

· 专题 ·

# 淫羊藿药材及饮片质量分析与标准制定<sup>△</sup>

王常顺<sup>1</sup>, 段吉平<sup>1</sup>, 康帅<sup>2</sup>, 袁浩<sup>1</sup>, 刘永利<sup>1\*</sup>, 冯丽<sup>1\*</sup>

1. 河北省药品检验研究院/国家药品监督管理局中药材质量监督评价重点实验室, 河北 石家庄 050227;
2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050

**[摘要]** 目的: 基于淫羊藿药材与饮片质量状况与统计分析, 修订现行质量标准淫羊藿含量测定方法与限度。方法: 采用 HPLC 建立以淫羊藿苷为参照的一标多测法(QAMS)测定淫羊藿中4种黄酮醇苷类成分的含量测定方法, 对104批样品含量进行统计分析。结果: 朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C的相对保留时间分别为0.73、0.81、0.90, 校正因子分别为1.35、1.28、1.22。聚类分析显示, 朝鲜淫羊藿单独聚为一类, 方差分析结果显示, 朝鲜淫羊藿与心叶淫羊藿、柔毛淫羊藿P值均小于0.01, 表明朝鲜淫羊藿总黄酮醇苷含量与其他3种基原差异有统计学意义。结论: 建立的含量测定方法准确可靠、重复性好, 根据品种特点单独制定限度, 使新修订的质量标准更加科学、合理、可行。

**[关键词]** 淫羊藿; 一标多测; 淫羊藿苷; 朝藿定A; 朝藿定B; 朝藿定C

**[中图分类号]** R282.71; R283 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)07-1006-10

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20200317005

## Quality Analysis and Standard Formulation of Herba Epimedii and Decoction Pieces

WANG Chang-shun<sup>1</sup>, DUAN Ji-ping<sup>1</sup>, KANG Shuai<sup>2</sup>, YUAN Hao<sup>1</sup>, LIU Yong-li<sup>1\*</sup>, FENG Li<sup>1\*</sup>

1. Hebei Institute for Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring and Evaluation of Traditional Chinese Medicine (Chinese Materia Medica), Shijiazhuang 050227, China;
2. National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

**[Abstract]** **Objective:** Based on the quality status and statistical analysis, to revise the determination method and quality standard of Herba Epimedii and decoction pieces. **Methods:** High performance liquid chromatography was used to develop a method for the determination of four flavonoid glycosides in Herba Epimedii with icariin as reference. The contents of 104 samples were analyzed statistically. **Results:** The relative retention time was respectively 0.73, 0.81, 0.90, the correction factors were respectively 1.35, 1.28, 1.22. Cluster analysis showed that *Epimedium koreanum* clustered into a single species. Variance analysis showed that the P between *E. koreanum* and *E. pubescens* and *E. brevicornu* were both less than 0.01, showed total flavone alcohol glycoside content of *E. koreanum* was significantly different from that of other three species. **Conclusion:** The established method is accurate, reliable and reproducible, and the revised quality standard is scientific and reasonable.

**[Keywords]** Herba Epimedii; QAMS; icariin; epimedin A; epimedin B; epimedin C

淫羊藿为常用中药材, 始载于《神农本草经》<sup>[1]</sup>, 以后历代本草多有收录, 《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)自1963年版开始收载, 来源、药用部位等几经变化, 见表1。2015年版收载了淫羊藿(以下称心叶淫羊藿)、箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿、朝鲜淫羊藿4个来源。饮片有2种, 一种切丝(以下称淫羊藿丝), 一种加羊油炒(以下称炙淫羊藿)。现行质量标准药材与淫羊藿丝

用紫外-可见分光光度法测定总黄酮和 HPLC 测定淫羊藿苷含量, 炙淫羊藿的含量测定增加了宝藿苷 I, 其他基本与药材相同<sup>[2]</sup>。

近些年, 对朝鲜淫羊藿中淫羊藿苷含量不合格情况反映较多, 甚至有经营者为了符合《中国药典》要求而采用加热等技术手段提高淫羊藿苷含量<sup>[3-7]</sup>, 严重影响了药材与饮片质量。为此, 笔者从2013年开始, 从中药材专业市场、饮片生产企业、

<sup>△</sup> [基金项目] 国家药品标准提高项目(2016-026)

\* [通信作者] 冯丽, 研究方向: 中药质量标准; Tel: (0311)69086156, E-mail: jianyan882@163.com

刘永利, 研究方向: 中药质量标准; Tel: (0311)69086006, E-mail: liuyongli2008@126.com

表1 历版《中国药典》淫羊藿来源与药用部位、炮制方法变化

| 《中国药典》                | 来源                          | 药用部位 | 炮制             |
|-----------------------|-----------------------------|------|----------------|
| 1963年版                | 淫羊藿、箭叶淫羊藿                   | 茎叶   | 摘取叶片, 除去杂质……切丝 |
| 1977年版                | 淫羊藿、箭叶淫羊藿、朝鲜淫羊藿             | 地上部分 |                |
| 1985年版                | 淫羊藿、箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿、朝鲜淫羊藿       | 地上部分 |                |
| 1990、1995、2000、2005年版 | 淫羊藿、箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿、巫山淫羊藿、朝鲜淫羊藿 | 地上部分 |                |
| 2010、2015年版           | 淫羊藿、箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿、朝鲜淫羊藿       | 叶    | 除去杂质……切丝       |

饮片经营使用单位、种植基地、产地等陆续收集了104批样品, 研究建立了一标多测的含量测定方法, 将测定淫羊藿苷单个成分修订为同时测定朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C与淫羊藿苷4个成分, 通过对药材与饮片的含量进行统计分析制定限度, 使质量标准能更加科学合理, 实现了从整体上控制药材质量, 也防止了种植者、经营者为提高《中国药典》中的某个指标成分而采取所谓的“技术手段”。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪: Agilent 1260(美国安捷伦公司, 四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器); 电子天平: Mettler XPE26(瑞士Mettler公司, 0.001 mg), Mettler XS105DU(瑞士Mettler公司, 0.01 mg); 超纯水仪(美国Millipore公司)。

