

不同炮制方法对白术中白术内酯 I, II, III 含量的影响

张金莲¹, 谢日健¹, 刘明贵¹, 罗文华^{2*}, 范晖^{1*}

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 江中药业股份有限公司, 南昌 330004)

[摘要] **目的:**探讨建昌帮蜜糠炒法对白术中白术内酯含量变化的影响,并与生白术及其他炮制品比较,探讨白术内酯类成分含量的差异性。**方法:**采用 UPLC 双波长法测定不同炮制品中白术内酯 I, II, III 的含量,流速 $0.6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温 $35 \text{ }^\circ\text{C}$,白术内酯 I, III 检测波长均为 220 nm ,白术内酯 II 检测波长 276 nm ,进样量 $2 \text{ } \mu\text{L}$,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱($0 \sim 30 \text{ min}, 30\% \sim 51\% \text{ A}; 30 \sim 32 \text{ min}, 51\% \sim 100\% \text{ A}$)。**结果:**白术内酯 I, II, III 线性范围依次为 $2.63 \times 10^{-3} \sim 6.575 \times 10^{-2}$, $1.972 \times 10^{-3} \sim 4.93 \times 10^{-2}$, $2.424 \times 10^{-3} \sim 6.06 \times 10^{-2} \text{ } \mu\text{g}$ 。生白术、清炒白术、麸炒白术、蜜麸炒白术、糠炒白术、蜜糠炒白术中白术内酯 I, II, III 的总量分别为 $0.663, 0.901, 1.184, 0.885, 1.228, 1.725 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。**结论:**与生品相比,炮制可使白术中白术内酯 I, II, III 的含量升高,其中以建昌帮蜜糠炒白术中含量为最高。

[关键词] 白术; 建昌帮; 蜜糠; 麦麸; 白术内酯; 超高效液相色谱法

[中图分类号] R283.3; R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0015-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016210015

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160523.1015.004.html>

[网络出版时间] 2016-05-23 10:15

Effect of Different Processing Method on Contents of Atractylenolide I, II, III in Atractylodis Macrocephalae Rhizoma

ZHANG Jin-lian¹, XIE Ri-jian¹, LIU Ming-gui¹, LUO Wen-hua^{2*}, FAN Hui^{1*}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Jiangzhong Pharmaceutical Co. Ltd., Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate impact of Jianchangbang honey-bran fried method on contents of atractylenolide I, II, III in Atractylodis Macrocephalae Rhizoma. **Method:** UPLC was employed to determine contents of atractylenolide I, II, III with mobile phase of acetonitrile-water for gradient elution, a flow rate of $0.6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, column temperature at $35 \text{ }^\circ\text{C}$, detection wavelength of atractylenolide I, III at 220 nm , detection wavelength of atractylenolide II at 276 nm , injection volume of $2 \text{ } \mu\text{L}$. **Result:** Linear ranges of atractylenolide I, II, III were $2.63 \times 10^{-3} \sim 6.575 \times 10^{-2}$, $1.972 \times 10^{-3} \sim 4.93 \times 10^{-2}$, $2.424 \times 10^{-3} \sim 6.06 \times 10^{-2} \text{ } \mu\text{g}$, respectively. Total content of atractylenolide I, II, III in crude products, stir-fried products, wheat bran fried products, honey-bran fried products, bran fried products, honey-bran fried products were $0.663, 0.901, 1.184, 0.885, 1.228, 1.725 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** Compared with crude products, processing can increase content of atractylenolide I, II, III in Atractylodis Macrocephalae Rhizoma, their content in Jianchangbang honey-bran fried products is the highest.

[Key words] Atractylodis Macrocephalae Rhizoma; Jianchangbang; honey bran; wheat bran; atractylenolide; ultra high performance liquid chromatography

[收稿日期] 20150904(003)

[基金项目] 江西省卫生厅项目(2013Z003);江西中医药大学校级课题(2012ZX3003)

[第一作者] 张金莲,教授,从事中药学、中药炮制学教学研究, Tel:0791-87118995, E-mail: jxjzjl@163.com

[通讯作者] * 罗文华,副主任中医师,从事中药制造及质量研究, Tel:0791-83797091, E-mail: 173059288@qq.com;

