

# 不同大孔树脂富集山茱萸中环烯醚萜苷的效果比较

蔡黎明, 周盈, 蔡宝昌, 刘芳, 皮文霞\*  
(南京中医药大学, 南京 210046)

**[摘要]** 目的: 考察不同类型大孔树脂对山茱萸中环烯醚萜苷类成分的分离效果。方法: 采用 HPLC 测定山茱萸中马钱苷及莫诺苷的含量, 考察不同大孔吸附树脂分离山茱萸中环烯醚萜苷类成分的有效性。结果: 马钱苷、莫诺苷的回归方程依次为  $Y = 17.245X + 13.362 (r = 0.9999)$ ,  $Y = 15.468X - 41.275 (r = 1.0000)$ ; 线性范围分别为 21.75 ~ 435, 35.8 ~ 716  $\mu\text{g}$ ; 加样回收率分别为 98.27%, 96.29%。HPD-400 型大孔树脂的分离效果最好。结论: 选取马钱苷和莫诺苷含量为指标筛选富集环烯醚萜苷的大孔树脂类型是可行的, 研究结果为分离山茱萸中有效部位的后续研究提供实验依据。

**[关键词]** 山茱萸; 大孔树脂; 环烯醚萜苷; 马钱苷; 莫诺苷

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0039-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013130039

## Comparison of Enrichment Effect of Iridoid Glycosides from *Cornus officinalis* by Different Macroporous Resins

CAI Li-ming, ZHOU Ying, CAI Bao-chang, LIU Fang, PI Wen-xia\*

**[收稿日期]** 20130117(004)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81274056)

**[第一作者]** 蔡黎明, 硕士, 从事中药物质基础及新药开发研究, Tel: 15895897362, E-mail: cailimin@yeah.net

**[通讯作者]** \* 皮文霞, 副教授, 从事中药物质基础及新药开发研究, Tel: 025-85811512, E-mail: piwenxia@163.com

乙醇、丙酮、三氯甲烷和稀碱, 微溶于水; 含有的甾体皂苷、黄酮类成分, 易溶于乙醇, 稍溶于冷水<sup>[8-9]</sup>, 因此采用乙醇回流法进行提取。

中药复方为多成分多靶点的协同作用, 其物质基础往往不明确, 因此仅选择君药或某味药的单一成分作为考察指标缺乏说服力<sup>[10]</sup>。本实验选取复方黑骨藤的总生物碱和总提取物得率为综合评价指标, 以优选更符合中药作用特点的提取工艺。

在总生物碱测定时, 应注意控制麝香草酚蓝溶液的 pH, 其会影响离子对的形成; 采用无水硫酸钠脱水是为保证实验结果的稳定性。

### [参考文献]

[1] 王和鸣, 葛继荣, 陈治英. 黑骨藤追风活络胶囊治疗痹病的临床研究[J]. 中国中医骨伤科, 1999, 7(2): 12.  
[2] 陈芳, 汪毅. 苗药黑骨藤的研究及开发应用[J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(1): 6.  
[3] 黄明进, 罗春丽, 郭刚, 等. 黑骨藤抗类风湿性关节炎作用及其分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,

17(12): 174.  
[4] 谢林, 韩建伟, 付聪, 等. 正交试验优选伤科熏洗汤剂的水提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 17.  
[5] 董洁, 朱会敏, 胡凯文, 等. 大孔树脂纯化浙贝母中总生物碱工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 18.  
[6] 郭胜伟, 王天山, 杨冬冬, 等. 分光光度法测定抗风痛胶囊中总生物碱的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(5): 290.  
[7] 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, 2010: 附录 VA 30.  
[8] 徐冉, 张援虎, 赵延涛. 黑骨藤化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(11): 823.  
[9] 朱欣婷. 黑骨藤的化学成分研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2007.  
[10] 石任兵, 刘斌, 石钺, 等. 中药复方化学与创新药物研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2003, 5(6): 6.

