

白术研究进展及其质量标志物 (Q-marker) 的预测分析

姚兆敏¹, 陈卫东^{1,2}, 仰忠华³, 蒋成君¹, 李妮妮¹, 郭艳¹, 汪电雷^{1,2*}, 刘昌孝^{4,5*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230000

2. 安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 安徽 合肥 230000

3. 黄山仙寓山农业生物科技有限公司, 安徽 黄山 245000

4. 安徽省现代中药研究与开发院士工作站, 安徽 合肥 230000

5. 天津药物研究院 新药评价研究中心, 现代中药研究中心, 天津 300193

摘要: 基于质量标志物 (Q-marker) 的概念、确定标准及研究模式来研究白术质量标志物, 通过对白术化学物质组辨识明确化学物质基础; 通过白术化学成分生源途径及成分特异性分析明确其化学成分的来源及特异性; 通过药效、药性及其物质基础的相关性分析, 明确其主要药效物质基础; 并综合研究结果, 推测白术可能的质量标志物。

关键词: 白术; 质量标志物; 生源途径; 质量控制; 化学物质基础

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)19-4796-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.19.031

Research progress in *Atractylodes macrocephala* and predictive analysis on Q-marker

YAO Zhao-min¹, CHEN Wei-dong^{1,2}, YANG Zhong-hua³, JIANG Cheng-jun¹, LI Ni-ni¹, GUO Yan¹,
WANG Dian-lei^{1,2}, LIU Chang-xiao^{4,5}

1. School of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230000, China

2. Anhui Collaborative Innovation Center of Daodi Chinese Medicine Quality Improvement, Hefei 230000, China

3. Huangshan Xianyu Mountain Agricultural Biotechnology Co., Ltd., Huangshan 245000, China

4. Anhui Provincial Modern Chinese Medicine Research and Development Academician Workstation, Hefei 230000, China

5. Research Center of Modern Traditional Chinese Medicine, New Drug Evaluation and Research Center, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: To study the quality marker (Q-marker) of *Atractylodes macrocephala* based on the concept, standard, and research model of Q-marker. The chemical constituents of *A. macrocephala* were identified by UPLC-Q-TOF-MS/MS. The source and specificity of chemical constituents were confirmed by analyzing biosynthetic pathway and component specificity. The major effective components were clarified through efficacy, drug property, and correlation analysis of chemical constituents. The possible Q-markers of *A. macrocephala* are estimated based on the results of the study.

Key words: *Atractylodes macrocephala* Koidz.; quality markers; biosynthetic pathway; quality control; chemical substances basis

白术是菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥块茎^[1], 性温、微辛带苦, 味甘。在《本草图经》《本草从新》《本草纲目拾遗》等中均有收载。近年研究表明白术多糖、倍半萜、挥发油成

分为药理活性成分, 白术内酯 III 有抗肿瘤、白术内酯 I 具有抗炎功效, 并对血小板活性有抑制作用; 白术多糖能有效降低胰岛素水平等。白术归脾、胃经, 能有效缓解脾虚证^[2]。我国白术主要分布在皖

收稿日期: 2019-08-12

基金项目: 2016—2018 年安徽高校科研平台创新团队: “现代中药质量控制研究”项目资助 (2016HZ23); 2019 安徽省重点研究与开发计划项目: 安徽道地珍稀濒危药材祁术的保护与开发研究 (201904a07020061)

作者简介: 姚兆敏 (1993—), 女, 安徽黄山人, 在读硕士, 研究方向为药理学。E-mail: 15955179116@163.com

***通信作者** 汪电雷, 男, 博士, 教授, 主要研究方向为药理学。Tel: (0551)68129153 E-mail: dlwang@ahtcm.edu.cn

刘昌孝, 中国工程院院士。E-mail: liuchangxiao@163.com

南山区、江浙赣一带，有“於术”“祁术”“毫术”等名称，多以产地命名。野生资源非常稀少，从文献及市场调研发现，白术品种混乱，种质混杂，故解决白术品质问题是当前的迫切问题。根据中药质量标志物是中药中固有的或加工中生成的，以及是与药效密切相关的化学成分等概念，本文对白术化学成分、药理活性进行综述，并结合课题组前期对白术质量控制研究结果，从生源途径、药效与化学成分间的关系等方面，推测白术质量标志物，为评价白术质量提供依据。

1 化学成分

白术化学成分主要是倍半萜、三萜、香豆素、苯丙素、黄酮、多糖、聚炔、氨基酸等类成分，其中倍半萜类、聚炔类及多糖含量最多。

1.1 倍半萜和三萜类

白术挥发油中成分是药效的主要成分，多以倍半萜类化合物为主。其中白术倍半萜类常见成分有苍术酮、白术内酰胺、白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、白术内酯 IV、双白术内酯、白术内酯 V、白术内酯 VI、白术内酯 VII、3 β -乙酰氧基苍术酮、脱水苍术内酯、异苍术内酯 A、白术内酰胺、8 β -甲氧基-白术内酯 II。除上述常见倍半萜类成分外，阎克里等^[3]采用超临界二氧化碳萃取（SPE）法提取白术挥发油，检测出桉叶醇、榄香烯。余金明等^[4]采用 GC-MS 联用技术并结合化学计量学解析法（CRM）对重叠色谱峰进行分辨解析得到白术挥发油中 2-(2-甲氧基)苯甲氧基苯酚、2,7-二甲氧基-3,6-二甲基萜、1,7,7-三甲基双环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-醇、 γ -芹子烯和 3,7(11)-蛇床二烯。曾志等^[5]采用水蒸气蒸馏法检测出 8 β -乙氧基-白术内酯 II、三叶草烯、berkheyaradulen、6,10,11,11-四甲基-三环 [6.3.0.0 (2,3)]-1(7)-十一碳烯、马兜铃酮和异匙叶桉油烯醇等。从白术中亦可分离得到 2 种三萜类化合物，分别为蒲公英赛醇乙酸酯和羽扇豆醇^[6-7]。Li 等^[8]在炮制白术中分离得到 3 种新的倍半萜类化合物 eudesma-4(15),7(11)-dien-8 α ,12-ether、8 α -hydroxy-eudesma-4(15),7(11)-dien-8 β ,12-olide 和 4(R),15-epoxy-8-hydroxyatractylenolide II。李滢等^[9]在麸炒白术 70%乙醇水提取物中首次提取并鉴别出新化合物桉叶-4，其他成分还分别包括蒲公英萜醇乙酯、双表白术内酯、杜松脑、白术醚、8-表白术内酯 II、8-表白术内酯 III、4R,15-环氧白术内酯 II、4R,15-环氧-8 β -羟基白术内酯 II、7-二烯-9 α ,11-二醇、 β -谷甾

醇、豆甾醇。并从生白术环己烷提取物中分离并鉴定了 4R,15-环氧白术内酯 II、4R,15-环氧-8 β -羟基白术内酯 II、8 β ,9 α -二羟基白术内酯 II^[10]。

1.2 白术多糖

Liang 等^[11]从白术根茎中分离得到 6 种多糖，分别为 YY13008、PAM、WAM、PSAM-1、PSAM-2 和 AMP。YY13008 相对分子质量为 6 545，其含有聚果糖和 (2 $\rightarrow$ 1)-连接 β -D-果糖重复单位，其末端是 α -吡喃葡萄糖基。WAM 的相对分子质量为 3 263，由葡萄糖基和半乳糖基组成，物质的量比为 3.01 : 1.00。张晨光^[12]得出 2 个水溶性多糖 PAMS1 和 PAMS2，其中鼠李糖基、阿拉伯糖基、半乳糖基、甘露糖基组成了水溶性多糖 PSAM1，相对分子质量约为 136 000；阿拉伯糖基、木糖基、半乳糖基组成了 PASM2，相对分子质量约为 104 000。PAM 由鼠李糖基、葡萄糖基、甘露糖基、木糖基和半乳糖基组成，比例为 0.03 : 0.25 : 0.15 : 0.41 : 0.15。AMP 由葡萄糖基、半乳糖基、甘露糖基和鼠李糖基组成，经高效凝胶渗透色谱测定，相对分子质量约为 8 374。

