

高效液相色谱法测定药材及中成药中 补骨脂素与异补骨脂素含量

第三军医大学西南医院药剂科(重庆 630038) 刘松青* 马文秀 唐先哲 成丹**

摘要 用高效液相色谱法测定补骨脂及其中成药中补骨脂素和异补骨脂素含量。用甲醇-水(6:40, v/v)作流动相,在 μ -Bondapak C₁₈柱上,两成分能较好地分离。用甲醇作提取溶剂,超声振荡提取30min,分析了市售补骨脂及3种含补骨脂的中成药,方法简便,精密度较高。

关键词 补骨脂 补骨脂素 异补骨脂素 中成药 HPLC

补骨脂系豆科植物补骨脂*Psoralea corylifolia* L.的干燥成熟的果实,性温,味辛,具有温暖水土,补肾助阳,升达脾胃之功效^[1]。有致光敏、抗菌、止血、雌激素样作用^[2],广泛应用于中成药中。补骨脂素和异补骨脂素为补骨脂的主要活性成分^[3],本文拟定反相高效液相色谱法,既可测定补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素的含量,又可测定中成药中补骨脂素和异补骨脂素的含量。实验中对提取溶剂和提取时间进行了考察,方法选择性好、快速、重现性好。

1 仪器与试剂

仪器:美国Waters 810 高效液相色谱系统(包括510泵,484可变波长紫外检测器, μ 6k进样器,Baseline 810计算机控制及处理系统)。H66025超声清洗机(无锡市超声电子设备厂)。

试剂:对照品:补骨脂素、异补骨脂素(中国药品生物制品检定所)。补骨脂(市售)、白蚀丸(广州中药一厂),白癜风胶囊(天津市第五中药厂),补骨脂酊(西南医院药局),甲醇为色谱纯,苯和无水乙醇皆为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱为 μ -Bondapak C₁₈柱(300mm×4mm, 10 μ m);流动相为甲醇-水(60:40, V/V),流速:1.2ml/min,检测波长:245nm,柱温:32±1°C;灵敏度:0.005AUFS;进样量:20 μ l。

3 标准曲线制备

分别精密称取补骨脂素5mg和异补骨脂素4.8mg于100ml容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得0.05mg/ml的补骨脂素溶液和0.048mg/ml的异补骨脂素溶液。

分别精密量取0.05mg/ml的补骨脂素溶液和0.048mg/ml异补骨脂素溶液1、2、3、4、5ml于10ml容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,在上述色谱条件下,分别进样20 μ l,测定峰面积。以进样量(X)对峰面积(R)回归得补骨脂素回归方程为:

$$X = -0.00304 + 2.165 \times 10^{-7} \times R (r = 0.9998)$$
。异补骨脂素回归方程为:
$$X = -0.00113 + 2.174 \times 10^{-7} \times R (r = 0.9998)$$
。

4 样品提取条件的选择

4.1 提取溶剂的选择:分别精密称取补骨脂药材粗粉(过40目筛,下同)适量于25ml容量

*Address: Liu Songqing, Department of Pharmacy, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing

**贵阳中医学院93届毕业生

瓶中，各加甲醇，无水乙醇，苯至刻度，用超声波振荡提取30min，静置。分别精密量取上清液1.5ml于10ml容量瓶中，加入甲醇至刻度摇匀，进样。结果见表1。

表1 不同提取溶剂实验结果 (n=3)

溶 剂	甲 醇		无 水 乙 醇		苯	
成 分	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂素	异补骨脂素
X (μg)	0.4074	0.4071	0.3363	0.3477	0.3808	0.3805
百分含量 (%)	0.6790	0.6783	0.5605	0.5796	0.6343	0.6339
CV (%)	3.3	1.5	0.78	1.1	0.74	1.3

4.2 提取时间的选择：分别精密称取补骨脂药材粗粉适量于25ml容量瓶中，加甲醇至刻度，分别超声振荡提取20、30、40、50min后取出，静置。分别精密量取上清液1.5ml于10ml容量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，进样。结果见表2。

