

- [3] Chi D, Liu A R, Xu L X, *et al.* Determination of three ginkgolides in *Ginkgo biloba* leaves by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志) 1998, 18 (6): 367-369.
- [4] Yan Y Z, Xie P S. Assay of terpene lactones in *Ginkgo biloba* leaves by HPLC-ELSD [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21 (3): 173-176.
- [5] Guan Y M, You H L, Wang J, *et al.* Determination of ginkgolides in various *Ginkgo* leaves [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21 (2): 107-109.
- [6] Tang H F, Zheng Z Q, Zhu X Y, *et al.* Quality and quantity analysis of terpene lactones from *Ginkgo biloba* leaves by GC-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (3): 214-217.
- [7] Wang Y, Sheng L S, Lou F C. Analysis and structure determination of trace constituent in the total ginkgolide by using LC/DAD/ESI/MS [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36 (8): 606-608.
- [8] Dong X R, Wu G S. Extraction, purification and isolation of ginkgolides [J]. *Hubei Chem Ind* (湖北化工), 2001 (4): 27-28.

## 粗毛淫羊藿及其不同炮制品中多糖的测定

杨武德, 胡高翔

(贵阳中医学院 药理学系, 贵州 贵阳 550002)

粗毛淫羊藿 *Epimedium acuminatum* Franch. 的干燥地上部分是淫羊藿的来源之一, 具有补肾壮阳、强筋骨、祛风湿等功效。现代药理研究表明, 淫羊藿多糖具有明显的免疫活性, 用于调节免疫、抗肿瘤、抗衰老等, 是一种很有发展前途的生物调节剂<sup>[1]</sup>。本实验采用苯酚-硫酸法对粗毛淫羊藿及其炮制品中多糖进行测定。

### 1 仪器与试剂

DU-70 分光光度计(美国贝克曼公司)。浓硫酸为优级纯, 葡萄糖对照品(北京化工厂, AR 级), 其他均为分析纯。粗毛淫羊藿药材采自贵州省贵阳市花溪区高坡, 经本院中药鉴定教研室魏升华鉴定。

### 2 方法与结果

#### 2.1 炮制品的制备<sup>[2]</sup>

2.1.1 羊脂炙: 取羊脂油加热熔化, 加入淫羊藿 50 g, 文火炒至均匀有泽, 取出, 放凉。100 kg 淫羊藿用羊脂(炼油)20 kg, 得率为 81.6%。

2.1.2 炒制: 取淫羊藿 50 g 置热锅中, 用微火炒至微焦, 呈微黄色, 取出, 放凉。得率为 86.5%。

2.1.3 酒制: 取淫羊藿 50 g 加黄酒喷匀炒干, 颜色稍加深时, 取出, 放凉。100 kg 淫羊藿用黄酒 24 kg, 得率为 93.2%。

2.1.4 盐炒: 取淫羊藿 50 g 放热锅内, 按质量比加食盐 2%, 兑水适量, 边炒边洒, 炒至水干, 边有焦色, 取出放凉。得率为 89.2%。

2.1.5 酥油制: 取酥油置锅内, 文火加热熔化, 再将淫羊藿 50 g 倒入, 炒拌均匀, 取出, 表面油亮光滑,

摊开, 放凉。得率为 77.8%。

2.1.6 烤制: 预热烘箱, 使箱内温度达到 120 ℃, 将放置拌羊脂油的淫羊藿 50 g 的烤盘放入, 烘烤 10 min, 取出翻动 1 次, 再烘烤 15 min, 至表面有亮色, 取出翻动后放凉。100 kg 淫羊藿用羊脂油(炼油)20 kg, 得率为 76.6%。

2.2 淫羊藿多糖的提取与精制: 称取已干燥的淫羊藿粉末(40 目)适量, 置索氏提取器中加入适量石油醚(60~90 ℃)回流, 残渣提取 3 次脱脂。弃提取液, 药粉挥干溶媒后, 加入 80% 乙醇水浴回流提取 4 次(6、5、3、1 h)以除尽单糖、低聚糖和醇溶性杂质。药粉挥干溶媒, 加水煎煮提取 3 次(3、2、2 h), 合并滤液, 加入活性炭脱色。溶液抽滤, 浓缩, 放冷后加入乙醇, 使乙醇体积分数达 80%, 冰箱中放置 24 h, 离心, Seavage 法脱蛋白, 流水透析 24 h, 再用 95% 乙醇和丙酮依次反复冲洗多次, 40 ℃ 烘干至恒重, 得精制多糖粉末, 并置于干燥器内备用。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取 105 ℃ 干燥至恒重的葡萄糖对照品 256 mg, 置 250 mL 量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用。

2.4 标准曲线的绘制<sup>[3]</sup>: 精密吸取葡萄糖对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL, 分置 25 mL 量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 2 mL 于 10 mL 带塞试管中, 另取 2 mL 蒸馏水作空白对照。各管再加入 1.0 mL 苯酚溶液, 混匀, 迅速加入浓硫酸 5 mL, 摇匀后放置 5 min, 置沸水浴, 加热 15 min, 取出, 置冷水中冷却, 于 490 nm 处测定

