

不同炮制方法对广西莪术姜黄素成分及镇痛抗炎的影响

覃葆, 谢金鲜*, 杨海玲, 邓欢, 史勤怡
(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莪术姜黄素含量及镇痛抗炎作用的影响。方法:HPLC 测定广西莪术生品、醋煮品、醋炙品姜黄素的含量;采用小鼠耳廓肿胀法、腹腔染料渗出法研究其抗炎作用;采用热板法、扭体法观察其镇痛作用。结果:广西莪术各炮制品姜黄素的含量为生品 > 醋炙品 > 醋煮品;醋制炮制后具有较强的抗炎、镇痛作用。结论:不同炮制方法对广西莪术质量有一定的影响。

[关键词] 广西莪术;炮制;姜黄素;抗炎、镇痛

[中图分类号] R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0035-04

Effect of Content of Curcumin and Anti-inflammation, Analgesic Effects on Different Processed Products of *Curuma kwangsiensis*

QIN Bao, XIE Jin-xian*, YANG Hai-ling, DENG Huan, SHI Qin-yi

(Faculty of Pharmacy of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the content of curcumin and the anti-inflammation, analgesic effects on different processed products of *Curuma kwangsiensis*. **Method:** The content of curcumin from different processed products of *C. kwangsiensis* was determined by HPLC. The anti-inflammation effect was studied with mouse auricle swelling model induced by xylene and the model with reinforce permeability of abdominal cavity capillary caused by acetic acid in mice. The analgesic was conducted by twisting test and hot plate methods. **Result:** The content of curcumin in different processed products of *C. kwangsiensis* was as follows: primitive > vinegar-fried > vinegar-cooked. Stronger inflammation and analgesic effects were found in the vinegar processed product. **Conclusion:** Different processed methods may have some affection to the quality of *C. kwangsiensis*.

[Key words] *Curuma kwangsiensis*; processed; curcumin; inflammation; analgesic

广西莪术是 2010 年版《中国药典》收载的蓬莪术、广西莪术、温郁金 3 个品种之一,是广西的地道药材。《本草纲目》记载:“多以醋炒或煮熟入药,取其引入血分也。”传统认为醋制可增强活血化瘀止痛功效,现代炮制方法主要以醋煮、醋炙为主。广西莪术炮制前后均有较强的抗菌作用^[1]。挥发油及姜黄

素是莪术镇痛抗炎的主要活性成分^[2]。本文比较不同炮制方法对广西莪术姜黄素成分的影响及采用小鼠耳廓肿胀法、腹腔染料渗出法研究其抗炎作用;采用热板法、扭体法观察其镇痛作用。探讨不同炮制方法对广西莪术质量的影响。

1 材料

广西莪术采自广西灵山县,经广西中医学院韦松基教授鉴定,为姜科植物广西莪术 *Curuma kwangsiensis* 的根茎。昆明种小白鼠,由广西中医学院实验动物中心提供,使用许可证号 SYXK〈桂〉2003-0001。

姜黄素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110823-200603)。醋酸地塞米松(江苏东台市制药

[收稿日期] 20101227(002)

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 0718002-4-3)

[第一作者] 覃葆,副教授,从事中药炮制研究, E-mail: bbythemoon@yahoo.com.cn

[通讯作者] *谢金鲜,教授,从事中药药理研究, E-mail: fxm621@126.com

厂生产,批号 070823),罗通定注射液(广东博罗先锋药业集团有限公司生产,批号 20071009)。甲醇(色谱纯,天津四友生物医学技术有限公司,批号 041230101),乙腈(色谱纯, Fisher lawn, 批号 07410)。LC-20AT 型高效液相色谱仪,包括二元泵,高压梯度 UV 检测系统, Shimadzu-LC Solution 化学工作站,赛多利斯 BP211D 电子天平, Aeu-210 型电子天平。

2 方法与结果

2.1 广西莪术炮制品制备

2.1.1 生品 取原药材,大小分档,洗净,水浸润透,切薄片,干燥,筛去碎屑作为生品(饮片)。

2.1.2 醋煮品 取原药材置煮制容器内,加米醋及 3 倍量水浸没,用文火煮至醋汁被吸尽,内无白心时,取出,稍晾,切薄片,干燥。莪术每 100 kg,用米醋 20 kg。

