

胡枝子提取物对子宫肌瘤模型动物及 血瘀大鼠的影响

阚红卫^{1,2}, 阚晶³, 尹艳艳², 李维祖², 张毅¹, 梁燕⁴, 杨雁^{2*}

(1. 安徽省食品药品审评认证中心, 合肥 230051; 2. 安徽医科大学, 合肥 230032;
3. 安徽医学高等专科学校, 合肥 230601;
4. 安徽省药品不良反应监测中心, 合肥 230051)

[摘要] 目的:探索胡枝子提取物(LBE)对子宫肌瘤模型动物及血瘀大鼠的影响。方法:取同日龄 KM 小鼠及同日龄 SD 大鼠,分成 2 组,分别为正常组,造模组,造模组制作苯甲酸雌二醇采用子宫肌瘤大、小鼠模型,将造模大鼠组随机分为模型组,阳性药组枸橼酸他莫昔芬片(0.18 g·kg⁻¹),LBE 高、中、低剂量组(1.0,0.5,0.25 g·kg⁻¹),将造模组小鼠随机分为模型组,阳性药组枸橼酸他莫昔芬片(0.23 g·kg⁻¹),LBE 高、中、低剂量组(1.4,0.7,0.35 g·kg⁻¹);将大鼠随机分 6 组,分别为正常组,模型组,阳性药复方丹参片组(0.34 g·kg⁻¹),LBE 高、中、低剂量组(1.0,0.5,0.25 g·kg⁻¹),除正常组外,其余各组大鼠背部 *ih* 给予盐酸肾上腺素 2 h 后将大鼠浸浴于冰水中,造成急性血瘀大鼠模型,连续给药 2 周,观察子宫肌瘤模型动物的子宫系数、子宫干重、血清雌激素水平及子宫病理形态学变化和血瘀大鼠的血流变指标。结果:连续给药 2 周,LBE 组子宫肌瘤大、小鼠的子宫系数、子宫干重、血清雌激素水平降低,子宫肌瘤小鼠病理形态学变化改善;血瘀大鼠全血黏度、血浆黏度、全血高切相对指数、全血低切相对指数、红细胞聚集指数降低,与模型组比较均具有统计学差异($P < 0.01, P < 0.05$)。结论:LBE 对子宫肌瘤动物模型具有一定的治疗作用。

[关键词] 子宫肌瘤; 活血化瘀; 胡枝子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)07-0165-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016070165

Effect of Lespedeza Bicoloris Radix Extract on Animal Models of Uterine Fibroid and Blood Stasis Rats

KAN Hong-wei^{1,2}, KAN Jing³, YIN Yan-yan², LI Wei-zu², ZHANG Yi¹, LIANG Yan⁴, YANG Yan^{2*}

(1. Anhui Center for Food and Drug Evaluation & Certification, Hefei 230051, China;

2. Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 3. Anhui Medical College, Hefei 230601, China;

4. Anhui Center for ADR monitoring, Hefei 230051, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Lespedeza Bicoloris Radix extracts (LBE) on animal models of uterine fibroid and blood stasis rats. **Method:** KM mice of the same birth date and SD rats of the same birth date were divided into normal groups and model groups. Estradiol benzoate was used in modeling animals to induce uterine fibroid rat models and uterine fibroid mice models. The modeling rat groups were randomly divided into model group, Tamoxifen citrate tablets positive group (0.18 g·kg⁻¹) and LBE high dose, middle dose and low dose groups (1.0, 0.5, 0.25 g·kg⁻¹). The modeling mice were randomly divided into model group, Tamoxifen citrate tablets positive group (0.23 g·kg⁻¹) and LBE high dose, middle dose and low dose groups (1.4, 0.7, 0.35 g·kg⁻¹). The rats were randomly divided into normal group, model group, Compound Danshen tablets positive group (0.34 g·kg⁻¹) and LBE high dose, middle dose and low dose groups (1.0, 0.5,

[收稿日期] 20150123(005)

