

白术挥发油的 HPLC 定量质控和特征图谱研究<sup>\*</sup>

阎克里 朱秀卿 赵丽

(山西省肿瘤医院药物检测室 太原 030001)

**摘要** 目的: 建立白术挥发油的 HPLC 定量质控和特征图谱分析方法, 并分析比较 4 个产地挥发油中特征成分及其相对含量的异同点。方法: 采用 Hypersil ODS2(4.6 mm × 250 mm 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈(A) - 水(B), 梯度洗脱(0 ~ 30 min, 40% B → 10% B; 30 ~ 40 min, 10% B → 10% B); 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 定量质控检测波长: 0 ~ 9 min 时 200 nm(白术内酯Ⅲ、β-桉叶醇), 9.1 ~ 20 min 时 220 nm(白术内酯Ⅰ), 20.1 ~ 45 min 时 200 nm(苍术酮、β-榄香烯); 特征图谱检测波长 205 nm; 柱温 30 ℃。结果: 挥发油的 HPLC 定量质控和特征图谱分析方法学考察结果良好。浙江、安徽、湖南和河北等产地挥发油特征图谱与共有模式之间相似度 ≥ 0.998。4 个产地挥发油特征图谱及共有模式之间特征峰的相对保留时间的 RSD ≤ 1%, 相对峰面积 RSD 的范围为 21% ~ 79%。4 个产地挥发油特征图谱及共有模式中的特征峰峰面积占总峰面积的 97.10% ~ 98.33%。浙江、安徽、湖南产地挥发油特征图谱及共有模式中的特征峰的相对保留时间 RSD ≤ 0.86%, 相对峰面积的 RSD ≤ 2%; 与河北的进行比较, 相对峰面积 RSD 的范围为 5.6% ~ 68%。结论: 建立的 HPLC 挥发油定量质控及特征图谱分析方法简单、稳定、可靠。4 个产地挥发油特征图谱整体相似度较高, 特征成分种类相近, 但其相对含量有差异。浙江、安徽、湖南产地挥发油特征图谱中的特征成分的种类及其相对含量相近; 河北产地挥发油特征图谱中的特征成分的相对含量与其他 3 个产地的相比存在一定差异。

**关键词:** 白术挥发油; 质量控制; 特征图谱; 高效液相色谱; 苍术酮; β-桉叶醇; 白术内酯Ⅰ; 白术内酯Ⅲ; β-榄香烯

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2011)04 - 0758 - 06

## Study on HPLC quantitative quality control and specific chromatograms of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae* volatile oil<sup>\*</sup>

YAN Ke - li ZHU Xiou - qing ZHAO Li

(Department of Drug Detection, Shanxi Provincial Tumour Hospital, Taiyuan 030013, China)

**Abstract Objective:** To establish quantitative quality control and specific chromatograms analysis methods of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae* volatile oil by HPLC. Using the methods, the differences of feature chemical components and their relatively contents in the volatile oil from four different sources were compared. **Methods:** The methods were carried out by Hypersil ODS2(4.6 mm × 250 mm 5 μm) column using acetonitrile(A) - water(B) as mobile phase with gradient elution(0 - 30 min, 40% B → 10% B; 30 - 40 min, 10% B → 10% B) at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The quantitative quality control detection wavelength was set at 200 nm(0 - 9 min) for atractylenolide III and β-eudesmol, 220 nm(9.1 - 20 min) for atractylenolide I and 200 nm(20.1 - 45 min) for atractylon and β-elemene. The specific chromatograms detection wavelength was set at 205 nm. The column temperature was 30 ℃. **Results:** The HPLC methods of quantitative quality control and specific chromatograms for the volatile oil were established. The methodological results were good. The similitude degree of four different sources volatile oil specific chromatograms exceeded 0.998. As compared with the specific components peaks relative retention time and their relative peak area in the feature chromatograms gathered in four different sources volatile oil and mutual mode dates with each other, the RSDs range of the relative retention time were less than 1%, and the range of the relative peak areas RSDs were in 21% - 79%. The sum of the specific peaks area in feature chromatograms and mutual mode of four different sources volatile oil accounted for 97.10% - 98.33% of total peaks area. Compared

\* 山西省卫生厅科技攻关项目(200833)

