

# HPLC-一测多评法结合色差原理分析不同生长年限北苍术药材的质量<sup>Δ</sup>

孙金\*, 翁丽丽, 肖春萍#, 姜雨昕, 宿莹, 刘战, 吴晓燕(长春中医药大学药学院, 长春 130117)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)11-1314-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.11.06

**摘要** 目的:建立同时测定北苍术中白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量的方法,并结合色差原理评价不同生长年限北苍术药材的质量。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法进行测定,色谱柱为Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长分别为208 nm(白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇)、340 nm(苍术素)和220 nm(苍术酮),进样量为15  $\mu$ L。以苍术素为内参物,采用一测多评法建立白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术酮的相对校正因子,并计算不同生长年限北苍术药材中各成分的含量;同时,采用外标法测定上述成分含量,并与一测多评法结果进行比较。基于色差原理对不同生长年限北苍术药材粉末进行颜色测定,采用Pearson相关分析法对苍术药材中上述4种成分含量与其颜色进行相关性分析。结果:白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的分离度均大于1.5,检测质量浓度线性范围分别为1.01~10.10、3.30~33.00、4.40~44.00、5.34~53.40  $\mu$ g/mL,精密性、重复性、稳定性试验的RSD均小于2%,平均加样回收率为101.34%~104.67%(RSD<1.5%, n=6);以苍术素为内参物,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术酮的平均校正因子分别为3.896 7、5.928 2、9.727 9,RSD分别为0.35%、2.89%、0.36%(n=6)。采用一测多评法与外标法测得的24批北苍术药材中3种成分(除苍术素外)含量的相对偏差在0.03%~1.45%之间,表明2种方法测定结果一致,且各成分含量随药材生长年限的增加而升高。北苍术药材中白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮与其颜色亮度( $L^*$ )、色差值( $E^*ab$ )呈显著负相关( $P<0.01$ ),与红绿色度( $a^*$ )、黄蓝色度( $b^*$ )呈显著正相关( $P<0.01$ )。结论:HPLC-一测多评法可用于北苍术药材中白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的含量测定;药材生长年限越长,各成分含量越高;药材颜色与各成分含量显著相关,且颜色偏暗黄棕色的北苍术药材的有效成分含量较高。

**关键词** 北苍术;高效液相色谱法;一测多评法;色差原理;含量测定;质量评价

## Quality Analysis of *Atractylodes chinensis* with Different Growth Years by HPLC-QAMS Combined with Color Difference Principle

SUN Jin, WENG Lili, XIAO Chunping, JIANG Yuxin, SU Ying, LIU Zhan, WU Xiaoyan (School of Pharmacy, Changchun University of TCM, Changchun 130117, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To simultaneously determine the contents of atractylenolide II,  $\beta$ -eudesmol, atractyloxin and atractylone in *Atractylodes chinensis*, and to evaluate the quality of *A. chinensis* with different growth years combined with color difference principle. METHODS: HPLC method was adopted. The determination performed on Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min; the detection wavelengths were set as 208 nm (atractylenolide II,  $\beta$ -eudesmol), 340 nm (atractyloxin) and 220 nm (atractylone); the sample size was 15  $\mu$ L. Using atractyloxin as reference, QAMS was adopted to establish relative correction factors (RCFs) of

- 病[J].细胞与分子免疫学杂志,2007,23(2):190-192.
- [19] 乔文,李娜,李长顺,等. IL-1 $\beta$ 与人慢性胃炎的相关性研究[J].胃肠病学和肝病学杂志,2010,19(1):47-48.
- [20] 巩子汉,王强,段永强,等.白及多糖对胃溃疡模型大鼠胃

- 组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 JNK、p38 MAPK 基因蛋白表达水平的影响[J].中药药理与临床,2019,35(4):90-95.
- [21] ZHANG X, DARNELL JE. Functional importance of STAT3 tetramerization in activation of the 2-macroglobulin gene[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(36):33576-33581.
- [22] 黄国全,黎晖,张才全,等. CDC4 及 c-Myc 在胃癌中的表达及临床意义[J].中国癌症杂志,2015,25(12):21-27.
- [23] KHANDAKER AZS, TURKSON J. STAT3 as a target for inducing apoptosis in solid and hematological tumors[J]. *Cell Res*, 2008, 18(2):254-267.

