

DOI:CNKI:11-3495/R.20110314.0940.004

## 基于莫诺昔转化的山茱萸环烯醚萜苷提取工艺

周洪亮<sup>1</sup>, 方祝元<sup>2</sup>, 常星洁<sup>1</sup>, 陈武<sup>1</sup>, 刘志辉<sup>2\*</sup>

(1. 南京中医药大学, 南京 210029; 2. 江苏省中医院, 南京 210036)

[摘要] 目的: 基于莫诺昔转化现象研究山茱萸环烯醚萜苷的提取工艺。方法: 采用正交试验法, 优选山茱萸环烯醚萜苷提取工艺。结果: 山茱萸中环烯醚萜苷的最佳提取工艺为: 以水做提取溶剂, 加 10 倍量水, 提取 3 次, 每次 80 min, 莫诺昔转移率为 145%, 马钱苷为 92%。结论: 优选所得山茱萸提取工艺稳定、合理, 可大量提高莫诺昔的提取量。

[关键词] 山茱萸; 莫诺昔; 马钱苷; 转化; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)09-0026-03

## Study on Extracting Technology of Iridoid Glycoside from Corni Fructus Based on Transformation of Morroniside

ZHOU Hong-liang<sup>1</sup>, FANG Zhu-yuan<sup>2</sup>, CHANG Xing-jie<sup>1</sup>, CHEN Wu<sup>1</sup>, LIU Zhi-hui<sup>2\*</sup>

(1. Nanjing university of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029;

2. Hospital of Traditional Chinese Medicine of Jiangsu Province, Nanjin 210036, China)

[Abstract] **Objective:** Study on extracting technology of iridoid glycoside from Corni Fructus based on transformation of morroniside. **Method:** The optimal conditions for extracting iridoid glycoside from Corni Fructus were studied by orthogonal design. **Result:** The optimal conditions of refluxing method were as follows: water was used to extract for 3 times and ten times volume of solvent was used to extract for 80 minutes for each time, morroniside transformation rate was 145%, loganin was 92%. **Conclusion:** The optimum extraction processes are stable and feasible. Extraction of morroniside is increased.

[Key words] Corni Fructus; morroniside; loganin; iridoid glycoside; transformation; extraction process

山茱萸为山茱萸科植物山茱萸 *C. officinalis* Sieb. Et Zucc. 的干燥成熟果实, 具有补益肝肾、涩精固脱等功效, 山茱萸主要含环烯醚萜苷、多糖、有机酸、鞣质等成分, 其中环烯醚萜苷类成分为山茱萸的主要活性成分之一, 而马钱苷、莫诺昔为环烯醚萜苷

类物质中的主要物质。目前山茱萸提取工艺主要为醇提<sup>[1-4]</sup>, 而研究发现, 山茱萸水提莫诺昔含量较醇提高, 且莫诺昔转移率大于 100%, 后经进一步研究发现山茱萸中含有某种或某些可在一定条件下转化为莫诺昔的物质, 一定条件转化后莫诺昔含量可大量增高, 对山茱萸提取过程中莫诺昔含量增加现象及其影响因素研究后, 发现, 酒萸肉超声提取液中莫诺昔含量随 pH、加热温度、醇浓度、加热时间变化而变化, 为其转化的主要影响因素。即, ①达到转化点温度后, 温度越高 (80 ~ 120 °C), 转化越多。②相同温度 (大于转化点温度) 下加热时间越长, 转化越多; ③提取溶剂的乙醇含量高于 20% 则不发生转化。④一定程度的酸性 (pH 1 ~ 4) 条件可促进转化的发生, 过低马钱苷、莫诺昔则出现被破坏的现象,

[收稿日期] 20101010 (003)

[基金项目] 江苏省社会发展项目 (BE2009696)

[第一作者] 周洪亮, 硕士生, 研究方向: 中药药剂学, Tel: 025-86529291, E-mail: zhouhl0112@126.com

[通讯作者] \* 刘志辉, 主任药师, 从事中药制剂开发及中药质量标准研究, Tel: 025-86529291, E-mail: liuzh1008@126.com

[网络出版时间] 2011-03-14 09:40

溶液调 pH 2 后,100 ℃ 加热 1 h 莫诺昔增加量相当于酒萸肉超声水提液 100 ℃ 加热 8 h,也相当于 120 ℃ 加热 1 h,但是将溶液调 pH 2,120 ℃ 加热 1 h 后,莫诺昔含量不但没有增高,反而降低,分析在此条件下莫诺昔、马钱苷也出现了被破坏的现象。本试验主要基于莫诺昔存在转化的现象,以莫诺昔、马钱苷转移率为指标对山茱萸环烯醚萜苷的提取工艺进行研究。

