

白术不同炒制品 HPLC 指纹图谱研究

黄艳萍*, 袁萍

(广东食品药品职业学院, 广州 510520)

[摘要] 目的: 建立白术不同炒制品的 HPLC 指纹图谱, 比较炒制前后指纹图谱的差异性, 为不同炒制白术饮片的质量控制提供参考。方法: 采用 Kromasil C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 柱温为 30℃, 以乙腈-水为流动相梯度洗脱, 波长 242 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004 1.0 版”软件对土白术等 4 种炒制品与生品指纹图谱进行比较。结果: 不同炒制品和生品白术指纹图谱共有峰明显, 不同炒制品间指纹图谱有所差异。结论: 所建立的方法可以用于白术不同炒制品的指纹图谱测定, 方法稳定性和重现性好。

[关键词] 白术; 炒制; 指纹图谱; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0074-03

Study on HPLC-fingerprint of different processed Rhizoma Atractylodis Macrocephalae

HUANG Yan-ping*, YUAN Ping

(Guangdong Food And Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China)

[Abstract] **Objective:** To establish HPLC-fingerprints and compare the differences of processed Rhizoma Atractylodis Macrocephalae. This study was aimed at supplying reference for the quality control of processing technology. **Method:** Kromasil C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used with gradient elution of acetonitrile-water as the mobile phase. The detection wavelength was 242 nm and flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The “Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation” software was used to analyze similarity and compare the fingerprints. **Result:** There are obvious identical peaks between fried and crude Rhizoma Atractylodis Macrocephalae. But the samples of different processed materials had obvious differences in fingerprints. **Conclusion:** The HPLC-fingerprint is repeatable and feasible in analysis and can be used in quality control.

[Key words] Rhizoma Atractylodis Macrocephalae; fry; fingerprint; HPLC

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根, 具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎的功效^[1]。白术的炒制品有土白术、炒白术, 清炒白术、焦白术。生白术经炒制后化学成分发生了不同程度的变化, 如挥发油含量下降和苍术酮的转化^[2-3], 其药性和功能主治也有所不同, 麸炒白术用于脾胃不和、运化失常所致的食少胀满, 倦怠乏力及

表虚自汗, 胎动不安; 清炒白术缓和燥性, 增强焦香健脾益气功能, 用于治久泻、止痢; 土白术以健脾止泻为胜, 多用于脾虚泄泻。目前对白术的炒制饮片均无质量控制标准, 对白术药材目前有指纹图谱的研究报道^[4], 但白术经不同炒制前后指纹图谱的变化尚无报道。本文以 HPLC 法对生白术、麸炒白术、土白术、清白术和焦白术进行了指纹图谱研究并比较其不同, 为白术炮制品的质量标准的制定提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(美国 Agilent1100), Sartorius BP211D 型电子天平(0.01 mg), KQ-500E

[收稿日期] 20100304(003)

[通讯作者] * 黄艳萍, 硕士, 实验师, 研究方向为中药及中药制剂质量控制, Tel: (020) 37216552, E-mail: hypgz@126.com

型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药 生品白术药材产地为浙江磐安、缙云,购自广州采芝林药材公司,经广东食品药品职业学院汪小根教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根。

炒白术、土白术分别取生白术按照《中国药典》2005 年版一部炮制至规定要求;清炒白术、焦白术按以下方法炮制^[5-6]。

白术内酯,白术内酯,苍术酮对照品购自南昌贝塔生物科技有限公司,纯度均 98%;甲醇、乙腈为色谱纯;水为纯净水。其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱,二极管阵列检测器(DAD),以乙腈(A)-水(B)为流动相梯度洗脱,0~25 min, 45%~80% A; 25~40 min, 80%~100% A; 40~50 min, 100%~100% A; 55~60 min, 100%~45% A; 60 min 以后,45% A; 流速 1 mL·min⁻¹,柱温 25,检测波长 242 nm;进样量为 10 μL。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取过 40 目的白术生、不同炒制品粉末各 2 g,置锥形瓶中,精密加入甲醇 40 mL,密塞,精密称重,超声提取(功率 250 W,频率 20 kHz) 45 min,取出,再称重,补足减失的质量,取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜作供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取白术内酯 2.51 mg,白术内酯 2.46 mg,苍术酮 2.72 mg,分别用甲醇溶解配制成浓度为 0.100 4, 0.098 4, 0.108 8 mg/mL 的对照品溶液,于冰箱 4 保存。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度实验 精密称取生白术 2 g,按 2.2 项下方法制备供试液,按 2.1 项下色谱条件,连续进样 6 次分析,各共有峰相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 3%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性实验 取同一供试品溶液(生白术),按 2.1 项下色谱条件,分别在 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 进样,各共有峰相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 3%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.3 重现性实验 取同一批样品(生白术) 5 份,分别按 2.2 项下方法制备供试液,按 2.1 项下色谱条件进行测定,各共有峰相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 3%,表明实验重现性良好。

