

元胡止痛口服液对缩宫素致小鼠离体子宫痉挛性收缩的影响

张 恺^{1,2}, 李 嵩³, 邓 昊^{1,2}, 樊官伟^{1,2,4*}

(1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193; 2. 天津市中医方证转化研究重点实验室, 天津 300193; 3. 天津中医药大学, 研究生院, 天津 300193; 4. 天津中医药大学, 中医药研究院, 天津 300193)

摘要: **目的** 考察元胡止痛口服液对缩宫素致小鼠离体子宫痉挛性收缩的影响。**方法** 采用缩宫素诱导小鼠离体子宫收缩模型, 40 只 ICR 小鼠随机分为对照组、阳性药 (0.06 mg/mL 罗通定片) 组以及元胡止痛口服液高、中、低剂量组 (6.05、2.02、0.67 mg/mL), 每组 8 只。运用 PowerLab 生物信号采集处理系统记录子宫平滑肌收缩曲线, 以子宫收缩张力、收缩频率、活动力为指标, 考察不同剂量元胡止痛口服液对离体子宫收缩活动的影响。**结果** 元胡止痛口服液高、中剂量可显著降低小鼠离体子宫的平均收缩张力与收缩张力最小值 ($P<0.05$), 降低子宫收缩频率 ($P<0.05$) 与子宫活动力 ($P<0.01$)。元胡止痛口服液 (6.05、2.02、0.67 mg/mL) 对小鼠痉挛子宫平均收缩张力的抑制率分别为 28.10%、15.79%、9.10%, 对子宫活动力的抑制率分别为 40.65%、31.14%、13.20%, 均显著高于对照组 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 元胡止痛口服液可显著抑制缩宫素诱导的小鼠离体子宫痉挛性收缩, 发挥解痉镇痛的作用。

关键词: 元胡止痛口服液; 缩宫素; 离体子宫; 原发性痛经

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)12-2893-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.013

Effects of Yuanhu Zhitong Oral Liquid on oxytocin-induced spasmodic contraction of the uterus isolated from mice

ZHANG Kai^{1, 2}, LI Song³, DENG Hao^{1, 2}, FAN Guan-wei^{1, 2, 4*}

(1. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin Key Laboratory of Translational Research of TCM Prescription and Syndrome, Tianjin 300193, China; 3. Graduate School, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 4. Institute of Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the effects of Yuanhu Zhitong Oral Liquid (YZOL) on oxytocin-induced spasmodic contraction of the uterus isolated from mice (UIM). **METHODS** The spasmodic models of the UIM were induced by oxytocin. Forty ICR mice were randomly divided into control group, positive drug (0.06 mg/mL Rotundine tablets) group and high, medium and low dose YZOL groups (6.05, 2.02, 0.67 mg/mL), 8 mice in each group. The PowerLab biological signal processing system was used to record the contraction curve of uterine smooth muscle. Changes in tension, contraction frequency and activity of the uterus were used as indicators to investigate the effects of YZOL on uterine contraction regarding variant doses. **RESULTS** Both high-dosed and medium-dosed YZOL significantly reduced the mean tension and the minimum tension ($P<0.05$), decreased the frequency of uterine contraction ($P<0.05$) and the activity of the isolated uterus ($P<0.01$). YZOL at high, medium and low doses contributed inhibitory rates of 28.10%, 15.79% and 9.10% on the uterus average contraction tension, and inhibiting rates of 40.65%, 31.14% and 13.20% on the uterus activity, respectively ($P<0.05$, $P<0.01$; in contrast to the control group). **CONCLUSION** YZOL significantly inhibits oxytocin-induced spasmodic

收稿日期: 2019-01-03

基金项目: 天津市杰出青年科学基金 (17JCJQC46200)

作者简介: 张 恺 (1990—), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为生物药剂学。Tel: (022) 27987796; E-mail: kennyfind@sina.com

* 通信作者: 樊官伟 (1977—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为心血管药理学。Tel: (022) 27987795; E-mail: fgw1005@hotmail.com

contractions of the UIM, thus exerts effects of spasmolysis and analgesia.

