

# 鸡冠花正丁醇萃取物改善大鼠功能失调性子宫出血的机制研究<sup>△</sup>

顾媛媛<sup>1\*</sup>, 赵润琴<sup>2#</sup>, 石朗<sup>2</sup>, 张允菲<sup>1</sup>, 冯程<sup>1</sup>, 方芳<sup>1</sup>, 张淑香<sup>1</sup>, 王连芝<sup>1</sup>, 陈大忠<sup>1</sup>(1.黑龙江中医药大学中药研究院, 哈尔滨 150040; 2.黑龙江中医药大学附属第一医院制剂室, 哈尔滨 150040)

中图分类号 R711;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)19-2617-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.19.07

**摘要** 目的:研究鸡冠花正丁醇萃取物对大鼠功能失调性子宫出血的改善作用,并探讨其作用机制。方法:将60只受孕SD大鼠随机分为空白组、模型组、宫血宁胶囊组(阳性对照,0.07 g/kg)和鸡冠花正丁醇萃取物高、中、低剂量组(4.32、2.16、1.08 g/kg),每组10只。除空白组外,其余各组大鼠均在妊娠第7天ig米非司酮溶液和米索前列醇溶液造成不完全流产,以复制功能失调性子宫出血模型。从妊娠第8天开始,给药组大鼠ig相应药物,空白组和模型组大鼠ig等体积生理盐水,每天早、晚各给药1次,连续7d。给药结束后,测定大鼠子宫出血量以及血清中血栓素(TXA<sub>2</sub>)、前列环素(PGI<sub>2</sub>)和肿瘤坏死因子α(TNF-α)含量。结果:与空白组比较,模型组大鼠子宫出血量显著增加( $P<0.01$ ),血清中TXA<sub>2</sub>含量显著减少、PGI<sub>2</sub>和TNF-α含量显著增加( $P<0.01$ )。与模型组比较,各给药组大鼠的子宫出血量均显著减少、血清中TXA<sub>2</sub>含量均显著增加( $P<0.01$ );宫血宁胶囊组和鸡冠花正丁醇萃取物高剂量组大鼠血清中PGI<sub>2</sub>、TNF-α含量,以及鸡冠花正丁醇萃取物中剂量组大鼠血清中TNF-α含量均显著减少( $P<0.01$ )。结论:鸡冠花正丁醇萃取物对药物流产不全致大鼠功能失调性子宫出血有明显的改善作用,其作用机制可能与调节TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub>动态平衡、抑制TNF-α的过度分泌有关。

**关键词** 鸡冠花;正丁醇萃取物;功能失调性子宫出血;止血;大鼠

## Study on the Mechanism of *Celosia cristata* *N*-butanol Extracts in the Improvement of Dysfunctional Uterine Bleeding of Rats

GU Yuanyuan<sup>1</sup>, ZHAO Runqin<sup>2</sup>, SHI Lang<sup>2</sup>, ZHANG Yunfei<sup>1</sup>, FENG Cheng<sup>1</sup>, FANG Fang<sup>1</sup>, ZHANG Shuxiang<sup>1</sup>, WANG Lianzhi<sup>1</sup>, CHEN Dazhong<sup>1</sup>(1.Research Institute of TCM, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2.Preparation Room, the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the improvement effect of *Celosia cristata* *n*-butanol extracts on dysfunctional uterine bleeding of rats, and explore its mechanism. METHODS: 60 pregnant SD rats were randomly divided into blank group, model group, Gongxuening capsule group (positive control, 0.07 g/kg) and *C. cristata* *n*-butanol extracts high-dose, medium-dose, low-dose groups (4.32, 2.16, 1.08 g/kg), 10 in each group. Except for the blank group, rats in other groups were intragastrically given mifepristone and misoprostol on 7th of pregnancy for resulting incomplete abortion to induce models of dysfunctional uterine bleeding. Then rats in administration groups were intragastrically given relevant medicines, rats in blank group and model group were intragastrically given normal saline once every morning and evening, for 7 d. On 8th d of pregnancy, uterine bleeding amount, and thromboxane (TXA<sub>2</sub>), prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) and tumor necrosis factor α (TNF-α) contents in serum were determined. RESULTS: Compared with blank group, uterine bleeding amount in model group was significantly increased ( $P<0.01$ ), TXA<sub>2</sub> content in serum was significantly reduced, PGI<sub>2</sub> and TNF-α contents were significantly increased ( $P<0.01$ ). Compared with model group, uterine bleeding amounts in administration groups were significantly reduced, TXA<sub>2</sub> content in serum was significantly increased ( $P<0.01$ ); PGI<sub>2</sub> and TNF-α contents in serum in Gongxuening capsule group and *C. cristata* *n*-butanol extracts high-dose group and TNF-α content in serum in *C. cristata* *n*-butanol extracts medium-dose group were significantly reduced ( $P<0.01$ ). CONCLUSIONS: *C. cristata* *n*-butanol extracts show obvious improvement effect on incomplete drug abortion-induced dysfunctional uterine bleeding of rats, and the mechanism may be related to the regulation of TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> dynamic balance and inhibition of TNF-α transient secretion.

