

基于 UPLC-MS^E 的白术化学成分分析及产地差异研究

杨 亮, 于 洋, 康舒宇, 闫广利, 孙 晖, 王喜军*

黑龙江中医药大学, 经方与现代中药融合创新全国重点实验室, 国家中医药管理局中医方证代谢组学研究中心, 黑龙江哈尔滨 150040

摘要: **目的** 无歧视分析白术药材的整体化学成分, 探究不同产地白术药材在化学成分上的差异。**方法** 采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱 (UPLC-Q-TOF-MS^E) 对不同产地白术药材进行化学成分分析。应用主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 对河北、安徽、浙江 3 个产区白术药材进行多元统计分析并结合方差分析筛选不同产地白术药材主要的差异化学成分。**结果** 共鉴定出 53 个化学成分, 包括 21 个萜类、11 个有机酸类、3 个氨基酸类、3 个糖苷类以及 15 个其他类成分。表征出 21 个差异化学成分, 包括 3 个特有成分及 18 个共有差异成分, 其中河北安国白术的特有成分为 9,10-环氧-12(Z)-十八碳烯酸, 且腺苷、6,9-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III、furan sesquiterpene、白术内酯 I、白术内酯 II、双白术内酯的含量最高。安徽亳州白术的特有成分为 L-异亮氨酸, 且新绿原酸、7-羟基香豆素、绿原酸、咖啡酸的含量最高。浙江磐安白术的特有成分为白术内酰胺, 且尿苷、L-缬氨酸、8,9-epoxy atracolactone、4,6-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III、白术内酯 III、芹子二烯酮、3 β -乙酰氧基苍术酮、棕榈酸含量最高。**结论** 不同产地白术化学成分差异明显, 各产地的特有成分可作为产地区分的依据, 21 个差异化学成分可为不同产地白术质量评价提供依据, 同时也为白术的开发利用提供了参考。

关键词: 白术; UPLC-Q-TOF-MS^E; 多元统计分析; 新绿原酸; 7-羟基香豆素; 9,10-环氧-12(Z)-十八碳烯酸; 白术内酯 I; 白术内酯 II; 双白术内酯

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)04-1344-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.04.027

Analysis of chemical constituents and their regional differences of *Atractylodes macrocephala* based on UPLC-MS^E

YANG Liang, YU Yang, KANG Shuyu, YAN Guangli, SUN Hui, WANG Xijun

State Key Laboratory of Integration and Innovation of Classic Formula and Modern Chinese Medicine, Chinmedomics Research Center of National Administration of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective The global chemical components of *Atractylodes macrocephala* were analyzed without discrimination to explore the differences in chemical components among *A. macrocephala* from different origins. **Methods** The chemical constituents of *A. macrocephala* from different regions were analyzed by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS^E). Principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to multivariate statistical analysis of *A. macrocephala* from Hebei, Anhui, and Zhejiang, and the main differential chemical components of *A. macrocephala* from different regions were screened by variance analysis. **Results** A total of 53 chemical components were identified, including 21 terpenoids, 10 organic acids, three amino acids, three glycosides, and 15 other components. A total of 21 differential chemical components were characterized, including three unique components and 18 common differential components. 9,10-epoxy-12(Z)-octaenoic acid is a specific component of Anguo in Hebei, L-isoleucine is a unique component of Bozhou in Anhui, and atractylodes lactam is a special component of Panan in Zhejiang. The contents of adenosine, 6,9-dihydroxy-3,3a-dihydroattractylenolide III, furan sesquiterpene, atractylenolide I, atractylenolide II, and biatractylolide were the highest in Anguo. The contents of

收稿日期: 2023-09-06

基金项目: 国家自然科学基金重点项 (81830110); 黑龙江省重点研发计划项目 (2022ZX02C04)

作者简介: 杨 亮, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础与质量控制研究。

*通信作者: 王喜军, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药血清药物化学及中医方证代谢组学研究。E-mail: xijunw@sina.com

neochlorogenic acid, 7-hydroxycoumarin, chlorogenic acid, and caffeic acid are the highest in Bozhou. The contents of uridine, L-valine, 8,9-epoxy atracolatone, 4,6-dihydroxy-3,3a-dihydroatractylenolide III, atractylenolide III, aceradienone, 3 β -acetoxyatractyloketone, and palmitic acid were the highest in Panan. **Conclusion** The chemical components of different origins were significantly different. The unique components from each origin could serve as the basis for distinguishing origins, and the 21 differential chemical components could be used as the basis for quality evaluation of *A. macrocephala* from different origins, as well as provide a reference for the development and utilization of *A. macrocephala*.

Key words: *Atractylodes macrocephala* Koidz.; UPLC-Q-TOF-MS^E; multivariate statistical analysis; neochlorogenic acid; 7-hydroxycoumarin; 9,10-epoxy-12(Z)-octaenoic acid; atractylenolide I; atractylenolide II; biatractylolide

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz.的干燥根茎,始载于《神农本草经》,列为上品,具有补气健脾、固表止汗、燥湿利水、安胎之功效,多用于脾虚食少、腹胀泄泻、痰饮眩晕、水肿、自汗、胎动不安等症^[1]。白术中主要含有倍半萜类、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^[2]。现代研究表明,白术具有抗炎、抗肿瘤、抗凝血、抗抑郁、神经保护、调节免疫、调节胃肠运动和调节子宫平滑肌等多种药理作用^[3-5]。

白术作为常用的大宗药材,其药用价值广泛,素有“北参南术”之称,在国家中医药管理局公布的首批百首经典名方中含有白术的方剂多达13首^[6]。白术主产于我国的浙江、湖南、安徽及河北等地,自古以浙江为道地产区,享有“浙八味”“磐五味”之一的美誉。但近年来浙白术产量已大幅度萎缩,目前以安徽、河北和湖南等产地为主^[7]。但“土地所出,真伪陈新,并各有法”,受生长环境,土质以及气候的影响,不同产地的药材质量差异往往较大,其药材的质量直接影响到方剂的质量与疗效,因此评价不同产地白术药材的质量,优选产地是保证白术相关经方制剂质量的重要手段之一^[8]。目前的研究多采用UPLC指纹图谱^[9]、三维^[10]及多维荧光技术^[11]、元素指纹分析技术^[12]、GC-MS指纹图谱^[13]、近红外漫反射光谱技术^[14]等对白术进行质量评价与产地鉴别研究,但这些分析方法尚不能全面、系统地表征不同产地白术药材的质量差异。

液质联用技术是一种集高效分离、高灵敏度与高选择性检测于一体的现代分离分析技术,可同时测定数十个甚至上百个成分,广泛用于中药材不同产地、不同品种、不同药用部位中次生代谢物或化合物差异性的鉴别分析^[15-16]。本研究运用UPLC-MS^E技术全面分析白术药材的化学成分,通过多元统计分析出河北、安徽、浙江产区白术的差异化学成分及其变化规律,为白术的产地鉴别及质量评价

