

UPLC - Q - TOF 快速定性定量检测云南省茯苓中 13 种三萜类化合物

孙明月¹, 寇金蟾¹, 周荣贵², 林佶³

1. 大理大学公共卫生学院, 云南 大理 671000; 2. 昆明医科大学公共卫生学院; 3. 云南省疾病预防控制中心理化实验室

摘要:目的 利用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF)快速定性定量检测茯苓中 13 种茯苓三萜类化合物。方法 利用超声萃取法(甲醇)对茯苓中三萜类化合物进行提取。采用 ACQUITY UPLC © HSS C₁₈ 柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm)分离, 10 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸水溶液(A)和乙腈(B)为流动相梯度洗脱, 流速为 0.5 ml/min, 柱温 30℃, 采用负离子多反应监测模式进行检测, 利用精确分子量和二级质谱定性定量。结果 13 种茯苓三萜类化合物在线性范围内线性关系良好($r^2 \geq 0.99$), 样品加标回收率($n=6$)为 80.35% ~ 116.92%, 相对标准偏差为 1.88% ~ 9.7%, 在茯苓药材中 13 种茯苓三萜类化合物均被检测出, 检出量在 79 433 ~ 85 900 mg/kg 之间。结论 此方法操作简便、准确、高效、灵敏, 适用于茯苓药材中主要三萜类化合物的定性定量检测。

关键词:超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法; 三萜类化合物; 茯苓

中图分类号: R284.1; R115 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)02-322-06

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202309365

Qualitative and quantitative determination of 13 triterpenoids in *Wolfiporia cocos* from Yunnan by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry

SUN Ming-yue*, KOU Jin-chan, ZHOU Rong-gui, LIN Ji

* School of Public Health, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China

Abstract: Objective To realize rapid qualitative and quantitative detection of 13 triterpenoids in *Wolfiporia cocos* from Yunnan by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry. **Methods** Triterpenoids in *Wolfiporia cocos* were extracted by ultrasonic extraction (methanol). The separation was carried on an ACQUITY UPLC © HSS C₁₈ column (2.1 mm × 50mm, 1.7 μm) with, 10 mmol/L ammonium formate-0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile as mobile phase. The gradient elution flow rate was 0.5 ml/min, with the column temperature of 30℃. Negative ion multiple reaction monitoring mode was used for detection. Qualitative and quantitative analysis using secondary mass spectrometry and accurate molecular weight. **Results** 13 triterpenoids in *Wolfiporia cocos* were good with in the linear ranges ($r \geq 0.99$). The spiked recoveries were from 80.35% to 116.92%, with relative standard deviations of 1.88% to 9.7%. 13 triterpenoids were detected in *Wolfiporia cocos* samples, and the total contents were between 79 433 - 85 900 mg/kg. **Conclusion** The method is simple, accurate, efficient and sensitive, and it is suitable for the qualitative and quantitative detection of 13 triterpenoids in *Wolfiporia cocos*.

Keywords: UPLC-Q-TOF; *Wolfiporia cocos*; Triterpenoids

茯苓, 又名茯菟、万灵桂、玉灵, 归属于多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poriacocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 茯苓作为药食同源的传统中药^[1-2], 收录于《中国药典》2020 年版(一部)中, 性味甘、淡、平, 归心、肺、脾、肾经, 是历代的中医方子里用得最多的一味中

药^[3-5]。云南、湖北、安徽为茯苓的传统道地产区, 其中云南省茯苓品质优^[2]。茯苓中三萜类化合物是主要功效成分, 有增强免疫力、保肾利尿、抗肿瘤等多种功效^[6-11]。

茯苓中三萜类化合物的检测方法有高效液相色谱法、高效液相色谱-串联质谱法、超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF)等^[12], 其中 UPLC-Q-TOF 可快速准确地定性定量,

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2023Y0944)

