

表 3 方差分析结果表

Table 3 Results of variance analysis

方差来源	D_j	B_j	b_j	S_j	F_j	P
x_0	30	542.56	18.09	9 814.91	—	—
x_1	21.91	3.68	0.17	0.63	11.81	<0.01
x_2	21.91	2.34	0.11	0.26	4.88	—
x_3	21.91	-0.88	-0.04	0.035	0.66	—
x_4	21.91	5.42	0.25	1.36	25.50	<0.01
x_5	21.91	21.67	0.99	21.45	402.19	<0.01
x_1x_2	16	-6.13	-0.38	2.33	43.69	<0.01
x_1x_3	16	-1.53	-0.096	0.15	2.81	—
x_1x_4	16	-10.05	-0.63	6.33	118.69	<0.01
x_1x_5	16	2.73	0.17	0.46	8.63	<0.05
x_2x_3	16	-8.35	-0.52	4.34	81.38	<0.01
x_2x_4	16	11.53	0.72	8.30	155.63	<0.01
x_2x_5	16	-1.89	-0.12	0.23	4.31	<0.01
x_3x_4	16	7.77	0.49	3.81	71.44	<0.01
x_3x_5	16	-3.37	-0.21	0.71	13.31	<0.01
x_4x_5	16	-4.57	-0.29	1.33	24.94	<0.01
x_1'	17.45	-7.98	-0.46	3.67	68.81	<0.01
x_2'	17.45	-4.40	-0.25	1.10	20.63	<0.01
x_3'	17.45	-5.38	-0.31	1.67	31.31	<0.01
x_4'	17.45	-6.74	-0.39	2.63	49.31	<0.01
x_5'	17.45	-5.11	-0.29	1.49	27.94	<0.01

$F_{0.05}(1,3)=10.13$ $F_{0.01}(1,3)=34.12$

$z_2z_3 + 0.007 2 z_2z_4 - 0.003 z_2z_5 + 0.009 8 z_3z_4 - 0.011 z_3z_5 - 0.007 3 z_4z_5 - 0.004 6 z_1^2 - 0.002 5 z_2^2 - 0.012 z_3^2 - 0.003 9 z_4^2 - 0.018 z_5^2$ (2)

对回归方程(2)进行显著性检验,得 $F_{\text{回}}/(S_{\text{回}}/f_{\text{回}})/(S_R/f_R)=17.63 > F_{0.01}(20, 9)=4.80$, 表明方程的置信度为 99%。

$F_{\text{H}}=(S_{\text{H}}/f_{\text{H}})/(S_r/f_r)=4.47 > F_{0.25}(6, 3)=2.42$, 表明方程是失拟的。但由于 $\beta=\frac{S_{\text{H}}}{S} \times 100\%=2.24\%$ 失拟平方和仅占部平方和的 2.24%, 因此可以认为方程基本是不失拟的。

综合考虑各因素之间的影响及交互作用,得到优化的工艺条件:萃取压力 40 MPa, 萃取温度 40

℃;分离 I 压力 5 MPa, 分离 I 温度 45 ℃;分离 II 温度 46 ℃。其计算所得的预测结果为:蛇床子素的质量分数为 22.32%。

2.3.6 回归方程的预测:在上述优化的工艺条件下,蛇床子素的质量分数的优化值的预测区间可以利用 3σ 规则来确定。因为 $\sigma=0.420$, 所以,在优化的工艺条件下,其指标真值在 22.32 ± 1.26 , 即 21.06~23.58, 此时置信度为 99%。

2.3.7 验证试验:依照最优的工艺条件,进行验证试验见表 4。结果与回归方程预测结果基本接近,表明该工艺稳定可行。

表 4 验证试验结果

Table 4 Results of verification tests

No.	试验值/%	预测值/%
1	20.95	
2	21.23	22.32
3	21.05	

References:

- [1] Miyaji S, Yamamoto H. Study of supercritical extraction on the members of medicinal materials [J]. *Pharm J*, 1987, 107 (5): 367-369.
- [2] Wang H B, Ge F H, Li J, et al. Study of supercritical CO₂ extraction on the volatiles from fruits of *Cnidium monnieri* (L.) Cusson [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1996, 19 (2): 84-85.
- [3] Ge F H, Li J, Huang X F, et al. Study the technology of supercritical CO₂ extraction on the extractives from fruits of *Cnidium monnieri* (L.) Cusson [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 2001, 24 (8): 570-571.
- [4] Wang Y H, Zhang R, Li Y Y, et al. Experimental study on orthogonal design for supercritical fluid extraction (SFE) process of *Cnidium* fruit [J]. *Shanxi J Tradit Chin Med* (山西中医), 2005, 21 (3): 51-52.
- [5] Ren L Q. *Experimental Optimum Technique* (试验优化技术) [M]. Beijing: Mechanical Industry Publishing House, 1987.
- [6] Probability Statistics Educational Research Group, Math Department, Shanghai Normal University. *The Regression Analysis and Its Experiments Design* (回归分析及其试验设计) [M]. Shanghai: Shanghai Education Publishing House, 1978.

