

基于液质联用技术结合化学计量法分析杜仲盐制前后差异性成分

唐 瑞^{1,2}, 吴杭莎^{1,2}, 李亚飞^{1,2}, 赵明方^{1,2}, 方可儿^{1,2}, 张海瑞^{1,2}, 葛卫红^{1,2*}, 杜伟锋^{1,2,3*}

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402

2. 浙江中医药大学中药炮制技术研究中心, 浙江 杭州 311401

3. 浙江中医药大学中药饮片有限公司, 浙江 杭州 311401

摘要: 目的 通过超高液相色谱串联三重四级杆飞行时间质谱法 (UPLC-Triple-TOF-MS) 对杜仲盐制前后成分进行鉴定, 分析差异性成分。方法 利用 UPLC-Triple-TOF/MS 检测杜仲中的化学成分, 液相采用 Waters HSS-T3 色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 以 0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈溶液为流动相进行梯度洗脱, 体积流量为 0.3 mL/min, 柱温为 50 °C; 检测波长 254 nm; 进样量 3 μL。质谱采用负离子扫描模式采集数据, 根据一级准分子离子与二级碎片离子信息进行化合物的分析与鉴定。通过主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 对杜仲盐制前后进行差异成分分析。结果 共解析出杜仲中 52 种成分, 结合 OPLS-DA 筛选出 14 个影响杜仲盐制前后质量的潜在差异性成分, 分别为京尼平苷、绿原酸、杜仲醇、桃叶珊瑚苷、松脂醇二葡萄糖苷、京尼平苷酸、京尼平、eucomoside B、异绿原酸 C、teuhircoside 硫酸脂、橄榄素二葡萄糖苷、丁香脂素二葡萄糖苷、中脂素二葡萄糖苷和去氢二松柏醇葡萄糖苷。结论 建立了杜仲盐制前后化学成分定性分析方法, 筛选出盐制前后杜仲质量变化的潜在差异性成分, 为杜仲盐制的增效物质基础的研究提供了科学依据, 对杜仲质量控制提供更加全面的支撑。

关键词: 杜仲; 盐制; UPLC-Triple-TOF/MS; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析; 差异性成分; 京尼平苷; 绿原酸; 杜仲醇; 桃叶珊瑚苷; 松脂醇二葡萄糖苷; 京尼平苷酸; 京尼平; eucomoside B; 异绿原酸 C; teuhircoside 硫酸脂; 橄榄素二葡萄糖苷; 丁香脂素二葡萄糖苷; 中脂素二葡萄糖苷; 去氢二松柏醇葡萄糖苷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)05-1518-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.05.011

Differential component analysis of *Eucommiae Cortex* and salt-processed *Eucommiae Cortex* based on LC/MS combined with stoichiometry

TANG Rui^{1,2}, WU Hangsha^{1,2}, LI Yafei^{1,2}, ZHAO Mingfang^{1,2}, FANG Keer^{1,2}, ZHANG Hairui^{1,2}, GE Weihong^{1,2}, DU Weifeng^{1,2,3}

1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China

2. Research Center of TCM Processing Technology, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311401, China

3. Zhejiang Chinese Medical University Chinese Medicine Yinpian Co., Ltd., Hangzhou 311401, China

Abstract: Objective To identify the components of Duzhong (*Eucommiae Cortex*, EC) before and after salt processing by ultra-high performance liquid chromatography tandem triple quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Triple-TOF-MS) and find out the differential components. **Methods** UPLC-Triple-TOF/MS was used to detect the chemical constituents in EC. The Waters HSS-T3 column (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm) was used as the liquid phase, and 0.1% formic acid solution-0.1% formic acid acetonitrile was used as the mobile phase for gradient elution. The volume flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 50 °C; and the detection wavelength was 254 nm. The injection volume was 3 μL. The data were collected by negative ion scanning mode, and the compounds were analyzed and identified according to the information of primary excimer ion and secondary fragment ion. Principal

收稿日期: 2023-08-04

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (LTGN23H280001); 浙江省中医药科技计划中医药现代化专项项目 (2020ZX006); 杭州市农业与社会发展科研重点项目 (202204A06); 宁波市“科技创新 2025”重大专项 (2020Z089)

作者简介: 唐 瑞 (1999—), 女, 湖北襄阳人, 硕士研究生, 从事中药炮制及质量控制研究。Tel: 18389577281 E-mail: 1289810974@qq.com

*通信作者: 葛卫红 (1969—), 男, 浙江台州人, 教授, 从事中药药理与新产品开发研究。Tel: (0571)87195895 E-mail: geweihong@hotmail.com

