

## 白香丹胶囊干预经前期综合征肝气逆证大鼠血清代谢组学研究

黎莉<sup>1,2</sup>, 孙鹏<sup>3</sup>, 梁琼麟<sup>2</sup>, 张惠云<sup>3\*</sup>, 王勇<sup>1,2</sup>, 乔明琦<sup>3</sup>, 罗国安<sup>1,2\*</sup>

(1. 华东理工大学药学院, 上海 200237; 2. 清华大学分析中心, 北京 100084; 3. 山东中医药大学中药药经典理论教育部重点实验室, 山东 济南 250355)

**摘要:**目的 通过代谢组学方法研究白香丹胶囊(白芍、香附和丹皮)干预经前期综合征肝气逆证大鼠血清内源性代谢物的变化,探索与该病证密切相关的代谢模式及白香丹胶囊的作用途径。方法 基于代谢组学理论,以UPLC/Q-TOF-MS为技术平台,建立大鼠血清代谢指纹谱,通过多元统计分析方法研究PMS肝气逆证大鼠血清的代谢差异及白香丹的干预作用。结果 模型组、给药组与对照组的血清内源性代谢物发生了明显变化,模型组血清中肾上腺素、四氢脱氧皮质酮、5 $\alpha$ -四氢皮质醇、雌酚酮、赖氨酸、5-羟基赖氨酸、乙酰半胱氨酸水平升高,孕二醇水平降低,给药组中显示白香丹胶囊对其有调节作用。白香丹表现出糖皮质激素、雌激素、神经递质及氨基酸等多靶点的作用特点。结论 应用代谢组学方法可以从整体出发研究PMS肝气逆证及中药复方干预后的代谢模式差异,为PMS的临床诊断和治疗提供依据。

**关键词:**白香丹胶囊; 经前期综合征; 肝气逆证; 代谢组学; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1001-4528(2011)05-0762-06

## Metabonomics study on effect of Baixiangdan Capsule on premenstrual syndrome with liver-qi invasion in rats

LI Li<sup>1,2</sup>, SUN Peng<sup>3</sup>, LIANG Qiong-lin<sup>2</sup>, ZHANG Hui-yun<sup>3\*</sup>, WANG Yong<sup>1,2</sup>, QIAO Ming-qi<sup>3</sup>, LUO Guo-an<sup>2\*</sup>

(1. School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237; 2. Tsinghua University, Beijing 100084; 3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To study Baixiangdan Capsule (*Paeoniae radix alba*, *Cyperi Rhizome*, *Moutan Cortex*) on the change of endogenous metabolites in premenstrual syndrome with liver-qi invasion in rats. **METHODS** A UPLC/Q-TOF-MS method was developed for serum metabonome analysis, the metabolic fingerprint was established. Multivariate statistical analysis was used to analyze the differences of metabonome among the control, model and Baixiangdan Capsule treated groups. **RESULTS** The significant changes of endogenous metabolites were found in the three groups and the potential biomarkers, including glucocorticoids, estrogens, neurotransmitters, and amino acids were identified. The contents of epinephrine, tetrahydrocorticosterone, 5 $\alpha$ -tetrahydrocortisol, estrone, lysine, 5-hydroxylysine, acetylcysteine in rat serum increased in model group, and adjusted in the Baixiangdan Capsule group. The multi-target effect was discovered in the Baixiangdan Capsule group. **CONCLUSION** The metabonomics method may be applied to the study of metabolic pattern in premenstrual syndrome with liver-qi invasion and the treatment effect of TCM and it is helpful for clinical diagnosis and therapy.

