

# 补骨脂生品及其盐制品饮片质量标准研究

周智宦, 李 军, 王文琦, 孙恒灿, 魏 琳, 张丽艳\*

贵州中医药大学, 贵州 贵阳

收稿日期: 2022年10月17日; 录用日期: 2022年11月1日; 发布日期: 2022年11月24日

## 摘 要

目的: 通过对15批次不同产地的生品补骨脂及盐补骨脂进行研究, 建立其质量标准。方法: 采用薄层色谱法鉴别, 对水分、灰分、醇浸出物含量等指标进行测定, 采用HPLC测定补骨脂素及异补骨脂素含量, 并进行结果分析。结果: 15批补骨脂及盐补骨脂薄层色谱鉴别显示供试品及对照品斑点清晰、一致。生品补骨脂与盐补骨脂水分分别不过7%、6%。总灰分均不过8%, 酸不溶性灰分均不得过2%, 醇溶性浸出物分别不少于20%、40%, 补骨脂素和异补骨脂素总含量不少于0.7%。结论: 建立补骨脂及盐补骨脂饮片质量评价标准, 并对其炮制过程中水分、灰分、浸出物等指标含量变化进一步分析, 补骨脂素与异补骨脂素之间转化机制亟待进一步研究。

## 关键词

补骨脂, 补骨脂素, 异补骨脂素, HPLC

# Study on Quality Standards of Psoraleae Fructus and Its Salt Products

Zhihuan Zhou, Jun Li, Wenqi Wang, Hengcan Sun, Lin Wei, Liyan Zhang\*

Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Received: Oct. 17<sup>th</sup>, 2022; accepted: Nov. 1<sup>st</sup>, 2022; published: Nov. 24<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

**Objective:** To establish the quality standard of psoraleae fructus and salt psoraleae fructus by studying 15 batches of fructus psoraleae and salt psoraleae fructus from different origins. **Methods:**

\*通讯作者。

Thin-layer chromatography was used to identify the content of water, ash, alcohol extract and other indicators were determined. HPLC was used to determine the content of psoralen and isopsoralen, and the results were analyzed. Results: TLC identification of 15 batches of psoralfor and salted psoralfor showed clear and consistent spots. The water content of fructus psoraleae and salt psoraleae fructus was only 7% and 6%, respectively. The total ash content was not less than 8%, the acid-insoluble ash content was not more than 2%, the alcohol-soluble extract was not less than 20% and 40%, respectively, and the total content of psoralens and isopsoralens was not less than 0.7%. Conclusion: To establish the quality evaluation standard of psoraleae fructus and salt psoraleae fructus decoction pieces, and further analyze the changes of water, ash, extract and other indicators in the processing process. The conversion mechanism between psoraleae fructus and isopsoraleae fructus needs to be further studied.

## Keywords

Psoraleae Fructus, Psoralen, Angelicin, HPLC

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实, 始载于《开宝本草》[1], 有温肾助阳的功效, 临床上用于诊治命门火衰、肾虚所致的小便清涩、腰膝酸冷、遗尿、频数等中医病症。补骨脂生品性燥, 补骨脂经过盐炙后入药, 可缓和它原本的燥性, 还可引药入肾, 增强补肾纳气的作用[2]。补骨脂主要含有黄酮类、香豆素类和单萜类化合物[3]。《中国药典》(2020 年版)以呋喃香豆素类成分: 补骨脂素、异补骨脂素作为质量控制指标[2]。近来研究表明[4], 补骨脂素对多种动物及人的肿瘤生长有明显抑制作用, 异补骨脂素具有与雌激素类似的促细胞增殖作用, 进而缓解更年期综合症的效果。因药材饮片的质量好坏关系着治疗效果, 补骨脂相关质量标准始终是学者的研究热点; 而对补骨脂的研究大部分都集中在补骨脂素与异补骨脂素的测定。目前补骨脂中的香豆素类成分的相关报道较多[5], 本实验进行盐补骨脂香豆素类含量测定, 结果显示该药材经过盐炙后指标含量增加, 其原因可能是以下几个方面: 一是采用盐炙的方法炮制改变了补骨脂的质地, 促进了内在成分的转化, 使有效成分的含量增加, 这可能是其炮制后疗效增强的原因之一[6][7]。二是补骨脂苷、异补骨脂苷会在炮制高温作用下转化为补骨脂素和异补骨脂素[7]。异补骨脂苷是异补骨脂素的前体, 高温会使苷键断裂, 从而转化为异补骨脂素。三是补骨脂经过溶液浸润和提取改变了补骨脂的物理性质, 使药材质地变得松软, 从而药材中的化学成分易被提出; 所用提取溶剂为甲醇, 甲醇是有机溶剂, 从而提高香豆素类化合物的溶出率[8]。四是在盐炙补骨脂的过程中,  $\beta$ -葡萄糖苷酶失活阻碍了(异)补骨脂葡萄糖苷和(异)补骨脂素之间的转化[9], 从而补骨脂素与异补骨脂素增加。进一步说明药典的工艺是可行的, 炮制之后有效成分增加说明炮制是有科学道理的。

