

文章编号:1001-6880(2016)10-1633-06

益母草注射液生物碱单体配伍对离体子宫收缩活动的影响

代良萍,谢晓芳,孙晨,敖慧,董艳红,彭成*

成都中医药大学药学院 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地,成都 610075

摘要:采用离体子宫模型,通过观察水苏碱、胆碱和葫芦巴碱单独应用以及两两配伍应用(2:1、1:1、1:2)对大鼠及豚鼠正常离体子宫收缩活动的影响。结果表明, 3×10^{-5} mol/L 水苏碱、胆碱和葫芦巴碱及其两两配伍(1:1、2:1、1:2)对正常大鼠离体子宫收缩活动无明显影响;对豚鼠离体子宫收缩活动有兴奋作用,主要是通过增加其收缩幅度达到,同时减少收缩频率。水苏碱、胆碱和葫芦巴碱对子宫活动呈现兴奋作用,效应与动物种属有关,且对子宫的作用不存在协同或拮抗作用。

关键词:水苏碱;胆碱;葫芦巴碱;离体子宫;配伍**中图分类号:**R285.5**文献标识码:**A**DOI:**10.16333/j.1001-6880.2016.10.025

Effect of Alkaloid Monomer of Yimucao Injection on Isolated Smooth Muscle of Uterus

DAI Liang-ping, XIE Xiao-fang, SUN Chen, AO Hui, DONG Yan-hong, PENG Cheng*

College of medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Ministry of Education, Chengdu 610075, China

Abstract: To study the effect of alkaloid constituents extracted from Yimucao Injection (YMCI) on uterine contractile activity, isolated uterus were prepared and treated by stachydrine, choline and trigonelline respectively or compatibilities between each two constituents at ratios of 2: 1, 1: 1, 1: 2. Peak area (PA), frequency (Fre), mean contractile force (MCF) and amplitude (Amp) were monitored. The results showed that the 3×10^{-5} mol/L stachydrine, choline and trigonelline and its two compatibility (1: 1, 2: 1 and 1: 2) had no obvious effect on uterine contractions *in vitro* of normal rats. But they can induce stimulate effects on the uterine contraction of the guinea pigs, which is mainly by increasing its shrinkage rate and at the same time reducing the frequency of contraction. Stachydrine, choline and trigonelline can have excitation on uterine activity, which is related to animal species, and there is no synergistic effect or antagonism on uterine.

Key words: stachydrine; choline; trigonelline; uterine; compatibility

益母草是唇形科益母草属的一种一年生或二年生草本植物(*Leonurus japonicus* Houtt.),别名益母艾、茺蔚,味辛、微苦,入心包、肝经,具有活血调经、利尿消肿的功效^[1]。现代研究表明,益母草提取物具有兴奋子宫的作用^[2]。本课题组前期研究发现,由益母草开发而来的益母草注射液中,其水溶性生物碱是兴奋子宫活动的重要物质基础^[3]。胆碱、葫芦巴碱和水苏碱均从益母草注射液中提取分离获得^[4],本课题将采用离体子宫模型,评价水苏碱、胆

碱、葫芦巴碱及两两配伍对大鼠及豚鼠离体子宫活动的调节作用,旨在进一步明确益母草注射液的缩宫物质基础及其工艺提升具有科学意义。

1 材料与仪器

1.1 实验药物

水苏碱、胆碱、葫芦巴碱,均从益母草注射液浸膏中制备,由成都中医药大学中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地提供,经结构鉴定,纯度达 99.5%^[4]。试验前,用 0.9% 生理盐水配成 1×10^{-4} mol/L,再根据需要配成相应浓度使用。

1.2 实验动物

SD 大鼠,清洁级,雌性,体重 180 ~ 220 g,由四川省中医药科学院提供,动物质量合格证号:SCXK

收稿日期:2016-03-21 接受日期:2016-07-15

基金项目:国家自然科学基金人才培养项目(J1310034);成都中医药大学中药基础基地科研训练及科研能力提高项目;中药药理四川省青年基金科技创新研究团队(2014TD0007);中药资源四川省青年科技创新研究团队(2015TD0028)

