

# 不同炮制方法对补骨脂中4类化学成分的影响

宋潇, 戚爱棣, 王跃飞\*, 经雅昆, 柴欣, 刘亚男

(天津中医药大学 中医药研究院 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193)

**[摘要]** 目的: 采用高效液相色谱法分析补骨脂不同炮制品中7种成分的含量, 研究炮制方法对补骨脂中糖苷、香豆素、黄酮、单萜酚4类成分的影响。方法: 采用 ACUITY C<sub>18</sub> 色谱柱(3.0 mm × 100 mm, 1.7 μm), 流速 0.4 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温 50 °C, 检测波长 246 nm, 流动相乙腈-0.1% 甲酸水, 梯度洗脱。结果: 25 min 内补骨脂苷、异补骨脂苷(糖苷), 补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂定(香豆素), 补骨脂二氢黄酮(黄酮), 补骨脂酚(单萜酚)分离良好。在相应浓度范围内7种化合物的线性关系良好, *r* 均在 0.999 3 以上; 精密度 RSD ≤ 1.5%; 平均加样回收率为 99.2% ~ 106%。结论: 该方法快速、准确, 适用于补骨脂不同炮制品中7种(4类)化学成分的定量分析。在4种炮制方法中, 雷公炮制法较其他3种方法明显降低糖苷、黄酮、单萜酚类成分的含量, 明显升高香豆素类成分补骨脂素、异补骨脂素的含量。

**[关键词]** 补骨脂; 炮制; 高效液相色谱法; 糖苷; 香豆素; 黄酮; 单萜酚

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实, 具有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻的功效<sup>[1]</sup>。现代化学研究表明补骨脂主要含有糖苷、香豆素、黄酮、单萜酚类成分<sup>[2]</sup>, 具有抑菌<sup>[3]</sup>、抗氧化<sup>[4]</sup>、抗病毒、抗肿瘤、增强免疫等活性<sup>[5]</sup>。补骨脂生品性燥, 临床使用以炮制品为主。补骨脂炮制始载于《雷公炮制论》<sup>[6]</sup>, 曰“凡使, 性本大燥毒, 用酒浸一宿, 漉出, 却用东流水浸三日夜, 却蒸从巳至申出, 曰干用”<sup>[7]</sup>。除雷公法外, 古今医药文献记载的主要补骨脂炮制方法还有盐炙、盐蒸、酒浸炒、清炒等。其中盐炙法为《中国药典》所收录, 盐炙走肾, 补骨脂盐炙可增强其补肾纳气的作用<sup>[8]</sup>; 酒制不仅有助于有效成分溶出, 还可缓和药性、降低毒性<sup>[9]</sup>; 清炒法可通过加热使果实类药物爆裂, 易于有效成分的煎出, 从而增强疗效<sup>[10]</sup>。目前文献报道主要关注补骨脂炮制前后补骨脂素、异补骨脂素含量变化<sup>[11-12]</sup>, 炮制过程中其他类化学成分的变化情况未见报道。为了进一步研究补骨脂炮制前后各类化学成分的变化情况, 阐明炮制作用机制, 本实验采用高效液相色谱法研究雷公法、药典法、酒浸炒、清炒法4种炮制品中补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂

素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、补骨脂定、补骨脂酚(4类成分)的变化情况, 为揭示补骨脂炮制机制提供数据支持。

## 1 材料

Waters e2695 高效液相色谱仪, 配备自动进样器(美国 Waters 公司)、2998 型二极管阵列检测器(美国 waters 公司); 1/100 万天平(Weigh Bridge SNR); SCIENTZ25-42 超声仪(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

补骨脂药材 2010 年采自河南, 经天津中医药大学李天祥教授鉴定为豆科植物补骨脂 *P. corylifolia* 的干燥成熟果实。补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、补骨脂定、补骨脂酚对照品均为实验室自制(经 HPLC 分析, 纯度大于 98%); 乙腈和甲醇为色谱纯(Fisher 公司); 实验用水为二次重蒸水(实验室自制)。

