

3 种补骨脂炮制品水煎液中 4 种成分含量的比较

赵根华，刘玲，王恒，高倩倩，李伟东*，陈志鹏
(南京中医药大学药学院，江苏省中药炮制重点实验室，教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心，江苏南京 210023)

摘要：目的 比较盐水闷润、清炒、盐炙对补骨脂 *Psoraleae Fructus* 水煎液中补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素含有量的影响。**方法** 水煎液的 HPLC 分析采用 Hibar C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相 1% 甲酸-甲醇，梯度洗脱；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 246 nm；柱温 30 ℃。**结果** 盐水闷润品中苷类成分及总成分溶出较生品均明显降低；盐炙能显著促进苷类成分 (补骨脂苷和异补骨脂苷) 溶出，而对苷元成分 (补骨脂素和异补骨脂素) 无显著影响；清炒显著提高了各成分含有量。**结论** 清炒和盐炙均能显著提高补骨脂水煎液中 4 种成分的总含有量。

关键词：补骨脂；水煎液；盐水闷润；清炒；盐炙；化学成分；HPLC
中图分类号：R284.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2017)09-1896-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.09.028

Content comparison of four constituents in aqueous extract of three *Psoraleae Fructus* processed products

ZHAO Gen-hua, LIU Ling, WANG Heng, GAO Qian-qian, LI Wei-dong*, CHEN Zhi-peng
(Jiangsu Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Processing; State Ministry of Education Engineering Research Center of Standardization of Chinese Medicine Processing; College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: **AIM** To compare the effects of sealed moistening with brine, simple stir-frying and stir-frying with brine on the contents of psoralen, psoralen, psoralen and psoralen in *Psoraleae Fructus* aqueous extract. **METHODS** The HPLC analysis of aqueous extract was performed on a 30 ℃ thermostatic Hibar C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of 0.1% formic acid-methanol flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 246 nm. **RESULTS** Compared with the raw product, the contents of glycosides and total components in the product processed with sealed moistening with brine were significantly decreased. Stir-frying with brine could significantly promote the dissolution of glycosides (psoralen and psoralen), but had no significant effect on that of aglycones (psoralen and isopsoralen). Simple stir-frying markedly increased the contents of various constituents. **CONCLUSION** Both simple stir-frying and stir-frying with brine can significantly increase the total content of four constituents in *Psoraleae Fructus* aqueous extract. **KEY WORDS:** *Psoraleae Fructus*; aqueous extract; sealed moistening with brine; simple stir-frying; stir-frying with brine; chemical constituents; HPLC

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实，性辛、温，归肾、脾经，具有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻功效^[1]，含有多种化学成分，如糖苷、香豆素、黄酮等^[2]。由于其生品性燥，故临床用药以炮制品为主，炮制方法始载于《雷公炮炙论》，主要有清炒、盐炙、雷

收稿日期：2016-11-30
基金项目：浙江省重中之重一级学科—中药学学科科研开放基金资助项目 (2016)；江苏省高校自然科学基金重点项目 (11KJA360001)；江苏省高校“青蓝工程”资助项目 (2014)
作者简介：赵根华 (1991—)，女，硕士生，从事中药炮制机理研究。Tel: (025) 86798281, E-mail: 18351895570@163.com
* 通信作者：李伟东 (1968—)，男，博士，研究员，从事中药炮制研究。Tel: (025) 86798281, E-mail: liweidong0801@163.com

公法等^[3]，其中盐炙法为历版《中国药典》收录，可增强其补肾纳气的作用^[4]。目前，文献主要报道不同炮制工艺下补骨脂成分含有量的变化^[5-7]，但尚无盐炙对其影响机制的探讨，故本实验主要探讨盐水闷润和炒制对补骨脂水煎液中主要化学成分含有量的影响，为揭示相关炮制机理提供依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Waters 2695 型高效液相色谱仪，配置 Waters 2487 UV/Visible Detector 检测器；KQ2200B 超声波清洗仪（昆山市超声仪器有限公司）；AG285 电子天平（瑞士 Mettler-Toledo 公司）；BT25S 电子天平（赛多利斯科学仪器有限公司）；HSB-Ⅲ循环式多用真空泵（南京科尔仪器设备有限公司）；可调万用电炉（南京沃中仪器设备有限公司）；旋转蒸发仪（瑞士 Buchi 公司）；Milli-Q 纯水器（美国 Millipore 公司）。

1.2 试药 补骨脂购自南京海昌中药饮片集团有限公司（批号 110711），经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实。补骨脂素（批号 120307）、异补骨脂素（批号 120308）对照品均购自上海友思生物技术有限公司；补骨脂苷、异补骨脂苷对照品购自天津中医药大学（含有量均大于 99%）。乙腈、甲醇为色谱纯；其他试剂均为分析纯；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

