

的研究还处于初期阶段。李冀等^[6,10]研究表明,桂枝甘草汤及水提取物组分、30 %醇提组分对多种实验性心律失常有明显的对抗作用。目前,对单味桂枝,甘草药材的化学研究已有较多文献报道^[5,11],但对桂枝甘草汤煎剂的化学研究较少。

笔者曾对桂枝甘草汤水煎液各极性部位进行了抗心律失常的药效筛选,结果表明乙酸乙酯部位具有较好的抗心律失常作用^[12]。因此本文着重探讨乙酸乙酯部位各分离组分的抗心律失常药效作用,为桂枝甘草汤抗心律失常的药效物质基础的阐明提供了部分实验数据。

综上所述, 本研究初步认为大孔树脂 30 % 的乙醇洗脱组分为桂枝、甘草水煎液抗心律失常的主要有效部位; 另外肉桂酸对氯仿诱发的小鼠心律失常也有一定的保护作用; 60 % 的乙醇洗脱组分缩短小鼠心律失常持续时间可能与肉桂酸对抗心律失常的作用有关。推测乙酸乙酯部位对小鼠心律失常的保护作用可能为 30 % 的乙醇洗脱组分与肉桂酸等成分的协同作用。

参考文献:

- [1] 黄海. 试论经方的双向调节作用[J]. 江西中医学院学报, 2000, 12

- (1): 16.
- [2] 林辉, 徐大量, 陈丽敏, 等. 桂枝甘草药对抗心律失常有效部位的筛选[J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(4): 436-438.
- [3] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1991: 378.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 1626.
- [5] 杨琳, 赵庆春, 谭菁菁, 等. 桂枝的化学成分研究[J]. 实用药物与临床, 2010, 13 (3): 183-185.
- [6] 李冀, 赵伟国, 李胜志, 等. 桂枝甘草汤及其提取物组分对抗心律失常的作用的实验研究[J]. 中医药信息, 2009, 26(4): 41-43.
- [7] 王秋, 王占石. 桂枝甘草汤温经通脉的药效学研究[J]. 中医药研究, 2002, 18(5): 41-42.
- [8] 黄海. 桂枝甘草汤加减治疗心血管病[J]. 中医杂志, 2005, 46(1): 71.
- [9] 于海. 桂枝甘草汤及其提取物组分对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究[D]. 黑龙江中医药大学. 2007.
- [10] 李冀, 赵伟国, 李胜志, 等. 桂枝甘草汤提取物组分对大鼠心肌缺血再灌注损伤心律失常的影响 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8): 2052-2054.
- [11] 刘育辰, 陈有根, 王丹, 等. 甘草化学成分研究[J]. 药物分析杂志, 2011; 31(7): 1251-1255.
- [12] 芮春兰. 国内对甘草化学成分的研究进展[J]. 中国校医, 2006, 20(1): 105.

(编辑：邓响潮)

化瘀止痛方及其拆方对人子宫腺肌病细胞 OTR mRNA、ER α mRNA 的影响

关永格¹, 李坤寅² (1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006)

摘要：目的 观察化瘀止痛方及其拆方对子宫腺肌病细胞缩宫素受体 (OTR)mRNA、雌激素受体 α (ER α)mRNA 表达的影响。**方法** 将化瘀止痛方及其拆方分为化瘀止痛方高、低剂量组，缓急止痛方高、低剂量组，活血行气方高、低剂量组，另设空白对照组、基质组及米非司酮(RU486)组，每组 5 例，采用胶原酶消化法培养人子宫腺肌病细胞，采用荧光 RT-PCR 检测药物干预前后子宫腺肌病病灶细胞 OTR mRNA、ER α mRNA 表达的变化。**结果** 与空白对照组比较，各给药组子宫腺肌病细胞的 OTR mRNA 表达均有不同程度下降，化瘀止痛方高、低剂量组及活血行气高剂量组的 OTR mRNA 表达显著下降，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)；与 RU486 组比较，化瘀止痛方高、低剂量组 OTR mRNA 表达均有不同程度下降，差异均有统计学意义 ($P <$

