

# 炮制对补骨脂中 12 种化学成分含量的影响

陶益, 蒋妍慧, 李伟东, 蔡宝昌\*

(南京中医药大学 江苏省中药炮制重点实验室, 南京 210023)

**[摘要]** **目的:**比较补骨脂生品及 3 种炮制品的各项检查指标及化学成分的差异,为补骨脂不同炮制品的临床使用提供参考。**方法:**按《中国药典》2015 年版标准,测定补骨脂生品、炒品、盐炙品及酒炙品的杂质、水分、总灰分和酸不溶性灰分,通过 HPLC 比较补骨脂不同炮制品中主要化学成分的差异。**结果:**补骨脂生品及 3 种炮制品的杂质、水分、总灰分、酸不溶性灰分测定结果均符合《中国药典》2015 年版的要求。通过对照品比对及文献查阅确定了 12 个主要化学成分,即补骨脂苷,异补骨脂苷,补骨脂素,异补骨脂素,新补骨脂异黄酮,补骨脂甲素,补骨脂定,补骨脂乙素,补骨脂二氢黄酮甲醚, corylifol A, 4'-O-甲基补骨脂查尔酮和补骨脂酚。**结论:**补骨脂酚有肾毒性和肝毒性,炮制后补骨脂酚在酒炙品和盐炙品中含量均较生品下降,说明酒炙和盐炙具有炮制减毒的作用;与生品相比,盐炙品中补骨脂素和异补骨脂素含量显著升高,这与补骨脂盐炙后温肾助阳作用增强相关。4'-O-甲基补骨脂查尔酮在炮制品中含量显著升高,而补骨脂二氢黄酮甲醚含量显著降低,这可能是由补骨脂二氢黄酮甲醚在高温下发生降解转化而成。上述这些成分的改变可能是不同炮制品临床功效产生差异的主要原因。

**[关键词]** 补骨脂; 炒品; 酒炙品; 盐炙品; 补骨脂素; 异补骨脂素

**[中图分类号]** R283.1; R943.1; R284.1; S853.73+1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0006-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016210006

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160523.1022.021.html>

**[网络出版时间]** 2016-05-23 10:22

## Effect of Processing on Contents of Twelve Constituents in Psoraleae Fructus

TAO Yi, JIANG Yan-hui, LI Wei-dong, CAI Bao-chang\*

(Jiangsu Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare quality control indexes and chemical compositions of crude Psoraleae Fructus and its three processed products. **Method:** Impurity, water content, total ash and acid insoluble ash of different processed products were performed in accordance with standards in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. HPLC was established to compare contents of major ingredients in crude Psoraleae Fructus and its different processed products. **Result:** The impurity, water content, total ash and acid insoluble ash of crude Psoraleae Fructus and its three processed products met requirements of the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. Twelve major constituents were identified. **Conclusion:** Bakuchiol has renal toxicity and liver toxicity. After processing, the content of bakuchiol decreases, indicating that wine and salt processed products can attenuate toxicity of crude products; psoralen and isopsoralen significantly increase, these two components can promote growth of osteoblasts, which was in consistent with theory that salt processing can enhance kidney-Yang effect. The content of 4'-O-methylbroussonchalcone B significantly increases in processed products, whereas bavachinin A significantly reduces, which may be due to that bavachinin A degrades and turns into 4'-O-methylbroussonchalcone B at high temperatures. Variations in contents of these constituents in Psoraleae Fructus may contribute to different clinical efficacy of its processed products.

**[收稿日期]** 20160103(002)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09304005);江苏省自然科学基金青年项目(BK20140963)

**[第一作者]** 陶益,博士,助理研究员,从事中药炮制学研究, Tel:025-86798281, E-mail:taoyi1985812@126.com

**[通讯作者]** \* 蔡宝昌,博士,教授,从事中药炮制学研究, Tel:025-86798281, E-mail:bccai@126.com

[Key words] Psoraleae Fructus; stir-fried products; wine-processed products; salt-processed products; psoralen; isopsoralen

