

大麦芽碱对高催乳素血症大鼠泌乳素分泌的抑制作用

郭润竹^{1,2}, 王 雄², 马 莉², 陈永刚², 吴金虎^{2*}

[1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065; 2. 武汉大学附属同仁医院 (武汉市第三医院) 药学部, 湖北 武汉 430060]

摘要: **目的** 研究大麦芽碱对高催乳素血症大鼠泌乳素 (PRL) 分泌的抑制作用。**方法** 48 只大鼠随机分为正常组、模型组、溴隐亭组 (0.45 mg/kg) 及大麦芽碱高、中、低剂量组 (20、10、5 mg/kg), 每组 8 只, 给药 21 d 后, Western blot 法检测垂体 PRL、DRD2、DAT、cAMP、P-CREB 表达。另取大鼠垂体瘤 MMQ 细胞, 大麦芽碱 (0、1、2、4、8 mg/mL) 处理后检测其 PRL 表达。**结果** 与模型组比较, 大麦芽碱中、高剂量组能显著降低 PRL 表达 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 升高 P-CREB 表达 ($P < 0.01$)。同时, 0.1 mg/mL 大麦芽碱处理 12、72 h 或 0.2、0.4 mg/mL 大麦芽碱处理 72 h 后, 均能抑制 PRL 分泌, 与正常组比较有显著差异 ($P < 0.01$)。**结论** 大麦芽碱对高催乳素血症大鼠泌乳素分泌有显著抑制作用, 其机制可能与调节 DRD2 介导的 cAMP/PKA/CREB 信号通路蛋白表达有关。

关键词: 大麦芽碱; 泌乳素; 高催乳素血症

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)11-2386-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.11.005

Inhibition effects of hordenine on prolactin secretion in hyperprolactinemia rats

GUO Run-zhu^{1,2}, WANG Xiong², MA Li², CHEN Yong-gang², WU Jin-hu^{2*}

[1. College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. Department of Pharmacy, Tongren Hospital Affiliated to Wuhan University (The Third Hospital of Wuhan City), Wuhan 430060, China]

KEY WORDS: hordenine; prolactin; hyperprolactinemia

高催乳素血症是指泌乳素 (PRL) 水平持续高于正常值的状态, 临床表现为女性闭经, 溢乳, 不育; 男性阳痿, 性功能减退, 乳房发育, 严重危害了人类生殖健康。近年来, 对该病的西医研究已取得长足进展, 药物、放疗等方案已被广泛应用。溴隐亭作为目前国内上市的治疗药物, 效果显著, 但价格昂贵, 并且存在一定副作用, 可导致胃肠道反应, 剂量较大时有眩晕、体位性低血压、头痛、瞌睡、便秘等^[1], 故急需开发新型相关药物。

麦芽又称大麦芽, 为禾本科植物大麦 *Hordeum vulgare* L. 成熟果实经发芽干燥的炮制加工品^[2-3], 为临床常用中药, 中医常作行气消食、健脾开胃、回乳消胀之用; 西医也作结肠炎、肝炎治疗之用。

麦芽作为中药使用首载于陶弘景《名医别录》, 至今已有 1 000 多年应用历史, 《医学衷中参西录》《中华本草》等许多古代医籍和现代中药学权威工具书均认同其回乳功效。临床上常将其或相关中药复方用于妇女回乳或治疗高催乳素血症, 疗效显著的同时无副作用^[4-11]。

研究表明, 麦芽中主要含有多糖、黄酮、酶类、生物碱、酚类、蛋白质、氨基酸、维生素等多种化学成分^[8], 初步研究证明麦芽回乳作用的物质基础是生物碱, 而大麦芽碱在总生物碱中额比例约为 1/3^[12]; 麦芽提取物对高催乳素血症有治疗作用^[13-15], 替代溴隐亭治疗泌乳素腺瘤时效果显著^[16]。但具体作用机制尚不清楚; 课题组前期研

收稿日期: 2018-05-04
基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81603352); 湖北省自然科学基金项目 (2017CFB125); 武汉市卫生计生委科研重点项目 (WZ16A10)

