

复方竹节参颗粒对缩宫素诱导的原发性痛经的影响

邓 鑫¹, 任永申^{1*}, 雷 蕾¹, 郑 尧¹, 李 燕¹, 廖矛川¹, 邓旭坤¹, 张 萍^{2*}
(1. 中南民族大学药学院, 湖北 武汉 430070; 2. 解放军总医院第五医学中心全军中医药研究所, 北京 100039)

摘要: **目的** 探讨复方竹节参颗粒对缩宫素诱导的原发性痛经的影响。**方法** 将 KM 小鼠、SD 大鼠分别随机分为空白组、模型组、痛经宝阳性对照组 (小鼠 4.11 g/kg、大鼠 1.87 g/kg)、复方竹节参颗粒组 [低剂量组 (小鼠 6.17 g/kg、大鼠 2.80 g/kg), 高剂量组 (小鼠 18.5 g/kg、大鼠 8.41 g/kg)], 采用己烯雌酚 (小鼠 10~20 mg/kg, 大鼠 5~10 mg/kg) 和缩宫素 (小鼠 20 U/kg, 大鼠 10 U/kg) 诱导原发痛经动物模型, 观察记录各组鼠的痛经表现指标 (行为反应、饮食、精神状态、毛色、被毛光泽度) 并进行评分, 采用扭体法观察各组鼠的扭体潜伏期、扭体次数, 检测给药鼠血清生化指标 (PGE₂、NO、MDA) 水平。取己烯雌酚诱导后的大鼠子宫, 离体加入缩宫素 (5 U/L), 15 min 后加入复方竹节参颗粒 (90、270 mg/L), 采用 PowerLab 生物信号记录系统记录体外子宫平滑肌收缩张力曲线, 计算收缩张力抑制率。**结果** 与模型组比较, 复方竹节参颗粒低剂量 (常规剂量) 组能延长扭体潜伏期, 减少扭体次数 ($P<0.01$), 升高 PGE₂、NO 水平 ($P<0.01$), 降低 MDA 水平 ($P<0.01$), 提高子宫平滑肌收缩张力抑制率 ($P<0.01$)。**结论** 复方竹节参颗粒具有较好的抗痛经作用, 并且在常规剂量使用时疗效更好, 可为客观评价其药效作用提供了科学依据。

关键词: 复方竹节参颗粒; 原发性痛经; 己烯雌酚; 缩宫素; 离体子宫平滑肌; 收缩张力

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)01-0055-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.013

Effects of Fufang Zhujieshen Granules on oxytocin-induced primary dysmenorrhea

DENG Xin¹, REN Yong-shen^{1*}, LEI Lei¹, ZHENG Yao¹, LI Yan¹, LIAO Mao-chuan¹,
DENG Xu-kun¹, ZHANG Ping^{2*}

(1. College of Pharmacy, South-central University for Nationalities, Wuhan 430070, China; 2. Military Institute of Chinese Medicine, The Fifth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100039, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Fufang Zhujieshen Granules (FZGs) on oxytocin-induced primary dysmenorrhea. **METHODS** KM mice and SD rats were randomly divided into blank group, model group, Tongjingbao dysmenorrhea granules positive control group (4.11 g/kg in mice, 1.87 g/kg in rats), low-dose FZGs group (6.17 g/kg in mice, 2.80 g/kg in rats) and high-dose FZGs group (18.5 g/kg in mice, 8.41 g/kg in rats). And the primary dysmenorrhea animal model was replicated by use of diethylstilbestrol (10~20 mg/kg in mice, 5~10 mg/kg in rats) and oxytocin (20 U/kg in mice, 10 U/kg in rats). Then they were subjected to the following detections: presented multiple symptoms indicators of dysmenorrhea including behavioral response, diet, mental state, coat color, coat gloss, the writhing latent period and writhing times of the primary dysmenorrhea model by writhing method, and serum biochemical indicators (PGE₂, NO, MDA) levels. Rats injected with