杜伟锋 (1984—), 男, 河北任县人, 副研究员, 从事中药炮制及质量控制研究。

Tel: (0571)87195895 E-mail: duweifeng_200158@sohu.com

component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were used to analyze the quality difference of EC before and after salting. **Results** A total of 52 components in EC were analyzed, and 14 potential differential components affecting the quality of EC before and after salting were screened by OPLS-DA. They were geniposide, chlorogenic acid, eurycomanol, aucubin, pinosresinol diglucoside, geniposidic acid, genipin, eucomoside B, isochlorogenic acid C, teuhiroside sulfate, olivil 4',4''-di-*O*- β -*D*-glucopyranoside, liriodendrin, medioresinol di-*O*- β -*D*-glucopyranoside and dehydrodiconiferyl alcohol 4-*O*- β -*D*-glucopyranoside. **Conclusion** The qualitative analysis method of chemical components before and after salt processing of EC was established, and the potential differential components of the quality changes of EC before and after salt processing were screened out, which provided a scientific basis for the study of the synergistic material basis of EC salt processing, and provided a more comprehensive grasp of the quality control of EC.

Key words: *Eucommiae Cortex*; salt-processing; UPLC-Triple-TOF/MS; PCA; OPLS-DA; differential components; geniposide; chlorogenic acid; eurycomanol; aucubin; pinosresinol diglucoside; geniposidic acid; genipin; eucomoside B; isochlorogenic acid C; teuhiroside sulfate; olivil 4',4''-di-*O*- β -*D*-glucopyranoside; liriodendrin; medioresinol di-*O*- β -*D*-glucopyranoside; dehydrodiconiferyl alcohol 4-*O*- β -*D*-glucopyranoside

杜仲在中医药方面的使用已有 2 000 多年的历史,首载于《神农本草经》^[1],“杜仲,味辛,平。主腰脊痛。补中,益精气,坚筋骨,强志,除阴下痒湿,小便余沥。久服轻身,耐老。一名思仙”,将其列为上品,属于名贵滋补药材之一,具有独特的药用价值。现代药理研究表明,杜仲具有抗骨质疏松^[2]、降压^[3]、保护肾脏^[4-5]、调血脂^[6]、抗肿瘤^[7]、保护神经^[8]、安胎^[9]等作用。其中杜仲含有较多的硬性橡胶类物质杜仲胶,研究表明这种胶质会对有效成分的溶出产生抑制作用^[10],而经高温加热后,硬性橡胶可被破坏,可促进有效成分溶出,提高治疗效果,因而中医临床上常以炮制品为主。历版《中国药典》中收录的杜仲炮制品以盐制为主,研究表明盐杜仲中的浸出物含量比杜仲高,而铅含量比杜仲低,可达到减毒增效的作用^[11],此外,盐杜仲的补肾健骨作用也优于杜仲^[12]。由此可见,杜仲盐制的必要性与优越性。通过对杜仲资料的收集与梳理,目前共有 17 个省市的炮制规范收录了杜仲及盐杜仲,除上海市的中药炮制规范对杜仲以松脂醇二葡萄糖苷作为含量测定指标,其他省市最新炮制规范均未对杜仲及盐杜仲规定含量测定项。《中国药典》2020 年版对于杜仲药材、饮片及盐杜仲均采用松脂醇二葡萄糖苷作为含量测定指标,未存在限度上的差异,无法全面体现出杜仲盐制前后的专属性与整体性变化;同时在实际生产中发现,当杜仲胶炮制断丝时,松脂醇二葡萄糖苷的含量一般低于标准的限度,质量无法合格,这说明仅检测该指标可能无法全面判定炮制饮片的质量、无法体现出炮制特色。因此,有必要进行杜仲盐制前后的差异研究并寻找潜在差异性成分。近年来,对盐制杜仲的相关研究主要有盐制杜仲的温度研究^[13],杜仲盐制前后指纹

图谱的构建及化学成分含量的变化^[14-16],肾纤维化药动学研究^[17]等。但对杜仲盐制的增效物质基础还未有系统研究,无法准确全面的对杜仲盐制的增效物质基础进行阐述。

液质联用技术对中药中复杂的成分具有很好的分离能力和结构鉴别的能力,现常应用于化学药物、复方中药、不同产地中药、炮制前后中药及单味中药的成分定性及定量等分析。近年来,中药炮制过程中成分的变化和药效物质基础的研究已成为中药领域的一大热点。已有学者运用液质联用技术对中药炮制的物质组学基础进行了探索,王祎等^[18]利用液质联用技术结合多元统计分析筛选得到,葫芦巴中的黄酮碳苷类成分在盐制后溶出增加,皂苷类成分发生了结构转化,这 2 类成分可能是葫芦巴盐制前后差异性成分,吴杭莎等^[19]利用液质联用技术结合化学计量法筛选续断盐制前后质量差异成分,初步筛选了 12 个主要差异性成分。文旺等^[20]利用液质联用技术结合植物代谢组学,并通过化学统计分析筛选甘草清炒和蜜制后化学成分的变化,最终鉴定出 10 个显著差异成分,主要为甘草苷和甘草酸的衍生物。

