

- of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3): 2247-2252.
- [7] Huang X Q, Ren L Y, Hou L B, et al. Paeoniflorin ameliorates antipsychotic-induced hyperprolactinemia in rats by attenuating impairment of the dopamine D2 receptor and TGF- $\beta$ 1 signaling pathways in the hypothalamus and pituitary [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 257: 112862.
- [8] 陈曦, 曹慧, 胡力. 橙皮苷对抑郁症大鼠海马神经细胞凋亡、GR及NR2B的影响[J]. 中国药师, 2020, 23(11): 2118-2122.
- [9] Xie L L, Gu Z M, Liu H Z, et al. The anti-depressive effects of hesperidin and the relative mechanisms based on the NLRP3 inflammatory signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1251.
- [10] 林涛, 邵金良, 李茂萱, 等. 枳实中辛弗林分离纯化及其标准样品定值与不确定度研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(3): 459-465.
- [11] 霍晓光, 胡欣彤, 陈丽霞, 等. 莎草苷稳定性研究[J]. 中国科技论文, 2017, 12(18): 2092-2097.
- [12] Allison D B, Mentore J L, Heo M, et al. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis [J]. *Am J Psychiat*, 1999, 156(11): 1686-1696.
- [13] Ibrahim H M, Tamminga C A. Schizophrenia: treatment targets beyond monoamine systems [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2011, 51: 189-209.
- [14] 徐义勇, 田真真, 易惺钱, 等. 温胆汤联合抗精神病药物治疗精神分裂症疗效与安全性的Meta分析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(10): 2536-2540.
- [15] 李昂, 张冰, 张丹, 等. 温胆汤加减方治疗精神分裂症不良反应/事件的Meta分析[J]. 药物流行病学杂志, 2020, 29(1): 23-29; 60.
- [16] 权亮, 赵永峰, 陈志敏, 等. 基于信息熵赋值法的正交联用Box-Behnken设计-响应面法优化黄丝郁金醋炙工艺研究[J]. 中草药, 2018, 49(8): 1823-1828.
- [17] 陈丽津, 汤浩, 石磊, 等. 基于信息熵理论的正交设计优化消乳增胶囊的提取工艺[J]. 中草药, 2019, 50(14): 3345-3350.
- [18] 韩忠耀, 余跃生, 袁开伦, 等. 基于信息熵赋权法优化苦药水冬瓜根皮药材提取工艺[J]. 中药材, 2019, 42(2): 390-392.

## 山萸肉炖制工艺优化

朱琳<sup>1</sup>, 鞠成国<sup>1,2\*</sup>, 徐裕彬<sup>3</sup>, 王巍<sup>1</sup>, 贾天柱<sup>1,2</sup>

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600; 2. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁大连 116600; 3. 北京橘井健康科技集团, 北京 100068)

**摘要:** 目的 优化山萸肉炖制工艺。方法 在单因素试验基础上, 以酒蜜比、炖制时间、烘干温度、烘干时间为影响因素, 莫诺苷、獐芽菜苷、马钱苷、山茱萸新苷 I、没食子酸含量的总评“归一值”(OD值)为评价指标, 正交试验结合层次分析法优化炖制工艺。结果 最佳条件为净山萸肉加适量辅料拌匀, 密闭, 隔水炖制6 h至辅料被吸尽, 取出, 在50℃下烘干5 h, 每100 kg用辅料35 kg(酒蜜比30:5), OD值为96.6。与酒萸肉比较, 酒蜜萸肉炖制后莫诺苷、獐芽菜苷、马钱苷、山茱萸新苷 I含量升高。结论 该方法准确可靠、重复性好, 可用于炖制酒山萸肉。

**关键词:** 山萸肉; 炖制工艺; 正交试验; 层次分析法

中图分类号: R283

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)01-0190-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.034

山萸肉为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 其味酸、涩, 具有补益肝肾、收涩固脱的功效, 临幊上常用于治疗眩晕耳鸣、腰膝酸痛、内热消渴等证<sup>[1]</sup>。山萸肉始载于汉代《神农本草经》, 炮制方法最早见于汉代《金匱玉函经》, 曰“不咀”<sup>[2-3]</sup>。宋代《圣济总录》记载有多种炮制方法, 即“洗炒、打破

