

避光与见光提取的枳术丸挥发油中主要成分含量比较

杜智勇¹, 宋志前¹, 王淳¹, 宁张弛², 董运茁¹, 刘春生², 刘振丽^{1*}

(1. 中国中医科学院 中医基础理论研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102)

[摘要] **目的:**比较避光与见光提取的枳术丸挥发油中主要成分含量的差异性。**方法:**采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,挥发油提取器分别采用不包裹(见光)或者用黑布包裹(避光)提取相同时间。采用HPLC比较2种挥发油中苍术酮和白术内酯I, II, III的含量差异,流动相水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~22 min, 55%~64% B; 22~28 min, 64%~64% B; 28~48 min, 64%~100% B),检测波长220, 275 nm。**结果:**见光与避光提取的挥发油得率分别为1.03%和1.05%。见光提取的挥发油与避光提取的挥发油相比,苍术酮含量显著降低,分别为73.01, 100.3 mg·g⁻¹;白术内酯I显著升高,分别为0.757 2, 0.354 1 mg·g⁻¹;白术内酯II差异不明显,分别为2.026, 2.158 mg·g⁻¹;白术内酯III显著升高,分别为0.412 4, 0.321 9 mg·g⁻¹。**结论:**见光与避光提取的枳术丸挥发油总量无明显差异,但主要成分含量存在明显差异。提示在研究复方物质基础时,应注意实验过程中可能引起的内在成分变化。

[关键词] 枳术丸; 挥发油; 光照; 白术; 枳实; 苍术酮; 白术内酯类

[中图分类号] R283.6; R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0049-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010049

Content Comparison of Main Components in Volatile Oil from Zhizhu Pills Extracted in Light and Dark Conditions DU Zhi-yong¹, SONG Zhi-qian¹, WANG Chun¹, NING Zhang-chi², DONG Yun-zhuo¹, LIU Chun-sheng², LIU Zhen-li^{1*} (1. Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To compare content differences of main components in volatile oil from Zhizhu pills extracted in light and dark conditions. **Method:** Volatile oil in Zhizhu pills was obtained by steam distillation, one extracting volatile oil device was not wrapped to get oil exposed to the sun light oil (light condition oil) and the another device was wrapped with black cloth to get oil keeping out of the sun light (dark condition oil), these two devices were used to extract volatile oil for the same time. Comparison of contents of atractylone, atractylenolide I, II, III in these two kinds of volatile oil from Zhizhu pills were determined by HPLC, mobile phase consisted of water (A) -acetonitrile (B) for gradient elution of (0-22 min, 55%-64% B; 22-28 min, 64% B; 28-48 min, 64%-100% B), detection wavelength were 220 nm and 275 nm. **Result:** Yields of volatile oils extracted in dark and light conditions were 1.05% and 1.03%, respectively. The content of atractylone in light condition oil was significantly lower than that in dark condition oil, which were 73.01 mg·g⁻¹ and 100.3 mg·g⁻¹, respectively. The content of atractylenolide I in light condition oil was much higher than that in dark condition oil, which were 0.757 2 mg·g⁻¹ and 0.354 1 mg·g⁻¹, respectively. There was no significant difference in the content of atractylenolide II between these two kinds of oils, which were 2.026 mg·g⁻¹ and 2.158 mg·g⁻¹, respectively. The content of atractylenolide III in light condition oil was obviously higher than that in dark condition oil, which were 0.412 4 mg·g⁻¹ and 0.321 9 mg·g⁻¹, respectively. **Conclusion:** No significant differences of yields of volatile oil existed in these two extracted methods, but main ingredients are

[收稿日期] 20140521(014)

[基金项目] 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(YZ-1317)

[第一作者] 杜智勇,在读硕士,从事中药质量分析研究, Tel:18663583515, E-mail:neinei214@163.com

[通讯作者] *刘振丽,博士,研究员,博士生导师,从事中药药效物质基础和质量标准研究, Tel:010-64014411-2503, E-mail:zhenli_liu@sina.com

markedly different. It is suggested that inherent compounds change caused by experimental process should be avoided in constituent studies of Chinese prescription.