**KEYWORDS** *Celosia cristata*; *N*-butanol extracts; Dysfunctional uterine bleeding; Hemostasis; Rats

鸡冠花始载于《嘉佑本草》,为苋科青葙属植物鸡冠

△基金项目:黑龙江省中医药科研项目(No.ZHY16-101);黑龙江省自然科学基金面上项目(No.H201468)

\*助理研究员,博士。研究方向:中药药效物质基础及分子机制。电话:0451-87267072。E-mail:yuanwas@163.com

#通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:中药药效物质基础。E-mail:1577268711@qq.com

花(*Celosia cristata* L.)的干燥花序,其味甘、涩,性凉,归肝、大肠经,功效为收敛止血、止带、止痢<sup>[1]</sup>。据《本草纲目》记载:“鸡冠花可治疗痔漏下血,齿白下痢,崩中等”,适用于功能失调性子宫出血、产后出血、吐血、崩漏、血淋、便血等病症<sup>[2]</sup>,为妇科常用之良药。有研究资料表明,鸡冠花具有较好的凉血、止血作用,对功能失调性子

宫出血具有较好的疗效<sup>[3]</sup>。本课题组前期研究也发现,鸡冠花具有较好的止血、凝血作用,且确定鸡冠花正丁醇萃取物为有效部位,故本研究建立大鼠子宫出血模型,研究鸡冠花正丁醇萃取物对大鼠功能失调性子宫出血的止血作用及作用机制,为其临床应用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

UV-1800紫外分光光度仪(日本岛津公司);JA2003精密电子天平(上海良平仪器厂);Thermo MK3酶标仪(美国塞默飞世尔科技有限公司);Nikon Eclipse TE2000-E倒置显微镜[尼康(上海)仪器有限公司];TDL-60B低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

### 1.2 药材、药品与试剂

鸡冠花采摘于黑龙江中医药大学药用植物园,经黑龙江中医药大学王振月教授鉴定为苋科青葙属植物鸡冠花(*Celosia cristata* L.)的干燥花序;宫血宁胶囊(云南白药集团股份有限公司,批号:ZGA1605,规格:0.13 g/粒);米非司酮片(批号:43160303,规格:25 mg/片)、米索前列醇片(批号:43160303,规格:0.2 mg/片)均购自华润紫竹药业有限公司;血栓素(TXA<sub>2</sub>,批号:201609)、前列环素(PGI<sub>2</sub>,批号:201609)、肿瘤坏死因子α(TNF-α,批号:201609)酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒均由天津子涵生物科技有限公司提供;其余试剂均为化学纯。

### 1.3 动物

SPF级健康SD大鼠120只[♀:90只,体质量(250±10)g;♂:30只,体质量(280±20)g],由黑龙江中医药大学药物安全性评价中心提供,合格证号:SCXK(黑)2013-004。

## 2 方法

### 2.1 鸡冠花正丁醇萃取物的制备

将鸡冠花干燥花序粗粉加8倍量的95%乙醇回流提取3次,每次2 h,提取液减压浓缩,用水混悬后,再分别用等体积的二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取3次,取正丁醇萃取液减压回收溶剂,得到正丁醇萃取物干浸膏(每1 g干浸膏相当于原药材30.50 g),备用。

### 2.2 造模、分组与给药

将大鼠按♀:♂为2:1~3:1的比例合笼,次日进行阴道涂片检查,若发现精子或阴栓表示受孕成功,作为妊娠第1天;若未受孕,待下次继续合笼受孕。取受孕成功的♀鼠60只,采用随机数字表法分为6组,每组10只,分别为空白组、模型组、宫血宁胶囊组和鸡冠花正丁醇萃取物高、中、低剂量组。除空白组外,其余各组大鼠分别于妊娠第7天ig米非司酮溶液(上午8:00,8.3 mg/kg)和米索前列醇溶液(下午18:00,0.1 mg/kg),造成早孕大鼠不完全流产的功能失调性子宫出血模型<sup>[4-5]</sup>;同时于♀鼠阴道内置入消毒棉球,吸收子宫出血物,次日分别