* 范晖,硕士,实验师,从事中药炮制实验教学及中药饮片炮制工艺研究, Tel:0791-87118995, E-mail: fan0713@163.com

白术始载于《神农本草》^[1],功效燥湿健脾、止汗安胎^[2],主要含有内酯类和挥发油成分^[3]。目前,白术的炮制品种较多,包括生白术、净麸炒白术、蜜麸炒白术、焦白术、米泔水漂白术、蜜糠炒白术、土炒白术等。但 2015 年版《中国药典》收录的为麸炒白术(即蜜麸炒白术)^[2]。建昌帮发祥于江西南城,为全国 13 个大药帮之一^[4],与樟树帮合称为江西帮。在辅料使用方面建昌帮尤以糠的运用最有特色,有糠煨、糠炆、糠煨、糠炒、蜜糠炙 5 种特色炮制方法。其中蜜糠炒白术为建昌帮独具特色的炮制,可借谷糠之气以增强芳香醒脾和胃作用^[5]。目前,有关建昌帮蜜糠炒白术的文献报道较少,主要集中在蜜糠炒白术的工艺优选^[6-7],尚未见蜜糠炒法与白术其他炮制方法的比较。本实验拟采用 UPLC 测定白术不同炮制品中白术内酯 I, II, III 的含量,探讨蜜糠炒法对白术内酯类成分含量的影响,并与白术其他炮制品比较,为建昌帮蜜糠炒法的炮制机制研究提供参考。

1 材料

ACQUITY 型超高效液相色谱仪(美国沃特世科技有限公司),BT224S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),YF-111 型高速中药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司),GZX-9146MBE 型数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司)。生白术饮片购自亳州蜀中药业有限公司,经江西中医药大学中药资源学科组付小梅副教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的干燥根茎;白术内酯 I, II, III 对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为 130617,130522,130526,纯度均 $\geq 98\%$),水为超纯水,乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 炮制品的制备

2.1.1 清炒白术^[8] 取白术饮片 100 g,置于炒制的铁锅内,用中火加热翻炒,至白术呈焦黄色,取出放凉。

2.1.2 净麸炒白术^[9] 取麸皮 10 g 撒入热锅内,待冒青烟时加入净白术饮片 100 g,不断翻炒至呈焦黄色,筛去麦麸,放凉。

2.1.3 蜜麸炒白术^[2] 将蜜炙麸皮 10 g 撒入热锅内,待冒烟时加入净白术饮片 100 g,炒至黄棕色、逸出焦香气,取出,筛去蜜炙麸皮。

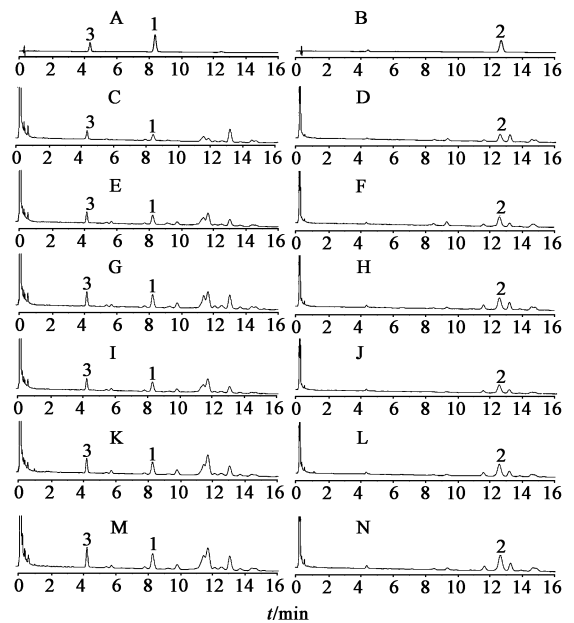
2.1.4 净糠炒白术 先用武火将锅底烧至微红,加入适量干糠,待冒青烟时,迅速加入净白术饮片 100

g,不断翻炒至药片转微黄或黄色时,逸出香气,取出,筛去干糠。

2.1.5 蜜糠炒白术^[5] 先用武火将锅底烧至微红,倒入定量蜜糠,快速翻炒至冒青烟时,用炒药铲将蜜糠铺平锅底,并向周围铺开;立即倒入干燥白术饮片 100 g,用周围的蜜糠覆盖药材,或盖上锅盖,密封 20~30 s,立即揭开锅盖,快速抢火翻炒至药片转微黄或黄色,迅速出锅。筛去蜜糠及灰屑,趁热入容器内密闭待转橘黄色时,即可。

2.2 白术内酯 I, II, III 的含量测定

2.2.1 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μ m),流速 0.6 mL \cdot min⁻¹,柱温 35 $^{\circ}$ C,白术内酯 I, III 检测波长均为 220 nm,白术内酯 II 检测波长 276 nm,进样量 2 μ L,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~30 min, 30%~51% A; 30~32 min, 51%~100% A)。见图 1。