本研究采用液质联用技术对杜仲盐制前后的化学成分组成进行鉴定,经化学计量法分析可视化展示杜仲及盐杜仲中化学成分的组织间差异并筛选出影响杜仲盐制前后质量变化的潜在差异性成分。

1 仪器与材料

1.1 仪器

UPLC-Triple-TOF/MS 系统:Acquity™ ultra 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;Triple TOF 5600+ 型飞行时间质谱,配有电喷雾离子源,美国 AB Sciex 公司;U3000 型高效液相色谱仪,美国 Thermo Fisher

公司; ME-204E 型电子分析天平 (0.01 g)、XS105 型电子分析天平 (0.01 mg), 瑞士 Mettler Toledo 公司; Centrifuge 5425 型离心机, 德国 Eppendorf 公司; DFT-200 型手提式高速中药粉碎机, 温岭市林大机械有限公司; DFD-700 型电热恒温水浴锅, 天津市泰斯特仪器有限公司; KQ-500DB 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; TG16-WS 型台式高速离心机, 上海卢湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 试药

1.2.1 对照品 京尼平苷酸 (批号 111828-201805, 质量分数为 98.10%)、绿原酸 (批号 110753-201817, 质量分数为 96.80%)、紫丁香苷 (批号 111574-201605, 质量分数为 95.20%)、松脂醇二葡萄糖苷 (批号 111537-201706, 质量分数为 91.70%)、金丝桃苷 (批号 111521-201809, 质量分数为 94.90%)、京尼平苷 (批号 110749-201919, 质量分数为 97.10%), 均购自于中国食品药品检定研究院; 京尼平 (批号 21041202, 质量分数为 99.40%)、中脂素二葡萄糖苷 (批号 20031903, 质量分数为 98.46%), 均购自于成都格利普生物科技有限公司; 咖啡酸 (批号 110002-202005, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、芦丁 (批号 100080-201811, 质量分数 $\geq 98.00\%$), 均购自于上海鸿永生物科技有限公司。

1.2.2 试剂 甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯, 美国 Tedia 公司; 磷酸, 分析纯, 浙江汉诺化工科技有限公司; 甲醇, 分析纯, 广东光华科技股份有限公司; 纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

1.2.3 药材 杜仲饮片 5 批, 购自浙江中医药大学中药饮片有限公司, 编号为 S1~S5, 由浙江中医药大学药学院葛卫红教授鉴定, 为杜仲科杜仲属植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 干燥树皮的加工品。盐杜仲饮片由杜仲饮片制备而得 (炮制方法参考 2005 版《浙江省中药饮片炮制规范》^[21], 具体炮制工艺按浙江中医药大学中药饮片有限公司盐杜仲生产工艺进行炮制: 取杜仲, 加盐水, 闷透, 置炒制容器中, 220 °C 加热炒制 7~9 min, 至丝易断、表面焦黑色, 取出放凉, 即得。每 100 千克杜仲, 用食盐 2 kg 拌匀), 编号为 Y1~Y5。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液 取杜仲样品粉末 (过三号筛) 约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (频率 40

kHz、功率 500 W) 40 min, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取 25 mL 续滤液于蒸发皿中, 蒸干, 用 50% 甲醇定容于 5 mL 量瓶中, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.1.2 对照品溶液 取对照品松脂醇二葡萄糖苷、京尼平苷、京尼平苷酸、京尼平、紫丁香苷、金丝桃苷、绿原酸、咖啡酸、芦丁、中脂素二葡萄糖苷适量, 精密称定, 置于 20 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇制成分别含 177.0、205.8、213.9、197.0、113.1、188.9、190.7、193.1、311.6、173.3 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液, 即得。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Waters HSS-T3 柱 (150 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) -0.1% 甲酸乙腈溶液 (B), 梯度洗脱: 0~20 min, 2%~30% B; 20~35 min, 30%~50% B; 35~42 min, 50%~95% B; 体积流量为 0.3 mL/min; 柱温为 50 °C; 检测波长 254 nm; 进样量 3 μL 。

2.3 质谱条件

UPLC-Triple-TOF 5600+ 飞行时间液质联用仪: 负离子扫描模式; 扫描范围 m/z 100~1 500; 雾化气 (GS₁) 344.738 kPa (50 psi); 雾化气 (GS₂) 344.738 kPa (50 psi); 气帘气 (CUR) 241.317 kPa (35 psi); 离子源温度 (TEM) 550 °C; 离子源电压 (IS) -4 500 V; 一级扫描: 去簇电压 (DP) 100 V, 聚焦电压 (CE) 10 V; 二级扫描: 使用 TOF MS~Product Ion~IDA 模式采集质谱数据, 碎片碰撞电压 (CID) 为 20、40、60 V, 进样前, 用 CDS 泵做质量轴校正, 使质量轴误差小于 2×10^{-6} 。