表1、2实验结果表明，以甲醇为溶剂，超声波振荡30min，提取效果最佳。

表2 不同提取时间实验结果 (n=3)

超声时间	20min		30min		40min		50min	
成 分	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂素	异补骨脂素
X (μg)	0.4010	0.4011	0.4074	0.4071	0.4044	0.4080	0.4019	0.4015
百分含量 (%)	0.6680	0.6685	0.6790	0.6783	0.6799	0.6799	0.6694	0.6691
CV (%)	3.4	1.8	3.3	1.5	2.8	2.0	1.6	1.9

5 实验结果

5.1 色谱行为：在本文的色谱条件下，补骨脂素、异补骨脂素及生药中其它成分分离良好，结果见图。

5.2 回收率试验：取已知含量的补骨脂生药粗粉6份，精密称定。精密加入补骨脂和异补骨脂素，按所选定样品提取条件进行操作，测定，根据各自回归方程计算其含量，求得回收率：补骨脂素为97.4%，CV=1.1% (n=6)，异补骨脂素为99.9%，CV=1.3 (n=6)。

5.3 样品测定结果：白蚀丸于乳钵中研碎，并使全部通过40目筛，白癜风胶囊除去胶囊，分别精密称取白蚀丸药粉、白癜风药粉、补骨脂药材粗粉适量于25ml容量瓶中，加甲醇至刻度，用超声波振荡提取30min，静置。分别精密量取上清液1.5ml于10ml容量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，进样，测定含量。

精密量取补骨脂酊0.5ml于容量瓶中，加甲醇到刻度，摇匀，进样，测定，结果见表3。

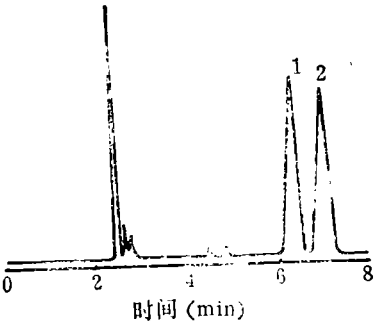


图 样品色谱图

1-补骨脂素 2-异补骨脂素

与加入量计算回收率。结果回收率为101.2%，
CV = 3.88% (n = 3)。

7 讨论

7.1 由于中药橡皮膏多系大复方，含药量少，基质组成复杂，且基质与其它成分对指标性成分的测定会产生干扰，过去很少进行指标性成分的定量检测，故有关报道资料少。本实验采用萃取法提取硫酸阿托品，是经过多次反复的摸索和试验总结出的一种较为合适的方法。经过反复处理，排除了层析过程中因基质和其它成分产生的干扰。该法简便快速，回收率稳定，便于制剂工艺考察和质量控制。

7.2 在层析过程中，展开剂中氨的使用量对样品分离影响很大。样品中阿托品是以游离状态存在的，展开剂中氨量过少时，碱性弱不足以克服硅胶的酸性，使斑点拖尾严重，若氨量过大，则容易使斑点随溶剂推向前沿，分离效果差。经反复摸索，对于高效硅胶G板，以展开剂氯仿-丙酮-甲醇-氨(70 : 10 : 15 : 1)分离效果最佳。由于氨极易挥发，因而展开剂必须随用随配。

7.3 阿托品经显色后，斑点在空气中不稳定，加盖玻璃板密封，4h内斑点颜色一直稳定。
(1994-02-01 收稿)

(上接第356页)

表3 样品含量测定结果 (n=3)

样 品	补 骨 脂		白 蚀 丸		白 癜 风		补骨脂酊	
	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂素	异补骨脂素
X (μg)	0.4074	0.4071	0.1520	0.1758	0.02792	0.02824	0.3472	0.3433
百分含量 (%)	0.6790	0.6783	0.2538	0.2923	0.1160	0.1174	0.1736	0.1717
CV (%)	3.3	1.5	2.8	1.3	0.63	3.1	2.07	2.14

