

# HPLC法同时测定丹知青娥片中4种成分的含量<sup>Δ</sup>

杨帆<sup>1,2\*</sup>, 于卉娟<sup>1,2</sup>, 王亚静<sup>1</sup>, 杨君君<sup>1,2</sup>, 张波泳<sup>1,2</sup>, 王跃飞<sup>1,2#</sup>, 柴欣<sup>1,2</sup> (1.天津中医药大学中医药研究院/天津市现代中药重点实验室, 天津 300193; 2.天津国际生物医药联合研究院中药新药研发中心, 天津 300457)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)27-3832-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.27.29

**摘要** 目的:建立同时测定丹知青娥片中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂苷、异补骨脂苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Eclipse XDB-C<sub>18</sub>,流动相分别为甲醇-水(51:49, V/V)(等度洗脱分析补骨脂素和异补骨脂素)、乙腈-0.1%甲酸水溶液(12:88, V/V)(等度洗脱分析补骨脂苷和异补骨脂苷),流速为1.0 ml/min,检测波长为246 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂苷和异补骨脂苷的检测质量浓度线性范围分别为3.138~200.8、3.175~203.2、3.181~101.8、3.169~101.4 μg/ml(*r*均为0.999 9);定量限分别为0.627 5、0.635 0、3.181 0、3.169 0 ng,检测限分别为0.251 0、0.254 0、1.273 0、1.268 0 ng;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率分别为95.68%~102.80%(RSD=2.4%, *n*=6)、95.91%~102.10%(RSD=2.3%, *n*=6)、98.64%~99.13%(RSD=0.23%, *n*=6)、100.20%~101.70%(RSD=0.69%, *n*=6)。结论:该方法操作简便、结果准确,可用于同时测定丹知青娥片中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂苷、异补骨脂苷的含量。

**关键词** 丹知青娥片;含量测定;补骨脂素;异补骨脂素;补骨脂苷;异补骨脂苷;高效液相色谱法

## Simultaneous Determination of 4 Components in Danzhi Qing'e Tablet by HPLC

YANG Fan<sup>1,2</sup>, YU Huijuan<sup>1,2</sup>, WANG Yajing<sup>1</sup>, YANG Junjun<sup>1,2</sup>, ZHANG Boyong<sup>1,2</sup>, WANG Yuefei<sup>1,2</sup>, CHAI Xin<sup>1,2</sup> (1.Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine/Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2.Tianjin International Joint Academy of Biotechnology and Medicine, Research and Development Center of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300457, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the contents determination of psoralen, isopsoralen, psoralenoside and isopsoralenoside in Danzhi qing'e tablet. METHODS: HPLC performed on the column of Eclipse XDB-C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-water (51:49, V/V) (isocratic elution, for psoralen and isopsoralen) and acetonitrile-0.1% formic acid (12:88, V/V) (isocratic elution, for psoralenoside and isopsoralenoside) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 246 nm, column temperature was 30 ℃, and injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 3.138-200.8 μg/ml for psoralen (*r*=0.999 9), 3.175-203.2 μg/ml for isopsoralen (*r*=0.999 9), 3.181-101.8 μg/ml for psoralenoside (*r*=0.999 9) and 3.169-101.4 μg/ml for isopsoralenoside (*r*=0.999 9); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; limits of quantitation were 0.627 5 ng, 0.635 0 ng, 3.181 0 ng and 3.169 0 ng, the limits of detection were 0.251 0 ng, 0.254 0 ng, 1.273 0 ng and 1.268 0 ng; recoveries were 95.68%-102.80% (RSD=2.4%, *n*=6), 95.91%-102.10% (RSD=2.3%, *n*=6), 98.64%-99.13% (RSD=0.23%, *n*=6) and 100.20%-101.70% (RSD=0.69%, *n*=6), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be used for the simultaneous determination of psoralen, isopsoralen, psoralenoside and isopsoralenoside in Danzhi qing'e tablet.