补骨脂功能温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻,用于治疗肾阳不足、阳痿遗精、遗尿尿频、腰膝冷痛、肾虚作喘、五更泄泻等<sup>[1]</sup>。其在《中国药典》2015 年版收录了 2 种规格,即补骨脂和盐补骨脂。盐补骨脂是补骨脂照盐炙法炒至微鼓起的产物。除盐制外,历代炮制文献中还记载着酒制、炒制、药汁制、醋制、焙制、麸炒制等方法,譬如宋代《证类本草》<sup>[2]</sup>记载“补骨脂一斤,酒浸一宿,放干,却用乌油麻一斤和炒,令麻子声绝,即播去,只取补骨脂,为末。”又如宋代《圣济总录》<sup>[3]</sup>记载“炒令黄焦”。补骨脂历代炮制方法繁多,但研究其化学成分较少,或者研究的炮制方法较为单一。譬如王增绘等<sup>[4]</sup>运用 UPLC-Q-TOF/MS 技术对补骨脂盐炙前后 8 个成分进行鉴定,并指出 8 个成分的含量变化趋势,但未用对照品进行定量;宋潇等<sup>[5]</sup>建立 UPLC 对补骨脂 4 种炮制品的 7 个成分进行定量分析,并推断补骨脂苷和异补骨脂苷可能炮制后会转化成补骨脂素和异补骨脂素;方艳夕等<sup>[6]</sup>建立 HPLC 对补骨脂 4 种炮制品中的补骨脂素和异补骨脂素进行定量分析并优化了炮制工艺。但目前尚无补骨脂炮制前后化学成分的的系统性研究报道。

本实验炮制得到补骨脂炒品、盐品和酒品,按《中国药典》2015 年版质量标准对生品和 3 种炮制品进行各项指标检测,采用 HPLC 对补骨脂生品和 3 种炮制品中 12 个主要化学成分进行分析,并使用对照品进行定量,系统揭示该药材炮制前后化学成分的转化规律,以及成分变化与药性改变的关联性,为补骨脂不同炮制品的临床应用提供参考。

## 1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), BT125 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司], DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司), Ultra-pure 系列纯水仪(上海旦鼎国际贸易有限公司), R-205 型旋转蒸发器(瑞士 Buchi 公司)。

补骨脂药材在四川收集,经南京中医药大学蔡宝昌教授鉴定为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* 的干燥成熟果实,药材标本保存于南京中医药大学标本馆;补骨脂素,异补骨脂素,新补骨脂异黄酮,补骨脂甲素,补骨脂定,补骨脂乙素,补骨脂二氢黄酮甲醚, corylifol A, 4'-O-甲基补骨脂查尔酮和补骨脂

酚(四川维克奇生物技术有限公司,批号分别为 150629, 150629, 140818, 140722, 150112, 150225, 150629, 150325, 150310, 140910, 纯度均  $\geq 98\%$ ); 盐(江苏省盐业集团有限责任公司), 黄酒(绍兴女儿红酿酒有限公司), 乙腈为色谱纯,其他试剂均为国产分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 不同饮片的制备** 取净补骨脂 100 g, 置炒制锅内, 将锅放置于美的电磁炉上(功率 500 W, 下同), 参照《中国药典》2015 年版 0213 炮制通则中炒法炒至鼓起, 发出爆声, 取出放凉, 得炒补骨脂。取净补骨脂 100 g, 加黄酒 20 g 拌匀, 闷透, 置炒制锅内, 将锅放置于美的电磁炉上, 参照《中国药典》2015 年版 0213 炮制通则中酒炙法, 用文火炒至鼓起, 取出, 放凉, 得酒补骨脂; 取食盐 2 g 用 10 mL 水溶解, 取净补骨脂 100 g, 加盐水拌匀, 闷透, 置炒制锅内, 将锅放置于美的电磁炉上, 参照《中国药典》2015 年版 0213 炮制通则中盐炙法, 以文火加热, 炒至鼓起, 取出, 放凉, 得盐补骨脂。

