

基于正/反向效应评价香附四物汤中主要药对的作用特点及对整方的贡献

姚鑫, 刘培, 周卫, 唐于平*, 钱大玮, 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:**采用正/反向效应评价相结合的研究思路与方法探讨香附四物汤中主要药对的作用特点及对整方的贡献。**方法:**采用昆明种小鼠作为实验动物, 香附-延胡索药对水提取物组、全方除去香附-延胡索药对水提取物组、全方水提取物组、香附-当归药对水提取物组、全方除去香附-当归药对水提取物组按 1.17, 3.71, 5.46, 1.75, 3.70 g·kg⁻¹ 剂量 ig 给药, 空白对照 ig 生理盐水。以小鼠热板法、醋酸致小鼠扭体反应、小鼠原发性痛经模型和小鼠血虚模型, 评价各给药组对不同模型小鼠的影响。**结果:**在 3 种疼痛模型中, 香附-延胡索药对表现出很强的镇痛效果, 当其在香附四物汤组方中被剔除后作用明显减弱或消失, 而香附-当归药对的镇痛效果相对较弱, 当其在香附四物汤组方中被剔除后作用没有明显减弱, 有的甚至有所提高。小鼠血虚实验中, 各给药组白细胞数、胸脾腺指数与模型组比较无显著性差异, 从红细胞数和血红蛋白数指标变化发现, 香附-当归药对具有很强的补血效应, 而香附四物汤以及当其在香附四物汤组方中被剔除后, 其均未表现出明显的补血作用。同时, 香附四物汤能非常显著地升高痛经模型小鼠子宫组织中 NO 的含量, 提高 SOD 活力, 并降低 Ca²⁺ 水平。**结论:**在香附四物汤中, 香附-当归的补血作用减弱, 而香附-延胡索的镇痛作用依然显著, 并且香附四物汤抑制原发性痛经的作用机制可能与影响子宫组织中 NO, Ca²⁺ 水平及提高 SOD 活力有关; 同时通过实验发现采用正/反向效应评价相结合的方法是研究方剂配伍效应的有效途径。

[关键词] 香附四物汤; 药对; 镇痛; 补血; 正/反向评价

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0141-06

Forward-reverse Evaluation on Bio-active Contribution of Main Herb Pairs Including 'Rhizoma Cyperi-Rhizoma Corydalis' and 'Rhizoma Cyperi-Angelicae Sinensis Radix' in Xiangfu Siwu Decoction

YAO Xin, LIU Pei, ZHOU Wei, TANG Yu-ping*, QIAN Da-wei, DUAN Jin-ao
(Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research,
Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** The bio-active contribution of main herb pairs in Xiangfu Siwu decoction (XFSWD) was evaluated by using the forward-reverse biological activity test. **Method:** Four animal models, including hot-plate test, acetic acid-induced writhing, dysmenorrheal mice model, and blood-deficiency mice model, were adopted to test the effect of every sample on different models. **Result:** In the three pain models, Rhizoma Cyperi-Rhizoma Corydalis (RCRC) have great analgesic effect. When RCRC are removed from XFSWD, its analgesic activities was lowered, even disappeared. While the analgesic effect of Rhizoma Cyperi-Angelicae Sinensis Radix (RCASR) was weakened.

[收稿日期] 20110330(013)

[基金项目] 国家科技支撑计划课题(2008BAI51B01); 江苏省自然科学重大基础研究项目(06KJA36022, 07KJA36024, 10KJA360039); 江苏省方剂高技术重点实验室建设项目(BM2010576)