炒、酒浸、酒拌、麸炒”<sup>[4]</sup>。目前, 山萸肉的炮制方法大多为酒蒸(炖)法, 但其酸涩感较重。酒萸肉中没食子酸含量高于生品, 莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷含量低于生品<sup>[5-10]</sup>。山萸肉中活性成分主要包括环烯醚萜苷、有机酸、三萜<sup>[11]</sup>, 其中莫诺苷、马钱苷具有保护心肌、调节骨代谢等作用<sup>[12]</sup>, 獐芽菜苷具有保护肝细胞、促进细胞修复的作

收稿日期: 2022-03-02

基金项目: 辽宁中医药大学横向课题 (2020000000014)

作者简介: 朱琳(1996—), 女, 硕士生, 从事中药炮制工艺与原理研究。E-mail: 1398243456@qq.com

\*通信作者: 鞠成国(1979—), 男, 博士, 教授, 从事中药炮制工艺与原理研究。Tel: (0411) 85890146, E-mail: jcg7092357@163.com

用<sup>[13]</sup>，山茱萸新苷 I 具有抗炎、保护神经元等作用<sup>[14]</sup>，没食子酸具有抗氧化、降糖等作用<sup>[15-16]</sup>，目前研究大多集中在传统炮制方法<sup>[17-20]</sup>。本实验以莫诺苷、獐芽菜苷、马钱苷、山茱萸新苷 I、没食子酸为指标，采用正交试验结合层次分析法对酒蜜萸肉炖制工艺进行优化，以期为阐明其炮制原理提供依据。

## 1 材料

Waters e2695 高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；DFT-200 型高速万能粉碎机（浙江温岭市林大机械有限公司）；电热恒温鼓风干燥器（上海精宏实验设备有限公司）；KQ-250E 型医用超声波清洗器（江苏昆山市超声仪器有限公司）；AE240 型电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）。

山茱萸药材收集于河南、山西、陕西等地，经辽宁中医药大学张慧教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis Sieb. et Zucc.* 的干燥成熟果肉。莫诺苷、獐芽菜苷、马钱苷、山茱萸新苷 I、没食子酸对照品（批号 N0418AS、MUST-17073009、NO516AS、MUST-16071805、

M0509AS，纯度均>98%）均购于大连美仑生物技术有限公司。甲醇、乙腈为色谱纯；磷酸为分析纯；水为超纯水。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液制备** 精密称取莫诺苷、獐芽菜苷、马钱苷、山茱萸新苷 I、没食子酸对照品适量，甲醇定容至 10 mL 量瓶中，摇匀，得贮备液，分别吸取 1 mL 至 5 mL 量瓶中，摇匀，即得含莫诺苷 0.036 mg/mL、獐芽菜苷 0.040 mg/mL、马钱苷 0.092 mg/mL、山茱萸新苷 I 0.028 mg/mL、没食子酸 0.031 mg/mL 的溶液，即得。

**2.2 供试品溶液制备** 取药材粉末（过四号筛）约 1 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入 25 mL 80% 甲醇，超声处理 20 min，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

**2.3 色谱条件** Diamonsil Plus C<sub>18</sub>-A 色谱柱；流动相乙腈（A）-0.3% 磷酸（B），梯度洗脱（0~20 min, 7% A；20~50 min, 7%~20% A；50~65 min, 20% A）；体积流量 1.0 mg/mL；检测波长 0~10 min 280 nm, 10~65 min 240 nm；柱温 30 °C；进样量 10 μL，色谱图见图 1。

