

## HPLC-PDA 指纹图谱结合 UFLC-Q-TOF/MS 定性鉴别评价不同产地白术药材质量

孙 学, 文红梅, 崔小兵\*, 陆兔林, 李 伟, 单晨啸

南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

**摘要:** 目的 建立白术药材 HPLC-PDA 指纹图谱并进行定性鉴别, 为全面控制白术质量提供参考。方法 白术加 70% 甲醇超声 60 min; 色谱分析采用 Inertsil® ODS-SP 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 40 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 采用 Waters 2998 紫外检测器, 检测波长为 235 nm, 流动相为水 (A)-乙腈 (B), 洗脱梯度为 0~10 min, 30%~45% B; 10~25 min, 45% B; 25~50 min, 45%~70% B; 50~55 min, 70% B; 55~62 min, 70%~30% B; 62~75 min, 30% B。质谱测定采用电喷雾离子源 (ESI) 的飞行时间质谱 (TOF/MS); 正离子模式下; 质量扫描范围  $m/z$  50~1 500。结果 分别对不同产地的白术进行比较、拟合, 标定了白术 HPLC-PDA 指纹图谱的 6 个共有峰, 并通过高分辨 UFLC-Q-TOF/MS 对共有峰进行了指认, 分别为 5-羟甲基糠醛、白术内酯 III、白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 VI 和双白术内酯; 对白术的色谱条件及系统适用性、提取条件进行了优化、考察, 其精密性、稳定性、重复性 RSD 值均小于 2%; 测得的 10 批次样品与拟合指纹图谱相似度均大于 0.95。**结论** 所建立的 HPLC 指纹图谱可作为规范白术的均一性和稳定性的质量控制手段。

**关键词:** 白术; HPLC-PDA; 指纹图谱; UFLC-Q-TOF/MS; 5-羟甲基糠醛; 白术内酯 III; 白术内酯 I; 白术内酯 II; 白术内酯 VI; 双白术内酯

中图分类号: R286.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)19-3494-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.19.023

## Qualitative evaluation of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* from different habitats by HPLC-PDA fingerprint combined with UFLC-Q-TOF/MS qualitative identification

SUN Xue, WEN Hong-mei, CUI Xiao-bing, LU Tu-lin, LI Wei, SHAN Chen-xiao

College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

**Abstract: Objective** To establish and identify the HPLC-PDA fingerprint of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (AMR) and provide a reference for the comprehensive control of the quality of AMR. **Methods** AMR was extracted with 70% methanol by sonicating for 60 min. The analysis of AMR extract was performed on Inertsil® ODS-SP column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), column temperature was maintained at 40 °C, flow rate was 1.0 mL/min, and detector was Waters 2998 UV detector with detection wavelength 235 nm. Mobile phase was acetonitrile (B)-water (A) with the elution gradient 0–10 min, 30%–45% B, 10–25 min, 45% B, 25–50 min, 45%–70% B, 50–55 min, 70% B, 55–62 min, 70%–30% B, 62–75 min, 30% B. Time-of-flight mass spectrometer (TOF/MS) and electro-spray ion (ESI) source were used for the qualitative analysis in a positive ion mode, and mass scan range was  $m/z$  50–1 500. **Results** Comparing and fitting the peaks of AMR from different habitats (Zhejiang, Anhui, and Hunan Provinces), the HPLC-PDA fingerprint was set up with six common peaks, and they were identified by UFLC-Q-TOF/MS as 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde, atractylenolide III, atractylenolide I, atractylenolide II, atractylenolide VI, and biatractylenolide. System suitability, extraction, and chromatographic conditions of AMR were optimized. RSD of accuracy, stability and repeatability was all less than 2%. Measuring ten batches and fitting fingerprint similarity, the values were all greater than 0.95. **Conclusion** The HPLC fingerprint can be used as standard uniformity and stability of quality control methods for AMR slice.