作者简介: 郭润竹 (1995—), 女, 硕士生。Tel: 13260637322, E-mail: m13260637322@163.com
*** 通信作者:** 吴金虎 (1962—), 男, 博士, 主任药师, 从事药物新制剂、新剂型与新技术研究。Tel: 15994260163, E-mail: wujin-hu@163.com

究发现, 麦芽提取物可显著抑制高催乳素血症大鼠分泌 PRL, 它与调节多巴胺 D₂ 受体、环磷酸腺苷 (cAMP)、蛋白激酶 A (PKA) 等相关^[17]; 麦芽总生物碱对高催乳素血症大鼠有显著的治疗作用^[18], 其主要化学成分大麦芽碱具有抑制大鼠垂体瘤细胞 (MMQ 细胞) 分泌 PRL 活性。故本实验探讨麦芽中大麦芽碱对高催乳素血症大鼠的治疗作用, 通过检测高催乳素血症大鼠体内 DRD2 介导的 cAMP/PKA/CREB 信号通路中各蛋白表达来研究其作用机制, 并通过细胞实验进一步验证。

1 材料

SPF 级 SD 雌性大鼠 48 只, 体质量 200 g, 动物号 42000600021818, 实验单位许可证号 SYXK (鄂) 2014-0080, 由湖北省实验动物研究中心提供 [SCXK (鄂) 2015-0018]。盐酸甲氧普胺注射液 (遂成药业股份有限公司, 1 mL/10 mg, 批号 H41021179); 甲磺酸溴隐亭片 (匈牙利吉瑞大药厂, 2.5 mg, 批号 T55 538 A); 大麦芽碱 (成都曼斯特生物科技有限公司, 批号 MUST-17072104, 含量 99.8%, 2 g)。

MMQ 细胞来源于大鼠垂体泌乳素腺瘤, 表达多巴胺 D₂ 受体 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库)。泌乳素抗体 (PRL, bs-0508R)、多巴胺受体 D₂ 抗体 (DRD2, bs-1008R)、多巴胺转运蛋白抗体 (DAT, bs-1714R)、环磷酸腺苷受体蛋白抗体 (cAMP, bs-12707R)、磷酸化环磷酸腺苷效应元件结合蛋白抗体 (P-CREB, bs-5270R)、PRL 酶联免疫试剂盒 (bsk00407) 均购自北京博奥森生物技术有限公司。

2 方法

2.1 大麦芽碱对高催乳素血症模型大鼠的药效学和机制

2.1.1 分组 48 只大鼠随机分为 6 组, 每组 8 只, 分别为正常组、模型组、溴隐亭组及大麦芽碱高、中、低剂量组。

2.1.2 模型制备 大鼠背部皮下注射盐酸甲氧氯普胺注射液 (多巴胺 D₂ 受体阻断剂), 剂量为 100 mg/kg, 连续 5 d。

2.1.3 给药 除正常组外, 其他各组大鼠均建模。其中, 溴隐亭组大鼠灌胃给药剂量为 0.45 mg/kg, 大麦芽碱高、中、低剂量组大鼠灌胃给药剂量分别为 20、10、5 mg/kg, 正常组、模型组大鼠均灌胃给予等剂量蒸馏水, 每天 1 次, 连续 21 d。