2.4 化学成分分析

将杜仲样品供试品溶液按上述“2.2”和“2.3”项下的色谱和质谱条件进样分析, 得到样品盐制前后 UPLC-Triple-TOF/MS 负离子模式下的总离子流图, 结果见图 1。通过 Analyst® TF 1.6 软件采集数据, Peak view 软件拟合化合物的分子式, 比对 Scifinder 和 Reaxy 数据库以及国内外杜仲化学成分研究相关文献和对照品数据, 结合裂解规律的分析, 结果共推断出杜仲中 52 个化合物, 如表 1 所示。

2.4.1 环烯醚萜类化合物 环烯醚萜类化合物在负离子模式下易形成 $[M-H]^-$ 和 $[M+HCOO]^-$ 这 2 种准分子离子, 其在裂解过程中易失去葡萄糖结构, 得到苷元碎片离子 $[M-H-Glc]^-$, 同时苷元碎片进一步易失去 H₂O 和 CO₂ 分子, 从而得到 $[M-H-Glc-$

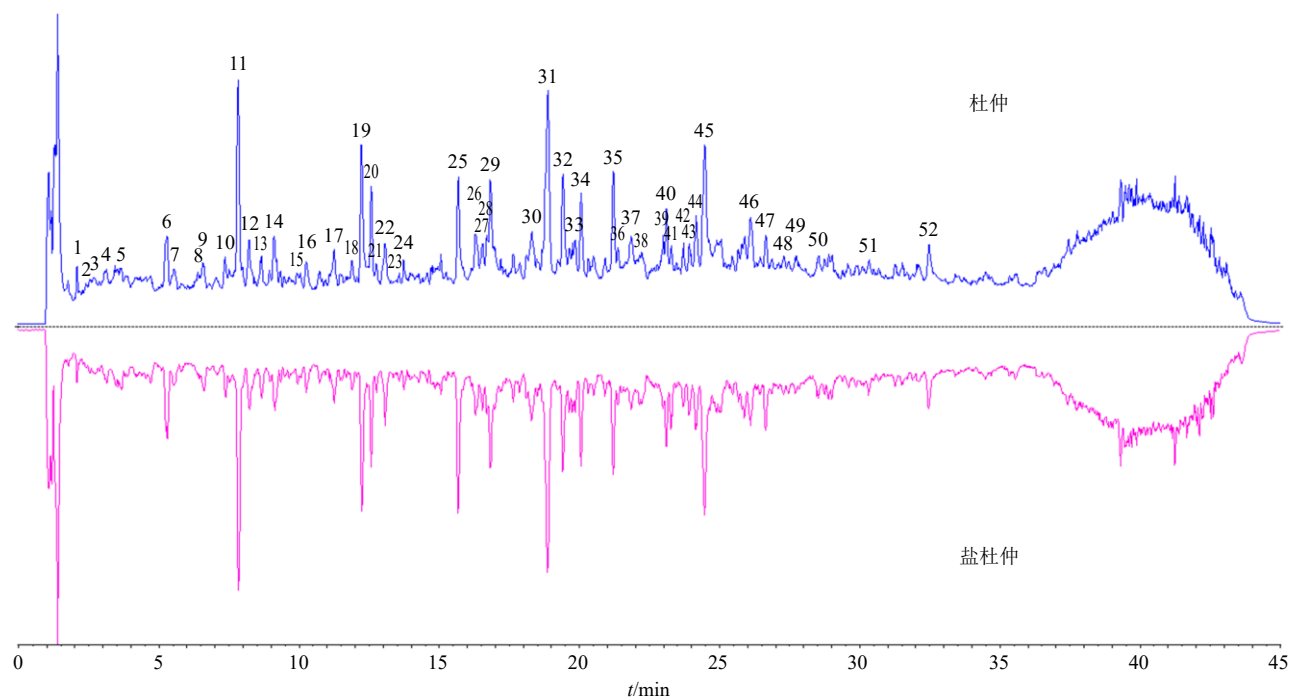


图 1 杜仲与盐杜仲在 UPLC-Triple-TOF/MS 负离子模式下的总离子流图

Fig. 1 Total ion current diagram of *Eucommiae Cortex* (EC) and salt-processed *Eucommiae Cortex* (spEC) in UPLC-Triple-TOF/MS negative ion mode