因此, 本实验通过测定和对比补骨脂与盐补骨脂的成分指标, 并分析其中成分变化原因, 为盐补骨脂饮片的制备工艺的质量控制及临床合理、有效、安全用药提供科学依据。

## 2. 仪器与试剂

### 2.1. 仪器

Model 9960D 型超声波清洗机(天津科贝尔公司); HH-4 数显恒温水浴锅(上海浦东物理光学仪器厂);

AUW120D 电子分析天平(日本岛津); 101-1AB 型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司); JP2-160 电子分析天平(日本); SX-4-10 箱式电阻炉(天津市泰斯特仪器有限公司)。

## 2.2. 试药

补骨脂素对照品(批号: 201918)、异补骨脂素对照品(批号: 110738)来源中国食品药品检定研究院正乙烷(批号: 20180703, 天津市科密欧化学试剂有限公司)、乙酸乙酯(批号: 0410107, 上海化学试剂有限公司)、色谱级甲醇。见图 1、图 2。

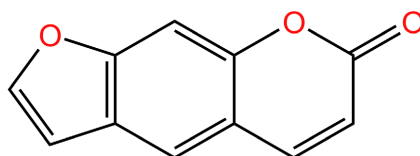


Figure 1. Psoralen

图 1. 补骨脂素

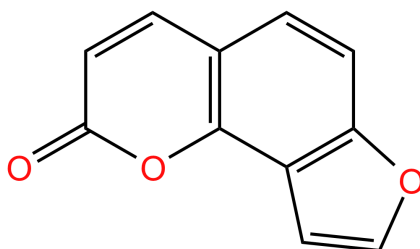


Figure 2. Angelicin

图 2. 异补骨脂素

## 2.3. 药材

补骨脂药材来源于国药集团同济堂(贵州)制药有限公司,经贵州中医药大学药学教研室王波老师鉴定为正品。生品补骨脂饮片由补骨脂药材净制后即得;盐补骨脂[10]饮片按照 2.65%加盐量,炮制温度 164℃,炮制时间 15 min 的方法,放凉即得盐补骨脂饮片。

所有补骨脂药材均来源于云南瑞丽市各个县,测定不同地区补骨脂各项指标异同。批号分别为: 200101, 200101, 200401, 200601, 200701, 200701, 200901, 200901, 210901, 210301, 210401, 210501, 210501, 210501, 210501。

## 3. 方法

### 3.1. 鉴别

参照 2020 版《中国药典》第一部补骨脂项下薄层鉴别:取 0.5 g 补骨脂粉末于 20 ml 乙酸乙酯中超声 15 min,过滤并蒸干滤液,后加 1 ml 乙酸乙酯于残渣中即得供试品溶液。取对照品补骨脂素、异补骨脂素加乙酸乙酯制成 2 mg/ml 的混合对照品溶液。吸取上述两种溶液各 2~4 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂:正己烷-乙酸乙酯(4:1),显色剂:10%氢氧化钾甲醇,置紫外光灯(365 nm)下检视。

### 3.2. 水分测定

参照 2020 版《中国药典》第四部通则 0832 其进行测定。

### 3.3. 灰分测定

参照 2020 版《中国药典》第四部通则 2302 对其总灰分和酸不溶性灰分进行测定。

### 3.4. 浸出物的测定

参照 2020 版《中国药典》第四部通则 2201 热浸法对补骨脂浸出物进行测定。由于 2020 年版《中国药典》(补骨脂项下)对浸出物没有规定,本实验用热浸法对补骨脂浸出物进行考察,分别用水、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、无水乙醇进行测定。

