

宁泌泰胶囊对大鼠大肠杆菌感染性盆腔炎的改善作用研究

刘 薇¹, 黄精俸^{2,3}, 江振洲², 董大伦⁴, 王 涛^{2*}

1. 南京市职业病防治院, 江苏 南京 210042

2. 江苏省新药筛选重点实验室, 江苏 南京 210009

3. 南京绿叶思科药业有限公司, 江苏 南京 210061

4. 贵阳新天药业股份有限公司, 贵州 贵阳 520112

摘要: **目的** 探究宁泌泰胶囊对盆腔炎病症的改善作用。**方法** 选用大鼠大肠杆菌感染性盆腔炎模型, 苯酚胶浆引起大鼠化学性盆腔炎模型, 用妇科千金片 (1.0 g/kg) 及宁泌泰胶囊高、中、低剂量 (2.0、1.0、0.5 g/kg) 连续 ig 7 d, 每天 2 次。以动物体质量变化、白细胞计数、病理学检查评价宁泌泰胶囊对盆腔炎的治疗作用。**结果** 宁泌泰胶囊 3 个剂量组对大肠杆菌引起的感染性盆腔炎大鼠子宫肉眼可见的炎性症状有一定的改善作用, 可不同程度地抑制炎症引起的血中白细胞的数量升高, 并且能改善炎症引起的体质量下降。宁泌泰胶囊高、中 (2.0、1.0 g/kg) 剂量组可显著减轻子宫的质量, 提示抑制炎症引起的肿胀。子宫组织病理学检查结果表明, 宁泌泰胶囊可改善大肠杆菌感染引起的大鼠子宫组织学病变, 且有一定的剂量相关性。对于苯酚胶浆引起的大鼠盆腔炎, 宁泌泰胶囊 3 个剂量组均能改善炎症引起的体质量下降。宁泌泰胶囊高剂量组 (2.0 g/kg) 可显著抑制炎症引起的血中白细胞的数量升高, 并且可显著减轻子宫的质量, 提示抑制炎症引起的肿胀。子宫组织病理学检查结果表明, 宁泌泰胶囊可改善苯酚胶浆引起的大鼠子宫组织学病变, 且有一定的剂量相关性。**结论** 宁泌泰胶囊对于化学性和细菌性等多种因素引起的盆腔炎动物模型的相关症状具有明显的改善作用。

关键词: 宁泌泰; 盆腔炎; 感染

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2015) 06-0612-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2015.06.006

Experiment research on therapeutic effect of Ningmitai Capsule for pelvic inflammation

LIU Wei¹, HUANG Jing-fen^{2,3}, JIANG Zhen-zhou², DONG Da-lun⁴, WANG Tao²

1. Nanjing Prevention and Treatment Center for Occupational Diseases, Nanjing 210003, China

2. Jiangsu Provincial Center of Drug Screening, Nanjing 210009, China

3. Nanjing Lyve Pharmaceutical Company, Nanjing 210061, China

4. Guiyang XinTian Pharmaceutical Stock Limited Company, Guiyang 520112, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of Ningmitai Capsule for pelvic inflammation. **Methods** Using pelvic inflammation model induced by coliform and phenol in rats, the model mice were ig administrated with Qianjin Formula (1 g/kg) and Ningmitai Capsule (2, 1, and 0.5 g/kg). All rats and rabbits were fed for 7 d. The body weight, amount of WBC, histological lesions were determined to evaluate the therapeutic effect of Ningmitai Capsule for uterus. **Results** Pelvic inflammation model induced by coliform in rats could significantly reduce the number of leukocytes in blood and improve weight loss caused by inflammation. The histopathology results showed that Ningmitai Capsule could improve histological lesions of pelvic inflammation. There are certain contacts of efficacy and dose. In addition, pelvic inflammation induced by phenol in rats, Ningmitai Capsule (2.0 g/kg) can significantly reduce the number of leukocytes in the blood. The histopathology results showed that Ningmitai Capsule could improve histological lesions in vagin. **Conclusion** Ningmitai Capsules have significant effects on symptoms of pelvic inflammation induced by a variety of bacterial and chemical factors.

