

## 苍术的定性定量分析方法研究\*

赵森淼<sup>1,2</sup>, 王瑞<sup>1,2\*\*</sup>, 俞桂新<sup>1,2</sup>, 王峥涛<sup>1,2</sup>, 邵建芳<sup>3</sup>

(1 上海中医药大学 中药学院 中药研究所 教育部中药标准化重点实验室, 上海 201203

2 上海中药标准化研究中心, 上海 201203 3 大连市药品不良反应监测中心, 大连 116021)

**摘要** 目的: 对苍术样品进行定性、定量试验研究, 提高苍术的质量标准。方法: 运用薄层色谱法对苍术中聚乙炔类成分苍术素、苍术素醇和 (4E, 6E, 12E) - 十四癸三烯 - 8, 10 - 二炔 - 1, 3 - 二乙酸酯进行定性分析; 采用高效液相色谱法测定苍术素的含量, 色谱柱为 Ultimate AQ - C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱, 流动相为甲醇 - 水 (79: 21), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 340 nm, 柱温 30 °C。结果: 苍术的薄层色谱鉴别特征明显, 专属性强; 苍术素进样量在 0.0018 ~ 0.63 μg 范围内与峰面积呈良好的线性 (r = 1.000), 回收率 > 97.5% (RSD < 1%, n = 3)。结论: 通过 31 批不同来源苍术药材、苍术饮片、麸炒苍术的鉴别和含量测定, 证明方法灵敏, 准确可靠, 重复性好。可用于苍术的质量控制, 具有很高的实用价值。

**关键词:** 苍术; 苍术素; 苍术素醇; (4E, 6E, 12E) - 十四癸三烯 - 8, 10 - 二炔 - 1, 3 - 二乙酸酯; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2010)05-0954-05

## Study on qualitative and quantitative analysis of Rhizoma Atractylodis\*

ZHAO Sen-miao<sup>1,2</sup>, WANG Rui<sup>1,2\*\*</sup>, CHOU Gui-xin<sup>1,2</sup>,  
WANG Zheng-tao<sup>1,2</sup>, SHAO Jian-fang<sup>3</sup>

(1 Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China 2 Shanghai R&D Center for Standardization of Traditional Chinese Medicines  
Shanghai 201203, China 3 Dalian Adverse Drug Reaction Monitoring Center, Dalian 116021, China)

**Abstract Objective** To establish qualitative and quantitative methods for the quality elevation of Rhizoma Atractylodis. **Methods** Three polyacetylene components of atractylodin, atractylodinol and (4E, 6E, 12E) - tetradecatriene-8, 10-diyne-1, 3-diyl diacetate were identified by TLC. The separation of atractylodin was obtained by RP-HPLC using Ultimate AQ - C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and elution systems of methanol-water (79: 21) with a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup> at 30 °C; The detection wavelength was at 340 nm. **Results** The identification of TLC was characteristic and specific. Calibration curve showed good linear regression (r = 1.000) within test ranges of 0.0018 - 0.63 μg. Average recovery was greater than 97.5% (RSD < 1%, n = 3). **Conclusion** The developed methods were proved to be sensitive, reliable and useful by analysis of thirty-one different samples from Rhizoma Atractylodis, pieces of Rhizoma Atractylodis and bran-processed of Rhizoma Atractylodis. This rapid and accurate method has been successfully applied to the quality evaluation of Rhizoma Atractylodis.

**Key words** Rhizoma Atractylodis; atractylodin; atractylodinol; (4E, 6E, 12E) - tetradecatriene-8, 10-diyne-1, 3-diyl diacetate; TLC; HPLC

苍术为常用中药, 始载于《神农本草经》, 燥湿健脾、祛风散寒、明目, 用于脘腹胀满、泄泻、水肿、脚气痿痹、风湿痹痛、风寒感冒、夜盲等症<sup>[1]</sup>。中国药典 (2005年版) 记载苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 和北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz 的干燥根茎, 鉴别项下仅以苍