* 通讯作者 E-mail: pengchengchengdu@126.com

(川)2013-19,检疫后备用;豚鼠,英国种,普通级,雌性,体重250~280 g,由四川实验动物专委会养殖场提供,质量合格证号:SCXK(川)2008-14。

1.3 主要试剂及仪器

戊酸雌二醇片(美国拜耳公司,批号113A),用蒸馏水配成0.8 mg/mL混悬液使用)。NaCl、KC1、CaCl₂、NaHCO₃、无水葡萄糖(均由成都市科龙化工试剂公司生产,批号分别为20130613、20120427、20130724、20130409、20110331,采用去离子水配置洛氏液:1000 mL含NaCl 9.2 g、KC1 0.42 g、CaCl₂ 0.24 g、NaHCO₃ 0.15 g、无水葡萄糖1.0 g)。BL-420E生物机能系统,JH-2型张力换能器,HW-400E型恒温水浴平滑肌槽,均由成都泰盟科技有限公司生产。

2 实验方法

2.1 大鼠离体子宫试验

取健康、成年雌性未孕大鼠,分别在实验前2日灌胃戊酸雌二醇8 mg/kg,以造成动情期。于第3日颈椎脱臼处死动物,迅速剖取子宫置于盛有洛氏液的玻璃皿中,轻轻剥离子宫上附有的结缔组织和脂肪组织。取子宫中间段2~3 cm,一端固定于盛有洛氏液20 mL的浴槽,另一端连接张力换能器,浴槽中营养液保持(37 ± 0.5) °C,并通以(95% O₂ + 5% CO₂)的混合气体,1~2个小气泡/s,前负荷1 g。用BL-420E生物机能系统记录子宫收缩曲线^[5]。

待曲线稳定后,加入1 × 10⁻⁴ mol/L水苏碱60 μL、1 × 10⁻⁴ mol/L胆碱60 μL,或水苏碱与胆碱不同体积配伍(30 μL/30 μL、40 μL/20 μL、20 μL/40 μL,分别相当于配伍比例1:1、2:1、1:2);1 × 10⁻⁴ mol/L水苏碱60 μL、1 × 10⁻⁴ mol/L葫芦巴碱60 μL,或水苏碱与葫芦巴碱不同体积配伍(330 μL/30 μL、40 μL/20 μL、20 μL/40 μL,分别相当于配伍比例1:1、2:1、1:2);1 × 10⁻⁴ mol/L胆碱60 μL、1 × 10⁻⁴ mol/L葫芦巴碱60 μL,或胆碱与葫芦巴碱不同体积配伍(30 μL/30 μL、40 μL/20 μL、20 μL/40 μL,分别相当于配伍比例1:1、2:1、1:2)。每次给药后,观察记录子宫收缩活动10 min,然后用洛氏液清洗子宫3次,待子宫收缩稳定后,进行第二次给药。比较给药前后子宫收缩张力、频率和活动力的变化。

2.2 豚鼠离体子宫试验

取健康、成年雌性未孕豚鼠,分别在实验前2日

每日灌胃戊酸雌二醇8 mg/kg以造成动情期。然后采用同上方法固定离体子宫,前负荷1 g,用BL-420E生物机能系统记录子宫收缩曲线^[5]。待曲线稳定30 min后,同上给药方式给予水苏碱、胆碱及其配伍;水苏碱、葫芦巴碱及其配伍;胆碱、葫芦巴碱及其配伍,每次给药后记录10 min子宫收缩曲线,然后用洛氏液清洗3次,待子宫活动再次稳定后,给予下一组药物。比较子宫收缩幅度最大值、频率和活动力变化。

2.3 统计学分析

用SPSS 19.0统计软件建立数据库,采用配对t检验统计分析给药前后子宫收缩张力、频率和活动力的变化,结果以($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为显著性差异, $P < 0.01$ 为极显著性差异。