[责任编辑 仝燕]

(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**[ Abstract ] Objective:** To investigate separation effect of iridoid glycosides from *Cornus officinalis* by different types of macroporous resin. **Method:** The content of loganin and morroniside from *C. officinalis* was determined by HPLC, effectiveness of different macroporous adsorption resin on separating iridoid glycosides from *C. officinalis* was investigated. **Result:** HPD-400 type of macroporous resin had the best separation effect. Regression equation of loganin and morroniside were  $Y = 17.245X + 13.362$  ( $r = 0.9999$ ),  $Y = 15.468X - 41.275$  ( $r = 1.0000$ ); The linear range of them were 21.75-435, 35.8-716  $\mu\text{g}$ ; Recoveries were 98.27%, 96.29%, respectively. **Conclusion:** It was feasible that selected the content of loganin and morroniside as index to screen macroporous resin for enrichment iridoid glycosides from *C. officinalis*, this study could provide experimental basis for the follow-up study of separation of effective parts from *C. officinalis*.

**[ Key words ]** *Cornus officinalis*; macroporous resin; iridoid glycosides; loganin; morroniside

山茱萸具有补益肝肾、涩精固脱之功效<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明,其具有较好的调节免疫系统功能和显著的降糖作用。其环烯醚萜苷类成分具有明显的免疫抑制活性、保护血管内皮细胞、防治糖尿病微血管并发症等功效<sup>[2]</sup>。大孔吸附树脂为一种选择性有机高聚吸附剂,具有吸附快、易洗脱、吸附容量大、可再生、使用寿命长等优点。本实验通过比较 5 种不同类型的大孔树脂对山茱萸中马钱苷和莫诺苷的分离效果,为确立山茱萸中环烯醚萜苷的可行富集方法提供实验依据。

### 1 材料

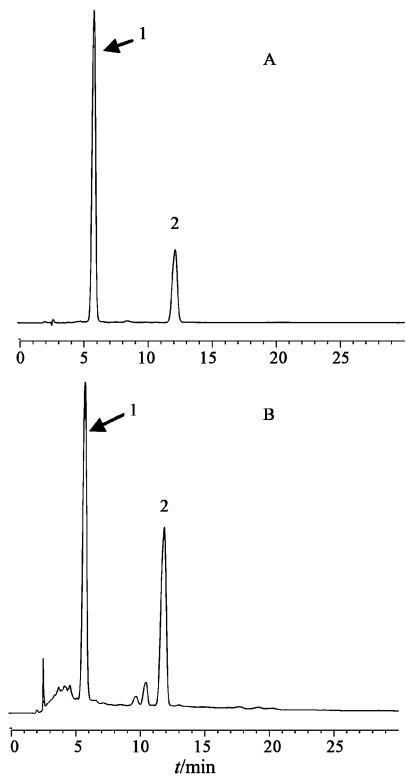
Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),AG285 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多集团)。莫诺苷、马钱苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 20120702, 20120427),山茱萸(安徽丰原铜陵中药饮片有限公司,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉),甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相甲醇-水(30:70),检测波长 240 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取莫诺苷、马钱苷对照品 7.16, 4.35 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得混合对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取山茱萸生品 50 g,加 6 倍量 50% 乙醇水浴回流提取 2 次,每次 1 h,过滤,合并滤液,减压回收溶剂至无醇味,得山茱萸提取液约 75 mL。将所得山茱萸提取液平均分成 5 份,分



A. 对照品; B. HPD-400 型树脂 10% 乙醇洗脱部位;  
1. 莫诺苷; 2. 马钱苷

图 1 山茱萸 HPLC

别过径高比 1:12 的 HPD-400, HPD-100, D-101, HPD-950, ADS-17 型大孔树脂柱(各 20 g)<sup>[3]</sup>,均先后用水及体积分数分别为 10%, 30%, 50%, 70%, 90% 的乙醇洗脱,减压回收溶剂,真空干燥,得干燥洗脱物。分别称取上述干燥洗脱物约 0.02 g,置 10 mL 量瓶中,加适量甲醇超声 30 min,放冷,用甲醇定容至刻度,即得。

**2.4 线性关系考察** 分别量取混合对照品溶液 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL,加甲醇定容至 2.0 mL。

按上述色谱条件进行测定,进样量 10.0  $\mu\text{L}$ ,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程  $Y_{\text{马钱苷}} = 17.245X + 13.362 (r = 0.9999)$ ,  $Y_{\text{莫诺苷}} = 15.468X - 41.275 (r = 1.0000)$ ,线性范围分别为 21.75 ~ 435.00, 35.80 ~ 716.00  $\mu\text{g}$ 。