### 1.2 试药

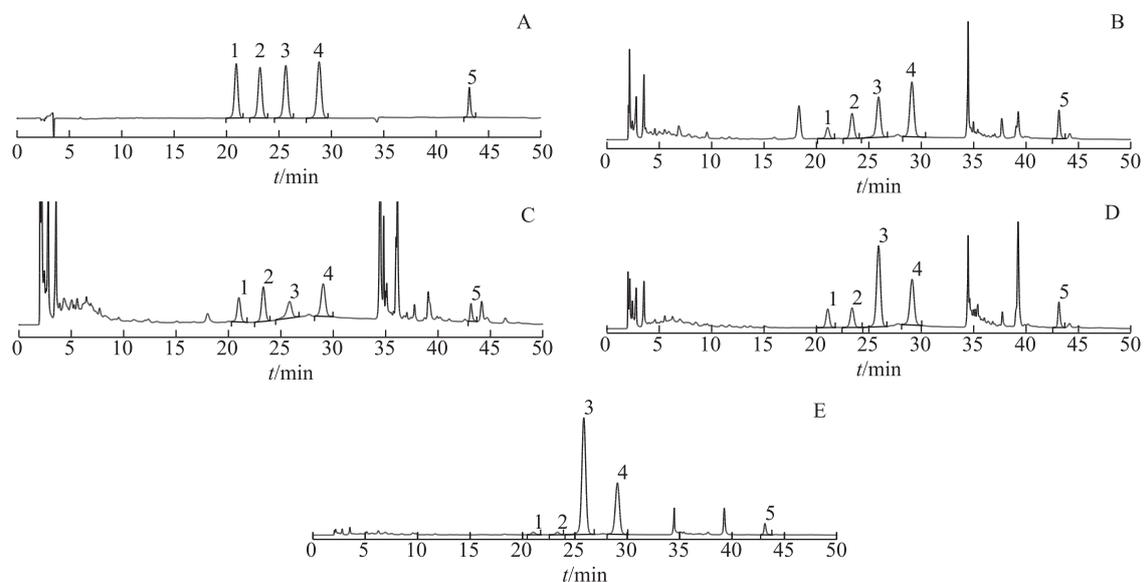
朝藿定A对照品(上海诗丹德标准技术服务有

限公司, 批号: 110623-72-8, 以100.0%计); 朝藿定B对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 110623-73-9, 以100.0%计); 朝藿定C(中国食品药品检定研究院, 批号: 111780-200801, 以99.1%计); 淫羊藿苷(中国食品药品检定研究院, 批号: 110737-201516, 以94.2%计); 宝藿昔I(中国食品药品检定研究院, 批号: 111852-201603, 以99.9%计); 甲醇、乙腈为色谱纯(德国Merk公司); 乙醇为分析纯; 水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Phenomenex Luna C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈为流动相A, 水为流动相B, 梯度洗脱(0~30 min, 24%~26% A, 30~31 min, 26%~45% A, 31~45 min, 45%~47% A); 检测波长: 270 nm; 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量: 10 μL。4种基原药材色谱见图1。



注: A. 混合对照品; B. 心叶淫羊藿; C. 朝鲜淫羊藿; D. 柔毛淫羊藿; E. 箭叶淫羊藿; 1. 朝藿定A; 2. 朝藿定B; 3. 朝藿定C; 4. 淫羊藿苷; 5. 宝藿昔I。

图1 淫羊藿对照品及样品 HPLC 图

## 2.2 对照品溶液制备

取淫羊藿苷对照品 5.125 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取 10 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 即得。

## 2.3 供试品溶液制备

取本品叶片粉末(过三号筛)约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 20 mL, 称定质量, 超声处理(功率: 400 W, 频率: 50 kHz)

1 h, 再称定质量, 用稀乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

## 2.4 线性关系考察

分别称取朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 对照品 5.094、5.187、5.489、5.372、3.310 mg, 加甲醇配成系列浓度溶液, 进样测定, 记录峰面积。以峰面积积分值为纵坐标, 对照品进样量为横坐标绘制标准曲线, 5 种成分线性关系良好, 见表 2。

表 2 淫羊藿含量测定各成分标准曲线测定结果( $n=9$ )

| 待测成分  | 回归方程                      | $r$     | 线性范围/ $\mu\text{g}$ | 回收率/%  | 平均回收率/% | RSD/% |
|-------|---------------------------|---------|---------------------|--------|---------|-------|
| 朝藿定 A | $Y = 3\ 382\ 673X + 3595$ | 0.999 9 | 0.020 4 ~ 1.018     | 99.55  | 99.8    | 0.7   |
|       |                           |         |                     | 100.26 |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.31  |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.25  |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.43  |         |       |
|       |                           |         |                     | 100.02 |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.37 |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.51  |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.71  |         |       |
| 朝藿定 B | $Y = 3\ 591\ 779X + 4637$ | 0.999 9 | 0.020 7 ~ 1.037     | 100.58 | 99.9    | 1.2   |
|       |                           |         |                     | 100.39 |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.06 |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.13  |         |       |
|       |                           |         |                     | 98.81  |         |       |
|       |                           |         |                     | 97.82  |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.61  |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.19 |         |       |
|       |                           |         |                     | 100.69 |         |       |
| 朝藿定 C | $Y = 3\ 651\ 866X + 3228$ | 0.999 9 | 0.021 8 ~ 1.087     | 100.92 | 100.0   | 1.2   |
|       |                           |         |                     | 101.46 |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.76 |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.32  |         |       |
|       |                           |         |                     | 98.88  |         |       |
|       |                           |         |                     | 98.79  |         |       |
|       |                           |         |                     | 100.06 |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.18  |         |       |
|       |                           |         |                     | 100.01 |         |       |
| 淫羊藿苷  | $Y = 4\ 534\ 828X - 2224$ | 0.999 9 | 0.020 2 ~ 1.012     | 99.00  | 101.4   | 1.1   |
|       |                           |         |                     | 101.82 |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.5  |         |       |
|       |                           |         |                     | 100.83 |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.20 |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.41 |         |       |
|       |                           |         |                     | 102.22 |         |       |
|       |                           |         |                     | 102.22 |         |       |
|       |                           |         |                     | 102.53 |         |       |
| 宝藿苷 I | $Y = 6\ 123\ 679X - 237$  | 0.999 9 | 0.013 2 ~ 0.661 3   | 98.86  | 99.5    | 1.4   |
|       |                           |         |                     | 98.61  |         |       |
|       |                           |         |                     | 99.98  |         |       |
|       |                           |         |                     | 97.49  |         |       |
|       |                           |         |                     | 98.73  |         |       |
|       |                           |         |                     | 98.61  |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.3  |         |       |
|       |                           |         |                     | 101.22 |         |       |
|       |                           |         |                     | 100.85 |         |       |