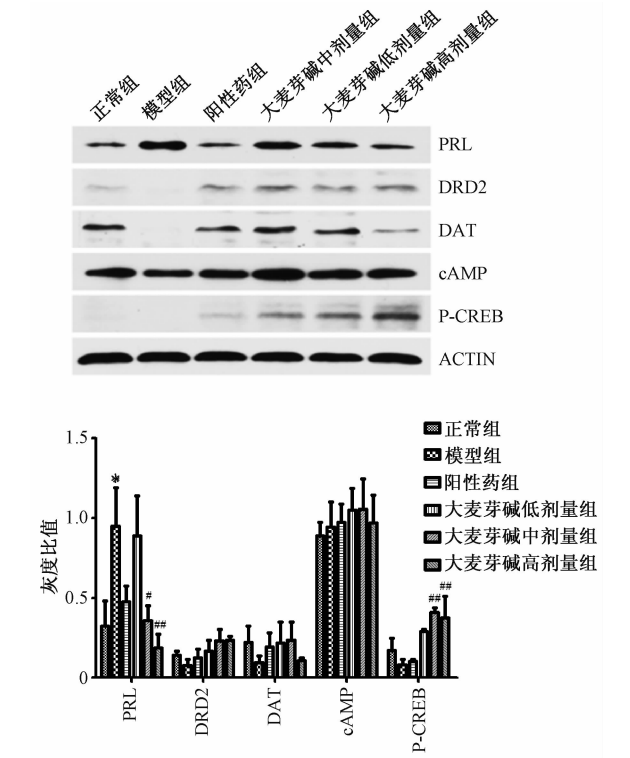
2.2 大麦芽碱对 MMQ 细胞的作用 MMQ 细胞经

培养后融合率达到 60% 时, 进行消化和传代铺板, 静置贴壁 12 h 后, 分别给予 0、1、2、4、8 mg/mL 大麦芽碱处理, 于 12、24、36、72 h 收集细胞上清, ELISA 试剂盒检测 PRL 水平。

2.3 统计学分析 通过 SPSS 16.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大麦芽碱对 PRL、DRD2、DAT、cAMP、P-CREB 表达的影响 图 1 显示, 与正常组比较, 模型组 PRL 表达显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 大麦芽碱中、高剂量组 PRL 表达显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), P-CREB 表达显著升高 ($P < 0.01$)。



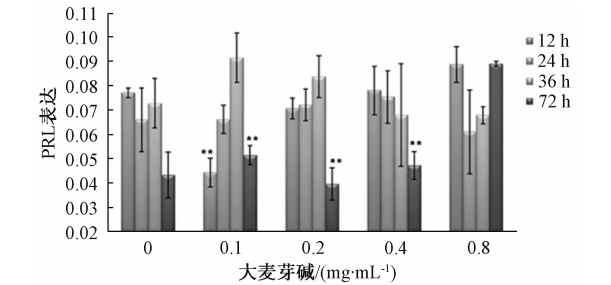
注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图 1 大麦芽碱对 PRL、DRD2、DAT、cAMP、P-CREB 表达的影响

Fig. 1 Effects of hordenine on PRL, DRD2, DAT, cAMP and P-CREB expressions

3.2 MMQ 细胞蛋白表达变化 第 24 h 由于在最低质量浓度 (1 mg/mL) 下大麦芽碱已明显表现出对 MMQ 细胞的抑制作用, 细胞出现漂浮状态, 不贴壁生长, 故将其降低 10 倍, 即分别为 0、0.1、0.2、0.4、0.8 mg/mL, 检测时间点分别为 12、24、36、72 h, 重新检测 PRL 表达。图 2~3 显示,

与正常组比较, MMQ 细胞经 0.1 mg/mL 大麦芽碱处理 12、72 h, 以及 0.2、0.4 mg/mL 大麦芽碱处理 72 h 后, 均能显著抑制 PRL 分泌 ($P<0.01$)。



