

不同年份沉香药材镇痛作用的比较

王 娇¹, 徐 雪¹, 梁幼雅²(广州中医药大学中药学教研室¹、中药学院², 广东 广州 510006)

【摘要】 目的 观察 5、8、12、15 年不同年份沉香药材镇痛作用的差异, 并进行对比研究。方法 采用热板法和扭体法作为镇痛实验模型, 通过测定小鼠热板致痛的痛阈值和醋酸致痛的扭体次数, 比较各年份沉香药材的镇痛作用。结果 实验数据显示, 阳性药(罗通定)及 5、8、12、15 年沉香药材组均可显著延长小鼠热板痛阈值, 减少扭体次数, 与空白组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 且各年份药材组在给药 120 min 后可显著延长小鼠热板反应的时间($P < 0.01$)。其中 8 年沉香药材组对小鼠热板致痛和醋酸致痛的镇痛效果明显高于 5 年、15 年组($P < 0.05$)及 12 年、罗通定组($P > 0.05$)。结论 沉香药材镇痛药效与年份有关, 但并不是随着年份的增长而增强, 并且对内脏痉挛性疼痛的镇痛作用较敏感, 而对于体表物理性疼痛发挥镇痛作用需要较长时间。

【关键词】 沉香药材; 不同年份; 热板法; 扭体法; 镇痛作用

【中图分类号】 R-332 【文献标识码】 A 【文章编号】 1003-6350(2014)15-2188-03

Comparative study on analgesic effects of different years of Chinese Eaglewood. WANG Jiao¹, XU Xue¹, LIANG You-ya². Department of Chinese Herbal Medicine¹, School of Chinese Herbal Medicine², Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, Guangdong, CHINA

【Abstract】 **Objective** To observe the analgesic effect of 5, 8, 12, 15 years group of Chinese Eaglewood on mice through an experiment, and to make a comparative study. **Methods** Hot-plate procedure and torsion body method were used as analgesic experimental model to compare the analgesic effect of different years of Chinese Eaglewood, by measuring the pain threshold caused by hot plate and acetic acid-induced stretch in mice. **Results** The experimental data showed that 5 years, 8 years, 12 years, 15 years Eaglewood group and Rotundine group all could prolong the pain threshold induced by hot-plate and reduce the times of writhing reactions of mice compared with the blank group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Moreover, each year group at 120 min could re-

通讯作者: 梁幼雅。E-mail: zhongyao@gzucm.edu.cn

参考文献

- [1] Yang JD, Roberts LR. Hepatocellular carcinoma: a global view [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010, 7(8): 448-458.
- [2] Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma [J]. Lancet, 2003, 362(9399): 1907-1917.
- [3] El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis [J]. Gastroenterology, 2007, 132(7): 2557-2576.
- [4] Bouchard MJ, Schneider RJ. The enigmatic X gene of hepatitis B virus [J]. J Virol, 2004, 78(23): 12725-12734.
- [5] Madden CR, Finegold MJ, Slagle BL. Hepatitis B virus X protein acts as a tumor promoter in the development of diethylnitrosamine-induced preneoplastic lesions [J]. J Virol, 2001, 75(8): 3851-3958.
- [6] Becker SA, Lee TH, Butel JS, et al. Hepatitis B virus X protein interferes with cellular DNA repair [J]. J Virol, 1998, 72(1): 266-272.
- [7] Kim C, K Koike, I Saito, et al. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice [J]. Nature, 1991, 353(6344): 317-320.
- [8] Koike K, Moriya SI, H Yotsuyanagi H, et al. High-level expression of hepatitis B virus HBx gene and hepatocellular carcinogenesis in transgenic mice [J]. Hepatology, 1994, 19(4): 810-819.
- [9] Saini SP, Zhang B, Niu Y, et al. Activation of LXR Increases acetaminophen clearance and prevents its toxicity [J]. Hepatology, 2011, 54(6): 2208-2217.
- [10] Niu YD, Wu Z, Shen QJ, et al. Hepatitis B virus X protein co-activates pregnane X receptor to induce the cytochrome p450 3A4 enzyme, a potential implication in hepatocarcinogenesis [J]. Digestive and Liver Disease, 2013, 45(12): 1041-1048.
- [11] Doria M, Klein N, Lucito R, et al. The hepatitis B virus HBx protein is a dual specificity cytoplasmic activator of Ras and nuclear activator of transcription factors [J]. EMBO J, 1995, 14(19): 4747-4757.
- [12] Kim K, Kim KH, Kim HH, et al. Hepatitis B virus X protein induces lipogenic transcription factor SREBP1 and fatty acid synthase through the activation of nuclear receptor LXR alpha [J]. Biochem J, 2008, 416(2): 219-230.
- [13] Na TY, Shin YK, Roh KJ, et al. Liver X receptor mediates hepatitis B virus X protein-induced lipogenesis in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2009, 49(4): 1122-1131.
- [14] Kim KH, Shin HJ, Kim K, et al. Hepatitis B virus X protein induces hepatic steatosis via transcriptional activation of SREBP1 and PPARgamma [J]. Gastroenterology, 2007, 132(5): 1955-1967.
- [15] Kim J, Song EJ, Lee HH, et al. HBx-Induced Hepatic Steatosis and Apoptosis Are Regulated by TNFR1- and NF-κB-Dependent Pathways [J]. Journal of Molecular Biology, 2010, 397 (4): 917-931.