[Key words] Zhizhu pills; volatile oil; illumination; *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma*; *Aurantii Fructus Immaturus*; atractylone; atractylenolides

枳术丸由炒白术和炒枳实组成,由金代张元素从张仲景《金匮要略·水气病脉证并治》篇中枳术汤衍化而成,应用历史悠久^[1]。临床用于治疗脾胃虚弱、食少不化、脘腹痞满等证,疗效确切。枳术丸为炒白术和炒枳实原粉入药,收载于 2010 年版《中国药典》^[2]。挥发油为白术^[3-4]和枳实^[5-6]的主要活性成分之一。白术和枳实经炮制后,挥发油含量有所下降,成分存在一定变化^[7-8],但该方中药味均以原粉入药,炒白术和炒枳实中挥发油成分基本无变化,药效得以保存。

基于枳术丸良好的临床疗效,为研究其发挥作用的物质基础,本实验拟采用水蒸气蒸馏法提取方中挥发油成分并进行成分分析。但文献报道白术挥发油中主要成分苍术酮见光易氧化分解^[9-11],故本实验选择了 2 种提取方法,一种是挥发油提取器用黑布包裹以避光,另一种则不包裹,分别得到避光与见光提取的挥发油。采用 HPLC 比较 2 种挥发油中主要成分——苍术酮和白术内酯 I, II, III 的含量,以确认 2 种方法提取的挥发油主要成分的差异性,为枳术丸物质基础研究提供实验依据。

1 材料

1200 系列快速液相色谱仪(G1322A 型脱气机, G1312B SL 型二元泵, G1367C SL 型自动进样器, G1315CDAD SL 型检测器, G1316B SL 型恒温箱, HP 化学工作站, 美国安捷伦公司), BB89TQQ500 型挥发油提取器(北京中西远大科技有限公司), CP 225D 型电子天平(德国赛多利斯公司)。

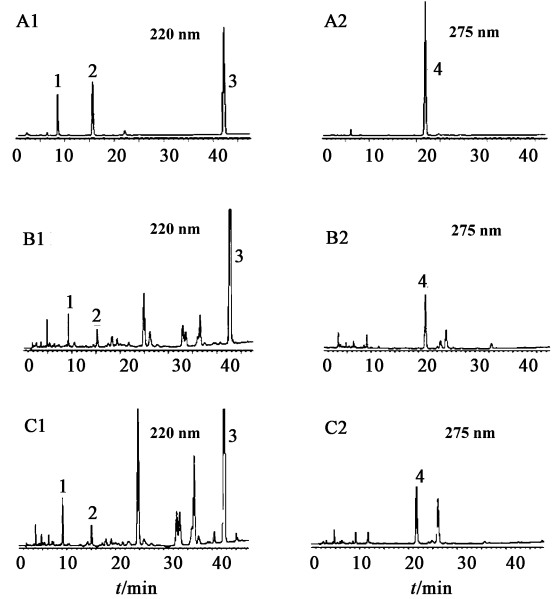
炒白术购自浙江磐安,炒枳实购自江西,经北京中医药大学刘春生教授鉴定,分别为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的干燥根和根茎,芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* 的干燥幼果;苍术酮对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,纯度 > 98%,批号 C-022-130319),白术内酯 I, II, III 对照品(上海田源生物技术公司,纯度均 > 98%,批号分别为 130215, 130216, 130216),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 按处方比例称取炒枳实 50.0 g 和炒白术 100.0 g,合并,共 2 份,分别置于 2.5 mL 圆

底烧瓶中,加 6 倍量水浸泡 2 h,按《中国药典》2010 年版一部附录 XD 挥发油测定法(甲法)操作,1 个挥发油提取器用黑布包裹以避光,另一个不包裹,分别提取 10 h,收集挥发油,立即称重后充氮密封,得避光提取和见光提取的挥发油,于 -20 °C 冷藏,备用。避光与见光挥发油各平行测定 3 次,计算挥发油得率分别为 1.05%, 1.03%。

2.2 色谱条件 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~22 min, 55%~64% B; 22~28 min, 64% B; 28~48 min, 64%~100% B),检测波长分别为 220, 275 nm,流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,见图 1。



