

· 药理 ·

## 金刚藤有效部位群治疗慢性盆腔炎的抗炎镇痛作用

黄显章<sup>1</sup>, 邹鹏程<sup>2</sup>, 高秋芳<sup>3</sup>, 冯芸<sup>1</sup>, 伊玲<sup>1</sup>, 刘焱文<sup>1\*</sup>

(1. 湖北中医学院 中药资源与复方教育部省部共建重点实验室, 武汉 430061;  
2. 湖北福人药业有限公司, 湖北 通城 437400; 3. 武汉市药检所, 武汉 430012)

[摘要] 目的: 确定金刚藤治疗慢性盆腔炎的有效物质部位群, 为金刚藤制剂的二次开发提供实验依据。方法: 采用苯酚胶浆注入大鼠子宫造成大鼠慢性盆腔炎模型, 探讨金刚藤有效物质部位群对慢性盆腔炎模型大鼠子宫炎症的影响; 采用二甲苯致小鼠耳肿胀法和鸡蛋清水溶液致大鼠足跖肿胀法探讨其抗炎作用; 采用小鼠扭体法观察其镇痛作用; 采用酶联免疫法检测大鼠子宫组织中前列腺素 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 的含量。结果: 金刚藤有效物质部位群能明显减轻慢性盆腔炎模型大鼠子宫的炎症反应; 能明显减轻小鼠耳肿胀及大鼠足跖肿胀反应; 能明显减少小鼠的扭体次数; 可显著降低大鼠子宫组织中 PGE<sub>2</sub> 的含量。结论: 金刚藤有效物质部位群对大鼠和小鼠致炎模型具有显著的治疗作用, 在小鼠扭体实验中表现出良好的镇痛作用, 金刚藤有效部位群抑制 PGE<sub>2</sub> 的合成及释放是其发挥抗炎作用的机制之一。

[关键词] 金刚藤; 有效物质部位群; 慢性盆腔炎; 抗炎; 镇痛

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0114-04

## Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Jingangteng's Effective Ingredients on Chronic Pelvic Inflammation

HUANG Xian-zhang<sup>1</sup>, ZOU Peng-cheng<sup>2</sup>, GAO Qiu-fang<sup>3</sup>, FENG Yun<sup>1</sup>, YIN Ling<sup>1</sup>, LIU Yan-wen<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Resources and Compound Prescription of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China;

2. Hubei Tongcheng Pharmaceutical Co. Ltd, Tongcheng 437400, China;

3. Wuhan Institute for Drug Control, Wuhan 430012, China)

[Abstract] **Objective:** To study the pharmacodynamic actions of Jingangteng's effective ingredients (JEIS) on chronic pelvic inflammation disease (CPID) and to provide experimental evidence for Jingangteng's further development. **Method:** The models of CPID were made by injection of brei admixed with phenol and tragacanth into the uterus of rats, and the inhibitory effect on CPID was observed. The severity of oedema in inflammation was observed to study the anti-inflammatory effects of JEIS. The analgesic effect of the drug was studied with pain model of mice induced by acetic acid, the PGE<sub>2</sub> contents in the uterus in CPID rats were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Result:** JEIS could obviously inhibit the inflammation of uterus in rats with CPID. The number of stretching induced by acetic acid was reduced and the pain threshold of mice was increased by JEIS. JEIS also had anti-inflammatory activity against xylene-induced mouse ear swelling and albumen-induced rat paw edema. JEIS could significantly decrease the level of PGE<sub>2</sub>, in the uterus of CPID rats. **Conclusion:** JEIS has

[收稿日期] 20100623(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30870256)

[第一作者] 黄显章, 博士研究生, 讲师, 研究方向为中药及复方物质基础研究, Tel: 13647212662, E-mail: hxzgreat@163.com

[通讯作者] \* 刘焱文, 教授, 博士生导师, Tel: 15327285560, E-mail: ywliu@public.wh.hb.cn

significant analgesic and anti-inflammatory activities, and decreasing of  $PGE_2$  may be one of the anti-inflammation mechanisms of JEIS.

