

基于“成分-毒性”关联的不同炮制方法窄竹叶柴胡化学成分及减毒研究

田同汉¹, 吴双¹, 张天雷¹, 邢一凡¹, 杨硕¹, 盛洁静¹, 邹翔^{2*}, 曲中原^{1*}

1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 哈尔滨商业大学 药物工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

摘要: 目的 分析醋炙、黑豆制、甘草制、麸炒 4 种炮制方法对窄竹叶柴胡 *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum* 化学成分的影响, 基于“成分-毒性”关联筛选肝毒性相关成分, 探究减毒内涵。方法 以正常小鼠构建体内评价模型, 通过检测血清中天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 活性, 结合肝脏组织病理学切片观察, 明确治疗剂量下窄竹叶柴胡生品的肝毒性风险。以人正常肝细胞 L02 构建体外肝毒性评估模型, 对比 4 种炮制品与生品对 AST、ALT 活性的影响, 筛选最佳减毒炮制方法。采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间串联质谱技术对不同产地炮制前后化学成分进行表征; 通过主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA) 及正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 比较炮制前后成分变化。通过皮尔森相关性分析、灰色关联度分析建立共有成分峰面积与 L02 细胞 AST、ALT 水平的相关性, 筛选潜在肝毒性成分。以斑马鱼为模型, 考察柴胡皂苷 a (saikosaponin a, SSa)、柴胡皂苷 d (saikosaponin d, SSd)、柴胡皂苷 b₁ (saikosaponin b₁, SSb₁)、柴胡皂苷 b₂ (saikosaponin b₂, SSb₂) 的肝毒性差异。结果 血清生化指标检测结果表明, 与空白对照组相比, 窄竹叶柴胡生品高、中剂量组的 AST、ALT 水平显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.05), 组织病理学结果显示窄竹叶柴胡并未引起病理性肝损伤。醋炙品和黑豆制品组的 AST、ALT 水平较生品组显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 甘草组制次之, 而麸炒组无显著差异。生品和不同炮制品共鉴别出 37 个成分, 其中共有成分 27 个, 醋炙、黑豆制、甘草制后化学成分发生了变化。SSa、3"-O-乙酰基-SSa、4"-O-乙酰基-SSa、SSd、丙二酰基-SSa、3"-O-乙酰基-SSd 为窄竹叶柴胡的潜在肝毒性成分。SSd 潜在肝毒性大于 SSa, 转化后的 SSb₂、SSb₁ 的毒性降低。结论 窄竹叶柴胡生品对肝功能指标有一定的影响, 醋炙、黑豆制是有效减毒方法, 其减毒的核心机制与促进 SSa 和 SSd 转化为低毒性皂苷有关。

关键词: 窄竹叶柴胡; 肝毒性; 减毒; 醋炙; 黑豆制; 柴胡皂苷 a; 柴胡皂苷 d; 柴胡皂苷 b₁; 柴胡皂苷 b₂

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)23-8571-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.010

Study on toxicity reduction of different processing methods for *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum* based on “component-toxicity” correlation

TIAN Tonghan¹, WU Shuang¹, ZHANG Tianlei¹, BING Yifan¹, YANG Shuo¹, SHENG jiejing¹, ZOU Xiang², QU Zhongyuan¹

1. College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Pharmaceutical Engineering Technology Research Center, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

Abstract: Objective To analyze the effects of four processing methods (vinegar stir-frying, black soybean processing, glycyrrhiza processing and bran stir-frying) on the chemical components of *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum* (BM), screen its hepatotoxic components based on the “ingredient-toxicity” correlation system, and explore the connotation of attenuation. **Methods** Normal mice

收稿日期: 2025-09-21

基金项目: 黑龙江省自然科学基金联合引导项目 (PL2024H196); 黑龙江省普通本科高等学校“优秀青年教师基础研究支持计划”项目 (YQJH2024086); 黑龙江省高等学校基本科研业务费项目 (2024-KYYWF-1018); 龙江科技英才春雁支持计划 (CYCX24009); 鸡西市“揭榜挂帅”科技攻关项目 (JKJB2024H03)

作者简介: 田同汉, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制研究。E-mail: 15213956290@163.com

*通信作者: 曲中原, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制与中药药效物质基础研究。E-mail: qiuququ@163.com

邹翔, 研究员, 博士生导师, 从事中药防治肿瘤抑郁共病药效物质及分子机制。E-mail: zouxiang@hrbcu.edu.cn

were used to establish an *in vivo* evaluation model. The activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in serum were detected, and the liver histopathological sections were observed to clarify the risk of liver toxicity of the crude products at therapeutic doses. Human normal liver cell L02 was used to construct an *in vitro* hepatotoxicity evaluation model, and the effects of four processed products and raw products on AST and ALT activities were compared to screen the best attenuation processing method. Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry was used to characterize the chemical components before and after processing in different regions. Principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to compare the changes of components before and after processing. Pearson correlation analysis and grey correlation analysis were used to establish the correlation between the peak area of common components and the levels of AST and ALT in L02 cells, and to screen potential hepatotoxic components. Zebrafish was used as a model to investigate the differences in hepatotoxicity of saikosaponin a (SSa), saikosaponin d (SSd), saikosaponin b₁ (SSb₁), and saikosaponin b₂ (SSb₂). **Results** The results of serum biochemical index detection indicated that compared with the blank control group, the levels of AST and ALT in the high-dose and medium-dose groups of raw *B. marginatum* var. *stenophyllum* were significantly increased ($P < 0.01, 0.05$). The histopathological results showed that *B. marginatum* var. *stenophyllum* did not cause pathological liver injury. AST and ALT levels in vinegar stir-frying and black soybean processing groups were significantly lower than those in raw product group ($P < 0.05, 0.01$), followed by glycyrrhiza group, while there was no significant difference in bran stir fried products. A total of 37 components were identified in the raw products and different processed products, including 27 components. The chemical composition changed after vinegar stir-frying, black soybean processing, and licorice processing. SSa, 3"-O-acetyl-SSa, 4"-O-acetyl-SSa, SSd, malonyl-SSa, and 3"-O-acetyl-SSd were the potential hepatotoxic components of BM. The potential hepatotoxicity of SSd was greater than that of SSa, and the toxicity of transformed SSb₂ and SSb₁ was reduced. **Conclusion** The crude products of BM have certain effects on liver function indexes, and the preparation with vinegar stir-frying and black soybean is an effective method for attenuation. The core mechanism of attenuation is related to promoting the conversion of SSa and SSd into low toxic saponins.

Key words: *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC. var. *stenophyllum* (Wolff) Shan et Y. Li; hepatotoxicity; detoxification; vinegar stir-frying; black soybean processing; saikosaponin a; saikosaponin d; saikosaponin b₁; saikosaponin b₂

窄竹叶柴胡来源于伞形科植物窄竹叶柴胡 *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC. var. *stenophyllum* (Wolff) Shan et Y. Li 的干燥根, 始载于《滇南本草》, 性苦, 寒, 归胆、肝二经, 具有解表和里、升阳解郁的功效, 以“竹叶柴胡(柴胡)”之名收载于《贵州省中药材民族药材质量标准》, 将其作为柴胡使用^[1]。近年在甘肃康乐县、临洮县多有种植。柴胡为临床常用中药。清朝医家叶天士提出的“柴胡劫肝阴”之说, 为后世关注其用药安全性提供了重要警示。临床研究发现长期过量使用柴胡制剂有明显的肝、肾和血液系统毒性^[2-3], 与柴胡皂苷 a (saikosaponin a, SSa)、柴胡皂苷 d (saikosaponin d, SSd) 的含量成正比^[4]。柴胡皂苷既是主要药效成分, 又是产生肝毒性成分^[5]。长期服用柴胡皂苷提取物会导致大鼠肝脏出现肝细胞核固缩、肝细胞水肿等情况^[6]。体外实验发现 SSa 和 SSd 会抑制正常肝细胞的生长^[7-8]。窄竹叶柴胡中柴胡皂苷含量为北柴胡的 2~3 倍^[4]。高皂苷含量的窄竹叶柴胡直接应用会存在安全隐患, 因此要重视对其炮制减毒的研究。本研究以炮制理论为指导, 采用醋炙、黑豆制、甘草