术对照药材作为 TLC 鉴别依据, 无含量测定标准<sup>[2]</sup>。

聚乙炔类成分是苍术类药材中的特征性成分, 目前从苍术中已经分离得到 20 余种聚乙炔类化合物, 研究表明这类成分具有防止胃损伤、抗炎、利胆及黄嘌呤氧化酶阻碍作用, 其结构中的活性基团已

\* 国家药典委员会项目 (yz-170, yz-171, yz-172); 上海市科委科研计划项目 (08DZ1970103)

\*\* 通讯作者 Tel: (021) 51322181; E-mail: ellwangton@gmail.com

证实为共轭双键和三键。苍术聚乙炔类成分中的苍术素 (atractylodin)、苍术素醇 (attractylidinol) 和 (4*E*, 6*E*, 12*E*) - 十四癸三烯 - 8, 10- 二炔 - 1, 3- 二乙酸酯 [(4*E*, 6*E*, 12*E*) - tetradecatriene- 8, 10- diyne - 1, 3- diyl diacetate] 是这类成分中主要的 3 个化合物, 三者含量的总和占苍术中可检测出的聚乙炔类成分的 95% 以上, 基本代表了苍术中聚乙炔类成分, 且中药白术不含这 3 个成分, 专属性强<sup>[3-7]</sup>。而苍术中的倍半萜成分苍术酮、β- 桉叶醇、苍术内酯 III 等, 以及倍半萜苷类成分苍术苷 A、苍术苷 B、表 - 10- 苍术苷 A 等成分, 虽然也可作为指标建立定性、定量方法, 但在白术中均含有<sup>[8]</sup>, 缺乏专属性。

因此, 在前期实验研究的基础上<sup>[9, 10]</sup>, 本研究建立了苍术药材、苍术饮片和麸炒苍术中苍术素、苍术素醇、(4*E*, 6*E*, 12*E*) - 十四癸三烯 - 8, 10- 二炔 - 1, 3- 二乙酸酯的薄层色谱检识方法和苍术素的高效液相色谱含量测定方法, 为提高苍术的质量标准提供科学的依据。

### 1 仪器与试剂

硅胶 G 预制板 (烟台化学工业研究所), 双槽展开缸, 薄层色谱仪 (Reprostar 瑞士 CAMAG 公司); 液相色谱仪 (美国安捷伦公司 1100 型, 四元梯度泵、在线真空脱气机、柱温箱和二极阵列检测器); 甲醇为色谱纯 (德国 Merck 公司), 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司)。

对照品苍术素、苍术素醇、(4*E*, 6*E*, 12*E*) - 十四癸三烯 - 8, 10- 二炔 - 1, 3- 二乙酸酯由上海中药标准化研究中心自制, 纯度 > 98%。

苍术药材 10 批、苍术饮片 10 批、麸炒苍术 11 批由上海中药标准化研究中心吴立宏博士收集, 上海中医药大学赵志礼教授鉴定, 标本保存在上海中药标准化研究中心。

### 2 定性鉴别

取苍术粉末 0.8 g 置 25 mL 具塞锥形瓶中, 加甲醇 10 mL, 超声 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 提取 15 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液; 另取对照品苍术素、苍术素醇、(4*E*, 6*E*, 12*E*) - 十四癸三烯 - 8, 10- 二炔 - 1, 3- 二乙酸酯, 加甲醇制成每 1 mL 各含 0.2 mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。吸取供试品溶液 6 μL、对照品溶液 2 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 - 丙酮 (9: 2) 为展开剂, 预饱和 15 min, 展开, 展距 8 cm, 取出晾干, 喷以 10% 的硫酸乙醇溶液, 105 °C 加热至斑点显色清晰。样品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的

斑点, 见图 1。R<sub>f</sub> 值: 苍术素为 0.77, (4*E*, 6*E*, 12*E*) - 十四癸三烯 - 8, 10- 二炔 - 1, 3- 二乙酸酯为 0.36, 苍术素醇为 0.23。