2.1.3 醋炙品 取生品(饮片),加定量米醋拌匀,稍闷润,待醋被吸尽后,置炒制容器内,用文火加热,炒至微黄色,略带焦斑时,取出,放凉。辅料用量同上。

2.2 姜黄素的含量测定

2.2.1 色谱条件 SHIMADZU VP-ODS C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 冰醋酸(45:55),流速 1.0 mL·min⁻¹,紫外检测波长 420 nm,柱温 40 ℃,进样量 20 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取姜黄素对照品适量,精密称定,加甲醇制成 0.16 g·L⁻¹姜黄素对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取各饮片,粉碎过 60 目,分别精密称取 2.5 g,加入甲醇 100 mL,索氏回流提取 1 h,残渣再加入甲醇 100 mL,索氏回流提取 1 h,合并滤液,减压回收甲醇,用甲醇定容至 5 mL,离心冷藏备用。

2.2.4 线性关系的考察 分别精密吸取姜黄素对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 μL,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积 Y 对姜黄素对照品进样量 X(μg)进行线性回归,得回归方程 $Y = 3\,363\,435 X + 2\,858.8$ ($r = 0.9997$),姜黄素在 0.016 ~ 0.08 g·L⁻¹线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取姜黄素对照品溶液 5 μL,连续进样 6 次,姜黄素峰面积 RSD 0.086%。

2.2.6 重复性试验 按上述样品溶液制备方法

色谱条件,对同一样品(醋煮品)平行试验 6 份, RSD 1.71%,表明方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取醋煮品溶液 20 μL,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 按上述色谱条件测定峰面积,结果 RSD 1.77%,表明供试品溶液至少在 10 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批样品(生品)1.25 g,采用加样回收试验,加入等量姜黄素对照品。按 2.2.3 项下方法制成供试品溶液,按 2.2.1 项下条件测定,平行 6 份,计算回收率 99.97%, RSD 0.03%。

2.2.9 样品含量测定 按 2.2.3 项下制备供试品溶液,分别吸取各样品 20 μL,在上述色谱条件下测定,结果生品、醋煮品、醋炙品姜黄素的质量分数分别为 0.028 0, 0.018 0, 0.020 4 mg·g⁻¹ ($n = 3$),生品明显高于其他炮制品,醋炙品与醋煮品之间相差不大。

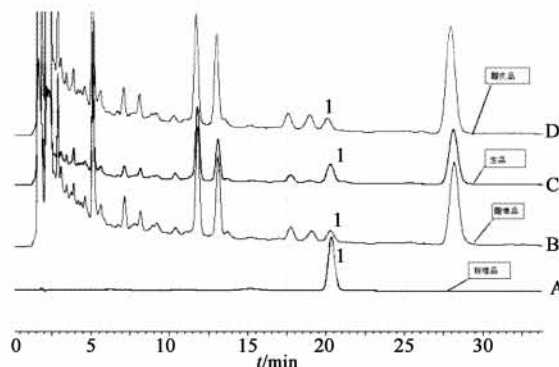


图 1 广西莪术各炮制品姜黄素 HPLC

A. 对照品; B. 醋煮品; C. 生品; D. 醋炙品; 1. 姜黄素

2.3 广西莪术各炮制品抗炎作用

2.3.1 样品制备 炮制品饮片各取 1 000 g,用水浸润 30 min,加水煎煮 3 次,每次 30 min,过滤,滤液浓缩至 500 mL,每 1 mL 浓缩液含 2 g 药材(2 g 药材/mL)。

2.3.2 对二甲苯诱发小鼠耳廓肿胀的影响 按朱氏改进法,取昆明种小白鼠 60 只,随机分为 5 组,每组 12 只。即空白对照组(NS),阳性对照组(地塞米松),莪术 3 种不同炮制品组。给药容量为 20 mL·kg⁻¹,对照组给同等容量的生理盐水,灌胃给药(ig),每天 1 次,连续 8 d。每隔 2 d 称重 1 次,根据体重调整给药剂量。末次给药后 60 min 于小鼠右耳廓滴二甲苯溶液 0.05 mL 致炎。15 min 后脱颈椎处死动物,沿耳根部剪下两耳,用 6 mm 打孔器在两

耳同部位等面积打下耳片,称重。计算小鼠耳片增重,作为肿胀度,计算抑制率。各用药组与对照组比较,进行组间 t 检验。结果显示,醋煮品对二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀有明显的抑制作用,二甲苯诱发耳廓肿胀度与空白对照组比较有显著性差异 ($P < 0.01$),抑制率为 74.1%。见表 1,2。

