

羊脂油来源、产地和部位 对淫羊藿炮制品总黄酮含量影响

徐智胜^{1,2}, 黄兰岚¹, 孙婷婷^{1,3}, 李娆娆^{1*}, 龚千峰³, 张永欣¹

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100007;

2. 温州医学院附属第二医院育英儿童医院, 浙江 温州 325000; 3. 江西中医学院, 南昌 330008)

[摘要] 目的: 考察羊脂油来源、产地和部位对炙淫羊藿中总黄酮含量的影响。方法: 收集两个来源(山羊和绵羊)、不同产地(宁夏等 11 个地区)、不同部位(肚子油和尾巴油)的羊脂油 20 批, 以 2005 年版《中国药典》方法分别制备炙淫羊藿样品 20 批。采用紫外-可见分光光度法依次测定这些炮制品中总黄酮含量, 以淫羊藿苷为对照品, 检测波长为 270 nm。结果: 淫羊藿苷在 0.63 ~ 20.2 mg·L⁻¹ 与吸光度呈良好的线性关系, $r=0.9996$, 平均回收率 100.08%, RSD 1.50% ($n=6$)。其中羊油产地为内蒙古的炮制品中总黄酮的降低率最大, 而羊油产地为黑龙江的炮制品中总黄酮降低率最小。同一产地不同来源及不同部位所得到的炮制品总黄酮降低率接近。宁夏与内蒙古、江西、黑龙江样品含量之间具有极显著性差异 ($P<0.01$), 宁夏与天津、广西样品含量之间有显著性差异 ($P<0.05$), 而宁夏与上海、河北、山东、河南、福建样品含量之间无显著性差异。结论: 辅料的产地对炙淫羊藿中总黄酮含量有一定影响, 而同一产地不同来源和部位则无显著影响。

[关键词] 羊脂油; 来源; 产地; 部位; 淫羊藿总黄酮

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0149-04

Comparison of the Total Flavonoids Content in Epimedii Folium Processed by Monlton Suet from Different Growing Areas and Different Positions of Sheep or Goat

XU Zhi-sheng^{1,2}, HUANG Lan-lan¹, SUN Ting-ting^{1,3}, LI Rao-rao^{1*}, GONG Qian-feng¹, ZHANG Yong-xin¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. The Second Affiliated Hospital, Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou

325000, China; 3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330008, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the total flavonoids content in Epimedii folium processed by monlton suet from different growing areas and different positions of sheep or goat. **Method:** Twenty batches of monlton suet were collected. The processed pieces of Epimedii follum were processed by monlton suet from two species (sheep and goat), different growing region (Ningxia Province and other provinces), different positions of animals (in the abdomen or in the tail). The total flavonoids content in the processed pieces was determined by UV. Icariin was used as an external standard. The detection wavelength was set at 270 nm. **Result:** The linear range was 0.63-20.2 mg·L⁻¹ for icariin, the average recovery was 100.08% and RSD was 1.50% ($n=6$). The largest reduction rate was from the growing region of Neimenggu Province, and the smallest one was from Hei long jiang of sheep's oil. The reduction rates of different species and positions were similar in the same region. The t test was applied to the measurement data with SPSS software. The results showed that the difference was very significant between the

[收稿日期] 20120826(009)

[基金项目] 科技部科研院所社会公益研究专项(2005D1B1J169-01); 北京自然科学基金项目(7112097)

[第一作者] 徐智胜, 医师, 从事中药临床研究, Tel:13868878021, E-mail: xuzhisheng@163.com

[通讯作者] * 李娆娆, 副研究员, 博士, 从事中药炮制研究, E-mail: leeraoao@163.com

content of sample in Ningxia Province and in Neimenggy Province, Jiangxi Province, Heilongjiang Province ($P < 0.01$). The results showed that the difference was significant between the content of sample in Ningxia Province and in Tianjin, Guangxi Province ($P < 0.05$). The results showed that there was no significant difference between Ningxia Province and Shanghai, Hebei Province, Shandong Province, Henan Province, Fujian Province.

Conclusion: The results showed that the content of total flavonoids in processed pieces was effected by sheep's from different growth regions to a certain extent, species and positions no significant influence.