作者简介: 孙明月(1996—), 女, 硕士在读, 研究方向: 公共卫生

通信作者: 林佶, E-mail: linji666@163.com

但现有文献只建立了茯苓酸、去氢茯苓酸等六七种物质的方法,本文建立了茯苓中 13 种三萜类化合物的 UPLC-Q-TOF 检测方法,并比较了云南省不同产地茯苓中三萜类化合物含量的差异^[2,10,13-14],为茯苓药理作用研究成分检测提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 G6550 型超高效液相色谱-串联四级杆飞行时间质谱仪(安捷伦);Nanopure 纯水机(美国 Barnstead 公司);HEIDOLPH 振荡器(德国海道尔夫公司);3-18K 大容量高速离心机(美国 Sigma 公司);KQ-300VDE 双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.1.2 试剂与材料 3-O-乙酰-16 α -羟基-氢化松苓酸(CAS:168293-13-8)、松苓新酸(CAS:29220-16-4)、3-O-乙酰基-16 α -羟基松苓新酸(CAS:168293-14-9)、猪苓酸 C(CAS:465-18-9)、去氢茯苓酸(CAS:77012-31-8)、茯苓酸(CAS:29070-92-6)、16 α -羟基松苓新酸(CAS:176390-66-2)、栓菌酸(CAS:24160-36-9,纯度 \geq 98%)、齿孔酸(CAS:560-66-7,纯度 \geq 94%),均购于成都乐美天医药科技有限公司;6 α -羟基猪苓酸 C(CAS:24513-63-1)、去氢土莫酸(CAS:6754-16-1)、3-表去氢土莫酸(CAS:167775-54-4,纯度 \geq 98%),均于四川省维克齐生物科技有限公司;土莫酸(CAS:508-24-7,纯度 \geq 98%),均于上海源叶生物科技有限公司;甲醇、乙醇、乙腈(色谱纯,德国 Fisher 公司);甲酸(色谱纯,纯度大于 90%,美国 SIGMA-ALDRICH 公司);乙酸铵(色谱纯,DUKSAN),实验用水(18.2 M Ω .cm)。

1.1.3 样品来源 云南省茯苓主要种植区,其中普洱 6 件、大理 6 件、保山 5 件、楚雄 3 件。本次样品采

集控制了茯苓的产地和部位,只采集白茯苓。

1.1.4 标准溶液配制 精密称取各标准品,加甲醇溶解并定容,配成单一标准储备液。将单一标准储备液稀释成 5 μ g/ml 的混合标准工作液,并将混合标准工作液逐级稀释制备成约 5~500 ng/ml 的混合标准系列。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 ACQUITY UPLC[®] HSS C₁₈ 柱(2.1 mm \times 50 mm,1.7 μ m,美国 Water 公司);进样量为 2 μ l,流速为 0.5 ml/min,柱温为 30 $^{\circ}$ C,流动相 A:0.1% 甲酸-10 mmol/L 乙酸铵水溶液;流动相 B:乙腈;梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 The gradient elution procedure

| 时间(min) | 流动相 A(%) | 流动相 B(%) |
|---------|----------|----------|
| 0.00 | 98.0 | 2.00 |
| 1.50 | 30.0 | 70.0 |
| 3.00 | 22.0 | 78.0 |
| 5.00 | 10.0 | 90.0 |
| 6.00 | 98.0 | 2.00 |

1.2.2 质谱条件 采用 Dual AJS 电喷雾电离负离子(ESI-)模式,离子源参数和特征谱库如表 2 和 3。

表 2 离子源参数

Table 2 Ion source parameters

| 项目 | 参数 |
|-------|--------------------------------------|
| 离子模式 | ESI- |
| 毛细管电压 | 4.0kV |
| 雾化器温度 | 250 $^{\circ}$ C |
| 雾化器压 | 35 psi |
| 干燥气流速 | 13.0 L/min |
| 鞘气流速 | 12.0 L/min |
| 鞘流气温度 | 350 $^{\circ}$ C |
| 参比离子 | m/z 112.99, m/z 601.98, m/z 1 033.99 |
| 扫描范围 | m/z 50~1 100 |

表 3 质谱参数

Table 3 Mass spectrometric parameters

| 化合物 | 分子式 | 保留时间(min) | 相对分子质量(Mr) | 碰撞能量(V) | 碎片离子(m/z) |
|------------------------------|--|-----------|------------|---------|------------------------------------|
| 6 α -羟基猪苓酸 C | C ₃₁ H ₄₆ O ₅ | 1.89 | 498.3 | 65 | 497.33 ^a ,108.02,171.98 |
| 3-表去氢土莫酸 | C ₃₁ H ₄₈ O ₄ | 2.54 | 484.4 | 55 | 483.35 ^a ,423.31,407.29 |
| 去氢土莫酸 | C ₃₁ H ₄₈ O ₄ | 2.21 | 484.4 | 58 | 483.85 ^a ,421.31,389.28 |
| 3-O-乙酰-16 α -羟基氢化松苓新酸 | C ₃₂ H ₅₀ O ₅ | 2.98 | 514.7 | 60 | 513.36 ^a ,251.87,288.29 |
| 猪苓酸 C | C ₃₁ H ₄₆ O ₄ | 2.43 | 482.3 | 60 | 481.33 ^a ,120.04,384.82 |
| 齿孔酸 | C ₃₁ H ₅₀ O ₃ | 4.54 | 470.4 | 55 | 469.37 ^a ,112.99,154.97 |
| 松苓新酸 | C ₃₀ H ₄₆ O ₃ | 3.91 | 454.3 | 60 | 453.34 ^a ,112.99,323.23 |
| 栓菌酸 | C ₃₀ H ₄₈ O ₃ | 4.12 | 456.4 | 60 | 455.35 ^a ,390.71,236.03 |
| 茯苓酸 | C ₃₃ H ₅₂ O ₅ | 3.24 | 528.4 | 60 | 527.37 ^a ,523.20,350.36 |
| 3-O-乙酰基-16 α -羟基松苓新酸 | C ₃₂ H ₄₈ O ₅ | 2.85 | 512.4 | 60 | 511.34 ^a ,492.71,480.84 |
| 去氢茯苓酸 | C ₃₃ H ₅₀ O ₅ | 3.08 | 526.4 | 60 | 525.36 ^a ,144.00,505.26 |

