

文章编号: 1674-8085(2019)04-0096-07

西归挥发油抗痛经作用研究

邱 艳, 陈 莲, 刘建霞, 郭美仙, *刘晓波

(大理大学药学与化学学院, 云南, 大理 671000)

摘要: **目的** 研究西归挥发油对痛经的影响, 初步探讨其抗痛经作用。**方法** 制备离体子宫标本, 通过 BL-420F 生物机能系统观察西归挥发油对正常离体子宫自发活动及其对缩宫素诱发子宫收缩的影响。同时建立大鼠痛经模型和小鼠寒凝血瘀型痛经模型, 观察西归挥发油的镇痛作用, 并观察子宫、卵巢出现的病理变化, 评价西归挥发油的抗痛经作用。**结果** 离体实验中, 西归挥发油各浓度均能不同程度使正常离体子宫自发性收缩和缩宫素诱发收缩的频率、振幅、峰面积降低, 持续时间升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且明显的剂量依赖性。其中西归挥发油 0.2、0.1、0.05 g/mL 剂量组抑制作用显著 ($P < 0.01$)。在体实验中, 西归挥发油高、中、低剂量组对大鼠痛经模型的子宫平滑肌痉挛有抑制作用, 可使潜伏期延长, 与模型组相比有显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且西归油中、低剂量组可显著减少扭体次数 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。但西归挥发油对小鼠血瘀型痛经作用不明显。**结论** 西归挥发油抗痛经作用, 其作用可能与调节子宫平滑肌的兴奋性有关。

关键词: 西归挥发油; 离体子宫平滑肌; 痛经

中图分类号: R965.1

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2019.04.019

ANTI-DYSMENORRHEA EFFECTS OF XIGUI ESSENTIAL OIL

QIU Yan, CHEN Lian, LIU Jian-xia, GUO Mei-xian, *LIU Xiao-bo

(College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China)

Abstract Objective: To study the anti-dysmenorrhea effects and corresponding mechanism of Xigui essential oil. **Methods:** After preparation of isolated uterus specimens *in vitro*, the effects of Xigui essential oil on the spontaneous activity of normal isolated uterus and its inhibition effects on uterine contraction induced by oxytocin were observed by BL-420F biological function system. Meanwhile, the models of dysmenorrhea in rat and cold clotting dysmenorrhea in mice were established, and the analgesic effects of Xigui essential oil were observed. The pathological changes of the uterus and ovaries in these animals were also evaluated to explore the anti-dysmenorrhea effect of essential oil. **Results:** *In vitro*, the Xigui essential oil at different concentrations reduced the spontaneous activity of normal isolated uterus, the frequency, amplitude and peak area of uterine contraction induced by oxytocin, and increased the duration ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). And these effects were significantly dose-dependent, and were highly significant at the concentrations of 0.2, 0.1, 0.05 g/mL ($P < 0.01$). *In vivo*, the high, medium and low doses of the Xigui essential oil inhibited the spasm of uterine smooth muscle in rat's dysmenorrhea model, significantly increased the latency period compared to the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The middle and low dose groups of the essential oil significantly reduced the number of writhing in

收稿日期: 2019-01-06; 修改日期: 2019-04-12

基金项目: 大理大学大学生科研基金项目(KYSX201715)

作者简介: 邱 艳(1998-), 女, 云南曲靖人, 大理大学药学与化学学院药学专业 2015 级本科生(E-mail:1277714211@qq.com);

陈 莲(1996-), 女, 云南曲靖人, 大理大学药学与化学学院药学专业 2015 级本科生(E-mail:1550102212@qq.com);

刘建霞(1996-), 女, 四川乐山人, 大理大学药学与化学学院药学专业 2015 级本科生(E-mail:1970817174@qq.com);

郭美仙(1980-), 女, 云南临沧人, 讲师, 硕士, 主要从事中药药理学研究(E-mail:Yndllyo@126.com);

*刘晓波(1972-), 男, 贵州铜仁人, 副教授, 硕士, 硕士生导师, 主要从事中药药理学研究(E-mail:yndlxb@126.com).

mice ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). However, the Xigui essential oil from had no obvious anti-dysmenorrhea effect.

Conclusion: The Xigui essential oil has anti-dysmenorrhea effect, the mechanism are related to the excitability of uterine smooth muscle.

