

本文引用:蒋晓煌,蒋孟良*,贺卫和,李红,曾婷,何坪欣,赵新昱,张彪彪,赵梓含,邓潇潇.胶艾汤不同炮制组方对动物激素水平与凝血机制的影响[J].湖南中医药大学学报,2017,37(6):591-593.

胶艾汤不同炮制组方对动物激素水平与凝血机制的影响

蒋晓煌,蒋孟良*,贺卫和,李红,曾婷,何坪欣,赵新昱,张彪彪,赵梓含,邓潇潇
(湖南中医药大学,湖南长沙 410208)

[摘要] 目的 优选胶艾汤的最佳炮制组方。方法 对胶艾汤全方生品、部分炮制、全方炮制 a、全方炮制 b 等四种不同的炮制组合方进行大鼠激素水平与凝血机制的测定,比较不同炮制组方的药效活性。结果 胶艾汤对大鼠雌二醇、孕酮、睾酮、内皮素与 6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 、血栓素 B_2 作用强弱顺序是全方炮制 b>全方炮制 a>部分炮制>全方生品。结论 胶艾汤全方炮制 b 的止血作用最强。

[关键词] 胶艾汤;中药炮制;雌二醇;孕酮;睾酮;内皮素;6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$;血栓素 B_2

[中图分类号]R283;R285.5 **[文献标识码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.06.003

Effects of Jiaoai Decoction with Different Processing Methods on Hormone and Clotting Mechanism of Animals

JIANG Xiaohuang, JIANG Mengliang*, HE Weihe, LI Hong, ZENG Ting, HE Pingxin, ZHAO Xinyu,
ZHANG Biaobiao, ZHAO Zihan, DENG Xiaoxiao
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To optimize processing method of Jiaoai decoction. **Methods** The effects of Jiaoai decoction with four different methods, all crude drugs, part processing drugs, all drugs processing a, all drugs processing b, on hormone and clotting mechanism in rats were compared. **Results** The effects order of Jiaoai decoction on estradiol, progesterone, testosterone, ET, 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ and TXB $_2$ of rats was all drugs processing b >all drugs processing a > part processing drugs > all crude drugs. **Conclusion** The hemostatic effect of all drugs processing b in Jiaoai decoction was the strongest.

[Keywords] Jiaoai decoction; Chinese crude drug processing; estradiol; progesterone; testosterone; ET; 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$; TXB $_2$

胶艾汤出自《金匱要略·妇人妊娠第二十》^[1],临床用于治疗崩漏,月经过多,先兆流产,产后子宫收缩不全等功血症,总有效率达 90% 以上^[2]。其临床应用报道较多,药理研究报道较少,有研究发现其具有缩宫与止血作用^[3-7]。关于胶艾汤炮制研究则更少,仅对方中单味药进行了炮制研究^[6-8],但胶艾汤不同炮制组方的药理研究未见报道,本研究根据炮制理论,在前期研究基础上^[8-9],将方中各药物进行不同的炮制,再组合成 4 个制品方,并对去

势大鼠进行雌二醇(E_2)、孕酮(P)、睾酮(T)等激素及内皮素(ET)、6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ (6-Keto-PGF $_{1\alpha}$)和血栓素 B_2 (TXB $_2$)含量比较实验,以优选出更有效的炮制组合方,为临床用药提供科学依据。

1 实验材料

1.1 动物

SD 大白鼠,清洁级,雌雄兼取,体质量(200±20)g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许

[收稿日期]2016-08-06

[基金项目]湖南省自然科学基金资助项目(14JJ2107)。

[作者简介]蒋晓煌,男,硕士,主要从事中药炮制研究。

[通讯作者]*蒋孟良,男,教授,硕士研究生导师,E-mail:hhjml@163.com。

可证号:SCXK(湘)2009-004。动物饲养于湖南中医药大学 SPF 级实验动物中心,标准饲料、全营养喂养,自由饮水,笼具每天清洗消毒 1 次、紫外灯灭菌 10 min,每周空气消毒 1 次,每天换气 2 次,每次约 2 h,空调恒温,白天明、晚上暗。实验前动物在实验室饲养适应 1 周。