第一作者 Tel: (0351) 4651594; E-mail: yankeli@tom.com

with the specific components peaks relative retention time and their relative area of the feature chromatograms collected in Zhejiang, Anhui and Hunan sources volatile oil and mutual mode with each other, RSDs of the relative retention time and the relative peaks area were less than 0.86% and 2%, respectively. As adding dates of Hebei source volatile oil to compare, the range of the relative peak area RSDs were in 5.6%–68%. **Conclusion:** The established methods of quantitative quality control and specific chromatography for the volatile oil by HPLC were simple, accurate and reliable. The total similarity degree of the feature chromatograms gained in four different sources volatile oil were higher and the varieties of their feature components were very closely same, but the relative content of these components had some difference. The varieties and their relative content of specific components in the feature chromatograms collected in Zhejiang's, Anhui's and Hunan's sources volatile oil were closely same, but the dates compared with these obtained from the Hebei sources volatile oil, the varieties of specific components were very similar, but their relative content had bigger difference.

**Key words:** Rhizoma Atractylodis Macrocephalae volatile oil; quality control; specific chromatogram; HPLC; atractylon;  $\beta$ -eudesmol; atractylenolide I; atractylenolide III;  $\beta$ -elemene

白术挥发油是白术抗肿瘤活性部位<sup>[1]</sup>,挥发油中约含40种不同化学物质,含量最高成分是苍术酮<sup>[2]</sup>。白术挥发油中苍术酮性质不稳定,易发生氧化分解<sup>[3]</sup>,分解前、后的GS-MS色谱图明显不同<sup>[4]</sup>。采用气相色谱对挥发油进行分析,测定中程序升温过程或可对苍术酮稳定造成影响<sup>[5]</sup>,给挥发油质量控制结果带来影响。

有关挥发油定量质控研究,可见对挥发油中苍术酮定量分析<sup>[6]</sup>,多数研究集中在对白术药材质控方面<sup>[7-10]</sup>。在指纹图谱研究方面,有报道比较不同提取方法获得的挥发油其色谱结果差异<sup>[11]</sup>;采用直观推导式演进特征投影算法,比较不同产地挥发油GS-MS数据差异,表征白术药材质量<sup>[12]</sup>。另有研究,采用高效毛细管电泳法比较不同产地白术药材指纹图谱差异<sup>[13]</sup>;采用HPLC法,研究建立了白术药材指纹图谱分析方法<sup>[14]</sup>。可以看出定量质控指标单一,研究对象均为白术药材。

研究表明,挥发油中苍术酮、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯I、白术内酯III和榄香烯等化学成分具有抗肿瘤作用<sup>[15-18]</sup>。本文采用对挥发油稳定影响较小的HPLC法,以挥发油中5种抗肿瘤活性物质为质控指标,研究建立挥发油HPLC定量质控和特征图谱分析方法。以浙江、安徽、湖南和河北4个外观差异较大产地的白术药材所提取的挥发油为对象,分析比较5个定量成分的含量及其差异;对4个产地挥发油特征图谱相似度及特征图谱中的特征成分的相对保留时间和相对峰面积进行了研究比较。初步建立白术挥发油质量控制评价方法。

## 1 仪器和试剂

L-2130 HITACHI(日立)高效液相色谱仪;L-

2420 HITACHI(日立)紫外检测器;HITACHI(日立)自动进样器;大连依利特Echrom 98型色谱工作站;分析天平(上海)(Max100 g,  $D=0.0001$  g)。

苍术酮自制,经<sup>1</sup>HNMR和<sup>13</sup>CNMR鉴定其结构, HPLC归一化法测定纯度大于99%;对照品白术内酯I(批号10042-081010)、白术内酯III(批号10044-081010),购于南昌贝塔生物科技有限公司,纯度大于99.5%; $\beta$ -桉叶醇购于南京泽朗医药科技有限公司,纯度大于99.6%; $\beta$ -榄香烯(批号100268-200401),购于中国药品生物制品检定所,纯度大于99.2%。白术药材分别购自浙江新昌、安徽歙县、湖南平江及河北安国当地,经鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎。乙腈为色谱纯,乙酸乙酯为分析纯,水为去离子水。

## 2 白术挥发油提取

取白术药材干燥根茎,粉碎,过20目筛,置于超临界二氧化碳萃取釜中。萃取压力23~25 MPa,萃取温度50℃;分离压力7~8 MPa,分离温度50℃,每次提取4 h。收集萃取得到的挥发油,称重,于-20℃避光条件下保存,备用。