1.3 聚炔类成分

李春彦等^[13]采用 UHPLC 对白术聚炔类成分进行分析得出白术主要聚炔母核为单烯-二炔-二烯共轭体系，12,14-二乙酯-2E,8E,10E-三烯-4,6-二炔-1-醇 [12,14-diacetate-2E,8E,10E-trien-4,6-diyn-1-ol]、(2E,8E)-9-(呋喃-2-yl)九碳-2,8-二烯-4,6-二炔-1-醇 [(2E,8E)-9-(furan-2-yl) nona-2,8-dien-4,6-diyn-1-ol]、14-甲基丁基-2E,8E,10E-三烯-4,6-二炔-1,14-二醇 [14-methylbutyl-2E,8E,10E-trien-4,6-diyn-1,14-diol]、12-甲基丁基-2E,8E,10E-三烯-4,6-二炔-1,14-二醇 [12-methylbutyl-2E,8E,10E-trien-4,6-diyn-1,14-diol]、14-乙酰氧基-12-千里光酰氧基十四碳-2E,8E,10E-三烯-4,6-二炔-1-醇 [14-acetoxy-12-seneciolyoxy-tetradeca-2E,8E,10E-trien-4,6-diyn-1-ol] 或其异构体。在白术分离得到的 19 个聚炔类化合物中，以 14-乙酰氧基-12-千里光酰氧基十四碳-2E,8E,10E-三烯-4,6-二炔-1-醇含量最高。Yao 等^[14]从白术根茎分离得到 7 个新的聚乙炔类化合物，分别命名为 atractylodemayne A~G。

1.4 其他成分

除上述成分外，白术还含有多种氨基酸等其他成分。陈文等^[15]和胡晓倩等^[16]在研究中发现了多种人体必需氨基酸，如蛋氨酸、缬氨酸、苏氨酸、异亮氨酸以及苯丙氨酸等，无机元素有 Ca、Mg、Mn、Fe 等。

2 药理作用

2.1 抗肿瘤作用

目前,已有大量研究证明白术内酯对动物肿瘤细胞的生长具有抑制作用。此前,对白术挥发油具有抗肿瘤的作用均是基于动物水平,张雪青等^[17]在白术挥发油抑菌及抗肿瘤作用研究中发现其对体外菌株、人肺癌和宫颈癌细胞增殖的影响,为传统中药白术的进一步开发利用提供了一定的实验依据;在 MTT 法检测中,白术挥发油明显抑制癌细胞生长,并且随着剂量增加活性明显增强,以宫颈癌 HeLa 和肺癌 A549 细胞最具代表性;可以加以佐证的是采用单细胞凝胶电泳法(SCGE)研究表明损伤肿瘤细胞 DNA 的活性成分在白术挥发油。白术还可以通过抑制炎症因子经细胞通路达到抗肿瘤作用^[18]。张彩霞等^[19]在研究中发现白术内酯 II 具有抗肿瘤作用,白术内酯 II 可抑制大肠癌 Lovo 细胞的增殖,还能激活 Caspase-3 蛋白表达,促进聚腺苷二磷酸核糖聚合酶-1(PARP1)的剪切功能,有利于加速细胞凋亡。潘利文等^[20]通过体外实验发现,白术内酯 I 可显著诱导细胞凋亡、抑制黑色素瘤细胞 A875 增殖。就当前白术在抗肿瘤方面的研究来看,其在此方面的应用将会取得更深入的进展,有利于临床多种癌症的治疗研究迈向更深入的层面。Chen 等^[21]研究表明白术根茎可以抑制白血病细胞活性。

2.2 对胃肠功能的作用

白术等补气健脾类中药在胃肠病治疗中具有重要地位,根据研究显示白术有双向调节胃肠道的作用,分别为兴奋作用和抑制作用两方面。陈镇等^[22]研究白术挥发油对小鼠胃肠功能的影响,表明白术挥发油可以促进小鼠胃肠运动,体现在白术挥发油能对抗阿托品抑制小鼠肠蠕动的的作用,较大剂量的白术挥发油对促进小鼠的胃肠运动的作用更加明显。伍婷婷等^[23]在研究白术多糖的药理作用时发现白术多糖对胃肠功能也有一定的作用,可增进 E-钙黏蛋白表达和细胞迁移来实现,其机制是使细胞钙离子水平升高,从而修复胃肠黏膜损伤,修复胃肠黏膜损伤的关键环节,一是细胞黏附,二是细胞迁移。白术多糖发挥胃肠道功能作用体现在升高细胞钙离子水平来增进细胞迁移和促进 E-钙黏蛋白表达。吴翰桂等^[24]通过实验发现白术的健脾益气功效是通过增强小肠平滑肌收缩幅度和频率,加快胃肠道内容物推进速度实现的。丁曙晴等^[25]研究发现白术可以通过增加肠液分泌促进胃肠道蠕动以此来

调节胃肠运动。王倩等^[26]研究发现白术对胃肠道平滑肌有双向调节作用,在兴奋条件下表现为兴奋胃肠道 M 受体和乙酰胆碱受体,有利于促进胃肠蠕动与排空,还可治疗脾虚证。临床上也将含有白术的中药复方制剂作为多种因素引起的胃肠功能障碍的常用药,如白术茯苓汤^[27]可以通过调节 TH1 和 TH2 类细胞因子失衡从而调控肠道炎症实现胃肠功能的调理。

2.3 抑制血小板聚集的作用

陈一竹等^[28]在研究中提出白术内酯 III 具有抗血小板作用,能够抑制血栓烷类似物 U46619 诱导的人血小板聚集,通过抑制血小板活化进程中的信号通路如磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K-Akt)和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK),白术内酯 III 也发挥抑制血小板聚集的作用。白术内酯 III 临床可以作为血液的抗凝剂,抗血小板聚集对于血管栓塞性疾病有着重要的治疗意义,白术内酯 II 还有利于影响整合素从而抑制血小板的铺展,从而实现抗血小板聚集的功效^[29],此研究结果对于抗血小板新药开发利用有重要参考价值。

2.4 改善神经系统性疾病的作用

彭腾等^[30]展开研究白术和神经系统疾病间联系发现,白术可以治疗脑缺血损伤、阿尔茨海默病以及抑郁症,此项研究结果表明对于白术中药材未来在医疗、临床等方面有重大的开发利用价值。董凤彩^[31]在研究白术不同化学成分药理作用中提取出双白术内酯作为主要成分,具有抗老年痴呆症的作用,研究结果显示双白术内酯可以降低脑内三氯化铝和促肾上腺皮质激素(ACTH)引起的痴呆海马脑区内胆碱酯酶活性,有益智的作用,在一定程度上对于智能障碍起到缓解作用。罗兰等^[32]在研究神经细胞损伤过程中,发现白术内酯 III 对损伤细胞有保护作用,尤其是在细胞高钙损伤、氨基酸兴奋性损伤和 PC12 细胞缺氧损伤过程中。以上研究结果均表明,白术在医药及保健品领域有着巨大的开发潜力。

