

# 桂枝茯苓胶囊及其活性成分组合物的抗大鼠盆腔炎作用

程玥, 唐朝辉, 曹亮, 丁岗, 王团结, 章晨峰, 王振中, 萧伟\*

(江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222001)

**[摘要]** **目的:** 考察桂枝茯苓胶囊及其 15 个活性成分组合物对大鼠盆腔炎模型的影响, 初步探讨其对盆腔炎的治疗作用。**方法:** 90 只雌性 SD 大鼠分为假手术组、模型组, 模型组采用大肠埃希菌造成大鼠盆腔炎模型, 将造模成功的大鼠随机分为模型组, 桂枝茯苓胶囊组 ( $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 15 个成分组合物低、中、高剂量组 ( $75, 150, 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 每组 15 只。桂枝茯苓胶囊及其成分组合物 *ig* 给药后 15 d 后将大鼠处死, 取子宫后称重并计算子宫质量系数; 取血后测血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 白细胞介素-2 (IL-2) 的含量及血浆免疫球蛋白 A (IgA), IgG 和 IgM 的含量; 苏木素-伊红 (HE) 染色检测大鼠子宫组织病理变化。**结果:** 与假手术组比较, 模型组大鼠子宫系数明显升高, 血浆 IgA, IgG 和 IgM 的含量明显降低, 子宫病理综合评分明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 桂枝茯苓胶囊及活性成分组合物高、中、低剂量组均能显著降低盆腔炎大鼠的子宫系数, 能明显降低盆腔炎模型大鼠血清 TNF- $\alpha$  含量, 升高 IL-2 含量, 并提高血浆 IgA, IgG 和 IgM 的含量, 对子宫病理综合评分也有显著性降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。 **结论:** 15 个活性成分组合物与桂枝茯苓胶囊均有明显的抗实验性大鼠盆腔炎作用, 提示 15 个活性成分可能是桂枝茯苓胶囊盆腔炎的重要物质基础。

**[关键词]** 桂枝茯苓胶囊; 15 个活性成分组合物; 大鼠盆腔炎; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-2; 免疫球蛋白

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)13-0118-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016130118

## Effect of Guizhi Fuling Capsule and Its Active Components on Pelvic Inflammation in Rats

CHENG Yue, TANG Zhao-hui, CAO Liang, DING Gang, WANG Tuan-jie,  
ZHANG Chen-feng, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei\*

(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Guizhi Fuling capsule and its 15 active components on pelvic inflammation in rat models, and preliminary investigate its treatment effect for pelvic inflammation. **Method:** Totally 90 female SD rats were divided into sham-operation group and model group. The pelvic inflammatory models were established by *Escherichia coli*. The successfully modeled rats were further randomly divided into model group, Guizhi Fuling capsule group ( $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and 15 active components low dose group, middle dose group and high dose group ( $75, 150, 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),  $n = 15$  in each group. After intragastric administration for 15 d, the rats in Guizhi Fuling capsule group and active components groups were killed. Then their uterus was taken for weighing the uterus and calculating the uterus weight coefficient. Blood was obtained to measure tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-2 (IL-2) levels in serum and immune globulinA (IgA), IgG and IgM levels in plasma. Pathological changes of uterine tissues were also detected by htoxylin eosin (HE) staining method. **Result:** As compared with the sham-operation group, the uterus weight coefficient was

**[收稿日期]** 20150809(012)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203); 现代中药创新集群与数字制药技术平台项目

**[第一作者]** 程玥, 硕士, 从事中药、天然药物临床前药理毒理研究, Tel: 0518-86587935-8103, E-mail: 13611516092@163.com

**[通讯作者]** \* 萧伟, 博士, 研究员级高级工程师, 从事中药新药的研究与开发, Tel: 0518-81152367, E-mail: kanionlunwen@163.com

significantly increased in rats of model group. IgA, IgG and IgM levels in plasma were significantly reduced, and uterine pathology composite score was significantly increased ( $P < 0.01$ ). As compared with the model group, the uterus weight coefficient was significantly reduced in pelvic inflammatory rats of Guizhi Fuling capsule group and active components groups, TNF- $\alpha$  level in serum was significantly reduced; IL-2 level in serum was increased, the IgA, IgG and IgM levels in plasma were increased; and uterine pathology composite score was also significantly reduced ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The 15 active components and Guizhi Fuling capsule have significant effects on anti-pelvic inflammatory disease in rats, indicating that the 15 active components may be the main effective ingredients of Guizhi Fuling capsule in the treatment of pelvic inflammatory disease.

