

# 益气化瘀合剂治疗功能失调性子宫出血的实验研究

李靖<sup>1,2</sup>, 蒋宝平<sup>3</sup>, 许波华<sup>3</sup>, 徐桂华<sup>1\*</sup>

(1.南京中医药大学护理学院,江苏 南京 210023;2.南京中医药大学附属中西医结合医院,江苏 南京 210028;3.南京中医药大学药学院,江苏 南京 210023)

**摘要:****目的** 研究益气化瘀合剂治疗功能失调性子宫出血的作用。**方法** 采用早孕不完全流产复制功能失调性子宫出血模型,观察益气化瘀合剂对模型大鼠子宫出血时间的影响;小鼠断尾法及玻片法观察益气化瘀合剂对华法林致凝血障碍小鼠凝血、出血时间的影响;二甲苯和醋酸致炎法,观察益气化瘀合剂的抗炎作用;扭体法观察益气化瘀合剂对催产素和醋酸所致小鼠疼痛的抑制作用。**结果** 益气化瘀合剂能明显减少子宫出血模型大鼠子宫出血时间,缩短凝血障碍小鼠出血和凝血时间,抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀和醋酸所致毛细血管通透性的增加,减少催产素和醋酸所致小鼠扭体反应次数。**结论** 益气化瘀合剂对功能失调性子宫出血具有显著的止血、抗炎和镇痛作用。

**关键词:** 益气化瘀合剂;子宫出血;止血;抗炎;镇痛

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-0482(2015)04-0341-04

**DOI:** 10.14148/j.issn.1672-0482.2015.0341

**Dysfunctional Uterine Bleeding Experimental Study on Therapeutic Effects of Dysfunctional Uterine Bleeding by Yiqi Huayu Mixture**

**LI Jing<sup>1,2</sup>, JIANG Bao-ping<sup>3</sup>, XU Bo-hua<sup>3</sup>, XU Gui-hua<sup>1\*</sup>**

(1. School of Nursing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. Integrated Chinese and Western Medicine Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210028, China; 3. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study effects of Yiqi Huayu mixture in the treatment of dysfunctional uterine bleeding(BUD). **METHODS** DUB models in rats were established by administering intragastrically with mifepristone and misoprostol to pregnant rats. After management, the uterine bleeding time was determined. Clotting and bleeding time were observed on coagulation dysfunction of mice induced by warfarin. The twist induced by acetic acid and oxytocin, swollen auricle of mice induced by xylene and changes of celiac capillary permeability induced by acetic acid were employed to evaluate the anti-inflammation and analgesia effects of Yiqi Huayu mixture. **RESULTS** The Yiqi Huayu mixture can obviously reduce the uterine bleeding time in DUB model rat, reduce the bleeding and clotting time of mice with blood coagulation disorders, could markedly reduce the twisting number of mice induced by acetic acid and oxytocin, relieve swollen auricle of mice induced by xylene, reduce the increase of capillary permeability induced by acetic acid. **CONCLUSION** Yiqi Huayu mixture has stanching, anti-inflammation and analgesia effects, so it can effectively cure on dysfunctional uterine bleeding.

**KEY WORDS:** Yiqi Huayu Mixture; uterine bleeding; stop bleeding; anti-inflammation; analgesia

功能失调性子宫出血(Dysfunctional uterine bleeding, DUB),简称功血,是由于下丘脑-垂体-卵巢轴神经内分泌调节机制失常所致的子宫异常出血,为临床常见妇科疾病。该病西医多采用刮宫和激素治疗,但刮宫有一定创伤性,往往不容易被病人所接受,尤其不宜反复使用,而激素治疗副作用较

多,且治疗后病情常有反复,因此,其疗效有一定局限。中医学将功血归为崩漏,积累有丰富的临床经验,在治疗上有独特的疗效<sup>[1]</sup>。益气化瘀合剂主要由黄芪、党参、白术、蒲黄、五灵脂、茜草根组成,具有健脾益气,化瘀止血之功效,为临床主要用于气虚血瘀型功血治疗的验方。本研究观察了益气化瘀