补骨脂炮制前后补骨脂素和异补骨脂素的变化

郭晏华, 罗志冬, 贾天柱

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 沈阳 110032)

摘要:目的 比较补骨脂炮制前后补骨脂素和异补骨脂素的变化。方法 采用雷公法、盐炙法对 19 个不同来源的补骨脂药材进行了炮制。通过 HPLC 梯度洗脱测定补骨脂炮制前后的补骨脂素和异补骨脂素的量。结果 盐炙法有利于提高脂溶性化合物的总量, 而雷公法提高了补骨脂素和异补骨脂素的量。结论 雷公法和盐炙法使补骨

收稿日期:2006-03-07

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(20052561)

作者简介:郭晏华(1962—),女,湖南省湘潭市人,副教授,在读博士,从事中药质量分析的科研及有机化学的教学工作。

Tel:(024)86870908 E-mail:guoyanhua@sina.com

脂中成分的量发生改变。

关键词: 补骨脂; 炮制; HPLC

中图分类号: R284.1; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)11-1652-03

Comparison of psoralen and isopsoralen between raw *Psoralea corylifolia* and processed ones

GUO Yan-hua, LUO Zhi-dong, JIA Tian-zhu

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

Key words: *Psoralea corylifolia* L.; processing; HPLC

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实, 主产于四川、河南等地, 其主要成分为补骨脂素和异补骨脂素, 一般需炮制入药。补骨脂经炮制后其功效和内在成分的量均发生了改变^[1]。补骨脂炮制方法历来有多种, 但以盐炙法为常见。本实验采用不同的炮制方法, 通过对得到的样品进行炮制前后含补骨脂素和异补骨脂素的量、成分散点图及成分拟和曲线的比较, 探讨炮制前后补骨脂中化学成分量的变化。

1 仪器、材料试剂

高效液相色谱仪: LC-10Atvp (日本岛津), SPD-10Atvp 紫外检测器 (日本岛津), 中北工作站。

补骨脂药材来自 19 个不同地区, 经辽宁中医药大学鉴定教研室翟延军教授鉴定均为补骨脂 *P. corylifolia* L. 的干燥成熟果实。采用盐炙法^[1]并模仿了雷公法^[2]对补骨脂进行炮制, 得补骨脂饮片。

补骨脂素和异补骨脂素对照品 (中国药品生物制品检定所), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) ODS 色谱柱, 甲醇-水从 0 min (25:75) 到 60 min (20:80) 非线性梯度洗脱; 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 330 nm, 柱温为 32 °C。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取补骨脂素和异补骨脂素对照品适量, 以甲醇溶解, 制成含 0.058 2 mg/mL 补骨脂素、0.045 9 mg/mL 异补骨脂素的混合对照品溶液, 备用。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取补骨脂饮片粉末 (过 4 号筛) 0.50 g, 置索氏提取器中, 加入 70 mL 甲醇, 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, 滤液过 0.45 μm 微孔滤膜作为供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性范围考察: 吸取不同质量浓度的混合对

照品溶液, 分别进样 10 μL, 测定峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得线性方程。补骨脂素: $Y = 100\ 006 X + 24\ 945$, $r = 0.999\ 4$, 线性范围: 0.058~0.293 μg; 异补骨脂素: $Y = 931\ 315 X - 2\ 579.2$, $r = 0.999\ 4$, 线性范围: 0.046~0.229 μg。

2.4.2 精密度试验: 精密称取 002 号样品, 制备供试品溶液, 精密吸取 10 μL, 连续进样 5 次, 测定补骨脂素和异补骨脂素的质量分数, 结果补骨脂素的 RSD 为 2.50%, 异补骨脂素的 RSD 为 2.30%。

2.4.3 稳定性试验: 精密称取 002 号样品, 制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、16 h 精密吸取 10 μL 进样, 测定补骨脂素和异补骨脂素的质量分数, 结果表明 16 h 内供试品溶液稳定性良好, 补骨脂素的 RSD 为 0.2%, 异补骨脂素的 RSD 为 0.5%。

2.4.4 重现性试验: 分别精密称取 002 号样品 5 份, 各制备供试品溶液, 精密吸取 10 μL 进样, 测定补骨脂素和异补骨脂素的质量分数, 结果补骨脂素的 RSD 为 2.20%, 异补骨脂素的 RSD 为 1.90%。

2.4.5 回收率试验: 采用加样回收法试验。精密称取 002 号样品 (含补骨脂素 0.728%, 含异补骨脂素 0.521%) 0.5 g 各 5 份, 分别加入补骨脂素对照品溶液 (0.49 mg/mL) 7.0 mL, 异补骨脂素对照品溶液 (0.46 mg/mL) 7.0 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算补骨脂素平均回收率为 96.71%, RSD 为 0.29%, 异补骨脂素平均回收率为 97.20%, RSD 为 0.35%。

2.5 测定: 精密吸取 10 μL 供试品溶液注入液相色谱仪, 采用外标法计算补骨脂素和异补骨脂素的质量分数, 结果见表 1。HPLC 图见图 1。

分别以 19 个生品及炮制品的各 HPLC 色谱峰的相对保留时间对相对保留面积作散点图可以看出, 与生品相比较, 盐炙法使补骨脂中极性较大化合物的量增加, 但雷公法变化不大, 见图 2。