(续表)

| 化合物 | 分子式 | 保留时间 (min) | 相对分子质量 (Mr) | 碰撞能量 (V) | 碎片离子 (m/z) |
|---------------------|--|------------|-------------|----------|--------------------------------------|
| 16 α -羟基松苓新酸 | C ₃₀ H ₄₈ O ₄ | 2.09 | 470.3 | 60 | 469.33 ^a , 448.50, 461.34 |
| 土莫酸 | C ₃₁ H ₅₀ O ₄ | 2.26 | 486.4 | 60 | 485.36 ^a , 148.60, 423.32 |

注: a 表示定量离子。

1.3 样品前处理 使用高速中药粉碎机将茯苓磨成粉,过 80 目筛。精确称取茯苓粉 0.33 g 置于 50 ml 离心管中,用甲醇定容至 10 ml,振荡 20 min,使其充分混匀,超声(温度:15 ℃,频率:80 kHz)提取 80 min。经 10 000 r/min 的离心机离心 5 min 后,取上层清液 1 ml 过 0.22 μ m 滤膜,待测。

2 结果与讨论

2.1 提取试剂选择 甲醇、乙醇、乙腈、纯水 4 种试剂代表不同的极性,纯水的极性最大,乙腈的极性最小,而 13 种目标化合物的极性也有强有弱,故采用 4 种试剂来摸索提取效率,结果显示,提取效果甲醇 > 乙醇 > 乙腈 > 纯水,证明甲醇的提取效果最佳,故选用 100% 甲醇作为提取试剂。

2.2 料液比的选择 比较了 1:10、1:20、1:30、1:40 和 1:50 这 4 种料液比(固定采用纯甲醇进行提取)对茯苓的提取效率。可发现随着料液比的上升,所提取的总含量逐渐上升,在 1:30 时提取的总含量达到最高。故选用 1:30 作为料液比。

2.3 超声时间的选择 比较了放置 20 min、超声 20 min、40 min、60 min 和 80 min 5 种超声时间对茯苓的提取效率。可发现随着超声时间的上升,提取总含量逐渐上升,在超声 80 min 时达到最高,考虑到工作效率的关系,超声时间没有继续增加。故选用 80 min 作为超声时间。

2.4 超声温度的选择 比较了 15 ℃、30 ℃、45 ℃、60 ℃ 和 75 ℃ 5 种超声温度对茯苓的提取效率。可发现随着超声温度的上升,总含量逐渐下降,在 15 ℃ 时提取含量最高。故选用 15 ℃ 作为超声温度。

2.5 振荡时间的选择 比较了 10 min、15 min、20 min、25 min 和 30 min 5 种振荡时间对茯苓的提取效率。可发现随着振荡时间的上升,提取的总含量逐渐上升,在 20 min 达到最高,。故选用 20 min 作为振荡时间。

2.6 色谱条件优化

2.6.1 色谱柱选择 比较了 ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μ m)、ACQUITY UPLC[®] HSS C₁₈ 柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μ m)、ACQUITY UPLC[®] BEH Amide 柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μ m)、ACQUITY UPLC[®] HSS T3 柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μ m)、ACQUITY UPLC[®] BEH HILIC 柱(2.1 mm

× 100 mm, 1.7 μ m) 对目标化合物分离的影响,发现 C₁₈ 色谱柱能够将 13 种三萜类化合物全部分离出,且分离效果最佳,但 ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μ m) 分离的目标化合物峰型更好,故选用 C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μ m)。

2.6.2 流动相选择 在优选流动相时,选择了 0.1% 甲酸水-甲醇、0.1% 甲酸水-乙腈作比较,发现乙腈作为有机相时,可以分离出全部目标化合物,但峰形不太理想。之后再选用 5 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸水溶液-乙腈、纯水-乙腈、0.1% 氨水-乙腈、10 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸水溶液-乙腈进行比较。发现 5 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸水溶液-乙腈和 10 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相时,均可分离出 13 种目标化合物,但只有 10 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸水溶液-乙腈的响应值高峰形较好,且无杂峰,故选用 10 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相。