**KEYWORDS** Danzhi qing'e tablet; Content determination; Psoralen; Isopsoralen; Psoralenoside; Isopsoralenoside; HPLC

丹知青娥片由盐补骨脂、盐杜仲、丹参和知母4味中药材组成,是基于临床经验方开发的中药6类新药。该方在经典名方青娥丸基础上,将核桃仁和大蒜替换为丹参和知母,主要用于妇女更年期综合征的治疗。雌激素样作用是丹知青娥片发挥治疗作用的主要药效机制,因此具有雌激素样作用的化学成分是丹知青娥片的药效物质基础之一。盐补骨脂是丹知青娥片中的重要药材,其含有的补骨脂素和异补骨脂素等具有抗肿瘤和雌激素样作用等<sup>[1-3]</sup>多种药理活性。2015年版《中国药典》(一部)<sup>[4]</sup>规定:盐补骨脂药材“含量测定”项下,以补骨

脂素和异补骨脂素总量为指标进行质量控制。

补骨脂中除了含有补骨脂素和异补骨脂素,还含有大量的补骨脂苷和异补骨脂苷<sup>[5]</sup>。本课题组研究得出补骨脂苷和异补骨脂苷在肠道菌群的代谢作用下发生脱糖基反应生成补骨脂素和异补骨脂素,可导致补骨脂素和异补骨脂素被大量吸收,血药浓度增加,半衰期延长<sup>[6]</sup>;高浓度的补骨脂素和异补骨脂素易导致肝脏损害,因此在提取工艺设计时除去了补骨脂苷和异补骨脂苷,避免口服丹知青娥片后大量生成补骨脂素和异补骨脂素,防止肝脏损害的发生。

因此,本课题组在建立丹知青娥片质量标准的过程中,重点关注了补骨脂可能引起的安全性问题,采用高效液相色谱法(HPLC)同时测定丹知青娥片中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂苷和异补骨脂苷的含量,以期对丹知青娥片的质量控制提供参考。

## 1 材料

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81403060);“重大新药创制”科技重大专项项目(No.2014ZX09304307001)

\* 硕士研究生。研究方向:中药质量分析。电话:022-59596161。E-mail:695068480@qq.com

# 通信作者:副研究员,博士。研究方向:中药药效物质基础及质量控制。E-mail:Wangyuefei\_2006@hotmail.com

## 1.1 仪器

e2695型HPLC仪,包括2998型光电二极管阵列(PDA)检测器、Empower色谱工作站(美国Waters公司);XS 205型十万分之一电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);AL 204型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);HS-6150D型超声波清洗机(天津恒奥科技发展有限公司,功率:150 W,频率:40 kHz);TGL-16C型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);Milli-Q型超纯水系统(美国Millipore公司)。

## 1.2 药品与试剂

丹知青娥片(天津中医药大学实验室自制,编号:S1~S4,规格:0.63 g/片;取S1样品200片粉碎供方法学研究用;取S2~S4样品各20片粉碎供含量测定用);补骨脂素对照品(批号:110739-201115,纯度>98%)、异补骨脂素对照品(批号:110738-201313,纯度>98%)均购自于中国食品药品检定研究院;补骨脂苷对照品(纯度>98%)、异补骨脂苷对照品(纯度>98%)为本课题组实验室自制;甲醇、乙腈均为色谱纯,甲酸为分析纯,水为超纯水。