炮制用酒: 越皇亭黄酒(10.0 ± 1.0)% (绍兴吴越酿酒有限公司); 12.0% 福酒(杭州下沙酒厂); 瓜渚湖黄酒 ≥ 14.5% (绍兴县第三酒厂); 38% 牛栏山白酒(北京牛栏山酒厂)。

炮制用盐: 中盐(天津长芦汉沽盐场有限责任公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 不同炮制品的制备

雷公法: 取净制补骨脂 100 g, 加入 3 倍量炮制用酒, 浸泡 12 h, 倾出, 加入 3 倍量水, 浸 72 h, 滤过, 蒸 6 h, 晾干待用。

[稿件编号] 20101212006

[基金项目] 天津市高等学校科技发展基金计划项目(20090223); 天津市科技支撑计划项目(10ZCKFSY09100)

[通信作者] \* 王跃飞, Tel: (022) 59596163, E-mail: wangyuefei\_2006@hotmail.com

药典法(盐炙):取净制补骨脂 100 g,以质量浓度为 0.1 g · mL<sup>-1</sup>的食盐水溶液 20 mL 闷润 4 h,倒入锅中,文火炒至膨胀、迸裂,放凉即得。

酒浸炒:取净制补骨脂 100 g,加入 3 倍量炮制用黄酒(12.0%) ,浸泡 12 h,倾出黄酒,将药材倒入锅中,文火炒至膨胀、迸裂,放凉即得。

清炒:取净制补骨脂 100 g,倒入锅中,文火炒至膨胀、迸裂,放凉即得。

炮制品平行炮制 3 份,粉碎,过 3 号筛待用。

## 2.2 色谱条件

ACUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(3.0 mm × 100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈(A) -0.1% 甲酸水(B), 梯度洗脱, 0 ~ 18 min 10% ~ 64% A; 18 ~ 21 min, 64% ~ 80% A; 21 ~ 25 min 80% A。柱温 50 °C; 检测波长 246 nm; 流速 0.4 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量 5 μL。

## 2.3 对照品储备液的配制

取各对照品适量,精密称定,用二甲基亚砜(DMSO)溶解,配制成补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、补骨脂定、补骨脂酚质量浓度分别为 3.335 3, 3.385 3, 3.462 0, 3.364 0, 3.352 7, 3.512 7, 3.585 3 g · L<sup>-1</sup>的对照品储备液,储存于 4 °C 冰箱待用。

## 2.4 供试品溶液的制备

取补骨脂药材粉末 0.1 g,置于 100 mL 三角瓶中,精密加入 25 mL 甲醇,称定,超声提取 30 min,取出放冷,用甲醇补足失重,摇匀,取 1 mL 加 50% 甲醇 1:1 稀释,涡旋 1 min,0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

## 2.5 线性关系考察

分别准确移取 2.3 项下的对照品储备液适量,置于同一 5 mL 量瓶中,用甲醇稀释,制得补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、补骨脂定、补骨脂酚质量浓度分别为 233.47, 169.27, 83.09, 67.28, 26.82, 56.20, 717.07 mg · L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液,并逐级稀释成一系列不同浓度的对照品溶液,进样 5 μL 测定。以对照品质量浓度 X(mg · L<sup>-1</sup>) 对峰面积 Y 进行线性回归。以信噪比 3 为检测限,结果见表 1。结果表明,7 个化合物在各自的浓度范围内线性关系良好。

## 2.6 精密度试验

取样品溶液测定日内和日间精密度。补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢

表 1 补骨脂中 7 种化合物的回归方程、相关系数和检测限

化合物	回归方程	r	线性范围 /mg · L <sup>-1</sup>	检测限 /mg · L <sup>-1</sup>
补骨脂苷	Y=35 196X-13 457	0.999 6	7.3~233.5	0.019
异补骨脂苷	Y=38 969X-13 329	0.999 5	5.3~169.3	0.014
补骨脂素	Y=93 520X-34 182	0.999 4	2.6~83.1	0.035
异补骨脂素	Y=89 933X-28 782	0.999 4	2.1~67.3	0.030
补骨脂二氢黄酮	Y=24 480X-4 777	0.999 3	0.8~26.8	0.055
补骨脂定	Y=45 644X-15 031	0.999 4	1.8~56.2	0.070
补骨脂酚	Y=22 603X-101 027	0.999 8	22.4~717.1	0.060