2.5 对免疫系统的调节作用

白术是一味常用于补脾的传统中药,而脾又是第 2 大免疫器官。连续口服给予小猪白术粉末 30 d (1 g/kg),显著增加每日平均体质量、周围淋巴细胞增殖,以及免疫球蛋白(IgG)、白细胞介素-1(IL-1)和 IL-2 水平,并且猪抗菌肽(PR-39)mRNA 表达增多,饲料与收益比率及腹泻的发病率降低^[33]。

此外, Liu 等^[34]发现, 在接种新城疫疫苗的鸡中, 硒化白术多糖显著促进淋巴细胞增殖, 提高抗体效价及 γ 干扰素 (IFN- γ)、IL-2、IL-6 水平。丁采菁^[35]选取白术颗粒、白术多糖、白术内酯 I 和白术内酯 III 刺激免疫细胞, 结果在 0.2~125 $\mu\text{g/mL}$ 能有效促进小鼠脾脏淋巴细胞增殖, 且存在浓度依赖性; 对细胞因子 IL-2、IL-4、IL-10、IL-12、转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 的分泌具有明显的促进作用。

2.6 抗炎作用

李翠芹等^[36]建立白细胞膜色谱模型, 以紫杉醇为模型分子, 筛选白术中作用于白细胞膜及膜受体的活性成分, 确定活性成分可能的作用靶点。发现白术内酯 I 是白术中作用于白细胞膜及膜受体 [如 Toll 样受体 4 (TLR4)] 的活性成分。白术内酯 I 对小鼠急性炎症模型有一定的抗炎作用。经炎症反应验证, 白术内酯 I 具有较强的抗炎作用, 说明白术内酯 I 是 TLR4 受体的拮抗剂。Li 等^[37]研究发现, 白术内酯 I 能有效抑制乙酸所致小鼠血管通透性增加, 并能抗肉芽肿组织增殖, 证明白术对急慢性炎症都有治疗作用。

2.7 其他

实验研究还发现白术具有燥湿利水、调节子宫平滑肌、改善老年痴呆、抗衰老、抗氧化、抗菌、治疗肥胖、促进能量代谢^[38]等作用。

3 质量标志物预测

质量标志物是刘昌孝院士提出的关于中药质量控制的新概念^[39], 指存在于中药材和中药产品 (中药饮片、中药煎剂、中药提取物、中成药制剂等) 中固有或加工制备过程中形成的、与中药的功能属性密切相关的化学物质, 作为反映中药安全性和有效性的标示性物质进行质量控制。通过以上文献总结, 基于中药质量标志物的核心概念, 对白术质量标志物进行预测, 有利于后期建立质量标准。

3.1 基于植物亲缘学及化学成分特有性证据的质量标志物预测分析

菊科苍术属约 8 种, 广泛分布于韩国、中国和日本, 多数供药用。其中白术是一种多年生草本植物, 在温带和亚热带地区种植已有 700 多年的历史^[40]。白术中含有多种化学成分, 其中倍半萜类成分认为是其中的主要有效成分之一。倍半萜具有共同的生源前体——甲戊二羟酸, 通过乙酰辅酶 A 反应生成焦磷酸异戊烯酯, 后进一步合成焦磷酸香叶酯、焦磷酸金合欢酯, 焦磷酸金合欢酯在倍半萜环化酶催化作用下合成倍半萜。经双键断裂缩合形成中间体后,

经氧化、脱水生成苍术酮, 苍术酮不稳定, 自身氧化开环形成双烯醇结构, 此结构不稳定, 形成 1,4-二羰基化合物, 其中 1 个羰基以醛的形式存在, 进一步氧化成酸, 再经过不同程度的氧化、双键转位后闭环形成白术内酯 I、白术内酯 III 或者偶联成双白术内酯。白术内酯 II 由白术内酯 III 脱水后生成。白术主要成分包括白术内酯 I、II、III 等在内的多种倍半萜类成分在植物代谢及次生代谢过程中, 苍术酮作为特有的中间体, 从而形成了独有的白术内酯类化合物。白术倍半萜类化合物生源关系见图 1。同时, 专属性很强的倍半萜类化合物, 与白术的生物特有性密切相关, 这也为菊科植物提供佐证, 也为白术 Q-Marker 的研究提供一定的基础。

3.2 基于传统药性的质量标志物预测分析

传统功效是对中药有效性的概括, 也是临床用药的依据^[41]。根据目前的研究进展, 白术具有抑菌、抗肿瘤、促进胃肠运动、抗血小板以及治疗和改善多种神经系统疾病的功能。苍术酮具有利尿作用, 芹烷二烯酮、苍术酮和白术内酯 I、II、III 具有抗炎作用; 白术内酯类物质调节胃肠运动; 白术糖复合物 AMP-B 具有降血糖的作用, 这几类化合物与《中国药典》记载的白术功效相一致, 是白术传统功效的主要药效物质基础, 可以成为白术质量标志物筛选的重要依据。

3.3 基于化学成分的质量标志物预测分析

本课题组采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS (Acquity UPLC 超高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司, Xevo G2QTOF 质谱仪, 美国 Waters 公司) 对白术化学成分表征及指纹图谱识别, 见图 2、3。从图谱中共析出 23 个化合物, 分别是 8,9-环氧白术内酯 (1)、十四烷基柠檬酸 (2)、10-表苍术苷 A (3)、白术内酯 I (4)、白术内酯 III (5)、7-羟基香豆素 (6)、D-甘露醇 (7)、酪氨酸 (8)、白术内酰胺 (9)、苍术酮 (10)、8- β -乙氧基白术内酯 III (11)、广木香内酯 (12)、3 β -羟基苍术酮 (13)、9,10-去氢异长叶烯 (14)、 δ -榄烯酮 (15)、三甲基亚环戊烷苯基甲烷 (16)、倍半萜类 (17)、芹烷二烯酮 (18)、白术内酯 II (19)、白术内酯 VI (20)、香橙烯 (21)、呋喃倍半萜 (22)、5-羟甲基糠醛 (23)。大多为倍半萜化合物, 为白术药材质量标准研究及制定提供了依据。化学成分信息见表 1。

