

淫羊藿苷的稳定性及其影响因素

陈毅平^{1,2*}, 陈双英¹, 陈文财¹, 刘远俊¹

(1. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001; 2. 中山大学药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:分析测定淫羊藿苷在不同条件下的稳定性及其影响因素。方法:采用紫外-可见分光光度法在 200 ~ 600 nm 扫描,测定不同条件下对淫羊藿苷结构的影响。结果:在微酸性、微碱性和中性条件下,淫羊藿苷可保持结构稳定。在 pH < 2 和 pH > 10 时,结构发生明显变化;淫羊藿苷热稳定性较好,在 100 ℃ 长时间加热其仍可以稳定存在;能与过渡金属离子 Cu²⁺, Fe³⁺, Al³⁺ 形成络合物,对淫羊藿苷的氧化起到了诱导催化作用从而对其结构有明显的影响。结论:紫外-可见光谱法能够初步考察不同条件下对淫羊藿苷稳定性的影响,为淫羊藿苷的提取、制剂和衍生物制备等提供重要信息。

[关键词] 淫羊藿苷; 紫外-可见光谱; 稳定性

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903 (2014) 05-0078-04

[doi] 10.11653/syfyj2014050078

Stability of Icariside and Factors Affecting the Stability

CHEN Yi-ping^{1,2*}, CHEN Shuang-ying¹, CHEN Wen-cai¹, LIU Yuan-jun¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006 China)

[Abstract] Objective: To analyze and determine the stability of icariside and its factors affecting in different conditions. Method: On the basis of ultraviolet-visible spectrum under 200-600 nm region scan, determine the factors affecting the chemical structure of icariside in different conditions. Result: Icariside was stable in water, including slightly acidic, basic and neutral conditions. When it existed in aqueous phase under pH < 2 or pH > 10 conditions, the chemical structure of icariside was changed. Furthermore, its aqueous phase under 100 ℃ for a long time was remain stable. In the processes of extracting and using icariside, metal ion such as Cu²⁺, Fe³⁺ and Al³⁺ should be wiped off, as they were able to chelate with icariside, and could induce oxidation as well. Conclusion: Using ultraviolet-visible spectrum can primary observation the factors affecting the stability of icariside in different conditions, and providing important information on its extraction, preparation and derivatives preparation.

[Key words] icariside; ultraviolet-visible spectrum; stability

淫羊藿苷属黄酮类化合物,是朝鲜淫羊藿的主要成分^[1],具补肾阳、强筋骨、祛风湿等功效,对冠心病、高血压、骨质疏松、糖尿病等均有疗效,具有较高的药用和保健价值,临床用量也日益增大^[2]。淫

羊藿苷具有明显的促免疫作用、抗肿瘤、增强免疫功能、改善心脑血管功能、调节内分泌、延缓肾衰竭的进程、增强雄性生殖功能、抗骨质疏松、抗衰老等多重药理学作用^[3-9]。我们应用紫外-可见光谱扫描法研究加热、pH 以及金属离子对淫羊藿苷的稳定性和溶解度以及色泽的影响,为其在食品和医药工业中应用提供一定的依据。

1 材料

淫羊藿苷粗提物(含量 35%,购于西安天一生物技术有限公司,批号 TYE060409),Agilent8453 型紫外-可见分光光度计(安捷伦公司生产),赛多利

[收稿日期] 20130928(003)
[基金项目] 广西自然科学基金项目(桂财教[2013]19号, 2013GXNSFAA019178)
[通讯作者] * 陈毅平,药物化学博士,教授,从事药物化学及天然药物化学研究, Tel: 0771-3137585, E-mail: yipchen@tom.com

斯 BP211D 型电子天平(上海树信仪器仪表有限公司生产),雷磁 PHS-3C 型 pH 计(上海精科公司生产),可调温电炉,所用化学试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 淫羊藿苷样品的制备 取淫羊藿苷粗提物使用硅胶柱色谱分离所得的浅黄色固体,即淫羊藿苷样品。经高效液相色谱法测定^[10],纯度>96%。

2.2 淫羊藿苷水相加热稳定性的考察 精密称取 0.05 g 淫羊藿苷样品溶于 500 mL 水中,放置过夜后加热煮沸,并装上回流装置以防止在加热过程中水蒸汽蒸发,分别在 0~10 h 内即在 0, 5, 35, 70, 150, 250, 350, 430, 600 min 定时取样各 5 mL,并于 25 mL 量瓶中加水定容,在 200~600 nm 扫描,观察紫外吸收图谱。