$\Delta$  基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81803649);吉林省科技发展计划项目(No.20191102035YY);吉林省中医药科技项目(No.2017001);吉林省卫生与健康青年科技骨干培养计划项目(No.2018Q042);吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(No.JJ-KH20190477KJ)

\* 硕士研究生。研究方向:中药品质评价与资源开发。电话:0431-81672193。E-mail:1451820853@qq.com

# 通信作者:讲师,博士。研究方向:中药资源、栽培理论和技术。电话:0431-81672193。E-mail:btxnw@163.com

(收稿日期:2020-01-15 修回日期:2020-04-13)

(编辑:林静)

atractylenolide II,  $\beta$ -eudesmol and atractylone; the content of each component in *A. chinensis* with different growth years were calculated. The contents of above 4 components were determined by external standard method and then compared with the results of QAMS. The color difference values of *A. chinensis* powder were measured based on color difference principle. The correlation analysis of above 4 components content with color was carried out by Pearson correlation analysis. RESULTS: The separation degree of atractylenolide II,  $\beta$ -eudesmol, atractyloxin and atractylone in *A. chinensis* was higher than 1.5. The linear range were 1.01-10.10, 3.30-33.00, 4.40-44.00, 5.34-53.40  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. RSDs of precision, reproducibility and stability tests were all lower than 2%, while the average recovery rates were 101.34%-104.67% ( $\text{RSD}<1.5\%$ ,  $n=6$ ). Using atractyloxin as reference, RCFs of atractylenolide II,  $\beta$ -eudesmol and atractylone were 3.896 7, 5.928 2, 9.727 9, with RSD of 0.35%, 2.89%, 0.36% ( $n=6$ ), respectively. Relative deviation of 3 components (except for atractyloxin) in 24 batches of *A. chinensis* ranged 0.03%-1.45% between QAMS and external standard method, which indicated that the results of two methods were consistent, and the content of each component increased with the increase of growth years. Atractylenolide II,  $\beta$ -eudesmol, atractyloxin and atractylone in *A. chinensis* had significant negative correlation with its color shade ( $L^*$ ), total color difference ( $E^*ab$ ) ( $P<0.01$ ), and significant positive correlation with color red-green direction ( $a^*$ ), color yellow-blue direction ( $b^*$ ) ( $P<0.01$ ). CONCLUSIONS: The established HPLC-QAMS method can be used for the determination of atractylenolide II,  $\beta$ -eudesmol, atractyloxin and atractylone in *A. chinensis*. The longer the growth period is, the higher each component content is. The color of *A. chinensis* is closely related to the content of each component, and the content of effective components is higher in *A. chinensis* with dark yellowish brown color.

**KEYWORDS** *Atractylodes chinensis*; HPLC; QAMS; Color difference principle; Content determination; Quality evaluation

苍术 [*Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz.] 为菊科多年生草本植物, 以其干燥根茎入药, 是2015年版《中国药典》(一部) 中收录的苍术药材的来源之一<sup>[1]</sup>。《本草纲目》《金匱要略》中均以“赤术”记载<sup>[2]</sup>。苍术根据性状和产地可分为北苍术、茅苍术、关苍术, 其中北苍术中主要有效成分为苍术素、 $\beta$ -桉叶醇、苍术酮、白术内酯 II 等, 具有燥湿健脾、祛风散寒、明目等多种功效<sup>[3]</sup>, 其有效物质含量会受到土壤、水源等因素的影响<sup>[4]</sup>。《中国药典》规定苍术中苍术素含量不得低于 0.3%<sup>[1]</sup>。相关研究表明, 绝大部分北苍术和茅苍术中的苍术素含量高于标准, 而关苍术含有微量或不含有苍术素, 与《中国药典》对苍术药材来源的规定相一致<sup>[5-6]</sup>。另外, 北苍术中苍术素含量普遍高于茅苍术<sup>[7]</sup>, 而传统认为茅苍术质量优于北苍术, 表明苍术素含量的高低不能全面地反映苍术质量。北苍术根茎中主要成分包括聚乙炔类和倍半萜类, 其中, 聚乙炔类成分主要为苍术素, 倍半萜类成分主要为  $\beta$ -桉叶醇、苍术酮、白术内酯 II 等<sup>[8-10]</sup>。基于此, 本研究建立这 4 种成分的高效液相色谱 (HPLC) 一测多评法, 以对北苍术质量进行综合评价。另外, 中药颜色一直是传统性状评价中的重要因素, 颜色的差异往往反映着药材质量的不同, 与药材内在物质成分含量高低也密切相关<sup>[11]</sup>。由于传统的颜色评价多为人眼直接观察, 有很大的主观性和模糊性<sup>[12]</sup>。所以, 笔者基于色差原理建立一种客观的、数字化的颜色评价方法, 来实现对中药颜色的量化评价, 以便更加准确地分析中药内在质量, 并为建立较完善的北苍术质量评价体系提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC2030 型 HPLC 仪 (日本岛津公司); 1260 型 HPLC 仪 (美国 Agilent 公司); FA1004B 电子天平 (上海佑科仪

器仪表有限公司); NH310 型色差仪 (深圳市三恩驰科技有限公司); KQ3200E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

白术内酯 II 对照品 (批号: M22A10S95762, 纯度: 99.9%)、 $\beta$ -桉叶醇对照品 (批号: P24O8F46474, 纯度: 99.4%)、苍术素对照品 (批号: 180210-004, 纯度: 99.7%)、苍术酮对照品 (批号: P11M10F73437, 纯度: 97.3%) 均购自上海源叶生物科技有限公司; 磷酸、乙腈为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为超纯水。