**2.2 药典项目检查** 根据 2015 年版《中国药典》规定, 按通则 2301 杂质检查法检查补骨脂生品和 3 种炮制品中杂质含量; 采用通则 0832 第二法烘干法对补骨脂生品和 3 种炮制品中的水分进行检查; 采用通则 2302 总灰分测定法对补骨脂生品和 3 种炮制品的总灰分进行检查; 采用通则 2302 酸不溶性灰分测定法测定补骨脂生品和 3 种炮制品的酸不溶性灰分。2015 年版《中国药典》要求杂质不得过 5%, 生品和盐品的水分分别不得超过 9.0% 和 7.5%; 生品和盐品总灰分分别不得超过 8.0% 和 8.5%; 生品的酸不溶性灰分不得过 2.0%。各检查项见表 1, 结果表明补骨脂生品和盐品符合 2015 年版《中国药典》要求。补骨脂炒品和酒品目前未被 2015 年版《中国药典》收载, 也无质量标准, 其中炒品和酒品的水分含量较低, 炒品的酸不溶性灰分较大。

**2.3 色谱条件** Xbridge C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B) 梯度洗脱(0 ~ 45 min, 10% ~ 100% B; 45 ~ 55 min, 100% B), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 246 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

**2.4 供试品溶液的制备** 补骨脂粉碎, 过三号筛, 精密称取本品粉末 0.5 g, 置索氏提取器中, 加甲醇

表 1 补骨脂生品和 3 种炮制品的水分、总灰分和酸不溶性灰分  
Table 1 Water content, total ash and acid insoluble ash of crude Psoraleae Fructus and its processed products %

样品	水分	总灰分	酸不溶性灰分
生品	8.18 ± 0.06	7.06 ± 0.05	1.56 ± 0.07
炒品	2.68 ± 0.05	7.05 ± 0.14	2.43 ± 0.06
盐品	7.02 ± 0.06	7.02 ± 0.13	1.59 ± 0.10
酒品	4.79 ± 0.09	6.19 ± 0.14	1.52 ± 0.08

约 50 mL, 加热回流提取 2 h, 放冷, 转移置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.5 对照品溶液的制备** 精密称取补骨脂素对照品 0.46 mg, 加甲醇 1 mL 使溶解, 配成 0.46 g·L<sup>-1</sup> 对照品溶液, 并依次稀释成质量浓度为 0.23, 0.115, 0.058, 0.029 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。精密称取异补骨脂素对照品 0.38 mg, 加甲醇配成 0.38 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 并依次稀释成质量浓度为 0.19, 0.095, 0.047 5, 0.023 75 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液, 备用。精密称取新补骨脂异黄酮, 补骨脂甲素, 补骨脂定, 补骨脂乙素, 补骨脂二氢黄酮甲醚, corylifol A, 4'-O-甲基补骨脂查尔酮和补骨脂酚对照品适量, 分别加甲醇配成 0.5 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.6 线性关系考察** 精密吸取不同质量浓度的补骨脂素和异补骨脂素对照品溶液, 按 2.3 项下条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程分别为  $Y = 53\ 212X + 893.54$  ( $r = 0.999\ 7$ ) 和  $Y = 63\ 619X + 443$  ( $r = 0.999\ 8$ ), 线性范围依次为 0.028 8 ~ 0.460, 0.023 8 ~ 0.380 g·L<sup>-1</sup>。

**2.7 精密度考察** 取补骨脂素和异补骨脂素对照品溶液按 2.3 项下条件连续进样 6 次, 计算峰面积的 RSD 分别为 1.3% 和 3.0%。

**2.8 稳定性考察** 取供试品溶液适量, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.3 项下条件测定, 计算补骨脂素和异补骨脂素峰面积的 RSD 分别为 2.5% 和 4.7%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.9 重复性试验** 精密称取补骨脂粉末, 共 6 份, 每份 0.5 g, 按 2.4 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3 项下条件测定, 计算补骨脂素和异补骨脂素峰面积的 RSD 分别为 1.2% 和 3.3%, 表明该方法重复性良好。

**2.10 回收率试验** 采取加样回收法。取 6 份已知含量的同一批次样品约 0.5 g, 精密称定, 分别按 1:1 精密加入补骨脂素和异补骨脂素对照品, 按 2.4 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3 项下条件测定, 计算