制、麸炒 4 种方法炮制窄竹叶柴胡。窄竹叶柴胡的化学成分以皂苷类和挥发油类为主。上述炮制方法中, 醋炙引药入肝, 增疏肝之效^[9], 为《中国药典》2025 年版中柴胡的炮制方法; 黑豆制和甘草制则均为以皂苷类为主要成分的药材常见炮制减毒方法^[10-11]; 麸炒具有缓和燥性作用, 主要用于以挥发油类成分为主的药材的炮制^[12]。因此, 本研究在探究有效剂量下窄竹叶柴胡肝毒性的基础上, 立足炮制减毒的核心目标, 系统采用不同方法进行炮制, 筛选有效方法, 并结合体外肝细胞毒性实验进行毒性物质基础分析及验证, 深入解析炮制对毒性成分的调控机制, 为窄竹叶柴胡的安全临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 动物与细胞

健康雄性 ICR 小鼠 (200±20) g [SPF 级, 长春百科生物科技股份有限公司, SCXK (辽) 2020-0001]。动物实验由哈尔滨商业大学药理学伦理委员会批准 (HSDYXY-2022026)。正常人肝细胞系 (L02) 由哈尔滨商业大学药学院提供。成年野生型 AB 系斑

马鱼由国家斑马鱼资源中心提供。

1.2 药物与制剂

窄竹叶柴胡药材购于甘肃省康乐县、临洮县，为伞形科植物窄竹叶柴胡 *B. marginatum* Wall. ex DC. var. *stenophyllum* (Wolff) Shan et Y. Li 的干燥根；北柴胡饮片购于黑龙江省哈尔滨市同仁堂药店，基原为伞形科植物柴胡 *B. chinense* DC. 的干燥根；甘草饮片购于北京同仁堂哈尔滨药店，基原为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根。所有药材均经哈尔滨商业大学药学院曲中原教授鉴定；黑豆购于黑龙江省哈尔滨市大润发超市，产自黑龙江省五常市；麦麸（20211215）购于哈尔滨三棵树中药材市场，产自安徽淮南。陈醋（SC103140120131X）为山西水塔醋业股份有限公司生产。

SSa（批号 DSTDC000601）、SSd（批号 DSTDC000802）、SSb₂（批号 DSTDC001002）购于成都乐美天医药科技有限公司，质量分数≥98%；SSb₁（批号 RP230220，质量分数≥98%）购于成都麦德生科技有限公司；小鼠天冬氨酸氨基转移酶（aspartate aminotransferase, AST）试剂盒（批号 C010-2-1）、小鼠丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase, ALT）试剂盒（批号 C009-2-1）购自南京建成生物工程研究所；斑马鱼 AST 试剂盒（AD202507）、斑马鱼 ALT 试剂盒（批号 AD202507）购自安迪基因有限公司；RPMI 1640 培养液（批号 8117044）购自大连美仑生物科技有限公司；胎牛血清（批号 2108455）购自浙江天杭生物科技股份有限公司；0.25%胰酶（20210930）购自上海碧云天科技有限公司；乙腈、甲酸、甲醇（色谱纯）购自德国默克集团；水为超纯水购自屈臣氏。

1.3 仪器

Waters SYNAPT G2-Si 高分辨质谱仪；ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱；赛默飞 U3000 高效液相；iMark 酶标仪[伯乐生命医药产品（上海）有限公司]；低温高速离心机（赛默飞世尔科技有限公司）；CO-150 二氧化碳培养箱（美国 NBS 公司）；Olympus CKX41SF 倒置显微镜。

2 方法

2.1 生品饮片及炮制品的制备

2.1.1 生品 药材净制后剪成长度为 10 mm 的段，置于 60 °C 烘箱内干燥，备用。

2.1.2 醋炙品 取生品饮片 10 g，按 5 : 1 的比例加入陈醋，闷润 4 h 后，炒至变干，备用^[9]。

2.1.3 黑豆制品 在笼屉上铺好以水浸透的纱布，取生品饮片 10 g 平铺在纱布上，上方再铺一层纱布，将提前泡好的 25 g 黑豆倒在上层纱布上，蒸 2 h，取出后将饮片置于 60 °C 烘箱内干燥，备用^[10]。

2.1.4 甘草制品 取 0.6 g 甘草饮片置于砂锅内，加 50 mL 水浸泡 30 min，并回流提取 3 次，每次 45 min，合并滤液后浓缩。取 10 g 生品饮片，加入甘草汁浓缩液，文火加热至甘草汁被吸尽，置于 60 °C 烘箱内干燥，备用^[11]。

2.1.5 麸炒品 将炒锅加热至 240 °C，撒入 1.5 g 麦麸，炒制烟起，倒入 10 g 生品饮片，炒至饮片变成焦黄色，取出备用^[12]。

2.2 提取物的制备

分别取窄竹叶柴胡生品-康乐（BM-K）、醋炙品-康乐（VBM-K）、黑豆制品-康乐（BBM-K）、甘草制品-康乐（LBM-K）、麸炒品-康乐（SBM-K）、生品-临洮（BM-L）、醋炙品-临洮（VBM-L）、黑豆制品-临洮（BBM-L）、甘草制品-临洮（LBM-L）、麸炒品-临洮（SBM-L）和北柴胡（BC）粉末（4 号筛）适量，加入 10 倍量 95%乙醇，连续 2 次分别回流提取 1.5 h，合并 2 次滤液，挥干溶剂后备用。

2.3 窄竹叶柴胡生品肝毒性考察

参考《中国药典》2025 年版柴胡临床用量，窄竹叶柴胡分别设置 0.5、1.0、2.0、4.0 g/kg 4 个给药剂量^[13]，北柴胡为 2.0 g/kg。取 60 只健康 ICR 雄性小鼠，按体重随机分为对照组、北柴胡（BC）组、窄竹叶柴胡（康乐产地）生品（BM）高、中、低、最低剂量（0.5、1.0、2.0、4.0 g/kg）组，每组 10 只。适应性喂养 10 d 后，于第 11 天开始，各组小鼠分别 ig 给药 14 d，结束后取材，每组摘除眼球取血，于 4 °C 下 4 500 r/min 离心 15 min，分离血清，取上清置于 -20 °C 冰箱内保存待测。将各组小鼠的肝脏组织剪成组织小块，置于 10%福尔马林中固定，经脱水、包埋、切片后进行 HE 染色，观察各组小鼠肝脏的病理学变化并进行拍照。取待测血清，按 1 : 9 比例加入生理盐水，离心 10 min（4 °C、12 000 r/min），取上清液，按说明书测定各组小鼠血清中 AST 和 ALT 的活性。

2.4 基于人正常 L02 肝细胞的窄竹叶柴胡炮制减毒研究

2.4.1 MTT 法测不同炮制品对 L02 细胞的增殖抑制作用 取对数生长期 L02 细胞，制成悬液并计数，用培养基稀释至 3×10^4 个/mL。96 孔板外围加 PBS，其余孔加 100 μ L 细胞悬液，培养 24 h 至细胞贴壁。

对照组加 100 μL 无血清培养基, 给药组设 700、900、1 100、1 300、1 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 5 个质量浓度 (每孔 100 μL , $n=6$), 续培养 24 h。每孔加 20 μL MTT, 孵育 4 h 后弃液, 加 100 μL DMSO 振荡 10 min, 470 nm 测吸光度 (A), 计算细胞抑制率。

$$\text{细胞抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{给药}}) / A_{\text{对照}}$$

2.4.2 AST、ALT 活性测定 实验设置 11 组, 分别为对照组、BM-K 组、VBM-K、BBM-K 组、LBM-K 组、SBM-K 组、BM-L 组、VBM-L 组、BBM-L 组、LBM-L 组、SBM-L 组, 提取物按照“2.2”项下制备。取正常肝细胞铺好 96 孔板, 培养 24 h 后取出观察。确认贴壁后, 对照组加入 100 μL 不含血清的细胞培养液, 各给药组分别加入质量浓度为 1 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的相应药液 ($n=6$), 培养 24 h 取出收集各组培养液, 离心后吸取上清液测定 AST、ALT 活性。

2.5 窄竹叶柴胡成分分析

2.5.1 UPLC-Q-TOF-MS/MS 供试液的制备 取窄竹叶柴胡粉末 2 g, 按照“2.2”项下方法进行提取, 挥干溶剂后, 用甲醇溶解定容至 25 mL。上清液用有机系 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 备用。