KEY WORDS: Yuanhu Zhitong Oral Liquid (YZOL); oxytocin; isolated uterus; primary dysmenorrhea

原发性痛经系指非盆腔器质性病变引起的痛经,其以患者下腹部痉挛性疼痛为主要临床表现,是妇科临床中的常见病、多发病,发病率高达50%~90%^[1-2]。中医认为原发性痛经属“经行腹痛”范畴,其病机在于冲任受损,胞脉不通,以致“不通则痛”,或胞宫失养以致“不荣则痛”^[3]。治法多以调理冲任气血为主,以温经散寒、活血理气为基本治疗原则^[4]。元胡止痛方是治疗由气滞血瘀引起的痛经的常用经方,具有理气、活血、止痛之功效。方中延胡索为君药,既可入血分而活血化瘀,又能走气分而行气止痛,为行气活血之良药;白芷为臣药,长于散风除湿、通窍镇痛,与延胡索相须为伍,可共奏活血化瘀、理气止痛之功。元胡止痛方现有6种剂型收录于2015年版《中国药典》一部中,分别为口服液、片剂、软胶囊剂、胶囊剂、颗粒剂与滴丸剂。目前关于元胡止痛片剂^[5]、胶囊剂^[6]、滴丸剂^[7-8]对于原发性痛经的治疗作用已有一些研究报道,尚缺乏元胡止痛口服液治疗原发性痛经的相关实验研究。本研究选用河南福森药业有限公司生产的元胡止痛口服液,通过建立缩宫素诱导的小鼠离体子宫收缩模型,以子宫收缩张力、收缩频率、活动力为指标,考察元胡止痛口服液对离体子宫收缩活动的影响,为其临床合理应用提供科学依据。

1 材料

1.1 试药 元胡止痛口服液的处方由醋延胡索、白芷两味中药组成,辅料为蔗糖、β-环糊精、甜菊素、纯化水,购自河南福森药业有限公司,批号18090121,实验时用蒸馏水稀释成所需浓度的溶液。罗通定片的有效成分为延胡索乙素(30 mg/片),购自山西云鹏制药有限公司,批号G180302,实验时取出片剂研磨成细粉,加入蒸馏水与0.5%羧甲基纤维素钠,配制成所需浓度的混悬液。己烯雌酚(上海源叶生物科技有限公司,批号X13M6Y1);缩宫素(大连美仑生物技术有限公司,批号N1108A);Krebs缓冲液(北京索莱宝科技有限公司,批号20180324);羧甲基纤维素钠(上海申光食用化学品有限公司,批号20180816);水合氯醛(上海源叶生物科技有限公司,批号Z23A9Y68668);生理盐水(河北天成药业股份有限公司)。

1.2 仪器 PowerLab 生物信号采集处理系统(澳

大利亚 AD Instruments 公司),该系统配备 Radnoti 组织-器官水浴装置、Radnoti 170 051 A 热循环水泵、159 901 A 张力传感器,以及 PowerLab 8/30 ML870 多通道记录主机。NewClassic MF 电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.3 动物 ICR (Institute of Cancer Research, ICR) 小鼠,雌性,体质量 18~22 g,SPF 级,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号 SCXK (京) 2017-0001。饲养于中国医学科学院放射医学研究所实验动物中心,饲养设施合格证号 SVXK 津 2009-0002。实验动物操作均遵从中国医学科学院放射医学研究所实验动物伦理委员会审定的规范要求。

2 方法

2.1 小鼠离体子宫收缩模型的制备 取健康雌性 ICR 小鼠 40 只,随机分为元胡止痛口服液高、中、低剂量组、阳性药(罗通定片)组以及对照组,每组 8 只。参考文献方法^[9-10],各组小鼠均灌胃给予己烯雌酚 2 mg/kg,1 次/d,连续 5 d,以提高子宫平滑肌的敏感性,造成人工动情。末次灌胃 2 h 后,麻醉处死,迅速剖腹取出子宫,置于盛有预冷 Krebs 缓冲液的培养皿中,剥离子宫壁上的脂肪与结缔组织,剪取长约 1 cm 子宫环,用 3 号医用外科缝合线分别扎住子宫两端,子宫颈端固定于浴槽底部 L 形针上,卵巢端连接张力传感器。浴槽中盛装 Krebs 缓冲液 15 mL,保持恒温 (35±0.5)℃,并持续通入 95% O₂+ 5% CO₂ 混合气体,速度为气泡 1~2 个/s。调节张力传感器施加前负荷 1 g,采用 PowerLab 生物信号采集处理系统记录子宫平滑肌收缩曲线,平衡 30 min,待子宫平滑肌收缩稳定,在浴槽中加入缩宫素(终浓度为 0.01 U/mL),诱发子宫平滑肌痉挛性收缩。