## 3 溶液制备

**3.1 混合对照品溶液** 精密称取对照品苍术酮36 mg、 $\beta$ -桉叶醇24 mg、白术内酯I 20 mg、白术内酯III 15 mg,加乙腈制成每1 mL分别含1.200、0.800、0.400、0.300 mg的溶液,摇匀,待用。再精密称取对照品 $\beta$ -榄香烯10 mg,加乙腈-乙酸乙酯(1:1)制成每1 mL含100  $\mu$ g的溶液,摇匀,待用。分别吸取上述2个配制好的待用对照品溶液适量,加乙腈制成每1 mL分别含苍术酮0.60 mg、白术内酯I 50  $\mu$ g、 $\beta$ -桉叶醇0.40 mg、白术内酯III 40  $\mu$ g、 $\beta$ -榄香

烯 20  $\mu\text{g}$  的 5 个混合对照品储备液。分别精密吸取混合对照品储备液适量,以乙腈稀释、定容,制成 9 个浓度混合对照品溶液,0~5  $^{\circ}\text{C}$  冷藏避光保存,待用。

**3.2 供试品溶液** 精密称取 -20  $^{\circ}\text{C}$  保存的挥发油 40 mg,用适量乙腈定容于 25 mL 量瓶中,制成浓度为 1.5  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的挥发油溶液。0~5  $^{\circ}\text{C}$  冷藏避光保存,待用。

#### 4 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS2 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈(A) - 水(B), 梯度洗脱 (0~30 min 40% B  $\rightarrow$  10% B; 30~40 min 10% B  $\rightarrow$  10% B); 流速: 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 5  $\mu\text{L}$ ; 定量检测波长: 0~9 min 时 200 nm (白术内酯 III 和  $\beta$ -桉叶醇), 9.1~20 min 时 220 nm (白术内酯 I), 20.1~45 min 时 200 nm (苍术酮和  $\beta$ -榄香烯); 特征图谱检测波长: 205 nm。在上述色谱条件下,理论塔板数以苍术酮、白术内酯 I、白术内酯 III 和  $\beta$ -桉叶醇峰计,均不低于 8000,分离度良好 ( $R > 1.5$ )。定量色谱结果见图 1,特征图谱见图 2。

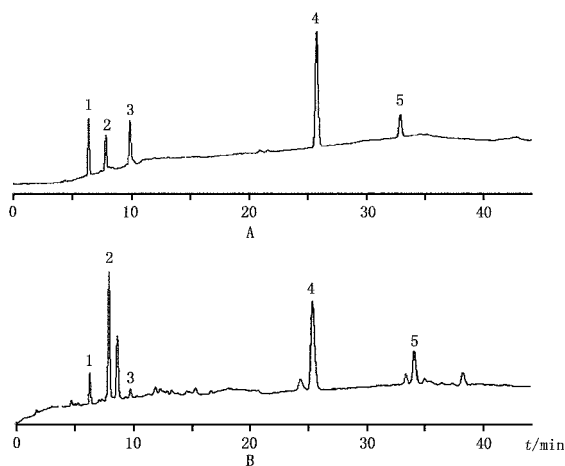


图 1 混合对照品(A)及挥发油样品(B) HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of mixed chemical reference substances(A) and volatile oil sample(B)

1. 白术内酯 III (atractylenolid III) 2.  $\beta$ -桉叶醇 ( $\beta$ -eudesmol)  
3. 白术内酯 I (atractylenolid I) 4. 苍术酮 (atractylon) 5.  $\beta$ -榄香烯 ( $\beta$ -elemene)

#### 5 定量分析方法学研究

**5.1 线性与范围** 分别精密量取系列浓度的混合对照品溶液 5  $\mu\text{L}$ , 在“4”项色谱条件下进样,记录色谱图。以对照品质量浓度  $X$  ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 为横坐标,峰面积  $Y$  为纵坐标,进行线性回归,结果见表 1。