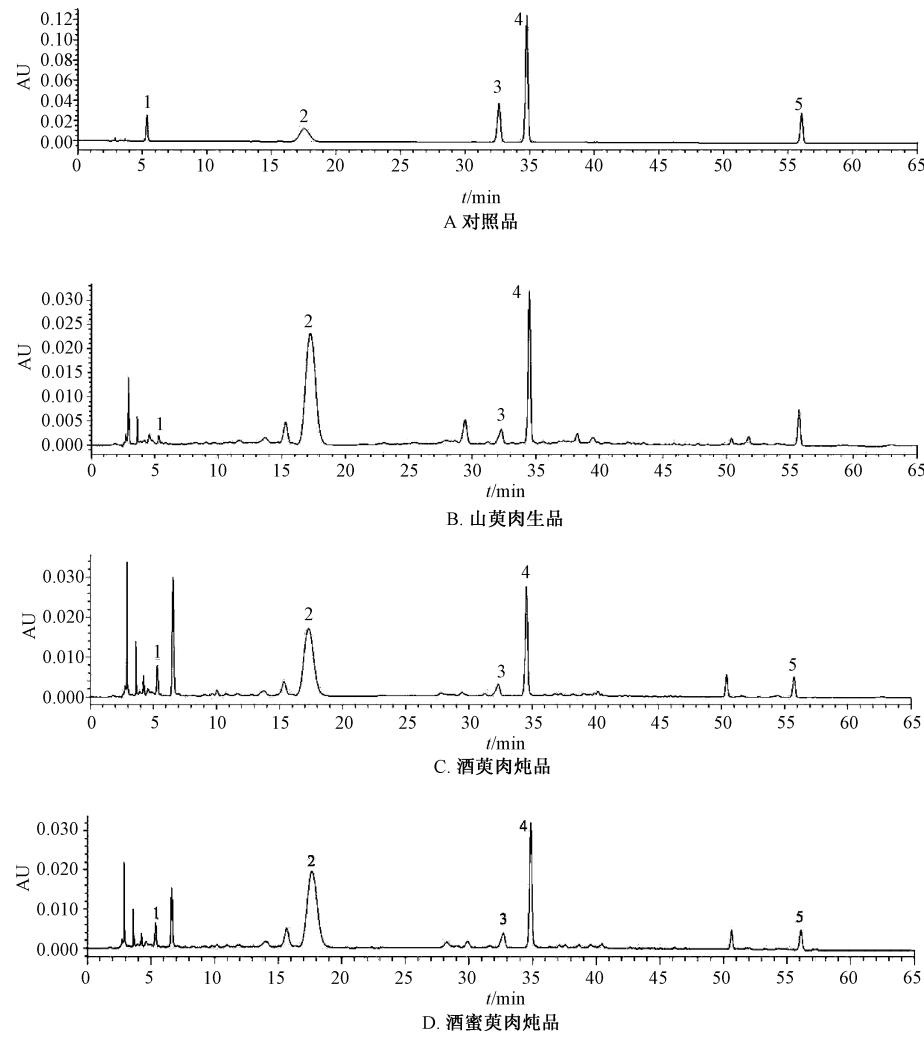


图 1 各成分 HPLC 色谱图

## 2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 将对照品溶液稀释成不同质量浓度, 在“2.3”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标( $Y$ ), 进样量为横坐标( $X$ )进行回归, 结果见表1, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表1 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}$
莫诺昔	$Y=1.0\times10^6X-21830$	0.9999	1.736~0.109
獐芽菜昔	$Y=1.0\times10^7X-2256.1$	0.9998	0.116~0.007
马钱昔	$Y=1.0\times10^7X+5501$	0.9999	0.708~0.044
山茱萸新昔 I	$Y=6.0\times10^6X-1086.9$	0.9997	0.224~0.014
没食子酸	$Y=2.0\times10^7X-168.63$	0.9996	2.500~0.156

2.4.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液适量, 在“2.3”项色谱条件下进样测定6次, 测得莫诺昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔 I、没食子酸峰面积RSD分别为0.95%、1.26%、0.95%、0.94%、1.14%, 表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液适量, 于0、2、4、6、8、10、12、24 h在“2.3”项色谱条件下进样测定, 测得莫诺昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔 I、没食子酸峰面积RSD分别为1.73%、1.67%、0.47%、

1.19%、0.50%, 表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 精密称取同一批药材6份, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.3”项色谱条件下进样测定, 测得莫诺昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔 I、没食子酸含量RSD分别为0.89%、2.20%、0.51%、2.19%、0.53%, 表明该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取各成分含量已知的药材粉末6份, 每份0.1 g, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.3”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 莫诺昔平均加样回收率为97.16%, RSD为1.44%; 獐芽菜平均加样回收率为102.13%, RSD为1.47%; 马钱昔平均加样回收率为96.26%, RSD为1.76%; 山茱萸新昔 I平均加样回收率为103.17%, RSD为1.26%; 没食子酸平均加样回收率为103.04%, RSD为0.71%。

2.5 层次分析法 根据层次分析法原理, 采用yaahp 10.3应用软件将总评“归一值”(OD值)设为决策目标, 莫诺昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔 I、没食子酸权重系数设为方案层, 建立判断矩阵, 其一致性比率<0.1, 表明一致性较好, 权重系数合理有效, 无逻辑混乱, 具体见表2。

表2 准则层判断矩阵

指标	莫诺昔	獐芽菜昔	马钱昔	山茱萸新昔 I	没食子酸	权重
莫诺昔	1	1.5	1	1.5	3	0.2727
獐芽菜昔	0.6667	1	0.6667	1	2	0.1818
马钱昔	1	1.5	1	1.5	3	0.2727
山茱萸新昔 I	0.6667	1	0.6667	1	2	0.1818
没食子酸	0.3333	0.5	0.3333	0.5	1	0.0909