2.2 给药 加入缩宫素 15 min 后,元胡止痛口服液高、中、低剂量组分别在浴槽中滴加药物溶液,使浴槽内终质量浓度分别为 6.05、2.02、0.67 mg/mL;阳性药组使浴槽内延胡索乙素终质量浓度为 0.06 mg/mL;对照组加入生理盐水,各组均以等体积给药。记录给药后 10 min 内的子宫平滑肌收缩曲线。

2.3 指标检测 采用 LabChart 8 软件(澳大利亚 AD Instruments 公司)对子宫平滑肌收缩曲线进行

分析。将各组小鼠离体子宫样本加入缩宫素前10 min内的正常收缩曲线、加入缩宫素后（给药前）10 min内的痉挛性收缩曲线，以及给药后10 min内的收缩曲线导入软件计算。比较造模前后，以及给药前后子宫平滑肌的平均收缩张力、收缩张力最大值、收缩张力最小值、收缩频率（10 min内收缩次数）与子宫活动力，观察药物对缩宫素致小鼠离体子宫痉挛性收缩的影响。计算子宫平均收缩张力抑制率与子宫活动力抑制率，进行组间比较，分析不同剂量药物对子宫痉挛性收缩的影响。子宫活动力=子宫平均收缩张力×子宫收缩频率，子宫平均收缩张力抑制率=〔（给药前子宫平均收缩张力-给药后子宫平均收缩张力）/给药前子宫平均收缩张力〕×100%，子宫活动力抑制率=〔（给药前子宫活动力-给药后子宫活动力）/给药前子宫活动力〕×100%

2.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析，实验数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，运用 t 检验比较两组间差异，运用单因素方差分析比较多组间差异，偏态分布数据采用 Mann-Whitney U 检验分析，以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 元胡止痛口服液对小鼠离体子宫收缩张力的影响 与正常收缩曲线比较，加入缩宫素后，子宫平滑肌呈现强烈且持续的收缩，各组小鼠子宫平均收缩张力显著升高（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），同时子宫收缩张力最大值与最小值较造模前均有显著的提升（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），表明缩宫素引起了离体子宫的痉挛性收缩。与造模后（给药前）比较，对照组生理盐水对子宫收缩张力无显著影响，而高、中剂量元胡止痛口服液以及阳性药均可显著降低子宫平均收缩张力（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。此外元胡止痛口服液与阳性药对子宫收缩张力最大值无显著影响，但元胡止痛口服液高、中剂量组与阳性药组可使收缩张力最小值显著降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。见图1、表1。

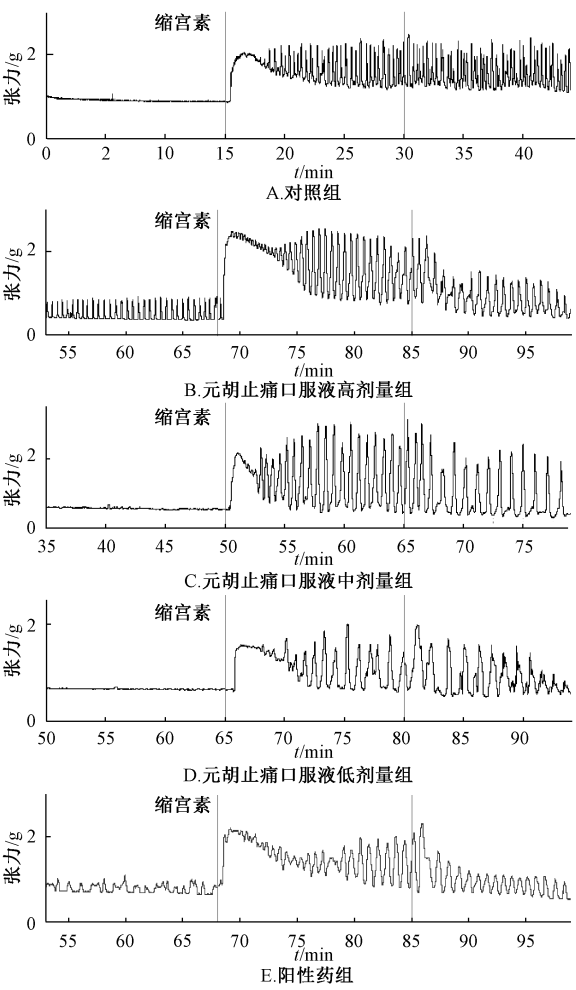


图1 小鼠离体子宫收缩曲线图
Fig.1 Contraction curves of the UIM

3.2 元胡止痛口服液对小鼠离体子宫收缩频率与活动力的影响 由表2可见，对照组小鼠离体子宫收缩频率与活动力在给药前后无显著改变；元胡止痛口服液高剂量组与阳性药组给药后小鼠子宫收缩频率显著降低（ $P<0.05$ ），同时子宫活动力显著减小（ $P<0.01$ ）；中剂量元胡止痛口服液对子宫收缩频率无显著影响，但给药后子宫活动力显著降低（ $P<0.01$ ）。