2.5 白术不同饮片指纹图谱测定

2.5.1 共有峰的指定 分别取生白术和各炒制白术样品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件依次进样进行测定,见图 1 和图 2,其中 13 号峰保留时间适中,峰面积稳定,且峰形较好,故选择 13 号峰为参照峰进行各饮片相对保留时间和相对峰面积的计算。所选择的共有峰面积之和占总峰面积的 85% 以上,可以较为全面的反映样品的内在质量,符合指纹图谱要求。依次对各对照品进行测定,并对主要色谱峰进行指认。

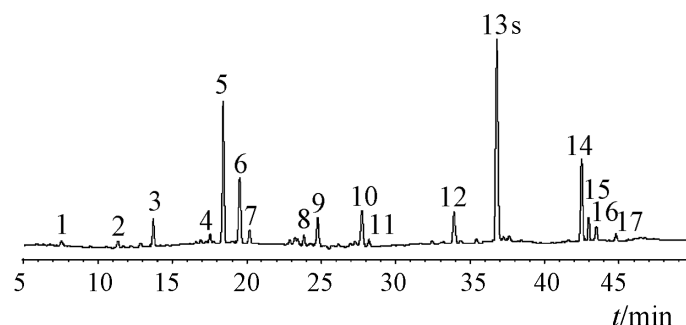


图 1 白术指纹图谱

3. 白术内酯, 7. 白术内酯, 13. 苍术酮

从图 2,表 1~2 可见,白术色谱图中峰面积最大的 13 号峰,峰面积较大的 5, 6, 9, 10, 12, 14 号峰及一些小峰 1, 2, 4, 7, 8, 11, 15, 16, 17 号峰构成白术共有指纹峰,同时不同炒制品出现了一些非共有特征峰,土炒白术增加了一个 a 峰,麸炒白术增加了一个 b 峰,焦白术增加了一个 c 峰,各炒制品均增加了一个 d 号峰,增加的色谱峰面积均比较小。各样品色谱图峰形基本一样,但各样品的峰面积变化差异较大,其中以 3, 6 和 13 号峰变化最为明显。

