

· 中药工业 ·

基于中药煮散研究淫羊藿与狗脊配伍合煎 对化学成分的影响[△]

严倩茹, 邬伟魁*

(梅州市食品药品监督管理局, 广东 梅州 514071)

[摘要] 目的: 建立同时测定淫羊藿苷与金丝桃苷的 HPLC 法, 结合指纹图谱技术评价淫羊藿配伍狗脊煮散对二者化学成分的影响。方法: 采用 HPLC 测定淫羊藿苷与金丝桃苷的含量, 采用中药色谱指纹图谱相似度软件评价两种溶媒的提取效果, 分析合煎液主要色谱峰的来源。结果: 淫羊藿与狗脊水合煎液中淫羊藿苷与金丝桃苷溶出量降低, 50% 乙醇合煎液中两种成分溶出量基本不变。结论: 淫羊藿与狗脊配伍合煎后指标成分发生了量变, 但未产生新成分; 50% 乙醇的提取效果优于水。

[关键词] 淫羊藿苷; 金丝桃苷; 高效液相色谱; 指纹图谱

Study on Influence of Compatibility on Epimedii Folium and Cibotii Rhizoma Based on Boiling Powders

YAN Qianru, WU Weikui*

(Meizhou Institute for Food and Drug Control, Meizhou 514071, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the changes of chemical constituents in Epimedii Folium and Cibotii Rhizoma before and after compatibility. **Methods:** HPLC method was used to determinate icariin and hyperoside. The similarity evaluation system for chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine were applied to analyze the effect of two extracting solvents and the source of decoction of the main chromatographic peaks. **Results:** The amount of the dissolution of icariin and hyperoside decreased in water. **Conclusion:** The amount of two compounds was changed after compatibility, but no new components occurred. The extract effect of 50% ethanol is better than that of the water.

[Keywords] Icariin; hyperoside; HPLC; fingerprints

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.5.026

淫羊藿与狗脊是补腰肾方常用配伍。淫羊藿功能温肾壮阳、强筋骨、祛风湿; 狗脊功能祛风湿、补肝肾、强腰膝^[1]。淫羊藿主要含淫羊藿苷与金丝桃苷^[2]等成分, 现代药理研究表明^[3], 金丝桃苷与淫羊藿苷在大鼠精液冷冻保存过程中有一定的保护作用。中药煮散^[4-6]有利于化学成分煎出, 狗脊煮散对淫羊藿煮散化学成分的影响未见报道。本文建立同时测定金丝桃苷与淫羊藿苷的 HPLC 法, 基于指纹图谱技术, 研究在水和 50% 乙醇两种溶媒中, 淫羊藿煮散配伍狗脊煮散后化学成分的变化。

1 仪器与试剂

美国安捷伦 1100 型高效液相色谱仪; 德国 Sar-

torius BP 211D 电子天平。

淫羊藿苷对照品(110737-200415)、金丝桃苷对照品(111521-201004)(中国食品药品检定研究院); 淫羊藿(01511)、狗脊(01512)购于彬芳大道药店, 经梅州市食品药品监督管理局鉴定符合《中华人民共和国药典》规定; 磷酸、乙腈均为色谱纯; 其余试剂为分析纯; 超纯水自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