### 3.5. 含量测定

#### 3.5.1. 色谱条件色谱柱

Waters Symmetry C18 柱(4.6 × 150 mm, 5 μm, 柱号: 0329301321); 流动相: 甲醇 - 水(55:45); 检测波长: 246 nm; 柱温: 30℃; 进样体积: 10 μL。

#### 3.5.2. 对照品溶液的制备

精密称取 4.60 mg 补骨脂素溶解于 100 mL 甲醇中,使其浓度为 0.046 mg/mL,即为补骨脂素对照品溶液。取异补骨脂素对照品 6.20 mg,用甲醇溶解于 100 mL 容量瓶中,使其浓度为 0.062 mg/mL,即为异补骨脂素对照品溶液。

#### 3.5.3. 供试品溶液的制备

精密称取 0.5 g 补骨脂粉末,加甲醇 70 mL,一起置索氏提取器中,加热回流提取 2 h,放冷,后移至放 100 ml 甲醇溶液的容量瓶中,摇匀并滤过,取续滤液,备用。

#### 3.5.4. 样品测定

供试品及对照品溶液按照“3.5.1”项下色谱条件进样,供试品溶液重复进样三次,测定对照品溶液面积分别为 771569 (补骨脂素峰)、766734 (异补骨脂素峰),并以此为参照,采用外标一点法计算 30 批供试品中两者的百分含量。结果见表 1、表 2。

## 4. 结果

生品补骨脂饮片与盐补骨脂饮片批次各供试品溶液点样后在与补骨脂素对照品、异补骨脂素对照品、对照药材薄层相应的位置上,均显相同蓝白色荧光斑点,分离度良好,并且显色清晰。结果见图 3、图 4。

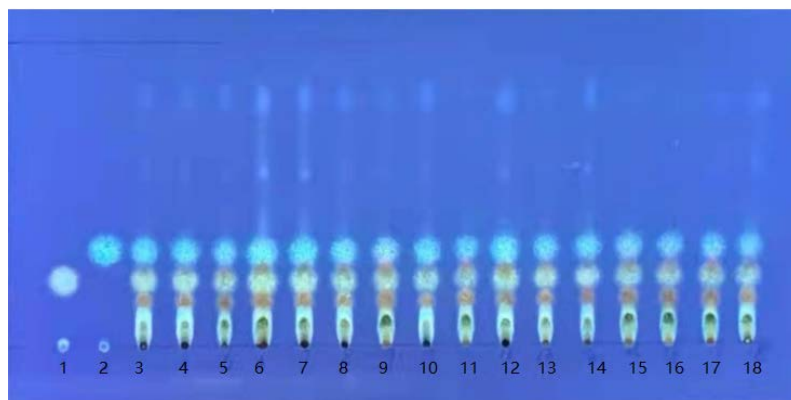
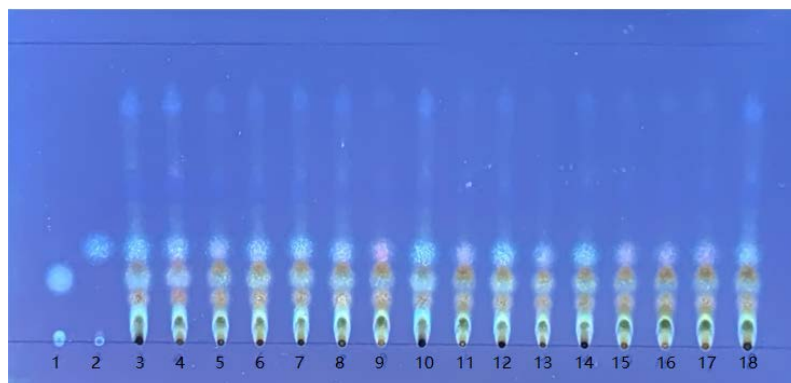


