

# 对照提取物法测定补骨脂饮片中7种成分含量

朱星宇, 赵根华, 高倩倩, 王恒, 刘玲, 陈志鹏, 吴丽, 李伟东\*  
(南京中医药大学药学院, 江苏省中药炮制重点实验室, 南京 210023)

**[摘要]** **目的:**为了提高补骨脂饮片的质量标准,解决部分对照品稀缺问题,建立以补骨脂对照提取物为对照的补骨脂饮片中7种成分含量测定的方法。**方法:**采用高效液相色谱法。Thermo-encapped C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相水-乙腈-甲醇梯度洗脱,柱温30℃,检测波长254 nm,进样量10 μL。自制了补骨脂对照提取物并标定了其中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂甲素、补骨脂定、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚7种成分的含量,并用补骨脂对照提取物为对照测定了12批补骨脂饮片中7种成分的含量,与对照品测定法的试验结果进行比较。**结果:**补骨脂饮片中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂甲素、补骨脂定、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚7种成分均能达到基线分离、线性关系良好,平均回收率分别为97.4%,98.8%,99.6%,102%,99.6%,98.0%,103%,RSD均≤2.8%。该方法的精密性、稳定性、重复性良好,并且测定结果与对照品测定法所得结果无显著性差异,2种测定方法所得数据的RSD<3%。**结论:**补骨脂对照提取物法可用于补骨脂饮片中7种成分的含量测定,能有效地对补骨脂饮片进行质量控制。

**[关键词]** 补骨脂; 对照提取物法; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)15-0085-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017150085

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170427.1000.002.html>

**[网络出版时间]** 2017-04-27 10:00

## Content Determination of 7 Compounds of Psoraleae Fructus by Reference Extract Method

ZHU Xing-yu, ZHAO Gen-hua, GAO Qian-qian, WANG Heng, LIU Ling,  
CHEN Zhi-peng, WU Li, LI Wei-dong\*

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

**[Abstract]** **Objective:** To improve the quality standard of Psoraleae Fructus, solve the problem of lacking relevant reference substance, and establish a content determination method for 7 compounds in Psoraleae Fructus decoration piece based on the standard reference extract. **Method:** HPLC was performed on Thermo-C<sub>18</sub>encapped column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with water-methanol-acetonitrile system as the mobile phase for gradient elution. The column temperature was 30℃; the injection volume was 10 μL, and the detection wavelength was set at 254 nm. Self-prepared reference extracts of Psoraleae Fructus was used for determining the contents of psorale, isopsorale, psoralidin, corylifolinin, bavachinin and bakuchiol; then the contents of the 7 components in 12 batches of Psoraleae Fructus decoration piece were determined and compared with the experimental results obtained with the reference substance determination method. **Result:** The seven markers including psorale, isopsorale, psoralidin, corylifolinin, bavachinin and bakuchiol, reached baseline separation and showed good linearity. Their

**[收稿日期]** 20170112(010)

**[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;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)

**[第一作者]** 朱星宇,在读硕士,从事中药质量标准研究,Tel:15295512919,E-mail:15295512919@163.com

**[通讯作者]** \*李伟东,硕士生导师,研究员,从事中药炮制机制以及质量标准研究,Tel:025-86798281,E-mail:liweidong0801@163.com

average recovery rate was 97.4%, 98.8%, 99.6%, 102%, 99.6%, 98.0%, 103% and RSDs of seven compounds were all no more than 2.8%. The reference extraction determination method showed high precision, stability and reproducibility, and there was no significant difference with the results of reference substance determination method. **Conclusion:** The reference extraction determination method was simple, and can be used for the contents determination of 7 compounds in *Psoraleae Fructus* decoration piece.