2.6.3 流动相梯度确定 通过确定色谱柱和流动相,目标化合物分离程度及响应值可,但峰形不太理想,通过调整洗脱梯度,使目标化合物的峰形理想,确定了最终的流动相梯度,见表 4。

表 4 梯度洗脱程序

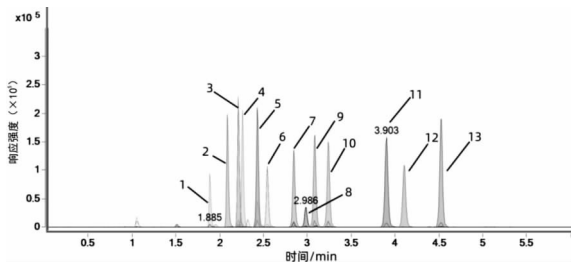
Table 4 The gradient elution procedure

| 时间 (min) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|----------|-----------|-----------|
| 0.00 | 98.0 | 2.0 |
| 1.50 | 30.0 | 70.0 |
| 3.00 | 22.0 | 78.0 |
| 5.00 | 10.0 | 90.0 |
| 6.00 | 98.0 | 2.0 |

综合使用以上色谱条件和质谱条件,得到 13 种三萜类化合物的标准色谱图(图 1)和质谱图(图 2)。

2.7 质谱条件优化

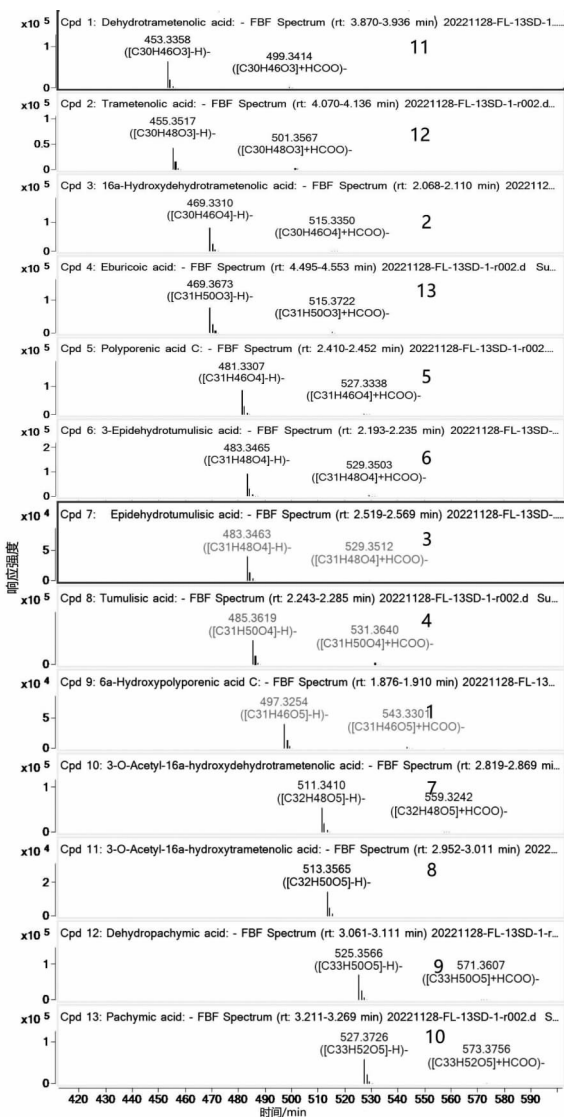
2.7.1 一级质谱参数的优化 采用 Dual AJS 电喷雾电离负离子(ESI⁻)模式,MS 采样模式,对所有标准品进行检测。首先对离子源参数进行优化,经反复试验得出最优的离子源参数如表 3,利用一级质谱条件,利用 13 种三萜类化合物的保留时间和精确质量数建好的特征谱库,对标准品溶液进行定性。调整保留时间偏差 < 0.1 min 和质量偏差 < 5 ppm。在比对 [M-H]⁻、[M+Cl]⁻、[M+Br]⁻ 等几种分子离子



峰号:1,6 α -猪苓酸 C;2,16 α -羟基松苓新酸;3,去氢土莫酸;4,土莫酸;5,猪苓酸 C;6,3-表去氢土莫酸;7,3-O-乙酰基-16 α -羟基松苓新酸;8,3-O-乙酰基-16 α -羟基去氢松苓新酸;9,去氢茯苓酸;10,茯苓酸;11,松苓新酸;12,栓菌酸;13,齿孔酸。