(收稿日期: 2014-03-18)

markedly prolong the pain threshold of hot plate in mice ($P<0.01$). 8 years group of Chinese Eaglewood had significant analgesic effect for the pain caused by hot-plate and acetic acid in mice and the analgesic effect was significantly higher than 5 years, 15 years group ($P<0.05$) and 12 years group, Rotundine group ($P>0.05$). **Conclusion** The Chinese Englewood's analgesic effect is associated with the year, but did not strengthened with the increase of the year. The Chinese Englewood is more sensitive to the visceral spasm pain and it requires a long time to play the role of analgesic efficacy for surface physical pain.

【Key words】 Chinese Eaglewood; Different years; Hot plate; Writhing method; Analgesic effect

沉香为中医常用中药,来源于瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 或沉香 *Aquilaria agallocha* (Lour.) Roxb 含有树脂的木材^[1]。沉香味辛、苦,性微温,具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘的功效,用以治胸腹胀闷疼痛、胃寒呕吐呃逆、肾虚气逆喘急^[2]。现代药理研究表明,沉香含有挥发油、黄酮及其苷类、三萜类、多糖等化学成分,具有抗炎镇静镇痛等多种药理活性^[3-4]。临床上用于治疗胃痛、术后呃逆、尿道综合症等疾病疗效确切^[5]。目前国内外关于不同年份沉香药材药理作用研究的报道鲜少,为此,本实验采用小鼠热板法和扭体法对沉香药材进行镇痛作用研究,为其在临床上治疗胃痛、前列腺痛、痛经等疾病提供药理实验依据,同时也为沉香药用资源的开发利用奠定基础。现就研究结果报道如下:

1 材料与方法

1.1 药材及受试样品制备 沉香药材来源于广东省汕头市鹏华沉香种植基地,并经广州中医药大学中药鉴定教研室鉴定为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 含有树脂的木材。分别将5年、8年、12年、15年干燥沉香原药材用打粉机粉碎成粉末并过24目筛,依次称取各年份药材粉末适量,加入氯仿,冷浸12 h,超声提取30 min,收集滤液,于80℃水浴挥至无氯仿,加0.5%羧甲基纤维素钠溶液(CMC-Na)配成0.2 g/ml的药液。

1.2 主要仪器及试剂 KQ3200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),YLS-6B智能热板仪(上海精密仪器仪表有限公司),JY09电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。罗通定片(四川富康来药业集团有限公司;批号:130301);冰醋酸(天津市百世化工有限公司);羧甲基纤维素钠(上海舜水化工有限公司)。

1.3 实验动物 SPF级昆明(KM)小鼠,18~22 g,雌雄兼用。由广州中医药大学实验动物中心提供,合格证号:SCXK(粤)2008-0020。

1.4 小鼠热刺激致痛实验(热板法)^[6-7] 在(55±0.5)℃的智能热板仪上筛选出痛阈在5~30 s的健康雌性小鼠(18~22 g)60只,间隔20 min重新测定痛阈值1次,共测3次,取其平均值作为给药前小鼠的正常

