

# 菟丝子及其主要成分黄酮对肾虚排卵障碍大鼠的影响

朱晓南<sup>1</sup>, 宗利丽<sup>2\*</sup>, 张宸铭<sup>2</sup>, 管雁丞<sup>3</sup>, 郝双<sup>1</sup>

(1. 南方医科大学珠江医院, 广州 510282; 2. 广州中医药大学, 广州 510405;  
3. 深圳市中医院, 广东深圳 518033)

**[摘要]** 目的:探讨单味菟丝子(Cuscutae Semen, CS, 醇提+水提总提取物)及其主要成分菟丝子黄酮(Flavones from Cuscutae Semen, FCS)对肾虚排卵障碍模型大鼠的影响。方法:48只雌性SD大鼠随机分为菟丝子高、低剂量组,菟丝子黄酮高、低剂量组,模型组和空白组,以羟基脲(600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)灌胃建立肾虚排卵障碍模型,羟基脲灌胃后2h各组予相应药物灌胃治疗,共计8d,治疗后比较各组大鼠子宫指数、卵巢指数、血清性激素水平、成熟卵泡比例、黄体数。结果:①与正常组比较,模型组大鼠出现肾虚表现,卵巢病理切片提示排卵障碍,且大鼠血清雌二醇(E<sub>2</sub>)、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)水平(3.68±1.18) pmol·L<sup>-1</sup>, (2.43±0.24) U·L<sup>-1</sup>, (2.84±1.05) U·L<sup>-1</sup>明显低下(P<0.05);②与模型组比较,菟丝子高剂量组大鼠子宫指数、卵巢指数、成熟卵泡比例、血清E<sub>2</sub>、FSH水平(5.49±1.72) pmol·L<sup>-1</sup>, (2.70±0.22) U·L<sup>-1</sup>明显增加(P<0.05);菟丝子黄酮低剂量组大鼠子宫指数、卵巢指数、成熟卵泡比例、血清E<sub>2</sub>、FSH、LH水平(6.25±2.23) pmol·L<sup>-1</sup>, (2.78±0.14) U·L<sup>-1</sup>, (3.65±0.78) U·L<sup>-1</sup>明显增加(P<0.05)。菟丝子黄酮低剂量组血清LH水平(3.65±0.78) U·L<sup>-1</sup>明显高于菟丝子高剂量组(3.10±0.60) U·L<sup>-1</sup>(P<0.05)。结论:菟丝子可有效改善羟基脲引起的肾虚排卵障碍,这种影响可能基于其主要成分黄酮的作用。

**[关键词]** 菟丝子; 菟丝子黄酮; 肾虚排卵障碍; 卵巢内分泌功能

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0169-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2014080169

## Effect of Cuscutae Semen and its Major Components Flavones on Kidney Deficiency and Ovulation Inhibition in Rats

ZHU Xiao-nan<sup>1</sup>, ZONG Li-li<sup>2\*</sup>, ZHANG Chen-ming<sup>2</sup>, GUAN Yan-cheng<sup>3</sup>, HAO Shuang<sup>1</sup>

**[收稿日期]** 20130822(003)

**[基金项目]** 广东省人口和计划生育委员会科研项目(20110272)

**[第一作者]** 朱晓南,在读硕士研究生,从事妇科不孕症等研究, Tel:1552118396, E-mail:zhuxiaonan200602@126.com

**[通讯作者]** \*宗利丽,博士研究生,主任医师,硕士生导师,从事子宫内膜异位症、不孕症等研究, E-mail:zonglili2002@yahoo.com.cn

其确切作用机制还有待于进一步深入研究。

### [参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第七册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000:471.

[2] 三采文化. 茶饮养生事典[M]. 汕头:汕头大学出版社,2005:116.

[3] 廖月葵,辛宁,姜建萍,等. 白鹤灵芝的生药鉴定[J]. 中草药,2000,31(9):705.

[4] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998:1259.

[5] 张红锋,徐曼艳. 茶多酚对高脂鹌鹑的血脂和肝细胞贮脂水平的影响[J]. 中国药学,2002,37(5):342.

