

UPLC 同时测定不同产地白术中 3 种白术内酯成分的含量*

周海艳^{1,2}, 高云佳^{1,2**}, 王敏², 张庆英¹, 屠鹏飞¹

(1. 北京大学 药学院 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191;

2. 北京华医神农医药科技有限公司, 北京 102206)

摘要 目的:建立 UPLC 同时测定白术中 3 种白术内酯成分含量分析方法。**方法:**样品以甲醇超声提取 30 min 进行处理。采用超高效液相色谱, 以 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ (3.0 mm × 150 mm, 2.7 μm) 为色谱柱, 流动相水(A)-甲醇(B)梯度洗脱, 流速 0.5 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 220 nm 和 276 nm, 进样量 3 μL。采用 IBM SPSS 27.0 软件对 24 批白术进行聚类分析和主成分分析。**结果:**3 个成分在考察的浓度范围内, 浓度与峰面积之间呈良好的线性关系 ($r > 0.999$), 回收率均在 103.05%~106.35%, RSD 2.0%~3.3%。经聚类分析发现, 24 批白术药材可聚为四大类; 经主成分分析发现, 2 个主成分因子的累计方差贡献率为 98.975% (第一主成分、第二主成分的贡献率分别为 92.124%、6.601%)。**结论:**该方法简便、快捷、准确且灵敏度高, 对评控白术药材的质量提供参考。

关键词:白术; 白术内酯 III; 白术内酯 II; 白术内酯 I; 超高效液相色谱; 聚类分析; 主成分分析

中图分类号:R 921.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-3656(2023)01-0000-00

doi:10.19778/j.chp.2023.01.00?

Simultaneous determination of three atractylenolides in *Atractylodes macrocephala* by UPLC

ZHOU Haiyan^{1,2}, GAO Yunjia^{1,2**}, WANG Min², ZHANG Qingying¹, TU Pengfei¹

(1. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China; 2. SinoPharm Pharmaceuticals Limited, Beijing 102206, China)

Abstract Objective: To establish a UPLC method for the simultaneous determination of three Atractylenolides in *Atractylodes macrocephala*. **Methods:** The samples were extracted with methanol for 30 minutes by ultrasonic method. Three compounds in *A. macrocephala* were simultaneously determined by UPLC with Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ (3.0 mm × 150 mm, 2.7 μm), with water (A) - methanol (B) as the mobile phase for gradient elution; at the flow rate of 0.5 mL · min⁻¹; the determination wavelength was 220 nm and 276 nm; and the injection volume was 3 μL. Cluster analysis and principal component analysis were performed by IBM SPSS 27.0 statistical software. **Results:** There was a good linear relationship between the concentration and peak area of all the three components in the investigated concentration range ($r > 0.999$). The average recoveries ranged from 103.05% to

* 基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1707904, 2018YFC1707900)

第一作者简介: 周海艳, 工程师; 研究方向: 中药新药研发及中药质量分析。Tel: 010-82805046; E-mail: liliaceae@126.com

** 通讯作者简介: 高云佳, 主管药师; 研究方向: 中药新药研发及中药质量分析。Tel: 010-82801536; E-mail: gugojia-0727@

106.35% with RSD of 2.0% - 3.3%. Through cluster analysis, 24 batches of *A. macrocephala* could be clustered into 4 groups. According to the principal component analysis, the cumulative variance contribution rate of the two principal component factors was 98.975% (contribution rates of first principal components and second principal components were 92.124% and 6.601%). **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate and highly sensitive to provide a reference for quality evaluation of *A. macrocephala*.

Key words: *Atractylodes macrocephala*; Atractylenolide III; Atractylenolide II; Atractylenolide I; UPLC; cluster analysis; principal component analysis

白术是《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)收录的常用中药,为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎,冬季下部叶枯黄、上部叶变脆时采挖,除去泥沙,烘干或晒干,再除去须根,具有健脾益气,燥湿利水,止汗,安胎的功效,用于脾虚食少,腹胀泄泻,痰饮眩悸,水肿,自汗,胎动不安^[1]。白术中含有倍半萜类(如白术内酯)、三萜类、聚乙炔类、香豆素类、苯丙烷类、黄酮类、苯醌和多糖类等化学成分,其中白术内酯、聚乙炔和多糖是白术中最丰富和最主要的生物活性成分^[2]。白术中苍术酮和白术内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤、抗肝损伤和调节胃肠道功能作用^[3-6],是白术的主要有效成分。研究表明,苍术酮极不稳定,可转化为白术内酯 I,白术内酯 I 的 7 位碳上的氢很活泼,可被羟基取代生成白术内酯 III,白术内酯 III 发生分子内脱水可生成白术内酯 II^[7-8]。

目前《中国药典》、《欧洲药典》、《日本药局方》、《韩国药典》、《香港中药材标准》均有收载白术药材。5 部标准中只有《香港中药材标准》规定了含量测定项,以白术内酯 III 为对照品。另还有文献报道通过多个指标成分进行白术药材的质量评价,但是有的分析时间较长^[9],有的分离效果不好^[10],有的将白术内酯 I 和白术内酯 II 混淆^[9,11-13]。本研究采用 UPLC-UV 法在 28 min 内实现了白术内酯 III、白术内酯 II、白术内酯 I 三种成分的完全基线分离,对不同产地白术药材进行含量测定,以期能够更好地控制白术药材质量。