图 1 标准溶液色谱图

Fig. 1 The chromatogram of standard solution



注:1,6 α -猪苓酸 C;2,16 α -羟基松苓新酸;3,去氢土莫酸;4,土莫酸;5,猪苓酸 C;6,3-表去氢土莫酸;7,3-O-乙酰基-16 α -羟基松苓新酸;8,3-O-乙酰基-16 α -羟基去氢松苓新酸;9,去氢茯苓酸;10,茯苓酸;11,松苓新酸;12,栓菌酸;13,齿孔酸。

图 2 13 种三萜类化合物的质谱图

Fig. 2 The mass spectrogram of 13 triterpenoids

峰,发现[M-H]⁻峰的灵敏度最高且稳定,因此选择[M-H]⁻作为定量离子。选择使用 Agile 积分器。离子源参数不变。应用以上设置对 13 种目标化合物进行一级筛查,能够找到全部化合物,化合物响应信号强且峰形好,表明以上参数为最优参数,得到一级质谱图。

2.7.2 二级质谱参数的优化 保留一级质谱下的最优参数,选择 Targeted MS/MS 采样模式,在 Targeted List 输入在一级模式得出的目标化合物的保留时间和精确质量数。通过不断调整碰撞电压和 ISO. Width,选择使用 MS/MS 积分器,得出母离子相对丰度较低且响应稳定、而碎片离子相对丰度较高,杂质离子干扰少的二级质谱图,相对应的电压则为最优碰撞电压。最终确定 ISO. Width 为 Narrow (~1.3m/z),13 种三萜类化合物的最优碰撞电压及碎片离子见表 3。

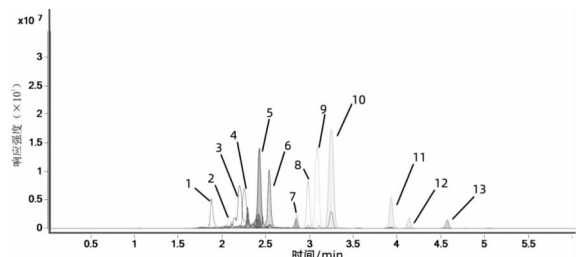
2.8 方法学考察

2.8.1 线性范围、检出限与定量限 在 5~500 ng/ml 的线性范围内,13 种三萜类化合物的线性方程、相关系数、检出限和定量限见表 5。方法的相关系数在 0.991 2~0.999 6 之间。用各物质的最低浓度点进样,以 3 倍信噪比计算出检出限,以 10 倍信噪比计算出定量限。

2.8.2 稳定性 将浓度 100 ng/ml 的标准混合液分别在 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、48h 时进行检测,RSD 均小于 5.27%,说明标准品溶液在 48 h 内稳定,见表 5。

2.8.3 加标回收率 以空白样品为基质,进行低、中、高三种浓度(20、200、500 ng/ml)的 6 份加标实验。计算得出方法的加标回收率及其相对标准偏差(RSD),见表 6。

2.9 实际样品检测 将采购的茯苓粉过 80 目筛,充分混匀。按本法进行处理测定,茯苓药材中 13 种三萜类化合物均被检测出,其中茯苓酸的含量最高,其次为松苓新酸。楚雄、大理、保山、普洱 4 个地州的茯苓样品三萜酸化合物总含量均值分别为 85 900 mg/kg > 84 240 mg/kg > 82 017 mg/kg > 79 433 mg/kg。样品色谱图见图 3。



注:每个峰的编号所指物质与图 1 相同。

图 3 某样品色谱图

Fig. 3 The chromatogram of a sample

表 5 方法的线性回归方程、相关系数、检出限、定量限和稳定性

Table 5 The linear regression equations, correlation coefficients, limits of detection, limits of quantitation and stability of the method