3.4 基于可入血化学成分的质量标志物预测分析

由于中药入血后血中含药量很低, 且容易受血

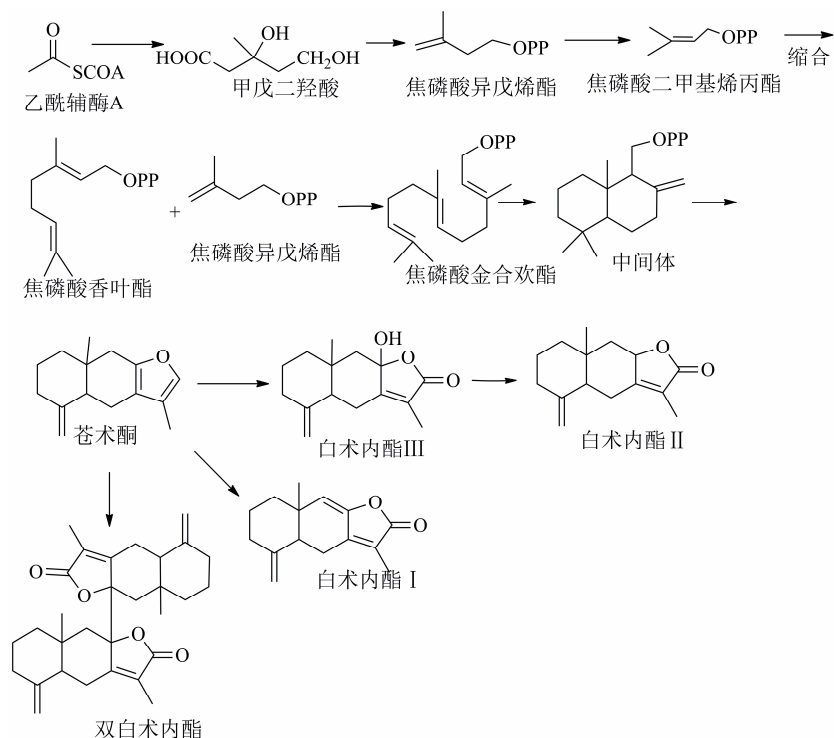


图 1 白术倍半萜生源关系

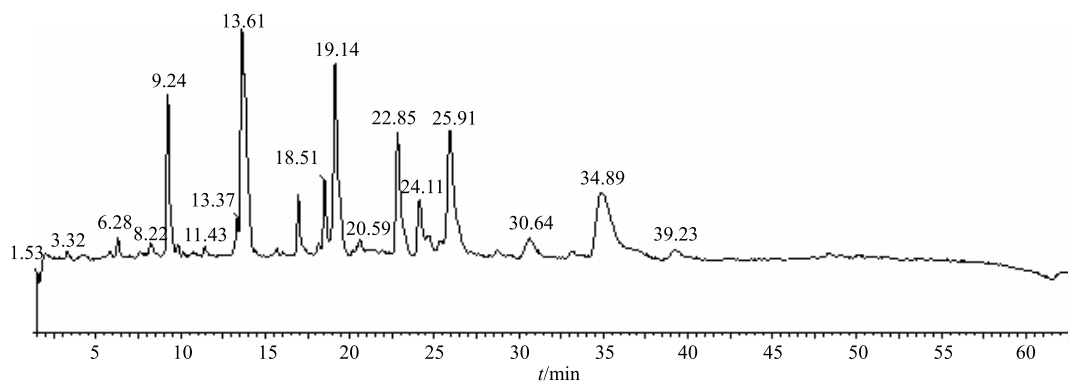
Fig. 1 Biosynthesis relationship of sesquiterpene in *A. macrocephala*

图 2 正离子模式下白术生药材供试品 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的总离子流图

Fig. 2 TIC of *A. macrocephala* by UPLC-Q-TOF-MS/MS in positive ion mode

浆中多种内源性物质的干扰。本课题组考察了白术 10 个时间点的血浆样品图谱，对比发现 20 min 的血浆图谱峰多，峰形良好，见图 4。与空白血浆相比，大鼠血浆中有新的色谱峰，说明白术大量成分以原型或代谢产物形式吸收入血。

药物入血后多为在母体结构不变的基础上，依据生物体内代谢规律，发挥药效作用。基于对体外化学成分的鉴定，对代谢物做出合理推断并对其裂解途径做了解析，进而对白术代谢产物进行分析。本课题组根据文献及白术体外化学成分裂解规律，

从白术给药大鼠血浆中共鉴定出 1 个原型，20 个代谢成分，主要为硫酸结合物、氧化反应结合物、葡萄糖醛酸结合物、硫酸结合物。白术的多数成分在体内进行 II 相反应，包括乙酰化、葡萄糖醛酸结合、半胱氨酸结合、甘氨酸结合反应等，见表 2。

在 20 个成分中，只找到了白术内酯 I 的原型，剩余 20 个成分包括白术内酯 I、II、III、VI 在体内的代谢成分。本文主要以 4 种成分在体内的代谢途径为例进行分析，见图 5~8。

Li 等^[42]还通过 NMR 和 MS 数据分析与之前报

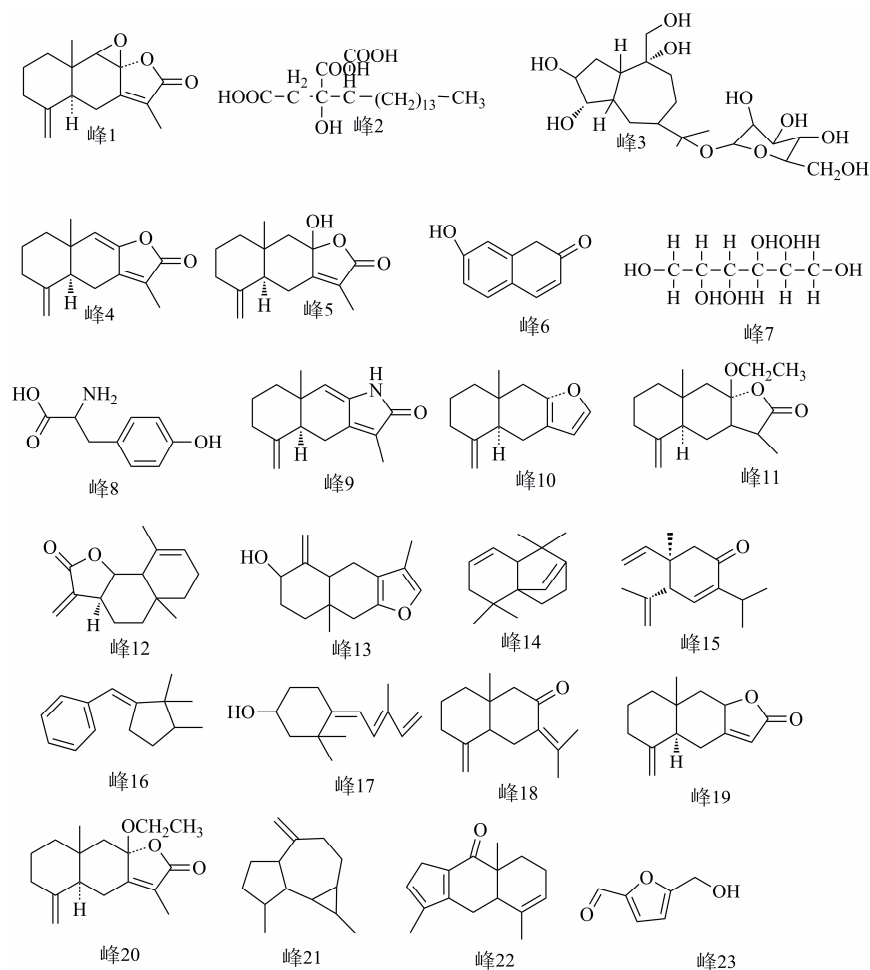


图 3 基于 UFLC-Q-TOF-MS/MS 技术鉴定的白术药材供试品溶液中代表峰化学成分的结构

Fig. 3 Representative peaks of chemical constituents in solution of *A. macrocephala* based on UFLC-Q-TOF-MS/MS identification