1 材料

ACQUITY 型超高效液相色谱仪(包括四元泵溶剂系统、自动进样系统和 PDA 检测器,美国 Waters 公司),BS2202S 型 1/1 万电子天平、BS124S 型 1/1 万电子天平和 BT25S 型 1/10 万电子天平(Sartorius 科学仪器有限公司),KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);甲醇(色谱纯,赛默飞世尔科技(中国)公司);乙腈(色谱纯,瑞典 OCEANPAK 公司);去离子水(美国 Millipore 公

司),其他试剂均为分析纯。

白术内酯 III (111978-201501,纯度 99.9%),白术内酯 II (111976-201501,纯度 99.9%),白术内酯 I (111975-201501,纯度 99.9%),均购自中国食品药品检定研究院。

本实验收集浙江省、安徽省、河北省的白术药材共 24 份。经北京大学药学院屠鹏飞教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎。收集的药材及鉴定结果见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(3.0 mm × 150 mm, 2.7 μm);流动相水(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min, 55% → 61% B; 5 ~ 16 min, 61% → 64% B; 16 ~ 17 min, 64% → 70% B; 17 ~ 21 min, 70% B; 21 ~ 26 min, 70% → 84% B; 26 ~ 27 min, 84% → 95% B; 27 ~ 28 min, 95% B);流速 0.5 mL · min⁻¹;柱温 30 °C;检测波长:白术内酯 III 和白术内酯 II 为 220 nm,白术内酯 I 为 276 nm;进样量 3 μL。混合对照品溶液、供试品溶液色谱图见图 1。

2.2 混合对照品溶液的制备

取白术内酯 III 对照品、白术内酯 II 对照品、白术内酯 I 对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含白术内酯 III 20 μg、白术内酯 II 20 μg、白术内酯 I 20 μg 的混合溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备

取白术药材粉末(过四号筛)3.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定重量,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz)30 min,取出,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 标准曲线的制备

精密吸取混合对照品溶液分别稀释 2 倍、4 倍、8 倍、16 倍、32 倍、64 倍,分别进样 3 μL 测定,以峰面积(Y)为纵坐标,浓度(X, mg · L⁻¹)为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程,结果见表 2。

表 1 24 批白术药材信息^[14]Tab. 1 Information of 24 batches of *Atractylodes macrocephala*

编号 (No.)	批号 (lot number)	采集地 (collection location)	采样时间 (collection time)	贮存时间 (storage time)	采样方式 (collection method)	贮存方式 (storage mode)
1	X20191201	浙江省新昌县 (Xinchang County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
2	X20191202	浙江省新昌县 (Xinchang County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
3	X20191203	浙江省新昌县 (Xinchang County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
4	X20191204	浙江省新昌县 (Xinchang County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
5	X20191205	浙江省新昌县 (Xinchang County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
6	X20191206	浙江省新昌县 (Xinchang County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
7	X20191207	浙江省新昌县 (Xinchang County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
8	P20191201	浙江省磐安县 (Pan'an County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
9	P20191202	浙江省磐安县 (Pan'an County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
10	P20191203	浙江省磐安县 (Pan'an County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
11	P20191204	浙江省磐安县 (Pan'an County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
12	P20191205	浙江省磐安县 (Pan'an County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
13	P20191206	浙江省磐安县 (Pan'an County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
14	P20191207	浙江省磐安县 (Pan'an County, Zhejiang Province)	2019. 12	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
15	B20191001	安徽省亳州市谯城区(Qiaocheng District, Bozhou City, Anhui Province)	2019. 10	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
16	B20191002	安徽省亳州市谯城区(Qiaocheng District, Bozhou City, Anhui Province)	2019. 10	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
17	B20191003	安徽省亳州市谯城区(Qiaocheng District, Bozhou City, Anhui Province)	2019. 10	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
18	B20191004	安徽省亳州市谯城区(Qiaocheng District, Bozhou City, Anhui Province)	2019. 10	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
19	B20191005	安徽省亳州市谯城区(Qiaocheng District, Bozhou City, Anhui Province)	2019. 10	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
20	B20191006	安徽省亳州市谯城区(Qiaocheng District, Bozhou City, Anhui Province)	2019. 10	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
21	B20191007	安徽省亳州市谯城区(Qiaocheng District, Bozhou City, Anhui Province)	2019. 10	2021. 4	产地直采 (direct mining of origin)	室温放置 (room temperature storage)
22	2019H0103	安徽省亳州市 (Bozhou City, Anhui Province)	2020. 8	2021. 4	安国药材市场 (Angoo medicinal materials market)	室温放置 (room temperature storage)
23	2019H0201	河北省安国市 (Anguo City, Hebei Province)	2020. 8	2021. 4	安国药材市场 (Angoo medicinal materials market)	室温放置 (room temperature storage)
24	2019H0202	河北省安国市 (Anguo City, Hebei Province)	2020. 8	2021. 4	安国药材市场 (Angoo medicinal materials market)	室温放置 (room temperature storage)