Key words: Ningmitai; pelvic inflammation; infection

收稿日期: 2015-07-07

作者简介: 刘 薇, 研究方向为药理毒理。E-mail: xudengqiu@163.com

*通信作者 王 涛 E-mail: wangtao1331@126.com

宁泌泰胶囊是源于民间验方,由三颗针、四季红、芙蓉叶、白茅根、连翘、仙鹤草、大风藤等中草药运用现代制药技术精制而成的纯天然中药胶囊剂,具有清热解毒、凉血止血、利湿通淋、止带等功效^[1]。宁泌泰胶囊1996年上市以来,在10多年的临床使用中,治疗男性前列腺炎疗效得到了患者的认可。此外,早期临床观察显示^[2],宁泌泰胶囊对急性盆腔炎、宫颈炎、细菌性阴道炎、衣原体性阴道炎和急性阴道炎均有很好的治疗效果,总有效率达90.10%^[3-5]。因此,本实验希望通过动物实验探究宁泌泰胶囊治疗盆腔炎的药效,为临床使用宁泌泰胶囊治疗盆腔炎提供实验依据,为盆腔炎的治疗提供一种新的药物选择。

1 材料与方法

1.1 动物及试验菌株

SD大鼠,150~180 g,雌性,120只,清洁级,购自扬州大学比较医学中心,动物合格证号:SCXK(苏)2007-0001。大肠杆菌(ATCC 25922),由中国药科大学微生物教研室余江河教授提供。

1.2 受试药物

受试样品为宁泌泰胶囊,深棕色粉末内容物,由贵阳新天药业股份有限公司提供,批号070809。每克原料药相当于原药材3.997 g;阳性药为妇科千金片,0.32 g/片,株洲千金药业股份有限公司,批号200707117。

1.3 试剂

LB培养基:按Trypton 10 g、Yeast extraction 5 g、NaCl 10 g、蒸馏水1 000 mL的比例配制(pH 7.0~7.2),高压灭菌后供大肠杆菌增菌用;苯酚,500 g/瓶,上海凌峰化学试剂有限公司,批号050202。

1.4 试验菌液及苯酚胶浆的制备

取4℃保存的预培养大肠杆菌菌液0.6 mL,接种于6 mL的LB培养基中,置37℃摇床(280 r/min)培养16 h。取出后用0.9%氯化钠注射液稀释浓度至0.5号麦氏比浊管浓度,此时细菌数即为 1.5×10^8 CFU/mL,30 min内供动物子宫注射用。取苯酚5 mL,西黄芪胶1 g,甘油4 mL,加蒸馏水至20 mL,配成25%的苯酚胶浆备用。

1.5 主要仪器

精密电子天平(0.1 mg~10 g,德国赛多利斯);台式离心机(上海安亭科学仪器厂);30 L不锈钢座式灭菌器(上海申安医疗器械厂);CKX31显微镜(日本奥林巴斯)。

1.6 分组及给药

取SD大鼠120只,适应性饲养7 d,各取60只建立大肠杆菌感染性盆腔炎模型和苯酚胶浆引起化学性盆腔炎模型。分别按体质量分层随机分为6组:假手术组、模型组、妇科千金片组(1.0 g/kg)及宁泌泰胶囊高、中、低剂量(2.0、1.0、0.5 g/kg)组。各组药物配制不同浓度,等容ig给药(10 mL/kg),上午、下午各给药1次。

1.7 模型的建立

1.7.1 大鼠大肠杆菌感染性盆腔炎模型的建立 除假手术组外,其余5组ip 10%水合氯醛3.5 mL/kg麻醉大鼠,仰位固定大鼠四肢。于大鼠下腹部正中切口,长0.8~1 cm,开腹后暴露右侧子宫,用1 mL注射器取0.1 mL大肠杆菌悬液,在注入菌液之前用注射器机械损伤子宫内膜组织,然后注入0.1 mL菌液,细菌数为 1.5×10^7 CFU,然后分层缝合肌肉、皮肤。假手术组暴露右侧子宫后即缝合,子宫不做处理^[6]。

1.7.2 苯酚胶浆引起大鼠化学性盆腔炎模型的建立 除假手术组外,其余5组ip 10%水合氯醛3.5 mL/kg麻醉大鼠,仰位固定大鼠四肢。于大鼠下腹部正中切口,长0.8~1 cm,开腹后暴露右侧子宫,用1 mL注射器注射25%的苯酚胶浆0.1 mL,然后分层缝合肌肉、皮肤。余下假手术组同法暴露右侧子宫后即缝合,子宫不做处理。

1.8 检测指标

手术后第2天测定体质量(D0),每天上午给药前,观察动物行为、阴道外观及分泌物等一般状况1次。第7次给药24 h后测定体质量1次(D7),将动物股动脉放血处死,取血以显微镜进行血液白细胞计数。剖开腹腔,先肉眼观察子宫炎症反应及周围粘连情况,测定子宫质量并计算脏器系数[子宫系数=子宫质量/(体质量 $\times 100$)],然后将患侧子宫置10%福尔马林溶液中固定,切片HE染色,光镜下观察组织形态学改变。

