

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.04.022

曹玫, 贾睿琳, 江南, 等. 油樟叶挥发油的镇痛活性研究[J]. 广西植物, 2013, 33(4): 552-555

Cao M, Jia RL, Jiang N, et al. Analgesic effects of essential oils purified from *Cinnamomum longepaniculatum*[J]. *Guihaia*, 2013, 33(4): 552-555

油樟叶挥发油的镇痛活性研究

曹玫¹, 贾睿琳², 江南¹, 陶翠², 魏琴³, 殷中琼²

(1. 四川省医学科学院/四川省人民医院 中心实验室, 成都 610072; 2. 四川农业大学 动物医学院, 四川 雅安 625014; 3. 宜宾学院, 四川 宜宾 644000)

摘要: 采用水蒸气蒸馏法提取四川宜宾产油樟叶中挥发油, 气相色谱-质谱联用仪鉴定油樟叶挥发油的主要化学成分, 然后根据电热板和醋酸扭体实验研究不同剂量的油樟叶挥发油对小鼠疼痛阈值的影响。GC-MS 结果显示, 油樟叶挥发油主要含 1- β -桉叶油素、 α -蒎品醇和香桉烯等 26 个主要化学成分, 其中 1- β -桉叶油素含量占 58.55%。油樟叶挥发油中, 低剂量组可延长小鼠对热致痛的痛阈时间, 高、中剂量组可显著减少小鼠醋酸致痛扭体次数, 镇痛百分率分别为 74.69% 和 73.11%, 与对照组呈极显著差异。

关键词: 挥发油; 镇痛; 电热板; 醋酸扭体

中图分类号: Q949.95 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)04-0552-04

Analgesic effects of essential oils purified from *Cinnamomum longepaniculatum*

CAO Mei¹, JIA Rui-Lin², JIANG Nan¹, TAO Cui², WEI Qin³, YIN Zhong-Qiong^{2*}

(1. *Central Laboratory, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China*; 2. *College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China*; 3. *Yibin University, Yibin 644000, China*)

Abstract: The compositions of essential oils were analyzed by gas chromatography-mass spectrometer, in order to study analgesic effects of essential oils purified from *Cinnamomum longepaniculatum*. Tolerance of hot plate and test of body wrest were used to study the analgesic effect at different dosages of essential oils. The data showed that 26 main compounds had been identified which mainly included 1- β -cineole, abietinol, sabinene and so on. The essential oils significantly increased the threshold value of pain. The number of body wrest significantly decreased, which were caused by glacial acetic acid. The analgesia percentages in high and medium groups were 74.69% and 73.11%, respectively, which were significantly different with the negative control. It can be seen that the essential oils from *C. longepaniculatum* have analgesic effects.

Key words: essential oils; analgesia; hot plate; acetic acid writhing

油樟 (*Cinnamomum longepaniculatum*) 是樟科 (Lauraceae) 樟属 (*Cinnamomum*) 植物, 为中国特有树种, 已被列为国家二级重点保护野生植物, 主产于

四川宜宾, 在湖北、湖南、陕西、云南、江西、广西、广东等地也有分布。油樟枝叶富含芳香油, 含油率为 3.8% ~ 4.5%, 其主要成分是 1- β -桉叶油素

收稿日期: 2012-10-08 修回日期: 2013-01-13

基金项目: 教育部创新团队项目 (IRT0848); 四川省科技厅应用基础研究项目 (2010JY0043); 宜宾市科技局项目 (200903019)

作者简介: 曹玫 (1976-), 女, 四川成都人, 博士, 副研究员, 主要从事人类疾病诊断及治疗研究 (E-mail) cm1023@163.com。

* 通讯作者: 殷中琼, 博士, 教授, 主要从事天然产物研究工作 (E-mail) yinzhongq@163.com。

(58.55%)、 α -萜品醇(15.43%)和香桉烯(14.16%)等。油樟叶挥发油有抗菌和植物源真菌活性(魏琴等,2006,2009)。现代医学研究表明(Lee *et al.*,2006; Xu *et al.*,2004; Ling *et al.*,1996),樟树(*Cinnamomum camphora*)提取物及单体物质具有镇痛、抗炎和抗癌活性。在宜宾,民间有用油樟枝叶治疗牙痛和口腔炎症的习俗,宜宾产油樟作为樟树中的一种,其是否具有镇痛活性,其镇痛的活性部位是否为油樟叶挥发油,均未见相关报道。本研究拟通过小鼠电热板和醋酸扭体试验研究油樟叶挥发油的镇痛活性,为寻找依赖性小以及副作用低的植物类镇痛药物奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与材料