## 2.6 单因素试验

2.6.1 酒蜜比 取同一批药材5份至密闭容器中, 每份10 g, 分别按酒蜜比35:0、30:5、25:10、20:15、15:20加入辅料, 拌匀, 闷润1 h, 随时翻动, 将容器放入蒸锅中加热, 从圆汽时开始计时, 炖制4 h, 在60 ℃下烘干, 测定莫诺昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔 I、没食子酸含量, 计算OD值, 对不同酒蜜比进行评价, 结果见图2。由此可知, 酒蜜比为15:20时OD值最高, 但为了节约成本, 最终确定为30:5。

2.6.2 炖制时间 取同一批药材5份至密闭容器中, 每份10 g, 按酒蜜比30:5加入辅料, 拌匀, 闷润1 h, 随时翻动, 将容器放入圆汽蒸锅中分别炖制2、4、6、8、10 h, 在60 ℃下烘干, 测定莫诺昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔 I、没食子酸含量, 计算OD值, 结果见图3。由此可知, 炖制时间为6 h时OD值最高。

2.6.3 烘干温度、闷润时间 根据“2.6.1”“2.6.2”项下结果, 选择烘干温度为60 ℃, 闷润时间为1 h, 此时辅料可完全吸尽。

2.6.4 烘干时间 根据“2.6.1”项下结果, 可知烘干3 h能确保药材全部烘干; 根据“2.6.2”项下结果, 可知烘干4 h能确保药材全部烘干。最终确定, 烘干时间为4 h。

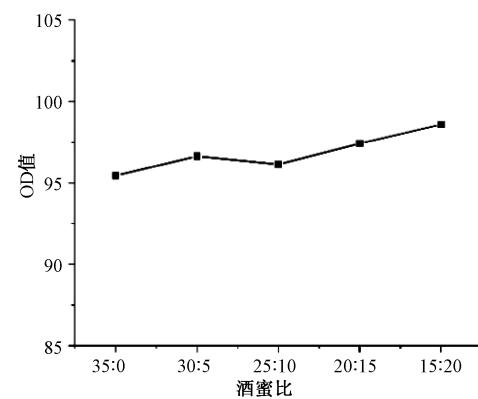


图2 不同酒蜜比对OD值的影响

2.7 正交试验 取同一批药材各10 g, 在单因素试验基础上, 以酒蜜比( $A$ )、炖制时间( $B$ )、烘干温度( $C$ )、烘干时间( $D$ )为影响因素, 莫诺昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔 I、没食子酸含量的总评“归一值”(OD值)为评价指标, 采用正交试验优化炖制工艺, 每个因素设置3个水平, 具体见表3, 结果见表4。

方差分析见表5, 可知各因素影响程度依次为炖制时间( $B$ )>烘干温度( $C$ )>酒蜜比( $A$ )>烘干时间( $D$ )。最终确定, 最优工艺为 $A_2B_2C_1D_3$ , 即将净山萸肉加适量辅料

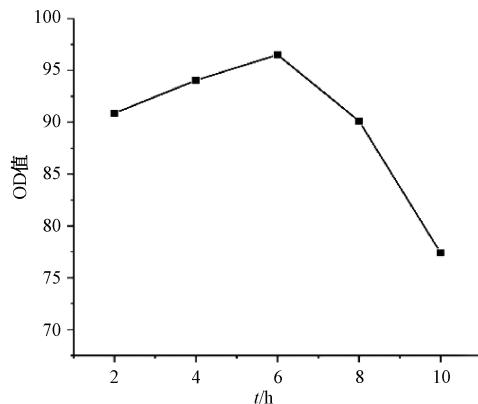


图3 不同炖制时间对OD值的影响

拌匀,密闭,隔水炖制6 h至辅料被吸尽,取出,在50 ℃下烘干5 h,每100 kg用辅料35 kg(酒蜜比30:5)。

表3 因素水平

水平	因素			
	A 酒蜜比	B 炖制时间/h	C 烘干温度/℃	D 烘干时间/h
1	35:0	2	50	3
2	30:5	6	60	4
3	25:10	10	70	5