收稿日期: 2019-01-20
基金项目: 国家自然科学基金项目 (31600272, 81202935, 81773893); 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2017ZX09301060); 全军后勤科研计划面上项目 (CWS14J072); 中南民族大学中央高校科研基金 (CZP17031)
作者简介: 邓 鑫 (1995—), 女, 硕士生, 从事中药药理学研究。Tel: 15072456727, E-mail: 2879895869@qq.com
* 通信作者: 任永申 (1983—), 男, 博士, 硕士生导师, 从事中药民族药学比较研究。Tel: (027) 67841196, E-mail: godreny@163.com
张 萍 (1978—), 女, 副主任药师, 从事临床中药学研究。Tel: (010) 66933324, E-mail: zhp1231@126.com

diethylstilbestrol had their uteruses isolated for oxytocin treatment, and 15 min later FZGs (90, 270 mg/L), and the contractile tension curve of isolated uterus were recorded by PowerLab biological signaling system. **RESULTS**

Compared with the model group, the low dose FZGs group extended latent period and decreased writhing times ($P<0.01$), increased the levels of PGE_2 and NO ($P<0.01$), decreased the levels of MDA in uterine homogenate of animal model ($P<0.01$) and contraction tension of uterine smooth muscles ($P<0.01$). **CONCLUSION** The resultant significant analgesic effect on primary dysmenorrhea models, and a better curative effect at routine dosage, suggest there is scientific evidence for the efficacy evaluation and development of FZGs.

KEY WORDS: Fufang Zhujiessen Granules; primary dysmenorrheal; diethylstilbestrol; oxytocin; uterine smooth muscles; contraction tension;

痛经分为原发性痛经和继发性痛经,是未孕女性常见病,疼痛多持续 1~3 d^[1-2],发生时通常伴有小腹胀痛、头痛、背痛及乳房触痛等症状^[3]。原发性痛经是由子宫收缩增强引起的经期痉挛性疼痛,其特征为经期疼痛无可见器质性病变,与正常排卵周期无关;继发性痛经即妇科疾病引起的经期疼痛,常伴随盆腔器官病变^[4]。痛经的发病率一般为 50%~90%,由于环境和遗传因素的影响,不同国家有所差异^[1,3]。目前临床上主要应用非甾体类抗炎药、口服避孕药缓解痛感或干扰发作^[5-6],但非甾体类抗炎药作用宽泛,对其他系统(如肝脏、肾脏、消化道等)产生较大不良反应^[7-8];避孕药也会产生恶心、水潴留、脑静脉血栓、延迟排卵、降低雌激素和孕酮的循环水平、扰乱生理周期等不良反应^[9-11],因此有必要开发新药物。中医药与民族医药在长期实践中总结了丰富的妇科疾病治疗、调理经验与有效药物,对月经不调、痛经等疗效显著,被广泛接受和应用^[12-14]。复方竹节参颗粒由恩施土家医治疗妇科疾病的习用方开发而来,具有良好的抗痛经作用,本实验采用己烯雌酚和缩宫素诱导建立原发性痛经经内外模型,对其进行综合评价并对其机制进行了初步探讨。

1 材料

1.1 动物 SPF 级昆明种小鼠,体质量 18~22 g,雌性未孕;SPF 级 SD 大鼠,体质量 200~220 g,雌性未孕,均由湖北省疾病预防控制中心提供,动物使用许可证号 SYXK(鄂)2016-0089。

1.2 试剂与药物 复方竹节参颗粒主要由竹节参、大血藤、延胡索、当归、白芍、香附等药材组成,采用水煎煮法提取并减压干燥为浸膏(得率为 35%),与 1.5 倍量辅料(糊精-糖粉,比例 1:1)混合均匀,湿法制粒,干燥,即得,日用剂量为 30 g;月月舒痛经宝颗粒(仲景宛西制药股份有限公司,批号 161204);己烯雌酚片(上海信谊康捷

药业有限公司,批号 170109);缩宫素注射液(哈尔滨摩天农科兽药有限公司,批号 20170425);氯化钠注射液(武汉滨湖双鹤药业有限责任公司,批号 1611130801)。自配 Locke's 液(NaCl 9.2 g, KCl 0.42 g, 无水 $CaCl_2$ 0.24 g, $NaHCO_3$ 0.15 g, 葡萄糖 1.0 g, 加超纯水至 1 000 mL);前列腺素 E2 (PGE_2) ELISA 检测试剂盒(批号 E20170601A)购自碧云天生物技术有限公司;一氧化氮(NO)检测试剂盒(批号 20171213)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号 20180412)均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 DL28R 冷冻离心机(上海离心机机械研究所);CP214 分析天平(上海奥豪斯仪器有限公司);1510 全波长酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司);PowerLab 生物信号采集系统(美国 AD Instruments 公司);DK-98-II 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);麦氏浴槽(沈阳莱博科贸有限公司);S10 手提式组织匀浆器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

