

- [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)。

tively. However, low dose ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) of TF, DMY and Myr had no significant effect on coagulation time of mice. In mouse model of venous thrombosis, positive drug (tetramethylpyrazine), myricetin and dihydromyricetin could obviously reduce dry thrombus weight ($P < 0.01$, $P < 0.05$ compared with the normal group), high dose of myricetin could obviously reduce wet thrombus weight ($P < 0.01$). However, high- and low-dose TF groups had no significant effect on wet and dry thrombus weight compared with the normal group. The effect of each group on thrombus inhibition ratio was as follows: $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Myr} > \text{tetramethylpyrazine} > 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DMY} > 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Myr} > 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DMY} > 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TF} > 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TF}$. **Conclusion** Myr and DMY may be the main antithrombotic active ingredient of flavonoids from *A. grossedentata*, and myricetin has stronger thrombolytic effect than dihydromyricetin.

Keywords: *Ampelopsis Grossedentata*; Total flavonoids; Dihydromyricetin; Myricetin; Anti-coagulation; Anti-thrombosis

多羟基黄酮化合物是植物界分布最广的黄酮类化合物, 二氢杨梅素和杨梅素均属于多羟基黄酮化合物。二氢杨梅素(3, 5, 7, 3', 4', 5'-六羟基 2, 3-双氢黄酮醇, dihydromyricetin, DMY)广泛存在于葡萄科植物中, 在蛇葡萄属植物中含量尤其丰富^[1]。杨梅素(3, 5, 7, 3', 4', 5'-六羟基黄酮醇, myricetin, Myr)异名杨梅树皮素、杨梅黄酮、杨梅酮, 属黄酮醇类化合物, 存在于壳豆科、豆科、报春花科、葡萄科、菊科等植物中^[2]。研究发现, DMY 具有明显的抗血栓作用^[4]。以 Myr 为主药制成的 Myr 分散片具有明显的抗凝血效果^[6]。Myr 可抑制血小板活化因子(PAF)介导的兔血小板聚集、5-羟色胺(5-HT)释放及血小板内钙离子浓度升高, 从而起到保护心血管的作用, 且其抗 PAF 作用比红花的有效成分羟基红花黄色素 A 作用强^[5]。DMY 和 Myr 均为藤茶的有效活性成分, 且 DMY 单体含量高达 30.60 %^[7]。药理研究表明, 藤茶总黄酮具有抗血栓作用^[8]。为探讨 DMY 和 Myr 是否为藤茶总黄酮抗血栓作用的主要活性物质, 本研究采用毛细玻璃管法和静脉血栓模型, 观察并比较藤茶 TF、DMY 及 Myr 的抗凝血及溶栓作用。

1 材料与方法

1.1 药品及试剂 藤茶总黄酮(TF)、二氢杨梅素(DMY)及杨梅素(Myrr), 均为自制, 含量分别为 74 %, 90 %, 83 %, 以 1 % DMSO 超声溶解成适宜浓度备用; 川芎嗪, 美国 Sigma 公司, 批号: 1000783180; 肝素钠, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 63007131。

1.2 动物 昆明种小鼠, SPF 级, 体质量 18~22 g; SD 大鼠, SPF 级, 体质量 180~250 g, 均由桂林医学院动物中心提供, 许可证号: SCXK 桂 2007-0001。

1.3 方法

1.3.1 体内抗凝血实验^[8] 将 80 只小鼠随机分为正常对照组, 阳性药对照组, TF、Myr 及 DMY 高 ($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低剂量组 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 共 8 组, 每组 10 只, 按每公斤体质量腹腔注射给药 10 mL。正常对照组注射生理盐水, 阳性药对照组注射肝素钠, TF、Myr 和 DMY 组分别注射不同剂量的 TF、Myr 和 DMY。给药 20 min 后, 用内径为 1 mm 的毛细管插入小鼠内眦静脉, 至毛细管血柱达到约 5 cm 时取出, 平放于桌上。每隔 30 s 折断约 5 mm, 缓慢拉开, 观察有无血凝丝出现, 从毛细管采血到出现血凝丝的时间为凝血时间。

1.3.2 对静脉血栓形成的影响 将 80 只大鼠随机分成 8 组, 分别为正常对照组、阳性药对照组、TF、Myr 及 DMY 高 ($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低剂量组 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。参照文献^[9]制备大鼠静脉血栓模型, 按 $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 乌拉坦溶液腹腔注射麻醉大鼠, 仰卧位固定, 做腹部手术以分离下腔静脉, 于左肾静脉与下腔静脉交叉处结扎下腔静脉, 然后缝合腹壁。结扎前 10 min 正常对照组尾静脉注射 0.9 % 磷酸盐缓冲液, 阳性对照组尾静脉注射川芎嗪, TF、Myr 及 DMY 组分别尾静脉注射不同剂量的 TF、Myr 及 DMY, 注射容积均为 1 mL。下腔静脉结扎 4 h 后, 重新打开腹腔, 在结扎下方 2 cm 处夹闭血管, 剪开管腔, 取出栓子, 用滤纸吸去残余血液后用微量电子天平称湿重, 再将栓子放在烘箱中, 70°C , 2 h 后称干重, 按下式计算血栓形成抑制率。血栓形成抑制率 (%) = (模型组血栓重量 - 给药组血栓重量) / 模型组血栓重量 $\times 100\%$ 。