收稿日期:2015-04-08;修稿日期:2015-06-12

基金项目:江苏省高校优势学科建设工程项目(PAPD)

作者简介:李靖(1972-),女,江苏南京人,南京中医药大学 2012 级硕士研究生。\* 通信作者:xgh\_88@126.com

合剂对功能失调性子宫出血模型大鼠的治疗作用,以及对动物凝血功能的影响及其镇痛抗炎作用,为其临床进一步应用提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SD 大鼠,清洁级,雌雄兼用,采购自中国人民解放军南京军区总医院动物实验中心,动物许可证号:SCXK(军):2009-012。昆明种小鼠,雌性,体质量 $(20\pm 2)$ g,采购自扬州大学,动物许可证号:SCXK(苏)2007-0001。

### 1.2 药物与试剂

益气化瘀合剂,委托南京中医药大学植物药深加工中心制备。批号:20120523;益妇止血丸,广州奇星药业有限公司;米非司酮,上海新华联制药厂;米索前列醇,Searle manufactures 公司。二甲苯(上海凌峰化学试剂有限公司),冰醋酸(上海化学试剂有限公司),催产素注射液(上海禾丰制药有限公司),己烯雌酚注射液(上海通用药业股份有限公司)。

### 1.3 仪器

AY120 型分析天平,日本 Shimadzu 公司;SPECTRA MAX190 型酶联免疫检测仪,美国 Molecular Devices 公司。

## 2 方法

### 2.1 对功血模型大鼠子宫出血时间的影响<sup>[2]</sup>

大鼠,体质量 200~250 g。雌雄合笼后,以见有阴栓当日为妊娠第 1 天。将妊娠大鼠按体质量随机分为 5 组,每组 10 只。①模型组:给予等体积的生理盐水;②益妇止血丸组:制剂量 3 g/kg;③益气化瘀合剂小剂量组:生药量 3 g/kg;④益气化瘀合剂中剂量组:6 g/kg;⑤益气化瘀合剂大剂量组:12 g/kg。各组均于妊娠第 5 天开始灌胃给药,连续 7 d。于妊娠第 7 天起,各组大鼠每日上午灌胃给予米非司酮 9 mg/kg,下午灌胃给予索前列醇 110  $\mu$ g/kg,连续 3 d。停药后,将质量约 70 mg 棉球塞入大鼠阴道,每 12 h 观察 1 次子宫出血情况,以棉球上无明显血迹时为观察终点时间。

### 2.2 对凝血功能障碍小鼠出凝血时间的影响<sup>[3]</sup>

60 只雌性小鼠随机分成 6 组,①对照组;②模型组;③益妇止血丸组:6 g/kg;④益气化瘀合剂小剂量组:6 g/kg;⑤益气化瘀合剂中剂量组:12 g/kg;⑥益气化瘀合剂大剂量组:24 g/kg,每组 10 只。除对照组灌胃给予等体积生理盐水外,其余各组灌

胃给予华法林 2 mg/kg,连续 3 d。于造模第 4 天灌胃给予相应药物,对照组、模型组灌服生理盐水,给药体积均为 20 mL/kg,连续给药 5 d。

于末次给药后 45 min,摘取小鼠一侧眼球,于载玻片两端各滴血 2 滴。取血后每隔 10 s 左右,用清洁大头针挑动一侧血液,观察有无血丝形成。自采血开始至有血丝出现止,所历时间即为小鼠凝血时间。另一侧血供最后复验用。

末次给药后 1 h,各组小鼠分别距尾尖 5 mm 处剪去尾尖,并浸于 31  $^{\circ}$ C 生理盐水中,开始计时,至血丝消失时停止计时,此段时间即为小鼠出血时间。

### 2.3 对催产素所致小鼠扭体反应的影响<sup>[3]</sup>

雌性小鼠 50 只,体质量 20~24 g,随机均分为 5 组:①对照组:生理盐水;②益妇止血丸组:6 g/kg;③益气化瘀合剂小剂量组:6 g/kg;④益气化瘀合剂中剂量组:12 g/kg;⑤益气化瘀合剂大剂量组:24 g/kg。各组小鼠每日灌胃给药 1 次,连续 7 d,给药体积均 20 mL/kg。从第 3 天开始小鼠皮下注射己烯雌酚,连续 4 d,剂量分别为每只 0.2、0.1、0.1、0.2 mg/d。末次给药前禁食 12 h,末次给药 45 min 后,每只小鼠腹腔注射催产素 0.2 U,观察并记录 30 min 内扭体次数。