2.1.1 对照品溶液 精密称取对照品补骨脂素 4.13 mg、异补骨脂素 2.94 mg、补骨脂苷 0.26 mg、异补骨脂苷 0.23 mg，置于同一棕色 5 mL 量瓶中，甲醇溶解至刻度，摇匀，即得，于 4 ℃ 下保存。

2.1.2 炮制方法

2.1.2.1 盐炙^[6] 取生品 100 g，0.1 g/mL 盐水 20 mL 闷润 4 h，置于炒制容器内，文火加热（约 120 ℃），炒至有香气溢出、表面焦黄时，取出放凉，即得。

2.1.2.2 清炒 取生品 100 g，倒入锅中，文火（约 120 ℃）炒至膨胀、迸裂、有香气溢出，放凉，即得。

2.1.2.3 盐水闷润 取生品 100 g，0.1 g/mL 盐水 20 mL 闷润 4 h，取出晾干，即得。

2.1.3 炮制品得率 称取生品约 100 g，按

“2.1.2”项下方法炮制，平行 3 份，称定质量，计算得率，公式为得率 = （炮制后样品质量/炮制前样品质量）× 100%。结果，盐炙、清炒、盐水闷润品的平均得率分别为 97.03%、97.40%、99.89%。

2.1.4 供试品溶液制备 取生品和炮制品各 5 g，置于砂锅中，精密加入 50 mL 水，武火（约 300 ℃）煎煮至沸后，文火（约 120 ℃）煎煮 20 min，重复 1 次，过滤，合并煎煮液，定容至 250 mL，分别精密吸取 1 mL，0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.2 含有量测定

2.2.1 色谱条件 Hibar C₁₈ 色谱柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相为 1% 甲酸（A）- 甲醇（B），梯度洗脱（0 ~ 5 min，100% ~ 85% A；5 ~ 20 min，85% ~ 70% A；20 ~ 40 min，70% ~ 55% A；40 ~ 50 min，55% ~ 35% A；50 ~ 60 min，35% ~ 5% A）；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 246 nm；柱温 30 ℃；进样量 10 μL。

2.2.2 系统适用性考察 精密吸取对照品、供试品溶液适量，在“2.2.1”项色谱条件下分析。结果，4 种成分理论塔板数均不低于 3 000，各组分与相邻峰分离度均大于 1.5，具体见图 1。

2.2.3 线性关系考察 取“2.1.1”项下对照品溶液，稀释至 6 个质量浓度，在“2.2.1”项色谱条件下进样 10 μL 测定。以质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents			
成分	回归方程	R ²	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)
补骨脂苷	Y = 26 865 929.16X + 103 234.15	0.999 6	6.453 ~ 826
异补骨脂苷	Y = 31 513 968.89X + 68 970.48	0.999 7	4.594 ~ 588
补骨脂素	Y = 75 235 873.37X + 37 677.24	0.999 2	0.404 ~ 51.7
异补骨脂素	Y = 84 860 650.26X + 28 763.39	0.999 4	0.355 ~ 45.5

2.2.4 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下对照品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样 6 次，测得补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素峰面积 RSD 分别为 0.83%、2.32%、1.08%、0.77%，表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 取生品 6 份，按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下分析，测得补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素含有量 RSD 分别 1.07%、2.71%、