**5.2 检测限与定量限** 配制苍术酮、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 I、白术内酯 III 和  $\beta$ -桉叶醇浓度分别为

表 1 5 种组分标准曲线及相关系数

Tab 1 Calibration curves and their correlation coefficients of five components

组分 (component)	标准曲线 (calibration)	$r$	线性范围 (linear range) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
苍术酮(atractylon)	$Y = 0.0001X + 0.0034$	0.9999	100.0 ~ 1000.0
$\beta$ -桉叶醇( $\beta$ -eudesmol)	$Y = 0.2041X$	0.9999	20.0 ~ 1000.0
白术内酯 I (atractylenolid I)	$Y = 0.0548X + 0.0254$	1.000	3.0 ~ 150.0
白术内酯 III (atractylenolid III)	$Y = 0.0864X$	1.000	4.0 ~ 120.0
$\beta$ -榄香烯( $\beta$ -elemene)	$Y = 0.062X$	0.9998	0.2 ~ 10.0

10.59 2.12 0.31 0.55 1.23  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液,再用乙腈稀释 10 倍,50 倍,100 倍,得 3 份混合溶液,在“4”项色谱条件下,进样 5  $\mu\text{L}$ 。结果苍术酮、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 I、白术内酯 III 和  $\beta$ -桉叶醇的检测限 ( $S/N = 3$ ) 依次为 1.08, 1.38, 2.15, 2.39, 8.56 ng; 定量限 ( $S/N = 10$ ) 依次为 3.24, 4.16, 6.88, 7.61, 25.52 ng。

**5.3 精密度试验** 取同一供试品溶液,连续进样 5 次,记录 5 个质控指标峰面积,计算苍术酮、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 I、白术内酯 III、 $\beta$ -榄香烯 RSD ( $n = 5$ ) 分别为 1.8%, 1.5%, 1.6%, 1.5%, 1.8%。

**5.4 重复性试验** 取浙江产地挥发油,按照“3.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,进样,记录 5 个质控指标峰面积,计算每毫克挥发油中苍术酮、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 I、白术内酯 III、 $\beta$ -榄香烯含量,结果分别为 ( $n = 6$ ) 305.9, 62.17, 8.1, 5.7, 1.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ ; RSD 分别为 2.1%, 1.6%, 1.1%, 1.2%, 1.1%。

**5.5 挥发油稳定性** 取新提取挥发油适量,分别在 0~5  $^{\circ}\text{C}$  避光和 -20  $^{\circ}\text{C}$  避光条件下放置,在 0, 1, 2, 4, 8, 10, 12 月每月初,各取适量,每次同时制备 3 份供试品,在“4”项色谱条件下,进样,记录苍术酮、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 I、白术内酯 III、 $\beta$ -榄香烯 5 个组分峰面积。在 0~5  $^{\circ}\text{C}$  避光条件下放置 8 个月,5 个组分峰面积的 RSD ( $n = 75$ )  $\leq 1.6\%$ ; 在避光 -20  $^{\circ}\text{C}$  条件下放置 12 个月,5 个组分峰面积的 RSD ( $n = 90$ )  $\leq 1.3\%$ 。

**5.6 供试品溶液稳定性** 取新提取挥发油适量,按照“3.2”项下方法制备供试品溶液,将供试品溶液分为 2 份,分别在 0~5  $^{\circ}\text{C}$  避光和室内室温暗处 (22~25  $^{\circ}\text{C}$ ) 条件下放置,在 0, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48 h 时,各取供试品溶液在“4”项色谱条件下进样,记录苍术酮、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 I、白术内酯 III、 $\beta$ -榄香烯 5 个组分峰面积。结果室内室温暗处 (22~

25 ℃) 条件下供试品溶液放置 8 h, 5 个组分峰面积  $RSD(n=4) \leq 12\%$ ; 0 ~ 5 ℃ 避光条件下放置的供试品溶液 48 h 内 5 个组分峰面积  $RSD(n=8) \leq 1.2\%$ 。

**5.7 加样回收率** 取已知苍术酮、白术内酯 I、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 III 和  $\beta$ -榄香烯含量挥发油 9 份, 3 份为一组, 每份约 19 mg, 精密称定, 分别精密加入相当于挥发油中苍术酮、白术内酯 I、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 III 和  $\beta$ -榄香烯含量 80%、100%、120% 的对照品溶液, 按照“3.2”项下方法制备所需溶液, 进

样, 记录峰面积, 计算加样回收率和 RSD。苍术酮、白术内酯 I、 $\beta$ -桉叶醇、白术内酯 III 和  $\beta$ -榄香烯低、中、高 3 个浓度平均加样回收率分别为 98.5%、99.2%、102.0%;  $RSD(n=3)$  分别为 2.3%、1.9%、2.1%。

