

# 基于 UPLC/Q-TOF MS 技术的 白术药材化学成分快速识别研究

钟艳梅<sup>1</sup>, 冯毅凡<sup>1</sup>, 郭 姣<sup>2</sup>

(1. 广东药学院中心实验室, 广东 广州 510006;

2. 国家中医药管理局高脂血症“调肝降脂”重点研究室, 国家中医药管理局“脂代谢”三级实验室,  
广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室, 广东 广州 510006)

**摘要:**建立了超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC/Q-TOF MS)法快速鉴定白术生药材中的多种化学成分。采用 Aquity UPLC/Q-TOF micro 联用仪, 以水-乙腈流动相梯度洗脱, ESI<sup>+</sup> 模式采集数据, Masslynx4.1 软件分析处理数据。实验分析了白术药材中的 24 个峰信号, 鉴定了其中的 20 种化学成分。结果表明, 应用 UPLC/Q-TOF MS 技术能够快速鉴定白术药材的化学成分, 是中药成分分析的有效手段。

**关键词:**超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC/Q-TOF MS); 化学成分; 白术

**中图分类号:** O 657.63; R 284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-2997(2015)01-0072-06

**doi:** 10.7538/zpxb.youxian.2014.0058

## Rapid Identification of Components from *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma Based on UPLC/Q-TOF MS

ZHONG Yan-mei<sup>1</sup>, FENG Yi-fan<sup>1</sup>, GUO Jiao<sup>2</sup>

(1. Central Laboratory, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Key Unit of Modulating Liver to Treat Hyperlipemia SATCM, Level 3 Laboratory of Lipid Metabolism SATCM, Guangdong TCM Key Laboratory for Metabolic Diseases, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** The components of *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma were identified by ultra-high performance liquid chromatography with tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC/Q-TOF MS). Using Aquity UPLC/Q-TOF micro system gradient elute with water-acetonitrile mobile phase under positive mode of ESI; data were analyzed by Masslynx4.1 software. Twenty-four peaks in chromatogram of *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma were analyzed, and 20 kinds of components were identified. Rapid identification of components from *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma was

收稿日期: 2014-02-28; 修回日期: 2014-06-23

基金项目: 广东省自然科学基金团队项目(10351022401000000); 广东省教育部产学研结合项目(2011B090400379)资助

作者简介: 钟艳梅(1983—), 女(汉族), 陕西人, 助理研究员, 从事现代仪器在药物分析中的应用研究。

E-mail: yanmei\_zhong@gdpu.edu.cn

通信作者: 郭 姣(1961—), 女(汉族), 江西人, 教授, 从事高脂血症的理论、临床、作用机理和物质基础研究及其中药新药研发。

E-mail: guoj@gdpu.edu.cn

网络出版时间: 2014-12-02; 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7538/zpxb.youxian.2014.0058.html>

carried out by UPLC/Q-TOF MS, which will be an effective device in analysis of compositions research in traditional Chinese medicine.

**Key words:** UPLC-Q-TOF MS; components; *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma

白术为菊科植物白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz)的根茎,具有健脾益气、燥湿利水、止汗安胎之功效,主治脾虚食少、腹胀泄泻、痰饮水肿、自汗、胎动不安等症,为最常用的中医补脾要药<sup>[1-3]</sup>。现代研究表明,白术具有提高抗病能力、利尿、降血糖、抗肿瘤、抗炎等药理作用<sup>[4-5]</sup>。深入研究白术药材的化学成分对揭示其药效物质基础具有现实意义。目前,对白术的分析报道主要集中在挥发油,多糖等研究方面<sup>[2,4-6]</sup>,而对物质基础化学成分的研究并不全面,阻碍了对其药理作用的深入研究。

液质联用技术是中药物质基础研究的有力手段,相较于传统的硅胶柱层析法,高效液相色谱(HPLC)法具有操作简单、信息量大、节省溶剂等优点,通过色谱-中药药材的全成分快速扫描鉴定,可以有效避免中药化学成分的重复杂分离鉴定及对一些易遗漏成分的识别。