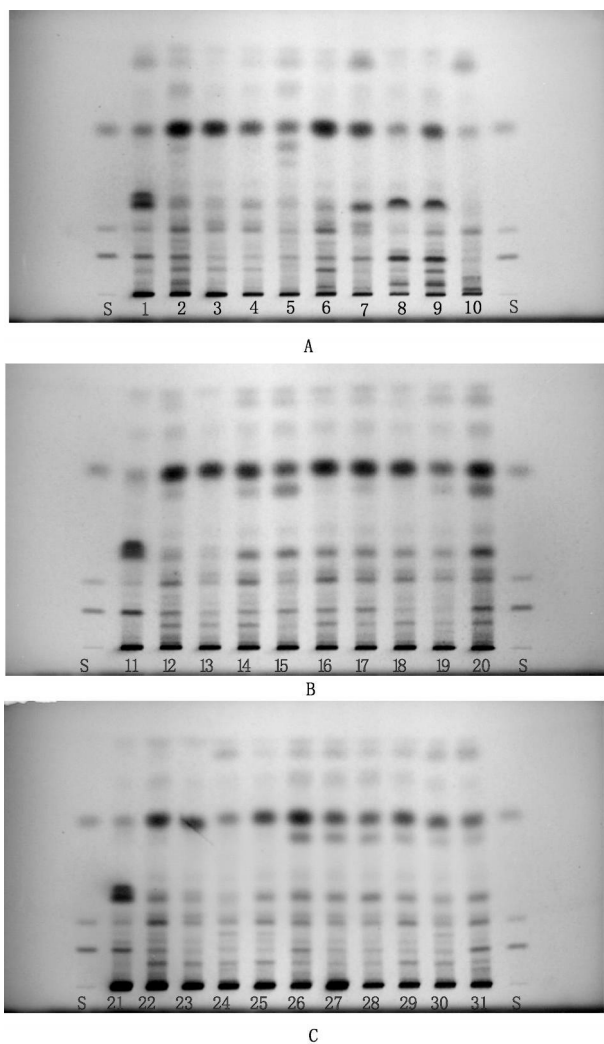


图 1 苍术药材 (A)、苍术饮片 (B) 和麸炒苍术 (C) 的薄层色谱图  
Fig 1 TLC chromatograms of Rhizoma Atractylodis (A), pieces of Rhizoma Atractylodis (B) and bran-processed Rhizoma Atractylodis (C). S 对照品 (自上而下: 苍术素、(4*E*, 6*E*, 12*E*) - 十四癸三烯 - 8, 10- 二炔 - 1, 3- 二乙酸酯、苍术素醇) [reference substances (from top to bottom: atretylodin, atractylidinol and (4*E*, 6*E*, 12*E*) - tetradecatriene- 8, 10- diyne- 1, 3- diyl diacetate)]  
1~31 样品 1~31 号 (sample No. 1 to 31)

### 3 含量测定

3.1 色谱条件 采用 Ultimate AQ - C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇 - 水 (79: 21) 为流动相, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 340 nm, 柱温 30 °C。

#### 3.2 溶液制备

3.2.1 对照品溶液 精密称取苍术素对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含苍术素 20 μg 的溶液, 摇

匀,即得(避光保存)。

**3.2.2 供试品溶液** 取样品粉末(过4号筛)约0.2 g精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇40 mL,密塞,称定重量,超声(功率250 W,频率40 kHz)提取60 min,放冷,再称定重量,补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**3.3 线性关系考察** 精密吸取对照品溶液5,10,15,20,25,30,35 μL,按上述色谱条件分别进样测定。以对照品溶液进样量( $X$ )为横坐标,峰面积积分值( $Y$ )为纵坐标,得回归方程为:

$$Y = 1.272 \times 10^4 X - 16.22 \quad r = 1.000$$

线性范围 0.0018~0.63 μg

**3.4 检测限和定量限** 取对照品溶液,用甲醇依次稀释制成系列浓度的溶液,进样10 μL,测得苍术素的检测限( $S/N = 3$ )为0.72 ng,定量限( $S/N = 10$ )为1.62 ng

**3.5 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液10 μL,在上述色谱条件下连续进样6次,测得苍术素色谱峰面积的RSD为0.7%,精密度良好。

**3.6 重复性试验** 取同一样品(13号样品)6份,按“供试品溶液制备”项下方法操作,在上述色谱条件下进样10 μL,测得苍术素含量平均值为0.482%,RSD为0.6%,重复性良好。

**3.7 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液10 μL,在上述色谱条件下,分别于0,1,2,4,8,12,24,36,48,72 h进样测定,测得苍术素色谱峰面积的RSD为0.8%,表明供试品溶液在72 h内稳定。