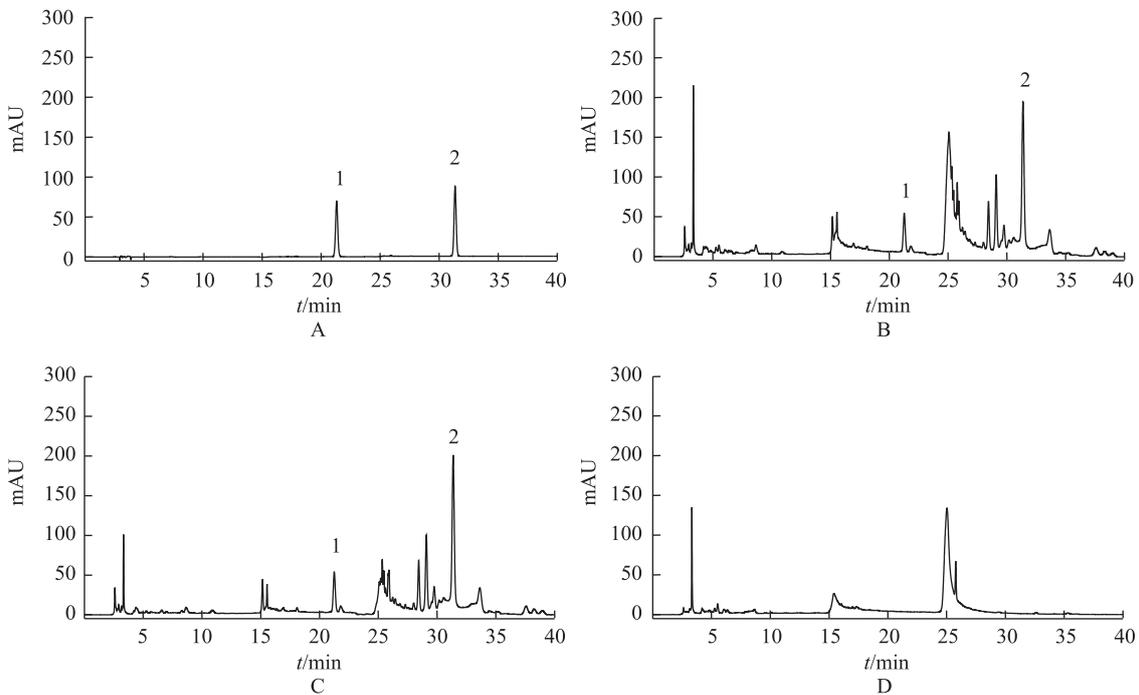
色谱柱: SHIMADZU VP-ODS 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.2% 磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~10 min, 10% A; 10~20 min,

[△] [基金项目] 广东省“十三五”规划中药标准提高项目(BSQSPS CDY-1)

* [通信作者] 邬伟魁, 主管中药师, 研究方向: 中药质量评价; Tel: (0753)2319696; E-mail: weikuiwu@qq.com

20% A; 20~40 min, 30% A); 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: $30 \text{ }^\circ\text{C}$; 双波长(0~25 min, 360 nm; 25~40 min, 270 nm); 进样量: $10 \text{ } \mu\text{L}$ 。理论板数按

淫羊藿苷峰计算应不低于 2000。指标峰分离良好, 狗脊煮散对淫羊藿苷与金丝桃苷测定无干扰。见图 1。



注: A. 对照品; B. 合煎液; C. 淫羊藿煮散; D. 狗脊煮散; 1. 金丝桃苷; 2. 淫羊藿苷。

图 1 淫羊藿、狗脊及其合煎液的 HPLC 图

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取淫羊藿苷对照品、金丝桃苷对照品适量, 分别用甲醇制成含淫羊藿苷($528 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、金丝桃苷($412 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的对照品母液。分别精密量取淫羊藿苷、金丝桃苷对照品母液 2、5、10、20、30 mL 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得系列混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 水煎液: 取淫羊藿与狗脊粉末(过四号筛)各 0.5 g, 精密称定, 加水 20 mL, 加热煎煮 0.5 h, 滤过, 滤液置具塞锥形瓶中, 敞口蒸干; 精密加入 80% 甲醇 20 mL, 称定重量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 80% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。同法制备淫羊藿与狗脊的单煎液。

50% 乙醇煎液: 取淫羊藿与狗脊粉末(过四号筛)各 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 乙醇 20 mL, 称定重量, 加热回流 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。同法制备淫羊藿与狗脊的单煎液。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 分别精密量取上述系列对照品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 以峰面积(Y)对浓度(X , $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)进行回归, 得回归方程, 金丝桃苷: $Y = 19.051X + 82.811$, $r = 0.9997$; 淫羊藿苷: $Y = 21.302X + 0.0633$, $r = 0.9999$ 。结果表明, 金丝桃苷在 $8.24 \sim 123.6 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 淫羊藿苷在 $10.56 \sim 158.4 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。

2.3.2 精密度试验 取混合对照品溶液, 按上述色谱条件连续进样 6 次, 金丝桃苷和淫羊藿苷峰面积的 RSD 分别为 1.4%、1.3%, 表明该方法精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取样品粉末 0.5 g, 精密称定 6 份, 按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 计算金丝桃苷、淫羊藿苷的量, RSD 分别为 1.2%、0.9%, 表明该方法重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取样品溶液, 分别于 0、4、8、12、16、24 h 注入色谱仪, 记录金丝桃苷和淫羊藿苷峰面积, RSD 分别为 1.1%、0.7%, 表明 24 h 内