提供参考,为筛选符合经方制剂开发要求的优质白术药材奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters AcquityTM UPLC液相色谱仪(Waters公司,美国); SynaptTM G2-Si质谱分析系统(Waters公司,美国); Waters AcquityTM UPLC HSS T3色谱柱(Waters公司,美国); MassLynx V4.2工作站(Waters公司,美国); 超声波清洗器 KQ-500DB(昆山市超声仪器有限公司); 低温超高速离心机 Thermo Sorvall ST16R(Thermo公司,美国); 电子分析天平(上海蒲春计量仪器有限公司); Progenesis QI V3.0(Waters公司,美国); SIMCA 14.1软件(Umetrics,瑞典)。

1.2 试药

对照品腺苷(批号110879-202204)、白术内酯I(批号111975-201501)、白术内酯II(批号111976-201501)、白术内酯III(批号111978-201501)均购于中国食品药品检定研究院;所有对照品质量分数均 $\geq 98\%$;质谱纯乙腈(Thermo Fisher公司,美国);色谱纯甲酸(赛默飞世尔科技有限公司);亮氨酸脑啡肽(Sigma公司,美国);水为超纯水;其余试剂均为分析纯。

白术药材样品采自河北、安徽、浙江3个产区,均由神威药业有限公司提供,经黑龙江中医药大学药学院吴修红教授鉴定为菊科植物白术 *A. macrocephala* Koidz.的干燥根茎。样品详细采集信息见表1。

2 方法

2.1 供试品溶液制备

取白术药材粉末(过四号筛)1g,精密称定,置于50 mL具塞锥形瓶中,精密加入75%甲醇20 mL,称定质量,超声提取1 h(250 W、40 kHz),取出放冷称定质量,以75%甲醇补足损失质量,摇匀,12 000 r/min离心10 min,取上清液过0.22 μm

表1 白术样品信息

Table 1 Sample information of *A. macrocephala*

| 编号 | 批号 | 产地 | 编号 | 批号 | 产地 |
|----|----------|------|-----|--------------|------|
| S1 | 1709061 | 河北安国 | S9 | BZ180324 | 安徽亳州 |
| S2 | 1709062 | 河北安国 | S10 | BZ180325 | 安徽亳州 |
| S3 | 1709063 | 河北安国 | S11 | BZ1807141 | 浙江磐安 |
| S4 | 1709064 | 河北安国 | S12 | BZ1807142 | 浙江磐安 |
| S5 | 1709065 | 河北安国 | S13 | BZ1807143 | 浙江磐安 |
| S6 | BZ180321 | 安徽亳州 | S14 | ZJPA20191101 | 浙江磐安 |
| S7 | BZ180322 | 安徽亳州 | S15 | ZJPA20191102 | 浙江磐安 |
| S8 | BZ180323 | 安徽亳州 | S16 | ZJPA20191103 | 浙江磐安 |

微孔滤膜，取续滤液，即得。另等量吸取各供试品溶液 400 μL ，混匀，制成质量控制（quality control, QC）样品，用于监测分析系统和方法的稳定性。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取腺苷、白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III 对照品适量，分别置于 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，配制成质量浓度分别为 20.012、20.008、20.017、20.011 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.3 色谱条件

Waters Acquity™ UPLC HSS T3 色谱柱（100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm ），流动相为 0.1% 甲酸乙腈溶液（A）-0.1% 甲酸水溶液（B）；梯度洗脱：0~7 min, 1%~40% A；7~12 min, 40%~70% A；12~16 min, 70%~100% A；16~18 min, 100% A；18~19 min, 100%~1% A；19~21 min, 1% A；柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ ；样品管理器温度 10 $^{\circ}\text{C}$ ；体积流量 0.4 mL/min；进样量 3 μL 。

2.4 质谱条件

采用电喷雾离子源（ESI），正、负离子模式检测，离子源温度 110 $^{\circ}\text{C}$ ，脱溶剂气温度 350 $^{\circ}\text{C}$ ，脱溶剂气流量 700 L/h，锥孔气流量 50 L/h，提取锥孔电压 4.0 V，样品锥孔电压为 35 V，正、负离子模式毛细管电压分别为 2.8、3.0 kV。采用亮氨酸-脑啡肽溶液（Leucine Enkephalin, $[\text{M} + \text{H}]^+ 556.2771$ 、 $[\text{M} - \text{H}]^- 554.2615$ ）为质量锁定溶液。采用 MS^E 模式采集数据，扫描时间为 0.2 s，扫描范围为 m/z 50~1 200，质谱数据采集的碰撞能为 10~35 V。

2.5 数据采集与分析

数据采集由 MassLynx V4.2 工作站完成。应用 Progenesis QI 分析软件对质谱数据进行处理分析，正离子模式下，化合物准分子离子以 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 、 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 、 $[\text{2M} + \text{H}]^+$ 的形式被检测；负离子模式下，

准分子离子以 $[\text{M} - \text{H}]^-$ 、 $[\text{M} + \text{COO}]^-$ 、 $[\text{2M} - \text{H}]^-$ 的形式被检测。通过分析各成分的保留时间、一级、二级质谱信息结合文献中报道的化合物裂解规律、同条件下对照品的裂解规律，并与构建的白术化学成分数据库、MassBank、PubChem 等在线数据库进行对比分析，完成化合物的识别鉴定。

多元统计分析：通过 Progenesis QI 软件对质谱原始数据进行预处理，将处理后的数据导出到 MetaboAnalyst 5.0 网站进行无监督的主成分分析（principal component analysis, PCA），再用 SIMCA14.1 软件进行有监督的正交偏最小二乘法判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA），依据 OPLS-DA 中的变量重要性投影值（variable importance in projection, VIP）>3，结合单因素方差分析（ $P < 0.05$ ）筛选不同产地白术药材间具有显著性差异的化学成分。

3 结果与分析

3.1 白术药材化学成分的鉴定

按“2.3”和“2.4”项下方法进行数据采集，结果发现各产地白术样品的基峰强度色谱图（base peak intensity, BPI）大致轮廓较为相似，但色谱峰高度有所差异，提示各产地白术间化学成分的含量存在差异。按“2.5”项下方法分析，最终从白术药材中鉴定出 53 个化学成分，代表性 BPI 谱图见图 1。

以白术内酯 III 为例阐释化学成分裂解途径及规律的鉴定过程。首先，Progenesis QI 软件在 9.95 min 时匹配到 m/z 249.153 4 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 的离子峰，其脱水形成 m/z 231.138 4 的碎片离子，碎片离子 m/z 231.138 4 丢失-CO、-C₃H₆、-C₅H₈ 形成 203.142 4、189.088 4、163.076 8 的碎片离子，碎片离子 m/z 189.088 4 丢失-CH₂ 形成碎片离子 m/z 175.075 5；碎片离子 163.076 8 丢失-CO₂ 形成 m/z 119.087 9 的碎片离子，再丢失-CH₂ 形成 m/z 105.070 0 或丢失-C₂H₄ 形成 m/z 91.056 3，裂解过程与文献报道一致^[17]，二级质谱图及具体裂解途径如图 2 所示。通过与白术内酯 III 对照品比对，鉴定该化合物为白术内酯 III。其他化合物采用相同方法鉴定，具体化合物详细信息见表 2。