[**Key words**] monlton suet; spieces; the growth region; positions of animals; total flavonoids of Epimedii follum

羊脂油又称羊脂,为常用的中药炮制辅料,来源于牛科动物山羊 *Capra hircus* Linnaeus 或绵羊 *Ovis aries* Linnaeus 的脂肪油,味甘、性温,具有补虚,润燥,祛风,解毒的功效,用于虚劳羸弱,久痢,肌肤皴裂等^[1]。淫羊藿具有补肝肾、强筋骨、祛风湿的功效,用于肾阳虚衰、阳痿遗精、筋骨痿软、风湿痹痛、麻木拘挛^[2]。羊脂油炙淫羊藿,可发挥协同作用,增强其温肾壮阳的功效^[3],该炮制方法始载于南北朝时期的《雷公炮炙论》^[4]。

淫羊藿总黄酮对雄性生殖系统和生殖内分泌有促进作用^[5],还有抗心肌缺血,保护心肌的作用^[6],为淫羊藿的主要活性成分群。分光光度法与高效液相色谱法测定淫羊藿总黄酮含量的比较^[7]以及羊脂油炼制温度和用量制淫羊藿对肾阳虚大鼠的影响已有报道^[8]。羊脂油炙淫羊藿的炮制工艺研究、辅料的产地对淫羊藿中总黄酮含量的影响目前尚未见到报道。本研究以淫羊藿总黄酮为指标性成分,考察不同产地羊脂油炮制对淫羊藿总黄酮的影响,为进一步研究辅料对饮片质量的影响提供实验数据。

1 材料

新世纪 T6 spectrophotometer UVwin5 紫外-可见分光光度计,FA/JA 1/万电子分析天平、BP-211D 1/10万电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司),KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),RE-85Z 旋转蒸发器(巩义市英峪予华仪器厂)。

淫羊藿苷对照品(中国食品药品鉴定研究院批号 11737-200415),淫羊藿药材购自河北安国药市,经李尧尧副研究员鉴定为小檗科植物箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* (sieb. et Zucc.) Maxim. 植物的干燥叶。羊脂油样品共 20 批(200701-200720),分别采自宁夏(7 批)、上海(1 批)、河北(1 批)、山东(1 批)、河南(1 批)、天津(1 批)、内蒙古(3 批)、福建(2 批)、江西(1 批)、广西(1 批)和黑龙江(1 批),经李尧尧副研究员鉴定分别来源于牛科动物山羊

Capra hircus Linnaeus 或绵羊 *Ovis aries* Linnaeus 的脂肪油。甲醇、乙醇均为分析纯,水为纯净水。

羊脂油炙淫羊藿:取羊脂油加热融化,加入淫羊藿丝,用文火炒至均匀有光泽,取出放凉^[9]。每 100 kg 淫羊藿用羊脂油(炼油)30 kg^[8]。

2 方法与结果

2.1 供试品制备 精密称取淫羊藿药材粉末(过三号筛)0.2 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇 20 mL,称定质量,超声处理 1 h,上述所得溶液再称定质量,用 50% 乙醇补足减失的质量。滤过,取续滤液 0.5 mL,定容到 50 mL 容量瓶中。

2.2 对照品溶液制备 精密称取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 10 μg 的溶液,作为对照品溶液。

2.3 检测波长的选择 将供试品溶液和对照品溶液在 200 ~ 500 nm 波长进行扫描,结果显示供试品溶液和对照品溶液在 270 nm 处有最大吸收,故选择 270 nm 为测定波长。波长扫描图见图 1。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密移取淫羊藿苷对照品溶液于量瓶中,用甲醇加至刻度,摇匀,得质量浓度分别为 20.2, 10.1, 5.05, 2.525, 1.263, 0.632 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的淫羊藿苷对照品溶液。以甲醇为空白对照,用紫外分光光度计在 270 nm 处测定吸光度(A)。以 A 为纵坐标(Y),以浓度为横坐标(X),进行回归分析,得回归方程 $Y = 0.0376X + 0.015$, $r = 0.9996$,表明淫羊藿苷在 0.63 ~ 20.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 质量浓度与吸光度(A)有良好的线性关系。

2.4.2 精密度试验 取淫羊藿生品,按照 2.1 项下的方法制备供试品溶液,按照 2.4.1 项下方法测定,连续测定吸光度 6 次,考察其精密度,计算 RSD 为 0.17%。结果表明实验仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取同一供试品溶液分别在 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120 min 测定吸光度,计算 RSD 值为 0.18%,表明该供试品溶液在 120 min 内

