

乌药及其炮制品不同提取物镇痛作用的研究

李珊, 陈文明, 欧阳荣* (湖南中医药大学第一附属医院药剂科, 长沙 410007)

摘要: 目的 研究乌药及其炮制品不同提取物的镇痛作用。方法 采用醋酸致痛模型和痛经模型, 观察不同剂量乌药水提物、醇提物、醚提物 and 不同剂量醋制乌药水提物、醇提物、醚提物对小鼠的镇痛作用。结果 醋酸致痛模型实验中, 与正常对照组相比, 乌药和醋制乌药水提、醇提高剂量组能明显减少小鼠扭体次数($P<0.05$); 痛经模型实验中, 与模型组比较, 醋制乌药水提和醇提高剂量组能明显减少小鼠扭体次数($P<0.05$)。结论 乌药、醋制乌药的水提液和醇提液具有镇痛作用, 醋制乌药的镇痛作用优于乌药。

关键词: 乌药; 醋制乌药; 提取物; 镇痛; 痛经模型; 醋酸致痛模型

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)11-1306-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.11.005

Studies on Analgesic Effects of Different Extract of *Linderae Radix* and It's Processed Products

LI Shan, CHEN Wenming, OUYANG Rong* (Pharmacy Department of The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the analgesic effects of different extract of *Linderae Radix* and Vinegar *Lindera*. **METHODS** Used pain model induced by acetic acid and dysmenorrheal model, observed the analgesic effects of different doses of *Linderae Radix* and Vinegar *Lindera* aqueous extract, alcohol extract, ether extract effect on mice. **RESULTS** In the experimental of pain model induced by acetic acid, compared with normal control group, high dose aqueous extract, alcohol extract of *Linderae Radix* and high dose aqueous extract, alcohol extract of Vinegar *Lindera* could significantly reduce the writhing times of mice. In the experimental of dysmenorrheal model, compared with model group, high dose aqueous extract, alcohol extract of Vinegar *Lindera* could significantly reduce the writhing times of mice. **CONCLUSION** The aqueous extract, alcohol extract of *Linderae Radix* and Vinegar *Lindera* have analgesic effect, Vinegar *Lindera* have superior analgesic effect than *Lindera*.

KEY WORDS: *Linderae Radix*; Vinegar *Lindera*; extract; analgesia; dysmenorrheal model; pain model induced by acetic acid

乌药为樟科植物乌药 *Lindera aggregate* (Sims) Kosterm 的干燥块根, 具有活血化瘀, 理气止痛等功效^[1]。《开宝本草》载乌药可治“恶心腹痛, 宿食不消……”, 临床上常与多种中药配伍, 治疗寒凝气滞所致的脘腹疼痛。乌药含有黄酮、生物碱等成分^[2], 不同产地乌药所含化学成分有所区别^[3], 现代研究表明乌药具有抗炎镇痛、抗氧化和保肝等作用^[4-6]。但是乌药镇痛的物质基础, 以及乌药镇痛的作用机制并未得到全面解答, 乌药炮制品的研究更是鲜见报道。本研究旨在研究乌药及其炮制品不同提取物的镇痛作用, 为乌药的深入研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与试药

罗通定片(山西云鹏制药, 批号: A131101);

缩宫素(马鞍山丰原制药, 批号: 140119-1); 醋酸(湖南师大化学试剂厂, 批号: 20030310); 己烯雌酚(广州市汉普医药, 批号: 20140801); 95%乙醇(天津市恒兴化学试剂, AR); 石油醚(60~90℃, AR, 天津市富宇精细化工); 乌药购自湖南, 经湖南中医药大学中药教授周新蓓鉴定为樟科植物乌药 [*Lindera aggregate* (Sims) Kosterm] 的干燥块根。

1.2 仪器

UV-1800 紫外分光光度计(日本岛津); AY-120 电子分析天平(日本岛津); TG16-WS 台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.3 动物

