

# 山萸肉炮制前后4种环烯醚萜苷类成分的含量变化研究<sup>△</sup>

朱敏\*, 刘志辉, 姚毅, 方祝元<sup>#</sup>(南京中医药大学附属医院, 南京 210036)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)47-4464-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.47.16

**摘要** 目的:研究山萸肉炮制前后4种环烯醚萜苷类成分的含量变化情况。方法:以同一种山萸肉为原料,分别依法炮制,制成酒蒸、酒炖、加压酒蒸萸肉,再采用高效液相色谱法测定各样品中4种环烯醚萜苷类成分的含量。色谱柱为 Waters sunfire C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(梯度洗脱),柱温为(30±1)℃,流速为0.8 ml/min,进样量为10 μl,莫诺苷、獐牙菜苷、马钱苷和山茱萸新苷的检测波长分别为240、246、237、219 nm。结果:炮制前,莫诺苷、獐牙菜苷、马钱苷和山茱萸新苷在山萸肉中的含量分别为10.66、0.56、4.90、1.48 mg/g,但炮制后4种成分均有不同程度的下降,其中酒炖萸肉中莫诺苷、獐牙菜苷和马钱苷的含量最低,加压酒蒸萸肉中山茱萸新苷的含量最低。结论:山萸肉炮制后4种环烯醚萜苷类成分的含量均有下降。

**关键词** 山萸肉;炮制;环烯醚萜苷;含量变化;高效液相色谱法

## Contents of 4 Kinds of Iridoid Glycosides in *Cornus officinalis* and Its Processed Products

ZHU Min, LIU Zhi-hui, YAO Yi, FANG Zhu-yuan(The Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing 210036, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the changes of the contents of 4 kinds of iridoid glycosides in *Cornus officinalis* and its processed products. METHODS: Same kind of *C. officinalis* were used as raw material and then processed through steaming with wine, stewing with wine and pressurizing combined with steaming with wine. HPLC method was used to determine the contents of 4 kinds of iridoid glycosides in samples. The determination was performed on Waters sunfire C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-water (gradient elution) at the flow rate of 0.8 ml/min. The column temperature was (30±1)℃ and sample size was 10 μl. The detection wavelength was set at 240 nm for morroniside, 246 nm for sweroside, 237 nm for loganin and 219 nm for cornuside. RESULTS: The contents of morroniside, sweroside, loganin and cornuside of crude *C. officinalis* were 10.66, 0.56, 4.90 and 1.48 mg/g, respectively. After processed, the contents of 4 kinds of iridoid glycosides decreased to different extents. The contents of morroniside, sweroside and loganin were the lowest in the wine stewed samples, and the content of cornuside was lowest in the wine steamed sample. CONCLUSIONS: The contents of 4 kinds of iridoid glycosides in processed products are all lower than those in crude *C. officinalis*.

**KEYWORDS** *Cornus officinalis*; Process; Iridoid glycosides; Content change; HPLC

山萸肉为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. 的干燥成熟果肉,始载于《神农本草经》,列为中品,味酸、涩,微温,归肝、肾经,具有补益肝肾、收涩固脱的作用<sup>[1]</sup>,其以敛阴止汗力胜,主要用于自汗、盗汗、遗精、遗尿,经酒蒸制后,补肝、肾作用增强,多入滋补剂。现代药理学研究显示,山萸肉中的化学成分主要有环烯醚萜苷、有机酸及其酯、多糖和鞣质等<sup>[2]</sup>,其中环烯醚萜苷类成分具有免疫调节、降血糖、抗凝血和改善记忆等作用<sup>[3-6]</sup>。本研究以山萸肉中莫诺苷、獐牙菜苷、马钱苷和山茱萸新苷的含量为指标,比较山萸肉炮制前、后的含量变化,以为山萸肉饮片的质量评价、炮制工艺及药用机制的研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

<sup>△</sup> 基金项目:江苏省中医药局科技项目(No.LZ11020);江苏省科技创新与成果转化专项引导资金资助项目(No.BE2009696);江苏省中医药局领军人才培养项目(No.200903)

\* 博士。研究方向:中药复方物质基础及配伍规律。E-mail: zhumin0902@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:教授。研究方向:中医临床及新药开发。E-mail: jsfy@jssmail.com.cn

2695-2996PDA HPLC 系统及 Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司);BP-211D 型电子天平(德国 Startorius 公司);SK6200H 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司);TS2231004-2012 型蒸汽灭菌器(上海三申医疗器械有限公司)。