[**Key words**] Guizhi Fuling capsule; 15 active components; pelvic inflammatory in rat; tumour necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-2; immune globulin

盆腔炎为妇科常见病、多发病,临床以腹痛、带下、盆腔组织增厚、黏连、包块形成为主要特征,包括子宫内膜炎、输卵管炎等,称为盆腔炎疾病。如未得到及时彻底治疗,可能发生一系列后遗症,表现为慢性盆腔痛、盆腔炎性疾病反复发作等。桂枝茯苓胶囊作为来源于经方并经现代工艺精制而成的中成药,所治疾病范围相当广泛,疗效较为显著<sup>[1]</sup>。经前期研究,从桂枝茯苓胶囊中筛选出了 15 个具有明显生物活性的化合物,推测可能是桂枝茯苓胶囊中重要的活性及药效物质基础<sup>[2]</sup>。本研究通过复制大鼠盆腔炎动物模型,研究桂枝茯苓胶囊及 15 个活性成分组合对盆腔炎的治疗作用,初步探讨桂枝茯苓胶囊治疗盆腔炎的作用机制和物质基础。

### 1 材料

**1.1 动物** 雌性 SD 大鼠,90 只,体重 200 ~ 220 g,购自中国科学院上海实验动物中心,合格证号 SCXK(沪)2002-0010。

**1.2 药物及试剂** 桂枝茯苓胶囊(江苏康缘药业股份有限公司,批号 20140321)。桂枝茯苓胶囊成分组合物(根据桂枝茯苓胶囊的成分含量分析结果,用对照品按照含量比例混合成 15 个成分组合,质量比约占桂枝茯苓胶囊的 58.41%,各组分见表 1),由江苏康缘药业股份有限公司提供。混合菌液(大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌以 2:1:1 的比例溶于无菌生理盐水配成密度为  $3 \times 10^9$  个/mL 的混合细菌悬液)由南京中医药大学提供;肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素-2(IL-2)试剂盒购于南京建成生物研究所(批号分别为 20140123,20140225)。

**1.3 仪器** 52A 型医用低速离心机(安心县白洋离心机厂),BS224S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),M2e 型酶标仪(美国 Molecular

表 1 桂枝茯苓胶囊中 15 个成分组合物的含量

Table 1 Content of 15 active components in Guizhi Fuling capsule

| No. | 名称     | 含量 /%   | No. | 名称       | 含量 /%   |
|-----|--------|---------|-----|----------|---------|
| 1   | 没食子酸   | 0.72    | 9   | 茯苓酸      | 0.067 5 |
| 2   | 芍药苷    | 1.98    | 10  | 槲皮素      | 0.18    |
| 3   | 桂皮醛    | 0.135   | 11  | 五没食子酰葡萄糖 | 0.92    |
| 4   | 丹皮酚    | 1.26    | 12  | 去氢土莫酸    | 0.225   |
| 5   | 苦杏仁苷   | 1.875   | 13  | 去氢茯苓酸    | 0.175   |
| 6   | 香豆素    | 0.12    | 14  | 白芍苷      | 0.825   |
| 7   | 肉桂酸    | 0.112 5 | 15  | 茯苓多糖     | 48.17   |
| 8   | 苯甲酰芍药苷 | 0.24    | 合计  | 功效成分总含量  | 58.41   |

Devices 公司),QYC-200 型恒温摇床(上海福玛仪器有限公司)。

### 2 方法

**2.1 造模<sup>[2]</sup>与给药** 除假手术组(15 只)外,其余动物均用戊巴比妥钠(质量分数为 0.4%)ip 麻醉大鼠(50 mg·kg<sup>-1</sup>)后,无菌条件下取大鼠下腹正中切口约 0.8 ~ 1 cm,开腹后暴露并固定子宫,用 1 mL 注射器抽取混合菌液 0.2 mL,在注入混合菌液之前,用注射器机械损伤子宫内膜组织,然后注入混合菌液至双侧子宫内,缝合切口。假手术组操作同造模组,但不注入菌液和损伤子宫内膜组织。