3.3 元胡止痛口服液对小鼠离体子宫平均收缩张力抑制率、活动力抑制率的影响 由图2可见，

表1 元胡止痛口服液对小鼠离体子宫收缩张力的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=8$ ）
Tab.1 Effects of YZOL on contraction tension of the UIM（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=8$ ）

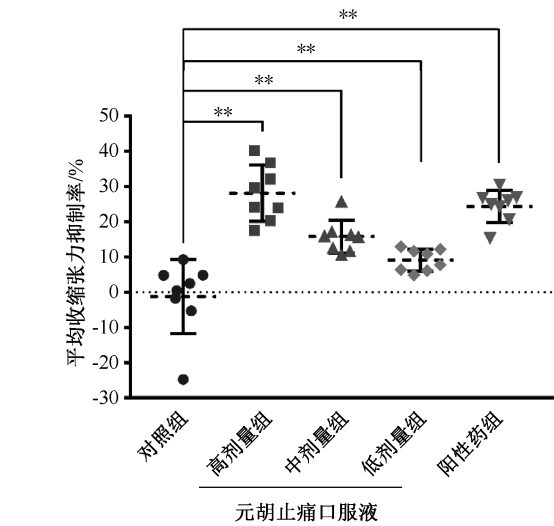
组别	平均收缩张力/g			最大张力值/g			最小张力值/g		
	正常	造模后	给药后	正常	造模后	给药后	正常	造模后	给药后
对照组	0.70±0.16	1.11±0.38 [#]	1.12±0.37	0.91±0.24	1.61±0.66 [#]	1.62±0.67	0.54±0.28	0.86±0.27 [#]	0.83±0.26
元胡止痛口服液高剂量组	0.53±0.23	1.42±0.34 ^{##}	1.00±0.22 [*]	0.77±0.44	2.25±0.85 ^{##}	2.40±0.69	0.47±0.21	0.83±0.28 [#]	0.48±0.26 ^{**}
元胡止痛口服液中剂量组	0.59±0.15	1.11±0.17 ^{##}	0.93±0.13 [*]	0.74±0.29	1.52±0.67 ^{##}	1.79±0.62	0.49±0.24	0.80±0.18 [#]	0.61±0.15 ^{**}
元胡止痛口服液低剂量组	0.67±0.22	1.11±0.25 ^{##}	1.01±0.22	0.80±0.25	1.56±0.39 ^{##}	1.53±0.43	0.50±0.32	0.83±0.23 [#]	0.76±0.22
阳性药组	0.59±0.19	1.24±0.15 ^{##}	0.94±0.13 ^{**}	0.77±0.28	1.63±0.20 ^{##}	1.89±0.32	0.53±0.16	0.89±0.20 ^{##}	0.57±0.14 ^{**}

注：与同组正常比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与同组造模后比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$

表 2 元胡止痛口服液对小鼠离体子宫收缩频率与活动力的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)
Tab. 2 Effects of YZOL on contraction frequency and activity of the UIM ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	收缩频率/[次·(10 min) ⁻¹]		活动力/[g·次·(10 min) ⁻¹]	
	造模后	给药后	造模后	给药后
对照组	22.25±7.48	22.50±8.96	27.11±15.55	27.47±16.48
元胡止痛口服液高剂量组	16.00±2.27	13.13±2.70*	22.56±6.33	13.47±5.27**
元胡止痛口服液中剂量组	15.63±3.50	12.75±3.24	17.29±4.37	11.74±2.93**
元胡止痛口服液低剂量组	16.63±3.62	15.88±4.12	18.80±6.42	16.48±6.60
阳性药组	17.25±3.01	13.75±2.76*	21.49±4.85	12.90±3.02**