18~22 g 昆明种小鼠,购于四川医学院;冰醋酸,武汉江北化学试剂有限责任公司;吲哚美辛,山西三晋药业有限公司生产;YLS-6A 智能热板仪,山东省医学科学院设备站;MA200 型电子分析天平,上海第二天平仪器厂。

油樟叶:从四川宜宾县隆兴乡采集,经宜宾学院魏琴教授鉴定,标本保存于四川农业大学动物医学院药学系实验室。

1.2 油樟叶挥发油药液的制备

将新鲜油樟叶洗净后剪碎至适当的粒度,放入 1 L 的圆底烧瓶中,在挥发油提取装置中用水蒸汽蒸馏法提取,蒸馏时间 4 h,蒸馏液用乙醚萃取,旋转浓缩后用无水硫酸钠干燥,得到黄色或乳白色的油状液体,即得油樟叶挥发油。油樟叶挥发油的得率为 3.8%。油樟叶挥发油药液按挥发油(油相包括油樟叶挥发油和菜籽油):乳化剂(土温-80):水为 8:4:5,制成初乳,临用前用水稀释至适当的倍数即可。

1.3 油樟叶挥发油的成分分析

采用气相色谱质谱联用仪(Gas chromatography-mass spectrometer,GC-MS)对油樟树叶挥发油进行化学成分分离和含量测定。采用 Saturn 及 NIST 谱库对质谱图进行检索,并参考相关质谱资料,对提取的油樟叶挥发油的化学成分进行鉴定。采用峰面积归一化法分别计算油樟叶挥发油中各化学成分的相对百分含量(罗中杰等,2001)。

1.4 油樟叶挥发油对小鼠的电热板实验

将雌性小鼠置于(55.5±0.5)℃恒温热板上,以舔后足为指标(Adzu *et al.*,2003)筛选痛阈值大于 5 s 小于 30 s 的合格小鼠 50 只。对物理性致痛的影响热板法将痛阈值筛选合格的小鼠 50 只,根据其正常痛阈值大小随机搭配分成 5 组。油樟叶挥发油按 13.16、7.58、3.79 g/kg 分成高中低剂量组(g 生药量/kg 动物),阳性对照组吲哚美辛按 2.0 mg/kg,阴性溶剂对照组按 0.2 mL/10 g 灌胃 4 d。末次灌胃 30 min 后,分别于 30、60、90 min 测定各小鼠灌胃后的痛阈值。在测定中,如 60 s 内无痛反应,应立即取出,并以 60 s 计算。镇痛百分率(%)计算公式:镇痛率=[给药组痛阈值-对照组痛阈值]/对照组痛阈值×100%。

1.5 油樟叶挥发油对小鼠的醋酸扭体实验

小鼠扭体法镇痛试验取小鼠 50 只,根据其体重及性别随机搭配分成油樟叶挥发油高中低三个剂量组,并设置溶剂对照组和吲哚美辛对照组,共 5 组,每组雌雄各半,按方法 1.4 部分方式灌胃。各组小鼠末次灌胃后 1.0 h,对每只小鼠腹腔注射 0.7% 的冰醋酸溶液 0.1 mL/10 g,并观察记录小鼠注射后在 5~20 min 内发生扭体反应(腹部内凹,伸展后肢,臀部抬高)的次数(Elisabetsky *et al.*,1995)。镇痛百分率=(对照组扭体次数-给药组扭体次数)/对照组扭体次数×100%。

1.6 统计学处理

采用 SPSS16.0 软件对实验数据进行处理,各配对资料间比较采用 t 检验,实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm S$)表示。

2 结果与分析

2.1 油樟叶挥发油的成分分析

油樟叶挥发油化学成份分析结果见表 1。由表 1 可知,油樟叶挥发油主要由 1- β -桉叶油素, α -萜品醇(松香醇)和香桉烯等 26 种化合物组成,其中 1- β -桉叶油素是其主要成分,含量为 58.55%, α -萜品醇含量为 15.46%,香桉烯含量为 14.16%。

2.2 油樟叶挥发油对小鼠的电热板实验

7.58 g/kg 和 3.79 g/kg 组油樟叶挥发油都明显地提高小鼠的痛阈值,提高小鼠对热板的耐受力,两个剂量组都与溶剂对照组有显著性差异。60 和 90 min 测定值显示 7.58 g/kg 和 3.79 g/kg 组的油樟叶挥发油都能提高供试小鼠对热板的耐受力(表 2)。

表 1 油樟叶挥发油的主要化学成分

Table 1 Compositions of essential oils purified from *Cinnamomum longepaniculatum*