表 1 白术药材供试品溶液中化学成分的 Q-TOF 串联质谱鉴定结果

Table 1 Identification result of constituents from *A. macrocephala* by Q-TOF

编号	t/min	[M+H] ⁺ (m/z)		相对分子质量	分子式	二级特征碎片 (MS/MS)	推测结果	误差 (×10 ⁻⁶)
		理论值	实测值					
1	6.261	247.133 4	247.133 1	247	C ₂₀ H ₃₆ O ₇	133.086 9, 128.951 4, 177.112 7, 239.148 4	8,9-环氧白术内酯	-1.21
2	7.045	389.253 9	389.256 3	389	C ₂₀ H ₃₆ O ₁₀	177.112 7, 283.179 4, 327.200 3, 349.184 8	十四烷基柠檬酸	6.17
3	9.255	437.238 6	437.234 6	437	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	128.060 8, 229.122 0, 289.144 8, 393.209 9	10-表苍术苷 A	-9.15
4	9.799	249.149 0	249.147 3	249	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	89.059 8, 133.086 9, 177.112 7, 229.122 0	白术内酯 III	-6.83
5	13.594	163.075 0	163.075 4	163	C ₂₅ H ₄₀ O ₃	128.060 8, 141.069 6, 143.083 9	7-羟基香豆素	2.45
6	13.763	231.138 5	231.136 2	231	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	113.964 6, 128.951 4, 141.958 0, 173.132 9	白术内酯 I	-9.96
7	14.445	183.081 8	183.081 4	183	C ₆ H ₁₄ O ₆	113.964 6, 128.951 4, 141.958 0, 183.078 6	D-甘露醇	-2.19
8	14.547	182.084 7	182.084 5	182	C ₉ H ₁₁ NO ₃	89.506 3, 113.964 6, 141.958 0, 155.975 0	酪氨酸	-1.10
9	15.703	230.154 5	230.154 4	230	C ₁₅ H ₁₉ NO	89.059 8, 133.086 9, 141.960 4, 177.112 7	白术内酰胺	-0.43
10	17.456	277.180 3	277.182 1	277	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	133.086 9, 141.958 0, 229.125 1	8-β-氧基白术内酯 III	6.50
11	18.561	233.154 1	233.153 0	233	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	105.070 4, 115.054 9, 131.085 9, 187.148 1, 215.143 1	广木香内酯	-4.72
12	19.173	233.154 1	233.153 0	233	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	95.085 7, 159.115 5, 187.148 1	3β-羟基苍术酮	-4.72

续表 1

编号	t/min	[M+H] ⁺ (m/z)		相对分子质量	分子式	二级特征碎片 (MS/MS)	推测结果	误差 (×10 ⁻⁶)
		理论值	实测值					
13	19.207	233.153 1	233.153 0	233	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	105.070 4, 115.054 9, 133.086 9, 159.082 0, 215.143 1	白术内酯 II	-0.43
14	20.210	217.158 4	217.158 4	217	C ₁₅ H ₂₀ O	89.058 9, 133.086 9, 177.112 7	苍术酮	0.00
15	20.552	203.180 0	203.178 8	203	C ₁₅ H ₂₂	91.055 6, 147.118 1, 177.112 7	9,10-去氢异长叶烯	-5.91
16	24.107	201.164 3	201.165 8	201	C ₁₅ H ₂₀	105.070 4, 123.086 1, 145.102 6	三甲基亚环戊烷苯基甲烷	7.46
17	24.123	219.177 0	219.177 0	219	C ₁₅ H ₂₂ O	141.958 0, 165.069 7, 181.102 9	倍半萜类	0.00
18	24.684	219.174 9	219.174 0	219	C ₁₅ H ₂₂ O	141.958 0, 165.069 7, 203.181 7	芹烷二烯酮	-4.11
19	25.553	219.174 9	219.174 0	219	C ₁₅ H ₂₂ O	189.129 3, 204.151 0, 217.158 4	δ-榄烯酮	-4.11
20	25.928	276.167 2	276.168 0	276	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	119.087 5, 128.060 8, 145.100 2, 215.143 1, 276.168 0	白术内酯 IV	2.90
21	27.222	191.180 0	191.181 5	191	C ₁₄ H ₂₂	128.951 4, 133.086 9, 165.069 7	香橙烯	7.85
22	34.213	229.159 2	229.159 1	229	C ₁₆ H ₂₀ O	89.058 9, 133.235 6, 177.112 7, 227.202 9	呋喃倍半萜	-0.44
23	34.943	127.039 5	127.039 5	127	C ₆ H ₆ O ₃	89.059 8, 109.028 6, 115.054 9	5-羟甲基糠醛	0.00

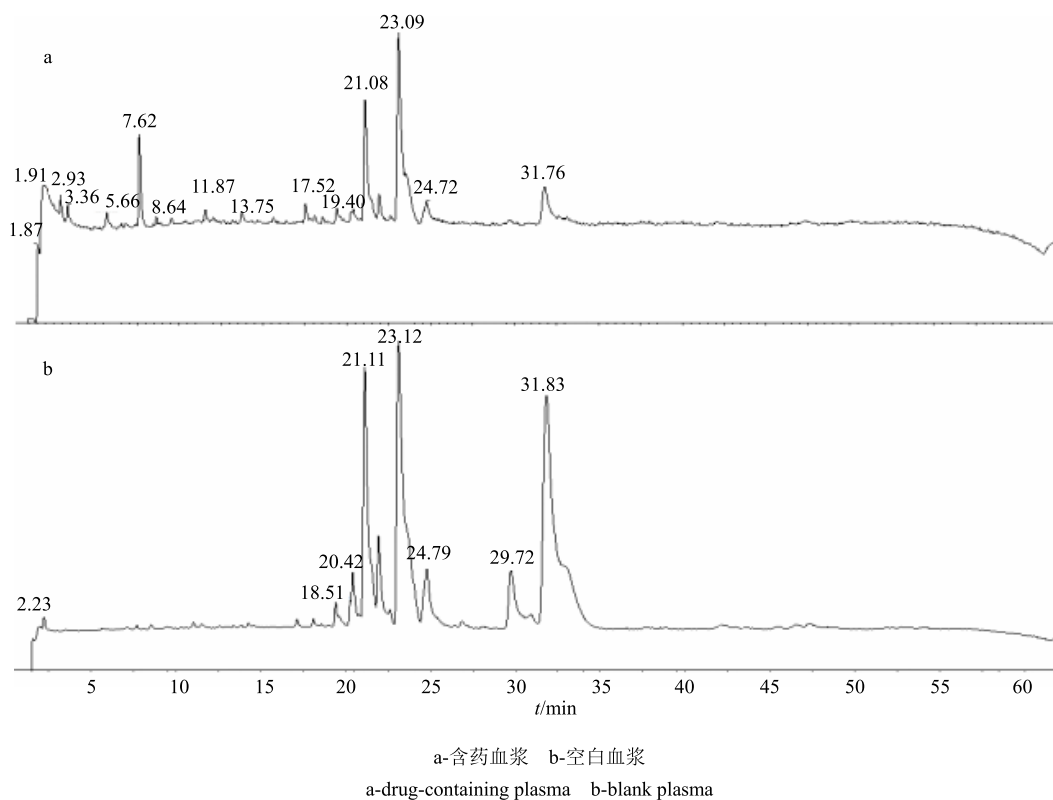


图 4 白术血浆正离子模式总离子流图

Fig. 4 Total ion chromatograms of plasma of *A. macrocephala* in positive ion mode

道数据相比,对白术内酯 II 在体内经肝微粒体代谢转化的结构进行分析,确定了 4 个新化合物,即 4(R),15-环氧白术内酯 II、4(R),15-环氧-13-羟基白术内酯 II、4(R),15-环氧-1-羟基白术内酯 II 和 4(R),15-二羟基白术内酯 II。对白术内酯 I 体内代谢结构鉴定,最终确定 7 个新化合物,即 1β-乙酰基白术内酯 I、1β-羟基白术内酯 I、3β-羟基白术内酯 I、1β,13-

二羟基白术内酯 I、1β,2α-二羟基白术内酯 I、1β,3α-二羟基白术内酯 I、和 1β,3β-二羟基白术内酯 I^[43]。

3.5 基于与药性相关的质量标志物的发现及确定

“药性”是中药功能属性的另一个方面,以电子舌、电子鼻等为代表的味觉、嗅觉仿生手段可对药物的味觉、嗅觉进行客观、量化的划分和表征,味觉、嗅觉仿生模型的“真实五味”表征和界定^[44];

