

朝鲜淫羊藿不同部位不同采收期有效成分的含量测定

于俊林^{1*}, 姜启娟², 孙仁爽¹, 吕红¹

(1. 通化师范学院制药与食品科学系, 吉林 通化 134002;
2. 通化市药品检验所, 吉林 通化 134001)

[摘要] 目的: 测定朝鲜淫羊藿不同器官、不同采收期淫羊藿苷及总黄酮的含量变化规律, 为合理采收、利用药材资源提供参考。方法: 采用 HPLC 测定淫羊藿苷, UV 测定总黄酮。结果: 叶片和地下部分中淫羊藿苷、总黄酮的含量较高, 叶柄及茎含量较低, 在 8 月份成分含量最高。结论: 朝鲜淫羊藿叶片和根茎具有较大利用价值, 8 月分采收最好, 茎和叶柄应该弃去。

[关键词] 朝鲜淫羊藿; 药用部位; 淫羊藿苷; 总黄酮; 采收期

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0092-04

Determination of the Effective Components in Different Parts and Harvest Time of *Epimedium koreanum*

YU Jun-lin^{1*}, JIANG Qi-juan², SUN Ren-shuang¹, LV Hong¹

(1. Department of Pharmaceutics and Food Science, Tonghua Teachers College, Tonghua 134002, China;
2. Tonghua Institute for Drug Control, Tonghua 134002, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the change regularity of the content of total flavones and icariin in different parts and harvest time of *Epimedium koreanum* to provide some new references for its optimized harvest time and further exploitation of its resource. **Method:** The content of flavonoids was determined by UV, and the content of icariin was determined by HPLC. **Result:** The content of flavonoids and icariin in *E. koreanum* is the highest in August, and it is the highest in the laminas and rhizomes, and the lowest in the stems and petioles. **Conclusion:** The laminas and rhizomes was of potential value in exploitation and utilization. It was suggested that August is the best time to harvest *E. koreanum*, and the stems and petioles should be discarded.

[Key words] *Epimedium koreanum*; medicinal parts; icariin; total flavones; harvest time

淫羊藿为著名中药, 具补肾阳、强筋骨、祛风湿等作用, 用于治疗阳痿遗精、筋骨痿软、风湿痹痛、麻

木拘挛、更年期高血压等症^[1]。在临床上主要用来治疗老年冠心病、神经衰弱、高血压、慢性支气管炎、

[收稿日期] 20110921(006)

[通讯作者] * 于俊林, 学士, 教授, 从事药用植物资源研究, Tel: 0435-3209355, E-mail: yujunlin1962@163.com

[参考文献]

[1] 原思通. 医用中药饮片学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 372.
[2] 中国药典. 一部[S]. 2010:333, 附录 II, IX H.
[3] 李尧尧, 原思通, 肖永庆. 中药槐花化学成分、药理作用及炮制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(6): 77.

[4] 陈林, 何秀丽, 朱海涛, 等. 槐花炮制品质量标准研究[J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1403.
[5] 吴虹霁, 兰昌云, 陈媛. 槐花的研究进展[J]. 广东微量元素科学, 2006, 13(6): 1.
[6] 杨关华, 陈小荣, 郑俊华. 高效液相色谱法测定槐花药材中芦丁的含量[J]. 中国药事, 2000, 14(1): 34.

[责任编辑 蔡仲德]

病毒性心肌炎、骨质疏松、更年期综合症、中年健忘等疾病^[2]。朝鲜淫羊藿是药典收录的4种淫羊藿之一,药用部位为干燥叶,广泛分布在吉林省东南部及辽宁东部山区,药用来源主要靠野生资源,是目前我国北方市场的主流品种。我们在野外考察时发现,药农不分季节随时采集,采收时不管药典怎样规定,都是刀割或手拔地上部分,制药企业在生产时经常会遇到同样的工艺只因原料来源不同而致使产品质量不稳定的情况。为了确定朝鲜淫羊藿的最佳药用部位及最合理的采收期,保证淫羊藿原料的质量,保证成药质量的稳定,我们用UV^[3]和HPLC分别对朝鲜淫羊藿不同部位、不同采收期总黄酮和淫羊藿苷的含量进行跟踪测试。