造模 15 d 后,将造模大鼠随机分为模型组、桂枝茯苓胶囊组、15 个成分组合物高、中、低剂量组,根据大鼠和人给药等效剂量,按体表面积折算系数,桂枝茯苓大鼠等效剂量为 250 mg·kg<sup>-1</sup>,折合 15 个成分比例计算得到组合物给药剂量约 150 mg·kg<sup>-1</sup>,因此 15 个成分组合物剂量选择 75,150,300 mg·kg<sup>-1</sup>。各组大鼠均按 10 mL·kg<sup>-1</sup>ig 给药,模型组、假手术组给予等量蒸馏水,每日 1 次,连续给药 15 d。

## 2.2 检测指标

**2.2.1 生化指标检测** 末次给药后 1 h, 麻醉动物, 抽取下腔静脉血约 4 mL, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 收集上层血清, 另取 4 mL 肝素抗凝, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 取上清血浆。按照试剂盒的说明书操作, 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法测定大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-2 的含量及血浆免疫球蛋白 A (IgA), IgG 和 IgM 的含量。

**2.2.2 子宫系数检测** 剖取大鼠全子宫, 剪去双侧卵巢, 剔除脂肪, 用电子天平称质量, 计算各实验组大鼠子宫系数。

子宫系数 = 子宫重 (mg) / 体重 (g)

**2.2.3 子宫组织病理形态学观察** 左侧子宫放入 10% 福尔马林溶液中, 石蜡包埋, 4  $\mu$ m 切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 镜检着重观察子宫内膜上皮细胞变性坏死、间质炎症浸润及肌层有无增生等病变。根据子宫内膜上皮细胞病变由轻到重的程度分别记为 0~4 分, 积分标准为无病变记为 0 分; 极轻度记为 1 分; 轻度但病变范围 < 1/3 记为 2 分; 中度病变、范围在 1/3~2/3 间记为 3 分; 重度病变、范围在 2/3 以上者记 4 分。炎细胞浸润程度积分标准为无炎细胞浸润记为 0 分; 极少量记为 1 分; 黏膜固有层有少量记为 2 分; 肌层查见记为 3 分; 全层皆有记为 4 分。累加所有分数, 计算出每组动物的均分。

**2.3 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 资料数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 反应资料统计方法采用 T 检验法, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对大鼠子宫系数的影响** 与假手术组比较, 模型组大鼠子宫系数有显著性差异升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合物均能明显降低大鼠子宫系数 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。结果提示 15 个成分组合物及原胶囊均能显著改善盆腔炎模型大鼠的子宫系数。见表 2。

**3.2 对大鼠血清 TNF- $\alpha$  及 IL-2 的影响** 与模型组比较, 桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合物能明显降低盆腔炎模型大鼠子宫组织的 TNF- $\alpha$  含量 ( $P < 0.01$ ), 升高 IL-2 含量 ( $P < 0.01$ )。结果提示组合物及原胶囊均能显著改善盆腔炎模型大鼠血清炎症因子的释放。见表 3。

**3.3 对大鼠血浆 IgA, IgG 和 IgM 含量的影响** 与假手术组比较, 模型组大鼠血浆 IgA, IgG 和 IgM 含量均有显著性降低 ( $P < 0.01$ ), 与模型组比较, 桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合物能明显升高痛经模型

表 2 桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合物对盆腔炎大鼠子宫质量系数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 2 Effects of Guizhi Fuling capsule and its 15 active components on uterus weight coefficient of pelvic inflammatory disease in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

| 组别      | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | 子宫系数/mg·g <sup>-1</sup>    |
|---------|------------------------|----------------------------|
| 假手术     | -                      | 2.32 ± 0.69                |
| 模型      | -                      | 11.50 ± 1.90 <sup>1)</sup> |
| 桂枝茯苓胶囊  | 250                    | 4.11 ± 0.30 <sup>2)</sup>  |
| 15 成分组合 | 75                     | 4.23 ± 0.79 <sup>2)</sup>  |
|         | 150                    | 3.97 ± 0.62 <sup>2)</sup>  |
|         | 300                    | 3.05 ± 0.83 <sup>3)</sup>  |