表 2 白术入血相关代谢产物数据

Table 2 Data of *A. macrocephala* metabolites in plasma

编号	t_R/min	实测值	理论值	分子式	原型化合物名称	代谢反应	误差($\times 10^{-6}$)
M1	1.990	305.172 4	305.175 2	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_4$	白术内酯III	丙烯醛加成	-9.18
M2	2.314	221.144 1	221.154 1	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_4$	白术内酯III	脱羧作用	-4.52
M3	2.926	247.133 1	247.133 3	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$	白术内酯III	还原反应	-0.81
M4	3.352	229.122 0	229.122 8	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$	白术内酯I	还原反应	-3.49
M5	3.369	265.142 2	265.143 9	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$	白术内酯III	氧化反应	-6.42
M6	5.920	247.133 1	247.133 4	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$	白术内酯I	氧化反应	-1.21
M7	8.610	201.160 0	201.161 3	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}$	白术内酯I	硝基还原	-6.47
M8	11.468	245.155 6	245.154 2	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_2$	白术内酯I	甲基化	5.71
M9	11.519	259.166 4	259.166 7	$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_2$	白术内酯VI	脱水反应	-1.16
M10	11.553	259.169 8	259.169 8	$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_2$	苍术酮	乙酰化作用	0.00
M11	11.570	407.165 6	407.164 1	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$	白术内酯I	半胱氨酸、甘氨酸加成	3.69
M12	13.814	299.221 2	299.222 3	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_4$	<i>L</i> -阿拉伯糖	甲基化	-4.80
M13	19.683	361.262 8	361.261 7	$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_3\text{N}$	苍术酮	肉碱结合	3.05
M14	21.930	295.191 0	295.190 9	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_4$	白术内酯VI	水解反应	0.34
M15	23.130	393.191 7	393.191 3	$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_7$	白术内酯I	葡萄糖作用	1.02
M16	23.461	341.167 0	341.166 0	$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{NS}$	白术内酯II	牛磺酸结合	2.93
M17	23.613	314.117 8	314.118 7	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{S}$	白术内酯II	硫酸结合作用	-2.87
M18	40.525	255.232 5	255.232 4	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_2$	<i>L</i> -阿拉伯糖	硝基还原	0.39
M19	42.174	293.176 8	293.175 2	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_4$	白术内酯VI	氧化反应	5.46
M20	47.345	319.193 4	319.190 9	$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_4$	白术内酯III	丁烯基结合	7.84