超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC/Q-TOF MS)具有分辨率高、灵敏度高、选择性高、用时短、扫描范围广等特点,能够给出相对误差小于 $5 \times 10^{-6}$ 的精确分子质量信息和二级特征裂解碎片离子信息。本研究拟采用 UPLC/Q-TOF MS 法对白术生药材供试品进行全成分扫描与快速鉴定,以期对中药成分的分析提供方法参考。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与装置

Acquity 超高效液相色谱分析系统, Q-TOF micro 高分辨四极杆与飞行时间串联质谱仪(配有 lock-spray 接口), Masslynx4.1 数据处理系统, Acquity UPLC™ BEH C18 色谱柱(2.1 m×50 mm×1.7 μm);美国 Waters 公司产品; DL-360A 超声波清洗器:上海之信仪器有限公司产品;超低有机物型 Arium 611 UV 超纯水器:德国 Sartorius 公司产品。

### 1.2 主要材料与试剂

白术生药材(产地安徽):购自安徽亳州市中药饮片厂,经广东药学院中药学院刘基柱副

教授鉴定为菊科植物白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz)的根茎 *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma, 药材标本保存于广东药学院中心实验室;乙腈(UPLC 级),甲醇(HPLC 级);德国 Merck 公司产品;Lockmass 脑腓肽(批号 L9133-50MG,纯度 $\geq 95\%$ );美国 Sigma 公司产品。

样品及标准品的制备:称取 10.0 g 白术药材提取物,用 20 mL 70% 甲醇浸泡过夜,超声提取 2 h,过滤,滤液过 0.22 μm 微孔滤膜,待分析。

白术内酯 I(批号 110803),白术内酯 II(批号 110826)、白术内酯 III(批号 110904):购自天津一方科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$ 。标准品溶液的制备:分别精密称取 1 mg 上述对照品粉末于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解稀释至刻度,过 0.22 μm 微孔滤膜,待分析。

### 1.3 实验条件

**1.3.1 色谱条件** Acquity UPLC™ BEH C18 色谱柱(2.1 m×50 mm×1.7 μm);二元梯度洗脱,流动相 A 为水溶液, B 为乙腈;梯度洗脱条件:0~3 min, 98~75% A, 3~10 min, 75~68% A, 10~13 min, 68% A, 13~17 min, 65~50% A, 17~22 min, 50~45% A, 22~25 min, 45% A, 25~30 min, 45~30% A, 30~35 min, 30~0% A, 35~40 min, 0~98% A;流速 0.4 mL/min;进样量 5 μL;柱温 30 °C。

**1.3.2 质谱条件** 电喷雾离子源正离子模式(ESI<sup>+</sup>),毛细管电压 3 000 V,锥孔电压 30 V,离子源温度 120 °C,脱溶剂温度 350 °C,碰撞能量 10 V,脱溶剂氮气流速 500 L/h,锥孔反吹氮气流速 50 L/h,脱溶剂气为氮气,碰撞气体为氩气。采用 Lock mass 通路对实验数据进行采集并实时校正,Lock mass 标准品溶液为脑腓肽(10 mg/L),校正切换频率为 10 次/s,扫描范围为  $m/z$  50~1 400。

### 1.4 方法学考察

**1.4.1 精密度实验** 精密吸取同一供试品溶液,连续进样 6 次,每次进样 5 μL,各主要色谱

峰的保留时间 RSD 值均小于 0.3%，相对峰面积的 RSD 值均小于 3%，说明仪器的精密度良好。

**1.4.2 稳定性实验** 取同一供试品溶液，分别于 0、1、2、4、12、24 h 进样检测，每次进样 5  $\mu\text{L}$ ，各主要色谱峰的保留时间 RSD 值均小于 0.3%，相对峰面积的 RSD 值均小于 3%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**1.4.3 重现性实验** 分别将制备的 6 份供试品进样检测，每次进样 5  $\mu\text{L}$ ，各主要峰的保留时间 RSD 值均小于 0.3%，相对峰面积的 RSD 值均小于 3%，表明实验方法的重复性良好。

