

• 质量标准 •

山茱萸不同生长期多糖含量的动态积累研究

李 君, 陈随清*, 李雪菊

(河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008)

[摘要] 目的: 评价山茱萸不同生长期多糖含量变化的动态积累。方法: 以硫酸-蒽酮法测定不同生长期山茱萸中多糖的含量。结果: 山茱萸中多糖的含量呈规律性变化, 在果实成熟时多糖的含量较高。结论: 该文结果可为山茱萸规范化种植以及药材的采收加工提供科学依据。

[关键词] 山茱萸; 多糖; 动态积累

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0001-03

Determination of Total Polysaccharides in Different Growth Phase of Fructus Corni

LI Jun, CHEN Sui-qing*, LI Xue-ju

(Department of Pharmacology, Henan College of TCM, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the total polysaccharides in different growth phase of Fructus Corni. **Methods:** Colorimetry of Sulfuric acid—Anthrone was used to measure the content of total polysaccharides. **Results:** The content of total polysaccharides appeared regular changes and the content of total polysaccharides was highest in the mature phase. **Conclusion:** The result might provide scientific basis for harvesting of Fructus Corni.

[Key words] Fructus Corni; total polysaccharides; accumulative dynamic state

山茱萸来源于山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 为中医临床常用药。现代研究证明山茱萸多糖是山茱萸药材主要活性成分之一^[1], 作者曾对山茱萸药材中多糖的含量进行了测定^[2]。本文以山茱萸多糖含量变化为指标, 用硫酸-蒽酮法测定了不同生长时期、不同产地山茱萸中多糖的含量, 研究山茱萸中多糖动态积累的规律, 为山茱萸规范化种植以及药材的采收加工提供科学依据。

1 材料

1.1 样品 山茱萸样品分别于 2007 年 8 月~ 12 月

采自河南西峡山茱萸 GAP 基地、浙江临安山茱萸 GAP 基地、陕西佛坪山茱萸 GAP 基地, 经河南中医学院生药教研室陈随清教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的果实。

1.2 主要仪器 Aglient 8455 型紫外-可见分光光度计; 电子天平 (BS224S, 北京赛多利斯仪器有限公司)。

1.3 试剂 葡萄糖对照品(中国药品生物制品检定所), 其余试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 标准溶液的配制 精密称取 105℃干燥至恒重的葡萄糖 101 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 摇匀备用。

2.2 0.2% 蒽酮溶液的配制 精密称取蒽酮 0.1 g, 溶于 50 mL 的乙酸乙酯中。

2.3 检测波长的选择 精密吸取标准溶液 0.05 mL 置于 10 mL 具塞试管中, 稀释至 2.0 mL, 另取 2.0 mL

[收稿日期] 2008-03-24

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BA109B00-8)

[通讯作者] * 陈随清, Tel: (0371) 65962546, E-mail: suiqingchen@163.com

蒸馏水作为空白对照。两管中分别加入 1.0 mL 萘酮溶液,混匀,再加入浓硫酸 3.0 mL,摇匀后放置 5 min,置沸水浴中加热 10 min,取出置冷水浴中冷却后,在可见光区测定吸收曲线,确定最大吸收波长 $\lambda_{\max} = (625.0 \pm 1) \text{ nm}$ 。

2.4 工作曲线的绘制 精密吸取标准溶液 10, 20, 40, 60, 80, 100 μL , 分置于 10 mL 具塞试管中,稀释至 2.0 mL,另取 2.0 mL 蒸馏水作为空白对照。各管中分别加入 1.0 mL 萘酮溶液,混匀,再加入浓硫酸 3.0 mL,摇匀后放置 5 min,置沸水浴中加热 10 min,取出置冷水浴中冷却后,在波长 625 nm 处测定吸光度。以葡萄糖含量为横坐标(X),以吸光度为纵坐标(Y),线性回归,得回归方程 $Y = 69.9041X - 0.0057$, $r = 0.9998$ 。该法在(10.1~101) μg 范围内葡萄糖的含量与吸光度呈良好的线性关系。

2.5 山茱萸粗多糖的提取与精制 山茱萸粗粉 100 g,加 80% 乙醇 400 mL 回流提取 2 次,每次 1 h,残渣加蒸馏水 400 mL,浸泡 1 h,回流 1 h,滤过,滤液减压浓缩至 100 mL,用氯仿-正丁醇(3:2)萃取两次,水层加乙醇使含醇量达 80%,冰箱静置过夜,滤过,残渣用乙醇、丙酮、乙醚依次洗涤多次,60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,得精制山茱萸粗多糖。

2.6 换算因子的测定 精密称取干燥至恒重的山茱萸粗多糖 22.5 mg,置 100 mL 容量瓶中,加蒸馏水溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取该溶液 2.0 mL,按 2.4 项下方法测定吸光度,计算样品液中葡萄糖的浓度,按下式计算换算因素: $f = W/(C \times D)$;其中 W 为多糖的重量(μg), C 为多糖稀释液中葡萄糖的浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), D 为多糖的稀释因素。测得 $f = 4.832$ 。

