

香附四物汤与四物汤对急性血瘀模型大鼠血液流变性 及卵巢功能的影响

刘培, 宿树兰, 周卫, 刘立, 朱敏, 唐于平, 段金廛
(南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室, 南京 210046)

[摘要] 目的: 评价香附四物汤与四物汤对急性血瘀 SD 大鼠模型血液流变性、凝血功能及卵巢功能的影响。方法: 采用冰水浴及注射肾上腺素的方法造成 SD 大鼠急性血瘀模型, 对其血液流变性、凝血 4 项及卵巢分泌功能进行测定。结果: 香附四物汤能有效改善急性血瘀 SD 大鼠全血黏度、血沉、红细胞压积, 延长 TT、APTT, 降低 FIB 至正常水平, 对卵巢功能也显示一定改善作用; 而四物汤对以上各指标影响不明显。结论: 在对急性血瘀模型大鼠的生物效应评价中, 香附四物汤优于四物汤。

[关键词] 香附四物汤; 四物汤; 急性血瘀模型; 血液流变学; 卵巢功能

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 08-0124-04

Evaluating Effects of Xiangfu Siwu Decoction and Siwu Decoction on Hemorheological Indexes and Ovarian Function in Rat Model of Acute Blood Stasis

LIU Pei, SU Shu-lan, ZHOU Wei, LIU Li, ZHU Min, TANG Yu-ping, DUAN Jin-ao*

(Jiangsu Key Laboratory for TCM formulae Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] Objective: To evaluate the effects of Xiangfu Siwu Decoction (XFSW) and Siwu Decoction (SW) on hemorheological indexes and ovarian function in rat model of acute blood stasis. **Method:** A model of blood stasis was established by means of giving rats an injection of adrenalin and making them swim in ice-cold water. The indexes of hemorheology, TT, PT, APTT, FIB, E₂ and P were detected. **Results:** XFSW showed improvements in the indexes of rats in the model of acute blood stasis, prolonged TT, APTT, degraded FIB to normal level and regulated the secretion of E₂ and P. However, SW showed weak effects on these indexes.

[Key words] Xiangfu Siwu Decoction; Siwu Decoction; acute blood stasis; hemorheology; ovarian function

四物汤由《金匱要略》中的胶艾汤去阿胶、艾叶、甘草而来, 最早见于唐代蔺道人《仙授理伤续断秘方》。宋代《太平惠民和剂局方》用于妇人诸疾的治疗, 后世医家以四物汤为基础加减变化形成了诸多的以四物汤为核心的治疗妇人经行腹痛的类方。香附四物汤出自清代梁子才编著的《不知医必要》

卷四, 是在四物汤的基础上增加香附、木香、延胡索而成。是治疗妇科气滞血瘀证痛经的重要代表方剂。在本课题组开展四物汤类方治疗妇科血瘀证痛经的前期研究工作的基础上, 为了探讨香附四物汤治疗血瘀痛经的作用部位及活性物质以及其与基本方四物汤之间的关联, 本文进行了香附四物汤及分离部位和四物汤对急性血瘀 SD 大鼠模型血液流变性、凝血功能及卵巢功能影响的研究。

1 材料

1.1 药物制备 四物汤及香附四物汤组方药材当归、川芎、白芍、熟地黄、香附、木香、延胡索 7 味, 经南京中医药大学段金廛教授鉴定, 符合《中国药典》(2005 年版) 项下标准。其中当归药材来自甘肃岷

[收稿日期] 2009-11-17

[基金项目] 江苏省高校自然科学重大基础研究项目 (06KJA36022), 江苏省“青蓝工程”科技创新团队建设资助 (2006-C-20)

[通讯作者] 段金廛, Tel/Fax (025) 85811116, E-mail: dja@njutcm.edu.cn

县当归 GAP 种植基地, 其余均购自南京市药材公司。

按照当归、川芎、白芍、熟地黄 1 1 1 1 配比, 共称取四物汤组方药材 5.4 kg, 水煎煮提取 2 次, 第 1 次加 10 倍量水煎煮 2 h, 第 2 次加 8 倍量水煎煮 2 h, 合并 2 次煎出液, 浓缩至所需浓度, 作为四物汤全方水提液供试样品(SW)。

