

山药炮制前后主要药理活性的对比研究

郭灿 曾莉

【摘要】 目的 对比研究山药炮制前后降血糖、调节免疫及抗衰老作用的变化。**方法** 以小鼠为研究对象,比较生山药、清炒山药、麸炒山药、膨化山药对血糖、免疫调节及抗衰老作用的影响。**结果** 生山药、清炒山药、麸炒山药、膨化山药在小鼠的降血糖作用、免疫调节作用及抗衰老作用方面无显著性差异($P>0.05$)。**结论** 山药炮制前后主要药理作用无显著变化。

【关键词】 山药; 炮制工艺; 药理活性

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.10.007

Comparative study of Rhizoma Dioscoreae main pharmacological activity before and after processing GUO Can, ZENG Li. Dispensary of traditional Chinese medicine, Fifth People's Hospital, Chengdu 611130, China

Corresponding author: ZENG Li, E-mail: 2275543897@qq.com

【Abstract】 Objective Comparative study the change of Rhizoma Dioscoreae pharmacological activity before and after processing. **Methods** Studying with mice, to compare the effects of various Rhizoma Dioscoreae which got from various processing methods on blood sugar, immune regulation and anti-aging. **Result** The different rhizoma dioscoreae which got from various processing technology was no significant difference ($P>0.05$) in lowering blood glucose in mice, immune regulation and anti-aging role. **Conclusion** The main pharmacological of rhizoma dioscoreae before and after processing was no significant change.

【Key word】 Rhizoma Dioscoreae; Processing; Pharmacological Activity

山药是薯蓣科植物薯蓣的块茎,为多年生草本类植物,目前山药的种植主要分布在华北、西北以及长江流域等地,现中药材中应用的山药主要为怀山药。山药是卫生部批准的药食兼用的植物之一,其中含有多种蛋白质、氨基酸以及多糖、薯蓣皂苷、尿囊素及微量元素等^[1],有一定的营养价值和药用价值。近年来,文献报道山药具有抗氧化、抗衰老、降血糖、降血脂、肾缺血再灌注损伤的保护、肝损伤的保护、免疫调节和抗肿瘤、抗突变等多种药理作用^[2-3]。山药炮制方法通常有清炒制、麸炒制、蜜麸制、米制、土制、膨化法炮制等^[4]。本文在以往研究的基础上,对生山药、清炒山药、麸炒山药、膨化山

药的降血糖、调节免疫和抗衰老药理作用的变化进行对比研究。

1 材料

昆明种小鼠,雌性 90 只,雄性 160 只,体重 18~20g,由福建医科大学实验动物中心提供,动物合格证编号:140509002A。豚鼠,20 只,由福建医科大学实验动物中心提供,动物合格证编号:140515001C。

生山药、清炒山药、麦麸山药、膨化山药(河南宛西制药);酶法测定血糖试剂盒(上海万疆生物科技有限公司,批号:NG20141220);葡萄糖、柠檬酸钠、柠檬酸及氯化钠(购自国药化学试剂有限公司);都氏试剂(Sigma Aldrich,批号:99K7854);D-半乳糖(上海研域生物科技有限公司);磷酸盐缓冲液(北京华科盛精细化工产品贸易有限公司);全自动高速冷冻离心机(湖南湘仪 GL-21M);紫外分光光度计(日本岛津 2450)。

作者单位: 611130 成都市第五人民医院中药房

作者简介: 郭灿(1969-),女,本科,副主任中药师。研究方向: 中药学。E-mail: 745211754@qq.com

通讯作者: 曾莉(1971-),女,本科,副主任中药师。研究方向: 中药学。E-mail: 2275543897@qq.com

2 方法

2.1 血糖测定

选取 100 只昆明种小鼠,体质量在 18~20 g 范围内,雌雄参半,随机分为对照组、生山药组、清炒山药组、麦麸山药组、膨化山药组 5 组,每组 20 只。其中对照组小鼠每天给予等量的生理盐水,其他各组每天给予不同方法炮制的山药提取物,以 80 g/kg 的剂量,采取灌胃的方式给药。连续给药 7 天后,用毛细管进行眼眶取血,血液经 3000 rpm/min 的速度离心,离心后用微量吸管吸取上层部分的血清,然后采用酶法测定血清中的葡萄糖水平^[5]。