Figure 3. TLC of psoraleae fructus

图 3. 补骨脂薄层色谱图



注：1. 补骨脂素；2. 异补骨脂素；3. 对照药材；4~18. 15 批的盐补骨脂。

Figure 4. TLC of salt psoraleae fructus

图 4. 盐补骨脂薄层色谱图

生品补骨脂饮片水分含量在 4.24%~6.03%之间，灰分含量在 4.49%~6.67%之间，醇溶性浸出物含量在 16.9%~36.5%之间，补骨脂素含量在 0.594%~2.220%之间，异补骨脂素百分含量在 0.651%~2.770%之间。结果见表 1。

Table 1. The determined results of each index of psoraleae fructus

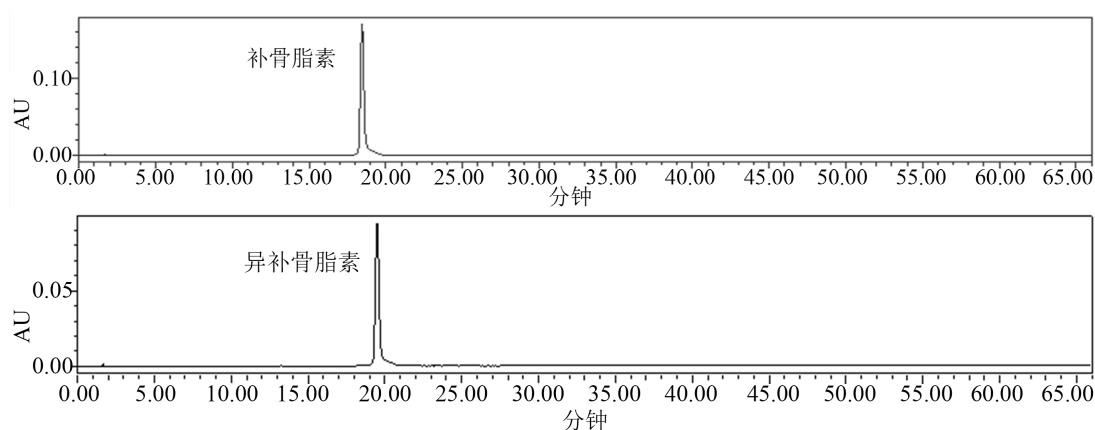
表 1. 生品补骨脂各指标测定结果

生补骨脂批号	水分/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	醇溶性浸出物/%	补骨脂素/%	异补骨脂素/%
200101	6.03	6.67	0.52	31.1	1.694	1.973
200101	5.32	4.78	0.22	30.1	1.012	1.322
200401	5.64	5.58	0.54	26.6	1.799	2.115
200601	5.49	5.35	0.31	24.2	2.220	2.770
200701	4.24	4.94	0.18	25.2	1.266	1.724
200701	5.09	5.11	0.49	26.6	0.930	1.213
200901	6.03	5.61	0.69	22.5	2.021	2.355
200901	5.9	4.49	0.02	22.4	0.619	1.124
210901	5.13	4.66	0.01	16.9	1.926	2.392
210301	5.5	5.24	0.58	28.3	1.124	1.161
210401	5.52	4.66	0.025	27	1.330	1.581
210501	5.45	5.01	0.38	31.2	0.907	1.196
210501	5.09	4.96	0.28	36.5	0.594	0.651
210501	5.75	4.73	0.11	31.3	1.139	1.409
210501	5.3	4.7	0.04	27.7	1.000	1.284

盐补骨脂饮片的含水量在 2.80%~5.82%，总灰分含量在 4.36%~5.71%之间，浸出物含量在 36.8%~46.2%之间，补骨脂素百分含量在 0.645%~2.245%之间，异补骨脂素百分含量在 1.158%~2.836%之间。结果见表 2。