**[Key words]** Jingangteng; effective ingredients; chronic pelvic inflammation; anti-inflammation; analgesia

金刚藤为百合科 (Liliaceae) 植物菝葜 *Smilax china* L. 的干燥根茎, 具有祛风利湿, 解毒散瘀的功效<sup>[1]</sup>。以金刚藤药材为原料制成的金刚藤制剂临床主要用于治疗慢性盆腔炎、附件炎等妇科炎症, 疗效显著。据文献报道, 金刚藤主要抗炎物质为黄酮、皂苷和鞣质等成分<sup>[2]</sup>。本试验室前期采用大孔吸附树脂纯化技术, 对金刚藤醇提取物进行了分离纯化研究, 获得主含黄酮、皂苷和鞣质等成分的中药提取物, 其含量达 75% 以上。本试验对金刚藤提取物治疗慢性盆腔炎的抗炎镇作用及其对炎症介质  $PGE_2$  的影响进行研究, 为金刚藤制剂的二次开发提供试验依据。

## 1 材料

**1.1 药物** 金刚藤提取物: 本试验室制备, 棕红色粉末, 其总黄酮、总皂苷、总鞣质含量达 75% 以上 (其中总黄酮含量达 33.1% 以上, 总皂苷含量达 13.9% 以上, 总鞣质含量达 29.1% 以上)。试验时用蒸馏水碾磨混悬均匀, 配成试验所需浓度的溶液。

金刚藤胶囊: 湖北福人药业股份有限公司提供, 批号 090329; 试验时取出内容物以蒸馏水配成所需浓度的溶液。

**1.2 动物** 昆明种小鼠, 体重 (18 ± 2.0) g, SPF 级, 合格证号为 00004424, 由湖北省试验动物中心提供, 许可证号为 SCXK(鄂) 2008-0005。Wistar 种大鼠, 体重 (200 ± 20) g, SPF 级, 合格证号为 00002514, 由湖北省试验动物中心提供, 许可证号为 SCXK(鄂) 2008-0005。

**1.3 试剂** 25% 苯酚胶浆 (液化苯酚 5 mL, 西黄耆胶 1 g 甘油 4 mL, 加蒸馏水至 20 mL 研磨配制); 戊巴比妥钠 (中国医药集团上海化学试剂公司, 批号 F20090405); 苯酚 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20081021); 西黄耆胶 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20090304); 甘油 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20080508); 硫酸庆大霉素 (石家庄市康达制药厂, 批号 090206)。

**1.4 仪器** BS110S 分析天平 (德国 Sartorius 公司); 排水法足容积测定装置 (试验室自制); 打耳器 (济南益延科技发展有限公司); 秒表。

## 2 方法

**2.1 大鼠慢性盆腔炎实验<sup>[3]</sup>** 取 Wistar 雌性大鼠 50 只, 禁食不禁水 24 h, 3% 戊巴比妥钠 50 mg · kg<sup>-1</sup> ip 麻醉后, 剪去下腹正中毛, 常规消毒, 于下腹部正中切口 3 cm, 暴露子宫, 用 4 号头皮针头在子宫分叉处右侧朝卵巢方向进针, 缓缓注入 25% 苯酚胶浆 0.05 mL, 分层关腹, 用硫酸庆大霉素消毒术区后用消毒纱布覆盖; 保留 10 只仅进行开腹和关腹手术, 未注射苯酚胶浆造模, 作为假手术对照组。其余大鼠在造模后第 7 天, 按体重随机分为模型组、金刚藤胶囊组、金刚藤提取物高、低剂量组, 每组 10 只; ig 给药 (ig 体积为 10 mL · kg<sup>-1</sup>), 金刚藤胶囊组、金刚藤提取物组分别给予金刚藤胶囊和金刚藤提取物药液, 假手术组和模型组同法予以等量生理盐水, 每日 1 次, 连续 14 d。第 15 天各组动物称量体重, 摘取子宫, 称质量, 计算脏器系数; 制作石蜡切片, HE 常规染色, 进行病理学观察。

$$\text{子宫脏器系数} = \text{子宫质量} / \text{体重} \times 100\%$$

## 2.2 抗炎实验

**2.2.1 小鼠耳肿胀法<sup>[4]</sup>** 取昆明种雌性小鼠 40 只, 随机分成空白组、金刚藤胶囊组及金刚藤提取物高、低剂量组, ig 给药 (ig 体积为 0.025 mL · g<sup>-1</sup>), 金刚藤胶囊组、金刚藤提取物组分别给予金刚藤胶囊和金刚藤提取物药液, 每日 1 次, 连续 4 d, 空白组同法给予生理盐水; 末次给药 1 h 后左耳涂以二甲苯 0.05 mL/只, 右耳作对照, 15 min 后处死动物, 用直径 9 mm 打孔器将双耳同部位等面积切下, 称质量, 以两耳片质量的差值作为鼠耳肿胀程度指标, 计算鼠耳肿胀度。