## 2.5 重复性试验

取心叶淫羊藿粉末,混匀,称取粉末0.1、0.2、0.3 g各3份,精密称定,按2.3项下方法制成供试品溶液,按2.1色谱条件测定,结果朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I质量分数分别为1.65、3.81、6.33、7.29、1.49 mg·g<sup>-1</sup>,RSD分别为1.2%、0.8%、1.6%、1.1%、1.2%,表明本方法的重复性良好。

## 2.6 回收率试验

取已知含量的心叶淫羊藿粉末,每份约0.1 g,精密称定,分别加入高、中、低浓度的朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I混合对照品溶液20 mL,再按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.1色谱条件测定,计算回收率。结果见表2。表

明本方法回收率良好。

## 2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别于0、1、2、5、12、15、24 h进样测定,记录峰面积积分值,结果朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I峰面积积分值RSD分别为1.2%、1.3%、1.2%、1.2%、1.3%。表明供试品溶液在室温下放置,至少24 h内稳定。

## 3 一标多测研究

淫羊藿苷与朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C等均为黄酮醇苷类化合物,母核结构相同,见图2。为简化实验,以淫羊藿苷对照品为参照进行了一标多测研究,对校正因子进行了测定与耐用性考察。

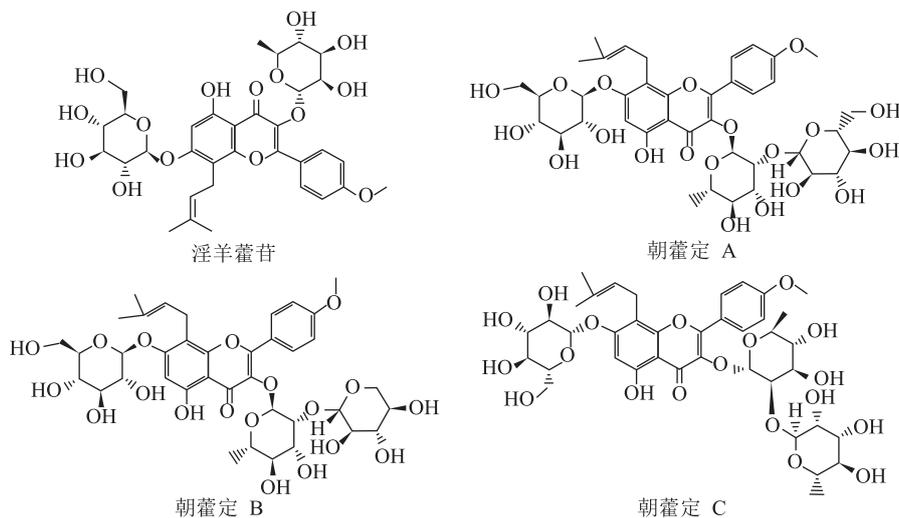


图2 淫羊藿苷与朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C分子结构

## 3.1 色谱条件

色谱条件同2.1。

## 3.2 相对保留时间和校正因子( $f$ )的测定

分别精密称取朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷对照品各3份,加甲醇配制成系列浓度溶液,注入液相色谱仪,测定峰面积,绘制标准曲线( $r$ 均为0.9999),见表3。采用标准曲线法计算校正因子 $f$ ,结果朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C的校正因子分别为1.35、1.28、1.22,RSD分别0.8%、0.9%、1.2%;相对保留时间分别为0.73、0.81、0.90,RSD分别为0.4%、0.1%、0.4%。

$$f = k_s / k_i \quad (1)$$

$k_s$ 表示参照物标准曲线斜率。 $k_i$ 表示待测成分

标准曲线斜率。

## 3.3 外标法测定含量与校正因子一标多测法测定含量对比

将外标法计算的朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷与一标多测法计算结果进行了对比,结果RSD均小于3%,统计分析差异无统计学意义,表明外标法与一标多测法测定结果一致。

## 4 含量限度制定

104批淫羊藿药材与饮片含量测定结果见表4。因市场上基本没有箭叶淫羊藿,收集到的5批箭叶淫羊藿样品均来自贵州雷山栽培基地,不具代表性,因此不做分析。

表3 一标多测校正因子测定各成分标准曲线测定数据

| 成分    | 曲线一                      | 曲线二                     | 曲线三                     |
|-------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 朝藿定 A | $Y=4\ 561\ 345X-38\ 044$ | $Y=40.652\ 3X-0.318\ 3$ | $Y=41.041\ 3X+0.204\ 8$ |
| 朝藿定 B | $Y=3\ 614\ 354X-39\ 862$ | $Y=43.511\ 0X-0.463\ 0$ | $Y=43.509\ 6X+0.447\ 3$ |
| 朝藿定 C | $Y=3\ 661\ 400X-23\ 707$ | $Y=44.759\ 1X-0.186\ 4$ | $Y=44.839\ 5X+0.466\ 3$ |
| 淫羊藿苷  | $Y=4\ 561\ 345X-38\ 044$ | $Y=54.675\ 9X-0.401\ 6$ | $Y=55.604\ 9X+0.411\ 7$ |