收稿日期：2012-10-24

作者简介: 关永格, 女, 博士, 医师, 研究方向: 月经病与妇科肿瘤、中医妇科学。Email: guanyongge0322@sina.com。

基金项目：高等学校博士学科点专项科研基金(20094425110001)。

0.05); 与缓急止痛低剂量组比较, 化瘀止痛方高、低剂量组 OTR mRNA 表达显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白对照组比较, 各给药组细胞的 ER α mRNA 表达均有不同程度的下降, 化瘀止痛方高、低剂量组及缓急止痛高、低剂量组的 ER α mRNA 表达显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 RU486 对照组比较, 化瘀止痛方高、低剂量组、缓急止痛高剂量组子宫腺肌病细胞 ER α mRNA 表达显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。化瘀止痛方高剂量组与活血行气高剂量组比较, 子宫腺肌病细胞 ER α mRNA 表达显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 化瘀止痛方可能通过降低子宫腺肌病病灶细胞 OTR mRNA、ER α mRNA 表达, 减缓子宫平滑肌的收缩强度, 从而缓解患者的痛经症状, 在降低子宫腺肌病病灶细胞 OTR mRNA 表达方面活血行气药贡献值较大, 在子宫腺肌病病灶细胞 ER α mRNA 表达变化中缓急止痛药的贡献值较大。

关键词: 化瘀止痛方; 子宫腺肌病细胞; OTR mRNA; ER α mRNA

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0028-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.008

Influence of *Huayu Zhitong* Prescription and Its Separate Components on OTR mRNA and ER α mRNA of Human Adenomyosis Cells

GUAN Yongge¹, LI Kunyin² (1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the influence of *Huayu Zhitong* Prescription (HZIP) and its separate components on OTR mRNA and ER α mRNA of the human adenomyosis cells. **Methods** Adenomyosis cells were digested with collagenase in primary culture. Nine groups were set up for the experiment, and they were high- and low-dose HZIP groups, high- and low-dose groups of spasm-relieving and pain-stopping herbs, high- and low-dose groups of blood-activating and Qi-promoting herbs, blank control group, basic medium group, and positive control group of mifepristone (RU486). Before and after drug intervention, the expression levels of OTR mRNA and ER α mRNA in the human adenomyosis cells were detected by fluorescence RT-PCR. **Results** Compared with the blank control group, the expression of OTR mRNA was decreased in the medication groups to various degrees, and a significant decrease was shown in HZIP groups and high-dose blood-activating and Qi-promoting group ($P < 0.05$). There was significant difference between HZIP groups and RU486 group in the expression of OTR mRNA ($P < 0.05$). Compared with low-dose spasm-relieving and pain-stopping group, HZIP groups had an obvious effect on decreasing OTR mRNA expression ($P < 0.05$). As for the expression of ER α mRNA, HZIP groups and high-dose spasm-relieving and pain-stopping group had lower level than the blank control group and RU486 group ($P < 0.05$), high-dose HZIP group had lower level than high-dose blood-activating and Qi-promoting group ($P < 0.05$). **Conclusion** HZIP down-regulates the expression of OTR mRNA and ER mRNA in adenomyosis cells, which reduces the intensity of uterine smooth muscle contraction, and effectively alleviate the symptoms of patients with dysmenorrhea. Blood-activating and Qi-promoting herbs of HZIP may be the main effective components in decreasing OTR mRNA, and spasm-relieving and pain-stopping herbs benefit to the change of ER α mRNA of the adenomyosis cells.