1.4 统计学处理方法 采用 SPSS 17.0 统计软件, 所有实验数据进行 K-S 检验, 均符合正态分布。实验结果以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间差异用独立样本 *t* 检验(方差不齐时采用 *t* 检验校正公式)。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 对小鼠凝血时间的影响 见表 1。与正常对照组比较，肝素组能显著延长小鼠凝血时间 ($P < 0.01$)；TF、DMY 及 Myr 高剂量均能明显延长小鼠凝血时间 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；TF、DMY 及 Myr 低剂量组虽有延长小鼠凝血时间的趋势，但与正常对照组比较，差异无统计学意义。

表 1 藤茶总黄酮及黄酮醇类化合物对小鼠凝血时间的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The effect of TF,DMY and Myr on the coagulation time of mice

组别	n	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	凝血时间/s
正常对照组	10	—	129±99
肝素组	8	1000 $\text{U} \cdot \text{kg}^{-1}$	4674±2574*
TF 高剂量组	7	2.0	227±88*
TF 低剂量组	8	0.5	205±97
DMY 高剂量组	8	2.0	307±286*
DMY 低剂量组	7	0.5	227±119
Myr 高剂量组	8	2.0	487±180*
Myr 低剂量组	7	0.5	248±162

注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ，* $P < 0.01$ 。

2.2 对大鼠静脉血栓形成的影响 见表 2。阳性对照川芎嗪组、Myr 及 DMY 各剂量组的血栓干重均明显低于正常对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)，Myr 高剂量组和川芎嗪组的血栓湿重也低于正常对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)，TF 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。结果提示，TF 低剂量组、TF 高剂量组、DMY 高剂量组、Myr 低剂量组、DMY 低剂量组、川芎嗪组、Myr 高剂量组抗血栓作用依次增强。

表 2 藤茶总黄酮及黄酮醇类化合物对大鼠静脉血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 The effect of TF,DMY and Myr on venous thrombosis in rats

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	湿重/mg	抑制率/%	干重/mg	抑制率/%
正常对照组	—	13.36±7.20	0	6.91±3.66	0
川芎嗪组	14	6.93±3.63*	41.39	2.41±1.52*	65.12
TF 高剂量组	2	11.57±3.54	13.40	5.27±4.68	23.73
TF 低剂量组	0.5	12.35±13.73	7.56	6.25±4.87	9.55
DMY 高剂量组	2	10.19±7.46	23.73	3.68±2.71*	46.74
DMY 低剂量组	0.5	8.31±6.32	37.80	3.01±2.72*	56.44
Myr 高剂量组	2	4.77±3.89*	64.30	2.38±2.19*	65.56
Myr 低剂量组	0.5	9.35±5.67	30.01	3.44±2.35*	50.22

注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ，* $P < 0.01$ 。

3 讨论

血栓形成是许多心脑血管疾病的主要发病原因^[7]，如能有效地控制血栓的形成，对防治缺血性心脑血管疾病有着深远的意义。钟正贤等^[8]研究发现，藤茶总黄酮能明显抑制大鼠体外血小板聚集和体内血栓形成。藤茶黄酮类化合物包括 Myr、DMY、福建茶素、杨梅黄素、杨梅苷等，其中 DMY 含量较高^[9-10]。潘照斌等^[4]采用大鼠静脉血栓模型、颈总动脉-颈外静脉血流旁路法及小鼠静脉注射胶原蛋白-肾上腺素血栓模型研究 DMY 的抗血栓作用，结果发现，DMY 能明显减轻静脉血栓湿重和干重，抑制大鼠颈总动脉-颈外静脉血流旁路血栓形成，提高胶原蛋白-肾上腺素诱导小鼠瘫痪的恢复率。覃洁萍报道^[11]，从广西藤茶中提取得到的 Myr 为主要原料研制而成的 Myr 分散片对大鼠实验性脑缺血具有明显保护作用，并有明显抗血栓形成作用，机制可能与其抑制脂质过氧化物损害及提高抗氧化酶活性、改善凝血状态、抑制血小板依赖性血栓的形成有关。

为进一步明确藤茶不同提取物藤茶总黄酮、DMY 和 Myr 的抗血栓活性，本文采用毛细玻璃管法、腔静脉结扎大鼠血栓模型，分别检测小鼠的凝血时间和血栓湿重和干重，研究藤茶不同提取物的溶栓作用。结果发现，阳性药川芎嗪、Myr 和 DMY 各剂量组的血栓干重均明显低于正常对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)，2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Myr 高剂量及川芎嗪组的血栓湿重明显低于正常对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)，但是，TF 各剂量组的血栓湿重、干重与正常对照组比较，差异均无统计学意义。Myr 高剂量组对血栓的抑制率最明显，其次是川芎嗪组，DMY 低剂量组次之，Myr 低剂量组、DMY 高剂量组、TF 高剂量组则作用依次减弱，TF 低剂量组对血栓的抑制率作用最弱。Myr 对血栓的抑制作用有一定的量效依赖性，但 DMY 未呈现相似的作用。TF、DMY 及 Myr 高剂量均能明显延长小鼠凝血时间，且 Myr 延长小鼠凝血时间的作用优于同剂量的 TF 和 DMY。综合抗凝血实验和静脉血栓模型实验结果，提示 Myr 和 DMY 可能是藤茶总黄酮抗血栓作用的主要有效成分，且 Myr 的溶栓作用稍强于 DMY。