表4 淫羊藿药材与饮片含量测定结果

%

| 序号 | 分类 | 基原 | 产地   | 批号     | 朝藿定 A | 朝藿定 B | 朝藿定 C | 淫羊藿苷 | 总黄酮醇苷 | 宝藿苷 I |
|----|----|----|------|--------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 1  | 药材 | 朝鲜 | 四川广源 | YYH105 | 0.26  | 0.62  | 0.16  | 1.50 | 2.54  | 0.101 |
| 2  | 药材 | 朝鲜 | 吉林临江 | YYH106 | 0.22  | 0.28  | 0.20  | 0.21 | 0.91  | 0.019 |
| 3  | 药材 | 朝鲜 | 吉林临江 | YYH107 | 0.24  | 0.29  | 0.14  | 0.52 | 1.19  | 0.048 |
| 4  | 药材 | 朝鲜 | 吉林临江 | YYH108 | 0.22  | 0.30  | 0.23  | 0.26 | 1.01  | 0.037 |
| 5  | 药材 | 朝鲜 | 吉林通化 | YYH124 | 0.15  | 0.21  | 0.14  | 0.19 | 0.69  | 0.039 |
| 6  | 药材 | 朝鲜 | 吉林通化 | YYH125 | 0.14  | 0.19  | 0.13  | 0.17 | 0.63  | 0.046 |
| 7  | 药材 | 朝鲜 | 吉林抚松 | YYH126 | 0.16  | 0.22  | 0.14  | 0.18 | 0.70  | 0.026 |
| 8  | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH134 | 0.41  | 0.52  | 0.18  | 0.75 | 1.86  | 0.045 |
| 9  | 药材 | 朝鲜 | 吉林临江 | YYH153 | 0.44  | 0.52  | 0.33  | 0.41 | 1.70  | 0.038 |
| 10 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH026 | 0.22  | 0.32  | 0.16  | 0.28 | 0.98  | 0.060 |
| 11 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH029 | 0.18  | 0.23  | 0.11  | 0.46 | 0.97  | 0.148 |
| 12 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH003 | 0.20  | 0.29  | 0.15  | 0.43 | 1.07  | 0.075 |
| 13 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH001 | 0.19  | 0.25  | 0.12  | 0.47 | 1.03  | 0.103 |
| 14 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH014 | 0.24  | 0.33  | 0.20  | 0.26 | 1.03  | 0.031 |
| 15 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH031 | 0.15  | 0.21  | 0.12  | 0.30 | 0.78  | 0.072 |
| 16 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH035 | 0.09  | 0.14  | 0.07  | 0.22 | 0.51  | 0.049 |
| 17 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH013 | 0.15  | 0.21  | 0.09  | 0.23 | 0.68  | 0.078 |
| 18 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH042 | 0.16  | 0.22  | 0.11  | 0.22 | 0.71  | 0.080 |
| 19 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH037 | 0.29  | 0.37  | 0.19  | 0.53 | 1.37  | 0.070 |
| 20 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH032 | 0.18  | 0.27  | 0.10  | 0.38 | 0.93  | 0.121 |
| 21 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH033 | 0.14  | 0.22  | 0.10  | 0.17 | 0.63  | 0.049 |
| 22 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH036 | 0.13  | 0.22  | 0.08  | 0.34 | 0.76  | 0.129 |
| 23 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH038 | 0.17  | 0.24  | 0.13  | 0.29 | 0.82  | 0.060 |
| 24 | 药材 | 朝鲜 | 东北   | YYH040 | 0.16  | 0.24  | 0.11  | 0.22 | 0.73  | 0.052 |
| 25 | 药材 | 箭叶 | 贵州雷山 | YYH116 | 0.11  | 0.10  | 2.25  | 0.80 | 3.30  | 0.394 |
| 26 | 药材 | 箭叶 | 贵州雷山 | YYH117 | 0.04  | 0.01  | 2.78  | 0.82 | 3.70  | 0.119 |
| 27 | 药材 | 箭叶 | 贵州雷山 | YYH119 | 0.02  | 0.01  | 1.03  | 0.62 | 1.70  | 0.626 |
| 28 | 药材 | 箭叶 | 贵州雷山 | YYH120 | 0.21  | 0.19  | 9.22  | 3.58 | 13.20 | 0.300 |

