



# 当归-川芎配伍对小鼠原发性痛经的影响

王欢, 唐于平\*, 郭建明, 丁安伟\*, 李伟霞, 姜玮, 段金廛

(南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室, 江苏 南京 210046)

**[摘要]** **目的:**通过观察当归-川芎不同配比(1:0, 2:1, 1.5:1, 1:1, 1:1.5, 1:2, 0:1)、不同制法(水提液、50%醇提液、先水提后95%醇提液)对痛经模型小鼠的影响,初步探讨当归、川芎药对的配伍用方机制。**方法:**采用原发性痛经模型小鼠,观察药物对小鼠30 min内扭体次数及对子宫匀浆中NO和Ca<sup>2+</sup>含量的影响。**结果:**不同制法当归、川芎药对,先水提后醇提液作用最强,醇提液次之,水提液最弱;不同配比当归、川芎药对,先水提后醇提液及醇提液的1.5:1配比作用最强;其不仅能显著降低痛经模型小鼠的扭体次数,而且能显著增加子宫组织内NO含量,降低Ca<sup>2+</sup>含量。**结论:**当归-川芎配比用量不同,制法用法不同,对痛经模型小鼠的镇痛作用强度所呈现的趋势不同可能与其所溶出的效应物质有关。

**[关键词]** 当归;川芎;配比;制法;原发性痛经

当归、川芎分别为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels、川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根及根茎。当归性柔而润,补血调经、活血止痛、祛瘀消肿、润燥滑肠;川芎辛温香窜,行气活血、祛风止痛。二药常伍用,用于养血调经、行气活血、散瘀止痛。历代许多用于调经止痛的妇科良方如四物汤及其类方均含有这2味药,它们本身也组成妇科方剂,但当归川芎配伍比例与用法的不同,其功效也有差异。实验室在前期研究工作<sup>[1-2]</sup>基础上,选择对小鼠原发性痛经模型的影响作为评价指标,比较当归和川芎7种配比(1:0, 2:1, 1.5:1, 1:1, 1:1.5, 1:2, 0:1)与3种提取方法(水提取来模拟水煮,用50%醇提取模拟酒水煎煮,先水提再95%醇提近似模拟散剂)的提取液的功效差异,为当归-川芎药对的配伍用方机制研究提供一定的依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 清洁级雌性ICR小鼠,体重18~22 g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,合格证号SCXK(沪)2007-0005。

**1.2 药物** 当归为伞形科植物当归 *A. sinensis* 的

干燥根,来源于甘肃岷县;川芎为伞形科植物川芎 *L. chuanxiong* 的干燥根茎,来源于四川彭州。并经南京中医药大学段金廛教授鉴定。称取当归川芎不同配比(1:0, 2:1, 1.5:1, 1:1, 1:1.5, 1:2, 0:1)混合药材各6 kg,每个配比再均分成3份,每份2 kg分别进行热回流水提取、热回流50%醇提取和先水提再用95%醇提,提取液浓缩干燥成浸膏。

**1.3 试剂与仪器** 苯甲酸雌二醇注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号0904201);缩宫素注射液(上海第一生化药业有限公司,批号090206);西乐葆(辉瑞制药有限公司,批号BK081004);钙离子及一氧化氮测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号20090717);Power Wave 340酶标仪(Bio-TEK,美国)。

## 2 方法

**2.1 小鼠原发性痛经模型的建立<sup>[3]</sup>** 选用ICR种雌性小鼠,体重18~22 g,随机分组,每组10只。以雌激素和缩宫素联合复制原发性痛经模型。以0.01 mg·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>给小鼠连续ip苯甲酸雌二醇8 d,使小鼠子宫同步化。第8天,ip缩宫素0.01 mL·g<sup>-1</sup>,制造小鼠原发性痛经动物模型。