## 1.3 药材

补骨脂对照药材(批号:121056-200904)购于中国食品药品检定研究院。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(51:49,V/V)[等度洗脱12 min(补骨脂素和异补骨脂素)]、乙腈-0.1%甲酸水溶液(12:88,V/V)[等度洗脱20 min(补骨脂苷和异补骨脂苷)];流速:1 ml/min;检测波长:246 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 ①补骨脂素和异补骨脂素的混和对照品溶液(混合对照品溶液A)。取补骨脂素对照品、异补骨脂素对照品各适量,精密称定,分别置于10 ml棕色量瓶中,加甲醇溶解,稀释至刻度,制成质量浓度分别为1.004、1.016 mg/ml的单一对照品溶液。精密量取上述单一对照品溶液各2 ml,置于同一10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为200.8、203.2 μg/ml的补骨脂素和异补骨脂素混合对照品溶液,置于-20 ℃冰箱中,备用。②补骨脂苷和异补骨脂苷的混合对照品溶液(混合对照品溶液B)。取补骨脂苷对照品、异补骨脂苷对照品各适量,精密称定,分别置于10 ml棕色量瓶中,加甲醇溶解,稀释至刻度,制成质量浓度分别为1.018、1.014 mg/ml的单一对照品溶液。精密量取上述单一对照品溶液各1 ml,置于同一10 ml量瓶中,加75%甲醇稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为101.8、101.4 μg/ml的补骨脂苷和异补骨脂苷混和对照品溶液,置于-20 ℃冰箱中,备用。

2.2.2 供试品溶液 ①供试品溶液A。取样品0.5 g,精密称定,置于25 ml量瓶中,加入适量甲醇,超声提取15 min,取出,放至室温,再用甲醇稀释至刻度,摇匀,以半径为6 cm、14 000 r/min离心10 min,取上清液,即得供试品溶液A,供测定补骨脂素和异补骨脂素用。②供试品溶液B。取样品粉末0.5 g,精密称定,置于25 ml量瓶中,加入75%甲醇适量,超声提取20 min,取出,放至室温,稀释至刻度,摇匀,以半径为6 cm、14 000 r/min离心10 min,取上清液,即得供试品溶液B,供测定补骨脂苷和异补骨脂苷用。

2.2.3 阴性对照溶液 ①阴性对照溶液A。按样品的制备工艺和配方比例取缺补骨脂的阴性样品粉末0.3 g,精密称定,置于25 ml量瓶中,加入适量甲醇,超声提取15 min,取出,放至

室温,用甲醇稀释至刻度,摇匀,以半径为6 cm、14 000 r/min离心10 min,取上清液,即得阴性对照溶液A,供测定补骨脂素和异补骨脂素用。②阴性对照溶液B。按样品的制备工艺和配方比例取缺补骨脂的阴性样品粉末0.25 g,精密称定,置于25 ml量瓶中,加入75%甲醇适量,超声提取20 min,取出,放至室温,用75%甲醇稀释至刻度,摇匀,以半径为6 cm、14 000 r/min离心10 min,取上清液,即得阴性对照溶液B,供测定补骨脂苷和异补骨脂苷用。

2.2.4 对照药材供试品溶液 ①对照药材供试品溶液A。取补骨脂对照药材粉末0.5 g,精密称定,置于25 ml量瓶中,加入适量甲醇,超声提取15 min,取出,放至室温,用甲醇稀释至刻度,摇匀,以半径为6 cm、14 000 r/min离心10 min,取上清液,即得对照药材供试品溶液A,供测定补骨脂素和异补骨脂素用。②对照药材供试品溶液B。取补骨脂对照药材粉末0.5 g,精密称定,置于25 ml量瓶中,加入适量75%甲醇,超声提取20 min,取出,放至室温,用75%甲醇稀释至刻度,摇匀,以半径为6 cm、14 000 r/min离心10 min,取上清液,即得对照药材供试品溶液B,供测定补骨脂苷和异补骨脂苷用。

### 2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液、对照药材供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,各成分均能达到基线分离,分离度均>1.5;理论板数以补骨脂素峰计均≥5 000;补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂苷、异补骨脂苷的保留时间分别约为5.545、6.402、9.937、11.687 min。阴性对照溶液在相应出峰位置无干扰,且供试品溶液、各对照品溶液和对照药材供试品溶液均在相同位置出峰,表明此为补骨脂药材的真实投料。

