

不同工艺炮制山茱萸多糖含量比较

鲍洁, 吕雨晴, 许海丹* (台州学院医药化工学院, 浙江台州 318000)

摘要 [目的] 对山茱萸不同炮制品(醋制、酒制、盐制、蜜制、蒸制)中多糖含量进行提取分析。[方法] 采用恒温水浴法对山茱萸不同炮制品的多糖进行提取, 测定多糖含量, 考察炮制温度、炮制时间、炮制辅料用量对山茱萸不同炮制工艺(醋制、酒制、盐制、蜜制、蒸制)的影响。[结果] 得出山茱萸在不同炮制条件下多糖溶出的变化规律, 酒制和蒸制可使山茱萸中多糖含量明显增加。[结论] 研究可为合理制定炮制方法提供依据。

关键词 山茱萸; 炮制; 多糖; 含量; 工艺

中图分类号 S567.23*9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)17-105-02

Comparison of Polysaccharides Content in Corni Fructus by Different Processing Technologies

BAO Jie, LU Yu-qing, XU Hai-dan* (School of Pharmaceutical and Chemical Engineering, Taizhou University, Taizhou, Zhejiang 318000)

Abstract [Objective] To extract and analyze the polysaccharides content in different processed products of Corni Fructus (vinegar process, wine process, salt process, honey process and steaming process). [Method] Constant temperature water bath methods were adopted to extract the polysaccharides from different processed products of Corni Fructus. Effects of processing time, processing temperature and auxiliary dosage on the processing technologies of Corni Fructus were investigated. [Result] Under different processing conditions of Corni Fructus, wine process and steaming process significantly enhanced the polysaccharides content. [Conclusion] The research provides references for the rational establishment of processing method.

Key words Corni Fructus; Processing; Polysaccharides; Content; Technology

山茱萸(Corni Fructus)为山茱萸科植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)的干燥成熟果肉, 又名山萸肉、药枣、肉枣等, 主产于浙江、河南、安徽等地, 具有补益肝肾、收涩固脱的功效^[1], 是我国40多种用量最大的骨干中药之一。山茱萸临床调剂多以“蒸法”炮制后使用, 主要方法有: 酒蒸、清蒸、醋蒸、盐蒸、蜜蒸等, 其中尤以酒制山茱萸为常用^[2-3]。《中国药典》记载的方法为“去核”“酒炖”“酒蒸”, 蒸制时间及辅料用量均没有明确规定, 仅要求“炖或蒸至酒吸尽, 表面紫黑色或黑色, 质滋润柔软”, 并且没有饮片质量标准的具体要求, 为临床应用带来很多不便^[1-3]。

山茱萸的有效成分大部分是水溶性的, 如: 有机酸、多糖、环烯醚萜苷、维生素等; 其中多糖是山茱萸的重要生物活性组分, 常被视为中药中重要的补益成分之一^[4-5]。山茱萸多糖的药理活性丰富, 具有显著的增强免疫、抗肿瘤和抗氧化作用^[6-8]。该文主要对山茱萸不同炮制品(酒制、蒸制、醋制、盐制、蜜制)中多糖含量进行提取分析, 为合理制定炮制方法提供依据, 以期完善山茱萸饮片或者中药材质量控制体系。

1 材料与与方法

1.1 试验材料 山茱萸: 山茱萸科植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)的干燥成熟果实, 购自浙江省临海市医药有限公司; 黄酒: 中国绍兴花雕酒(绍兴县越景酒业有限公司), 酒精度 $12.0 \pm 1.0\%$ (V/V); 米醋: 双鱼米醋(杭州市食品酿造有限公司), 总酸(以乙酸计) ≥ 3.50 g/100 mL; 蜂蜜: 蜂之语洋槐蜜(浙江蜂之语蜂蜜蜂业集团有限公司), 以5 g 蜂蜜加1 g 水的比例混匀制成稠的蜂蜜水; 食盐: 食用精制盐

(湖北蓝天盐化有限公司), 将25 g 盐溶解在100 g 水中制成盐水备用。实验用水为蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