1 仪器与试剂

美国Agilent 1100高效液相色谱仪,北京普析通用TU-1901型双光束紫外可见分光光度计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司MP21001电子天平;淫羊藿苷对照品(批号110737-200413),购自中国药品生物制品检定所;乙腈、甲醇为色谱纯,水为纯化水;其他试剂均为分析纯;朝鲜淫羊藿生药材采集于吉林省通化市郊区金厂镇,分别于2009年6,7,8,9,10月初采集整个植株,阴干,去净根茎部泥土,分为叶片、茎及叶柄、地下(为根状茎和须根)三部分,经过通化师范学院制药与食品科学系于俊林教授鉴定后为朝鲜淫羊藿*Epimedium koroanum* Nakai,粉碎,过三号筛,备用。

2 方法与结果

2.1 样品中淫羊藿苷HPLC测定^[4]

2.1.1 对照品溶液和样品溶液的制备 精密称取淫羊藿苷对照品约5 mg,置于10 mL量瓶中用甲醇定容至刻度,取1 mL至25 mL量瓶中用甲醇定容至刻度,即得。分别取各种朝鲜淫羊藿样品约0.2 g,精密称定,置锥形瓶中,加50%乙醇20 mL,称定质量,超声处理1 h,再称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.2 色谱条件 Agilent Eclipse XDB C₁₈柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相乙腈-水(29:71),流速0.8 mL·min⁻¹,检测波长270 nm,柱温为室温,进样量10 μL。

2.1.3 线性关系考察 精密吸取上述对照品溶液2,5,10,15,20 μL进样,按上述色谱条件作HPLC分析, $Y=2884.1X-32.293$ ($r=0.9995$),结果表明淫羊藿苷在0.04~0.4 μg进样量与色谱峰面积呈良好的线性关系。

2.1.4 稳定性试验 将供试品溶液在室温条件下放置,按上述的色谱条件分别在制备样品后的0,2,8,12,24 h吸取10 μL注入高效液相色谱仪,记录峰面积,RSD为1.30%,表明供试品溶液稳定性较好。

2.1.5 精密度试验 取对照品溶液按上述色谱条件连续进样6次,保留时间为5.6 min,记录峰面积,计算RSD为0.54%,表明色谱系统精密度符合要求。

2.1.6 加样回收率试验 精密称取已知含量的10月份采收的淫羊藿叶片样品6份,准确加入没有稀释的淫羊藿苷对照品溶液0.6 mL,同2.1.1方法处理,精密吸取10 μL,进样,试验结果见表1,平均回收率为97.87%,RSD为0.82%,表明方法准确性较高。

表1 淫羊藿苷回收率试验

No	取样量 /g	样品含量 /mg	加标量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	0.2023	0.344	0.30	0.636	97.33
2	0.2011	0.342	0.30	0.639	99.00
3	0.2100	0.357	0.30	0.652	98.33
4	0.2102	0.357	0.30	0.650	97.67
5	0.2001	0.340	0.30	0.631	97.00
6	0.2012	0.342	0.30	0.636	98.01

2.1.7 样品含量测定 按上述色谱条件对几种淫羊藿供试品液进行分析,朝鲜淫羊藿叶、叶柄及茎、地下部分的HPLC图见图1。不同样品淫羊藿苷含量测定结果见表2。

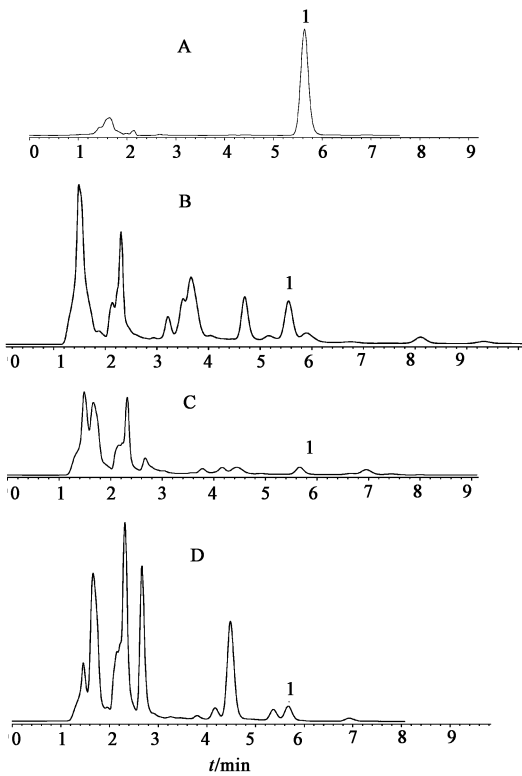
表2 各样品淫羊藿苷HPLC测定

采收月份	叶片	叶柄及茎	地下
6	2.7	0.7	1.3
7	2.1	0.6	0.6
8	3.3	0.5	0.7
9	2.5	0.4	1.0
10	1.7	0.4	0.5