### 2.4 线性关系考察

(1)取“2.2.1”项下混合对照品溶液A适量,加甲醇逐级稀释2、4、8、16、32、64倍,得到一系列不同质量浓度的混合对照品溶液。精密吸取上述系列混合对照品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得补骨脂素和异补骨脂素的回归方程和线性范围,见表1。(2)取“2.2.1”项下混合对照品溶液B适量,加75%甲醇逐级稀释2、4、8、16、32倍,得到一系列不同质量浓度的混合对照品溶液。精密吸取上述系列混合对照品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得补骨脂苷、异补骨脂苷的回归方程和质量浓度线性范围,见表1。

### 2.5 定量限与检测限考察

分别取“2.2.1”项下两种混合对照品溶液各适量,逐步稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得定量限(LOQ);当信噪比为3:1时,得检测限(LOD),结果详见表2。

### 2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下两种混合对照品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积,测得日内精密度;再按“2.1”项下色谱条件进样测定,连续进样3 d,记录峰面积,测得日间精密度。结果,补骨脂素、异补骨脂素峰面积日内精密度的RSD分别为0.25%、0.17%(n=6);日间精密度的RSD分别为1.3%、1.6%(n=6);而补骨脂苷和异补骨脂苷均未检出。表明仪器精密度良好。

### 2.7 稳定性试验

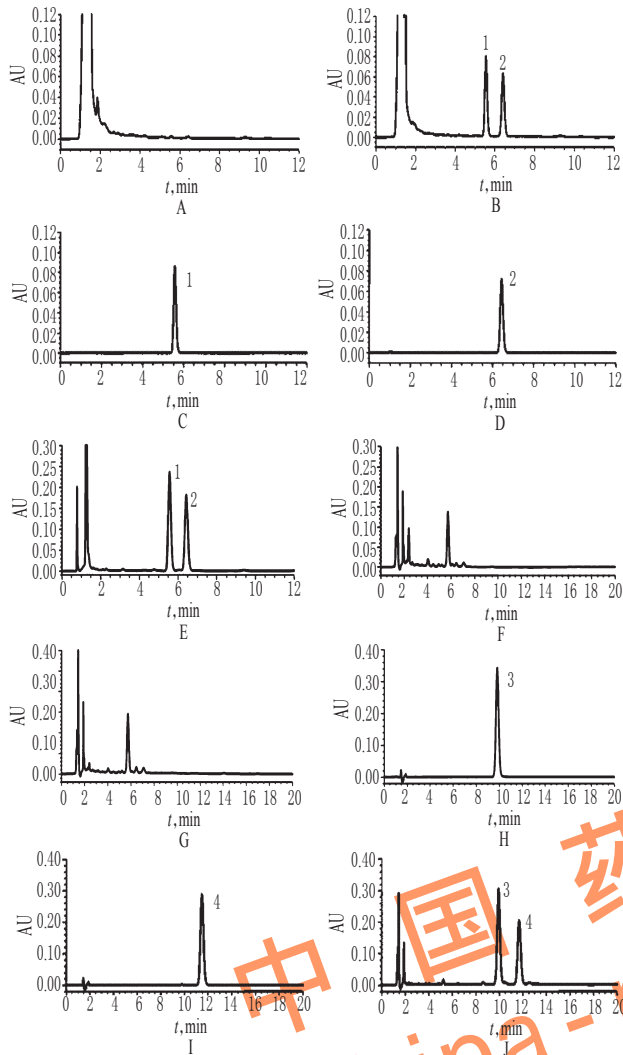


图1 高效液相色谱图

A. 阴性对照溶液A; B. 供试品溶液A; C. 补骨脂素对照品溶液; D. 异补骨脂素对照品溶液; E. 对照药材供试品溶液A; F. 阴性对照溶液B; G. 供试品溶液B; H. 补骨脂苷对照品溶液; I. 异补骨脂苷对照品溶液; J. 对照药材供试品溶液B; 1. 补骨脂素; 2. 异补骨脂素; 3. 补骨脂苷; 4. 异补骨脂苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance solution A; B. test sample solution A; C. reference substance solution of psoralen; D. reference substance solution of isopsoalene; E. test sample solution of control medicine A; F. negative reference substance solution B; G. test sample solution B; H. reference substance solution of psoralenoside; I. reference substance solution of isopsoralenoside; J. test sample solution of control medicine B; 1. psoralen; 2. isopsoalene; 3. psoralenoside; 4. isopsoralenoside