吸光度值,经计算得回归方程:  $A = 0.0159C - 0.0101$ ,  $r = 0.9991$ 。

2.5 换算因素的测定:精密称取 60 °C 干燥至恒重的淫羊藿多糖 30 mg,置 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取此溶液 2 mL 于具塞试管中,按标准曲线的绘制项下方法操作,测定吸光度,根据回归方程计算多糖溶液中葡萄糖的质量浓度,按下式计算换算因素  $f$ ,测得  $f = 1.09$  ( $n = 6$ )。

$$f = W / (CD)$$

式中  $W$  为多糖的质量 (mg),  $C$  为溶液中葡萄糖的质量浓度 (mg/mL),  $D$  为稀释因素

2.6 供试品溶液的制备:精密称取淫羊藿生品及 6 种炮制品粉末 (40 目) 各 1.5 g,按 2.2 项下方法脱脂、除单糖,所得多糖置 100 mL 量瓶中,加水至刻度,即得。

2.7 精密度试验:分别精密吸取生品供试品溶液 2 mL,按标准曲线的绘制项下方法测定 5 次,计算得多糖的质量分数为 2.042%,RSD 为 0.18%。

2.8 重现性试验:称取生品 5 份,每份 1.5 g,制备供试品溶液,测定,计算得多糖的质量分数为 2.039%,RSD 为 0.24%。

2.9 稳定性试验:取供试品溶液每 30 min 测定 1 次吸光度,结果 2 h 内测定结果稳定,RSD 为 1.20%。

2.10 加样回收率试验:精密称取生品 0.75 g,共 6 份,加入约 15 mg 葡萄糖对照品,制备供试品溶液,测定吸光度,计算得平均回收率为 99.78%,RSD 为 1.10%。

2.11 样品的测定:精密吸取供试品溶液 2 mL 于 10 mL 带塞试管中,按标准曲线的绘制项下的方法操作,测定供试品溶液中葡萄糖的质量浓度,按下式计算样品中的多糖,结果见表 1。

$$\text{多糖的质量分数} = (CDf/W) \times 100\%$$

表 1 粗毛淫羊藿生品及各炮制品中多糖的测定结果 ( $n = 5$ )  
Table 1 Determination of polysaccharide in *E. acuminatum* and its different processed products ( $n = 5$ )

样品	多糖/%	RSD/%	显著性
生品	2.043±1.65	0.81	
炒制	2.432±0.24	0.10	$P < 0.001$
羊脂炙	2.459±0.27	0.11	$P < 0.001$
盐炒	2.101±0.37	0.18	$P < 0.05$
酒制	2.124±0.13	0.06	$P < 0.05$
烘制	2.172±0.26	0.12	$P < 0.01$
酥油制	2.128±0.23	0.11	$P < 0.05$

从测定结果看,淫羊藿及其炮制品中多糖的质量分数依次为:羊脂炙>炒制>烘制>酥油制>酒制>盐制>生品。统计分析结果表明,各炮制品中多糖的量较生品有显著性增加。

### 3 讨论

多糖为淫羊藿药效成分之一,在一定范围内多糖的量与药效作用成正相关<sup>[4]</sup>。淫羊藿经炮制后,其细胞大量破壁,促进了多糖的溶出,本实验证明,淫羊藿经过炮制后人药较好。

《中华人民共和国药典》2000 年版采用羊脂炙入药。从淫羊藿多糖的药理作用的角度和本实验结果看,采用传统的羊脂炙,其多糖得量较生品显著增加 ( $P < 0.001$ ),符合其炮制理论和临床用药规律。因此本实验结果与淫羊藿临床用药一致。

### References:

[1] Han B, Yang J S. Advances in pharmacological studies on the effects of *Epimedium L.* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (11): 873.

[2] Ran M X, Guo J M. *Modern Processing Handbook of Chinese Materia Medica* (现代中药炮制手册) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2002.

[3] Yang H, Jia X. Determination of polysaccharide in root of Tibetan medicine *Potentilla anserine* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (1): 30.

[4] Wang B X. *Modern Pharmacology of Chinese Materia Medica* (现代中药药理学) [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 1997.

(上接第 511 页)

[4] Nair M G, Chang F C. 6β-Hydroxy-4-stigmasten-3-one and 6β-hydroxy-4-capesten-3-one [J]. *Phytochemistry*, 1973, 12 (4): 903-906.

[5] Pascua J T, Urones J G, Maro I S, et al. Triterpenes from *Euphorbia broteri* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26 (6): 1767-1776.

[6] Gaspar E M M, Dasneves H J C. Steroidal constituents from mature wheat straw [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34 (2): 523-

527.

[7] Findlay J A, Patil A D. A novel sterol peroides from the sea anemone *metridium senile* [J]. *Steroids*, 1984, 44 (3): 261-265.

[8] Notaro G, Piccialla V, Sica D. New steroidal hydroxykytones and closely related Doils from the marine sponge *cliona copiosa* [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55 (11): 1588-1594.