

# 不同方法精制淫羊藿水提液对淫羊藿苷含量的影响

赵小妹, 聂其霞, 张保献, 臧 琛, 王元瑜, 马振山, 冯青然  
(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

**摘要:** 本文用醇沉法、超滤法、大孔树脂吸附法和吸附澄清法对淫羊藿的水提液进行了精制, 并以精制后浸膏中淫羊藿苷含量为指标, 对4种精制方法进行了比较。结果表明, 醇沉法所得浸膏中淫羊藿苷含量最高。

**关键词:** 淫羊藿苷; 醇沉法; 大孔树脂吸附法; 超滤法; 吸附澄清法

中图分类号: R86.3 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2000)06-0003-03

## Influence of Different Treatment Methods on the Content of Icariin in Water-Extracted Liquid of Herba Epimedii

ZHAO Xiao-mei, NIE Qi-xia, ZHANG Bao-xian, ZANG chen,  
WANG Yuan-yu, MA Zhen-shan, FENG Qing-ran

(Institute of Chinese Material Medica, China Academy of TCM, Beijing 100700)

**Abstract:** The extract of Herba Epimedii was treated with alcohol, macroporous resin, ultrafilter and clarification agent. Those treatment methods were compared in the content of Icariin in the treated extract. The results showed that the alcohol sedimentation was the best treatment method for the extract of Herba Epimedii.

**Key words:** icariin; alcohol sedimentation; macroporous resin; ultrafiltration; clarification

淫羊藿是常用的补骨壮阳药, 中医常以水煎提取<sup>[1]</sup>。本文选用醇沉法、大孔树脂吸附法、超滤法和吸附澄清法对淫羊藿的水提液进行了精制, 并以精制后浸膏中淫羊藿苷的含量为指标, 对四种精制方法进行了比较研究, 拟优选出一种较好的精制方法。

### 1 药品、试剂和仪器:

淫羊藿: 购于北京市药材公司, 经鉴定为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornum* Maxim 的地上部分。淫羊藿苷对照品(批号 0737-9205): 购于中国药品生物制品检定所。甲醇(GR.): 北京化工厂; 冰醋酸(AR.): 北京化工厂; 双蒸水: 自制。中空纤维超滤器(分子截留量: 2万、5万): 北京潞美分离应用技术研究; D100×3 大孔吸附树脂: 安徽省固镇县精细化工厂; 101 果汁澄清剂: 上海市徐

汇区华逊应用生物化学研究所; K80 冷冻离心机; Z81-2 型真空干燥箱: 北京通县试验设备厂。高效液相色谱仪: Waters 600 泵, 486 紫外分光检测器, Millinenum 2010 色谱管理者软件。

### 2 提取和精制

**2.1 提取工艺** 取淫羊藿 5kg 加水浸泡 1 小时后煎煮 2 次, 第一次 1.5 小时, 第二次 1 小时, 加水倍数分别为 20 倍、18 倍。合并煎液, 滤过, 浓缩至 1g 生药/ml, 离心 (2500rpm, 20min), 上清液留用。

**2.2 精制工艺** 为全面反映各精制方法对结果的影响, 采用了每种精制方法各选 2~3 个不同精制水平, 每一水平做 3 份平行试验的试验方法制备样品。具体工艺操作如下。

**2.2.1 醇沉法** 取上清液 450ml, 均分为 9 份, 每份 50ml, 相当于 50g 生药, 加乙醇至醇浓度分别为 50%、60%、70%, 每一浓度平行

各做3份。冷藏过夜,抽滤,滤液浓缩并真空干燥成干浸膏,粉碎后备用。

**2.2.2 超滤法** 取上清液1200ml,均分为6份,每份200ml,相当于200g生药,加入等量蒸馏水稀释后冷藏过夜,离心(2500rpm, 20min)后再高速离心(30000rpm),分别超滤。超滤膜分子截留量分别为2万、5万。每个水平平行各做3份,超滤液浓缩并真空干燥成干浸膏,粉碎后备用。

**2.2.3 大孔树脂吸附法** 取上清液900ml,均分为9份,每份100ml,相当于100g生药,分别离心(2500rpm, 20min)后倾出上清液,加适量蒸馏水返溶沉淀部分,离心,合并两次离心液,加入适量蒸馏水,混匀后上树脂柱(生药量:树脂量=1:2)。待药液流完后,加入1倍生药量蒸馏水冲柱。待蒸馏水走净后,用4倍生药量的不同浓度乙醇洗脱。乙醇浓度分别为50%、60%、70%,每一浓度各平行做3份。洗脱液回收乙醇,浓缩并真空干燥成干浸膏,粉碎后备用。