### 2.4 对醋酸致小鼠扭体和腹腔毛细血管通透性的影响<sup>[3]</sup>

雌性小鼠 50 只,体质量 20~24 g,动物分组及给药同“2.3”项。各组动物均于末次给药 45 min 后,腹腔注射 0.6%冰醋酸 0.2 mL/只,观察注射醋酸后 20 min 内动物扭体次数。于给予醋酸 30 min 后,每 10 g 尾静脉注射 0.5%伊文思蓝 0.1 mL,20 min 后脱颈椎处死,开腹用 5 mL 生理盐水分次冲洗腹腔,用注射器抽出腹腔洗液,3 000 r/min 离心 5 min,取上清于 590 nm 处测定吸收度值(A)。

### 2.5 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响<sup>[3]</sup>

雄性小鼠 50 只,体质量 20~24 g,动物分组及给药同“2.3”项。末次给药 45 min 后,将二甲苯 0.05 mL 均匀涂于小鼠右耳两侧致炎,1 h 后处死小鼠,剪下左右两耳,用直径 8 mm 打孔器分别在两耳同一部位取耳片,电子天平称质量,计算各组小鼠耳肿胀度,肿胀抑制百分率。其中,耳肿胀度=右耳片质量-左耳片质量;肿胀抑制百分率=(肿胀度/右耳片质量) $\times 100\%$ 。

### 2.6 统计学处理

采用 SPSS15.0 软件进行数据分析。计量数据

以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,2组之间比较采用ANOVA检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对功血模型大鼠子宫出血时间的影响

表1所示,益气化瘀合剂各剂量组大鼠子宫出血时间明显缩短,与模型组比较,有显著性差异( $P < 0.05$ )。

表1 对功血模型大鼠子宫出血时间的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 出血时间/h     |
|--------|--------------------------|------------|
| 模型组    | —                        | 54.0±13.0  |
| 益妇止血丸组 | 3                        | 39.6±12.7* |
| 小剂量组   | 3                        | 49.2±10.5* |
| 中剂量组   | 6                        | 42.0±11.7* |
| 大剂量组   | 12                       | 38.4±12.4* |

注:与模型组比较,\* $P < 0.05$ 。

3.2 对凝血功能障碍小鼠出凝血时间的影响

表2所示,益气化瘀合剂3个剂量组均能明显缩短凝血功能障碍小鼠出凝血时间,与模型组比较有显著性差异( $P < 0.05 \sim 0.01$ ),提示益气化瘀合剂具有改善凝血功能障碍的作用。

表2 对凝血障碍小鼠出血凝血时间的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 出血时间/s        | 凝血时间/s         |
|--------|--------------------------|---------------|----------------|
| 对照组    | —                        | 58.35±11.10** | 83.58±21.38**  |
| 模型组    | —                        | 109.17±16.62  | 166.91±26.84   |
| 益妇止血丸组 | 6                        | 76.14±16.62** | 108.15±22.24** |
| 小剂量组   | 6                        | 86.10±16.82*  | 116.10±33.00** |
| 中剂量组   | 12                       | 77.81±17.56** | 106.83±26.36** |
| 大剂量组   | 24                       | 68.25±19.10** | 96.69±27.66**  |

注:与模型组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

3.3 对催产素所致小鼠扭体反应的影响

表3所示,益气化瘀合剂3个剂量组均可减少催产素所引起的小鼠扭体反应次数,其中12、24 g/kg剂量组与对照组比较有显著性差异( $P < 0.05 \sim 0.01$ )。表明益气化瘀合剂对催产素所引起的小鼠子宫痉挛性疼痛有抑制作用。