## 2 结果与讨论

白术药材样品在 ESI<sup>+</sup> 模式下获得了良好的响应值，其总离子流图示于图 1。在 40 min 内，样品中的化学成分得到了良好的分离，共识别鉴定了 24 个峰信号，采用 Masslynx 4.1 软件分析处理数据，鉴定了包括白术内酯类、生物碱类、倍半萜类、糖苷、有机酸及其他类成分共 20 种，示于图 2。其中 9 种成分为首次从该植物中发现，需进一步分离单体后验证，其 Q-TOF 串联质谱分析及鉴定结果列于表 1。

实验中，Masslynx 工作站给出的 ESI-MS 高分辨数据可以得到误差小于  $5 \times 10^{-6}$  的元素组成，应用氮率等质谱规律可以得出化合物的分子式和高分辨分子质量。在 ESI-MS/MS 图谱中，通过选择合适的碰撞能量，可以得到每个目标分子离子的特征二级碎片离子及其

在二级质谱图中的相对强度；由高分辨分子质量，分子式和特征二级碎片离子等信息，可以推测得到物质的基本结构信息；同时，采用标准品比对，通过 Scifinder、Chemspider 等数据库检索，可以快速鉴定白术生药材供试品中的化合物。

以峰 6 为例说明鉴定过程。峰 6 的一级质谱图与二级质谱图示于图 3。峰 6 的高分辨 ESI-MS 为  $m/z$  231.1417，Masslynx 工作站给出的元素组成为  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{O}_2$ ，根据氮率认为是检测离子  $[\text{M}+\text{H}]^+$  峰，其分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_2$ ，这与文献报道<sup>[5-6]</sup>的白术内酯 I 的数据吻合。其二级质谱的主要特征碎片为  $m/z$  231  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、 $m/z$  217  $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$ 、 $m/z$  204  $[\text{M}+\text{H}-2\text{CH}_3]^+$ 、189  $[\text{M}+\text{H}-2\text{CH}_3-\text{CH}_2]^+$ ，推断峰 6 为白术内酯 I。白术内酯 I 标准品与白术药材的总离子流图示于图 4。由图 4 可见，峰 6 的保留行为及质谱数据与白术内酯 I 标准品一致，由此可判定峰 6 为白术内酯 I。

实验发现，白术的化学成分较复杂，不同类别的物质在 ESI-MS/MS 中的裂解行为不同。在正离子模式下，内酯类、内酰胺类、生物碱类成分的响应较强烈，本实验最终鉴定了包括白术内酯、糖苷、生物碱等 20 种化合物。从图 1 可以看出，以色谱峰峰面积计算，峰 4(白术内酰胺)、峰 11(白术内酯 II)、峰 18(倍半萜类物质)、峰 23(苍术酮)的响应较强，是在正离子模式下检测到的主要成分，可能与白术药材的药效相关。

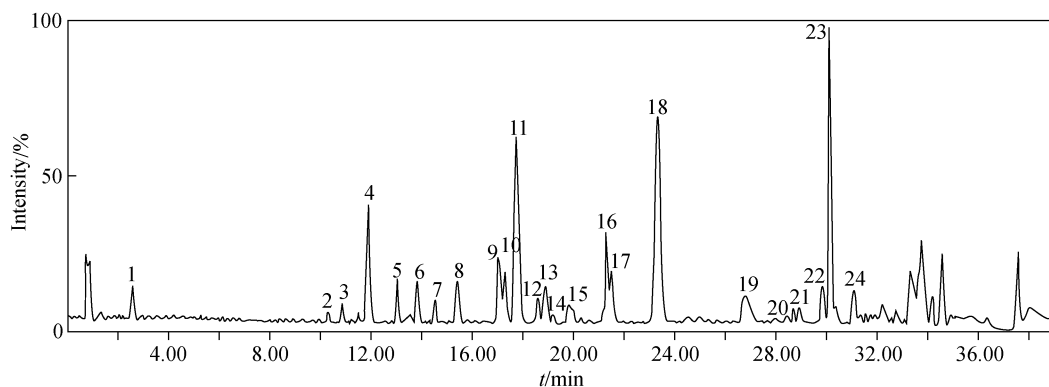


图 1 正离子模式下，白术生药材供试品 UPLC/Q-TOF MS 的总离子流图

Fig. 1 Total ions chromatogram of *Atractylodes macrocephala* Koidz by UPLC/Q-TOF MS in positive ion mode