表 1 杜仲中化学成分的鉴定结果

Table 1 Identification results of chemical constituents in EC

峰号	t_R / min	检测离子	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	二级质谱 (m/z)	化合物
1	2.03	$[M-H]^-$	191.020 3	191.027 0	-3.5	$C_6H_8O_7$	129.019 1, 111.011 2, 87.009 7	异柠檬酸 ^[22-24]
2	2.27	$[M-H]^-$	191.020 3	191.027 0	-3.5	$C_6H_8O_7$	129.019 2, 111.008 9, 87.010 0, 85.030 5	柠檬酸 ^[22-23,25-26]
3	2.54	$[M-H]^-$	389.108 5	389.116 2	-2.0	$C_{16}H_{22}O_{11}$	227.054 4, 165.054 6	去乙酰车叶草苷酸 ^[27]
4	3.11	$[M-H]^-$	389.108 9	389.116 2	-1.9	$C_{16}H_{22}O_{11}$	227.054 4	theveside ^[27]
5	3.63	$[M-H]^-$	389.108 8	389.116 2	-1.9	$C_{16}H_{22}O_{11}$	227.054 4	水晶兰苷 ^[27]
6	5.26	$[M+HCOO]^-$	391.124 3	391.126 4	-0.5	$C_{15}H_{22}O_9$	345.119 2, 183.065 1, 165.054 4, 139.039 0	桃叶珊瑚苷 ^[24,28]
7	5.52	$[M-H]^-$	389.108 8	389.116 2	-1.9	$C_{16}H_{22}O_{11}$	227.055 4	forsythide ^[29]
8	6.39	$[M-H]^-$	423.059 6	423.067 5	-1.9	$C_{15}H_{20}O_{12}S$	343.102 5, 261.005 8	teuhircoside 硫酸脂 ^[30]
9	6.53	$[M-H]^-$	315.071 8	315.079 4	-2.4	$C_{13}H_{16}O_9$	153.018 6, 108.022 8	原儿茶酸-4- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[27]
10	7.36	$[M-H]^-$	329.087 8	329.095 1	-2.2	$C_{14}H_{18}O_9$	167.034 4	香草酸-4- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷 ^[27]
11 [#]	7.82	$[M-H]^-$	373.113 8	373.121 3	-2.0	$C_{16}H_{22}O_{10}$	211.060 1, 193.049 4, 167.070 7, 149.060 1	京尼平苷酸 ^[31-35]
12	8.18	$[M-H]^-$	403.088 1	403.095 5	-1.8	$C_{16}H_{20}O_{12}$	211.059 8, 167.070 4	citrate(propyl gallate)衍生物
13	8.64	$[M-H]^-$	353.087 8	353.095 1	-2.1	$C_{16}H_{18}O_9$	191.054 7, 179.033 3, 173.044 7, 135.044 4	新绿原酸 ^[36-39]
14	9.14	$[M-H]^-$	359.097 8	359.105 6	-2.2	$C_{15}H_{20}O_{10}$	197.044 7, 153.055 2, 138.031 8	丁香酸葡萄糖苷 ^[38]
15 [#]	9.91	$[M-H]^-$	371.098 2	371.105 6	-2.0	$C_{17}H_{24}O_9$	147.044 6, 165.055 1, 191.035 0, 209.045 4	紫丁香苷 ^[24,40]
16	10.23	$[M-H]^-$	323.134 4	323.142 0	-2.4	$C_{13}H_{24}O_9$	179.055 5, 161.045 5	羊角拗二糖 ^[27]
17	11.35	$[M+HCOO]^-$	551.198 1	551.199 9	-0.3	$C_{22}H_{34}O_{13}$	475.185 2, 163.060 8	4'-hydroxy-3',5'-dimethoxyphenylpropanol-1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside
18	11.86	$[M-H]^-$	489.161 3	489.168 6	-1.5	$C_{21}H_{30}O_{13}$	343.103 8, 181.049 3	2,4-dihydroxy-6-methoxyacetophenone-4- <i>O</i> - α - <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β - <i>D</i> -glucopyranoside

表 1 (续)