续表 4

| 序号 | 分类 | 基原 | 产地   | 批号     | 朝藿定 A | 朝藿定 B | 朝藿定 C | 淫羊藿苷 | 总黄酮醇苷 | 宝藿苷 I |
|----|----|----|------|--------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 29 | 药材 | 箭叶 | 贵州雷山 | YYH121 | 0.15  | 0.16  | 5.94  | 2.81 | 9.10  | 0.413 |
| 30 | 药材 | 柔毛 | 四川乐山 | YYH127 | 0.42  | 0.49  | 0.71  | 0.90 | 2.50  | 0.186 |
| 31 | 药材 | 柔毛 | 四川乐山 | YYH128 | 0.26  | 0.31  | 0.56  | 0.74 | 1.90  | 0.404 |
| 32 | 药材 | 柔毛 | 四川乐山 | YYH129 | 0.36  | 0.40  | 0.64  | 0.86 | 2.30  | 0.262 |
| 33 | 药材 | 柔毛 | 四川乐山 | YYH130 | 0.18  | 0.24  | 1.61  | 0.48 | 2.50  | 0.044 |
| 34 | 药材 | 柔毛 | 重庆垫江 | YYH147 | 0.10  | 0.12  | 3.92  | 1.33 | 5.50  | 0.074 |
| 35 | 药材 | 柔毛 | 四川广元 | YYH148 | 0.32  | 0.35  | 1.47  | 0.74 | 2.90  | 0.158 |
| 36 | 药材 | 柔毛 | 甘肃凉山 | YYH157 | 0.19  | 0.28  | 1.26  | 0.14 | 1.90  | 0.022 |
| 37 | 药材 | 柔毛 | 四川   | YYH030 | 0.20  | 0.28  | 1.47  | 0.21 | 2.20  | 0.044 |
| 38 | 药材 | 柔毛 | 四川   | YYH002 | 0.21  | 0.30  | 1.18  | 0.41 | 2.10  | 0.082 |
| 39 | 药材 | 心叶 | 甘肃礼县 | YYH110 | 0.35  | 0.42  | 1.15  | 1.10 | 3.00  | 0.095 |
| 40 | 药材 | 心叶 | 甘肃礼县 | YYH111 | 0.43  | 0.91  | 1.54  | 1.66 | 4.50  | 0.085 |
| 41 | 药材 | 心叶 | 甘肃礼县 | YYH112 | 0.60  | 0.72  | 1.33  | 1.85 | 4.50  | 0.141 |
| 42 | 药材 | 心叶 | 甘肃礼县 | YYH113 | 0.50  | 0.66  | 2.04  | 2.07 | 5.30  | 0.153 |
| 43 | 药材 | 心叶 | 甘肃礼县 | YYH114 | 0.20  | 0.44  | 0.76  | 0.86 | 2.30  | 0.171 |
| 44 | 药材 | 心叶 | 甘肃礼县 | YYH122 | 0.38  | 0.50  | 1.58  | 1.48 | 3.90  | 0.172 |
| 45 | 药材 | 心叶 | 甘肃礼县 | YYH123 | 0.27  | 0.74  | 1.00  | 0.90 | 2.90  | 0.061 |
| 46 | 药材 | 心叶 | 甘肃   | YYH131 | 0.30  | 0.40  | 0.82  | 0.88 | 2.40  | 0.226 |
| 47 | 药材 | 心叶 | 甘肃   | YYH132 | 0.27  | 0.88  | 0.74  | 1.00 | 2.90  | 0.082 |
| 48 | 药材 | 心叶 | 甘肃   | YYH133 | 0.22  | 0.74  | 0.64  | 0.86 | 2.50  | 0.074 |
| 49 | 药材 | 心叶 | 甘肃武都 | YYH140 | 0.24  | 0.29  | 1.30  | 1.00 | 2.80  | 0.112 |
| 50 | 药材 | 心叶 | 甘肃舟曲 | YYH141 | 0.38  | 0.56  | 1.62  | 1.52 | 4.10  | 0.025 |
| 51 | 药材 | 心叶 | 甘肃   | YYH142 | 0.41  | 0.52  | 1.98  | 1.47 | 4.40  | 0.038 |
| 52 | 药材 | 心叶 | 甘肃临潭 | YYH143 | 0.30  | 0.40  | 1.18  | 0.98 | 2.90  | 0.100 |
| 53 | 药材 | 心叶 | 甘肃岷县 | YYH144 | 0.31  | 0.42  | 1.16  | 0.78 | 2.70  | 0.270 |
| 54 | 药材 | 心叶 | 甘肃卓尼 | YYH145 | 0.44  | 0.82  | 2.08  | 1.10 | 4.40  | 0.032 |
| 55 | 药材 | 心叶 | 不详   | YYH146 | 0.25  | 1.55  | 0.32  | 0.74 | 2.90  | 0.149 |
| 56 | 药材 | 心叶 | 甘肃陇南 | YYH149 | 0.36  | 0.47  | 1.19  | 1.88 | 3.90  | 0.255 |
| 57 | 药材 | 心叶 | 吉林临江 | YYH152 | 0.44  | 0.49  | 0.38  | 0.53 | 1.80  | 0.032 |
| 58 | 药材 | 心叶 | 吉林临江 | YYH154 | 0.34  | 0.41  | 0.33  | 0.39 | 1.50  | 0.038 |
| 59 | 药材 | 心叶 | 甘肃陇南 | YYH155 | 0.23  | 0.65  | 0.53  | 0.70 | 2.10  | 0.098 |
| 60 | 药材 | 心叶 | 甘肃岷县 | YYH156 | 0.35  | 0.54  | 1.53  | 0.94 | 3.40  | 0.038 |
| 61 | 药材 | 心叶 | 陕西   | YYH161 | 0.34  | 0.62  | 1.38  | 1.64 | 4.00  | 0.246 |
| 62 | 药材 | 心叶 | 陕西   | YYH045 | 0.22  | 1.30  | 0.26  | 0.58 | 2.40  | 0.032 |
| 63 | 药材 | 心叶 | 东北   | YYH043 | 0.17  | 1.22  | 0.29  | 0.41 | 2.10  | 0.007 |

续表 4

| 序号 | 分类   | 基原 | 产地   | 批号     | 朝藿定 A | 朝藿定 B | 朝藿定 C | 淫羊藿苷 | 总黄酮醇苷 | 宝藿苷 I |
|----|------|----|------|--------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 64 | 药材   | 心叶 | 甘肃   | YYH015 | 0.33  | 1.92  | 0.44  | 0.72 | 3.40  | 0.039 |
| 65 | 药材   | 心叶 | 甘肃   | YYH016 | 0.32  | 1.91  | 0.44  | 0.72 | 3.40  | 0.037 |
| 66 | 药材   | 心叶 | 甘肃   | YYH017 | 0.33  | 1.91  | 0.40  | 0.96 | 3.60  | 0.033 |
| 67 | 药材   | 心叶 | 甘肃   | YYH018 | 0.34  | 1.99  | 0.46  | 0.74 | 3.50  | 0.035 |
| 68 | 药材   | 心叶 | 甘肃   | YYH019 | 0.34  | 1.98  | 0.45  | 0.74 | 3.50  | 0.038 |
| 69 | 药材   | 心叶 | 甘肃   | YYH049 | 0.35  | 0.49  | 1.08  | 1.37 | 3.30  | 0.396 |
| 70 | 淫羊藿丝 | 朝鲜 | 不详   | YYH150 | 0.22  | 0.31  | 0.11  | 0.78 | 1.42  | 0.125 |
| 71 | 淫羊藿丝 | 朝鲜 | 东北   | YYH160 | 0.19  | 0.26  | 0.20  | 0.88 | 1.53  | 0.126 |
| 72 | 淫羊藿丝 | 朝鲜 | 不详   | YYH163 | 0.28  | 0.39  | 0.40  | 0.92 | 1.99  | 0.162 |
| 73 | 淫羊藿丝 | 柔毛 | 四川广源 | YYH102 | 0.32  | 0.70  | 1.85  | 0.96 | 3.80  | 0.140 |
| 74 | 淫羊藿丝 | 柔毛 | 四川雅安 | YYH104 | 0.25  | 0.56  | 1.62  | 0.40 | 2.80  | 0.041 |
| 75 | 淫羊藿丝 | 柔毛 | 陕西   | YYH158 | 0.20  | 0.26  | 1.31  | 0.47 | 2.20  | 0.052 |
| 76 | 淫羊藿丝 | 柔毛 | 陕西   | YYH159 | 0.18  | 0.23  | 1.18  | 0.46 | 2.10  | 0.049 |
| 77 | 淫羊藿丝 | 心叶 | 不详   | YYH151 | 0.28  | 1.76  | 0.27  | 1.04 | 3.40  | 0.100 |
| 78 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH164 | 0.17  | 0.25  | 0.12  | 1.00 | 1.54  | 0.120 |
| 79 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH165 | 0.22  | 0.30  | 0.38  | 0.82 | 1.72  | 0.114 |
| 80 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH166 | 0.24  | 0.32  | 0.34  | 0.86 | 1.76  | 0.124 |
| 81 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH034 | 0.10  | 0.13  | 0.06  | 0.24 | 0.52  | 0.094 |
| 82 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH007 | 0.08  | 0.12  | 0.08  | 0.19 | 0.47  | 0.056 |
| 83 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH027 | 0.07  | 0.11  | 0.05  | 0.20 | 0.43  | 0.062 |
| 84 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 吉林   | YYH011 | 0.07  | 0.10  | 0.05  | 0.19 | 0.41  | 0.060 |
| 85 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH025 | 0.11  | 0.15  | 0.09  | 0.19 | 0.53  | 0.038 |
| 86 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 不详   | YYH020 | 0.11  | 0.16  | 0.08  | 0.30 | 0.64  | 0.050 |
| 87 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH028 | 0.08  | 0.11  | 0.06  | 0.21 | 0.45  | 0.077 |
| 88 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH005 | 0.14  | 0.21  | 0.08  | 0.34 | 0.77  | 0.041 |
| 89 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 吉林   | YYH047 | 0.14  | 0.19  | 0.11  | 0.21 | 0.65  | 0.031 |
| 90 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH009 | 0.09  | 0.12  | 0.05  | 0.21 | 0.47  | 0.038 |
| 91 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH044 | 0.11  | 0.16  | 0.08  | 0.24 | 0.59  | 0.037 |
| 92 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH046 | 0.14  | 0.18  | 0.08  | 0.37 | 0.77  | 0.079 |
| 93 | 炙淫羊藿 | 朝鲜 | 东北   | YYH041 | 0.16  | 0.21  | 0.11  | 0.26 | 0.74  | 0.036 |
| 94 | 炙淫羊藿 | 柔毛 | 不详   | YYH004 | 0.05  | 0.07  | 0.38  | 0.36 | 0.90  | 0.038 |
| 95 | 炙淫羊藿 | 柔毛 | 吉林   | YYH006 | 0.16  | 0.29  | 0.48  | 0.47 | 1.40  | 0.046 |
| 96 | 炙淫羊藿 | 心叶 | 东北   | YYH010 | 0.16  | 0.54  | 0.79  | 1.07 | 2.60  | 0.128 |
| 97 | 炙淫羊藿 | 心叶 | 不详   | YYH024 | 0.17  | 0.79  | 0.27  | 0.70 | 1.90  | 0.071 |
| 98 | 炙淫羊藿 | 心叶 | 不详   | YYH021 | 0.17  | 0.79  | 0.25  | 0.71 | 1.90  | 0.070 |

