

桂枝茯苓胶囊中主要成分对人子宫肌瘤细胞增殖 及小鼠离体子宫收缩活动的影响

陶晓倩, 李娜, 曹亮, 章晨峰, 王团结, 丁岗, 王振中, 萧伟*

(江苏康缘药业股份有限公司 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001)

[摘要] 目的:初步评价桂枝茯苓胶囊中 17 个主要成分抗子宫肌瘤细胞增殖及抗痛经作用。方法:人子宫肌瘤细胞以 4×10^3 个/孔接种于 96 孔板中,加入终质量浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 17 个主要成分作用 48 h,每组设 6 个复孔,采用 Hoechst 33342/碘化丙啶 (PI) 双染分析考察 17 个成分对人子宫肌瘤细胞的体外抑制作用;采用缩宫素 (PGF2 α) 诱导的小鼠离体子宫收缩模型评价 17 个主要成分的抗痛经生物效应,每组实验重复 10 次。结果:与空白组比较,槲皮素,桂皮醛,丹皮酚,茯苓酸,去氢土莫酸,芍药苷,芍药苷 7 个成分能明显抑制子宫肌瘤细胞的增殖,差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$);与空白组比较,没食子酸,芍药苷,丹皮酚,苦杏仁苷,苯甲酰芍药苷,5 没食子酰葡萄糖 6 个成分对小鼠离体子宫平滑肌收缩有明显抑制作用 ($P < 0.01$)。结论:槲皮素,桂皮醛,丹皮酚,茯苓酸,去氢土莫酸,芍药苷,芍药苷 7 个成分可能是桂枝茯苓胶囊治疗子宫肌瘤的主要活性成分;没食子酸,芍药苷,丹皮酚,苦杏仁苷,苯甲酰芍药苷,1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖 6 个成分可能是桂枝茯苓胶囊治疗原发性痛经的主要活性成分。

[关键词] 桂枝茯苓胶囊; 子宫肌瘤; 细胞增殖; 痛经; 子宫收缩

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0091-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016020091

Effect of Main Components from Guizhi Fuling Capsule on Human Leiomyoma Cell Proliferation and Contraction of Isolated Mouse Uterine

TAO Xiao-qian, LI Na, CAO Liang, ZHANG Chen-feng, WANG Tuan-jie,
DING Gang, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei*

(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., State Key Laboratory of New Technology
for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China)

[Abstract] **Objective:** To preliminarily evaluate the effect of 17 main components from Guizhi Fuling capsule on human leiomyoma cell proliferation and dysmenorrhea. **Method:** Human leiomyoma cells were grown in 96-well plates and treated with 17 main components ($25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) for 48 h. There were 6 complex wells for each group. Then Hoechst 33342/Propidium iodide (PI) double staining method was used to analyze the effect of the 17 main components on human leiomyoma cell, and the anti-dysmenorrhea bioactivity of the 17 components was evaluated by the model Prostaglandin F2 α (PGF2 α)-induced contraction of isolated mouse uterine, with 10 parallel tests for each group. **Result:** Compared with control group, quercetin, cinnamyl aldehyde, paeonol, pachymic acid, dehydrotumulosic acid, albiflorin and paeoniflorin inhibited human leiomyoma cell proliferation, with significant difference ($P < 0.05, P < 0.01$). Compared with control group, gallic acid, paeoniflorin, paeonol, laetrile, benzoylpaeoniflorin and 1, 2, 3, 4, 6-*O*-pentagalloylglucose significantly inhibited contraction of isolated mouse uterine ($P < 0.01$). **Conclusion:** Quercetin, cinnamyl aldehyde, paeonol, pachymic acid,

[收稿日期] 20150305(003)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项项目(2013ZX09402203)

[第一作者] 陶晓倩, 硕士, 助理研究员, 从事中药药理学研究, Tel:025-86587935, E-mail:715163355@139.com

[通讯作者] * 萧伟, 博士, 研究员级高级工程师, 从事中药新药的研究与开发, Tel:0518-81152367, E-mail:kanionlunwen@163.com

dehydrotumulosic acid, albiflorin and paeoniflorin in Guizhi Fuling capsule may be active ingredients for treating hystero myoma, while gallic acid, paeoniflorin, paeonol, laetrile, benzoylpaeoniflorin and 1, 2, 3, 4, 6-*O*-pentagalloylglucose in Guizhi Fuling capsule may be active ingredients for treating primary dysmenorrhea.