**Key words:** *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*; HPLC-PDA; fingerprint; UFLC-Q-TOF/MS; 1-5-(hydroxymethyl)-furaldehyde; atractylenolide III; atractylenolide I; atractylenolide II; atractylenolide VI; biatractylenolide

收稿日期: 2015-12-26

基金项目: 国家中医药管理局中医药行业科研专项 (201307008); 江苏省中药学优势学科开放课题 (YS2012ZYX309)

作者简介: 孙 学 (1991—), 女, 江苏连云港人, 药物分析学硕士, 主要从事药物分析与质量评价研究。

Tel: 15861812711 E-mail: xuexue\_2013726@163.com

\*通信作者 崔小兵 (1975—), 男, 江苏如皋人, 中药学博士, 主要从事药物分析与质量评价研究。

Tel: 13912977796 E-mail: xiaobingcui@163.com

白术 *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (AMR) 为菊科 (Compositae) 植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎, 其植物形态为多年生草本, 白术性温, 气清香, 味甘、苦, 具有健脾益气、燥湿利水、止汗安胎、中和之功效<sup>[1]</sup>。白术广泛分布于我国大部分地区, 因地理位置和生态环境的不同, 茎内的化学成分发生了变异。白术主产于浙江、安徽、湖北、江西等省, 多为栽培<sup>[2]</sup>。白术的炮制方法较多, 有麸炒、土炒、炒焦、炒炭、米泔水漂、蒸制等。据报道, 白术中含有多种类型化学成分, 如挥发性成分<sup>[3]</sup>、内酯类成分<sup>[4-8]</sup>、多糖类、苷类<sup>[9-11]</sup>、氨基酸<sup>[12]</sup>等。由于白术中成分众多, 本实验通过对白术的指纹图谱进行研究, 以此作为评判白术质量的科学依据之一。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Waters 2695 液相色谱系统 (在线脱气机、四元泵、自动进样器, 美国 Waters 公司), 连接 Waters 2998 紫外检测器 (美国 Waters 公司); LC-20AD 型

快速液相 (DGU-20A3 型脱气装置, SIL-20A XR 型自动进样器, CTO-20AC 型柱温箱, 日本岛津公司), 连接 Triple Q-TOF 5600 型质谱仪 (配备电喷雾离子源系统, 美国 AB Sciex 公司); AY220 电子分析天平 (日本岛津公司); TGL 16G 型离心机 (上海安亭科学仪器厂); MUL-9000 Series 超纯水系统 (美国 Millipore 公司); FW100 型万能粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); KQ-500B 型超声波清洗器 (昆山市超声波仪器有限公司)。

### 1.2 试剂与试剂

乙腈 (批号 I698630334, 德国 Merck 公司); 甲醇 (批号 20140624143, 山东禹王实业有限公司化工分公司) 为色谱纯; 95%乙醇 (分析纯, 批号 14011510093, 南京化学试剂有限公司); 水为超纯水 (自制); 其余试剂为分析纯。生白术共 10 批, 均购于江阴天江药业有限公司, 见表 1。白术内酯 I (批号 20131109)、白术内酯 III (批号 20131120) 均购于中国食品药品检定研究院。

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

样品编号	产地	批号	样品编	产地	批号
1	浙江磐安县安文镇岗头村	1408034	6	安徽省亳州市谯城区十九里	1410012
2	浙江磐安县大磐镇小磐村	1404160	7	湖南廉桥	1311086
3	浙江磐安县大磐镇林丰村	1404161	8	湖南郴州	1308017
4	浙江新昌县儒岙镇南山村	1401041	9	湖北巴东县绿葱城镇	1403148
5	安徽亳州	1410142	10	江西上高	1310167

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Inertsil<sup>®</sup> ODS-SP (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 40 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 流动相为乙腈 (A) -水 (B), 洗脱梯度为 0~10 min, 30%~45% A; 10~25 min, 45% A; 25~50 min, 45%~70% A; 50~55 min, 70% A; 55~62 min, 70%~30% A; 62~75 min, 30% A。采用 Waters 2998 紫外检测器, 检测波长 235 nm, 分析时间 75 min, 进样量 10 μL。

### 2.2 质谱条件

TOF MS-IDA-MS/MS 模式, 电喷雾离子源 (ESI), 采用动态背景扣除 (DBS) 的方法, 在正离子检测模式下采集。雾化器电压 (GS1) 0.38 MPa (55 psi)、辅助加热器电压 (GS2) 0.38 MPa (55 psi)、气帘气 (Curtain Gas) 0.25 MPa (36 psi)、辅助加热器温度 (TEM) 550 °C, 喷雾电压 (IS) -5 500 eV, 去簇电压 (DP) -100 eV、碰撞电压 (CE) -40 eV、碰撞电压差 15 eV; 质量数扫描范围  $m/z$  50~1 500。