Key words: essential oil from Xigui; Isolated uterine smooth muscle; dysmenorrhea

痛引腰骶或周期性小腹疼痛是经期或经期前后妇女常见的痛经表现, 痛经严重时会导致昏厥。根据有无盆腔器质性病变, 痛经可分为原发性痛经和继发性痛经^[1]。据报道, 约有 30%~80% 的青春女性发生痛经, 13.6% 极大地影响正常生活和工作^[2]。目前, 原发性痛经的病因尚不明确, 体内的雌激素、缩宫素、前列腺素、血管加压素等因子水平改变是现代医学普遍认为的原因。中医证型最多见的是气滞血瘀和寒湿凝滞^[3]。西医临床治疗药物有: 非甾体抗炎药、钙离子拮抗药、 β -受体激动药^[4]。但这些药物均有不同程度的不良反应和临床应用局限性, 且有文献报道常规治疗约有 20%~25% 的患者无效^[5]。中医治疗痛经不仅方法多样且副作用少, 有明显的优势, 因此研制预防和治疗痛经不同证型的系列中药显得意义重大。

西归, 为伞形科凹乳芹属植物西藏凹乳芹 (*Vicatiathibetica de boiss*) 的根^[6]。它是典型的白族药材, 民间用于胃寒痛、肾虚腰痛、痰涎、风湿等疾病的治疗, 也可作为滋补菜蔬食用, 其风味独特^[7]。目前研究表明西归提取物具有抗疲劳^[8-9]、抗氧化^[10]、调节免疫^[11-12]、助消化^[13]等作用。西归在治疗痛经方面也有潜在价值^[14], 但西归挥发油抗痛经作用尚不清楚。本研究通过离体子宫实验、在体动物实验, 探索西归挥发油抗痛经作用, 为研制具有抗痛经作用的中药提供基础研究资料。

1 材料

1.1 实验动物

健康雌性未妊娠 KM 小鼠, 体重 18~22 g; 健康雌性未妊娠 SD 大鼠, 体重 180~220 g, 均由湖南斯莱达景实验动物有限公司提供, 生产许可证均为 SYXK(湘) 2016-0002。

1.2 实验药物

西归, 生药采自云南省大理州鹤庆县马厂乡, 由大理大学药学与化学学院生药教研室杨月娥高

级实验师鉴定为伞形科凹乳芹属植物西藏凹乳芹的干燥根; 西归挥发油(自制); 石油醚(购于云南省大理州博源化工); 痛经宝颗粒(仲景宛西制药股份有限公司, 批号: 161202); 己烯雌酚注射液 2 mg/mL(上海第九制药厂, 批号 960405); 缩宫素注射液 10 U/mL(上海禾丰制药有限公司, 批号: 09170102); 苯甲酸雌二醇注射液 4 mg/2mL(吉林省华牧动物保健品有限公司, 批号: 170213); 吐温-80(上海大众制药厂, 批号: 910418)。

1.3 仪器

旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂, RE52-05); 张力换能器(北京航天药理学工程研究所); 恒温水浴锅(上海市实验仪器厂); BL-420F 生物机能实验系统(上海益联科教设备有限公司); HW-400 恒温平滑肌槽(成都泰盟科技有限公司); 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司, AE200)。

2 方法

2.1 西归挥发油的提取(回流提取法)

将西归研碎, 取粉末 300 g, 置于 5 L 圆底烧瓶中, 按 1:5 比例加入适量的石油醚(1500 mL)浸泡过夜, 回流提取 3 h(温度 55~60 °C), 得到黄褐色透明油状混合物。将馏出液至旋转蒸发仪, 回收石油醚(温度 30~60 °C), 当馏到少量时, 放到水浴锅(温度 50~55 °C)让石油醚挥干, 得到无石油醚味只具有浓郁中药香味的黑褐色油状物即为西归挥发油, 收集挥发油密封保存并称重, 得 1.56 g 挥发油, 计算其产率为: 0.52 g/100 g。将提取好的西归挥发油用 1%吐温-80 助溶, 配制成 0.2、0.1、0.05、0.0256、0.0128、0.0064 g/mL 6 个浓度的溶液。

2.2 离体痛经模型的制备^[14-15]