[**Key words**] *Psoraleae Fructus*; standard reference extract; HPLC

对照提取物是一类非单体成分对照品,其主成分比例及含量相对固定,特别适用于单体成分不稳定和组分明确但单体对照品不易获得成分的测定<sup>[1]</sup>。2005 年版《中国药典》首次收载 11 种对照提取物,2015 年版《中国药典》增至 21 种<sup>[2-3]</sup>。用对照提取物进行含量测定,可以减少单体对照品的使用,同时测定多种成分,节约实验成本,提高工作效率。近年来,以对照提取物为代表的多成分测定在中药质量控制中的应用越来越广泛<sup>[4-8]</sup>。

补骨脂为豆科植物补骨脂的干燥成熟果实,有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻的功效<sup>[1]</sup>。其主要活性成分有香豆素、黄酮以及单萜酚类化合物,具有明显的抗菌、抑炎、抗氧化、抗肿瘤、雌激素样和免疫调节作用<sup>[9]</sup>。前期研究发现,补骨脂含药血清具有成骨细胞活性,能够促进成骨细胞的增殖、分化和矿化,并且盐炙可以增强其促进成骨细胞增殖、分化和矿化的活性<sup>[10]</sup>,补骨脂中黄酮类成分母核不同,是否有羟基和异戊二烯基取代以及取代位置差异,都会影响其对绝经后妇女成骨细胞的增殖、分化活性<sup>[11]</sup>。此外,补骨脂盐制后香豆素类成分含量比生品略有降低,总黄酮及补骨脂酚含量略有上升<sup>[12]</sup>,并以香豆素、黄酮、酚类等 12 种成分为指标,优化出补骨脂盐炙最佳工艺:100 g 补骨脂,加盐 2 g,闷润 2 h,150 ℃炒制 10 min<sup>[13]</sup>。前期研究表明,补骨脂盐制后可增强其成骨细胞活性,其中香豆素、黄酮、酚类成分均有变化,并且黄酮类成分对成骨细胞的增殖、分化作用与其结构具有相关性。而现行《中国药典》在补骨脂含量测定项下仅以补骨脂素和异补骨脂素为指标,难以客观评价补骨脂质量,如增加指标性成分数量,又会加大试验成本,难以推广。故本实验利用补骨脂对照提取物同时测定补骨脂中的 7 种指标性成分含量,包含了香豆素、黄酮以及单萜酚类化合物,可以在减少对照品使用的同时增加指标性成分的数量,有助于提高补骨脂饮片的质量标准。

本课题组制备了补骨脂对照提取物,标定了其中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂甲素、补骨脂定、补

骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚 7 种成分的含量,并以对照提取物为对照用于 12 批补骨脂饮片的含量测定,其测定结果与对照品测定法比较无显著性差异。本实验旨在利用补骨脂对照提取物测定补骨脂饮片中 7 种成分的含量,以减少对照品的使用,用于补骨脂的质量控制。

## 1 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), BT25S 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司), As3120 型超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

甲醇,乙腈为色谱纯,水为双蒸水。对照品补骨脂素(批号 120307),异补骨脂素(批号 120308),补骨脂甲素(批号 101026),补骨脂定(批号 110719),补骨脂乙素(批号 110112),补骨脂二氢黄酮甲醚(批号 110502),补骨脂酚(批号 120309)均购自上海友思生物技术有限公司,纯度均 >98%。

补骨脂对照提取物为本课题组自制,其制备工艺如下:补骨脂药材粉碎,过 50 目筛,用 10 倍量 70% 乙醇,回流提取 2 次,每次 1 h,将提取液旋转蒸发浓缩至无醇味,加水混悬,乙酸乙酯萃取 3 次,浓缩干法拌硅胶,以 1:50 上样,硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯-甲酸(40:1:1)洗脱至补骨脂酚出现开始收集,换成石油醚-乙酸乙酯-甲酸(4:1:0.1)至补骨脂素洗脱结束;收集洗脱液浓缩后上 MCI 柱色谱,甲醇-水(40:60)洗脱至补骨脂素出现开始,换成甲醇-水-甲酸(80:10:0.1)洗脱至补骨脂酚结束为止。收集洗脱液,浓缩至干,即补骨脂对照提取物。

12 批补骨脂饮片经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* 的干燥成熟果实。来源信息见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 补骨脂对照提取物的标定