[第一作者] 姚鑫, 硕士研究生, E-mail: yaobest@163.com

[通讯作者] *唐于平, 教授, 博士生导师, 主要从事方药效应物质基础、量效关系与相互作用研究, Tel: 025-85811916, E-mail: yupingtang@njutcm.edu.cn

than RCRC; and when RCASR was removed from XFSWD, the effect was not diminished clearly, some were even increased. In comparison with the model group, the amount of white blood cells, the weight of spleen and thymus of all samples had no significant difference in the blood deficiency experiment. Based on the number variation of red blood cells and hemoglobin, RCASR had strong blood-enriching function, while XFSWD and XFSWD removed RCASR showed no apparent effect. Further research showed that XFSWD could raise NO level and SOD activity, degrade Ca^{2+} level in the uterus of dysmenorrheal mice. **Conclusion:** In XFSWD, the blood-enriching effect of RCASR is very weak, RCRC plays important role in its analgesia effect. The inhibiting dysmenorrhea of XFSWD may be resulted from affecting the level of NO and Ca^{2+} , and SOD activity. The forward-reverse bio-activity evaluation is an effectual method for studying on the compatibility regularity of traditional Chinese medicine formulae.

[**Key words**] Xiangfu Siwu decoction; herb pair; analgesic; blood-enriching effect; forward-reverse evaluation

药对是历代医家长期医疗实践的经验总结。通过对药对的研究,有利于对成方的剖析和理解,也有助于组织新方以及加减化裁方剂^[1]。香附四物汤由四物汤加香附、木香、延胡索组成,具有养血调血行气止痛的功效,主治气滞血瘀所致痛经、月经不调等症,是行气化瘀代表方之一,其中香附-当归、香附-延胡索是该方中两个主要药对。本实验室用关联规则方法探讨古今医家用四物汤类方治疗痛经的用药规律,结果发现,香附-当归药对使用频次较高,香附-延胡索药对最常与四物汤配合运用^[2]。香附与延胡索同用,相辅相助,一走气分,一走血分,气行则血行,血畅则气顺,既可理气解郁,又能活血化瘀,气血并治,具有较强的止痛作用。香附和当归同用,一主气分,一主血分,气血并治,理气活血,正为适宜^[3]。

华永庆等^[4]研究表明,香附配伍当归对缩宫素引起的离体小鼠子宫收缩幅度具有较大影响;王胜春^[5-7]等发现当归配伍延胡索对去甲肾上腺素引起的动脉条收缩有解痉作用,并探讨了对活血行气作用及毒性反应的影响。本文采用小鼠原发性痛经模型、小鼠血虚模型、醋酸致小鼠扭体反应和小鼠热板实验,通过正向与反向剔除的效应评价相结合,开展对香附四物汤、香附-当归、香附-延胡索的效应比较研究,以期揭示主要药对在香附四物汤中的作用特点及对整方的效应贡献。

1 材料

1.1 药物与试剂 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》2010 年版项下标准。其中当归药材来自甘肃岷县当归 GAP

种植基地,其余均购自南京市药材公司。苯甲酸雌二醇注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号 0906091);缩宫素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号 090615);醋酸(国药集团化学试剂有限公司,批号 09082610812);环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 09121321);N-乙酰苯肼(天津市光复精细化工研究所,批号 20081104);钙离子(Ca^{2+}),超氧化物歧化酶(SOD)及一氧化氮(NO)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20100504);96 孔板(上海超研生物科技有限公司);其余试剂均为市售分析纯。

1.2 动物 雌性未孕昆明种小鼠,SPF 级,体重 18~22 g,南京中医药大学动物中心提供,许可证号 SCXK(沪)2007-0005。

1.3 仪器 Sartoris BP211D 型电子天平;AL204 型电子天平(Mettler TOledo);YLS-6B 智能热板仪(北京吉安得尔科技有限公司制造);Power Wave 340 酶标仪(Bio-TEK,美国);JRJ-300-I 型组织匀浆机(上海华连科技有限公司)。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 香附-延胡索药对水提取物组(XYYD) 按照香附:延胡索 1:1 比例配比,称取药材 100 g,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 1 709 mL,即 $58.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为药对水提液供试样品。

