

甘草及其主要成分药理作用的实验研究

王 玲

(天津中医学院中医研究所 300193)

摘 要 目的: 观察甘草及甘草次酸对人子宫肌组织磷脂酶 A₂(PLA₂) 活性的影响。方法: 以¹⁴C 标记的磷脂酰胆碱为底物, 与人子宫肌组织匀浆上清液及不同浓度的甘草和甘草次酸共同温育, 反应产物进行薄层层析和放射自显影。结果: 人在子宫肌组织内存在 PLA₂ 的活性。甘草和甘草次酸可能是通过抑制子宫肌组织 PLA₂ 的活性而使花生四稀酸代谢受阻, 降低子宫肌组织前列腺素水平, 缓解子宫肌的痉挛收缩。

关键词 甘草 甘草次酸 人子宫肌组织 磷脂酶 A₂

中图分类号: R 282.705 文献标识码: A 文章编号: 1005-7145(2001)01-0027-02

甘草是常用中药, 具有补脾、润肺、解毒、和药之功, 还可以缓解拘急、镇痉止痛。甘草次酸是甘草药理作用的主要有效成分。甘草缓急止痛的作用, 临床多用于治疗脘腹挛急作痛等证。甘草不但能够抑制胃、肠平滑肌的收缩, 而且对子宫平滑肌的收缩亦有抑制作用^[1]。有研究指出, 甘草及甘草次酸对人子宫肌组织前列腺素 F_{2α}(PGF_{2α}) 的产生有抑制作用^[2]而子宫肌的过度收缩而致原发性痛经的发生与子宫组织 PGF_{2α} 产生有关^[3]。甘草及甘草次酸是否通过前列腺素(PG) 合成的限速酶——磷脂酶 A₂(PLA₂) 活性的影响而抑制子宫组织 PG 产生的, 本实验采用酶的放射分析方法, 观察甘草和甘草次酸对人子宫肌组织 PLA₂ 活性和影响。

1 材料与方 法

1.1 标本来源和制备 子宫肌组织来源于闭经前子宫肌瘤患者摘出的子宫体部。将组织置于冰上切碎后, 加入组织 4 倍量的含有 0.25mol/L 蔗糖, 5mmol/L 氯化钙, 2mmol/L 乙二胺四乙酸钠的 0.1mol/L 三羟甲基氨基甲烷(tris) 缓冲液(PH 8.0), 用玻璃匀浆器在冰浴中研磨, 制成匀浆 800ml, 离心(200rpm) 20 分钟, 上清液置-80 低温冰箱冷冻保存备用。

1.2 药物 甘草生药末、甘草次酸由日本津村公司提供。使用时用磷酸缓冲液(PH 8.0) 配制成所需浓度。

1.3 试剂 磷脂酰胆碱, 2-[1-¹⁴C]-花生四稀酸(比活性 57.0 Ci/mmol) (phosphatidycholine, L-α-palmitoyl-2arachidonyl[arachidonyl-1-¹⁴C], 为日本 NEN 公司产品, 薄层层析板为日本 MERK 公司。

1.4 温育和提取 以¹⁴C 标记的磷胆碱为底物, 取 50μl 于氮气流下吹干, 加入 0.1mol/L tris 缓冲液(PH 8.0) 0.9ml, 超声振荡混匀后分别加入 100μl 不同浓度的甘草、甘草次酸溶液(0.5~3.0mg/ml) 或磷酸缓冲液, 与子宫肌组织匀浆上清液 100μl 共同于 37 温育 60 分钟。加入氯仿: 甲醇(2: 1) 4ml 终止反应, 加入花生四稀酸(AA) 标准品 25μl, 充分振荡

混合后离心 10 分钟。吸取下层的氯仿层, 用氮气吹干, 加入氯仿: 甲醇(1: 1) 100μl 复溶。

1.5 样品检测 将复溶液在薄层板上点样, 并点 AA 标准品作为一位参照, 进行薄层层析。展开剂为氯仿: 甲醇: 水(130: 40: 5), 展开时间约 60 分钟, 展开后以碘蒸气显色。然后将放射薄层板进行放射自显影。根据 AA 标准品的 R_f(迁移系数) 值将样品中相应的放射性斑点的硅胶刮下, 分别放入水溶性闪烁液中, 在 Wako LS-651 液体闪烁计数仪上计数。计算代谢产物生成率。

$$\text{代谢产物生成率} = \frac{\text{该产物的峰计数}(dpm)}{\text{全部放射计数}(dpm)} \times 100\%$$

2 结果

2.1 人子宫肌组织的 PLA₂ 的活性见图 1。放射性代谢物在自显影图上, 根据其放射性斑点的 R_f 值, 被确认为¹⁴C-花生四稀酸(AA), 表明在子宫肌组织内由磷脂释放出了游离的 AA。由于磷脂是经 PLA₂ 的催化作用而使 AA 成为游离状态的不饱和脂肪酸, 因此在本试验条件下, 可以认为使磷脂胆碱水解而生成¹⁴C-AA 主要是 PLA₂ 的作用, 因而可以证实人子宫肌组织内 PLA₂ 活性的存在。