2 方法

2.1 在体模型的建立及给药

2.1.1 小鼠 取 40 只雌性 KM 小鼠(体质量 18~22 g),随机分成空白组、模型组、痛经宝阳性对照组、复方竹节参颗粒(低、高)剂量组,每组 8 只,以己烯雌酚和缩宫素联合复制小鼠原发性痛经模型。造模小鼠每天上午皮下注射己烯雌酚,空白组给予等体积生理盐水,连续 12 d。首日与末日己烯雌酚的给药剂量为 10 mg/kg;第 2~11 天为 5 mg/kg,给药体积 10 mL/kg,人工造成动物处于相同的动情期,以便于增强子宫平滑肌的敏感性;第 12 天末次注射己烯雌酚 1 h 后,腹腔注射 20 U/kg 缩宫素,引起小鼠子宫平滑肌强烈的痉挛性收缩产生疼痛,建成小鼠原发性痛经模型。第 7 天开始灌胃给药,连续 5 d,空白组和模型组每天给予等体

积超纯水；参照《药理实验方法学（第 4 版）》^[15] 剂量换算方法得到小鼠每日给药剂量，痛经宝阳性对照组为 4.11 g/kg；复方竹节参颗粒低剂量组为 6.17 g/kg（相当于人用剂量 1 倍），高剂量组为 18.50 g/kg（相当于人用剂量 3 倍），各组灌胃给药体积均为 10 mL/kg。

2.1.2 大鼠 取 40 只雌性 SD 大鼠（体质量 200~220 g），随机分成空白组、模型组、痛经宝阳性对照组、复方竹节参颗粒（低、高）剂量组，每组 8 只。以己烯雌酚和缩宫素联合复制小鼠原发性痛经模型。于每日上午皮下注射己烯雌酚，空白组给予等体积生理盐水，连续 12 d。首日与末日己烯雌酚的给药剂量为 5 mg/kg，第 2~11 天为 2.5 mg/kg，给药体积 10 mL/kg，人工造成动物处于相同的动情期，以便于增强子宫平滑肌的敏感性。第 12 天

表 1 痛经动物模型的表现指标得分

Tab. 1 Scores of apparent indexes for animal models of dysmenorrhea

分级评分/分		行为反应	饮食	精神状态	毛色	被毛光泽度
3	正常		正常	正常	正常	正常
2	身体向一侧偏斜		轻度减少	轻度降低	轻度色变	轻度无光泽
1	后肢伸展,后爪背屈,躯体伸展伴频繁地盆骨侧向旋转		中度减少	中度降低	中度色变	重度无光泽
0	反应显著下降,出现扭体反应。		重度减少或基本不进食	重度降低	重度色变	重度无光泽

2.1.4 痛经指标检测 建模成功后，分别记录 30 min 内 KM 小鼠、SD 大鼠的扭体潜伏期和扭体次数，不发生扭体反应的潜伏期按 30 min 计；记录注射缩宫素后 30 min 内痛经动物的扭体次数并计算其扭体抑制率，公式为扭体抑制率=〔（模型组扭体次数均值-给药组扭体次数均值）/模型组扭体次数均值〕×100%。

2.1.5 生化指标检测 测完扭体次数后，将各组动物脱颈处死，迅速剥离右侧子宫组织，剔除结缔组织，生理盐水洗净，拭干，称取同一位置子宫 500 mg，冰浴下加入 1.5 mL 生理盐水制备匀浆，4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min，取上清液，测定子宫匀浆 PGE₂、NO、MDA 水平（按试剂盒说明书操作）。

2.2 大鼠离体痛经模型的建立及给药 取 24 只体质量 200~220 g 健康未孕雌性 SD 大鼠，随机分为 4 组，于实验前 3 d 每天腹腔注射 2 mg/kg 己烯雌酚，以提高子宫的敏感性。末次腹腔注射给药 2 h 后，颈椎脱臼法处死大鼠，剖开腹腔，取同侧子宫，去除卵巢和子宫角部位并剥离子宫上附着的脂肪等结缔组织，将子宫两端结扎，其中一端用丝线结扎子宫角侧末端，长度（2.0±0.1）cm，子宫颈