回收率分别为 98.50% 和 99.89%, RSD 分别为 2.4% 和 1.6%。

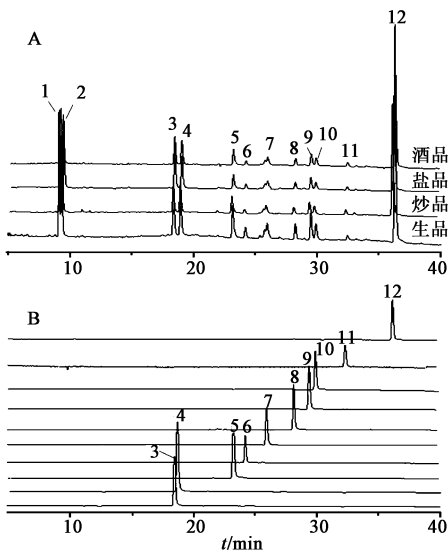
**2.11 样品测定** 精密吸取补骨脂生品和不同炮制品供试品溶液 10 μL, 按 2.3 项下条件测定, 结果补骨脂生品和盐补骨脂中补骨脂素质量分数分别为 2.17% 和 5.68%, 异补骨脂素质量分数分别为 2.68% 和 5.33%, 均符合《中国药典》2015 年版的规定; 而补骨脂炒品和酒品中补骨脂素质量分数分别为 3.23% 和 3.68%, 异补骨脂素质量分数分别为 4.47% 和 3.87%。

**2.12 化学成分比较** 精密吸取补骨脂生品、炒品、盐品、酒品供试品溶液及对照品溶液各 10 μL, 按 2.3 项下条件测定, 见图 1, 补骨脂素和异补骨脂素的出峰时间分别约在 18.381, 18.931 min, 其他 10 个主要峰在图 1 中已经标示。除了峰 1 和峰 2 外, 其他色谱峰都与对照品峰进行了比对。峰 1 和峰 2 通过和文献[7]比对, 推断为补骨脂苷和异补骨脂苷。补骨脂不同炮制品中 12 种主要化学成分归一化面积比较见图 2。与生品相比, 炒品、盐品和酒品中补骨脂素、异补骨脂素和 4'-O-甲基补骨脂查尔酮的含量均显著升高, 而补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚含量显著降低。另外, 与生品相比, 盐品中补骨脂苷、异补骨脂苷和 corylifol A 的含量显著降低; 酒品中补骨脂苷和补骨脂酚含量显著降低。

### 3 讨论

补骨脂果实、种子中主要成分为香豆素类和黄酮类<sup>[8]</sup>。本文建立了同时测定补骨脂 3 种炮制品中 12 种化学成分含量的 HPLC。研究发现补骨脂中含量较高的成分补骨脂酚有肝毒性和肾毒性。本文研究发现与生品相比, 补骨脂酒炙品和盐炙品中补骨脂酚含量均下降, 说明酒炙和盐炙可能具有炮制减毒的功效<sup>[9-10]</sup>, 这正好与《雷公炮制论》里关于补骨脂酒浸蒸以除燥毒的记载相吻合。

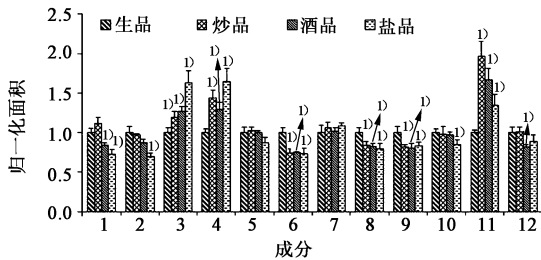
中药炮制很多都是以归经理论为指导的, 特别是用某些辅料炮制药材, 如盐制入肾经、酒制升提等。明代《本草蒙筌》指出“入盐走肾脏, 仍仗软坚”。补骨脂盐炙后归肾、脾经, 具有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻作用。盐补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素含量较生品显著升高, 而补骨脂苷和异补骨脂苷含量则下降, 这可能与补骨脂苷和异补骨脂苷在炮制高温条件下转化成补骨脂素和异补骨脂素有关。现代药理学研究证明异补骨脂素能促进成骨细胞生长<sup>[11]</sup>; 补骨脂素和异补骨脂素具有雌激素样