2.5.2 色谱条件 色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈 (A) 和 0.1% 甲酸-水 (B), 梯度洗脱: 0~2 min, 80%~70% B; 2~4 min, 70%~55% B; 4~16 min, 55% B; 16~17 min, 55%~35% B; 17~18 min, 35%~10% B; 18~19 min, 10% B~100% A; 19~21 min, 100% A; 21~22 min, 100% A~80% B; 22~24 min, 80% B。体积流量为 0.3 mL/min; 进样量 2 μL ; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.5.3 质谱条件 离子源为 ESI; 温度 500 $^{\circ}\text{C}$; 离子源电压-4 500 V (负离子模式); 碰撞能量-40 V (负离子模式); 气体 1 (氮气) 和气体 2 (氮气) 压力均为 379.21 kPa。全扫描范围为 m/z 50~1 200。

2.5.4 窄竹叶柴胡数据库的建立 根据窄竹叶柴胡、竹叶柴胡、柴胡化学成分的相关文献报道, 结合 Pubchem、TCMSP、Chemspider 数据库搜寻相关化学成分, 建立含有化合物名称、CAS 号、分子式、结构式的综合窄竹叶柴胡数据库。

2.5.5 共有峰图谱的建立 采集 2 产地窄竹叶柴胡生品及炮制品的质谱信息并提取基峰离子色谱图, 自动叠加获取色谱图。将所获得的化合物的实际分子质量与所建立数据库中的理论值进行比对, 计算误差值, 对误差值小于 1×10^{-6} 的化合物进行进一

步解析。通过将化合物的二级碎片离子及保留时间等信息与所建立的数据库进行比对, 结合对照品数据信息和文献资料进行鉴定。

2.5.6 差异成分确定 为筛选窄竹叶柴胡生品及各炮制品组间差异化学成分, 建立窄竹叶柴胡生品及各炮制品组的化合物峰面积表格, 通过峰面积变化指数 (change index, CI) 可反映窄竹叶柴胡炮制后化学成分量变情况, $\text{CI} = \text{炮制品离子峰面积}/\text{对应保留时间的生品离子峰面积}$ ^[14]。CI 值为 1 提示炮制前后对应成分含量无变化, 大于 1 提示离子峰对应成分含量经炮制后升高, 小于 1 提示离子峰对应成分含量经炮制后降低。采用 SIMCA-P13.0.0 软件进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA) 及正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)。明确 $\text{VIP} > 1$ 的成分, 进而在 IBM SPSS Statistics 21.0 软件中筛选出满足 $\text{VIP} > 1$ 、 $P < 0.05$ 的成分。

2.6 肝毒性成分筛选

2.6.1 Pearson 相关性分析 将各共有峰峰面积设为 X , 将 AST、ALT 数据作为 Y , 采用 SPSS 软件分析两变量间的相关系数 (r)。 r 的正负分别表示正相关或负相关; r 在 0.6~1.0 时, 两变量呈强相关; r 在 0.4~0.5 时, 两变量呈中等相关; r 在 0~0.3 时, 两变量呈弱相关或不相关^[15]。

2.6.2 灰色关联度分析 将 AST、ALT 数据作为母序列, 共有峰面积设为子序列, 对所有数据进行无量纲处理。计算灰色关联系数和关联度 (r), 当 $r > 0.6$ 时, 表示两变量间相关, 当 $r \geq 0.7$ 时, 表示母序列与子序列间关联程度较高^[16-17], 因此本研究将 $r > 0.65$ 设为表征两变量相关的标准。

2.7 SSa、SSd、SSb₁ 和 SSb₂ 肝毒性实验

斑马鱼评价单体成分肝毒性实验时, 将斑马鱼随机分为 14 组, 空白组 (养殖用水)、溶剂对照组 (0.1% DMSO) 以及 SSa、SSd、SSb₁ 和 SSb₂ 药物组, 每个药物设 5、20、80 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 3 个剂量组。每组 10 尾鱼。将斑马鱼置于鱼缸中, 每缸加入对应浓度药液, 连续暴露 7 d, 期间每日更换 1/3 新鲜药液, 每日观察并记录斑马鱼存活、游动及摄食情况。实验结束后, 使用三卡因麻醉斑马鱼, 取肝脏并按 1:9 比例加入生理盐水在冰上进行匀浆, 离心 10 min (4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min), 取上清液, 按说明书测

定各组斑马鱼肝脏中 AST 和 ALT 的活性。

2.8 统计学方法

所有数据均采用 IBM SPSS Statistics 21.0 软件经过 Shapiro-Wilk 检验数据是否符合正态分布。符合正态分布的数据进一步采用单因素方差分析 (ANOVA) 评估组间差异的显著性。

3 结果

3.1 小鼠肝脏病理检测结果

肝脏病理结果如图 1 所示, 与对照组相比, 各给药组没有出现明显的肝细胞肿胀、脂肪变性, 也没有炎细胞浸润等肝损伤的表现, 故治疗剂量下不会引起病理性损伤。

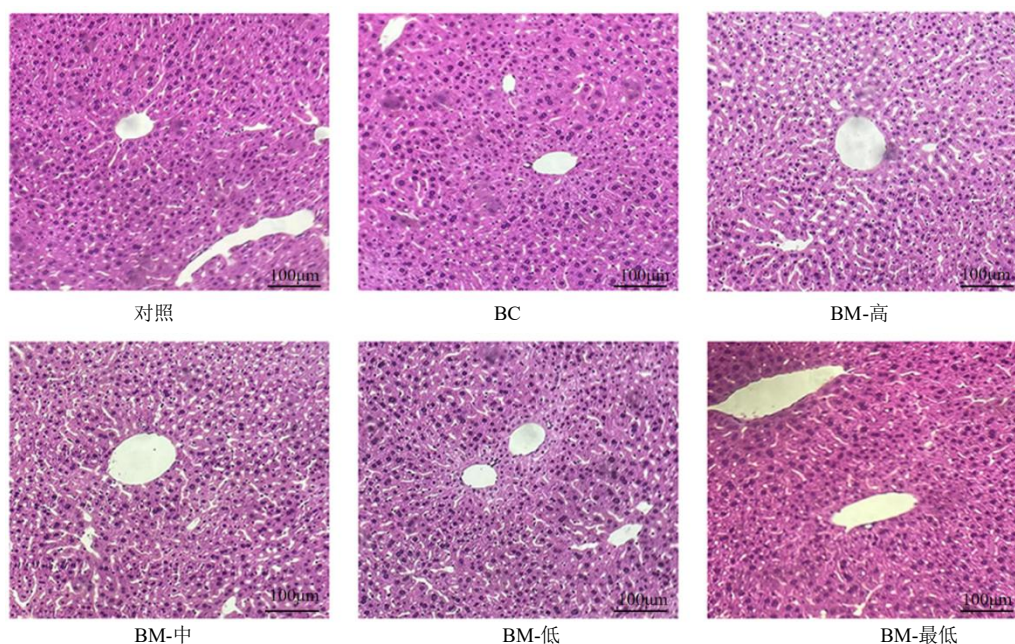


图 1 小鼠肝脏组织病理学表现 (×200, HE 染色)

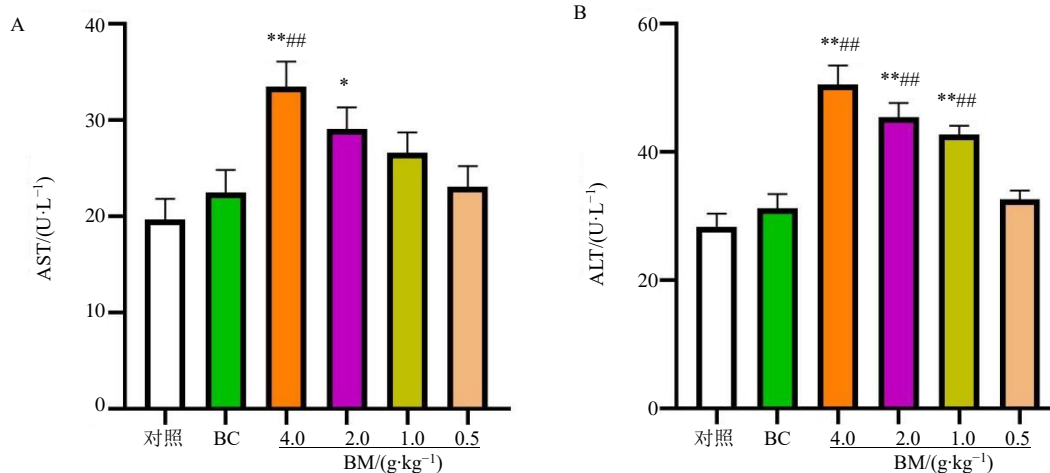
Fig. 1 Histopathological manifestations of mouse liver (× 200, HE)

3.2 小鼠血清 AST 和 ALT 活性测定

如图 2 所示, 与对照组相比, BM 高、中剂量组的 AST、ALT 指标均有明显升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。BM 低剂量组 ALT 活性与对照组相比显著升高 ($P < 0.01$)。

3.3 不同产地窄竹叶柴胡生品及不同炮制品对 L02 细胞的增殖抑制作用

MTT 结果如表 1 和图 3 所示, 相比生品组, 2 个产地的醋炙品、黑豆制品、甘草制品的 IC_{50} 值均



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 BC 组比较: ### $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; ### $P < 0.01$ vs BC group.