### 2.3 对照品溶液的配制

精密称取白术内酯 I、白术内酯 III 对照品各 2 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容至 10 mL, 各取白术内酯 I、白术内酯 III 对照品溶液 1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容至 10 mL, 配制成浓度为 20.70 μg/mL 的白术内酯 I 及 20.10 μg/mL 的白术内酯 III 混合对照品溶液。

### 2.4 供试品溶液的配制

精密称取白术粗粉 0.2 g, 置 10 mL 量瓶中, 加入 70%甲醇, 并定容至 10 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 60 min, 取出, 放冷, 用 70%甲醇补足缺失质量, 摇匀。取适量, 离心 (12 000 r/min) 5 min, 取上清液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

### 2.5 检测波长的选择

取适量白术供试液 (批号 1408034) 于比色皿中, 得 200~400 nm 内的 PDA 扫描图谱。结果发现, 白术内酯 I、白术内酯 III 在 220 nm 波长处吸收最强,

但色谱信息较少, 在 235 nm 波长处色谱信息最丰富, 特征最为明显, 图谱中各特征峰信号较强, 分离效果较理想。故选择 235 nm 作为检测波长。

### 2.6 参照物的确定

对药材中已知对照品白术内酯 I、白术内酯 III 与白术的指纹图谱对照, 发现已知峰在指纹图谱中较大, 所以选中其中 2 号峰白术内酯 III 作为参照峰, 其保留时间适中 14.202 min, 占总峰面积 4% 左右。

### 2.7 方法学考察

**2.7.1 精密度试验** 精密称取白术粗粉 (批号 1408034) 0.2 g, 按“2.4”项下方法制备成供试品溶液, 然后按“2.1”项下方法连续进样 6 次, 每次 10 μL, 考察特征峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。以白术内酯 III 为参照峰, 计算其中 6 个共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 2%。

**2.7.2 稳定性试验** 精密称取白术粗粉 (批号 1408034) 0.2 g, 按“2.4”项下方法制备成供试品液, 然后按“2.1”项下方法每隔 3 h 进样 1 次, 共测定 15 h, 分别进样 10 μL, 考察特征峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。计算其中 6 个共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 2%。

**2.7.3 重复性试验** 精密称取白术粗粉 (批号 1408034) 0.2 g, 平行 6 份, 按“2.4”项下方法制备成供试品溶液, 按“2.1”进样 10 μL 分析, 考察特征峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。计算其中 6 个共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 2%。

### 2.8 白术指纹图谱的建立

测定 10 批不同产地的白术样品的 HPLC-PDA 图谱, 采用国家药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版)”进行结果分析, 选择其中共有峰。再以峰 2 白术内酯 III 为参照峰 (即 S 峰), 选择其中相对保留时间和相对峰面积 RSD 较为稳定

(要求不大于 5%) 的共有峰, 作为特征峰, 见图 1。依据上述方法, 确定白术的指纹图谱中 6 个特征峰, 其中指出峰 2 为白术内酯 III, 以峰 2 为 S 峰, 各特征峰与 S 峰的相对保留时间应在规定值的 ±5% 之内。规定值为 0.16 (峰 1)、1.00 (峰 2)、1.56 (峰 3)、2.06 (峰 4)、3.28 (峰 5)、3.54 (峰 6)。

精密称取 10 批不同产地的白术样品粗粉各 0.2 g, 按“2.4”项下方法制备成供试品溶液, 然后按“2.1”项进样 10 μL 分析, 得到白术的指纹图谱, 结果见图 2 和表 2、3。结果表明, 10 批不同产地的白术样品中特征峰的相对保留时间稳定, RSD 均小于 2.0%。