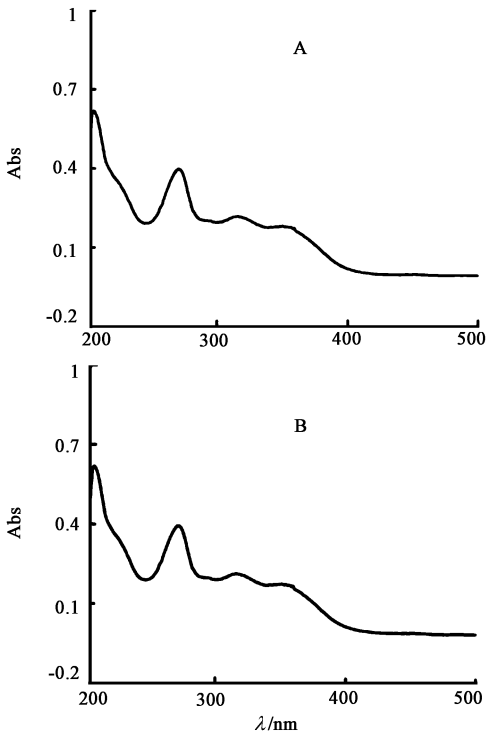


图1 紫外吸收图谱(A. 淫羊藿对照品; B. 淫羊藿生饮片)

具有良好的稳定性。

2.4.4 重复性试验 取淫羊藿生品6份,按2.1项下供试品制备方法平行制样,测定其A,计算RSD值为0.87%,表明该方法重复性良好。

2.5 加样回收率试验 采用加样回收法,精密称取0.1 g样品(淫羊藿总黄酮含量5.02%)6份,分别加入淫羊藿对照品,按2.1项下方法制备供试品溶液,按照2.4.1项下方法测定,计算回收率,结果平均回收率100.08%,RSD为1.50%,表明本法具有

良好的回收率。结果见表1。

表1 淫羊藿加样回收率

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	0.100 4	5.12	5.00	10.03	98.2		
2	0.100 2	5.11	5.00	10.10	99.7		
3	0.100 8	5.14	5.00	10.10	99.1		
4	0.100 5	5.13	5.00	10.12	99.8	100.08	1.50
5	0.100 4	5.12	5.00	10.23	102.2		
6	0.100 5	5.13	5.00	10.20	101.5		

2.6 各地淫羊藿样品总黄酮测定 分别取不同产地淫羊藿供试品溶液和淫羊藿苷对照品溶液,以甲醇为空白,在270 nm下测定吸光度,每份样品平行测定3次,测定结果见表2,淫羊藿样品总黄酮降低率:降低率=(炙品中总黄酮含量-生品中总黄酮含量)/生品中总黄酮含量×100%;结果见表2,采用SPSS 11.6软件,以宁夏产地为参照,对表2中数据进行成组t检验。表2结果显示,11个产地共20批羊脂油对同一批淫羊藿炮制后,显示炙品中总黄酮含量较生品均有不同程度的降低(从18%~51%),以降低率从高到低依次排列:内蒙古(均值51.39%),江西(36.85%),河北(31.08%),山东(29.08%),宁夏(均值28.49%),河南(26.29%),上海(25.91%),广西(21.31%),黑龙江(18.53%)。其中羊油产地为内蒙古的炮制品总黄酮含量降低最多,而黑龙江产地的炮制品中降低最少。同一产地不同部位所得到的炮制品总黄酮含量

表2 羊脂油炙淫羊藿样品中总黄酮含量(n=3)

样品名称	羊脂油产地和部位	总黄酮含量/%	降低率/%	样品名称	羊脂油产地和部位	总黄酮含量/%	降低率/%
生品	-	5.02	-	生品	-	5.02	-
炙品1	宁夏山羊肚子油1	3.55	29.28	炙品11	河南郑州绵羊尾巴油	3.70	26.29
炙品2	宁夏山羊肚子油2	3.94	21.51	炙品12	天津绵羊尾油	3.88	22.71 ¹⁾
炙品3	宁夏绵羊尾油1	3.51	30.08	炙品13	内蒙古绵羊肚子油	2.14	57.37 ²⁾
炙品4	宁夏绵羊尾油2	3.44	31.47	炙品14	内蒙古山羊肚子油	2.67	46.81 ²⁾
炙品5	宁夏绵羊尾油3	3.57	28.88	炙品15	内蒙绵羊尾油	2.51	50.00 ²⁾
炙品6	宁夏绵羊肚子油1	3.40	32.27	炙品16	福建福州绵羊尾油	3.84	23.51
炙品7	宁夏绵羊肚子油2	3.72	25.90	炙品17	福建福州绵羊肚子油	3.86	23.11
炙品8	上海山羊肚子油	3.72	25.90	炙品18	江西南昌山羊尾油	3.17	36.85 ²⁾
炙品9	河北安国绵羊尾油	3.46	31.08	炙品19	广西南宁山羊肚子油	3.95	21.31 ¹⁾
炙品10	山东淄博绵羊尾油	3.56	29.08	炙品20	黑龙江绵羊尾油	4.09	18.53 ²⁾