2.2.1 正常离体子宫平滑肌标本的制作

在实验前 45 h, 每只大鼠肌肉注射己烯雌酚 0.5 mL, 使动物的子宫受体密度增加, 提高子宫对药物的敏感性。实验时处死大鼠, 迅速剖取子宫, 去除

子宫壁上的结缔组织和脂肪,将子宫迅速放入装有洛氏液的培养皿中。用手术剪剪成 2 cm 制成子宫标本。将制备好的子宫标本,一端穿线固定在通气钩上,另一端用蛙心夹夹住,并连接张力换能器及 BL-420F 系统,置于盛有 19 mL、32 °C 洛氏液的恒温平滑肌槽中,向肌槽中通入连续稳定的气泡(1~2 气泡/s),给予 2 g 负荷张力,待子宫平滑肌平衡后,记录给药前 10 min 内正常离体子宫平滑肌自发收缩的收缩曲线;分别向肌槽中加入 32 °C 的 1%吐温-80 溶液 1 mL,记录 10 min 内正常离体子宫平滑肌在溶剂中的自发收缩的收缩曲线;之后分别向给药筒中加入 32 °C 的 6 个不同浓度西归挥发油溶液,使之在肌槽中终质量浓度分别为 0.2、0.1、0.05、0.0256、0.0128、0.0064 g/mL,记录给药后 10 min 离体子宫平滑肌的运动曲线。统计分析子宫平滑肌收缩曲线的频率、振幅、峰面积、持续时间。

2.2.2 缩宫素诱导离体痛经模型的制备

按上述方法,将制备好的子宫标本分别置于盛有 19 mL 32 °C 洛氏液恒温平滑肌槽中,向每个肌槽中通入连续稳定的气泡(1~2 气泡/s),给予 2 g 负荷张力。待子宫平滑肌的自发收缩平稳后,记录给药前 10 min 正常离体子宫平滑肌的收缩曲线;向肌槽中加 32 °C、0.1 U/mL 的缩宫素 100 μL,记录加缩宫素后 10 min 子宫平滑肌的收缩曲线;分别向给药筒中加入 32 °C 3 个不同浓度的西归挥发油溶液,使之在肌槽中终质量浓度分别为 0.2、0.1、0.05 g/mL,记录给药后 10 min 内离体子宫平滑肌的收缩曲线。统计分析离体子宫平滑肌收缩曲线的频率、振幅、峰面积、持续时间。

2.3 在体痛经模型的制备^[16-17]

2.3.1 苯甲酸雌二醇与缩宫素联用制备大鼠痛经模型

取体重 180~220 g 的健康雌性未妊娠 SD 大鼠 60 只,称重后随机分为 6 组,每组 10 只;分别为正常对照组,模型对照组,痛经宝颗粒组(2.0 g/kg),西归挥发油高、中、低(3.0、1.5、0.75 g/kg)剂量组。除正常对照组外,其余各组大鼠每天皮下注射苯甲酸雌二醇注射液 1 次,连续注射 10 d,第 1 d、第 10 d 每只皮下给药剂量为 2.5 mg/kg,余日每只剂量均为 1.25 mg/kg。从注射苯甲酸雌二醇的第 8 d 起,各组分别灌胃给予相应药物,每天两次连续给

药 3 d。末次注射苯甲酸雌二醇间隔 40 h,且末次灌胃给药 1 h 后,各组大鼠均按剂量 10 U/kg 腹腔注入缩宫素,制成大鼠痛经模型。

观察各组大鼠的毛色,毛发光泽度,精神状态,活跃性,对外界环境刺激的反应记下注射缩宫素后 30 min 内出现扭体反应的潜伏期(注:不发生扭体反应的潜伏期按 30 min 计)和扭体反应(腹部内凹、伸展后肢、臀部抬高)次数^[18-19],并计算扭体发生率和抑制率。

扭体发生率(%)=发生扭体动物数/总实验动物数×100%

抑制率(%)=(模型组平均扭体次数-给药组平均扭体次数)/模型组扭体次数均值×100%^[20]。

观察完扭体反应后,立即取出各组大鼠的子宫及卵巢,观察子宫体积大小、子宫壁厚薄程度、卵巢体积大小的变化、子宫质量的变化。

2.3.2 苯甲酸雌二醇、冰水浴、缩宫素联用制备小鼠寒凝血瘀型痛经模型

取体重 18~22 g 的健康雌性未妊娠 KM 小鼠 60 只,称重后随机分为 6 组,每组 10 只;分别为正常对照组,模型对照组,痛经宝颗粒组(0.1 g/kg),西挥发油高、中、低(0.15、0.075、0.0375 g/kg)剂量组。除正常对照组外,其余各组小鼠每天皮下注射苯甲酸雌二醇注射液 1 次,剂量为 10 mg/kg,连续注射 10 d,同时每天将小鼠置于冰水浴中 10~30 min 连续 10 d;从注射苯甲酸雌二醇的第 8 d 起,各组分别灌胃给予相应药物,连续给药 3 d。末次注射苯甲酸雌二醇间隔 40 h,且末次灌胃给药 1 h 后,各组小鼠均按剂量 10 U/kg 腹腔注入缩宫素,制备成小鼠寒凝血瘀型痛经模型。