[6] 周芳,李爱媛,谢金鲜,等. 蒲黄抗鹌鹑高脂血症及动

脉粥样硬化的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006,12(8):48.

[7] 刘雪梅,吴符火. 几类高脂血症动物模型比较[J]. 中西医结合学报,2004,24(2):75.

[8] 王垣芳,杨美子,李祖成,等. 鸭跖草对高脂血症小鼠血脂代谢及抗氧化能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(16):273.

[9] 刘占涛,岳旺,杨志宏,等. 2,3-吡啶酮抗鹌鹑动脉粥样硬化作用及其机制研究[J]. 中国药房,2009,20(4):256.

[10] 孙喜灵,刘颖,刘孟安. 调脂合剂治疗高脂血症的临床研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):223.

[责任编辑] 聂淑琴]

- (1. Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China;
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;
3. Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518033, China)

**[Abstract]** **Objective:** This study was to explore the effects of Cuscutae Semen (CS) and its major components, flavones, on kidney deficiency and ovulation inhibition in female rats. **Method:** Forty eight SD female rats were randomly divided into 6 groups: CS high and low dose groups, flavones from Cuscutae Semen (FCS) high and low dose groups, model group and normal group. Hydroxyurea emulsion ( $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) was administered intragastrically to establish kidney deficiency model with ovulation inhibition. Two hours after administration of hydroxyurea, rats in each group were treated with corresponding drugs for 8 days. A range of parameters were observed, including the uterine index, the ovarian index, the proportion of mature follicles, the number of corpus luteum, the level of serum estrogen ( $E_2$ ), follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH). **Result:** ①The model rats exhibited symptoms of kidney deficiency, with histopathological assay indicating ovulation inhibition, and the level of serum  $E_2$ , FSH and LH ( $3.68 \pm 1.18$ )  $\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , ( $2.43 \pm 0.24$ )  $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ , ( $2.84 \pm 1.05$ )  $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$  decreased significantly compared to those in the normal contrast group ( $P < 0.05$ ). ②Compared to the model group, the uterine and ovarian index and the proportion of mature follicles, the serum  $E_2$  and FSH levels ( $5.49 \pm 1.72$ )  $\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , ( $2.70 \pm 0.22$ )  $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$  in CS high dose group were much higher, while in FCS low dose group, all parameters were significantly elevated except for the number of corpus luteum. The increases in the groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Serum LH level in FCS low dose group ( $3.65 \pm 0.78$ )  $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$  was significantly higher than that in CS high dosage group ( $3.10 \pm 0.60$ )  $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** CS could effectively improve the ovulation inhibition and renal deficiency induced by the hydroxyurea. The effect of CS on kidney deficiency and ovulation inhibition model may likely be attributed to its main component-flavones, which is a promising component of traditional chinese medicine.

**[Key words]** Cuscutae Semen; flavones from Cuscutae Semen; kidney deficiency and ovulation inhibition; ovarian endocrine function

不孕症是妇科常见病、疑难病,排卵障碍是导致不孕的主要原因之一。近年来,中医药在促卵泡发育和促排卵方面做了许多研究。但目前多集中在中药复方的临床疗效观察、药效学方面<sup>[1-2]</sup>,对单味药及其有效成分不同剂量的对比及其作用机制的探讨方面实验研究则相对较少。本研究拟在前期实验的基础上,通过建立雌性大鼠肾虚排卵障碍模型,以菟丝子及菟丝子黄酮为干预因素,探讨菟丝子、菟丝子黄酮对排卵障碍大鼠的影响以及二者的区别。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级未交配成熟雌性SD大鼠48只,8~10周龄,体重220~250g,由广东省医学实验动物中心提供,动物许可证号SCXK(粤)2008-0002。

**1.2 药物与试剂** 羟基脲(鲁卫药准字(2000)第024014号),每片0.5g,山东齐鲁兴华制药厂生产,批号20010407。菟丝子经广州中医药大学中药学院鉴定为 *Causcuta chinensis* Lam 的干燥成熟种子。参考文献[3],经醇提+水提工艺提取得到菟丝子