末次注射己烯雌酚 1 h 后，腹腔注射 10 U/kg 缩宫素，引起大鼠子宫平滑肌强烈的痉挛性收缩产生疼痛，建成大鼠原发性痛经模型。第 7 天开始灌胃给药，连续 5 d，空白组和模型组每天给予等体积超纯水；依据《药理实验方法学（第 4 版）》^[15] 剂量换算方法得到大鼠每日给药剂量，痛经宝阳性对照组为 1.87 g/kg；复方竹节参颗粒低剂组为 2.80 g/kg（相当于人用剂量 1 倍），高剂组为 8.41 g/kg（相当于人用剂量 3 倍），各组灌胃给药体积均为 10 mL/kg。

2.1.3 表观指标检测 己烯雌酚和缩宫素建模成功后，观察并记录各组动物的行为反应（注射缩宫素后 10 min 内）、饮食、精神状态、毛色、被毛光泽度等作为痛经表观指标，根据表 1 标准进行评分。

端用丝线固定于浴槽底端挂钩上，置于含充有饱和空气（通入速度为 1~2 个气泡/s）的 Locke's 液的恒温浴槽中，卵巢端连接于张力换能器，并将后者连接于多道信号采处理系统，调节螺母使标本前负荷 2 g，控制 Locke's 液温度（37.0±0.5）℃。开启生理信号采集系统，平衡 30 min，待子宫平滑肌自发性收缩平稳、自发节律恢复后开始实验。

各组加入缩宫素（终浓度 5 U/L），记录 15 min 子宫收缩张力曲线后分别加入药液。模型组给予等体积超纯水，痛经宝阳性对照组、复方竹节参颗粒低剂组、复方竹节参颗粒高剂组终质量浓度分别为 60、90、270 mg/L，记录给药后 15 min 内的子宫平滑肌收缩张力并计算抑制率，公式为收缩张力抑制率=〔（给药前平均张力-给药后平均张力）/给药前平均张力〕×100%。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 21.0 软件进行处理，数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对在体原发性痛经模型动物表观指标的影响 如表 2 所示，与空白组比较，模型组得分降低（*P*<0.01）；与模型组比较，各给药组得分增加

($P<0.05$, $P<0.01$), 以复方竹节参颗粒低剂组、痛经宝阳性对照组较高, 提示复方竹节参颗粒能显著缓解由缩宫素引起的痛经症状, 并且在正常剂量(低剂量)下使用效果更好。

表 2 复方竹节参颗粒对原发性痛经在体动物模型表现指标的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)
Tab. 2 Effects of FZGs on indexes for presented multiple symptoms in animal models of primary dysmenorrhea($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	小鼠		大鼠	
	剂量/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	表观指标得分/分	剂量/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	表观指标得分/分
空白组	—	14.88±0.35	—	14.75±0.46
模型组	—	2.88±0.99**	—	3.50±0.93**
痛经宝阳性对照组	4.11	13.38±0.74##	1.87	13.25±0.89##
复方竹节参颗粒低剂组	6.17	14.38±0.52##	2.80	14.13±0.64##
复方竹节参颗粒高剂组	18.50	5.50±1.51##	8.41	5.38±1.69#

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3.2 对原发性痛经模型动物痛经指标的影响 如表 3 所示,与空白组比较,模型组动物潜伏期降低,扭体次数升高($P<0.01$);与模型组比较,痛经宝阳性对照组、复方竹节参颗粒组可不同程度地延长扭体潜伏期,减少扭体次数($P<0.05$, $P<0.01$)。从扭体抑制率来看,复方竹节参颗粒组低剂量抑制作用较强,提示该药在正常剂量下可产生良好的缓解痛经的作用。

表 3 复方竹节参颗粒对原发性痛经在体动物模型痛经指标的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)
Tab. 3 Effects of FZGs on dysmenorrhea indexes in animal models of primary dysmenorrhea *in vivo* ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	小鼠				大鼠			
	剂量/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	扭体潜伏 期/min	30 min 内扭 体次数/次	扭体抑制率/ %	剂量/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	扭体潜伏 期/min	30 min 内扭体 次数/次	扭体抑制 率/%
空白组	—	30	0	—	—	30	0	—
模型组	—	2.88±0.99**	39.25±4.59**	0	—	4.44±1.32**	41.38±3.58**	—
痛经宝阳性对照组	4.11	17.63±1.11##	13.25±2.82##	64.79	1.87	18.75±4.37##	14.50±2.45##	63.55
复方竹节参颗粒低剂组	6.17	18.68±3.08##	10.75±2.49##	71.34	2.80	19.25±5.09##	12.88±2.80##	67.51
复方竹节参颗粒高剂组	18.50	6.09±2.18##	32.38±5.26#	33.64	8.41	5.34±1.54##	38.88±5.62	25.13