按照当归、熟地黄、川芎、白芍、延胡索、香附、木香 3 4 1.5 1.5 1.5 1.5 1 配比, 共称取香附四物汤组方药材 21 kg, 水煎煮提取两次, 第 1 次加 10 倍量水煎煮 2 h, 第 2 次加 8 倍量水煎煮 2 h, 合并两次煎出液, 浓缩至 21 kg 左右, 取出 1/3 液浓缩至所需浓度, 作为香附四物汤全方水提液供试样品(XFSW-1); 剩余 2/3 浓缩水煎液用 95% 乙醇调至醇浓度为 80%, 静置 24 h, 过滤沉淀。沉淀真空干燥, 蒸馏水溶解制备成所需浓度, 作为香附四物汤醇沉沉淀部位样品(XFSW-2); 上清液浓缩至无醇味, 蒸馏水溶解制备成所需浓度, 作为香附四物汤醇沉上清液供试样品(XFSW-3)。

1.2 试剂 盐酸肾上腺素注射液, 天津金耀氨基酸有限公司, 批号 0808231; 枸橼酸钠, 天津市生物化学制药厂, 批号 20071107; 凝血酶时间测定试剂盒(TT 冻干品), 北京世帝科学仪器公司, 凝血酶, 批号 STG10301-29, 缓冲液批号 STG20302-29; 凝血酶原时间测定试剂盒(PT 干粉), 北京世帝科学仪器公司, 凝血活酶, 批号 STG10101041, 缓冲液, 批号 STG20102-41; 活化部分凝血活酶时间(APTT)测定试剂盒(鞣花酸), 上海太阳生物技术有限公司, 批号 312085; 纤维蛋白原含量测定试剂盒(Clauss 法), 北京世帝科学仪器公司, 凝血酶, 批号 STG20401-26, 咪唑缓冲液, 批号 STG300402-16。雌激素(E₂)、孕酮(P)放射免疫分析药盒, 北京北方生物技术研究所以, 批号 090920。

1.3 动物 SD 雌性大鼠, 体重(200 ±10) g, 由南

京医科大学实验动物中心(SPF 级)提供, 许可证号 SCXK(苏) 2002-0031。

1.4 仪器 LG-R-80 电脑血液黏度测试仪(北京世帝科学仪器公司); LG-PABER-1 型血小板聚集凝血因子分析仪(北京世帝科学仪器公司); ECL2010 全自动电化学发光免疫分析仪(瑞士罗氏公司)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药 选用健康清洁级 SD 雌性大鼠 48 只, 适应性饲养 1 周后, 按随机数字表法将其分为 6 组, 每组 8 只, 即正常对照组、模型对照组、模型加四物汤组、模型加香附四物汤组、模型加香附四物汤醇沉上清部位组、模型加香附四物汤醇沉沉淀部位组。正常对照组常规饲养, 治疗组每天按剂量(相当于临床成人剂量的 8 倍) ig 4 mL/只, 模型对照组每天给予同体积生理盐水, 连续 7 d。于第 7 天 sc Adr 0.08 mL · kg⁻¹ 共 2 次, 两次间隔 4 h。在 2 次注射 Adr 之间(前后各间隔 2 h) 将大鼠浸入冰水(0 ~2 ℃) 内 5 min, 处置后停食, 次晨采血检测。

2.2 血液黏度检测 大鼠在 10% 水合氯醛麻醉下, 颈动脉插管取血, 以枸橼酸钠(109 mmol · L⁻¹) 1:9 抗凝, 测定全血黏度和血浆黏度, 用温氏管法测定血沉、血球压积。血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)测定按照试剂盒说明书严格进行。

2.3 血浆雌二醇(E₂)、孕酮(P)的测定 严格按试剂盒说明书操作。

2.4 统计学方法 应用 SPSS16.0 统计软件统计, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对急性血瘀证模型大鼠全血黏度的影响 由表 1 可见, 与正常对照组相比, 模型组的全血黏度明显升高(*P* < 0.05), 表明血瘀模型成立。与模型组相比, SW, XFSW-1 和 XFSW-3 在低切变率抑制全血黏度升高(*P* < 0.05)。

表 1 四物汤、香附四物汤及各分离部位对全血黏度的影响结果($\bar{x} \pm s$, *n* = 8)