2.2 样品中总黄酮UV测定^[4]

2.2.1 对照品液和供试品液制备 取淫羊藿苷HPLC测定用的对照品液,加甲醇制成每1 mL含10 μg的溶液,即得。供试品液制备:精密量取淫羊藿苷测定项下供各试品溶液0.5 mL,分别置100 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 线性关系考察 分别精密吸取淫羊藿苷



A. 对照品; B. 叶; C. 叶柄及茎; D. 根状茎; 1. 淫羊藿苷
图 1 淫羊藿不同部位 HPLC

HPLC 测定项下对照品溶液, 分别取 0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 在 270 nm 波长处分别测定吸光度, 以吸光度对浓度进行线性回归, 计算得回归方程 $Y = 0.3264X + 0.0208$ ($r = 0.9997$), 结果表明总黄酮在 0.5 ~ 4.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 吸光度与质量浓度之间呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 取总黄酮测定对照品液溶液, 以甲醇作为空白溶液, 在 270 nm 波长处分别测定吸光度, 连续测定光密度值 6 次, 结果 RSD 0.87%, 表明仪器精密度符合要求。

2.2.4 稳定性试验 将供试品溶液在室温下放置, 按上述测定方法, 分别在制备样品后的 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定吸光度, 结果 RSD 0.28%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

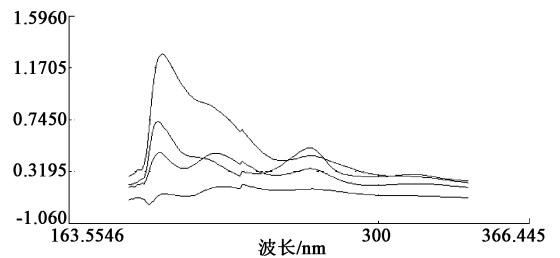
2.2.5 回收率试验 取 6 份已知含量 6 月份采收的淫羊藿叶样品各约 0.01 g, 精密称定, 具塞量瓶中, 再准确加入一次定容的淫羊藿苷对照品溶液 1 mL 于量瓶中, 同 2.1.1 方法处理得供试品, 精密吸取该供试品液 1 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 在 270 nm 处测吸光度, 平均回收率为 99.70%, RSD 2.30% ($n = 5$), 结果见表 3。

2.2.6 样品测定 将总黄酮测定项下的对照品液和各供试品液分别测定吸光度, 并计算其含量, 朝鲜

表 3 淫羊藿总黄酮回收率试验

No	取样量 /g	样品含量 /mg	加标量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	0.010 2	0.68	0.5	1.175	99.10
2	0.010 1	0.67	0.5	1.169	99.80
3	0.010 1	0.67	0.5	1.186	103.20
4	0.009 9	0.66	0.5	1.158	99.60
5	0.009 8	0.65	0.5	1.134	96.80
6	0.010 0	0.67	0.5	1.160	98.00

淫羊藿不同部位总黄酮 UV 吸收曲线见图 5, 含量见表 4。



(自上而下) 1. 叶片; 2. 淫羊藿苷; 3. 根茎; 4. 茎
图 5 朝鲜淫羊藿不同部位黄酮 UV 吸收图谱

表 4 各样品中总黄酮可见-紫外测定

采收月	叶片	叶柄及茎	地下
6	66.7	31.0	77.7
7	92.6	34.0	61.9
8	85.6	32.9	66.7
9	79.8	32.8	64.1
10	79.9	30.2	59.7

3 讨论

经过对朝鲜淫羊藿叶片、叶柄及茎、地下部分淫羊藿苷和总黄酮含量测定结果发现, 叶片中淫羊藿苷的含量最高, 地下部分次之, 叶柄及茎含量最低, 仅为叶片含量的 20%。总黄酮的含量次序也与淫羊藿苷相同。