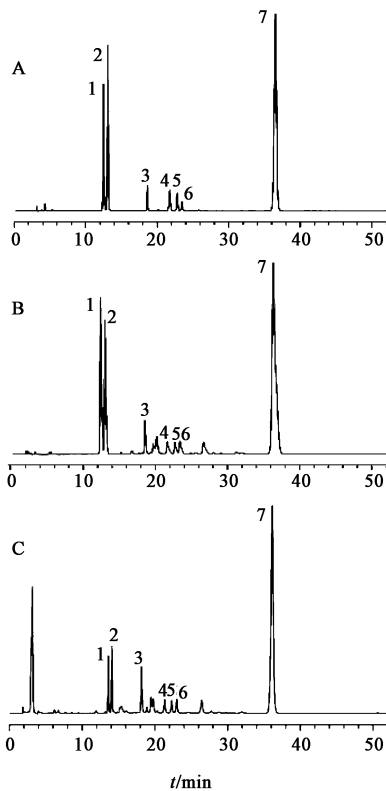
**2.1.1 色谱条件** Thermo-C<sub>18</sub> endcapped 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相水(A)-乙腈(B)-甲醇(C)梯度洗脱(0~15 min,10%~35% B,10%~35% C;15~25 min,35%~37.5% B,35%~

表 1 12 批补骨脂饮片信息

Table 1 Information of 12 batch Psoraleae Fructus

No.	产地	批号
S1	四川	140630
S2	广西	20140501
S3	广西	100101
S4	河北	140623
S5	四川	140629
S6	四川	130908
S7	陕西	14011618
S8	湖北	201406703
S9	贵州	14062008
S10	河南	20140630
S11	云南	20140601
S12	云南	20140501

37.5% C; 25 ~ 40 min, 37.5% ~ 40% B, 37.5% ~ 40% C), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。见图 1。



A. 混合对照品; B. 对照提取物; C. 补骨脂饮片样品; 1. 补骨脂素; 2. 异补骨脂素; 3. 补骨脂甲素; 4. 补骨脂定; 5. 补骨脂乙素; 6. 补骨脂二氢黄酮甲醚; 7. 补骨脂酚

图 1 混合对照品 (A), 补骨脂对照提取物 (B) 和补骨脂饮片 (C) HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) Psoraleae Fructus reference extract (B) and Psoraleae Fructus (C)

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素对照品 11.60 mg, 异补骨脂素对照品 11.86 mg, 补骨脂甲素对照品 4.91 mg, 补骨脂定对照品 4.41 mg, 补骨脂乙素对照品 8.35 mg, 补骨脂二氢黄酮甲醚对照品 5.29 mg, 补骨脂酚对照品 62.66 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 得各单一对照品储备液。精密吸取补骨脂甲素储备液 2 mL, 其余各 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 配制成含补骨脂素 0.116 g·L<sup>-1</sup>, 异补骨脂素 0.119 g·L<sup>-1</sup>, 补骨脂甲素 0.098 2 g·L<sup>-1</sup>, 补骨脂定 0.044 1 g·L<sup>-1</sup>, 补骨脂乙素 0.083 5 g·L<sup>-1</sup>, 补骨脂二氢黄酮甲醚 0.052 9 g·L<sup>-1</sup>, 补骨脂酚 0.627 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液, 分别稀释 2, 4, 8, 16, 32 倍, 将稀释液注入液相色谱仪, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 以质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 2。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称定补骨脂对照提取物 6.69 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加少量甲醇超声使溶解, 冷却至室温, 加甲醇至刻度, 即得。补骨脂对照提取物质量浓度为 0.669 g·L<sup>-1</sup>。

2.1.4 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液, 重复进样 6 次, 计算 7 种成分峰面积的 RSD, 结果见表 3。

2.1.5 稳定性试验 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 精密吸取 10 μL, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算 7 种成分峰面积的 RSD, 结果见表 3。

2.1.6 重复性试验 按 2.1.3 项下方法制备 6 份供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定 7 种成分含量, 并计算 RSD, 结果见表 3。

2.1.7 回收率试验 采用加样回收法 (按 1:1 加入), 精密称取补骨脂对照提取物约 3.34 mg, 精密加入一定体积补骨脂素, 异补骨脂素, 补骨脂甲素, 补骨脂定, 补骨脂乙素, 补骨脂二氢黄酮甲醚, 补骨脂酚单一对照品储备液 (分别为 0.280, 0.190, 0.679, 0.130, 0.160, 0.350, 0.230 mL)。按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 平行 6 份, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算 7 种成分的加样回收率和 RSD。结果补骨脂素, 异补骨脂素, 补骨脂甲素, 补骨脂定, 补骨脂乙素, 补骨脂二氢黄酮甲醚, 补骨脂酚的平均回收率分别为 99.5%, 101.3%, 98.7%, 101.8%, 101.9%, 98.5%, 102.3%, RSD 分别为 2.8%, 1.9%, 1.8%, 1.2%, 0.8%, 1.4%, 1.1%。