(致谢：桂林医学院 2009 级药学专业本科生韦桂兰和莫慧俊同学参与了本文部分研究工作，特此感谢！)

参考文献:

- [1] 何桂霞, 裴刚, 冯映冰, 等. 藤茶中二氢杨梅素的含量测定[J]. 中药材, 2000, 23(4): 210-212.
- [2] 姜仕先, 董乃维, 张婧, 等. 藤茶中杨梅素和二氢杨梅素的分离及抗心肌细胞凋亡作用[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2008, 42(1): 4-7.
- [3] 刘德育, 雷焕强. 杨梅黄素及蛇葡萄素对酪氨酸酶的抑制作用[J]. 生物化学杂志, 1996, 12(5): 618-620.
- [4] 潘照斌, 李秉朝, 廖月娥, 等. 二氢杨梅素抗血栓形成的作用研究[J]. 中医药导报, 2010, 16(11): 92-94.
- [5] 臧宝霞, 金鸣, 吴伟, 等. 杨梅素对血小板活化因子拮抗的作用[J]. 药学报, 2003, 38(11): 831-833.
- [6] 王乃平, 覃洁萍, 钟正贤, 等. 杨梅素滴丸和杨梅素分散片的抗血栓作用对比[J]. 广西中医学院学报, 2008, 11(4): 1-2.
- [7] 张友胜, 杨伟丽, 熊皓平. 显齿蛇葡萄基本成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(5): 46-48.
- [8] 钟正贤, 陈学芬, 周桂芬, 等. 广西产藤茶总黄酮的药理研究(英文)[J]. 广西科学, 1999, 6(3): 216-218.
- [9] 史小莲, 刘俊田, 李西宽, 等. 水蛭免加热提取物抗凝血及抗血栓作用[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(2): 95-97.
- [10] 覃骊兰. 藤茶的化学成分及药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(6): 94-96.
- [11] 覃洁萍, 王乃平, 钟正贤, 等. 杨梅素分散片对大鼠实验性脑缺血的保护作用及对血栓形成的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 58-60.

(编辑: 邓响潮)

归芪通乳合剂对溴隐亭诱导大鼠产后缺乳的催乳作用

万 鹏¹, 聂 慧¹, 邓时贵² (1. 重庆市北碚区中医院, 重庆 400700; 2. 广东省中医院动物实验中心, 广东 广州 510006)

摘要: 目的 观察归芪通乳合剂对缺乳大鼠模型血清催乳素(PRL)、雌二醇(E₂)、多巴胺(DA)水平的影响, 探讨其催乳机制。方法 建立溴隐亭诱导的大鼠缺乳模型, 采用酶联免疫法检测归芪通乳合剂对缺乳大鼠血清PRL、E₂、DA水平的影响。结果 与溴隐亭缺乳大鼠模型组比较, 归芪通乳合剂各剂量组能显著提高溴隐亭缺乳大鼠血清PRL、E₂含量($P < 0.05$), 降低DA的水平($P < 0.05$)。结论 归芪通乳合剂催乳机制与提高PRL、E₂含量及降低DA的水平有关。

关键词: 归芪通乳合剂; 缺乳大鼠模型; 产后缺乳

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2013)01-0036-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.010

Galactagogue Action of *Guiqi Tongru* Mixture on Rat Model of Bromocriptine-induced Postnatal Lack of Lactation

WAN Peng¹, NIE Hui¹, DENG Shigui² (1. Chongqing Beibei District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400700, China; 2. Animal Experiment Center of Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To observe the effect of *Guiqi Tongru* Mixture on serum prolactin, estradiol and dopamine in rats with postnatal lack of lactation. **Methods** Rat model of postnatal lack of lactation was induced by bromocriptine. The expression of serum prolactin, estradiol and dopamine in the model rat was detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** Compared with the model group, the serum prolactin and estradiol contents of *Guiqi Tongru* Mixture groups were increased significantly (both $P < 0.05$), while the dopamine expression level was decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** The lactagogue mechanism of *Guiqi Tongru* Mixture may be related to its increase of prolactin and estradiol contents and to its inhibition of dopamine expression.

Keywords: *Guiqi Tongru* Mixture; Lack of lactation rat model; Postnatal lack of lactation

收稿日期: 2012-09-17

作者简介: 万鹏, 男, 硕士, 副主任中医师, 研究方向: 中医内科学。Email: 1523215480@qq.com。

基金项目: 重庆市科技计划项目(2010GGD057)。