图 2 小鼠血清 AST (A)、ALT (B) 活性测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 AST (A) and ALT (B) determination results of mouse serum ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

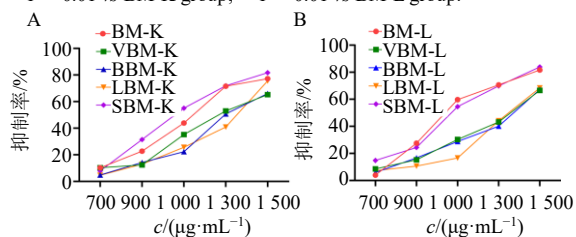
表 1 窄竹叶柴胡生品及不同炮制品对 L02 细胞的生长抑制效果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Inhibitory effect of BM and its different processed products on growth of L02 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	IC ₅₀ /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
对照	—
BM-K	1 089.67 ± 30.67
VBM-K	1 297.00 ± 8.90**
BBM-K	1 301.00 ± 19.51**
LBM-K	1 320.67 ± 25.95**
SBM-K	995.00 ± 26.99
BM-L	1 044.33 ± 54.16
VBM-L	1 315.67 ± 17.61 $\Delta\Delta$
BBM-L	1 322.67 ± 17.91 $\Delta\Delta$
LBM-L	1 343.33 ± 25.10 $\Delta\Delta$
SBM-L	1 053.30 ± 3.39

与 BM-K 组比较: ** $P < 0.01$; 与 BM-L 组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs BM-K group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs BM-L group.



A-康乐产地; B-临洮产地。

A-origin of Kangle; B-origin of Lintao.

图 3 窄竹叶柴胡生品及不同炮制品对 L02 细胞的生长抑制曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Inhibition curve of BM and its different processed products on growth of LO2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

有明显升高 ($P < 0.01$), 表明 3 种炮制方法均能明显降低窄竹叶柴胡生品对 L02 细胞的生长抑制作用, 即可以起到降低肝毒性的作用。而 SBM-K 组无明显降低作用, 表明麸炒制品的减毒作用较弱。

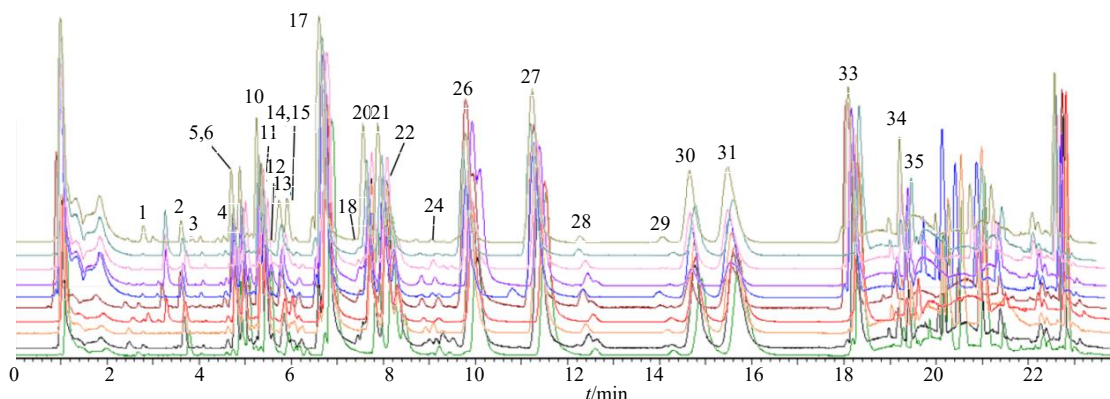
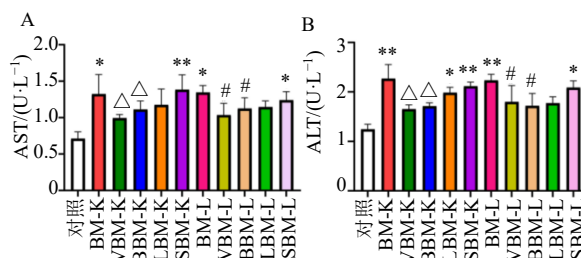


图 5 窄竹叶柴胡生品及不同炮制品 BPC 叠加图谱

Fig. 5 Superposition of BPC images of BM and its processed products

3.4 AST、ALT 活性测定结果

2 个产地不同炮制品对 L02 细胞 AST、ALT 活性的测定结果见图 4。与对照组相比, BM-K、SBM-K、BM-L、SBM-L 组均能够明显增强 L02 细胞上清液中 AST 和 ALT 活性 ($P < 0.05$ 、 0.01); LBM-K 组能够显著提高 L02 细胞上清液中 ALT 活性 ($P < 0.05$), 表明窄竹叶柴胡生品有较强肝毒性, 经过麸炒后其肝毒性仍未改变。甘草制后肝毒性有一定程度的降低。与 2 个产地 BM 组相比, VBM-K、BBM-K、VBM-L、BBM-L 组的 AST、ALT 水平显著降低 ($P < 0.05$), 且与对照组相比无显著差异, 证明醋炙和黑豆制这 2 种炮制方法可以显著降低肝毒性的作用。



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 BM-K 组比较: $\Delta P < 0.05$;

与 BM-L 组比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs BM-K group; # $P < 0.05$ vs BM-L group.

图 4 窄竹叶柴胡生品及不同炮制品对 L02 细胞的 AST (A)、ALT (B) 活性影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effects of BM and its different processed products on AST (A) and ALT (B) activities of L02 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.5 共有成分的筛选

“2.2”项下 10 个组负离子模式下 BPC 图叠加图谱见图 5, 共鉴定出 36 个成分, 其中 27 个为共有成分, 信息见表 2, 图 5 中对共有成分进行了标注。