峰号	t_R / min	检测离子	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	二级质谱 (m/z)	化合物
19 [#]	12.23	[M-H] ⁻	353.087 6	353.095 1	-2.1	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.054 7, 179.033 3, 173.044 7, 135.044 4	绿原酸 ^[36-38,41]
20	12.58	[M+HCOO] ⁻	745.257 1	745.257 8	-0.1	C ₃₂ H ₄₄ O ₁₇	537.200 8, 375.144 6	橄榄素二葡萄糖苷 ^[27]
21 [#]	12.97	[M-H] ⁻	179.036 2	179.035 8	0.2	C ₉ H ₈ O ₄	135.045 4, 89.041 7	咖啡酸 ^[39,41-43]
22	13.06	[M-H] ⁻	353.087 3	353.095 1	-2.2	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.054 9, 179.035 7, 135.044 4	隐绿原酸 ^[38,44]
23	13.76	[M-H] ⁻	701.194 2	701.200 7	-0.9	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₉	539.145 9	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-3-(β -D-glucopyranosyloxymethyl)-3,4-dihydro-5,6,7-trihydroxy-4-(4'-hydroxy-3',5'-dimethoxyphenyl)-1 <i>H</i> -[2]benzopyran-1-one 衍生物
24	13.86	[M-H] ⁻	305.069 6	305.077 3	-2.5	C ₁₂ H ₁₈ O ₇ S	225.112 0, 96.960 7, 79.957 8	5'-(羟基磺酰氧基)茉莉酸
25 [#]	15.68	[M+HCOO] ⁻	433.134 8	433.136 9	-0.5	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	387.130 1, 225.075 7, 207.064 9, 123.044 6	京尼平苷 ^[34-35,45]
26	16.29	[M+HCOO] ⁻	583.203 2	583.205 0	-0.3	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₂	537.202 0, 375.145 9	新橄榄脂素葡萄糖苷 ^[27]
27	16.54	[M+HCOO] ⁻	583.203 0	583.205 0	-0.3	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₂	537.200 6, 375.144 9, 327.123 0	橄榄脂素-4'- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[24]
28	16.70	[M+HCOO] ⁻	583.203 1	583.205 0	-0.3	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₂	537.201 4, 375.145 4, 327.123 9, 179.070 0	橄榄脂素-4"- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[24]
29	16.83	[M+HCOO] ⁻	743.241 7	743.242 2	-0.1	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₇	697.242 1, 535.184 6, 373.129 3	1-羟基松脂醇二葡萄糖苷 ^[27]
30	18.26	[M+HCOO] ⁻	727.246 8	727.247 3	-0.1	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₆	681.247 2, 519.189 6, 501.178 5, 339.123 2	去氢二松柏醇二葡萄糖苷 ^[27]
31 [#]	18.87	[M+HCOO] ⁻	727.247 0	727.247 3	0.0	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₆	681.241 3, 519.190 9, 357.135 4	松脂醇二葡萄糖苷 ^[24,35,46-48]
32 [#]	19.41	[M-H] ⁻	225.083 8	225.084 1	-0.1	C ₁₁ H ₁₄ O ₅	193.050 6, 207.066 4	京尼平 ^[34,27]
33	19.85	[M+HCOO] ⁻	613.213 8	613.215 6	-0.3	C ₂₇ H ₃₆ O ₁₃	567.212 2, 405.156 0, 209.080 8, 195.065 2	citrusin B
34 [#]	20.06	[M+HCOO] ⁻	757.257 0	757.257 8	-0.1	C ₃₃ H ₄₄ O ₁₇	711.258 2, 549.200 8, 387.145 0	中脂素二葡萄糖苷 ^[35]
35	21.21	[M+HCOO] ⁻	787.268 0	787.268 4	-0.1	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	741.270 2, 579.212 6, 417.156 2	丁香脂素二葡萄糖苷 ^[24,35,49]
36	21.37	[M+HCOO] ⁻	581.187 7	581.189 4	-0.3	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	535.189 2, 373.130 2, 343.119 1, 193.049 6	7- <i>O</i> -对香豆酰基马钱子苷
37	21.83	[M+HCOO] ⁻	565.192 8	565.194 5	-0.3	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	519.245 3, 327.122 8	去氢二松柏醇葡萄糖苷 ^[30]
38	22.16	[M+HCOO] ⁻	567.208 3	567.210 1	-0.3	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁	521.203 5, 359.150 1	落叶松脂素葡萄糖苷
39	22.77	[M-H] ⁻	217.108 5	217.115 4	-3.2	C ₁₀ H ₁₈ O ₅	171.101 5, 217.107 4	(4 <i>E</i>)-6,7,9-trihydroxydec-4-enoic acid ^[29]
40	23.11	[M+HCOO] ⁻	1 039.233 1	1 039.226 2	0.7	C ₄₆ H ₅₈ O ₂₄	831.283 0, 669.226 4, 357.097 4	(+)-pinoresinol 4- <i>O</i> -[6"- <i>O</i> -vanilloyl]- β -D-glucopyranoside 二己糖衍生物
41	23.28	[M-H] ⁻	520.182 3	520.189 7	-1.4	C ₂₅ H ₃₁ NO ₁₁	190.049 9, 164.070 3, 123.044 6	eucomoside B ^[24,35]
42	23.92	[M-H] ⁻	515.119 4	515.126 8	-1.4	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.089 0, 335.077 7, 191.055 0, 179.034 1, 173.044 6, 135.044 5	异绿原酸 B ^[36,50]
43	24.16	[M+HCOO] ⁻	953.332 8	953.331 4	0.1	C ₄₃ H ₅₆ O ₂₁	745.279 9, 583.222 4, 535.200 2, 387.144 7	hedyotol C 4',4"-di- β -glucopyranoside ^[30]
44	24.38	[M-H] ⁻	515.119 2	515.126 8	-1.5	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.088 2, 191.055 2, 179.034 2, 135.045 0	异绿原酸 A ^[38-39,50]
45	24.47	[M-H] ⁻	519.186 9	519.194 5	-1.5	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	357.134 9	松脂醇单葡萄糖苷 ^[29,35]
46	26.12	[M-H] ⁻	187.098 3	187.104 9	-3.5	C ₉ H ₁₆ O ₄	125.096 7, 169.085 9	杜仲醇 ^[24,46,51]
47	26.66	[M-H] ⁻	515.118 8	515.126 8	-1.6	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.088 1, 191.054 9, 179.034 0, 173.044 4	异绿原酸 C ^[33,50]
48	27.09	[M-H] ⁻	243.123 9	243.131 1	-3.0	C ₁₂ H ₂₀ O ₅	225.112 4, 207.101 5	tetrahydro-3-hydroxy-5-oxo-2-furanotanoic acid
49	27.71	[M-H] ⁻	243.123 9	243.131 1	-3.0	C ₁₂ H ₂₀ O ₅	225.111 8, 207.100 9	6-[(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-carboxymethyl-tetrahydro-furan-2-yl]-hexanoic acid
50 [#]	28.53	[M-H] ⁻	463.094 9	463.095 5	-0.1	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	301.053 1, 255.163 9	金丝桃苷 ^[52]
51 [#]	30.33	[M-H] ⁻	609.146 0	609.146 1	0.1	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.145 8, 300.027 5	芦丁 ^[34,41]
52	32.05	[M-H] ⁻	241.108 4	241.115 4	-2.9	C ₁₂ H ₁₈ O ₅	197.116 4, 179.107 9	8-hydroxy-2,7-dimethyldeca-2,4-dienedioic acid

