

# 超声-UPLC法测定补骨脂中 补骨脂素和异补骨脂素

李凯<sup>1</sup>, 牛乐<sup>1</sup>, 李赫宇<sup>2</sup>, 贾利利<sup>1</sup>, 张振凌<sup>1\*</sup>

(1. 河南中医学院 药学院, 河南 郑州 450008; 2. 天津市益倍建生物技术有限公司, 天津 300457)

**摘要:** 补骨脂是我国用于生产各种保健品的传统原料之一, 其主要活性成分为补骨脂素和异补骨脂素。本实验改进中国药典补骨脂项下补骨脂素和异补骨脂素含量测定方法。采用 C<sub>18</sub>ODS 色谱柱(1.8 μm, 4.6 mm×50 mm), 流动相乙腈-水(35:65), 流速 0.5 mL/min, 检测波长 246 nm, 测定药典法和超声法制备补骨脂供试品溶液中补骨脂素和异补骨脂素含量。5 min 内补骨脂素、异补骨脂素分离良好。在相应浓度范围内 2 种化合物的线性关系良好,  $r > 0.9997$ ; 精密程度 RSD ≤ 2%; 平均加样回收率为 >99%。超声法与索氏提取法相比无显著性差异(P > 0.05)。该方法操作简便, 节省时间和溶剂, 为补骨脂中补骨脂素、异补骨脂素的分析提供了一种简便快速的新手段。

**关键词:** 补骨脂; 补骨脂素; 异补骨脂素; 超声法

## Determination of Psoralen and Isopsoralen in *Psoralea corylifolia* by Ultrasonic-UPLC

LI Kai<sup>1</sup>, NIU Le<sup>1</sup>, LI He-yu<sup>2</sup>, JIA Li-li<sup>1</sup>, ZHANG Zhen-ling<sup>1\*</sup>

(1. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan, China;

2. Tianjin Ubasichealth Nutrition Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

**Abstract:** To improve the Chinese pharmacopoeia method for determination of *Psoralea corylifolia*. C<sub>18</sub>ODS column (1.8 μm, 4.6 mm × 50 mm) was adopt, the mobile phase was composed of acetonitrile and water (35:65) at flow rate of 0.5 mL/min, detective wavelength was 246 nm. Psoralen and isopsoralen in test solution prepared by pharmacopoeia and ultrasonic method was determined. Psoralen and isopsoralen was well separated in 5 min. The two kinds of compounds was well linear correlated within corresponding concentration range,  $r > 0.9997$ ; RSD ≤ 2%; average recovery >99%. There is no significant difference between ultrasonic method and Soxhlet extraction. The method significantly saved analysis time and solvent, and provided a simple, fast means for determination of psoralen and isopsoralen.

**Key words:** *Psoralea corylifolia*; psoralen; isopsoralen; ultrasonic method

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>, 具有温肾助阳、纳气、止泻的功效。目前补骨脂广泛应用于各种独具功能的营养保健品的生产。研究证明补骨脂素和异补骨脂素具有抗氧化, 促进皮肤色素增生, 抗肿瘤活性, 抗病毒和影响代谢的作用, 是独具功能的营养因子<sup>[2-3]</sup>。

基金项目: 河南中医学院博士基金项目(BSJJ2010-06)

作者简介: 李凯(1982—), 男(汉), 讲师, 博士, 研究方向: 中药炮制与中药制剂相关性研究。

\* 通信作者: 张振凌(1957—), 女(汉), 教授, 本科, 研究方向: 中药炮制学教学与研究工作。

2010 版中国药典收录的补骨脂含量测定用样品的制备方法为索氏提取法, 流动相为甲醇-水(45:55)<sup>[1]</sup>, 该方法操作复杂, 耗时较长, 不利于大量样品的分析。超高效液相色谱(UPLC)分析速度更快, 流动相使用更省, 广泛应用于分析领域的食品、药品、环境等样品检测。本文采用超声-UPLC 法改进中国药典色谱方法, 并测定比较了超声法和药典法制备补骨脂供试品溶液含量。