3.2 不同产地白术差异成分分析

3.2.1 PCA 主成分分析是一种无监督学习方法，它通过提取最重要的分析信息来降低数据集的维度^[18]。运用 PCA 的方法对不同数据组（包括

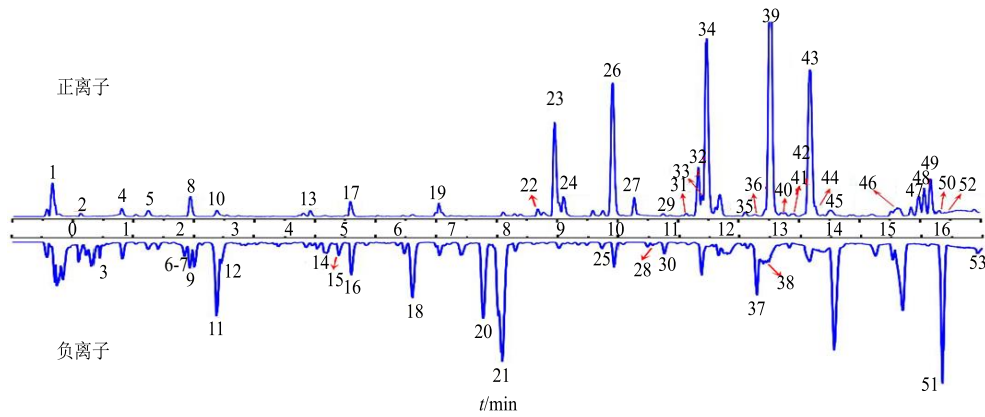


图 1 正、负离子模式下白术药材的基峰强度色谱图

Fig. 1 Basic peak intensity chromatogram of *A. macrocephala* in positive and negative ion modes

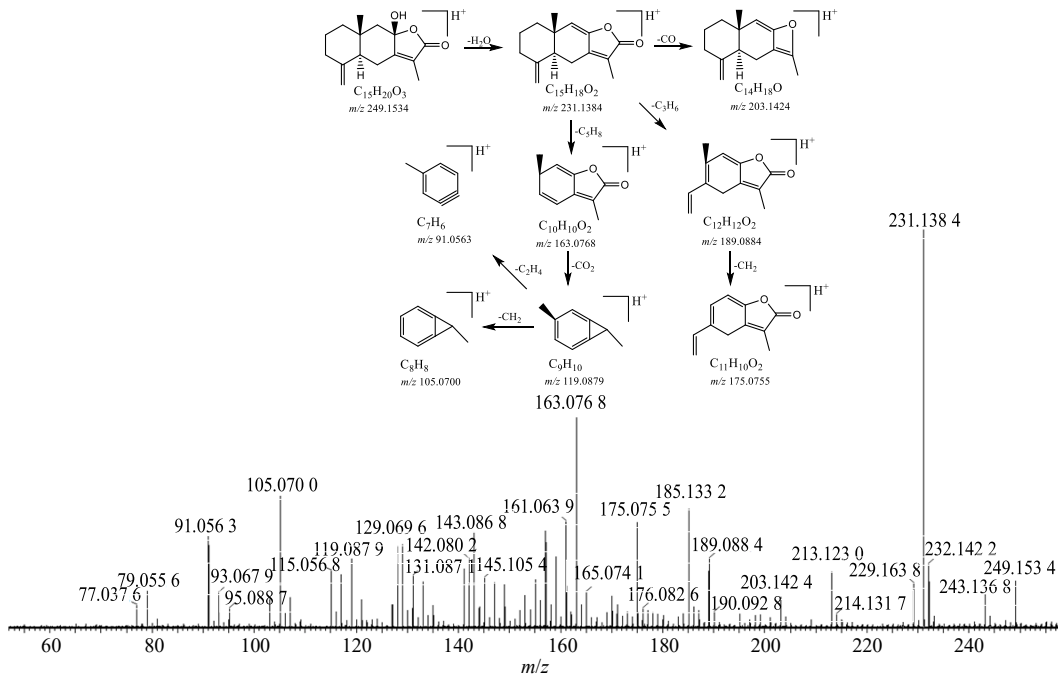


图 2 白术内酯 III 的二级质谱图及裂解途径

Fig. 2 MS² spectrum and fragmentation pathway of atractylenolide III

质控样本) 之间的关系进行评价, 所有组的 PCA 得分图见图 3。结果显示, QC 样品紧密聚集在一起, 说明仪器稳定性良好, 数据质量良好。3 个产地的白术样品均分别明显呈现出组内聚类, 组间分离的趋势, 表明不同产地白术样品化学成分间存在明显差异。

3.2.2 OPLS-DA OPLS-DA 可将组间差异最大化, 在海量数据集中寻找存在于不同组别间的差异性成分, 广泛用于不同产地药材之间的差异性研究^[19-20]。在 PCA 的基础上, 本研究对每个产地与

其他 2 个产地的样品分别进行 OPLS-DA, 结果表明每个产地与其他 2 个产地之间均表现出较明显的分离趋势, 与 PCA 结果一致, 且组间分离效果更加显著, 见图 4-A。在 OPLS-DA 模型中, 各模型组 R^2_X (cum)、 R^2_Y (cum) 和 Q^2 值均大于 0.5, 表明模型构建良好, 预测性可靠。对 OPLS-DA 进行验证, 设定随机排列检验次数为 200 次, 见图 4-B。结果显示, 各组模型验证中原始 R^2 和 Q^2 均大于 Y 置换后相应的值, 且 Q^2 点的回归线在 Y 轴的截距小于 0, 说明模型预测能力好, 不存在过拟合现象, 可用

表2 正、负离子模式下的白术药材化学成分鉴定结果

Table 2 Identified chemical constituents of *Atractylodes macrocephala* Koidz. in positive and negative ion modes