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	r	线性范围, $\mu\text{g/ml}$
补骨脂素	$y=75\ 734x+78\ 474$	0.999 9	3.138~200.8
异补骨脂素	$y=76\ 412x+76\ 455$	0.999 9	3.175~203.2
补骨脂苷	$y=29\ 994x-1\ 065$	0.999 9	3.181~101.8
异补骨脂苷	$y=29\ 754x-857.1$	0.999 9	3.169~101.4

取“2.2.2”项下供试品溶液A、B各适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8、10、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,补骨脂素、异补骨脂素峰面积的RSD分别为1.8%、1.3% ( $n=7$ );补骨脂苷和异补骨脂苷均未检出。表明

供试品溶液在室温下12 h内基本稳定。

表2 检测限与定量测定结果

Tab 2 Determination results of detection limit and quantitation limit

待测成分	LOQ,ng	LOD,ng
补骨脂素	0.627 5	0.251 0
异补骨脂素	0.635 0	0.254 0
补骨脂苷	3.181 0	1.273 0
异补骨脂苷	3.169 0	1.268 0

## 2.8 重复性试验

取样品(编号:S1)粉末适量,分别按“2.2.2”项下供试品溶液A和供试品溶液B的方法制备不同的供试品溶液,各6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算平均含量。结果,补骨脂素、异补骨脂素的平均含量分别为1.10、1.00 mg/g, RSD分别为1.2%、0.93% ( $n=6$ );而补骨脂苷和异补骨脂苷均未检出。表明本方法重复性良好。

## 2.9 加样回收率试验

取已知含量的样品(编号:S1)粉末适量,共6份,每份约0.25 g,精密称定,分别置于25 ml量瓶中,分别精密加入补骨脂素对照品溶液1.4 ml、异补骨脂素对照品溶液1.2 ml、混合对照品溶液B 1.6 ml,分别按“2.2.2”项下供试品溶液A和供试品溶液B的方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果详见表3。

表3 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 3 Results of recovery tests ( $n=6$ )

待测成分	称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%			
补骨脂素	0.250 5	0.274 4	0.281 1	0.543 3	95.68	100.20	2.4			
	0.260 3	0.285 1	0.281 1	0.574 1	102.80					
	0.251 5	0.275 5	0.281 1	0.559 1	100.90					
	0.252 2	0.276 2	0.281 1	0.561 0	101.30					
	0.251 0	0.274 9	0.281 1	0.558 1	100.70					
	0.250 2	0.274 0	0.281 1	0.554 3	99.71					
	异补骨脂素	0.250 5	0.250 7	0.243 8	0.484 5			95.91	100.10	2.3
		0.260 3	0.260 5	0.243 8	0.508 3			101.60		
		0.251 5	0.251 7	0.243 8	0.498 5			101.20		
		0.252 2	0.252 4	0.243 8	0.501 4			102.10		
0.251 0		0.251 2	0.243 8	0.494 1	99.62					
0.250 2		0.250 4	0.243 8	0.493 9	99.86					
补骨脂苷	0.251 4	0	0.162 9	0.161 5	99.13	98.81	0.23			
	0.251 5	0	0.162 9	0.160 7	98.64					
	0.251 4	0	0.162 9	0.160 7	98.66					
	0.251 4	0	0.162 9	0.161 4	99.08					
	0.251 2	0	0.162 9	0.160 7	98.66					
	0.251 5	0	0.162 9	0.160 8	98.72					
	异补骨脂苷	0.251 4	0	0.162 2	0.162 5			100.20	101.10	0.69
		0.251 5	0	0.162 2	0.164 7			101.50		
0.251 4		0	0.162 2	0.165 0	101.70					
0.251 4		0	0.162 2	0.162 7	100.30					
0.251 2	0	0.162 2	0.165 0	101.70						
0.251 5	0	0.162 2	0.164 0	101.10						