24 批北苍术药材经长春中医药大学药学院翁丽丽教授鉴定均为菊科植物北苍术 [*A. chinensis* (DC.) Koidz.] 的干燥根茎, 其来源信息详见表 1。

表 1 北苍术药材来源信息

Tab 1 Source information of *A. chinensis*

编号	生长年限	生长方式	产地
S1~S3	1年	栽培	吉林通化柳河
S4~S6	1年	栽培	吉林长春农安
S7~S9	2年	栽培	吉林通化柳河
S10~S12	2年	栽培	吉林长春农安
S13~S15	3年	栽培	吉林通化柳河
S16~S18	3年	栽培	吉林长春农安
S19~S21	4年	栽培	吉林通化柳河
S22~S24	4年	栽培	吉林长春农安

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC-一测多评法的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相为乙腈 (A)-0.2% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~3 min, 55% A; 3~20 min, 55% A→60% A; 20~35 min, 60% A→65% A; 35~55 min, 65% A→85% A; 55~60 min, 85% A→95% A); 检测

波长分别为208 nm(白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇,0~28 min)、340 nm(苍术素,28~45 min)、220 nm(苍术酮,45~60 min);流速为1 mL/min;柱温为32 ℃;进样量为15  $\mu$ L。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称取白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮对照品适量,置于同一量瓶中,加甲醇溶解制成质量浓度分别为10.1、33.0、44.0、53.4  $\mu$ g/mL的混合对照品溶液,备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 将北苍术药材粉碎后过三号筛,精密称定药材粉末0.3 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,密塞,称定质量,超声(功率:250 W,频率:40 kHz)处理1 h,放冷,再次称定,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.4 专属性试验 取“2.1.2”和“2.1.3”项下混合对照品溶液、供试品溶液(编号:S8)和空白溶剂(甲醇),按“2.1.1”项下色谱条件进行测定。结果,各待测成分均达到基线分离,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的理论板数均大于10 000,与各相邻峰间分离度均大于1.5,且溶剂无干扰(图略)。高效液相色谱图见图1。

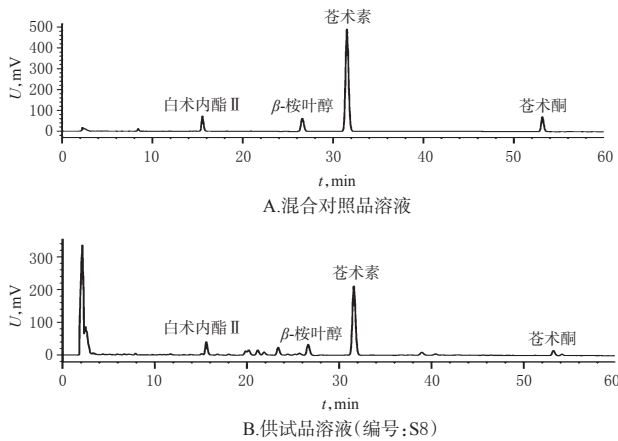


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.1.5 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下混合对照品溶液2.0、1.8、1.2、0.8、0.4、0.2 mL,分别置于2 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,制成系列线性溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积为纵坐标(y)、质量浓度为横坐标(x)进行线性回归。结果,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的线性范围分别为1.01~10.10、3.30~33.00、4.40~44.00、5.34~53.40  $\mu$ g/mL ( $r \geq 0.9998$ ),详见表2。

表2 4种成分的回归方程和线性范围

Tab 2 Regression equation and linear range of 4 components

成分	回归方程	r	线性范围, $\mu$ g/mL
白术内酯Ⅱ	$y=480.638.2071x+742.0059$	0.9999	1.01~10.10
$\beta$ -桉叶醇	$y=1031.285.1570x+1090.3935$	0.9998	3.30~33.00
苍术素	$y=8365.489.4340x-35921.5310$	0.9999	4.40~44.00
苍术酮	$y=1015.701.8870x-1999.8491$	0.9999	5.34~53.40

2.1.6 精密度试验 取北苍术药材(编号:S8)粉末适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,然后就按“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次。结果,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮峰面积的RSD均小于0.3% ( $n=6$ ),表明仪器的精密度良好。

2.1.7 重复性试验 取北苍术药材(编号:S8)粉末适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,平行制备6份,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并以外标法计算各待测成分含量。结果,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的平均含量分别为0.2836、0.5034、2.8781、1.7918 mg/g, RSD均小于1.8% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

2.1.8 稳定性试验 取北苍术药材(编号:S8)粉末适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,于室温下密闭放置0、2、4、8、12、24、48 h后,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮峰面积的RSD均小于0.7% ( $n=7$ ),表明供试品溶液在室温下放置48 h内稳定。