Keywords: *Huayu Zhitong* Prescription; Adenomyosis cells; OTR mRNA; ER α mRNA

子宫腺肌病(Adenomyosis, AD)是子宫内膜腺体及间质存在于子宫肌层中, 伴随着周围肌层细胞的代偿性增生和肥大, 为一种雌激素依赖性疾病^[1]。渐进性痛经为其最主要的临床表现, 痛经发生率高达

77.8 %^[2], 严重影响患者生活、工作质量。前期临床研究^[3]发现化瘀止痛方能明显减轻患者的痛经症状, 总有效率达 90 %^[3], 通过对化瘀止痛方全方汤剂、单味药材汤剂、标准品的色谱图分析, 发现全方汤剂的

特征峰主要来自白芍、甘草,其次为当归、乌药、延胡索,其他中药所含成分在 HPLC 分析条件下检测出较少,不同批次样品均具有 10 个特征峰,峰面积的相对含量较稳定,不同药材的大部分化学成分是一致的^[4]。在此实验基础上,将化瘀止痛方拆为缓急止痛(芍药甘草)组和活血行气组,观察其对体外培养的子宫腺肌病细胞缩宫素受体(OTR)mRNA、雌激素受体 α (ER α) mRNA 表达的影响,探讨中药复方治疗子宫腺肌病痛经的深层作用机制。

1 材料与方法

1.1 组织来源及病例选择 于 2010 年 2 月~2010 年 8 月从广州中医药大学第一附属医院选择未服任何中西药物的住院手术的子宫腺肌病患者 5 例,无菌操作取子宫腺肌病病灶约 3 cm³,立即置于冰浴的盛有 DMEM 标本瓶中,迅速送至实验室,同时取病灶组织送病理检查确诊。

1.2 主要试剂及仪器 高糖 DMEM(批号:8109071)、胎牛血清(批号:619559)、2.5 %胰蛋白酶(批号:LOT 753372)、Collagenase I(批号:201108)、PBS 缓冲液(批号:8110037),美国 Gibco 公司;Trizol(批号:15596-026),Invitrogen 公司;逆转录试剂盒(批号:D6130)、荧光定量 PCR 试剂盒(LOT DRR039A),Takara 公司;PM-20 倒置式系统显微镜带全自动显微照相,日本 Olympus 公司;CO₂ 培养箱:Thermo SI-ENTIFIC;培养瓶、培养板、离心管等,美国 Corning 公司;米非司酮(RU486)片,北京紫竹药业有限公司;中药材购于广东康美药业股份有限公司。

1.3 药物配制及分组

1.3.1 药材与制备 化瘀止痛方由三七、五灵脂、没药、延胡索、广木香、乌药、香附、白芍、甘草等药物组成。拆方中缓急止痛(芍药甘草汤)方仅含白芍、甘草,活血行气方则由全方减去白芍、甘草组成。按原方比例购置、鉴定;取各处方药材,粉碎成粗粉,加 8 倍量水加热煎煮 2 次,煮沸后分别再煎煮 40 min、30 min,合并滤液,8000 r·min⁻¹ 离心 5 min,过滤,80 ℃下减压,浓缩至 1:1,滤液浓缩至清膏备用。

1.3.2 含药培养液的配制 将上述制备的各组清膏分别均用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤除菌,再用高糖 DMEM 稀释,pH 试纸测其 pH 值(pH 反应呈中性),

分别配制成 500, 250, 125, 80, 40, 20, 10, 5, 1, 0.1 mg·mL⁻¹,经 MTT 法筛选出 IC₅₀(半抑制浓度)。各组取 IC₅₀ 的上下限两种剂量,即化瘀止痛方高、低组为 40, 20 mg·mL⁻¹,缓急止痛高、低组为 20, 10 mg·mL⁻¹,活血行气高、低组为 40, 20 mg·mL⁻¹,现配现用。