注:与同组造模后比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

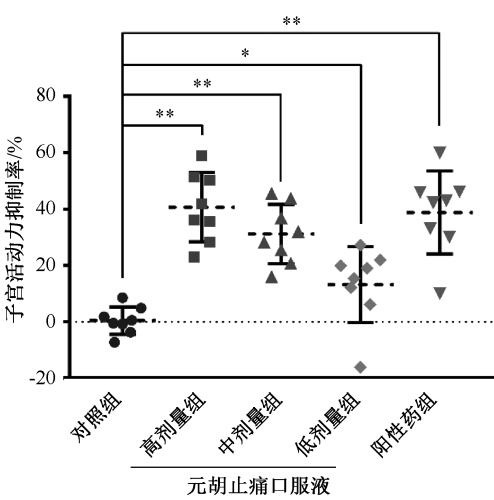


注:与对照组比较,** $P<0.01$
图 2 元胡止痛口服液对小鼠离体子宫平均收缩张力抑制率的影响 ($n=8$)
Fig. 2 Effects of YZOL on the inhibitory rate of average contractile tension of the UIM ($n=8$)

对照组小鼠子宫平均收缩张力抑制率接近 0 值,与对照组比较,元胡止痛口服液高剂量组(28.10%)、中剂量组(15.79%)、低剂量组(9.10%)与阳性药组(24.34%)的平均收缩张力抑制率均具有显著差异($P<0.01$)。由图 3 可见,元胡止痛口服液高、中、低剂量对小鼠离体子宫活动力抑制率分别为 40.65%、31.14%、13.20%,阳性药抑制率为 38.78%,显著高于对照组($P<0.05$)。上述结果表明元胡止痛口服液能显著抑制缩宫素引起的小鼠离体子宫痉挛性收缩。

4 讨论

现代医学认为子宫平滑肌痉挛性收缩,肌间血管受压血流减少,以及子宫组织缺血缺氧是原发性痛经最主要的病理改变^[11]。缩宫素在原发性痛经疾病进展中发挥重要作用,研究表明痛经患者血浆缩宫素水平约为健康对照的 2.69 倍,且缩宫素水平与疼痛程度呈显著正相关^[12]。高水平的缩宫素



注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$
图 3 元胡止痛口服液对小鼠离体子宫活动力抑制率的影响 ($n=8$)
Fig. 3 Effects of YZOL on the inhibition rate of the activity of the UIM ($n=8$)

可刺激前列腺素 E_2 与前列腺素 $F_{2\alpha}$ 的合成与释放,并能通过激活磷酸酶 C-三磷酸肌醇通路,诱导细胞内质网 Ca^{2+} 释放,进而导致子宫平滑肌产生剧烈而持久的痉挛性收缩^[13-14]。采用缩宫素建立小鼠离体子宫痉挛性收缩模型,给予缩宫素刺激后,子宫平滑肌收缩张力平均值、最大值以及最小值均有显著的提升,与谢晓芳等^[15]研究结果一致,提示离体子宫经缩宫素诱导产生了类似于原发性痛经时的强烈收缩。

进一步研究发现,元胡止痛口服液可显著抑制缩宫素所致小鼠离体子宫的强烈收缩,使子宫平滑肌收缩张力平均值与最小张力值显著减小,并使收缩频率与子宫活动力显著降低,同时药效呈现一定的剂量依赖性。现代药理研究显示,方中君药延胡索的主要活性成分为叔胺型生物碱(延胡索乙素、延胡索甲素等)与季胺型生物碱(小檗碱、巴马汀等),其中延胡索乙素的解痉镇痛作用最强,其可抑制缩宫素诱导的细胞内质网 Ca^{2+} 释放,亦可通

过影响子宫内腺素水平而缓解子宫的痉挛性收缩^[8, 16-17]。方中白芷主要含挥发油与香豆素类化学成分, 其中挥发油主要为甲基-环癸烷等饱和烃类物质; 香豆素类成分主要包括欧前胡素、异欧前胡素、氧化前胡素等^[18]。其中欧前胡素与异欧前胡素为白芷解痉镇痛作用的主要活性成分, 有研究报道^[19-20]欧前胡素对大鼠离体子宫收缩无显著作用, 但与延胡索乙素配伍后可显著增强延胡索乙素对缩宫素致子宫收缩的拮抗作用。亦有研究发现延胡索与白芷配伍可促进延胡索总生物碱成分的溶出^[21]、增加延胡索乙素的小肠吸收^[22]、提高延胡索乙素的生物利用度^[23], 发挥药物协同作用, 使镇痛效果显著增强。本研究选择罗通定片作为阳性对照药, 其有效成分即为延胡索乙素, 实验结果表明高剂量元胡止痛口服液对小鼠离体子宫平均收缩张力与活动力的抑制率均高于阳性对照药, 可在一定程度上提示成方效果优于单药。