## 2.10 样品含量测定

取3个编号的样品粉末各适量,按“2.2.2”项下供试品溶液A和供试品溶液B的方法分别制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品中各成分含量(每片样品质量按0.63 g计),结果详见表4。

## 3 讨论

### 3.1 丹青娥片中检测指标的选择

表4 样品含量测定结果(n=2,mg/片)

Tab 4 Results of contents determination of samples (n=2, mg/tablet)

样品编号	补骨脂素	异补骨脂素	补骨脂苷	异补骨脂苷
S2	0.63	0.58	-	-
S3	0.69	0.63	-	-
S4	0.65	0.60	-	-

注:“-”为未检出

Note:“-” means undetected

盐补骨脂是丹知青娥片中的主药之一,有文献报道测定制剂或药材中补骨脂素或异补骨脂素含量<sup>[7-9]</sup>,但鲜有文献报道制剂中补骨脂苷和异补骨脂苷的检测。近年来,补骨脂的肝脏毒性受到研究人员的广泛关注。有文献报道了给予去卵巢手术造模的每只SD大鼠每日灌服补骨脂水提液4 ml(内含补骨脂生药约1.6 g)12周,肝细胞出现混浊肿胀和脂肪变性,个别区域可见肝细胞坏死<sup>[10]</sup>;人在服用不同剂量的补骨脂或含有补骨脂的中成药后会引起急性胆汁淤积型肝炎或急性肝炎<sup>[11-12]</sup>,补骨脂中的补骨脂素或异补骨脂素等相关成分可能是引起肝脏毒性的主要化学成分。Wang X<sup>[13]</sup>等研究表明,雄性大鼠连续灌胃28 d(40 mg/kg)补骨脂素或异补骨脂素,表现出一定的肝脏毒性。补骨脂苷和异补骨脂苷在肠道菌群作用下可转化为补骨脂素和异补骨脂素,因此本课题组对丹知青娥片中补骨脂素和异补骨脂素进行含量测定,对补骨脂苷和异补骨脂苷进行限量检查研究,以期对丹知青娥片的质量控制提供参考。

### 3.2 提取条件的优化

3.2.1 补骨脂素和异补骨脂素提取条件的优化 在开展丹知青娥片中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定时,本课题组考察了提取溶剂(50%甲醇、75%甲醇、甲醇)、溶剂体积(10、25 ml)、提取时间(10、15、20 min)3个因素对丹知青娥片中补骨脂素、异补骨脂素提取的影响,以优选最佳的供试品溶液制备方法。结果表明,甲醇作为提取溶剂提取补骨脂素和异补骨脂素的含量(分别为1.09、0.964 mg/g)明显优于50%甲醇和75%甲醇提取效果;不同体积的甲醇提取补骨脂素和异补骨脂素的含量基本一致,故甲醇的提取体积选择25 ml;进一步考察了超声时间对补骨脂素和异补骨脂素提取效率的影响,结果基本一致,故超声处理时间选择15 min。

3.2.2 补骨脂苷和异补骨脂苷提取条件的优化 在开展丹知青娥片中补骨脂苷和异补骨脂苷的含量测定时,本课题组亦考察了提取溶剂(50%甲醇、75%甲醇、甲醇)、溶剂体积(10、25、50 ml)、提取时间(10、20、30 min)3个因素对丹知青娥片中补骨脂苷、异补骨脂苷提取的影响,以优选最佳的供试品溶液制备方法。结果表明,不同提取溶剂、不同溶剂体积、不同提取时间分别提取丹知青娥片中补骨脂苷、异补骨脂苷,结果均未检测到补骨脂苷和异补骨脂苷。根据补骨脂苷和异补骨脂苷的性质,综合考虑,选择75%甲醇适量、超声提取20 min作为补骨脂苷和异补骨脂苷的提取条件。