### 1.2 试剂

黄酒(浙江古越龙山绍兴有限公司,批号:20130524);莫诺苷、獐牙菜苷、马钱苷和山茱萸新苷对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号分别为130301、130401、121120、121015,纯度均≥98%);甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司)。

### 1.3 药材

山萸肉药材(批号:13071502)购自江苏省医药公司,经江苏省中医院周琴妹主任中药师鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *C. officinalis* Sieb. 的干燥成熟果肉。

### 1.4 山萸肉炮制品的制备

酒蒸萸肉:取山萸肉适量,缓缓加入20%的黄酒,拌匀,加盖润透,置蒸制容器内,用蒸气加热至色发黑,取出,稍晾,拌回蒸液,至酒吸尽。

酒炖萸肉:取山萸肉适量,缓缓加入20%的黄酒,拌匀,加盖润透,置适宜容器内,密闭,隔水加热炖透至辅料完全被吸

尽时,放凉,取出,稍晾,至酒吸尽。

加压酒蒸莨肉:取山莨肉适量,缓缓加入20%的黄酒,拌匀,加盖润透,置加压蒸制容器内,用蒸汽加热90 min,取出,稍晾,拌回蒸液,至酒吸尽。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Waters sunfire C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)-水(B), 梯度洗脱(0~10 min, 10%→20% A; 10~17 min, 20%→30% A; 17~22 min, 30%; 22~30 min, 30%→40% A; 30~55 min, 40%→80% A; 55~57 min, 80% A; 57~60 min, 80%→10% A); 流速: 0.8 ml/min; 柱温: (30±1) °C; 进样量: 10 μl。色谱见图1。

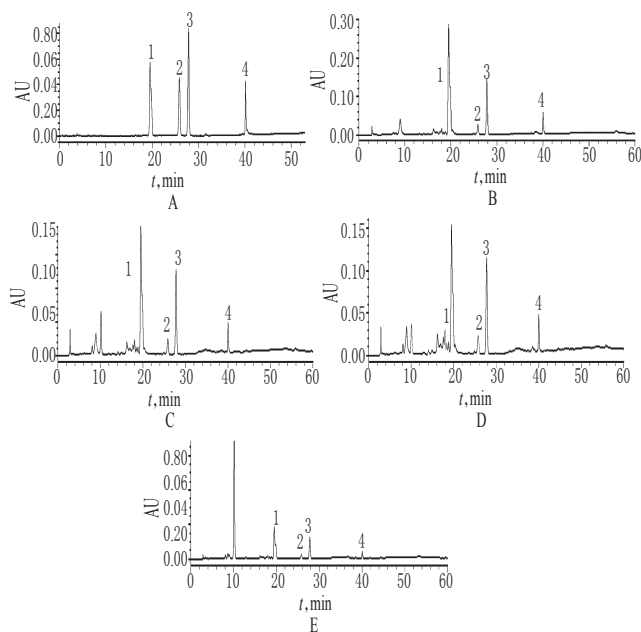


图1 高效液相色谱图(254 nm)

A.混合对照品; B.生品; C.酒蒸; D.酒炖; E.加压酒蒸; 1.莫诺昔; 2.獐牙菜昔; 3.马钱昔; 4.山茱萸新昔

Fig 1 HPLC chromatogram (254 nm)

A.mixed control; B.crude drug; C.steaming with wine; D.stewing with wine; E.pressurizing combined with steaming with wine; 1.morroniside; 2.sweroside; 3.loganin; 4.cornuside

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取莫诺昔、獐牙菜昔、马钱昔、山茱萸新昔对照品各适量,精密称定,用甲醇溶解,制成莫诺昔、獐牙菜昔、马钱昔和山茱萸新昔质量浓度分别为1.28、0.45、1.75、0.79 mg/ml的对照品贮备液。取上述对照品贮备液各适量,置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,制成莫诺昔、獐牙菜昔、马钱昔和山茱萸新昔质量浓度分别为0.128、0.045、0.175、0.079 mg/ml的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 分别取经60 °C干燥12 h的山莨肉、酒蒸莨肉、酒炖莨肉及加压酒蒸莨肉各适量,粉碎,过60目筛,精密称取各样品粉末2.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入80%的甲醇75 ml,精密称定,超声(功率:280 W,频率:53 kHz)处理30 min,静置,称质量,用80%甲醇补足缺失的质量,滤过,取续滤