**2.2 对痛经模型小鼠扭体的抑制作用** 本实验参考了四物汤中当归川芎的用量(18 g),依据体表面积折算给药剂量,相当于人的12倍临床生药量。在预实验中,作者选择了当归川芎(1:0, 1:1, 0:1)3种制法,分别考察了临床等效量的5, 2.5, 1.25, 0.625倍生药量对痛经模型小鼠扭体作用的影响。根据结果选择了临床等效量的2.5倍生药量(此剂量下,

**[收稿日期]** 2009-11-11

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30873235);江苏省自然科学基金项目(BK2008455);江苏省高校自然科学重大基础研究项目(06KJA36022, 07KJA36024);江苏省“六大人才高峰”项目(06-C-020, 07-C-010);南京中医药大学基础研究与重点培育专项基金项目(08XPY03)

**[通信作者]** \*唐于平, E-mail: yupingtang@njutcm.edu.cn; \*丁安伟, E-mail: ltcmf@njutcm.edu.cn

药物对小鼠镇痛作用最强),经折算给药组给药剂量为生药量  $9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

实验分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组、当归川芎(1:0,2:1,1.5:1,1:1,1:1.5,1:2,0:1)水提液组(A组),醇提液组(B组),先水提后醇提液组(C组),共 24 组。按 2.1 方法复制原发性痛经模型(正常对照组给予等量的生理盐水),从第 6 天起,模型组与正常组每只给予生理盐水 0.4 mL,阳性组给予西乐葆  $0.041 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,其余各组灌胃相应药物,连续 3 d,第 7 天晚至第 8 天给药前,禁食不禁水,于末次给药后 30 min,ip 缩宫素,记录注射后 30 min 内小鼠扭体次数。并计算扭体反应抑制率,抑制率 = (模型组小鼠扭体次数 - 给药组小鼠扭体次数) / 模型组小鼠扭体次数  $\times 100\%$ 。

**2.3 检测指标** 子宫匀浆中 NO 和  $\text{Ca}^{2+}$  的含量按试剂盒说明书进行操作。

**2.4 数据处理** 实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,所有数据采用统计学 SPSS 软件处理,组间比较采用 *t* 检验。

### 3 结果

**3.1 对痛经模型小鼠扭体反应的影响** 与模型组比较,当归川芎(1:0,1.5:1,1:1.5,1:2)先水提后醇提液以及(1.5:1)醇提液对痛经模型小鼠扭体反应具有非常显著的抑制作用( $P < 0.01$ ),当归川芎(1:2)水提液,(1:0,1:1,1:1.5,1:2)醇提液以及(2:1,1:1,0:1)先水提后醇提液也对其具有显著性作用( $P < 0.05$ )。不同制法当归川芎药对,先水提后醇提液及醇提液效果较好,且在 1.5:1 配比下其抑制作用最佳(表 1)。

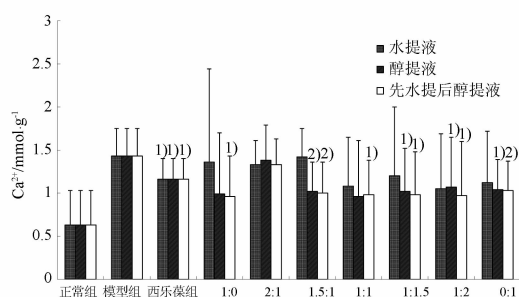
**3.2 对痛经模型小鼠子宫组织中  $\text{Ca}^{2+}$  水平的影响** 与正常组比较,模型组小鼠子宫内  $\text{Ca}^{2+}$  水平显著增加。给药后,与模型组相比小鼠子宫内  $\text{Ca}^{2+}$  水平有所降低,其中当归川芎(1.5:1,0:1)先水提后醇提液以及(1.5:1)醇提液与模型组具有极显著差异( $P < 0.01$ ),而当当归川芎(1:0,1:1,1:1.5,1:2)先水提后醇提液以及(1:1.5,1:2,0:1)醇提液与模型组比较具有显著性差异( $P < 0.05$ )。不同制法的当归川芎药对,先水提后醇提液与醇提液作用总体上强于水提液(图 1)。