| 峰号 | t_R /min | 理论值 (m/z) | 实测值 (m/z) | 加合离子 | 分子式 | 误差 ($\times 10^{-6}$) | 中文名 | 二级碎片 | 类型 |
|----|------------|---------------|---------------|--------------------|---|-------------------------|---|--|------|
| 1 | 0.75 | 457.171 0 | 458.187 7 | [M+H] ⁺ | C ₂₁ H ₂₉ O ₁₁ | 1.25 | (<i>E</i>)-deca-2-ene-4, -diyne-1,10-diol-1- <i>O</i> - β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glu-copyranoside | 116.094 6、70.079 3 | 糖苷类 |
| 2 | 1.28 | 174.111 7 | 175.118 1 | [M+H] ⁺ | C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂ | 1.33 | L-精氨酸 | 158.122 9、130.118 7、116.094 6、 | 氨基酸类 |
| 3 | 1.61 | 244.069 5 | 243.065 3 | [M-H] ⁻ | C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆ | -2.25 | 尿昔 | 200.055 4、152.038 6、110.022 7 | 其他类 |
| 4 | 1.81 | 267.096 8 | 268.108 8 | [M+H] ⁺ | C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄ | 3.52 | 腺昔* | 136.064 3、119.054 6 | 其他类 |
| 5 | 2.23 | 119.073 5 | 120.081 4 | [M+H] ⁺ | C ₈ H ₉ N | -1.19 | 2-氨基苯乙烯 | 103.056 0、91.052 2、77.033 7 | 其他类 |
| 6 | 2.79 | 131.094 6 | 132.099 8 | [M+H] ⁺ | C ₆ H ₁₃ NO ₂ | 2.11 | L-异亮氨酸 | 86.095 1 | 氨基酸类 |
| 7 | 2.86 | 354.095 1 | 353.087 7 | [M-H] ⁻ | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 2.04 | 新绿原酸 | 191.058 8、179.033 5、135.043 5 | 有机酸类 |
| 8 | 2.93 | 117.079 0 | 118.086 8 | [M+H] ⁺ | C ₅ H ₁₁ NO ₂ | -1.56 | L-缬氨酸 | 72.082 5 | 氨基酸类 |
| 9 | 3.02 | 494.236 3 | 493.228 0 | [M-H] ⁻ | C ₂₂ H ₃₈ O ₁₂ | 1.90 | (1 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]oct-6-yl-6- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside | 447.223 1、285.064 9、161.024 7、 143.033 4、119.036 2、101.025 6、 89.020 6、71.015 6、59.014 8 | 糖苷类 |
| 10 | 3.37 | 162.031 7 | 163.037 7 | [M+H] ⁺ | C ₉ H ₆ O ₃ | 3.67 | 7-羟基香豆素 | 145.031 7、135.047 2、117.033 0、89.042 0 | 其他类 |
| 11 | 3.41 | 354.095 1 | 353.087 7 | [M-H] ⁻ | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 4.14 | 绿原酸 | 191.058 8、179.033 5、135.043 5 | 有机酸类 |
| 12 | 3.49 | 180.042 3 | 179.033 5 | [M-H] ⁻ | C ₉ H ₈ O ₄ | 2.46 | 咖啡酸 | 135.043 5 | 有机酸类 |
| 13 | 4.61 | 192.042 3 | 193.049 0 | [M+H] ⁺ | C ₁₀ H ₈ O ₄ | -3.22 | 对香豆酸乙酯 | 178.023 7、150.034 4、133.029 6、 | 其他类 |
| 14 | 4.93 | 516.126 8 | 515.114 4 | [M-H] ⁻ | C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ | 1.05 | 异绿原酸 B | 353.087 7、191.055 8、173.045 2 | 有机酸类 |
| 15 | 5.02 | 516.126 8 | 515.114 4 | [M-H] ⁻ | C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ | 0.18 | 异绿原酸 A | 353.087 7、191.058 8、179.033 5、 135.043 5 | 有机酸类 |
| 16 | 5.19 | 516.126 8 | 515.114 4 | [M-H] ⁻ | C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ | 1.34 | 异绿原酸 C | 353.087 7、191.058 8、179.033 5、 173.045 2、135.043 5 | 有机酸类 |
| 17 | 5.40 | 678.491 8 | 679.503 0 | [M+H] ⁺ | C ₃₆ H ₇₀ O ₁₁ | 0.75 | glucopyranoside | 661.486 6、452.362 2、435.321 1、 209.162 7 | 糖苷类 |
| 18 | 5.60 | 334.141 6 | 333.139 6 | [M-H] ⁻ | C ₁₈ H ₂₂ O ₆ | -2.31 | 6-(3-hydroxy-propionyloxy) atractylenolid III | 305.140 1、261.148 5、244.149 6 | 萜类 |
| 19 | 6.62 | 388.246 1 | 389.256 9 | [M+H] ⁺ | C ₂₀ H ₃₆ O ₇ | 0.99 | 8,9-epoxy atracalactone | 371.244 2、330.207 0、284.206 2、 256.193 3、244.159 5、232.168 8、 216.175 4、145.094 8、70.064 6 | 萜类 |
| 20 | 7.05 | 282.146 7 | 281.139 2 | [M-H] ⁻ | C ₁₅ H ₂₂ O ₅ | 1.21 | 4,6-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III | 263.129 7、245.120 0 | 萜类 |
| 21 | 7.79 | 282.146 7 | 281.139 2 | [M-H] ⁻ | C ₁₅ H ₂₂ O ₅ | 2.38 | 6,9-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III | 263.129 7、245.120 0 | 萜类 |
| 22 | 8.10 | 228.151 4 | 229.157 2 | [M+H] ⁺ | C ₁₆ H ₂₀ O | -3.02 | furan sesquiterpene | 214.138 1、173.093 1、133.064 8、 121.064 6、77.041 4 | 萜类 |
| 23 | 8.82 | 296.235 1 | 295.227 3 | [M-H] ⁻ | C ₁₈ H ₃₂ O ₃ | 2.83 | 9,10-环氧-12(Z)-十八碳烯酸 | 171.102 5 | 有机酸类 |
| 24 | 9.17 | 248.141 2 | 249.146 5 | [M+H] ⁺ | C ₁₅ H ₂₀ O ₃ | 0.78 | 6-羟基白术内酯 I | 231.138 4、213.116 6、203.136 2 | 萜类 |
| 25 | 9.77 | 250.156 9 | 249.145 1 | [M-H] ⁻ | C ₁₅ H ₂₂ O ₃ | 1.51 | 2-(3-hydroxy-4a-methyl-8-methylene-octahydro-naphthalen-2-ylidene)-propionic aci | 231.004 8、205.161 3 | 有机酸类 |
| 26 | 9.95 | 248.141 2 | 249.150 3 | [M+H] ⁺ | C ₁₅ H ₂₀ O ₃ | 0 | 白术内酯 III* | 249.153 4、231.138 4、203.142 4、 189.088 4、175.075 5、163.076 8、 119.087 9、105.070 0、91.056 3 | 萜类 |
| 27 | 10.28 | 229.146 7 | 230.156 7 | [M+H] ⁺ | C ₁₅ H ₁₉ NO | 2.99 | 白术内酰胺 | 215.123 5、160.073 2、141.072 0、 128.069 2 | 萜类 |
| 28 | 10.58 | 194.057 9 | 193.054 0 | [M-H] ⁻ | C ₁₀ H ₁₀ O ₄ | 3.02 | 阿魏酸 | 178.023 5、149.057 9、134.040 0 | 有机酸类 |
| 29 | 10.75 | 414.386 2 | 415.218 1 | [M+H] ⁺ | C ₂₉ H ₅₀ O | 1.11 | β -谷甾醇 | 119.083 2 | 其他类 |
| 30 | 10.77 | 314.245 7 | 313.230 0 | [M-H] ⁻ | C ₁₈ H ₃₄ O ₄ | 2.05 | 2-[4-(2-hydroxy-ethoxy)-1-isobutyl-1,4,6-trimethyl-hept-2-ynyloxy]-ethanol | 295.231 0、277.218 8、201.113 5 | 其他类 |
| 31 | 11.18 | 276.172 5 | 277.181 3 | [M+H] ⁺ | C ₁₇ H ₂₄ O ₃ | -3.19 | 白术内酯 IV | 199.116 7、105.078 9 | 萜类 |
| 32 | 11.34 | 232.146 3 | 233.154 9 | [M+H] ⁺ | C ₁₅ H ₂₀ O ₂ | 0.05 | 异苍术内酯 A | 215.142 7、187.147 4、159.116 8 | 萜类 |
| 33 | 11.37 | 256.109 9 | 257.117 0 | [M+H] ⁺ | C ₁₆ H ₁₆ O ₃ | 0.64 | <i>P</i> -hydroxyphenyl ethyl phenylacetate | 178.082 0、165.074 1、153.072 4、 141.072 0、 | 其他类 |
| 34 | 11.48 | 232.146 3 | 233.154 9 | [M+H] ⁺ | C ₁₅ H ₂₀ O ₂ | 0 | 白术内酯 I* | 215.145 7、187.150 7、159.080 0、 145.105 4、131.087 1、105.070 0、 91.056 3 | 萜类 |
| 35 | 12.12 | 495.334 9 | 496.338 0 | [M+H] ⁺ | C ₃₁ H ₄₅ NO ₄ | 2.55 | 7-[4-(11-hydroxy-undecyloxy)-phenyl]-7-pyridin-3-yl-hept-6-enoic acid ethyl ester | 478.327 1、184.076 9、104.109 6 | 其他类 |
| 36 | 12.27 | 262.156 9 | 263.161 3 | [M+H] ⁺ | C ₁₆ H ₂₂ O ₃ | 3.11 | 8 β -甲氧基白术内酯 I | 245.170 6、231.138 4、213.123 0、 163.076 8、105.070 0 | 萜类 |
| 37 | 12.31 | 296.235 1 | 295.231 0 | [M-H] ⁻ | C ₁₈ H ₃₂ O ₃ | 2.40 | 1-(4-hydroxy-pentyl)-2,8a-dimethyl-5-methylene-decahydro-naphthalene-2,6-diol | 277.218 8、171.102 2 | 其他类 |
| 38 | 12.46 | 570.443 7 | 569.437 6 | [M-H] ⁻ | C ₄₀ H ₅₈ O ₂ | 3.06 | cucumariaxanthin B | 391.224 8、315.049 8、255.230 1 | 其他类 |
| 39 | 12.55 | 230.130 7 | 231.138 4 | [M+H] ⁺ | C ₁₅ H ₁₈ O ₂ | 0 | 白术内酯 II* | 213.129 4、185.133 2、157.103 0、 128.064 2、91.056 3 | 萜类 |
| 40 | 12.75 | 220.182 7 | 221.185 1 | [M+H] ⁺ | C ₁₅ H ₂₄ O | 2.45 | atractylmacrols E | 157.113 9、105.070 0、77.037 6 | 萜类 |