**3.8 加样回收试验** 取已知含量的苍术饮片(13号)和麸炒苍术(23号)粉末0.1 g各9份,精密称定,分别按已知含有量的50%,100%,150% 3个水平加入苍术素对照品适量,按“供试品溶液制备”项下方法操作,在上述色谱条件下进样10 μL,测得苍术饮片低、中、高浓度回收率( $n = 3$ )分别为98.3%,98.7%,99.8%;RSD分别为0.2%,0.2%,0.1%。麸炒苍术低、中、高浓度回收率( $n = 3$ )分别为98.2%,98.8%,97.5%;RSD分别为0.3%,0.3%,0.2%。

**3.9 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL,注入液相色谱仪,测定。色谱图见图2,结果见表1。

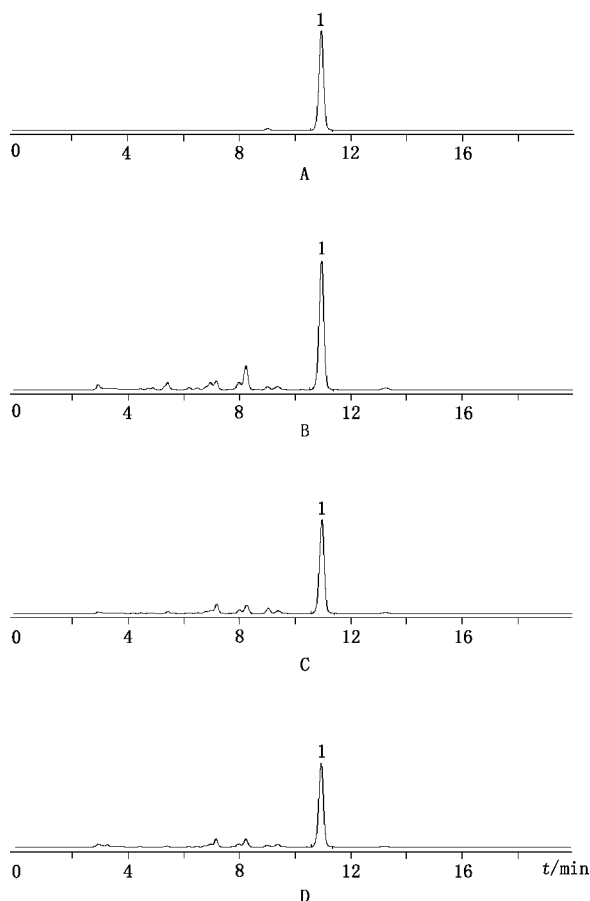


图2 对照品(A)、苍术药材(3号,B)、苍术饮片(13号,C)和麸炒苍术(23号,D)高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of reference substance(A), Rhizoma Atractylodis(Na 3, B), pieces of Rhizoma Atractylodis(Na 13, C) and bran-processed of Rhizoma Atractylodis(Na 23, D)

1. 苍术素(atractylodin)

## 4 讨论

**4.1 薄层色谱条件的选择** 分别考察了不同的展开系统:氯仿-甲醇、正己烷-乙酸乙酯、石油醚-丙酮等,在此基础上进行优化,结果表明以石油醚-丙酮(9:2)作为展开剂得到的色谱分离度及斑点相对位置重现性好。比较了国家药典委员会规定使用的5种硅胶预制板:HPTLC-Fertigplatten Nano-DURASIL-20(德国MN公司,批号503073)、Pre-coated TLC-plates SILG-25(德国MN公司,批号610282)、烟台化学工业研究所 HSGF(批号080809)、烟台化学工业研究所 SG(批号060603)和