1. 白术内酯 III; 2. 白术内酯 I; 3. 苍术酮; 4. 白术内酯 II; A1, A2. 对照品; B1, B2. 避光提取挥发油; C1, C2. 见光提取挥发油

图 1 枳术丸挥发油 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of volatile oil from Zhizhu pills

2.3 对照品溶液的制备 精密称取苍术酮和白术内酯 I, II, III 对照品适量,加甲醇溶解并定容于不同棕色量瓶中,摇匀,分别制成 0.334, 0.105, 0.238, 0.106 g·L⁻¹ 的对照品溶液,密闭避光保存。

2.4 供试品溶液的制备 精密称取 2.1 项下避光与见光提取的挥发油各约 20 mg,分别加甲醇溶解并定容于 5 mL 棕色量瓶中,摇匀,避光保存,即得。

2.5 线性关系考察 精密吸取各对照品溶液 1, 3,

5,7,9 μL,按 2.2 项下色谱条件测定,以峰面积对进样量进行线性回归,得苍术酮和白术内酯 I, II, III 的线性回归方程分别为 $Y = 766.87X - 11.175$ ($r = 0.9999$), $Y = 7654.7X - 6.115$ ($r = 0.9999$), $Y = 2560.1X + 24.236$ ($r = 0.9998$), $Y = 5585.2X + 52.386$ ($r = 0.9998$), 线性范围分别为 0.334 ~ 3.006, 0.105 ~ 0.945, 0.238 ~ 2.142, 0.106 ~ 0.954 μg。

2.6 精密度试验 精密吸取见光挥发油制备的供试品溶液按 2.2 项下色谱条件重复进样 6 次,结果苍术酮和白术内酯 I, II, III 峰面积积分值的 RSD 分别为 0.3%, 1.7%, 1.9%, 0.9%, 表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取见光挥发油制备的供

试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,12 h 按 2.2 项下色谱条件测定,结果苍术酮和白术内酯 I, II, III 峰面积积分值的 RSD 分别为 2.2%, 2.4%, 1.6%, 0.94%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。24 h 测定,苍术酮和白术内酯 I 峰面积积分值的 RSD 均 >5%。

2.8 重复性试验 取避光挥发油 6 份,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,计算苍术酮和白术内酯 I, II, III 含量的 RSD 分别为 2.6%, 2.6%, 2.8%, 3.0%。

2.9 加样回收率试验 精密称取已知各指标成分含量的见光挥发油约 10 mg,共 6 份,各精密加入 4 种对照品溶液适量,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 枳术丸挥发油中各指标成分含量测定的加样回收率试验

Table 1 Recovery test of determination of index components in volatile oil from Zhizhu pills

成分	称样量/mg	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
苍术酮	20.38	1.501	1.51	3.028	101.13	99.25	2.6
	21.56	1.587	1.51	3.147	103.31		
	19.86	1.462	1.51	2.912	96.03		
	22.04	1.623	1.51	3.111	98.54		
	21.95	1.616	1.51	3.103	98.48		
	20.33	1.497	1.51	2.977	98.01		
白术内酯 I	20.38	0.01564	0.0162	0.03225	102.53	100.51	2.6
	21.56	0.01654	0.0162	0.03271	99.81		
	19.86	0.01524	0.0162	0.03109	97.84		
	22.04	0.01691	0.0162	0.03267	97.28		
	21.95	0.01684	0.0162	0.03366	103.83		
	20.33	0.01560	0.0162	0.03209	101.79		
白术内酯 II	20.38	0.04251	0.0506	0.09245	98.70	97.55	2.8
	21.56	0.04497	0.0506	0.09378	96.46		
	19.86	0.04143	0.0506	0.09333	102.57		
	22.04	0.04598	0.0506	0.09409	95.08		
	21.95	0.04579	0.0506	0.09388	95.04		
	20.33	0.04241	0.0506	0.09172	97.45		
白术内酯 III	20.38	0.00822	0.0085	0.01667	99.41	100.43	3.0
	21.56	0.00870	0.0085	0.01727	100.82		
	19.86	0.00801	0.0085	0.01682	103.65		
	22.04	0.00889	0.0085	0.01733	99.29		
	21.95	0.00885	0.0085	0.01766	95.76		
	20.33	0.00820	0.0085	0.01634	103.59		