从不同采收期淫羊藿苷的含量测定结果可以看出, 叶片中淫羊藿苷的含量在 6 月初和 8 月初有 2 个明显的高峰期, 并且 8 月初最高。地下部分在 6 月初和 9 月初为高峰期, 茎没有明显的高峰期。叶片中总黄酮的含量在 6 月初最低, 与淫羊藿苷的高峰期不同; 在 8 月初含量最高, 与淫羊藿苷高峰期相一致。地下部分总黄酮与叶中淫羊藿苷的含量变化规律相同。叶柄及茎则没有高峰期的变化, 含量始终处在较低的水平。

上述结果与以往文献报道的结果相同或相近^[5-7],即朝鲜淫羊藿地上部分淫羊藿苷的含量随季节的变化而变化明显,分别在5月份的花期、8月份的果实成熟后期有两个明显的高峰。所以有的学者建议朝鲜淫羊藿的最佳采收期为花期^[5-6]。而我们观察发现,朝鲜淫羊藿的开花期叶片尚未完全展开,叶片的生物产量小,折干率低,而8月份有效成分含量和生物产量都是高峰期,在此时采收才是科学的。

2005年版《中国药典》规定^[8],淫羊藿源于淫羊藿的地上部分,2010年版《中国药典》规定淫羊藿源于淫羊藿的叶,并以淫羊藿苷和总黄酮的含量评价药材质量^[4]。经过我们测试,叶片、叶柄及茎、地下部分三者的干重比例为29:26:45,地下部分占的比重最大,叶柄及茎的生物产量比较与叶片接近。但叶柄和茎的淫羊藿苷和总黄酮的含量仅为叶片的20%~30%,而质量比却接近叶片,茎与叶片同时入药势必显著降低淫羊藿药材的质量,致使多数药材淫羊藿苷的含量达不到国家标准,因此我们建议在修改淫羊藿质量标准时将入药部位由叶改为“叶片”,将叶柄及茎作为非药用部位去除,制药企业应严控原料质量,不符合要求的药材坚决不用,以保证成药的质量。

研究发现,朝鲜淫羊藿根茎的生物产量和淫羊藿苷和总黄酮的含量均较高,具有较高的开发利用价值,但是能否代替淫羊藿叶入药还有待于进一步

研究。

在淫羊藿质量控制检测过程中,淫羊藿苷和总黄酮提取工艺有多种类型,其中闪式提取方法具有快捷、提取率高等优点,具有广泛的应用前景^[8]。

[参考文献]

- [1] 吴瑕,李东晓,邓文龙. 淫羊藿对生殖及内分泌系统的药理学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(8):38.
- [2] 詹立平,赵鑫,张建军,等. 淫羊藿属药用植物的研究现状与发展趋势[J]. 辽宁中医药大学学报,2007,9(3):67.
- [3] 张彦,金向群,时颖. 紫外分光光度法测定骨宝听肾片中总黄酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(3):17.
- [4] 中国药典. 一部[S]. 2010:306.
- [5] 李娜,宋少江,李仁. 不同采收期朝鲜淫羊藿中淫羊藿苷及总黄酮的含量测定[J]. 中药研究与信息,2005,7(2):9.
- [6] 陈翠萍,沙明,杨松松. 朝鲜淫羊藿中黄酮类成分在不同采收期的含量变化[J]. 中国中药杂志,1996,21(2):86.
- [7] 中国药典. 一部[S]. 2005:229.
- [8] 贺石麟,牛景霞,倪艳. 淫羊藿中淫羊藿苷和总黄酮的闪式提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):38.

[责任编辑 蔡仲德]

《中国实验方剂学杂志》优先数字出版声明

优先数字出版就是以数字出版方式提前出版印刷版期刊内容。按照《中国实验方剂学杂志》与中国知网签订的优先数字出版协议,已经完成审稿及编排的、符合相关规定的稿件可以在印刷版出版前在中国知网优先数字出版平台上发布。发布内容也属于正式出版范畴。这一方式对于加快文献的出版传播,提升学术影响力具有积极作用。作者如希望稿件采用优先数字出版方式出版,请在投稿时说明,经过编辑部审查符合条件者可实现优先出版。