2.1.2 全方除去香附-延胡索药对水提取物组(XFSW-XYYD) 按照当归:熟地黄:川芎:白芍:木香 3:4:1.5:1.5:1 比例配比,称取药材 189 g。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2次煎出液,浓缩至1 000 mL,即 $189\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为全方水提液供试样品。

2.1.3 全方水提取物组(XFSW) 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比例配比,称取药材210 g。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770 mL,即 $273\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为全方水提液供试样品。

2.1.4 香附-当归药对水提取物组(XGYD) 按照香附:当归1:2比例配比,称取药材44 g。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500 mL,即 $88\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为四物汤水提液供试样品。

2.1.5 全方除去香附-当归药对水提取物组(XFSW-XGYD) 按照熟地黄:川芎:白芍:延胡索:木香4:1.5:1.5:1.5:1.5:1比例配比,称取药材185 g。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1 000 mL,即 $185\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为全方水提液供试样品。

2.2 热板刺激法^[8] 预先以 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热板对雌性小鼠进行筛选,在10~30 s内出现舔足反应的为合格小鼠,不到10 s或超过30 s或喜跳跃者剔除。给药前先测每只小鼠的正常痛阈,以平均值不超过30 s为合格。连续2次,每次间隔30 min。

取痛阈值筛选合格小鼠72只,18~22 g,随机分成6组,于实验前12 h禁食,按 $0.02\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\text{ ig}$ 给药,连续3 d。香附-延胡索药对水提取物组、全方除去香附-延胡索药对水提取物组、全方水提取物组、香附-当归药对水提取物组、全方除去香附-当归药对水提取物组按1.17, 3.70, 5.46, 1.75, 3.70 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量ig给药,空白对照组给予生理盐水。连续给药3 d,测试当天实验前0.5 h ig给予受试药,对照组给予等量的生理盐水。末次给药后各组均在给药后每隔30 min测定1次,连续4次,观察药物时效关系。

2.3 醋酸所致小鼠扭体反应实验^[9] 昆明种雌性小鼠72只,18~22 g,随机分成6组,于实验前12 h禁食,按 $0.02\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\text{ ig}$ 给药,连续3 d。香附-延胡索药对水提取物组、全方除去香附-延胡索药对水提取物组、全方水提取物组、香附-当归药对水提取物组、全方除去香附-当归药对水提取物组按1.17, 3.70, 5.46, 1.75, 3.70 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量ig给药,空白对

照给予生理盐水。并于给药0.5 h后,ip 0.6%醋酸溶液0.2 mL/只,观察记录各组小鼠扭体反应潜伏期及20 min内扭体次数,比较组间差异,并按以下公式计算药物镇痛率,并进行统计分析。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组扭体次数} - \text{给药组扭体次数}}{\text{对照组扭体次数}} \times 100\%$$

2.4 原发性痛经模型的制备^[10] 以雌激素和缩宫素联合制备原发性痛经模型。以 $0.01\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 给小鼠连续sc苯甲酸雌二醇8 d,使小鼠子宫同步化。第8天,ip缩宫素 $0.01\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$,按上述方法制备原发性痛经模型。取昆明种雌性小鼠84只,18~22 g,随机分成7组,正常对照组、模型对照组给予等容积生理盐水,香附-延胡索药对水提取物组、全方除去香附-延胡索药对水提取物组、全方水提取物组、香附-当归药对水提取物组、全方除去香附-当归药对水提取物组按1.17, 3.70, 5.46, 1.75, 3.70 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量ig给药。按上述方法复制原发性痛经模型。从第6天起,每日上午ip苯甲酸雌二醇,下午正常对照组给予生理盐水0.4 mL/只,其余各组ig相应药物。连续3 d,于末次给药后30 min,ip缩宫素0.2 mL/只,记录注射后20 min内小鼠扭体次数及扭体反应抑制率。扭体反应动物测子宫组织匀浆液中 Ca^{2+} , NO的含量以及SOD活力按照试剂盒说明书进行操作。