采用多元方差分析方法^[2]对生品和两种炮制品的 HPLC 谱图中各峰的相对保留时间 (X) 及相对保留面积 (Y) 数据进行处理, 分别得拟和曲线方程。生

表 1 不同炮制方法的补骨脂素和异补骨脂素 (n=2)

Table 1 Psoralen and isopsoralen in raw *P. corylifolia* and differently processed ones (n=2)

序号	来源	生品		雷公法		盐炙法	
		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/%
001	沈阳药材市场	1.03	0.78	1.47	1.22	0.83	0.67
002	大连	0.73	0.52	0.74	0.55	0.48	0.40
003	沈阳同仁堂药房	0.49	0.32	0.72	0.53	0.21	0.18
004	兰州	0.42	0.30	0.25	0.20	0.58	0.42
005	山西	0.71	0.43	0.49	0.35	0.65	0.50
006	内蒙古	1.00	0.71	0.93	0.75	0.70	0.54
007	北京	0.70	0.48	0.90	0.66	0.51	0.43
008	昆明	0.56	0.42	0.45	0.35	0.29	0.39
009	陕西	0.61	0.41	0.51	0.39	0.19	0.20
010	吉林	0.79	0.59	0.88	0.71	0.69	0.60
011	厦门	0.41	0.28	0.43	0.30	0.18	0.15
012	四川	0.58	0.40	0.55	0.37	0.21	0.21
013	贵州	0.68	0.44	0.71	0.51	0.37	0.28
014	抚顺	1.16	0.86	1.03	0.86	0.92	0.70
015	东莞	0.70	0.53	0.87	0.64	0.35	0.31
016	深圳	0.97	0.78	0.85	0.61	0.44	0.38
017	海口	0.77	0.51	0.78	0.48	0.51	0.39
018	广州	0.80	0.59	0.62	0.46	0.56	0.39
019	宁夏	0.72	0.53	0.80	0.59	0.47	0.38

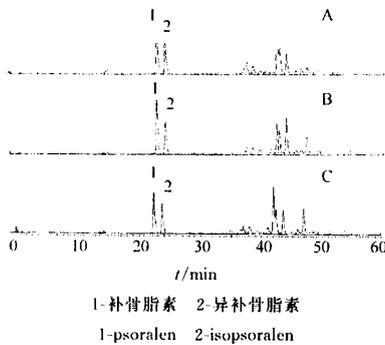


图 1 四川成都产补骨脂生片(A)、雷公片(B)和盐炙片(C)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of *P. corylifolia* from Chengdu, Sichuan Province for raw *Psoraleae* pieces (A), Leigong pieces (B), and pieces roasted with salt (C)



图 2 补骨脂生片(A)、雷公片(B)和盐炙片(C)的散点图

Fig. 2 Scatter of *P. corylifolia* for raw *Psoraleae* pieces (A), Leigong pieces (B), and pieces roasted with salt (C)

品: $Y = 0.023 6e^{0.562 5 X}$; 雷公法: $Y = 0.013 8e^{0.825 X}$; 盐炙法: $Y = 0.032 7e^{0.527 7 X}$ 。

比较生品曲线和盐炙法曲线方程,由于二者回归系数相近,但盐炙的常数项大于生品,表明在相同的相对保留时间下,盐炙法的量大于生品。将盐炙法曲线与雷公法曲线相比较也可得到相同的结果。但

雷公法曲线与生品曲线变化不大。这种结果与散点图的结果一致。从该统计处理结果可以看出,雷公法能适量提高补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素的量,而盐炙法将使总成分的量提高。

3 讨论

生品及不同炮制品中含补骨脂素和异补骨脂素的量结果表明:雷公法所得炮制品中补骨脂素量与异补骨脂素量与生品比较略有升高,而盐炙品中补骨脂素与异补骨脂素量与生品比较降低明显。目前药典中的盐炙法是综合考虑了药理、化学成分的结果,是否与总成分的量提高有关值得探讨。

为达到色谱峰的基线分离,根据补骨脂的紫外图谱,分别在波长为 246、295、320、330、360 nm 进行了色谱峰的测定,结果显示在波长为 330 nm 时分离效果比较好。流动相分别采用了乙腈-水,等体积的甲醇、乙腈-水的梯度洗脱,结果表明以甲醇-水作为流动相较好。

补骨脂的炮制机制目前还不是十分的清楚,尤其是炮制过程中成分之间的相互转化机制。以上实验结果说明了不同炮制方法对补骨脂的一类化学成分的影响,在补骨脂的炮制过程中存在补骨脂素和异补骨脂素量上的改变。这些炮制后量上变化的物质的改变机制以及与其功效关系值得进一步的探讨。

References:

[1] Yao X Z, Sheng H, Fu H Y, The comparison of pharmacological effect for primary processed sample of *Psoralea* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1996, 21(9): 537-539.
 [2] Gao H X. *Applied Statistics Multivariate Analysis* (应用统计分析) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 2005.