

# 不同炮制法对广西五月艾总黄酮含量及镇痛作用的影响

覃文慧, 黄克南, 黄慧学\*

(广西中医学院药学院, 南宁 530001)

**[摘要]** 目的: 探讨不同炮制方法对广西五月艾总黄酮含量及镇痛作用的影响。方法: 采用紫外分光光度法测定总黄酮含量; 采用热板法、扭体法观察不同五月艾炮制品对小鼠的镇痛作用。结果: 不同炮制品中广西五月艾总黄酮含量大小为酒炙品 > 醋炙品 > 生品。醋炙品中总黄酮含量较生品提高 6.60%, 酒炙品则提高 7.46%; 扭体法中, 醋炙组镇痛率较生品提高 27.11%, 酒炙组则提高 29.11%; 热板法中, 广西五月艾醋炙品和酒炙品较生品对热板致痛能大幅提高止痛作用。结论: 广西五月艾生品、醋炙品、酒炙品对冰乙酸所致的小鼠扭体反应有明显的抑制作用, 均能提高对小鼠不同时段热板致痛的痛阈。

**[关键词]** 广西五月艾; 炮制; 总黄酮; 镇痛

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0051-03

## Affect of Different Processing Methods on Flavonoids Content and Analgesic Effect in *Artemisiae indica* from Guangxi

QIN Wen-hui, HUANG Ke-nan, HUANG Hui-xue\*

(College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To discuss affect of different processing methods on the content of total flavonoids and analgesic effect in *Artemisiae indica*. **Method:** The content of total flavonoids from *A. indica* was determined by ultraviolet spectrophotometer; Analgesic effect of different processed products on mice was conducted by twisting test and hot plate method. **Result:** The content of total flavonoids from different processed products of *A. indica* was as follows: wine-fried > vinegar-fried > raw products. Compared with raw products, the content of total flavonoids from vinegar fried products increased by 6.60%, wine fried products increased by 7.46%; In twisting method, analgesic ratio of vinegar fried products increased by 27.11% as raw products, wine fried products increased by 29.11%; In hot plate method, analgesic effect of vinegar fried products and wine fried products was improved greatly as raw products, which was caused by hot plate. **Conclusion:** Raw products, vinegar fried products and wine fried products of *A. indica* had obvious inhibition on twisting response in mice which was caused by glacial acetic acid, they all could increase the pain threshold caused by hot plate of different periods in mice.

**[Key words]** *Artemisiae indica*; processing; total flavonoids; analgesic

五月艾味辛、微苦,性微温,归脾、肝、肾经,主要用于偏头痛、月经不调、崩漏下血、风湿痹痛、疟疾等症<sup>[1-2]</sup>。五月艾在广西各地广泛分布,多以野生为

主,常替代同科植物艾 *Artemisia argyi* Lévl. Et Vant. 使用,或混入其中,或制成艾灸<sup>[3]</sup>。《广西中药饮片炮制规范》中记载五月艾有醋炙、酒炙等多种炮制方法,且醋炙入肝,能治心腹疼痛、痛经、安胎;酒炙温经散寒,调经止痛<sup>[4]</sup>。二者均能增强其止痛效果。为进一步探讨五月艾炮制的意义,本文对五月艾生品及不同炮制品中总黄酮含量和其镇痛作用进行比较。

### 1 材料

UV160 型紫外分光光度仪(日本岛津),芦丁对

**[收稿日期]** 20120212(004)

**[基金项目]** 广西科技基础条件平台建设项目(桂科能 0907006)

**[第一作者]** 覃文慧,讲师,博士生,从事临床中药学研究, Tel: 13377130060, E-mail: 245011645@qq.com

**[通讯作者]** \* 黄慧学,副教授,博士,从事中药新药研发, Tel: 13481055197, E-mail: hhx123@yahoo.com.cn

照品(中国药品生物制品检定所,批号 100080-200707)。罗通定注射液(广东博罗先峰药业集团有限公司生产,批号 20071009)。

广西五月艾采集于广西南宁市郊三塘,经本院韦松基教授鉴定为五月艾 *Artemisia indica* Willd. 的叶。昆明种小鼠,雌性,体重(20 ± 2)g,由广西医科大学动物试验中心提供,实验动物使用许可证号 SCXK(桂)2009-0002。试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 炮制品的制备