[**Key words**] Guizhi Fuling capsule; hystero myoma; cell proliferation; dysmenorrhea; uterine contraction

桂枝茯苓胶囊是东汉张仲景经典名方《金匱要略》桂枝茯苓丸的现代剂型,由桂枝、茯苓、桃仁、牡丹皮、芍药 5 味中药组成,具有活血化瘀、消癥散结的功效。临床上常用于子宫肌瘤、卵巢囊肿、子宫内膜异位、痛经、慢性盆腔炎等妇科血瘀证的治疗^[1]。已有文献报道桂枝茯苓胶囊不同分离部位对体外培养的宫颈癌细胞和卵巢颗粒细胞增殖及离体子宫收缩效应的作用,并分析鉴定出活性部位中所含的主要化合物^[2-4],但桂枝茯苓胶囊中主要成分单独对体外培养的子宫肌瘤细胞增殖和离体子宫收缩活动的直接作用还未见报道。

课题组前期对桂枝茯苓胶囊进行了入血成分分析,发现有 16 个小分子成分在体内具有一定暴露量。另外大分子类成分茯苓多糖在桂枝茯苓胶囊制剂中的含量较高(约 48%)。本实验旨在考察桂枝茯苓胶囊 16 个入血成分及茯苓多糖共 17 个成分对培养的人子宫肌瘤细胞增殖及宫缩素(PGF2 α)诱导的小鼠离体子宫收缩的影响,为阐明桂枝茯苓胶囊的药效物质基础提供数据支持。

1 材料

1.1 动物 清洁级昆明种雌性未孕小鼠,18 ~ 22 g,由南京中医药大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(苏)2002-0031。

1.2 药品与试剂 苯甲酸雌二醇注射液(上海通用药业股份有限公司,批号 130802),DMEM 培养基(Gibco 公司,批号 714498),胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司,批号 1401113),宫缩素(PGF2 α , 安徽宏业药业有限公司,批号 H34022979),胰蛋白酶, I 型胶原酶, Hoechst33342 及碘化丙啶(PI, 均购于 Sigma 公司,批号分别为 H20100116, 1616025, BCBH1647V, SLBD2912V), 没食子酸(批号 110831-201204), 芍药苷(批号 110736-201035), 桂皮醛(批号 110710-200714), 丹皮酚(批号 110708-200506), 苦杏仁苷(批号 110820-201004), 肉桂酸(批号 110786-200503), 槲皮素(批号 100081-200907), 白芍苷(批号 110736-201035), 棕榈酸(批号 190029-201001), 以上均购自于中国食品药品检定研究院, 苯甲酰芍药苷(上

海永恒生物科技有限公司,批号 20131022), 五没食子酰葡萄糖(批号 080M4745V), 香豆素(批号 030M1441V), 均购自 Sigma 公司, 茯苓酸(批号 29070-92-6), 去氢土莫酸(批号 167775-54-4), 均购自上海融禾医药科技发展有限公司, 山奈酚(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-12102503), 茯苓多糖(本实验室按文献[5]方法制备), 去氢茯苓酸(本实验室自制,经高效液相色谱鉴定,纯度 \geq 98%)。17 个成分均溶解于二甲基亚砜(DMSO)中,配成质量浓度为 100 g·L⁻¹的母液,其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器 SW-CJ-2F 型超净工作台(上海博讯实业有限公司), 3111 型二氧化碳培养箱(Thermo 公司), XDS-1B 型倒置显微镜(重庆光学仪器厂), countess 型细胞自动计数仪(Invitrogen 公司), LDZ5-2 型离心机(北京京力离心机有限公司), ImageXpress 型高内涵设备(美国 MD 公司), TSZ-04 型离体组织灌流系统, FSG-01 型压力传感器, PowerLab/8s 型多道生理记录仪, Chart 4.2 型数据分析软件(澳大利亚 AD Instruments 公司)。