**KEY WORDS:** Baixiangdan Capsule; premenstrual syndrome; liver-qi invasion; metabonomics; UPLC/Q-TOF-MS

收稿日期:2010-05-15

基金项目:科技部国际合作项目(2010DFA32420);科技部重大科技专项(2009ZX09311-001);国家973 中医理论专项(2005CB523503);“十一五”国家科技支撑计划(2006BAI08B05-A0)。

作者简介:黎莉(1982—)女,博士生,从事代谢组学研究。Tel:(010)62772265, E-mail:lily\_vvv@163.com

通信作者:罗国安(1946—)男,教授,博士生导师。Tel:(010)62781688, E-mail:luoga@tsinghua.edu.cn

张惠云(1953—)女,教授,博士生导师,研究方向:调肝方中药药理及中医情志病证动物模型研究。Tel:(0531)89628596, E-mail:zhhuiyun@163.com

经前期综合征(PMS)是一组以躯体、精神症状为表现的临床综合征,伴随月经周期性出现,是一种社会、精神、心理压力或全身疾病相关的疾病,多见于30至40岁的育龄妇女,是育龄妇女最常见的病征之一<sup>[1]</sup>。PMS发病率高,在诸多妇科疾病中居发病率的首位,是一个不容忽视的问题,倍受国际医学界的关注。本病中医以肝气逆、肝气郁证为主要证候<sup>[2-3]</sup>,但准确发病机制仍不清楚,多数研究认为可能与精神社会因素、卵巢甾体激素比例失常、神经内分泌系统平衡失常等有关<sup>[4]</sup>。临床表现同周期性的情感和机体症状的复杂性和多样性增加了理解和治疗PMS的难度,导致现有的PMS诊断指标缺乏整体性和统一性。

代谢组学主要研究生物体液中各种小分子代谢物在药物、毒物或环境影响下的变化情况<sup>[5-6]</sup>。代谢组学作为系统生物学的重要组成部分,与中医药学的整体观念相结合,为研究中医证候、辨证施治及中药整体效应等提供了新的研究方法<sup>[7]</sup>,其主要的研究平台<sup>[8]</sup>有核磁共振(NMR)、液相色谱-质谱(LC-MS)和气相色谱-质谱(GC-MS)。由高效、快速分离的液相(LC)与灵敏、准确的质谱(MS或MSn)结合而成的LC-MS技术,能直接分析体液及组织提取物而无需衍生化操作,并可获得化合物的准确分子量及丰富的结构信息,既可定性,也可定量,已发展成为代谢组学研究的主流技术手段<sup>[9]</sup>。

白香丹胶囊是治疗PMS肝气逆证的五类新药,由白芍、香附、丹皮三味中药组成,可显著提高PMS肝气逆证临床治疗效果<sup>[10-11]</sup>。本实验引入代谢组学手段研究白香丹胶囊干预PMS肝气逆证大鼠血清内源性代谢物的变化,建立UPLC/Q-TOF-MS大鼠血清代谢指纹谱,探索与该病证密切相关的代谢模式及白香丹胶囊的作用途径,为PMS的临床诊断和治疗提供依据。

## 1 实验材料

1.1 药品与试剂 白香丹胶囊(山东中医药大学天然药物实验室制),LC/MS级乙腈购自J. T. Baker公司(J. T. Baker Chemical Co., USA),HPLC级甲醇购自Merck公司(Darmstadt, Germany),甲酸购自Fluka公司(Buchs, Switzerland)。其它试剂均为市售分析纯。亮氨酸-脑啡肽(Leucine-enkephalin, LE)标准品购于Sigma公司(USA)。超纯水(18.2M $\Omega$ )由本实验室Milli-Q超纯水系统(Millipore, France)制备。

1.2 仪器 美国Waters Acuity UPLC超高效液相

色谱仪;美国Waters Q-TOF Premier质谱仪;VOR-TEX-5涡旋混合器(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司);MIKRO 22R台式高速冷冻离心机(LAB-WAY SCIENCE,德国);ST-A数字脉冲生物刺激仪(由济南空军后勤装配总厂、山东中医药大学联合研制)。