编号 No.	化合物名称 Compound	相对含量 (%) Relative content	编号 No.	化合物名称 Compound	相对含量 (%) Relative content
1	α -宁烯 α -Limonene	0.39	14	萜品醇-4 Terpineol-4	0.76
2	α -蒎烯 α -Pinene	2.64	15	α -萜品醇 α -Abietinol	15.46
3	α -苈烯 α -Camphene	0.06	16	橙花醇 Nerol	0.14
4	香桉烯 Sabinene	14.16	17	橙花醛 Neral	0.05
5	香叶烯 Myrcene	2.39	18	黄樟油素 Safrole	0.62
6	β -蒎烯 β -Pinene	1.73	19	乙酸橙花酯 Neryl acetate	0.12
7	α -水芹烯 α -Phellandrene	0.03	20	丁香酚 Eugenol	0.03
8	Δ^3 -萘烯 Δ^3 -Carene	0.28	21	β -丁香烯 β -Caryophyllene	0.32
9	1,8-桉叶油素 1,8-Cineole	58.55	22	香树烯 Alloaromadendrene	0.01
10	γ -萜品烯 γ -Terpinene	0.36	23	草烯 Caryophyllene	0.18
11	芳樟醇 Linalool	0.09	24	γ -榄香烯 γ -Elemene	0.10
12	冰片 Borneol	0.59	25	γ -橙香醇 γ -Linalol	0.10
13	樟脑 Camphor	0.09	26	愈疮木酚 Guaiacol	0.10

表 2 油樟叶挥发油对小鼠热板法痛阈的影响 ($\bar{x} \pm S$)Table 2 Effects of essential oils purified from *C. longepaniculatum* by means of hot plate pain model

实验组 Group	镇痛率 Analgesic rate (%)			
	30 min	60 min	90 min	120 min
溶剂对照 Solvent control	—	—	—	—
吲哚美辛 Indomethacin	28.96 \pm 8.28	32.60 \pm 17.52	35.79 \pm 6.48	44.05 \pm 8.59**
挥发油高剂量组 High-dose	8.00 \pm 2.87	15.53 \pm 6.48	9.71 \pm 29.50	10.53 \pm 2.66
挥发油中剂量组 Medium-dose	65.23 \pm 22.89*	43.73 \pm 14.32	42.75 \pm 17.05	16.68 \pm 5.69
挥发油低剂量组 Low-dose	13.05 \pm 4.68	43.73 \pm 12.29	53.36 \pm 9.61*	40.59 \pm 6.87*

注: 与溶剂对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$ 。下同。

Note: Compared with solvent control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$. The same below.

2.3 油樟叶挥发油对小鼠的醋酸扭体实验

给予不同剂量的油樟叶挥发油的小鼠扭体次数均低于对照组。油樟叶挥发油高剂量组镇痛百分率为 74.69%。中剂量组镇痛百分率为 73.11%。接近阳性对照吲哚美辛 78.55% 的镇痛效果。与阴性实验组比较具有极显著性差异。结果显示油樟叶挥发油具有镇痛作用,且高、中剂量组优于低剂量组(表 3)。

表 3 油樟叶挥发油所致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm S$)Table 3 Effects of essential oils purified from *C. longepaniculatum* by means of acetic acid writhing model

实验组 Group	扭体次数 Number of torsion	镇痛率 (%) Analgesic rate
溶剂对照 Solvent Control	29.75 \pm 3.15	—
吲哚美辛 Indomethacin	6.38 \pm 3.96***	78.55
挥发油高剂量组 High-dose	7.53 \pm 9.02***	74.69
挥发油中剂量组 Medium-dose	8 \pm 5.42***	73.11
挥发油低剂量组 Low-dose	28.63 \pm 6.70	3.76

注: 与油樟叶挥发油低剂量组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the lower dosage group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.05$.

3 讨论

本试验提取得到的宜宾油樟叶挥发油含 1,8-桉叶油素为 58.55%,属于桉叶油素型(罗中杰等, 2001)。同一种芳香植物中,其精油含量高低及成分的差异也与植株年龄,不同生长发育期,生长季节,立地条件等因素有关。有文献报道 1,8-桉叶油素可减少醋酸所致小鼠的醋酸扭体次数(Santos et al 2000),而宜宾油樟叶挥发油的主成分 1,8-桉叶油素,是否是油樟叶挥发油镇痛的主要活性物质还有待进一步研究。

小鼠的电热板实验为热刺激致痛,引起的是躯体体表痛,主要是用于筛选中枢性镇痛药物。本研究结果表明,中剂量和低剂量的油樟叶挥发油都能延长小鼠舔后足时间,提高小鼠对热板的耐受力,两个浓度的镇痛效果相当,而高剂量却没有明显的作用,说明在一定范围内浓度和镇痛效果之间并不呈