痛阈值。按体质量随机分为空白对照组、罗通定组、沉香药材5年、8年、12年、15年组,每组10只。标记空白对照组并灌予0.5% CMC-Na溶液10 ml/kg;沉香药材5年、8年、12年、15年组均以0.2 g生药/ml灌胃给药,灌胃体积均为10 ml/kg体质量。1次/d,连续给药7 d。实验第7天罗通定组灌胃给予罗通定(60 mg/kg)0.5% CMC-Na混悬液,前6 d灌予0.5% CMC-Na溶液。于末次给药后0.5 h、1.0 h、1.5 h、2.0 h、2.5 h、3.0 h分别测定小鼠投入热板仪至出现舔后足的反应时间(s)作为痛阈值。若小鼠在热板上60 s仍无舔后足反应,即取出,痛阈时间按60 s计算实验结果。

1.5 小鼠化学刺激致痛实验(扭体法)^[8] 取体质量18~22 g的小鼠60只,雌雄各半,按如上方法随机分为6组。给药剂量与方法同热板法,于末次给药后1 h,每只小鼠腹腔注射0.7%冰醋酸(按体质量10 ml/kg,冰醋酸临用前配制)。观察并记录注射醋酸溶液后30 min内小鼠的扭体次数(腹部收缩内凹、躯干与后肢伸张、臀部歪扭),比较各组的扭体次数,并计算抑制率。抑制率(%)=(对照组扭体次数-给药组扭体次数)/对照组扭体次数×100%。

1.6 统计学方法 采用SPSS17.0统计分析软件进行数据处理,实验数据均以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对小鼠热板致痛实验的影响 表1数据显示,与空白对照组比较,给药后各时间点罗通定组的痛阈值都显著延长($P<0.01$),5年、15年药材组在120 min后小鼠痛阈值显著延长($P<0.01$),8年、12年药材组在90 min后小鼠痛阈值显著延长($P<0.01$)与罗通定组比较,5年药材组在120 min之前小鼠痛阈值明显小于罗通定组($P<0.01$),15年药材组在90 min前小鼠痛阈值明显小于罗通定组($P<0.01$),8年、12年药材组在给药90 min后各时间点差异均无统计学意义($P>0.05$)。沉香8年药材组在给药后各时间点小鼠痛阈值均大于12年药材组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。沉香8年、12年药材组在给药90 min后各时间点小鼠痛阈值均大于5年、15年药材组,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。

表 1 不同年份沉香药材对小鼠热板致痛阈值的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	给药前痛阈值 (t/s)	给药后痛阈值(t/s)					
			30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
空白对照组	—	13.23±1.96	13.09±1.34	13.00±1.44	13.18±1.04	13.15±0.89	13.08±1.25	13.35±1.19
罗通定组	0.06	13.24±1.97	16.11±1.45 ^a	17.86±1.71 ^a	19.84±1.21 ^a	21.77±1.14 ^a	23.98±1.00 ^a	26.92±1.64 ^a
5 年药材组	2.0	13.52±2.51	13.70±1.45 ^b	14.05±1.44 ^b	14.38±1.90 ^{abdf}	19.02±1.85 ^{abdf}	22.87±1.49 ^{ade}	25.52±1.09 ^{adf}
8 年药材组	2.0	13.22±1.90	14.32±1.51 ^b	14.46±1.87 ^b	21.30±2.00 ^a	22.95±1.99 ^a	25.43±2.02 ^a	27.77±1.76 ^a
12 年药材组	2.0	13.05±2.55	14.18±1.40 ^b	14.36±1.63 ^b	20.52±1.12 ^a	22.63±1.25 ^a	25.28±2.00 ^a	27.53±1.20 ^a
15 年药材组	2.0	13.48±1.70	13.76±1.78 ^b	14.23±1.27 ^b	14.30±1.42 ^{abdf}	20.58±2.01 ^{acc}	22.73±1.92 ^{ade}	25.80±1.13 ^{ade}

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$;与罗通定组比较,^b $P<0.01$;与 8 年药材组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;与 12 年药材组比较,^e $P<0.05$,^f $P<0.01$ 。

2.2 对小鼠醋酸扭体实验的影响 表 2 数据显示,小鼠灌服沉香各年份药材以及罗通定后,扭体次数明显减少,与空白对照组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。沉香 5 年、15 年药材组分别与 8 年、12 年药材组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。与罗通定组比较,5 年、15 年组可明显降低小鼠扭体抑制率($P<0.01$),8 年、12 年组可提高小鼠扭体抑制率($P>0.05$)。