黄酮、补骨脂定、补骨脂酚 7 种化合物峰面积的 RSD 分别为 0.15% ,0.14% ,0.15% ,0.14% ,0.13% ,0.44% ,0.16%。连续检测 3 d 测定日间精密度,7 种化合物的峰面积的 RSD 在 0.80% ~ 1.5%。表明 7 种化合物的日内、日间精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取样品溶液按 2.2 项所述色谱条件分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样 5 μL,考察供试品溶液的稳定性。补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、补骨脂定、补骨脂酚峰面积的 RSD 分别为 0.78% ,0.84% ,0.75% ,0.78% ,0.76% ,1.1% ,0.90%。结果表明供试品溶液室温放置 12 h 基本稳定。

## 2.8 重复性试验

称取补骨脂生品粉末 0.1 g,共 6 份,按 2.4 项供试品处理方法制备供试品溶液。按 2.2 项所述色谱条件分别进样测定,补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、补骨脂定、补骨脂酚含量的 RSD 分别为 1.5% ,1.6% ,0.58% ,0.53% ,2.2% ,0.39% ,0.82% 表明本方法重复性良好。

## 2.9 加样回收率试验

取补骨脂生品粉末 0.05 g,共 6 份,分别准确加入与样品量相当的补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、补骨脂定、补骨脂酚对照品溶液,按 2.4 项供试品处理方法制备供试品溶液,按 2.2 项所述色谱条件分别进样 2 次,计算加样回收率和 RSD,结果见表 2。

## 3 讨论

### 3.1 色谱柱的选择

补骨脂中糖苷、香豆素、黄酮、单萜酚 4 类成分极性差异较大,为实现短时间良好分离,考察了 Waters Symmetry C<sub>18</sub>(3.9 mm × 150 mm 5 μm),Agilent

表 2 补骨脂中 7 种化合物的加样回收率 ( $n=6$ )

化合物	样品中量/mg	加入量/mg	检出量/mg	回收率/%	RSD/%
补骨脂苷	0.829 6	0.667 1	1.533	105.4	1.3
异补骨脂苷	0.595 5	0.575 5	1.205	105.9	1.1
补骨脂素	0.273 5	0.277 0	0.553 1	101.0	1.2
异补骨脂素	0.238 2	0.235 5	0.476 9	101.4	1.7
补骨脂二氢黄酮	0.075 95	0.067 05	0.145 6	103.8	3.3
补骨脂定	0.165 3	0.175 6	0.343 0	101.2	3.1
补骨脂酚	1.930	1.933	3.846	99.16	2.5

ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (2.1 mm × 100 mm 3.5 μm), Welch Materials C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm 5 μm), ACUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> (3.0 mm × 100 mm 1.7 μm) 4 种色谱柱, 结果表明 ACUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (3.0 mm × 100 mm 1.7 μm) 分离效率高, 在 25 min 内 4 类成分达到了良好分离, 且流速为 0.4 mL · min<sup>-1</sup>, 可以节约溶剂。因此本试验选择 ACUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱。

### 3.2 不同炮制品各成分含量测定及比较

**3.2.1 不同炮制方法对补骨脂各成分影响** 本实验采用高效液相色谱法对补骨脂 4 种炮制品 (雷公法、药典法、酒浸炒、清炒) 中的 7 个主要化学成分进行了测定, 补骨脂生品及炮制品中 7 种成分 (在计算含量的过程中已去除水分变化对化合物含量的影响) 的含量见表 3, 色谱图见图 1。补骨脂不同炮制品均平行炮制 3 份, 每份样品均平行处理 3 份供试品溶液, 含量测定结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。