1.9 统计分析

各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验考察显著性。组织形态学结果和微生物计数结果比较用参比差值法进行显著性检验。

2 结果

2.1 对大鼠大肠杆菌感染性盆腔炎的作用

2.1.1 一般状况观察 模型组10只大鼠观察期间均可见不同程度的阴道口扩张、红肿,有的有脓性

分泌物流出。试验完毕处死后可见大鼠子宫肿胀、发硬,部分与周围组织粘连,形成硬结,腹腔内有腐败的臭味。宁泌泰胶囊各治疗组给药初期阴道口出现与模型组类似的症状,给药3~4 d后可见各症状呈逐渐减轻恢复。给药完毕处死后可见部分大鼠的子宫有不同程度肿胀、肥大,未见子宫与周围组织有粘连发生。假手术组大鼠观察期间阴道口未见明显异常,解剖后子宫亦未见明显异常。

2.1.2 对体质量及子宫质量的影响 与假手术组相比,模型组造模后大鼠体质量呈下降趋势,观察期

结束后显著低于假手术组动物。治疗结束后,阳性药妇科千金片组与宁泌泰胶囊3个治疗组大鼠体质量有所恢复。与假手术组相比,模型组动物子宫质量系数显著增加($P<0.05$)。与模型组比,宁泌泰胶囊高、中剂量组可显著减轻子宫的质量,提示抑制炎症引起的肿胀($P<0.05$)。结果见表1。

2.1.3 对血中白细胞数量的影响 由表2可见,造模可引起大鼠血中白细胞显著升高($P<0.01$),宁泌泰胶囊高、中、低3个剂量组均可不同程度地显著减少血中白细胞的数量($P<0.05$ 、 0.01)。

表1 宁泌泰胶囊对大肠杆菌盆腔炎大鼠体质量及子宫质量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effects of Ningmitai Capsule on body weight and uterus weight of rats with pelvic inflammation induced by coliform

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g		子宫	
		D ₀	D ₇	质量/g	系数
假手术	—	171±6	182±7	0.35±0.09	0.19±0.05
模型	—	169±8	173±8*	0.42±0.10*	0.25±0.06*
妇科千金片	1.0	168±6	177±8	0.33±0.07 [#]	0.19±0.05 [#]
宁泌泰	2.0	171±8	177±8	0.34±0.08 [#]	0.19±0.04 [#]
	1.0	171±7	178±9	0.35±0.07 [#]	0.20±0.04 [#]
	0.5	169±7	177±8	0.40±0.10	0.23±0.05

与假手术组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$

* $P<0.05$ vs SH group; [#] $P<0.05$ vs model group

表2 宁泌泰胶囊对大肠杆菌盆腔炎大鼠血中白细胞数量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of Ningmitai Capsule on leukocyte number of rats with pelvic inflammation induced by coliform

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)
假手术	—	10.8±3.8
模型	—	16.7±4.1**
妇科千金片	1.0	11.4±3.0 ^{##}
宁泌泰	2.0	12.1±1.9 ^{##}
	1.0	12.0±2.9 ^{##}
	0.5	12.9±3.5 [#]

与假手术组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$

** $P<0.01$ vs SH group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ vs model group

2.1.4 子宫组织病理学检查结果 假手术组子宫内膜完整,未见明显变性、坏死及溃疡形成,固有层内腺体无明显增生及萎缩,其中1/10例可见固有层内少量炎细胞浸润,宫壁平滑肌无明显增生,肌细胞无明显变性、坏死。浆膜完整,无明显充血、水肿及炎细胞浸润。

模型组子宫均可见不同程度的病变。主要病变

表现为子宫内膜上皮细胞坏死、脱落,宫腔内可见数量不等的炎性渗出物,固有层内血管充血,炎细胞浸润;宫壁平滑肌无明显增生,肌细胞无明显变性、坏死,部分浆膜面有明显的炎性渗出物。

宁泌泰胶囊可改善大肠杆菌感染性盆腔炎大鼠子宫组织学病变,且有一定的剂量相关性。组织病理学检查结果见表3。

2.2 对苯酚胶囊浆引起大鼠化学性盆腔炎的治疗作用

2.2.1 一般状况观察 模型组10只大鼠观察期间均可见不同程度的阴道口扩张、红肿,有的有混浊状分泌物流出。试验完毕处死后可见大鼠子宫肿胀、发硬,部分与周围组织粘连,形成硬结。宁泌泰胶囊各治疗组给药初期阴道口出现与模型组类似的症状,给药3~4 d后可见各症状呈逐渐减轻恢复。给药完毕处死后可见部分大鼠的子宫有不同程度充血、肿胀、肥大,未见子宫与周围组织有粘连发生。假手术组大鼠观察期间阴道口未见明显异常,解剖后子宫亦未见明显异常。