2.5 小鼠血虚模型^[11] 取昆明种雌性小鼠84只,18~22 g,随机分成7组,香附-延胡索药对水提取物组、全方除去香附-延胡索药对水提取物组、全方水提取物组、香附-当归药对水提取物、全方除去香附-当归药对水提取物组按1.17, 3.70, 5.46, 1.75, 3.70 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量ig给药,于给药第2,5 dsc乙酰苯肼20,40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,从第5天起,每日ip环磷酰胺40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,连续4 d,造成小鼠血虚模型。正常组、模型对照组注射等容量生理盐水,于末次给药2 h后各组小鼠眼眶采血,然后处死小鼠,解剖取出脾脏、胸腺,去掉脂肪组织,使用精密电子天平称其质量。取抗凝血测白细胞数(WBC)、红细胞数(RBC)、血红蛋白含量(HGB)。

2.6 统计方法 所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用统计学SPSS 16.0软件处理,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠热板致痛模型的影响 由小鼠热板致痛模型的结果表明:XYD, XGYD, XFSW, XFSW-

XYYD, XFSW-XGYD 在给药后对热板刺激所致小鼠痛阈时间较给药前痛阈时间均有延长作用, 60min 后药物的作用强度达到最大, XYYD, XGYD, XFSW,

XFSW-XGYD 在给药 60 min 后与给药前比较, 能提高小鼠痛阈时间, 且为显著性差异 ($P < 0.05$); 各给药组均在给药后 2 h 痛阈降至给药前水平, 见表 1。

表 1 药对对小鼠热板实验的镇痛作用 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前痛阈/s	给药后时间/s	给药后痛阈/s	痛阈提高率/%
XYYD	1.17	14.27 ± 2.87	30	16.82 ± 3.77	19.90
			60	19.00 ± 2.33 ¹⁾	35.51
			90	17.72 ± 2.70 ¹⁾	26.49
			120	15.04 ± 2.78	7.23
XFSW-XYYD	3.70	14.53 ± 4.33	30	15.89 ± 3.88	13.32
			60	16.00 ± 5.52	14.10
			90	15.45 ± 6.06	10.21
			120	14.60 ± 4.10	4.09
XFSW	5.46	14.69 ± 4.02	30	17.51 ± 3.04 ¹⁾	24.83
			60	18.79 ± 4.48 ¹⁾	33.96
			90	17.08 ± 3.58	21.74
			120	14.60 ± 2.17	5.27
XGYD	1.75	14.32 ± 2.54	30	15.63 ± 2.53	11.49
			60	17.35 ± 6.15 ¹⁾	23.70
			90	15.98 ± 1.53	13.94
			120	15.85 ± 2.77	13.04
XFSW-XGYD	3.70	14.95 ± 4.36	30	17.00 ± 3.53	21.21
			60	18.06 ± 5.83 ¹⁾	28.82
			90	17.14 ± 4.51	22.20
			120	16.31 ± 5.54	16.32

注:与给药前比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 对冰醋酸致小鼠扭体反应的影响 各给药组均能抑制醋酸致小鼠扭体次数, 且 XYYD, XGYD, XFSW-XGYD 与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.05$), XFSW 与模型组比较有极显著性差异 ($P < 0.01$), 抑制率大小分别为: XFSW > XFSW-XGYD > XYYD > XGYD > XFSW-XYYD, 见表 2。

3.3 对原发性痛经的影响 除 XFSW-XGYD 外, XYYD, XGYD, XFSW, XFSW-XYYD 与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.05$), 且抑制率大小分别为 XFSW > XYYD > XGYD > XFSW-XGYD > XFSW-XYYD, 结果见表 3。

与模型组比较, 药物组均能降低小鼠子宫匀浆组织中 Ca^{2+} 浓度, XYYD, XGYD, XFSW, XFSW-XYYD 组具有统计学极显著差异 ($P < 0.01$), Ca^{2+} 抑制率分别为 XGYD > XYYD > XFSW > XFSW-