表 2 (续)

| 峰号 | t_R/min | 理论值 (m/z) | 实测值 (m/z) | 加合离子 | 分子式 | 误差 ($\times 10^{-6}$) | 中文名 | 二级碎片 | 类型 |
|----|-----------|---------------|---------------|-----------|----------------------|-------------------------|-----------------------|--|------|
| 41 | 12.91 | 270.052 8 | 271.061 3 | $[M+H]^+$ | $C_{15}H_{10}O_5$ | 2.56 | 芹菜素 | 243.164 1、165.074 1、153.072 4、105.065 5 | 其他类 |
| 42 | 13.13 | 204.187 8 | 205.195 7 | $[M+H]^+$ | $C_{15}H_{24}$ | 1.32 | β -金合欢烯 | 149.131 6、135.113 2、123.086 7、95.084 4 | 萜类 |
| 43 | 13.19 | 218.167 1 | 219.178 4 | $[M+H]^+$ | $C_{15}H_{22}O$ | 2.73 | 芹子二烯酮 | 201.167 6、159.118 6、145.105 4、131.092 1、123.077 0、105.077 0、95.084 4 | 萜类 |
| 44 | 13.28 | 274.156 9 | 275.163 4 | $[M+H]^+$ | $C_{17}H_{22}O_3$ | -1.09 | 3 β -乙酰氧基苍术酮 | 215.142 7、145.100 1、119.087 9、105.070 0、91.056 3 | 萜类 |
| 45 | 13.53 | 220.182 7 | 221.194 1 | $[M+H]^+$ | $C_{15}H_{24}O$ | 2.39 | eucalyptus isospoonet | 203.179 7、119.083 2、81.072 2、69.070 1 | 其他类 |
| 46 | 14.65 | 780.435 5 | 781.447 9 | $[M+H]^+$ | $C_{34}H_{68}O_{19}$ | 3.09 | rotanane heptaecanate | 499.298 0、295.156 0、211.100 1、85.064 8 | 其他类 |
| 47 | 14.99 | 202.172 2 | 203.179 7 | $[M+H]^+$ | $C_{15}H_{22}$ | 1.34 | 白术内酯VI | 161.130 4、133.100 1、105.070 0 | 萜类 |
| 48 | 15.09 | 216.151 4 | 217.159 1 | $[M+H]^+$ | $C_{15}H_{20}O$ | 3.42 | 苍术酮 | 199.146 9、159.113 1、133.100 1 | 萜类 |
| 49 | 15.19 | 202.172 2 | 203.179 7 | $[M+H]^+$ | $C_{15}H_{22}$ | -2.70 | β -vatiene | 161.130 4、147.116 9、133.105 1、121.107 9 | 其他类 |
| 50 | 15.31 | 462.277 0 | 463.287 1 | $[M+H]^+$ | $C_{30}H_{38}O_4$ | 3.00 | 双白术内酯 | 231.138 4、163.076 8 | 萜类 |
| 51 | 15.36 | 280.240 2 | 279.237 6 | $[M-H]^-$ | $C_{18}H_{32}O_2$ | 1.56 | 亚油酸 | 261.226 2 | 有机酸类 |
| 52 | 15.41 | 202.172 2 | 203.186 0 | $[M+H]^+$ | $C_{15}H_{22}$ | 2.45 | 脱氧香橙烯 | 161.135 9、147.122 2、133.100 1、121.107 9 | 萜类 |
| 53 | 15.96 | 256.240 2 | 255.230 1 | $[M-H]^-$ | $C_{16}H_{32}O_2$ | -1.70 | 棕榈酸 | 237.209 1 | 有机酸类 |

“*”表示通过与对照品比对后确定该化合物

“**” means a compound is determined by comparison with a control substance

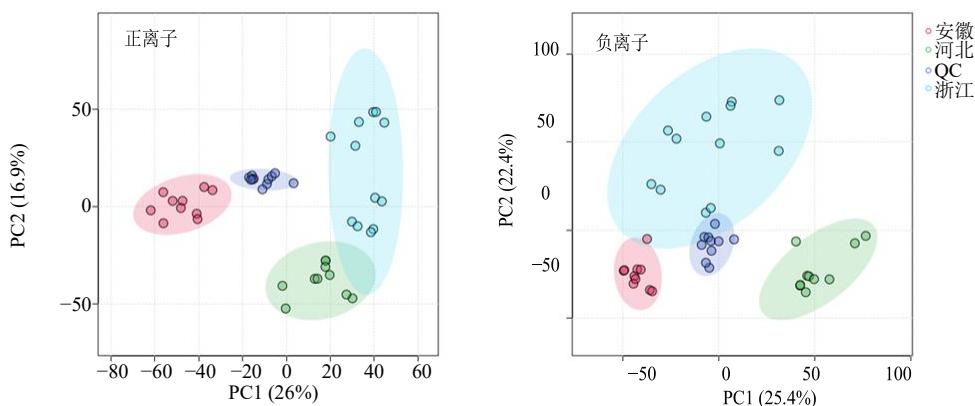


图 3 正、负离子模式下不同产地白术药材的 PCA 得分图

Fig. 3 PCA scores plots of *A. macrocephala* from different origins in positive and negative ion modes

