

· 化学与分析 ·

## 巫山淫羊藿净制研究

仲玲利, 徐娟, 谭鹏, 杨蕾, 李飞\*  
(北京中医药大学 中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** 目的: 研究巫山淫羊藿净制的科学性。方法: 紫外-可见分光光度法测定总黄酮含量, 高效液相色谱法测定黄酮类单体成分——朝藿定 C、淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 的含量。结果: 叶片、叶柄、叶中总黄酮含量分别为 9.185%、2.143%、3.364%; 朝藿定 C 含量分别为 5.346%、0.653%、1.577%; 淫羊藿苷含量分别为 1.430%、0.047%、0.321%; 淫羊藿次苷 II 含量分别为 0.328%、0.077%、0.078%。结论: 叶片和叶柄中主要黄酮类成分含量差异明显; 叶片中各成分的含量是叶柄的 4.3~30.4 倍, 巫山淫羊藿摘取叶片入药时应摘除叶柄是科学的。

**[关键词]** 巫山淫羊藿; 净制; 总黄酮; 黄酮类单体成分

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0053-03

### Research on Cleaning Mechanism of *Epimedium wushanense*

ZHONG Ling-li, XU Juan, TAN Peng, YANG Lei, LI Fei\*

(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the cleaning scientificity of *Epimedium wushanense*. **Method:** UV-spectrophotometry was used to determine the content of total flavonoids; HPLC was used to determine the content of three kinds of flavonoids namely epimedin C, icariin, icarisiside II. **Result:** The content of total flavonoids in leaf blades, leaf stalks, leaves of *E. wushanense* was 9.185%, 2.143%, 3.364% respectively; the content of epimedin C was 5.346%, 0.653%, 1.577% respectively; the content of icariin was 1.430%, 0.047%, 0.321% respectively; the content of icarisiside II was 0.328%, 0.077%, 0.078% respectively. **Conclusion:** The chemical compositions of flavonoids of leaf blades, leaf stalks, leaves have no obvious difference, but the content of them is different. The content of total flavonoids of leaf blades is more than 4 times that of leaf stalks. It has scientific value to remove the leaf stalks.

**[Key words]** *Epimedium wushanense*; cleaning; total flavonoids; flavonoid monomer

巫山淫羊藿 *Epimedium wushanense* T. S. Ying 系小檗科淫羊藿属植物草本植物的叶。用于补肾阳、强筋骨、祛风湿。治疗阳痿遗精、筋骨痿软、风湿痹痛等症<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明淫羊藿属植物具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老及心血管方面的作用, 黄

酮类成分为主要药效成分<sup>[2-3]</sup>。传统加工炮制要求除去残留根茎、枝梗和叶柄, 2010 年版《中国药典》要求巫山淫羊藿以叶片入药, 但临床使用巫山淫羊藿时, 经常会发现叶片上有未摘除的叶柄。作者分别对分离的叶片、叶柄和未分离叶柄的全叶中总黄酮和黄酮类单体成分(朝藿定 C、淫羊藿苷、淫羊藿次苷 II)的含量进行比较, 分析巫山淫羊藿入药时摘除叶柄的科学性。

#### 1 材料

**1.1 仪器** Agilent 1100 型液相色谱仪(VWD 检测器, 四元泵, 在线脱气, 自动进样), TU-1810 型紫外

**[收稿日期]** 20101209(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30873436)

**[第一作者]** 仲玲利, 硕士, 从事中药炮制研究, Tel: 010-84738660, E-mail: yyhfen@sina.com

**[通讯作者]** \*李飞, 教授, 硕士生导师, 从事中药炮制研究, Tel: 010-84738616, E-mail: lf668@sina.com

可见分光光度仪(北京普析通用仪器有限公司), SB-25-12 DTDN 超声波清洗仪(宁波新芝生物科技股份有限公司), 101A-2 型干燥箱(上海实验仪器总厂)。

**1.2 试药** 巫山淫羊藿药材由贵州同济堂提供, 经北京中医药大学药系陈玉婷教授鉴定为 *E. wushanense*。

**1.3 试剂** 淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110737-200413, 含量测定用); 朝藿定 C、淫羊藿次苷 II 对照品(由本实验室提供, 紫外图谱或红外图谱、NMR 数据与文献报道一致<sup>[4-6]</sup>, 归一化法检测纯度分别为 98.3%, 98.8%); 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 水为高纯水; 其他试剂均为分析纯(北京化工厂)。