2 方法

2.1 桂枝茯苓胶囊 17 个主要成分对人子宫肌瘤细胞增殖抑制的影响

2.1.1 人子宫肌瘤细胞培养及鉴定 无菌操作下取子宫肌瘤核组织数块,剪碎至 $< 1 \text{ mm}^3$,立即置于含抗生素的 PBS 中,培养方法参照文献[6]方法。培养过程中隔天换液 1 次,并在倒置显微镜下观察细胞生长情况。细胞用 α -actin 抗体进行免疫细胞化学法染色鉴定是否为子宫肌瘤细胞。

2.1.2 细胞分组及给药 取对数生长期的细胞,以 4×10^4 个/mL,每孔 100 μL 接种于 96 孔板,培养 24 h 后进行给药实验。实验分为空白组(加入 100 μL 含 0.1% DMSO 的空白培养基)和各给药组(加入 100 μL 含药物的空白培养基),每组设 6 个复孔。各给药组终质量浓度为 25 mg·L⁻¹。

2.1.3 细胞坏死率检测 药物作用人子宫肌瘤细胞 48 h 后,无血清培养基洗板 1 次,各孔加入 100 μL Hoechst33342/PT 染液(Hoechst33342 终质

量浓度 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, PI 终质量浓度 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 体积比为 1:1), 避光, 放入细胞培养箱中孵育 0.5 h 后, 无血清培养基洗板 1 次, 每孔加入 $100 \mu\text{L}$ 无血清培养基, 高内涵(HCS)设备拍照, 计算阳性细胞率(细胞坏死率), 即 PI 染色数/Hoechst 染色数 $\times 100\%$ 。选择有效成分按照上述方法重复实验 1 次。

2.2 桂枝茯苓胶囊 17 个主要成分对小鼠离体子宫收缩活动的影响 取未孕雌性小鼠, 实验前连续 3 d *ip* 苯甲酸雌二醇 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (同步化子宫周期并增加对缩宫素的敏感性)。于第 4 天取出小鼠子宫, 置 Locke's 溶液中清洗, 用细线分别扎住子宫颈端及两侧卵巢端, 一端固定于浴槽底部, 另一端连接在张力换能器上。置于含 20 mL Locke's 溶液的恒温浴槽中, 温度为 $(37 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$, 通入 95% O_2 及 5% CO_2 混合气体, 通过调节螺母加 1 g 的负荷, 平衡 40 min, 待子宫收缩稳定, 自发节律恢复后开始实验。预先记录 5 ~ 10 min 正常收缩曲线, 之后加入 $\text{PGF}2\alpha$ (终浓度为 $3 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 作用 15 min 后加入各受试药

物, 桂枝茯苓胶囊成分组均溶于含 0.1% DMSO 去离子水, 加药浓度均为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 以含 0.1% DMSO 去离子水为空白组。以 Chart 4.2 软件统计给药前及给药后子宫的肌张力, 以 $\text{PGF}2\alpha$ 引起子宫平滑肌条稳定持续收缩后 10 min 内各指标为 100%, 按如下公式计算抑制子宫收缩率 (IR)。

