

的抑制肿瘤转移的作用；能够提高肿瘤细胞凋亡率；能延长模型小鼠的生存期，其中顺铂联合中药低剂量组明显延长带瘤小鼠生存期。实验中益气除痰方组饮水量与体质量增长较其余各组明显，可能与益气除痰方益气健脾作用相关。生存期与瘤质量指标显示益气除痰方低剂量组比高剂量组效果较明显，而在抑制肺转移结节与细胞凋亡中，益气除痰方高剂量组起到更明显的作用。考虑实验中观察到益气除痰方高剂量组药物较低剂量黏稠，解剖观察有出现数例高剂量组动物肠梗阻死亡的情况，各脏器经病理切片观察后未发现毒性反应等异常变化，所以认为此结果与药物性状影响小鼠生存质量有关。由于瘤质量指数与动物体质量成反比，而益气除痰一方面有益气健脾作用，可加强动物的摄取与运化功能，另一方面益气除痰方又有除痰散结作用，可有效抑制肿瘤生长，从而明显地降低了瘤质量指数，生存期的延长也与其益气作用有关。益气除痰方高剂量组有明显的诱导细胞凋亡作用，并能有效抑制肺转移，高剂量组肺转移抑制率高于低剂量组，这体现了此方的量效关系。顺铂对细胞增殖活动的抑制作用主要是将细胞周期阻滞于 G0/G1 期，还能通过调节内质网应激机制诱导肿瘤细胞死亡。本研究结果中，中药联合顺铂组比顺铂对照组、益气除痰方组效果明显，提示益气除痰方对顺铂化疗有一定的增效作用。益气除痰方如何在抗癌药效与生存质量之间取得较好的平衡，以及其增效机制都将是今后

后深入研究的目标之一。

参考文献：

- [1] 孙玲玲, 林丽珠. 益气除痰法治疗肺癌理论探讨及临床应用[J]. 中医研究, 2011, 24(10): 1-3.
- [2] 杜秀平, 高向阳, 韩正祥, 等. 小鼠 Lewis 肺癌胸腔与皮下移植模型比较研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2007, 14(23): 1783-1785.
- [3] 王超磊, 孙炳峰, 姚和权. 植物来源的抗肿瘤药物研究进展[J]. 药理学进展, 2011, 35(5): 144.
- [4] 闫华超, 李林尉. 抗肿瘤药物诱导肿瘤细胞凋亡机制的研究进展[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2009, 22(3): 234-236.
- [5] Gridelli C, De Viva R. Vinorelbine in the treatment of non-small lung cancer[J]. Curt Med Chem, 2002, 9(8): 879-891.
- [6] 梁靓靓, 陈苏宁, 张博, 等. 调气消积汤影响 Lewis 肺癌细胞凋亡及 p53、Bcl-2 表达的实验研究[J]. 现代肿瘤医学, 2011, 19(6): 1086-1089.
- [7] 肖宝红, 张春玲, 王英年, 等. 中药猫眼草对小鼠 Lewis 肺癌细胞凋亡的影响[J]. 齐鲁医学杂志, 2006, 21(6): 525-528.
- [8] 史艳宇, 李红, 杨世杰. 西洋参有效部位对 K562 细胞凋亡诱导的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(12): 1494-1497.
- [9] 赵向忠, 董群. 不同剂量黄柏的大补阴丸(汤)对 C57BL/6J 小鼠胸腺细胞凋亡的影响[J]. 皖南医学院学报, 2004, 23(2): 234-236.
- [10] 黄必胜. 半夏蛋白对人肝癌细胞 Bel-7402 的诱导凋亡作用[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5): 246-248.
- [11] 徐萌, 周蓓. 汉防己甲素逆转肺癌化疗耐药和凋亡抗性的实验研究[J]. 新中医, 2006, 38(6): 183-184.
- [12] 阮小丽, 施大文. 山慈姑的抗肿瘤及抑菌作用[J]. 中药材, 2009, 32(12): 79-91.