1.3.3 对照组药物的配制 米非司酮(RU486)组,取 1 片米非司酮(25 mg),用 DMSO(二甲基亚砷)溶解,再用高糖 DMEM 稀释配成 10⁻⁵mol·L⁻¹ 溶液(DMSO 在培养液终浓度含量 < 0.5 %)备用。基质组,DMEM 用高糖 DMEM 稀释成 0.5 %溶液备用(基质 DMSO 为溶解米非司酮的溶解剂)。空白对照组只用高糖 DMEM 培养基。

1.4 方法

1.4.1 子宫腺肌病病灶细胞培养、传代及鉴定 培养方法参考文献^[5-6],在无菌操作台上从标本瓶中取出子宫腺肌病标本,PBS 冲洗 2 次,DMEM 冲洗 2 次;将其剪成 1 mm³,放入含有 0.1 % I 型胶原酶的培养瓶内,37 ℃温箱消化 5~6 h,加含胎牛血清的培养基终止消化,不锈钢筛网过滤,以 1000 r·min⁻¹、8 min 离心 3 次;加入 10 %胎牛血清 DMEM 培养基制成 5×10⁵ 个·mL⁻¹ 细胞悬液,每瓶分装 5 mL,37 ℃、5 % CO₂ 温箱培养,每 2~3 d 换液 1 次,首次传代 7~10 d,二次以上传代 5~7 d 传代 1 次。细胞均经角蛋白、波形蛋白、 α -平滑肌肌动蛋白免疫细胞化学法鉴定证实。

1.4.2 给药方法 将传代培养的子宫腺肌病细胞置 37 ℃、5 %CO₂ 培养箱中培养至细胞生长旺盛状态,弃去培养液,加入无血清的高糖 DMEM 培养液,每孔 100 μ L,置于 37 ℃、5 % CO₂ 培养箱中继续培养 24 h,使细胞生长同步化,弃原培养液,各组分别加入对应含药培养液,各组继续培养 24 h。

1.4.3 RT-PCR 法检测 OTR mRNA、ER α mRNA

1.4.3.1 引物探针设计合成 GenBank 上查找目的基因 mRNA 序列,在 CDS 区设计特异性引物,合成引物探针应用 ABI 3900 台式高通量 DNA 合成仪,使用 Primer express 2.0 软件设计引物探针,序列如下:1) Sequence Name: H-ER1(76bp), Forward Primer: 5' -GTCTCGTCTGGCGCTCCAT-3', Reverse Primer: 5' -CCCTGGTTCCTGTCCAAGAG-3', Probe: 5'-FAM-

CACCCAGGGAA GCTACTGTTTGCTCCTAACT-TAM-RA-3'; 2) Sequence Name: H-OXTR(92bp), Forward Primer: 5'-AGGAAGCCTCGGCCTTCAT-3', Reverse Primer: 5'-GAGGTGGCCCGTGAACAG-3', Probe: 5'-FAM-AACAGCTGCTGCAACCCCTGGATC-TAC-TAMRA-3'; 3) Sequence Name: H- β -actin (106bp), Forward Primer: 5'-GCA TGG GTC AGA AGG ATT CCT-3', Reverse Primer: 5'-TCG TCC CAG TTG GTG ACG AT-3', Probe 5'-FAM-CCT CAC CCT GAA GTA CCC CAT CGA GC-TAMRA-3'。

1.4.3.2 细胞总 RNA 的提取 药物干预后的细胞加 Trizol 1mL, 转置于 1.5 mL Eppendorf 管; 加入氯仿 0.2 mL, 盖紧盖子, 用力摇动 15 s, 15~30 ℃ 孵育 2~3 min, 4 ℃ 12000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液加入 1.5 mL Eppendorf 管, 加与上清液等体积的异丙醇, 15~30 ℃ 孵育样品 10 min, 4 ℃ 12000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 弃上清液, 75 % 乙醇洗涤沉淀一次, 4 ℃ 7500 r·min⁻¹ 离心 5 min, 弃乙醇, 空气干燥 5~10 min, 加 DEPC 处理水溶解 RNA, -80 ℃ 保存备用。