样品溶液的稳定性良好。

2.3.5 回收率试验 取已知含量的样品6份,精密称定,分别精密加入一定量的金丝桃苷对照品和淫羊藿苷对照品,按照2.2.2项下的方法制备供试品溶液,进样测定,再计算回收率,结果淫羊藿苷的回收率为98.30% ($n=6$),RSD为1.4%,金丝桃苷的回收率为97.60% ($n=6$),RSD为1.5%。

2.4 样品测定

取样品,按照2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进行测定,计算样品中含量,结果见表1。

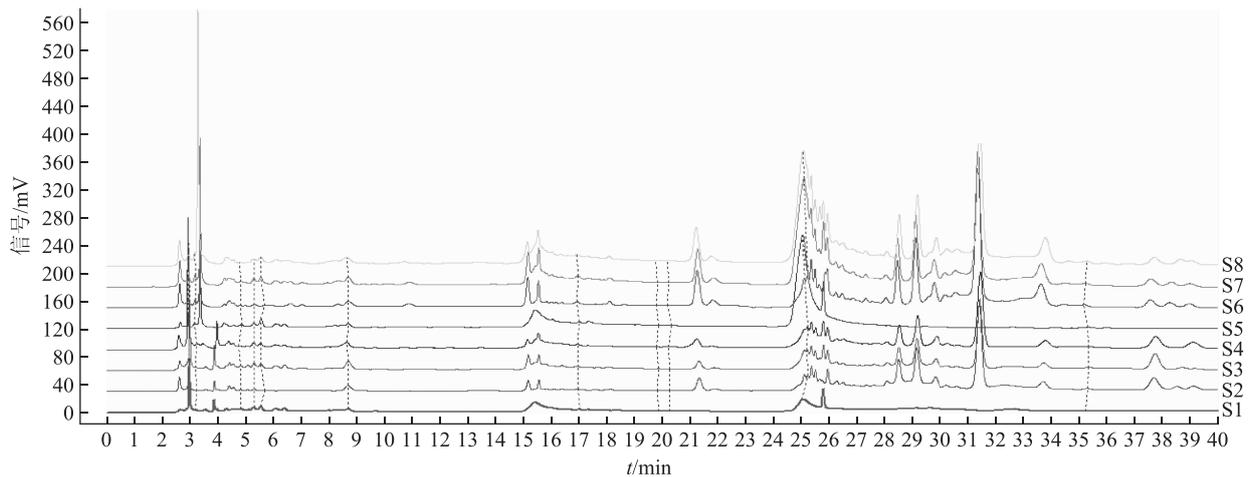
表1 淫羊藿苷与金丝桃苷溶出量测定

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$			
溶剂	淫羊藿与狗脊比例	淫羊藿苷溶出量	金丝桃苷溶出量
水	1:0	3.05	0.31
	1:1(合煎)	2.46	0.13
	1:1(分煎后合并)	2.99	0.30
50%乙醇	1:0	4.58	1.11
	1:1(合煎)	4.43	1.09
	1:1(分煎后合并)	4.47	1.11

结果表明,以水为溶媒,淫羊藿单煎或与狗脊单煎后合并煎液对指标成分含量基本无影响。以水为溶媒,与狗脊合煎后,淫羊藿中的淫羊藿苷与金丝桃苷溶出量分别下降了19%和58%。以50%乙醇为溶媒,单煎、合煎或分煎后合并,对淫羊藿中的淫羊藿苷与金丝桃苷的溶出量基本无影响。

2.5 指纹图谱分析

将样品 HPLC 图用国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价软件(2012)进行叠加分析,指纹图谱见图2。结果显示:1)S3中的峰都源于S1和S2,S7中的峰都源于S5和S6,未见新色谱峰产生,提示合煎后未产生新化合物;2)S3与S4的相似度为0.976,S7与S8的相似度为0.978,均大于0.95,提示以水或50%乙醇为溶媒,淫羊藿与狗脊单煎后合并煎液或合煎化学成分基本相同,合煎未产生新成分;3)S2与S6的相似度为0.965,提示淫羊藿水煎液与醇提液化学成分相似;4)S1与S5的相似度为0.641,提示狗脊水煎液与醇提液化学成分存在一定的差异;5)S3与S7、S4与S8的相似度分别为0.842、0.828,提示两种溶媒对合煎的提取效果存在一定的差异。



注: S1. 狗脊水煎液; S2. 淫羊藿水煎液; S3. 水合煎液; S4. 水分煎后合并液; S5. 狗脊醇提液; S6. 淫羊藿醇提液; S7. 醇合煎液; S8. 醇分煎后合并液。