注: 与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.01$  (表 3~5 同)。

表 3 桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合物对盆腔炎大鼠 TNF- $\alpha$ , IL-2 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 3 Effects of Guizhi Fuling capsule and its 15 active components on TNF- $\alpha$ , IL-2 of pelvic inflammatory disease in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )  $\mu$ g·L<sup>-1</sup>

| 组别      | 剂量 /mg·kg <sup>-1</sup> | TNF- $\alpha$             | IL-2                      |
|---------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 假手术     | -                       | 3.01 ± 0.27               | 1.12 ± 0.12               |
| 模型      | -                       | 2.45 ± 0.38               | 1.84 ± 0.15               |
| 桂枝茯苓胶囊  | 250                     | 1.36 ± 0.48 <sup>3)</sup> | 2.83 ± 0.43 <sup>3)</sup> |
| 15 成分组合 | 75                      | 1.90 ± 0.32 <sup>3)</sup> | 2.17 ± 0.58 <sup>3)</sup> |
|         | 150                     | 1.48 ± 0.29 <sup>3)</sup> | 2.67 ± 0.35 <sup>3)</sup> |
|         | 300                     | 0.95 ± 0.21 <sup>3)</sup> | 3.24 ± 0.37 <sup>3)</sup> |

大鼠子宫组织的 IgA, IgG 和 IgM 含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。结果提示组合物及原胶囊均能调节盆腔炎模型大鼠血浆免疫球蛋白的变化。见表 4。

表 4 桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合物对大鼠血浆 IgA, IgG 和 IgM 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 4 Effects of Guizhi Fuling capsule and its 15 active components on IgA, IgG and IgM content of blood plasma in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ ) mg·L<sup>-1</sup>

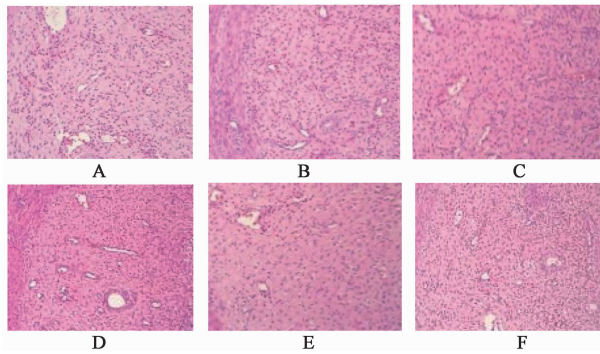
| 组别      | 剂量 /mg·kg <sup>-1</sup> | IgA                        | IgG                        | IgM                        |
|---------|-------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 假手术     | -                       | 63.68 ± 3.20               | 53.44 ± 7.05               | 15.62 ± 1.50               |
| 模型      | -                       | 27.98 ± 5.45 <sup>1)</sup> | 21.90 ± 1.95 <sup>1)</sup> | 4.82 ± 1.94 <sup>1)</sup>  |
| 桂枝茯苓胶囊  | 250                     | 42.91 ± 7.51 <sup>2)</sup> | 41.20 ± 9.42 <sup>2)</sup> | 11.30 ± 2.24 <sup>2)</sup> |
| 15 成分组合 | 75                      | 44.68 ± 5.01 <sup>2)</sup> | 38.71 ± 5.62 <sup>2)</sup> | 8.02 ± 1.92 <sup>2)</sup>  |
|         | 150                     | 46.92 ± 5.70 <sup>2)</sup> | 41.91 ± 9.60 <sup>2)</sup> | 8.90 ± 2.34 <sup>2)</sup>  |
|         | 300                     | 52.32 ± 9.70 <sup>3)</sup> | 43.01 ± 9.02 <sup>3)</sup> | 11.89 ± 2.80 <sup>3)</sup> |

**3.4 对大鼠子宫组织病理学的影响** 假手术组子宫组织结构正常,模型组大鼠子宫宫壁有炎细胞浸润,深达子宫肌层;内膜充血、水肿明显;宫腔黏连或子宫内膜固有层腺体减少;与模型组比较,桂枝茯苓胶囊组,15 个成分组合物高、中、低剂量组大鼠子宫病变均有不同程度缓解,炎性细胞浸润、内膜充血水肿、宫腔黏连或子宫内膜固有层腺体减少等病理损伤程度明显减轻 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 5,图 1。