[第一作者] 阚红卫, 博士, 副研究员, 从事心血管药理研究, Tel:0551-63710283, E-mail: hongweikan@163.com

[通讯作者] * 杨雁, 博士生导师, 教授, 从事抗炎免疫药理研究, Tel:0551-5161126, E-mail: 348750191@qq.com

$0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). All the other rats except normal group received subcutaneous injection of adrenaline hydrochloride in back. 2 h later, rats received dipping bath in ice water to induce acute blood stasis mice models. After continuous drug administration for two weeks, uterus coefficient, uterine dry weight, serum estrogen level, and pathological changes of uterus in uterine fibroid animal models and blood rheology in blood stasis rats were observed. **Result:** After continuous administration for two weeks, uterus coefficient, uterine dry weight, and serum estrogen levels were decreased in uterine fibroid rats and mice LBE groups, and the pathological changes were alleviated in uterine fibroid mice; whole blood viscosity, plasma viscosity, whole blood high shear relative index, whole blood low shear relative index, and erythrocyte aggregation index were decreased in blood stasis rats ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion:** LBE has a certain therapeutic effect on animal models of uterine fibroid.

[**Key words**] uterine fibroid; promoting blood circulation to remove blood stasis; *Lespedeza Bicoloris* Radix

豆科胡枝子属植物约 60 余种,我国产 26 种,广泛分布于全国各省区,对于胡枝子属植物的药用价值,在民间广为应用,其中安徽分布的 11 种药用胡枝子属植物^[1],作为民间常用草药,有清热解毒、润肺止咳、利水消肿、活血止痛之功。目前认为胡枝子属植物含黄酮、生物碱、萜类、甾醇、有机酸、香豆素、鞣质等多种化学成分,其药理活性主要表现在抗炎、镇痛、改善肾功能不全、抗早孕、抗肿瘤等^[2-3]。

本课题组经过多年的药化药理系统筛选研究,发现安徽境内的胡枝子提取物对子宫肌瘤细胞具有一定的抑制作用,该作用经检索尚未见到相关文献报道。当前中医认为子宫肌瘤因脏腑功能失调、气滞血瘀而成,因此本研究拟通过子宫肌瘤模型动物实验与急性血瘀实验对其进一步探索,希望对安徽境内的中药材胡枝子开发利用提供一定的理论参考依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 KM 小鼠,体重 18 ~ 22 g,SD 大鼠,体重 180 ~ 220 g,雌性,由安徽省实验动物中心提供,合格证号 SCXK(皖)2011-0002。

1.2 药物及试剂 胡枝子根部提取物(LBE,由乙醇提取,0.03 g 干膏/g 生药,主要含黄酮、萜类、甾醇、香豆素类等,由安徽省食品药品检验与研究院提供,批号 121103),枸橼酸他莫昔芬片(阜新市新泰药业有限责任公司,批号 121714),复方丹参片(贵州飞云岭药业股份有限公司,批号 120802),苯甲酸雌二醇注射液(杭州动物药品厂,批号 130617),黄体酮注射液(浙江仙琚制药股份有限公司,批号 120816),盐酸肾上腺素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号 120601),雌二醇、孕酮放射免疫分析试剂盒(北京北方生物技术研究所,批号 120120)。

1.3 仪器 TB-2A 型血流变分析仪(天津市唐宇医

疗器械科技发展有限公司),GC29112 型放免计数器(中国科学技术大学中佳公司),BX51 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 对子宫肌瘤模型小鼠的影响^[4-5] 取同日龄 KM 小鼠,分成 2 组,分别为正常组、造模组,造模组采用苯甲酸雌二醇($2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),生理盐水稀释 $0.02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,按 $0.01 \text{ mL}(0.02 \mu\text{g}) \cdot \text{g}^{-1} \text{ im}$,每周 3 次,连续 4 周,在 3 周末将造模组小鼠随机分为模型组,阳性药组枸橼酸他莫昔芬片($0.23 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),LBE 高、中、低剂量组($1.4, 0.7, 0.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)给药 2 周,在第 5 周末处死,取血检测雌激素,取子宫称重,计算子宫系数,子宫 4% 多聚甲醛固定,苏木素-伊红(HE)染色。