**2.1.1 醋炙品** 取生五月艾叶,加醋拌匀(每 100 g 叶用米醋 15 g),稍闷,置锅内用文火炒至微焦,取出,放凉,即得。

**2.1.2 酒炙品** 取生五月艾叶,用酒喷润透(每 100 g 叶用白酒 20 g),置锅内用文火炒干,取出放凉,即得。

### 2.2 总黄酮含量测定<sup>[5]</sup>

**2.2.1 标准曲线的绘制** 精密称取 120 °C 干燥至恒重的芦丁对照品适量,加 60% 乙醇溶解,稀释并定容,制成质量浓度为 0.105 g·L<sup>-1</sup> 的芦丁对照品溶液,备用。分别精密吸取芦丁对照品溶液 0.00, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,分别加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.30 mL, 摇匀,静置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 0.30 mL, 摇匀,静置 6 min,加 4% 氢氧化钠溶液 4.00 mL,用 60% 乙醇稀释至刻度,摇匀,静置 12 min。以试剂作空白参比液,于 510 nm 测定吸光度(A)。得回归方程  $A = 0.0134C - 0.0303$  ( $r = 0.9993$ ),结果表明芦丁在 5.25 ~ 52.5 mg·L<sup>-1</sup> 与 A 线性良好。

**2.2.2 总黄酮含量的测定** 精密称取五月艾生品、醋炙品和酒炙品各 5 g,超声提取 2 次,每次用 95% 乙醇 100 mL,超声 15 min。滤过,合并超声液,减压回收乙醇至约 25 mL,置 250 mL 量瓶中,用 60% 乙醇稀释至刻度,得供试品溶液。精密吸取供试品溶液 1.00 mL,置 10 mL 量瓶中,按 2.2.1 项下自“加入 5% 亚硝酸钠溶液”测定吸光度,计算三者中总黄酮含量依次为 10.45%, 11.14%, 11.23%, 即醋炙品中总黄酮含量较生品提高 6.60%, 酒炙品则提高 7.46%。

### 2.3 镇痛作用比较试验

**2.3.1 供试品的制备** 取五月艾生品、醋炙品或酒炙品各 15 g,用 95% 乙醇 300 mL 超声提取 2 次,每次 15 min。滤过,合并超声液,减压回收乙醇至近干,加 15 mL 蒸馏水超声溶解,备用,即得生药质量浓度 1 g·mL<sup>-1</sup> 的溶液。

**2.3.2 扭体法** 取小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,即空白对照组(生理盐水),阳性对照组(罗通定 40 mg·kg<sup>-1</sup>),广西五月艾醇提液的生品组、醋炙组和酒炙组。给药剂量为 20 mL·kg<sup>-1</sup>,连续灌胃给药 3 d,每天 1 次。末次给药后 60 min,每只小鼠按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 的剂量腹腔注射 0.6% 乙酸溶液,观察并记录给醋酸后 15 min 内扭体反应次数,计算镇痛率。结果发现广西五月艾生品、醋炙品、酒炙品对冰醋酸所致的小鼠扭体反应有明显的抑制作用,15 min 内扭体反应次数与空白组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。其中,醋炙组镇痛率较生品提高 27.11%, 酒炙组则提高 29.11%。结果见表 1。

表 1 广西五月艾生品、醋炙品和酒炙品  
对小鼠冰醋酸致痛的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	扭体次数/次	镇痛率/%
空白	-	14.06 ± 8.27	-
罗通定	0.04	3.97 ± 1.94 <sup>2)</sup>	71.76
艾生品	20	9.56 ± 5.07 <sup>1)</sup>	32.01
艾醋炙	20	8.34 ± 5.22 <sup>1)</sup>	40.68
艾酒炙	20	8.25 ± 4.61 <sup>1)</sup>	41.32

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (表 3 同)。

**2.3.3 热板法** 取小鼠经热板(55 ± 0.5) °C 痛阈筛选,弃去反应过于敏感(3 s 出现痛觉反应)和反应过于迟钝(30 s 内无痛反应)的动物。50 只小鼠按痛阈均分为 5 组,每组 10 只,组别、给药剂量、给药途径及给药时间均同 2.3.2 项。末次给药后于 30, 60, 90 min 分别观测药物对小鼠热板痛阈的影响。结果显示,广西五月艾生品、醋炙品和酒炙品均能对小鼠不同时段热板致痛的痛阈有所提高,其中醋炙品和酒炙品较生品对热板致痛能大幅提高止痛作用 ( $P < 0.01$ )。结果见表 2。