1.3 实验动物 SPF级健康未孕雌性大鼠,体质量190~200g,SD种,购自山东中医药大学实验动物中心,动物合格证号:SCXK(鲁)20050015。

## 2 实验方法

2.1 造模及给药 大鼠按阴道涂片法确定动情周期<sup>[12]</sup>,PMS肝气逆证大鼠造模及评价方法参照文献方法<sup>[13]</sup>。

根据阴道涂片的结果,将处于动情后期大鼠30只,随机分为3组,每组10只,分别为对照组、模型组、给药组。给药组灌胃给予白香丹胶囊1mL/100g体质量(相当于人临床8倍剂量),每天给药1次,连续给药5d。

2.2 样品采集与制备 模型组大鼠连续刺激造模5d、给药组大鼠造模同时连续给药5d、正常组大鼠正常喂养5d后,眼眶取血2mL,静置,离心,取上层血清,-80℃冰箱冷冻。

冻融后取100 $\mu$ L血清,加入400 $\mu$ L甲醇,涡旋5min,4℃下13000r/min离心15min,取上清液400 $\mu$ L,加入超纯水400 $\mu$ L,涡旋2min,4℃下13000r/min离心15min,置于Waters标配的进样小瓶中,-20℃下保存,4℃进样分析。

## 2.3 分析条件

2.3.1 色谱条件 色谱分离采用Waters公司Acquity BEH C<sub>18</sub>分析柱(100mm $\times$ 2.1mm,1.7 $\mu$ m,Waters,MA,USA)柱温25℃,体积流量0.4mL/min。自动进样器温度设定4℃,每次进样5 $\mu$ L,每个样品重复进样3次。流动相组成:A相为0.2%甲酸水溶液;B相为纯乙腈,采用梯度方式洗脱样品,0~8min,70%~95%B;8~12min,95%B。

2.3.2 质谱条件 质谱采集采用正离子V模式,检测参数设置为:毛细管电压3.2kV,锥孔电压35V,脱溶剂气温度350℃,离子源温度120℃,脱溶剂气流量700L/h,锥孔气流量40L/h,采集时间范围0~12min,扫描范围m/z 100~1100,每次扫描时间0.1s,两次扫描间隔时间0.02s,锁定质量校准模式DRE,以亮氨酸-脑啡肽进行实时精确质量校正([M+H]<sup>+</sup>=556.2771)。

2.4 数据处理 数据采用Waters公司Markerlynx

软件(Waters, MA, USA)进行色谱峰自动识别和峰匹配。再将数据导入SIMCA-P 12.0(Umetrics, Umea, Sweden)进行主成分分析(PCA)、偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)和正交校正的偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)。采用dunett分析、F检验和LSD分析考察代谢学组间差异进行显著性。

### 3 结果与讨论

**3.1 血清样本前处理考察** 由于代谢组学的目的是力求对生物样本中的所有代谢产物进行分析,整个过程应尽可能的保留和反映总的代谢产物的信息。样本的处理方法应该尽量保证做到无偏,尽量保留最多的代谢物的信息。对于血样的处理,Wang等<sup>[14]</sup>对不同溶剂的提取效果进行过考察,结果表明用甲醇处理过的血样残留蛋白质最少,且检测到的代谢物最多,结果的重现性最好,满足代谢组学分析的要求。

本实验考察了甲醇、乙腈除蛋白的效果,同等比例下,甲醇除蛋白的效果优于乙腈。又考察对比了不同体积比的甲醇除蛋白的效果,发现4倍量的甲醇除蛋白效果优于3倍量甲醇除蛋白的效果。所以本实验中所采用的样本处理方法为甲醇沉蛋白法,且加入甲醇量为血清量的4倍,样本中小分子化合物提取完全,且蛋白去除彻底,有利于色谱分离和保护色谱柱。