2.5 精密度试验

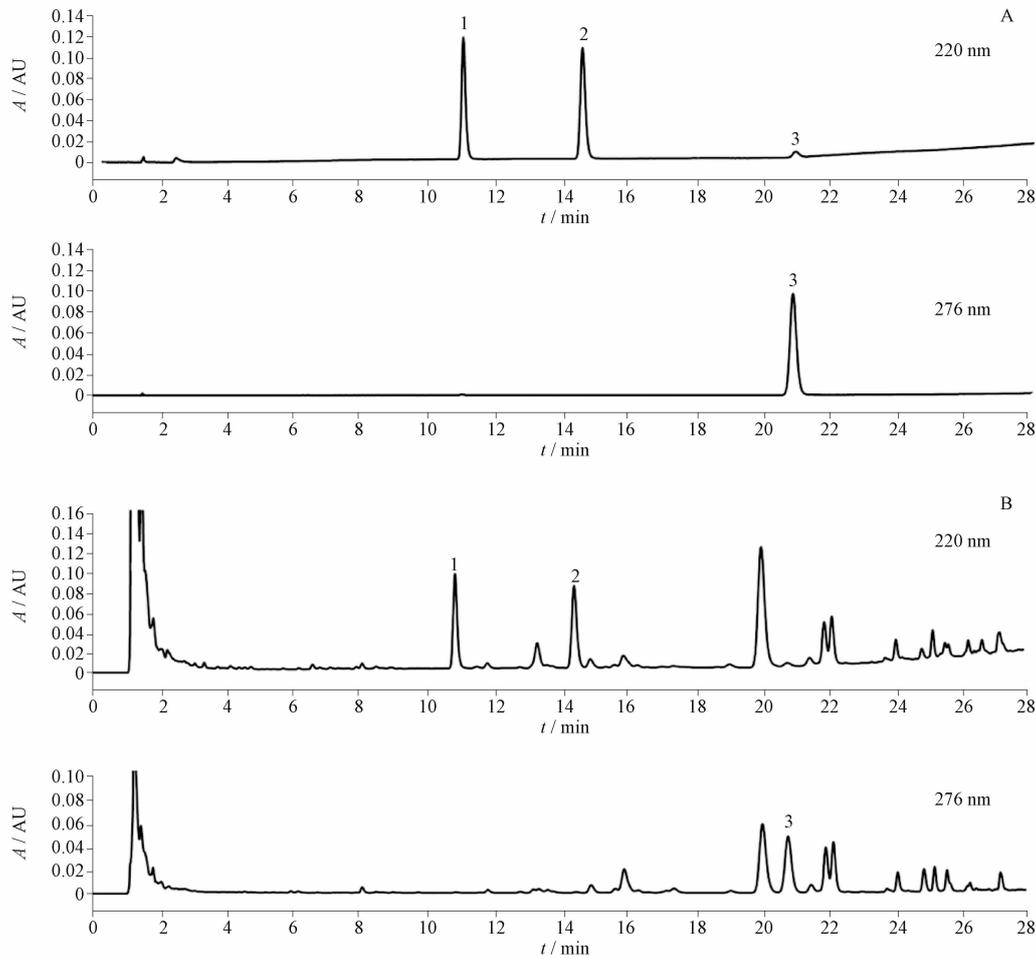
2.5.1 日内精密度 取供试品溶液(1号样品),按2.1项下色谱条件连续进样6次,测得供试品中白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ的峰面积的

RSD 分别为 0.6%、0.3%、0.3%, RSD 均 < 3.0%, 表明仪器精密度良好。

2.5.2 日间精密度 取样品(1号样品),按2.3项下方法平行制备6份供试品溶液,连续3天,以2.1

项下色谱条件进行测定,得白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ平均质量分数分别为第1天(0.018 9%、0.0151%、0.014 8%)、第2天(0.018 6%、0.014 9%、

0.014 8%)、第3天(0.019 1%、0.014 7%、0.014 7%),RSD分别为1.3%、1.3%、0.4%,表明该方法重现性良好。



1. 白术内酯Ⅲ (atractylenolide Ⅲ) 2. 白术内酯Ⅱ (atractylenolide Ⅱ) 3. 白术内酯Ⅰ (atractylenolide Ⅰ)

图1 混合对照品溶液(A)和白术供试品溶液(B)UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC chromatograms of mixed reference substance (A) and *A. macrocephala* sample (B)

表2 指标成分线性关系考察

Tab. 2 The regression equation, correlation coefficient and linear range of three components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range)/(mg · L ⁻¹)
白术内酯Ⅲ (atractylenolide Ⅲ)	$Y = 15\ 437X + 2\ 229.6$	0.999 9	1.318 8 ~ 84.400 0
白术内酯Ⅱ (atractylenolide Ⅱ)	$Y = 24\ 370X + 2\ 786.1$	0.999 9	1.225 0 ~ 78.400 0
白术内酯Ⅰ (atractylenolide Ⅰ)	$Y = 31\ 797X + 4\ 912.6$	0.999 9	1.087 5 ~ 69.600 0

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液(1号样品),室温放置,分别于0、2、4、8、12、15、18、24 h 进行测定,得白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ峰面积的RSD分别为0.6%、1.2%、0.7%,表明样品在24 h 内稳定性

良好。

2.7 重复性试验

取样品(1号样品),按“2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,以“2.1”项下色谱条件进行测定,得白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ平均质

量分数分别为 0.018 4%、0.014 7%、0.014 6%，RSD 分别为 0.4%、0.5%、0.5%，表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率

取已知含量样品(1 号样品,白术内酯Ⅲ平均质量分数为 0.018 4%、白术内酯Ⅱ平均质量分数为%、白术内酯Ⅰ平均质量分数为 0.014 6%)粉末约 1.5 g,共 9 份,精密称定,三份按 50% 的量各加入白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ对照品,三

份按 100% 的量各加入白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ对照品,最后三份按 150% 的量各加入白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ对照品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,计算加样回收率,白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ平均回收率分别为 104.07% (RSD 2.8%)、103.05% (RSD 3.3%)、106.35% (RSD 2.0%),表明方法的准确度符合要求。结果见表 3。