表 1 苍术中苍术素的含量测定结果

Tab1 Determination of atractylodin in Rhizoma Atractylodis

编号 (No)	样品 (sample)	收集地 (collecting region)	产地 (resource region)	基源 (origin)	含量 (content) /%
1	苍术 (Rhizoma	安徽亳州 (Bozhou Anhui)	安徽 (Anhui)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.027
2	Atractylodis)	安徽亳州 (Bozhou Anhui)	辽宁 (Liaoning)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.681
3		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	内蒙古 (Neimonggol)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.521
4		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	内蒙古 (Neimonggol)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.344
5		河北安国 (Anguo Hebei)	内蒙古 (Neimonggol)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.259
6		四川成都 (Chengdu, Sichuan)	内蒙古 (Neimonggol)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.930
7		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	江苏 (Jiangsu)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.488
8		河南郑州 (Zhengzhou, Henan)	河南 (Henan)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.156
9		河南郑州 (Zhengzhou, Henan)	河南 (Henan)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.315
10		云南昆明 (Kunming Yunnan)	河北 (Hebei)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.080
11	苍术饮片	安徽亳州 (Bozhou Anhui)	安徽 (Anhui)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.042
12	(pieces of Rhizoma	安徽亳州 (Bozhou Anhui)	辽宁 (Liaoning)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.521
13	Atractylodis)	安徽亳州 (Bozhou Anhui)	内蒙古 (Neimonggol)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.485
14		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	内蒙古 (Neimonggol)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.509
15		河北安国 (Anguo Hebei)	内蒙古 (Neimonggol)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.349
16		四川成都 (Chengdu, Sichuan)	内蒙古 (Neimonggol)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.692
17		河南郑州 (Zhengzhou, Henan)	辽宁 (Liaoning)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.503
18		黑龙江哈尔滨 (Harbin Heilongjiang)	黑龙江 (Heilongjiang)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.427
19		河北安国 (Anguo Hebei)	河北承德 (Hebei Chengde)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.194
20		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	江苏 (Jiangsu)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.463
21	麸炒苍术	安徽亳州 (Bozhou Anhui)	安徽 (Anhui)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.054
22	(bran-processed of	安徽亳州 (Bozhou Anhui)	辽宁 (Liaoning)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.424
23	Rhizoma Atractylodis)	安徽亳州 (Bozhou Anhui)	内蒙古 (Neimonggol)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.438
24		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	内蒙古 (Neimonggol)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.122
25		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	内蒙古 (Neimonggol)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.533
26		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	内蒙古 (Neimonggol)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.349
27		河北安国 (Anguo Hebei)	内蒙古 (Neimonggol)	北苍术 <i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz	0.319
28		河南郑州 (Zhengzhou, Henan)	辽宁 (Liaoning)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.248
29		安徽亳州 (Bozhou Anhui)	辽宁 (Liaoning)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.322
30		河北安国 (Anguo Hebei)	河北承德 (Hebei Chengde)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.227
31		上海 (Shanghai)	安徽 (Anhui)	茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	0.212

手铺板 (10 cm × 20 cm, G 薄层层析用硅胶, 青岛海洋化工厂, 0.5% 羧甲基纤维素钠水溶液, 厚度 0.4 mm), 结果表明均可以对苍术中苍术素、苍术素醇、(4E, 6E, 12E) - 十四癸三烯 - 8, 10 - 二炔 - 1, 3 - 二乙酸酯 3 种成分进行定性鉴别, 在保证重复性的前提下, 以选择价格易于接受为原则, 推荐使用国产

普通预制硅胶板。分别观察在 5 种不同湿度 (32%, 42%, 58%, 65%, 88%) 下的展开情况: 用不同浓度的硫酸溶液控制薄层板的相对湿度, 结果显示湿度范围在 32% ~ 88% 时, 均能获得较好的效果。分别在室温 (20~ 25 °C) 及低温 (10~ 4 °C) 展开, 结果显示温度影响相对较小。

## 4.2 苍术素 HPLC 含量测定条件的选择

**4.2.1 供试品溶液制备方法** 对提取溶剂(乙醇、甲醇、80% 甲醇、50% 甲醇)、提取方法(冷浸、超声振荡、直接回流)和提取时间(15、30、45、60 min)进行考察,最终确定提取方法为甲醇超声提取 60 min。

**4.2.2 耐受性试验** 对不同品牌色谱柱 [Ultimate AQ-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)、Agilent XDB-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)、Agela venusil-MP C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)]、流动相组成(甲醇-水、乙腈-水)、流动相甲醇-水比例变化(27.3:72.7 → 14.7:85.3)、柱温(20~40 °C)、流速(0.95~1.05 mL·min<sup>-1</sup>)进行考察,按本文含量测定色谱条件以及改变色谱条件后进样分析,测得苍术素色谱峰面积的 RSD < 3%,分离度符合含量测定要求。因此,苍术中的苍术素含量测定条件较宽,具有较好的耐受性。