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3.3 对在体原发性痛经模型动物子宫匀浆中生化指标的影响 与空白组比较,模型组子宫组织中 PGE_2 、NO 水平下降,MDA 水平增加($P<0.01$);与模型组比较,复方竹节参颗粒组可升高子宫组织中 PGE_2 、NO 水平,降低 MDA 水平($P<0.05$, $P<0.01$),提示复方竹节参颗粒在正常剂量(低剂量)下即可对妇科疾病(痛经)产生较好的调经止痛作用。见表 4。

表 4 复方竹节参颗粒对原发性痛经在体动物模型生化指标的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)
Tab. 4 Effects of FZGs on biochemical indexes in animal models of primary dysmenorrhea *in vivo* ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	小鼠				大鼠			
	剂量/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	PGE_2 / ($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	NO/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	MDA/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	剂量/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	PGE_2 / ($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	NO/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	MDA/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
空白组	—	407.13±26.36	46.07±5.98	16.73±1.78	—	541.13±20.20	50.75±7.30	4.27±0.99
模型组	—	290.88±20.37**	29.81±2.17**	26.79±1.68**	—	435.50±18.21**	23.06±3.48**	11.47±1.52**
痛经宝阳性对照组	4.11	351.38±18.84##	40.75±4.06##	18.78±0.41##	1.87	496.13±19.42##	42.50±6.05##	4.74±0.87##
复方竹节参颗粒低剂组	6.17	357.13±14.35##	41.13±4.09##	18.43±0.59##	8.41	501.38±18.84##	43.50±5.78##	4.35±0.66##
复方竹节参颗粒高剂组	18.50	321.13±19.17##	32.50±4.50	22.14±2.07#	2.80	460.88±17.96#	31.38±5.24##	9.59±1.29#

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3.4 对离体原发性痛经模型动物指标的影响 采用己烯雌酚和缩宫素制备大鼠离体原发性痛经模型,经给药后,与建模后张力(0~15 min)比较,各组给药后张力降低;与模型组比较,复方竹节参颗粒低剂组、痛经宝阳性对照组收缩张力抑制率增

加($P<0.01$),提示复方竹节参颗粒在正常剂量(低剂量)下对离体子宫平滑肌收缩即可产生较好的抑制作用,与体内实验结果相吻合。见图 1、表 5。

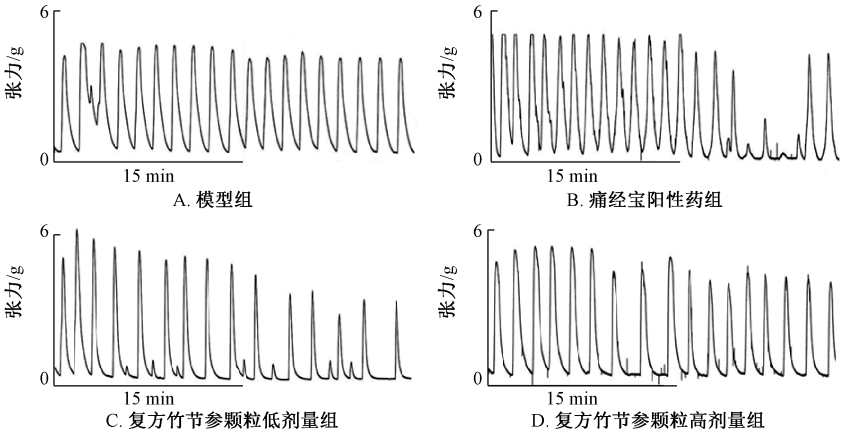


图 1 大鼠离体子宫平滑肌收缩张力

Fig. 1 Contraction tensions of isolated uterine smooth muscles in rats

表 5 复方竹节参颗粒对原发性痛经离体大鼠子宫平滑肌收缩张力的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab.5 Effects of FZGs on contraction tension of isolated uterine smooth muscle in rats of primary dysmenorrhea ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(mg·L ⁻¹)	建模后张力/g	给药后张力/g	收缩张力抑制率/%
模型组	—	3.60±0.05	3.46±0.04	3.93±0.82
痛经宝阳性对照组	60	4.01±0.18	3.06±0.13	23.45±4.861 **
复方竹节参颗粒低剂组	90	3.94±0.16	2.93±0.17	25.53±3.821 **
复方竹节参颗粒高剂组	270	3.89±0.19	3.58±0.15	4.38±1.59