续表 4

| 序号  | 分类   | 基原 | 产地 | 批号     | 朝藜定 A | 朝藜定 B | 朝藜定 C | 淫羊藿苷 | 总黄酮醇苷 | 宝藜苷 I |
|-----|------|----|----|--------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 99  | 炙淫羊藿 | 心叶 | 东北 | YYH008 | 0.15  | 0.69  | 0.22  | 0.65 | 1.70  | 0.068 |
| 100 | 炙淫羊藿 | 心叶 | 甘肃 | YYH012 | 0.17  | 0.77  | 0.24  | 0.73 | 1.90  | 0.078 |
| 101 | 炙淫羊藿 | 心叶 | 不详 | YYH022 | 0.17  | 0.74  | 0.23  | 0.72 | 1.90  | 0.077 |
| 102 | 炙淫羊藿 | 心叶 | 甘肃 | YYH039 | 0.17  | 0.75  | 0.23  | 0.73 | 1.90  | 0.078 |
| 103 | 炙淫羊藿 | 心叶 | 不详 | YYH023 | 0.17  | 0.79  | 0.24  | 0.76 | 2.00  | 0.082 |
| 104 | 炙淫羊藿 | 心叶 | 甘肃 | YYH048 | 0.45  | 0.36  | 0.06  | 0.57 | 1.40  | 0.039 |

从总黄酮醇苷含量箱式图(见图3)可以看出,淫羊藿药材与淫羊藿丝含量基本相同,而炙淫羊藿含量较低,而且淫羊藿丝炮制方法为简单切制,因此将药材与淫羊藿丝一起统计分析,制定限度。

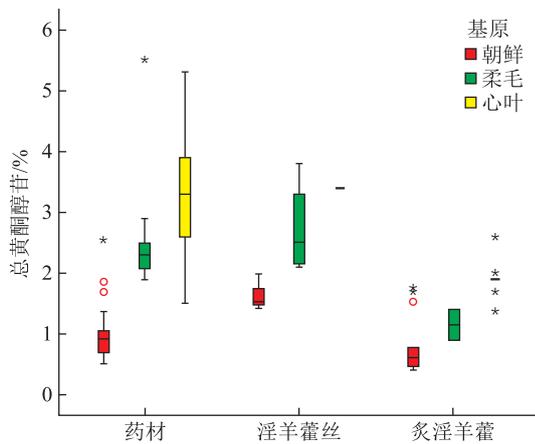


图3 淫羊藿药材、淫羊藿丝、炙淫羊藿总黄酮醇苷含量箱式图

朝鲜淫羊藿4个成分总和为0.5%~2.5%,其他3种淫羊藿为1.5%~13.2%,炙朝鲜淫羊藿4个成分总和为0.4%~1.8%,其他3种炙淫羊藿为0.9%~2.6%。从各成分含量统计图(图4~6)可以看出,朝鲜淫羊藿含量与其他种差异明显。方差分析结果表明,朝鲜淫羊藿与其他基原差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