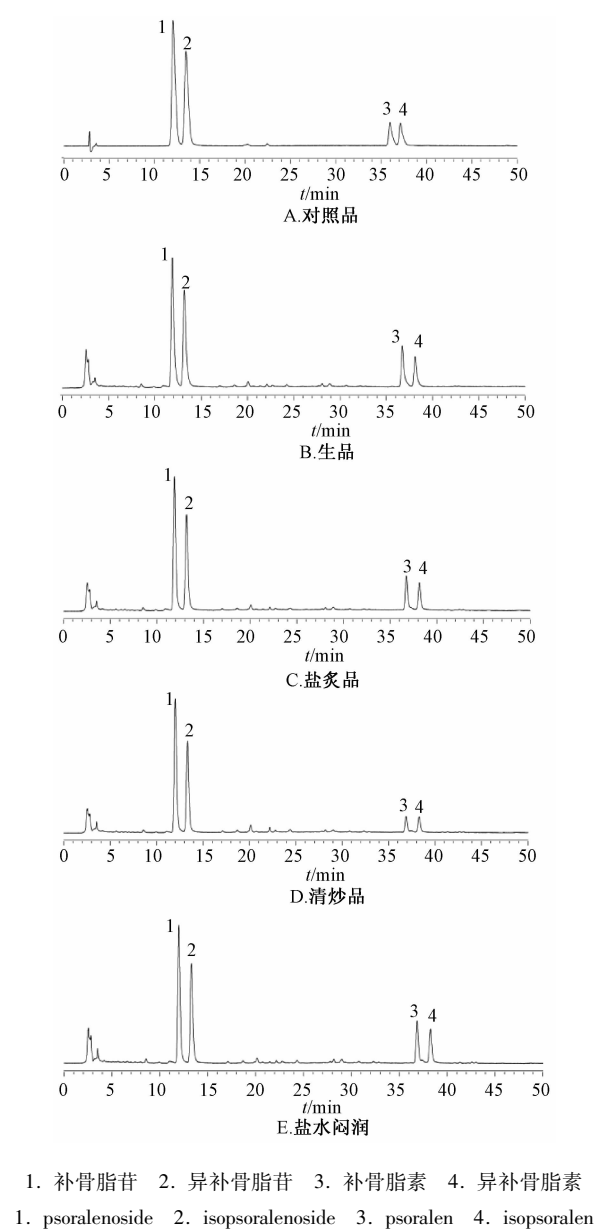


图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

1. 71%、2. 73%，表明该方法重复性较好。

2.2.6 稳定性试验 取“2.1.4”项下供试品溶液，于0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样，测得补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素峰面积 RSD 分别为 1.13%、1.80%、1.45%、1.97%，表明该方法稳定性良好。

2.2.7 加样回收率试验 精密称取生品 6 份，每份约 2.5 g，精密加入适量对照品溶液（补骨脂苷 4.30 mg/mL、异补骨脂苷 3.10 mg/mL、补骨脂素 0.50 mg/mL、异补骨脂素 0.51 mg/mL），按“2.1.4”项方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下分析，计算回收率，结果见表 2。

表 2 各成分加样回收率试验结果（n=6）

Tab. 2 Results of recovery tests for various constituents (n=6)

成分	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
补骨脂苷	0.387 7	0.430 0	0.832 1	103.34	98.56	2.89
	0.390 2	0.430 0	0.807 2	96.98		
	0.393 2	0.430 0	0.813 3	97.70		
	0.379 8	0.430 0	0.796 3	96.87		
	0.389 4	0.430 0	0.822 6	100.75		
	0.389 8	0.430 0	0.801 4	95.72		
异补骨脂苷	0.266 8	0.310 0	0.581 6	101.57	97.80	3.60
	0.270 1	0.310 0	0.576 8	98.94		
	0.269 6	0.310 0	0.584 1	101.45		
	0.276 0	0.310 0	0.565 6	93.42		
	0.268 5	0.310 0	0.571 6	97.77		
	0.271 0	0.310 0	0.561 4	93.68		
补骨脂素	0.071 1	0.050 0	0.119 0	95.80	97.33	1.99
	0.069 7	0.050 0	0.119 9	100.40		
	0.067 7	0.050 0	0.116 1	116.80		
	0.075 9	0.050 0	0.123 7	95.60		
	0.072 1	0.050 0	0.121 7	99.20		
	0.071 9	0.050 0	0.120 0	96.20		
异补骨脂素	0.047 3	0.051 0	0.096 0	97.42	96.77	2.68
	0.046 6	0.051 0	0.093 9	94.60		
	0.046 2	0.051 0	0.094 4	96.40		
	0.049 1	0.051 0	0.096 5	94.80		
	0.047 2	0.051 0	0.098 1	101.80		
	0.047 0	0.051 0	0.094 8	95.60		

2.3 样品含有量测定 按“2.1.2”项下方法制备炮制品，平行 3 份，按“2.1.4”项下方法制备 3 份供试品溶液，计算含有量，结果见表 3。由表可知，与生品组比较，清炒组能显著促进补骨脂水煎液中各成分的含有量（ $P<0.001$ ， $P<0.01$ ）；盐炙组能显著促进水煎液中苷类成分（补骨脂苷和异补骨脂苷）及总成分溶出（ $P<0.001$ ），而对苷元成分（补骨脂素和异补骨脂素）无显著影响（ $P>0.05$ ）；盐水闷润组中苷类成分及总成分溶出较生品均有明显降低（ $P<0.001$ ），表明促进补骨脂水煎液中 4 种成分溶出的主要因素是炒制；盐炙组与清炒组中 4 种成分总含有量无显著差异（ $P>0.05$ ），推测影响盐炙的主要因素为温度，而辅料盐对盐炙品主要成分的溶出无显著影响。

3 讨论

3.1 指标成分选择 文献 [8-9] 报道，补骨脂中已发现 50 多种成分，主要为糖苷、香豆素、黄酮、单萜酚等。研究发现，补骨脂水煎液中的主要成分为补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素和异补骨脂素，能促进成骨细胞分化^[10]，并且四者均是入血的主要成分^[11]，同时水煎液中糖苷类成分补骨

表 3 各成分含有量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab. 3 Results of content determination of various constituents ($\bar{x} \pm s, n=3$)