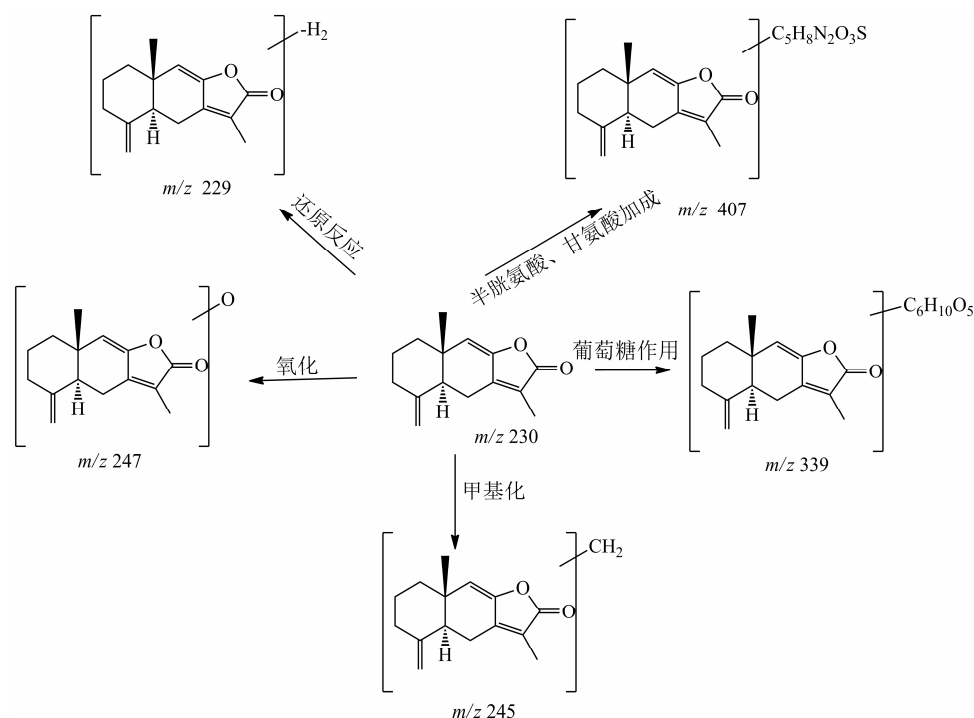


图 5 白术内酯 I 体内代谢途径

Fig. 5 Major metabolic pathways of atractylenolide I

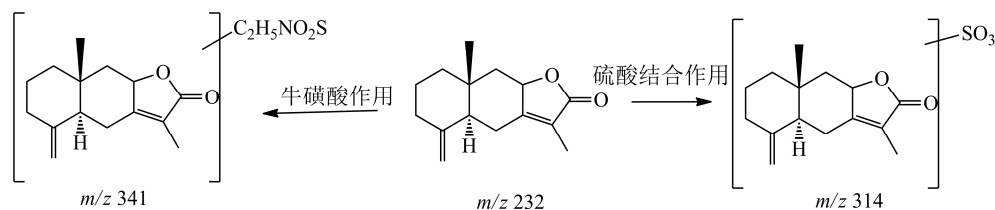


图 6 白术内酯 II 体内代谢途径

Fig. 6 Major metabolic pathways of atractylenolide II

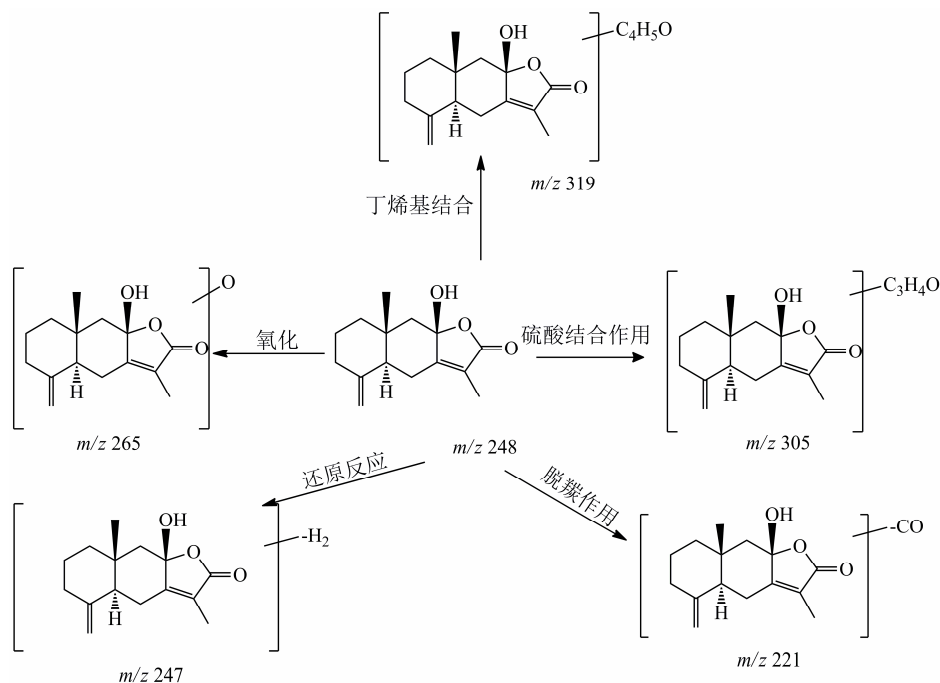


图 7 白术内酯 III 体内代谢途径

Fig. 7 Major metabolic pathways of atractylenolide III

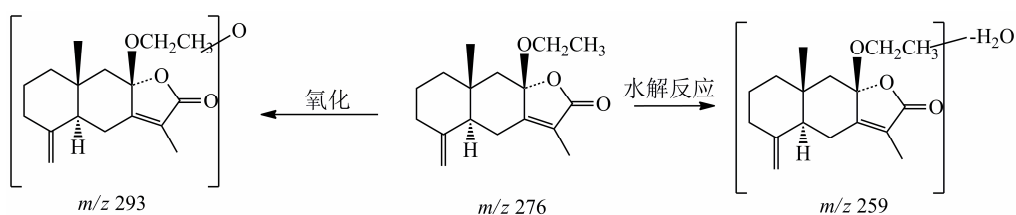


图 8 白术内酯 VI 体内代谢途径

Fig. 8 Major metabolic pathways of atractylenolide VI

基于药物分子-味觉(嗅觉)受体结合理论,运用计算机虚拟筛选方法可进一步进行“性(味)”物质基础筛选。白术性温,味甘,这“甘”味成分主要以氨基酸、多糖、维生素成分为主。胡长玉等^[45]及胡晓倩等^[16]采用盐酸水解法处理祁白术,结果发现 17 种氨基酸,氨基酸的总量为 4.68%,其中精氨酸含量最高,此外,还从祁白术检测出 8 个矿质元素,分

别是 Ca、Cu、P、Zn、Mn、Pb、Fe、As,其中 Ca (9.90 mg/g)为最丰富的矿物质元素。研究结果与“甘”味相符,也可以作为质量标志物的参考依据。

3.6 基于不同配伍中表达成分的质量标志物预测分析

针对不同的病症,白术一般与其他药配伍,达到祛除病症的目的。白术半夏汤,方中白术健脾益

气、燥湿化痰，与半夏化痰散结、降逆止呕相配扶正祛邪，标本兼治，共为君药。白术配伍黄芩，治胎动不安兼夹各种其他症状。佐以茯苓、厚朴，渗湿燥湿、下气消积，相辅相成以加强白术除湿健脾功效，起到利小便而实大便之目的。现代药理研究证明，白术健脾利水的药效物质是多糖组分和石油醚组分，燥湿利水的药效物质是挥发油组分^[46]，故应将其除湿健脾成分作为方剂配伍质量标志物的选择参考。中药多以配伍方式应用于临床，以多种质量标志物作为质控指标更具有意义。

3.7 基于与新的药效相关的质量标志物的发现及确定^[47]

白术在现代临床研究中，多具有止汗健脾作用。陈静等^[46]研究白术及其拆分组分止汗作用，发现白术水煎液对小鼠静态模型和运动后模型均有止汗作用。石油醚组分、水洗组分和粗糖组分对静态模型具有止汗作用，而对于运动后模型小鼠仅水洗和粗糖组分有显著止汗作用。因此，白术止汗作用的药效物质主要为白术粗糖组分（主要由聚果糖成分组成）和白术水洗组分（主要由单糖和 5-羟甲基糠醛等成分组成），此外还有少量的白术石油醚组分（主要由白术内酯类成分组成）。

3.8 基于不同储存温度化学成分含量变化的质量标志物预测

中药临床疗效与其质量有关。贮藏时温度、湿度、光照等都会影响其内部成分含量，选择合适的贮藏方式对保证中药质量及成分稳定具有重要意义。苍术酮作为白术的有效成分，随贮存温度升高含量逐渐降低。为更加合理地评价和控制白术质量，苍术酮应作为白术质量标志物筛选的重要参考^[48]。

3.9 白术质量标准的建立^[49]

根据白术化学物质组研究，白术主要含有内酯类成分，包括白术内酯 I、II、III、IV、VI、双白术内酯等，以及氨基酸、多糖类。课题组通过化学成分生源途径及成分特异性分析、药效、药性和药动学研究及其物质基础的相关性分析，确定白术内酯 I、II、III 3 个多萜类成分为白术质量标志物，建立多质量标志物成分定量测定方法。

3.9.1 基于外标法多质量标志物成分定量测定 基于外标法通过 UPLC 建立了同时测定白术药材中白术内酯 I、II、III 3 个成分的方法，并进行了方法学考察，包括供试品溶液的制备方法、色谱条件和系统适用性试验、线性范围、精密度、稳定性、重复

性和加样回收率试验等，结果均符合要求；并对收集的 25 个批次的白术药材中 3 个内酯成分进行了测定^[47]。从成分的量看，白术内酯 I、II、III 是白术的主要成分并可以作为质量标志物。

3.9.2 指纹图谱建立^[50] 课题组前期采集主要分布区域的祁门、亳州、江西、青阳等 25 个产地的白术样品，将药材粉碎后过 3 号筛，以 60%乙腈水溶液室温下超声 20 min 提取制备供试液，通过 Waters Acquity UPLC CSH C₁₈（乙腈-0.01%甲酸水溶液梯度洗脱）进行色谱分析研究，采用“中药色谱指纹图谱相似度评价（2012 版）软件”，对 25 个不同产地的白术 UPLC 指纹图谱分析，并用 SPSS 软件进行聚类分析和主成分分析，生成药材的共有峰以及对照指纹图谱后经标准品匹配指认出 3 个色谱峰，大部分为量较大的成分或（和）活性成分，其中 2、4、7 号峰可作为典型的白术质量标志物色谱峰（白术内酯 III、I、II）^[49]。

4 结语

本文根据质量标志物的概念^[51-52]，从化学成分、药理活性、入血成分、性味相关证据，并结合倍半萜类成分生源途径详细的阐明了白术可能的物质基础，对白术质量标志物的筛选和确定进行了系统性的文献分析和论证。并结合药效学和 UPLC-Q-TOF-MS/MS 对入血成分分析，得出 3 种白术内酯确实在体内通过代谢途径发挥药效，可以作为白术质量标志物。中药源远流长，博大精深，白术质量标志物的研究任重而道远，本文为白术质量标志物的分析途径提供了参照，结合本课题实验结果最终确定白术可能的质量标志物有倍半萜类化合物，包括白术内酯 I、II、III、IV、V、VI、VII 及苍术酮、10-表苍术 A 等，以及炔烃类、氨基酸。后续对白术质量标志物的研究，还需要投入更大的科研力量，完善质量控制体系。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 张晓娟, 左冬冬. 白术化学成分及药理作用研究新进展 [J]. 中医药信息, 2018, 35(6): 101-106.
- [3] 阎克里, 朱秀卿, 赵 丽. 白术挥发油提取方法研究 [J]. 中国药物与临床, 2011, 11(7): 763-767.
- [4] 余金明, 蒯碧华, 熊 峻, 等. GC-MS 和化学计量学解析法分析白术中挥发油成分 [J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(10): 928-931.
- [5] 曾 志, 周育妹, 沈妙婷, 等. 3 个不同产地白术的挥发性化学成分比较 [J]. 华南师范大学学报: 自然科学