1.2 试验仪器 UV-2450型紫外分光光度计(日本岛津公司); DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司); DZF-6021型真空干燥箱(宁波江南仪器厂); ZXZ-2型旋片式真空泵(中国临海市谭氏真空设备有限公司); TG16-WS型台式高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); DKS-24型不锈钢新型电热恒温水浴锅(宁波江南仪器厂); RE-52AA型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)等。

1.3 试验方法

1.3.1 山茱萸炮制品的制备。

1.3.1.1 不同炮制温度的样品。 取山茱萸生品30 g/份, 直接放于保鲜盒中密闭或加米醋(黄酒、蜂蜜或盐水)拌匀后密闭放置2 h, 然后将保鲜盒分别于80、85、90、95、100℃的水浴中蒸4 h, 取出置于80℃真空干燥箱中干燥5 h, 晾凉后备用(辅料与山茱萸生品按20 g/100 g加入)。

1.3.1.2 不同炮制时间的样品。 取山茱萸生品30 g/份, 直接放于保鲜盒中密闭或加米醋(黄酒、蜂蜜或盐水)拌匀后密闭放置2 h, 然后将保鲜盒置于沸水浴中, 分别蒸2、4、6、8、10 h, 取出置于80℃真空干燥箱中干燥5 h, 晾凉后备用(辅料与山茱萸生品按20 g/100 g加入)。

1.3.1.3 不同炮制辅料用量的样品。 取山茱萸生品30 g/份, 直接放于保鲜盒中, 分别加辅料量(米醋、黄酒、蜂蜜或盐水)3、6、12、18、24 g 拌匀后密闭放置2 h, 然后将保鲜盒置于沸水浴中蒸4 h, 取出置于80℃真空干燥箱中干燥5 h, 晾凉后备用。

1.3.2 山茱萸多糖的提取。 取山茱萸炮制品粗粉置于具塞锥形瓶中, 按料液比1:15(g:mL)加入80%乙醇超声提取30 min, 3 000 r/min 下离心15 min, 残渣挥干乙醇后以相同料

基金项目 浙江省植物进化生态学与保护重点实验室开放课题(EEC2014-08); 浙江省大学生科技创新项目(2016R430022)。

作者简介 鲍洁(1995-), 女, 浙江嘉兴人, 本科生, 专业: 制药工程。
* 通讯作者, 讲师, 从事天然产物的分离与分析研究。

收稿日期 2016-05-13

液比加水,80℃下回流提取2h,趁热过滤,滤液浓缩至干后,以少量水溶解,再加适量无水乙醇使乙醇浓度为80%,置于冰箱冷藏24h,用少量乙醇与乙醚洗涤沉淀数次,沉淀于60℃干燥至恒重,即得水提粗多糖^[9]。

1.3.3 多糖含量测定方法。根据文献方法^[10],对系列葡萄糖标准溶液进行显色,试验得葡萄糖浓度(C)与吸光度(A)之间的回归方程为 $A = 0.0246 + 0.00717C$ ($n = 6$), $R = 0.99909$,在20~120 mg/L浓度范围内线性关系良好。

精密称取水提粗多糖0.01g,加水溶解并定容至100 mL,即得水提多糖供试品溶液。取水提多糖供试品溶液1 mL,同法显色分析,利用标准曲线回归方程计算出多糖含量,求得多糖含量。

2 结果与分析

2.1 炮制时间对山茱萸多糖含量的影响 炮制时间对山茱萸多糖含量的影响结果见图1。试验结果表明,不同炮制法的山茱萸随炮制时间的变化略有不同。基本上沸水炮制4h后的山茱萸多糖含量明显多于其他时间处理,且沸水6h的多糖含量最低,各炮制品中山茱萸多糖含量随炮制时间的增加呈现先上升后下降再增加的趋势。可看出在同一炮制时间下,盐制、蜜制之后山茱萸多糖含量处于较低水平;而蒸制品多糖含量则较高于其他辅料炮制结果,初步可认为盐制、蜜制不利于山茱萸中多糖的浸取,不加辅料炮制反而可以增加山茱萸多糖的含量。和生品山茱萸(多糖含量1.53%)相比,山茱萸在炮制后多糖含量都有不同程度的增加,酒制、蒸制山茱萸多糖含量较高。