1.4.3.3 逆转录反应 取 4 μ L RNA 模板做逆转录反应, 反应条件: 37 ℃ 1 h, 然后 95 ℃ 3 min。

1.4.3.4 荧光定量 PCR 反应 1) 阳性标准品的制备: 预试验 PCR 扩增的阳性产物经过 2 % 低熔点琼脂糖凝胶电泳, 在长波紫外下, 割下目的条带。用回收试剂盒回收纯化。测定 OD 260/280 > 1.8, 表明纯度合格。用 OD260 测定值和片段长度数据换算出浓度 (拷贝数/ μ L), 即为阳性标准品。2) 阳性标准品梯度的制备: 取阳性标准品 5 μ L 按 10 倍稀释 (加水 45 μ L 并充分混匀), 依次稀释下去, 制备成阳性定量标准品梯度。3) 阴性质控标准品采用灭菌双蒸水。4) 反应条件为: 93 ℃ 变性 3 min, 然后 93 ℃ 退火 30 s, 55 ℃ 延伸 45 s, 共 40 循环。反应结束后, 由电脑自动分析并计算结果。按结果中拷贝数分析, 用 B 表示, 即 B= 拷贝数/ μ L cDNA。考虑到各个样本总 RNA 浓度的差异: A=B₁(目的基因)÷B₂(内参基因), A 值为统计时最终需要的数值。

1.5 统计学处理方法 采用 SPSS13.0 统计软件。实验数据用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 采用 Levene 检验方差齐性。若方差齐, 采用单因素方差分析(one-way ANOVA); 若方差不齐, 采用多个样本比较的秩和检

验(Kruskal-Wallis 法, 即 H 值检验)。

2 结果

见表 1。与空白对照组比较, 各给药组子宫腺肌病病灶细胞的 OTR mRNA 表达均有不同程度下降, 化瘀止痛全方高、低剂量组及活血行气高剂量组的 OTR mRNA 表达显著下降, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。化瘀止痛全方高、低剂量组与 RU486 组比较, OTR mRNA 表达均有不同程度的下降, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与缓急止痛低剂量组比较, 化瘀止痛全方高低剂量组子宫腺肌病病灶细胞 OTRmRNA 表达下降显著, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

与空白对照组比较, 各给药组细胞的 ER α mRNA 表达均有不同程度下降, 化瘀止痛方高、低剂量组、缓急止痛高低剂量组子宫腺肌病细胞的 ER α mRNA 表达显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 RU486 组比较, 化瘀止痛方高低剂量组、缓急止痛高剂量组子宫腺肌病细胞 ER α mRNA 表达显著下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。化瘀止痛全方高剂量组与活血行气高剂量组比较, 子宫腺肌病细胞 ER α mRNA 表达显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

与空白对照组比较, 基质(DMSO)组子宫腺肌病细胞 OTR mRNA、ER α mRNA 的表达差异无统计学意义($P > 0.05$), 说明此浓度范围的基质对子宫腺肌病细胞 OTR mRNA、ER α mRNA 表达无影响。

表 1 化瘀止痛方及其拆方对子宫腺肌病细胞 OTR mRNA、ER α mRNA 表达的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Influence of Huayu Zhitong prescription and its separate components on OTR mRNA、ER α mRNA of the adenomyosis cell($\bar{x}\pm s$)