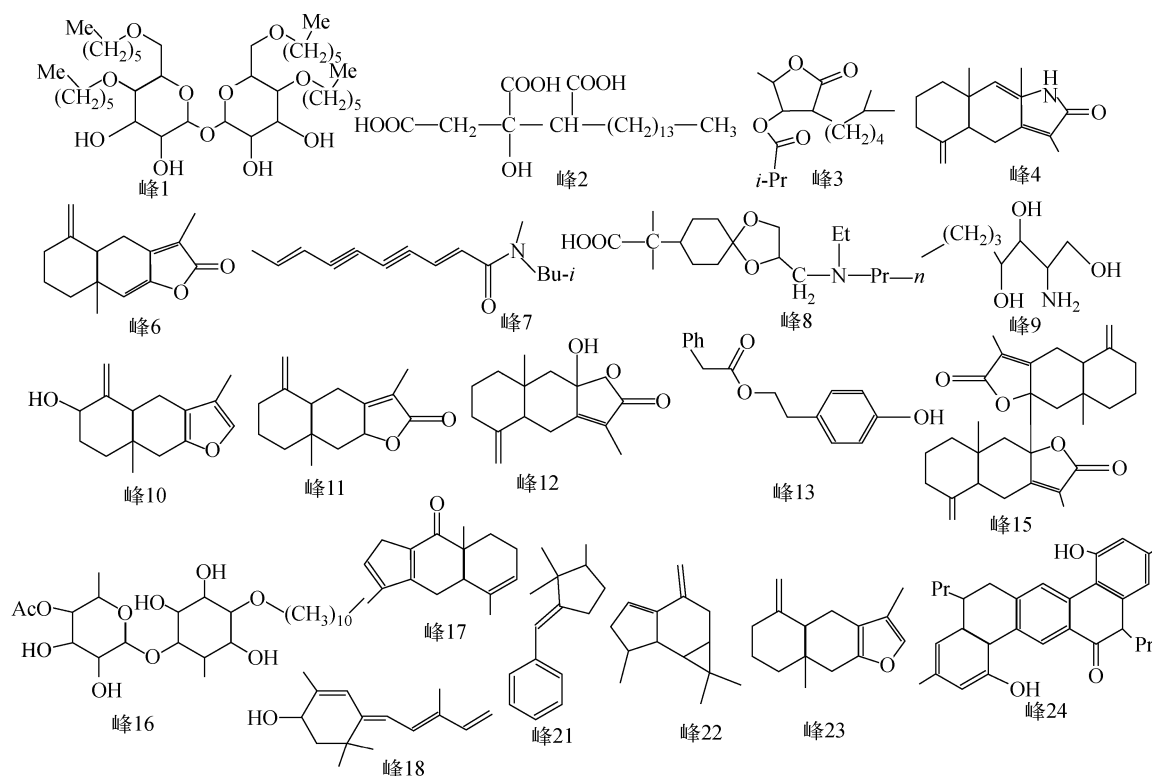


图2 基于 UPLC/Q-TOF MS 技术鉴定的白术药材供试品溶液中化学成分峰 1~24

Fig. 2 The components peak 1-24 from *Atractylodes macrocephala* Koidz by UPLC/Q-TOF MS

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 The identification result of components from *Atractylodes macrocephala* Koidz by Q-TOF

