

苍术炒焦前后 GC 指纹图谱的比较

陈祥胜, 刘艳菊*, 陈海霞*, 孙雄杰, 瞿领航
(湖北中医药大学, 武汉 430065)

[摘要] **目的:**建立生苍术和焦苍术挥发油的 GC 指纹图谱,阐明苍术炒焦前后挥发油部位化学成分的变化规律。**方法:**采用水蒸气蒸馏法制备挥发油;建立气相色谱指纹图谱,检测条件为 HP-5 石英毛细管柱(0.32 mm × 30 m, 0.25 μm),载气(N₂)流速 0.8 mL·min⁻¹,进样口温度 240 °C,进样量 1 μL,分流进样,分流比 20:1,检测器温度 260 °C,柱温采用程序升温模式;并对炒焦前后的 GC 指纹图谱进行比较与分析。**结果:**在苍术炒焦前后挥发油的 GC 指纹图谱中有 25 个共有峰,各共有峰相对保留时间基本相同,但相对峰面积发生了显著变化;其中 15~17, 19, 23~25 号峰的峰面积降低率均 >20%;16 号与 17 号色谱峰的峰面积比值在生品中均 >3.0,而在焦品中却均 <3.0;19 号与 23 号色谱峰的峰面积比值在生品中均 <3.0,而在焦品中却均 >3.0。鉴定 16 号峰为 β-桉叶醇,19 号峰为邻苯二甲酸二异丁酯,23 号峰为白术内酯 II,24 号峰为白术内酯 I,25 号峰为白术内酯 III。**结论:**苍术生品和焦品的 GC 色谱特征峰差异明显、结果稳定、专属性强,可作为二者的定性鉴别特征之一,这为阐释焦苍术的降燥减毒机制提供了实验依据。

[关键词] 苍术; 焦苍术; 炮制; 气相色谱法; 指纹图谱; 邻苯二甲酸二异丁酯; 白术内酯

[中图分类号] R283.3; R943.1; R285.5; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)02-0024-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018020024

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171102.1907.064.html>

[网络出版时间] 2017-11-02 19:07

Comparison of GC Fingerprints of *Atractylodis Rhizoma* Before and After Being Deep-fried

CHEN Xiang-sheng, LIU Yan-ju*, CHEN Hai-xia*, SUN Xiong-jie, QU Ling-hang
(Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To establish GC fingerprints about volatile oil in the raw and deep-fired *Atractylodis Rhizoma*, and to clarify the changing rule of chemical compositions in volatile oil about *Atractylodis Rhizoma* before and after being deep-fried. **Method:** Volatile oil was extracted by steam distillation, and GC fingerprints of volatile oil in *Atractylodis Rhizoma* before and after being deep-fried were analyzed. **Result:** There were 25 common peaks in GC fingerprints of volatile oil in raw and processed products of *Atractylodis Rhizoma*, the relative retention time of these peaks was almost the same, but their relative peak areas changed significantly. For example, peaks areas of 15th, 16th, 17th, 19th, 23th, 24th and 25th were reduced >20%. In GC fingerprints, the area ratio of peak 16 to 17 was greater than 3 in the raw products, but it was less than 3 in processed products; at the same time, the area ratio of peak 19 to 23 was less than 3 in the raw products, but it was greater than 3 in processed products. **Conclusion:** Difference of GC characteristic peaks in raw and processed products of *Atractylodis Rhizoma* is significant, and the results are stable with good specificity. It can be used as qualitative identification for *Atractylodis Rhizoma* between raw and processed products; as well as, it can lay foundation to interpretate the dropping dry and reduce the toxicity of *Atractylodis Rhizoma* after being deep-fried.