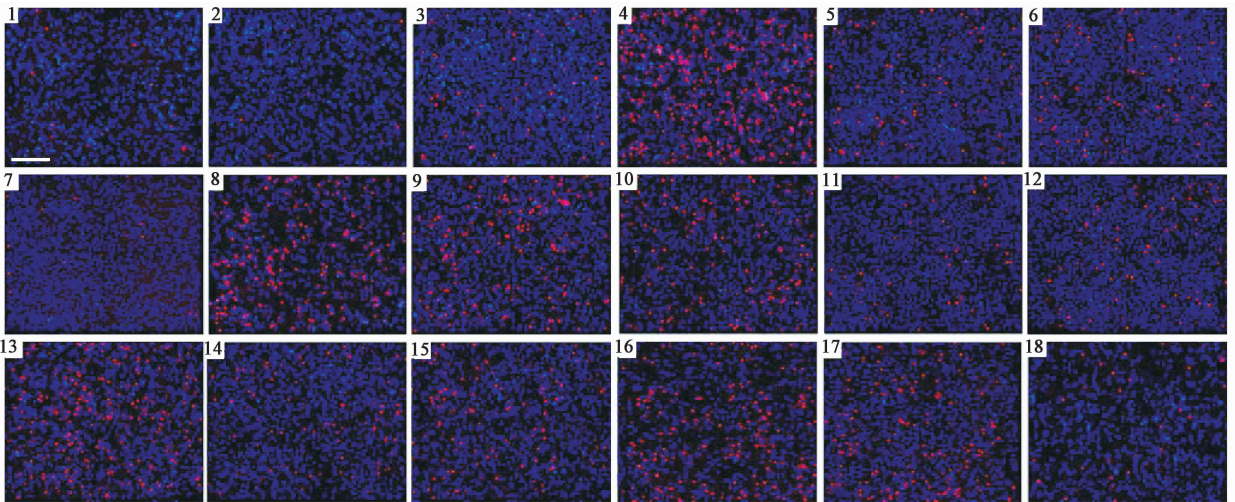
$$\text{IR} = (\text{给药前参数} - \text{给药后参数}) / \text{给药前参数} \times 100\%$$

2.3 数据处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用检验单因素方差进行分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 17 个成分对人子宫肌瘤细胞增殖的影响

3.1.1 17 个成分对人子宫肌瘤细胞的抑制作用 17 个成分中有 7 个成分(槲皮素, 桂皮醛, 丹皮酚, 茯苓酸, 去氢土莫酸, 白芍苷, 芍药苷)的作用相对较强, 细胞坏死率(阳性细胞率)在 23% ~ 45%, 且与空白组比较有统计学差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 1, 表 1。



1. 空白组; 2. 苦杏仁苷组; 3. 苯甲酰芍药苷组; 4. 槲皮素组; 5. 五没食子酰葡萄糖组; 6. 茯苓多糖组; 7. 香豆素组; 8. 丹皮酚组; 9. 桂皮醛组; 10. 茯苓酸组; 11. 没食子酸组; 12. 肉桂酸组; 13. 芍药苷组; 14. 去氢茯苓酸组; 15. 山奈酚组; 16. 去氢土莫酸组; 17. 白芍苷组; 18. 棕榈酸组。标尺 400 μm

图 1 17 个成分对子宫肌瘤细胞坏死率的影响 (Hoechst/PI)

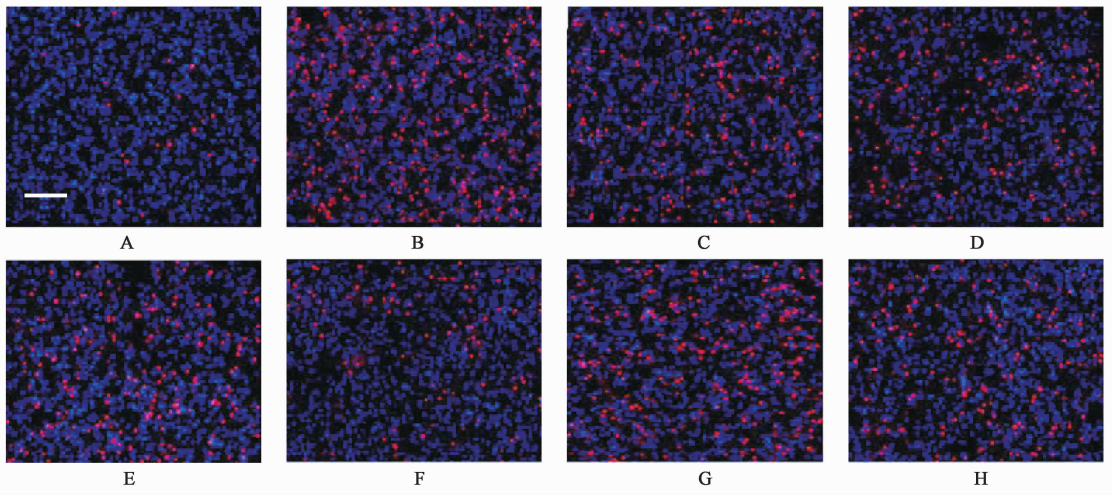
Fig. 1 Effects of 17 components on necrosis rate of uterine leiomyoma cells by using HCS analysis (Hoechst/PI)