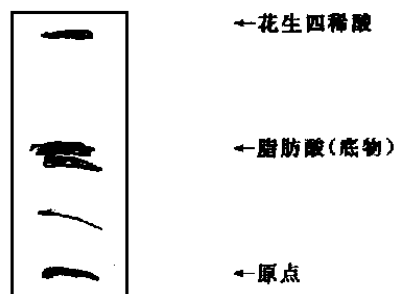


图 1 薄层层析的放射自显影照片

2.2 甘草和甘草次酸对子宫肌组织 PLA₂ 活性的影响, 见表 1、表 2。将对照组的 AA 生成率作为 100%, 甘草和甘草次酸不同浓度的 AA 相对生成率与对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.05$), 同时甘草的 0.5mg/ml 与 3.0mg/ml 浓度间, 甘草次酸的 1ug/ml 与 100ug/ml 浓度间比较, 亦均有显著性差异 ($P < 0.05$)。表明甘草和甘草次酸均有明显抑制子宫肌组织 PLA₂ 活性的作用, 并随浓度的增加抑制作用增强。

表 1 甘草对子宫肌组织 PLA₂ 活性的影响

浓度(mg/ml)	例数	$\bar{X} \pm SD$
0	5	100
0.5	5	59.7 ± 3.7*
1.0	5	44.1 ± 3.3*
3.0	5	35.2 ± 4.1**

注: 与对照组比较 * $P < 0.05$ 与 3.0mg/ml 浓度比较: $P < 0.05$

表 2 甘草次酸对子宫肌组织 PLA₂ 活性的影响

浓度(mg/ml)	例数	$\bar{X} \pm SD$
0	5	100
1	5	80.6 ± 2.33*
10	5	67.4 ± 3.38*
100	5	51.9 ± 3.26*

注: 与对照组比较 * $P < 0.05$ 与 3.0mg/ml 浓度比较: $P < 0.05$

3 讨论

磷脂酶 A₂ (PLA₂) 是一种广泛存在于组织中的脂解酶, 可将结合于磷脂甘油分子第二位脂键的花生四烯酸(AA) 水解成为游离状态的不饱和脂肪酸。本实验放射自显影图显示¹⁴C-AA 为唯一的生成物, 表明在子宫肌组织内存在着 PLA₂ 的活性。由于 PLA₂ 的催化作用, 使游离状态的 AA 产生并继而自行连锁反应生成前列腺素(PG)。PLA₂ 作为 PG 生成的限速酶, 在 PG 在生物合成中具有重要的作用。

PG 对子宫肌的作用, 因其种类的不同而有所差异。如 PGF 则可使子宫肌收缩, 张力增高, 在月经即将来潮和出血期, 子宫肌对 PGF 的收缩作用最敏感。由于 PGF_{2α} 过量产生与释放, 使子宫肌收缩频率幅度增强, 引起子宫局部血流量下降, 继子宫肌层缺血、缺氧而导致痛经的发生。

本实验结果表明, 甘草能够明显抑制子宫肌组织 PLA₂ 的活性, 并随浓度的增加抑制作用增强。因 PLA₂ 活性的大小, 决定着游离的 AA 生成量的多少。若 PLA₂ 的活性受到抑制, AA 的代谢则发生障碍, 进而影响 PG 的生物合成。因此可以认为, 甘草可能是通过抑制子宫肌组织的 PLA₂ 的活性这一环节使 AA 代谢受阻, 降低子宫肌组织 PG 的水平, 解除子宫肌的痉挛收缩, 使疼痛消失或减轻, 从而达到解痉止痛的作用。

甘草次酸具有抗炎、抗溃疡、抗病毒、镇咳平喘等多种药理作用。在表明甘草能够抑制子宫肌细胞 PGF_{2α} 的产生一报告中指出, 甘草次酸对子宫肌细胞 PGF_{2α} 的产生, 同样有明显的抑制作用。在本实验结果中显示, 甘草次酸亦能明显抑制子宫肌组织 PLA₂ 的活性, 而抑制作用随浓度的增加而增强。提示甘草次酸抑制子宫组织 PLA₂ 的活性, 而抑制作用随浓度的增加而增强中。提示甘草次酸抑制子宫组织 PG 的产生, 同样是抑制了 PG 的合成的限速酶——PLA₂ 活性的结果, 表明了甘草次酸也能够消除或减弱 PG 对子宫肌产生的痉挛, 而有止痛效果。由此推测甘草次酸可能是甘草解痉镇痛的有效药理成分之一。

参考文献

- 1 修丽梅, 福岛峰子, 吉崎克明, 等. 国外医学中医中药分册, 1997; 19(3): 53
- 2 柴田哲生, 王玲, 盛本太郎, 等. 日本内分泌学会杂志, 1995; 20(3): 495
- 3 俞霭峰. 妇产科内分泌学. 上海科学技术出版社, 上海: 1983; 188

(收稿日期: 2000-10-2)