于早、晚将棉球取出,放入封口袋中,于4℃冰箱冷藏保存,每天更换2次新棉球,直至妊娠第14天。从妊娠第8天开始,宫血宁胶囊组大鼠ig宫血宁胶囊0.07 g/kg(蒸馏水溶解,按临床的等效剂量换算而得);鸡冠花正丁醇萃取物高、中、低剂量组大鼠分别ig鸡冠花正丁醇萃取物4.32、2.16、1.08 g/kg(分别按临床剂量的4、2、1倍换算而得);空白组和模型组大鼠ig等体积(5 mL)的蒸馏水,每天早、晚各给药1次,连续7 d。

### 2.3 大鼠子宫出血量的测定

末次给药后1 h将大鼠麻醉,下腔静脉取血20 μL,加入5%NaOH溶液4 mL<sup>[6]</sup>,用移液枪混匀,以5%NaOH溶液调零,采用紫外分光光度仪于546 nm波长处测定静脉血吸光度(A)值。将每只大鼠子宫出血棉球收集后置于烧杯内,根据出血量的情况酌情加入5%NaOH溶液<sup>[7]</sup>,浸渍提取24 h后,测定浸渍液的A值,计算子宫出血量:子宫出血量(mL)=静脉血量×(子宫浸提液A值×V<sub>2</sub>)/(静脉血A值×V<sub>1</sub>),其中V<sub>1</sub>为稀释静脉血所用的NaOH溶液的体积(4 mL),V<sub>2</sub>为浸提子宫血所用NaOH溶液的体积。

### 2.4 大鼠血清中TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub>和TNF-α含量的测定

乌拉坦麻醉大鼠后下腔静脉取血2 mL,以离心半径为10 cm、3 500 r/min离心20 min,取上清,按照试剂盒说明书,采用ELISA法测定血清中TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub>和TNF-α的含量。

### 2.5 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件进行数据分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析和t检验。 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 鸡冠花正丁醇萃取物对大鼠子宫出血量的影响

与空白组比较,模型组大鼠子宫出血量显著增加( $P < 0.01$ );与模型组比较,宫血宁组和鸡冠花正丁醇萃取物各剂量组大鼠子宫出血量均显著减少( $P < 0.01$ ),结果详见表1。

表1 各组大鼠子宫出血量测定结果( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Tab 1 Determination results of uterine bleeding amount of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量,g/kg	子宫出血量,mL
空白组		0.072 4±0.011 1
模型组		0.780 7±0.099 8**
宫血宁胶囊组	0.07	0.488 1±0.071 6**
鸡冠花正丁醇萃取物高剂量组	4.32	0.187 2±0.019 3**
鸡冠花正丁醇萃取物中剂量组	2.16	0.485 6±0.134 7**
鸡冠花正丁醇萃取物低剂量组	1.08	0.532 6±0.116 7**

注:与空白组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,\*\* $P < 0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, \*\* $P < 0.01$

### 3.2 鸡冠花正丁醇萃取物对大鼠血清中TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub>和TNF-α含量的影响

与空白组比较,模型组大鼠血清中TXA<sub>2</sub>含量显著减少( $P<0.01$ ), PGI<sub>2</sub>、TNF- $\alpha$ 含量显著增加( $P<0.01$ );与模型组比较,各给药组大鼠血清中TXA<sub>2</sub>含量均显著增加( $P<0.01$ ),宫血宁胶囊组和鸡冠花正丁醇萃取物高剂量组大鼠血清中PGI<sub>2</sub>含量均显著减少( $P<0.01$ ),宫血宁组和鸡冠花正丁醇萃取物高、中剂量组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 含量均显著减少( $P<0.01$ ),结果详见表2。

表2 各组大鼠血清中TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub>、TNF- $\alpha$ 含量测定结果( $\bar{x}\pm s, n=10, \text{ng/L}$ )

Tab 2 Determination results of TXA<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> and TNF- $\alpha$  contents in serum of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=10, \text{ng/L}$ )

组别	剂量, g/kg	TXA <sub>2</sub>	PGI <sub>2</sub>	TNF- $\alpha$
空白组		161.81±29.01	45.03±13.71	94.86±9.88
模型组		89.82±12.43**	81.45±11.24**	185.56±17.52**
宫血宁胶囊组	0.07	139.45±25.35 <sup>##</sup>	63.03±14.22 <sup>##</sup>	96.99±9.07 <sup>##</sup>
鸡冠花正丁醇萃取物高剂量组	4.32	145.61±22.39 <sup>##</sup>	61.44±7.30 <sup>##</sup>	114.74±11.47 <sup>##</sup>
鸡冠花正丁醇萃取物中剂量组	2.16	123.70±21.32 <sup>##</sup>	75.78±12.70	144.61±13.52 <sup>##</sup>
鸡冠花正丁醇萃取物低剂量组	1.08	108.31±18.44 <sup>##</sup>	79.88±11.84	158.27±15.97