2.1.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的北苍术药材(编号:S8,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的含量分别为0.2836、0.5034、2.8781、1.7918 mg/g)粉末0.3 g,置于具塞锥形瓶中,平行制备6份。每份样品中均分别加入白术内酯对照品Ⅱ 0.1062 mg、 $\beta$ -桉叶醇对照品 0.1779 mg、苍术素 0.9731 mg、苍术酮 0.5371 mg,然后再加甲醇至50 mL,按“2.1.3”项下方法中“密塞,称定质量……取续滤液”等步骤操作,制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,以外标法计算各待测成分含量并以此计算加样回收率。结果,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的平均加样回收率分别为102.43%、104.67%、101.34%、103.72%, RSD均小于1.5% ( $n=6$ ),表明方法准确度良好,详见表3。

2.1.10 相对校正因子及相对保留时间的计算 分别精密吸取“2.1.2”项下的混合对照品溶液1、3、7、10、15、20  $\mu$ L,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,计算相对校正因子( $f_{k/s}$ )及相对保留时间( $t_{k/s}$ )。其中, $f_{k/s}=(W_s \times A_k)/(W_k \times A_s)$ ,式中 $W_s$ 为内参物进样量, $A_s$ 为内参物峰面积, $W_k$ 为成分k的进样量, $A_k$ 为成分k的峰面积; $t_{k/s}=t_k/t_s$ ,式中 $t_k$ 为成分k的保留时间, $t_s$ 为内参物的保留时间。本试验以苍术素为内参物,结果,白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术酮的平均 $f_{k/s}$ 分别为3.8967、5.9282、9.7279, RSD分别为0.35%、2.89%、0.36% ( $n=6$ );平均 $t_{k/s}$ 分别为0.4917、0.8348、1.6833, RSD分别为0.12%、0.01%、0.03% ( $n=6$ ),详见表4。

2.1.11 系统耐用性考察 采用不同高效液相色谱系统(Shimaduz LC-2030、Agilent 1260)和色谱柱(Agilent XDB-C<sub>18</sub>、Angela Innoval C<sub>18</sub>、依利特 ODS-C<sub>18</sub>),考察其

表3 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery tests(n=6)

成分	称样量, g	已知含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收 率,%	平均加样回 收率,%	RSD, %
	0.298 7	0.084 7	0.106 2	0.195 3	104.14		
	0.301 9	0.085 6	0.106 2	0.192 9	101.04		
	0.298 3	0.084 6	0.106 2	0.195 1	104.05		
	0.299 0	0.084 8	0.106 2	0.193 1	101.98		
	0.301 3	0.085 4	0.106 2	0.193 6	101.88		
β-桉叶醇	0.301 2	0.151 6	0.177 9	0.336 3	103.82	104.67	0.48
	0.298 7	0.150 4	0.177 9	0.337 0	104.89		
	0.301 9	0.152 0	0.177 9	0.338 1	104.61		
	0.298 3	0.150 2	0.177 9	0.337 6	105.34		
	0.299 0	0.150 5	0.177 9	0.337 4	105.06		
	0.301 3	0.151 7	0.177 9	0.337 2	104.27		
苍术素	0.301 2	0.866 9	0.973 1	1.841 0	100.10	101.34	0.68
	0.298 7	0.859 7	0.973 1	1.850 2	101.79		
	0.301 9	0.868 9	0.973 1	1.852 7	101.10		
	0.298 3	0.858 5	0.973 1	1.853 1	102.21		
	0.299 0	0.860 6	0.973 1	1.851 1	101.79		
	0.301 3	0.867 2	0.973 1	1.850 7	101.07		
苍术酮	0.301 2	0.539 7	0.537 1	1.101 0	104.51	103.72	0.58
	0.298 7	0.535 2	0.537 1	1.092 7	103.80		
	0.301 9	0.540 9	0.537 1	1.096 6	103.46		
	0.298 3	0.534 5	0.537 1	1.095 0	104.36		
	0.299 0	0.535 7	0.537 1	1.091 7	103.52		
	0.301 3	0.539 9	0.537 1	1.091 5	102.70		

表4 白术内酯II、β-桉叶醇、苍术酮的 $f_{k/s}$ 和 $t_{k/s}$ (n=6)

Tab 4 The  $f_{k/s}$  and  $t_{k/s}$  of atractylenolide II, β-eudesmo and atractylone(n=6)