A, B. 对照品; C, D. 生品; E, F. 清炒品; G, H. 麸炒品; I, J. 蜜麸炒品; K, L. 糠炒品; M, N. 蜜糠炒品; 1. 白术内酯 I; 2. 白术内酯 II; 3. 白术内酯 III

图 1 白术不同炮制品 UPLC

Fig. 1 UPLC chromatograms of different processed products of *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma*

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取白术内酯 I, II, III 对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为 26.30, 19.72, 24.24 mg \cdot L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取白术各样品粉末(过四号筛)约 1.0 g,置锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞称质量,超声 0.5 h,放冷之后称质量,用甲醇补足损失的质量,过滤,用 0.22 μ m 微孔

滤膜滤过,即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取白术内酯的混合对照品溶液 0.1, 0.8, 1.5, 2.0, 2.5 μL, 按 2.2.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得白术内酯 I, II, III 回归方程分别为 $Y = 1.0 \times 10^7 X + 6\ 702.3$ ($r = 0.999\ 2$), $Y = 9.0 \times 10^6 X + 2\ 559.5$ ($r = 0.999\ 0$), $Y = 4.0 \times 10^6 X + 147.83$ ($r = 0.999\ 4$), 线性范围依次为 $2.63 \times 10^{-3} \sim 6.575 \times 10^{-2}$, $1.972 \times 10^{-3} \sim 4.93 \times 10^{-2}$, $2.424 \times 10^{-3} \sim 6.06 \times 10^{-2}$ μg。

2.2.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 2 μL,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,结果白术内酯 I, II, III 峰面积的 RSD 分别为 0.4%, 0.4%, 0.9%。

2.2.6 重复性试验 取同一批麸炒白术粉末(过四号筛)6 份,按 2.2.3 项下制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算白术内酯 I, II, III 含量的 RSD 分别为 1.7%, 0.7%, 1.3%。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果白术内酯 I, II, III 峰面积的 RSD 分别为 0.7%, 0.1%, 1.6%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8 加样回收试验 精密称取已知含量的麸炒白术粉末(过四号筛)6 份,每份约 0.5 g,分别精密加入 $160.5\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 白术内酯 I, $0.162\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 白术内酯 II, $0.234\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 白术内酯 III 各 1 mL,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下条件测定,计算平均加样回收率分别为 97.80%, 99.51%, 99.69%, RSD 依次为 2.5%, 1.6%, 1.4%。见表 1。

2.3 样品测定 精密称定白术不同炮制品粉末(过四号筛)适量,每个样品 3 份,按 2.2.3 项下制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果见表 2。

3 讨论

本文采用了 UPLC 双波长法测定白术不同炮制品中白术内酯 I, II, III 的含量,实现在同一色谱条件下检测不同最大吸收波长的指标性成分,简化了测定的繁琐步骤。曾选用甲醇-水、乙腈-水等不同流动相系统,发现乙腈-水可获得较好峰形和适合的极性范围,并尝试了不同的流动相比例,最终确定了本实验的流动相梯度洗脱程序,该条件下,白术内酯 I, II, III 能得到较好的分离。预试验考察了不同提取方法(超声法、回流法),提取溶剂(甲醇、乙腈),

表 1 白术中白术内酯 I, II, III 的加样回收率试验

Table 1 Recovery tests of atractylenolide I, II, III

成分	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
白术内酯 I	0.502 4	0.160 2	0.160 5	0.311 7	94.39	97.80	2.5
	0.502 7	0.160 5	0.160 5	0.315 6	96.64		
	0.503 2	0.160 8	0.160 5	0.314 5	95.76		
	0.504 7	0.161 2	0.160 5	0.321 1	99.63		
	0.503 5	0.160 9	0.160 5	0.319 4	98.75		
	0.505 2	0.161 6	0.160 5	0.324 7	101.62		
白术内酯 II	0.502 4	0.163 7	0.162 0	0.324 9	99.51	99.51	1.6
	0.502 7	0.164 1	0.162 0	0.323 8	98.58		
	0.503 2	0.163 2	0.162 0	0.329 1	102.41		
	0.504 7	0.163 9	0.162 0	0.321 3	97.16		
	0.503 5	0.164 7	0.162 0	0.325 0	98.95		
	0.505 2	0.164 4	0.162 0	0.327 1	100.43		
白术内酯 III	0.502 4	0.232 0	0.234 0	0.463 2	98.80	99.69	1.4
	0.502 7	0.231 6	0.234 0	0.459 7	97.48		
	0.503 2	0.232 8	0.234 0	0.466 6	99.91		
	0.504 7	0.232 5	0.234 0	0.468 1	100.68		
	0.503 5	0.232 7	0.234 0	0.471 4	102.01		
	0.505 2	0.232 2	0.234 0	0.464 5	99.27		