## 4.3 小结

本文对 31 批样品(苍术药材、净片和炮制品)进行定性定量分析。结果表明,各样品均可检出苍术素、苍术素醇和(4*E*, 6*E*, 12*E*)-十四癸三烯-8,10-二炔-1,3-二乙酸酯,且与其他斑点分离较好,具有特征性和专属性。对苍术素的含量测定结果表明苍术素的含量在各样品中差异较大,依次为苍术净片(0.38%)、苍术药材(0.42%)和麸炒苍术(0.30%)。

聚乙炔类成分是苍术类药材中的特征性成分,也是活性成分。本文所建立的薄层色谱鉴别方法以苍术素、苍术素醇和(4*E*, 6*E*, 12*E*)-十四癸三烯-8,10-二炔-1,3-二乙酸酯为指标成分,基本代表了苍术中聚乙炔类成分,且专属性强,能够较为全面地反映不同产地苍术的成分变化。苍术素的高效液相色谱含量测定方法简便,准确可靠,重复性好。广泛收集各地样品,结果具有一定的代表性,可用于苍

术的质量控制,具有很高的实用价值。

## 参考文献

- 1 New Medical College of Jiangsu(江苏新医学院). Great Dictionary of Chinese Medicine(中药大辞典). Shanghai(上海): Shanghai Science and Technology Publishers(上海科学技术出版社), 1977. 1067
- 2 ChP(中国药典). 2005. Vol I (一部): 111
- 3 Resch M, Heimann J, Steigel A, et al. Further Phenols and polyacetylenes from the rhizomes of *Atractylodes lancea* and their anti-inflammatory activity *Planta Med*, 2001, 67(5): 437
- 4 Resch M, Steigel A, Chen ZL, et al. 5-Lipoxygenase and cyclooxygenase-1 inhibitory active compounds from *Atractylodes lancea* *J Nat Prod*, 1998, 61(3): 347
- 5 Sakurai T. Protective effect of TDEYA constituents of *Atractylodes japonica* Koiz ex Kitam on experimental gastric ulcer (关苍术成分 TDEYA 对实验性胃溃疡的保护作用). *Foreign Med Sci Tradit Chin Med*(国外医学中医中药分册), 1996, 18(5): 46
- 6 Sakurai T, Yamada H, Saito K, et al. Enzyme inhibitory activities of acetylene and sesquiterpene compounds in *Atractylodes rhizome* *Biol Pharm Bull*, 1993, 16(2): 142
- 7 Translated by WANG Yu-liang(王玉良译). The pharmacology investigation of *Atractylodes sinensis* and *Atractylodes macrocephala* (苍术白术的药理学研究). *Prog Jpn Med*(日本医学介绍), 1984, 5(12): 30
- 8 Kitajima J, Kamoshita A, Ishikawa T, et al. Glycoside of *Atractylodes ovata* *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(9): 1106
- 9 CHEN Yan-ming(陈炎明), CHOU Gui-xin(俞桂新), WANG Zheng-tao(王峥涛). Simultaneous determination of polyacetylene components in Cangzhu by reversed-phase high performance liquid chromatography(反相高效液相色谱法同时测定苍术中的两种聚乙炔类化合物). *Chin J Chromatogr*(色谱), 2007, 25(1): 84
- 10 CHEN Yan-ming(陈炎明), CHOU Gui-xin(俞桂新), WANG Zheng-tao(王峥涛). Determination of β-eudesmol in rhizome of *Atractylodes lancea* by RP-HPLC (RP-HPLC 测定茅苍术中 β-桉叶醇的含量). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2007, 32(21): 2265

(本文于 2009 年 4 月 16 日收到)