## 2 方法与结果

### 2.1 总黄酮含量测定

**2.1.1 供试品溶液制备** 精密称取叶片、叶柄和未分离叶柄的叶 3 部分粉末(过三号筛)各约 0.2 g, 按 2010 年版《中国药典》巫山淫羊藿项下含量测定方法制备供试品溶液。

**2.1.2 含量测定** 按照 2010 年版《中国药典》中淫羊藿总黄酮含量测定方法, 精密量取 2.1.1 项下供试品溶液 0.5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为待测供试品溶液。另取淫羊藿苷对照品, 加甲醇制成 10 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。以甲醇溶剂为空白, 在 270 nm 波长处测定吸光度, 计算, 得叶片、叶柄和叶中总黄酮的含量为 9.185% (RSD 0.36%), 2.143% (RSD 0.58%), 3.364% (RSD 1.42%)。

### 2.2 朝藿定 C、淫羊藿苷、淫羊藿次苷 II 含量测定

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱 Zobrax SB-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相水(A)和乙腈(B), 梯度洗脱 0~10 min, 80%~75% A, 10~28 min, 75%~72% A, 28~35 min, 72%~65% A, 35~55 min, 65%~60% A, 55~60 min, 60%~40% A, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 270 nm, 进样量 10 μL。

**2.2.2 混合对照品溶液的配制** 精密称取对照品朝藿定 C 50.50 mg, 淫羊藿苷 12.50 mg, 淫羊藿次苷 II 10.00 mg, 用甲醇各定容于 25 mL 量瓶。精密吸取 3 个对照品溶液各 5 mL, 置于 25 mL 量瓶, 甲醇定容, 配制成 1 mL 含 0.404 mg 朝藿定 C、0.100 mg 淫羊藿苷、0.080 mg 淫羊藿次苷 II 的混合对照品。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 同 2.1.1 项下方法。

**2.2.4 线性关系考察** 精密吸取混合对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL, 进样, 以进样量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 进行线性回归, 朝藿定 C 线性回归方程为  $Y = 1\ 609.4X - 178.05$  ( $r = 0.999\ 6$ ), 朝藿定 C 在 0.81~4.85 μg 线性良好; 淫羊藿苷的回归方程为  $Y = 2\ 016.9X - 47.553$  ( $r = 0.999\ 5$ ), 淫羊藿苷在 0.20~1.20 μg 线性良好; 淫羊藿次苷 II 的回归方程为  $Y = 33\ 241X - 108.81$  ( $r = 0.999\ 4$ ), 淫羊藿次苷 II 在 0.16~0.96 μg 线性良好。

**2.2.5 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 按上述色谱条件测定, 连续进样 6 次, 测定朝藿定 C、淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 峰面积积分值, 结果 RSD 分别为 2.39%, 2.17%, 2.05%, 表明该方法精密度良好。

**2.2.6 稳定性试验** 精密吸取混合对照品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 24 h 进样, 测定朝藿定 C、淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 峰面积积分值, RSD 分别 1.09%, 2.10%, 2.87%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.2.7 重复性试验** 精密称定巫山淫羊藿粉末 6 份, 按 2.1.1 项下方法制备, 按上述色谱条件测定含量。朝藿定 C、淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 峰面积的 RSD 分别为 1.48%, 1.07%, 2.90%。试验结果表明, 该方法测定朝藿定 C、淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 含量准确可靠。

**2.2.8 回收率试验** 精密称取 6 份已知含量的巫山淫羊藿叶片粉末, 再精密加入 2 mL 朝藿定 C、2 mL 淫羊藿苷、0.5 mL 淫羊藿次苷 II 对照品溶液, 按供试品溶液制备方法处理后测定, 标准曲线法计算含量, 计算朝藿定 C、淫羊藿苷、淫羊藿次苷 II 的回收率, 结果见表 1~3。试验结果表明, 该方法测定朝藿定 C、淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 含量准确可靠。

表 1 朝藿定 C 回收率试验

No.	称样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.060 7	3.248	4.040	7.228	98.52		
2	0.064 5	3.447	4.040	7.509	100.54		
3	0.0577	3.087	4.040	7.074	98.69		
4	0.063 2	3.376	4.040	7.369	98.83	98.76	0.98
5	0.057 9	3.097	4.040	7.044	97.69		
6	0.064 7	3.460	4.040	7.429	98.25		