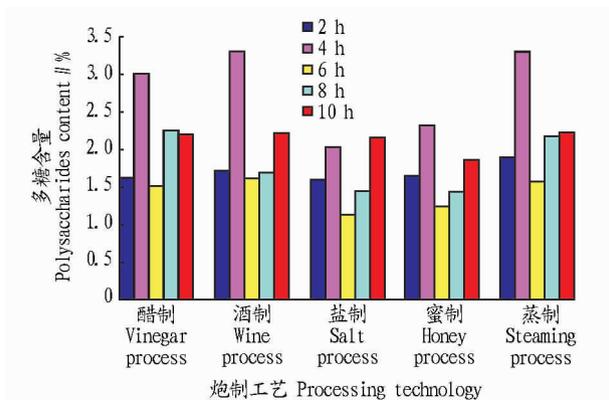


图1 炮制时间对山茱萸多糖含量的影响

Fig. 1 Effects of processing time on the polysaccharides content of Corni Fructus

2.2 炮制辅料用量对山茱萸多糖含量的影响 炮制辅料用量对山茱萸多糖含量的影响结果见图2。结果表明,除盐制外,随着辅料用量的增加,山茱萸多糖含量呈现出先增后减的趋势。当辅料用量为40 g/100 g时,醋制、酒制、蜜制山茱萸多糖含量达到最大值,且酒制山茱萸多糖含量整体水平高于其他辅料。但不同辅料还是各有不同。盐制山茱萸多糖含量随着炮制辅料用量的增加,呈现递减趋势。即当辅料用量为10 g/100 g时,含量最大。和生品山茱萸(多糖含量1.53%)相比,各炮制品多糖含量都有明显的增加。可初步证明加辅料炮制对提高山茱萸多糖含量有明显的的作用,而酒制山

茱萸可能是加辅料炮制山茱萸中最能提高多糖含量的物质。炮制使山茱萸多糖含量升高的原因还有待进一步研究。

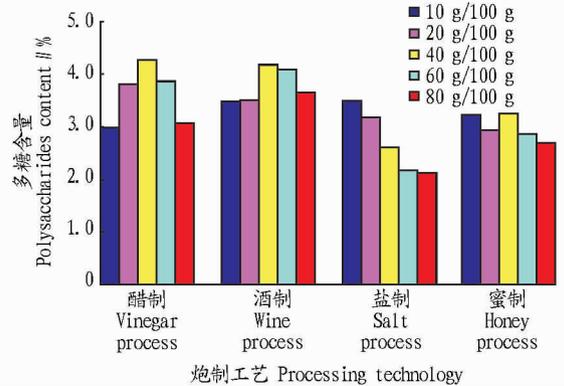


图2 炮制辅料用量对山茱萸多糖含量的影响

Fig. 2 Effects of processing auxiliary dosage on the polysaccharides content of Corni Fructus

2.3 炮制温度对山茱萸多糖含量的影响 炮制温度对山茱萸多糖含量的影响结果见图3。结果表明,随着炮制温度的增加,多糖含量呈现先增加后降低再升高的趋势;且可以发现炮制温度为80℃时,山茱萸多糖含量超过其他炮制温度。醋制品、盐制品、蒸制品的最低含量都出现在100℃时,而酒制品、蜜制品的最低含量则出现在85℃。同一温度炮制时,蒸制山茱萸的多糖较高,而其他辅料炮制品相差并不十分明显。相较于生品山茱萸(多糖含量1.53%),各炮制品多糖含量均明显增加,证明适当的温度炮制后的山茱萸可提高多糖含量。