## 3 讨论

广西五月艾主要含挥发油、黄酮类及鞣质类等成分。张学兰等<sup>[6]</sup>研究表明艾叶生品经加热炮制后挥发油含量明显降低。蒋纪洋<sup>[7]</sup>对艾叶不同炮制品的挥发油进行测定比较,结果认为炒焦、炒炭、醋炒炭及焖煨炭的挥发油含量均比生艾叶低。但试验中发现广西五月艾炮制后治疗疼痛证作用更显著,说明炮制后其他有效成分含量有所变化,其中鞣质类成分多用于止血,故本研究选用黄酮类成分作为指标性成分。结果酒炙品和醋炙品中总黄酮含量均高于生品,推测可能由于醋和酒为有机溶制,经酒制、醋制后五月艾总黄酮易于溶出;且不易于溶于水

表2 广西五月艾生品、醋炙品和酒炙品对小鼠热板致痛的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	给药后痛阈/s(较空白组痛阈提高率/%)		
		30 min	60 min	90 min
空白	-	16.56 ± 8.53	17.03 ± 5.33	17.19 ± 6.20
罗通定	0.04	48.62 ± 16.11 <sup>2)</sup> (193.6)	60.03 ± 20.72 <sup>2)</sup> (252.5)	52.94 ± 7.42 <sup>2)</sup> (208.0)
艾生品	20	21.56 ± 4.86(30.2)	25.46 ± 5.17 <sup>1)</sup> (49.5)	24.45 ± 3.93 <sup>1)</sup> (42.2)
艾醋炙	20	36.85 ± 11.22 <sup>2)</sup> (122.5)	43.05 ± 17.30 <sup>2)</sup> (152.8)	44.53 ± 15.47 <sup>2)</sup> (159.0)
艾酒炙	20	40.51 ± 8.64 <sup>2),3)</sup> (144.6)	48.92 ± 20.94 <sup>2),3)</sup> (187.3)	50.40 ± 18.53 <sup>2),3)</sup> (193.2)

注:与醋炙组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

的有效成分经酒制、醋制后可与乙醇分子、醋的某些成分形成结合物,增加了有效成分的亲水性,有利于有效成分的溶出。总黄酮是广西五月艾镇痛的主要有效成分之一,本实验酒炙品中总黄酮含量较高且药效较好,其量效关系有待进一步探讨。

中药炮制目的是减毒、增效,其中增强止痛效果最常用方法是醋炙和酒炙,《广西中药饮片炮制规范》中五月艾采用的正是这2种炮制方法。醋能引药入肝、理气、止血,对行水、消肿、解毒、散瘀止痛、矫味矫臭均有辅助作用<sup>[8]</sup>。《中药炮制经验集成》载:“(艾叶)生用温经通络,炒制暖宫安胎,醋制收敛止痛,制炭用于散寒止血<sup>[9]</sup>。”《本草蒙筌》中云:“用醋注肝,且资住痛”。根据中医学五味入五脏之“酸入肝”的理论,经醋制后入肝经更专,使得筋脉得到温煦及濡养,筋脉挛缩得缓,气血瘀滞得通,使温中止痛作用提高。《本草纲目》香附子项下载有“酒浸炒则行经络”。同时试验证明延胡索醋制后有明显镇痛作用<sup>[10]</sup>。酒炙后温热之药性增强则驱寒凝作用更明显,辛散之药性增强则通经脉作用提高,根据中医的“通则不痛,通则不痛”的理论,寒凝得解,瘀滞经脉得通,疼痛症状缓解更明显。王祝举<sup>[11]</sup>等认为酒炒当归辛温,能增强活血散瘀之功。本实验结果表明广西五月艾经醋炙、酒炙后均有较显著的镇痛作用,与中医理论相符。

## [参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:675.
- [2] 罗献瑞. 实用中草药彩色图集. 第3册[M]. 广州:广东科学出版社,1994:12.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2010:82.
- [4] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区中药饮片炮制规范[S]. 广西:广西科学技术出版社,2007:84.
- [5] 陆海峰,罗建华,张丽丹,等. 桂西艾叶总黄酮的超声波提取工艺研究[J]. 微量元素与健康研究,2007,24(5):21.
- [6] 张学兰,吴美娟. 炮制对艾叶主要成分及止血作用的影响[J]. 中药材,1992,15(2):22.
- [7] 蒋纪洋. 艾叶炮制研究初探[J]. 中药材,1987(2):30.
- [8] 李先端,顾雪竹,毛淑杰. 醋的历史沿革及其保健功能[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,18(17):295.
- [9] 中医研究院中药研究所. 中药炮制经验集成[M]. 北京:人民卫生出版社,1974:256.
- [10] 程立平,顾雪竹,毛淑杰. 不同类型醋对小鼠的急性毒性及炮制延胡索镇痛作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2):71.
- [11] 王祝举,唐力英,宋秉生,等. 当归炮制历史沿革研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(3):135.

[责任编辑 全燕]