表 3 补骨脂不同炮制品中 7 种化合物的质量分数 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

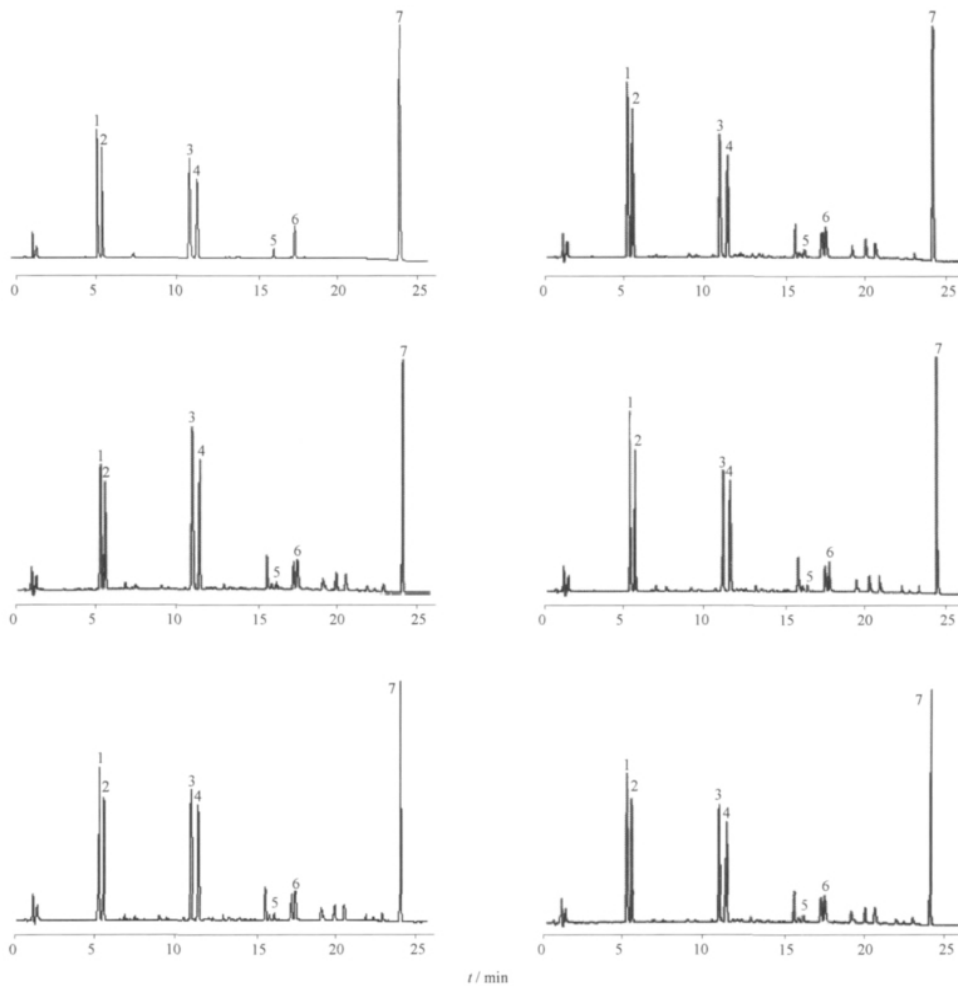
mg · g<sup>-1</sup>

炮制方法	糖苷类		香豆素类		黄酮类		单萜酚类
	补骨脂苷	异补骨脂苷	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂定	补骨脂二氢黄酮	补骨脂酚
生品	16.35 ± 0.24	11.74 ± 0.19	5.391 ± 0.037	4.695 ± 0.030	3.258 ± 0.017	1.497 ± 0.33	38.04 ± 0.33
雷公法	11.55 ± 0.54	8.382 ± 0.40	6.425 ± 0.15	5.369 ± 0.12	2.937 ± 0.034	1.074 ± 0.010	34.27 ± 0.77
酒浸炒	15.14 ± 0.58	10.30 ± 0.31	5.804 ± 0.076	5.248 ± 0.055	3.103 ± 0.040	1.200 ± 0.037	37.40 ± 1.1
盐炙 (药典法)	16.63 ± 0.64	10.87 ± 0.48	5.451 ± 0.11	5.236 ± 0.10	3.119 ± 0.10	1.159 ± 0.029	37.78 ± 0.73
清炒	16.03 ± 0.74	11.12 ± 0.60	5.289 ± 0.22	4.802 ± 0.18	2.996 ± 0.14	1.238 ± 0.10	38.02 ± 2.3