表 1 广西莪术不同炮制品对二甲苯诱发小鼠耳廓肿胀的影响

组别	n	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	耳廓肿胀度/ mg	抑制率/%
空白对照	11	-	5.86 ± 4.29	-
地塞米松	12	0.004 5	2.15 ± 1.58 ¹⁾	63.3
生品	9	20	2.94 ± 1.61	49.8
醋炙品	11	20	3.12 ± 1.88	46.8
醋煮品	12	20	1.48 ± 1.43 ²⁾	74.8

注:与空白对照组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;表 2 ~ 5 同。

表 2 广西莪术不同炮制品对二甲苯诱发炎症小鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	给药前/ g	给药后/ g			
			2 d	4 d	6 d	8 d
空白对照	-	19.33 ± 1.92	20.42 ± 2.35	22.92 ± 2.87	24.75 ± 3.37	27.35 ± 3.37
地塞米松	0.004 5	19.50 ± 2.32	18.83 ± 2.25	19.83 ± 2.29 ²⁾	21.27 ± 1.95 ²⁾	23.22 ± 2.51 ²⁾
生品	20	19.33 ± 1.92	20.50 ± 2.15	22.67 ± 2.71	24.17 ± 2.89	27.12 ± 3.66
醋炙品	20	19.42 ± 2.11	20.33 ± 1.92	23.58 ± 1.62	24.92 ± 2.56	26.86 ± 2.56
醋煮品	20	19.00 ± 2.04	20.17 ± 3.01	21.17 ± 3.76	24.09 ± 7.42	28.48 ± 4.39

2.3.3 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响(腹腔染料渗出法) 按朱氏改进法,取昆明种小白鼠 60 只,按体重随机分为 5 组,每组 12 只。即空白对照组(NS);阳性对照组(地塞米松);广西莪术 3 种炮制品组。给药容量为 $20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,对照组给同等容量的生理盐水,灌胃给药(ig),每天 1 次,连续 7 d。末次给药后 60 min,各鼠尾静脉注射 0.5% 伊文思蓝溶液 $5 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,同时腹腔注射(ip)0.68% 冰醋酸溶液 0.2 mL。15 min 后脱颈椎处死动物,各鼠腹腔注射(ip)生理盐水 6 mL 冲洗腹腔,收集腹腔液,离心($3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)10 min,用 722 分光光度计 590 nm 处测定吸收度(A 值),各组腹腔液的 A 值分别与对照组比较,进行两组间 t 检验。结果显示,广西莪术醋煮品、醋炙品对醋酸所致的小鼠腹腔毛细血管通透性增加有较好的抑制作用,各用药组的腹腔洗出液 A 值分别与空白对照组比较有显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 3。

表 3 广西莪术不同炮制品对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	腹腔洗出液 A
空白对照	11	-	0.203 ± 0.113
地塞米松	12	0.004 5	0.118 ± 0.050 ¹⁾
生品	9	20	0.394 ± 0.388
醋炙品	11	20	0.076 ± 0.030 ²⁾
醋煮品	12	20	0.111 ± 0.035 ¹⁾

2.4 广西莪术各炮制品镇痛作用

2.4.1 对冰醋酸致痛的影响(扭体法) 取昆明种小鼠 50 只,体重(20 ± 2)g,雌雄不拘,随机分为 5 组,每组 10 只,即空白对照组(NS);阳性对照组(罗通定 $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);广西莪术 3 种不同炮制品组。给药容量为 $20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,剂量为 $20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,对照组给同等容量的生理盐水,灌胃给药(ig),每天 1 次,连续 3 d。末次给药后 60 min,分别腹腔注射(ip)0.6% 冰醋酸 $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ g,观察并记录给醋酸后 15 min 内扭体反应次数。各用药组与对照组的扭体反应均值进行 2 组间 t 检验,并计算镇痛率。结果显示,醋煮品、醋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 内的小鼠扭体反应次数与空白对照组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。镇痛率分别为醋煮品 60%,醋炙品 52%。见表 4。

表 4 广西莪术不同炮制品对冰醋酸致痛的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	扭体反应次数	镇痛率/%
空白对照	-	12.10 ± 9.24	-
罗通定	0.04	4.00 ± 2.91 ¹⁾	66.9
生品	20	14.70 ± 10.83	-21.4
醋炙品	20	5.80 ± 2.82 ¹⁾	52.1
醋煮品	20	4.80 ± 3.01 ¹⁾	60.3