**5.8 挥发油含量测定** 按照“2”项下方法提取的 4 个产地挥发油, 分别取适量, 依“3.2”项下方法制备供试品溶液各 3 份, 在“4”项色谱条件下, 进样, 计算每毫克挥发油中 5 个定量指标含量, 结果见表 2。各成分含量的 ( $n=3$ )  $RSD \leq 3.3\%$ 。

表 2 4 个产地挥发油含量测定结果 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ ,  $n=3$ )

Tab 2 Content of five quantitative indexes for four sources volatile oil

产地 (sources)	苍术酮 (atractylon)	$\beta$ -桉叶醇 ( $\beta$ -eudesmol)	白术内酯 I (atractylenolide I)	白术内酯 III (atractylenolide III)	$\beta$ -榄香烯 ( $\beta$ -elemene)
浙江( Zhejiang)	307.2	61.7	8.0	5.8	0.9
安徽( Anhui)	130.9	199.9	17.9	5.6	0.7
湖南( Hunan)	82.0	218.3	19.0	7.9	0.6
河北( Hebei)	121.3	24.3	3.6	2.4	0.3

## 6 特征图谱分析方法学研究

将收集到的浙江、安徽、湖南、河北产地白术药材, 按照“2”项下方法提取挥发油, 按“3.2”项下方法制备供试品溶液, 在“4”项色谱条件下, 进样测定。采用相对保留时间确认特征峰, 对所得特征图谱进行分析。选择稳定性好、吸收强、特征明显的色谱峰为共有峰, 共确定了 8 个峰。以苍术酮(6 号) 作为参照峰, 测得各共有峰柱效大于 5000, 分离度大于 1.5。同时, 记录了 120 min 色谱图, 在保留时间 45 min 之后未见其他色谱峰出现, 故色谱采样记录时间定为 45 min。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统研究版(2004A)”对各色谱结果进行比较。色谱图见图 2。

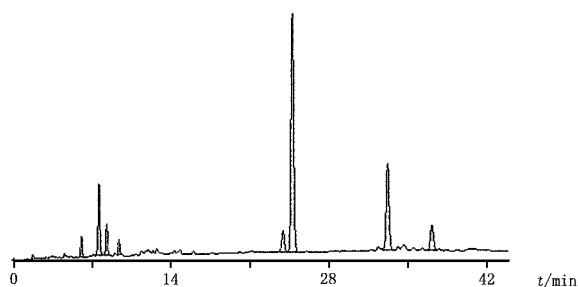


图 2 挥发油特征图谱

Fig 2 Volatile oil specific chromatogram

**6.1 精密度试验** 取同一供试品溶液, 连续进样 6 次, 6 针之间分别相互匹配, 结果每两针之间的相似度均为 1.000。

**6.2 重复性试验** 取浙江产地挥发油, 制备供试品溶液 6 份, 进样, 6 针之间分别相互匹配, 结果每两针之间的相似度在 0.985 ~ 1.000 之间。

**6.3 不同色谱柱精密度的试验** 取浙江产地挥发油, 制备供试品溶液, 分别注入同一型号( Hypersil, ODS 2  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250 mm) 的 3 根色谱柱, 得到的色谱图相互匹配, 结果每两针之间的相似度分别为 0.989、0.995、0.982。

**6.4 稳定性试验** 取新提取挥发油适量, 按照“3.2”项下方法制备供试品溶液, 供试品溶液在 0 ~ 5 ℃ 避光条件下放置, 在 0、4、8、12、24、36、48 h 时, 各取供试品溶液适量, 进样, 测定, 记录色谱图, 进行色谱图匹配, 结果每两针之间的相似度为 0.995 ~ 1.000。

**6.5 特征图谱相似度评价及比较** 分别取浙江、安徽、湖南、河北产地挥发油适量, 制备供试品溶液, 进样, 测定。将得到的 4 个产地挥发油特征图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统研究版(2004A)”, 进行特征峰匹配, 以浙江产地挥发油供试品色谱图作为对照, 建立挥发油特征图谱共有模式, 色谱结果见图 3。计算得各产地挥发油特征图谱与共有模式之间整体相似度 0.998 ~ 1.000。4 个产地挥发油特征图谱与共有模式中峰相对保留时间的  $RSD \leq 1\%$ , 其相对峰面积 RSD 的范围为 21% ~ 79%。4 个产地挥发油特征图谱中共有峰的峰面积之和占总峰面积的 97.10% ~ 98.33%。浙江、安