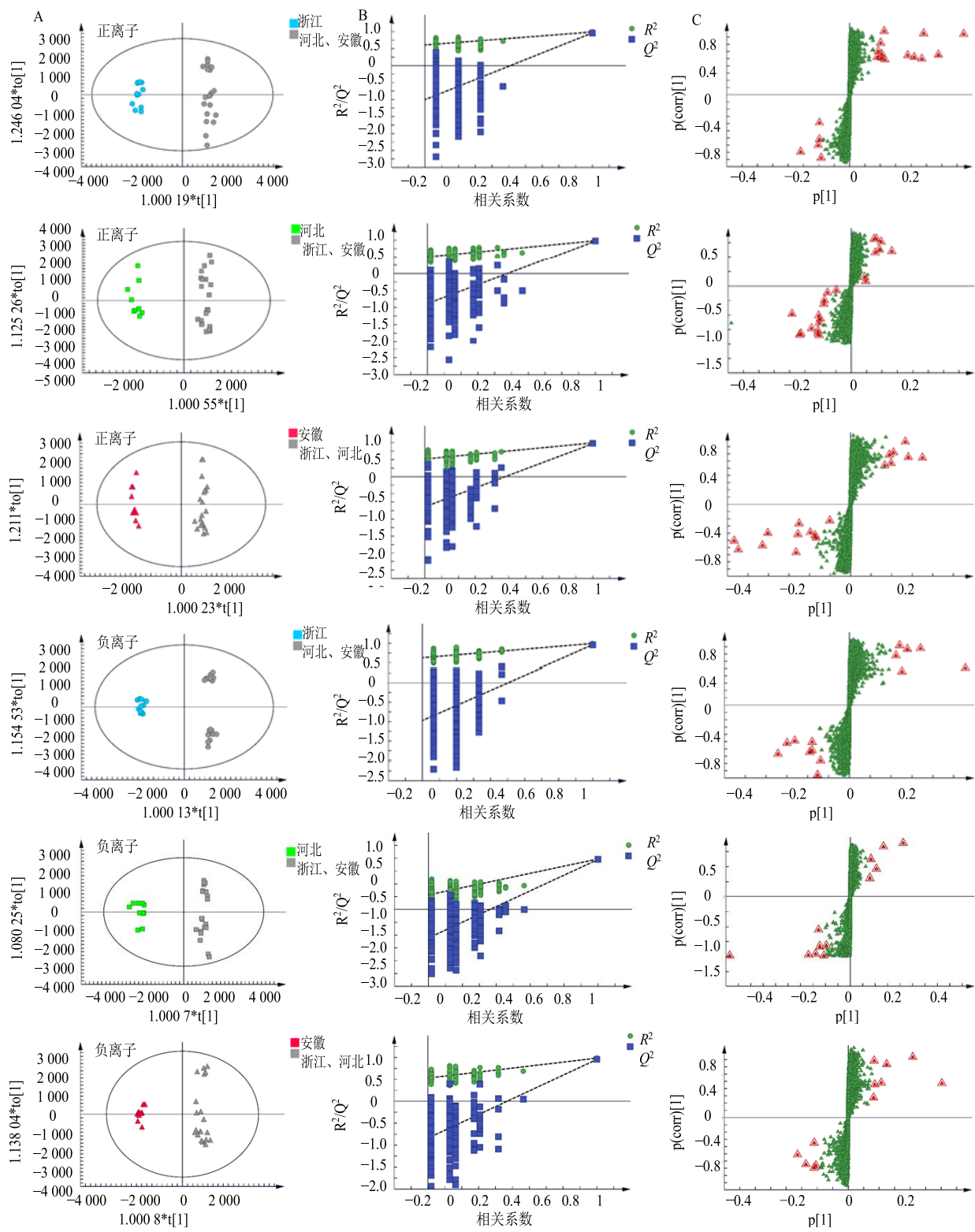
于区分不同产地白术药材，模型具体相关参数见表 3。散点得分图 (S-plot) 可以表示组间的差异成分，数据点离原点越远，则该变量对样本分组差异的贡献越大，利用 S-plot 图可筛选出存在显著性差异 (VIP>3) 的化学成分，见图 4-C。

根据 OPLS-DA 结果，以 VIP 值>3，单因素方差分析 $P<0.05$ 为筛选标准，共表征出 21 个差异化学成分，具体分为各产地的特有成分 3 个及共有成分 18 个，包括尿苷、腺苷、L-异亮氨酸、新绿原酸、L-缬氨酸、7-羟基香豆素、绿原酸、咖啡酸、8,9-epoxy atracolactone、4,6-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III、6,9-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III、furan sesquiterpene、9,10-环氧-12 (Z)-十八碳烯酸、白术内酯 III、白术内酰胺、白术内酯 I、白术内酯 II、芹子二烯酮、3 β -乙酰氧基苍术酮、双白术内酯、棕榈酸等，各成分的量以各样品相对应的峰面积表示，见图 5。其中

河北安国产地具有 1 个特有成分，为 9,10-环氧-12 (Z)-十八碳烯酸，且腺苷、6,9-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III、furan sesquiterpene、白术内酯 I、白术内酯 II、双白术内酯的含量最高。安徽亳州产地具有 1 个特有成分，为 L-异亮氨酸，且新绿原酸、7-羟基香豆素、绿原酸、咖啡酸的含量最高。浙江磐安产地具有 1 个特有成分，为白术内酰胺，且尿苷、L-缬氨酸、8,9-epoxy atracolactone、4,6-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III、白术内酯 III、芹子二烯酮、3 β -乙酰氧基苍术酮、棕榈酸含量最高。这些差异成分均可作为区分不同产地白术的特征成分。

4 讨论

目前，《中国药典》2020 年版对白术的质量控制方法主要为定性鉴别，包括感官评价、显微鉴定与理化鉴别，无客观准确的量化指标，具有一定的局限性。目前的研究多以一种或几种白术内酯类成



A-OPLS-DA 得分图, B-置换检验图, C-S-plot 图。
A-OPLS-DA scores plot, B-permutation test polt, C-S-plot.