组别	OD 值		
	n	OTR mRNA $\times 10^{-2}$	ER α mRNA $\times 10^{-2}$
空白对照组	5	6.93 $\pm$ 1.64	35.3722 $\pm$ 6.0531
基质组	5	6.58 $\pm$ 0.82	33.2420 $\pm$ 5.3460
RU486 组	5	0.57 $\pm$ 0.21	3.7232 $\pm$ 0.5714
化瘀止痛方低剂量组	5	0.03 $\pm$ 0.01 ^{*△}	0.0254 $\pm$ 0.0065 ^{*△}
化瘀止痛方高剂量组	5	0.04 $\pm$ 0.01 ^{*△}	0.0052 $\pm$ 0.0022 ^{*△}
缓急止痛方低剂量组	5	1.57 $\pm$ 0.66 [#]	0.0390 $\pm$ 0.0099 ^{*△}
缓急止痛方高剂量组	5	0.34 $\pm$ 0.07	0.0136 $\pm$ 0.0051 [*]
活血行气方低剂量组	5	0.40 $\pm$ 0.12	0.3018 $\pm$ 0.0429
活血行气方高剂量组	5	0.20 $\pm$ 0.05 [*]	0.0723 $\pm$ 0.0169 [#]

注: 与空白对照组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与 RU486 组比较, [△] $P < 0.05$; 与化瘀止痛方各剂量组比较, [#] $P < 0.05$ 。

3 讨论

子宫腺肌病为临床常见病疑难病,李坤寅教授根据多年临床经验创制了化瘀止痛方,由白芍、甘草、田七、当归、香附、广木香、浙贝母、猫爪草等药组成,全方以化瘀止痛为主,并佐以理气止痛、缓急止痛、消癥散结。其中芍药甘草汤源于东汉·张仲景的《伤寒论·太阳篇》,是经典的缓急止痛方,尤其在治疗妇女痛经方面有较好疗效。田七能化瘀止痛,《医学衷中参西录》谓其:“三七善化瘀血,善治女子癥瘕,月事不通,化瘀血而不伤新血,允为理血妙品”;而当归为血家之圣药,具有活血、调经、止痛等功效;香附、广木香,理气止痛,气行则血行;并佐以浙贝母、猫爪草等消癥散结。前期临床研究发现,化瘀止痛方能明显减轻患者的痛经症状,总有效率达90%^[3]。

缩宫素(OT)^[7]是一种内分泌激素,其生物学效应是通过缩宫素受体(OTR)介导的,而OTR在人子宫的内膜和肌层中均有表达。许多研究^[8-9]发现OTR在子宫腺肌病病灶中的表达高于正常子宫肌层、在位子宫内膜中的表达及正常子宫内膜,并且痛经程度与OTR的表达增高有关。OT与OTR结合后作用于子宫平滑肌细胞,通过细胞内生化学途径引起子宫收缩而致痛;OT与OTR结合后亦可引起子宫小动脉持久而强烈的收缩,子宫肌层组织缺血而产生痛经,OTR可能是子宫腺肌病药物治疗的新靶点。本研究结果提示化瘀止痛方全方高低剂量组、活血行气高剂量组可以降低子宫腺肌病细胞OTR mRNA表达,RU486、芍药甘草汤对子宫腺肌病细胞OTR mRNA表达无明显影响。由此推论化瘀止痛方可能通过降低OTR mRNA表达,减少了OT与OTR结合,从而减缓了子宫平滑肌的收缩强度,有效缓解患者的痛经症状,其中活血行气组药物在化瘀止痛方缓解痛经中起主要作用。

子宫腺肌病为一种雌激素依赖性疾病,高水平雌激素持续存在可刺激子宫腺肌病的发生、发展,同时在子宫腺肌病的异位病灶中有雌激素合成和分泌,而雌激素(E₂)的生物学效应大小与靶细胞内雌激素受体(ER)水平有关。Oehler等^[10]发现子宫腺肌病病灶中细胞核内的雌激素受体(ERn)的含量在整个月经期明显高于在位内膜。ER α 为ER主要亚型之一,ER α 基因敲除小鼠子宫缺乏对E₂的反应性,提示在子宫中ER α 起主导作用。本研究结果提示化瘀止痛方高低浓度组、缓急止痛高低剂量组可以有效降低子宫腺肌病细胞ER α mRNA表达,而E₂的生物学效应大小与