表 2 药对对小鼠醋酸扭体的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	扭体反应		
		潜伏期/min	次数	抑制率/%
模型组	-	2.21 ± 1.05	38.00 ± 13.11	-
XYYD	1.17	3.62 ± 2.50	16.75 ± 8.98 ¹⁾	55.92
XFSW-XYYD	3.70	3.78 ± 0.78	23.66 ± 3.50	37.71
XFSW	5.46	3.27 ± 2.29	10.75 ± 7.18 ²⁾	71.71
XGYD	1.75	2.87 ± 1.66	19.10 ± 6.95 ¹⁾	49.70
XFSW-XGYD	3.70	2.14 ± 1.93	15.00 ± 9.91 ¹⁾	60.52

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 3 ~ 8 同)。

XYYD > XFSW-XGYD, 结果见表 4。

与模型组比较, 除 XGYD 外, XFSW-XGYD, XYYD, XFSW, XFSW-XYYD 均可升高痛经小鼠子宫组织中 NO 水平, 且 XYYD, XFSW 有极显著差异 (P

<0.01),NO 提高率分别为 XYD > XFSW > XFSW-XGYD > XFSW-XYD > XGYD,结果见表 5。

与模型组比较,XFSW-XYD,XFSW-XGYD 能降低 SOD 活力,且 XFSW-XYD 有极显著差异($P < 0.01$);XYD,XGYD,XFSW 能够提高 SOD 活力,且 XYD 有极显著差异($P < 0.01$),XFSW 有显著性差异($P < 0.05$),结果见表 6。

表 3 药对对原发性痛经模型小鼠扭体的抑制作用($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	扭体反应		
		潜伏期/min	次数/次	抑制率/%
正常	-	-	0	100
模型	-	2.12 ± 1.15	14.00 ± 7.9	-
XYD	1.17	2.30 ± 0.82	6.14 ± 3.18 ¹⁾	56.12
XFSW-XYD	3.70	3.16 ± 0.66	8.84 ± 5.74 ¹⁾	36.85
XFSW	5.46	2.80 ± 0.42	6.00 ± 4.44 ¹⁾	57.14
XGYD	1.75	2.46 ± 0.64	7.75 ± 2.86 ¹⁾	44.64
XFSW-XGYD	3.70	2.56 ± 0.55	9.33 ± 3.42	33.35

表 4 药对对痛经模型小鼠子宫匀浆中 Ca^{2+} 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	Ca^{2+} 浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$	减少率/%
正常	-	0.52 ± 0.28	-
模型	-	0.87 ± 0.25	-
XYD	1.17	0.38 ± 0.15 ²⁾	56.49
XFSW-XYD	3.70	0.43 ± 0.09 ²⁾	50.55
XFSW	5.46	0.43 ± 0.27 ²⁾	50.67
XGYD	1.75	0.37 ± 0.23 ²⁾	57.56
XFSW-XGYD	3.70	0.71 ± 0.53	18.80

表 5 药对对痛经模型小鼠子宫匀浆中 NO 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	NO 浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$	提高率/%
正常	-	2.41 ± 0.83	-
模型	-	1.29 ± 0.46	-
XYD	1.17	3.46 ± 0.91 ²⁾	168.04
XFSW-XYD	3.70	1.41 ± 0.41	9.04
XFSW	5.46	2.96 ± 0.47 ²⁾	129.36
XGYD	1.75	1.11 ± 0.77	-14.00
XFSW-XGYD	3.70	1.72 ± 0.63	32.96

3.4 对小鼠血虚模型的影响 与模型组比较,给药后各给药组白细胞数有不同程度的降低,红细胞和血红蛋白数均有所升高,且 XGYD 均有极显著差异($P < 0.01$),见表 7。

与模型组比较,各给药组脾脏质量均有所提高,且 XFSW 和 XFSW-XYD 有显著性差异($P < 0.05$)。给药各组胸腺质量与模型组比差异均无统计学意义。见表 8。