3 实验结果

3.1 水苏碱与胆碱配伍

3.1.1 对大鼠正常离体子宫收缩活动的影响

空白对照组正常大鼠离体子宫活动比较稳定,水苏碱、胆碱单独给药后,对子宫收缩活动力、收缩平均张力均有增加趋势,对收缩频率有降低趋势,但均无统计学意义;经水苏碱和胆碱配伍给药后,水苏碱和胆碱(2:1)对子宫对子宫活动力、频率、收缩平均张力均有增加趋势,对收缩振幅有降低趋势,水苏碱和胆碱(1:1、1:2)对子宫活动力、频率、收缩平均张力均有增加趋势,对收缩振幅有降低趋势,但均无统计学意义,结果见表1。

3.1.2 对豚鼠正常离体子宫收活动的影响

空白对照组正常豚鼠离体子宫活动比较稳定,水苏碱、胆碱单独给药后,显著增加子宫收缩活动力、收缩平均张力、收缩振幅,显著降低子宫收缩频率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);经水苏碱和胆碱配伍给药后,水苏碱和胆碱(2:1、1:1、1:2)对子宫活动力、收缩平均张力、均有增加趋势,显著增加子宫收缩振幅($P < 0.01$),水苏碱和胆碱(2:1、1:2)显著降低豚鼠子宫收缩频率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),结果见表2。

3.2 水苏碱与葫芦巴碱配伍

3.2.1 对大鼠正常离体子宫收缩活动的影响

空白对照组正常大鼠离体子宫活动比较稳定,水苏碱、葫芦巴碱单独给药后,对子宫收缩活动力、收缩平均张力、收缩振幅均有增加趋势,对收缩频率有降低趋势,但均无统计学意义;经水苏碱和葫芦巴

表 1 水苏碱与胆碱配伍对正常大鼠离体子宫收缩活动的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 Effect of stachydrine and choline compatibility on normal rat uterus($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 Group | 剂量 Concentration (mol/L) | 峰面积 Peak area (g × s) | | 频率(次/10 min) frequency | | 平均张力 mean contractile force (g) | | 振幅 Amplitude (g) | |
|--------------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration |
| 空白对照 Control | - | 1327.50 ± 189.40 | 1447.50 ± 222.97 | 6.60 ± 2.01 | 6.10 ± 1.73 | 2.21 ± 0.31 | 2.40 ± 0.37 | 3.18 ± 0.46 | 3.41 ± 0.67 |
| 水苏碱 Stachydrine | 3.0×10^{-5} | 975.10 ± 245.47 | 1122.50 ± 404.43 | 6.10 ± 2.42 | 6.10 ± 2.02 | 1.61 ± 0.41 | 1.86 ± 0.68 | 3.07 ± 0.83 | 3.54 ± 0.96 |
| 胆碱 choline | 3.0×10^{-5} | 986.82 ± 236.09 | 1080.09 ± 379.90 | 6.18 ± 2.32 | 6.00 ± 1.73 | 1.64 ± 0.39 | 1.76 ± 0.65 | 5.30 ± 7.33 | 2.96 ± 0.80 |
| 水/胆 (2:1) | 2.0×10^{-5} | 975.10 ± 245.47 | 1120.30 ± 335.72 | 6.18 ± 2.32 | 6.45 ± 1.57 | 1.64 ± 1.57 | 1.85 ± 0.51 | 5.30 ± 7.33 | 3.17 ± 1.01 |
| 水/胆 (1:1) | 1.5×10^{-5} | 947.60 ± 262.88 | 894.70 ± 205.78 | 6.18 ± 2.32 | 5.00 ± 2.61 | 1.59 ± 0.42 | 1.48 ± 0.32 | 5.37 ± 7.30 | 2.72 ± 1.08 |
| 水/胆 (1:2) | 1.0×10^{-5} | 962.67 ± 274.21 | 958.00 ± 232.88 | 6.50 ± 2.17 | 5.50 ± 1.72 | 1.62 ± 0.44 | 1.57 ± 0.37 | 5.69 ± 7.61 | 2.95 ± 11.18 |