总提物,浓缩至干即得菟丝子(CS),得率为3.71%。CS经醇沉多糖后,过滤所得液体上大孔树脂柱,收集30%和60%乙醇洗脱部分,合并浓缩至干即得菟丝子黄酮(FCS),FCS黄酮得率为0.725%。以芦丁为对照品,紫外分光光度法测定黄酮含量为19.53%。雌二醇( $E_2$ )、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)放免试剂盒(由北京北方生物技术研究所提供,批号20130520)。

**1.3 仪器** IKA RV10型旋转蒸发仪(东南科技仪器有限公司),BS224S型电子分析天平(瑞士Sartorius公司),YXJ-2型高速离心机(江苏省金坛市环宇科学仪器厂),BS-3000A显微镜(日本奥林巴斯厂),医学图像管理系统(北京航空航天大学)。

## 2 方法

**2.1 动物模型的建立** 根据前期研究基础及预实验结果,以羟基脲  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 8 \text{ d}$  建立肾虚排卵障碍模型。大鼠适应性喂养1周后,于每日晨9时予羟基脲  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ig,连续8d,每日1

次;造模期间,固定饲料统一喂养,自由饮水。造模成功标准:①每天进行阴道脱落细胞涂片检查,大鼠出现动情周期的紊乱、延长甚至停滞;②大鼠卵巢病理切片结果提示为排卵障碍(大鼠卵巢组织切片上以原始卵泡和初级生长卵泡为主,次级生长卵泡与成熟卵泡的比例减少);③大鼠出现拱背、蜷缩少动,反应迟钝,体毛疏松,脱毛,便溏等肾虚表现。

**2.2 分组及给药** 将大鼠随机分为6组,每组各8只:A. CS高剂量组  $308.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , B. CS低剂量组  $77.17 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , C. FCS高剂量组  $60.32 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , D. FCS低剂量组  $15.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , E. 模型组, F. 空白组。给药方法按照大鼠与人体表面积换算公式,换算系数为6.25,得出大鼠等效剂量;按等效剂量4,1倍作为高、低剂量组剂量标准。造模与药物干预同期进行,模型组、空白组每日晨  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  生理盐水,其余组大鼠  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  对应浓度的羟基脲造模,2 h后4个中药治疗组分别  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  相应浓度的SC,FSC,10  $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,模型组、空白组  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  对应剂量的生理盐水,连续8 d,8 d后停药,选择停药后1~4 d内的动情期取材。

**2.3 观测指标** 一般情况:形态、活动、毛色、纳食、大便、体重等。肉眼观察大鼠卵巢、子宫,电子分析天平称湿重。检测血清  $E_2$ , FSH, LH水平,双侧卵巢制病理切片,光镜下卵泡计数,计数结果取双侧卵巢卵泡计数的平均值。

**2.4 统计学方法** 采用SPSS 17.0统计软件进行统计学处理,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,数据符合正态性和方差齐性的多组间均数比较,采用单因素方差分析,样本间两两比较用LSD检验,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

表2 菟丝子及菟丝子黄酮对排卵障碍大鼠血清  $E_2$ , FSH, LH水平的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	$E_2/\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$	FSH/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	LH/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$
菟丝子	308.67	8	$5.49 \pm 1.72^{1)}$	$2.70 \pm 0.22^{1)}$	$3.10 \pm 0.60$
	77.17	7	$4.96 \pm 1.98$	$2.63 \pm 0.13$	$2.73 \pm 0.33^{2)}$
菟丝子黄酮	60.32	8	$5.14 \pm 1.28$	$2.58 \pm 0.23^{2)}$	$2.87 \pm 0.70^{2)}$
	15.08	7	$6.25 \pm 2.23^{1)}$	$2.78 \pm 0.14^{1)}$	$3.65 \pm 0.78^{1)}$
模型	-	8	$3.68 \pm 1.18^{2)}$	$2.43 \pm 0.24^{2)}$	$2.84 \pm 1.05^{2)}$
正常	-	8	$6.59 \pm 1.86^{1)}$	$2.79 \pm 0.26^{1)}$	$3.69 \pm 0.51^{1)}$