进样体积, μL	$f_{k/s}$			$t_{k/s}$		
	$f_{\text{苍术素}/\text{白术内酯II}}$	$f_{\text{苍术素}/\beta\text{-桉叶醇}}$	$f_{\text{苍术素}/\text{苍术酮}}$	$t_{\text{苍术素}/\text{白术内酯II}}$	$t_{\text{苍术素}/\beta\text{-桉叶醇}}$	$t_{\text{苍术素}/\text{苍术酮}}$
1	3.909 5	5.602 9	9.663 4	2.032 0	1.185 0	0.594 1
3	3.902 0	5.873 0	9.771 2	2.031 5	1.185 2	0.593 9
7	3.877 7	5.990 7	9.738 6	2.031 7	1.185 3	0.593 8
10	3.882 8	6.018 2	9.739 2	2.036 2	1.185 1	0.594 3
15	3.897 3	6.031 0	9.727 3	2.033 7	1.185 1	0.594 1
20	3.910 8	6.053 4	9.727 9	2.037 3	1.185 1	0.594 3
平均值	3.896 7	5.928 2	9.727 9	2.033 8	1.185 1	0.594 1
RSD, %	0.35	2.89	0.36	0.12	0.01	0.03

对 $f_{k/s}$ 和 $t_{k/s}$ 的影响。结果,不同高效液相色谱系统和色谱柱条件下,白术内酯II、β-桉叶醇、苍术酮的 $f_{k/s}$ 和 $t_{k/s}$ 的RSD均小于2%(n=6),详见表5。

2.1.12 一测多评法与外标法比较 取24批北苍术药材,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,采用一测多评法对北苍术中白术内酯II、β-桉叶醇、苍术酮进行含量测定(内参物苍术素根据外标法计算),并与外标法测定的上述成分含量结果进行比较。每批样品平行测定3次,结果取平均值。结果,2种方法测定24批北苍术药材中3种成分(除苍术素外)含量的相对偏差(RE)在0.03%~1.45%之间,表明2种方法测定结果一致,且结果显示各成分含量随药材生长年限的增加而升高,详见表6。

表5 不同高效液相色谱系统和色谱柱对 $f_{k/s}$ 和 $t_{k/s}$ 的影响

Tab 5 Effects of different HPLC systems and chromatographic columns on  $f_{k/s}$  and  $t_{k/s}$

仪器	色谱柱	$f_{k/s}$			$t_{k/s}$		
		$f_{\text{苍术素}/\text{白术内酯II}}$	$f_{\text{苍术素}/\beta\text{-桉叶醇}}$	$f_{\text{苍术素}/\text{苍术酮}}$	$t_{\text{苍术素}/\text{白术内酯II}}$	$t_{\text{苍术素}/\beta\text{-桉叶醇}}$	$t_{\text{苍术素}/\text{苍术酮}}$
Shimaduz LC-2030	Agilent XDB-C <sub>18</sub>	3.896 7	5.928 2	9.727 9	2.086 0	1.185 0	0.604 1
	Angela Innoval C <sub>18</sub>	3.687 2	5.735 2	9.566 8	2.059 3	1.175 2	0.593 9
	依利特 ODS-C <sub>18</sub>	3.725 3	5.898 7	9.732 6	2.030 7	1.155 3	0.590 8
Agilent 1260	Agilent XDB-C <sub>18</sub>	3.702 3	5.816 9	9.636 8	2.016 2	1.190 1	0.599 3
	Angela Innoval C <sub>18</sub>	3.736 3	5.910 2	9.701 2	2.029 2	1.165 1	0.594 1
	依利特 ODS-C <sub>18</sub>	3.726 6	5.898 7	9.782 6	2.012 3	1.150 1	0.589 3
RSD, %		1.86	1.15	0.73	1.27	1.25	0.85

表6 一测多评法与外标法测定24批北苍术药材中4种成分的结果比较(n=3)

Tab 6 Comparison of the contents of 4 components in 24 batches of *A. chinensis* by QAMS and external standard method(n=3)