[收稿日期] 20170612(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81541080);国家科技部技术专项(2014FY111100-2)

[第一作者] 陈祥胜,在读博士,副教授,从事中药炮制研究, Tel:027-68890070, E-mail:515887025@qq.com

[通信作者] *刘艳菊,博士,教授,博士生导师,从事中药炮制工艺及机制研究, Tel:027-68890231, E-mail:cxs7508@126.com;

*陈海霞,硕士,主管中药师,从事中药饮片研究, Tel:027-68890255, E-mail:598121112@qq.com

[**Key words**] *Atractylodis Rhizoma*; deeped-fired *Atractylodis Rhizome*; processing; gas chromatography; fingerprint; diisobutyl phthalate; atractylenolide

苍术具有燥湿健脾、祛风散寒、明目等功效。现代药理研究表明,挥发油既是苍术重要的药效成分,同时也是其燥性成分^[1-2];主要药理作用表现为调节胃肠蠕动^[3]、抗菌消炎^[4-5]、利尿^[6]和保肝^[7]等;同时又有一定毒副作用^[8]。因此,临床上常通过炒焦、麸炒、土炒、米泔水制等炮制方法,去除过量的挥发油及邻苯二甲酸二异丁酯等毒性成分,提高苍术苷 A 等药效物质在炮制品中的含量,调节 β -桉叶醇等药理活性成分在挥发油中的比例,达到减毒增效的目的^[9-11],但关于苍术炒焦前后引起药效改变及燥性减弱物质基础的文献鲜有报道。本实验拟测定苍术炒焦前后挥发油的含量,建立其 GC 指纹图谱,并对炮制前后的指纹图谱进行比较,明确特征性差异峰,为苍术、焦苍术质量评价提供专属性的鉴别特征图谱,同时也为阐释焦苍术的降燥增效机制提供参考。

1 材料

6890 型气相色谱仪(美国 Agilent 公司),BP211D 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司)。 β -桉叶醇,白术内酯 I,白术内酯 II,白术内酯 III 对照品(四川省韦克奇生物科技有限公司,批号分别为 130917-01,130617,130522,160126-03,纯度均 $\geq 98.0\%$);邻苯二甲酸二异丁酯对照品(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司,批号 C16173500,纯度 $\geq 99.0\%$);10 批苍术药材采集于江苏句容茅山、安徽六安、湖北英山、湖北蕲春等产地,见表 1,均经湖北中医药大学药学院生药研究室陈科力教授鉴定为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* 的干燥根茎;苍术饮片(生苍术)和焦苍术饮片委托武汉刘天保药业有限公司按 2009 年版《湖北省中药饮片炮制规范》规定生产^[11]。试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

2.1.1 挥发油的提取 称取生苍术、焦苍术粗粉适量,按水蒸气蒸馏法分别提取,得挥发油。其中生苍术挥发油呈淡亮黄色,收率 4.086%,焦苍术挥发油呈棕黄色,收率 2.913%。

2.1.2 供试品溶液的制备 分别精密称取生苍术、焦苍术挥发油适量(相当于原药材 2.5 g),溶于乙醚并定容至 5 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,分别得生苍术、焦苍术挥发油的供试品溶液。

表 1 苍术药材的来源

Table 1 Sources of *Atractylodes Rhizoma*

编号	产地	采集日期
S1	安徽六安	2014-11
S2	安徽六安	2014-12
S3	安徽六安	2015-01
S4	河南桐柏	2015-07
S5	湖北英山石正镇	2014-12
S6	湖北英山草盘镇	2014-12
S7	湖北蕲春	2014-10
S8	江苏句容茅山	2015-08
S9	湖北英山石正镇	2014-10
S10	湖北英山草盘镇	2014-10

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取 β -桉叶醇,白术内酯 I,白术内酯 II,白术内酯 III 及邻苯二甲酸二异丁酯对照品适量,加无水乙醇配制成质量浓度均为 0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液,即得。