**3.4 各组大鼠卵泡计数的比较** 与模型组比较,菟丝子、菟丝子黄酮各组成熟卵泡比例(成熟卵泡/卵泡总数)均明显增加,差异有显著性( $P < 0.01$ )。各组间黄体数比较,差异均无显著性。见表3。

### 3 结果

**3.1 一般情况** 菟丝子高、低剂量组,菟丝子黄酮高、低剂量组,模型组大鼠均有不同程度的拱背、蜷缩、毛松、脱毛、便溏、体重减轻等肾虚症状,其中模型组更甚,体重减轻情况为模型组 > 菟丝子黄酮低剂量组 > 菟丝子低剂量组 > 菟丝子黄酮高剂量组 > 菟丝子高剂量组,正常组未见此改变。肉眼观察模型组大鼠子宫、卵巢苍白,而正常组大鼠子宫、卵巢色泽红润,中药治疗组较红润。

**3.2 各组大鼠子宫指数、卵巢指数比较** 与模型组比较,菟丝子高剂量组,菟丝子黄酮高、低剂量组子宫指数显著升高,菟丝子、菟丝子黄酮各组卵巢指数显著升高,差异有显著性( $P < 0.05$ )。菟丝子、菟丝子黄酮组间子宫指数、卵巢指数比较,均未见显著性差异。见表1。

表1 菟丝子及菟丝子黄酮对排卵障碍大鼠子宫指数、卵巢指数的影响( $\bar{x} \pm s$ ) %

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	子宫指数	卵巢指数
菟丝子	308.67	8	$0.246 \pm 0.028^{1)}$	$0.057 \pm 0.009^{1)}$
	77.17	8	$0.218 \pm 0.029$	$0.051 \pm 0.009^{1,2)}$
菟丝子黄酮	60.32	8	$0.234 \pm 0.043^{1)}$	$0.055 \pm 0.009^{1)}$
	15.08	7	$0.225 \pm 0.017^{1)}$	$0.050 \pm 0.012^{1,2)}$
模型	-	8	$0.185 \pm 0.023^{2)}$	$0.040 \pm 0.004^{2)}$
正常	-	8	$0.236 \pm 0.060^{1)}$	$0.059 \pm 0.006^{1)}$

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与正常组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ (表2~3同)。

**3.3 各组大鼠血清  $E_2$ , FSH, LH水平的比较** 与模型组比较,菟丝子高剂量组  $E_2$ , FSH水平显著升高,菟丝子黄酮低剂量组  $E_2$ , FSH, LH水平显著升高,差异有显著性( $P < 0.05$ )。见表2。

### 4 讨论

菟丝子是妇科临床治疗不孕症的其中一味主要药物。现代药理研究表明,菟丝子具有增强性功能、改善机体内分泌、免疫调节和抗氧化的作用<sup>[4-7]</sup>,含

表 3 菟丝子及菟丝子黄酮对排卵障碍大鼠卵泡计数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	n	成熟卵泡 /卵泡总数	黄体数/个
菟丝子	308.67	8	0.43 ± 0.10 <sup>1)</sup>	9.50 ± 1.83
	77.17	8	0.34 ± 0.05 <sup>1)</sup>	9.06 ± 1.15
菟丝子黄酮	60.32	8	0.33 ± 0.12 <sup>1)</sup>	10.50 ± 3.72
	15.08	7	0.33 ± 0.05 <sup>1)</sup>	11.07 ± 3.93
模型	-	8	0.15 ± 0.08	10.63 ± 2.91
正常	-	8	0.38 ± 0.16 <sup>1)</sup>	11.38 ± 2.25

有黄酮类、多糖类、氨基酸、生物碱等成分,近年来有文献报道,菟丝子黄酮对雌性和雄性鼠生殖内分泌都有作用<sup>[4, 8-9]</sup>。

羟基脲抑制 DNA 合成,使得脂肪、蛋白质、能量代谢下降。实验过程中观察到,模型组大鼠子宫、卵巢苍白,而正常组大鼠子宫、卵巢色泽红润,中药治疗组较红润。陈秋梅等<sup>[10]</sup>报道,发现排卵障碍性不孕者的血流特性指标表现不良。推测羟基脲的抑制作用,可能影响了子宫、卵巢的血液流变学,减少了血液循环输送到子宫、卵巢的氧和营养物质,可能是子宫、卵巢指数下降的部分原因。中药治疗组子宫、卵巢较模型组红润,脏器指数增加,推测 SC, FSC 可能改善了生殖器官血流特性。