峰号	$t_R$ /min	实测 $m/z$	分子式	二级特征碎片	鉴定结果
1*	2.55	679.488 8	$C_{36}H_{70}O_{11}$	209, 336, 435, 552, 661, 679	吡喃葡萄糖苷(结构式示于图 2) <sup>[8]</sup>
2*	10.26	389.255 5	$C_{20}H_{36}O_7$	113, 231, 244, 284, 311, 330, 371, 389	Tetradecylcitric acid <sup>[9]</sup>
3*	10.83	284.203 1	$C_{16}H_{28}O_4$	175, 214, 228, 268, 284	L-Arabinonic acid <sup>[10]</sup>
4	11.87	229.162 7	$C_{15}H_{19}ON$	128, 141, 145, 153, 166,	白术内酰胺 <sup>[5-6]</sup>
5	13.03	286.219 4	$C_{16}H_{30}O_4$	105, 119, 131, 143, 161, 173, 185, 211, 239, 269	—
6	13.80	231.141 7	$C_{15}H_{20}O_2$	122, 163, 175, 189, 204, 217, 231	白术内酯 I <sup>[4-6]</sup>
7*	14.53	230.157 5	$C_{15}H_{19}ON$	105, 129, 143, 157, 174, 187, 200, 214, 230	季胺类生物碱 <sup>[11]</sup>
8*	15.39	328.239 7	$C_{18}H_{34}O_4N$	122, 161, 244, 269, 311, 328	季胺类生物碱 <sup>[11]</sup>
9	17.03	316.285 5	$C_{18}H_{39}O_3N$	123, 262, 280, 298, 316	—
10	17.27	233.154 2	$C_{15}H_{20}O_2$	115, 117, 131, 145, 159, 171, 184	3 $\beta$ -羟基苍术酮 <sup>[5]</sup>
11	17.72	233.156 0	$C_{15}H_{20}O_2$	133, 151, 159, 177, 187, 215, 233	白术内酯 II <sup>[5-6]</sup>
12	18.56	249.150 6	$C_{15}H_{20}O_3$	122, 135, 163, 189, 204, 231, 249	白术内酯 III <sup>[5-6]</sup>
13*	18.87	257.120 7	$C_{16}H_{16}O_3$	114, 128, 141, 153, 167, 178, 206, 257	苯乙酸对羟基苯乙酯 <sup>[12]</sup>
14	19.19	318.301 3	$C_{18}H_{39}O_3N$	149, 199, 217, 233, 299, 318	—
15	19.82	463.284 5	$C_{30}H_{38}O_4$	231, 243, 445, 463	双白术内酯 <sup>[13]</sup>
16*	21.52	520.334 7	$C_{26}H_{48}O_{10}$	184, 258, 337, 502, 520	吡喃甘露糖苷(结构式示于图 2) <sup>[14]</sup>
17	21.46	231.140 9	$C_{15}H_{18}O_2$	91, 105, 117, 129, 142, 157, 175, 231	呋喃倍半萜类(结构式示于图 2) <sup>[15-16]</sup>
18	23.31	219.176 5	$C_{15}H_{22}O$	105, 123, 131, 145, 159, 171, 207	倍半萜类(结构式示于图 2) <sup>[17-18]</sup>
19*	26.86	780.437 6	$C_{34}H_{68}O_{19}$	109, 127, 181, 211, 229, 295, 313, 331, 415, 780	二十七烷酸轮烷 <sup>[19]</sup>
20	28.42	624.371 3	$C_{48}H_{48}$	201, 217, 231, 257, 274, 295, 334, 367, 485, 573, 600	—
21	28.70	201.168 5	$C_{15}H_{20}$	120, 133, 147, 161, 175, 203	三甲基亚环戊烷苯基甲烷 <sup>[19]</sup>
22	29.85	203.184 0	$C_{15}H_{22}$	121, 133, 147, 161, 175, 203	脱氢香橙烯 <sup>[19]</sup>
23	30.11	217.158 8	$C_{15}H_{20}O$	119, 121, 129, 131, 143, 147, 157, 171, 183, 199, 217	苍术酮 <sup>[13]</sup>
24*	30.98	441.243 0	$C_{30}H_{32}O_3$	259, 271, 285, 297, 327, 339, 353, 365, 385, 413, 473	二苯萜类物质(结构式示于图 2) <sup>[19]</sup>