表 2 7 种成分的标准曲线

Table 2 Calibration curve of seven components

样品	成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}$
混合对照品	补骨脂素	$Y = 42\ 981\ 100X - 13\ 799$	1.000 0	0.036 3 ~ 1.160
	异补骨脂素	$Y = 57\ 751\ 897X - 36\ 797$	0.999 9	0.037 1 ~ 1.190
	补骨脂甲素	$Y = 8\ 495\ 619X - 15\ 776$	0.999 5	0.030 7 ~ 0.982
	补骨脂定	$Y = 29\ 430\ 469X - 16\ 993$	0.999 9	0.013 8 ~ 0.441
	补骨脂乙素	$Y = 10\ 772\ 627X - 7\ 166$	0.999 9	0.026 1 ~ 0.835
	补骨脂二氢黄酮甲醚	$Y = 9\ 565\ 162X - 5\ 439$	0.999 9	0.016 5 ~ 0.529
	补骨脂酚	$Y = 31\ 548\ 264X - 259\ 400$	0.999 9	0.196 0 ~ 6.270
对照提取物	补骨脂素	$Y = 42\ 529\ 340X - 3\ 826$	1.000 0	0.041 0 ~ 1.330
	异补骨脂素	$Y = 52\ 736\ 826X - 8\ 795$	1.000 0	0.028 0 ~ 0.896
	补骨脂甲素	$Y = 8\ 348\ 140X - 2\ 392$	0.999 9	0.041 0 ~ 1.320
	补骨脂定	$Y = 28\ 335\ 713X - 9\ 955$	0.999 8	0.007 0 ~ 0.244
	补骨脂乙素	$Y = 10\ 764\ 723X - 5\ 069$	0.999 9	0.017 0 ~ 0.533
	补骨脂二氢黄酮甲醚	$Y = 9\ 642\ 672X - 4\ 665$	0.999 9	0.023 0 ~ 0.745
	补骨脂酚	$Y = 30\ 877\ 417X - 101\ 056$	0.999 9	0.179 0 ~ 5.730

表 3 补骨脂对照提取物中 7 种成分精密度、稳定性、重复性试验的 RSD

Table 3 RSD of precision, stability and reproducibility tests of seven compounds %

成分	精密度	稳定性	重复性
补骨脂素	0.3	0.6	1.4
异补骨脂素	0.5	1.8	1.2
补骨脂甲素	1.3	0.9	1.9
补骨脂定	0.6	1.2	2.5
补骨脂乙素	0.8	1.6	1.2
补骨脂二氢黄酮甲醚	1.1	1.4	1.8
补骨脂酚	0.9	1.7	2.1

**2.1.8 对照提取物的标定** 经测定对照提取物中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂甲素、补骨脂定、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚质量浓度分别为 0.066 2, 0.044 8, 0.066 1, 0.012 2, 0.026 7, 0.037 3, 0.286  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。即质量分数分别为 9.90%, 6.70%, 9.88%, 1.83%, 3.99%, 5.57%, 42.8%, 合计 80.7%。

**2.1.9 对照提取物稳定性考察** 将对照提取物于 4  $^{\circ}\text{C}$  避光保存, 进行 6 个月稳定性试验, 结果见表 4。7 个指标成分含量的 RSD 均 < 3%, 表明该提取物在 6 个月内稳定。

表 4 补骨脂对照提取物稳定性试验 RSD

Table 4 RSD of stability study RSD of standard reference extract %

t/月	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂甲素	补骨脂定	补骨脂乙素	补骨脂二氢黄酮甲醚	补骨脂酚
0	9.90	6.70	9.88	1.83	3.99	5.57	42.8
1	9.78	6.65	10.03	1.78	4.07	5.42	42.6
2	9.69	6.56	9.73	1.79	3.91	5.39	41.9
3	9.92	6.52	9.54	1.73	3.96	5.54	42.4
6	9.83	6.58	9.72	1.75	3.88	5.49	41.2