液,又经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

### 2.3 线性关系考察

精密吸取上述混合对照品溶液各1、2、4、6、8、10、20 μl,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积积分值(y)为纵坐标,进样量(x, μg)为横坐标,进行线性回归,得各成分的回归方程,详见表1。结果表明,各成分的进样量均在各自线性范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

表1 线性关系考察结果

Tab 1 Linearity correlation

成分	检测波长, nm	回归方程	r	线性范围, μg
莫诺昔	240	$y=2 \times 10^5 x + 136.07$	0.999 9	0.26~5.12
獐牙菜昔	246	$y=2 \times 10^6 x - 2161.6$	0.999 6	0.09~1.82
马钱昔	237	$y=2 \times 10^6 x + 14927$	0.999 9	0.35~7.01
山茱萸新昔	219	$y=3 \times 10^6 x - 140545$	0.999 9	0.16~3.17

### 2.4 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液10 μl,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果,莫诺昔、獐牙菜昔、马钱昔和山茱萸新昔峰面积的RSD分别为0.51%、1.83%、0.56%和2.75% (n=6),表明仪器精密度良好。

### 2.5 稳定性试验

取上述山莨肉生品制成的供试品溶液适量,分别于2、4、6、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,莫诺昔、獐牙菜昔、马钱昔和山茱萸新昔峰面积的RSD分别为1.37%、1.03%、0.84%和2.15% (n=6),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

### 2.6 重复性试验

取同一批山莨肉生品适量,共6份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,莫诺昔、獐牙菜昔、马钱昔和山茱萸新昔峰面积的RSD分别为1.92%、3.83%、2.76%和2.05% (n=3),表明本方法重复性较好。

### 2.7 加样回收率试验

取已知样品含量的山莨肉粉末适量,精密称定,共6份,分别精密加入莫诺昔、獐牙菜昔、马钱昔和山茱萸新昔对照品各适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果见表2。

### 2.8 样品含量测定

取山莨肉生品、酒蒸、酒炖、加压酒蒸的样品粉末各适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表3。

## 3 讨论

山莨肉为临床常用名贵中药,临床多用其酒蒸、酒炖等炮制品<sup>[7]</sup>,生品以敛汗固脱为主,制品补益作用增强,酒蒸后补益作用超过清蒸品<sup>[8]</sup>。本研究结果表明,酒制莨肉与生品相比,环烯醚萜苷类成分的含量均有不同程度的下降,其中莫诺昔的降幅最大,其次是马钱昔和山茱萸新昔,獐牙菜昔降幅最小;不同炮制工艺的山莨肉相比,其环烯醚萜类成分的含量也

表2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery tests(n=6)

成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
莫诺昔	1.066	1.000	2.064	99.80	100.27	1.72
	1.055	1.000	2.080	102.50		
	1.027	1.000	2.050	102.30		
	1.057	1.000	2.040	98.30		
	1.025	1.000	2.020	99.50		
	1.053	1.000	2.045	99.20		
獐牙菜昔	0.056	0.050	0.110	108.00	102.00	3.72
	0.058	0.050	0.109	102.00		
	0.054	0.050	0.106	104.00		
	0.051	0.050	0.100	98.00		
	0.051	0.050	0.100	98.00		
马钱昔	0.490	0.500	0.979	97.80	100.67	1.74
	0.493	0.500	0.999	101.20		
	0.489	0.500	0.990	100.20		
	0.487	0.500	1.000	102.60		
	0.485	0.500	0.985	100.00		
	0.490	0.500	1.001	102.20		
山茱萸新昔	0.148	0.150	0.302	102.67	100.00	2.56
	0.150	0.150	0.305	103.33		
	0.151	0.150	0.299	98.67		
	0.145	0.150	0.290	96.67		
	0.150	0.150	0.298	98.67		
0.148	0.150	0.298	100.00			

表3 样品含量测定结果( $\bar{x} \pm s$ , mg/g, n=3)Tab 3 Content determination of samples( $\bar{x} \pm s$ , mg/g, n=3)

样品	莫诺昔	獐牙菜昔	马钱昔	山茱萸新昔
山萸肉生品	10.66±0.11	0.56±0.06	4.90±0.16	1.48±0.03
酒蒸萸肉	7.18±0.14	0.51±0.06	4.51±0.03	1.32±0.04
酒炖萸肉	5.19±0.06	0.44±0.05	3.82±0.07	1.05±0.01
加压酒蒸萸肉	6.54±0.08	0.54±0.01	4.26±0.09	1.02±0.01