表 2 水苏碱与胆碱配伍对正常豚鼠离体子宫收缩活动的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Effect of stachydrine and choline compatibility on normal guinea pigs uterus($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 Group | 剂量 Concentration (mol/L) | 峰面积 Peak area (g × s) | | 频率(次/10 min) frequency | | 平均张力 mean contractile force (g) | | 振幅 Amplitude (g) | |
|--------------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration |
| 空白对照 Control | - | 795.20 ± 124.58 | 801.50 ± 161.67 | 3.00 ± 0.94 | 3.10 ± 0.88 | 1.34 ± 0.20 | 1.36 ± 0.25 | 0.85 ± 0.53 | 0.88 ± 0.62 |
| 水苏碱 Stachydrine | 3.0×10^{-5} | 1009.54 ± 180.79 | 1344.46 ± 564.32 * | 6.08 ± 3.68 | 3.38 ± 3.50 * | 1.67 ± 0.30 | 2.23 ± 0.94 * | 2.26 ± 0.79 | 2.75 ± 1.04 ** |
| 胆碱 choline | 3.0×10^{-5} | 957.50 ± 212.02 | 1260.70 ± 486.48 * | 11.25 ± 7.26 | 5.92 ± 6.35 * | 1.58 ± 0.36 | 2.09 ± 0.81 * | 2.13 ± 0.77 | 2.92 ± 1.02 ** |
| 水/胆(2:1) | 2.0×10^{-5} | 892.40 ± 191.49 | 1049.90 ± 506.77 | 11.10 ± 7.08 | 6.50 ± 6.90 * | 1.48 ± 0.32 | 1.74 ± 0.84 | 2.11 ± 0.72 | 2.80 ± 0.87 ** |
| 水/胆(1:1) | 1.5×10^{-5} | 888.67 ± 177.90 | 939.00 ± 344.12 | 6.00 ± 4.00 | 2.00 ± 1.55 | 1.47 ± 0.30 | 1.55 ± 0.57 | 2.15 ± 0.70 | 3.06 ± 0.89 ** |
| 水/胆(1:2) | 1.0×10^{-5} | 892.40 ± 191.49 | 1166.40 ± 536.06 | 11.10 ± 7.08 | 3.50 ± 2.37 ** | 1.48 ± 0.32 | 1.93 ± 0.89 | 2.15 ± 0.70 | 3.16 ± 0.77 ** |

注:与给药前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs before administration.

碱配伍给药后,水苏碱和葫芦巴碱(2:1、1:1、1:2)对子宫收缩活动力、收缩平均张力均有增加趋势,对子宫收缩频率、振幅均有降低趋势,但均无统计学意义,结果见表3。

3.2.2 对豚鼠正常离体子宫收缩活动的影响

空白对照组豚鼠正常离体子宫活动比较稳定,水苏碱单独给药后,对子宫收缩活动力、收缩振幅均有增加趋势,显著增加收缩平均张力($P < 0.05$),显著降低子宫收缩频率($P < 0.05$),葫芦巴碱单独给药后,对子宫收缩活动力、收缩平均张力、收缩振幅

均有增加趋势,显著降低子宫收缩频率($P < 0.05$);经水苏碱和葫芦巴碱配伍给药后,水苏碱和葫芦巴碱(2:1、1:1、1:2)对子宫收缩活动力、收缩振幅均有增加趋势,可显著增加收缩平均张力($P < 0.05$),且水苏碱和葫芦巴碱(1:2)显著降低子宫收缩频率结果见表4。