**3.2 分析条件的优化** 本实验是在UPLC下进行的液相色谱分离,它采用的是1.7 m的色谱柱填料在较高的线速度下依然保持良好的分离效率,并节

省分析时间,提高分析通量;考虑到质谱系统对流量的耐受性,采用0.40 mL/min的体积流量能够满足分离要求并提高分析通量,同时可不经分流将流出液直接导入质谱系统进行检测,并考虑到血清样本的复杂性,采取了梯度洗脱。质谱条件优化,主要考察了脱溶剂气流量、温度、流动相中助离子化物质等。最终确定了2.3项的分析条件,应用此条件取得了良好的分析效果(图1)。

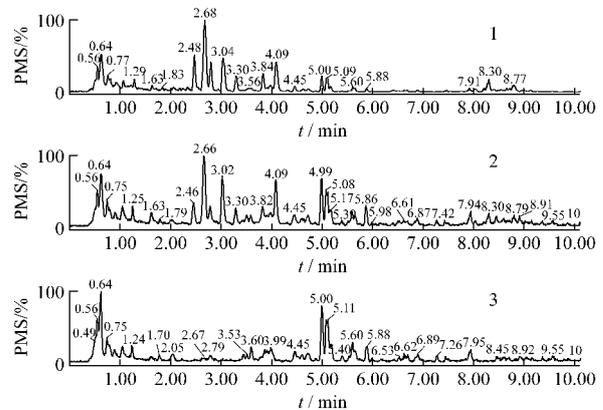


图1 典型血清总离子流(TIC)图

Fig. 1 Typical total ion chromatogram of serum

1. 正常组 2. 模型组 3. 给药组

1. control group 2. model group 3. drug group

**3.3 UPLC/TOF-MS 代谢指纹谱方法学考察** 选取大鼠血清代谢指纹谱中的10个峰进行方法学考察。结果表明,本方法具有较好的精密度和重现性(峰面积RSD < 10%),可以满足代谢组学研究的要求(表1)。

表1

精密度的考察(n=6)

Tab. 1

Result of precision study (n=6)

Rt/ min	质荷比/ (m/z)	峰强度值						RSD/%
		精密度的1	精密度的2	精密度的3	精密度的4	精密度的5	精密度的6	
1.03	149.06	12.79	12.37	13.22	12.38	13.76	13.39	3.72
3.64	178.06	15.21	14.22	14.18	14.73	14.82	15.02	5.35
4.62	105.07	798.20	798.36	767.26	794.40	795.41	795.31	2.65
6.39	167.08	57.22	57.79	57.96	57.29	58.01	57.32	4.75
9.33	107.08	15.36	16.12	15.37	15.95	15.29	16.02	6.20
10.62	255.07	195.40	198.94	205.45	196.32	197.33	197.47	3.36
12.69	235.17	19.65	20.21	20.56	20.11	17.38	20.44	6.08
15.59	331.23	1.69	1.69	1.56	1.68	1.69	1.58	3.22
19.25	371.26	165.18	182.43	171.86	173.45	180.43	175.34	3.71
20.38	149.04	99.67	99.15	94.01	95.93	96.33	96.09	3.95

**3.4 PMS 肝气逆证大鼠血清代谢差异分析** 为考察PMS肝气逆证大鼠血清代谢的变化,首先采用了无监督的模式识别方法PCA进行分析,从图2(A)中可以看出对照组、模型组和给药组之间区别不明显,模型解释了38.2%的原始数据。为此,引入了

有监督的模式识别方法进行数据处理。图2(B)为PLS-DA分析得到的得分矩阵投影图(Scores图),各组之间基本得到了分离,其中40.4%的变量被作为用来塑造模型的主要成分,98.6%的样本符合模型判别。

正交信号校正技术(OSC)可以滤掉与类别判断正交(不相关)的变量信息,只保留与类别判断有关的变量,从而使类别判别分析能集中在这些与类别的判别相关的变量上,提高了判别的准确性<sup>[15-16]</sup>。本研究应用OPLS-DA进行分析,发现各组之间能够实现完全分离(图2(C)),且各组内样本聚集地更