## 1 仪器与试剂

Waters-e2695 型高效液相色谱仪、2998 PDA 检测器(美国 Waters 公司),BP-211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司),DW 调温电热器(上海平环燃烧设备工程有限公司),101-1A 型数显电热鼓风干燥箱(上海沪南科学仪器联营厂),HH-4 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)。

山茱萸购于江苏省医药公司,经江苏省中医院主任中药师周琴妹鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *C. officinalis* 的干燥成熟果肉的酒蒸炮制品;马钱苷对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 111640-200604),莫诺昔对照品购自上海亿欣生物科技有限公司(批号 091018);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 莫诺昔、马钱苷含量测定

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱 Waters-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相 甲醇-水(30:70),流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 240 nm,柱温 30 ℃。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取莫诺昔对照品、马钱苷对照品适量,分别加 80% 甲醇制成每 1 mL 含莫诺昔 460 μg、马钱苷 416 μg 的贮备液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 精密吸取正交所得样品溶液 1 mL,加 80% 甲醇定容至 25 mL,摇匀,0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,得供试品溶液。

**2.1.4 标准曲线的绘制** 取莫诺昔对照品贮备液,加 80% 甲醇稀释成 11.04, 18.40, 36.80, 55.20, 64.40, 92.00, 138.00 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液,马钱苷稀释成 4.992, 8.32, 16.64, 24.96, 29.12, 41.60, 62.40 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液,进样 10 μL,测定其峰面积。以测得的峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,进行线性回归,计算,得莫诺昔回归方程  $Y = 2309.2X + 15749 (r = 1.0000)$ ; 马钱苷回归方程  $Y = 3008.7X + 9857.4 (r = 0.9999)$ 。结果表

明:莫诺昔在 11.04 ~ 138 mg·L<sup>-1</sup>、马钱苷在 4.992 ~ 62.4 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系。

**2.1.5 精密度试验** 取 2.1.3 项下同一供试品溶液,连续进样 6 次,计算莫诺昔和马钱苷峰面积的 RSD 分别为 1.24% 和 1.61%。

**2.1.6 稳定性试验** 取 2.1.3 项下同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定莫诺昔和马钱苷的峰面积,结果莫诺昔和马钱苷峰面积 RSD 分别为 1.78% 和 0.99%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.1.7 重复性试验** 按 2.1.3 项下供试品制备方法,平行制备 5 份样品液,微孔滤膜滤过,测定,莫诺昔、马钱苷含量的 RSD 分别为 2.15%, 1.88%。

**2.1.8 加样回收率试验** 取已知质量浓度的样品溶液(莫诺昔 54.365 mg·L<sup>-1</sup>; 马钱苷 13.697 mg·L<sup>-1</sup>) 6 份 5 mL 置 10 mL 量瓶中,精密加入莫诺昔对照品溶液(138.00 mg·L<sup>-1</sup>) 2 mL、马钱苷对照品溶液(41.60 mg·L<sup>-1</sup>) 2 mL,加 80% 甲醇至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜过滤,按 2.1.1 项下色谱条件进行测定。结果莫诺昔和马钱苷平均回收率分别为 99.76%, 98.96%, RSD 分别为 1.98%, 1.61%。

**2.2 正交试验** 由于醇的存在会抑制转化的进行,故采用水煎煮法对山茱萸中的环烯醚萜苷进行提取,同时选择煎煮时间、煎煮次数、加水倍量为主要考察因素,采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表,以莫诺昔、马钱苷的转移率为考察指标进行实验(莫诺昔、马钱苷转移率 = 莫诺昔、马钱苷提取量/药材中莫诺昔、马钱苷含量<sup>[5]</sup> × 100%),设计因素和水平见表 1,结果见表 2,方差分析见表 3, 4。

表 1 山茱萸水煎煮工艺因素水平

水平	A 煎煮时间/min	B 煎煮次数/次	C 加水倍数/倍
1	40	1	8
2	80	2	10
3	120	3	12

由表 2 进行直观分析可知,各因素对莫诺昔、马钱苷的影响程度依次为  $B > A > C$ ,即提取次数对各指标影响最大,其次为提取时间和加水量;由表 3, 4 方差分析可知,提取次数、提取时间对莫诺昔转移率具显著性影响,而由马钱苷的方差分析结果可知,提取次数对马钱苷的转移率有显著性影响,其他因素则无显著性影响。综合直观分析和方差分析,优选提取工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即加 10 倍量水,加热回流提取 3 次,每次 80 min。