3.1.2 7 个初筛活性成分对人子宫肌瘤细胞抑制作用的再验证 对上述 7 个活性较强成分进行重复筛选, 槲皮素, 桂皮醛, 丹皮酚, 茯苓酸, 去氢土莫酸, 白芍苷, 芍药苷具有抑制子宫肌瘤细胞体外增殖的作用, 阳性细胞率在 25% ~ 50%, 与初筛结果一致, 与空白组比较均有统计学差异 ($P < 0.01$)。见图 2, 表 2。

3.2 17 个成分对小鼠离体子宫收缩的影响

3.2.1 17 个成分对小鼠离体子宫收缩的抑制作用 没食子酸, 芍药苷, 丹皮酚, 苦杏仁苷, 苯甲酰芍药苷, 五没食子酰葡萄糖对小鼠离体子宫平滑肌收缩有抑制作用, 与空白组比较有显著性差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 3。

3.2.2 6 个初筛活性成分对抑制小鼠离体子宫收



A. 空白组; B. 槲皮素组; C. 丹皮酚组; D. 桂皮醛组; E. 茯苓酸组; F. 芍药苷组; G. 去氢土莫酸组; H. 白芍苷组 (标尺 400 μm)

图 2 7 个活性成分 (25 mg·L⁻¹) 对子宫肌瘤细胞坏死率的影响 (Hoechst/PI)

Fig. 2 Effects of 7 active components on necrosis rate of uterine leiomyoma cells by using HCS analysis (Hoechst/PI)

表 1 17 个成分对子宫肌瘤细胞坏死率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effects of 17 components on necrosis rate of uterine leiomyoma cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 质量浓度/mg·L ⁻¹ | 细胞坏死率/% |
|----------|-------------------------|--------------------------|
| 空白 | - | 1.7 ± 0.6 |
| 苦杏仁苷 | 25 | 1.3 ± 0.6 |
| 苯甲酰芍药苷 | 25 | 3.7 ± 3.1 |
| 槲皮素 | 25 | 44.7 ± 3.5 ¹⁾ |
| 五没食子酰葡萄糖 | 25 | 3.7 ± 0.6 |
| 茯苓多糖 | 25 | 5.0 ± 0.0 |
| 香豆素 | 25 | 1.3 ± 0.6 |
| 丹皮酚 | 25 | 33.0 ± 2.0 ²⁾ |
| 桂皮醛 | 25 | 26.0 ± 1.7 ²⁾ |
| 茯苓酸 | 25 | 23.7 ± 2.1 ¹⁾ |
| 没食子酸 | 25 | 5.7 ± 1.5 |
| 肉桂酸 | 25 | 8.0 ± 4.0 |
| 芍药苷 | 25 | 27.0 ± 3.5 ¹⁾ |
| 去氢茯苓酸 | 25 | 7.7 ± 1.2 |
| 山奈酚 | 25 | 10.0 ± 3.0 |
| 去氢土莫酸 | 25 | 34.0 ± 2.7 ¹⁾ |
| 白芍苷 | 25 | 31.7 ± 3.1 ¹⁾ |
| 棕榈酸 | 25 | 3.3 ± 1.2 |

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

缩作用的再验证 进一步验证桂枝茯苓胶囊中 6 个活性成分对子宫收缩的抑制作用,没食子酸,芍药苷,丹皮酚,苦杏仁苷,苯甲酰芍药苷,五没食子酰葡萄糖对小鼠离体子宫平滑肌收缩有抑制作用,与空