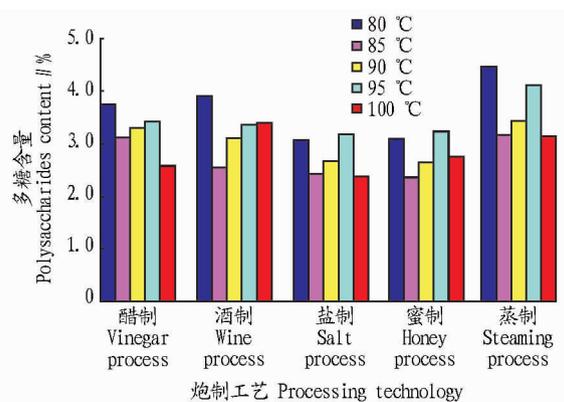


图3 炮制温度对山茱萸多糖含量的影响

Fig. 3 Effects of processing temperature on the polysaccharide content of Corni Fructus

3 结论

研究表明,炮制温度、炮制时间以及炮制辅料用量对山茱萸的多糖含量有一定的影响,且对用不同辅料炮制的山茱萸制品的多糖含量变化规律的影响也不同。

从炮制对山茱萸多糖含量的影响结果来看,可基本得出以下结论:炮制时间为4h,炮制温度为80℃,炮制辅料用量为40 g/100 g时,山茱萸多糖含量高于其他条件下的。酒制、蒸制山茱萸可使山茱萸中多糖含量明显增加,盐制、蜜制

(下转第133页)

- nal function in soft-shelled turtle [J]. *Folia biologica* (Krakow), 2002, 50 (3/4): 115–120.
- [14] KAKIZOE Y, FUJIWARA M, AKUNE Y, et al. Cyclical changes of plasma sex steroids in captive breeding loggerhead turtles (*Caretta caretta*) [J]. *Journal of zoo and wildlife medicine*, 2010, 41(4): 643–648.
- [15] LORA N C, NOVILLO A, CALLARD I P. Synergistic role for pituitary growth hormone in the regulation of hepatic estrogen and progesterone receptors and vitellogenesis in female freshwater turtles, *Chrysemys picta* [J]. *General and comparative endocrinology*, 2005, 140(1): 25–32.
- [16] SEREAU M, LAGARDE F, BONNET X, et al. Does testosterone influence activity budget in the male Greek tortoise (*Testudo graeca graeca*)? [J]. *General and comparative endocrinology*, 2010, 167(2): 181–189.
- [17] TSUI H W. Stimulation of androgen production by the lizard testis; Site of action of ovine FSH and LH [J]. *General and comparative endocrinology*, 1976, 28(4): 386–394.
- [18] GIST D H, BRADSHAW S, MORROW C M, et al. Estrogen response system in the reproductive tract of the male turtle: An immunocytochemical study [J]. *General and comparative endocrinology*, 2007, 151(1): 27–33.
- [19] 傅丽容, 贺斌, 洪美玲, 等. 四眼斑水龟血浆生殖激素季节性变化 [J]. *动物学杂志*, 2008, 43(3): 56–59.
- [20] SCHRAMM B G, CASARES M, LANCE V A. Steroid levels and reproductive cycle of the Galápagos tortoise, *Geochelone nigra*, living under seminatural conditions on Santa Cruz Island (Galápagos) [J]. *General and comparative endocrinology*, 1999, 114(1): 108–120.
- [21] CHIEN J T, SHEN S T, LIN Y S, et al. Molecular cloning of the cDNA encoding follicle-stimulating hormone beta subunit of the Chinese soft-shell turtle *Pelodiscus sinensis*, and its gene expression [J]. *General and comparative endocrinology*, 2005, 141(2): 190–200.
- [22] PAVGI S, LICHT P. Steroidal modulation of pituitary gonadotropin-releasing hormone responsiveness in young turtles, *Pseudemys scripta* [J]. *General and comparative endocrinology*, 1990, 78(3): 331–343.
- [23] TSAI P S, HAYES T B, LICHT P. Role of aromatization in testosterone-induced inhibition of luteinizing hormone secretion in female turtles, *Trachemys scripta* [J]. *Biology of reproduction*, 1994, 50(1): 144–151.
- [24] HE B, LIU Y, SHI H, et al. Effect of luteinizing hormone-releasing hormone analogue on the sexual behavior of *Sacalia quadriocellata* [J]. *Asian herpetological research*, 2010, 1(1): 40–43.
- [25] SELCKER K W, SMITH S, CLEMENS J W, et al. Androgen receptor in the oviduct of the turtle, *Trachemys scripta* [J]. *Comparative biochemistry and physiology part B: Biochemistry and molecular biology*, 2005, 141(1): 61–70.
- [26] MUÑOZ A. Chemo-orientation using conspecific chemical cues in the stripe-necked terrapin (*Mauremys leprosa*) [J]. *Journal of chemical ecology*, 2004, 30(3): 519–530.
- [27] AL-HABSI A A, ALKINDI A Y, MAHMOUD I Y, et al. Plasma hormone levels in the green turtles *Chelonia mydas* during peak period of nesting at Ras Al-Hadd-Oman [J]. *Journal of endocrinology*, 2006, 191(1): 9–14.
- [28] 黄敏毅, 张育辉, 王宏元. 非哺乳类脊椎动物性别决定的研究进展 [J]. *动物学杂志*, 2004, 39(4): 104–108.
- [29] RAMSEY M, CREWS D. Steroid signaling and temperature-dependent sex determination—reviewing the evidence for early action of estrogen during ovarian determination in turtles [J]. *Seminars in cell and developmental biology*, 2009, 20(3): 283–292.
- [30] BELAID B, RICHARD-MERCIER N, PIEAU C, et al. Sex reversal and aromatase in the European pond turtle; Treatment with letrozole after the thermosensitive period for sex determination [J]. *Journal of experimental zoology*, 2001, 290(5): 490–497.
- [31] NAKAMURA M. The mechanism of sex determination in vertebrates—are sex steroids the key-factor? [J]. *Journal of experimental zoology part A: Ecological genetics and physiology*, 2010, 313(7): 381–398.
- [32] EWERT M A, LEGLER J M. Hormonal induction of oviposition in turtles [J]. *Herpetologica*, 1978, 34(3): 314–318.
- [33] LAPID R, NIR I, SNAPIR N, et al. Reproductive traits in the spur-thighed tortoise (*Testudo graeca terrestris*): New tools for the enhancement of reproductive success and survivorship [J]. *Theriogenology*, 2004, 61(6): 1147–1162.
- [34] MOLL E D. *Reproductive cycles and adaptations* [M]. New York: Cornell University Press, 1979: 305–331.
- [35] RAFFERTY A R, EVANS R G, SCHEELINGS T F, et al. Limited oxygen availability in utero may constrain the evolution of live birth in reptiles [J]. *American naturalist*, 2013, 181(2): 245–253.