编号	苍术素, mg/g	白术内酯II, mg/g		RE, %	β-桉叶醇, mg/g		RE, %	苍术酮, mg/g		RE, %
	外标法	一测多评法	一测多评法	外标法	一测多评法	一测多评法	外标法	一测多评法	一测多评法	
S1	2.258 4	0.296 3	0.293 3	1.00	0.464 0	0.462 9	0.22	1.047 1	1.035 7	1.09
S2	2.714 1	0.356 1	0.352 0	1.14	0.491 0	0.489 6	0.29	1.044 6	1.033 2	1.10
S3	2.262 1	0.304 0	0.300 9	1.02	0.470 9	0.469 7	0.24	1.043 9	1.032 5	1.10
S4	2.705 2	0.302 3	0.299 3	1.02	0.488 5	0.487 1	0.29	1.049 0	1.037 7	1.09
S5	2.705 9	0.2707	0.268 2	0.91	0.524 2	0.522 2	0.36	1.091 1	1.079 9	1.02
S6	2.311 0	0.311 5	0.308 3	1.04	0.505 2	0.503 6	0.32	1.100 9	1.089 9	1.01
S7	2.798 6	0.329 2	0.325 6	1.08	0.805 8	0.799 8	0.74	1.102 5	1.091 4	1.01
S8	2.885 7	0.284 3	0.281 6	0.96	0.504 2	0.502 6	0.32	1.791 7	1.784 4	0.41
S9	2.663 2	0.398 1	0.393 3	1.22	0.796 9	0.791 1	0.74	1.502 0	1.493 1	0.59
S10	2.751 8	0.339 2	0.335 5	1.11	0.897 9	0.890 6	0.82	0.921 2	0.909 1	1.32
S11	2.780 4	0.328 3	0.324 8	1.08	0.806 9	0.800 9	0.75	1.118 6	1.107 6	0.99
S12	2.702 3	0.291 2	0.288 4	0.98	0.809 9	0.803 9	0.75	1.462 8	1.453 7	0.62
S13	2.873 5	0.303 1	0.300 1	1.02	0.825 9	0.819 6	0.76	1.757 8	1.750 4	0.42
S14	3.110 1	0.342 5	0.338 7	1.11	0.947 0	0.939 0	0.85	2.964 9	2.964 0	0.03
S15	3.565 9	0.485 0	0.478 6	1.34	0.898 5	0.891 2	0.82	2.304 7	2.300 2	0.19
S16	2.980 3	0.302 8	0.299 7	1.02	1.045 4	1.035 9	0.91	2.032 2	2.026 3	0.29
S17	3.001 3	0.295 5	0.292 6	0.99	0.997 8	0.989 0	0.88	2.048 2	2.042 3	0.29
S18	3.120 4	0.382 9	0.378 4	1.19	0.932 3	0.924 5	0.84	2.433 2	2.429 5	0.15
S19	4.281 3	0.574 5	0.566 4	1.42	0.999 3	0.990 5	0.88	2.472 8	2.469 3	0.14
S20	4.241 5	0.613 3	0.604 5	1.45	1.008 1	0.999 1	0.89	2.448 7	2.445 1	0.15
S21	4.294 3	0.6167	0.607 8	1.45	1.018 4	1.009 3	0.89	2.469 7	2.466 2	0.14
S22	3.669 2	0.447 5	0.441 7	1.29	0.920 1	0.912 4	0.83	2.470 2	2.466 6	0.14
S23	3.562 3	0.484 5	0.478 1	1.34	0.897 6	0.890 3	0.82	2.302 4	2.297 9	0.19
S24	3.678 4	0.502 4	0.495 7	1.35	0.930 0	0.922 2	0.84	2.383 2	2.379 2	0.17

2.2 基于色差原理分析北苍术质量

2.2.1 色度测定条件 光源为D65,观察角为8°,测定孔径为8 mm,光源为LED蓝光激发,仪器色差值误差≤0.4。对仪器进行黑白板校正以后,进行样品测定。

2.2.2 精密度试验 取北苍术药材(编号:S8)粉末适量,均匀平铺于自制测色皿底部,按“2.2.1”项下色度测定条件进行样品颜色测定,连续测定6次,记录颜色亮度(L\*)、红绿色度(a\*)、黄蓝色度(b\*)。结果,北苍术药材的L\*、a\*、b\*的RSD均小于2%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.2.3 稳定性试验 取北苍术药材(编号:S8)粉末适量,于室温放置0、2、4、6、8、10 h后,按照“2.2.1”项下色度测定条件进行样品颜色测定,记录 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 。结果,北苍术药材 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 的RSD均小于3%( $n=6$ ),表明样品在室温下放置10 h内颜色稳定性良好。

2.2.4 样品颜色测定 取北苍术药材(编号:S8)粉末适量,按照“2.2.1”项下色度测定条件进行样品颜色测定,每个样品平行测定3次,记录 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 并取平均值,并计算色差值 $E^*ab$ [ $E^*ab=(L^{*2}+a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ ],结果见表7。

表7 24批北苍术药材颜色测定结果( $n=3$ )

Tab 7 Color determination results of 24 batches of *A. chinensis* ( $n=3$ )

编号	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$E^*ab$	编号	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$E^*ab$
S1	60.89	4.91	16.07	63.17	S13	52.78	6.21	23.34	58.04
S2	54.96	5.89	20.86	59.08	S14	49.59	6.98	24.54	55.77
S3	58.05	5.26	17.83	60.95	S15	42.90	7.10	24.94	50.13
S4	55.61	5.80	19.06	59.07	S16	51.93	6.58	20.36	56.17
S5	55.27	5.04	18.94	58.64	S17	50.60	6.91	21.23	55.31
S6	57.43	4.90	16.67	60.00	S18	47.29	7.28	24.76	53.87
S7	53.06	5.80	20.97	57.35	S19	37.30	7.86	27.15	46.80
S8	52.02	6.37	23.23	57.33	S20	37.47	7.81	27.31	47.02
S9	55.19	5.96	19.85	58.95	S21	36.93	7.81	26.42	46.07
S10	54.56	5.80	20.07	58.42	S22	43.18	8.24	25.67	50.91
S11	53.66	5.80	20.77	57.83	S23	44.20	8.32	24.62	51.27
S12	54.91	6.16	19.62	58.63	S24	42.40	8.12	25.86	50.32