**Table 2.** The determined results of each index of salt psoraleae fructus**表 2.** 盐补骨脂各指标测定结果

盐补骨脂批号	含水量/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	醇溶性浸出物/%	补骨脂素/%	异补骨脂素/%
200101	5.82	5.71	0.71	37.3	1.755	2.074
200101	4.22	4.81	0.3	42.5	1.219	1.400
200401	3.05	4.95	0.59	41.1	1.907	2.363
200601	3.45	4.36	0.5	41.6	2.245	2.836
200701	3.54	5.32	0.21	38	1.449	1.954
200701	3.44	4.81	0.5	41.9	1.039	1.424
200901	4.94	5.55	0.82	41.1	2.247	2.666
200901	3.05	4.56	0.08	43.7	0.652	1.435
210901	3.21	4.82	0.01	36.8	2.373	2.842
210301	4.14	5.23	0.76	41.6	1.524	1.840
210401	2.94	4.68	0.05	34.9	1.409	2.006
210501	3.14	4.78	0.41	44.5	0.912	1.199
210501	2.8	4.54	0.27	46.2	0.645	1.158
210501	3.05	4.58	0.13	43.8	1.262	1.700
210501	5.82	4.66	0.06	43.1	1.105	1.374

**Figure 5.** HPLC of psoralen and angelicin**图 5.** 补骨脂素及异补骨脂素 HPLC 图

## 5. 讨论

生品补骨脂与盐补骨脂水分、灰分、醇浸出物等指标均满足药典的要求。但对于盐补骨脂饮片酸不溶性灰分《中国药典》并没有作出规定，其酸不溶性灰分含量在 0.01%~0.82%之间，考虑到实际暂定为不超过 2%。依据 2020 年版《中国药典》浸出物测定法，将补骨脂样品的平均值下浮 20%作为标准，初步确定该生品补骨脂饮片醇浸出物含量不得少于 20%，盐补骨脂饮片醇浸出物含量不得少于 40%。补骨脂饮片中补骨脂素和异补骨脂素总和不少于 0.7%，15 批次的饮片的各个指标均符合该要求。补骨脂素与异补骨脂素 HPLC 峰见图 5。

与生品补骨脂相比, 盐补骨脂水分含量有所下降, 这与烘炒过程中水分的挥发有关; 总灰分、酸不溶性灰分和浸出物的含量有所增加可能是由于补骨脂经过炮制后重量减少, 而此过程中灰分, 酸不溶性灰分和醇溶性浸出物减少的量相对较少, 使得盐补骨脂中以上三种成分含量变高; 与生品补骨脂相比, 盐补骨脂饮片中, 补骨脂素和异补骨脂素含量有显著升高。

综上所述, 对补骨脂进行盐炙后其中化学成分变化并不大, 不能仅用其中个别成分的变化来解释其功效的改变, 还需进行深入研究。

## 基金项目

1) 国家重点研发计划项目, 项目编号: 2019YFC1712500; 2) 贵州省科技计划项目, 项目编号: 黔科合后补助[2020] 3003。

## 参考文献

- [1] 曾莉萍, 张金莲, 范晖, 等. 中药补骨脂商品药材的应用及市场概况[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(9): 40-41.
- [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, 2020.
- [3] 史梦璐. 补骨脂功效关联性及功效成分安全性研究[D]: [硕士学位论文]. 开封: 河南大学, 2019.
- [4] 颜翠萍, 吴育, 翁泽斌, 等. 盐制对补骨脂中主要化学成分的影响[J]. 中成药, 2013, 35(11): 2470-2474.
- [5] 王浩, 胡冲, 张亚中, 等. 补骨脂素苷与苷元的转化规律及补骨脂药材质量评价方法的研究[J]. 药物分析杂志, 2021(10): 1823-1828.
- [6] 施贝, 张丹, 唐昌娟, 等. 补骨脂盐炙前后外观性状和内在成分的比较[C]//中华中医药学会. 中华中医药学会中药炮制分会 2011 年学术年会论文集. 2011: 187-191.
- [7] 夏帅, 马立艳, 谢苗荣. 盐酸小檗碱对金黄色葡萄球菌体外抗菌活性的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(7): 673-678.
- [8] 陶益, 蒋妍慧, 李伟东, 等. 炮制对补骨脂中 12 种化学成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016(21): 6-9.
- [9] Yang, J., Yang, J., Du, J., *et al.* (2008) General Survey of Fructus Psoraleae from the Different Origins and Chemical Identification of the Roasted from Raw Fructus Psoraleae. *Journal of Food and Drug Analysis*, **26**, 807-814. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.10.009>
- [10] 王文琦, 张丽艳, 周智宦, 等. Box-Behnken 响应面法优选盐炙补骨脂炮制工艺[J]. 微量元素与健康研究, 2022(5): 42-44.