(编辑: 邓响潮)

散瘀镇痛颗粒对寒凝血瘀大鼠模型生殖激素及卵巢血管舒-缩因子的影响

刘小莉^{1,2,3}, 刘 晓^{1,2,3}, 蔡宝昌^{1,2,3,4}, 蒋金来¹ (1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046; 2. 南京中医药大学国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 江苏 南京 210029; 3. 国家中医药管理局中药炮制标准重点研究室, 江苏 南京 210029; 4. 南京海昌中药集团有限公司, 江苏 南京 210061)

摘要：目的 观察散瘀镇痛颗粒对寒凝血瘀模型大鼠生殖激素及卵巢血管舒-缩因子的影响，探讨散瘀镇痛颗粒治疗寒凝血瘀型妇科疾病的作用机制。**方法** 复制大鼠寒凝血瘀模型，散瘀镇痛颗粒混悬液连续灌胃 2 周，采用放射免疫法测定血清雌二醇(E₂)、孕酮(P)、睾酮(T)水平；剖取卵巢，制成匀浆，测定内皮素-1(ET-1)、降钙素基因相关肽(CGRP)活性。**结果** 与模型组比较，散瘀镇痛颗粒组血清 E₂、P、T 明显升高，卵巢组织匀浆 ET-1 活性降低，CGRP 活性增强，差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 散瘀镇痛颗粒能够调节大鼠卵巢血管舒-缩因子的变化，提升生殖激素水平。

收稿日期: 2012-10-24

作者简介: 刘小莉, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药炮制与制剂。Email: lx1721114@hotmail.com。通讯作者: 蔡宝昌, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药炮制。Email: becai@126.com。

基金项目: 江苏省科技支撑计划工业项目(201105007)。

关键词: 散瘀镇痛颗粒; 寒凝血瘀; 生殖激素; 卵巢血管舒-缩因子

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2013)02-0151-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.012

Effects of *Sanyu Zhentong* Granules on Reproductive Hormone and Ovarian Vascular Diastolic-systolic Factors in Rat Model of Blood Stasis Due to Cold Accumulation

LIU Xiaoli^{1,2,3}, LIU Xiao^{1,2,3}, CAI Baochang^{1,2,3,4}, JIANG Jinlai¹ (1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046 Jiangsu, China; 2. Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210029 Jiangsu, China; 3. Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210029 Jiangsu, China; 4. Nanjing Haichang Chinese Medicine Group Corporation, Nanjing 210061 Jiangsu, China)

Abstract: Objective To observe the effect of *Sanyu Zhentong* Granules on reproductive hormone and ovarian vascular diastolic-systolic factors in rat model of blood stasis due to cold accumulation, and to explore its therapeutic mechanism in treating gynecological diseases. **Methods** The method of ice water bath was adopted to establish rat model of blood stasis due to cold accumulation. After the suspension of *Sanyu Zhentong* Granules was given to the rats by intragastrical gavage for 2 weeks in succession, we measured the levels of serum estradiol (E_2), progesterone (P) and testosterone (T) with radioimmunoassay, and detected the activity of endothelin 1 (ET-1) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) of ovarian homogenate. **Results** Compared with the model group, the level of serum E_2 , P and T in *Sanyu Zhentong* Granules group was obviously increased, while the activity of ET-1 was reduced and CGRP was enhanced in ovarian homogenate. **Conclusion** *Sanyu Zhentong* Granules can regulate the rat ovarian vascular diastolic-systolic factors, and increase reproductive hormone levels.

Keywords: *Sanyu Zhentong* Granules; Blood stasis due to cold accumulation; Reproductive hormone; Ovarian vascular diastolic-systolic factors

散瘀镇痛颗粒方由大血藤、蒲公英、泽泻、莪术(制)、三棱(制)、延胡索(制)、丹参、香附等12味中药配方组成,该方为临床验方,疗效良好^[1-2],全方逐瘀活血,攻坚消积,清热解毒,化湿止痛功专。为了进一步探讨散瘀镇痛颗粒治疗血瘀妇科疾病的作用机制,本实验观察了散瘀镇痛颗粒对寒凝血瘀模型大鼠生殖激素及卵巢血管舒-缩因子的影响。

1 材料与方法

1.1 药品 散瘀镇痛颗粒方由大血藤、蒲公英、泽泻、莪术(制)、三棱(制)、延胡索(制)、丹参、香附等12味中药配方颗粒组成,由南京中医药大学陈建伟鉴定。受试药由南京海昌中药集团有限公司制备,批号:201210306。