徽、湖南产地挥发油特征图谱与共有模式中的共有峰相对峰面积的  $RSD \leq 2\%$ , 其相对保留时间的  $RSD \leq 0.86\%$ 。河北产地挥发油特征图谱与共有模式中共有峰的相对保留时间和相对峰面积与其他 3 个产地的比较 相对保留时间的  $RSD \leq 0.69\%$  相对峰面积  $RSD$  的范围为  $5.6\% \sim 68\%$ 。

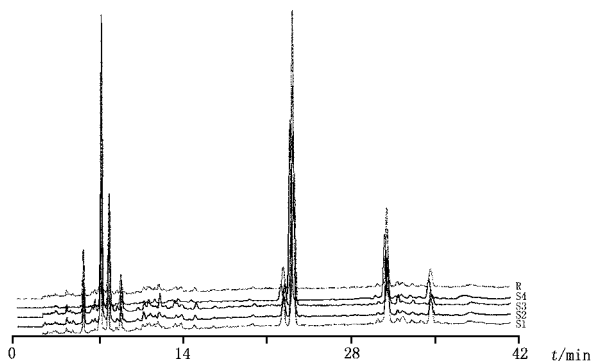


图3 4个产地挥发油特征图谱及共有模式色谱图

Fig 3 Four sources volatile oil feature chromatograms and their mutual mode

S1. 浙江挥发油供试品( Zhejiang's sample) S2. 安徽挥发油供试品( Anhui's sample) S3. 湖南挥发油供试品( Hunan's sample) S4. 河北挥发油供试品( Hebei's sample) R. 共有模式( mutual mode)

**6.6 挥发油分解前、后特征图谱比较** 研究表明, 挥发油在一定条件下放置, 挥发油中苍术酮可完全分解<sup>[19]</sup>。取同一产地经测定完全分解的挥发油及新提取的挥发油适量, 分别配制供试品溶液, 进样, 比较色谱图, 结果见图4。

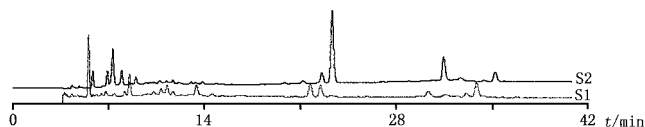


图4 挥发油分解前、后特征图谱比较

Fig 4 Comparing specific chromatograms of decomposition volatile oil with that of newly extracting volatile oil

S1. 分解后挥发油( decomposition volatile oil) S2. 新提取的挥发油( newly extracting volatile oil)

## 7 讨论

**7.1 流动相选择** 比较了甲醇-水、甲醇-乙腈-水和乙腈-水3种流动相系统。乙腈-水流动相系统柱压低, 基线平稳, 且色谱峰灵敏度也远远高于其他流动相体系。因此, 本文选定乙腈-水系统为本文流动相体系。

**7.2 定量分析检测波长选择** 以流动相作空白, 分别对新配制的5个对照品溶液进行全波长扫描。由于 $\beta$ -桉叶醇在挥发油中含量相对较高, 同时考虑测定波长变化范围过大对基线漂移造成的影响, 本

文最终选择了“4”项下的定量测定波长。

**7.3 特征图谱检测波长选择** 分别在200~280 nm之间, 每间隔5 nm, 进样, 获得各检测波长下的色谱图。对各检测波长的色谱结果进行分析比较, 最终确定205 nm为挥发油特征图谱检测波长。

**7.4 挥发油及供试品稳定性** “5.5”项、“5.6”项下稳定性试验结果表明, 挥发油在0~5℃避光保存8个月, 在-20℃避光条件下放置1年是稳定的。挥发油供试品溶液在室内室温暗处(22~25℃)条件下放置不稳定, 在0~5℃避光条件下放置48 h稳定。“6.4”项下挥发油特征图谱供试品稳定性试验结果表明, 挥发油供试品溶液在0~5℃避光条件下放置48 h, 挥发油特征图谱中的各特征成分稳定。因此, 在挥发油质控分析操作过程中, 挥发油应保存在0~5℃避光或-20℃避光条件下。挥发油供试品溶液最好现用现配, 等待测定期间供试品溶液应在0~5℃避光条件下保存, 随用随取。