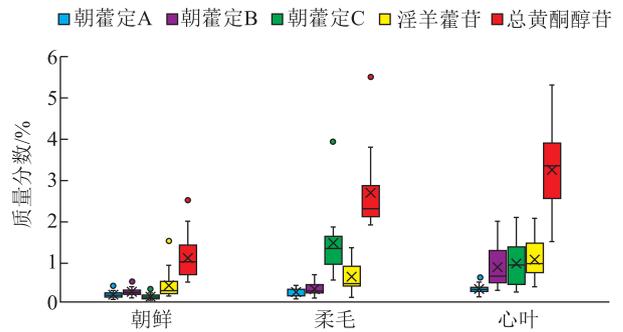


图4 淫羊藿药材及淫羊藿丝含量分布箱式图

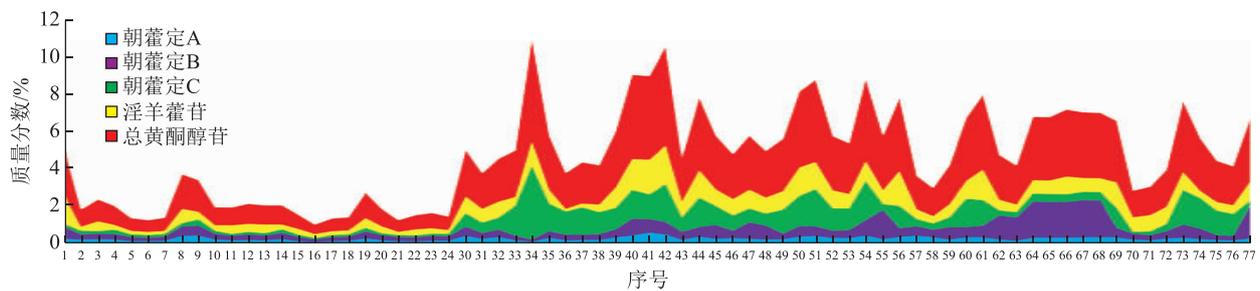


图5 淫羊藿药材及淫羊藿丝含量分布面积图

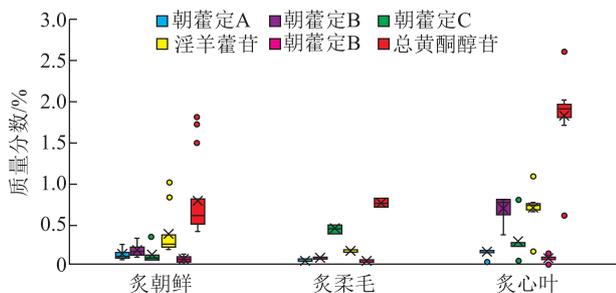


图6 炙淫羊藿含量分布箱式图

将含量测定数据输入 SPSS 22.0 软件,对样品进行聚类分析,采用组间连接法,以欧式平方距离为分类依据,结果见图7~8,由药材和淫羊藿丝聚类结果可见,朝鲜淫羊藿基本聚为一类,心叶淫羊藿有17批聚为一类,另外批次与柔毛淫羊藿聚为一类,表明总黄酮醇苷含量主要与基原有关,与产地、采收时间等可能也有一定联系。由炙淫羊藿聚类结果可见,炙朝鲜淫羊藿聚为一类,炙心叶淫羊

藿聚为一类。

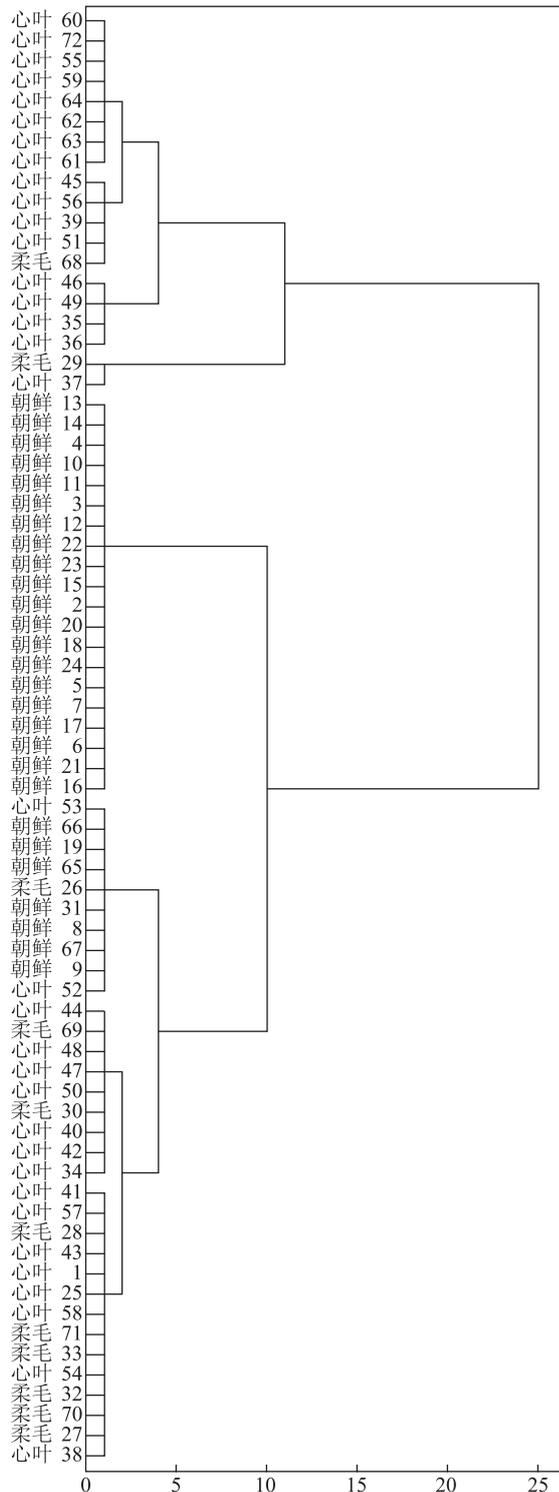


图7 淫羊藿药材及淫羊藿丝含量测定结果聚类分析

目前市场上主要以心叶淫羊藿与朝鲜淫羊藿为主，柔毛淫羊藿与箭叶淫羊藿较少见，而朝鲜淫羊藿中各成分含量与其他种淫羊藿有显著性差异，因此建议将朝鲜淫羊藿限度单列。根据样品测定数据，