2.2 对子宫肌瘤模型大鼠的影响^[6-7] 选同日龄 SD 大鼠,随机分为子宫肌瘤造模组及正常组。造模组给予 *im* 苯甲酸雌二醇 0.06 mL/只 ,每周 3 次(周一,三,五),共 16 周,第 10 周起加黄体酮 0.05 mL/只 ,每周 2 次(周二,四),共 7 周。第 16 周起开始给药,造模组随机分为模型组,阳性药组枸橼酸他莫昔芬片($0.18 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),LBE 高、中、低剂量组($1.0, 0.5, 0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)给药 2 周,末次给药后 24 h,腹主动脉取血,离心取上清,检测雌激素。取子宫称质量,计算子宫系数和子宫干重($45 \text{ }^\circ\text{C}, 3 \text{ h}$)。

子宫系数 = 子宫质量/体重 $\times 100\%$

2.3 对急性血瘀模型大鼠血流变学的影响^[8] 将大鼠随机分 6 组,分别为正常组,模型组,阳性药复方丹参片组($0.34 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),LBE 高、中、低剂量组($1.0, 0.5, 0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。各组每天 *ig* 给药 1 次(正常组和模型组给予等容积双蒸水),连续给药 14 d。第 13 天给药后 1 h,除正常组大鼠外,各组大鼠背部 *ih* 给予盐酸肾上腺素($0.8 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),共 2 次,间隔 4

h,并在首次注射盐酸肾上腺素 2 h 后将大鼠浸浴于冰水中(2 ℃左右)5 min。正常组大鼠在相应时间注射等容积的生理盐水和温水浴。第 14 天给药后 2 h,各组动物麻醉并腹主动脉取血 6 mL,其中 4 mL 肝素抗凝,测定全血黏度、血浆黏度、全血高、低切相对指数、红细胞聚集指数。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件,所有资料的各项数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析方法进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对子宫肌瘤模型小鼠的影响

3.1.1 对子宫肌瘤模型小鼠雌激素和子宫系数的影响 与正常组比较,模型组小鼠子宫系数和雌激素水平均增加($P < 0.05$)。与模型组比较,LBE 组小鼠子宫系数和雌激素水平均降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

表 1 LBE 对子宫肌瘤模型小鼠的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of LBE on uterine fibroids model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	子宫系数/%	雌激 /pmol·L ⁻¹
正常	-	0.23 ± 0.04	69.6 ± 17.5
模型	-	0.33 ± 0.06 ¹⁾	215.5 ± 25.0 ¹⁾
枸橼酸他莫昔芬片	0.23	0.24 ± 0.07 ²⁾	146.6 ± 21.3 ²⁾
LBE	1.4	0.25 ± 0.04 ²⁾	102.6 ± 19.7 ²⁾
	0.7	0.28 ± 0.05 ³⁾	174.7 ± 24.5 ²⁾
	0.35	0.30 ± 0.04	192.3 ± 30.7 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.05$ (表 2,3 同)。

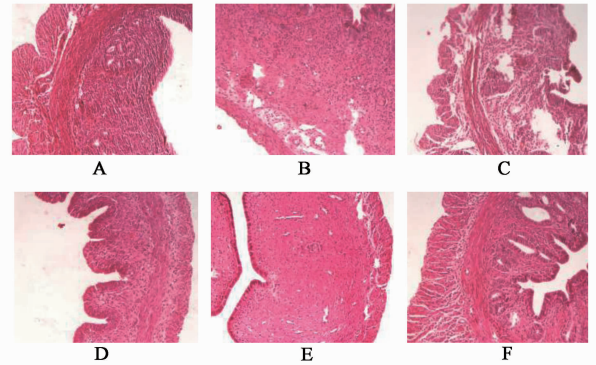
表 2 LBE 对子宫肌瘤模型大鼠雌激素、子宫干重和子宫系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of LBE on estrogen, dry weight of uterus, and uterine coefficient in palae myoma model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	子宫系数/%	子宫干重/g	雌激素/pmol·L ⁻¹
正常	-	0.15 ± 0.02	0.031 ± 0.008	63.3 ± 6.3
模型	-	0.37 ± 0.06 ¹⁾	0.068 ± 0.007 ¹⁾	386.8 ± 50.2 ¹⁾
枸橼酸他莫昔芬片	0.18	0.24 ± 0.03 ²⁾	0.039 ± 0.003 ²⁾	170.6 ± 29.1 ²⁾
LBE	1.0	0.23 ± 0.02 ²⁾	0.035 ± 0.004 ²⁾	100.1 ± 21.4 ²⁾
	0.5	0.28 ± 0.05 ³⁾	0.048 ± 0.009 ²⁾	109.7 ± 19.4 ²⁾
	0.25	0.30 ± 0.05	0.052 ± 0.012 ³⁾	212.4 ± 22.0 ²⁾