表2 淫羊藿苷回收率试验

No.	称样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.060 7	0.869	1.000	1.901	103.23	103.05	0.55
2	0.064 5	0.922	1.000	1.960	103.80		
3	0.057 7	0.826	1.000	1.850	102.43		
4	0.063 2	0.903	1.000	1.936	103.29		
5	0.057 9	0.829	1.000	1.861	103.25		
6	0.064 7	0.926	1.000	1.949	102.32		

表3 淫羊藿次苷Ⅱ回收率试验

No.	称样量 /g	含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.060 7	0.199	0.200	0.403	101.87	101.44	1.17
2	0.064 5	0.211	0.200	0.413	100.76		
3	0.057 7	0.189	0.200	0.389	99.80		
4	0.063 2	0.207	0.200	0.413	102.93		
5	0.057 9	0.190	0.200	0.395	102.48		
6	0.064 7	0.212	0.200	0.414	100.82		

**2.2.9 朝藿定 C、淫羊藿苷和淫羊藿次苷Ⅱ含量的测定** 精密称取叶片、叶柄和叶粉末,按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液,再按 2.2.1 项下色谱条件进样 10  $\mu$ L,见图 1,记录峰面积,测定 5 次,求均值,计算朝藿定 C、淫羊藿苷、淫羊藿次苷Ⅱ的含量。测定结果见表 4。

表4 巫山淫羊藿不同部位 3 种成分含量测定 %

样品	朝藿定 C	RSD	淫羊藿苷	RSD	淫羊藿次苷Ⅱ	RSD
叶片	5.346	1.16	1.430	1.58	0.328	1.68
叶柄	0.653	1.25	0.047	1.34	0.077	1.03
叶	1.577	1.40	0.321	1.13	0.078	1.81

### 3 讨论

巫山淫羊藿叶片、叶柄和全叶中总黄酮及 3 种黄酮类成分的含量存在较大差异,三者各成分含量高低顺序一致,即叶片 > 全叶 > 叶柄。叶片中各成分含量显著高于叶柄,其中,总黄酮、朝藿定 C、淫羊藿苷、淫羊藿次苷Ⅱ的含量分别是叶柄的 4.3、8.2、

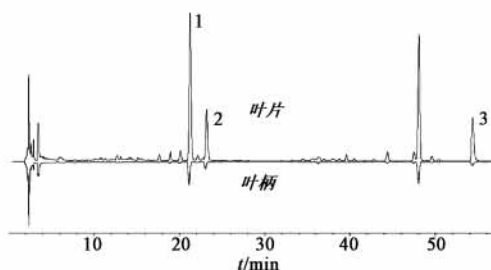


图1 巫山淫羊藿叶片和叶柄的 HPLC

1. 朝藿定 C; 2. 淫羊藿苷; 3. 淫羊藿次苷Ⅱ

30.4、4.3 倍。表明叶柄属于质量较差的部位,需除去。

2005 年版《中国药典》规定,巫山淫羊藿入药部位为干燥的地上部分,炮制时除去杂质,摘取叶片,稍润切丝后生用或油炙后使用。2010 年版《中国药典》将巫山淫羊藿入药部位改为干燥叶,并规定朝藿定 C 的含量不得少于 1.0%。从炮制角度分析,巫山淫羊藿叶柄较长,不能切丝只能切段,全叶切制后丝、段混合,影响油制的操作。另外,巫山淫羊藿叶片仅占地上部分的 30%,但黄酮类成分含量远高于枝梗和叶柄,若用地上部分或全叶入药,则有可能达不到药典规定的含量标准,影响药效。

综上所述,为提高药效成分的含量,利用进一步炮制,保证临床疗效,巫山淫羊藿入药时摘取叶片,除掉叶柄是具有科学性的。

### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:155.
- [2] 刘文和,雷光华,李康华. 淫羊藿的药用成分、药理作用及典型制剂中的鉴别研究进展[J]. 湘南学院学报:自然科学版,2005,7(2):66.
- [3] 谢娟平,孙文基. 淫羊藿属植物化学成分及药理研究进展[J]. 海峡药学,2006,18(5):17.
- [4] 李文魁,肖培根,潘景歧,等. 万山淫羊藿的化学成分[J]. 中国药学杂志,1996,31(6):332.
- [5] 李也实,刘永隆. 柔毛淫羊藿化学成分研究[J]. 中草药,1992,23(1):8.
- [6] 邱峰,陈英杰,鹿野美弘,等. 淫羊藿苷在大鼠体内的代谢[J]. 药学报,1999,34(3):222.

[责任编辑 蔡仲德]