表3 益气化瘀合剂对催产素致小鼠扭体反应的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 30 min 扭体次数 |
|--------|--------------------------|-------------|
| 对照组    | —                        | 31.0±5.3    |
| 益妇止血丸组 | 6                        | 24.7±7.1*   |
| 小剂量组   | 6                        | 25.6±7.2    |
| 中剂量组   | 12                       | 22.8±6.9*   |
| 大剂量组   | 24                       | 18.2±5.9**  |

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.05$ 。

3.4 对醋酸致小鼠扭体和腹腔毛细血管通透性的影响

表4所示,益气化瘀合剂3个剂量组均可减少醋酸所引起的小鼠扭体反应次数,其中12、24 g/kg剂量组与对照组比较有显著性差异( $P < 0.05$ )。表明益气化瘀合剂对醋酸刺激引起的小鼠疼痛反应有抑制作用。

表5所示,益气化瘀合剂12、24 g/kg剂量组可抑制醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性增加,与对照组比较有显著性差异( $P < 0.05 \sim 0.01$ ),提示益气化瘀合剂具有一定的抗炎作用。

表4 对醋酸致小鼠扭体反应的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 20 min 扭体次数 |
|--------|--------------------------|-------------|
| 对照组    | —                        | 20.2±6.6    |
| 益妇止血丸组 | 6                        | 16.8±6.6*   |
| 小剂量组   | 6                        | 16.4±5.1    |
| 中剂量组   | 12                       | 15.7±5.4*   |
| 大剂量组   | 24                       | 12.4±5.8*   |

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

表5 对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 吸收度           |
|--------|--------------------------|---------------|
| 对照组    | —                        | 0.273±0.049   |
| 益妇止血丸组 | 6                        | 0.206±0.056** |
| 小剂量组   | 6                        | 0.233±0.053   |
| 中剂量组   | 12                       | 0.212±0.037*  |
| 大剂量组   | 24                       | 0.206±0.038** |

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

3.5 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

表6所示,益气化瘀合剂12、24 g/kg剂量组可对抗二甲苯所致小鼠耳肿胀,与对照组比较有显著性差异( $P < 0.05 \sim 0.01$ ),提示益气化瘀合剂具有一定的抗炎作用。

表6 对二甲苯致小鼠耳肿胀的抗炎作用( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别     | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 耳肿胀度/mg           | 肿胀抑制率/% |
|--------|--------------------------|-------------------|---------|
| 对照组    | —                        | 0.016 5±0.005 6   | —       |
| 益妇止血丸组 | 6                        | 0.010 0±0.003 6** | 39.26   |
| 小剂量组   | 6                        | 0.012 8±0.005 5   | 22.73   |
| 中剂量组   | 12                       | 0.012 4±0.002 2*  | 25.33   |
| 大剂量组   | 24                       | 0.011 0±0.002 1** | 33.78   |

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

4 讨论

功能失调性子宫出血为妇科急症之一,临床上主要表现为出血量多,或持续时间过长、间隔时间过短,往往可引起贫血、继发感染、不孕,严重者可导致

失血性休克,甚至危及生命。中医学中崩漏属于崩漏范畴,多因脾气虚弱统摄无力,冲任失固,不能摄血所致。若崩漏日久,耗伤气血,则进一步加重气虚,气虚运血无力导致血瘀,瘀血阻滞冲任,导致血不归经又进一步加重崩漏,形成恶性循环,致使病情缠绵难愈<sup>[1]</sup>。益气化瘀合剂根据“急则治其标,缓则治其本”的原则,以祛瘀止血,补脾益肾升提为大法,目的为救急固本。方中蒲黄有止血、化瘀之功效,能明显缩短凝血时间,促进血液凝固而止血。五灵脂活血散痛,炒用活血止血<sup>[4]</sup>。白术健脾益气,抗菌抗炎,可增强造血功能<sup>[5]</sup>。黄芪、党参补中益气,可增强机体免疫功能和造血功能。全方共奏祛瘀止血,益气健脾之功效<sup>[6]</sup>。用于气虚血瘀引起的月经量多、经期延长、腹痛、有血块等症状。