注:“—”表示尚未鉴定出;“\*”表示首次从该植物中发现

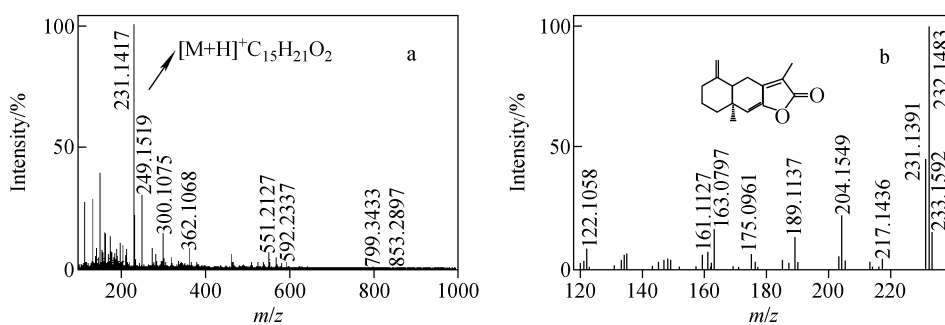


图3 峰6的一级质谱(a)与二级质谱(b)图

Fig. 3 MS(a) and MS/MS(b) spectrum of peak 6

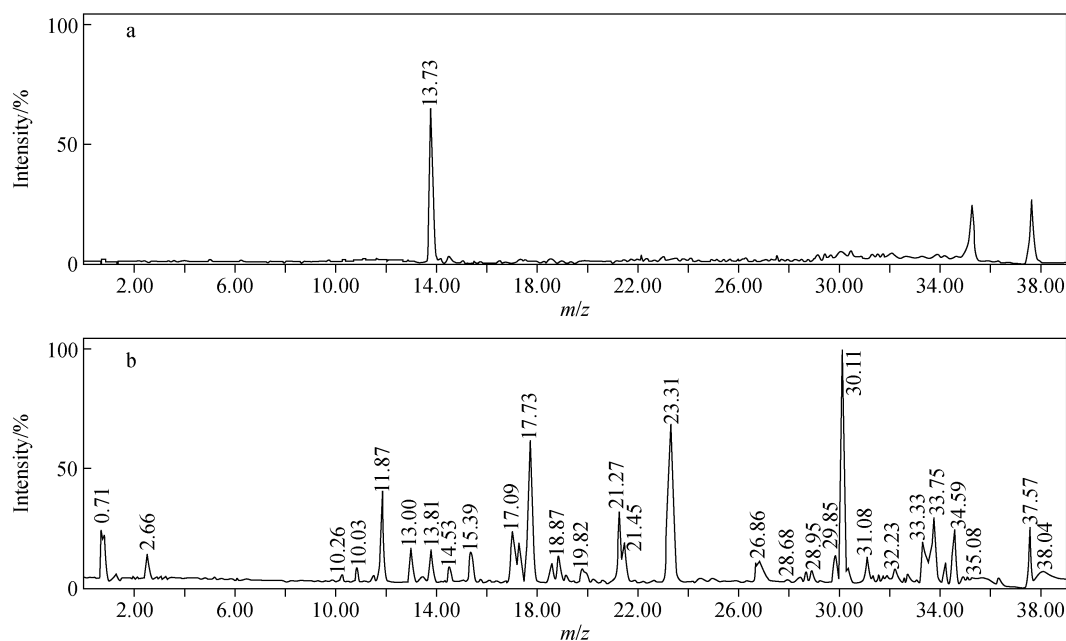


图4 标准品白术内酯I(a)与白术药材(b)的总离子流图

Fig. 4 Total ions chromatograms of the standard *Atractylenolide* I (a) and *Atractylodes macrocephala* Koidz (b) by UPLC-Q-TOF MS in positive ion mode

### 3 结论

本研究采用 UPLC/Q-TOF MS 技术快速鉴定了白术生药材中的 20 种化学成分, 主要包括白术内酯类、生物碱类、糖苷和有机酸等, 实验结果可为进一步研究白术药用物质奠定基础。实验表明, UPLC/Q-TOF MS 技术在中药物质基础化学成分鉴定研究中具有较好的定性分离作用, 是中药成分分析的有效手段。

#### 参考文献:

- [1] 杨翠平, 劳业兴, 吴凤薇, 等. 白术的研究进展[J]. 中药材, 2002, 25(3): 206-208.  
YANG Cuiping, LAO Yexing, WU Fengwei, et al.

Advance of *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2002, 25(3): 206-208(in Chinese).