羟基脲与性腺轴功能紊乱密切相关<sup>[11]</sup>,有明显的抑制作用。模型组大鼠血清 FSH, LH, E<sub>2</sub> 水平较正常组显著降低。施加干预后,在大鼠全身状况指标(如体重、毛色、活动等)的改善上,SC 优于 FSC,说明菟丝子中除黄酮外的其他成分,如多糖、氨基酸等有改善全身状况的作用。菟丝子低剂量组子宫指数未见上升,可能是菟丝子中的其他成分减弱了菟丝子黄酮的作用,使菟丝子低剂量组未能达到黄酮低剂量组的疗效。而菟丝子低剂量组卵巢指数上升,不排除卵巢上富含更多菟丝子有效物质或性激素结合位点的可能。在卵巢指数、成熟卵泡比例、黄体数等反应卵巢功能最直观的指标上,SC 与 FSC 组未见显著差异。但在反应卵泡发育、生长和排卵的性激素指标上差异明显。SC 高剂量组、FSC 低剂量组升高大鼠血清 E<sub>2</sub>, FSH 水平,二者间无显著性差异。说明 SC 和 FSC 都可以促进卵泡发育成熟,但低剂量的菟丝子黄酮即可以达到高剂量菟丝子同样的效果,由此推测,在促卵泡生长方面,菟丝子中除黄酮外的成分可能削弱了黄酮的作用。菟丝子黄酮低剂量组可显著升高大鼠血清 LH 水平,而菟丝子

组未见此改变,推测菟丝子黄酮可能有促排卵的作用,菟丝子中的其他成分可能抵消了黄酮的这种作用。

本实验结果表明:首先,菟丝子及菟丝子黄酮皆可一定程度的逆转羟基脲引起的肾虚排卵障碍;其次,菟丝子黄酮的促排卵效果可能优于菟丝子。由此得出,菟丝子改善肾虚排卵障碍的物质基础可能基于其主要成分黄酮的作用。菟丝子黄酮在生殖领域可能是一类很有应用前景的中药成分。

### [参考文献]

[1] 张晓芬,张慧珍. 七宝美髯丹加减治疗肾虚排卵障碍性不孕[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17):241.

[2] 方家,李林,刁军成,等. 补肾方联合腧穴热敏灸治疗排卵障碍性不孕[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):256.

[3] 刘新玉. 菟丝子及其有效部位提取物补肾安胎药效研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2012.

[4] Yang J, Wang Y, Bao Y, et al. The total flavones from Semen cuscuteae reverse the reduction of testosterone level and the expression of androgen receptor gene in kidney-yang deficient mice [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 119(1):166.

[5] 吴春艳,刘峰,张雪玲. 菟丝子的现代研究[J]. 中国实用医药, 2009, 4(14):243.

[6] 潘文灏,许志超,赵余庆. 菟丝子的生物活性与临床应用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2008, 4(4):47.

[7] 郝智. 菟丝子黄酮的研究近况[J]. 内蒙古医药, 2012(17):134.

[8] Qin D N, She B R, She Y C, et al. Effects of flavonoids from Semen Cuscuteae on the reproductive system in male rats [J]. Asian J Androl, 2000, 2(2):99.

[9] 王建红,王敏璋,欧阳栋,等. 菟丝子黄酮对心理应激雌性大鼠下丘脑 β-EP 与腺垂体 FSH、LH 的影响[J]. 中药材, 2002, 25(12):886.

[10] 陈秋梅,张树成,沈明秀. 调经孕育方药对排卵障碍性不孕者同步测试的卵泡和子宫内膜生长发育、血流特性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(2):58.

[11] 罗颂平. 肾主生殖的中医理论探讨与补肾法防治肾虚生殖障碍的机理研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2005.

[责任编辑 聂淑琴]