注: 与正常组 (0 mg/mL 作用 12 h) 比较, ** $P<0.01$

图 2 大麦芽碱对 PRL 分泌的影响

Fig. 2 Effects of hordenine on PRL secretion

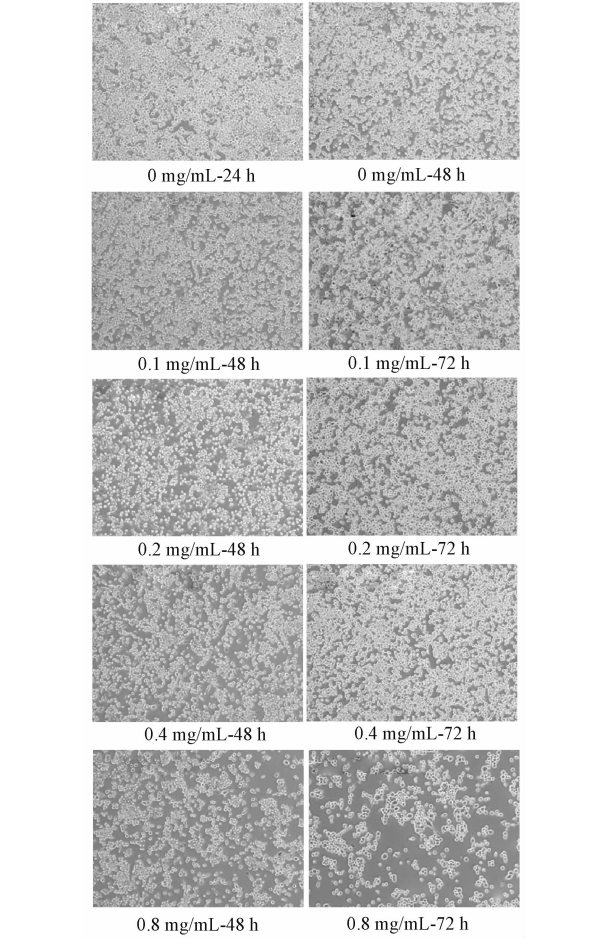


图 3 MMQ 细胞形态显微镜图 (×100)

Fig. 3 Microscope images for MMQ cell morphology (×100)

4 讨论

动物实验显示, 大麦芽碱能显著抑制高催乳素血症大鼠垂体 PRL 表达, 升高垂体 P-CREB 表达 ($P<0.05$), 虽然对垂体 DRD2、DAT 表达无明显

影响 ($P>0.05$), 但仍可看出其与模型组比较有升高趋势, 可能与造模剂甲氧氯普胺 (多巴胺受体阻断剂) 对多巴胺受体的表达仍有一定抑制作用有关。另外, 虽然大麦芽碱能升高垂体 P-CREB 表达, 但 cAMP 表达无明显变化 ($P>0.05$), 而大麦芽碱促使泌乳素水平降低的机制可能与其表达变化有关。由此说明, 大麦芽碱对高催乳素血症大鼠泌乳素水平降低有调节作用, 而且其作用机制可能与 DRD2 受体通路的调节有关, 后续实验将作进一步相关研究。

细胞实验发现, 0.1 mg/mL 大麦芽碱处理 12、72 h, 以及 0.2、0.4 mg/mL 大麦芽碱处理 72 h 后都能抑制 MMQ 细胞 PRL 分泌。但由于 MMQ 细胞增殖较快, 考虑到其生长状态的影响, 在 72 h 时可能已经处于稳定后期, 代谢活性较低, 故对泌乳素抑制程度最佳的药物质量浓度和给药时间为 0.1 mg/mL 大麦芽碱处理 12 h, 后续实验将进一步探索该成分抑制 PRL 分泌的分子机制。

综上所述, 本实验首次对大麦芽碱抑制泌乳素分泌的调控机制进行探讨, 考察是否通过 DRD2 受体介导经 cAMP/PKA/CREB 信号通路来抑制 PRL 分泌, 结果初步证明了该成分的抑制作用与调节 DRD2 通路蛋白表达有关, 并与 P-CREB 表达变化有显著相关性, 是该通路抑制 PRL 分泌的关键蛋白。因此, 今后将沿着这一思路继续研究, 对大麦芽碱治疗高催乳素血症作用的具体机制进行更深入的探讨。

参考文献:

[1] Mah P M, Webster J. Hyperprolactinemia: etiology, diagnosis, and management [J]. *Semin Reprod Med*, 2002, 20 (4): 365-374.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 156.

[3] 龚千锋. 中药炮制学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 386.

[4] 刘光汉. 炒麦芽回乳 23 例疗效观察 [J]. 陕西医学杂志, 1976 (1): 69.

[5] 吴楚良, 孔志伟, 邓少嫦. 生、炒麦芽联用治疗产后回乳 34 例 [J]. 中医研究, 2012, 25 (7): 18-19.

[6] 巨秦豫. 生麦芽回乳效果与机理 [J]. 河南中医学院学报, 2003, 18 (4): 35.

[7] 朱冬青. 生麦芽回乳效果观察 [J]. 浙江中医杂志, 2009, 44 (12): 883.

[8] 王 雄, 吴金虎. 大麦芽的研究概述 [J]. 中药材, 2010, 33 (9): 1503-1508.

[9] 黄琼中. 炒麦芽配合溴隐停治疗高泌乳素血症疗效分析

[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(16): 3865.

[10] 赵福玉, 何晓莹, 韩 力. 中药治疗高泌乳素血症的临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2001, 16(11): 690-691.

[11] Wang X, Chen Y G, Ma L, *et al.* Effect of Chinese medical herbs-Huiru Yizeng Yihao on hyperprolactinemia and hyperplasia of mammary gland in mice[J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2013, 10(4): 24-35.