2.2 调节免疫作用的测定

2.2.1 绵羊红细胞(sheep red blood cell, SRBC)与补体制备 (1)绵羊红细胞的准备:取健康绵羊的颈脉血,将取出的血液放入经过灭菌的装有研磨玻璃珠的锥形瓶中,手持锥形瓶朝一个方向轻轻摇动,以利于脱去纤维。然后用阿氏液将上述处理好的绵羊血保存在 4℃ 冰箱中备用。使用时,用生理盐水以 3000 rpm/min 的速度离心 10 分钟,洗涤 3 遍^[6]。(2)补体的制备:采集豚鼠血液,经一定的处理分离出血清(血清量为至少 10 只豚鼠的混合血清),取 2 mL 压积 SRBC 加入到 10 mL 豚鼠血清中,置于 4℃ 冰箱中放置半小时,放置冰箱期间,不断的取出样品振荡。半小时后将样品离心,然后取上清液,分装在小样品瓶中, -70℃ 保存^[7-8]。使用时取出,用生理盐水以 1:10 的比例进行稀释。

2.2.2 血清溶血素测定——半数溶血值(HC₅₀)的测定 选取 50 只昆明种小鼠随机分为对照组(给予生理盐水)及生山药组、清炒山药组、麦麸山药组、膨化山药组 5 组,每组 10 只。给药组分别以 400 mg/kg 给药。灌胃体积为 0.1 mL/10 g,每天给药 1 次,连续给药 8 天。灌胃至第 3 天时,每只小鼠经由腹腔注射 2% (v/v) 绵羊红细胞悬浮液 0.2 mL。5 天(期间不停止灌胃)后,用毛细管进行眼眶取血,取出的血液放置 1 小时后,以 3500 rpm 的离心速度,离心 15 分钟,收集上层血清,血清用生理盐水缓冲液稀释 320 倍。将稀释后血清 1 mL 置试管内,依次加入 10% (v/v) 绵羊红细胞 0.5 mL,补体 1 mL (用生理盐水按 1:10 稀释),另设不加血清的对照管(以生理盐水代替)。置 37℃ 恒温水浴中保温 30 分钟后,冰浴终止反应。2000 rpm 离心 10 分钟。取

上清液 1 mL、都氏试剂 3 mL 于试管内,同时取 10% (v/v) 绵羊红细胞 0.25 mL,加都氏试剂至 4 mL,于另一支试管内,作为 SRBC 的半数溶血值。充分混匀,放置 10 分钟后,于 540 nm 处以对照管作空白,分别测定各管光密度值。溶血素的量以半数溶血值(half value of hemolysin, HC₅₀)表示,按下列公式计算:各小鼠的 HC₅₀ = 样品管光密度/SRBC 半数溶血时的光密度×稀释倍数。

2.3 抗衰老作用的测定

2.3.1 小鼠代谢性衰老模型的建立 选取体质量在 18~20 g 范围内的昆明种小鼠,雄性,每天在眼球后注射 D-半乳糖 0.12 mg/g,连续注射 1 个月,即可得到模型小鼠。

2.3.2 测定不同山药对小鼠脑 B 型单胺氧化酶(MAO-B)活性的影响 选取体质量在 18~20 g 范围内的昆明种雄性小鼠 60 只,随机分为代谢性衰老实验组、对照组、生山药组、清炒山药组、麦麸山药组和膨化山药组 6 组,每组 10 只。除对照组之外,其他组每天在眼球后注射 D-半乳糖 0.12 mg/g,生山药组、清炒山药组、麦麸山药组、膨化山药组 4 组每天腹腔内注射相应的山药提取物溶液,给药剂量为 400 mg/kg,对照组腹腔内注射等量生理盐水。给药满 40 天之后,6 组小鼠同时剖杀,取脑组织,加入冰的 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液,进行匀浆 3 分钟(转速 10000 rpm),并在维持 4℃ 的温度下进行离心 10 分钟(转速 5000 rpm),沉淀物混悬在 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液中,立刻水浴振荡混匀,然后再以 5000 rpm 的速度离心 10 分钟,并取环乙烷层在 242 nm 处测吸光度值,其中的粗酶液蛋白浓度采用 COOMASSIE BLUE G250 进行测定^[9-10],并用小牛血清白蛋白为标准蛋白,酶活力单位定义为 37℃ 产生 0.01/3h 的光密度改变的酶量。

2.4 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件对实验数据进行统计学分析处理,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据符合正态分布、方差齐,故采用单因素方差分析,两两比较用 SNK 检验,当 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