表 6 药对对痛经模型小鼠子宫匀浆中 SOD 活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	提高率/%
正常	-	11.11 ± 5.38	-
模型	-	7.53 ± 1.71	-
XYD	1.17	11.55 ± 3.53 ²⁾	53.16
XFSW-XYD	3.70	2.36 ± 0.83 ²⁾	-68.14
XFSW	5.46	10.47 ± 4.55 ¹⁾	38.86
XGYD	1.75	10.70 ± 4.45	42.01
XFSW-XGYD	3.70	7.20 ± 2.26	-4.45

表 7 药对对血虚小鼠白细胞数、红细胞数、血红蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	WBC/ $10^9/\text{L}$	RBC/ $10^{12}/\text{L}$	HGB/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
正常	-	3.63 ± 0.91	5.14 ± 0.75	79.40 ± 11.40
模型	-	1.76 ± 0.61	3.01 ± 0.50	53.00 ± 8.28
XYD	1.17	1.22 ± 0.41	3.65 ± 0.60	60.80 ± 11.3
XFSW-XYD	3.70	1.63 ± 0.50	3.62 ± 0.43	61.60 ± 7.00
XFSW	5.46	1.07 ± 0.38	3.26 ± 0.70	60.00 ± 5.29
XGYD	1.75	1.64 ± 0.49	4.28 ± 0.36 ²⁾	71.50 ± 4.79 ²⁾
XFSW-XGYD	3.70	1.71 ± 0.30	3.53 ± 0.58	59.75 ± 10.50

表 8 药对对血虚小鼠免疫器官质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	胸腺/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	脾脏/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
正常	-	2.54 ± 0.91	5.67 ± 1.07
模型	-	0.74 ± 0.21	3.79 ± 0.11
XYD	1.17	0.71 ± 0.13	4.16 ± 0.39
XFSW-XYD	3.70	0.93 ± 0.22	5.80 ± 1.11 ¹⁾
XFSW	5.46	0.76 ± 0.18	4.30 ± 0.29 ¹⁾
XGYD	1.75	0.80 ± 0.45	4.92 ± 1.29
XFSW-XGYD	3.70	0.86 ± 0.20	4.90 ± 1.45

4 讨论

在 3 种疼痛模型中,小鼠热板致痛实验反应(体现中枢镇痛效果)的效应强度依次为:XYD > XFSW ≈ XFSW-XGYD > XGYD > XFSW-XYD;冰醋酸致小鼠扭体实验反应(体现外周镇痛效果)的效应强度依次为:XFSW > XFSW-XGYD > XYD > XGYD > XFSW-XYD,在原发性痛经实验中效应强度依次为:XFSW > XYD > XGYD > XFSW-XGYD > XFSW-XYD。这些结果表明香附-延胡索药对本身就有很强的镇痛效果,当其在香附四物汤组方中被剔除后作用明显减弱或消失,而香附-当归药对的镇痛效果比香附-延胡索药对弱,甚至在小鼠热板致痛实验反应几乎没有表现出镇痛作用,当其在香附四物汤组方中被剔除后作用没有明显减弱,反而在小鼠热板致痛实验反应和冰醋酸致小鼠扭体实验反应

中镇痛作用有增强的表现。因此,从正/反两个方面说明,针对香附四物汤表现出的镇痛作用,其所含的药对香附-延胡索对整方作用贡献突出,而香附-当归药对贡献量很小。

小鼠血虚实验结果表明,各给药组白细胞数、胸腺指数与模型组比较无显著性差异,说明本实验中所选择的研究对象香附四物汤及其主要药对作用靶点可能不在白细胞、胸腺和脾脏上。从红细胞数和血红蛋白数指标变化发现,香附-当归药对本身具有很强的补血效应,而在含有香附-当归药对的香附四物汤,以及当其在香附四物汤组方中被剔除后,其均未表现出明显的补血作用,说明在香附四物汤组方中,含有拮抗香附-当归药对补血效应的药味或由于方剂中复杂的物理化学变化所致。