2.3 色谱条件 HP-5 石英毛细管柱(0.32 mm \times 30 m,0.25 μm),载气(N_2)流速 0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样口温度 240 $^\circ\text{C}$,进样量 1 μL ,分流进样,分流比 20:1,检测器温度 260 $^\circ\text{C}$;柱温采用程序升温模式为 80 $^\circ\text{C}$ 保持 1 min,以 10 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 150 $^\circ\text{C}$,保持 10 min,0.5 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 155 $^\circ\text{C}$,保持 5 min,以速率 8.5 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 240 $^\circ\text{C}$,保持 3 min。

2.4 方法学考察

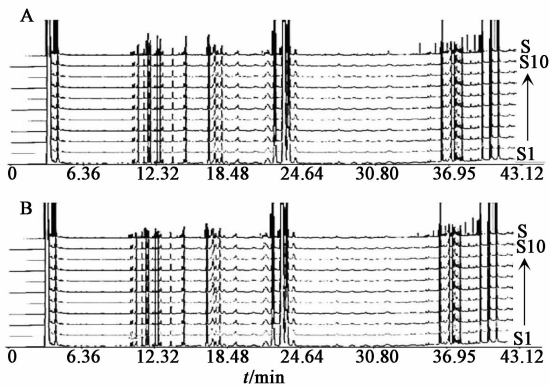
2.4.1 精密度试验 取同一份生苍术供试品溶液(S1),连续进样 6 次,按 2.3 项下条件检测,将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 版),结果色谱图相似度均 > 0.95 ,相对保留时间的 RSD 均 $< 0.5\%$,主要共有峰峰面积的 RSD 均 $< 2.0\%$,表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取同一供试品溶液(S1),分别在 0,2,4,6,8,10 h 进样测定,将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 版),结果色谱图相似度均 > 0.95 ,相对保留时间的 RSD 均 $< 0.5\%$,主要共有峰峰面积的 RSD 均 $< 3.0\%$,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 取同一供试样品(S1),平行称取 6 份,按 2.3 项下色谱条件测定,将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 版),

结果色谱图相似度均 > 0.95, 相对保留时间的 RSD 均 < 0.5%, 主要共有峰峰面积的 RSD 均 < 3.0%, 表明该方法重复性良好。

2.5 生苍术饮片 GC 指纹图谱的建立 分别吸取 10 批生苍术饮片、焦苍术饮片供试品溶液和对照品溶液各 1 μ L, 按 2.3 项下色谱条件测定, 将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 版), 以 S1 为参照图谱, 将其他样品色谱图进行色谱峰自动匹配, 建立 10 批苍术炒焦前后 GC 指纹图谱的共有模式, 见图 1。



A. 生品; B. 焦品; S. 共有模式

图 1 10 批苍术不同炮制品的 GC 指纹谱

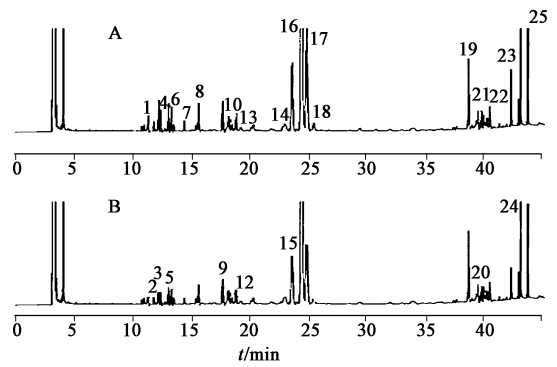
Fig. 1 GC fingerprints of 10 batches of different processed products of Atractylodis Rhizoma

2.6 生苍术、焦苍术的 GC 指纹图谱分析

2.6.1 共有峰标定 苍术炒焦前后 GC 指纹图谱分别标定 25 个共有峰。与 16 号峰相比, 生苍术和焦苍术色谱图中其他 24 个共有峰见图 2, 对照品图谱见图 3; 各共有峰的相对保留时间 (t_R) 及峰面积见表 2。经与对照品确认, 共有峰中 16 号峰为 β -桉叶醇, 19 号峰为邻苯二甲酸二异丁酯, 23 号峰为白术内酯 II, 24 号峰为白术内酯 I, 25 号峰为白术内酯 III。