表 3 白术药材中 3 种成分的加样回收率

Tab.3 Recoveries of three compounds in *A. macrocephala*

成分 (component)	称样量 (sample weight)/ g	样品中量 (sample content)/ mg	加入量 (added amount)/ mg	测得总量 (total amount)/ mg	回收率 (recovery)/ %	平均回收率 (average recovery)/ %	RSD/ %
白术内酯Ⅲ (atractylenolide Ⅲ)	1.520 3	0.279 7	0.148 5	0.438 5	106.94	104.07	2.8
	1.539 8	0.283 3	0.148 5	0.441 7	106.67		
	1.527 3	0.281 0	0.148 5	0.440 6	107.47		
	1.500 5	0.276 1	0.297 0	0.575 8	100.91		
	1.506 2	0.277 1	0.297 0	0.582 2	102.73		
	1.512 5	0.278 3	0.297 0	0.597 2	107.37		
	1.500 1	0.276 0	0.445 5	0.726 0	101.01		
	1.502 5	0.276 5	0.445 5	0.726 6	101.03		
	1.504 2	0.276 8	0.445 5	0.733 5	102.51		
白术内酯Ⅱ (atractylenolide Ⅱ)	1.520 3	0.223 5	0.176 7	0.412 6	107.02	103.05	3.3
	1.539 8	0.226 4	0.176 7	0.416 4	107.53		
	1.527 3	0.224 5	0.176 7	0.413 5	106.96		
	1.500 5	0.220 6	0.353 4	0.578 3	101.22		
	1.506 2	0.221 4	0.353 4	0.581 3	101.84		
	1.512 5	0.222 3	0.353 4	0.590 3	104.13		
	1.500 1	0.220 5	0.530 1	0.745 2	98.98		
	1.502 5	0.220 9	0.530 1	0.748 9	99.60		
	1.504 2	0.221 1	0.530 1	0.752 3	100.21		
白术内酯Ⅰ (atractylenolide Ⅰ)	1.520 3	0.222 0	0.106 2	0.337 5	108.76	106.35	2.0
	1.539 8	0.224 8	0.106 2	0.339 6	108.10		
	1.527 3	0.223 0	0.106 2	0.339 1	109.32		
	1.500 5	0.219 1	0.212 4	0.443 6	105.70		
	1.506 2	0.219 9	0.212 4	0.444 6	105.79		
	1.512 5	0.220 8	0.212 4	0.448 9	107.39		
	1.500 1	0.219 0	0.318 6	0.548 0	103.26		
	1.502 5	0.219 4	0.318 6	0.552 2	104.46		
	1.504 2	0.219 6	0.318 6	0.552 0	104.33		

2.9 样品测定

取 24 批白术样品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件进行分析,计算含量,结果见表 4。

2.10 数据分析

2.10.1 聚类分析 将 24 批不同产地白术药材中测得的 3 个成分含量及总量的数据导入 IBM SPSS Statistics 27.0 软件进行聚类分析,采用组间联接法,

以 Euclidean 距离法进行计算, 聚类结果见图 3。结果显示, 24 批白术药材样品可以分为 4 类, 其中 1、15、18、19、20、21、23 聚为一类, 4、8、9、10、11、13、14、17、22、24 聚为一类, 7、16 为一类, 2、3、5、6、12 聚为一类。7 和 16 的含量最高, 分别来自浙江新昌

和安徽亳州; 2、3、5、6 含量较高, 均来自浙江新昌; 4、8、9、10、11、13、14 来自浙江新昌和磐安; 15、18、19、20、21 来自安徽亳州。大部分样品能够按照产地聚为一类, 浙江新昌产白术质量最好, 验证说明浙江为白术药材的道地产地。

表 4 白术中 3 个成分含量测定结果 (n=3)

Tab. 4 Content determination results of three components in *A. macrocephala* (n=3)

编号 (No.)	白术内酯 III (atractylenolide III)/%	白术内酯 II (atractylenolide II)/%	白术内酯 I (atractylenolide I)/%	总量 (total)/%
1	0.020 0	0.016 0	0.015 9	0.052 0
2	0.019 2	0.016 3	0.028 0	0.063 5
3	0.026 5	0.022 8	0.018 6	0.067 9
4	0.006 7	0.005 4	0.012 1	0.024 1
5	0.023 7	0.024 8	0.022 4	0.070 9
6	0.030 1	0.019 1	0.024 4	0.073 6
7	0.042 2	0.030 1	0.019 0	0.091 3
8	0.009 6	0.007 2	0.011 3	0.028 1
9	0.005 7	0.004 9	0.009 3	0.019 9
10	0.004 7	0.002 7	0.010 4	0.017 7
11	0.005 9	0.004 0	0.007 5	0.017 4
12	0.022 3	0.021 4	0.018 0	0.061 7
13	0.005 0	0.004 0	0.008 3	0.017 3
14	0.006 1	0.004 6	0.010 9	0.021 6
15	0.015 4	0.016 0	0.018 0	0.049 5
16	0.038 0	0.025 0	0.024 5	0.087 5
17	0.008 4	0.008 5	0.011 2	0.028 1
18	0.011 5	0.011 9	0.013 5	0.036 9
19	0.011 6	0.012 1	0.013 9	0.037 6
20	0.011 0	0.010 5	0.011 6	0.033 2
21	0.014 3	0.011 9	0.017 4	0.043 6
22	0.006 0	0.003 2	0.013 7	0.022 8
23	0.015 0	0.010 6	0.016 1	0.041 7
24	0.008 5	0.004 9	0.006 2	0.019 5