**3.3 对痛经模型小鼠子宫组织中 NO 水平的影响** 与正常组比较,模型组小鼠子宫内 NO 水平显著降低。给药后,与模型组相比小鼠子宫内 NO 水平有所升高,其中当归川芎(1:0,1.5:1,1:1.5)先水

表 1 当归川芎药对不同配比与不同制法对痛经模型小鼠的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别      | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 扭体次数                         | 抑制率/% |
|---------|-------------------------------------|------------------------------|-------|
| 模型      | -                                   | 13.7 $\pm$ 7.10              |       |
| 西乐葆     | 0.041                               | 4.2 $\pm$ 3.74 <sup>2)</sup> | 69.34 |
| A 组 1:0 | 9                                   | 8.7 $\pm$ 6.11               | 36.50 |
| 2:1     | 9                                   | 8.4 $\pm$ 6.54               | 38.69 |
| 1.5:1   | 9                                   | 9.8 $\pm$ 7.79               | 28.47 |
| 1:1     | 9                                   | 8.1 $\pm$ 9.71               | 40.88 |
| 1:1.5   | 9                                   | 7.9 $\pm$ 5.26               | 42.34 |
| 1:2     | 9                                   | 7.4 $\pm$ 5.06 <sup>1)</sup> | 45.99 |
| 0:1     | 9                                   | 8.6 $\pm$ 4.35               | 37.23 |
| B 组 1:0 | 9                                   | 7.4 $\pm$ 5.82 <sup>1)</sup> | 45.99 |
| 2:1     | 9                                   | 7.9 $\pm$ 5.07               | 42.34 |
| 1.5:1   | 9                                   | 5.1 $\pm$ 4.98 <sup>2)</sup> | 62.77 |
| 1:1     | 9                                   | 7.5 $\pm$ 6.04 <sup>1)</sup> | 45.26 |
| 1:1.5   | 9                                   | 6.7 $\pm$ 6.38 <sup>1)</sup> | 51.09 |
| 1:2     | 9                                   | 6.8 $\pm$ 3.79 <sup>1)</sup> | 50.36 |
| 0:1     | 9                                   | 7.9 $\pm$ 7.02               | 42.34 |
| C 组 1:0 | 9                                   | 6.1 $\pm$ 3.45 <sup>2)</sup> | 55.47 |
| 2:1     | 9                                   | 7.3 $\pm$ 5.54 <sup>1)</sup> | 46.72 |
| 1.5:1   | 9                                   | 4.0 $\pm$ 2.83 <sup>2)</sup> | 70.80 |
| 1:1     | 9                                   | 7.1 $\pm$ 5.15 <sup>1)</sup> | 48.18 |
| 1:1.5   | 9                                   | 6.3 $\pm$ 4.24 <sup>2)</sup> | 54.01 |
| 1:2     | 9                                   | 6.0 $\pm$ 3.20 <sup>2)</sup> | 56.20 |
| 0:1     | 9                                   | 6.7 $\pm$ 5.60 <sup>1)</sup> | 51.09 |

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。



与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (图 2 同)。

图 1 当归川芎药对不同配比与不同制法对痛经模型小鼠子宫组织中  $\text{Ca}^{2+}$  水平的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

提后醇提液以及(1.5:1)醇提液与模型组具有极显著差异( $P < 0.01$ ),而当当归川芎(1:2,0:1)先水提后醇提液与模型组比较具有显著性差异( $P < 0.05$ )。不同制法的当归川芎药对,作用强度总体上呈现先水提后醇提液强于其他 2 种提取液的趋势(图 2)。

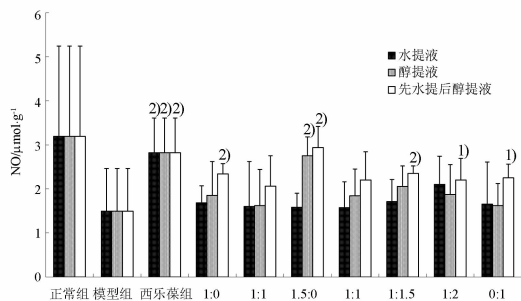


图 2 当归、川芎药对不同配比与不同制法对痛经模型小鼠子宫组织中 NO 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