2.4.2 对热板致痛的影响 取 18 ~ 22 g 昆明种雌性小鼠,在室温(23 ± 1)℃、热板温度恒定在(55 ± 0.5)℃的条件下,将小鼠逐个置于自控温度热板仪上,测试各小鼠疼痛反应(舔后足为指标),弃去反应过于敏感(3 s 出现痛反应)和反应过于迟钝(30 s

内无痛反应)的动物,连续 2 次,取均值作为药前痛阈,根据痛阈随机分为 5 组,每组 10 只。即空白对照组(NS);阳性对照组(罗通定 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$);广西莪术 3 种不同炮制品组(剂量为 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),空白对照组给同等容量的生理盐水。给药容量为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,灌胃给药(ig),每天 1 次,连续 3 d。末次

给药后于 30, 60, 90 min 分别测定不同时间的痛阈,记录痛阈,计算痛阈提高率。结果显示,热板致痛给药后不同时间段的痛阈提高率也有所提高,其中生品给药后 30 min 痛阈提高率为 98%,结果提示广西莪术 3 种炮制品对热板致痛具有不同程度的镇痛作用。见表 5。

表 5 广西莪术不同炮制品对小鼠热板致痛的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前 痛阈/s	给药后痛阈/s(痛阈提高率/%)		
			30 min	60 min	90 min
空白对照		16.33 ± 7.61	13.19 ± 5.58	15.1 ± 6.99	11.92 ± 2.70
罗通定	0.04	17.20 ± 5.00	$45.51 \pm 19.20^{2)}$ (245)	$56.14 \pm 7.23^{2)}$ (272)	$50.10 \pm 12.49^{2)}$ (321)
生品	20	19.08 ± 6.41	$26.14 \pm 15.19^{1)}$ (98)	$14.64 \pm 6.78(-3)$	$15.29 \pm 10.85(28)$
醋炙品	20	17.93 ± 4.23	$18.17 \pm 13.02(38)$	$15.62 \pm 7.48(3)$	$14.50 \pm 5.43(22)$
醋煮品	20	16.99 ± 3.81	$14.51 \pm 6.61(10)$	$16.89 \pm 16.20(12)$	$12.64 \pm 6.67(6)$

3 讨论

广西莪术不同炮制品姜黄素的含量高低为生品 > 醋炙品 > 醋煮品,生品明显高于其他炮制品。与朱善岚等报道^[3]的蓬莪术中姜黄素的含量高低为醋制品 > 酒制品 > 炒制品 > 生品的结果似乎不一致。罗红霞提出^[4]由于姜黄素分子中含有多个双键、酚羟基及羰基等,故其化学反应较强。一些金属离子及强光、高温等可影响姜黄素的稳定性。本研究提示广西莪术用醋制等加热炮制对姜黄素等有效成分有一定影响。

传统炮制理论认为醋制可增强活血化瘀止痛功效,醋制的炮制方法最常用的是醋炙和醋煮,但《中国药典》2010 年版仅收载醋煮炮制方法。宋坤等报道^[5]蓬莪术不同炮制品均具有显著的镇痛抗炎作用,其中醋煮品作用较强。本实验结果也表明,广西莪术不同炮制品也具有较显著的镇痛抗炎作用,其中醋煮品作用较强。

挥发油及姜黄素都是莪术镇痛抗炎的主要有效成分,本实验生品姜黄素含量较高但醋煮等炮制品药效较好,其量效关系有待进一步探讨。

[参考文献]

- [1] 覃葆,曾春晖,荣玲芝,等. 不同炮制方法对广西莪术的质量研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(9):2247.
- [2] 陆兔林. 中药莪术有效物质及饮片规范化研究[D]. 南京:南京中医药大学,2003.
- [3] 朱善岚,黄品芳. HPLC 法测定莪术不同炮制品中姜黄素含量[J]. 海峡药学,2007,19(3):52.
- [4] 罗红霞,方清茂,潘晓鸥. 姜黄素的提取及其含量测定研究进展[J]. 中国药业,2004,13(6):75.
- [5] 宋坤,陆兔林,李林. 莪术不同炮制品镇痛抗炎作用研究[J]. 中医药学刊,2005,23(3):443.

[责任编辑 全燕]