$$\text{鼠耳肿胀度} = (\text{左耳片质量} - \text{右耳片质量}) / \text{右耳片质量} \times 100\%$$

**2.2.2 大鼠蛋清足跖肿胀法<sup>[4]</sup>** 取 Wistar 大鼠雌性 40 只, 随机分成空白组、金刚藤胶囊组及金刚藤提取物高、低剂量组, ig 给药 (ig 体积为 10 mL · kg<sup>-1</sup>), 每日 1 次, 连续 14 d, 模型组同法给予生理盐水; 第 14 天用排水法测定各组大鼠右后足的正常体积后给药; 末次给药 1 h 后, 在各组大鼠的左后足跖皮下注射刚配制好的 10% 新鲜鸡蛋清水溶液 0.05 mL, 测定致炎后 1, 2, 4, 6 h 的右后足跖体积, 与致炎

前足跖体积之差为足跖肿胀度。

**2.3 镇痛实验** 采用冰醋酸扭体法<sup>[4]</sup>。取昆明种小鼠雌性 40 只, 随机分成空白组、金刚藤胶囊组及金刚藤提取物高、低剂量组, ig 给药 (ig 体积为 0.025 mL·g<sup>-1</sup>), 每日 1 次, 连续 7 d, 空白组同法给予生理盐水; 末次 ig 给药 1 h 后, 每只小鼠均 ip 0.6% 冰醋酸溶液 0.2 mL/只, 观察 20 min 内各组小鼠出现扭体反应的次数。

**2.4 子宫组织中 PGE<sub>2</sub> 含量的测定** 按 2.1 方法造模、分组、给药, 于末次给药 24 h 后, 将各组大鼠以 3% 戊巴比妥钠 50 mg·kg<sup>-1</sup> ip 麻醉, 剪取子宫, 精确称质量, 放微型匀浆器中, 加无水乙醇 0.8 mL, 轻研磨, 再加生理盐水 3.2 mL, 研磨制成组织匀浆, 3 000 r·min<sup>-1</sup>, 4 离心 10 min, 分离取上清, 采用酶联免疫法按照试剂盒说明书方法测定组织中 PGE<sub>2</sub> 的含量。

**2.5 统计学处理** 以 SPSS 统计软件, Version 17.0 处理数据, 实验数据以 ̄x±s 表示, 组间差异用 t 检验, P<0.05 有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 大鼠慢性盆腔炎实验

**3.1.1 对苯酚胶浆所致慢性盆腔炎模型大鼠脏器系数的影响** 给大鼠子宫注射苯酚胶浆可引起子宫脏器系数升高。由表 1 可知, 金刚藤提取物高、低剂量组与模型组相比脏器系数明显下降, 表现为极显著性差异 (P<0.01) 和显著性差异 (P<0.05), 表明金刚藤提取物对苯酚胶浆所致的大鼠慢性盆腔炎

症有显著的抑制作用; 金刚藤提取物低剂量组 (与金刚藤胶囊组同等剂量) 与金刚藤胶囊组比较虽然没有显著性差异, 但大鼠子宫脏器系数有降低的趋势。

表 1 对苯酚胶浆所致慢性盆腔炎模型大鼠子宫脏器系数的影响 (̄x±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	脏器系数 /%
假手术对照	-	1.49 ±0.21
模型对照	-	1.98 ±0.40 <sup>1)</sup>
金刚藤胶囊	10.0	1.68 ±0.18 <sup>2)</sup>
金刚藤提取物	10.0	1.62 ±0.27 <sup>2)</sup>
	20.0	1.52 ±0.35 <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 5 同)。

**3.1.2 病理学观察** 病理学观察结果见图 1。假手术组镜下可见黏膜上皮完整, 环纵肌层、浆膜层完整, 界清, 黏膜层内间质细胞分布均匀, 腺体完整, 系膜薄且光滑; 模型组镜检可见大量急、慢性炎性细胞浸润及纤维结缔组织增生, 子宫黏膜上皮细胞变性、局部上皮细胞坏死脱落, 腺体扩张, 腔内可见脓液或宫腔扩张 (9/10); 金刚藤胶囊组镜下可见炎细胞浸润程度及结缔组织增生较模型组有减轻, 黏膜上皮坏死、脱落明显, 有 2 例子官内膜呈菲薄化, 子宫腺消失; 金刚藤提取物高剂量组基本痊愈 (8/10), 镜下见各层结构正常, 炎症细胞大部分消失, 仅局限于黏膜上皮, 腺体大部分恢复正常; 金刚藤提取物低剂量组病变有不同程度好转, 浆膜层炎细胞浸润基本消失, 但黏膜上皮仍有不同程度坏死、脱落。