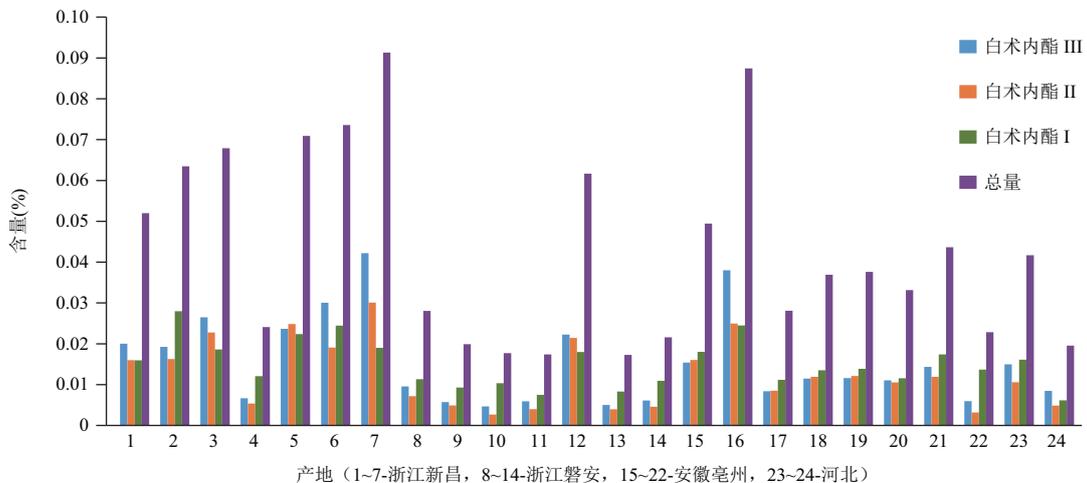


图 2 不同产地白术含量均值柱状分析图

Fig. 2 Column analysis map of mean content of three components in *A. macrocephala* from different origins

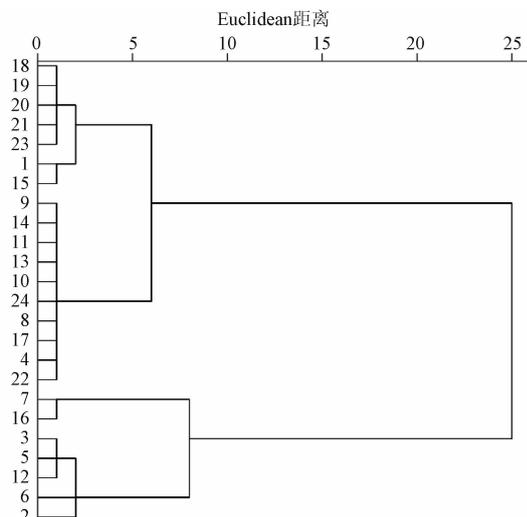


图3 白术样品聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram cluster analysis of *A. macrocephala*

2.10.2 主成分分析 用 IBM SPSS Statistics 27.0 软件对 24 批次白术药材的 4 个变量(3 个白术内酯成分含量及总量)进行标准化处理,以主成分的方差贡献率及特征值为依据,进行主成分分析,对各产地的白术药材进行评价。

表5 白术总方差解释变质量

Tab. 5 Variance of total variance interpretation of *A. macrocephala*

成分 (component)	初始特征值(initial eigenvalues)			提取平方和载入(extraction sums of squared loadings)		
	合计 (total)	方差 (variance)/%	累计贡献率 (cumulative)/%	合计 (total)	方差 (variance)/%	累计贡献率 (cumulative)/%
1	3.685	92.124	92.124	3.685	92.124	92.124
2	0.264	6.601	98.725	0.264	6.601	98.725
3	0.051	1.275	100.000			
4	0.000	0.000	100.000			

为了使提取的主成分能够更加清晰、全面、集中地反映原始数据所包含的信息,将因子分析得到的初始成分矩阵进行正交旋转,得到 4 个指标在 2 个主成分中的旋转矩阵,结果见表 6。由表 6 可知,4

表6 主成分荷载矩阵

Tab. 6 Load matrixes of Principal Component

成分 (component)	初始的成分矩阵(initial component matrix)		旋转的成分矩阵(rotating component matrix)	
	主成分 1 (principal component 1)	主成分 2 (principal component 2)	主成分 1 (principal component 1)	主成分 2 (principal component 2)
Zscore(F_4) 总量(total)	0.999	-0.040	0.520	-0.078
Zscore(F_2) 白术内酯III(atractylenolide II)	0.972	-0.166	0.506	-0.322
Zscore(F_1) 白术内酯III(atractylenolide III)	0.968	-0.202	0.504	-0.392
Zscore(F_3) 白术内酯I(atractylenolide I)	0.898	0.441	0.467	0.858

根据各因子特征值大于 0.2 及因子的方差累计贡献率大于 90% 的原则提取主成分,本研究需提取的主成分主要有 2 个,结果见表 5,第一主成分的特征值为 3.685,其贡献率为 92.124%;第二主成分的特征值为 0.264,其贡献率为 6.601%,这 2 个主成分的累计方差总贡献率为 98.725%。以主成分因子为变量绘制公因子碎石图,结果见图 4。可以看出特征值较高的 2 个主成分的斜率更大,说明前 2 个主成分可以最大程度地反映白术药材的品质关系,可见提取前 2 个主成分进行分析较为适宜。