香附四物汤是在四物汤的基础上加香附、木香、延胡索组成,具有养血调血、行气止痛的功效。在本镇痛实验中,香附四物汤镇痛作用均是最强,在小鼠血虚实验中,其红细胞数、血红蛋白含量、胸腺、脾脏质量上升均不明显,表明香附四物汤在抑制痛经作用中以镇痛为主,补血为辅,反过来也说明香附四物汤不适宜于治疗血虚较重的痛经患者。

前人研究发现妇女痛经时 Ca^{2+} 内流, NO 水平随之降低,血管和子宫肌收缩,进而导致子宫内膜供血不足^[12]。并且血管和子宫肌收缩时所需 Ca^{2+} 主要来自细胞外,子宫收缩与外部 Ca^{2+} 内流以及 NO 水平降低有关^[13-14]。因此, Ca^{2+} 和 NO 与痛经的发生有着重要的联系。SOD 是一种内源性抗炎因子,是机体内清除自由基的蛋白酶,可不断清除积聚过多的氧自由基,保护机体组织。SOD 活力的高低反应了机体清除氧自由基的能力,有研究表明,氧自由基在外周和中枢均有致痛作用,自由基清除剂 SOD 则可对抗此致痛作用^[15]。本文实验结果表明,香附四物汤可非常显著地升高痛经模型小鼠子宫组织中 NO 的含量,提高 SOD 活力,同时降低 Ca^{2+} 水平,推测其治疗痛经的作用机制可能与影响子宫组织中 NO, Ca^{2+} 水平及 SOD 活力有关,这也有助于进一步揭示香附四物汤治疗痛经的作用机制。

[参考文献]

[1] 程昭寰. 方剂气味配伍理论及应用[M]. 北京:中国

中医药出版社,2006:36.

[2] 叶亮,范欣生,卞雅莉,等. 古今治疗痛经的四物汤类方关联规则研究[J]. 南京中医药大学学报,2008,24(2):94.

[3] 陈维华,徐国龙,张明淮,等. 药对论[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,1989:179.

[4] 华永庆,洪敏,李璇,等. 当归、芍药、香附及其配伍对离体小鼠子宫痛经模型的影响[J]. 浙江中医杂志,2003(1):26.

[5] 王胜春,刘明义,李剑峰,等. 当归、莪术、延胡索及其相互配伍对兔胸主动脉条的作用. 中国现代应用药学,2005,22(1):25.

[6] 王胜春,李剑峰,刘明义,等. 莪术、当归、延胡索及配伍后的活血行气作用[J]. 解放军药科学报,2004,20(5):331.

[7] 王胜春,刘明义,胡咏武. 当归、莪术、延胡索及其配伍对小鼠的毒性反应[J]. 时珍国医国药,2005,15(4):211.

[8] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科技出版社,1991:350.

[9] Koster R, Anderson M, Debeer E J, et al. Acetic acid for analgesics screening[J]. Fed Proc,1959,18:412.

[10] 王团结,欧阳臻,宿树兰,等. 没药不同提取物对小鼠痛经模型的影响[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(3):225.

[11] 聂金娜,蔡万德,王迪. 八珍汤及其所含方剂对血虚小鼠造血功能的影响[J]. 长春中医药大学学报,2007,23(2):17.

[12] Dawood M, Yusoff M D. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management[J]. Obstet Gynecol,2006,108(2):428.

[13] Izumi H, Garfield R E. Relaxant effects of nitric oxide and cyclic GMP on pregnant rat uterine longitudinal smooth muscle[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1995,60:171.

[14] Sun M F, Huang H C, Lin S C, et al. Evaluation of nitric oxide and homocysteine levels in primary dysmenorrheal women in Taiwan[J]. Life Sci,2005,76(17):2005.

[15] 刘铭佩. 松潘乌头总碱的镇痛作用[J]. 中药药理与临床,2007,23(1):36.

[责任编辑 聂淑琴]