## 2.2 补骨脂饮片含量测定

**2.2.1 对照提取物溶液制备** 精密称定补骨脂对照提取物 13.38 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加少量甲醇超声使溶解, 冷却至室温, 加甲醇至刻度, 即得。分别稀释 2, 4, 8, 16, 32 倍, 将稀释液注入液相色谱仪, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 以质量浓度 ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 为横坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 2。

**2.2.2 供试品溶液制备** 取补骨脂饮片粉末 (过 3 号筛) 0.2 g, 精密称定, 置 250 mL 圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 水浴回流提取 1 h, 滤过, 冷却至室温后, 定容至 100 mL。取上清液经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.3 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液,

重复进样 6 次,计算 7 种成分峰面积的 RSD,结果见表 5。

表 5 补骨脂饮片中 7 种成分精密度、稳定性、重复性试验的 RSD  
Table 5 RSD of precision, stability and reproducibility tests of seven compounds

成分	精密度	稳定性	重复性
补骨脂素	1.5	1.7	3.0
异补骨脂素	0.9	2.9	2.1
补骨脂甲素	1.3	1.4	2.6
补骨脂定	1.7	1.9	2.4
补骨脂乙素	1.4	1.8	2.7
补骨脂二氢黄酮甲醚	1.0	1.3	2.2
补骨脂酚	1.0	1.0	2.5

表 6 补骨脂饮片中 7 种成分的加样回收率

Table 6 Recoveries of seven compounds in Psoraleae Fructus

成分	称样量 /mg	样品中量 /mg	对照提取物加入量 /mg	折算对照品加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
补骨脂素	100.2	0.411 1	14.10	1.396 0	1.797 0	99.3	97.4	1.7
	100.1	0.410 7	13.93	1.379 0	1.750 0	97.1		
	99.9	0.409 9	13.95	1.381 0	1.722 0	95.0		
	100.5	0.412 4	14.00	1.386 0	1.788 0	99.3		
	99.8	0.409 5	14.05	1.391 0	1.758 0	97.0		
	100.0	0.410 3	13.98	1.384 0	1.746 0	96.5		
异补骨脂素	100.2	0.397 9	14.10	0.944 7	1.325 0	98.1	98.8	2.7
	100.1	0.397 5	13.93	0.933 3	1.298 0	96.5		
	99.9	0.396 7	13.95	0.934 7	1.340 0	100.9		
	100.5	0.399 1	14.00	0.938 0	1.291 0	95.1		
	99.8	0.396 3	14.05	0.941 4	1.344 0	100.6		
	100.0	0.397 1	13.98	0.936 7	1.349 0	101.7		
补骨脂甲素	100.2	2.433 0	14.10	1.393 0	3.816 0	99.3	99.6	2.2
	100.1	2.430 0	13.93	1.376 0	3.799 0	99.5		
	99.9	2.425 0	13.95	1.378 0	3.822 0	101.3		
	100.5	2.440 0	14.00	1.383 0	3.761 0	95.5		
	99.8	2.423 0	14.05	1.388 0	3.832 0	101.5		
	100.0	2.428 0	13.98	1.381 0	3.813 1	100.3		
补骨脂定	100.2	0.241 7	14.10	0.258 0	0.313 3	101.4	102.0	0.6
	100.1	0.241 4	13.93	0.254 9	0.374 4	102.0		
	99.9	0.241 0	13.95	0.255 3	0.401 8	102.2		
	100.5	0.242 4	14.00	0.256 2	0.404 0	102.1		
	99.8	0.240 7	14.05	0.257 1	0.385 5	103.0		
	100.0	0.241 2	13.98	0.255 8	0.385 0	103.1		

2.2.4 稳定性试验 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,分别于 0,2,4,8,12,24 h 精密吸取 10  $\mu$ L,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算 7 种成分峰面积的 RSD,结果见表 5。

2.2.5 重复性试验 按 2.2.2 项下方法制备 6 份供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定 7 种成分含量,并计算 RSD,结果见表 5。

2.2.6 回收率试验 采用加样回收法(按 1:1 加入),精密称取批次 1 补骨脂粉末约 0.1 g,加入的补骨脂对照提取物约 14 mg,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,平行 6 份,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算 7 种成分的平均回收率和 RSD,结果见表 6。