2.6.2 GC 指纹图谱相似度评价 将 10 批苍术生品和对应的焦品检测数据分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 版), 以 S1 为参照图谱, 得生苍术和焦苍术 GC 指纹图谱共有模式, 见图 1。对指纹图谱进行相似度评价, 结果各样品图谱相似度均 > 0.90。

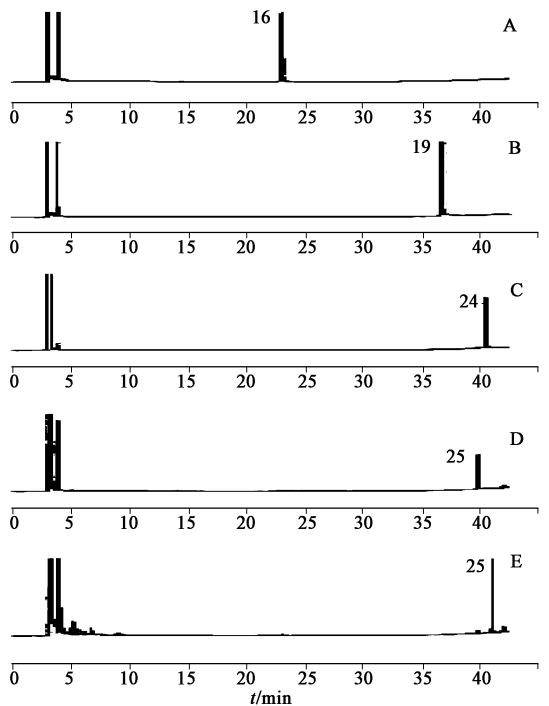
2.7 生、焦苍术 GC 指纹图谱对比分析 将生苍术和焦苍术 GC 指纹图谱制成镜像图, 见图 4; 比较两者对应色谱峰峰面积和色谱峰种类的变化规律, 并寻找专属性差异。结果发现苍术炒焦前后色谱峰的数量未发生明显改变, 但部分高质量分数的化学成



A. 生品; B. 焦品

图 2 苍术样品 GC 指纹谱的共有模式

Fig. 2 Common patterns of GC fingerprints of Atractylodis Rhizoma samples



A. β -桉叶醇; B. 邻苯二甲酸二异丁酯; C. 白术内酯-I; D. 白术内酯-II; E. 白术内酯-III

图 3 对照品的 GC 色谱

Fig. 3 GC of reference substances

分在炮制以后质量分数明显下降, 见表 3。同时, 色谱图中 16 号峰与 17 号峰的峰面积 (A) 比值, 19 号峰与 23 号峰的峰面积比值在炒焦前后有稳定的变化规律, 见表 4。

结果发现在相同色谱条件下, 焦苍术 GC 指纹图谱中 15 ~ 17, 19, 23 ~ 25 号峰的峰面积较生苍术显著降低, 降幅均 > 20%; 16 号与 17 号色谱峰的峰面积比值在生品中均 > 3.0, 而在焦品中却均 < 3.0; 19 号与 23 号色谱峰的峰面积比值在生品中均 < 3.0, 而在焦品中却均 > 3.0。此变化规律稳定。

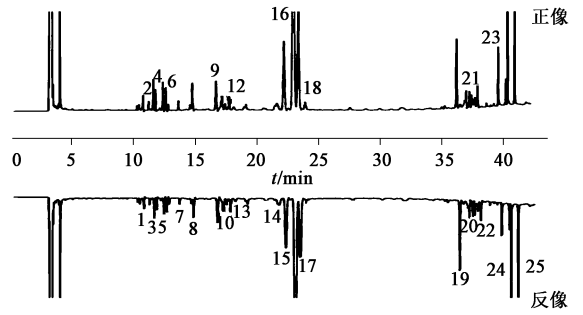
表 2 生苍术和焦苍术 GC 共有模式图中各共有峰的相对保留时间及峰面积

Table 2 Relative retention times and peak areas of common peaks in *Atractylodis Rhizoma* before and after being deep-fried