表 2 不同年份沉香药材对醋酸致小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量(g/kg)	给药后 30 min 内扭体次数	抑制率(%)
空白对照组	—	68.60±6.87	—
罗通定组	0.06	33.30±5.10 ^a	52.17
5 年药材组	2.0	44.30±5.58 ^{abc}	36.23
8 年药材组	2.0	29.20±5.77 ^a	57.97
12 年药材组	2.0	32.20±3.77 ^a	53.62
15 年药材组	2.0	39.70±2.79 ^{abc}	42.48

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$;与罗通定组比较,^b $P<0.01$;与 8 年、12 年药材组比较,^c $P<0.01$ 。

3 讨论

沉香作为广东地产药材和中医常用中药之一,经济价值较高,是我国特有而珍贵的药用植物。现代药理研究表明沉香含有多种生物活性成分,如倍半萜类、三萜类、芳香族类、脂肪酸类等,具有镇静、镇痛、抗心律失常和抗心肌缺血等作用^[9]。行气止痛为沉香主要功效之一,主治胃痛、前列腺痛、痛经等症^[3],其疗效高,服用安全,未见明显毒副作用。有临床试验研究表明^[9],沉香是治疗胃癌的特效药和很好的镇痛药。本研究通过实验证实了沉香具有良好的镇痛作用。鉴于其药理作用和临床疗效广泛,以及较高的经济价值,故在今后的研究中,多方面对其进行研究,发掘新的活性和疗效,有助于临床的更合理用药、减少药用资源的浪费,以实现珍贵药用资源的可持续利用。

本实验致力于不同年份沉香药材的药效学研究,主要通过小鼠热板法和扭体法实验来考察不同年份沉香药材的镇痛作用。实验结果显示,沉香各年份药材组均能明显延长小鼠热板舔足的时间,显著减少小鼠腹腔注射醋酸后的扭体次数,与空白对照组比较差

异有统计学意义,说明沉香药材对化学刺激疼痛模型和热刺激疼痛模型均有显著的镇痛作用,且对小鼠热板法致痛 120 min 后镇痛效果最显著,可见,沉香药材对于体表物理性致痛发挥镇痛作用需要较长时间。其中,沉香 8 年药材组对小鼠热板镇痛效果最明显,且能显著减少醋酸所致小鼠的扭体次数,扭体抑制率为 57.97%,5 年药材组镇痛作用最差。但 15 年药材组较 12 年药材组镇痛作用差,故可看出,沉香药材镇痛药效并不随着年份的增长而增强,可能随着沉香年份的增长,其具有镇痛作用的有效成分含量会降低。相比罗通定组,沉香药材 5 年组和 15 年组的镇痛作用较弱,沉香药材 8 年组和 12 年组的镇痛作用较强,故可知沉香药材 8、12 年镇痛效果好于罗通定。此外,本次实验收集的沉香样本量较少,故实验数据仅能显示不同年份沉香药材镇痛作用强弱的基本趋势,不能提供更完善的实验数据,且组间数据差异较小,可能因为用药剂量较小,药材有效成分进入体内的量可能和给药剂量在该范围内不呈线性。总之,沉香药材具有镇痛作用,但并不随着年份的增长而增强,对于沉香镇痛药效物质基础及作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 172-173.
- [2] 梅全喜. 现代中药药理与临床应用手册[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2009: 404-405.
- [3] 李红念, 梅全喜, 林焕泽, 等. 沉香的化学成分、药理作用和临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2011, 22(35): 3349-3351.
- [4] Yamahara J, Li YH, Tamai Y. Anti-ulcer effect in rats of bitter cardamon constituents [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1990, 38(11): 3053-3054.
- [5] 梅全喜, 林焕泽, 李红念. 沉香的药用历史、品种、产地研究应用浅述[J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(8): 85-88.
- [6] 魏 伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 139-141.
- [7] 范文昌, 梅全喜, 高玉桥. 12 种广东地产清热解暑药的镇痛作用实验研究[J]. 今日药学, 2010, 20(2): 12-15.
- [8] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 495-495.
- [9] 刘军民, 翟 明. 国产沉香资源开发利用及化学成分研究进展[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(1): 48-51.

(收稿日期: 2014-01-21)