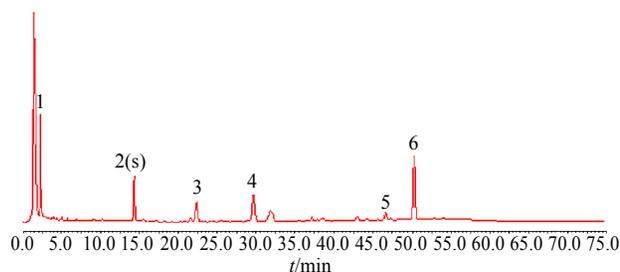


图 1 白术 HPLC-PDA 的指纹图谱  
Fig. 1 HPLC-PDA fingerprint of AMR

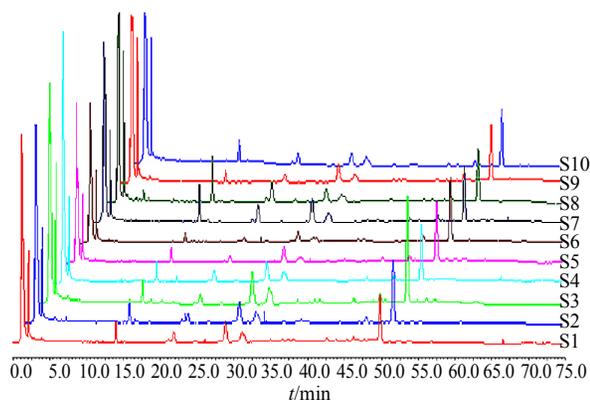


图 2 10 批白术 HPLC-PDA 指纹图谱叠加图  
Fig. 2 Overlay of ten batches of AMR in HPLC-PDA fingerprint

表 2 10 批白术 HPLC-PDA 指纹图谱共有峰相对保留时间  
Table 2 Relative retention time of common peaks of ten batches of AMR

峰号	相对保留时间										RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	0.159	0.159	0.159	0.160	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.159	0.44
2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
3	1.556	1.558	1.556	1.562	1.564	1.563	1.560	1.564	1.565	1.560	0.21
4	2.057	2.058	2.059	2.066	2.076	2.075	2.071	2.076	2.074	2.069	0.37
5	3.284	3.276	3.294	3.300	3.276	3.270	3.259	3.264	3.271	3.249	0.47
6	3.543	3.534	3.555	3.560	3.531	3.525	3.513	3.518	3.527	3.503	0.51

表 3 10 批白术 HPLC-PDA 指纹图谱共有峰相对峰面积

Table 3 Relative peak area of common peaks of ten batches of AMR in HPLC-PDA fingerprint

峰号	相对峰面积										平均值	单峰占总峰面积%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	1.687	1.564	2.425	1.506	1.740	2.989	0.973	1.198	4.538	2.474	2.109	17.430
2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	8.265
3	0.885	0.739	0.824	0.957	0.981	0.854	0.818	0.788	1.129	1.048	0.902	7.457
4	2.387	2.459	3.363	2.031	2.358	2.571	1.313	0.655	3.208	1.336	2.168	17.920
5	0.393	0.406	0.624	0.390	0.570	0.785	0.239	0.154	0.766	0.368	0.469	3.880
6	3.691	4.874	7.858	4.336	6.389	11.670	2.243	1.812	7.303	4.325	5.450	45.040

2.9 指纹图谱相似度评价

采用国家药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)”对 10 批不同产地的白术的指纹图谱进行相似度分析,将 10 批白术分别与系统中生成的对照谱图(R)进行相似度比较(时间窗宽度 0.5),1~10 批的相似度分别为 0.988、0.994、0.990、0.998、0.991、0.967、0.978、0.950、0.984、0.986,指纹图谱见图 3。结果表明,10 批白术与对照图谱的相似度评价结果均大于 0.95,说明这 10 批白术共有物质出峰时间大致相同,质量稳定。

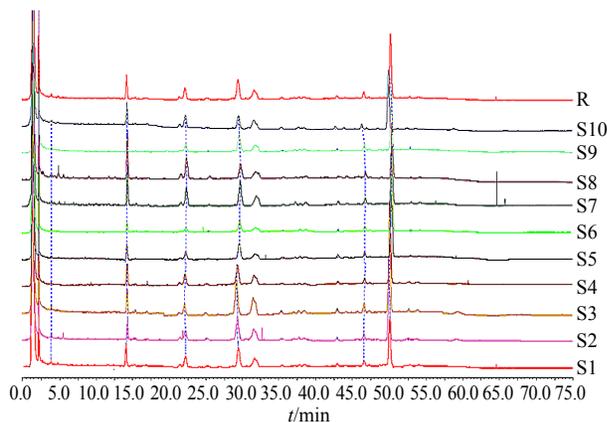


图 3 10 批白术 HPLC-PDA 指纹图谱相似度评价自动匹配图  
Fig. 3 Automatic matching figure of similarity evaluation of ten batches of AMR in HPLC-PDA fingerprint

2.10 UFLC-Q-TOF/MS 定性鉴别

采用 UFLC-Q-TOF/MS 方法对白术进行定性分析,利用 Analyst TF 1.6 软件采集数据,采用 Peak View 软件中 XIC Manager 功能进行目标化合物的筛查和确证(叠加图见图 4)、软件中的 Formula finder 功能测得化合物相对分子质量,结合特征碎片,再根据 UFLC-Q-TOF/MS 总离子流图中供试品