数、全血低切相对指数、红细胞聚集指数上升($P < 0.01$)。与模型组比较,LBE 组大鼠全血黏度、血浆黏度、全血高切相对指数、全血低切相对指数、红细胞聚集指数降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

3.1.2 对子宫肌瘤模型小鼠子宫病理形态学的影响 HE 染色后镜下观察,正常组小鼠子宫平滑肌层较薄,肌纤维细长,内环外纵,排列整齐;模型组子宫平滑肌明显增厚,肌纤维肥大,排列呈卷云状或编织状,界限不清,呈活跃增生现象;高、中、低剂量组子宫平滑肌增厚,肌纤维肥大,界限不清程度与模型组比较均有不同程度减轻。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. LBE 1.4 g·kg⁻¹组;D. LBE 0.7 g·kg⁻¹组;E. LBE 0.35 g·kg⁻¹组;F. 枸橼酸他莫昔芬片组

图 1 LBE 对子宫肌瘤模型小鼠子宫病理形态学的影响(HE, ×200)
Fig.1 Effects of LBE on uterine pathological morphology in palae myoma model mice (HE, ×200)

3.2 对子宫肌瘤模型大鼠的影响 与正常组比较,模型组大鼠子宫系数、子宫干重和雌激素水平均增加($P < 0.01$)。与模型组比较,LBE 组大鼠子宫系数、子宫干重和雌激素水平均降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

3.3 对急性血瘀模型大鼠血流变学的影响 与正常组比较,模型组大鼠全血黏度、全血高切相对指

4 讨论

子宫肌瘤是女性生殖系统最常见的良性肿瘤,发病率约占育龄妇女的 20% ~ 25%,有逐年升高的趋势,至少有 25% 生育期女性有明显的临床症状,目前根据大量临床观察和实验结果发现肌瘤是一种

表 3 LBE 对急性血瘀模型大鼠血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of LBE on blood rheology in acute blood stasis model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	全血黏度/mPa·s				血浆黏度 /mPa·s	全血高切 相对指数	全血低切 相对指数	红细胞 聚集指数
		1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	30 s ⁻¹	200 s ⁻¹				
正常	-	70.16 ± 7.36	23.71 ± 1.82	10.11 ± 0.28	6.11 ± 0.36	1.68 ± 0.17	3.71 ± 0.34	43.25 ± 6.58	11.81 ± 1.31
模型	-	94.11 ± 10.71 ¹⁾	30.67 ± 3.14 ¹⁾	12.41 ± 1.33 ¹⁾	6.98 ± 0.54 ¹⁾	1.72 ± 0.14	4.11 ± 0.33 ¹⁾	56.21 ± 8.41 ¹⁾	13.74 ± 1.46 ¹⁾
复方丹参片	0.34	73.38 ± 11.17 ²⁾	25.16 ± 6.25 ²⁾	10.37 ± 1.61 ²⁾	6.16 ± 0.69 ²⁾	1.75 ± 0.21	3.56 ± 0.29 ³⁾	44.66 ± 3.87 ²⁾	12.02 ± 2.16 ²⁾
LBE	1.0	64.35 ± 16.53 ²⁾	22.91 ± 4.44 ²⁾	9.64 ± 1.15 ²⁾	6.01 ± 0.26 ²⁾	1.54 ± 0.16 ²⁾	3.53 ± 0.31 ²⁾	40.08 ± 7.34 ²⁾	11.14 ± 1.33 ²⁾
	0.5	76.31 ± 8.33 ²⁾	25.08 ± 2.13 ²⁾	10.23 ± 0.36 ²⁾	6.11 ± 0.47 ²⁾	1.63 ± 0.10	3.59 ± 0.34 ²⁾	43.12 ± 4.15 ²⁾	12.35 ± 1.67 ³⁾
	0.25	83.14 ± 13.12 ²⁾	27.55 ± 4.17 ²⁾	11.35 ± 1.44 ²⁾	6.58 ± 0.71	1.70 ± 0.14	4.21 ± 0.45	50.13 ± 8.26 ³⁾	12.86 ± 1.37