| 分析物 | 线性回归方程 | 相关系数 (r) | 检出限/(ng/ml) | 定量限/(ng/ml) | 稳定性/(%) |
|---------------------|---------------------------|----------|-------------|-------------|---------|
| 6α-羟基猪苓酸 C | Y = 932.43X + 736.36 | 0.999 7 | 4.3 | 14.0 | 3.19 |
| 3-表去氢土莫酸 | Y = 1 366.88X - 3 087.94 | 0.999 9 | 4.7 | 16.0 | 2.24 |
| 去氢土莫酸 | Y = 1 999.77 + 3 103.20 | 0.998 5 | 1.9 | 6.2 | 2.70 |
| 3-O-乙酰-16α-羟基氢化松苓新酸 | Y = 452.96X + 382.70 | 0.999 7 | 2.4 | 8.1 | 2.32 |
| 猪苓酸 C | Y = 2 978.47X - 26 412.25 | 0.995 6 | 2.3 | 7.7 | 4.36 |
| 齿孔酸 | Y = 3 352.28X - 31 863.95 | 0.997 5 | 3.4 | 11.0 | 4.36 |
| 松苓新酸 | Y = 6 895.30X - 61 389.20 | 0.998 7 | 6.5 | 21.5 | 3.58 |
| 栓菌酸 | Y = 1 997.23X + 122.15 | 0.999 8 | 6.3 | 21.0 | 5.27 |
| 茯苓酸 | Y = 2 573.09X - 15 292.58 | 0.997 6 | 4.0 | 13.0 | 4.25 |
| 3-O-乙酰基-16α-羟基松苓新酸 | Y = 2 176.42X - 11 155.93 | 0.998 1 | 4.5 | 15.0 | 2.15 |
| 去氢茯苓酸 | Y = 2 834.24X - 15 416.69 | 0.999 5 | 3.3 | 11.0 | 3.87 |
| 16α-羟基松苓新酸 | Y = 2 278.15X - 6 004.97 | 0.998 0 | 2.2 | 7.0 | 4.10 |
| 土莫酸 | Y = 1 999.77X + 3 103.20 | 0.998 5 | 2.5 | 8.4 | 2.95 |

表 6 方法的加标回收率和相对标准偏差(n=6)

Table 6 Recoveries and prelatve standard deviation of the method(n=6)

| 分析物 | 加标浓度 (ng/ml) | 回收率 ± 标准差 (%) | RSD (%) | 加标浓度 (ng/ml) | 回收率 ± 标准差 (%) | RSD (%) | 加标浓度 (ng/ml) | 回收率 ± 标准差 (%) | RSD (%) |
|---------------------|--------------|---------------|---------|--------------|---------------|---------|--------------|---------------|---------|
| 6α-羟基猪苓酸 C | 20 | 105.4 ± 10.2 | 9.70 | 200 | 104.8 ± 4.7 | 4.53 | 500 | 101.1 ± 2.3 | 2.43 |
| 3-表去氢土莫酸 | 20 | 103.2 ± 9.4 | 9.11 | 200 | 105.1 ± 3.3 | 3.31 | 500 | 109.5 ± 2.1 | 1.88 |
| 去氢土莫酸 | 20 | 95.58 ± 8.6 | 8.97 | 200 | 112.2 ± 4.4 | 3.91 | 500 | 113.2 ± 3.8 | 3.38 |
| 3-O-乙酰-16α-羟基氢化松苓新酸 | 20 | 107.0 ± 7.81 | 7.30 | 200 | 115.3 ± 5.1 | 4.43 | 500 | 110.7 ± 8.3 | 7.45 |
| 猪苓酸 C | 20 | 97.92 ± 5.7 | 5.82 | 200 | 106.8 ± 4.6 | 4.29 | 500 | 103.9 ± 4.7 | 4.53 |
| 齿孔酸 | 20 | 90.67 ± 5.2 | 5.75 | 200 | 103.4 ± 3.8 | 3.65 | 500 | 107.5 ± 3.2 | 2.97 |
| 松苓新酸 | 20 | 97.08 ± 9.3 | 9.54 | 200 | 103.8 ± 4.7 | 4.50 | 500 | 104.0 ± 2.1 | 2.02 |
| 栓菌酸 | 20 | 80.75 ± 3.57 | 4.43 | 200 | 91.58 ± 3.9 | 4.29 | 500 | 92.67 ± 2.4 | 2.61 |
| 茯苓酸 | 20 | 99.08 ± 7.7 | 7.77 | 200 | 103.9 ± 3.7 | 3.58 | 500 | 99.63 ± 2.3 | 2.30 |
| 3-O-乙酰基-16α-羟基松苓新酸 | 20 | 100.92 ± 5.8 | 5.74 | 200 | 100.9 ± 6.6 | 6.52 | 500 | 80.35 ± 39.3 | 8.76 |
| 去氢茯苓酸 | 20 | 98.42 ± 5.9 | 6.00 | 200 | 107.3 ± 6.5 | 6.06 | 500 | 81.97 ± 39.67 | 2.01 |
| 16α-羟基松苓新酸 | 20 | 97.83 ± 8.6 | 8.83 | 200 | 107.58 ± 3.8 | 3.53 | 500 | 111.47 ± 3.1 | 2.74 |
| 土莫酸 | 20 | 92.58 ± 7.9 | 8.53 | 200 | 116.92 ± 3.1 | 2.68 | 500 | 106.4 ± 3.2 | 3.00 |

3 结论

本研究通过优化色谱条件和质谱条件,建立了 UPLC-Q-TOF 检测茯苓中 13 种三萜类物质的快速定性定量方法,其线性关系、精密性、稳定性、回收率良好,可高效、快速、准确检测茯苓样品中三萜类化合物。13 种三萜类化合物在 6 min 内可全部洗脱出来,其峰形和分离效果良好,有效地缩短了检测时间。本文还比较了云南省楚雄、大理、保山、普洱 4 个地州茯苓样品三萜类化合物的总含量,发现不同产地对茯苓三萜类化合物含量有一定的影响。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

[1] 田双双,赵晓梅,刘勇,等. 茯苓药材和饮片质量标准研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(8):1734-1744.
Tian SS, Zhao XM, Liu Y, et al. Studies on quality standards of Poria[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(8): 1734-1744.