表 2 白术不同炮制品中白术内酯 I, II, III 的含量测定 (n=3)

Table 2 Determination of atractylenolide I, II, III in different processed products of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (n=3)

样品	白术内酯 I	白术内酯 II	白术内酯 III
生白术	0.147 9	0.200 5	0.314 1
清炒白术	0.233 6	0.261 9	0.405 2
麸炒白术	0.320 8	0.334 9	0.528 1
蜜麸炒白术	0.239 6	0.228 6	0.416 3
糠炒白术	0.330 9	0.354 9	0.542 3
蜜糠炒白术	0.429 0	0.523 9	0.771 9

提取时间及提取溶剂体积对含量测定结果的影响,最终确定加 50 倍量甲醇超声提取 0.5 h 为佳。

现代研究证实生白术经过炮制后,苍术酮的含量降低,白术内酯 I, III 的含量增加^[10-12],这是由于苍术酮的不稳定性,易转化生成白术内酯 I, III 所致^[13]。本文研究结果表明生白术经不同方法炮制后,白术内酯 I, III 都有不同程度的增加,与文献[11-12]报道一致。其中蜜糠炒白术中白术内酯 I, II, III 的含量增加最多,这可能与蜜糠炒制时受热面

积大、受热均匀有关,导致苍术酮易转化生成白术内酯 I, III;白术内酯 II 的增加可能与白术内酯 III 受热时间较长而脱水有关。

蜜糠炒法是建昌帮传统特色炮制方法,所用苍糠性温,具有健脾祛湿的作用^[14],其蜜糠是用炼蜜掺沸水炼糠而成。蜜甘质润能缓燥,其作用主要与黄酮类、挥发油及脂溶性成分等的变化有关^[15-16]。蜜味甘能补,故蜜糠炒白术可借谷糠之气以增强芳香醒脾和胃作用^[5]。本文中蜜糠炒白术中白术内酯类成分的含量增加最多,与目前主流的炮制方法相比,蜜糠炒法颇具有特色;与麦麸炒制相比,蜜糠炒法在炒制时更具有受热均匀、受热面积大、赋色等鲜明的特点。但《中国药典》2015年版只收录了麸炒白术。因为蜜糠炒法虽为传统炮制方法,但还需要更为全面的研究及验证。

[参考文献]

- [1] 杨洁,方成武. 中药白术的质量研究现状与展望[J]. 中国当代医药,2010,17(1):5-7.
- [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,2015:103-104.
- [3] 李雯,尹华. 白术化学成分的药理作用研究进展[J]. 海峡药学,2012,24(3):9-11.
- [4] 胡世林. 中国道地药材[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1989:20.
- [5] 梅开丰,张祯祥,上官贤,等. 建昌帮中药传统炮制法[M]. 抚州:江西省南城县整理建昌帮中药传统小组,1986:171-175.
- [6] 孟振豪,韩永红,钟凌云. 星点设计-效应面法优选蜜糠炒白术的炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(15):19-22.
- [7] 王文凯,翁萍,张晓婷,等. 建昌帮蜜糠炒白术炮制工艺优化[J]. 中草药,2015,46(6):857-860.
- [8] 容穗华,林海,高妮,等. 白术炮制工艺及炮制原理的研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(8):1001-1003.
- [9] 赵佶. 圣济总录[M]. 北京:人民卫生出版社,1962:35.
- [10] 杨娥,钟艳梅,冯毅凡. 白术化学成分和药理作用的研究进展[J]. 广东药学院学报,2012,28(2):218-221.
- [11] 文红梅,张爱华,王莉,等. 炮制对白术中白术内酯 I 含量的影响[J]. 中药材,1999,22(3):125-126.
- [12] 吴慧,赵文龙,单国顺,等. 不同麦麸对白术炮制品质量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(6):55-60.
- [13] 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.
- [14] 张金莲,曾昭君,潘旭兰,等. 苍糠在建昌帮中药炮制中的应用[J]. 中草药,2013,44(21):3092-3094.
- [15] 张金莲,曾昭君,李志强,等. HPLC 法测定枳壳不同炮制品中活性成分[J]. 中成药,2014,36(11):2355-2358.
- [16] 曹君,王少军,龚千锋,等. 不同产地枳壳饮片炮制前后挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中草药,2005,36(2):172-177.

[责任编辑 刘德文]