表4 试验设计与结果

试验号	A	B	C	D	OD 值
1	1	1	1	1	91.2
2	1	2	2	2	87.7
3	1	3	3	3	83.3
4	2	1	2	3	89.1
5	2	2	3	1	91.7
6	2	3	1	2	84.4
7	3	1	3	2	87.5
8	3	2	1	3	92.5
9	3	3	2	1	75.6
$K_1$	87.400	89.267	89.367	86.167	—
$K_2$	88.400	90.633	84.133	86.533	—
$K_3$	85.200	81.100	87.500	88.300	—
$R$	3.200	9.533	5.234	2.133	—

表5 方差分析

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 临界值	P 值
A	16.080	2	2.060	19.000	>0.05
B	159.447	2	20.424	19.000	<0.05
C	42.207	2	5.406	19.000	>0.05
D	7.807	2	1.000	19.000	>0.05
E(误差)	7.81	2	—	—	—

2.8 验证试验 按“2.7”项下优化工艺进行3批验证试验,结果见表6。由此可知,平均OD值为96.6, RSD为2.619%,表明该方法稳定可靠,合理可行。

2.9 炖制前后各成分含量比较 收集10批山萸肉,结合文献[21]确定其酒制工艺,而酒蜜萸肉按“2.7”项下优化工艺进行炖制,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.3”项色谱条件下进样测定,计算含量,结果见表

表6 验证试验结果 (mg/g, n=3)

试验号	莫诺昔	獐芽菜昔	马钱昔	山茱萸新昔 I	没食子酸	OD 值
1	21.744	1.422	9.089	3.093	2.238	99.3
2	21.176	1.277	8.716	2.969	2.071	94.2
3	20.642	1.298	8.883	3.159	2.325	96.4

7。由此可知,山萸肉酒制后中环烯醚萜类含量降低,没食子酸含量升高;酒蜜萸肉炖制后莫诺昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔 I 含量较酒萸肉均有不同程度的升高,而没食子酸含量略有降低。

表7 各成分含量测定结果 (mg/g)

样品	产地	莫诺昔	獐芽菜昔	马钱昔	山茱萸新昔 I	没食子酸
山萸肉	安徽霍山	25.468	1.400	11.541	3.990	0.548
	安徽金寨	23.102	1.833	13.078	3.297	1.045
	河南西峡	29.093	1.531	9.994	4.136	0.728
	河南南阳	23.170	1.415	10.768	3.565	0.985
	浙江磐安	30.664	2.048	10.942	3.575	0.412
	甘肃陇南	23.358	1.209	11.921	3.026	0.591
	山东济宁	27.206	1.478	10.801	4.027	0.687
	陕西汉中	25.611	1.212	8.113	3.143	0.377
	陕西商洛	27.112	1.541	10.551	3.815	0.597
	江苏滨海	25.762	1.282	8.865	3.736	0.500
酒萸肉	安徽霍山	21.046	1.662	10.820	2.427	3.269
	安徽金寨	21.656	1.450	10.078	2.989	3.490
	河南西峡	22.210	1.511	8.515	3.023	2.659
	河南南阳	20.940	1.468	9.941	2.737	3.537
	浙江磐安	22.988	1.865	9.209	3.822	2.435
	甘肃陇南	14.901	1.109	9.573	2.078	2.374
	山东济宁	20.376	1.333	8.175	2.905	2.208
	陕西汉中	19.810	1.204	6.821	2.427	2.117
	陕西商洛	19.346	1.479	9.234	2.846	2.780
	江苏滨海	19.348	1.300	7.799	2.579	2.495
酒蜜萸肉	安徽霍山	21.431	1.503	11.375	3.102	2.877
	安徽金寨	24.308	1.952	13.997	2.982	3.263
	河南西峡	24.396	1.682	9.461	3.327	2.570
	河南南阳	23.283	1.636	9.293	2.953	3.150
	浙江磐安	25.014	1.928	9.841	2.897	2.178
	甘肃陇南	17.406	1.241	11.874	2.425	2.109
	山东济宁	21.472	1.468	9.426	3.291	2.435
	陕西汉中	20.132	1.243	8.009	2.734	2.262
	陕西商洛	20.728	1.469	9.574	3.055	2.385
	江苏滨海	20.216	1.265	8.145	2.678	1.995

### 3 讨论

本研究对供试品溶液进行全波长扫描,其中莫诺昔、马钱昔、獐芽菜昔、山茱萸新昔 I 的最大吸收波长是240 nm,而没食子酸的最大吸收波长是280 nm,因此选择切换波长法。再考察不同提取方式和时间以及不同提取溶剂对5种成分提取的影响,发现80%甲醇超声提取20 min时效果最好。