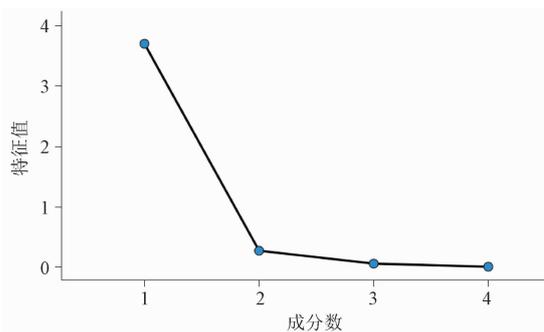


图4 碎石图

Fig. 4 Scree plot

个指标在第一主成分上有较高荷载,相关性强,白术内酯 I 在第二主成分上有较高荷载,其它指标在第二主成分上的荷载较低,说明第一主成分能够很好地反映 4 个指标的情况。

2.10.3 质量综合评价 以 X_1 、 X_2 代表 2 个主成分,根据表 6 信息,得出各主成分的线性关系表达式,分别为 $X_1 = 0.504F_1 + 0.506F_2 + 0.467F_3 + 0.520F_4$; $X_2 = -0.392F_1 - 0.322F_2 + 0.858F_3 - 0.078F_4$ (注:表达式中变量 F 是原始数据标准化后的变量)。将上述表达式与表 5 中所对应的 2 个主成分的方差贡献率做内积后,得到白术药材质量综合评价函数 X (综合得分) 的表达式: $X_{\text{综合得分}} = (92.124X_1 + 6.601X_2)/98.725$ 。根据以上表达式计算得到不同产地白术药材的得分值和分值排序,结果见表 7。以第一、第二主成分得分为变量,得到

主成分分析二维散点图,结果见图 5,主成分分析结果与聚类分析结果基本吻合。总的趋势上来讲,浙江新昌的为 一类,安徽亳州的为 一类,浙江磐安的为 一类,因样品大部分产自江南地区,浙江与安徽气候相近,故出现了部分样品聚类时地区交叉的现象。

由表 7 可知,批次为 1、2、3、5、6、7、12、15、16、21 的样品综合得分均 >0 ,且以 7 号样品综合得分最高。结果显示,浙江新昌和安徽亳州产药材得分较高,浙江磐安产药材得分较低。主成分分析的综合得分排序与药材中三种白术内酯总量的排序基本一致。

表 7 不同产地白术主成分得分、综合得分及排名

Tab. 7 Principal component scores, comprehensive scores and ranking of *A. macrocephala* from different origins

编号 (No.)	第一主成分得分 (first principal component score)/ X_1	第二主成分得分 (second principal component score)/ X_2	综合得分 (comprehensive score)/ X	排名 (ranking)
1	0.730	-0.220	0.658	8
2	1.940	1.550	1.914	5
3	2.030	-0.380	1.874	6
4	-1.520	0.210	-1.408	17
5	2.400	0.190	2.259	4
6	2.570	0.480	2.431	3
7	3.800	-1.290	3.464	1
8	-1.240	-0.090	-1.165	16
9	-1.910	-0.130	-1.793	20
10	-2.060	0.160	-1.914	21
11	-2.160	-0.370	-2.046	24
12	1.560	-0.250	1.438	7
13	-2.140	-0.200	-2.016	23
14	-1.740	0.100	-1.621	19
15	0.620	0.270	0.598	9
16	3.640	-0.090	3.383	2
17	-1.220	-0.120	-1.155	15
18	-0.470	-0.050	-0.446	13
19	-0.410	-0.010	-0.385	12
20	-0.820	-0.260	-0.780	14
21	0.130	0.400	0.142	10
22	-1.590	0.570	-1.438	18
23	-0.070	0.240	-0.051	11
24	-2.040	-0.700	-1.955	22

3 讨论

在实验研究中,笔者对样品的提取方式(超声、加热回流)、提取溶剂(不同体积分数的乙醇、甲醇和水)、提取时间(10、30、60 min)等进行了考察,结果见表 8。结果显示,甲醇超声提取 30 min 的提取效果较好,且操作简便,色谱峰峰型好。因此,最终

采用甲醇超声提取 30 min 作为样品前处理方法。

另笔者对不同流动相系统(甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸、甲醇-0.3%甲酸、甲醇-0.3%乙酸)、不同柱温(29℃、30℃、31℃、32℃、33℃)以及不同流速(0.48、0.50、0.52、0.54 mL·min⁻¹)等 UPLC 色谱条件进行了优选。最终确定采用 Agilent Infini-

tyLab Poroshell 120 EC-C₁₈ (3.0 mm × 150 mm, 2.7 μm) 为色谱柱, 以甲醇-水为流动相进行梯度洗脱,

检测波长: 白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ为 220 nm, 白术内酯Ⅰ为 276 nm。