为紧凑。

上述结果表明,PMS肝气逆证造模后大鼠血清的内源性代谢物与正常对照组发生了明显变化,白香丹胶囊给药后药也影响了PMS肝气逆证大鼠的体内代谢。

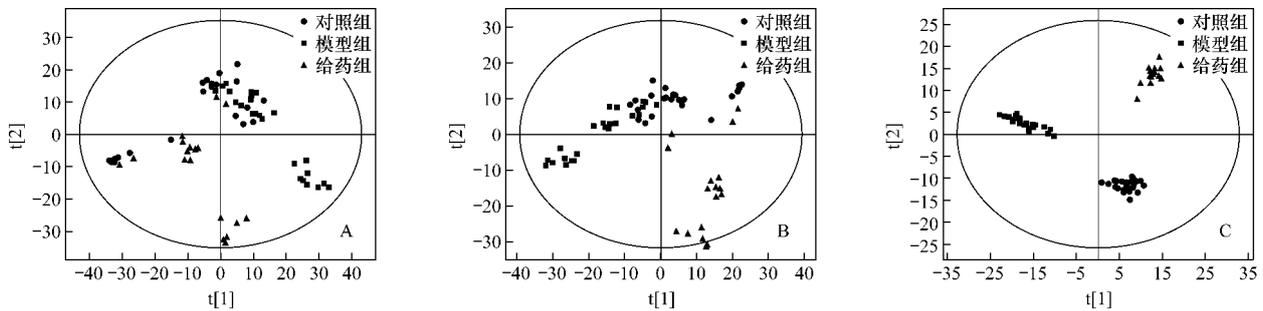


图2 各组大鼠血清代谢状态 Scores 图

Fig.2 Scores plot of rat serum from different groups

A. PCA 分析 B. PLS-DA 分析 C. OPLS-DA 分析  
A. PCA B. PLS-DA C. OPLS-DA

3.5 生物标志物的鉴定 生物标志物可以表征机体代谢指纹谱的差异。根据多元统计分析中变量的载荷大小是代谢组学中寻找生物标记物的常用方法。在PLS-DA模型中,VIP(Variable Importance in the Projection)值越大对分组的贡献也越大,采用表2

dunett 分析、F 检验和 LSD 分析,筛选出组间具有显著性差异( $P < 0.05$ )的化合物作为潜在的生物标志物。再结合质谱同位素匹配结果和HMDB代谢物数据库检索,对潜在的生物标志物进行鉴定,结果如表2所示。

生物标志物鉴定及各组量化结果 ( $n=3$ )

Tab.2 The identification and quantification results of the potential biomarkers in different groups ( $n=3$ )

鉴定结果	保留时间 $t(t_R/min)$	质荷比 $m/z$	元素组成	峰强度值		
				对照组	模型组	给药组
四氢脱氧皮质酮	4.02	335.266 1	$C_{21}H_{34}O_3$ M + H [1 +]	$198.94 \pm 83.12$	$524.86 \pm 123.47^{**}$	$148.50 \pm 94.21$
5 $\alpha$ -四氢皮质醇	9.14	184.127 0	$C_{21}H_{34}O_5$ M + 2H [2 +]	$25.99 \pm 11.33$	$57.16 \pm 12.37^*$	$18.07 \pm 10.68$
孕二醇	5.07	161.141 3	$C_{21}H_{36}O_2$ M + 2H [2 +]	$12.09 \pm 5.31$	$2.87 \pm 2.93^{**}$	$11.94 \pm 6.30$
雌酚酮	2.63	271.162 2	$C_{18}H_{22}O_2$ M + H [1 +]	$24.53 \pm 12.83$	$44.05 \pm 21.84^*$	$28.12 \pm 11.64$
肾上腺素	4.09	184.097 4	$C_9H_{13}NO_3$ M + H [1 +]	$198.94 \pm 77.65$	$524.86 \pm 121.48^{**}$	$148.50 \pm 81.24$
赖氨酸	7.25	147.113	$C_6H_{14}N_2O_2$ M + H [1 +]	$0.23 \pm 0.21$	$1.42 \pm 0.32^{**}$	$0.31 \pm 0.19$
5-羟基赖氨酸	7.94	163.113 1	$C_6H_{14}N_2O_3$ M + H [1 +]	$0.05 \pm 0.14$	$1.61 \pm 0.47^{**}$	$0.72 \pm 0.38$
乙酰半胱氨酸	7.26	327.072 6	$C_5H_9NO_3S$ 2M + H [1 +]	$0.22 \pm 0.15$	$2.22 \pm 1.23^{**}$	$0.01 \pm 0.04$