1.2 试剂 血清孕酮放免测定盒,北京华英生物研究所,批号:20120520;血清睾酮放免试剂盒,北京世帝科学仪器公司,批号:20120520;血清雌

二醇放免测定盒,北京华英生物研究所,批号:20120520;内皮素放免试剂盒,北京华英生物研究所,批号:20120520;降钙基因相关肽放免药盒,北京华英生物研究所,批号:20120520;总蛋白试剂盒,中生北控股份有限公司,批号:20120410。

1.3 仪器 BP 211D 电子天平,德国 Sartorius 公司;JJ-2 型组织捣碎匀浆机,江苏省金坛市荣光仪器制造有限公司;Avanti J-25 高速冷冻离心机,德国 Beckman 公司;Unique-s15 超纯水仪,厦门锐思捷科学仪器有限公司;r-911 全自动放免计数仪,中国科技大学实业总公司;7160 全自动生化分析仪,日本日立公司。

1.4 动物 SD 雌性大鼠 40 只,健康清洁级,体质量(200 ± 20)g,由南京医科大学实验动物中心提供,质量合格证号:SCXK(苏)2008-0004。

1.5 实验方法

1.5.1 分组及给药 动物适应性饲养 2 周后,随机分

为 4 组, 每组 10 只, 即正常对照组, 模型组, 散瘀镇痛颗粒低、高剂量组。正常对照组常规饲养, 模型组及散瘀镇痛颗粒低、高剂量组大鼠置于冰水混合物中 5 min^[3-5], 每天 1 次, 连续 2 周。低剂量组与高剂量组于造模的第 1 天开始, 按 0.883, 1.766 g·kg⁻¹ (分别相当于临床成人剂量的 10 倍、20 倍) 给予散瘀镇痛颗粒混悬液灌胃, 每天 1 次, 连用 2 周, 正常对照组和模型组给予等体积的生理盐水^[6]。

1.5.2 一般情况观察 每天详细观察记录各组大鼠的体征、行为、摄食、饮水、体质量等情况。

1.5.3 动情周期的测定 每天上午 9 时, 用棉签蘸取生理盐水, 对大鼠进行阴道涂片^[7], 以阴道上皮脱落细胞的种类, 判断大鼠动情周期的 4 个时期: 动情前期(Proestrus, P)、动情期(Estrus, E)、动情后期(Metaestrus, M) 和动情间期(Diestrus, D)。

1.5.4 生殖激素血清孕酮(P)、雌二醇(E₂)、睾酮(T)激素含量测定^[8] 灌胃 2 周后, 于动情间期断头取血, 离心取上清, 采用放射免疫法测定血清 P、E₂、T。

1.5.5 卵巢组织血管舒-缩因子活性检测^[9] 取出活组织, 吸去血迹, 称重, 研磨, 然后于 100℃ 水中煮沸 10 min, 匀浆。4℃ 3000 r·min⁻¹ 离心 15min, 取上清 -20℃ 以下保存, 采用放射免疫法测定内皮素-1(ET-1)、降钙素基因相关肽(CGRP)。

1.6 统计学处理方法 应用 SPSS 18.0 软件统计, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠动情周期的变化 见表 1。与正常对照组比较, 模型组大鼠动情周期和动情间期延长, 差异有统计学意义(*P* < 0.01); 与模型组比较, 散瘀镇痛颗粒低、高剂量组动情周期缩短, 差异有统计学意义(*P* < 0.01)。

表 1 散瘀镇痛颗粒对血瘀模型大鼠动情周期的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Effects of Sanyu Zhentong Granules on estrous cycle in rat model of blood stasis due to cold accumulation

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	动情周期 / h	动情间期 / h
正常对照组	10		95.80 ± 4.13	25.60 ± 3.24
模型组	10		134.70 ± 4.47**	48.30 ± 2.91**
散瘀镇痛颗粒低剂量组	10	0.883	122.90 ± 4.01 ^{△△}	39.40 ± 3.81 ^{△△}
散瘀镇痛颗粒高剂量组	10	1.766	111.30 ± 4.52 ^{△△}	34.70 ± 2.16 ^{△△}

注: 与正常对照组比较, ***P* < 0.01; 与模型组比较, ^{△△}*P* < 0.01。

2.2 大鼠血清 E₂、P、T 含量测定 见表 2。与对照

组比较, 模型组大鼠的血清 E₂、P、T 均显著降低(*P* < 0.01)。与模型组比较, 散瘀镇痛颗粒低剂量组、高剂量组大鼠的血清 E₂、P、T 均显著升高, 差异有统计学意义(*P* < 0.01), 表明散瘀镇痛颗粒能明显改善大鼠生殖激素的含量。