3.3 胆碱与葫芦巴碱配伍

3.3.1 对大鼠正常离体子宫收缩活动的影响

空白对照组正常大鼠离体子宫活动比较稳定,胆碱、葫芦巴碱单独给药后,对子宫收缩活动力、收

表3 水苏碱与葫芦巴碱配伍对正常大鼠离体子宫收缩活动的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 3 Effect of Stachydrine and Trigonelline compatibility on normal rat uterus ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 Group | 剂量 Concentration (mol/L) | 峰面积 Peak area (g × s) | | 频率(次/10 min) frequency | | 平均张力 mean contractile force (g) | | 振幅 Amplitude (g) | |
|----------------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration |
| 空白对照 Control | - | 1327.50 ± 189.40 | 1447.50 ± 222.97 | 6.60 ± 2.01 | 6.10 ± 1.73 | 2.21 ± 0.31 | 2.40 ± 0.37 | 3.18 ± 0.46 | 3.41 ± 0.67 |
| 水苏碱 Stachydrine | 3.0×10^{-5} | 896.64 ± 240.94 | 1046.09 ± 539.67 | 5.82 ± 2.75 | 5.09 ± 2.47 | 1.47 ± 0.38 | 1.73 ± 0.89 | 3.03 ± 0.80 | 3.21 ± 1.21 |
| 葫芦巴碱 Trigonelline | 3.0×10^{-5} | 896.64 ± 240.94 | 1110.18 ± 487.54 | 5.82 ± 2.75 | 4.73 ± 2.00 | 1.47 ± 0.38 | 1.83 ± 0.80 | 3.03 ± 0.80 | 3.10 ± 0.88 |
| 水/葫(2:1) | 2.0×10^{-5} | 896.64 ± 240.94 | 1031.45 ± 275.06 | 5.82 ± 2.75 | 4.64 ± 1.91 | 1.47 ± 0.38 | 1.71 ± 0.46 | 3.03 ± 0.80 | 2.97 ± 0.65 |
| 水/葫(1:1) | 1.5×10^{-5} | 896.64 ± 240.94 | 1090.55 ± 310.74 | 5.82 ± 2.75 | 5.27 ± 2.05 | 1.47 ± 0.38 | 1.80 ± 0.52 | 3.03 ± 0.80 | 2.95 ± 0.62 |
| 水/葫(1:2) | 1.0×10^{-5} | 879.36 ± 252.94 | 1073.91 ± 299.14 | 6.27 ± 2.65 | 5.18 ± 2.14 | 1.44 ± 0.40 | 1.78 ± 0.50 | 2.89 ± 0.70 | 2.68 ± 0.80 |

表4 水苏碱与葫芦巴碱配伍对正常豚鼠离体子宫收缩活动的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 4 Effect of Stachydrine and Trigonelline compatibility on normal guinea pigs uterus ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 Group | 剂量 Concentration (mol/L) | 峰面积 Peak area (g × s) | | 频率(次/10 min) frequency | | 平均张力 mean contractile force (g) | | 振幅 Amplitude (g) | |
|----------------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration |
| 空白对照 Control | - | 795.20 ± 124.58 | 801.50 ± 161.67 | 3.00 ± 0.94 | 3.10 ± 0.88 | 1.34 ± 0.20 | 1.36 ± 0.25 | 0.85 ± 0.53 | 0.88 ± 0.62 |
| 水苏碱 Stachydrine | 3.0×10^{-5} | 1064.90 ± 228.51 | 1346.50 ± 349.74 | 5.60 ± 2.63 | 3.20 ± 3.16 * | 1.76 ± 0.38 | 2.24 ± 0.58 * | 3.07 ± 1.25 | 3.37 ± 0.98 |
| 葫芦巴碱 Trigonelline | 3.0×10^{-5} | 1040.09 ± 222.63 | 1240.64 ± 341.48 | 4.55 ± 2.50 | 2.55 ± 1.63 * | 1.71 ± 0.38 | 2.05 ± 0.57 | 2.78 ± 1.07 | 3.35 ± 0.71 |
| 水/葫(2:1) | 2.0×10^{-5} | 988.50 ± 246.70 | 1231.00 ± 384.38 | 4.83 ± 2.59 | 3.25 ± 2.56 | 1.63 ± 0.40 | 2.04 ± 0.64 * | 2.57 ± 0.90 | 2.93 ± 1.06 |
| 水/葫(1:1) | 1.5×10^{-5} | 1017.60 ± 259.59 | 1240.10 ± 459.77 | 4.60 ± 2.63 | 3.30 ± 2.79 | 1.68 ± 0.42 | 2.05 ± 0.77 | 2.79 ± 1.06 | 3.48 ± 0.75 |
| 水/葫(1:2) | 1.0×10^{-5} | 1017.60 ± 259.59 | 1397.20 ± 490.14 | 4.60 ± 2.63 | 2.50 ± 1.96 * | 1.68 ± 0.42 | 2.32 ± 0.81 * | 2.79 ± 1.06 | 3.49 ± 0.84 |

注:与给药前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs before administration.