6 讨论

6.1 采用高效液相色谱法测定中成药中2成分含量，具有样品预处理简单、出峰时间短、灵敏、准确等优点。

6.2 文献报道〔2〕用苯作为补骨脂的提取溶剂，但在本文所采用的色谱条件下，苯在16min左右出峰，延长了分析时间，另外提取效果不如甲醇，不宜采用。我们选用了甲醇作为提取溶剂，效果较好，且甲醇提取液的色谱图亦较为简单。

6.3 本实验中采用超声振荡提取较其它提取方法有提取完全，快速，简便等优点。

6.4 在以流动相作介质时，补骨脂素和异补骨脂素最大紫外吸收波长均为245nm，为增加检出灵敏度，故选用245nm为检测波长。

6.5 取补骨脂2个浓度的标准液连续进样6次，测得日内变异系数补骨脂素小于1.5%，异补骨脂素小于1.6%。在低温冰箱(-18℃)中保存2d后，连续进样6次，测得日间变异系数补骨脂素小于1.8%，异补骨脂素小于2.0%，表明本法测定补骨脂素的含量重现性好，稳定性高，能满足分析的需要。

参 考 文 献

1 江苏新医学院编.中药大辞典.上册.上海:上海人民出版社, 1977.1177

2 黄新生,等.中药通报, 1987, 12(1): 26

3 吴 焕.中草药通讯, 1978, (10): 32

(1993-08-07收稿)

by TLC-Scanning Method

Cai Meiming

TLC-scanning method for the quantitative determination of arteannuin in liposomes and dextrans was developed. The method is simple, accurate and sensitive. The recoveries were found to be 98.0% and 96.8%.

(Original article on page 353)

Determination of Psoralen and Isopsoralen in Malaytea Scurfpea

(*Psoralea corytifolia*) and Chinese Traditional Patent Medicine by HPLC

Liu Songqin, Ma Weaxiu, Tang Xianzhe, et al

A HPLC method was established for the determination of psoralen and isopsoralen in *Psoralea corytifolia* L. and its preparations. Psoralen and isopsoralen can be separated on μ -Bondapak C₁₈ column with a mobile phase of MeOH-H₂O (6:4) and detected at 245nm. The optimum conditions based on experimental results was to extract the sample by MeOH in an ultrasonicator for 30 min. The method is simple and accurate.

(Original article on page 355)

Oxymatrine's Effects on Lymphocyte's Proliferation

Wang Huixian, Zhang Linghua, Du Shouying, et al

Oxymatrine is an alkaloid from Traditional Chinese Medicine, *Sophora flavescens* Ait. which has many pharmacological effects. We studied the effects of oxymatrine on the proliferation of human tonsillar cells and mouse splenocytes with or without mitogens. The results show that, oxymatrine can augment the proliferation of the human tonsillar cells which show low PHA & tSAC response capacity. On the other hand, oxymatrine can inhibit the proliferation of the human tonsillar cells which show high PHA & SAC responses capacity. The effects of oxymatrine on mouse splenocytes are the same with the latter.

(Original article on page 362)

Protective Effects of Sophoramine on Acute Myocardial Infarction and Reperfusion Injury in Conscious Rats

Jin Ying, Wang Xiaodong, et al

The effects of sophoramine (SA) on myocardial infarction size and ischemia-induced and reperfusion-induced arrhythmia were studied in conscious rats. It was found that pretreatment with SA 13.3 and 15 mg/kg iv reduced significantly infarct size and cardiac LDH release at 6 h after left descending coronary artery ligation as compared with the control. SA 10.6, 13.3 and 15 mg/kg iv decreased markedly the early ischemic arrhythmia in conscious rats. Amiodarone 7.5mg·kg⁻¹ had the same effects on the prevention of ischemic arrhythmia. In reperfusion experiment, it decreased the incidence of ventricular fibrillation and significantly shortened the duration of arrhythmias. These results suggest that SA has protective effects on myocardial ischemia and reperfusion injury.

(Original article on page 364)