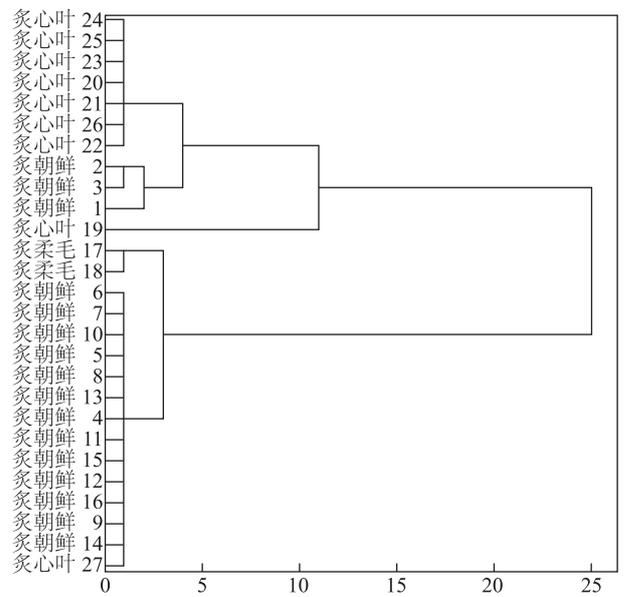


图8 炙淫羊藿含量测定结果聚类分析

药材与淫羊藿丝限度为：朝鲜淫羊藿含朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷总量不得低于 0.50%。淫羊藿、柔毛淫羊藿、箭叶淫羊藿不得低于 1.5%。炙淫羊藿限度为：朝鲜淫羊藿含朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷总量不得低于 0.40%。其余 3 个来源不得低于 1.2%；4 个来源的宝藿苷 I 均不得低于 0.030%。据此限度，104 批样品中只有 1 批炙淫羊藿总黄酮醇苷(柔毛, YYH004)为 0.9%，不符合规定，其余 103 批均符合规定，合格率为 99.0%。

## 5 讨论

### 5.1 炮制方法

淫羊藿为复叶，叶柄较多，根据文献报道<sup>[8-10]</sup>及实测结果，叶柄含量低于叶片，《雷公炮炙论》记载“须用夹刀夹去叶四畔花欸”，即药用实际上是叶片，因此炮制方法建议恢复 2010 年版《中国药典》以前描述，“摘取叶片，除去杂质……切丝”，即药材带叶柄，炮制时只取叶片，与本草及用药习惯相符。

### 5.2 关于含量测定取样部位

药材在测定时若不规定摘取叶片，则每次取样时含叶柄的多少将使测定结果相差较大，致使同一批样品测定结果重复性差。另外，淫羊藿炮制时规定摘取叶片，即实际应用的是叶片，因此药材测定也摘取叶片测定，就与饮片规定一致，同一批药

材与饮片的含量易于追溯。

### 5.3 含量测定方法考察

对提取方式、提取时间等进行了考察优化,对不同色谱柱、仪器、柱温、流速等耐用性进行了考察;一标多测考察了5台仪器、5根色谱柱及柱温、流速、波长等因素对相对保留时间和校正因子的影响,结果RSD均小于2%,表明方法耐用性良好;综合标准复核单位浙江省食品药品检验研究院、成都市食品药品检验研究院结果,朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C的校正因子分别为1.35、1.28、1.22,相对保留时间分别为0.73、0.81、0.90。

### 5.4 朝鲜淫羊藿色谱分离度问题

朝鲜淫羊藿色谱中淫羊藿苷分离度差原因分析可能为淫羊藿药材中含有的1种淫羊藿苷的前体化合物3-羰基-2"- $\beta$ -L-喹诺糖基淫羊藿苷(3-carbonyl-2"- $\beta$ -L-quinovosyl-icariin),在分析淫羊藿苷类成分的色谱条件下,表现为前伸峰,峰高较低,其他3个基原含量较高,难以察觉<sup>[11-12]</sup>。

### 5.5 限度制定

根据统计分析,朝鲜淫羊藿与其他3个基原在淫羊藿苷等4种成分差异有统计学意义,因此将朝鲜淫羊藿限度单列。柔毛淫羊藿、箭叶淫羊藿目前市场极少见,样品代表性差,今后将继续收集样品,积累数据,制定更加科学严谨的质量标准。

### 5.6 薄层鉴别

现行质量标准还收录了以淫羊藿苷对照品的薄层色谱鉴别,但背景较重,斑点分离度差。本研究尝试对方法进行了优化,但是不同基原的淫羊藿药材主斑点个数、斑点大小、颜色等差异较大,难以建立统一的方法,今后将继续进行研究。

### 5.7 其他项目测定

对所有药材与饮片均测定了总黄酮、浸出物、水分、总灰分等项目,结果均符合《中国药典》2015年版要求,表明现行标准限度合理。

### 参考文献

- [1] 尚志钧.神农本草经辑校[M].北京:学苑出版社,2014:107.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:327.
- [3] 李作洲,徐艳琴,王瑛,等.淫羊藿属药用植物的研究现状与展望[J].中草药,2005,36(2):289-295.
- [4] 蔡垠,陈彦,贾晓斌,等.受热温度和时间对淫羊藿中黄酮成分含量的影响[J].中国中药杂志,2007,32(22):2441-2442.
- [5] 陈彦,贾晓斌,蔡垠,等.温度和受热时间——影响淫羊藿苷含量的两个关键因素[J].中成药,2007,29(7):1038-1041.
- [6] 孙娥,陈玲玲,贾晓斌,等.药材品种与受热时间对淫羊藿饮片中主要黄酮类成分的影响规律研究[J].中药材,2012,35(9):1402-1407.
- [7] 李冬雪,杜守颖.淫羊藿提取浓缩干燥过程中的淫羊藿苷含量变化[J].河北中医,2011,33(4):587-588,596.
- [8] 康帅,鲁静,张继,等.淫羊藿药典品的基原调查及性状显微鉴别研究[J].中国中药杂志,2018,43(4):696-703.
- [9] 许婷,黄萌萌,李瑞云,等.多基原淫羊藿不同部位质量评价研究[J].中草药,2020,51(1):190-196.
- [10] 罗堃,王元清,张智敏,等.箭叶淫羊藿不同部位中淫羊藿苷及总黄酮含量测定[J].亚太传统医药,2016,12(8):24-26.
- [11] SUN X G, LI Q, ZHANG J, et al. The reason leading to the increase of icariin in Herba Epimedii by heating process[J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 149(2):525-531.
- [12] 孙欣光,周茗,马百平,等.淫羊藿和巫山淫羊藿药材经加热处理淫羊藿苷含量变化研究[J].中国中药杂志,2019,44(9):1857-1861.

(收稿日期:2020-03-17 编辑:王笑辉)