注:与模型组比较,** $P<0.01$ 。

4 讨论

痛经是女性最常见的妇科疾病之一,发生时通常出现下腹部疼痛、腹泻、腰酸膝软、股腹沟疼痛、头痛等症状,根据是否伴随盆腔病变可分为原发性痛经和继发性痛经,其中前者是月经期由于子宫收缩增强引起的痉挛性疼痛,其特征为无可见器质性病变,与正常排卵周期无关。己烯雌酚是一种合成的非甾体雌激素,可通过质膜上的细胞外相互作用引起内皮剥脱的大鼠主动脉平滑肌的急剧松弛^[16],连续皮下注射后可提高动物子宫的敏感性,出现平滑肌松弛,使动物处于相同的动情期;腹腔注射缩宫素时,可使动物产生类似痛经症状。现代研究表明,采用己烯雌酚和缩宫素可以较好地模拟原发性痛经症状^[17]。

复方竹节参颗粒为恩施土家医临床治疗妇科疾病(痛经、月经不调等)的习用方,主要由白三七、红藤、延胡索、当归、白芍、香附等药材组成,具有较好的治疗痛经、月经不调等妇科疾病的

疗效。痛经宝颗粒主要由红花、当归、肉桂、三棱等 9 味药材组成,为历版《中国药典》所收载,主要用于寒凝气滞血瘀妇女痛经等症状,疗效较为显著,是临床应用较为广泛的中药治疗痛经成方制剂。为客观评价复方竹节参颗粒治疗痛经的作用,本研究将痛经宝颗粒作为阳性对照,采用己烯雌酚和缩宫素建立在体、离体原发性痛经模型。

表观指标可以间接反应动物痛经模型疼痛情况,是评价痛经程度的重要指标。治疗后,各给药组得分明显增加,其中以复方竹节参颗粒低剂组表观得分最高,提示它能显著缓解由缩宫素引起的痛经症状。扭体潜伏期、扭体次数、扭体抑制率是评价痛经反应的重要指标,可以判断模型制备是否成功、药物镇痛作用强弱。建立在体原发性痛经模型后与空白组比较,模型组扭体潜伏期缩短,扭体次数显著增加,提示原发性痛经模型建立成功;与模型组比较,各给药组不同程度延长了扭体潜伏期、减少扭体次数,扭体抑制率依次为复方竹节参颗粒

低剂组>痛经宝阳性药组>复方竹节参颗粒高剂组，提示复方竹节参颗粒具有较好的抑制痛经的作用，并且在正常剂量（低剂量）下即可产生良好的缓解痛经的作用。

PGE₂、NO、MDA 是动物痛经模型疼痛过程机体反应的常用指标，也是药物镇痛作用的重要临床指标。现代研究证实，痛经患者子宫内膜和月经血中前列腺素（PG）水平明显高于正常人群，PG 包括 PGF_{2α} 和 PGE₂，PGE₂ 可抑制子宫平滑肌自发收缩，而 PGF_{2α} 促使子宫平滑肌收缩，故痛经发生时患者子宫内膜和月经血中 PGF_{2α} 水平明显升高，PGE₂ 水平则降低^[18]。NO 可通过 NO-cGMP 途径表现出致痛和镇痛双重作用，主要参与外周及中枢水平的痛觉调制，当作用于外周调制时其水平升高，可放松子宫平滑肌以缓解痛经^[13,19-20]。痛经发生时，由于子宫缺血可导致过多的脂质过氧化和氧化应激^[21]，MDA 是脂质氧化的最终产物，它反映了脂质过氧化的程度^[22]。建模后与空白组比较，模型组 PGE₂、NO 水平降低，MDA 水平升高；与模型组比较，各给药组能不同程度升高 PGE₂、NO 水平，降低 MDA 水平，以复方竹节参颗粒低剂组效果最好，提示它在正常剂量（低剂量）下使用时，可能通过增加 PGE₂ 水平抑制子宫平滑肌自发收缩，升高 NO 水平以放松子宫平滑肌，减少脂质过氧化产物 MDA 水平来达到缓解痛经的作用。