[2] 田双双,刘晓谦,冯伟红,等. 基于特征图谱和多成分含量测定的茯苓质量评价研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(7):1371-1380.
Tian SS, Liu XQ, Feng WH, et al. Quality evaluation of Poria based on specific chromatogram and quantitative analysis of multicomponents[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2019, 44(7): 1371-1380.

[3] 邢博,张霖,李杰庆,等. 云南野生与栽培茯苓中矿质元素含量研究[J]. 食品工业科技,2016,37(24):360-365, 379.
Xing B, Zhang J, Li JQ, et al. Determination of mineral elements of wild and cultivated Wolfiporia extensa collected from Yunnan[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(24): 360-365, 379.

[4] 蔺丽. 中药茯苓全产业链标准体系构建研究[D]. 武汉:湖北中医药大学,2022.
Lin L. Study on the construction of the whole industry chain standard system of traditional Chinese medicine Poria cocos[D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2022.

[5] 段启,姚丽梅,庄义修. 茯苓与茯苓皮中茯苓酸含量比较研究[J]. 中药新药与临床药理,2010,21(6):654-655, 659.
Duan Q, Yao LM, Zhuang YX. Comparison of contents of pachymic acid in poria and cortex sclerotii poriae by HPLC[J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2010, 21(6):

- 654-655, 659.
- [6] 江媛媛. “四时神药”茯苓[J]. 恋爱婚姻家庭: 月末, 2022, (1): 8-10.
Jiang YY. “Four seasons medicine” Poria cocos [J]. Love Marriage Family: End of the Month, 2022, (1): 8-10.
- [7] 蔡丹凤, 陈丹红, 黄熙, 等. 茯苓种质资源的研究进展[J]. 福建轻纺, 2015, (11): 36-41.
Cai DF, Chen DH, Huang X, et al. Research progress of Poria germplasm resources[J]. The Light & Textile Industries of Fujian, 2015, (11): 36-41.
- [8] 邹叶廷, 徐金娣, 龙芳, 等. 整合 UPLC-QTOF-MS/MS 全扫描和模拟 MRM 方法综合评价茯苓乙醇提取物与后续乙酸乙酯萃取物三萜酸类组分化学一致性[J]. 药学学报, 2019, 54(1): 130-137.
Zou YT, Xu JD, Long F, et al. Evaluation of chemical consistency of triterpene acids in ethanol extracts of Poria and acetic ether extracts thereof by UPLC-QTOF-MS/MS with full scan and mimic MRM mode[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2019, 54(1): 130-137.
- [9] 陈兴龙, 张敏, 杨琪瑶, 等. 茯苓 95% 乙醇提取物三萜类化学成分的 UPLC-IT-TOF/MS 分析[J]. 昆明医科大学学报, 2021, 42(11): 1-8.
Chen XL, Zhang M, Yang QY, et al. Analysis of triterpene chemical constituents in poria cocos 95% ethanol extract via UPLC-IT-TOF/MS [J]. Journal of Kunming Medical University, 2021, 42(11): 1-8.
- [10] 徐德宏, 谭朝阳, 郑慧, 等. 茯苓功效成分茯苓酸的研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(7): 273-280.
Xu DH, Tan CY, Zheng H, et al. Progress in research on the bioactive component pachymic acid from poria cocos [J]. Food Science, 2022, 43(7): 273-280.
- [11] 万鸣, 黄超, 王玉莹, 等. 不同产地茯苓中 7 种三萜类成分含量的测定及聚类分析[J]. 中国药房, 2020, 31(17): 2101-2106.
Wan M, Huang C, Yang YY, et al. Content determination and cluster analysis of 7 kinds of triterpenes in poria cocos from different habitats[J]. China Pharmacy, 2020, 31(17): 2101-2106.
- [12] 李娜, 杨远贵, 陈玥, 等. 超临界流体色谱法分析茯苓不同药用部位中三萜酸类成分[J]. 药学学报, 2021, 56(4): 1120-1126.
Li N, Yang YG, Chen Y, et al. Analysis of triterpenic acids in different medicinal parts of Poria cocos (Schw.) Wolf using supercritical fluid chromatography[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2021, 56(4): 1120-1126.
- [13] 张平, 郑志安, 江庆伍. 茯苓采后不同预处理方式对其品质及干燥特性的影响[J]. 农业工程学报, 2018, 34(20): 294-304.
Zhang P, Zheng ZA, Jiang QW. Effects of different pretreatment methods on quality and drying characteristics of Poria cocos after harvest [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2018, 34(20): 294-304.
- [14] 田玉桥, 尹火青, 袁涛, 等. 不同季节和天气采收的茯苓加工工艺及品质研究[J]. 农产品加工, 2018, (6): 20-22, 27.
Tian YQ, Yin HQ, Yuan T, et al. Research on processing technology and quality of poria cocos in different seasons and weather [J]. Farm Products Processing, 2018, (6): 20-22, 27.