观察各组小鼠的状态,记下注射缩宫素后 30 min 内出现扭体反应的潜伏期(注:不发生扭体反应的潜伏期按 30 min 计)和扭体反应(腹部内凹、伸展后肢、臀部抬高)次数,计算扭体发生率和扭体抑制率。观察完扭体反应后,立即取出各组小鼠的子宫及卵巢,观察子宫体积大小、子宫壁厚薄程度、卵巢体积大小的变化、子宫质量的变化。

2.4 统计分析

所有数据均以平均值±标准差表示,并应用 SPSS17.0 统计软件,采用单因素方差,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 西归挥发油对大鼠离体子宫的影响

3.1.1 对自发性收缩的影响

与正常组相比,吐温-80 对子宫平滑肌没有抑制作用,故用吐温-80 作溶剂不影响实验结果。与正常组、溶剂组比较,西归挥发油溶液组的收缩

频率、振幅降低、持续时间增加,具有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 0.0128、0.0064 g/mL 的西归挥发油溶液也能降低收缩曲线的峰面积,但不具有统计学意义。说明西归挥发油各浓度均能不同程度地抑制大鼠离体子宫的收缩,且 0.2、0.1、0.05、0.0256 g/mL 的西归挥发油溶液作用较明显,结果见表 1。

表 1 西归挥发油对大鼠正常离体子宫自发性收缩的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of volatile oil from Xigui on spontaneous contraction of normal isolated uterus in rats

分组	剂量 (g/mL)	收缩曲线			
		频率(次/10min)	振幅(mm)	面积(g.s)	持续时间(s)
正常组	-	7.08 ± 0.030	6.20 ± 0.22	1411.84 ± 63.32	182.89 ± 7.12
1%吐温-80 组	-	6.85 ± 0.35	6.04 ± 0.65	1389.71 ± 42.85	183.96 ± 6.30
	0.0064	6.65 ± 0.38 ^{**▲}	5.35 ± 0.79 [*]	1343.75 ± 70.67	188.79 ± 2.81
	0.0128	6.62 ± 0.45 ^{**▲▲}	5.15 ± 0.83 [*]	1330.32 ± 58.05	193.19 ± 3.40 ^{**▲▲}
西归挥发油	0.0256	4.61 ± 0.45 ^{**▲▲}	3.09 ± 0.44 ^{**▲▲}	1178.74 ± 106.91 ^{**▲▲}	195.53 ± 4.46 ^{**▲▲}
	0.05	4.30 ± 0.50 ^{**▲▲}	2.14 ± 0.66 ^{**▲▲}	1149.32 ± 127.86 ^{**▲▲}	200.94 ± 6.08 ^{**▲▲}
	0.1	4.06 ± 0.29 ^{**▲▲}	2.06 ± 0.36 ^{**▲▲}	1065.50 ± 61.85 ^{**▲▲}	205.16 ± 4.28 ^{**▲▲}
	0.2	6.65 ± 0.38 ^{**▲▲}	2.81 ± 0.52 ^{**▲▲}	1172.59 ± 141.67 ^{**▲▲}	196.08 ± 4.15 ^{**▲▲}

注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与溶剂组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

3.1.2 对缩宫素诱发痉挛收缩的影响

与正常组、吐温-80组相比,缩宫素组(模型组)子宫平滑肌收缩频率、振幅、面积升高,持续时间明显降低 ($P < 0.01$),说明造模成功。与模型组相比,西归挥发油0.2、0.1、0.05 g/mL组子宫平滑肌收缩频率、振幅、面积显著降低,持续时间明显升高,

具有统计学意义 ($P < 0.01$)。与20%痛经宝组比较,差异无显著性。西归挥发油能显著抑制缩宫素诱发的大鼠离体子宫痉挛性收缩,作用明显,故以西归挥发油0.2、0.1、0.05 g/mL作为高、中、低剂量组,结果见表2。西归挥发油0.2、0.1、0.05 g/mL,痛经宝对收缩波均有较好的抑制程度,结果见图1-4。