靶细胞内ER水平有关,当ER α mRNA表达降低时,E₂与ER结合率降低,E₂生物学效应降低,减少或阻断了异位病灶在肌层的发生发展,雌激素对子宫蠕动的调节作用减缓,子宫收缩性减弱,痛经程度降低或消失。现代研究发现芍药甘草汤镇痛作用明显,郑王巧等^[11]发现芍药甘草汤能降低致痛小鼠血清中的PGE₂,减轻冰醋酸刺激局部组织产生的炎症反应,减少内源性致痛物质的产生,同时又减少痛觉感觉神经细胞产生第二信使cAMP,提高对痛觉的耐受性,减少痛觉敏感化及痛觉冲动的上传而发挥镇痛作用。芍药苷是白芍的主要化学成分,研究^[12-13]表明其可通过影响Ras和Raf-1的表达而调节异常的Ras-MAPKs-信号通路,并且几乎可以完全逆转 κ B- α 磷酸化和ERK 1/2磷酸化。由此推测芍药甘草汤作为经典的缓急止痛方,可能为化瘀止痛方治疗子宫腺肌病痛经的主要机制之一。

综上所述,本研究发现化瘀止痛方可能通过降低了子宫腺肌病病灶细胞OTR mRNA、ER α mRNA表达,减缓了子宫平滑肌的收缩强度,有效缓解了患者的痛经症状,其中在降低子宫腺肌病病灶细胞OTR mRNA表达方面活血行气药贡献值较大,在子宫腺肌病病灶细胞ER α mRNA表达变化中缓急止痛药的贡献较大,其具体作用部位有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Mehaseb MK, Bell SC, Pringle JH, et al. Uterine adenomyosis is associated with ultrastructural features of altered contractility in the inner myometrium[J]. Fertil Steril, 2010, 93(7): 2130-2136.
- [2] Yeniel O, Cirpan T, Ulukus M, et al. Adenomyosis: prevalence, risk factors, symptoms and clinical findings[J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2007, 34(3): 163-167.
- [3] 李坤寅, 方庆霞. 化瘀止痛方对子宫腺肌病痛经患者PGF₂ α 、PGE₂、OT影响的临床研究[J]. 新中医, 2009, 41(2): 63-65.
- [4] 关永格. 子宫腺肌病中医证型分布与化瘀止痛方及其拆方的干预机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学博士学位论文, 2011: 39-52.
- [5] Suzuki-Kakisaka H, Murakami T, Hirano T, et al. Effects of photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid on cultured human adenomyosis-derived cells[J]. Fertil Steril, 2007, 87(1): 33-38.
- [6] 刘玉琴. 细胞培养实验手册[M]. 北京: 人民军医出版社, 2009: 3-5.
- [7] Shmygol A, Gullam J, Blanks A, et al. Multiple mechanisms involved in oxytocin-induced modulation of myometrial contractility[J]. Acta Pharmacol Sin, 2006, 27(7): 827-832.
- [8] Nie J, Liu X, Guo SW. Immunoreactivity of oxytocin receptor and transient receptor potential vanilloid type 1 and its correlation with dysmenorrhea in adenomyosis[J]. Am J Obstet Gynecol, 2010, 202(4): 346-354.

- [9] Strunecká A, Hynie S, Klenerová V. Role of oxytocin/oxytocin receptor system in regulation of cell growth and neoplastic processes[J]. Folia Biol(Praha), 2009, 55(5): 159–165.
- [10] Oehler MK, Greschik H, Fischer DC, et al. Functional characterization of somatic point mutation of the human estrogen receptor alpha (hER alpha) in endometriosis uteri[J]. Mol Hum Reprod, 2004, 10(12): 850–853.
- [11] 郑王巧, 宋丽华, 李海菊, 等. PGE₂/cAMP 信号通路对芍药甘草汤镇痛作用的影响[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(1): 1–2.
- [12] 张玲玲, 陈尹, 陈镜宇, 等. 芍药苷对胶原诱导性关节炎大鼠滑膜细胞 Ras 和 Raf-1 表达的影响[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(5): 375–379.
- [13] Chen T, Guo ZP, Jiao XY, et al. Peoniflorin suppresses tumor necrosis factor- α induced chemokine production in human dermal microvascular endothelial cells by blocking nuclear factor- κ B and ERK pathway[J]. Arch Dermatol Res, 2011, 303(5): 351–361.