缩平均张力、收缩振幅均有降低趋势,胆碱显著降低收缩频率($P < 0.05$);经胆碱和葫芦巴碱(2:1、1:1、1:2)配伍给药后,均显著降低收缩振幅($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),胆碱和葫芦巴碱(2:1、1:2)显著降低收缩频率($P < 0.05$),结果见表5。

3.3.2 对豚鼠正常离体子宫收缩活动的影响

胆碱、葫芦巴碱单独给药后,均显著增加子宫活动力、平均张力和子宫收缩振幅,显著降低子宫收缩频率($P < 0.05$);经胆碱和葫芦巴碱配伍给药后,胆碱和葫芦巴碱(1:1、1:2)显著增加子宫收缩振幅(P

< 0.05),结果见表6。

4 讨论

《本草图经》、《本草拾遗》、《千金方》、《本草汇言》中均记载有益母草,其功用主治为活血祛瘀、调经消水。益母草注射液,是以现代技术提取益母草中有效成分而制成,为纯中药制剂,具有缩宫止血,活血化瘀的功效,治疗产后出血有良好的疗效。临幊上广泛用于治疗剖宫产术中、术后出血^[6]。益母草中含有多种生物碱,有文献报道对多批益母草注

表 5 胆碱与葫芦巴碱配伍对正常大鼠离体子宫收缩活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 5 Effect of choline and Trigonelline compatibility on normal rat uterus ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 Group | 剂量 Concentration (mol/L) | 峰面积 Peak area (g × s) | | 频率(次/10 min) frequency | | 平均张力 mean contractile force (g) | | 振幅 Amplitude (g) | |
|----------------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration |
| 空白对照 Control | - | 1327.50 ± 189.40 | 1447.50 ± 222.97 | 6.60 ± 2.01 | 6.10 ± 1.73 | 2.21 ± 0.31 | 2.40 ± 0.37 | 3.18 ± 0.46 | 3.41 ± 0.67 |
| 胆碱 choline | 3.0×10^{-5} | 1075.40 ± 467.28 | 1015.40 ± 399.68 | 8.80 ± 1.87 | 7.10 ± 2.38 | 1.80 ± 0.82 | 1.69 ± 0.67 | 3.26 ± 1.17 | 3.09 ± 1.33 |
| 葫芦巴碱 Trigonelline | 3.0×10^{-5} | 1020.80 ± 506.85 | 978.40 ± 537.52 | 7.80 ± 2.62 | 6.10 ± 1.85 * | 1.71 ± 0.89 | 1.62 ± 0.89 | 3.21 ± 1.21 | 2.37 ± 1.42 |
| 胆/葫(2:1) | 2.0×10^{-5} | 993.40 ± 492.54 | 1002.10 ± 443.58 | 8.20 ± 2.62 | 6.20 ± 1.81 * | 1.66 ± 0.87 | 1.66 ± 0.74 | 3.30 ± 1.19 | 2.94 ± 0.97 * |
| 胆/葫(1:1) | 1.5×10^{-5} | 993.40 ± 492.54 | 913.00 ± 3.9.77 | 8.20 ± 2.62 | 6.20 ± 1.23 | 1.66 ± 0.87 | 1.52 ± 0.52 | 3.30 ± 1.19 | 2.63 ± 0.89 * |
| 胆/葫(1:2) | 1.0×10^{-5} | 1106.80 ± 606.94 | 935.80 ± 425.87 | 8.30 ± 2.67 | 5.90 ± 1.66 * | 1.87 ± 1.08 | 1.55 ± 0.71 | 3.73 ± 1.44 | 2.61 ± 0.97 ** |

注:与给药前比较, * $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$ vs before administration.