己烯雌酚和缩宫素制备大鼠离体原发性痛经模型后，模型组子宫平滑肌收缩张力增加，给药后各组子宫收缩张力减小，抑制率依次为复方竹节参颗粒低剂组>痛经宝阳性药组>复方竹节参颗粒高剂组，提示复方竹节参颗粒在低剂量下对离体子宫平滑肌收缩可以产生较好的抑制作用，与在体实验结果相吻合。此外，本研究发现复方竹节参颗粒在正常剂量下产生良好的缓解痛经作用，而在高剂量下（日用剂量 3 倍）反而减弱，动物表观指标降低，提示其不可过量使用，可能与过度调节机体、子宫状态有关。

本实验从民族医学习用方中发现复方竹节参颗粒，并进行了产品开发和体内外药效学研究，显示该药物具有良好的抗痛经作用，为其开发提供了科学依据，也为其他民族药物相关研究提供了参考经验。

参考文献:

[1] Arafa A E, Senosy S A, Helmy H K, *et al.* Prevalence and

patterns of dysmenorrhea and premenstrual syndrome among Egyptian girls (12-25 years) [J]. *Mid East Fert Soc J*, 2018, 23(4): 486-490.

[2] Kaplan Ö, Nazıroğlu M, Güney M, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drug modulates oxidative stress and calcium ion levels in the neutrophils of patients with primary dysmenorrhea [J]. *J Reprod Immunol*, 2013, 100(2): 87-92.

[3] Heshmati A, Dolatian M, Mojab F, *et al.* The effect of peppermint (*Mentha piperita*) capsules on the severity of primary dysmenorrhea[J]. *J Herb Med*, 2016, 6(3): 137-141.

[4] Gangwar V, Kumar D, Gangwar R, *et al.* Prevalence of primary dysmenorrhea among the undergraduate medical students and its impact on their performance in study[J]. *Int J Physiol*, 2014, 2(1): 14-18.

[5] Patel J C, Patel P B, Acharya H, *et al.* Efficacy and safety of lornoxicam *vs* ibuprofen in primary dysmenorrhea: a randomized, double-blind, double dummy, active-controlled, cross over study[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2015, 188: 118-123.

[6] Sut N, Kahyaoglu-Sut H. Effect of aromatherapy massage on pain in primary dysmenorrhea: a meta-analysis[J]. *Complement Ther Clin Pract*, 2017, 27: 5-10.

[7] Grgić V. Dysmenorrhea induced by lumbosacral spine disorders. pathogenesis, diagnosis and therapy with special emphasis on spinal manipulative therapy[J]. *Lijec Vjesn*, 2009, 131(9-10): 275-279.

[8] Lefebvre G, Pinsonneault O, Antao V, *et al.* Primary dysmenorrhea consensus guideline[J]. *J Obstet Gynaecol Can*, 2005, 27(12): 1117-1130.

[9] Ibrahim A M, El-Shahawy A S Z, Elshabacy A. Risk of cerebral venous thrombosis in oral contraceptives pills users[J]. *Egypt J Radiol Nucl Med*, 2018, 49(3): 727-731.

[10] Edelman A B, Jensen J T, McCrimmon S., *et al.* Combined oral contraceptive interference with the ability of ulipristal acetate to delay ovulation: A prospective cohort study [J]. *Contraception*, 2018, 98(6): 463-466.

[11] Fleischman D S, Navarrete C D, Fessler D M. Oral contraceptives suppress ovarian hormone production [J]. *Psychol Sci*, 2010, 21(5): 750-752.

[12] Pellow J, Nienhuis C. Medicinal plants for primary dysmenorrhoea: a systematic review[J]. *Complement Ther Med*, 2018, 37: 13-26.

[13] Sun L, Liu L, Zong S, *et al.* Traditional Chinese medicine Guizhi Fuling capsule used for therapy of dysmenorrhea via attenuating uterus contraction [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 191: 273-279.

[14] Chen Y, Cao Y, Xie Y, *et al.* Traditional Chinese medicine for the treatment of primary dysmenorrhea: How do Yuanhu pain-killers effectively treat dysmenorrhea? [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(12): 1095-1104.

[15] 魏 伟, 吴希美, 李建元. 药理实验方法学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 69-72.