### 2.3 不同生长年限北苍术药材中有效成分含量与颜色指标值的综合分析

2.3.1 相关性分析 利用Pearson法分析不同生长年限北苍术药材中有效成分白术内酯II、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量与颜色指标值 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*ab$ 的相关系数,结果见表8。

表8 不同生长年限北苍术中有效成分含量与 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*ab$ 的相关系数( $n=24$ )

Tab 8 Correlation coefficient of active ingredient contents with  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $E^*ab$  in *A. chinensis* with different growth years ( $n=24$ )

成分	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$E^*ab$
白术内酯II	-0.913**	0.779**	0.795**	-0.912**
$\beta$ -桉叶醇	-0.724**	0.759**	0.709**	-0.730**
苍术素	-0.990**	0.894**	0.922**	-0.987**
苍术酮	-0.824**	0.884**	0.862**	-0.806**

注:“\*\*”表示在0.01水平(双侧)上显著相关

Note:“\*\*” means significant correlation at 0.01 level(bilateral)

由表8可知,不同生长年限北苍术药材中白术内酯II、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量与颜色指标值 $L^*$ 、 $E^*ab$ 呈显著负相关( $P<0.01$ ),与 $a^*$ 、 $b^*$ 呈显著正相关( $P<0.01$ ),说明 $L^*$ 、 $E^*ab$ 值越小或 $a^*$ 、 $b^*$ 越大,北苍术药材中白术内酯II、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量越高。

2.3.2 回归分析 利用SPSS 21.0软件,以不同生长年

限北苍术药材中白术内酯II、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量为因变量,以颜色指标值 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 为自变量进行回归分析,结果见表9~表11。

表9 不同生长年限北苍术药材中有效成分含量的模型汇总

Tab 9 Model summary of active component contents in *A. chinensis* with different growth years

成分	R	R <sup>2</sup>	调整R <sup>2</sup>	标准估计的误差
白术内酯II	0.932	0.869	0.849	0.041
$\beta$ -桉叶醇	0.763	0.583	0.520	0.142
苍术素	0.991	0.982	0.979	0.089
苍术酮	0.894	0.800	0.770	0.313

由表9可知,不同生长年限北苍术药材中白术内酯II、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量与颜色指标值 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 的 $R^2$ 分别为0.869、0.583、0.982、0.800,说明北苍术药材中上述4种成分的含量分别在86.9%、58.3%、98.2%、80.0%的程度上可以通过色差值来反映。

表10 不同生长年限北苍术药材中有效成分含量的方差分析结果

Tab 10 Variance analysis result of active component contents in *A. chinensis* with different growth years

成分	模型	离均差平方和	自由度	均方	F	P
白术内酯II	回归平方和	0.226	3	0.075	44.242	<0.000 1
	残差平方和	0.034	20	0.002		
	总计平方和	0.261	23			
$\beta$ -桉叶醇	回归平方和	0.562	3	0.187	9.309	<0.000 1
	残差平方和	0.402	20	0.020		
	总计平方和	0.964	23			
苍术素	回归平方和	8.326	3	2.775	354.167	<0.000 1
	残差平方和	0.157	20	0.008		
	总计平方和	8.482	23			
苍术酮	回归平方和	7.807	3	2.602	26.642	<0.000 1
	残差平方和	1.954	20	0.098		
	总计平方和	9.761	23			

由表10可知,不同生长年限北苍术药材中白术内酯II、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的含量与颜色指标值所构成的回归方程在统计学上是显著的。

由表11可得回归方程 $Y_{\text{白术内酯II含量}}=1.917-0.022L^*-0.016a^*-0.014b^*$ ;  $Y_{\beta\text{-桉叶醇含量}}=0.455-0.007L^*+0.116a^*-0.004b^*$ ;  $Y_{\text{苍术素含量}}=8.081-0.093L^*-0.024a^*-0.008b^*$ ;  $Y_{\text{苍术酮含量}}=-3.232+0.014L^*+0.382a^*+0.081b^*$ 。因此,可通过北苍术药材的颜色快速预测其白术内酯II、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的含量。

### 3 讨论

中药成分的复杂多样决定了单一成分的含量不能全面地反映药材质量,必须采用多成分、多指标进行综合质量分析<sup>[13]</sup>。近年来,运用外标法同时测定多种成分的评价方式可以更全面地阐明各成分间的相互关系,实

表 11 不同生长年限北苍术药材有效成分含量的回归分析结果

Tab 11 Regression analysis results of active components contents in *A. chinensis* with different growth years