A. 供试品; B. 对照品; 1. 补骨脂苷; 2. 异补骨脂苷; 3. 补骨脂素; 4. 异补骨脂素; 5. 新补骨脂异黄酮; 6. 补骨脂甲素; 7. 补骨脂定; 8. 补骨脂乙素; 9. 补骨脂二氢黄酮甲醚; 10. corylifol A; 11. 4'-O-甲基补骨脂查尔酮; 12. 补骨脂酚

图 1 补骨脂生品及炮制品的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of crude *Psoraleae Fructus* and its processed products



1. 补骨脂苷; 2. 异补骨脂苷; 3. 补骨脂素; 4. 异补骨脂素; 5. 新补骨脂异黄酮; 6. 补骨脂甲素; 7. 补骨脂定; 8. 补骨脂乙素; 9. 补骨脂二氢黄酮甲醚; 10. corylifol A; 11. 4'-O-甲基补骨脂查尔酮; 12. 补骨脂酚; 与生品比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$

图 2 补骨脂生品及炮制品中 12 种主要化学成分的归一化面积比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 2 Comparison on normalized area of twelve constituents in crude *Psoraleae Fructus* and its three processed products ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

作用,对骨质疏松症具有较好的治疗作用<sup>[12-13]</sup>。中医认为肾主骨,盐炙显著提升了补骨脂素和异补骨脂素的含量,有利于补骨脂对骨质疾病的治疗。此外,4'-O-甲基补骨脂查尔酮在炮制品中含量显著升高,而补骨脂二氢黄酮甲醚含量则显著降低,这可能与补骨脂二氢黄酮甲醚在高温下不稳定有关,可能会发生降解,A 环发生开裂,转化成 4'-O-甲基补骨

脂查尔酮。补骨脂乙素和补骨脂甲素都属于二氢黄酮类,在高温下均不稳定,可能也会发生类似补骨脂二氢黄酮甲醚的 A 环开裂反应,转化成 4'-O-甲基补骨脂查尔酮。目前尚无关于 4'-O-甲基补骨脂查尔酮的药理作用报道,其含量变化与炮制性改变的关联性还有待进一步研究证实。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:187-188.  
 [2] 唐慎微. 重修政和经史证类备用本草[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:231.  
 [3] 赵佶. 圣济总录[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:643.  
 [4] 王增绘,付娟,武拉斌,等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的补骨脂盐炙前后化学成分变化研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(16):51-55.  
 [5] 宋潇,戚爱棣,王飞跃,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.  
 [6] 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.  
 [7] 刘亚男,王飞跃,韩立峰,等. 高效液相色谱-电喷雾-质谱法分析补骨脂中化学成分[J]. 中国中药杂志,2009,34(22):2898-2902.  
 [8] 辛丹,颜冬梅,王飞跃,等. 补骨脂及其相关化学成分的药理与毒理研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2009,11(7):70-72.  
 [9] 江芳,周昕睿,王旗,等. 补骨脂酚及其与补骨脂素合用对 HK-2 细胞的毒性及其机制[J]. 中国药理学和毒理学杂志,2010,24(1):50-58.  
 [10] 周昆,王安红,柴丽娟,等. 补骨脂酚对 HepG2 的细胞毒性及 BSEP、NTCP、FXR、CYP7A1 的影响[J]. 毒理学杂志,2015,29(3):193-196.  
 [11] 柴丽娟,樊娜,王虹,等. 补骨脂单体成分对体外培养成骨细胞和破骨细胞分化的影响[J]. 天津中医药,2015,32(5):299-303.  
 [12] 赵丕文,牛建昭,王继峰,等. 异补骨脂素的植物雌激素作用及其机制的探讨[J]. 中国药理学通报,2009,25(9):1193-1197.  
 [13] 韦妍妍,张紫佳,徐颖,等. 补骨脂对去卵巢大鼠雌激素样作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):158-161.

[责任编辑 刘德文]