表 2 西归挥发油对缩宫素诱发离体子宫平滑肌痉挛收缩的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of volatile oil from Xigui on the contraction of uterine smooth muscle tendon induced by oxytocin

分组	剂量 (g/mL)	收缩曲线			
		频率(次/10min)	振幅(mm)	面积(g.s)	持续时间(s)
正常组	-	7.05 ± 0.33 ^{▲▲}	5.79 ± 0.43 ^{▲▲}	1084.41 ± 37.63 ^{▲▲}	197.96 ± 6.15 ^{▲▲}
1%吐温-80 组	-	6.84 ± 0.52 ^{▲▲}	5.48 ± 0.53 ^{▲▲}	1042.21 ± 54.12 ^{▲▲}	200.18 ± 6.44 ^{▲▲}
缩宫素组	-	10.39 ± 0.70 ^{**}	8.65 ± 0.97 ^{**}	1537.15 ± 126.45 ^{**}	164.77 ± 8.41 ^{**}
	0.05	2.29 ± 0.56 ^{**▲▲}	2.18 ± 0.81 ^{**▲▲}	828.06 ± 81.48 ^{**▲▲}	258.63 ± 25.62 ^{**▲▲}
西归挥发油	0.1	1.41 ± 0.41 ^{**▲▲}	1.63 ± 0.63 ^{**▲▲}	796.31 ± 124.57 ^{**▲▲}	293.58 ± 17.01 ^{**▲▲}
	0.2	1.86 ± 0.20 ^{**▲▲}	1.75 ± 0.33 ^{**▲▲}	816.63 ± 55.73 ^{**▲▲}	250.53 ± 29.61 ^{**▲▲}
痛经宝组	0.2	2.99 ± 0.53 ^{**▲▲}	2.58 ± 0.42 ^{**▲▲}	918.83 ± 62.20 ^{**▲▲}	202.57 ± 11.78 ^{▲▲}

注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与缩宫素组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

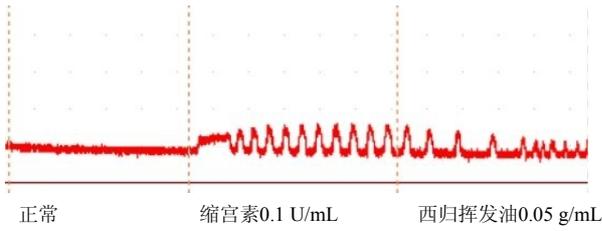


图1 0.05 g/mL西归挥发油对缩宫素所致收缩波的影响
Fig.1 Effect of 0.05 g/mL Xigui volatile oil on contraction wave induced by oxytocin

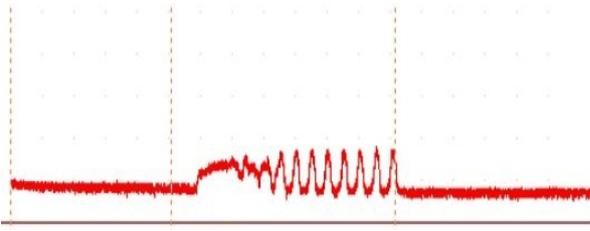


图2 0.1 g/mL西归挥发油对缩宫素所致收缩波的影响
Fig.2 Effect of 0.1 g/mL Xigui volatile oil on contraction wave induced by oxytocin

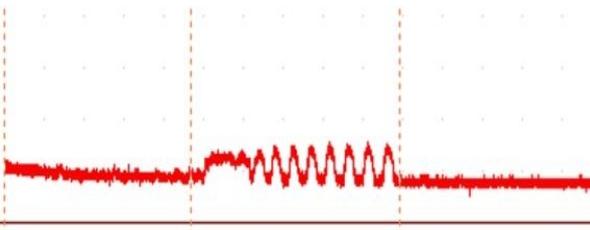


图3 0.2 g/mL西归挥发油对缩宫素所致收缩波的影响
Fig.3 Effect of 0.2 g/mL Xigui volatile oil on contraction wave induced by oxytocin

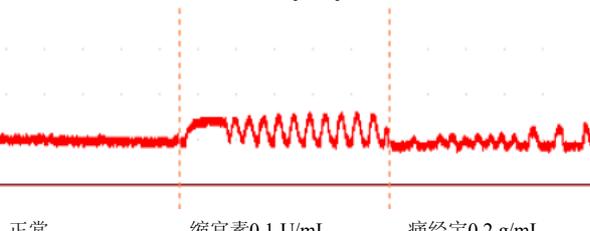


图4 0.2 g/mL痛经宝对缩宫素所致收缩波的影响
Fig.4 Effect of 0.2 g/mL Tongjingbao on contraction wave caused by oxytocin