- [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.

YANG E, ZHONG Yanmei, FENG Yifan. Advance on the chemical constituents and pharmacological effects of *Atractylodes macrocephala* Koidz[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2012, 28(2): 218-221(in Chinese).

- [3] 刘胜姿, 魏万之, 邱细敏, 等. 白术挥发油中苍术酮不同提取方法的薄层对比[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(4): 29-30.

- LIU Shengzi, WEI Wanzhi, QIU Ximin, et al. Comparison of different extraction method of thin layer of atractylone in volatile oil of Rhizoma *Atractylodes Macrocephalae* [J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2004, 24(4): 29-30(in Chinese).
- [4] 言丽娜. 苍术、白术中有效成分研究及中药材元素指纹图谱的建立[D]. 长沙:湖南师范大学, 2008.
- [5] 沈国庆. 白术化学成分及抗肿瘤部位活性研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2008.
- [6] 黄海英. 白术活性成分的提取、纯化及功能性研究[D]. 南昌:南昌大学生命科学学院, 2006.
- [7] 李伟. 白术的有效物质及质量研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2001.
- [8] KITSJIMA J, KAMOSHITA A, ISHIKAWA T, et al. Glycosides of *Atractylodes ovata* [J]. Chem Pharm Bull, 2003, 51(9): 1 106-1 108.
- [9] MISHCHENKO N P, MAXIMOV O B, KRIVOSHCHEKOVA O E, et al. Depsidones and fatty acids of *Parmelia stygia* [J]. Phytochemistry, 1984, 23(1): 180-181.
- [10] BALABAN M. Identification of the main phenolic compounds in wood of *Ceratonia siliqua* by GC-MS [J]. Phytochemical Analysis, 2004, 15(6): 385-388.
- [11] HUANG L F, LIANG Y Z, GUO F Q, et al. Simultaneous separation and determination of active components in *Cordyceps sinensis* and *Cordyceps militaris* by LC/ESI-MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2003, 33(5): 1 155-1 162.
- [12] ZHANG Q F, LUO S D, WANG H Y. Two new sesquiterpeness from *Atractylodes macrocephala* [J]. Chin Chem Lett, 1998, 9(12): 1 097-1 100.
- [13] 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): 1 460-1 462.
- LI Wei, WEN Hongmei, CUI Xiaobing, et al. Chemical constituents in rhizome of *Atractylodes macrocephala* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2007, 38(10): 1 460-1 462(in Chinese).
- [14] KITAJIMA J, KAMOSHITA A, ISHIKAWA T, et al. Glycosides of *Atractylodes ovata* [J]. Chem Pharm Bull, 2003, 51(9): 1 106-1 108.
- [15] LIN Y, JIN T, WU X, et al. A novel Bisesquiterpenoid, Blatraetylolide, from the Chinese herbal plant *Atractylodes macrocephala* [J]. J Nat Prod, 1997, 60(1): 27-28.
- [16] 林永成, 金涛, 袁至美, 等. 中药白术中一种新的双倍半萜内酯 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1995, 35(2): 75.
- LIN Yongcheng, JIN Tao, YUAN Zhimei, et al. A unique bisquiterpenoid from the Chinese herb medicine *Atractylodes macrocephala* [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 1995, 35(2): 75(in Chinese).
- [17] ZHANG Q, LUO S, WANG H. Two new sesquiterpeness from *Atractylodes macrocephala* [J]. Chin Chem Lett, 1998, 9(12): 1 097-1 100.
- [18] CHEN Z, CAO W, ZHOU G, et al. A sesquiterpene lactam from *Atractylodes macrocephala* [J]. Photochem Photobiol, 1997, 45(4): 765-767.
- [19] 吴素香, 吕圭源, 李万里, 等. 白术超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺及萃取物的化学成分研究 [J]. 中成药, 2005, 27(8): 885-887.
- WU Suxiang, LV Guiyuan, LI Wanli, et al. The SFE-CO<sub>2</sub> technologic study and the research of the chemical composition from SFE-CO<sub>2</sub> extract of *Atractylodes macrocephala* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2005, 27(8): 885-887(in Chinese).