依赖于雌激素生长的肿瘤,在高雌激素环境中生长明显,而绝经后肌瘤逐渐缩小。但其病因尚不明了,因此,探讨本病的发病机制和治疗方法已成为国内外医家较为关注的研究课题之一。

目前西医治疗化学药物如米非司酮和炔诺酮,大多都是治标不治本,长期使用其不良反应较多且易复发。中医虽无“子宫肌瘤”病名的记载,但因其“坚硬不移,有形可征,有块可掬”,属中医“瘕”范畴,认为子宫肌瘤因脏腑功能失调、气滞血瘀而成^[9-10]。所以中医治疗子宫肌瘤,多以活血化瘀、消瘀散结、清热解毒、疏肝理气、化瘀止痛为主。中药对于慢性长期用药的子宫肌瘤患者来说有一定的优势,但其质量可控疗效确切的并不多见。胡枝子早在《救荒本草》、《分类草药性》、《滇南本草》中就有记载,目前在各省中草药中亦有记载,如《广西中草药》:“活血散瘀,消肿止痛”;《福建中草药》:“清肺热、祛风湿、散瘀血、凉血消肿、除湿解毒等”。

安徽的胡枝子属植物大都为药用植物,主要分布在大别山区、皖南山区及其丘陵低山,因其富含黄酮类化合物,近年来已引起人们越来越多的注意。本课题组对安徽境内的胡枝子已研究多年,前期通过胡枝子提取物的筛选发现胡枝子根部醇提物可能对子宫肌瘤有一定的疗效,通过本次实验研究证实,与正常组比较,模型组大、小鼠子宫系数和雌激素水平平均增加,大鼠全血黏度、全血高切相对指数、全血低切相对指数、红细胞聚集指数上升,说明本次实验模型成功。与模型组比较,LBE 组小鼠子宫系数和雌激素水平平均降低;LBE 组大鼠子宫系数、子宫干重和雌激素水平平均降低;LBE 组大鼠全血黏度、血浆黏度、全血高切相对指数、全血低切相对指数、红细胞聚集指数降低。

上述研究表明 LBE 对大、小鼠子宫肌瘤具有一定的治疗作用,对急性血瘀大鼠具有活血化瘀的功效,与中医治疗子宫肌瘤理论相一致。将为进一步探索其作用机制奠定相应的理论基础。

[参考文献]

[1] 陈乃东,王春景,周守标. 安徽胡枝子属植物的开发利用[J]. 中国林副特产, 2006(1):39-41.

[2] 张帆,齐小花,邹明强,等. 胡枝子中化学成分及黄酮类物质提取与分析的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008,19(12):2884-2885.

[3] 吴洪新,阿拉木斯,王育青,等. 尖叶胡枝子总黄酮含量测定方法(比色法)的优化[J]. 西北农业学报, 2014,9(23):211-215.

[4] 傅萍,姜萍,马娟,等. 血竭加味颗粒对雌激素负荷自然衰老小鼠子宫肌瘤的影响[J]. 中医杂志, 2009,50(2):169-172.

[5] 闵冬雨,魏新智,张立德,等. 桂枝茯苓丸及其组方药抗子宫肌瘤作用的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2013,19(11):1291-1295.

[6] 莫蕙,许立,林倩雯,等. 消瘤颗粒对子宫肌瘤模型大鼠影响的实验研究[J]. 中华中医药杂志, 2010,25(8):1295-1298.

[7] 王占利,李坤寅,凌静. 橘荔散结丸对子宫肌瘤模型大鼠子宫肌层 ER、PR 和 EGFR 表达的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2014,31(2):264-268.

[8] 郭沛鑫,刘承明. 血塞通软胶囊对家兔眼球微循环障碍及血瘀大鼠血液流变性的影响[J]. 中药药理与临床, 2014,30(1):58-61.

[9] 王双双,胡静文,孙慧霞. 基于子宫肌瘤核心病机消癥方辨治子宫肌瘤 40 例临床分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014,20(5):188-191.

[10] 李君,王倩青. 调冲消癥方联合米非司酮治疗子宫肌瘤 50 例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014,20(15):208-211.

[责任编辑 周冰冰]