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	全血黏度 / η _b / mPa · s			
		200 /s ⁻¹	30 /s ⁻¹	5 /s ⁻¹	1 /s ⁻¹
正常对照	—	3.53 ±0.24 ³⁾	4.55 ±0.36 ³⁾	7.46 ±0.74 ³⁾	15.87 ±1.92 ³⁾
模型	—	4.15 ±0.25	5.65 ±0.54	10.14 ±1.57	24.49 ±4.05
SW 组	25.92	4.09 ±0.19	5.27 ±0.41	8.61 ±1.08 ¹⁾	18.29 ±3.29 ²⁾
XFSW-1	30.24	3.82 ±0.59	5.11 ±0.75	8.91 ±1.22	20.25 ±2.76 ¹⁾
XFSW-2	30.24	4.29 ±0.74	5.65 ±1.12	9.64 ±2.34	21.39 ±6.22
XFSW-3	30.24	3.87 ±0.26	5.09 ±0.40	8.63 ±1.02	19.06 ±3.23 ¹⁾

注: 与模型对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001(下同)。

3.2 对急性血瘀证模型大鼠血浆黏度、血沉、红细胞压积的影响 由表 2 可见,与正常对照组相比,模型组的血浆黏度、血沉、明显升高($P < 0.05$)。

表 2 四物汤、香附四物汤及各分离部位对大鼠血浆黏度、血沉、红细胞压积的影响结果($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

样品	剂量 / 生药 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血浆黏度 / $\eta_{\text{b}} / \text{mPa} \cdot \text{s}$	血沉 / $\text{mm} \cdot \text{h}^{-1}$	红细胞压积 / %
正常对照	-	$1.03 \pm 0.07^{1)}$	$0.16 \pm 0.05^{3)}$	41.0 ± 4.47
模型	-	1.39 ± 0.34	2.77 ± 0.25	43.67 ± 2.08
SW	25.92	1.61 ± 0.32	2.20 ± 1.68	40.00 ± 2.40
XFSW-1	30.24	$1.06 \pm 0.06^{1)}$	$0.63 \pm 0.40^{3)}$	42.40 ± 2.61
XFSW-2	30.24	1.14 ± 0.02	$1.40 \pm 1.07^{1)}$	41.50 ± 1.05
XFSW-3	30.24	$1.18 \pm 0.11^{1)}$	1.82 ± 1.36	42.33 ± 1.53

3.3 对急性血瘀证大鼠血浆凝血 4 项的影响 由表 3 可见,与正常对照组相比,模型组的 TT, APTT 时间显著缩短($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$) FIB 含量明显升高($P < 0.001$)。与模型组相比, XFSW-1 明显延

表 3 四物汤、香附四物汤及各分离部位对大鼠血浆凝血四项的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

样品	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TT/s	PT/s	APTT/s	FIB/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
正常对照	-	$28.40 \pm 1.98^{3)}$	13.80 ± 1.11	$40.63 \pm 7.60^{2)}$	$1.58 \pm 0.75^{3)}$
模型	-	14.70 ± 5.93	13.97 ± 1.49	29.02 ± 5.07	5.12 ± 1.85
SW	25.92	$21.80 \pm 7.31^{1)}$	12.80 ± 1.40	35.25 ± 6.15	3.79 ± 0.89
XFSW-1	30.24	$24.50 \pm 4.75^{2)}$	14.13 ± 0.72	$46.72 \pm 8.55^{3)}$	$2.68 \pm 0.89^{2)}$
XFSW-2	30.24	$30.63 \pm 5.06^{3)}$	15.37 ± 1.22	37.98 ± 15.21	4.77 ± 1.46
XFSW-3	30.24	$28.40 \pm 5.01^{3)}$	14.17 ± 1.48	$41.20 \pm 5.85^{2)}$	3.48 ± 2.23

3.4 对急性血瘀证大鼠血浆中 E_2 和 P 含量的影响 由表 4 可见,与正常对照组相比,模型组大鼠血浆中 E_2 含量显著降低($P < 0.01$), P 含量显著升高($P < 0.05$),表明采用冰水浴及注射肾上腺素可导致大鼠体内内分泌紊乱。与模型组相比, XFSW-1 和 XFSW-3 组显著升高血浆中 E_2 含量($P < 0.05$), XFSW-2 组显著降低血浆中 P 含量($P < 0.01$)。

表 4 四物汤、香附四物汤及各分离部位对大鼠血浆中 E_2 和 P 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