## 1 仪器及试剂

LC-20 型高效液相色谱仪(UV 检测器): 日本岛

津);MettlerAE240 型十万分之一电子天平:德国梅特勒公司;Sartorius BS210S 型万分之一电子天平:德国赛多利斯。

补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所,110739-200814);异补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所,110738-201012);乙腈(Dikmapure,HPLC);双蒸水。

补骨脂药材来源见表2。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:安捷伦-C<sub>18</sub>ODS 色谱柱(1.8 μm, 4.6 mm×50 mm);流动相:乙腈-水(35:65);流速 0.5 mL/min;检测波长 246 nm;柱温:30 ℃;进样量 2 μL。

### 2.2 对照品溶液的制备

十万分之一天平精密称取经五氧化二磷干燥的补骨脂素、异补骨脂素适量,置 10 mL 量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀即得浓度分别为 186 μg/mL 和 190 μg/mL 的对照品混合储备液。

### 2.3 供试品溶液的制备

#### 2.3.1 药典法供试品溶液的制备

取本品粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇 50 mL,加热回流提取 2 h,放冷,转移至 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

#### 2.3.2 超声法供试品溶液的制备

取本品粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 100 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL,置 5 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

### 2.4 线性关系考察

分别吸取对照品混合储备液适量,由高至低依次用甲醇稀释至标准曲线所需 6 个浓度,以补骨脂素、异补骨脂素峰面积为纵坐标,补骨脂素、异补骨脂素质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,其回归方程分别为  $Y = 2731.3X - 79.4, r = 0.9999$ ;  $Y = 3926.3X - 1047.2, r = 0.9997$ 。补骨脂素在 1.86 μg/mL~186 μg/mL,异补骨脂素在 1.90 μg/mL~190 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.5 仪器精密度试验

取同一份混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件在同 1 天内连续重复进样 5 次,测得日内精密度。再取

同一份混合对照品溶液按上述色谱条件连续 3 d 重复进样 2 次,测得日间精密度。以峰面积计算,补骨脂素和异补骨脂素的日内 RSD 分别为 1.08 % 和 1.34 %;日间 RSD 分别为 1.92 % 和 1.47 %,结果表明仪器精密度良好。

### 2.6 重复性试验

精密称取同一批次样品 6 份,按 2.3.2 项下方法分别提取,按 2.1 项下色谱条件分析测定。补骨脂素和异补骨脂素的平均质量分数分别为 0.62 % 和 0.30 %,RSD 分别为 0.98 % 和 1.03 %,样品重复性良好。

### 2.7 中间精密度试验

以在不同日期、不同实验人员按 2.3.2 项下方法制备 6 份供试品溶液,对同一样品分别测定。测得补骨脂素和异补骨脂素的平均质量分数分别为 0.62 % 和 0.30 %,RSD 分别为 1.32 % 和 1.57 %,该方法的中间精密度良好。

### 2.8 稳定性试验

将样品按 2.3.2 项下方法制备成供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12、24 h 进行测定,结果表明,补骨脂素和异补骨脂素在 24 h 内稳定,其含量的 RSD 分别为 2.19 % 和 1.77 %。

### 2.9 回收率试验

精密称取 6 份已知含量的药材粉末 0.5 g,精密加入补骨脂素和异补骨脂素对照品适量,同 2.3 项下方法制备供试品溶液。结果补骨脂素和异补骨脂素平均加样回收率分别为 99.14 % 和 99.27 %,RSD 分别为 1.43 % 和 1.20 %,见表 1。

表 1 加样回收率试验结果  
Table 1 Results of recovery test

化合物	样品号	取样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
补骨脂素	1	0.499 8	3.10	3.05	6.14	99.71	99.14	1.43
	2	0.498 0	3.09	3.10	6.13	98.14		
	3	0.500 2	3.10	3.07	6.12	98.33		
	4	0.501 3	3.11	3.05	6.21	101.70		
	5	0.499 1	3.09	3.08	6.11	97.91		
	6	0.498 3	3.09	3.15	6.21	99.06		
异补骨脂素	1	0.499 8	1.50	1.45	2.93	98.79	99.27	1.20
	2	0.498 0	1.50	1.46	2.94	98.67		
	3	0.500 2	1.50	1.50	2.99	99.29		
	4	0.501 3	1.50	1.46	2.97	100.46		
	5	0.499 1	1.50	1.47	2.98	100.82		
	6	0.498 3	1.50	1.53	2.99	97.62		