1.2 仪器

Stat Fax 2100 型酶标仪(美国 Awareness Technology, Inc 公司);TP1004 型电子天平(奥豪斯国际贸易上海有限公司);TGL20M 台式高速冷冻离心机(湖南迈达仪器有限公司);DK-S22 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司)。

1.3 药品与试剂

艾胶汤中的阿胶、艾叶、干地黄、当归、川芎、白芍、甘草等药材购于长沙市老百姓大药房东塘店,经湖南省食品药品检验研究院方石林主任药师鉴定为《中华人民共和国药典》正品;宫血宁胶囊(云南白药集团股份有限公司,0.13 g/粒,成人一日口服 6 粒,批号 20150612); E_2 、P、T 放射免疫测定试剂盒(上海生物试剂公司,批号 20150302、20150511、20150408);ET、6-Keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂试剂盒(解放军总医院科技开发中心放免所,批号 20150705、20150703、20150620)。

2 实验方法

2.1 药物的炮制

2.1.1 全方生品 各药物项下净选加工或切制的同批饮片。

2.1.2 部分炮制 仅将方中艾叶炒炭、地黄蒸制成熟地黄,其他药物均生用。

2.1.3 全方炮制 a 蛤粉炒阿胶、艾叶炭、熟地炭、当归炭、白芍炭、酒川芎、蜜甘草。

2.1.4 全方炮制 b 蒲黄炒阿胶、醋艾叶、熟地黄、酒当归、酒白芍、酒川芎、蜜甘草。

以上各不同炮制组合方中药物的炮制参照文献方法炮制^[5-7]。

2.2 药物的提取

称取当归 54 g,川芎 36 g,艾叶 54 g,加药物重量 10 倍量水提取挥发油至油不再增加为止;地黄 108 g,白芍 72 g,甘草 36 g,置不锈钢锅中,加 8 倍量的水浸泡 1 h,再煮沸 60 min,过滤,药渣再加 6 倍量水煮沸 40 min,过滤,合并滤液,加提取挥发油时滤出的药液,置水浴上浓缩,分别加阿胶生品 36 g,或不同炮制品烩化(溶解),挥发油加 0.5%吐

温-80,混匀,再加入药液中,最后加蒸馏水至 664 mL(每 mL 药液含饮片 0.58 g)备用。贮存于 4℃冰箱中。

2.3 对去卵巢成年大鼠 E_2 、P、T 的测定

取 SD 雌性大鼠,用乙醚作浅麻醉,常规消毒,摘除双侧卵巢,分笼饲养,5 d 后逐只作阴道涂片,检查上皮角化细胞,每天一次,连续 5 d,检查剔除因摘除卵巢不全而出现动情期的大鼠,随机将去卵巢大鼠按体质量分成去卵巢空白对照组和生品组、部分炮制组、全方炮制 a、全方炮制 b 及阳性对照组,另设正常空白组,每组 10 只。灌胃给予胶艾汤各炮制组合方 5.8 g/kg,空白组灌胃等体积 0.5%吐温-80,阳性对照组灌胃宫血宁,一天一次,连续一周,于末次给药 1 h 后,腹主动脉取血,分离血清,放射免疫法测定 E_2 、P、T 含量^[10-11]。

2.4 对雄性大鼠 ET、6-Keto-PGF_{1 α} 、TXB₂ 的测定

取 SD 雄性大鼠,空白对照组和生品组、部分炮制组,全方炮制 a,全方炮制 b,阳性对照组,每组 10 只。灌胃给予胶艾汤各炮制组合方 5.8 g/kg,空白组灌胃等体积 0.5%吐温 80,阳性对照组灌胃宫血宁,一天一次,连续一周,于末次给药 1 h 后,腹主动脉取血,加入放有肝素(1%)溶液的离心管内抗凝,在 4℃下以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,按试剂盒说明,采用放射免疫分析法测定 ET、6-keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂ 含量。