综上所述, 元胡止痛口服液可显著抑制缩宫素所致的小鼠离体子宫痉挛性收缩, 其主要通过降低子宫平滑肌收缩张力、减小收缩频率, 进而抑制痉挛子宫活动力而发挥解痉镇痛作用。该研究为元胡止痛口服液临床用于治疗原发性痛经提供了一定的药效学依据, 其作用机制还有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] Woo H L, Ji H R, Pak Y K, *et al.* The efficacy and safety of acupuncture in women with primary dysmenorrhe: a systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97 (23): e11007.

[2] Oladosu F A, Tu F F, Hellman K M. Nonsteroidal antiinflammatory drug resistance in dysmenorrhea: epidemiology, causes, and treatment [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2018, 218 (4): 390-400.

[3] 方 玲, 朱新冰, 范同梅. 缩宫素与原发性痛经的相关性研究进展[J]. 天津中医药, 2011, 28(5): 435-437.

[4] 严 欢, 曹保利. 原发性痛经的中医研究进展[J]. 光明中医, 2016, 31(8): 1203-1205.

[5] 陈岳涛, 曹 蔚, 谢艳华, 等. 元胡止痛片及其主要成分对大鼠实验性痛经的影响[J]. 陕西中医, 2013, 34(1): 111-114.

[6] 方远书, 何忠平, 张 辉, 等. 元胡止痛胶囊的含药血清对痛经模型动物的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20

(8): 35-37.

[7] 冯 玥, 朱振娜, 胡金芳, 等. 元胡止痛滴丸对痛经模型镇痛作用的配伍合理性和比较优势研究[J]. 药物评价研究, 2017, 40(7): 917-921.

[8] 冯 玥, 安梦培, 胡金芳, 等. 元胡止痛滴丸对未孕大鼠离体子宫收缩影响研究[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(18): 3-6.

[9] 陈 奇, 张伯礼. 中药药效研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016.

[10] Liu P, Duan J, Hua Y, *et al.* Effects of Xiang-Fu-Si-Wu Decoction and its main components for dysmenorrhea on uterus contraction[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(2): 591-597.

[11] Iacovides S, Avidon I, Baker F C. What we know about primary dysmenorrhea today: a critical review[J]. *Hum Reprod Update*, 2015, 21(6): 762-778.

[12] 邓海霞, 朱南孙, 王采文, 等. 加味没竭片对原发性痛经患者经期血浆催产素的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(5): 354-356.

[13] Wray S, Shmygol A. Role of the calcium store in uterine contractility[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2007, 18(3): 315-320.

[14] Slonina D, Kowalik M K, Subocz M, *et al.* The effect of ovarian steroids on oxytocin-stimulated secretion and synthesis of prostaglandins in bovine myometrial cells[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2009, 90(3-4): 69-75.

[15] 谢晓芳, 熊 亮, 李 丹, 等. 益母草注射液有效部位对大鼠离体子宫活动的影响[J]. 中成药, 2015, 37(5): 1103-1106.

[16] 徐敬东, 王 文, 杨惠霞, 等. 延胡索对未孕大鼠离体子宫平滑肌运动的抑制作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(21): 4178-4181.

[17] 杨鑫宝, 杨秀伟, 刘建勋, 等. 延胡索物质基础研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(1): 20-27.

[18] 吴雪松, 许 浚, 张喜民, 等. 元胡止痛方的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(7): 1081-1095.

[19] 陈岳涛. 元胡止痛片治疗痛经的疗效成分及组方原理初步研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2013.

[20] 韩彦琪, 孟凡翠, 许 浚, 等. 基于网络药理学方法的元胡止痛滴丸治疗原发性痛经的配伍合理性研究[J]. 中草药, 2017, 48(3): 526-532.

[21] 黄红英, 张建华, 董钰明. 延胡索与不同药物配伍中总生物碱含量的测定[J]. 四川中医, 2007, 25(12): 46-48.

[22] 祝婧云, 廖正根, 陈绪龙, 等. 元胡白芷有效组分配伍对延胡索乙素小肠吸收的影响[J]. 江西中医学院学报, 2009, 21(3): 56-59.

[23] 邱鹏程, 张笑恺, 王四旺, 等. 元胡止痛方的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(12): 2993-2996.