与对照品保留时间的对照,从而确认白术指纹图谱中的各峰。其正离子模式下 UFLC-Q-TOF/MS 的总离子流图见图 5、动态扣背景图见图 6,鉴别结果见表 4 和表 5。总离子流图中 6 个化合物的一级、二级质谱图见图 7。

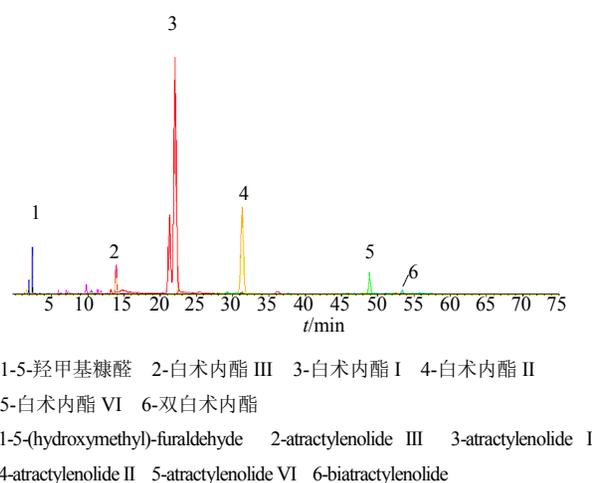


图 4 白术的 XIC Manager 筛查叠加图  
Fig. 4 XIC Manager screening overlay of AMR

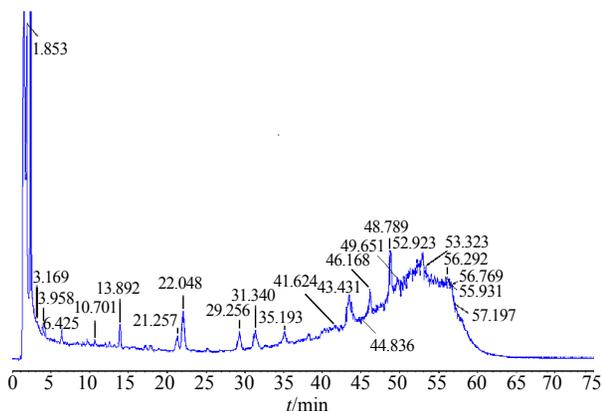


图 5 白术的正离子模式的总离子流图  
Fig. 5 TIC with positive ion mode of AMR

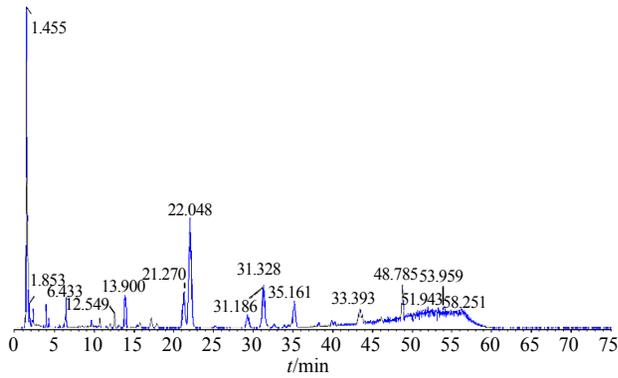


图 6 白术的正离子模式总离子的动态图

Fig. 6 Dynamic map of positive ion mode of total ion of AMR

以峰 2 为例, 在保留时间为 13.900 min 时在 ESI<sup>+</sup> 模式下的一级质谱图中 (图 7-B-1), 观测到  $m/z$  249.148 9 [M+H]<sup>+</sup> 和  $m/z$  231.138 1 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> 的碎片离子峰, 推测  $m/z$  249.148 9 [M+H]<sup>+</sup> 为其准分子离子峰。利用 Formula finder 软件计算其可能的元素组成为 C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>, 理论相对分子质量为 249.148 5, 实测值为 249.148 9, 误差为 0.5×10<sup>-6</sup>。二级质谱图 (图 7-B-2) 中出现 249.149 1 [M+H]<sup>+</sup>、231.138 8 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、213.126 8 [M+H-H<sub>2</sub>O-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、203.142 2 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO]<sup>+</sup>、185.132 3 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、161.132 6 [M+H-H<sub>2</sub>O-