表 2 散瘀镇痛颗粒对血瘀模型大鼠生殖激素的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Effects of Sanyu Zhentong Granules on reproductive hormone in rat model of blood stasis due to cold accumulation

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	T/ng·mL ⁻¹	P/ng·mL ⁻¹	E ₂ /pg·mL ⁻¹
正常对照组	10		0.33 ± 0.04	2.58 ± 0.20	57.35 ± 1.95
模型组	10		0.19 ± 0.02**	1.28 ± 0.13**	48.84 ± 1.49**
散瘀镇痛颗粒低剂量组	10	0.883	0.31 ± 0.33 ^{△△}	2.19 ± 0.21 ^{△△}	54.59 ± 1.55 ^{△△}
散瘀镇痛颗粒高剂量组	10	1.766	0.33 ± 0.40 ^{△△}	2.63 ± 0.15 ^{△△}	58.76 ± 2.27 ^{△△}

注: 与正常对照组比较, ***P* < 0.01; 与模型组比较, ^{△△}*P* < 0.01。

2.3 卵巢组织匀浆 ET-1、CGRP 活性测定 见表 3。与正常对照组比较, 模型组大鼠卵巢组织 ET-1 活性升高, CGRP 活性降低, 差异均有统计学意义(均 *P* < 0.01); 与模型组比较, 散瘀镇痛颗粒高、低剂量组 ET-1 活性显著降低、CGRP 活性升高, 差异均有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

表 3 散瘀镇痛颗粒对血瘀模型大鼠卵巢血管舒-缩因子的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Effects of Sanyu Zhentong Granules on ovarian hemal diastolic-systolic in rat model of blood stasis due to cold accumulation

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	ET / pg·mg ⁻¹	CGRP / pg·mg ⁻¹
正常对照组	10		26.61 ± 3.97	328.48 ± 45.14
模型组	10		39.12 ± 6.75**	233.18 ± 50.37**
散瘀镇痛颗粒低剂量组	10	0.883	33.60 ± 5.41 [△]	287.21 ± 54.49 [△]
散瘀镇痛颗粒高剂量组	10	1.766	26.23 ± 3.74 ^{△△}	335.21 ± 43.40 ^{△△}

注: 与正常对照组比较, ***P* < 0.01; 与模型组比较, [△]*P* < 0.05, ^{△△}*P* < 0.01。

3 讨论

寒凝血瘀证是临床常见证型之一, 妇科、内科以及外科等病, 证属寒凝血瘀者, 根据中医“异病同治”, “寒则血结, 温则血消”(《诸病源候论》)确立温经散寒治法, 临证运用温经通络、散寒理气之药物进行治疗, 均取得较好疗效。

月经是女性最具特征性的生理现象, 而痛经也是临床最为常见的病症之一, 其病位在胞宫、冲任, 以不荣则痛或不通则痛为主要病机。临床依据病因病机分型^[10-13], 其中以寒凝血瘀证多见。中医认为寒为阴邪, 性主收引、凝滞, 寒客冲任, 血为寒凝, 冲任瘀阻而致, 月经后期、月经过少、痛经、闭经

等妇科疾病^[14-15]。

散瘀镇痛颗粒方中三棱、莪术、桃仁等通瘀散结，消积化癥；辅以蒲公英、红藤清热解毒，化湿祛浊；佐以香附理气舒肝，与川楝子、泽泻配伍，加强抗菌止痛作用。纵观全方，各药相伍，逐瘀活血，攻坚消积，清热解毒，化湿止痛功专。寒凝血瘀时，盆腔局部深部温度较低，导致血管收缩，影响卵巢血液供应，也可致使 E₂、P 分泌减少，导致卵泡发育异常，动情周期紊乱及延长^[16-17]。

雌性生殖的特点具有周期性，卵子形成和性激素的分泌都呈周期性波动。动情周期则是性腺功能是否正常的直接标志之一^[17-18]。本研究结果显示，与正常大鼠比较，模型组大鼠的动情周期大部分紊乱，多表现为动情间期不规则延长。散瘀镇痛颗粒组大鼠的动情周期趋于规律的 4~5 d。与模型组比较，具有显著性差异，说明散瘀镇痛颗粒对大鼠的动情周期紊乱具有治疗作用。