### 2.10 结果

分别精密称取不同批次的 8 个补骨脂商品药材

样品粉末各 6 份,每份 0.5 g,分别按照 2.3.1 项下制备药典法供试品溶液和 2.3.2 项下制备超声法供试品溶液,测定峰面积,其典型色谱图见图 1,根据标准曲线计算其含量,见表 2。

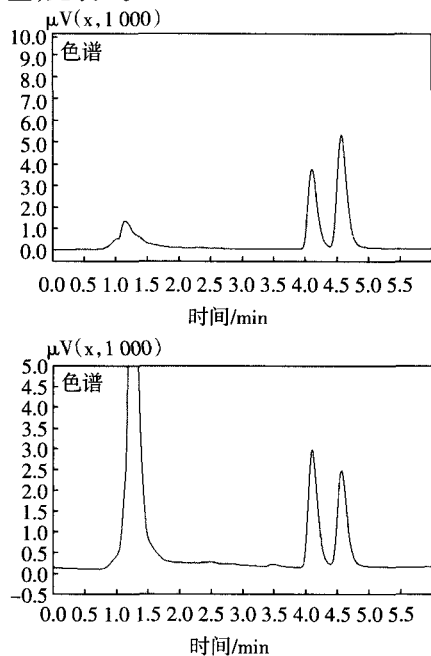


图 1 补骨脂素和异补骨脂素典型色谱图

Fig.1 Typical chromatograms of psoralen and isopsoralen

表 2 药典法和超声法制备样品的含量测定结果(n=3)

Table 2 Determination of different parts samples by pharmacopoeia and ultrasonic method

样品号	药材来源	药典法/%	超声法/%
1	安徽亳州	0.92	0.92
2	安徽亳州	4.54	4.69
3	河南禹州	3.94	3.99
4	河南平顶山	4.31	4.46
5	河南兰考	3.55	3.57
6	河北安国	2.73	2.70
7	陕西	2.05	2.19
8	四川荷花池	4.47	4.54

采用配对 t 检验,计算  $t_{0.052}(7) < 2.3646$ ,即  $P > 0.05$ ,说明药典法与超声法所测定的补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素含量无显著性差异。

### 3 讨论

2010 版中国药典<sup>[1]</sup>收录的制备补骨脂供试品溶液的方法为索氏提取法,该方法操作复杂,过程繁琐,对操作者要求较高,且供试品溶液制备时间长达 2 h。而本实验所采用的超声法提取时间只需 0.5 h,大大缩短了时间。

也有文献报道,可采用微波萃取法作为补骨脂供试品溶液的方法<sup>[4]</sup>。但目前微波萃取设备尚不成熟,该方法相比超声法来讲,适用性就显得较差。因此,从简便操作,节约时间,方法适用性的角度考虑,我们认为目前超声法是替代操作繁琐的索氏提取法最佳方法。

同时,本实验还改进了色谱条件,采用粒度更小的快速分离高通量色谱柱,在流速 0.5 mL/min 情况下,分离时间由药典方法的 15 min 左右缩短为 5 min,即节省溶剂,又缩短分析时间,有利于大量样品的分析。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 174
- [2] 吴少华, 张仲海, 赵建斌. 补骨脂素体内外抗癌活性的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(5): 303-306
- [3] 郭秀芝, 刘卫萍, 杨杰. 补骨脂的药理活性及其开发利用[J]. 中医药学报, 2005, 33(5): 52-53
- [4] 卢彦芳, 安静, 蒋晔. 微波萃取快速分析补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(9): 1158-1161

收稿日期: 2013-02-18