表 6 胆碱与葫芦巴碱配伍对正常豚鼠离体子宫收缩活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effect of choline and Trigonelline compatibility on normal guinea pigs uterus ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 Group | 剂量 Concentration (mol/L) | 峰面积 Peak area (g × s) | | 频率(次/10 min) frequency | | 平均张力 mean contractile force (g) | | 振幅 Amplitude (g) | |
|----------------------|--------------------------------|---------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration | 给药前 pre-administration | 给药后 administration |
| 空白对照 Control | - | 795.20 ± 124.58 | 801.50 ± 161.67 | 3.00 ± 0.94 | 3.10 ± 0.88 | 1.34 ± 0.20 | 1.36 ± 0.25 | 0.85 ± 0.53 | 0.88 ± 0.62 |
| 胆碱 choline | 3.0×10^{-5} | 1027.60 ± 182.13 | 1501.10 ± 479.12 ** | 4.60 ± 1.58 | 3.00 ± 1.05 * | 1.70 ± 0.30 | 2.49 ± 0.80 ** | 2.33 ± 0.84 | 3.00 ± 1.05 ** |
| 葫芦巴碱 Trigonelline | 3.0×10^{-5} | 947.10 ± 300.06 | 1161.50 ± 408.63 * | 5.20 ± 2.49 | 2.40 ± 1.84 ** | 1.57 ± 0.49 | 1.92 ± 0.68 * | 2.23 ± 1.22 | 2.57 ± 1.11 ** |
| 胆/葫(2:1) | 2.0×10^{-5} | 959.67 ± 249.85 | 1101.67 ± 220.21 | 6.25 ± 5.55 | 5.58 ± 6.11 | 1.48 ± 0.32 | 1.74 ± 0.84 | 1.95 ± 0.82 | 2.25 ± 1.10 |
| 胆/葫(1:1) | 1.5×10^{-5} | 986.70 ± 267.24 | 1102.10 ± 312.67 | 6.80 ± 5.92 | 5.60 ± 5.17 | 1.47 ± 0.30 | 1.55 ± 0.57 | 1.99 ± 0.86 | 2.84 ± 0.80 * |
| 胆/葫(1:2) | 1.0×10^{-5} | 1012.73 ± 267.82 | 1038.36 ± 252.00 | 6.91 ± 5.63 | 5.00 ± 4.96 | 1.48 ± 0.32 | 1.93 ± 0.89 | 1.94 ± 0.82 | 2.81 ± 0.83 * |

注:与给药前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs before administration.

射液进行的指纹图谱研究,发现有 12 个共有峰(以水苏碱峰作为参照峰)^[7],说明益母草中含有多种生物碱成分,这些成分可能具有不同的生物活性,益母草及其制剂的药理作用是多种活性成分协同作用的合力结果。现代众多的药理研究显示益母草具有双向调经作用,水部位和正丁醇部位是主要物质基础^[8],另有报道益母草水溶性生物碱对离体子宫有兴奋作用,而脂溶性生物碱对离体子宫有一定的抑制作用^[2]。益母草碱和水苏碱是目前比较明确的

调节子宫活动的活性物质,然而不同的研究报道水苏碱对子宫活动的调节效果不一致,提示水苏碱可能是双向调节作用^[9-11]。本课题组对益母草注射液进行了系统的化学成分分离,未得到益母草碱,但获得大量水苏碱、胆碱和葫芦巴碱^[4],而关于益母草注射液中提取得到的胆碱、葫芦巴碱的药理活性研究暂未见报道。

本课题在前期研究基础上,结合不同文献报道水苏碱对子宫活动的不尽相同的研究结果,选用了

大鼠和豚鼠两种常用的动物,采用单味药同类型组分配伍方法,将益母草注射液水溶性生物碱部位分离得到的单体水苏碱、胆碱、葫芦巴碱进行两两配伍,从复方中各层次(部位-组分-成分)药效物质出发^[12],在成分配伍层面开展益母草注射液调节子宫活动的物质基础研究,是符合益母草注射液作为中成药特点的物质基础研究,较之既往单一成分或单一动物的研究更系统、全面。