注:模型组与对照组 t 检验分析。\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ 。

3.6 白香丹胶囊对大鼠血清代谢的干预作用 从表2中可见,所鉴定出的生物标志物主要包括糖皮质激素、雌激素、神经递质、氨基酸等。

当机体受到各种有害刺激,如缺氧、创伤、手术、

饥饿、疼痛、寒冷以及精神紧张和焦虑不安等,血中促肾上腺皮质激素浓度立即增加,糖皮质激素也相应增多。糖皮质激素在神经类固醇激素代谢中可生成皮质醇和四氢脱氧皮质酮。四氢脱氧皮质酮属于

神经类固醇激素,并与应激反应有关<sup>[17]</sup>。四氢皮质醇是皮质醇的主要代谢产物,在PMS肝气逆证大鼠血清中水平呈显著增高,表明在造模条件下大鼠体内糖皮质激素增多,与表现出焦虑不安等症状一致。

传统理论认为PMS是由于黄体期孕激素不足而雌激素过多所致,越来越多的研究认为PMS发病机理与性激素、中枢神经递质有密切联系<sup>[18]</sup>。在与月经相关症状的研究中,发现其潜在生物学机制主要集中在性腺激素、它们的代谢物与神经传递素的交互作用,及神经与激素系统,如血液中的复合胺、 $\gamma$ 氨基丁酸(GABA)、缩胆囊素和肾素-血管紧张素-醛固酮系统等<sup>[19]</sup>。研究还发现氨基酸类神经递质如谷氨酸与PMS的发生发展有着重要关联<sup>[20]</sup>,赖氨酸的正常代谢依赖于谷氨酸的调节,在PMS肝气逆证大鼠血清中发现赖氨酸水平显著上升,说明在模型组大鼠体内的谷氨酸能活性增强,谷氨酸系统活动异常。

白香丹胶囊能有效改善经前急躁易怒、乳房胀痛、头痛、腹胀等经前期综合征肝气逆证主症。动物实验表明白香丹胶囊能明显调整PMS肝气逆证模型大鼠、猕猴行为变化及外周血中雌二醇和孕酮水平的波动<sup>[13]</sup>,并可以上调PMS肝气逆证大鼠下丘脑神经类固醇受体的表达<sup>[21]</sup>。表2结果也显示,白香丹能显著提高神经类固醇激素四氢脱氧皮质酮以及降低单胺类神经递质肾上腺素的水平,并上调雌激素水平,表现出中药复方的多靶点作用特点。此外,白香丹胶囊可下调赖氨酸水平,降低谷氨酸能活性。而降低谷氨酸能活性或抑制谷氨酸受体相关信号转导的药物具有抗躁狂作用<sup>[22]</sup>,提示白香丹胶囊对谷氨酸系统的调节作用。

本研究从代谢组学角度,阐释了白香丹胶囊对经前期综合征肝气逆证(大鼠模型)的治疗作用,主要反映了对糖皮质激素、雌激素、神经递质、氨基酸等生物体内代谢物进行调节,为进一步阐释发病机制和药物作用机制,临床诊断和治疗提供依据。