山萸肉成分多为酸性,可刺激胃壁分泌胃酸,应用蜜制可能会调和药性减少对胃的刺激<sup>[22]</sup>。明代陈嘉谟在《本草蒙筌》中提出“蜜制甘缓难化增益元阳”<sup>[23]</sup>。肾为先天之本,寓元阴元阳,而山萸肉平补肾阴肾阳,因此双辅料

炮制可能会增强山茱萸的补肾功效。采用层次分析法<sup>[24]</sup>，建立判断矩阵，对关键影响因素给予相应权重系数，结合加权评分得到酒蜜萸肉的最佳工艺，使其更具有合理性、可信性。经方法学验证，该方法重复性好、专属性强。

## 参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 314-315.
- [2] 周迎春, 张廉洁, 张燕丽. 山茱萸化学成分及药理作用研究新进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(1): 114-120.
- [3] 张嘉妮, 戴冰, 李玉星, 等. 酒制山茱萸炮制研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(12): 1604-1608.
- [4] 霍利民. 山茱萸炮制的历史沿革及现代研究[J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(9): 148-149.
- [5] 常增荣, 李姣, 郝博, 等. 中药山茱萸炮制前后特征化学成分的分析[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(2): 338-343.
- [6] 朱敏, 刘志辉, 姚毅, 等. 山萸肉炮制前后4种环烯醚萜苷类成分的含量变化研究[J]. 中国药房, 2014, 25(47): 4464-4466.
- [7] 肖红, 王东春, 舒琴, 等. 山茱萸不同炮制品中8个化学成分的含量测定[J]. 中国现代中药, 2021, 23(8): 1444-1450.
- [8] 贾红梅, 庾延和, 于猛, 等. 基于化学计量学的酒萸肉特征性成分识别及定量测定[J]. 中草药, 2020, 51(5): 1294-1301.
- [9] 王晓燕, 霍甜甜, 王翀, 等. 一测多评法测定酒萸肉中5种环烯醚萜苷类成分的含量[J]. 中药材, 2016, 39(7): 1586-1590.
- [10] 晏朝操. 炮制前山萸肉和炮制后酒萸肉的化学成分鉴别与分析[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2018, 2(6): 177.
- [11] 潘雪格. 中药山茱萸、丹参化学成分和生物活性的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [12] 王钧, 周聪, 黄家鹏, 等. 近红外光谱法检测山茱萸中莫诺苷和马钱苷的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(5): 1798-1804.
- [13] 范倩, 陈雪冰, 荣莉, 等. 山茱萸化学成分、生物活性、复方应用及质量控制研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(7): 1244-1258.
- [14] Zhang R, Liu J, Bin X, et al. Cornuside alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting Th17 cell infiltration into the central nervous system[J]. *Biomedicine Biotech*, 2021, 22(5): 421-431.
- [15] 唐凯, 南美娟, 张化为, 等. HPLC法同时测定不同产地山茱萸果核中4种成分[J]. 中成药, 2020, 42(3): 670-675.
- [16] 田宇柔, 麻景梅, 王鑫国, 等. 一测多评法同时测定山茱萸配方颗粒中5种成分[J]. 中成药, 2017, 39(9): 1845-1849.
- [17] 李红伟, 丁梦, 石延榜, 等. 8种炮制方法对山茱萸脂溶性成分的影响[J]. 中成药, 2019, 41(4): 855-862.
- [18] 鞠成国, 高陆, 姜文月, 等. 多指标综合加权评分法优选酒萸肉蒸制工艺[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(11): 2387-2390.
- [19] 宋艺君, 王志彦, 李积秀, 等. 总评归一化法优选山茱萸酒蒸炮制工艺[J]. 中药材, 2018, 41(2): 325-329.
- [20] 王巍, 高陆, 姜文月, 等. 一测多评法测定山茱萸炮制前后6种成分的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2018, 32(5): 38-41.
- [21] 钱怡洁, 皮文霞, 朱广飞, 等. 基于熵权法结合层次分析法和反向传播神经网络优选酒萸肉蒸制工艺[J]. 中草药, 2021, 52(22): 6816-6824.
- [22] 敖楠楠, 才谦, 曲扬, 等. 响应面试验设计优选山楂最佳蜜制工艺[J]. 实用药物与临床, 2020, 23(2): 171-175.
- [23] 陈嘉漠. 本草蒙筌[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2009.
- [24] 裴征, 朱晓伟, 龚超. 基于层次分析法和熵值法组合的DRG指标评价体系权重赋值研究[J]. 中国医院管理, 2020, 40(11): 69-72; 83.