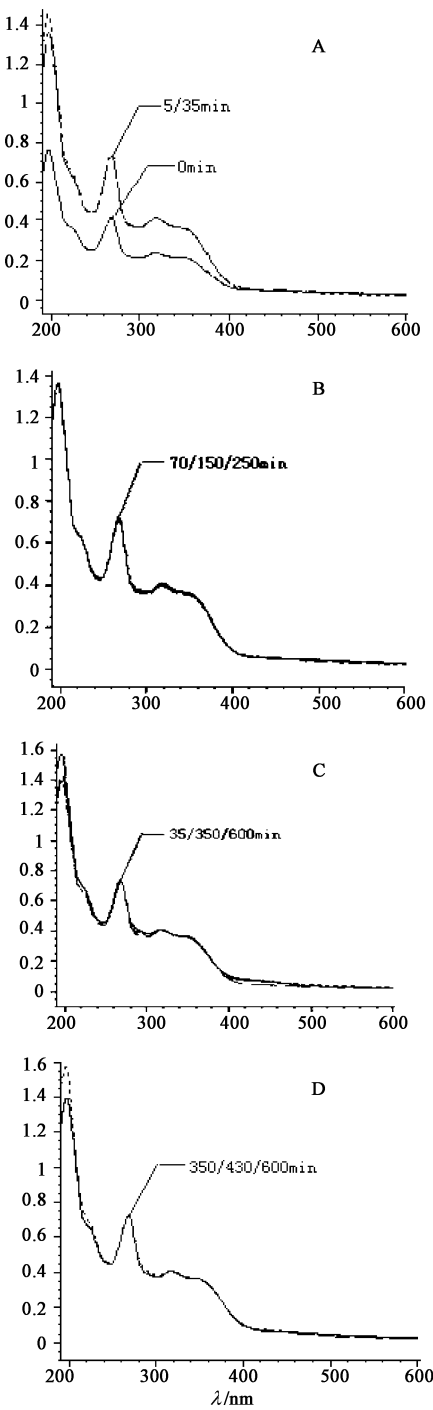
淫羊藿苷的热稳定性与加热时间关系如图 1 所示,淫羊藿苷水溶液在 100 ℃ 下长时间加热,其紫外-可见光谱均未发生明显改变。淫羊藿苷在室温时的溶解度不是很大,所以其未加热时的吸收峰比加热后的要小。从图 1A,1B,1C,1D 中可以看出淫羊藿苷在 100 ℃ 条件下加热 10 h 随时间变化的关系。在开始、中间以及末端时刻均未发生结构改变。在未加热时,水溶液底部有未溶解的淫羊藿苷固体,加热 5 min 后固体全部溶解,随着加热时间的延长,溶液的颜色逐渐呈现微黄色,由此可见,温度对淫羊藿苷的溶解度有一定程度的影响。

由以上现象可知,淫羊藿苷水溶液长时间加热其构型均未发生变化,其热稳定性在 100 ℃ 情况下良好,这可能是由于淫羊藿苷分子中含有多个羟基,且多为醇羟基(有七醇羟基,一个酚羟基),醇羟基与水分子或分子之间通过氢键结合形成稳定结构,难以发生相关反应。

2.3 溶液的 pH 对淫羊藿苷稳定性的影响 精密称取 0.5 g 淫羊藿苷样品溶于不同 pH 的水溶液中,加热至 100 ℃,保持 5 min 待其完全溶解,然后冷却至室温,放置 72 h 后观察结晶状态、颜色以及上清液颜色差异。真空抽滤后吸取滤液在 200~600 nm 进行扫描,所得结果见图 2。

在酸性条件下(pH 1~4.5),淫羊藿苷的特征吸收峰在 pH 1 时消失变为肩峰,而在 pH 2.05 时其特征吸收峰减小,约等于原来的一半,pH 4.5 时其特征吸收峰没有特别明显的变化。