醋酸致痛模型小鼠, ICR 小鼠 140 只, SPF 级, ♀♂各半, 18~22 g, 合格证号: 43004700010150; 痛经模型小鼠, ICR 小鼠 150 只, SPF 级, ♀,

基金项目: 湖南省长沙市科技计划项目(K1307035-31)

作者简介: 李珊, 女, 主管药师 Tel: 15973174247 E-mail: 574145628@qq.com
E-mail: 474886768@qq.com

*通信作者: 欧阳荣, 女, 教授 Tel: (0731)85600472

18~22 g, 合格证号: 43004700009941; 均购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK(湘)2013-0004。

1.4 药材提取

1.4.1 水提物 取乌药(或醋制乌药)粉末 52 g, 加 10 倍量水, 水浴加热回流 2 h, 过滤, 滤液浓缩至 100 mL, 得乌药(或醋制乌药)水提液 $0.52 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.4.2 醇提物 取乌药(或醋制乌药)粉末 52 g, 加 10 倍量 95%乙醇, 水浴加热回流 2 h, 过滤, 滤液置水浴锅蒸干, 浸膏用水定容至 100 mL, 得乌药(或醋制乌药)醇提液 $0.52 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.4.3 醚提物 取乌药(或醋制乌药)粉末 52 g, 加 10 倍量石油醚(60~90 °C), 按“1.4.2”项下方法自“水浴加热”起制备得乌药(或醋制乌药)醚提液 $0.52 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.5 分组给药^[7]

1.5.1 小鼠醋酸致痛模型实验^[8] 取 ICR 小鼠 140 只, ♀♂各半, 随机分为 14 组, 每组 10 只。分为正常对照组, 罗痛定组, 乌药水提、醇提、醚提高剂量和低剂量组, 醋制乌药水提、醇提、醚提高剂量和低剂量组。

除正常对照组按 $0.2 \text{ mL} \cdot (10 \text{ g})^{-1}$ 体质量给予生理盐水外, 其他各高剂量组分别按 $2.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、各低剂量组分别按 $1.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃给予相应药液, 每天 1 次, 连续灌服 3 d。末次给药 1 h 后, 分别腹腔注射 0.6%冰醋酸 $0.2 \text{ mL} \cdot (20 \text{ g})^{-1}$, 记录 15 min 内各动物的扭体次数。

1.5.2 小鼠痛经模型实验^[9-10] 取 ICR 小鼠 150 只, 随机分为 15 组, 每组 10 只。分为正常对照组, 模型组, 罗痛定组, 乌药水提、醇提、醚提高剂量和低剂量组, 醋制乌药水提、醇提、醚提高剂量和低剂量组。

除正常对照组外, 其他各组用己烯雌酚 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃给药造模, 每天 1 次, 连续 12 d。于第 10 天开始, 连续 3 d, 各高剂量组分别按 $2.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、各低剂量组分别按 $1.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃给予相应药液, 每天 1 次, 正常对照组和模型组按 $0.2 \text{ mL} \cdot (10 \text{ g})^{-1}$ 体质量灌服生理盐水。末次给药 1 h 后, 每只小鼠按体质量 $20 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射缩宫素致痛。观察记录 30 min 内每只小鼠扭体次数。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 16.0 进行统计学处理, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析, 两两比较

采用 LSD-*t* 检验, 以 $P < 0.05$ 及 $P < 0.01$ 表示组间差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乌药及醋制乌药不同提取物对醋酸致痛模型小鼠的镇痛作用

与正常对照组相比, 罗痛定组小鼠扭体次数明显减少($P < 0.01$), 醋制乌药及乌药水提、醇提高剂量组小鼠扭体次数均明显减少($P < 0.05$), 差异具有统计学意义; 其他各给药组扭体次数有所减少, 但差异不具有统计学意义。结果显示, 乌药和醋制乌药具有一定的镇痛作用, 水提组和醇提组作用显著, 结果见表 1。