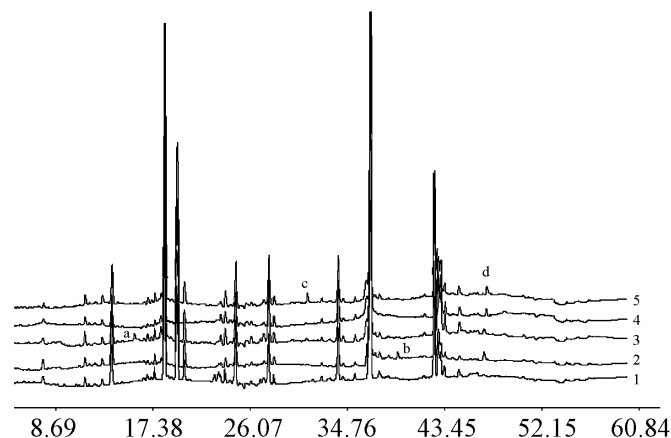


图 2 白术不同炒制品 HPLC 指纹图谱

1. 生白术, 2. 麸炒白术, 3. 土炒白术, 4. 焦白术, 5. 清炒白术

2.5.2 相似度分析 运用中药色谱指纹图谱相似度评价计算软件对白术不同炒制品的相似度评价。各样品图谱与对照谱相互比较,可得各白术炒制品相似度结果,见表 3。

表 1 特征指纹峰的相对保留时间

No.	各色谱峰相对保留时间				
	1	2	3	4	5
1	0.206	0.205	0.204	0.204	0.204
2	0.308	0.307	0.313	0.312	0.313
3	0.373	0.373	0.369	0.372	0.373
4	0.477	0.470	0.469	0.479	0.473
5	0.501	0.501	0.499	0.504	0.501
6	0.531	0.528	0.533	0.535	0.527
7	0.549	0.549	0.547	0.546	0.540
8	0.648	0.641	0.649	0.639	0.651
9	0.673	0.670	0.672	0.678	0.669
10	0.754	0.745	0.757	0.753	0.751
11	0.767	0.763	0.760	0.769	0.760
12	0.922	0.920	0.912	0.922	0.922
13	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
14	1.155	1.155	1.151	1.142	1.150
15	1.165	1.165	1.160	1.140	1.150
16	1.170	1.172	1.185	1.172	1.180
17	1.216	1.216	1.196	1.226	1.209

表 2 特征指纹峰的相对峰面积

No.	各色谱峰相对峰面积				
	1	2	3	4	5
1	0.020	0.054	0.014	0.020	0.015
2	0.025	0.026	0.021	0.027	0.034
3	0.100	0.482	0.366	0.185	0.143
4	0.034	0.027	0.013	0.018	0.040
5	0.519	0.320	0.465	0.424	0.379
6	0.293	0.432	0.581	0.289	0.372
7	0.053	0.047	0.077	0.040	0.066
8	0.036	0.042	0.035	0.034	0.044
9	0.136	0.196	0.149	0.135	0.170
10	0.167	0.107	0.204	0.106	0.184
11	0.027	0.040	0.024	0.037	0.027
12	0.139	0.133	0.105	0.106	0.143
13	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
14	0.322	0.333	0.379	0.377	0.353
15	0.104	0.122	0.146	0.112	0.125
16	0.104	0.127	0.161	0.229	0.159
17	0.024	0.019	0.023	0.027	0.025

表 3 白术不同炒制饮片相似度分析

No.	1	2	3	4	5
1	1.000	—	—	—	—
2	0.864	1.000	—	—	—
3	0.738	0.990	1.000	—	—
4	0.920	0.850	0.813	1.000	—
5	0.694	0.975	0.976	0.780	1.000

由表 3 可见,生白术与清炒白术相似度较高外,与其他炒制品相似度有差异,进一步表明炒制对白术化学成分有影响。土炒白术、麸炒白术及焦白术相似度较高也说明其临床用途相近有所依据。

3 讨论

本文通过实验获得了生、炒制品的指纹图谱,在所建立的色谱条件下,色谱峰分离比较理想。精密度、稳定性和重现性实验结果表明此法稳定、可靠、重现性好,可以满足指纹图谱分析测试的要求。为从整体上显示生、制品的特征,为白术炒制品的质量控制提供有效手段。

各饮片的测定结果表明,以参比峰计算,各饮片的相对保留时间的 RSD% 值均在 0.5% 以下,而相对峰面积变化幅度较大,因此以指纹图谱定性鉴别各炒制品白术较为合适,本研究较全面的揭示了白术炒制前后其化学成分量比关系的变化,为揭示白术炒制的科学内涵奠定了基础。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 68.
- [2] 沈国庆, 闫永红, 范伟全, 等. 浙江产白术挥发油化学成分研究[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(1): 128.
- [3] 文红梅, 李伟, 吴皓, 等. 炒制对白术中白术内酯含量的影响[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(11): 662.
- [4] 黎琼红, 马兴田, 谢晨, 等. 白术药材的指纹图谱研究[J]. 中草药, 2007, 38(6): 929.
- [5] 傅春升, 于维萍, 陈子玲. 炒白术、焦白术的质量研究[J]. 齐鲁药事, 2006, 25(11): 669.
- [6] 马麟, 段启, 许冬谨, 等. 清炒白术炮制工艺的优选[J]. 华西药学杂志, 2008, 23(4): 496.

[责任编辑 顾雪竹]