有所不同,但差异相对较小。

本课题组前期进行了山萸肉及酒制萸肉中环烯醚萜苷类

成分提取工艺的研究,结果发现,水提取时温度越高(80~120℃),加热时间越长,莫诺昔的含量越高,而马钱昔的含量则未发生变化<sup>[9]</sup>。进一步研究表明,莫诺昔含量增加的主要原因是饮片中含有的7-O-甲基莫诺昔、7-乙氧基莫诺昔在水提取时转化成为莫诺昔。炮制后,4种环烯醚萜苷类成分的含量均有所降低,表明该类成分经加热或加压加热后使该4种成分发生了转化,因此出现了总体降低的结果。本研究炮制所用黄酒中乙醇的体积分数为15%~20%,研究结果均显示用酒炮制后的环烯醚萜苷类成分有所降低,这是否与溶剂(水)量较少有关,或其他原因,其机制还有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:26.
- [2] 张兰桐,袁志芳,杜英峰,等. 山萸肉的研究近况及开发前景[J]. 中草药, 2004, 35(8):952.
- [3] 余宗亮,丁霞,蔡宝昌,等. 山萸肉炮制前后对小鼠免疫功能的影响[J]. 中医药学刊, 2006, 24(8):1445.
- [4] 张丽,叶翠飞,张兰,等. 山萸肉环烯醚萜苷对血栓形成和凝血功能的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(5):363.
- [5] 许惠琴,刘洪,沈健,等. 山萸肉环烯醚萜总苷对高糖或AGEs培养肾小球系膜细胞增殖和Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP酶活性的影响[J]. 中药药理与临床, 2006, 22(6):27.
- [6] 丁月霞,张丽,叶翠飞,等. 山萸肉环烯醚萜苷对穹窿海马伞切断大鼠学习记忆能力和突触生长素的影响[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(2):133.
- [7] 陈学艳,王艳,李晶,等. 山萸肉不同炮制品中莫诺昔和马钱昔含量测定[J]. 天津中医药, 2010, 27(3):254.
- [8] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003:301.
- [9] 周洪亮,常星洁,方祝元,等. 基于莫诺昔转化的山茱萸环烯醚萜苷提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9):25.

(收稿日期:2013-11-10 修回日期:2013-12-06)

## 世行贷款/英国赠款中国农村卫生发展项目总结暨经验交流会在京召开

**本刊讯** 2014年11月19日,世行贷款/英国赠款中国农村卫生发展项目(以下简称“卫十一项目”)总结暨经验交流会在京召开,国家卫生计生委陈啸宏副主任,财政部国际财金合作司司长杨少林,世界银行中国局局长 Bert Hofman,英国国际发展部中国办公室主任 Chris Chalmers,以及卫生计生委相关司局的负责人出席了会议。项目旨在为中国不同发展水平地区探索提供可推广的农村卫生改革发展创新经验和模式。项目覆盖8省、40个县,贫困县占项目县总数的60%。

国家卫生计生委副主任陈啸宏首先对世界银行和英国政府对本项目提供的资金和智力支持表示了诚挚的感谢,并对项目给予高度评价。他表示,项目地区的农村卫生服务体系更加稳固,农村居民基本医疗卫生服务的公平性、可及性明显改善,农村卫生系统的绩效明显提高,项目的预期目标全面实现。卫十一项目是新时期我国与国际金融组织合作的“请进来”和“走出去”战略的具体实践。虽然项目已结束,但他希望

国内外各界共同努力,继续致力于改善中国农村居民的健康水平。

财政部国际财金合作司司长杨少林在开幕式讲话中指出,中国农村卫生发展项目形成了很多具有推广价值的创新模式和经验,包括县级医院综合改革、医疗支付制度改革、建立医疗服务质量绩效管理体系,尝试项目管理激励和退出机制,建立以结果为导向的项目管理体系。这些创新成果对于进一步深化医疗体制改革,提高农村卫生服务的公平性、可及性,推进公共卫生服务均等化具有重要参考意义。

世界银行中国局局长 Bert Hofman 先生充分肯定了项目的成果,他提出,为了更好地应对人口快速老龄化及慢性非传染性疾病流行的挑战,世行正在与中国政府开展合作研究,旨在重塑中国卫生服务提供系统,进一步提高百姓卫生服务的公平性和可及性。