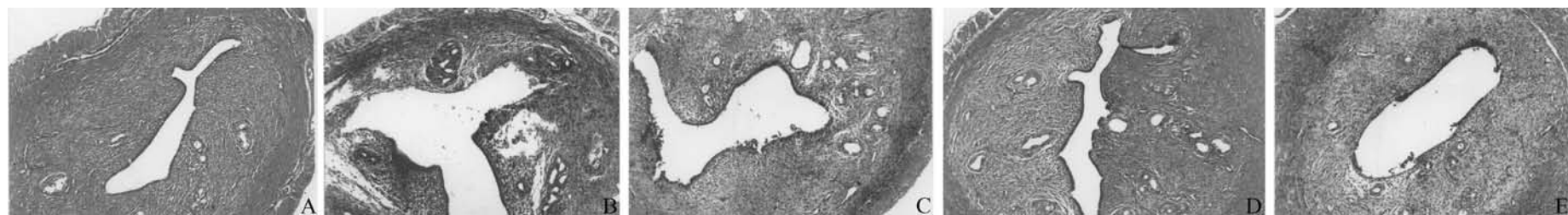


图 1 各组大鼠子宫病理学观察结果 (HE 染色, ×100 倍)

A. 假手术组; B. 模型组; C. 金刚藤胶囊组; D. 金刚藤提取物高剂量组; E. 金刚藤提取物低剂量组

#### 3.2 抗炎实验

**3.2.1 小鼠耳肿胀实验** 以二甲苯涂抹小鼠耳面后, 可引起鼠耳明显肿胀。由表 2 可知, 金刚藤胶囊组与金刚藤提取物高、低剂量组均可使小鼠耳肿胀度显著降低, 与生理盐水组比较, 分别表现为显著差异 (P<0.05) 或极显著差异 (P<0.01); 金刚藤提取物低剂量组与金刚藤胶囊组比较没有显著差异。

**3.2.2 大鼠蛋清足跖肿胀实验** 足跖皮下注射 10% 新鲜鸡蛋清水溶液可使大鼠足跖致炎而肿胀。

表 2 金刚藤提取物对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响 (̄x±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	耳肿胀度 /%
生理盐水	-	30.27 ±0.61
金刚藤胶囊	13.5	22.53 ±0.94 <sup>1)</sup>
金刚藤提取物	13.5	20.57 ±0.68 <sup>2)</sup>
	27.0	16.50 ±1.09 <sup>2)</sup>

注: 与生理盐水组比较<sup>1)</sup> P<0.05, <sup>2)</sup> P<0.01; 与金刚藤胶囊组比较<sup>3)</sup> P<0.05 (表 3~4 同)。

由表 3 可知, 金刚藤胶囊组在致炎后 1, 4, 6 h 可使大鼠的足跖肿胀度显著降低 (P<0.05), 说明

金刚藤胶囊有一定的抗炎作用; 金刚藤提取物高、低剂量组在致炎后 1, 2, 4, 6 h 均可使大鼠的足跖肿胀

度显著降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 说明金刚藤提取物高、低剂量组均有显著抗炎作用。

表 3 金刚藤提取物对蛋清所致大鼠足跖肿胀的影响 (  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$  )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	不同致炎时间肿胀度 /mL			
		1 h	2 h	4 h	6 h
生理盐水	-	0.491 ± 0.124	0.450 ± 0.126	0.432 ± 0.122	0.381 ± 0.093
金刚藤胶囊	10.0	0.414 ± 0.061 <sup>1)</sup>	0.409 ± 0.063	0.374 ± 0.066 <sup>1)</sup>	0.316 ± 0.063 <sup>1)</sup>
金刚藤提取物	10.0	0.385 ± 0.123 <sup>2)</sup>	0.379 ± 0.126 <sup>1)</sup>	0.343 ± 0.111 <sup>1)</sup>	0.249 ± 0.096 <sup>2,3)</sup>
	20.0	0.324 ± 0.095 <sup>2)</sup>	0.335 ± 0.101 <sup>2)</sup>	0.259 ± 0.081 <sup>2)</sup>	0.226 ± 0.093 <sup>2)</sup>