“#”表示与对照品对照分析

“#” indicates control analysis with comparators

$\text{H}_2\text{O}]^-$ 、 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{CO}_2]^-$ 、 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$ 等碎片离子。

峰 11 化合物准分子离子为 m/z 373.113 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ，拟合分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ ，根据二级质谱 211.060 1、193.049 4、167.070 7、149.060 1，推测其裂解后形成 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$ 、 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 、 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{CO}_2]^-$ 、 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$ 等碎片离子，推测化合物存在葡萄糖结构，母核为环烯醚萜，结合数据库检索及文献对比^[31-35]推测该化合物为京尼平苷酸，其裂解途径如图 2 所示。

峰 25 化合物的准分子离子为 m/z 433.134 8 $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ ，拟合分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ ，根据二级质谱 387.130 1、225.075 7、207.064 9，推测其裂解后形成 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$ 、 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 等碎片离子，结合数据库及文献对比^[34-35,45]推测该化合物为京尼平苷，其裂解途径如图 3 所示。

2.4.2 有机酸类化合物 杜仲中的有机酸类化合物主要有脂肪族羧酸、糖衍生有机酸及酚酸类，其在负离子模式下均易形成 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 准分子离子。脂肪族羧酸包括柠檬酸、异柠檬酸等。糖衍生有机酸在

