

不同方法炮制对巫山淫羊藿中主要成分朝藿定 C 和淫羊藿苷的影响^{*}

谢娟平, 向纪明, 王浩东

(安康学院 化学化工系, 安康 725000)

摘要 目的: 研究不同方法炮制对巫山淫羊藿中主要成分朝藿定 C 及淫羊藿苷的影响。方法: 采用 RP-HPLC 法, 使用 Shim-pack VP-ODS(5 μm , 150 mm $\times$ 4.6 mm) 色谱柱, 以乙腈-水(25:75) 流动相, 流速为 1 mL $\cdot$ min⁻¹, 检测波长 270 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 比较不同炮制品中朝藿定 C 及淫羊藿苷含量的变化。结果: 巫山淫羊藿不同炮制品中活性成分淫羊藿苷含量均有较大程度的上升; 而朝藿定 C 变化则比较复杂, 除羊脂油炙巫山淫羊藿中朝藿定 C 含量有较大的下降外, 其余均有较小程度的上升。结论: 加热炮制可能促使巫山淫羊藿中的其他成分分解或转化为淫羊藿苷; 羊脂油炙巫山淫羊藿中朝藿定 C 含量有较大的下降, 提示朝藿定 C 可能不是淫羊藿中的助阳成分; 不同方法炮制对巫山淫羊藿主要成分影响较大, 提示巫山淫羊藿在临床应用时必须选择合适的炮制方法。

关键词: 不同方法炮制; 巫山淫羊藿; 朝藿定 C; 淫羊藿苷; 反相高效液相色谱

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)04-0674-04

Effects of different processed products on the main ingredient of epimedin C and icariin of *Epimedium wushanense*^{*}

XIE Juan-ping, XIANG Ji-ming, WANG Hao-dong

(Department of Chemistry, Ankang University, Ankang 725000, China)

Abstract **Objective:** To study effects on the main ingredient of epimedin C and icariin of *Epimedium wushanense* T. S. Ying of different processed products. **Methods:** Epimedin C and icariin were separated on Shim-pack VP-ODS(5 μm , 150 mm $\times$ 4.6 mm) column, the mobile phase was 25% acetonitrile aqueous solution at a flow rate of 1 mL $\cdot$ min⁻¹, the detection wavelength was set at 270 nm and column temperature was 30 $^{\circ}\text{C}$. The content changes of epimedin C and icariin of *E. wushanense* processed by different methods was compared. **Results:** Active ingredients of icariin had a greater degree of increase of different processed products of *E. wushanense*, while epimedin C change was more complex and, in addition to sheep-fat-broiled product of *E. wushanense* content of epimedin C would have a greater down, the rest was a lesser extent. **Conclusion:** Different processed products may prompt other components break down or converted into icariin of *E. wushanense*; there is a greater content decline of epimedin C of sheep-fat-broiled product of *E. wushanense*, suggesting epimedin C may not be help Kidney-Yang elements; there is significant difference for the major components of *E. wushanense* by different processing methods, selection the appropriate processing methods is necessary in clinical application.

Key words: different processed products; *Epimedium wushanense* T. S. Ying; epimedin C; icariin; RP-HPLC

巫山淫羊藿是中国药典收载的 5 种淫羊藿来源之一^[1], 具有强筋骨、祛风湿、补肾阳的功效^[2], 但各品种之间化学成分有很大差异。巫山淫羊藿叶中黄酮类成分以朝藿定 C 为主, 其次为淫羊藿苷, 由于其化学成分与其他淫羊藿有一定差异^[3], 中国药典 2010 年版将其单列。临床常用的有清炒淫羊藿、

羊脂油炙淫羊藿、盐炙淫羊藿、酒炙淫羊藿等不同炮制品。现代研究表明: 淫羊藿的功效主要与其所含黄酮类和多糖化合物有关, 其药理活性成分与母核结构类似的一系列黄酮类化合物有关^[4]。为了进一步开发利用 2010 年版中国药典单列的巫山淫羊藿药材, 考察巫山淫羊藿生品及不同炮制品中黄酮

^{*} 陕西省教育厅项目(09JK319); 安康学院高层次人才启动经费资助项目(AYQDZR200801)