2.10 样品测定 精密吸取 2.4 项下各供试品溶液适量,按 2.2 项下色谱条件测定,计算各指标成分含

量,采用统计分析法比较 2 种方式提取的挥发油中 4 种成分的差异,结果见表 2。

表 2 避光及见光提取的枳术丸挥发油中 4 种指标成分含量

Table 2 Contents of four ingredients in volatile oil from Zhizhu pills extracted in light and dark conditions

提取方式	苍术酮		白术内酯 I		白术内酯 II		白术内酯 III		
	质量分数/mg·g ⁻¹	RSD/%	质量分数/mg·g ⁻¹	RSD/%	质量分数/mg·g ⁻¹	RSD/%	质量分数/mg·g ⁻¹	RSD/%	
见光	1	73.63	0.7	0.767 2	1.1	2.086	0.5	0.403 4	1.3
	2	74.25	1.4	0.789 9	1.6	2.064	0.8	0.396 8	2.7
	3	71.15	2.5	0.714 5	0.4	1.928	1.6	0.437 0	2.5
避光	1	101.30	2.3	0.365 1	2.9	2.258	1.5	0.301 1	1.4
	2	97.24	1.5	0.398 5	1.5	2.102	2.3	0.345 0	1.7
	3	102.30	0.8	0.298 7	0.6	2.114	1.6	0.319 6	2.9

3 讨论

本文对避光与见光提取的枳术丸挥发油中 4 主要成分含量进行了对比分析,结果显示避光与见光提取 3 次的枳术丸挥发油平均得率分别为 1.05% 和 1.03%,无明显差异。但由表 2 可知,与避光提取的挥发油相比,见光提取的挥发油中苍术酮含量显著降低 ($P < 0.01$),减少率 27.2%;白术内酯 I 显著升高 ($P < 0.01$);白术内酯 III 显著升高 ($P < 0.01$);仅白术内酯 II 差异不明显 ($P > 0.1$)。文献报道白术挥发油中含量最高的成分为苍术酮,在常温下见光放置 1 h 可氧化分解 84.96%^[10],白术挥发油中苍术酮可转化为白术内酯 I, III 等成分^[11],提示在研究复方物质基础时,应注意实验过程中可能引起的内在成分变化。

[参考文献]

[1] 朱鹰,侯俊玲.试析李东垣对枳术丸的发挥[J].山西中医,2000,16(2):48-49.
 [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:876-876.
 [3] 陈镇,夏泉,黄赵刚,等.白术挥发油对小鼠胃肠功能的影响[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(8):

66-68.

[4] Li J, Li F, Xu Y, et al. Chemical composition and synergistic antioxidant activities of essential oils from *Atractylodes macrocephala* and *Astragalus membranaceus* [J]. Nat Prod Commun, 2013, 8(9):1321-1324.
 [5] 胡盛珊,王大元,邱萍,等.枳实有效成分的药理活性比较[J].中草药,1994,25(8):419-421.
 [6] 张红,孙明江,王凌.枳实的化学成分及药理作用研究进展[J].中药材,2009,32(11):1787-1790.
 [7] 李滢,陶海燕,杨秀伟.生白术和炒白术挥发油成分的 GC-MS 分析[J].药物分析杂志,2013,33(7):1210-1217.
 [8] 石继连,蒋以号,龚千锋.枳实 3 种不同炮制品挥发油的 GC-MS 分析[J].北京中医药大学学报,2010,33(10):676-680.
 [9] 王虹,阎克里,王海霞,等.白术挥发油及其溶液氧化分解稳定性条件的分析[J].分析科学学报,2013,29(4):523-526.
 [10] 郝延军,桑育黎,李宝林,等.苍术酮的常温稳定性研究[J].中成药,2007,29(6):895-896.
 [11] 王小芳,王芳,张亚环,等.白术挥发油中苍术酮氧化反应的动力学[J].应用化学,2007,24(3):301-305.

[责任编辑 刘德文]