表 2 不同产地窄竹叶柴胡生品及炮制品的化学成分信息

Table 2 Chemical composition information of BM and its processed products

编号	t _R /min	离子模式	m/z		误差 (1×10 ⁻⁶)	分子式	碎片离子 (m/z)	鉴定结果	CI 值				
			理论值	实测值					BM	VBM	BBM	LBM	SBM
1	2.89	[M+HCOO] ⁻	1 003.511 9	1 003.510 3	-1.59	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₉	1 003.510 3, 957.500 7, 795.422 1	SSq ^[18]	1	1.36	1.65	1.13	1.03
2	3.78	[M+HCOO] ⁻	855.435 3	855.437 1	2.10	C ₄₄ H ₇₄ O ₁₃	855.437 1, 809.431 9, 779.419 8, 617.368 0	SSm ^[19]	1	1.24	1.29	1.85	1.14
3	3.84	[M+HCOO] ⁻	857.490 4	857.491 6	1.40	C ₄₃ H ₇₂ O ₁₄	857.496 1, 811.482 0, 649.431 1	SSb ₄ ^[4]	1	1.96	1.53	1.83	1.44
4	4.71	[M+HCOO] ⁻	843.473 6	843.474 7	1.30	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₄	843.473 6, 797.468 6, 635.413 9	羟基柴胡皂苷 a ^[4]	1	1.13	1.04	1.11	1.05
5	4.89	[M+HCOO] ⁻	987.517 3	987.517 2	-0.10	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	987.516 0, 941.510 9, 617.399 1,	SSs ^[4]	1	1.07	1.23	1.19	1.02
6	5.00	[M+HCOO] ⁻	987.517 3	987.516 5	-0.81	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	987.516 5, 941.510 2, 779.454 6	SSn ^[4]	1	1.15	1.68	1.08	1.04
7	5.06	[M+HCOO] ⁻	989.532 7	989.531 1	-1.62	C ₄₈ H ₈₀ O ₁₈	989.531 1, 943.526 1, 797.467 5	羟基柴胡皂苷 c ^[4]	1	1.46	1.19	—	1.32
8	5.23	[M+HCOO] ⁻	885.485 3	885.483 0	-2.60	C ₄₄ H ₇₂ O ₁₅	885.487 1, 839.479 9, 795.491 6	acetyl-hydroxy-SSd ^[4]	1	1.69	1.34	1.45	—
9	5.33	[M+HCOO] ⁻	885.485 3	885.485 5	0.23	C ₄₄ H ₇₂ O ₁₅	885.485 1, 839.487 8	acetyl-hydroxy-SSa ^[20]	1	1.21	1.86	—	—
10	5.44	[M+HCOO] ⁻	971.522 1	971.525 3	1.00	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	971.525 3, 925.519 4, 779.459 4	SSc ^[4]	1	1.17	1.02	1.13	1.08
11	5.54	[M+HCOO] ⁻	973.537 3	973.535 5	-1.85	C ₄₈ H ₈₀ O ₁₇	973.535 5, 927.539 5, 781.476 5	SSf ^[4]	1	0.89	0.56	0.72	1.01
12	5.90	[M-H] ⁻	1 013.533 7	1 013.532 8	-0.89	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₀	1 013.530 9, 781.473 8, 635.413 6	malonyl-SSf ^[4]	1	1.45	1.88	1.18	1.16
13	5.95	[M-H] ⁻	329.233 3	329.232 7	-1.82	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	329.232 5, 314.042 9, 299.022 4	3',4'-dimethoxy quercetin ^[4]	1	1.15	1.35	1.26	1.70
14	6.09	[M+HCOO] ⁻	987.517 0	987.517 2	0.20	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	987.517 2, 941.512 6, 779.456 9, 617.404 5	rotundioside n ^[4]	1	1.22	1.52	1.09	1.04
15	6.14	[M+HCOO] ⁻	857.490 4	857.489 1	-1.52	C ₄₃ H ₇₂ O ₁₄	857.489 1, 811.485 7, 649.430 2	SSb ₃ ^[4]	1	1.17	1.53	1.09	1.11
16	6.55	[M-H] ⁻	987.517 0	987.517 2	0.20	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₁	987.517 2, 941.509 8, 779.456 7, 617.403 8	clinoposaponin XVIII ^[4]	1	1.78	1.29	—	—
17	6.91	[M+HCOO] ⁻	825.464 2	825.466 4	1.94	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	825.466 4, 779.459 6, 617.405 1, 471.340 8	SSa ^[4]	1	0.44	0.51	0.78	0.82
18	7.59	[M+HCOO] ⁻	825.464 2	825.469 1	1.57	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	825.469 1, 779.463 4, 617.406 5, 541.356 1, 439.319 3	SSb ₂ ^[13]	1	1.54	1.47	1.59	1.33
19	7.69	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.474 4	-0.46	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.471 2, 821.46 9 3, 779.458 0, 617.406 8	2"-O-乙酰基柴胡皂苷 a ^[4]	1	1.60	1.64	1.38	—
20	7.91	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.474 3	-0.58	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.478 4, 821.469 9, 779.458 5, 617.406 0	3"-O-乙酰基柴胡皂苷 a ^[4]	1	0.44	0.47	0.68	0.88
21	8.14	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.475 7	1.04	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.475 3, 821.469 2, 779.458 4, 761.447 3, 617.403 4	4"-O-乙酰基柴胡皂苷 a ^[4]	1	0.51	0.44	0.72	0.70
22	8.39	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.475 0	0.23	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.475 0, 821.470 9, 761.451 2, 617.401 2	4"-O-乙酰基柴胡皂苷 b ₂ ^[4]	1	0.85	0.73	0.91	0.98

表 2 (续)

编号	t_R /min	离子模式	m/z		误差 (1×10^{-6})	分子式	碎片离子 (m/z)	鉴定结果	CI 值				
			理论值	实测值					BM	VBM	BBM	LBM	SBM
23	8.97	[M+HCOO] ⁻	663.413 1	663.411 4	-2.56	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	663.411 4, 617.401 5	前柴胡皂苷 F ^[21]	1	1.14	1.09	—	1.05
24	9.76	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.476 3	1.73	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.476 3, 821.467 4, 779.459 4, 617.405 3	6"-O-乙酰基柴胡 皂苷 a ^[4]	1	1.17	1.42	1.04	1.11
25	9.86	[M-H] ⁻	907.469 1	907.468 9	-0.22	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₇	907.468 9, 867.507 6, 821.465 9, 779.456 4	malonyl-acetyl- SSa ^[4]	1	0.57	0.62	0.70	—
26	10.09	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.475 5	0.81	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.475 5, 821.46 8, 779.459 9, 617.406 9	6"-O-乙酰基柴胡 皂苷 b ₂ ^[4]	1	0.89	0.92	0.97	0.93
27	11.04	[M+HCOO] ⁻	825.464 2	825.466 2	2.42	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	825.466 2, 779.465 3, 617.404 8	SSd ^[4]	1	0.41	0.47	0.59	0.72
28	12.46	[M+HCOO] ⁻	825.464 4	825.465 0	0.73	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	825.464 4, 779.453 8, 617.408 3	SSb ₁ ^[4]	1	1.68	1.54	1.47	1.39
29	14.71	[M-H] ⁻	865.460 0	865.457 6	-2.77	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆	865.457 6, 821.465 5, 779.456 7, 617.402 5	丙二酰化柴胡皂 苷 a ^[4]	1	0.52	0.54	0.73	0.80
30	14.76	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.475 7	1.04	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.475 7, 821.469 0, 779.458 9, 761.447 5, 617.403 9	2"-O-乙酰基柴胡 皂苷 d ^[4]	1	1.18	1.07	1.13	1.09
31	15.59	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.474 6	-0.23	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.474 6, 821.469 2, 779.457 9, 761.44 7, 617.407 7	3"-O-乙酰基柴胡 皂苷 d ^[4]	1	1.02	1.11	1.21	1.10
32	18.14	[M-H] ⁻	907.469 1	907.468 3	-0.88	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₇	907.468 1, 821.468 3, 779.458 1, 617.404 6	malonyl-acetyl- SSd ^[4]	1	0.58	0.50	—	—
33	18.36	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.474 7	-0.12	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.474 7, 821.471 2, 779.460 0, 617.406 1	4"-O-乙酰基柴胡 皂苷 d ^[4]	1	1.01	1.35	1.44	1.20
34	19.25	[M+HCOO] ⁻	909.485 3	909.485 7	0.44	C ₄₆ H ₇₂ O ₁₅	909.484 5, 863.479 6, 821.469 0, 779.457 5	二乙酰基柴胡皂 苷 a	1	1.54	1.28	1.36	1.13
35	19.51	[M-H] ⁻	295.225 2	295.226 0	2.71	C ₁₇ H ₁₂ O ₅	295.227 3, 277.217 0	5-羟基-7-乙酰氧 基黄酮 ^[22]	1	0.57	0.61	0.75	0.79
36	20.07	[M+HCOO] ⁻	339.234 1	339.233 6	-1.47	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	339.232 1, 311.168 5, 265.146 7	亚油酸甲酯 ^[23]	1	1.33	1.24	—	—

3.6 差异成分筛选

3.6.1 PCA 采用 UPLC-Q-TOF/MS 对 BM 组、VBM 组、SBM 组、BBM 组及 LBM 组数据采集与分析。如图 6 所示，当模型概括 X 矩阵解释率 (R^2_X) > 0.4 时说明该模型可靠，本实验中生成的 PCA 模型的质量参数 $R^2_X=0.679$ ，因此所建立的模型可以很好地解释各组间差异，即本实验样品的聚类分离结果可信度高。PCA 结果显示，第 1 主成分 (PC1) 贡献率为 80.7%，第 2 主成分 (PC2) 贡献率为 5.3%，其累积方差贡献率为 86%，且 BM 与 VBM、BBM、LBM 明显分离，说明组间差异显著；BM 组与 SBM 组间无显著差异，后续不继续分析。但由于 PCA 只能反映数据最初的状态，不能消除组内差异以及与分析无关的其他误差，相对偏差较大，不适合进一步筛选差异成分，因此运用 PLS-DA