表3 西归挥发油对缩宫素诱发大鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of volatile oil from Xigui on writhing response induced by oxytocin in rats

分组	剂量 (g/kg)	扭体反应			
		扭体潜伏期(min)	30 min 内扭体的次数(次)	扭体发生率(%)	扭体抑制率(%)
正常组	-	30.00 ± 0.00 ^{▲▲}	0.00 ± 0.00 ^{▲▲}	0	-
模型组	-	5.91 ± 4.19 ^{**}	25.75 ± 10.12 ^{**}	100	-
西归挥发油	0.75	11.31 ± 3.45 ^{***▲}	15.50 ± 7.95 ^{***▲▲}	100	39.81
	1.5	12.82 ± 5.66 ^{***▲▲}	13.03 ± 5.07 ^{***▲▲}	100	48.35
痛经宝组	3.0	10.65 ± 4.25 ^{***▲}	18.63 ± 8.48 ^{**}	100	27.65
	2.0	11.35 ± 3.94 ^{***▲▲}	16.88 ± 7.59 ^{***▲}	100	42.21

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，[▲] $P < 0.05$ ，^{▲▲} $P < 0.01$

3.2 西归挥发油对在体痛经模型的影响

3.2.1 动物活动情况的比较

空白组大小鼠毛色又白又有光泽、双目有神、精神充沛、活泼、反应灵敏、饮食及两便正常。

造模大鼠毛色粗糙、目光无神、反应迟钝、安静、少动、喜蜷缩、喜扎堆、大小便正常、给予适当刺激反应低下；连续灌胃给药3天高、中、低剂量的西归挥发油和痛经宝均不同程度改善了造模大鼠出现的上述症状。

造模小鼠在冰水刺激后先多动、烦躁、挣扎，随后出现寒战、安静、少动、喜蜷缩、喜扎堆、毛色无光泽、目光无神、目欲毕、朦胧欲睡、行动迟缓、爪尾部色紫暗、耳色暗红、呼吸微弱、饮水量少、小便色清、大便湿烂等寒证的症状，对外界刺激反应低下。连续灌胃给药3天高、中、低剂量的西归挥发油和痛经宝后小鼠上述症状都有不同程度的改善。

3.2.2 对痛经大鼠扭体反应的影响

发生扭体反应的大鼠表现为腹部（子宫处）内凹，躯干与后肢伸展，臀部抬高并与一侧肢体内旋，即注射缩宫素导致子宫平滑肌痉挛性收缩。与正常组相比，模型组大鼠的扭体潜伏期明显缩短、扭体次数显著增加($P < 0.01$)，说明痛经模型制备成功。与模型组比较，西归挥发油3个剂量组都能显著延长大鼠30 min内平均潜伏期($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。西归挥发油中、低剂量组可显著减少扭体次数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，西归挥发油高剂量组也能减少大鼠的扭体次数，但不具有统计学意义。与痛经宝组比较，差异无显著性。西归挥发油能对缩宫素诱发的子宫痉挛性收缩所致扭体反应有较好的对抗作用，说明西归挥发油有一定的抗痛经作用，结果见表3。

3.2.3 对寒凝血瘀型痛经小鼠扭体反应的影响

注射缩宫素后的小鼠表现为腹部(子宫处)内凹躯干与后肢伸展,臀部抬高并与一侧肢体内旋,即注射缩宫素导致子宫平滑肌痉挛性收缩。与正常组相比,模型组小鼠的扭体潜伏期明显缩短、扭体次数显著增加($P < 0.01$),说明寒凝血瘀型痛经模

型制备成功。与模型组比较,西归挥发油3个剂量组都能延长小鼠30 min内平均潜伏期、减少扭体次数,但无显著差异。与痛经宝组比较,差异无显著性。说明西归挥发油能对寒凝血瘀型痛经小鼠扭体反应有一定的对抗作用,但西归挥发油抗寒凝血瘀型痛经作用不是很明显,结果见表4。

表4 西归挥发油对缩宫素诱发小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 4 Effect of volatile oil from Xigui on writhing response induced by oxytocin