表 2 HCS 检测 7 个活性成分对子宫肌瘤细胞坏死率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of 7 active components on necrosis rate of uterine leiomyoma cells by using HCS analysis ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 分组 | 质量浓度/mg·L ⁻¹ | 细胞坏死率/% |
|-------|-------------------------|--------------------------|
| 空白 | - | 2.0 ± 0.0 |
| 槲皮素 | 25 | 48.0 ± 4.6 ²⁾ |
| 丹皮酚 | 25 | 31.0 ± 5.2 ²⁾ |
| 桂皮醛 | 25 | 25.3 ± 3.8 ²⁾ |
| 茯苓酸 | 25 | 31.3 ± 3.5 ²⁾ |
| 芍药苷 | 25 | 29.3 ± 2.1 ²⁾ |
| 去氢土莫酸 | 25 | 43.0 ± 5.6 ²⁾ |
| 白芍苷 | 25 | 32.3 ± 2.5 ²⁾ |

白组比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。见表 4。

4 讨论

子宫平滑肌瘤简称子宫肌瘤,是女性生殖器官中最常见的良性肿瘤,也是导致女性子宫切除的重要原因之一^[7]。在 30~50 岁的妇女中,其患病率最高,严重危害女性身心健康。原发性痛经则经常见于青年妇女,流行病学研究表明原发性痛经是目前妇科最常见疾病之一^[8]。近年研究发现,缩宫素与原发性痛经的发病有关,痛经患者体内缩宫素水平远较非痛经患者高,被认为是原发性痛经治病原因之一^[9]。缩宫素可引起离体子宫强烈而持久的收缩,这种收缩类似于痛经子宫强烈收缩,因而常被用于痛经模型的工具药物^[4]。桂枝茯苓胶囊在临床上已广泛用于治疗子宫肌瘤和原发性痛经,但具体的物质基础还未可知。

表 3 17 个成分对小鼠离体子宫平滑肌收缩活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of 17 components on mouse uterine contractions *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | 给药前肌张力/g | 给药后肌张力/g | 肌张力平均抑制率/% |
|----------|---------------------------------------|-------------|-------------|----------------------------|
| 空白 | - | 3.14 ± 0.10 | 2.88 ± 0.08 | 8.28 ± 5.45 |
| 没食子酸 | 25 | 3.18 ± 0.07 | 2.27 ± 0.14 | 28.65 ± 2.74 ²⁾ |
| 芍药苷 | 25 | 3.36 ± 0.13 | 2.16 ± 0.09 | 35.52 ± 0.72 ²⁾ |
| 桂皮醛 | 25 | 3.25 ± 0.10 | 2.95 ± 0.06 | 9.35 ± 0.93 |
| 丹皮酚 | 25 | 3.51 ± 0.23 | 1.99 ± 0.22 | 43.00 ± 9.19 ²⁾ |
| 苦杏仁苷 | 25 | 3.36 ± 0.09 | 2.20 ± 0.16 | 34.69 ± 3.05 ²⁾ |
| 去氢茯苓酸 | 25 | 3.26 ± 0.11 | 2.79 ± 0.10 | 14.28 ± 5.84 |
| 肉桂酸 | 25 | 3.31 ± 0.07 | 2.96 ± 0.11 | 10.73 ± 3.69 |
| 苯甲酰芍药苷 | 25 | 3.31 ± 0.14 | 2.41 ± 0.26 | 27.15 ± 9.78 ¹⁾ |
| 茯苓酸 | 25 | 3.31 ± 0.19 | 2.96 ± 0.13 | 10.30 ± 8.51 |
| 槲皮素 | 25 | 3.38 ± 0.09 | 2.99 ± 0.14 | 11.75 ± 3.86 |
| 五没食子酰葡萄糖 | 25 | 3.58 ± 0.11 | 2.12 ± 0.23 | 40.86 ± 7.17 ²⁾ |
| 香豆素 | 25 | 3.39 ± 0.17 | 2.96 ± 0.08 | 12.66 ± 3.46 |
| 去氢土莫酸 | 25 | 3.31 ± 0.11 | 2.93 ± 0.06 | 11.49 ± 3.00 |
| 白芍苷 | 25 | 3.29 ± 0.05 | 2.72 ± 0.17 | 17.40 ± 5.67 |
| 山奈酚 | 25 | 3.29 ± 0.13 | 2.77 ± 0.18 | 15.58 ± 6.45 |
| 棕榈酸 | 25 | 3.40 ± 0.18 | 2.91 ± 0.16 | 14.21 ± 7.21 |
| 茯苓多糖 | 25 | 3.22 ± 0.20 | 2.65 ± 0.26 | 17.52 ± 10.43 |