综合以上结果可知,当归川芎(1.5:1)醇提液以及(1:0,1.5:1,1:1.5,1:2,0:1)先水提后醇提液对痛经模型小鼠具有显著的镇痛作用,不同配比当归川芎药对中,(1.5:1)醇提液和先水提后醇提液作用强于其他各配比药液;不同制法当归川芎药对中,先水提后醇提液作用最强,醇提液次之,水提液最弱。

#### 4 讨论

当归中主要含有挥发油(藁本内酯)、酚(酸)性成分以及当归多糖、多种氨基酸及人体所必需的多种元素,川芎主要含有内酯类、酚(酸)性成分及含氮化合物如川芎嗪等。研究显示,当归挥发油对于催产素诱导的痉挛性子官呈单向抑制作用,而对正常状态的子宫平滑肌呈现双向性作用<sup>[4-6]</sup>。一定剂量当归粗多糖可减少己烯雌酚和缩宫素引起痛经模型中诱发的小鼠扭体反应次数,大剂量显著降低扭体发生率<sup>[7]</sup>。杨瑜等<sup>[8]</sup>发现当归中起镇痛作用的主要物质除阿魏酸钠外,在极性较大的水洗脱部分仍含有镇痛活性更大的物质。而川芎中也含有大量的抑制子宫收缩的苯酞内酯类成分。

在前期的研究中<sup>[9]</sup>,本课题组主要考察了挥发性成分对离体子宫的收缩作用,采用小鼠离体子宫收缩模型评价当归川芎不同配比药对挥发性成分的生物效应,结果发现,不同配比当归、川芎药对挥发油对小鼠离体子宫收缩效应强弱依次为:当归-川芎(2:1) > 当归-川芎(3:1) > 当归-川芎(1:1) > 当归-川芎(3:2),并且发现其功效的差异可能与挥发油中的组成成分的比例差异有关,进而推测出内酯类成分可能为抑制子宫收缩的主要活性成分。

以上研究侧重于对当归川芎药对中挥发性成分的效应研究,为反映当归川芎药对中多种化学类型

成分(有机酸、多糖、内酯等)对原发性痛经模型小鼠的影响,本实验对当归川芎药对水提液、醇提液、先水提后醇提液进行了研究。痛经时细胞外  $Ca^{2+}$  内流导致细胞内  $Ca^{2+}$  增多,且 NO 水平有所降低,进而导致血管和子宫肌膜的收缩,子宫内膜供血不足<sup>[10]</sup>。血管和子宫肌膜收缩时所需要的  $Ca^{2+}$  主要来自细胞外,子宫收缩与外部  $Ca^{2+}$  内流以及 NO 水平降低有关<sup>[11-12]</sup>。因此,  $Ca^{2+}$  和 NO 水平与痛经的发生有着重要的联系。本研究观察了当归川芎各制法各配比对原发性痛经模型小鼠扭体及子宫组织中  $Ca^{2+}$  和 NO 水平的影响,并以此评价其对模型小鼠的镇痛作用。

结果发现,不同配比不同制法当归川芎药对对原发性痛经模型小鼠扭体及子宫组织中  $Ca^{2+}$  和 NO 水平具有不同程度的影响。其作用强度呈现出以下趋势:当归川芎 3 种配比中,1.5:1 配比药效最强,这与传统治疗痛经方剂中常出现的配比相一致,如佛手散、神验胎动方(1.5:1),其功效均主要侧重于养血调经;当归川芎药对 3 种制法中,先水提后醇提液药效最强,醇提液次之,水提液最弱。3 种制法中,水提取使当归和川芎中的水溶性物质如多糖、有机酸,以及其他具有很强镇痛活性的水溶性物质很好的溶出,而醇提取则是将脂溶性物质如内酯类(苯酞内酯)、芳香酸(阿魏酸)等很好的溶出,先水提后醇提取能使药物中的水溶性与脂溶性成分均能溶出。本实验结果表明不同提取方法具有不同作用特点,提示不同提取液作用强度的不同与有效成分的溶出情况有关,而先水提后醇提取效果最好,说明水溶性成分与脂溶性成分对痛经模型小鼠的影响可能具有协同作用。