表 5 桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合物对大鼠盆腔炎子宫组织病理评分的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 5 Effects of Guizhi Fuling capsule and its 15 active components on uterus tissue pathologic grading in pelvic inflammation of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

| 组别      | 剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 子宫病变评分/分                  |
|---------|--------------------------------------|---------------------------|
| 假手术     | -                                    | 0.10 ± 0.32               |
| 模型      | -                                    | 3.96 ± 1.91 <sup>1)</sup> |
| 桂枝茯苓胶囊  | 250                                  | 1.92 ± 2.51 <sup>2)</sup> |
| 15 成分组合 | 75                                   | 2.08 ± 3.49               |
|         | 150                                  | 1.68 ± 2.89 <sup>2)</sup> |
|         | 300                                  | 1.83 ± 1.74 <sup>3)</sup> |



A. 假手术组; B. 模型组; C. 桂枝茯苓胶囊组; D. 15 个成分组合 75  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; E. 15 个成分组合物 150  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; F. 15 个成分组合物 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组

图 1 桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合对盆腔炎大鼠子宫组织病理学的影响 (HE,  $\times 100$ )

Fig.1 Effects of Guizhi Fuling capsule and its 15 active components on uterine tissue pathology in pelvic inflammation of rats (HE,  $\times 100$ )

#### 4 讨论

目前盆腔炎的西医治疗仍以抗菌、消炎为主,西药中抗生素对控制盆腔炎急性期敏感细菌感染较为

有效,但由于组织黏连化、局部循环障碍,抗生素难于局部发挥作用,对消除炎症浸润之纤维组织和结缔组织效果较差,且抗生素不具备缓解黏连及止痛作用,故盆腔炎单纯用抗生素治疗,疗效不尽如人意。近年来临床治疗和实验研究证实,中医药对消除或改善盆腔炎临床症状显示出其独特优势<sup>[3]</sup>。

桂枝茯苓胶囊由桂枝、茯苓、桃仁、牡丹皮和赤芍五味中药经现代化工艺精制而成,具有活血、化瘀、消癥之功效,用于妇人瘀血阻络所致癥块、经闭、痛经等症。方中桂枝温通血脉,茯苓渗湿下行而益心脾之气,有助于行瘀血,共为君药。宿有癥块,郁久多能化热,故又配伍牡丹皮、赤芍合桃仁以化瘀血,并能清瘀热,共为臣佐药<sup>[4]</sup>。现代临床试验表明,桂枝茯苓胶囊治疗盆腔炎具有一定优势,患者依从性好,使用方便,不良反应少<sup>[5]</sup>。本实验对桂枝茯苓胶囊及其 15 个活性成分组合物的抗盆腔炎作用及机制进行研究,结果显示,桂枝茯苓胶囊及 15 个成分组合物均具有降低大鼠子宫质量,降低血清 TNF- $\alpha$ , 提高 IL-2, 升高血浆 IgG, IgA 以及 IgM 含量,并改善子宫病变等作用。提示桂枝茯苓胶囊具有抗盆腔炎作用,其机制可能与抗炎和调节免疫作用有关,并且 15 个活性成分组合物后抗盆腔炎药效作用于桂枝茯苓胶囊效应相当,可能是桂枝茯苓胶囊发挥抗盆腔炎作用的重要效应成分。

#### [参考文献]

[1] 范明明,李敬孝,张雅丽. 桂枝茯苓丸临床应用演绎[J]. 中医药信息, 2014, 31(1): 122-125.

[2] 孙兰,李家春,林楠,等. 桂枝茯苓胶囊对子宫内膜炎大鼠的影响[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(6): 1401-1405.

[3] 邢人鑫. 金刚藤口服液基于免疫调节对大鼠慢性盆腔炎的治疗作用研究[J]. 药学与临床研究, 2014, 22(5): 405-408.

[4] 胡春萍,胡婷婷,蔡雪婷,等. 桂枝茯苓胶囊对子宫内膜异位症大鼠脾脏 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞数和 NK 细胞杀伤活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 145-148.

[5] 钱霏菲,焦文琰. 桂枝茯苓胶囊联合康妇消炎栓治疗慢性盆腔炎临床观察[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(24): 96-97.

[责任编辑 周冰冰]