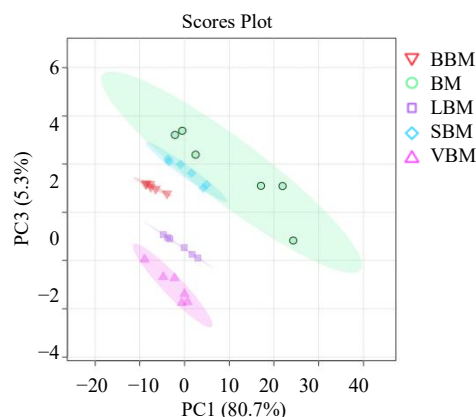


图 6 PCA 散点图

Fig. 6 PCA Scatter Plot

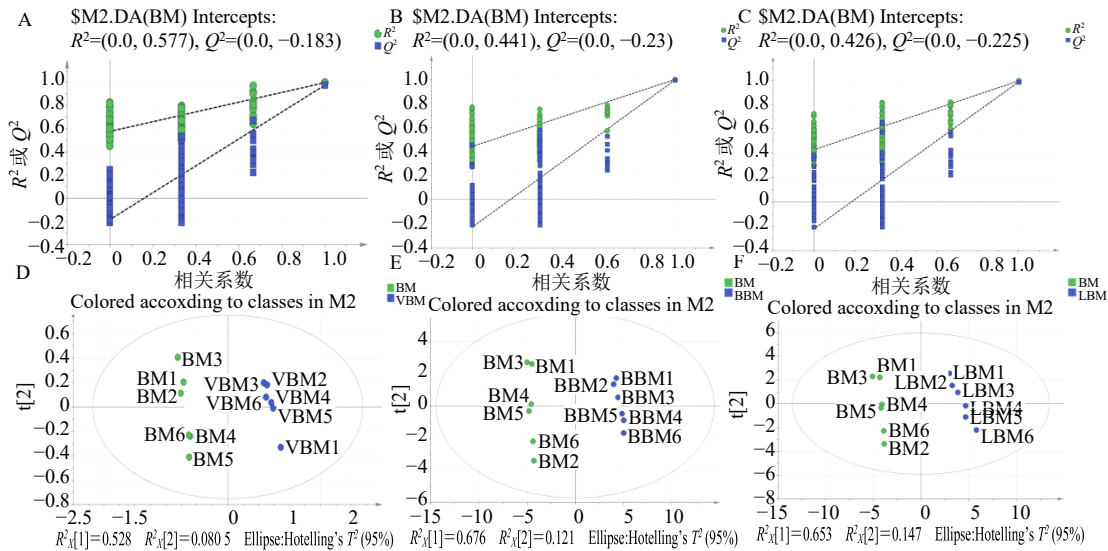
和 OPLS-DA 进一步分析。

3.6.2 PLS-DA 和 OPLS-DA 如图 7 所示，置换检验

结果中左侧 R^2 和 Q^2 的值是模拟值，右侧是真实值，图中左侧的点均低于右侧，200 次的 PRT 分析结果显示模型不存在过拟合现象，说明模拟值小于真实值，模型稳健。且 $Q^2 < 0.05$ ，暗示模型未过拟合，可信度高。PLS-DA、OPLS-DA 散点图结果显示 BM 与 VBM、BBM、LBM 明显分离，表明两组差异显著。

为进一步筛选差异成分，对窄竹叶柴胡生品与

醋炙品、黑豆制品、甘草制品分别进行 OPLS-DA (图 8)，筛选 $VIP > 1$ 的成分。BM vs VBM、BM vs BBM、BM vs LBM 模型解释率参数 R^2_X 和 R^2_Y (模型中隐变量反映自变量 X 和 Y 的变异百分比分别为 0.791 和 0.992、0.805 和 0.997、0.837 和 0.998；模型预测能力参数分别为 $Q^2 = 0.988$ 、 $Q^2 = 0.984$ 、 $Q^2 = 0.987$ ，对模型的预测能力分别为 99.7%、99.4%、



A, D: BM vs VBM; B, E: BM vs BBM; C, F: BM vs LBM, 图 8 同。

A, D: BM vs VBM; B, E: BM vs BBM; C, F: BM vs LBM, same as Fig. 8.

图 7 PLS-DA 置换检验与 PLS-DA 散点图

Fig. 7 PLS-DA permutation test and PLS-DA scatter plot

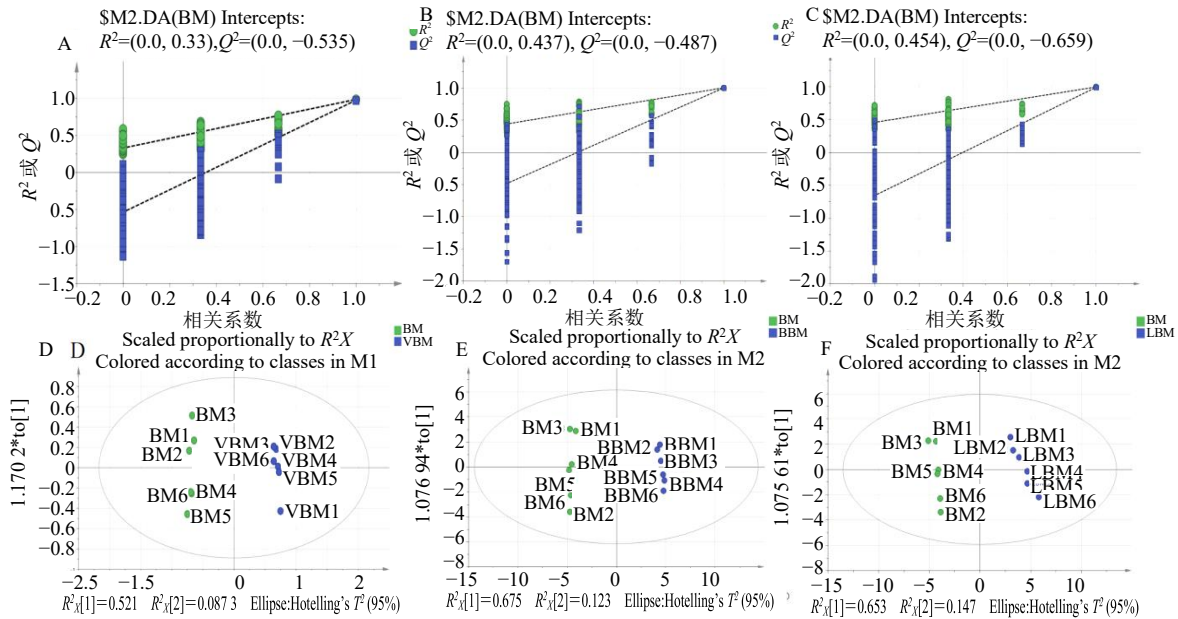


图 8 OPLS-DA 置换检验与 OPLS-DA 散点图

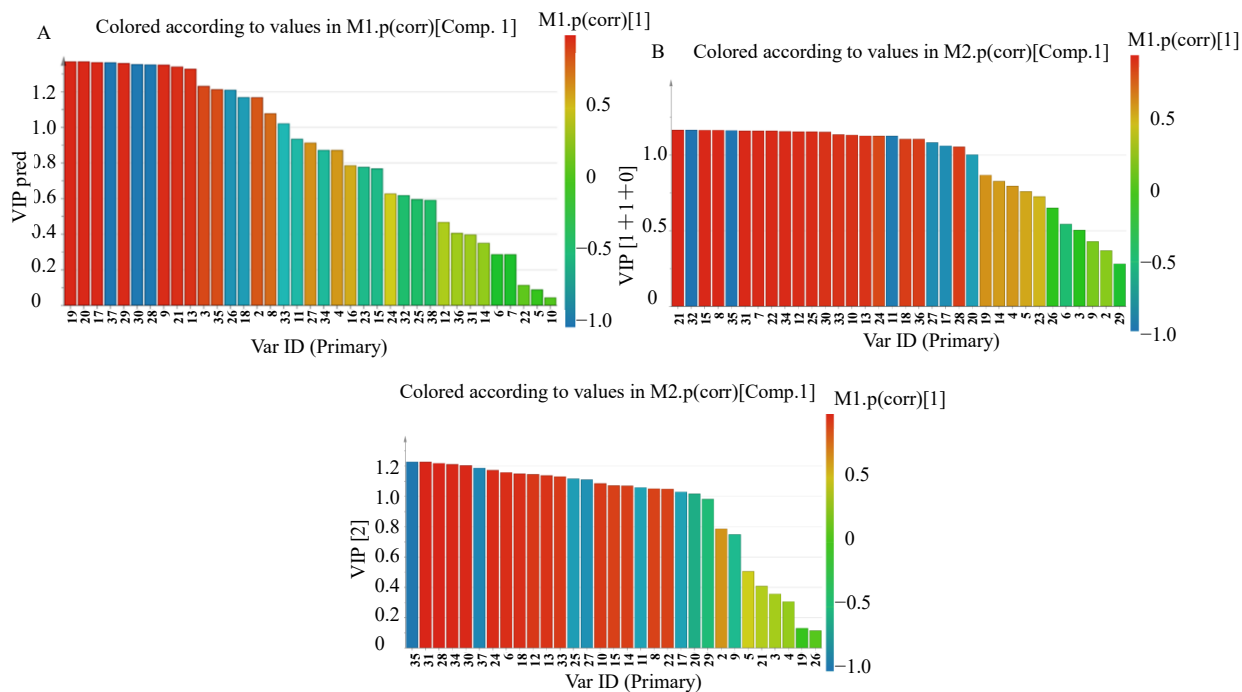
Fig. 8 OPLS-DA permutation test and OPLS-DA scatter plot