(编辑: 邓响潮)

藤茶总黄酮及黄酮醇类化合物的抗血栓作用研究

叶 勇^{1,2}, 欧贤红³, 黄秋洁⁴, 刘华钢², 宋云飞¹ (1. 桂林莱茵生物科技股份有限公司博士后工作站, 广西 桂林 541100; 2. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021; 3. 桂林医学院药学院, 广西 桂林 541004; 4. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530001)

摘要: 目的 研究藤茶提取物藤茶总黄酮(TF)、二氢杨梅素(DMY)及杨梅素(My)的抗凝血及溶栓作用。方法 采用毛细玻璃管法观察对小鼠凝血时间的影响; 采用下腔静脉结扎大鼠血栓模型, 观察受试药物的抗血栓作用。结果 与正常对照组比较, 高剂量(2 mg·kg⁻¹)的TF、DMY 及 My 均能明显延长小鼠凝血时间($P < 0.05$, $P < 0.01$); 低剂量(0.5 mg·kg⁻¹)的TF、DMY 及 My 虽有延长小鼠凝血时间的趋势, 但差异无统计学意义。下腔静脉结扎血栓模型结果显示, 阳性药川芎嗪、My 及 DMY 各组的血栓干重均明显低于正常对照组($P < 0.01$, $P < 0.05$); My 高剂量组的血栓湿重明显低于正常对照组($P < 0.01$), TF 高、低剂量组的血栓湿重、干重与正常对照组比较, 差异均无统计学意义。各实验组对血栓的抑制率大小依次为: My 高剂量组 > 川芎嗪组 > DMY 低剂量组 > My 低剂量组 > DMY 高剂量组 > TF 高剂量组 > TF 低剂量组。结论 My 和 DMY 可能是藤茶抗血栓作用的主要有效成分, 且 My 的抗血栓作用稍强于 DMY。

关键词: 藤茶; 藤茶总黄酮; 二氢杨梅素; 杨梅素; 抗凝血; 抗血栓

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2013)01-0033-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.009

Antithrombotic Effect of Total Flavonoids and Monomeric Compounds from *Ampelopsis grossedentata*

YE Yong^{1,2}, OU Xianhong³, HUANG Qiujie⁴, LIU Huagang², SONG Yunfei¹ (1. Postdoctoral R&D Workstations, Guilin Layn Natural Ingredients Co. Ltd, Guilin 541100 Guangxi, China; 2. School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021 Guangxi, China; 3. Department of Pharmacy, Guilin Medical College, Guilin 541004 Guangxi, China; 4. School of Pharmacy, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001 Guangxi, China)

Abstract: Objective To study the anti-coagulation and thrombolytic effect of total flavonoids(TF), dihydromyricetin (DMY) and myricetin (My) from *Ampelopsis Grossedentata*. **Methods** The effects on coagulation time in mice were observed by capillary glass tube method, and the antithrombotic effects were observed in mouse model of venous thrombosis induced by ligation of inferior vena cava. **Results** Compared with the normal group, high dose (2 mg·kg⁻¹) of TF, DMY and My could significantly prolong the coagulation time of mice ($P < 0.05$, $P < 0.01$), respec -

收稿日期: 2012-09-07

作者简介: 叶勇, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 中药新制剂与新剂型研究。通信作者: 欧贤红, 博士, 讲师, 研究方向: 药理学。Email: blue-eye8081@163.com。

基金项目: 广西教育厅基金(201010LX340)。