峰号	生苍术		焦苍术	
	t_R /min	峰面积	t_R /min	峰面积
1	10.805	23.594	10.809	10.331
2	11.268	15.055	11.272	6.299
3	11.650	51.732	11.655	22.352
4	11.821	36.202	11.825	15.896
5	12.425	54.519	12.430	24.998
6	12.661	72.339	12.665	33.271
7	13.697	32.526	13.701	16.863
8	14.830	45.097	14.835	23.083
9	16.773	90.413	16.779	49.442
10	17.226	124.755	17.273	91.991
11	17.527	33.491	17.530	16.266
12	17.858	113.596	17.861	50.888
13	18.190	27.859	18.200	16.327
14	21.778	119.738	21.786	97.532
15	22.412	454.332	22.403	244.337
16	23.105	1700.208	23.107	791.608
17	23.496	447.977	23.496	313.929
18	24.132	73.713	24.121	69.565
19	36.328	150.293	36.333	119.235
20	37.193	83.404	37.171	62.977
21	37.417	78.774	37.413	53.511
22	38.126	52.111	38.126	41.710
23	39.821	49.823	39.823	35.146
24	40.589	281.341	40.592	151.255
25	41.160	248.059	41.161	138.824

3 讨论

中药所含化学成分的种类、含量及配比是其发挥药效及毒副作用的物质基础^[12-13],结合本实验的研究结果,苍术炒焦以后燥性减弱及药效改变不仅与总挥发油含量下降有关,还可能与其特征化学成分含量及比例的改变密切相关。本实验对苍术炒焦前后总挥发油含量进行了定量检测,结果发现炒焦能显著降低苍术总挥发油含量,验证了过量的挥发油是苍术燥性和毒性的主要内因之一。在此基础上,采用镜像对比方式对苍术炒焦前后的 GC 指纹图谱进行比较分析,结果生苍术和焦苍术所含挥发油的化学成分种类未发生明显改变,但 β -桉叶醇等



正像. 生品;反像. 焦品

图 4 苍术炒焦前后 GC 共有峰模式的镜像对比

Fig. 4 Mirror comparison about common chromatographic peaks of *Atractylodis Rhizoma* before and after being deep-fried

表 3 苍术炒焦前后特征色谱峰的峰面积变化

Table 3 Area changes of characteristic chromatographic peaks in *Atractylodis Rhizoma* before and after being deep-fried

峰号	t_R /min	$A_{生品}$	$A_{焦品}$	减少率/%
15	22.412	454.332	244.337	46.221
16	23.105	1700.208	791.608	53.441
17	23.496	447.977	313.929	29.923
19	36.328	150.293	119.235	20.665
23	39.821	49.823	35.146	29.458
24	40.589	281.341	151.255	46.238
25	41.160	248.059	138.824	44.036

表 4 苍术炒焦前后特征色谱峰的峰面积比值

Table 4 Area ratios of characteristic chromatographic peaks in *Atractylodis Rhizoma* before and after being deep-fried

样品	$A_{16号}/A_{17号}$		$A_{19号}/A_{23号}$	
	生苍术	焦苍术	生苍术	焦苍术
1	3.13	2.50	2.77	3.33
2	3.47	2.13	2.34	4.15
3	3.72	2.53	2.88	3.51
4	4.36	1.74	2.84	4.34
5	4.14	2.81	2.61	3.65
6	3.21	2.64	2.28	3.19
7	5.06	2.77	2.67	4.28
8	3.68	1.61	1.93	3.27
9	4.33	2.74	2.76	4.02
10	3.87	2.85	2.55	3.47