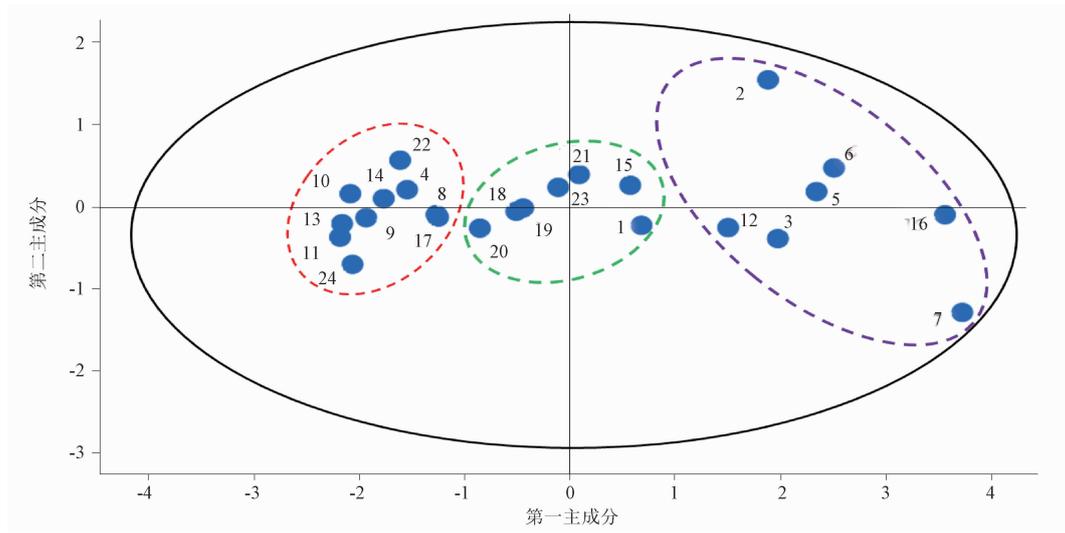


图 5 主成分分析二维散点图

Fig. 5 2D scatter plot of PCA

表 8 提取方式、提取溶剂和提取时间的考察结果

Tab. 8 The results of extraction method, extraction solvent and extraction time

供试品制备 (preparation of sample)		白术内酯Ⅲ (atractylenolideⅢ)/%	白术内酯Ⅱ (atractylenolideⅡ)/%	白术内酯Ⅰ (atractylenolideⅠ)/%	总量 (total)/%
提取方式(extraction method)	超声(ultrasonic extraction)	0.017 1	0.014 2	0.014 4	0.045 7
	回流(heating reflux method)	0.017 3	0.014 7	0.014 5	0.046 5
提取溶剂(extraction solvent)	水(water)	0.003 4	0.000 5	0.000 0	0.003 9
	50%乙醇(50% ethanol)	0.014 3	0.010 7	0.009 7	0.034 7
	75%乙醇(75% ethanol)	0.017 2	0.013 9	0.014 3	0.045 3
	乙醇(ethanol)	0.016 1	0.013 7	0.014 2	0.043 9
	甲醇(methanol)	0.017 1	0.014 2	0.014 6	0.045 9
提取时间(extraction time)	10 min	0.016 9	0.014 2	0.014 5	0.045 6
	30 min	0.017 1	0.014 2	0.014 6	0.045 9
	60 min	0.017 1	0.014 2	0.014 4	0.045 7

通过查阅相关文献,发现部分学者将白术内酯Ⅰ和白术内酯Ⅱ混淆^[9,11-13]。笔者使用中国食品药品检定研究院的标准品进行验证确认,前者的检测波长为 276 nm,后者的检测波长为 220 nm。另白术中含有较多的聚乙炔类成分,紫外吸收较强,且极性相近,严重干扰白术内酯Ⅰ的含量测定。笔者采用 UPLC 法将白术内酯Ⅰ与聚乙炔类成分分离,并能够同时测定 3 个白术内酯成分的含量。

本研究所建立的白术质量综合评价模式,以三种白术内酯含量为变量,通过主成分、因子和聚类分析,相互验证和补充,多方面评价白术药材的质量,

为区分地域差异性和药材质量提供参考。聚类分析基本能将样品按照产地进行分类,主成分分析的综合得分排序与药材中白术内酯总量排序基本一致。笔者收集的白术药材包括浙江、安徽、河北三个产地,从外观性状来看,浙江和安徽产药材个头肥大,河北产个头瘦小,且主成分的综合得分也偏低。考虑药材的贮存方式、贮存时间等均会对药材的质量产生影响,因此,准备在后续的研究中,收集更多批次来源明确的药材,且存储条件确定,建立更加科学、完善的药材质量评价模型,并以多批次市场收集的样品进行模型验证或评价,以期能够更好地评价

和控制白术药材质量。

在研究过程中,笔者发现白术药材经粉碎后在实验室条件放置一段时间,白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅰ的含量会明显升高,白术粉碎后的样品在室温放置8个月,白术内酯成分的含量可升高10倍。沈建涛等^[15]研究发现白术土炒立刻粉碎后测定的样品白术内酯Ⅰ、Ⅲ的含量并没有增加,而放置数天后再次测定,白术内酯Ⅰ、Ⅲ的含量却有所提高,从而设计了实验对影响白术内酯Ⅰ、Ⅲ含量的因素做了进一步研究。从研究结果可以明显看出,随样品放置时间延长,以粉末形式存放的不同白术样品中白术内酯Ⅰ、Ⅲ的含量呈增加的趋势,土炒及加醋土炒的含量明显增加,而以饮片形式存放的样品增加却不明显。王芳等^[7]报道白术中的苍术酮在空气中容易氧化,可转化生成白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ、表白术内酯、双白术内酯。上述研究结果说明白术药材经粉碎后,很不稳定,白术内酯类成分会明显增加,原因可能是粉碎时,部分细胞和油室被破坏,从而增加苍术酮与氧气的接触,促使其氧化成白术内酯类成分,而苍术酮在白术药材和白术饮片中较为稳定。该研究发现提示,在进行白术药材检测时,样品需用现粉。