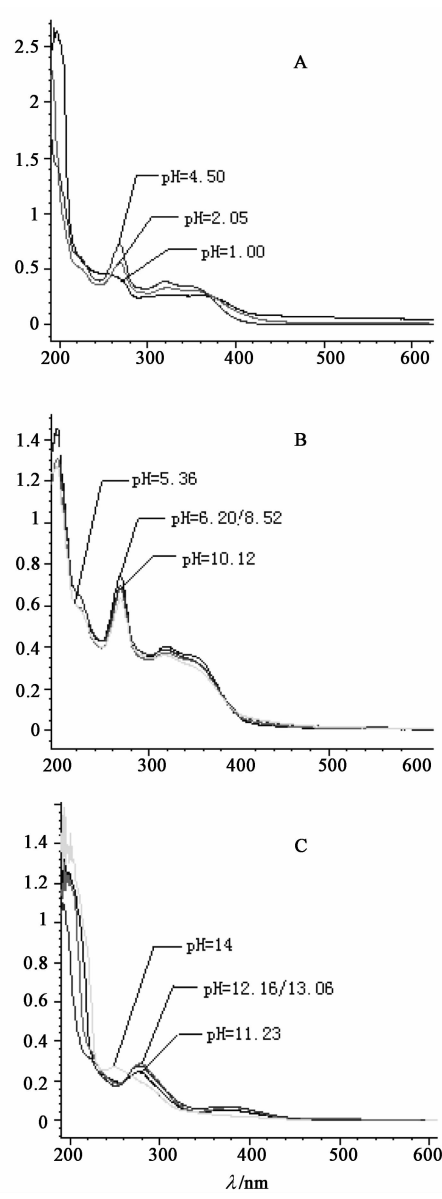
偏中性条件下(pH 5.0~10.5),淫羊藿苷的吸收峰并没有发生明显变化,说明淫羊藿苷的构型没



A. 0~35 min; B. 70~250 min;
C. 35~600 min; D. 350~600 min

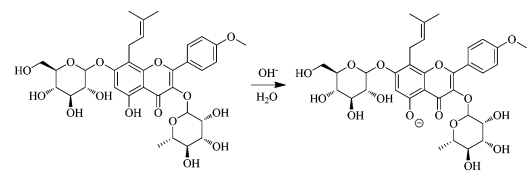
图 1 淫羊藿苷水溶液不同加热时间的紫外-可见光谱有发生变化,结构比较稳定。

在碱性条件下(pH 12.0~14.0),淫羊藿苷的特征吸收峰随着溶液碱性的增强而发生了比较大的变化,特征吸收峰逐渐减小,并发生红移。在 pH 11.0~13.0 时特征吸收峰的吸收度有变化,但具体原因有待进一步研究;在 pH 14 时,特征吸收峰发生明显的红移且其吸收度减小。在试验中我们还发



A. pH 1 ~ 4.5; B. pH 5.0 ~ 10.5; C. pH 12.0 ~ 14.0
图 2 淫羊藿苷水溶液不同 pH 条件的紫外-可见光谱

现,碱性条件下溶液的颜色逐渐变为浅黄色(表 1)。这可能是由于在强碱条件下淫羊藿苷分子结构中的酚羟基与碱发生反应生成了酚盐,形成了氧负离子,分子上的电子云分布发生了变化,颜色变浅,反应式如下:



由以上的分析可知,淫羊藿苷在微酸性、微碱性或中性的条件下应用和贮存较为适宜,要避免强酸性、强碱性条件下应用。

2.4 金属离子对于淫羊藿苷稳定性的影响 金属离子存在于各种原辅料中,并可通过提取或制剂加工等工艺引入。因此研究金属离子对淫羊藿苷稳定性的影响就显得非常必要。

精密称取 0.05 g 淫羊藿苷样品溶于 2 L 蒸馏水中,精密吸取 50 mL,共 8 份,分别加入 1 mL 0.1 mol·L⁻¹的金属离子溶液,混匀后静置 6 h,并在 200 ~ 600 nm 进行扫描。结果见图 3。淫羊藿苷对不同金属离子的敏感程度不尽相同,由于加入的金属离子浓度很低(0.2 mmol·L⁻¹),而且均为金属氯化物,因此对溶液的 pH 影响很小,可忽略不计。

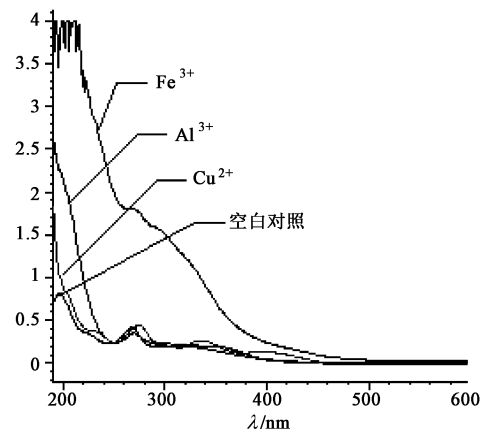


图 3 淫羊藿苷与金属离子作用的紫外-可见光谱
由图 3 可见 Cu²⁺, Fe³⁺, Al³⁺ 表现出较为明显的作用,而 Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, NH₄⁺, Ba²⁺ 则对淫羊藿苷的结构没有明显的作用,这可能是因为淫羊藿苷属于黄酮类化合物的结构,能与金属离子 Al³⁺ 螯合,形成淫羊藿苷的铝络合物, n→π 共轭加强,出现带 I 红移效应。而 Al³⁺, Fe³⁺ 引起紫外-可见吸收光谱较大变化,是因为过渡的高价金属离子是许多自由基产生过程的催化剂,螯合金属离子也可能是淫羊藿苷的抗氧化作用机制之一,淫羊藿苷螯合了 Al³⁺, Fe³⁺ 后发生了氧化反应,因此结构发生了彻底的改变导致其吸收光谱较大的变化。