本研究采用药物致早孕大鼠流产的方法建立凝血模型,造模后由于子宫内膜的残留,子宫收缩不良,炎性细胞的浸润,子宫创面修复延迟,血管不能闭合,纤溶酶原激活因子增强,抑制因子活性降低,而引起出血<sup>[2]</sup>。这与功能失调性子宫出血的凝血和纤溶异常、子宫血管功能异常等具有一定的相似性。结果显示益气化瘀合剂能有效的减少模型动物子宫出血时间,证实了该复方的治疗作用。

功能失调性子宫出血时,机体处于一种凝血功能障碍的病理状态中。血液凝固是经过一系列酶促反应,使纤维蛋白原变为纤维蛋白,最终血液由溶胶状态转为凝胶状态的过程。正常情况下机体的凝血和纤溶系统处于稳态,以维持血液系统及机体功能的正常。在血液系统中,凝血时间主要与各种凝血因子的含量和活性有关,而出血时间与毛细血管功能、组织因子、血小板数量和功能等因素有关。作用于机体止血过程的任何一个环节,都可能影响血液的凝固时程<sup>[4]</sup>。华法林是香豆素类抗凝剂的一种,在体内有对抗维生素 K 的作用,能够抑制维生素 K 参与的凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ的合成,从而起到抗凝作用。小鼠断尾出血时间和凝血时间实验广泛应用于止血、促凝血药物的活性筛选,能反映凝血系统的整体功能。本研究显示,益气化瘀合剂能够明显缩短华法林所致凝血障碍小鼠出血时间和凝血时间,表明该复方具有止血促凝的作用,并提示该复方可可能是通过增加内源性凝血因子的活性和血小板的功

能,促进凝血酶原转变为凝血酶,从而促进纤维蛋白原转变为纤维蛋白,最终加速血凝过程,达到止血目的。

此外,功能失调性子宫出血患者在出血的同时,常伴有腹痛,继发感染等症状,严重时可引起子宫内膜的损害,不孕等。有效控制并发症的发生也是该病治疗的主要目的。本研究结果显示益气化瘀合剂能明显减少催产素和醋酸所致小鼠的扭体反应次数,对醋酸所致小鼠毛细血管通透性增加和二甲苯所致小鼠耳廓肿胀具有明显抑制作用。表明该复方具有镇痛和抗炎作用,有利于患者并发症的治疗,同时也体现了中药治疗的综合作用。

#### 参考文献:

- [1] 张英莉,梁茂新.功能失调性子宫出血辨证存在的问题与对策[J].中华中医药杂志,2014,29(10):3163-3166.  
Zhang YL, Liang MX. Problems and countermeasures of dysfunctional uterine bleeding in TCM syndrome differentiation[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2014, 29(10): 3163-3166.
- [2] 王晓东,赵军宁,张白嘉,等.药物致早孕大鼠子宫出血模型的建立[J].中国药理学通报,1999,15(2):90-92.  
Wang XD, Zhao JN, Zhang BJ, et al. Establishment of uterine bleeding model by mifepristone and misoprostol in early-pregnancy rats[J]. Chin Pharmacol Bull, 1999, 15(2): 90-92.
- [3] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:484-485.  
Chen Q. Methodology on Chinese medicinal pharmacology[M]. Beijing: People's medical publishing house, 1994: 33.
- [4] 何希瑞,樊鹏程,李茂星,等.常用止血中药及其止血机制研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(15):217-221.  
He XR, Fan PC, Li MX, et al. Advances in study of traditional Chinese hemostatic drugs and related mechanisms[J]. Chin J Exper Tradit Med Form, 2010, 16(15): 217-221.
- [5] 杨娥,钟艳梅,冯毅凡.白术化学成分和药理作用的研究进展[J].广东药学院学报,2012,28(2):218-221.  
Yang E, Zhong YM, Feng YF. Advance on the chemical constituents and pharmacological effects of Atractylodes macrocephala Koidz[J]. J Guangdong Pharma Coll, 2012, 28(2): 218-221.
- [6] 张蕾,高文远,满淑丽.黄芪中有效成分药理活性的研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(21):3203-3207.  
Zhang Q, Gao WY, Man SL. Chemical composition and pharmacological activities of Astragali Radix[J]. J Chin Mater Med, 2012, 37(21): 3203-3207.

(编辑:董宇)