现明显正相关,高浓度反而会削弱镇痛活性,由此可见,当油樟叶挥发油作为中枢镇痛药物时,其对浓度依赖性小。醋酸扭体试验是化学刺激剂致痛,引起的是内脏痛,主要是用于筛选外周镇痛药物。给予不同剂量的油樟叶挥发油的小鼠扭体次数均低于对照组,尤其是高剂量组和中剂量与溶剂对照组和油樟叶低剂量组有显著差异,提示油樟叶挥发油具有良好的外周镇痛活性,该生物学活性可能与 1,8-桉叶油素相关(Le *et al.* 2001)。

参考文献:

- A dzu B, Amos S, Kapu SD, *et al.* 2003. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of *Sphaeranthus senegalensis* [J]. *J Ethnopharmacol*, **84**(2-3): 169-173
- Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR *et al.* 1995. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids [J]. *J Ethnopharmacol*, **48**(2): 77-83
- Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. 2001. Animal models of nociception [J]. *Pharmacol Rev*, **53**(4): 597-652
- Lee HJ, Hyun EA, Yoon WJ, *et al.* 2006. *In vitro* anti-inflammatory and anti-oxidative effects of *Cinnamomum camphora* extracts [J]. *J Ethnopharmacol*, **103**(2): 208-216
- Ling J, Liu WY. 1996. Cytotoxicity of two new ribosome-inactivating proteins, cinnamomin and camphorin, to carcinoma cells [J]. *Cell Biochem Funct*, **14**(3): 157-161
- Luo ZJ(罗中杰), Li WY(李维一), Wei Q(魏琴), *et al.* 2001. The status Quo and future of *Cinnamomum longepaniculatum* in Yibin(宜宾油樟的现状及其未来) [J]. *J Sichuan Norm Univ* (四川师范大学学报). **24**(3): 317-319
- Santos FA, Rao VS. 2000. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils [J]. *Phytother Res*, **14**(4): 240-244
- Wei Q(魏琴), Li Q(李群), Luo Y(罗扬), *et al.* 2006. Antifungal activity of leaf essential oil from *Cinnamomum longepaniculatum*(油樟油对植物病原真菌活性的抑制作用) [J]. *Chin J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), **28**(1): 63-66
- Wei Q(魏琴), Zhou YK(周宇科), Zhou LJ(周黎军), *et al.* 2009. Inhibitive activity of *Cinnamomum* oil against bacteria(油樟油抑制细菌生长的活性试验) [J]. *Chin J Trop Agric* (热带农业科学), **29**(1): 5-7
- Xu H, Liu WY. 2004. Cinnamomin-a versatile type II ribosome-inactivating protein [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, **36**(3): 169-176

(上接第 459 页 Continue from page 459)

Nine genes had been screened by this method and had been used in studying gene expression in early embryogenesis of tobacco. They had high similarity to known database. Now, we are carrying out verification of the genes screened to determine their biological function. In addition, we will also compare the screened genes with tobacco genome which have been publicized to open function in March 2012 in *Nicotiana tomentosiformis* Goodspeed genome and *Nicotiana glauca* genome for further obtaining some valuable information.

The study would provide an effective and applied way to find molecular markers for preponderant expression in zygotes.

References:

- Bindler G, Hoeven R, Irfan GI. 2007. A microsatellite marker based linkage map of tobacco [J]. *Theoret Appl Gen*, **114**: 341-349
- Davis DL, Nielsen MT. 1999. Tobacco-Production, Chemistry and Technology [M]. Oxford: Blackwell
- He C, Poysa V, Yu K. 2003. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars [J]. *Theoret Appl Gen*, **106**: 363-373
- Huang X, Madan A. 1999. CAP3: a DNA sequence assembly program [J]. *Gen Resh*, **9**: 868-877
- Jiang D, Zhang GY, Hong QB. 2006. Analysis of microsatellites in *Citrus unigenes* [J]. *Acta Gen Sin*, **33**(4): 345-353
- Milbourne D, Meyer RC, Collins AJ, *et al.* 1998. Isolation, characterization and mapping of simple sequences repeat loci in potato [J]. *Mol & Gen Gen*, **259**: 233-245
- Morgante M, Olivieri AM. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics [J]. *Plant J*, **3**: 175-182
- Powell W, Machray GC, Provan J. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats [J]. *Trends Plant Sci*, **1**: 215-222
- Smulders MJM, Bredemeijer G, Rus-Kortekaas W, *et al.* 1997. Use of short microsatellites from database sequences to generate polymorphisms among *Lycopersicon esculentum* cultivars and accessions of other *Lycopersicon* species [J]. *Theoret Appl Gen*, **94**: 264-272
- Scott KD, Egger P, Seaton G, *et al.* 2000. Analysis of SSRs derived from grape ESTs [J]. *Theoret Appl Gen*, **100**: 723-726