99.2%，说明该模型稳定可靠。结合 SPSS 中 *t* 检验对 VIP>1 的成分进行分析，结果显示（图 9），这 8 种成分在各两组间均有显著性差异 ($P<0.05$)，其中 acetyl-hydroxy-SSd、malonyl-SSf、SSb₁、SSb₂ 和 diacetyl-SSa 在醋炙后含量升高，SSa、malonyl-

acetyl-SSa 和 SSd 在醋炙后含量降低。

3.7 肝毒性成分筛选

3.7.1 Pearson 相关性分析 如图 10-A 所示，SSc、SSa、3''-O-acetyl-SSa、4''-O-acetyl-SSa、SSd、malonyl-SSa、2''-O-acetyl-SSd、3''-O-acetyl-SSd 的



A: BM-VBM; B: BM-BBM; C: BM-LBM; 红色：呈正相关，相关性较强；绿色：相关性较弱；蓝色：呈负相关，相关性较强
A: BM-VBM; B: BM-BBM; C: BM-LBM; Red: positively correlated, with a relatively strong correlation; Green: weak correlation; Blue: negatively correlated, with a relatively strong correlation

图 9 生品与炮制品差异化学成分筛选结果

Fig. 9 Screening results of differential chemical components between raw products and processed products

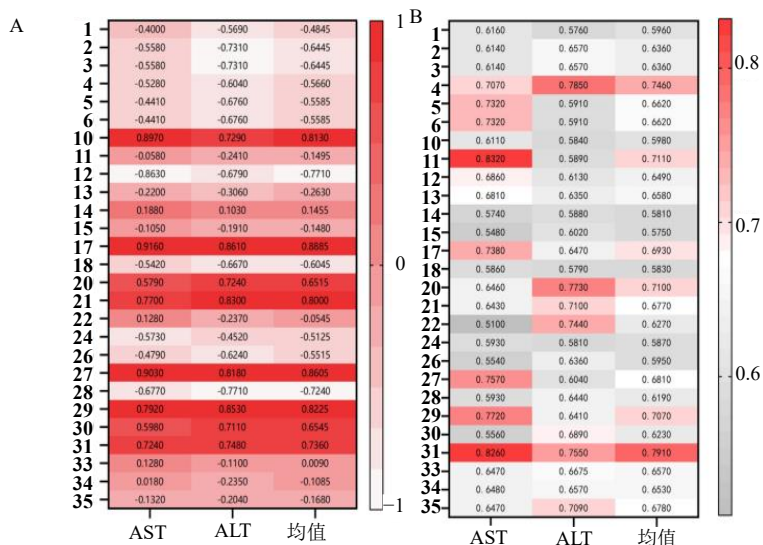


图 10 27 个共有成分与毒效指标 Pearson 相关性分析 (A) 和灰色关联度分析 (B) 结果

Fig. 10 Pearson correlation analysis (A) and grey correlation analysis (B) for 27 common components and toxicity indicators

峰面积与 AST、ALT 数据均值相关系数大于 0.6，为正相关。

3.7.2 灰色关联度分析 母序列 AST、ALT 数据与子序列共有峰面积间的灰色关联系数图 10-B 所示，其中谷甾醇、hydroxy-SSa、SSs、SSn、SSf、3',4'-dimethoxy quercetin、SSa、3''-O-acetyl-SSa、4''-O-acetyl-SSa、SSd、malonyl-SSa、3''-O-acetyl-SSd、4''-O-acetyl-SSd、diacetylsaikosaponin b2、5-羟基-7-乙酰基黄酮峰面积与 AST、ALT 数据的灰色关联系数均值大于 0.65。

综合分析，最终确定 SSa、3''-O-acetyl-SSa、4''-O-acetyl-SSa、SSd、malonyl-SSa、3''-O-acetyl-SSd 等 6 个成分作为潜在的肝毒性成分，结果见图 11。

3.8 SSa、SSd、SSb₁ 和 SSb₂ 肝毒性实验结果
与对照组相比，SSa 80 μmol/L 组、SSd 20

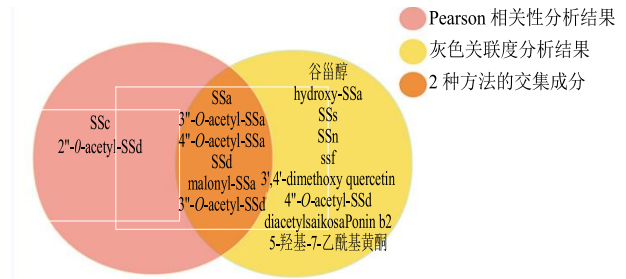
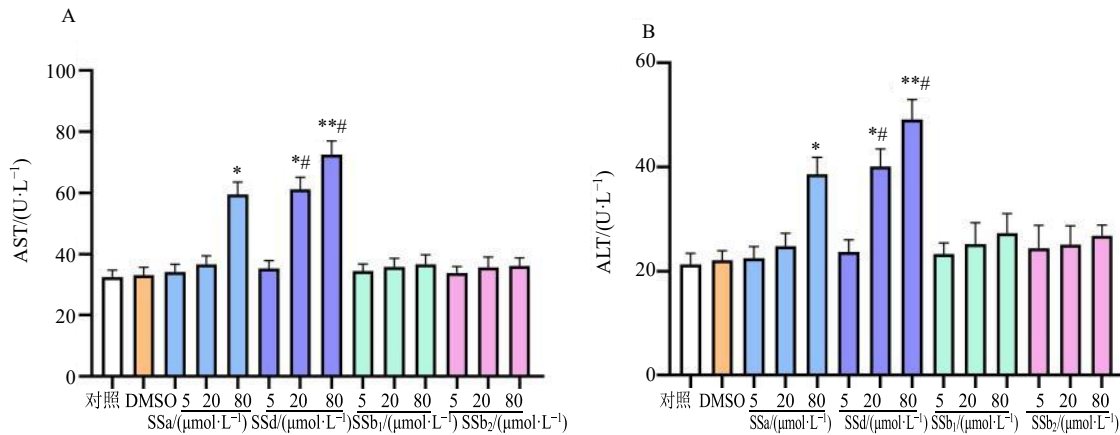


图 11 窄竹叶柴胡肝毒性成分筛选结果 Venn 图

Fig. 11 Venn diagram of screening results of hepatotoxic components of BM

μmol/L 组和 80 μmol/L 组斑马鱼成鱼肝组织中 ALT、AST 活性显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。SSd 20、80 μmol/L 组 ALT、AST 活性显著高于 SSa 同浓度组 ($P < 0.01$)。SSb₁ 和 SSb₂ 各浓度组 ALT、AST 活性与对照组相比均无统计学差异 (图 12)。



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与同浓度 SSa 组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs the same concentration of SSa group.