本研究观察了散瘀镇痛颗粒对模型大鼠卵巢局部血管收缩-舒张因子的作用，实验结果显示，散瘀镇痛颗粒组血清 E₂、P、T 较模型组显著升高，卵巢组织匀浆 ET-1 活性明显降低，CGRP 活性显著提高，与模型组比较有统计学意义 ($P < 0.01$)，说明散瘀镇痛颗粒能够调节卵巢局部血管的舒缩功能。我们认为，散瘀镇痛颗粒通过调节卵巢血管舒-缩因子 ET-1、CGRP 的活性，改善卵巢血液供应，促进卵巢发育，调节 E₂、P、T 水平，为临床治疗寒凝血瘀妇科疾病提供了实验依据。

参考文献：

- [1] 毛水春, 崔承彬, 顾谦群. 中药大血藤化学成分和药理活性的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(6): 559-561.
- [2] 吉枫, 丛晓东, 张云, 等. 蒲公英药理作用综述[J]. 亚太传统医药, 2011, 7(9): 173-175.
- [3] Zhao XJ, Zhang Y, Meng XL, et al. Effect of a traditional Chinese medicine preparation Xindi soft capsule on rat model of acute blood stasis: A urinary metabonomics study based on liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2008, 873(2): 151-158.
- [4] Li WX, Tang YP, Guo JM, et al. Enriching blood effect comparison in three kinds of blood deficiency model after oral administration of drug pair of Angelicae Sinensis Radix and Chuanxiong Rhizoma and each single herb[J]. Chin J Chin Mat Med, 2011, 36(13): 1808-1814.
- [5] 尹军祥. 寒凝血瘀证表征模型的建立[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(10): 682-682.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 554.
- [7] Fata JE, Chaudhary V, Khokha R. Cellular turnover in the mammary gland is correlated with systemic levels of progesterone and not 17 β -estradiol during the estrous cycle[J]. Biol Reprod, 2001, 65(3): 680-688.
- [8] 成秀梅, 杜惠兰, 李丹, 等. 温经汤对寒凝血瘀模型大鼠卵巢舒-缩因子的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(10): 762-763.
- [9] 成秀梅, 杜惠兰, 李丹. 加減温经汤对寒凝血瘀模型大鼠卵巢功能的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(2): 118-121.
- [10] 苏健, 杜惠兰. 加減温经汤对月经病寒凝血瘀证患者血管舒缩功能的影响[J]. 中医杂志, 2008, 49(4): 323-324.
- [11] 苏健, 杜惠兰. 月经病寒凝血瘀证与 ET、NO 的关系及加減温经汤对其影响[J]. 中成药, 2007, 29(11): 157-158.
- [12] 韩云鹏, 朱颖, 吕绣花. 寒凝血瘀证痛经证治浅谈[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(2): 412-412.
- [13] 谷万里, 张俏, 史载祥. 寒凝血瘀证动物模型的研究述评[J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(6): 89.
- [14] 李继俊. 妇产科内分泌学治疗学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005: 340.
- [15] 成秀梅, 杜惠兰. 桃红四物汤对寒凝血瘀模型大鼠卵巢功能的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(5): 353-354.
- [16] 杜惠兰, 柴丽娜. 月经病寒凝血瘀证的病理机制初探[J]. 中医杂志, 1993, 34(7): 428-430.
- [17] Miller LJ, Girgis C, Gupta R. Depression and related disorders during the female reproductive cycle[J]. Womens Health, 2009, 5(5): 577-587.
- [18] Ji Y, Tang B, Traub RJ. The visceromotor response to colorectal distention fluctuates with the estrous cycle in rats[J]. Neuroscience, 2008, 154(4): 1562-1567.

(编辑: 邓响潮)

更正：本人发表在《中药新药与临床药理》杂志 2012 年 11 月第 23 卷第 6 期的“Nodosin 对大鼠胶质瘤 C6 细胞的抗肿瘤作用”一文(599~602 页)，由于笔误，已发表的 Nodosin 剂量单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，现更正为 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。特此致歉。作者：陈秋铃，单位：广州中医药大学中药学院。