**7.5 含量测定结果分析** 对浙江、安徽、湖南、河北4个产地挥发油定量分析结果表明, 不同产地挥发油中5个定量成分含量差异明显。苍术酮最高与最低含量相比达3.75倍, 湖南和河北的含量明显较低。 $\beta$ -桉叶醇和白术内酯I的含量最高与最低相比超过5倍。为了合理制定挥发油中定量指标含量范围, 仍需要获取更多产地挥发油分析测定数据。结合特征图谱相似度比较结果, 表明定量质控的局限性。

**7.6 特征图谱结果分析** 对4个产地挥发油特征图谱及共有模式相似度比较研究结果表明, 4个产地挥发油特征图谱及共有模式之间整体相似度很高( $\geq 0.998$ ); 4个产地挥发油特征图谱中的特征成分的种类一致, 但其相对含量差异较大。4个产地挥发油特征图谱及共有模式中的共有峰峰面积之和占总峰面积大于97%, 表明挥发油特征图谱从整体上反映出挥发油中绝大多数物质的相对质量。由浙江、安徽、湖南产地挥发油特征图谱及共有模式中共有峰的相对保留时间和相对峰面积比较结果看出, 3个产地挥发油特征图谱中的特征成分的种类及其相对含量一致。河北产地的挥发油特征图谱及共有模式中共有峰的相对保留时间和相对峰面积与其他3个产地的进行比较, 特征成分种类相近, 其相对含量存在差异性。

**7.7 分解前、后的挥发油特征图谱比较** 从“6.6”项中初步试验结果可看出, 分解前、后的挥发油特征图谱明显不同, 表明其化学成分发生了较大的变化。文献中对挥发油分析测定多采用气相色谱法, 气相

色谱在分析测定过程中采用程序升温方式,渐变升高的温度对挥发油中苍术酮及其他成分的稳定或可造成影响,给挥发油质控结果带来差异。本文采用HPLC完成挥发油定量及特征图谱分析测定,整个分析过程在30℃以下,消除了温度影响因素,保证了测定结果的准确度。

## 8 结论

本文研究建立的挥发油的HPLC定量及特征图谱质控分析方法简单、稳定可靠。对于挥发油的质量控制,除了定量质控手段以外,还需依据挥发油特征图谱整体相似度,结合挥发油特征图谱中的特征成分相对保留时间和相对峰面积的数据匹配比较结果,或可较全面地反映挥发油的质量,为挥发油质量控制评价提供可靠依据。