表 1 乌药及醋制乌药不同提取物对醋酸致痛小鼠扭体次数的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effects of writhing times on pain model mice induced by acetic acid from different extract of Linderae Radix and Vinegar Lindera($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	扭体次数
正常对照组	—	19.4 ± 6.2
罗通定组	0.031 2	$6.8 \pm 6.5^{2)}$
醋制乌药水提高剂量组	2.6	$12.5 \pm 7.6^{1)}$
醋制乌药水提低剂量组	1.3	14.9 ± 6.9
醋制乌药醇提高剂量组	2.6	$12.5 \pm 6.3^{1)}$
醋制乌药醇提低剂量组	1.3	13.4 ± 8.9
醋制乌药醚提高剂量组	2.6	14.0 ± 6.0
醋制乌药醚提低剂量组	1.3	14.3 ± 11.4
乌药水提高剂量组	2.6	$13.1 \pm 6.5^{1)}$
乌药水提低剂量组	1.3	14.5 ± 5.8
乌药醇提高剂量组	2.6	$13.2 \pm 5.3^{1)}$
乌药醇提低剂量组	1.3	14.7 ± 8.4
乌药醚提高剂量组	2.6	13.9 ± 7.9
乌药醚提低剂量组	1.3	14.3 ± 6.0

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$.

2.2 乌药及醋制乌药不同提取物对痛经模型小鼠的镇痛作用

与模型组相比, 正常对照组和罗痛定组小鼠扭体次数明显减少($P < 0.01$), 醋制乌药水提、醇提高剂量组小鼠扭体次数也明显减少($P < 0.05$), 差异均具有统计学意义; 其他各给药组扭体次数有所减少, 但差异不具有统计学意义, 结果显示, 乌药具有一定的镇痛作用, 并且醋制乌药水提组和醇提组作用显著, 结果见表 2。

3 讨论

3.1 镇痛实验结果

实验结果显示, 乌药、醋制乌药的水提和醇提高剂量组能明显减少醋酸致痛模型小鼠的扭体

表 2 乌药及醋制乌药不同提取物对痛经模型小鼠扭体次数的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effects of writhing times on dysmenorrheal model mice from different extract of *Linderae Radix* and Vinegar *Lindera*($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	扭体次数
模型组	—	33.6±10.8
正常对照组	—	18.5±6.9 ²⁾
罗通定组	0.031 2	12.3±4.8 ²⁾
醋制乌药水提高剂量组	2.6	23.1±9.8 ¹⁾
醋制乌药水提低剂量组	1.3	27.0±9.0
醋制乌药醇提高剂量组	2.6	22.9±8.0 ¹⁾
醋制乌药醇提低剂量组	1.3	27.4±11.2
醋制乌药醚提高剂量组	2.6	26.3±8.2
醋制乌药醚提低剂量组	1.3	27.1±12.5
乌药水提高剂量组	2.6	25.6±8.3
乌药水提低剂量组	1.3	27.9±9.2
乌药醇提高剂量组	2.6	23.8±10.8
乌药醇提低剂量组	1.3	27.4±8.3
乌药醚提高剂量组	2.6	25.6±7.6
乌药醚提低剂量组	1.3	28.9±9.0

注：与模型组比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

次数，说明乌药、醋制乌药都具有镇痛作用。其中醋制乌药水提、醇提高剂量组能明显减少痛经模型小鼠的扭体次数，而乌药提取液未能明显减少痛经模型小鼠的扭体次数，说明乌药醋制后镇痛作用增强，乌药与其炮制品存在镇痛差异，推测导致差异的原因如下：①醋酸致痛模型和痛经模型的疼痛机制不同，一个是醋酸刺激腹腔引起疼痛，一个是缩宫素诱发痛经引起疼痛，2个模型疼痛方式和触发方式都不相同，可能导致镇痛差异的产生；②乌药给药浓度偏低，可能导致痛经模型中乌药未表现出明显的镇痛作用，本研究实验设计了高、低两个剂量，显著减少疼痛小鼠扭体次数的都是高剂量组，说明镇痛作用呈剂量相关，浓度过低会影响镇痛效果的表达，导致差异的产生。③乌药炮制后其镇痛活性物质浓度增加，或炮制使乌药生成了镇痛活性更强的新物质，因此有了更强的镇痛活性，导致差异的产生。