收稿日期: 2023-09-19

(上接第 308 页)

- [15] 谭军. 上海市某区公立医疗机构医院感染横断面调查研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
Tan J. A cross-sectional study on Healthcare-Associated infections in public medical institutions in a district of Shanghai [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [16] 张满, 牟霞, 杨怀, 等. 2014 年贵州省 65 885 例住院患者医院感染横断面调查[J]. 现代预防医学, 2015, 42(16): 3040-3044.
Zhang M, Mu X, Yang H, et al. Cross-sectional survey on prevalence of nosocomial infections among 65 885 hospitalized patients in Guizhou province in 2014 [J]. Modern Preventive Medicine, 2015, 42(16): 3040-3044.
- [17] 任南, 细毛, 吴安华. 2014 年全国医院感染横断面调查报告 [J]. 中国感染控制杂志, 2016, 15(2): 83-87.
Ren N, Xi M, Wu AH. Nationwide cross-sectional survey on healthcare-associated infection in 2014 [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2016, 15(2): 83-87.
- [18] 张磊, 唐婷, 杨滢, 等. 云南省 203 家医疗机构医院感染横断面调查分析[J]. 中国消毒学杂志, 2022, 39(6): 452-455, 460.
Zhang L, Tang T, Yang Y, et al. A cross-sectional survey on healthcare-associated infection in 203 hospitals of Yunnan province [J]. Chinese Journal of Disinfection, 2022, 39(6): 452-455, 460.
- [19] 刘卫平, 海云婷, 贾红杰, 等. 内蒙古 151 所医院医院感染横断面调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(5): 780-783.
Liu WP, Hai YT, Jia HJ, et al. Cross-sectional survey of nosocomial infection in 151 hospitals of Inner Mongolia [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2019, 29(5): 780-783.
- [20] Boev C, Kiss E. Hospital-Acquired infections: current trends and prevention [J]. Critical Care Nursing Clinics of North America, 2017, 29(1): 51-65.
- [21] Finn J. Application of SBDD to the discovery of new antibacterial drugs [J]. Methods in Molecular Biology (Clifton, N. J.), 2012, 841: 291-319.
- [22] 全国医院感染监测网. 2020 年全国医院感染横断面调查报告 [EB/OL]. [2023-12-17]. <https://cniiss.yygr.cn/industryNews/view/download.shtml?id=4a01f6f82ee5432fb1e63da24fd11601>.
National Medical Institution Infection surveillance System of China. Report of a National cross-sectional survey of Nosocomial infections in 2020 [EB/OL]. [2023-12-17]. <https://cniiss.yygr.cn/industryNews/view/download.shtml?id=4a01f6f82ee5432fb1e63da24fd11601>.
- [23] Pavia M, Bianco A, Viggiani NM, et al. Prevalence of hospital-acquired infections in Italy [J]. Journal of Hospital Infection, 2000, 44(2): 135-139.
- [24] 吴安华, 任南, 文细毛, 等. 我国 178 所医院住院患者横断面抗菌药物使用率调查 [J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(12): 881-884.
Wu AH, Ren N, Wen XM, et al. Antibiotic usage in inpatients from 178 non-teaching hospitals in China: survey and analysis [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2002, 12(12): 881-884.
- [25] 中华人民共和国卫生健康委. 关于印发《“提高住院患者抗菌药物治疗前病原学送检率”专项行动指导意见》的函 [EB/OL]. [2023-12-17]. <https://cdfy120.edu.cn/info/1293/7948.htm>.
National Health Commission of the People's Republic of China. Letter on “Issuing the guiding opinions on the special action to improve the pre-treatment pathogenic testing rate of inpatient antibiotics” [EB/OL]. [2023-12-17]. <https://cdfy120.edu.cn/info/1293/7948.htm>.

收稿日期: 2023-06-19