第一作者 Tel: (0915) 3261415, 18992581037; E-mail: xjp_731205@163.com

类成分的变化尤为重要。目前,尚未见到有关这方面的系统研究报道。本实验采用高效液相色谱法测定并比较了巫山淫羊藿生品及其4种不同炮制品中主要成分朝藿定C及淫羊藿苷含量,揭示了炮制对其含量的影响,为筛选最佳炮制工艺、制定淫羊藿饮片的质量标准及其临床应用提供了重要的发现和科学依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 SPD-10A/LC-10ATvp 高效液相色谱仪,N2000 色谱工作站;KQ2500E 型医用超声清洗器(昆山超声仪器有限公司)。乙腈为色谱纯,水为三重水,其余所用试剂均为分析纯;对照品朝藿定C、淫羊藿苷自制,经UV、IR、FAB-MS、 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR 鉴定结构,HPLC 检测,面积归一化法计算纯度均大于98%。

巫山淫羊藿采自秦巴山区,经安康市药品检验所胥道宝主任药师鉴定为小檗科植物巫山淫羊藿(*Epimedium wushanense* T. S. Ying)的干燥叶片。

2 淫羊藿炮制品的制备

按文献[5]分别自行炮制清炒淫羊藿(清炒品)、盐炙淫羊藿(盐炙品)、酒炙淫羊藿(酒炙品)和羊脂油炙淫羊藿(羊脂油炙品)。

2.1 清炒品 取净巫山淫羊藿丝,置预热热锅中,文火加热,翻炒至表面颜色加深呈微黄色,取出放凉,成品呈微黄色,质轻脆。

2.2 盐炙品 取巫山淫羊藿丝,加盐水拌匀,闷透,置铁锅内,文火加热,翻炒至干,取出放凉。成品颜色稍加深,略有咸味。每100g淫羊藿丝用食盐2g,加水量以能与淫羊藿拌匀为度。

2.3 酒炙品 取净巫山淫羊藿丝,加黄酒拌匀,闷透,置铁锅内,文火加热,翻炒至近干,颜色稍加深时,取出放凉。成品略有酒气。每100g淫羊藿丝用黄酒10g(古越龙山黄酒 $\geq 45^\circ$,中国绍兴黄酒集团)。

2.4 羊脂油炙品 先取羊脂油(炼制)置铁锅内,加热熔化,倒入巫山淫羊藿丝,文火加热,翻炒至表面呈微黄色,有油光亮,略有羊油气。每100g淫羊藿丝,用羊脂油20g。

3 溶液的制备

3.1 混合对照品储备液 精密称取对照品朝藿定C、淫羊藿苷适量,用甲醇配制成朝藿定C和淫羊藿苷浓度分别为 $0.3200\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.1300\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合溶液,即得。

3.2 供试品溶液 精密称取巫山淫羊藿生品与不

同炮制品各3份,每份约1.0g,置50mL量瓶中,精密加入75%乙醇30mL,密闭后静置过夜,超声($1.5\text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$,40kHz)提取30min,过滤,弃去初滤液,取续滤液经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,即得^[6,7]。

4 色谱条件

采用VP-ODS($5\text{ }\mu\text{m}$,150mm $\times$ 4.6mm)色谱柱,流动相为乙腈-水(25:75),流速 $1.0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;检测波长为270nm,柱温 30°C ,进样量20 μL 。在上述色谱条件下,对照品及样品的色谱图见图1,理论塔板数按淫羊藿苷计算,不得低于2000。

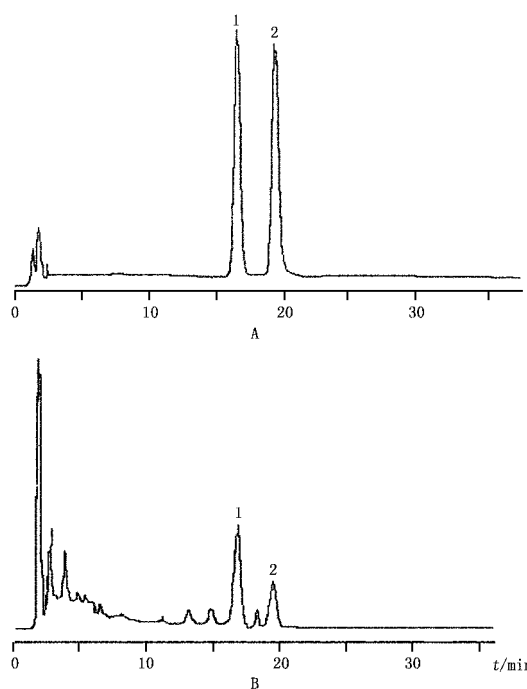


图1 对照品(A)及羊脂油炙巫山淫羊藿样品(B)色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substances(A) and sample of sheep-fat-broiled product of *E. wushanense*(B)