3.2 3种提取物的镇痛差异

本研究中乌药提取选用水、95%乙醇和石油醚3种溶剂，实验中乌药水提物和醇提物能显著减少疼痛小鼠扭体次数，而醚提物不能，水提物和醇提物具有相似的镇痛效果，而醚提物与水提物、醚提物存在镇痛差异，造成差异的原因推测可能是乌药镇痛活性物质易溶于水和醇，却不易溶于

醚。根据文献报道^[11-12]，乌药含有糖类、氨基酸、生物碱、黄酮、蒽醌、醛、酯、甾体等化学成分，其中易溶于水的主要有糖类、氨基酸，易溶于醇的有生物碱、黄酮、蒽醌、醛、酯、甾体等。自然界黄酮多以苷类形式存在，生物碱也容易成盐，而黄酮苷和生物碱的盐都易溶于水，黄酮类和生物碱类具备易溶于水和醇而不易溶于醚的条件，推测黄酮或生物碱类可能是乌药镇痛活性物质所在。

3.3 醋制乌药的炮制

取乌药饮片 500 g，加入用 100 mL 蒸馏水稀释的 100 g 食醋搅拌，闷润 90 min，待醋液被吸尽后，置锅内用文火加热拌炒至微干，表面微焦，放凉，即得醋制乌药。

REFERENCES

- [1] 周新蓓, 欧阳荣. 乌药不同炮制品中乌药醚内酯的含量测定[J]. 中药材, 2008, 31(3): 350-351.
- [2] 闫利利, 王金芳, 李秋月, 等. 乌药的化学成分研究[J]. 中国药业, 2013, 22(2): 16-17.
- [3] ZHU Y Z, LIU M C, HU D Y, et al. Chemical constituents of *Lindera aggregata* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(16): 123-126.
- [4] WEI Z F, WANG F Y, SONG J, et al. Norisoboldine inhibits the production of interleukin-6 in fibroblast-like synoviocytes from adjuvant arthritis rats through PKC/MAPK/NF- κ B-p65/CREB pathways [J]. J Cellul Biochem, 2012, 113(8): 2785-2795.
- [5] LUO Y B, LIU M, YAO X J, et al. Total alkaloids from Radix *Linderae* prevent the production of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells by suppressing NF- κ B and MAPKs activation [J]. Cytokine, 2009, 46(1): 104-110.
- [6] 陈卓亮, 王军伟, 谭明明, 等. 乌药不同提取部位对大鼠急性酒精性肝损伤的保护作用研究[J]. 浙江中医杂志, 2014, 49(7): 538-539.
- [7] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 241-247, 467-468.
- [8] 王海梅. 川芎嗪对冰醋酸所致小鼠扭体的镇痛作用[J]. 医学信息, 2013, 26(30): 588.
- [9] JIANG G Y, GAO X F, ZHOU H, et al. Pharmacodynamic study of Yueshu dropping pill on experimental dysmenorrheal model [J]. J Hubei Univ Chin Med(湖北中医药大学学报), 2012, 14(6): 17-20.
- [10] CAO L, PAN Y, DENG Y, et al. Effects of Sanjie Zhentong tablet on experimental dysmenorrhea mice model [J]. World Sci Technol(Modernization Tradit Chin Med Mater Med)(世界科学技术-中医药现代化), 2012, 14(2): 1493-1497.
- [11] ZHU Y Z, LIU M C, HU D Y, et al. Chemical constituents of *Lindera aggregata* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(16): 123-126.
- [12] 许海丹, 顾霞敏, 叶文国, 等. 乌药化学成分分布特性研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(1): 100-101.

收稿日期: 2015-04-13