2.5 统计分析

所有数据均用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,首先对数据进行正态性与方差齐性检验。若数据呈正态分布,且各组方差一致时,则采用完全随机设计的单因素方差分析进行数据处理,方差不齐采用秩和检验;组间两两比较采用 q 检验,应用统计学软件 SPSS 19.0 协助分析,以 $P<0.05$ 为差异具有显著性。

3 实验结果

3.1 对去卵巢成年大鼠性激素 E_2 、P、T 的作用

实验表明,各组动物造模后, E_2 、P、T 等均显著下降,与正常空白组比 $P<0.01$,说明造模成功。给药后胶艾汤各组各指标均有增加,但生品组增加不明显,与模型组比 $P>0.05$,其余各组与模型组比 $P<0.05$ 或 $P<0.01$;各炮制组作用均强于生品组,除全方炮制 b 具有显著性差异($P<0.05$)外,其余无统计学意义;全方炮制 a 与 b 作用也强于宫血宁组,但无统计学意义, $P>0.05$ 。详见表 1。

表 1 胶艾汤各炮制品组合方对激素水平的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

炮制方法	剂量/(g·kg ⁻¹)	E ₂ /(pg·mL ⁻¹)	P/(ng·mL ⁻¹)	T/(pg·dL ⁻¹)
正常空白组	-	74.2±17.1**	1.07±0.21**	3.82±0.65**
模型空白	-	37.5±10.3	0.68±0.18	2.16±0.72
生品组	5.8	47.5±16.9	0.74±0.17	2.73±0.83
部分炮制组	5.8	50.3±12.9*	0.83±0.22	2.89±0.63*
全方炮制 a	5.8	56.1±17.5**	0.87±0.18*	2.93±0.59*
全方炮制 b	5.8	63.8±15.8**	0.91±0.19**	3.16±0.77**
宫血宁组	0.6	55.7±14.6**	0.86±0.20*	2.91±0.82*

注:与模型组比 * $P<0.05$,** $P<0.01$;与生品组比 # $P<0.05$ 。

3.2 对雄性大鼠 ET、6-keto-PGF_{1α} 和 TXB₂ 的影响

实验表明,给药后胶艾汤各组 ET 和 TXB₂ 等指标均有增加,但生品组 TXB₂ 增加不明显,与空白组比 $P>0.05$,其余各给药组与空白组比 $P<0.05$ 或 0.01 ;6-keto-PGF_{1α} 均有所降低,各给药组与空白组比 $P<0.05$ 或 $P<0.01$;各炮制组作用均强于生品组,除全方炮制 b 与生品组比具有显著性差异 $P<0.05$ 外,其余无统计学意义,详见表 2。

表 2 胶艾汤各炮制品组合方对 ET、6-keto-PGF_{1α}和 TXB₂ 的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

炮制方法	剂量/(g·kg ⁻¹)	ET/(pg·mL ⁻¹)	6-keto-PGF _{1α} /(pg·mL ⁻¹)	TXB ₂ /(pg·mL ⁻¹)
正常空白组	-	93.6±19.1*	221.3±22.7*	196.8±18.8*
生品组	5.8	120.5±22.8	195.6±24.5	210.7±21.7
部分炮制组	5.8	138.7±21.6	187.4±21.9	220.3±19.8
全方炮制 a	5.8	140.1±19.9	180.5±18.9	225.8±20.3
全方炮制 b	5.8	145.3±22.8*	172.8±21.6*	237.6±22.9*
宫血宁组	0.6	144.2±20.5	182.7±22.8	222.5±21.6

注:与生品组比 * $P<0.05$ 。

4 讨论

4.1 对激素影响

中医崩漏是指妇女非周期性子宫出血,其发病急骤,暴下如注,大量出血者为“崩”;病势缓,出血量少,淋漓不绝者为“漏”。与西医功血症类似,以青春期和更年期妇女多见。青春期少女下丘脑-垂体-卵巢轴尚未建立,更年期妇女卵巢衰退,导致激素水平下降,孕酮为孕激素,睾酮有较弱的孕激素样作用,其治疗功血主要作用机制是雌激素作用下持续增生的子宫内膜转化为分泌期,从而达到止血效果,亦可起到药物性刮宫作用^[12]。实验表明,胶艾汤对去势大鼠激素水平均有提高作用,炮制品作用强于生品,说明胶艾汤治疗崩漏其方中药物须采用科学的炮制方法,方能发挥最佳疗效。