图2 淫羊藿、狗脊及其不同方式煎提液的指纹图谱叠加图

3 讨论

3.1 研究对象的选择

饮片是中药临床应用的主要形式,而中药煮散^[7]能提高煎出率,降低原药材用量。狗脊为根茎类药材,质地较坚硬,现行《中华人民共和国药

典》规定狗脊饮片为厚片^[1]。淫羊藿叶片近革质,水分不易迅速浸入药材内部组织细胞。传统饮片制成煮散后为颗粒状,可提高有效成分溶出率。本实验将饮片打粉,过四号筛,制成煮散,研究淫羊藿煮散与狗脊煮散配伍对指标成分溶出的影响。

3.2 样品的制备

淫羊藿与狗脊临床常用配比为1:1,水煎或浸酒服用,故本实验配伍比例选用1:1,溶剂选用水和50%乙醇。指标成分溶出量结合指纹图谱分析,认为合煎时50%乙醇是更优的溶媒。

3.3 指标成分溶出量变化原因分析

以水为溶媒,淫羊藿单煎或与狗脊单煎后合并煎液对指标成分含量基本无影响,提示煎液在常温下合并不影响指标成分的溶出量。以水为溶媒,与狗脊合煎后,淫羊藿中的淫羊藿苷与金丝桃苷溶出量降低,分别下降了19%和58%,提示中药配伍并非单味药的简单相加,淫羊藿指标成分溶出受狗脊干扰,或被药渣吸附。淫羊藿配伍狗脊后合煎液中淫羊藿苷含量降低,并不意味着配伍后药效减弱。据报道^[8],淫羊藿与知母、生地黄配伍后淫羊藿苷含量有所下降,可能是因为知母、生地黄具有补肾滋阴的效果,且甘寒滋润,能缓和淫羊藿之燥性。

以50%乙醇为溶媒,单煎、合煎或分煎后合并,对淫羊藿中的淫羊藿苷与金丝桃苷的溶出量基本无影响,与文献结果一致。据报道^[9],以60%乙醇为溶媒,与川芎配伍后淫羊藿中的淫羊藿苷等指标成分含量无明显变化。

3.4 指纹图谱差异原因分析

S3与S7、S4与S8的相似度分别为0.842、0.828,提示两种溶媒对合煎的提取效果存在一定的差异,但总体相似,原因可能是淫羊藿与狗脊在不同溶媒中溶出成分种类与溶出量存在细微差异。但无论单煎还是合煎,50%乙醇对指标成分的溶出量均高于水,结合指标成分溶出量综合考虑,认为

50%乙醇是更优的溶媒,提示补益中药淫羊藿、狗脊酒剂比汤剂更能提高药材资源利用率。

本实验只是从化学成分的角度开展的,有待进行中中药单合煎化学-药动-药效-临床联合研究^[10]。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [2] 李遇伯,孟繁浩,鹿秀梅,等. 淫羊藿化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(8):586-588.
- [3] 盛文洁,聂晓伟,谈勇,等. 金丝桃苷、淫羊藿苷在大鼠附睾精子冷冻保存中的作用[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2016,18(3):470-475.
- [4] 朱国雪,张超,王淑美,等. 麻杏石甘汤煮散工艺研究[J]. 中国现代中药,2015,17(3):250-253.
- [5] 孙玉雯,仝小林,王菲,等. 中药煮散与饮片煎煮效率的对比研究I. 部分根和根茎类、花类、叶类和全草类药材[J]. 中药材,2016,39(3):598-602.
- [6] 孙玉雯,刘起华,张轩,等. 大黄煮散与饮片的对比研究[J]. 中药材,2016,39(1):117-120.
- [7] 文谨,刘起华,柯李晶,等. 表征中药煮散的粉体特征参数及水煎液中的分散溶出行为研究[J]. 中草药,2015,46(23):3489-3494.
- [8] 孙媛媛,赵陆华,赵舒菡. HPLC法研究配伍对肾通颗粒中淫羊藿苷溶出量的影响[J]. 中华中医药学刊,2009,27(1):212-214.
- [9] 邢婧,任红,汪轩,等. HPLC法同时测定淫羊藿-川芎药对8种化学成分的含量[J]. 药物分析杂志,2015,35(6):960-965.
- [10] 崔景朝,赵自明. 中药配方颗粒研究进展(II)—中药单煎与合煎对比研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):240-245.

(收稿日期 2016-08-24)