表 2 山茱萸水煎煮工艺  $L_9(3^4)$  试验安排和结果

No	A	B	C	空白	莫诺昔 转移率 /%	马钱苷 转移率 /%
1	1	1	1	1	87.31	61.14
2	1	2	2	2	125.75	83.37
3	1	3	3	3	130.96	89.30
4	2	1	2	3	111.37	76.62
5	2	2	3	1	134.94	94.00
6	2	3	1	2	142.94	92.97
7	3	1	3	2	112.47	76.04
8	3	2	1	3	137.54	94.17
9	3	3	2	1	149.20	94.97
$K_1$	114.673	103.717	122.597	123.817		
$K_2$	129.750	132.743	128.773	127.053		
$K_3$	133.070	141.033	126.123	126.623		
R	18.397	37.316	6.176	3.236		
$K_1$	77.937	71.267	82.760	83.370		
$K_2$	87.863	90.513	84.987	84.127		
$K_3$	88.393	92.413	86.447	86.697		
R	10.456	21.146	3.687	3.327		

表 3 莫诺昔方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	576.766	2	31.113	<0.05
B	2303.805	2	124.275	<0.01
C	57.611	2	3.108	>0.05
D(误差)	18.54	2		

表 4 马钱苷方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	208.161	2	11.410	>0.05
B	821.226	2	45.013	<0.05
C	20.681	2	1.134	>0.05
D(误差)	18.24	2		

2.3 验证试验 取同批山茱萸药材 3 份,每份 20 g。分别按照优选工艺进行试验。结果表明,所筛选的提取工艺条件稳定,莫诺昔、马钱苷提取率高。见表 5。

### 3 讨论

虽然研究发现 pH 2 时,莫诺昔含量增高最多,但山茱萸加热提取后,提取液 pH 已经达到了 3,考

表 5 验证试验

No.	药材中 莫诺昔量 /mg·g <sup>-1</sup>	药材中 马钱苷量 /mg·g <sup>-1</sup>	莫诺昔 提取量 /mg·g <sup>-1</sup>	马钱苷 提取量 /mg·g <sup>-1</sup>	莫诺昔 转移率 /%	马钱苷 转移率 /%
1	13.06	4.87	19.09	4.68	145.29	91.78
2	13.06	4.87	19.21	4.35		
3	13.06	4.87	18.62	4.35		

虑到其他环烯醚萜苷的稳定性,故未调节提取溶剂的 pH。且高温(120 ℃)高压条件对于生产不利,故提取温度为 100 ℃。虽然山茱萸超声提取液 100 ℃条件下,转化完全需要 8 h 左右,但在山茱萸水提过程中发现,4 h 左右转化即趋于完全,可能是药材对其转化具有促进作用,故每次煎煮时间设置的最大值为 2 h。

本试验所得山茱萸中环烯醚萜苷的最佳提取工艺为山茱萸饮片加 10 倍量水,加热回流提取 3 次,每次 80 min,莫诺昔转移率为 145%,马钱苷为 92%。本工艺最大的意义在于,提取溶剂为水,既可最大限度地节约成本,又可将山茱萸中可转化为莫诺昔的物质转化成了莫诺昔,同时马钱苷得到很好的提取,适合工业生产。对于山茱萸环烯醚萜苷的提取具有一定的参考价值。目前对于是什么物质在此条件下转化为莫诺昔还有待于进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 郭瑾丽,项乐源,杨祉雯,等. 正交试验法优选山茱萸的提取工艺[J]. 中国临床药学杂志,2009,18(1):37.
- [2] 皮文霞,叶丽红,郭戎,等. 正交法优选山茱萸抗衰老有效部位的提取工艺[J]. 南京中医药大学学报,2008,24(6):406.
- [3] 薛刚,臧晋,刘凤霞,等. 山茱萸果实有效成分提取工艺条件的选择[J]. 中草药,1997,28(6):339.
- [4] 周莉莉,赵晓林,王淑敏,等. 山茱萸化学成分超声提取工艺的研究[J]. 现代中药研究与实践,2005,19(3):47.
- [5] 杜伟锋,蔡皓,丁霞,等. RP-HPLC 法测定山茱萸生品和酒制品中没食子酸、5-羟甲基糠醛、莫诺昔和马钱素[J]. 中草药,2008,39(12):1813.

[责任编辑 仝燕]