## 参考文献

- 1 ZHANG Zong(张宗), ZHANG Hong-xiang(张鸿翔), SHI Tian-liang(史天良), *et al.* Research about antitumor function of *Atractylodes macrocephala* Koidz. essential oil(白术挥发油抗肿瘤作用的研究). *J Cancer Res Clin*(肿瘤研究与临床) 2006, 18(12): 799
- 2 YAN Ke-li(阎克里), LIU Yu-ying(刘玉瑛), SHI Tian-liang(史天良), *et al.* Study on different extraction methods for the essential oil chemical constituents of *Atractylodes macrocephala* Koidz. by GS/MS(气-质联用对不同提取法的白术油化学成分的分析). *J Chin Rem Clin*(中国药物与临床) 2002, 2(5): 339
- 3 HAO Yan-jun(郝延军), SANG Yu-li(桑育黎), LI Bao-lin(李宝林), *et al.* Study on atractylon stability in common temperature(苍术酮的常温稳定性研究). *Chin Tradit Pat Med*(中成药) 2007, 29(6): 598
- 4 WANG Fei-na(王霏娜). Extraction, inclusion of *Baizhu* volatile oil and separation of *atractylenolide II* from it(白术挥发油的提取、包合及白术内酯II的分离): Thesis(学位论文). Hangzhou(杭州): Zhejiang University(浙江大学) 2008
- 5 WANG Xiao-fang(王小芳), WANG Fang(王芳), ZHANG Ya-huan(张亚环), *et al.* Kinetics and mechanism studies on oxidizing reaction of *atractylon* in essential oil from *Atractylodes macrocephala* Koidz. (白术挥发油中苍术酮氧化反应的动力学). *Chin J Appl Chem*(应用化学) 2007, 24(3): 301
- 6 WANG Fen(王峰), CAI Guang-min(蔡光明), GUO Hui-ling(郭惠玲). Determination of *atractylon* in the volatile oil of *Atractylodes macrocephala* Koidz. by HPLC(高效液相色谱法测定白术挥发油中苍术酮的含量). *J Cent South Pharm*(中中药学), 2008, 6(3): 320
- 7 SHOU Dan(寿旦), DAI Shi-wen(戴诗文), ZHANG Jian-min(章建民), *et al.* Simultaneous determination of *atractylenolide III*, *atractylenolide I* and *atractylon* using microbore liquid chromatography(微管液相色谱法同时测定白术中的白术内酯III、I和苍术酮). *Chin J Chromatogr*(色谱) 2008, 26(5): 637
- 8 LIU Wei-xiang(刘伟祥), LI Qiong-hong(黎琼红), XIE Cheng(谢晨), *et al.* Determination of *atractylenolide I*, *atractylenolide II* and *atractylenolide III* using HPLC method( HPLC法测定白术药材中的白术内酯I、II、III). *J Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2007, 37(8): 1264
- 9 LI Wei(李伟), WEN Hong-mei(文红梅), ZHANG Ai-hua(张爱华), *et al.* Study on quality of *Atractylodes macrocephala* Koidz.—Determination of 2 *atractylenolides* by HPLC(白术质量标准研究—HPLC法测定2种白术内酯的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2001, 21(3): 170
- 10 YU Yong-ming(于永明), SONG Chang-yi(宋长义), JIA Tian-zhu(贾天柱). Quality standard of processed products of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*(白术炮制品的质量标准研究). *Chin Tradit Pat Med*(中成药) 2005, 27(6): 669
- 11 LI Sheng-zi(刘胜姿), WEI Wan-zhi(魏万之), QIU Xi-min(邱细敏), *et al.* The influence to the chromatographic fingerprint of *Atractylodes macrocephala* Koidz. with different distill methods(不同提取方法对白术油气相-质谱指纹图谱的影响). *J Hunan Norm Univ*(Med Sci)[湖南师范大学学报(医学版)], 2004, 1(1): 53
- 12 ZHOU Zhi-feng(周枝凤), SHENG Ju-wen(沈菊文), GONG Fan(龚范), *et al.* Study on essential oil and its fingerprint spectrum of *Atractylodes macrocephala*(白术挥发油成分分析及其色谱指纹图谱研究初探). *Chin Tradit Pat Med*(中草药) 2004, 35(1): 5
- 13 ZUO Jian(左坚), JI Cong-lan(纪从兰). Fingerprint construction of *Atractylodes macrocephala* from different growing area by HPCE(白术高效毛细管电泳指纹图谱的建立和产地差异分析). *Res Pract Chin Med*(现代中药研究与实践) 2008, 22(1): 29
- 14 LI Qiong-hong(黎琼红), MA Xin-tian(马兴田), XIE Cheng(谢晨), *et al.* Fingerprints of *Rhizoma Atractylodis Macrocephala*(白术药材的指纹图谱研究). *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2007, 38(6): 929
- 15 Wang Ching-chiung, Chen LG, Yang LL. Cytotoxic activity of sesquiterpenoids from *Atractylodes ovata* on leukemia cell lines. *Planta Med* 2002, 68(3): 204
- 16 Hiroshi Tsuneki, Ma En-long, Shinjiro Kobayashi, *et al.* Antiangiogenic activity of *eudesmol* in vitro and in vivo. *Eur J Pharmacol*, 2005, 29(3): 105
- 17 Uchida M, Koike Y, Kusano G, *et al.* Studies on the constituents of *Chloranthus* spp. III. Six sesquiterpenes from *Chloranthus japonicus*. *Chem Pharm Bull*, 1980, 28(11): 92
- 18 Liu Yi, Jia Zhong-wu, Dong Lei, *et al.* A randomized pilot study of *atractylenolide I* on gastric cancer cachexia patients. *Evid Based Complement Alternat Med* 2008, 5(3): 337
- 19 ZHOU Xiu-qin(朱秀卿), YAN Ke-li(阎克里), ZHAO Li(赵丽). Study on the kinetics of volatile oil of *Atractylodes macrocephala* Koidz. and its organic solution stability(白术挥发油及其有机溶液稳定性动力学研究). *J Chin Rem Clin*(中国药物与临床), 2010, 10(6): 632

(本文于2010年5月6日收到)