部分化学成分的含量发生了显著变化;且某些特征峰的峰面积比值在炒焦前后发生了规律性的改变。

已标定的 5 种成分(β -桉叶醇,邻苯二甲酸二异丁酯和白术内酯 I, II, III)在苍术炒焦以后含量均

呈现下降,可能与其炒制过程中挥发相关;其中邻苯二甲酸二异丁酯属于邻苯二甲酸酯类增塑剂,已确认为第四类毒性化学物质,是苍术“燥性”的主要成分之一^[14-16],炒焦之后,其含量显著降低,证明炒焦确能起到降燥减毒的作用。综上所述,苍术燥性不仅与挥发油含量有关,还可能与挥发油中特征化学成分的量比(如 A_{16号}/A_{17号}, A_{19号}/A_{23号})及含量(如邻苯二甲酸二异丁酯)密切相关。

本实验采用的检测方法精密度和稳定性良好,所得 GC 指纹图谱变化特征明显,变化规律在 10 组对应样品中保持稳定,且具有专属性,建议将此 GC 指纹图谱特征峰的变化规律作为生、焦苍术饮片的色谱鉴别指标。为了保证本实验的研究结果更具代表性,课题组后续将加大样本量,进一步验证结果的可靠性。本课题组在研究焦苍术化学成分变化规律的同时,还在研究苍术炒焦前后药效及毒性的变化,这些研究结果将为苍术不同炮制饮片的临床合理应用提供理论支撑,同时也为进一步阐述焦苍术的炮制机制和降燥减毒提供实验依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:161-162.

[2] 陈炎明,陈静,俞桂新,等. 苍术化学成分和药理活性研究进展[J]. 上海中医药大学学报,2006,20(4):95-98.

[3] Kimura Y, Sumiyoshi M. Effects of an *Atractylodis lancea* rhizome extract and a volatile component-eudesmol on gastrointestinal motility in mice[J]. J Ethnopharmacol, 2012,14(1):530-536.

[4] 郭金鹏,王萍,孙如宝,等. 苍术挥发油化学成分及其抗菌活性的研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(3):

566-568.

[5] 张明发,沈雅琴,朱自平,等. 苍术抗腹泻和抗炎作用研究[J]. 中国药房,2000,11(3):109-110.

[6] Sotoh K, Yasuda I, Nagai F, et al. The effects of crude drugs using diuretic on horse kidney (Na⁺ + K⁺)-adenosine triphosphatase [J]. Yakugaku Zasshi, 1991, 111(2):138-145.

[7] Hwang J M, Tseng T H, Hsieh Y S, et al. Inhibitory effect of atractylon on tert-butyl hydroperoxide induced DNA damage and hepatic toxicity in rat hepatocytes[J]. Arch Toxicol, 1996, 70(10):640-644.

[8] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2007:126-127.

[9] 王凯文,张正,翁萍,等. 近年来苍术炮制研究进展[J]. 时珍国医国药,2014,25(1):195-197.

[10] 欧阳臻,姜涛涛,缪亚东,等. 苍术的化学成分、道地性和药理活性研究进展[J]. 时珍国医国药,2006,17(10):1936-1938.

[11] 湖北省食品药品监督管理局. 湖北省中药饮片炮制规范[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,2009:85-86.

[12] 张贵君. 中药研究的误区思考与创新研发的新思路[J]. 中国中药杂志,2007,32(13):1367-1369.

[13] 张虎,夏新中,向丽娟,等. 3种炮制方法对湖北茅苍术挥发油的化学成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(5):83-87.

[14] 马宁,徐海滨. 邻苯二甲酸二异丁酯的毒理学研究进展[J]. 中国食品卫生杂志,2010,22(5):467-470.

[15] 李鑫,孙雄杰,程颖,等. 苍术麸炒前后邻苯二甲酸二异丁酯含量对比研究[J]. 时珍国医国药,2014,25(8):1871-1872.

[16] 陈祥胜,容艳芬,刘苗苗,等. 苍术麸炒前后的专属性 HPLC 特征指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016,22(19):23-26.

[责任编辑 刘德文]