结果显示,水苏碱、胆碱和葫芦巴碱对大鼠离体子宫在正常状态下无明显作用,而两两配伍(2:1、1:1、1:2)时,除了胆碱和葫芦巴碱合用显著降低离体大鼠子宫频率和振幅,其余对子宫收缩活动的影响与单独给药相似;对豚鼠离体子宫收缩活动有兴奋作用,主要是通过增强其收缩幅度达到,同时减少收缩次数,两两配伍后,虽有兴奋子宫作用趋势,但均不优于水苏碱、胆碱或葫芦巴碱。结果提示,水苏碱、胆碱和葫芦巴碱对子宫活动呈兴奋作用,效应与动物种属有关,水苏碱、胆碱和葫芦巴碱对子宫的作用不存在协同或拮抗作用,但均应该是益母草注射液调节子宫活动的物质基础。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press (化学工业出版社), 2015. Vol I, 290.
- 2 Huang QF(黄庆芳), Feng CE(冯承恩). Bidirectional regulation of motherwort to the uterus smooth muscle in mice. *Asia-Pacific Tradit Med* (亚太传统医药), 2014, 10(14):10-13.
- 3 Li D(李丹), Xie XF(谢晓芳), Peng C(彭成), et al. Effects of extract from *Leonurus japonicus* injection on uterus of rats after abortion. *Drug Evalu Res* (药物评价研究), 2014, 37:21-24.
- 4 He CJ(何成军), Peng C(彭成), Dai O(戴欧), et al. Chemical constituents from *Leonurus japonicus* Injection. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2014, 21:3048-3052.
- 5 Xu SY(徐叔云), Chen X(陈修), Bian RL(卞如濂). Experimental methodology of pharmacology. The third edition. Beijing: People's Medical Publishing House (人民卫生出版社), 2002, 1582.
- 6 Xu AQ(徐爱群), Zeng WY(曾蔚越), Wu DR(吴大蓉), et al. Primary effects of motherwort injection on uterine contraction and hemostasis. *J Obs / Gyne Pediatr (Electronic Version)* (中华妇幼临床医学杂志), 2007, 3(2):88-90.
- 7 Miao WJ(苗文娟), Yang L(杨磊), Wu DR(吴大蓉), et al. Fingerprints of *Leonurus heterophyllus* Injection with capillary electrophoresis. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38:1171-1174.
- 8 Li D(李丹), Xie XF(谢晓芳), Peng C(彭成), et al. Effects of different extracts from *Leonurus japonicus* Houtt. on isolated smooth muscle of uterus. *Pharm Clin Chin Mater Med* (中药与临床), 2014, 5(3):24-28.
- 9 Shang XF, Pan H, Wang XZ, et al. *Leonurus japonicus* Houtt.: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *J Ethnopharma*, 2014, 152:14-32.
- 10 Cheng YF(程永凤). The study of Leonurine and Stachydrine alone or united on Pharmacologic Actions. Hefei: Anhui Medical University (安徽医科大学硕士学位论文), MSc. 2010.
- 11 Qin MR(秦芙蓉), Wang P(王平), Wang XW(王晓炜), et al. Effects of leonurine hydrochloride and stachydrine hydrochloride on rat uterine contraction *in vitro*. *Pharm Today* (今日药学), 2013, 23:410-412.
- 12 Sheng HG(盛华刚). Progress on model of component formula in Chinese medicine. *Chin J Exp Tradit Med Formul* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19:349-352.

(上接第 1571 页)

- 9 Wang X(王欣), Qin Y(覃瑶), Wang DJ(王德江), et al. Application advance in quality control of traditional Chinese Medicine by QAMS. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2016, 38:395-402.
- 10 Zhu CS(朱春胜), Lin ZJ(林志健), Niu HJ(牛红娟), et al. Simultaneous determination of chlorogenic acid, aesculetin, isochlorogenic acid B, and isochlorogenic acid A in *Cichorii Herba* by QAMS. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药),

2016, 47:666-670.

- 11 Qing LS, Xue Y, Deng WL, et al. Ligand fishing with functionalized magnetic nanoparticles coupled with mass spectrometry for herbal medicine analysis. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 399:1223-1231.
- 12 Ananingsih VK, Sharma A, Zhou W. Green tea catechins during food processing and storage: A review on stability and detection. *Food Res Int*, 2013, 50:469-479.