### 3.3 色谱柱的冲洗

丹知青娥片中含有大量的小极性成分,如丹参中的丹参酮类成分<sup>[14]</sup>、补骨脂中的补骨脂黄酮和补骨脂酚等成分<sup>[15]</sup>在色谱柱上强保留,在完成补骨脂素、异补骨脂素的分析(12 min)或者在完成补骨脂苷、异补骨脂苷的分析(20 min)之后,都采用有机相梯度洗脱冲洗色谱柱,目的主要是为了洗脱色谱柱

上强保留的低极性成分,避免对后续分析产生影响。

### 3.4 含量限定的制订

2015年版《中国药典》(一部)盐补骨脂的含量测定项下规定:盐补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素的总含量不得 $<0.7\%$ <sup>[4]</sup>,未规定盐补骨脂中补骨脂苷和异补骨脂苷的含量限度。本研究根据全国各地收集的补骨脂样品中补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂苷、异补骨脂苷的分析结果,进一步结合毒理研究结果及生产放大的实际情况,科学合理地制订补骨脂素和异补骨脂素的含量下限以及补骨脂苷和异补骨脂苷的含量上限。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,可用于测定丹知青娥片中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂苷、异补骨脂苷的含量。

### 参考文献

- [1] 赵婷,朱汀滢,吴斌.补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素测定[J].中成药,2015,37(5):1036.
- [2] 寿清耀,杨荣平,王宾豪,等.补骨脂雌激素样作用的有效成分研究[J].中药新药与临床药理,2007,18(6):425.
- [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.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:188.
- [5] 周昆,代志,柳占彪,等.补骨脂水提物引起的大鼠肝损害[J].天津中医药大学学报,2013,32(4):221.
- [6] Wang YF, Liu YN, Xiong W, et al. A UPLC-MS/MS method for in vivo and in vitro pharmacokinetic studies of psoralenoside, isopsoralenoside, psoralen and isopsoralen from *Psoralea corylifolia* extract [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014,151:609.
- [7] 唐菱,赵瑞亭.HPLC法测定补骨脂-青龙衣酊中补骨脂素的含量[J].中国药房,2016,27(6):805.
- [8] 卢彦芳,安静,蒋萍.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.
- [9] 刘素玲,蔡益锐.HPLC法测定归芍通络合剂中补骨脂素、异补骨脂素的含量[J].中国药师,2012,15(5):668.
- [10] 邓平香,徐敏.盐补骨脂单味应用和复方应用对大鼠肝脏毒性的比较[J].广西中医药,2005,28(2):49.
- [11] Cheung WI, Tse ML, Ngan T, et al. Liver injury associated with the use of *Fructus Psoraleae* (Bol-gol-zhee or Bu-gu-zhi) and its related proprietary medicine [J]. *Clin Toxicol*, 2009,47(7):683.
- [12] Nam SW, Baek JT, Lee DS, et al. A case of acute cholestatic hepatitis associated with the seeds of *Psoralea corylifolia* (Boh-Gol-Zhee) [J]. *Clin Toxicol*, 2005,43(6):589.
- [13] Wang X, Lou YJ, Wang MX, et al. Furocoumarins affect hepatic cytochrome P450 and renal organic ion transporters in mice [J]. *Toxicology Letters*, 2012, 209: 67.
- [14] 李倩,刘伟,罗祖良,等.一测多评法测定丹参中丹参酮II<sub>A</sub>、隐丹参酮、丹参酮I、二氢丹参酮I的含量[J].中国中药杂志,2012,37(6):824.
- [15] 宋潇,戚爱棣,王跃飞,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.

(收稿日期:2016-03-17 修回日期:2016-06-14)

(编辑:刘柳)