分组	剂量 (g/kg)	扭体反应			
		扭体潜伏期(min)	30 min 内扭体的次数(次)	扭体发生率(%)	扭体抑制率(%)
正常组	-	30.00 ± 0.00 ^{▲▲}	0.00 ± 0.00 ^{▲▲}	0	-
模型组	-	1.56 ± 2.31 ^{**}	36.50 ± 14.46 ^{**}	100	-
	0.0375	3.07 ± 1.71 ^{**}	28.25 ± 13.84 ^{**}	100	22.60
西归挥发油	0.075	3.45 ± 2.97 ^{**}	26.88 ± 13.70 ^{**}	100	26.36
	0.15	3.55 ± 2.39 ^{**}	25.38 ± 15.45 ^{**}	100	30.47
痛经宝组	0.1	4.04 ± 2.36 ^{**▲}	22.13 ± 16.46 ^{**}	100	39.10

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$

3.2.4 子宫及卵巢的变化

通过对各组子宫及卵巢的观察发现。无论是大鼠还是小鼠,与正常组相比,模型组的子宫体积显著变大质量增加,子宫壁变薄,内膜上腺体增多,卵巢体积变大,模型组出现了明显的病理变化,说明痛经造模成功;经灌胃给药的西归挥发油组以及痛经宝颗粒组子宫体积和质量变大不明显,子宫壁稍变薄,卵巢体积没有明显变大,结果见表5、表6。西归挥发油组以及痛经宝颗粒组的子宫和卵巢没有出现明显的病理变化,说明西归挥发油以及痛经宝颗粒对痛经所致的病变有一定的治疗和改善作用。

表5 西归挥发油对痛经大鼠子宫变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of volatile oil from Xigui on uterine changes in dysmenorrhea rats

分组	剂量 (g/kg)	大鼠	
		子宫体重(g)	动物体重(g)
正常组	-	0.4875 ± 0.1002 ^{▲▲}	204.75 ± 7.81
模型组	-	3.5038 ± 1.6763 ^{★★}	201.63 ± 5.26
	0.75	1.8236 ± 0.4622 ^{★★▲▲}	207.75 ± 6.76
西归挥发油	1.5	1.0187 ± 0.0883 ^{▲▲}	207.25 ± 7.62
	3	1.0407 ± 0.1771 ^{▲▲}	205.75 ± 7.01
痛经宝组	2	0.7735 ± 0.1333 ^{▲▲}	208.38 ± 6.32

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$

表6 西归挥发油对痛经小鼠子宫变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 6 Effect of volatile oil from Xigui on uterine changes in dysmenorrhea mice

分组	剂量 (g/kg)	小鼠	
		子宫体重(g)	动物体重(g)
正常组	-	0.0509 ± 0.0180 ^{▲▲}	19.68 ± 1.93
模型组	-	0.1260 ± 0.0420 ^{**}	19.36 ± 1.88
	0.0375	0.0966 ± 0.0169 ^{**▲}	18.93 ± 2.50
西归挥发油	0.075	0.0864 ± 0.0147 ^{**▲▲}	19.16 ± 0.91
	0.15	0.0843 ± 0.0103 ^{**▲▲}	19.61 ± 1.14
痛经宝组	0.1	0.0746 ± 0.0181 ^{**▲}	19.75 ± 1.25

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$

4 讨论

痛经是妇科临床上的常见病、多发病,青年妇女尤为多见,子宫平滑肌痉挛、子宫炎症和子宫供血不足与痛经密切相关^[21]。近年来原发性痛经由于其发病率较高而备受关注。本实验结果表明,西归挥发油无论对正常未孕离体子宫平滑肌的自发性收缩,还是对经缩宫素处理的离体子宫平滑肌强直收缩,都可显著降低收缩曲线的频率、振幅、峰面积,并增加持续时间,说明西归挥发油在抗子宫平

滑肌痉挛方面有良好的治疗作用,并呈剂量依赖性。本实验针对该病主症之“疼痛”、主要病机之“瘀”、主要病因之“气质寒凝”而设大鼠痛经模型和小鼠寒凝血瘀型痛经模型。实验结果显示,西归挥发油能明显减少大鼠痛经模型扭体次数并延长潜伏期,对寒凝血瘀型小鼠的扭体反应也有一定的抑制作用,但作用不明显。

我们同期的研究结果表明,西归挥发油中含有: Z-双氢蒿苯内酯、3-丁烯基-2-苯并(C)呋喃酮、E-双氢蒿苯内酯、苯氧基乙酸 2-丙烯酯等成分,其中 Z-双氢蒿苯内酯的含量高达 70.552%。研究表明 Z-双氢蒿苯内酯对不同平滑肌具有明显的调节作用、镇痛作用^[22],因此推测西归挥发油抗痛经作用也可能与 Z-双氢蒿苯内酯有关系。但目前我们还未对西归挥发油中的这些化学成分进行单独的抗痛经作用测试,这将是下一步研究的目标。