结果显示 4 种炮制方法中, 雷公法对补骨脂中 7 种成分的影响最为明显, 其中补骨脂苷、异补骨脂苷含量比生品下降约 30%, 补骨脂素、异补骨脂素含量分别上升 19%、14%, 香豆素类成分补骨脂定和黄酮类成分补骨脂二氢黄酮的含量均有下降, 补骨脂酚含量下降 10%; 在酒浸炒品中, 补骨脂苷和异补骨脂苷含量分别比生品下降 7.4%、12.2%, 补骨脂素、异补骨脂素分别上升 7.7% 和 11.7%。雷公法和酒浸炒品中补骨脂苷和异补骨脂苷含量降低的同时补骨脂素和异补骨脂素含量升高, 推测在炮制过程中两苷与两素之间发生转化。在酒浸炒法中, 补骨脂苷和异补骨脂苷的含量下降值与补骨脂素和异补骨脂素的增加值相符, 说明两者在炮制过程中确实

发生转化; 而在雷公法中, 补骨脂素和异补骨脂素的增加量只有补骨脂苷和异补骨脂苷减少量的一半左右, 说明补骨脂苷和异补骨脂苷在水浸泡和蒸制的过程中损失了一部分, 初步阐明了雷公炮制法炮制去燥性的机制。药典法和清炒法对补骨脂中 4 类成分的影响不明显。

**3.2.2 雷公法不同用酒对补骨脂各成分影响** 《雷公炮制论》记载“凡使, 性本大燥毒, 用酒浸一宿, 漉出, 却用东流水浸三日夜, 却蒸从巳至申出, 日干用”。其中对酒的种类没有详细描述, 本试验选取 3 种不同酒精度的黄酒 [(10.0 ± 1.0)%, 12.0%, ≥14.5%] 及 1 种白酒 (38%) 进行了研究, 考察不同用酒对补骨脂炮制结果的影响。结果见表 4。



1. 补骨脂苷; 2. 异补骨脂苷; 3. 补骨脂素; 4. 异补骨脂素; 5. 补骨脂二氢黄酮; 6. 补骨脂定; 7. 补骨脂酚。  
图1 混合对照品(A)、补骨脂生品(B)、雷公法炮制补骨脂(C)、盐炙补骨脂(D)、酒浸炒补骨脂(E)、清炒补骨脂(F)的HPLC图

表4 雷公法不同用酒对炮制品中7种化合物含量的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

mg · g<sup>-1</sup>

用酒种类及酒精度	糖苷类		香豆素类			黄酮类	单萜酚类
	补骨脂苷	异补骨脂苷	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂定	补骨脂二氢黄酮	补骨脂酚
生品	16.35 ± 0.24	11.74 ± 0.19	5.391 ± 0.04	4.695 ± 0.030	3.258 ± 0.017	1.497 ± 0.33	38.04 ± 0.33
黄酒炮制品 10.0 ± 1.0%	10.22 ± 0.32	7.418 ± 0.25	6.367 ± 0.11	5.246 ± 0.086	2.896 ± 0.051	1.035 ± 0.014	32.07 ± 0.23
黄酒炮制品 12.0%	11.55 ± 0.54	8.382 ± 0.40	6.425 ± 0.15	5.369 ± 0.12	2.937 ± 0.034	1.074 ± 0.010	34.27 ± 0.77
黄酒炮制品 ≥14.5%	11.10 ± 0.73	8.081 ± 0.50	6.43 ± 0.07	5.342 ± 0.067	2.895 ± 0.082	0.952 ± 0.036	28.45 ± 0.63
白酒炮制品 38%	10.04 ± 1.1	7.368 ± 0.83	5.95 ± 0.16	4.975 ± 0.14	2.752 ± 0.090	0.858 ± 0.030	25.07 ± 0.83