3 结果

3.1 降血糖作用比较

通过酶法测定得到的血清葡萄糖水平表明,无

论未经加工的生山药还是经过不同的炮制方法制备得到的山药——清炒山药、麦麸山药、膨化山药均能够降低正常小鼠的血糖水平。未经加工的生山药、清炒山药、麦麸山药、膨化山药组间血糖水平与对照组血糖水平之间的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 不同山药样品降血糖作用的比较($n=20$)

组别	血糖 (mg/dL)
对照组	200.03±25.2
生山药组	142.51±29.5
清炒山药组	140.27±21.3
麸炒山药组	139.72±27.6
膨化山药组	140.81±20.7

3.2 调节免疫作用比较

由半数溶血值(HC_{50})可看出,无论未经加工的生山药还是经过不同的炮制方法制备得到的山药(清炒山药、麦麸山药、膨化山药)均具有促进小鼠抗体生成的作用。经检验,未经加工的生山药、清炒山药、麦麸山药、膨化山药组间在增强免疫力方面无显著性差异 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 不同山药样品对小鼠血清溶血素的影响($n=10$)

组别	半数溶血值 (HC_{50})
对照组	60.32±53.12
生山药组	158.51±75.15
清炒山药组	161.13±76.37
麸炒山药组	159.62±78.42
膨化山药组	162.75±75.15

3.3 抗衰老作用比较

不同山药种类使小鼠单胺氧化酶变化如表 3 所示:小鼠脑单胺氧化酶活性数值可看出,无论未经加工的生山药还是经过不同的炮制方法制备得到的山药(清炒山药、麦麸山药、膨化山药)均使小鼠脑单胺氧化酶活性下降。经检验,未经加工的生山药、清炒山药、麦麸山药、膨化山药组间在降低小鼠脑单胺氧化酶活性方面无显著性差异 ($P>0.05$)。见表 3。

4 讨论

本研究测定了生山药、清炒山药、麦麸山药、膨化山药在降血糖、提高免疫力及抗衰老方面的活性,

表 3 不同山药样品小鼠脑中单胺氧化酶的活性测定 ($n=10$)

组别	赋值	有效数值	平均脑单胺氧化酶活性 (U/mg 酶量)
代谢性衰老实验组	1	10	243.65±12.26
空白对照组	2	9	205.27±15.41
生山药组	3	8	208.31±10.34
清炒山药组	4	6	211.74±16.53
麸炒山药组	5	9	204.11±19.90
膨化山药组	6	7	213.09±11.59

结果均表明生山药、清炒山药、麦麸山药、膨化山药在降血糖、提高免疫力及抗衰老方面无显著性差异 ($P>0.05$)。这可能是由于山药在炮制过程中主要的药理活性成份没有发生变化所导致。

目前,山药在实际应用中仍存在一定的局限性,主要在中药饮片中的应用,对山药的提取物的研究多数仅仅处在动物实验阶段,临床应用性的报道极少,其主要成份的药理作用机制仍需继续研究。

参 考 文 献

[1] 赵宏,谢晓玲,万金志,等. 山药的化学成分及药理研究进展[J]. 今日药学,2009,19(3):49-52.

[2] 孔晓朵,白新鹏. 山药的活性成分及生理功能研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(13):5979-5981,5984.

[3] 张亚,周云,洪志华,等. 山药对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 江苏医药,2008,34(8):809-811.

[4] 吴建华,崔九成. 山药炮制方法初探[J]. 陕西中医学院报,2007,23(4):49-50.

[5] Mcanuff M A, Omoruyi Fehx O, Morrison Errol Y, et al. Plasma and liver lipid distributions in streptozotocin-induced Diabetic rats fed sapogenin extract of the Jamaican bitter Dioscoreae Rhizoma (*Dioscorea polygonoides*) [J]. Nutrition Research, 2002, (22): 1427-1434.

[6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994:708,747.

[7] 赵国华,王赟,李志孝,等. 山药多糖的免疫调节作用[J]. 营养学报,2002,24(4):187-188.

[8] 徐增莱,汪琼,赵猛,等. 淮山药多糖的免疫调节作用研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(5):1040-1041.

[9] 詹彤,陶靖,王淑如. 水溶性山药多糖对小鼠的抗衰老作用[J]. 药学进展,1999,23(6):356-360.

[10] 相湘. 山药的抗衰老作用研究[J]. 医药论坛杂志,2007,28(24):109-110.

(收稿日期: 2015-06-16)
(本文编辑: 董历华)