综上所述,研究结果提示,西归挥发油具有一定的抗痛经作用,其作用机制可能与抑制子宫痉挛和调节子宫平滑肌使其兴奋作用减弱相关;其抗痛经的主要成分可能是 Z-双氢蒿苯内酯。本研究为将西归开发成有抗痛经作用的新药提供了药理学依据。

参考文献:

- [1] Stella I, Ingrid A, Baker F C. What we know about primary dysmenorrhea today: a critical review[J]. Hum Reprod Update, 2015, 21(6): 762-778.
- [2] 王艳英. 痛经临床特点调查[D]. 北京:中国中医科学院, 2015.
- [3] 于菲菲. 原发性痛经易感体质与证型相关性的临床研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2010.
- [4] 孙玉阳,纪宏宇,陈博,等. 原发性痛经的发病机制及中医药治疗的研究进展[J]. 中国药师, 2017, 20(1): 144-147.
- [5] Mirabi P, Alamolhoda S H, Esmailzadeh S, et al. Effect of Medicinal Herbs on Primary Dysmenorrhoea-a Systematic Review[J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research Ijpr, 2014, 13(3): 757-767.
- [6] 周浓,段意梅,陈强,等. 白族药西归的生药学鉴定[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(8): 2307-2307.
- [7] 黄斌,孙艳琳,张朴芬,等. 西归药理作用的初步实验研究[J]. 大理学院学报, 2006, 5(6): 78-80.
- [8] 雷婷,尹兆娇,赵旭,等. 西归醇提物抗疲劳机理初探[J]. 中国药业, 2008, 17(3): 6-7.
- [9] 董寿堂,王成军,王雨辰,等. 西归抗疲劳活性组分的筛选研究[J]. 中国药房, 2015, 6(1): 43-45.
- [10] 周萍,王丽萍,邓励,等. 西归黄酮体外抗氧化活性的研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(3): 1359-1360.
- [11] 吕鸿,郭美仙,杨巧玲,等. 西归对小鼠免疫与造血功能的影响[J]. 大理学院学报, 2017, 16(2): 6-10.
- [12] 李禄鹏,郭美仙,杨娇,等. 白族药西归对环磷酰胺所致小鼠免疫功能低下的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(3): 244-247.
- [13] 张龙,尹兴章,叶妙萍,等. 西归对动物消化道功能的影响[J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(2): 48-49.
- [14] 董寿堂,王成军,郭品,等. 西归乙醇提取物抗痛经作用的研究[J]. 中国药物警戒, 2011, 8(5): 263-266.
- [15] 闫升,王嘉陵. 当归油对大鼠离体子宫平滑肌收缩功能的影响[J]. 中草药, 2000, 31(8): 604-606.
- [16] 苗明三,王婷,白明,等. 痛经动物模型制备规范(草案)[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, (7): 13-24.
- [17] 叶其正,沈明勤,罗宇慧,等. 痛经宝胶囊对实验性痛经模型的镇痛作用及其机理初探[J]. 江苏中医药, 2009, 41(6): 67-68.
- [18] 钟卫华,罗辉,苏丹丹,等. 爵床煎剂对小鼠镇痛抗炎作用初探[J]. 井冈山大学学报:自然科学版, 2015, 36(4): 70-74.
- [19] 郑丽娟,余晓珊,梁生林,等. 厚朴皮、叶、花水提取物镇痛作用的比较研究[J]. 井冈山大学学报:自然科学版, 2015, 36(2): 74-77.
- [20] 钟卫华,罗辉,苏丹丹,等. 陆英不同部位水提液抗炎镇痛作用的比较研究[J]. 井冈山大学学报:自然科学版, 2018, 39(3): 88-92.
- [21] Wong L P. Premenstrual syndrome and dysmenorrhea: urban-rural and multiethnic differences in perception, impacts, and treatment seeking[J]. Journal of Pediatric & Adolescent Gynecology, 2011, 24(5): 272-277.
- [22] 唐静,陈雏,余彦,等. 顺式藜苯内酯在大鼠体内外的代谢及其代谢物的药理活性研究[J]. 四川大学学报:医学版, 2009, 40(5): 839-842.