[12] 李丽姣. 麦芽治疗高泌乳素血症有效部位筛选及其作用机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.

[13] 周 威, 张恩景, 高铁祥. 大麦芽提取物治疗实验性高泌乳素血症的研究[J]. 湖北中医杂志, 2008, 30(10): 10-11.

[14] 魏安华, 蔡亚玲, 吴金虎, 等. 麦芽提取物对高泌乳素血症小鼠泌乳素水平的影响[J]. 医药导报, 2009, 28(11): 1441-1443.

[15] 胡敦全, 陈永刚, 吴金虎, 等. 生麦芽生物碱对高泌乳素血症模型大鼠激素水平的影响[J]. 广东药学院学报, 2012, 28(5): 545-548.

[16] 林 拓, 邓运莲, 彭凤坤. 麦芽替代溴隐亭维持量治疗垂体泌乳素腺瘤[J]. 中国肿瘤临床, 1995, 22(6): 425-427.

[17] Wang X, Ma L, Zhang E J, *et al.* Water extract of *Fructus Hordei Germinatus* shows antihyperprolactinemia activity via dopamine D2 receptor[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 579054.

[18] Wang X, Ma L, Wu J H. Therapeutic effects of total alkaloids of *Fructus Hordei Germinatus* in hyperprolactinemic rats[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2014, 27(Suppl 6): 2087-2093.

基于网络药理学研究舒肝降脂胶囊治疗非酒精性脂肪性肝病的作用机制

姚贺之^{1,2}, 孙明月¹, 柴露露^{1,2}, 刘艳飞^{1,3}, 高蕊^{1*}
(1. 中国中医科学院西苑医院临床药理研究所, 北京 100091; 2. 中国中医科学院研究生院, 北京 100700; 3. 北京中医药大学研究生院, 北京 100029)

摘要: **目的** 基于网络药理学研究舒肝降脂胶囊治疗非酒精性脂肪性肝病的作用机制。**方法** 应用 TCSMP 在线数据库及分析平台筛选舒肝降脂胶囊中 5 味药材(丹参、泽泻、决明子、荷叶、柴胡)所含活性成分及其作用靶标, 将其与 Drugbank、Comparative Toxicogenomics Database、Therapeutic Target Database 等数据库检索的非酒精性脂肪性肝病相关靶标信息对接, 构建舒肝降脂胶囊治疗非酒精性脂肪性肝病的“药物-靶点-通路-疾病”网络。**结果** 舒肝降脂胶囊潜在药物活性成分有 115 种, 组方药材中丹参、荷叶、柴胡、决明子可作用于 12 个非酒精性脂肪性肝病相关靶标, 主要富集于 PPARs 信号通路。**结论** 舒肝降脂胶囊可能通过作用于 PPAR 信号通路来增加胰岛素敏感性, 从而治疗非酒精性脂肪性肝病, 同时通过其复方药物配伍可有望对抗 PPAR γ 激活产生的水肿等不良反应。建议舒肝降脂胶囊临床应用人群应选择伴有糖代谢异常、代谢综合征、胰岛素抵抗的高危非酒精性脂肪性肝病患者。

关键词: 舒肝降脂胶囊; 非酒精性脂肪性肝病; 网络药理学; 作用机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)11-2389-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.11.006

Network pharmacology-based approach to study the action mechanisms of Shu-gan Jiangzhi Capsules in managing nonalcoholic fatty liver disease

YAO He-zhi^{1,2}, SUN Ming-yue¹, CHAI Lu-lu^{1,2}, LIU Yan-fei^{1,3}, GAO Rui^{1*}

(1. Institute for Clinical Pharmacology, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. Graduate School of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Graduate School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

收稿日期: 2018-03-05
基金项目: 国家科技重大专项 (2017ZX09304003); 中医药国际合作专项 (GZYYGJ2017010); 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项 (2016ZX10)

作者简介: 姚贺之 (1990—), 女, 博士生, 研究方向为中西医结合临床、中药临床药理。Tel: 18910320686, E-mail: yaohezhi@163.com

*** 通信作者:** 高蕊, 博士生导师, 从事中药临床药理、中医内分泌方向研究。E-mail: ruigao@126.com