**2.5 精密度试验** 取同一混合对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,连续进样 5 次,结果马钱苷和莫诺苷峰面积的 RSD 分别为 0.77%, 0.50%。

**2.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液,每隔 4 h 测定 1 次,共 6 次,进样量 10.0  $\mu\text{L}$ ,结果马钱苷、莫诺苷峰面积的 RSD 分别为 0.86%, 0.95%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.7 重复性试验** 取同一批山茱萸药材,按 2.3 项下方法制备 5 份供试品溶液,按上述方法测定,结果马钱苷、莫诺苷峰面积的 RSD 分别为 2.66%, 1.45%。

**2.8 加样回收率试验** 采用加样回收法,取同一批山茱萸药材 6 份,每份约 0.5 g,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,分别精密加入马钱苷( $0.004 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )、莫诺苷( $0.013 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )对照品溶液和对照品溶液各 10 mL,取 HPD-400 型树脂 30% 乙醇洗脱部位计算回收率,见表 1, 2。

表 1 马钱苷加样回收率

No.	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.040 8	0.079 8	98.40	98.27	0.75
2	0.041 0	0.079 7	98.07		
3	0.041 4	0.080 4	99.75		
4	0.040 9	0.079 6	97.93		
5	0.041 5	0.079 5	97.65		
6	0.040 8	0.079 6	97.84		

注:马钱苷加入量均为 0.040 0 mg。

表 2 莫诺苷加样回收率

No.	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.130 5	0.256 5	95.03	96.29	0.93
2	0.128 2	0.256 9	97.04		
3	0.129 7	0.258 2	96.92		
4	0.131 1	0.257 5	95.28		
5	0.128 5	0.257 0	96.90		
6	0.130 6	0.258 6	96.58		

注:莫诺苷加入量均为 0.130 0 mg。

**2.9 样品测定** 取各大孔树脂得水及不同体积分数乙醇洗脱物适量,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,测定马钱苷、莫诺苷总含量,结果见表 3。

表 3 各大孔树脂不同洗脱部位中马钱苷和莫诺苷总质量分数 %

树脂型号	水	10% 乙醇	30% 乙醇	50% 乙醇	70% 乙醇	90% 乙醇
	HPD-400	-	32.79	27.65	-	-
HPD-100	-	17.59	35.88	7.73	-	-
D-101	-	28.22	27.94	4.51	-	-
ADS-17	-	35.32	24.59	-	-	-
HPD-950	-	7.68	23.83	20.89	9.71	-

注:“-”表示马钱苷、莫诺苷含量很低。

### 3 讨论

通过比较 5 种大孔树脂中各洗脱部位马钱苷、莫诺苷的总含量,可知环烯醚萜苷在不同大孔树脂中富集的部位不同,主要集中在 10% 乙醇, 30% 乙醇和 50% 乙醇 3 个洗脱部位。其中 HPD-400 和 ADS-17 型大孔树脂洗脱获得马钱苷和莫诺苷的含量较高,分离效果接近,但 ADS-17 型树脂价格较高,再生率低,故选择 HPD-400 型大孔树脂富集山茱萸中环烯醚萜苷类成分。

现代药理实验表明山茱萸中环烯醚萜苷类成分具有多种生理功能,为山茱萸治疗糖尿病及其并发症的主要有效成分。分离、纯化山茱萸环烯醚萜苷,对制备符合一定纯度要求的山茱萸环烯醚萜苷类制剂具有十分重要的意义。本实验选定 HPD-400 型大孔树脂富集山茱萸环烯醚萜苷,具有含量高、操作简便、可再生、易于工业化等优势,为富集山茱萸中环烯醚萜苷成分提供参考。

### [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, 2010:26.
- [2] 戴岳, 杭秉茜, 黄朝林. 山茱萸对炎症反应的抵制作用[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(15):307.
- [3] 丁霞, 于宗亮, 杜伟峰, 等. SP825-大孔树脂富集山茱萸环烯醚萜苷的工艺研究[J]. 中成药, 2008, 30(1):53.
- [4] 凌科, 张建民, 徐萧瑾, 等. HPLC 测定宁心安神颗粒中马钱苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5):76.
- [5] 吴红, 梁恒, 吴道澄, 等. 大孔吸附树脂法分离纯化山茱萸总皂苷[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(8):689.
- [6] 周洪亮, 方祝元, 常星洁, 等. 基于莫诺苷转化的山茱萸环烯醚萜苷提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9):27.

[责任编辑 仝燕]