综上所述,当归川芎配比用量不同,制法用法不同,对痛经模型小鼠具有一定的镇痛作用,且强度亦有差别。其作用差别与其所含的有效物质群具有一定的关联,为进一步阐明当归川芎药对的配伍用方机制奠定了基础。

#### [参考文献]

- [1] 王欢,唐于平,丁安伟,等. 当归-川芎药对不同配比的中医应用数据分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15 (11): 44.
- [2] 宿树兰,尚尔鑫,叶亮,等. 治疗痛经方药的关联规则分析[J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24 (6): 383.
- [3] 孙海燕,曹永孝,刘静,等. 小鼠痛经模型的建立[J]. 中国药理学通报, 2002, 18 (2): 233.



- [4] 肖军花, 周健, 丁丽丽, 等. 当归挥发油对子宫的双向作用及其活性部位筛选[J]. 华中科技大学学报:医学版, 2003, 32(6): 586.
- [5] 闫升, 乔国芳, 刘志峰, 等. 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.
- [6] 杜俊蓉, 白波, 余彦, 等. 当归挥发油研究新进展[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(18): 1400.
- [7] 乐江, 彭仁, 孔锐, 等. 当归粗多糖镇痛作用的实验研究[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(10): 746.
- [8] 杨瑜, 查仲玲, 朱蕙, 等. 当归提取物的镇痛作用[J]. 医学导报, 2002, 21(8): 481.
- [9] 宿树兰, 华永庆, 段金殿, 等. 当归-川芎挥发性成分与其抗子宫痉挛活性相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 64.
- [10] Dawood M Y. Primary dysmenorrhea: Advances in pathogenesis and management[J]. Obstet Gynecol, 2006, 108(2): 428.
- [11] Izumi H, Garfield R E. Relaxant effects of nitric oxide and cyclic GMP on pregnant rat uterine longitudinal smooth muscle[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1995, 60(2): 171.
- [12] Sun M F, Huang H C, Lin S C, et al. Evaluation of nitric oxide and homocysteine levels in primary dysmenorrheal women in Taiwan[J]. Life Sci, 2005, 76(17): 2005.

## Antidysmenorrheic effects of Radix Angelica and Rhizoma Chuanxiong with different proportions and preparation methods on dysmenorrhea model mice

WANG Huan, TANG Yuping\*, GUO Jianming, DING Anwei\*, LI Weixia, JIANG Wei, DUAN Jiniao  
 (Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research,  
 Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Radix Angelica and Rhizoma Chuanxiong with different proportions (1:0, 2:1, 1.5:1, 1:1, 1:1.5, 1:2, 0:1), different extraction in order (by water, by ethanol, firstly by alcohol then by water) on dysmenorrhea model mice in order to observe their compatibility rules and material foundation. **Method:** The mice model of primary dysmenorrhea was used to study the effect of Radix Angelica and Rhizoma Chuanxiong with different proportions and preparation methods on writhing response and the levels of nitric oxide and calcium ion in mice uterine tissue. **Result:** Danggui-Chuanxiong (1.5:1) and solution extracted firstly by alcohol then by water showed the strongest effect on primary dysmenorrhea by reducing the writhing times, increasing nitric oxide (NO) concentration and reducing calcium ion ( $Ca^{2+}$ ) concentration in uterine tissue. **Conclusion:** Radix Angelica and Rhizoma Chuanxiong with different proportions and preparation methods showed different antidysmenorrheic trend on dysmenorrhea model mice, which was related with the containing constituents.

[Key words] Radix Angelica; Rhizoma Chuanxiong; proportion and preparation method; dysmenorrhea

doi: 10.4268/cjcm20100720

[责任编辑 张宁宁]