续表 6

成分	称样量 /mg	样品中量 /mg	对照提取物加入量 /mg	折算对照品加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
补骨脂乙素	100.2	0.573 3	14.10	0.562 6	1.136 0	100.1	99.6	2.3
	100.1	0.572 8	13.93	0.555 8	1.141	102.3		
	99.9	0.571 6	13.95	0.556 6	1.125	99.4		
	100.5	0.575 1	14.00	0.558 6	1.142	101.4		
	99.8	0.571 1	14.05	0.560 6	1.108	95.8		
	100.0	0.572 2	13.98	0.557 8	1.122	98.5		
补骨脂二氢黄酮甲醚	100.2	0.765 0	14.10	0.785 4	1.538	98.4	98.0	1.4
	100.1	0.764 3	13.93	0.775 9	1.521	97.5		
	99.9	0.762 8	13.95	0.777 0	1.527	98.4		
	100.5	0.767 3	14.00	0.779 8	1.549	100.3		
	99.8	0.762 0	14.05	0.782 6	1.525	97.4		
	100	0.763 5	13.98	0.778 7	1.512	96.1		
补骨脂酚	100.2	6.143 0	14.10	6.035 0	12.290	101.8	103.0	2.8
	100.1	6.137 0	13.93	5.962 0	12.170	101.1		
	99.9	6.125 0	13.95	5.971 0	12.340	104.1		
	100.5	6.162 0	14.00	5.992 0	12.670	108.6		
	99.8	6.119 0	14.05	6.013 0	12.360	103.8		
	100.0	6.131 0	13.98	5.983 0	12.150	100.6		

2.2.7 含量测定 取 12 批补骨脂饮片,按 2.2.2 项下方法制成供试品溶液,用混合对照品和补骨

脂对照提取物按 2.1.1 项下色谱条件测定 7 种成分含量,结果见表 7。

表 7 12 批补骨脂饮片中 7 种成分的含量测定

Table 7 Determination of seven components content in 12 batch Psoraleae Fructus

mg · g<sup>-1</sup>

No.	混合对照品							对照提取物						
	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂甲素	补骨脂定	补骨脂乙素	补骨脂二氢黄酮甲醚	补骨脂酚	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂甲素	补骨脂定	补骨脂乙素	补骨脂二氢黄酮甲醚	补骨脂酚
1	4.18	3.87	24.6	2.44	5.81	7.74	62.5	4.10	3.97	24.3	2.41	5.72	7.64	61.3
2	3.27	3.05	25.6	3.21	7.03	8.57	61.6	3.19	3.07	25.3	3.21	6.93	8.46	60.4
3	3.24	3.15	18.6	2.31	3.15	5.60	54.2	3.15	3.18	18.1	2.28	3.05	5.52	52.8
4	2.30	1.99	30.9	2.22	7.47	9.15	83.3	2.21	1.91	30.6	2.18	7.38	9.04	82.6
5	3.08	2.80	21.8	2.02	6.40	7.95	64.1	3.00	2.81	21.4	1.98	6.31	7.85	63.0
6	4.32	3.96	22.5	2.39	4.71	6.47	59.9	4.25	4.08	22.1	2.36	4.61	6.38	58.7
7	4.23	3.74	17.6	1.89	4.27	5.43	50.6	4.16	3.83	17.1	1.84	4.18	5.35	49.1
8	2.60	2.07	32.7	2.02	8.02	8.95	81.2	2.51	2.01	32.4	1.96	7.93	8.84	80.4
9	3.39	2.75	28.6	3.68	6.95	10.9	72.0	3.31	2.74	28.4	3.70	6.86	10.8	71.1
10	4.14	2.92	24.4	2.19	6.92	6.56	66.7	4.07	2.94	24.0	2.16	6.83	6.46	65.6
11	3.19	3.02	18.5	2.27	4.38	6.31	55.3	3.11	3.04	18.0	2.23	4.29	6.22	53.9
12	3.14	2.46	31.9	2.68	7.20	10.2	76.4	3.06	2.43	31.7	2.66	7.11	10.1	75.5

2.3 含量测定结果相似度比较<sup>[1]</sup> 将对照提取物法测定的 12 批补骨脂饮片中 7 种成分含量与采用对照品法测定的结果进行比较,2 种测定方法所得