1. 朝藿定C(epimedin C) 2. 淫羊藿苷(icariin)

5 方法学考察

5.1 线性关系考察 精密吸取混合对照品储备液0.2、0.4、1.0、2.5、5.0mL,分别置于10mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,制备成系列混合对照品溶液。在上述色谱条件下重复进样2次,测定峰面积值。以峰面积平均值和浓度进行回归处理,得朝藿定C及淫羊藿苷回归方程分别为:

$$Y = 8.011 \times 10^6 X + 4.671 \times 10^4 \quad r = 0.9992$$

$$Y = 1.003 \times 10^7 X - 5.528 \times 10^4 \quad r = 0.9995$$

线性范围分别为 $0.128 \sim 3.2\text{ }\mu\text{g}$ 和 $0.052 \sim 1.3\text{ }\mu\text{g}$ 。

5.2 检测限和定量限 取混合对照品溶液(朝藿定C和淫羊藿苷浓度分别为 $0.03200\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.01300\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),用甲醇稀释10倍、50倍、100

倍,在上述色谱条件下,进样 20 μL ,结果朝藿定 C 和淫羊藿苷的检测限($S/N=3$) 分别为 1.37 ng 和 6.21 ng;定量限分别为($S/N=10$) 分别为 4.6 ng 和 20.7 ng。

5.3 精密度试验 日内精密度:精密吸取混合对照品溶液 20 μL ,连续进样 5 次,测得峰面积的 RSD 分别为 1.6% 和 1.8%。日间精密度:精密吸取混合对照品溶液 20 μL ,连续 5 d,每天测定 1 次,结果测得峰面积的 RSD 分别为 2.6% 和 2.9%。

5.4 稳定性试验 取羊脂油炙品的供试品溶液,每隔 2 h 进样 20 μL ,测定各峰面积值,共测定 5 次,结果 RSD 为 1.3%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

5.5 重复性试验 同一批羊脂油炙品进行 5 次平行试验,测定朝藿定 C、淫羊藿苷的含量。结果朝藿定 C、淫羊藿苷含量平均值分别为 0.81% 和

0.31%,RSD 分别为 2.2% 和 2.0%。

5.6 加样回收率试验 取“5.5”项下已测知含量的羊脂油炙品 5 份,每份 0.1 g,精密称定,分别置 10 mL 量瓶中,加入混合对照品储备液 3 mL 及 75% 乙醇 10 mL,按“3.2”项下方法制备供试溶液,进样测定,计算加样回收率。结果朝藿定 C、淫羊藿苷平均加样回收率分别为 100.2% 和 101.5%,RSD 分别为 0.81% 和 1.2%。

6 各炮制品含量测定及含量比较

取“3.2”项下制备的生品及各炮制品的供试品溶液均 3 份,按上述色谱分离条件,进样测定峰面积,外标法计算朝藿定 C、淫羊藿苷含量,发现各炮制品中淫羊藿苷含量均上升,而朝藿定 C 含量变化则比较复杂,结果见表 1。

表 1 不同炮制品中朝藿定 C、淫羊藿苷测定结果($n=3$)
Tab 1 The determination results of epimedin C and icariin

样品 (sample)	朝藿定 C(epimedin C)		淫羊藿苷(icariin)	
	含量(content) /%	RSD /%	含量(content) /%	RSD /%
生品(sample of unprocessed product)	1.05	1.8	0.13	1.8
清炒品(sample of clearly-fried product)	1.16	2.0	0.31	2.1
盐炙品(sample of salt-broiled product)	1.15	1.8	0.31	1.8
酒炙品(sample of alcohol-broiled product)	1.14	1.8	0.32	1.6
羊脂油炙品(sample of sheep-fat-broiled product)	0.81	2.2	0.31	2.0