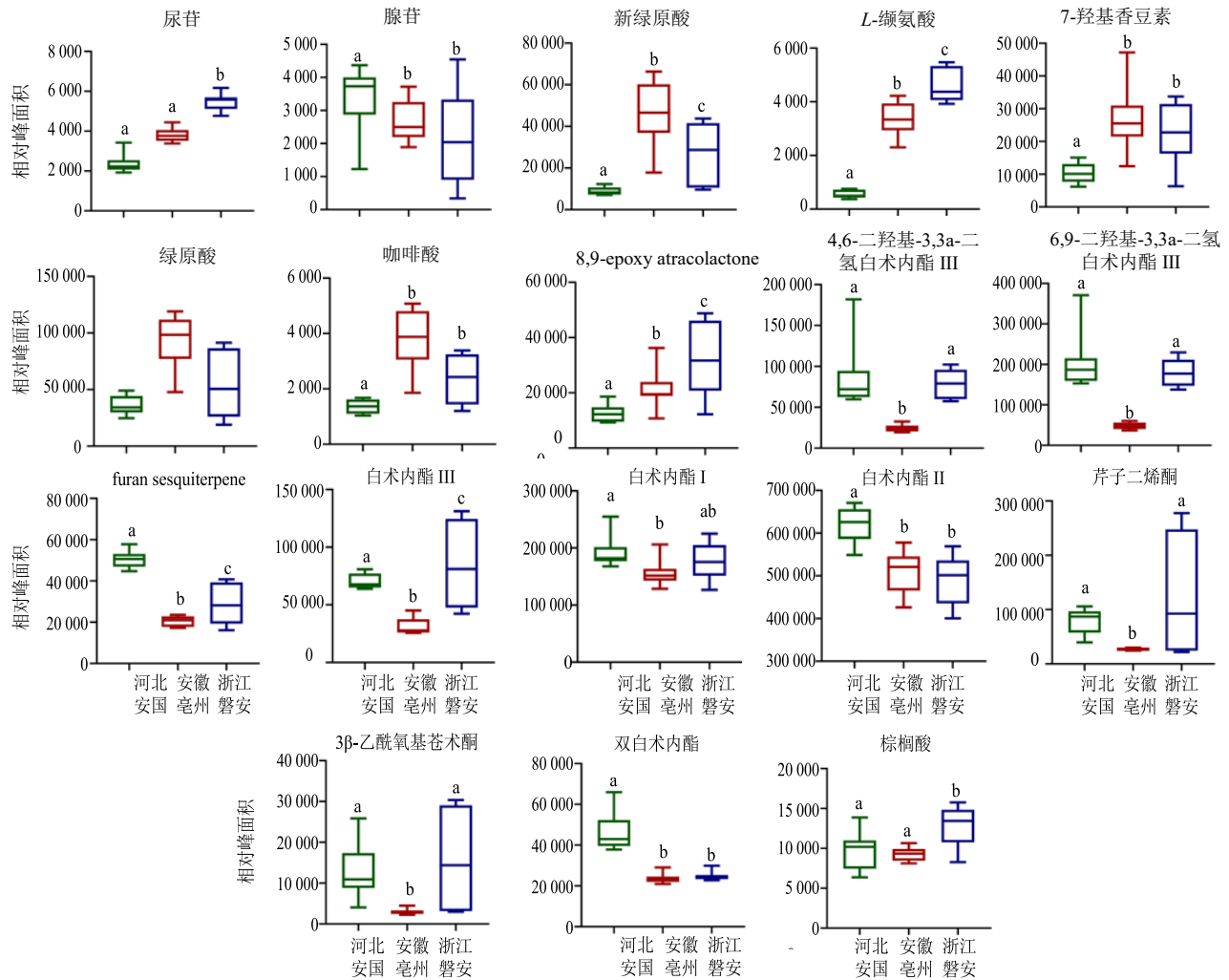
图 4 正、负离子模式下不同产地白术药材的 OPLS-DA 得分图、置换检验图及 S-plot 图

Fig. 4 OPLS-DA scores plot, permutation test polt and S-plot of *A. macrocephala* from different origins in positive and negative ion modes

表 3 OPLS-DA 模型参数

Table 3 Model parameters of OPLS-DA

| 离子模式 | OPLS-DA 模型 | R^2_X (cum) | R^2_Y (cum) | Q^2 (cum) | R^2 | Q^2 |
|------|-------------|---------------|---------------|-------------|-------|--------|
| 正离子 | 浙江 vs 河北、安徽 | 0.751 | 0.992 | 0.965 | 0.508 | -0.883 |
| | 河北 vs 浙江、安徽 | 0.716 | 0.986 | 0.971 | 0.508 | -0.883 |
| | 安徽 vs 浙江、河北 | 0.700 | 0.993 | 0.969 | 0.518 | -0.890 |
| 负离子 | 浙江 vs 河北、安徽 | 0.595 | 0.993 | 0.983 | 0.621 | -1.030 |
| | 河北 vs 浙江、安徽 | 0.508 | 0.990 | 0.973 | 0.295 | -0.560 |
| | 安徽 vs 浙江、河北 | 0.749 | 0.997 | 0.982 | 0.515 | -0.910 |



不同字母表示两组之间具有显著差异 (* $P < 0.05$)。

Different letters indicate significant differences between two groups (* $P < 0.05$).

图 5 不同产地白术药材差异化合物对比分析

Fig. 5 Analysis of differential compounds in *A. macrocephala* from different origins

分的含量作为判断不同产地白术药材间质量差异的指标，而中药为复杂的化学体系，仅靠几个标志性成分不能全面体现其品质差异^[21-22]。本研究采用 UPLC-MS^E 技术准确快速地对河北、安徽、浙江产区白术药材进行分析，鉴定出 53 个化学成分并通过多元统计分析方法表征出 21 个差异性成分，包

括 18 个共有差异成分及 3 个特有成分。在河北安国产地中腺苷、6,9-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III、furan sesquiterpene、白术内酯 I、白术内酯 II、双白术内酯的含量最高。安徽亳州产地中新绿原酸、7-羟基香豆素、绿原酸、咖啡酸的含量最高。浙江磐安产地中尿苷、L-缬氨酸、8,9-epoxy atracolactone、

4,6-二羟基-3,3a-二氢白术内酯 III、白术内酯 III、芹子二烯酮、3 β -乙酰氧基苍术酮、棕榈酸含量最高。黄小方等^[24]采用 UPLC-MS 技术对不同产地白术药材进行分析,发现各产地药材的差异主要体现在白术内酯类成分上。已有的对白术中化学成分含量检测的研究显示,不同产地白术在白术内酯类及有机酸类成分含量上存在一定差别^[25-31]。本研究采用 UPLC-MS^E 整体化学成分分析所得到的差异化学成分与文献报道一致性较高。此外,本研究还确定了 9,10-环氧-12(Z)-十八碳烯酸为河北安国产地的特有成分, L-异亮氨酸为安徽亳州产地的特有成分,白术内酰胺为浙江磐安产地的特有成分,这些特有成分可作为产地区分的依据。上述分析提示,不同产地白术药材因所处的气候、土壤、地势地貌等环境不同,在化学成分的种类及含量上产生了很大变化,即生成了特有成分与共有成分,提示白术的质量与其产地密切相关。