成分	含有量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)			
	生品	盐水闷润	清炒	盐炙
补骨脂苷	193.65 ± 2.44	172.09 ± 2.36 ***	226.68 ± 2.62 ***	227.45 ± 2.23 ***
异补骨脂苷	135.12 ± 2.97	117.48 ± 1.81 ***	150.77 ± 1.88 ***	152.94 ± 1.29 ***
补骨脂素	20.89 ± 1.03	21.21 ± 1.40	27.47 ± 2.13 *	22.37 ± 2.47 Δ
异补骨脂素	14.62 ± 0.36	14.18 ± 0.59	19.30 ± 1.73 *	16.10 ± 1.22 Δ
补骨脂类	214.54 ± 2.43	193.30 ± 2.62 **	254.15 ± 3.94 ***	249.82 ± 3.86 ***
异补骨脂类	149.74 ± 3.15	131.66 ± 2.01 ***	170.07 ± 2.81 ***	169.04 ± 1.77 ***
苷类	328.77 ± 5.40	289.57 ± 4.04 ***	377.44 ± 4.49 ***	380.39 ± 2.61 * * * Δ
苷元	35.51 ± 1.32	35.39 ± 1.98	47.27 ± 2.80 **	38.47 ± 3.63 * Δ
总和	364.28 ± 5.52	324.96 ± 4.50 ***	424.21 ± 6.73 ***	418.86 ± 5.15 ***

注:与生品组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;盐炙组与清炒组比较, Δ $P<0.05$ 。补骨脂类为补骨脂素和补骨脂苷之和,异补骨脂类为异补骨脂素和异补骨脂苷之和,苷类为补骨脂苷和异补骨脂苷之和,苷元成分为补骨脂素和异补骨脂素之和,总和为4种成分之和

脂苷和异补骨脂苷在体内吸收后,降解成补骨脂素和异补骨脂素^[12]。因此,本实验选择补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素作为指标成分,可为补骨脂不同炮制品的临床应用提供科学依据。

3.2 色谱条件优化 文献[6,9]报道,补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素均在246 nm波长处有吸收,故选择其作为检测波长,再进一步优化文献中流动相的组成和梯度以改善分离度,最终确定“2.2.1”项下色谱条件。

3.3 炮制机制探讨 实验结果显示,清炒和盐炙均能显著提高补骨脂水煎液中4种成分的总含有量,推测经炒制后种皮破裂,从而利于有效成分煎出^[8],但2种方法下总溶出量无显著差异,原因尚不明确。“盐制入肾”是中药炮制理论之一,《本草蒙筌》^[13]中也有“入盐走肾脏,仍仗软坚”的认识,现代研究也发现补骨脂盐炙后补肾助阳、止泻功效明显增强^[14],并能显著促进补骨脂素和异补骨脂素的吸收^[15]。因此,补骨脂盐炙过程中辅料食盐的作用及其机制仍有待进一步研究。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 187.

[2] Ruan B, Kong L Y. Studies on the chemical constituents of *Psoralea corylifolia* L. [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2005, 9 (1): 41-44.

[3] 姚祥珍, 沈 鸿, 富杭育. 补骨脂古今主要炮制品药理作用的比较[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(9): 539-541.

[4] 胡 馨, 王 平. 补骨脂炮制工艺与质量标准研究[J].

中成药, 2007, 29(7): 1026-1031.

[5] 郭宴华, 罗志冬, 贾天柱. 补骨脂炮制前后化学成分的变化[J]. 中药材, 2006, 29(11): 1142-1144.

[6] 宋 潇, 戚爱棣, 王跃飞, 等. 不同炮制方法对补骨脂中4类化学成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15): 2071-2075.

[7] 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): 1062-1064.

[8] 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.

[9] 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, 70(1): 199-204.

[10] 宋殿荣, 宋红运, 王跃飞. 补骨脂水煎液大鼠体内血清药物成分的初步研究[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(11): 1863-1865.

[11] 颜冬梅, 高秀梅, 康立源. 补骨脂中苯并呋喃苷类成分在大鼠血浆中的移行特征[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(11): 85-88.

[12] Gu Y, Si D Y, Gao J, *et al.* Simultaneous quantification of psoralen and isopsoralen in rat plasma by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry and its application to a pharmacokinetic study after oral administration of Haigou Pill[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(27): 3137-3143.

[13] 叶定江, 张世臣, 吴 皓. 中药炮制学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 8.

[14] 陈 杰. 补骨脂盐炙前后药理研究及不同品种盐盐炙对化学成分影响[D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.

[15] Gao Q Q, Yan C P, Xu Z S, *et al.* Evaluation of the influence of salt processing on pharmacokinetics of psoralen and isopsoralen in *Psoralea corylifolia* L. [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(4): 528-535.