笔者采用UPLC法对白术药材中3种白术内酯成分建立了含量测定方法,24批白术药材含量测定结果显示,白术中白术内酯成分含量较低,单一成分含量在十万分之一至万分之一,对控制白术药材质量具有局限性,故笔者准备下一步将对聚乙炔类成分进行重点研究,争取开发建立更多指标成分的含量测定方法,使能够更科学、全面地控制白术药材质量。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2020:一部[S]. 2020:107
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 107
- [2] 朱波,张全龙. 白术的传统功效、植物化学及药理学综述[J]. 民族药理学杂志,2018, 226:143
ZHU B, ZHANG Q L. The traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Atractylodes macrocephala* Koidz.: A review [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 226:143
- [3] 陈琴华,余飞,王红梅,等. 白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ对炎症巨噬细胞细胞因子表达的影响[J]. 中国药师,2017,20(12):2112
CHEN QH, YU F, WANG HM, et al. Effects of Atractylenolide I, Atractylenolide II and Atractylenolide III on Cytokines Expression of Inflammatory Macrophages [J]. China Pharmacist, 2017, 20(12):2112
- [4] 耿玮,梁巍,叶智斌,等. 苍术酮对结肠癌细胞 HT29 凋亡的机制[J]. 中成药,2018,40(4):937
GENG W, LIANG W, YE ZB, et al. Mechanism of atractylolone on apoptosis of colorectal cancer cell line HT29 [J]. Chin Tradit Pat Med, 2018, 40(4):937
- [5] 王嫦鹤,耿庆光,王雨轩. 白术内酯Ⅰ对免疫性肝损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志,2012,37(12):1809
WANG CH, GENG QG, WANG YX. Protective effect of atractylenolide I on immunological liver injury [J]. China J Chin Mater Med, 2012, 37(12):1809
- [6] 张奕强,许实波,林永成. 白术内酯系列物的胃肠抑制作用[J]. 中药材,1999,22(12):636-640
ZHANG YQ, XU SB, LIN YC. Gastrointestinal Inhibitory Effects of Sesquiterpene Lactones from *Atractylodes macrocephala* [J]. J Chin Med Mater, 1999, 22(12):636
- [7] 王小芳,王芳,张亚环,等. 白术挥发油中苍术酮氧化反应的动力学[J]. 应用化学,2007,24(3):301
WANG XF, WANG F, ZHANG YH, et al. Kinetics and mechanism studies on oxidizing reaction of atractylon in essential oil from *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. Chin J Appl Chem, 2007, 24(3):301
- [8] 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
HAO YJ, SANG YL, LI BL, et al. Study on the stability of atractylolone at room temperature [J]. Chin Tradit Pat Med, 2007, 29(6):895
- [9] 李木子,王京辉,郭洪祝,等. HPLC法测定白术饮片中多种化学成分的含量[J]. 药物分析杂志,2017,37(9):1585
LI MZ, WANG JH, GUO HZ, et al. Simultaneous determination of multiple components in decoction pieces of *Atractylodes Macrocephala* by HPLC [J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(9):1585
- [10] 闫晗,孙媛媛,于治国,等. HPLC法同时测定白术药材中白术内酯Ⅰ等4种有效成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2015,32(9):699
YAN H, SUN YY, YU ZG, et al. Simultaneous determination of the content of four effective constituents including atractylenolide I in *Atractylodes macrocephala* Koidz. by HPLC method [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2015,32(9):699
- [11] 吴慧,赵文龙,单国顺,等. HPLC波长切换法同时测定白术及其不同麸制品中白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ[J]. 中成药,2013, 35(11):2484
WU H, ZHAO WL, SHAN GS, et al. Simultaneous determination of atractylenolide I, II and III in *Atractylodes macrocephala* and its different bran products by HPLC wavelength switching method [J]. Chin Tradit Pat Med, 2013, 35(11):2484
- [12] 刘青,申洁,肖苏萍,等. 基于多成分含量测定及色谱指纹图谱技术提升白术药材质量标准[J]. 中国现代中药, 2019,21(8):1062
LIU Q, SHEN J, SHEN SP, et al. Improving quality standard of *Atractylodes macrocephala* rhizoma by using multi-component content determination and chromatographic fingerprint technology [J]. Mod Chin Med, 2019, 21(8):1062
- [13] 邵志愿,章娟,吴德玲,等. 高效液相色谱法测定白术须根中

- 白术内酯 I、II、III 含量[J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39(1):84
- SHAO ZY, ZHANG J, WU DL, *et al.* Content Detenmination of Atractylenolide I, II and III in Fibrous Root of *Atractylodes macrocephala* by high-performance liquid chromatography [J]. J Anhui Tradit Chin Med Coll, 2020, 39(1):84
- [14] 王海燕, 刘斌. 一测多评法测定不同产地牡丹皮中 5 种有效成分的含量[J]. 中国药品标准, 2021, 22(6):577
- WANG HY, LIU B. Simultaneous determination of five ingredients in Moutan Cortex with different origins by QAMS [J]. Drug Stand China, 2021, 22(6):577
- [15] 沈建涛, 张振凌. 白术炮制品中白术内酯 I、III 含量随放置时间变化的研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(8):1873
- SHEN JT, ZHANG ZL. Study on the changes of atractylenolide I and III contents in processed *Atractylodes macrocephala* products with storage time [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2014, 25(8):1873

(收稿日期:2021-12-15)