本研究发现浙江、河北产白术的白术内酯类成分含量明显高于安徽产地。研究表明,倍半萜类化合物是白术中含量最丰富的生物活性成分之一,其中白术内酯类成分已被证明具有显著的抗肿瘤、抗菌、抗炎、调节免疫、调节胃肠道功能和神经保护作用^[28];双白术内酯可通过抑制活性氧生成来减少损伤细胞的死亡,从而发挥抗阿尔茨海默病的作用^[29-30];芹子二烯酮、3 β -乙酰氧基苍术酮具有抗炎作用^[31]。而安徽产地的有机酸类化合物如绿原酸、新绿原酸等的含量高于其他两产地,上述成分具有抗氧化、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、调血脂、降血糖和免疫调节等多方面的药理作用^[32-33]。以上分析提示不同产地白术药材间的差异化学成分可能对其生物活性产生影响,进而影响其功效及配伍情况下的疗效,后续可结合不同层次的药效学实验进行阐释与验证,为临床依据不同病症、不同产地药材合理的调整用药提供更好的指导。

本实验基于河北、安徽、浙江 3 个产区的白术药材展开研究,对不同产地白术药材的差异性进行分析,找出其特有成分及共有差异成分,为白术的产地鉴别及质量评价提供了重要参考,也为后续含白术的经典名方开发、中药质量标志物研究及药材质量标准的制定提供科学依据和理论支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突
参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 107.

- [2] Yang L, Yu H, Hou A J, et al. A review of the ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, application, quality control, processing, toxicology, and pharmacokinetics of the dried rhizome of *Atractylodes macrocephala* [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 727154.
- [3] 曾惠玉. 白术不同化学成分的药理作用研究 [J]. *临床合理用药杂志*, 2018, 11(29): 177-178.
- [4] 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.
- [5] Zhu B, Zhang Q L, Hua J W, et al. The traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Atractylodes macrocephala* Koidz.: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 226: 143-167.
- [6] 王泽, 阙灵, 王雪, 等. 经典名方中白术的本草考证 [J]. *中国食品药品监管*, 2020(7): 1-7.
- [7] 黄璐琦, 郭兰萍, 詹志来. 地道药材标准汇编 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2020: 49.
- [8] 张龙开, 覃婕媛, 赵维波, 等. 不同产地白术鉴别研究 [J]. *安徽农业科学*, 2019, 47(23): 203-206.
- [9] 林爽, 王杰, 高珊珊, 等. 基于化学计量学结合 UPLC 评价白术药材质量 [J]. *现代中药研究与实践*, 2022, 36(5): 54-59.
- [10] 陈伟, 吴海龙, 王童, 等. 三维荧光结合化学计量学用于白术的产地溯源 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2022, 42(9): 2875-2883.
- [11] Chang Y Y, Wu H L, Wang T, et al. Geographical origin traceability of traditional Chinese medicine *Atractylodes macrocephala* Koidz. by using multi-way fluorescence fingerprint and chemometric methods [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2022, 269: 120737.
- [12] 王小芝, 陈瑶, 吴海龙, 等. 基于元素指纹的白术产地溯源及其与土壤的相关性研究 [J]. *化学学报*, 2022, 80(2): 159-167.
- [13] 李然, 李静, 徐长琼, 等. 基于 GC-MS 指纹图谱技术结合多元统计分析鉴别不同产地白术的研究 [J]. *广东药科大学学报*, 2021, 37(2): 30-39.
- [14] 宋佳航, 李斌, 田炎成, 等. 近红外漫反射光谱法用于不同产地白术的鉴别 [J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(6): 1370-1372.
- [15] Li Y, Zhang Y, Wang Y Y, et al. Metabolites and chemometric study of *Perilla* (*Perilla frutescens*) from different varieties and geographical origins [J]. *J Food Sci*, 2022, 87(12): 5240-5251.
- [16] Ma Y B, Li J H, Li J L, et al. Comparative metabolomics study of *Chaenomeles speciosa* (sweet) Nakai from different geographical regions [J]. *Foods*, 2022, 11(7): 1019.
- [17] Xu S Z, Qi X J, Liu Y Q, et al. UPLC-MS/MS of

- atractylenolide I, atractylenolide II, atractylenolide III, and atractyloside A in rat plasma after oral administration of raw and wheat bran-processed *Atractylodis Rhizoma* [J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3234.
- [18] 许有诚, 赵庄, 卢日刚, 等. 主成分分析在中药质量分析及质量评价中的应用进展 [J]. 大众科技, 2021, 23(8): 37-41.
- [19] Bai H Y, Bao F, Fan X R, *et al.* Metabolomics study of different parts of licorice from different geographical origins and their anti-inflammatory activities [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(8): 1593-1602.
- [20] Cao S R, Du H, Tang B B, *et al.* Non-target metabolomics based on high-resolution mass spectrometry combined with chemometric analysis for discriminating geographical origins of *Rhizoma Coptidis* [J]. *Microchem J*, 2021, 160: 105685.
- [21] 张国亮, 余欢欢, 陈栋杰, 等. 基于一测多评法的不同产地白术药材质量评价 [J]. 现代中药研究与实践, 2023, 37(2): 57-62.
- [22] 周海艳, 高云佳, 王敏, 等. UPLC 同时测定不同产地白术中 3 种白术内酯成分的含量 [J]. 中国药品标准, 2023, 24(1): 5-14.
- [23] 邢会香, 张雪花, 刘红, 等. UPLC-PDA 测定白术中两种活性成分及不同产地药材质量研究 [J]. 陕西中医药大学学报, 2021, 44(6): 67-72.
- [24] 黄小方, 欧阳辉, 李军茂, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析不同产地白术的差异化化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 27-33.
- [25] 肖炯昌, 张文芳, 胡梅, 等. 白术药材 UPLC 特征图谱方法构建及模式识别研究 [J]. 亚太传统医药, 2023, 19(2): 31-37.
- [26] 张文芳, 胡梅, 陈锦霞, 等. UPLC 法测定不同产地白术中绿原酸、绿原酸和隐绿原酸的含量 [J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(4): 479-483.
- [27] 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, 29(5): 622-629.
- [28] Deng M, Chen H J, Long J Y, *et al.* Atractylenolides (I, II, and III): A review of their pharmacology and pharmacokinetics [J]. *Arch Pharm Res*, 2021, 44(7): 633-654.
- [29] Fu X Q, Chou J Y, Li T, *et al.* The JAK2/STAT3 pathway is involved in the anti-melanoma effects of atractylenolide I [J]. *Exp Dermatol*, 2018, 27(2): 201-204.
- [30] 胡倩, 刘育铖, 毛思宇, 等. 基于网络药理学对白术治疗阿尔茨海默症的机制探讨 [J]. 中南药学, 2020, 18(3): 427-434.
- [31] 吴亚宁, 周辉辉, 田雅晴, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨肠安 II 号方中白芍-白术药对治疗肠易激综合征的作用机制 [J]. 皖南医学院学报, 2023, 42(2): 120-126.
- [32] 熊乐文, 金莹, 王彦予, 等. 金银花酚酸类化学成分、药理活性及体内代谢研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44(3): 864-871.
- [33] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展 [J]. 药学学报, 2020, 55(10): 2273-2280.

[责任编辑 时圣明]