2.7 样品溶液的制备 精密称取山茱萸粗粉 0.1 g,加入 80% 乙醇 50 mL,加热回流 1 h,趁热过滤,残渣用 80% 乙醇洗涤 4 次(10 mL $\times$ 4)。挥干溶剂,连同滤纸置烧瓶中,加入 50 mL 蒸馏水沸水浴加热温浸 1 h,趁热过滤,残渣用热蒸馏水洗涤 4 次(10 mL $\times$ 4,合并滤液于 100 mL 量瓶中),蒸馏水定容至刻度,摇匀备用。

2.8 山茱萸样品中多糖的含量测定 精密吸取样品溶液 2.0 mL,置于 10 mL 具塞试管中,按 2.4 项下方法测定吸光度,计算样品液中葡萄糖的含量,按下式计算样品中多糖的含量。

$$\text{多糖含量}(\%) = \frac{C \times D \times f}{W} \times 100\%$$

C 为样品溶液中葡萄糖的浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), D 为样品溶液的稀释因素, f 为换算因素, W 为样品的重量(μg)。

2.9 精密度实验 精密量取葡萄糖对照品溶液 0.05 mL 置于 10 mL 具塞试管中,稀释至 2.0 mL,按 2.4 项下方法测定吸光度,重复取样测定 5 次, RSD 为 1.55%,表明精密度良好。

2.10 稳定性实验 精密量取葡萄糖对照品溶液 0.05 mL 置于 10 mL 具塞试管中,稀释至 2.0 mL,按 2.4 项下方法,分别于 0, 0.5, 1, 2, 4 h 放置时间点测定其吸光度。计算 RSD 为 1.89%,结果表明供试品溶液在 4 h 内稳定性良好。

2.11 重复性实验 精密称取山茱萸干燥果肉粗粉 5 份各 0.1 g,按 2.7 项下方法制备样品溶液,精密量取样品液 2.0 mL,按 2.4 项下方法测定吸光度。计算 RSD 为 1.28%,表明重复性良好。

2.12 加样回收率实验 精密称取山茱萸粗粉 5 份,加入一定量的精制山茱萸粗多糖,按 2.7 项下方法制备样品溶液。精密量取样品液 2.0 mL,按 2.4 项下方法测定样品液,计算加样回收率及 RSD 值,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

样品	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	加样回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD 值 (%)
1	10.77	14.7	24.92	96.23		
2	10.10	10.1	20.14	99.39		
3	9.83	9.8	19.67	100.37	99.68	2.21
4	10.19	5.1	15.29	100.02		
5	10.35	4.6	15.06	102.29		

3 结果

以硫酸-萘酮法分别测定河南西峡、浙江临安、陕西佛坪山茱萸生长期为 8 月 15 日,8 月 30 日,9 月 15 日,9 月 25 日,10 月 5 日,10 月 15 日,10 月 25 日山茱萸样品。结果见表 2。

4 讨论

山茱萸产地一般在 9 月底山茱萸果实变红后采收,采收时间持续到 10 月中、下旬。实验结果显示不同生长期、不同产地山茱萸多糖含量的变化趋势是相同的,即随着山茱萸果实的成熟,多糖含量逐渐升高,在果实成熟后多糖的含量维持在较高水平,变化不大,证明山茱萸传统的采收期是具有一定科学依据的。不同产区的山茱萸在同一生长期多糖的

表 2 不同生长期山茱萸中多糖的含量

采收时间	多糖含量(%)		
	河南西峡	浙江临安	陕西佛坪
2007-08-15	1.63	1.76	—
2007-08-30	4.56	3.79	5.61
2007-09-15	5.67	4.81	6.78
2007-09-25	6.74	5.88	8.06
2007-10-05	8.64	7.69	9.58
2007-10-15	8.81	8.32	10.51
2007-10-25	10.40	9.61	10.41

含量存在差异,可能是因为不同的山茱萸基地,其生长环境的土壤、水分、温度等条件不同所致;另外,不同的山茱萸种植基地山茱萸的变异品种也有明显的差异^[3]。具体原因有待进一步研究。

根据相关文献资料报道^[4,5],山茱萸药材中多糖的种类大多与己糖有关,采用硫酸-蒽酮法优于硫酸-苯酚法,且准确性好,重复性好,操作方便。

[参考文献]

- [1] 赵世萍,付桂香.山茱萸化学成分与药理作用研究进展[J].中草药,1997,28(3):187-188.
- [2] 陈随清,王利丽,扬晋,等.不同栽培品种山茱萸药材中多糖的含量测定[J].河南科学,2005,23(4):513-514.
- [3] 陈随清,董诚明,章运典,等.山茱萸栽培品种的调查[J].中药材,2002,25(5):305.
- [4] 计时华.利用单糖缩合反应测定多糖[J].中国公共卫生,2000,16(5):425-426.
- [5] 韩玉莲,罗雪云.植物中多糖含量的测定[J].中国食品卫生杂志,1995,7(3):47-48.