注:与宁夏组总黄酮降低率平均值28.49%比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01。

接近。表明羊脂油的产地对炮制品中总黄酮含量有显著性影响,而同一产地中,来源和部位则无显著性影响。

t 检验结果显示,宁夏与内蒙古、江西、黑龙江样品的含量之间有显著性差异($P < 0.01$);宁夏与天津、广西样品的含量之间有差异($P < 0.05$),而宁夏与上海、河北、山东、河南、福州样品的含量之间无显著性差异。

3 讨论

3.1 本实验对最大吸收波长进行了考察,对淫羊藿供试品和淫羊藿苷对照品溶液在 200 ~ 500 nm 波长范围内进行扫描,结果在 270 nm 处有最大吸收,与药典规定的测定波长一致。

3.2 炮制辅料是在炮制过程中加入,其质量直接影响饮片质量。羊脂油的来源、产地及部位为其质量的关键影响因素,这些因素对炙淫羊藿中总黄酮含量的影响对于辅料研究具有重要意义,本文对此进行了实验研究,结果显示,辅料产地对炙品中总黄酮含量影响最大,而来源(如山羊还是绵羊)和部位(如尾巴油还是肚子油)则对炙品中总黄酮含量无显著性影响。

3.3 淫羊藿对生殖系统的影响是其主要药理作用之一,也是其临床疗效的重要基础。下丘脑-垂体-性腺轴和下丘脑是淫羊藿促性激素作用的重要途径和靶器官^[10-11]。本课题组前期药理试验数据显示,皮质酮大鼠体重下降、自主活动明显减少、血清睾酮含量降低、HPAT 轴功能抑制,符合临床肾阳虚证的基本病理特征。通过研究不同炼制温度和用量的羊脂油制淫羊藿对肾阳虚大鼠的影响,结果显示,3 个羊脂油制淫羊藿炮制品均能不同程度地改善大鼠形寒肢冷的体征,增加肾阳虚证大鼠的体重、增强抓力、升高血清睾酮含量,而起到增强生品温肾壮阳的作用,其中以 120 ℃ 30% 的羊脂油制淫羊藿增强效果最佳,其作用机制可能与改善肾阳虚证大鼠下丘脑-垂体-肾上腺-胸腺轴病理改变和功能抑制状态有关^[8]。

3.4 淫羊藿所含的淫羊藿苷等异戊烯基取代黄酮苷为其主要活性成分。这类黄酮结构特殊,生物利

用度较低,陈彦等从肠道吸收代谢的角度提出了淫羊藿炮制机制研究的新思路,认为淫羊藿炮制后能被机体吸收的黄酮含量相对增加;中药经过炮制,可提高活性成分的吸收,从而达到增强其药效之目的^[12]。羊脂油炙淫羊藿,可以增强其功效,而炙品中总黄酮含量降低与其体内过程的相关性为研究的重点,我们将在下一步的实验中进行研究,研究结果另文发表。

[参考文献]

- [1] 中国中医药管理局,中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999,308.
- [2] 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,2010:306.
- [3] 叶定江,原思通.中药炮制学辞典[M].上海:上海科学技术出版社,2005:112.
- [4] 雷敦.雷公炮炙论[M].南京:江苏利学技术出版社,1985:33.
- [5] 王秋娟,潘志伟,岳攀,等.淫羊藿总黄酮对动物实验性心肌缺血及血液流变学的影响[J].中草药,2007,38(7):1039.
- [6] 李品,宋敏,罗晓,等.淫羊藿应用研究进展[J].浙江中西医结合杂志,2009,19(8):514.
- [7] 陈肖家,张庆文,季晖,等.紫外分光光度法和高效液相色谱法测定淫羊藿总黄酮含量的比较研究[J].药物分析杂志,2007,27(5):625.
- [8] 李寅超,黄兰岚,赵宜红,等.不同炼制温度和用量的羊脂油制淫羊藿对肾阳虚大鼠的影响[J].中国中药杂志,2011,36(16):2250.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:化学工业出版社,2005:229.
- [10] 吴瑕,杨薇,张磊,等.下丘脑-垂体-性腺轴阻断对淫羊藿促性激素作用的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):161.
- [11] 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):223.
- [12] 陈彦,贾晓斌,丁安伟.淫羊藿炮制机理研究回顾与新思路[J].中华中医药杂志,2010,25(9):1439.

[责任编辑 聂淑琴]