表 4 6 个活性成分对小鼠离体子宫平滑肌收缩活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of 6 active components on mouse uterine contractions *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | 给药前肌张力/g | 给药后肌张力/g | 肌张力平均抑制率/% |
|----------|---------------------------------------|-------------|-------------|----------------------------|
| 空白 | - | 3.45 ± 0.21 | 3.05 ± 0.09 | 11.26 ± 2.92 |
| 没食子酸 | 25 | 3.28 ± 0.16 | 2.28 ± 0.11 | 30.48 ± 5.73 ²⁾ |
| 芍药苷 | 25 | 3.39 ± 0.13 | 2.38 ± 0.11 | 29.90 ± 2.34 ²⁾ |
| 丹皮酚 | 25 | 3.41 ± 0.21 | 2.26 ± 0.20 | 33.81 ± 2.07 ²⁾ |
| 苦杏仁苷 | 25 | 3.50 ± 0.16 | 2.52 ± 0.14 | 28.12 ± 2.87 ²⁾ |
| 苯甲酰芍药苷 | 25 | 3.40 ± 0.08 | 2.40 ± 0.22 | 29.68 ± 4.80 ²⁾ |
| 五没食子酰葡萄糖 | 25 | 3.31 ± 0.05 | 2.18 ± 0.12 | 34.08 ± 3.72 ²⁾ |

本研究采用 Hoechst/PI 双染法考察桂枝茯苓胶囊的 17 个成分对子宫肌瘤细胞增殖的影响,发现槲皮素,桂皮醛,丹皮酚,茯苓酸,去氢土莫酸,白芍苷,芍药苷 7 个成分能较好的抑制子宫肌瘤的增殖。同时观察桂枝茯苓胶囊 17 个成分对小鼠离体子宫收缩活动的影响,发现没食子酸,芍药苷,丹皮酚,苦杏仁苷,苯甲酰芍药苷,五没食子酰葡萄糖 6 个成分对于离体子宫收缩频率,平均肌张力均有不同程度的抑制作用。

肿瘤的发生一般与炎症和氧化应激状态密切相关^[10-11]。研究显示^[12-13],槲皮素具有抗氧化、抗肿

瘤、抗炎等多种药理作用,通过下调抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2) 表达,上调促凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 的表达来诱导肿瘤细胞凋亡,还可以通过对抗致癌和促癌因子,抑制癌细胞的生长和增殖,但对正常组织细胞的影响却很小。桂皮醛体外实验表明对法尼基蛋白转移酶,血管生成,细胞黏附,肿瘤细胞生长的免疫调节具有抑制作用^[14],提示桂皮醛可通过阻止有丝分裂抑制子宫肌瘤肿瘤细胞增殖。研究发现丹皮酚的抗肿瘤作用不仅体现在直接抑制肿瘤细胞生长,还具有逆转肿瘤细胞多药耐药的作用和对多种化疗药物的增敏作