**3.3 镇痛实验** 腹腔注射 0.6% 醋酸溶液可使小鼠出现扭体反应。由表 4 可知, 金刚藤胶囊作为阳性对照药, 对醋酸引起的小鼠扭体反应具有明显的抑制作用, 与生理盐水对照组比较, 有极显著差异 ( $P < 0.01$ ); 给予不同剂量金刚藤提取物后, 小鼠在 20 min 内的扭体次数明显减少, 与生理盐水对照组比较, 有显著 ( $P < 0.05$ ) 或极显著差异 ( $P < 0.01$ ), 说明金刚藤提取物高、低剂量组均有明显镇痛作用; 金刚藤提取物低剂量组与金刚藤胶囊组比较, 具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 提示金刚藤提取物可能比金刚藤胶囊的镇痛作用更强。

表 4 金刚藤提取物对冰醋酸所致小鼠扭体反应次数的影响 (  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$  )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	扭体次数 /20 min
生理盐水	-	45.0 ± 9.9
金刚藤胶囊	13.5	36.3 ± 9.4 <sup>2)</sup>
金刚藤提取物	13.5	24.5 ± 3.9 <sup>2,3)</sup>
	27.0	21.2 ± 4.4 <sup>2)</sup>

**3.4 金刚藤提取物对模型大鼠子宫组织中 PGE<sub>2</sub> 含量的影响** 由试验结果可知, 金刚藤胶囊组与模型对照组相比较, 大鼠子宫组织中 PGE<sub>2</sub> 的含量有所降低 ( $P < 0.05$ ), 说明造模成功。金刚藤提取物高剂量组与模型对照组相比较, 大鼠子宫组织中 PGE<sub>2</sub> 的含量显著降低 ( $P < 0.05$ ); 提示金刚藤有效部位群通过抑制大鼠子宫组织中 PGE<sub>2</sub> 的合成或释放而发挥抗炎作用。结果见表 5。

#### 4 讨论

金刚藤是湖北省的地道药材。以金刚藤为原料生产的中药制剂金刚藤胶囊用于治疗妇科炎症疾患, 疗效显著, 是湖北福人药业公司的主导产品, 年产值和销售额过亿元。湖北福人药业公司生产的金刚藤胶囊是中国医药学会和中国医学会妇科分会推荐的主治妇科疾病的首选中成药, 是全国名牌产品和湖北省精品名牌产品。但是金刚藤胶囊为传统生

表 5 金刚藤提取物对 CPID 模型大鼠子宫组织中 PGE<sub>2</sub> 含量的影响 (  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$  )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	PGE <sub>2</sub> /ng·g <sup>-1</sup>
假手术对照	-	16.58 ± 1.61
模型对照	-	21.29 ± 1.94 <sup>1)</sup>
金刚藤胶囊	10.0	19.25 ± 1.70 <sup>2)</sup>
金刚藤提取物	10.0	20.13 ± 1.62
	20.0	19.15 ± 1.76 <sup>2)</sup>

产工艺制成的粗提物制剂, 制备工艺落后, 存在药效物质基础不明确, 质量控制标准不完善, 药物疗效不稳定, 临床服用剂量过大等弊端, 难以满足现代临床用药要求。

本研究是在前期采用现代大孔树脂纯化技术获得金刚藤提取物 (包含黄酮、皂苷和鞣质, 其含量达 75% 以上) 研究基础上, 对金刚藤提取物和金刚藤胶囊进行了抗炎镇痛药理学比较研究, 并对其抗炎机制进行了初步研究。研究结果表明, 金刚藤提取物的药理作用不低于原制剂, 从而确定了金刚藤药材抗炎镇痛的物质部位群。研究结果亦表明, 抑制 PGE<sub>2</sub> 的合成及释放是金刚藤有效物质部位群发挥抗炎作用的机制之一。本研究为金刚藤胶囊二次开发成安全、有效、可控、稳定的现代中药制剂提供了科学依据。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典. 二部[S]. 2005: 216.
- [2] 孙进. 金刚藤活性部位群提取纯化工艺及其血清药化研究[D]. 武汉: 湖北中医学院. 2009.
- [3] 陈颖异, 何晓文, 肖振宇. 舒康汤对慢性盆腔炎大鼠血液流变学影响的试验研究[J]. 中国中医药科技, 2003, 10(2): 128.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理试验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 883.

[责任编辑 聂淑琴]