表3 宁泌泰胶囊对大肠杆菌感染性盆腔炎大鼠子宫组织病理学的影响 ($n=10$)Table 3 Pathological effects of Ningmitai Capsule on uterus histopathology of rats with pelvic inflammation induced by coliform ($n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	宫内膜变性、坏死					固有层内炎细胞浸润				
		-	+	++	+++	P 值	-	+	++	+++	P 值
假手术	—	10	0	0	0		9	1	0	0	
模型	—	0	5	3	2	**	0	6	3	1	**
千金片	1.0	8	2	0	0	##	6	4	0	0	##
宁泌泰	2.0	7	3	0	0	##	5	5	0	0	##
	1.0	6	2	2	0	#	5	1	4	0	
	0.5	5	3	1	1	#	3	2	3	2	
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	平滑肌坏死					浆膜面炎性渗出				
		-	+	++	+++	P 值	-	+	++	+++	P 值
假手术	—	10	0	0	0		10	0	0	0	
模型	—	10	0	0	0		8	2	0	0	
千金片	1.0	10	0	0	0		10	0	0	0	
宁泌泰	2.0	10	0	0	0		10	0	0	0	
	1.0	10	0	0	0		10	0	0	0	
	0.5	10	0	0	0		10	0	0	0	

与假手术组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$, ## $P<0.01$ * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs SH group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs model group

2.2.2 对体质量及子宫质量的影响 与假手术组动物相比, 模型组造模后大鼠体质量呈下降趋势, 观察期结束后仍明显低于假手术组动物。治疗结束后, 阳性药妇科千金片组与宁泌泰胶囊3个治疗组大鼠体质量有所恢复。与假手术组相比, 模型组动物子

宫系数显著增加 ($P<0.05$)。与模型组比, 宁泌泰胶囊高剂量组可显著减轻子宫的质量, 提示抑制炎症引起的肿胀 ($P<0.05$), 中、低剂量组有一定的改善作用, 但未达统计学显著差异。体质量及子宫质量检查结果见表4。

表4 宁泌泰胶囊对苯酚胶浆盆腔炎大鼠体质量及子宫质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 4 Effects of Ningmitai Capsule on body weights and uterus weight of rats with pelvic inflammation induced by phenol ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g		子宫	
		D ₀	D ₇	质量/g	系数
假手术	—	168±6	180±8	0.35±0.07	0.19±0.04
模型	—	171±5	174±7	0.45±0.10*	0.26±0.06**
妇科千金片	1.0	170±6	177±5	0.35±0.08#	0.20±0.05#
宁泌泰	2.0	168±6	174±5	0.37±0.06#	0.21±0.04#
	1.0	168±6	176±4	0.39±0.06	0.22±0.04
	0.5	169±6	178±4	0.43±0.08	0.24±0.04

与假手术组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs SH group; # $P<0.05$ vs model group

2.2.3 对血中白细胞数量的影响 由表5可见, 造模可引起大鼠血中白细胞显著升高 ($P<0.01$)。与模型组相比, 宁泌泰胶囊高剂量组可显著减少血中白细胞的数量 ($P<0.05$)。中、低剂量组有一定的改善作用, 但未达统计学显著差异。

2.2.4 子宫组织病理学检查结果 假手术组子宫内

膜完整, 未见明显变性、坏死及溃疡形成, 固有层内腺体无明显增生及萎缩, 其中2/10例可见固有层内少量炎细胞浸润, 宫壁平滑肌无明显增生, 肌细

胞无明显变性、坏死。浆膜完整, 无明显充血、水肿及炎细胞浸润。模型组子宫均可见不同程度的病变。主要病变表现为子宫内膜上皮细胞坏死、脱落, 宫腔内可见数量不等的炎性渗出物, 固有层内血管充血, 炎细胞浸润; 部分宫壁内肉芽组织增生明显, 平滑肌层也可见不同程度的坏死, 浆膜面有明显的炎性渗出物。

宁泌泰胶囊可改善苯酚胶浆引起的大鼠子宫组织学病变, 且有一定的剂量相关性。见表6。

表5 宁泌泰胶囊苯酚胶浆盆腔炎大鼠血中白细胞数量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 5 Effect of Ningmitai Capsule on leukocyte number of rats with pelvic inflammation induced by phenol ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)
假手术		10.7 $\pm$ 3.1
模型		15.9 $\pm$ 4.1**
妇科千金片	1.0	11.7 $\pm$ 2.7 [#]
宁泌泰	2.0	11.5 $\pm$ 3.3 [#]
	1.0	12.0 $\pm$ 2.8
	0.5	13.5 $\pm$ 3.4