**2.2.4 吸附澄清法** 取上清液900ml,均分为9份,每份100ml,相当于100g生药,分别离心(2500rpm, 20min)后,倾出上清液,加适量蒸馏水返溶沉淀部分,离心,合并两次离心液,置水浴上加热,加入5%的101果汁澄清剂溶液,加入量分别为药液体积的30%、40%、50%,每一水平各平行做3份,搅拌15min,溶液放冷后冷藏12小时,离心,取上清液浓缩并真空干燥成干浸膏,粉碎后备用。

### 3 淫羊藿苷含量的测定

**3.1 色谱条件** 色谱柱为Phenomenex maxsil 5 $\mu$ C18柱(250 $\times$ 4.60mm);流动相:甲醇-水-冰醋酸(50:50:1);流速:1.0ml/min;检测波长:270nm;灵敏度:0.05AUFs。

**3.2 样品溶液的制备和测定** 取上述精制后的干浸膏约0.5g,精密称定,用甲醇回流3次,每次加甲醇30ml,回流2h。合并回流液,加甲醇定容至100ml,取2ml离心(3000rpm., 20min)后供进样用,进样量10 $\mu$ l。以外标两点法测定淫羊藿苷的含量,结果见表2。

## 4 结果与讨论

**4.1 试验结果** 淫羊藿水提液不同精制方法所得浸膏的出膏率及淫羊藿苷的含量见表1、2。

表1 淫羊藿水煎液不同精制方法的出膏率

精制方法		出膏率(%)		
		1	2	3
醇沉	50%	17.00	16.40	16.40
	60%	15.60	15.60	15.40
	70%	13.40	13.80	13.60
超滤	2万	12.25	12.75	12.50
	5万	12.50	12.50	13.25
大孔树脂	50%	4.14	3.91	4.10
	60%	4.10	4.51	4.32
	70%	4.47	4.82	4.31
吸附澄清	30%	18.40	17.60	17.80
	40%	17.90	18.00	18.00
	50%	18.80	18.20	18.40

**4.2 方差分析** 由表2可见,四种方法对淫羊藿苷的含量均有一定的影响,以超滤法影响最大。为比较方法间是否存在显著性差异,对结果做方差分析,结果见表3(因超滤法所得浸膏中淫羊藿苷测不出,故只对其余三种方法进行了方差分析)。

表2 淫羊藿水煎液不同精制方法对淫羊藿苷含量的影响

精制方法	淫羊藿苷含量(mg/g 生药)			
	1	2	3	
醇沉	50%	6.767	6.528	6.674
	60%	6.128	6.780	6.630
	70%	6.408	6.502	5.270
超滤	2万	—	—	—
	5万	—	—	—
大孔树脂	50%	5.110	5.034	5.210
	60%	4.749	5.297	5.170
	70%	5.845	5.865	5.925
吸附澄清	30%	4.928	4.520	4.781
	40%	5.041	5.164	4.954
	50%	4.137	3.904	4.231

“—”: 超滤法所得干浸膏中淫羊藿苷测不出。

表3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	均方差	F比	显著性
组间	16.394	2	8.197	57.52	**
组内	3.420	24	0.146		

\*  $F_{1-0.05}(2, 24) = 3.40$     \*\*  $F_{1-0.01}(2, 24) = 5.61$

由表3可知, 方法间存在着显著性差异。为比较这三种方法两两间是否存在差异, 又做了两两间多重比较(Q检验), 结果见表4。

表4 多重比较表

d值	大孔树脂	吸附澄清
醇沉	1.165**	1.892**
大孔树脂		0.727**

\*  $q_{1-0.05}(2, 24) = 2.92$ , 公共尺度= 0.329

\*\*  $q_{1-0.01}(2, 24) = 3.96$ , 公共尺度= 0.422

由表4可见, 各精制方法两两间均有显著性差异。

### 4.3 讨论

本试验中以醇沉法所得浸膏中淫羊藿苷含量最高, 其余几种方法均有所不及。可见醇沉法虽然有耗醇量大、工序时间长、浸膏易吸潮等缺点, 但对某些中药可以保留较多的有效成分, 该方法不应被轻易放弃。

大孔树脂分离法所得浸膏虽淫羊藿苷含量略低, 但出膏率低, 可视实际需要选择使用。

超滤法所得浸膏中淫羊藿苷含量极低, 无法测出, 可能是由于淫羊藿中含有较多高分子成分, 将淫羊藿苷吸附、包埋于其中, 超滤时高分子成分为滤膜截留, 也有可能与pH值有关。导致淫羊藿苷分子也随之留在母液中, 不能进入超滤液。上述推测, 有待进一步试验证实。

### 参考文献:

- [1] 谷钰, 蒙光容. 制备单味淫羊藿汤剂的最佳条件考察. 中国中药杂志, 1990, 15(7): 28.