#### 参考文献:

[1] Talor D. Perimenstrual symptoms and syndromes guidelines for symptom management and self-care [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2005, 5(5): 241-228.  
[2] 乔明琦,于霞,张慧云,等. “多情交织共同致病首先伤肝”假说及其论证[J]. *山东中医药大学学报*. 2006, 30(1): 8-10.  
[3] 乔明琦,张慧云,王文燕,等. 肝气逆、肝气郁两证发病与个性特征和情绪的相关性研究[J]. *中国中医基础医学杂志*,

2007, 13(5): 349-352.  
[4] Steiner M. Recognition of PMDD and its treatment [J]. *Lancet*, 2000, 356: 1126-1127.  
[5] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. ‘Metabonomics’: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.  
[6] Nicholson J K, Bollard M E, Lindon J C, et al. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, (2): 153-161.  
[7] Lao Y M, Jiang J G, Yan L. Application of metabonomic analytical techniques in the modernization and toxicology research of traditional Chinese medicine [J]. *Brit J Pharmacol*, 2009, 157: 1128-1141.  
[8] Lenz E M, Wilson I D. Analytical strategies in metabonomics [J]. *J Proteome Res*, 2007, 6(2): 433-458.  
[9] 齐小城,章弘扬,梁琼麟,等. 液质联用技术及其在代谢组学研究中的应用[J]. *中成药*. 2009, 31(1): 106-112.  
[10] 刘向红,张慧云,赵启韬. 白香丹胶囊对经前期综合征肝气逆证模型大鼠下丘脑类固醇激素受体表达的影响[J]. *中医杂志*. 2007, 48(9): 834-836.  
[11] 胡言光,薛玲. 白香丹胶囊对体外培养大鼠皮层神经元5-羟色胺1A受体表达的影响[J]. *中药药理与临床*. 2007, 23(5): 151-153.  
[12] Hoi-Por H, Marie O, Lars W, et al. The serotonin reuptake inhibitor fluoxetine reduces sex steroid-related aggression in female rats: An animal model of premenstrual irritability [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2001, 24(5): 502-510.  
[13] 张慧云,乔明琦,朱武成,等. 大鼠模拟经前期综合征肝气逆证血清激素与行为变化[J]. *中成药*. 2002, 24(2): 49-52.  
[14] Want E J, O’Maille G, Smith C A, et al. Solvent-dependent metabolite distribution, clustering, and protein extraction for serum profiling with mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2006, 78(3): 743-752.  
[15] Beckwith-Hall B M, Brindle J T, Barton R H, et al. Application of orthogonal signal correction to minimise the effects of physical and biological variation in high resolution H-1 NMR spectra of biofluids [J]. *Analyst*, 2002, 127(10): 1283-1288.  
[16] Mao H L, Xu M, Wang B, et al. Evaluation of filtering effects of orthogonal signal correction on metabonomic analysis of healthy human serum H-1 NMR spectra [J]. *Acta Chim Sin*, 2007, 65(2): 152-158.  
[17] Reddy D S. Is there a physiological role for the neurosteroid THDOC in stress-sensitive conditions [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2003, 24(3): 103-106.  
[18] Gianetto-Berruti A, Feyles V. Premenstrual syndrome [J]. *Minerva Ginecol*, 2002, 54(2): 85-95.  
[19] Stearns S. PMS and PMDD in the domain of mental health nursing [J]. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv* 2001, 39(1): 16-22.  
[20] 孙丽. 经前期综合征肝气逆证大鼠模型血清及不同脑区孕酮及氨基酸检测分析[D]. 济南: 山东中医药大学, 2008.

- [21] 赵启韬,郑春梅,张惠云,等.白香丹上调经前期综合征肝气逆证大鼠下丘脑神经类固醇受体的表达[J].中药药理与临床 2008 24(2):66-68.
- [22] 周璇,王雪琦.谷氨酸能和 $\gamma$ 氨基丁酸能系统与情感障碍[J].中国神经科学杂志 2003 19(2):130-133.