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs Sham group; [#] $P < 0.05$ vs model group

表6 宁泌泰胶囊对苯酚胶浆盆腔炎大鼠子宫组织病理学的影响 ($n = 10$)

Table 6 Effects of Ningmitai Capsule on uterus histopathology of rats with pelvic inflammation induced by phenol ($n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	宫内膜变性、坏死					固有层内炎细胞浸润				
		-	+	++	+++	P 值	-	+	++	+++	P 值
假手术	—	10	0	0	0		8	2	0	0	
模型	—	0	4	3	3	**	0	2	3	5	**
妇科千金片	1.0	7	2	1	0	##	5	5	0	0	##
宁泌泰高	2.0	6	3	1	0	##	4	6	0	0	##
	1.0	6	2	2	0	##	3	3	4	0	#
	0.5	4	3	1	2		1	3	3	2	
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	平滑肌坏死					浆膜面炎性渗出				
		-	+	++	+++	P 值	-	+	++	+++	P 值
假手术	—	10	0	0	0		10	0	0	0	
模型	—	5	0	3	2		6	2	2	0	
妇科千金片	1.0	10	0	0	0		10	0	0	0	
宁泌泰	2.0	10	0	0	0		10	0	0	0	
	1.0	10	0	0	0		10	0	0	0	
	0.5	9	1	0	0		9	1	0	0	

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs SH group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ vs model group

从本研究也可以得出: 宁泌泰胶囊3个剂量组对大肠杆菌引起的感染性盆腔炎以及苯酚引起的化学性盆腔炎有一定的治疗作用, 用宁泌泰胶囊治疗后, 大鼠体质量有所恢复。宁泌泰胶囊高剂量组可显著减轻子宫的质量, 提示抑制炎症引起的肿胀。中、低剂量组有一定的改善作用, 但未达统计学显著差异。此外, 子宫组织病理学检查结果表明, 宁泌泰胶囊可改善大肠杆菌感染和苯酚引起的大鼠子宫组织学病变, 且有一定的剂量相关性。提示宁泌泰胶囊在临床应用上有望用于盆腔炎的治疗。

参考文献

[1] 胡珍真, 段燕康, 杨素娜, 等. 宁泌泰胶囊临床应用新进展 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2014, 20(6): 672-677.

3 讨论

宁泌泰胶囊是来源贵州苗族民间流传验方, 是由四季红、白茅、根连翘、大风藤、三棵针、芙蓉叶、仙鹤草组成的复方胶囊^[8]。根据传统理论, 四季红味苦、辛, 性凉, 具清热利湿、活血解毒, 为处方的君药。白茅根味甘, 性寒, 有清热、利尿通淋的功效, 为处方中臣药。连翘味苦、性微寒, 清热解毒; 大风藤味辛, 性温, 活血、止痛, 两者一个以清热为主, 一个以活血为主, 二者共同增加君药清宣热邪和缓解血滞血瘀的作用。芙蓉叶增强清热、解毒、消肿。仙鹤草味苦, 性平, 功效健胃补虚、杀虫, 可以佐制方中诸多苦寒清热对脾胃的损伤。全方具有清热解毒、利湿通淋的功效。

[2] 汤京华. 宁泌泰胶囊治疗女性尿道综合征53例 [J]. 上海中医药杂志, 2003, 37(2): 25.

[3] 钱 菁. 宁泌泰治疗女性生殖系统感染 306 例临床观察 [J]. 中医杂志, 2004, 45(12): 34-39.

[4] 盛立红. 宁泌泰胶囊治疗流产后感染 200 例 [J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(1): 75-79.

[5] 夏明康, 胡珍真, 杨素娜, 等. 宁泌泰胶囊联合抗生素治疗慢性前列腺炎的 Meta 分析 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1704-1709.

[6] 刘国生, 王梧生, 龙子江, 等. 盆腔炎冲剂对大鼠慢性盆腔炎模型的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(3): 24-28.

[7] 吕晓君, 何开勇, 潘望平, 等. 赤母妇炎宁胶囊治疗慢性盆腔炎的实验研究 [J]. 中药医药导报, 2015, 12(4): 23-29.

[8] 蔡 健, 陈熙猛, 汪广兵, 等. 宁泌泰胶囊治疗精囊炎所致血精症的疗效观察 [J]. 中草药, 2014, 45(23): 3440-3446.