(上接第 106 页)

则不利于多糖的浸出。试验结果可指导改进山茱萸炮制方法, 为山茱萸的炮制现代化奠定基础。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 27.
- [2] 呼海涛, 张振凌. 山茱萸炮制历史沿革及临床应用研究 [J]. *河南中医学院学报*, 2007, 22(1): 53–54.
- [3] 曹岗, 邵玉蓝, 张云, 等. 山茱萸炮制历史沿革及现代研究 [J]. *中草药*, 2009, 40(S1): 69–71.
- [4] 袁菊丽, 姜红波. 山茱萸的主要化学成分及药理作用 [J]. *化学与生物工程*, 2011, 28(5): 7–9.
- [5] 段国峰, 陈文, 李宝军, 等. 不同的炮制方法对山茱萸多糖的含量影响 [J]. *海峡药学*, 2008, 20(9): 67–68.
- [6] 邹品文, 赵春景, 李攀, 等. 山茱萸多糖的抗肿瘤作用及其免疫机制 [J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32(1): 20–22.
- [7] 李永格, 陈亚奇, 王爱梅. 山茱萸多糖对血管性痴呆大鼠抗氧化作用的研究 [J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(3): 74–76.
- [8] 杨雪, 季红, 刘颖男, 等. 山茱萸多糖提取纯化方法及药理作用研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(7): 1984–1986.
- [9] 丁霞, 蔡宝昌. 山茱萸炮制前后有效成分含量比较 [J]. *中成药*, 2006, 28(11): 1598–1599.
- [10] 王丽丽, 许海丹, 裴秋燕. 山茱萸多糖含量测定方法的研究 [J]. *科学与技术*, 2010, 10(30): 7494–7496.