用^[15]。实验室前期研究^[4]在桂枝茯苓胶囊拮抗子宫平滑肌收缩的活性部位中共鉴定出8个化合物,本实验筛选出的没食子酸,芍药苷,丹皮酚,苦杏仁苷,苯甲酰芍药苷,五没食子酰葡萄糖6个活性成分均包含在内,说明跟前期研究一致。茯苓酸和去氢土莫酸均为茯苓中的1种三萜类化合物。有实验证实,茯苓三萜对多种肿瘤均具有抑制活性^[16]。芍药苷和白芍苷(芍药内酯苷)为芍药的主要有效成分,是一组单萜类糖苷化合物,已有研究表明芍药苷有多方面药理活性,而白芍苷药理作用报道较少。芍药苷能通过抑制肿瘤细胞膜上ATP酶的活性和升高腺苷酸环化酶活性对肿瘤细胞有一定的抑制作用^[17];另外,刘春美等^[18]鉴定出芍药苷是苓连四物汤抑制小鼠离体子宫收缩活性部位中的一个成分,这与本研究结果一致;本文发现白芍苷具有抑制子宫肌细胞增殖的作用,但还未见白芍苷有抗肿瘤活性的报道。

本研究初步阐明了桂枝茯苓胶囊治疗子宫肌瘤和原发性痛经的药效物质基础,但不同成分之间的协同关系及治疗的作用机制还有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 张伟,王雪,秦建平,等. DART-Q-TOF-MS快速鉴别桂枝茯苓胶囊中6种化学成分[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(21): 4118-4122.

[2] 方莲花,陈若芸,郭晶,等. 桂枝茯苓胶囊提取物的体外抗肿瘤活性及机制[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(10): 813-817.

[3] 王振中,范麒如,窦霞,等. 桂枝茯苓胶囊对大鼠体外培养卵巢颗粒细胞增殖的影响及物质基础评价[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(10): 1307-1309.

[4] 王振中,范麒如,窦霞,等. 桂枝茯苓胶囊抑制小鼠离体子宫收缩效应及其物质基础评价[J]. 中草药, 2009, 40(4): 609-611.

[5] 李俊,韩向晖,李仲洪,等. 茯苓多糖的提取及含量测定[J]. 中国现代应用药学杂志, 2000, 17(1): 49-50.

[6] 李芙蓉,蔡云朗,任慕兰. 双酚A对离体人子宫肌细胞增殖的影响[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(4): 311-313.

[7] 史金凤,尹伶,濮德敏. 子宫肌瘤病因及发生机理研究进展[J]. 实用妇产科杂志, 2001, 17(1): 17-19.

[8] 汪明德,姜萍,陈素红,等. 痛经宁颗粒治疗原发性痛经的实验研究[J]. 中医药学刊, 2006, 24(3): 444-447.

[9] 华永庆,洪敏,朱荃. 原发性痛经研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(1): 62-64.

[10] Butt M S, Sultan M T. Ginger and its health claims: molecular aspects[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2011, 51(5): 383-393.

[11] Sang S, Hong J, Wu H, et al. Increased growth inhibitory effects on human cancer cells and anti-inflammatory potency of shogaols from Zingiber officinale relative to gingerols[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(22): 10645-10650.

[12] 骆明旭,罗丹,赵万红. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2014(17): 12-14.

[13] Wang P, Vadgama J V, Said J W, et al. Enhanced inhibition of prostate cancer xenograft tumor growth by combining quercetin and green tea[J]. J Nutr Biochem, 2014, 25(1): 73-80.

[14] 丁媛媛. 桂皮醛对CVB₃诱发的小鼠病毒性心肌炎的作用机制研究[D]. 西安:第四军医大学, 2009.

[15] 郭齐,李贻奎,王志国,等. 丹皮酚药理研究进展[J]. 中医药信息, 2009, 26(1): 20-22.

[16] Kwon M S, Chung S K, Choi J U, et al. Antimicrobial and antitumor activity of triterpenoids fraction from *Poria cocos* wolf [J]. J Korean Society Food Science Nutrition, 1999, 28(5): 1029-1033.

[17] 郑世存,李晓宇,欧阳兵,等. 芍药苷药理作用研究新进展[J]. 中国药物警戒, 2012, 9(2): 100-103.

[18] 刘春美,唐于平,华永庆,等. 苓连四物汤抑制小鼠离体子宫收缩效应评价及活性部位的成分分析[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(24): 3362-3367.

[责任编辑 聂淑琴]