表 4 白术指纹图谱化学成分的 MS/MS 分析结果 (正离子模式)

Table 4 MS/MS analysis of chemical components in fingerprint of AMR (positive ion mode)

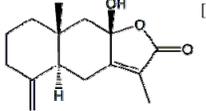
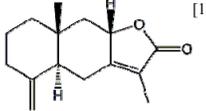
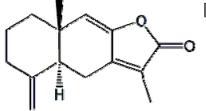
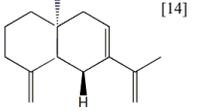
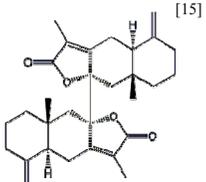
峰号	t <sub>R</sub> /min	二级碎片信息	相对分子质量	分子式
1	2.371	127.039 1 [M+H] <sup>+</sup> , 109.042 2 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 97.933 2 [M+H-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 81.936 5 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 55.936 4 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	126.031 69	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
2	13.900	249.149 1 [M+H] <sup>+</sup> , 231.138 8 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 213.126 8 [M+H-H <sub>2</sub> O-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 203.142 2 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 185.132 3 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 161.132 6 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-CH <sub>2</sub> CO] <sup>+</sup> , 157.100 7 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-H <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 144.100 6 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> O] <sup>+</sup> , 129.069 8 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> O-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 119.085 8 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>+</sup> , 105.069 9 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ] <sup>+</sup> , 91.055 3 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 79.055 9 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-CH <sub>2</sub> CO-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	248.141 24	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>
3	22.048	233.153 6 [M+H] <sup>+</sup> , 215.142 1 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 187.146 6 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 145.099 4 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>+</sup> , 131.084 2 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 117.068 9 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 105.069 1 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 91.054 0 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 79.054 4 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	232.146 33	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
4	31.328	231.137 9 [M+H] <sup>+</sup> , 213.127 2 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 185.131 8 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 157.100 6 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 143.084 9 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 129.069 4 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 128.061 7 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup> , 115.054 0 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	230.130 68	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
5	48.785	203.179 6 [M+H] <sup>+</sup> , 161.132 8 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>+</sup> , 147.116 4 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 133.101 9 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 119.085 5 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 105.070 1 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 91.055 3 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 79.056 0 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	202.172 15	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>
6	53.969	463.285 5 [M+H] <sup>+</sup> , 231.137 9 [M+H-C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 213.126 4 [M+H-C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 185.133 3 [M+H-C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	462.277 01	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>

CO-CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>、157.100 7 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO-H<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup>、144.100 6 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>、129.069 8 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>、119.085 8 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO-CH<sub>2</sub>CO-C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>]<sup>+</sup>、

105.069 9 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO-CH<sub>2</sub>CO-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>]<sup>+</sup>、91.055 3 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO-CH<sub>2</sub>CO-C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup>、79.055 9 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO-CH<sub>2</sub>CO-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 的碎片离子, 推测该化合物为白术内酯 III。

表 5 白术指纹图谱化学成分的 UFLC-Q-TOF/MS 分析鉴别结果 (正离子模式)

Table 5 UFLC-Q-TOF/MS analysis of chemical components in fingerprint of AMR (positive ion mode)

峰号	$t_R$ /min	化合物	分子式	结构式	[M+H] <sup>+</sup> /(m/z)		误差( $\times 10^{-6}$ )
					理论	实际	
1	2.371	5-羟甲基糠醛	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>		127.039 0	127.039 1	0.1
2	13.900	白术内酯 III	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>		249.148 5	249.148 9	0.5
3	22.048	白术内酯 I	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>		233.153 6	233.153 6	0.0
4	31.328	白术内酯 II	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>		231.138 0	231.137 9	-0.1
5	48.785	白术内酯 VI	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>		203.179 4	203.179 6	0.3
6	53.969	双白术内酯	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>		463.284 3	463.285 5	1.3

### 3 讨论

#### 3.1 提取条件的考察

对提取条件如提取方式(回流、超声)、提取溶剂(甲醇、95%乙醇)、提取溶剂体积分数(30%、50%、70%、90%)、提取时间(30、60、90 min)等进行了考察。综合考虑各个因素,最终确定提取方式为超声、提取溶剂为 70%甲醇和提取时间为 60 min。