结果显示,用黄酒炮制后水溶性成分补骨脂苷、异补骨脂苷随黄酒酒精度的上升呈现下降趋势,而脂溶性成分随酒精度的上升其下降比例逐渐增加。用白酒炮制后4类成分(除补骨脂素和异补骨脂素)的变化均比用黄酒炮制后明显。

【参考文献】

- [1] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 174.
- [2] Wang Y F, Wu B, Yang J, et al. A rapid method for the analysis of ten compounds in *Psoralea corylifolia* L. by UPLC[J]. Chromatographia 2009, 4(28): 199.
- [3] Yin S, Fan C Q, Wang Y, et al. Antibacterial prenylflavone deriv-

- atives from *Psoralea corylifolia*, and their structure-activity relationship study [J]. *Bioorg Med Chem* 2004, 12(16): 4387.
- [4] Guo J N, Weng X C, Wu H, et al. Antioxidants from a Chinese medicinal herb-*Psoralea corylifolia* L [J]. *Food Chem* 2005; 91(2): 287.
- [5] 郭秀芝, 刘卫萍, 杨杰. 补骨脂的药理活性及其开发利用[J]. *中医学报* 2005, 33(5): 52.
- [6] 姚三桃, 杨滨. 中药补骨脂炮制沿革的研究[J]. *基层中药杂志* 1996, 10(1): 17.
- [7] 雷敦. 雷公炮制论[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1991: 69.
- [8] 张春玲, 王晓. 食盐及盐炙法在中药炮制中的应用[J]. *甘肃中医学院学报* 2003, 20(4): 46.
- [9] 张秋霞. 谈中药酒制的作用[J]. *世界中医药* 2009, 4(1): 26.
- [10] 吴鸿扬. 中药清炒法探索[J]. *海峡药学* 2006, 18(5): 141.
- [11] 方艳夕, 谭志静, 俞浩, 等. 不同炮制方法对补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素含量的影响[J]. *中药材* 2010, 33(7): 1062.
- [12] 郭晏华, 罗志冬, 贾天柱. 补骨脂炮制前后补骨脂素和异补骨脂素的变化[J]. *中草药* 2006, 37(16): 1652.

## Variation of 4 kinds of compounds in *Psoralea corylifolia* processed by different methods

SONG Xiao, QI Aidi, WANG Yuefei\*, JING Yakun, CHAI Xin, LIU Yanan

(Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Research Centre of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

**[Abstract] Objective:** To establish an efficient method for simultaneous quantification of 7 compounds belonging to 4 chemical types in *Psoralea corylifolia* processed by different methods, and to elucidate variations of 4 kinds of compounds in different processed *P. corylifolia*. **Method:** The chromatographic separation was performed on an ACUITY C<sub>18</sub> column using acetonitrile and 0.1% formic acid aqueous solution in the gradient elution at 0.4 mL · min<sup>-1</sup>. Detection wavelength was set at 246 nm. Column temperature was fixed at 50 °C. **Result:** The 4 kinds of compounds including psoralenoside, isopsoralenoside (benzofuran glycosides), psoralen, isopsoralen, psoralidin (coumarins), bavachin (flavonoids), and bakuchiol (meroterpenes) were separated in 25 min. The correlation coefficients of those compounds were over 0.9993 in the tested range. The intra- and inter-day precisions were below 1.5%. The average recoveries ranged from 99.2% to 106%. **Conclusion:** This method is simple, rapid and accurate, which can be used for the determination of the 4 kinds of compounds in different processed *P. corylifolia*. In *P. corylifolia* processed by different methods, the contents of benzofuran glycosides, flavonoids, and meroterpenes in *P. corylifolia* processed by Leigong's method decrease obviously, while the contents of psoralen and isopsoralen increase significantly.

**[Key words]** *Psoralea corylifolia*; processing; high performance liquid chromatography; benzofuran glycosides; coumarins; flavonoids; meroterpenes

doi: 10.4268/cjcm20111513

[责任编辑 马超一]