4.2 对 ET 影响

ET 是目前所发现的最强的缩血管物质,主要通

过与靶细胞膜上的 ET 受体结合引起生物效应。实验表明,胶艾汤能增强大鼠血浆中 ET 的含量,说明胶艾汤具有增加血管内皮细胞分泌内皮素的作用,其止血作用与其缩血管物质 ET 增加有关。

4.3 对 6-Keto-PGF_{1α} 与 TXB₂ 影响

TXA₂ 和 PGI₂ 是调节血管壁紧张性的一对重要血管活性物质。TXA₂ 可促进血小板聚集和血栓形成而止血,PGI₂ 具有抑制血小板聚集和促进血管扩张作用,二者在血液中迅速代谢为无活性的 TXB₂ 与 6-Keto-PGF_{1α}^[13]。本实验研究表明,胶艾汤能显著升高大鼠血浆中 TXB₂ 和降低 6-Keto-PGF_{1α} 的含量,说明其对血小板聚集、血管痉挛收缩或形成具有促进作用,这与其止血功效吻合,且炮制后作用显著增强。说明中药炮制的重要性、科学性与临床疗效的关联性。

胶艾汤对家兔子宫收缩作用、对大鼠凝血酶原时间与纤维蛋白溶解活性强弱顺序是全方炮制 b>全方炮制 a>部分炮制>全方生品^[14],与本文研究结果一致。

参考文献:

- [1] 汉·张仲景.金匱要略方论[M].北京:人民卫生出版社,1956:51.
- [2] 李祥华,覃章元,覃涛.胶艾汤治疗更年期崩漏 56 例临床观察[J].长江大学学报(自科版)医学卷,2007,4(1):74-75.
- [3] 任利,张红瑞,翟亚平,等.胶艾汤止血作用机制研究[J].山东中医杂志,2002,21(3):170-172.
- [4] 李祥华,王文英.胶艾汤对动物离、在体子宫活动的影响[J].中国中药杂志,2005,30(2):154-156.
- [5] 龚千锋.中药炮制学[M].北京:中国中医药出版社,2012:188.
- [6] 贺卫和,蒋孟良,曾婷,等.胶艾汤中阿胶炮制对其止血作用影响的研究[J].中华中医药学刊,2011,29(10):2135-2136.
- [7] 曾婷,蒋孟良,贺卫和,等.不同炮制方法对艾叶止血作用的影响[J].湖南中医药大学学报,2011,31(5):41-43.
- [8] 贺卫和,蒋孟良,曾婷,等.胶艾汤中阿胶炮制对其止血作用影响的研究[J].中华中医药学刊,2011,29(10):2135-2136.
- [9] 贺卫和,王志琪,蒋孟良,等.胶艾汤止血机制的实验研究[J].世界中西医结合杂志,2012,7(12):1032-1033,1041.
- [10] 李祥华,张家均,涂献玉,等.胶艾颗粒剂对子宫收缩及性激素水平的影响[J].中药药理与临床,2011,27(2):19-21.
- [11] 任利,翟亚平,商保军.胶艾汤缩宫止血作用及对性激素水平的影响[J].陕西中医,2001,22(6):380-381.
- [12] 管春鸾.40 例大量服用孕激素治疗功血引起的子宫内膜变化[J].实用医技杂志,2008,15(28):3921-3922.
- [13] 贾丹兵,于森,李乃民,等.参麦锁阳益气片对寒凝血滞血瘀证大鼠血清中 6-Keto-PGF_{1α}、TXB₂ 及氧自由基代谢的影响[J].中医药学报,2014,42(3):26-29.
- [14] 蒋晓煌,蒋孟良,贺卫和,等.胶艾汤不同炮制组方对动物子宫收缩、PT 与纤溶活性的影响[J].中国医院药学杂志,2017,37(5):53-56.

(本文编辑 苏维)