参考文献:

- [1] 黄泰康. 常用中药成分与药理手册 [M]. 北京: 中国医药出版

社, 1994.

- [2] 国家中医药局. 中华本草 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1998.
- [3] 丁元生,易宁育,夏宗勤. 中药知母有效组份—知母皂苷元“滋阴”作用的研究 [J]. 核技术, 1991, (5): 262-265.
- [4] 胡雅儿,易宁育,何路明. 知母对老年动物 M 受体数调整作用的机理 [J]. 中药药理与临床, 1994, (2): 10-13.
- [5] 刘莉枚,彭洪,离振德. 超临界  $CO_2$  萃取砂仁产物的化学成分研究 [A]. 第二届超临界流体技术学术及应用研讨会论文集 [C]. 广州.
- [6] 王天勇,杨文远. 反相液相色谱法分离和测定知母中菟丝子皂苷元 [J]. 中药材, 1996, (6): 460-461.