7 讨论

7.1 本实验结果表明,巫山淫羊藿经加热炮制后其活性成分淫羊藿苷均有较大幅度的上升,说明加热炮制可能会促使巫山淫羊藿中的其他成分降解或转化为淫羊藿苷,这与传统的炮制后特别是油炙后助阳作用明显增强^[8,9]之间可能有一定的关联,但尚需进一步深入研究。

7.2 巫山淫羊藿加热炮制中朝藿定 C 变化比较复杂,除羊脂油炙品中朝藿定 C 含量有较大的下降外,其余均有较小的上升,说明羊脂油炙可能促使朝藿定 C 降解,有报道淫羊藿经油炙后助阳作用明显增强^[9],其与巫山淫羊藿有效成分朝藿定 C 之间的相关性有待进一步研究。

7.3 本实验采用 RP-HPLC 法测定巫山淫羊藿不同炮制品中有效成分朝藿定 C 和淫羊藿苷的含量,能达到有效分离各组分的目的,具有灵敏度高,操作简单,分离效果好等优点,可以作为巫山淫羊藿含量控制方法。实验结果揭示了炮制对巫山淫羊藿主要成分朝藿定 C 和淫羊藿苷的影响,为临床应用及制定巫山淫羊藿标准提供了参考依据。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol I (一部): 229
- 2 Flora of China Editorial Committee of Chinese Academy of Sciences (中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora of China(中国植物志). Vol 29(第 29 卷). Beijing(北京): Science Press(科学出版社) 2002. 262
- 3 XIE Juan-ping(谢娟平), SUN Wen-ji(孙文基), WANG Bin(王斌). Content determination of epimedin C and study on HPLC specific chromatogram of *Epimedium wushanense* T. S. Ying(巫山淫羊藿中朝藿定 C 的含量测定及特征图谱研究). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2009 26(8): 80
- 4 HUANG Kang-tai(黄康泰). Handbook of Components of Traditional Chinese Medicine Commonly Used and Their Pharmacology(常用中药成分与药理手册). Beijing(北京): China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House(中国医药科技出版社) 1994. 1631
- 5 YE Ding-jiang(叶定江). Science of Processing Chinese Materia Medica(中药炮制学). Shanghai(上海): Shanghai Science and Technology Publishers(上海科学技术出版社) 1996. 206
- 6 CHENG Hui-ling(陈惠玲), WANG Jian-ke(王建科), ZHANG Li-li(张丽丽) *et al.* Contents of general flavonoides in *Epimedium acuminatum* Franch. and its differently processed products(粗毛淫羊藿及其不同炮制品中总黄酮的含量). *China J Chin Mater Med*(中

- 国中药杂志) 2000 25(4):239
- 7 ZHANG Yi(张艺),XIAO Chun-hou(肖崇厚),MENG Xian-li(孟宪丽) *et al.* Determination flavonoids of 8 Sichuan commodities Epimedium and resource utilization(8种川产商品淫羊藿总黄酮的含量测定及资源利用). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 1995 20(4):201
- 8 LU Tu-lin(陆兔林),ZHANG Yu-sheng(张余生),MAO Chun-qin(毛春芹) *et al.* Effects on icariin and total flavonoids of Epimedium after processing(炮制对淫羊藿中淫羊藿苷及总黄酮的影响). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志) 2002 27(6):461
- 9 LIU Rui(牛锐),LIU Hui-bo(刘汇波). Action of the drug Herba Epimedium on the testosterone of mouse plasma and its accessory sexual organ before and after processing(淫羊藿炮制前后对小鼠血浆睾酮及附性器官的影响). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 1989 14(9):18
- (本文于2010年5月7日收到)

中国科协 2011 年工作要点

- 一、认真学习、深入贯彻党的十七届五中全会和中央经济工作会议精神,团结带领广大科技工作者努力为加快转变经济发展方式服务
 - 二、充分发挥科普工作主要社会力量的作用,努力为提高全民科学素质、建设人力资源强国服务
 - 三、充分发挥团结动员科技工作者的独特作用,努力创新型科技人才队伍建设服务
 - 四、自觉把深入开展创先争优活动、做好新形势下群众工作同加强自身建设结合起来,把广大科技工作者紧紧团结在党的周围
 - 五、认真筹备精心组织,开好中国科协第八次全国代表大会
- 详细内容请参见中国科协网站(<http://www.cast.org.cn/n35081/n35096/n10444244/12578806.html>)