样品	剂量 / 生药 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$E_2 / \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	P/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$
正常对照	—	$499.35 \pm 188.47^{2)}$	$1.14 \pm 0.75^{1)}$
模型	—	214.74 ± 67.57	2.27 ± 0.97
SW	25.92	275.15 ± 68.29	1.34 ± 0.94
XFSW-1	30.24	$321.40 \pm 58.99^{1)}$	1.49 ± 1.05
XFSW-2	30.24	327.75 ± 108.82	$1.04 \pm 0.55^{2)}$
XFSW-3	30.24	$434.92 \pm 220.47^{1)}$	1.97 ± 1.24

4 讨论

中医理论认为,妇科血瘀证多由寒凝、气滞、气虚、肾虚、热灼、湿滞以及异常出血和外伤所致,与血

与模型组相比, XFSW-1 组明显降低血浆黏度($P < 0.05$)和血沉($P < 0.001$),各组对红细胞压积影响不大。

长 TT, APTT, 降低纤维蛋白原含量。XFSW-2 极显著延长 TT, 而对 PT, APTT 及 FIB 无显著影响。XFSW-3 显著延长 TT 及 APTT, 而对 PT 及 FIB 无显著影响。SW 仅对 TT 影响显著($P < 0.05$)。

液流变性、血流动力学的改变有关;内分泌系统的激素水平,特别是 PRL, LH, FSH, P, E_2 等紊乱也与其密切相关。实验结果表明,香附四物汤及其醇溶部位能有效改善急性血瘀 SD 大鼠全血黏度、血浆黏度、血沉等病理变化,延长 TT 和 APTT,降低纤维蛋白原含量,而醇沉部位对血液流变学各项指标影响较弱;四物汤对该模型大鼠血液的全血黏度和 TT 有一定改善,而对其他各项指标影响较弱。香附四物汤在血液流变学指标评价中优于四物汤,这一作用可能是由其在四物汤基础上增加的木香、延胡索、香附 3 味活血行气药的贡献。

香附四物汤可以纠正病理状态下机体的 E_2 , P 异常水平,使其向正常水平调节,这可能与其改善卵巢的血液循环、调节卵巢内分泌、进而调节卵巢-垂体-性腺轴功能有关。而四物汤对这两个指标的影响不明显。香附四物汤对 E_2 和 P 的调节可能与其组方药材之一香附具有拟雌激素样作用有关。

在四物汤基础上加減而成的四物汤类方具有不同的作用特点,在对由冰水浴及注射肾上腺素方法

造成的急性血瘀 SD 大鼠模型的生物效应评价中, 香附四物汤具有较好的活性, 与其临床用于气滞血瘀证痛经相一致, 提示用药的科学性与合理性。

本文仅从改善血液流变性角度探讨四物汤及香附四物汤的生物效应, 四物汤及其衍化方的生物效应及作用特点, 各衍化方的多层次生物效应、物质基础、作用机制以及“方-方”间的共有规律及各异性有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 554.
- [2] 宿树兰, 赵新慧, 华永庆, 等. 四物汤及类方香附四物汤挥发性成分与子宫平滑肌收缩效应相关性研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2008, 10(2): 50.
- [3] 徐立, 时乐, 李祥, 等. 加减桃红四物汤醇提物对寒凝血瘀模型小鼠微循环和凝血时间的影响[J]. 江苏中医药, 2008, 40(11): 121.
- [4] 邓高丕, 骆欢欢, 赵颖. 活血化瘀对血瘀证模型大鼠

E_2 , P, E_2 R, PR 的影响[J]. 山东中医杂志, 2007, 26(4): 258.

- [5] 宿树兰, 段金廛, 王团结, 等. 少腹逐瘀汤对寒凝血瘀大鼠模型血液流变性及卵巢功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12): 41.
- [6] 华永庆, 段金廛, 宿树兰, 等. 用于不同证型痛经的四物汤类方生物效应评价研究[J]. 中国药科大学学报, 2008, 39(1): 72.
- [7] 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.
- [8] 朱敏, 唐于平, 宿树兰, 等. 四物汤对小鼠离体子宫收缩模型的生物效应及物质基础评价研究[J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(4): 245.
- [9] 张畅斌, 陆茵, 段金廛, 等. 四物汤及其加减方对痛经模型小鼠干预作用的研究[J]. 药学与临床研究, 2007, 15(6): 459.
- [10] 刘立, 马宏跃, 段金廛, 等. 凝血酶时间法的改进及对四物汤类方筛选研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 68.

[责任编辑 何伟]