成分	模型	非标准化系数	标准系数	t	P
白术内酯Ⅱ	(常量)	1.917		5.252	<0.000 1
	$L^*$	-0.022	-1.473	-5.821	<0.000 1
	$a^*$	-0.016	-0.162	-0.739	0.468
	$b^*$	-0.014	-0.439	-1.687	0.107
$\beta$ -桉叶醇	(常量)	0.455		0.363	0.720
	$L^*$	-0.007	-0.227	-0.502	0.621
	$a^*$	0.116	0.616	1.571	0.132
	$b^*$	-0.004	-0.069	-0.149	0.883
苍术素	(常量)	8.081		10.326	<0.000 1
	$L^*$	-0.093	-1.070	-11.258	<0.000 1
	$a^*$	-0.024	-0.043	-0.524	0.606
	$b^*$	-0.008	-0.043	-0.440	0.665
苍术酮	(常量)	-3.232		-1.170	0.256
	$L^*$	0.014	0.148	0.474	0.640
	$a^*$	0.382	0.637	2.348	0.029
	$b^*$	0.081	0.416	1.293	0.211

现多成分的量化分析,但中药成分对照品存在性质不稳定、价格昂贵等问题,因此使得该方法具有一定的局限性<sup>[14]</sup>。而一测多评法可在缺少对照品的情况下,通过相对校正因子实现对多成分的含量测定<sup>[15]</sup>,在中药质量评价上具有独特的优势,为中药多指标质量评价提供了新的研究思路和发展趋势。本研究中苍术素较其他几种成分价格便宜,且为《中国药典》规定的指标成分<sup>[1]</sup>,故选择其作为内参物。基于此,笔者建立了HPLC—一测多评法同时测定北苍术药材中聚乙炔类成分苍术素和倍半萜类成分白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术酮的含量。结果显示,该方法准确性、含量稳定性较好,且与外标法测定结果相一致,可对北苍术进行多指标质量分析;且通过数据可知白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量随药材生长年限的增加而升高。

另外,本研究基于色差原理对不同生长年限北苍术药材的颜色进行量化分析,研究白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量与颜色指标值 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*ab$ 的相关性。结果显示,不同生长年限北苍术药材颜色与各成分含量显著相关,在一定程度上颜色指标 $L^*$ 、 $E^*ab$ 越小或 $a^*$ 、 $b^*$ 越大,药材中白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮含量越高,即颜色偏暗黄棕色的北苍术药材的有效成分含量较高。

综上所述,本研究成功建立了HPLC—一测多评法测

定北苍术药材中白术内酯Ⅱ、 $\beta$ -桉叶醇、苍术素、苍术酮的含量,结合色差原理可分析北苍术药材的质量变化与颜色的相关性,为更全面、准确地评价该药材的质量提供了新手段,并可为其质量研究体系的建立和完善提供参考。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:161.
- [2] 张亦舒,沈澍农.术演变为苍术、白术始末[J].中国中医基础医学杂志,2017,23(4):541-543.
- [3] 王秋玲,郭旭,刘福清,等.北苍术开花结实特性观察及种子分级研究[J].中国现代中药,2015,17(6):568-571、582.
- [4] 孙金,翁丽丽,肖春萍,等.农田前茬农药和重金属残留对北苍术药材质量产生的影响[J].中药材,2019,42(11):2503-2507.
- [5] 肖春萍,夏炎,张强.吉林省不同产地北苍术的质量评价研究[J].长春中医药大学学报,2018,34(5):872-875.
- [6] 李海兰,冯卫军,朴光春,等.朝药关苍术的化学成分及药理作用研究[J].中国药房,2018,29(11):1515-1519.
- [7] 韩玉.电子鼻在苍术质量评价中的应用研究[D].北京:北京中医药大学,2011.
- [8] 曾志,叶雪宁,庞世敏,等.北苍术和茅苍术挥发油成分的比较[J].应用化学,2012,29(4):470-476.
- [9] 陈文婷,陈阳,崔波,等.气相色谱“一测多评”用于苍术多成分含量测定的可行性研究[J].中国中药杂志,2018,43(3):551-556.
- [10] 于艳,袁媛,贾天柱,等.苍术炮制前后化学成分及药理作用研究近况[J].时珍国医国药,2016,27(1):189-191.
- [11] 宿莹,侯晓琳,翁丽丽,等.基于色差原理分析龙胆有效成分含量与颜色的相关性[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(13):151-156.
- [12] 徐珍珍,史星星,樊旭蕾,等.基于色差原理分析木香有效成分含量与颜色值的相关性[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(13):17-21.
- [13] 陆兔林,石上梅,蔡宝昌,等.基于一测多评的中药多成分定量研究进展[J].中草药,2012,43(12):2525-2529.
- [14] 赵玉娇,梁国锐,宫文霞,等.白术中3种内酯成分一测多评方法的建立[J].中国药学杂志,2018,53(7):499-503.
- [15] 张德培,罗源生,贺凡珍.酒大黄中5种蒽醌类成分一测多评方法的建立[J].中药材,2012,35(4):588-590.

(收稿日期:2020-01-02 修回日期:2020-03-17)

(编辑:唐晓莲)