#### 3.2 色谱条件的考察

采用 HPLC-PDA,考察了多个 C<sub>18</sub> 键合硅胶色谱柱: Inertsil<sup>®</sup> ODS-SP (150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Hedera ODS-3 (150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Phenomenex<sup>®</sup> ODS C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm),结果表明 Inertsil<sup>®</sup> ODS-SP (150 mm×4.6 mm, 5 μm)能够较好地分离各色谱峰,出峰时间比较适当,分离度好。

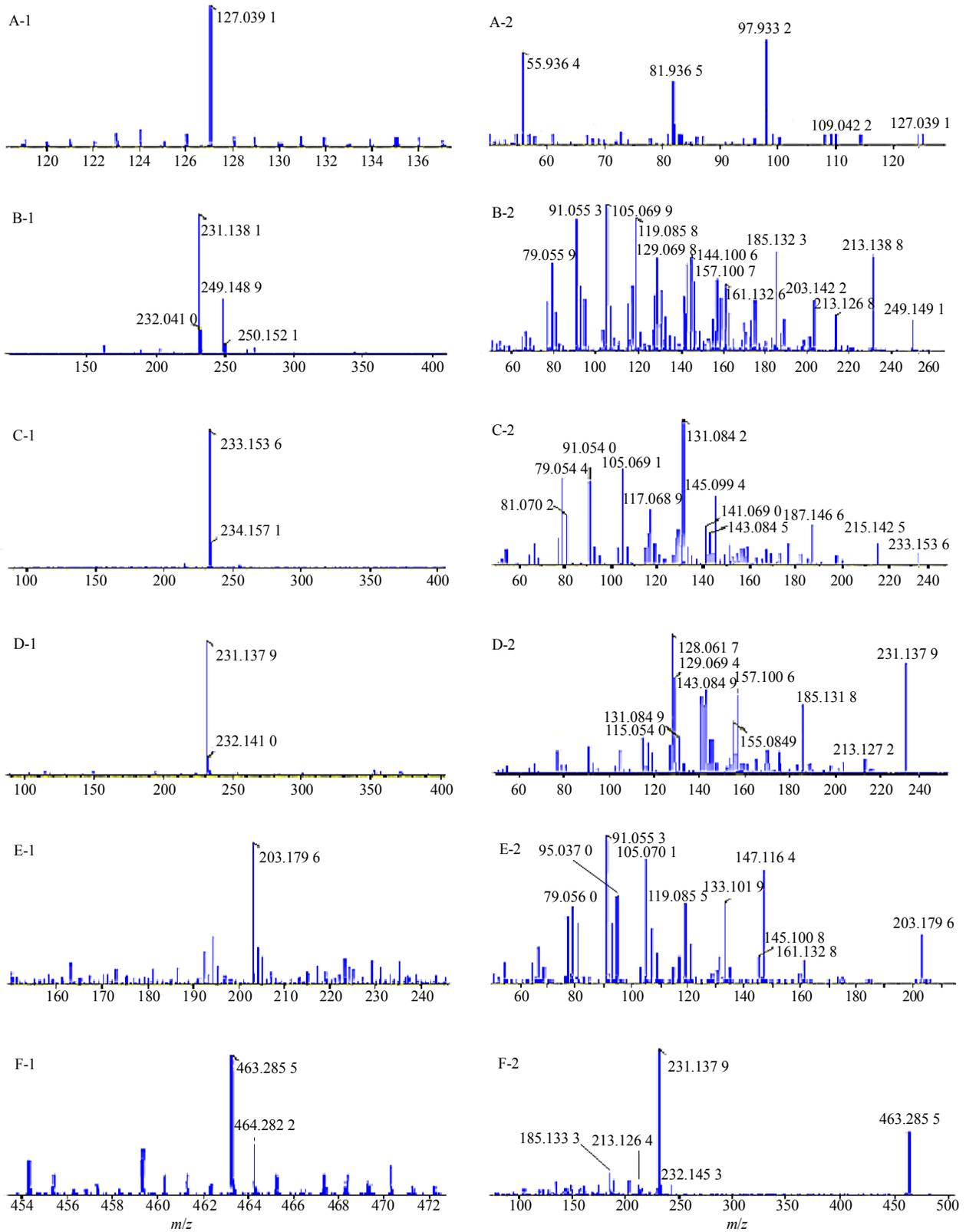
考察了乙腈-水和甲醇-水 2 种流动相体系对白术的检测,结果发现,乙腈-水系统分离得到对称性较好的色谱峰,具有更好的分离效果。同时,采用梯度洗脱,考察了不同配比的流动相对白术中各化