[16] Martínez C, Sánchez M, Hidalgo A, *et al.* Mechanisms of diethylstilbestrol-induced relaxation in rat aorta smooth muscle [J]. *Vascul Pharmacol*, 2003, 40(4): 197-204.

[17] 中华中医药学会, 中药实验药理专业委员会. 痛经动物模型制备规范 (草案) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(19): 20-24.

[18] 马 青, 师 伟, 刘少玲, 等. 温经化瘀止痛法对寒凝血瘀证原发性痛经大鼠血清 E₂、P、PGE₂、PGF_{2α}、TXB₂ 及 6-Keto-PGF_{1α} 的影响[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(5): 1281-1284.

[19] Moya R, Moisa C F, Wynter H, *et al.* Transdermal glyceryl trinitrate in the management of primary dysmenorrhea[J]. *Int J Gynecol Obstet*, 2000, 69(2): 113-118.

[20] 张来宾, 阎玺庆, 段金殿, 等. 艾叶不同提取物对小鼠原发性痛经的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 205-208.

[21] Dawood M Y. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management [J]. *Obstet Gynecol*, 2006, 108(2): 428-441.

[22] Ilhan N, Halifeoglu I, Ozercan H I, *et al.* Tissue malondialdehyde and adenosine triphosphatase level after experimental liver ischaemia-reperfusion damage[J]. *Cell Biochem Funct*, 2001, 19(3): 207-212.

地黄梓醇对椎间盘髓核细胞 NLRP3 炎性体的调控作用

张 鹏^{1,2}, 尹志良², 朱献忠², 刘 康³, 冯 刚^{1,3*}

(1. 西南医科大学, 四川 泸州 646000; 2. 成飞医院, 四川 成都 610091; 3. 南充市中心医院·川北医学院第二临床医学院, 四川 南充 637000)

摘要: **目的** 研究地黄梓醇对椎间盘髓核细胞 NLRP3 炎性体的调控作用。**方法** 采用 H₂O₂ 刺激大鼠原代椎间盘髓核细胞建立细胞模型, 地黄梓醇预给药。CCK8 法测定细胞活力, 流式细胞仪检测髓核细胞凋亡, ELISA 测定细胞上清液 T-SOD、MDA、IL-1β 水平, 实时荧光定量 PCR 测定 *TXNIP*、*NLRP3*、*caspase-1*、*IL-1β* mRNA 表达, Western blot 检测 TXNIP、NLRP3、*caspase-1*、IL-1β、NF-κB p65 蛋白表达, 免疫荧光法检测 TXNIP、NLRP3 表达。**结果** 地黄梓醇 (5、10 μmol/L) 能上调细胞上清液 T-SOD 水平, 下调 MDA、IL-1β 水平 ($P<0.05$), 抑制 H₂O₂ 诱导髓核细胞凋亡 ($P<0.05$), 降低髓核细胞 *TXNIP*、*NLRP3*、*caspase-1*、*IL-1β* mRNA 及蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并且 10 μmol/L 地黄梓醇能抑制 NF-κB p65 蛋白表达 ($P<0.05$)。**结论** 地黄梓醇可有效抑制 H₂O₂ 导致的髓核细胞凋亡, 可能与调控 ROS/NLRP3/IL-1β 通路轴有关。

关键词: 地黄梓醇; 过氧化氢; 髓核细胞; NLRP3

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)01-0061-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.014

Regulatory effects of catapol on NLRP3 inflammasome in nucleus pulposus cells of the intervertebral disc

ZHANG Peng^{1,2}, YIN Zhi-liang², ZHU Xian-zhong², LIU Kang³, FENG Gang^{1,3*}

(1. Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Chengfei Hospital, Chengdu 610091, China; 3. Nanchong Central Hospital · The Second Clinical Medical College of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China)

收稿日期: 2019-09-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81071270); 四川省教育厅创新团队计划项目 (13TD0030); 南充市市校合作科研专项计划项目 (NSMC20170310)

作者简介: 张 鹏 (1981—), 男, 硕士生, 副主任医师, 从事椎间盘退行性疾病的基础与临床研究。Tel: (028) 87455213, E-mail: 748781174@qq.com

*** 通信作者:** 冯 刚 (1969—), 男, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事骨和软组织工程、椎间盘退行性变疾病的生物治疗研究。Tel: (0817) 2258108, E-mail: fenggangnec@163.com