3 讨论

淫羊藿苷在水相中长时间加热(100 ℃)其结构均能保持相对稳定,基本不发生变化,为淫羊藿苷衍生物的适宜制备条件提供了的信息。另外,溶液温度对淫羊藿苷的溶解度有一定的影响。

pH 大小是影响淫羊藿苷稳定性的一个重要因素,在酸性、弱碱性和中性条件下淫羊藿苷结构稳定,适宜保存。然而,在强酸性和强碱性条件下淫羊藿苷稳定性差,结构发生改变,在进行制剂研究和工艺研究时应慎重处理或进一步研究。

表 1 不同 pH 对于淫羊藿苷结晶颜色和其溶液颜色的影响

pH	结晶颜色	溶液颜色	pH	结晶颜色	溶液颜色	pH	结晶颜色	溶液颜色
2.0	黄色	黄色	6.0	黄色	淡黄	10.0	土黄色	淡黄
3.0	黄色	黄色	6.5	黄色	淡黄	11.0	土黄色	淡黄
4.5	黄色	黄色	7.0	黄色	淡黄	13.0	土黄色	淡黄

金属离子 Cu^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} 对淫羊藿苷的影响比较明显,这些金属离子能与淫羊藿苷络合,并且也可能通过诱导氧化作用使淫羊藿苷发生结构变化。因此,在提取和制剂过程中应避免接触;而 Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^{+} , NH_4^{+} , Ba^{2+} 则对淫羊藿苷的结构没有明显的作用。

本文利用紫外-可见分光光度法初步考察了淫羊藿苷水溶液在不同的加热时间、不同 pH 及 8 种金属离子存在下对其结构稳定性的影响,由于受实验条件的限制,对其他一些影响稳定性的因素没有涉及到。而在不同条件下淫羊藿苷结构究竟发生了哪些具体变化,生成了哪些物质等等这些我们还要借助于其他的光谱手段或色谱技术进行分析。总之,紫外-分光光度法相对简便、快捷,是测定初期淫羊藿苷化学结构是否发生变化的一种重要手段,能为其在食品和医药工业中的应用提供一定的依据。相信随着研究的深入,淫羊藿苷必将拥有很好的开发前景,这些研究结果对于进一步开发利用淫羊藿苷有一定的参考价值。

[参考文献]

[1] 程岩,王乃利,王新峦,等. 朝鲜淫羊藿的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(10):644.

[2] 刘韶英,吴红金. 淫羊藿苷药理作用的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(6):909.

[3] 高爱社,苗丽. 淫羊藿苷对大鼠颈动脉损伤后新

生内膜增生和平滑肌细胞凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18), 163.

[4] 肖幸丰,王志强,楼宜嘉. 淫羊藿苷伍用三七总皂苷对小鼠免疫功能的调节作用[J]. 中草药, 2006, 379(6):888.

[5] 张玲,王芸,毛海婷,等. 淫羊藿苷抑制肿瘤细胞端粒活性及其调节机制的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2002, 18(3):191.

[6] Meng F H, Li Y B, Xiong Z L, et al. Osteoblastic proliferative activity of *Epimedium brevicornum* Maxim [J]. Phytomedicine, 2005(12):189

[7] Wang Y K, Huang Z Q. Protective effects of icariin on human umbilical vein endothelial cell injury induced by H_2O_2 *in vitro* [J]. Pharmacol Res, 2005(52):174.

[8] ZHU D Y, LOU Y J. Icarin-mediated expression of cardiac genes and modulation of nitric oxide signaling pathway during differentiation of mouse embryonic stem cells into cardiomyocytes *in vitro* [J]. Acta Pharmacol Sin, 2006, 27(3):311.

[9] Nam J C, Sang H S, Heum S L, et al. Anti-hepatotoxic activity of icaraside II, a constituent of *Epimedium koreanum* [J]. Arch Pharm Res, 1995,18(4):289.

[10] 徐文芬,何顺志,黄敏,等. 高效液相色谱法测定贵州产淫羊藿药材不同药用部位中淫羊藿苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007,13(5):1.

[11] 陈毅平,牛晓静,陈双英 等. 芒果苷的稳定性及影响因素考察[J]. 华西药理学杂志,2008,23(3):359.

[责任编辑 顾雪竹]