学成分分离情况。

另外,分别对色谱条件如柱温(38、40、42 °C)、体积流量(0.9、1.0、1.1 mL/min)、仪器(Waters 2695 和 Agilent 1260 高效液相色谱系统)等进行了考察。综合考虑各个因素,确定了最终的色谱条件。

#### 3.3 小结

一般采用传统的 TLC 法对其定性和 HPLC 法对其进行定量测定,笔者更倾向于采用中药指纹图谱对中药饮片和产品进行整体的把控,从源头评价中药饮片的真实性、均一性。本研究建立了白术的 HPLC 指纹图谱,共标定了 6 个共有指纹峰,并利用高分辨 UFLC-Q-TOF/MS 方法对共有峰进行了定性鉴别,明确了 6 个共有峰的化学成分,分别为 5-羟甲基糠醛、白术内酯 III、白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 VI 和双白术内酯。方法简便易行且稳定可靠、重复性较好。采用相似度对指纹图谱进行评价,不同批次相似度较好,均大于 0.95,说明不同产地(浙江、安徽和湖南等省)、不同批次白术的化学组成一致性较好。将指纹图谱用于生产过程,可为该产品提供更为



1-一级质谱图 2-二级质谱图 A-5-羟甲基糠醛 B-白术内酯 III C-白术内酯 I D-白术内酯 II E-白术内酯 VI F-双白术内酯  
 1-first order mass spectra 2-second order mass spectra A-5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde B-atractylenolide III C-atractylenolide I  
 D-atractylenolide II E-atractylenolide VI F-biatractylenolide

图 7 白术指纹图谱中化合物 1~6 的质谱图

Fig. 7 Mass spectra of compounds 1—6 in fingerprint of AMR

全面的质量控制手段。若能在此基础上发展,和临床剂量与药效或毒性联系起来,则能从源头开始保证临床用药的安全有效性,对科研与生产实践的结合具有重要的指导意义。

#### 参考文献

- [1] 李家实. 中药鉴定 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996.
- [2] 杨 娥, 钟艳梅, 冯毅凡. 白术化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 广东药学院学报, 2012, 28(2): 218-221.
- [3] 邱 琴, 崔兆杰, 刘延礼, 等. 白术挥发油化学成分的GC-MS研究 [J]. 中草药, 2002, 33(11): 980-982.
- [4] Li C Q, He L C, Dong H Y, et al. Screening for the anti-inflammatory activity of fractions and compounds from *Atractylodes macrocephala* Koidz. [J]. *J Ethnopharm*, 2007, 114(2): 212-217.
- [5] 陈建民, 俞敏倩, 沈银柱, 等. 组织培养白术和天然白术化学成分的比较 [J]. 植物学报, 1991, 33(2): 164-167.
- [6] 黄宝山, 孙建枢, 陈仲良, 等. 白术内酯IV的分离鉴定 [J]. 植物学报, 1992, 34(8): 614.
- [7] Han J H, Kim J, Kim S, et al. Anti-oxidative compounds from the aerial parts of *Atractylodes macrocephala* Koidz. umi [J]. *Yakhak Hoeji*, 2007, 51(2): 88-95.
- [8] Chen Z L, Cao W Y, Zhou G X, et al. A sesquiterpene lactam from *Atractylodes macrocephala* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(4): 765-767.
- [9] Kitajima J, Kamoshita A, Ishikawa T, et al. Glycosides of *Atractylodes ovata* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(9): 1106-1108.
- [10] 李 伟, 文红梅, 崔小兵, 等. 白术的化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1460-1462.
- [11] 王 瑶, 田 薇, 王舒琳, 等. 浙江不同产区白术质量评价研究 [J]. 中草药, 2012, 43(8): 1615-1620.
- [12] 池玉梅, 李 伟, 文红梅, 等. 白术多糖的分离纯化和化学结构研究 [J]. 中药材, 2001, 24(9): 647-648.
- [13] 于玲玲, 贾天柱, 才 谦. 白术的化学对照品制备研究 [J]. 亚太传统医药, 2010, 6(3): 36-38.
- [14] Ding H Y, Liu M Y, Chang W L, et al. New sesquiterpenoids from the rhizomes of *Atractylodes macrocephala* [J]. *China Pharm J*, 2005, 57(1): 37-42.
- [15] 方学敏, 曹 岗, 蔡银燕. 白术化学成分的制备研究 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(5): 993-995.