- 版, 2015, 47(5): 78-83.
- [6] Jiang H, Shi J, Li Y Y. Screening for compounds with aromatase inhibiting activities from *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. *Molecules*, 2011, 16(12): 3146-3151.
 - [7] Peng W, Han T, Wang Y, et al. Chemical constituents of aerial part of *Atractylodes macrocephala* [J]. *Chem Nat Comp*, 2011, 46(6): 959-960.
 - [8] Li Y, Yang X W. New eudesmane-type sesquiterpenoids from the processed rhizomes of *Atractylodes macrocephala* [J]. *J Asian Nat Prods Res*, 2014, 16(2): 123-128.
 - [9] 李滢, 杨秀伟. 麸炒白术化学成分的研究 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(9): 1074-1079.
 - [10] 李滢, 杨秀伟. 生白术化学成分研究 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(4): 382-386.
 - [11] Liang Z H, Guo Z X, Zhang Y P. Structure aspects of water soluble polysaccharide isolated from *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. *J Mol Sci*, 2007, 23: 185-188.
 - [12] 张晨光. 白术多糖含量测定研究 [A]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(89): 27-28.
 - [13] 李春彦, 孙振刚, 晏烽根, 等. 中药白术与苍术中聚炔类成分分析与质谱裂解规律研究 [J]. 中国新药杂志, 2017, 26(9): 1071-1078.
 - [14] Yao C M, Yang X W. Bioactivity-guided isolation of polyacetylenes with inhibitory activity against NO production in LPS-activated RAW264. 7 macrophages from the rhizomes of *Atractylodes macrocephala* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(2): 791-799.
 - [15] 陈文, 李丽立, 张平, 等. 白术多糖与氨基酸提取及含量测定研究 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(4): 815-817.
 - [16] 胡晓倩, 胡长玉, 张慧冲. 野生祁白术与云南白术的氨基酸含量分析 [J]. 中药材, 2006, 29(7): 679-680.
 - [17] 张雪青, 邵邻相, 吴文才, 等. 白术挥发油抑菌及抗肿瘤作用研究 [J]. 浙江师范大学学报: 自然科学版, 2016, 39(4): 436-442.
 - [18] WHO. *WHO Laboratory Manual for the Examination Of human Semen And sperm-Cervical Mucus Interaction* [M]. 4th. London: Cambridge University Press, 1999.
 - [19] 张彩霞, 张亚杰, 江滨, 等. 白术内酯 II 促进大肠癌 Lovo 细胞凋亡及对 PARP1 和 Caspase-3 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 157-161.
 - [20] 潘利文, 宋捷. 白术内酯 I 体内外的抗黑色素瘤研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(8): 682-685.
 - [21] Chen L G, Jan Y S, Tsai P W, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive constituents of *Atractylodes japonica* Koidzumi [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(11): 2254-2262.
 - [22] 陈镇, 夏泉, 黄赵刚, 等. 白术挥发油对小鼠胃肠功能的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8): 66-68.
 - [23] 伍婷婷, 李茹柳, 曾丹, 等. 白术多糖调控钙离子以促进细胞迁移及 E-钙离子表达的研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(2): 145-150.
 - [24] 吴翰桂, 朱玲, 马勇军. 白术对小鼠胃肠道活动的影响的实验研究 [J]. 江苏中医药, 2005, 26(11): 72-73.
 - [25] 丁曙晴, 丁义江, 郭荣, 等. 白术对豚鼠结肠体外肌条运动的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2005, 13(2): 100-102.
 - [26] 王倩, 范文涛. 白术调节胃肠运动的研究进展 [J]. 现代中医药, 2005, (1): 65-66.
 - [27] 刘兴隆, 贾波, 李晓红, 等. 白术茯苓汤不同配比在脾气虚克罗恩病大鼠模型 Th1/Th2 类细胞因子免疫失衡中的作用 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(6): 1319-1321.
 - [28] 陈一竹, 杨文龙, 郭玲玉, 等. 白术内酯 III 抗血小板作用及其机制 [J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(3): 514-517.
 - [29] Miura M, Sasagawa I, Suzuki Y, et al. Apoptosis and expression of apoptosis related genes in the mouse testis following heat exposure [J]. *Fertil Steril*, 2002, 77(4): 787-793.
 - [30] 彭腾, 李鸿翔, 邓赞, 等. 白术内酯类成分及其药理作用研究进展 [J]. 中国药房, 2012, 23(39): 3732-3734.
 - [31] 董凤彩. 白术不同化学成分的药理作用 [J]. 中医临床研究, 2015, 7(14): 28-29.
 - [32] 罗兰, 孙悦. 白术内酯 III 对神经细胞损伤的影响 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(3): 560-562.
 - [33] Xu C L, Zhao Y F, Shang X Y, et al. The effects of supplementing diets with *Atractylodes macrocephala* Koidz rhizomes on growth performance and immune function in piglets [J]. *J Anim Feed Sc*, 2012, 21(2): 302-312.
 - [34] Liu J, Chen X, Yue C J, et al. Effect of selenylation modification on immune-enhancing activity of *Atractylodes macrocephala* polysaccharide [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 1435-1440.
 - [35] 丁采蓐. 白术及其提取物免疫调节功能和机制研究 [D]. 开封: 河南大学, 2016.
 - [36] 李翠芹, 贺浪冲. 白细胞膜色谱模型建立与白术中 TLR4 受体拮抗活性成分筛选研究 [J]. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2005, 35(6): 545-550.
 - [37] 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*

- Ethnopharmacol*, 2007, 114(2): 212-217.
- [38] 王 涵, 杨 娜, 谭 静, 等. 白术化学成分、药理作用及临床应用的研究进展 [J]. 甘肃医药, 2018, 37(1): 23-26.
- [39] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [40] 邹小兴. 苍术属植物药用亲缘学研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.
- [41] 李冲冲, 龚苏晓, 许 浚, 等. 车前子化学成分与药理作用研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2018, 49(6): 1233-1246.
- [42] Li Y, Liu J, Yang X W. Four new eudesmane-type sesquiterpenoid lactones from atractylenolide II by biotransformation of rat hepatic microsomes [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(4): 344-356.
- [43] Li Y, Yang X W. Five new eudesmane-type sesquiterpenoid lactones biotransformed from atractylenolide I by rat hepatic microsomes [J]. *Fitoterapia*, 2013, 85: 95-100.
- [44] 彭华胜, 程铭恩, 张 玲, 等. 基于电子鼻技术的野生白术与栽培白术气味比较 [J]. 中药材, 2010, 33(4): 503-506.
- [45] 胡长玉, 张慧冲, 陈爱珍, 等. 野生祁白术的营养成分分析 [J]. 生物学杂志, 2005, 22(3): 37-38.
- [46] 陈 静, 李 斌, 孙云超, 等. 白术对脾虚水湿内停大鼠的利水药效物质研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(10): 2210-2213.
- [47] 张铁军, 许 浚, 申秀萍, 等. 基于中药质量标志物 (Q-Marker) 的元胡止痛滴丸的“性-效-物”三元关系和作用机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2199-2211.
- [48] 杨美华, 龚红梅. 储存温度对白术药材中苍术酮含量的影响 [J]. 江西中医学院学报, 2005, 17(3): 46.
- [49] 姚兆敏, 汪电雷, 彭华胜, 等. 白术 UPLC 指纹图谱模式识别及含量测定研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2018, 28(5): 622-629.
- [50] 张铁军, 许 浚, 韩彦琪, 等. 中药质量标志物 (Q-marker) 研究: 延胡索质量评价及质量标准研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1458-1467.
- [51] 熊 亮, 彭 成. 基于中药质量标志物 (Q-Marker) 的基本条件研究益母草和赶黄草的 Q-Marker [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2212-2220.
- [52] 张铁军. 中药质量认识与质量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 1-9.