注:与空白组比较, \*\* $P<0.01$ ;与模型组比较, <sup>##</sup> $P<0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P<0.01$ ; vs. model group, <sup>##</sup> $P<0.01$

#### 4 讨论

功能失调性子宫出血为妇科急症之一,在中医学中属于“崩漏”范畴<sup>[8]</sup>,多由于脾虚不能统血、冲任失固所致,若时日持久,则耗伤气血,使病情加重难以治愈。本研究采用ig米非司酮溶液和米索前列醇溶液的方法建立早孕大鼠子宫出血模型,可用于功能失调性子宫出血治疗药物的筛选和评价。宫血宁胶囊对子宫出血具有较好的治疗作用,且对子宫内膜有明显的修复作用,临床应用广泛,再结合文献<sup>[9]</sup>报道确定其为本研究的阳性药物。

在前列腺素类物质中, TXA<sub>2</sub>是目前发现的最强的血管收缩剂,其由血小板产生,具有强烈的血小板聚集及血管收缩作用;同时其可使血小板膜上的腺苷环化酶受到抑制,减少环腺苷酸的生成,促使血小板活化,从而促进血栓形成。PGI<sub>2</sub>则是作用较强的血管舒张剂,主要在血管内皮细胞中产生,能够较强地抑制血小板聚集,又能够使已聚集的血小板溶散,是目前已知的抑制血小板聚集最强的物质。TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub>是体内的一对动态平衡因子,对维持血小板内环境的稳定、控制正常的止血机制及防止血栓形成具有重要意义,若此比例失衡,可导致子宫内出血或异常出血<sup>[10-11]</sup>。本研究结果显示,高

剂量鸡冠花正丁醇萃取物能显著升高造模大鼠血清中TXA<sub>2</sub>含量,降低血清中PGI<sub>2</sub>含量。TNF- $\alpha$ 是炎症反应过程中重要的促炎因子,可激活多种炎症信号通路,与多种免疫炎症性疾病有关。本研究结果显示,高、中剂量鸡冠花正丁醇萃取物均能显著降低造模大鼠血清中TNF- $\alpha$ 含量。

综上所述,鸡冠花正丁醇萃取物对大鼠功能失调性子宫出血具有明显改善作用,其机制可能与调节TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub>动态平衡和抑制TNF- $\alpha$ 的过度分泌有关。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:195.
- [2] 曲艳玲,张海晶,陈大忠. 鸡冠花中有效部位止血作用机制的初步研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(5): 1113-1114.
- [3] 包贝华,赵显,曹雨诞,等. 鸡冠花对致热复合出血模型大鼠的凉血止血效应机制研究[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(10): 1457-1461.
- [4] 董自波,李超,洪敏. 益母草与马齿苋配伍对早孕大鼠不完全流产子宫出血的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2015, 21(1): 56-58.
- [5] 谢金鲜,霍宇,方显明. 经血宁胶囊对药物性流产大鼠子宫出血的止血作用研究[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(2): 357-359.
- [6] 欧莉,韩猛,张艺耀,等. 茜草治疗功能性子宫出血的止血机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(21): 152-155.
- [7] 贵刚,陈文培,黄浩欣,等. 妇血安片对药物流产不全致子宫出血大鼠的作用及其机制[J]. 中药材, 2015, 38(11): 2381-2385.
- [8] 李永霞,王芳,龙子江,等. 芪术功血宁颗粒的止血作用研究[J]. 中国药房, 2010, 21(31): 1894-1895.
- [9] 吕小波,黄春球,杨东加,等. 云南红药对功能失调性子宫出血模型大鼠血浆血栓烷A<sub>2</sub>和前列环素含量的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25(6): 558-561.
- [10] 徐慧军,王莉,薛辉,等. 安冲汤止血调经的临床观察及机理研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2010, 5(10): 868-870.
- [11] 刘明,梁建东,张永萍,等. 盆炎清灌肠剂治疗大鼠慢性盆腔炎的研究[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(3): 130-132.

(收稿日期:2017-01-07 修回日期:2017-03-21)

(编辑:林 静)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊, 欢迎投稿、订阅