图 12 SSa、SSa、SSb₁、SSb₂ 不同剂量对斑马鱼的 AST (A) 和 ALT (B) 活性影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 12 Effects of different doses of SSa, SSa, SSb₁, and SSb₂ on AST (A) and ALT (B) activities in zebrafish ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

4 讨论

当前，野生柴胡资源因长期过度采挖濒临枯竭，这一现实困境在客观上推动了柴胡人工种植产业的发展。然而，人工种植柴胡普遍面临生长周期长、单位面积产量低的瓶颈，导致仍难以匹配临床应用的需求。供需失衡的市场现状，催生了柴胡流通环节中的品种混杂乱象，给临床用药安全与疗效稳定带来潜在风险。以地方用药品种为重要突破口，全面挖掘可作为药用的新柴胡资源，目前已成为业界攻克柴胡供给难题、提升药材质量稳定性的关键研究焦点。窄竹叶柴胡作为竹叶柴胡的变种，为贵州省法定柴胡基原，具有生长周期短、产量高、价格低廉、对环境要求低等优点，但存在着皂苷含

量高、有刺喉感等问题。因此探究其有效剂量下的潜在不良反应，寻求减毒的炮制方式并阐明炮制减毒内涵具有重要意义。

本实验首先对窄竹叶柴胡生品肝毒性进行评价。肝功能生化指标检测显示生品组可使小鼠血清 AST、ALT 活性显著升高 ($P < 0.01$)，且对人正常肝细胞 L02 表现出生长抑制作用，故存在一定肝毒性，但并未引起病理性改变。本研究采用醋炙、黑豆制、甘草炙和麦麸制 4 种方法进行炮制减毒研究。醋炙是针对含皂苷类成分药材的经典减毒手段。黑豆性平味甘，归脾肾经，具有明确的解毒功效，可减弱皂苷的不良反应，在多味含皂苷中药的炮制中均有成熟应用。甘草含有甘草酸等成分，能与皂苷

发生相互作用,促进毒性成分转化或降解,在含皂苷中药减毒中应用广泛。麸炒多用于通过降低药材中挥发油含量来减毒,也将其纳入减毒炮制的方法中。从减毒效果来看,醋炙、黑豆制和甘草制可显著提升 L02 细胞 IC_{50} ($P < 0.01$)、降低 AST 和 ALT 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01) 实现有效减毒,且醋炙、黑豆制减毒效果最优;而麸炒与生品在生化指标上无统计学差异,提示麸炒对毒性的调控作用有限。这一差异可能与炮制辅料的理化性质及作用机制相关。醋的酸性环境可能促进 SSa、SSd 等皂苷发生乙酰化、水解等,转化为 acetyl-hydroxy-SSd 等低毒衍生物;黑豆的黄酮类、甘草的甘草酸等成分或通过拮抗毒性成分与肝细胞的结合,促进毒性代谢产物排出实现减毒;而麸炒主要通过缓和药性、增强健脾作用,对毒性皂苷的化学结构或含量影响较小,故减毒效果微弱。参考同属柴胡的肝毒性物质,推测其肝毒性可能与柴胡皂苷含量高有关。斑马鱼实验中 SSd、SSa 表现出对 AST 和 ALT 活性的影响,进一步印证了皂苷类成分是生品产生肝毒性的物质基础。

成分分析与多变量统计结果进一步揭示了潜在肝毒性相关的物质基础。PCA、PLS-DA、OPLS-DA 等分析显示生品与醋炙、黑豆制、甘草制品成分差异显著,而与生品与麸炒制品无明显分离,提示用醋、黑豆、甘草炮制直接影响了毒性相关成分的含量。UPLC-Q-TOF-MS 鉴定的 27 个共有成分峰面积与 AST、ALT 数值进行 Pearson 相关性分析和灰色关联分析,最终确定 SSa、3''-O-acetyl-SSa、4''-O-acetyl-SSa、SSd、malonyl-SSa、3''-O-acetyl-SSd 为潜在肝毒性成分。课题组前期通过 HPLC 测定康乐产生品、醋炙品以及临洮产生品、醋炙品中 SSa 与 SSd 的总含量分别为 2.68%、1.79%、2.44%、1.77%,SSb₁ 与 SSb₂ 的总含量分别是 0、0.63%、0、0.57%^[24],可见经炮制后 SSa 与 SSd 含量降低,SSb₁ 与 SSb₂ 含量增加,与本研究 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的结果相印证。文献报道高温酸性情况下,柴胡皂苷结构中环氧醚环容易断裂,发生结构转化,SSa 会转化为 SSb₁,SSd 会转化为 SSb₂,因此解释为 SSa、SSd 含量降低是因为转化成了 SSb₁、SSb₂^[25]。斑马鱼肝毒性实验结果显示 SSd 毒性较强,SSa 次之,而 SSb₁、SSb₂ 无明显毒性。说明炮制减毒与 SSa 和 SSd 转化为低毒性皂苷有关。SSb₁、SSb₂ 具有抗抑郁等作用,为窄竹叶柴胡的药效物质,故醋炙在药效不受影响的情况下降低了肝毒

性。这为窄竹叶柴胡醋炙饮片的质控提供了关键指标,后续可通过限定 SSa、SSd 的含量,标定 SSb₁、SSb₂ 的含量,确保窄竹叶柴胡的安全性和有效性。

综上所述,窄竹叶柴胡生品对肝功能有一定影响,通过醋炙和黑豆制可促进 SSa、SSd 等皂苷类成分转化为低毒性皂苷从而降低肝毒性。本研究为促进窄竹叶柴胡的合理化应用提供数据支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 浦俊燕. 西藏窄竹叶柴胡精油的化学成分分析与抗水体活性研究 [D]. 拉萨: 西藏大学, 2015.
- [2] 梁少媚, 张红梅, 龙华. 37 例柴胡注射液不良反应分析 [J]. 今日药学, 2008, 18(2): 62-63.
- [3] 苏立稳. 浅析中药引起的肝损害 [J]. 实用肝脏病杂志, 2003, 6(3): 188-189.
- [4] 王惠. 藏柴胡与北柴胡的鉴别与药理活性对比研究 [D]. 太原: 山西省中医药研究院, 2019.
- [5] 孙蓉, 黄幼异, 黄伟, 等. 基于能量代谢机制的柴胡总皂苷对小鼠肝毒性的“量-时-毒”关系研究 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(4): 60-62.
- [6] 孙蓉, 杨倩. 柴胡挥发油大鼠肝毒性“量-时-毒”关系研究 [J]. 中药药理与临床, 2011, 27(3): 49-51.
- [7] 江振洲, 王欣之, 孙丽新, 等. 中药毒性评价的技术方法与应用 [J]. 药学进展, 2013, 37(11): 545-554.
- [8] 刘亚旻, 刘新民, 潘瑞乐. 柴胡毒性作用研究进展 [J]. 中成药, 2012, 34(6): 1148-1151.
- [9] 孙慧敏, 张婷, 李震宇, 等. 基于 ¹H-NMR 代谢组学的柴胡醋制前后的毒性作用比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19): 5224-5234.
- [10] 薛光辉, 宋宏春. 蒙医药三种不同炮制方法对商陆总皂苷含量和小鼠 LD₅₀ 的影响 [J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15(2): 44-45.
- [11] 杨冰, 祝丹丹, 于欣茗, 等. 新世纪 20 年: 守正创新背景下创新炮制技术探索与实践 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 357-365.
- [12] 杨菁, 朱丹, 麻秀萍, 等. 柴胡贵州特色炮制方法的质量标准研究 [J]. 山东化工, 2021, 50(5): 34-36.
- [13] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 301.
- [14] 祝婧, 袁恩, 吴乙庚, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 分析江西特色炮制技术对中药升麻化学成分的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(11): 1935-1941.
- [15] 武松. SPSS 实战与统计思维 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2019: 236.
- [16] 蒋思怡, 宋小英, 张丹丹, 等. 菝葜 UPLC 指纹图谱与其抗大鼠盆腔炎作用的谱效关系研究 [J]. 中国中药

- 杂志, 2019, 44(15): 3323-3329.
- [17] 阎思宁, 李奇洪, 卢朝睿, 等. 柴胡-白芍药对治疗肝纤维化作用机制网络药理学研究 [J]. 河北中医, 2022, 44(2): 309-317.
- [18] 陈晶, 傅欣彤, 陈有根, 等. 基于 UHPLC-QE Plus-MS/MS 法分析柴黄颗粒及柴胡中化学成分 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4634-4644.
- [19] 陈文彬, 史毅, 马亚男, 等. 基于 UPLC/Q-TOF-MS/MS 分析鳖血柴胡皂苷类化学成分 [J]. 现代食品科技, 2019, 35(7): 247-253.
- [20] 刘天舒. 柴胡配方颗粒研制及质量标准的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2021.
- [21] 刘玉梅. 柴胡抗炎谱效关系及质量评价研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2019.
- [22] 郭敏娜, 刘素香, 赵艳敏, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的柴胡化学成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2044-2052.
- [23] Qu Z Y, Bing Y F, Wu S, *et al.* Discovery and verification of antidepressant active ingredients of raw and vinegar-processed *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum* based on plant metabolomics and serum pharmacology [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 246: 116239.
- [24] 胡振宇, 卜俊文, 吴宇, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术分析醋润蜜麸炒柴胡炮制过程中成分差异 [J]. 中草药, 2025, 56(9): 3109-3120.
- [25] Zhu Y H, Li Z H, Wu S, *et al.* A comprehensive review of the botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, processing and quality evaluation of *Bupleurum scorzonerifolium* Willd [J]. *J Ethnopharmacol*, 2026, 354: 120475.

[责任编辑 王文倩]