## 固本益肾胶囊对肾缺血再灌注模型大鼠的保护作用

马骏<sup>1</sup>, 傅毓<sup>1</sup>, 刘兴国<sup>1</sup>, 贾小翠<sup>2</sup>, 刘艳春<sup>3</sup>

(1. 甘肃中医学院,甘肃兰州 730000;2. 甘肃省庆阳市人民医院,甘肃庆阳 745000;3. 甘肃省庆阳市妇幼保健院,甘肃庆阳 745000)

**摘要:**目的 研究固本益肾胶囊(人参、三七、紫河车、水蛭、车前子等)对肾缺血再灌注模型大鼠的保护作用,并探讨其作用机制。方法 50 只大鼠随机分成 5 组(每组 10 只)采用夹闭左右肾动静脉 1h,再灌注 24h 的方法复制肾缺血再灌注模型。术后 24h 股动脉取血,检测各组大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)的含量及肾组织病理学改变。结果 固本益肾胶囊能显著升高由缺血再灌注引起的大鼠血清 SOD 水平下降,减少 MDA、Scr、BUN 的生成,肾组织病理改变减轻。结论 固本益肾胶囊对肾脏缺血再灌注具有保护作用,这种保护作用可能与其抗自由基损伤、减轻脂质过氧化反应、减少 Scr 和 BUN 水平有关。

**关键词:**固本益肾胶囊;肾缺血再灌注;保护作用

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1001-1528(2011)05-0767-03

## Protective effect of Guben Yishen Capsule on renal ischemia reperfusion injury in rats

MA Jun<sup>1</sup>, FU Yu<sup>1</sup>, LIU Xing-guo<sup>1</sup>, JIA Xiao-cui<sup>2</sup>, LIU Yan-chun<sup>3</sup>

(1. Gansu College of Traditional Chinese Medicine Lanzhou 730000, China; 2. Qingyang People's Hospital, Qingyang 745000, China; 3. Qingyang Maternal and Child Care Service Centre Qingyang 745000, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To study the protective effect of Guben Yishen Capsule (GB-C) on renal ischemia reperfusion injury in rats, and discuss its mechanism. **METHODS** Fifty rats were randomly assigned to five groups (10 rats each group). All of groups (except for normal group) were made up by clamping bilateral renal artery for 60 min and reperfusion for 24 h into a model of renal ischemia reperfusion injury, and then the blood samples of femoral artery were collected and the level of SOD, MDA, Scr and BUN in blood serum was measured, and the change of renal histomorphology was observed. **RESULTS** GB-C significantly enhanced the level of SOD, reduced the concentration of MDA, Scr, and BUN in kidney after ischemia reperfusion. **CONCLUSION** Guben Yishen Capsule may have medicinal properties of anti-oxidative and reduce the level of MDA, Scr, BUN against renal ischemia reperfusion injuries in rats, possibly by alleviating the damages caused by free radicals and lipid peroxidation.

**KEY WORDS:** Guben Yishen Capsule; renal ischemia reperfusion injury; protective effects

再灌注引起的氧自由基大量生成而引发脂质过氧化导致肾组织损伤是肾缺血再灌注发病的重要原因,减少氧自由基生成能起到保护作用<sup>[1]</sup>。固本益

肾胶囊是由人参、三七、紫河车、水蛭、车前子等多味中药组成的复方制剂,具有固本益气、补肾活血、祛瘀生新的功效。临床上在用于治疗由各种原因引起

收稿日期:2010-09-09

基金项目:甘肃省庆阳市科技局项目(0902NKCM065)

作者简介:马骏(1966—),男,教授,从事中药药理与毒理研究。Tel:(0931)8765395, E-mail:mj@gszy.edu.cn