数据间的 RSD < 3%,见表 8,并且低于方法学考察中的重复性的 RSD,表明 2 种方法的测定结果之间没有显著性差异。

表 8 2 种测定方法 7 种成分含量测定结果及重复性 RSD

项目	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂甲素	补骨脂定	补骨脂乙素	补骨脂二氢黄酮甲醚	补骨脂酚
2 种方法含量	1.2~2.9	0.0~2.7	0.5~2.0	0.0~1.9	0.8~2.2	0.8~1.1	0.6~2.0
对照品测定法重复性	2.9	2.8	2.2	2.6	2.7	2.2	2.4
对照提取物测定法重复性	3.0	2.1	2.6	2.4	2.7	2.2	2.5

### 3 讨论

本实验所测的补骨脂中 7 种成分,包括了 2015 年版《中国药典》中补骨脂含量测定项下的补骨脂素和异补骨脂素,除此之外的对照品供应少且售价高,采用补骨脂对照提取物进行这 7 种成分的含量测定可解决上述对照品稀缺问题,同时简化了实验步骤,节约实验成本。本实验同时测定的 7 种成分包含了补骨脂中主要的香豆素类、黄酮类和单萜酚类化合物,补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂定属于香豆素类,补骨脂甲素、补骨脂乙素和补骨脂二氢黄酮甲醚属于黄酮类、补骨脂酚属于单萜酚类,同时测定这 7 中成分可以更全面地评价补骨脂质量。

关于补骨脂对照提取物制备工艺的研究,实验前期通过单因素考察了不同体积分数乙醇(50%, 70%, 90%, 100%),不同提取时间(1, 2, 3 h),不同溶剂倍数(10, 20, 30 倍),不同上样量(1:50, 2:50, 3:50, 4:50)。得出最佳工艺为补骨脂药材粉碎,过 50 目筛,用 10 倍量 70% 乙醇,回流提取 2 次,每次 1 h,将提取液旋蒸浓缩至无醇,加水混悬、乙酸乙酯萃取 3 次,浓缩干法拌硅胶,以 1:50 上样。

对照提取物在现代中药质量控制中占有很重要的地位,具有价格低廉、专属性高、配制简便等优点,为中药多成分含量测定提供了方法。本实验建立了补骨脂对照提取物高效液相测定法,可同时测定补骨脂饮片中 7 种成分含量,并且通过与对照品测定结果对比无显著性差异,说明补骨脂对照提取物可以代替对照品用于补骨脂饮片的质量控制。

#### [参考文献]

[1] 薛翠娟,章军,荆文光,等. 对照提取物法测定葛根饮片中 5 种成分含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(16): 2388-2391.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M].

北京:化学工业出版社,2005:271-285.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:187-188,343.

[4] 何风艳,戴忠,何轶,等. 西红花苷对照提取物的研究及其在西红花饮片质量控制中的应用[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(12): 2378-2382.

[5] 周超,何佚,鲁静,等. 黄芪异黄酮对照提取物的制备及其在黄芪药材含量测定中的应用[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(3): 523-528.

[6] 丁黎艳,周璐,王丽娜,等. 一测多评法测定补骨脂中不同类型成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5): 152-154.

[7] 王京辉,陈晶,王萌萌,等. 银杏叶对照提取物中 7 种黄酮醇苷类化合物的定量研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(2): 4018-4021.

[8] 邓仕任,蔡明宸,夏林波,等. 火麻仁薄层色谱鉴别用对照提取物的研制与应用[J]. 广州化工, 2016, 44(5): 71-73.

[9] 陈莹,吴玥,宋金春. 补骨脂化学成分及生物活性研究进展[J]. 实用药物与临床, 2016, 19(9): 1184-1188.

[10] 高倩倩,颜翠萍,翁泽斌,等. 补骨脂盐炙前后含药血清对成人成骨细胞的影响[J]. 中成药, 2015, 37(7): 1402-1406.

[11] 高倩倩,翁泽斌,颜翠萍,等. 补骨脂中 9 种黄酮类化合物的构效关系及对绝经后妇女成骨细胞的增殖、分化活性研究[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(16): 1397-1401.

[12] 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.

[13] 殷放宙,李林,李伟东,等. 多指标正交法优选盐制补骨脂饮片的炮制工艺[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(3): 346-349.

[责任编辑 顾雪竹]