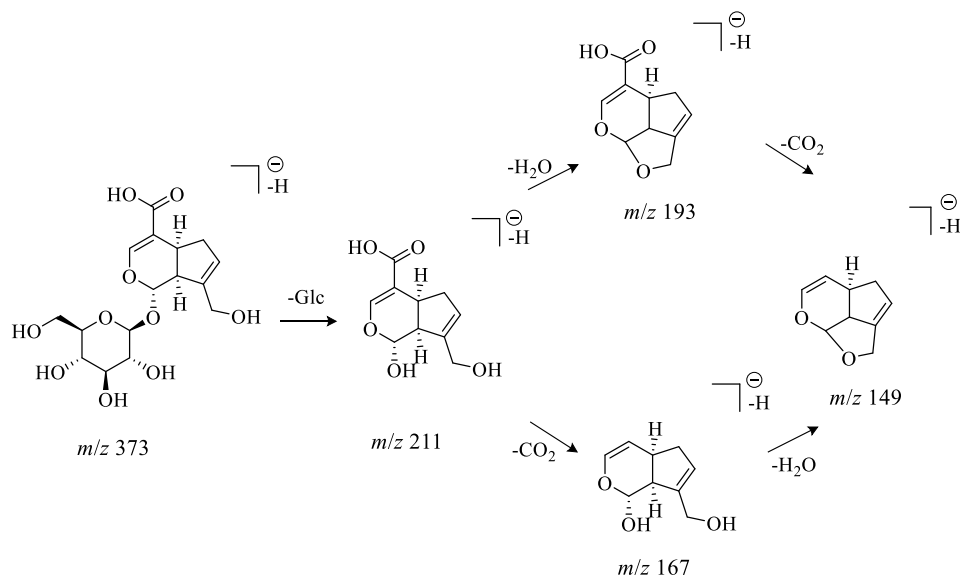


图 2 京尼平苷酸的裂解途径

Fig. 2 Fragmentation pathway of geniposidic acid

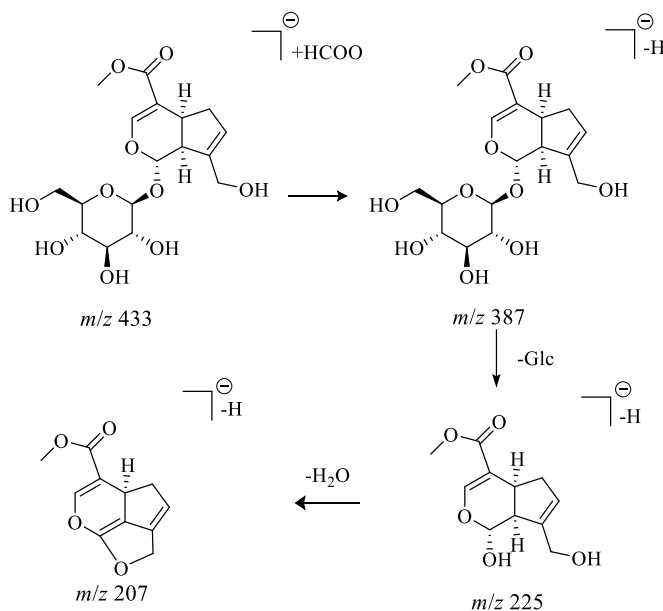


图 3 京尼平苷裂解过程

Fig. 3 Fragmentation pathway of geniposide

裂解过程中易失去葡萄糖结构, 得到苷元碎片离子 $[M-H-Glc]^-$, 同时苷元碎片进一步易失去 CH_3 和 CO_2 分子, 从而得到 $[M-H-Glc-CH_3]^-$ 、 $[M-H-Glc-CO_2]^-$ 、 $[M-H-Glc-CH_3-CO_2]^-$ 等碎片离子。峰 14 化合物的准分子离子为 m/z 359.097 8 $[M-H]^-$, 根据高分辨质谱结果拟合的分子式为 $C_{15}H_{20}O_{10}$, 二

级质谱为 197.044 7、153.055 2、138.031 8, 推测该化合物存在葡萄糖结构, 裂解形成 $[M-H-Glc]^-$ 、 $[M-H-Glc-CO_2]^-$ 、 $[M-H-Glc-CO_2-CH_3]^-$ 碎片离子, 结合数据库检索, 推测该化合物母核为丁香酸, 结合文献对比^[38]推测该成分为丁香酸葡萄糖苷, 其裂解途径如图 4 所示。

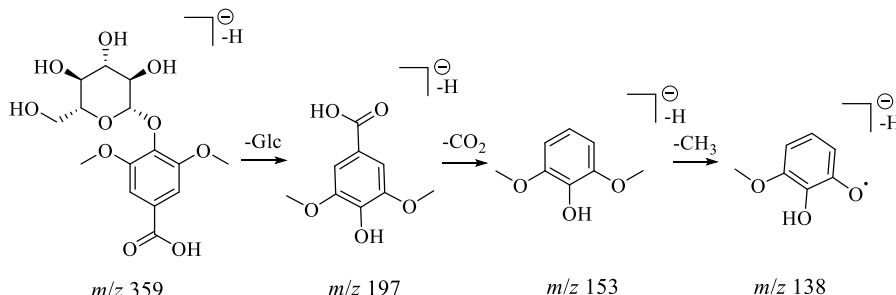


图 4 丁香酸葡萄糖苷的裂解过程

Fig. 4 Fragmentation pathway of syringic acid glucoside

酚酸类成分为含有酚环的有机酸, 其在裂解过程中易形成咖啡酸特征碎片离子 m/z 179 及奎宁酸特征碎片离子 m/z 191, 随后进一步丢失 CO_2 或 H_2O 分子。峰 19 化合物的准分子离子为 m/z 353.087 6 $[M-H]^-$, 拟合分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$, 根据二级质谱 191.054 7、179.033 3、173.044 7、135.044 4, 推测化合物存在咖啡酸和奎宁酸结构, 根据数据库检索, 结合文献对比^[36-38,41]推测该化合物为绿原酸, 其裂解途径如图 5 所示。

2.4.3 木脂素类化合物 木脂素类化合物在负离子模式下易形成 $[M-H]^-$ 和 $[M+HCOO]^-$ 这 2 种准分子离子, 其在裂解过程中易失去葡萄糖结构, 得到

碎片离子 $[M-H-Glc]^-$ 或 $[M-H-2Glc]^-$, 同时苷元碎片进一步易失去 CH_3 、 CO 等分子, 从而得到 $[M-H-Glc-CH_3]^-$ 、 $[M-H-2Glc-CH_3]^-$ 、 $[M-H-Glc-CO]^-$ 、 $[M-H-2Glc-CO]^-$ 等碎片离子。峰 31 化合物的准分子离子为 m/z 727.247 0 $[M+HCOO]^-$, 根据高分辨质谱结果拟合的分子式为 $C_{32}H_{42}O_{16}$, 根据二级质谱 681.241 3、519.190 9、357.135 4, 推测化合物存在 2 个葡萄糖结构且母核为松脂醇, 根据数据库检索及文献对比^[24,35,46-48]推测该化合物为松脂醇二葡萄糖苷, 其裂解途径如图 6 所示。

2.4.4 黄酮类化合物 黄酮类化合物在负离子模式

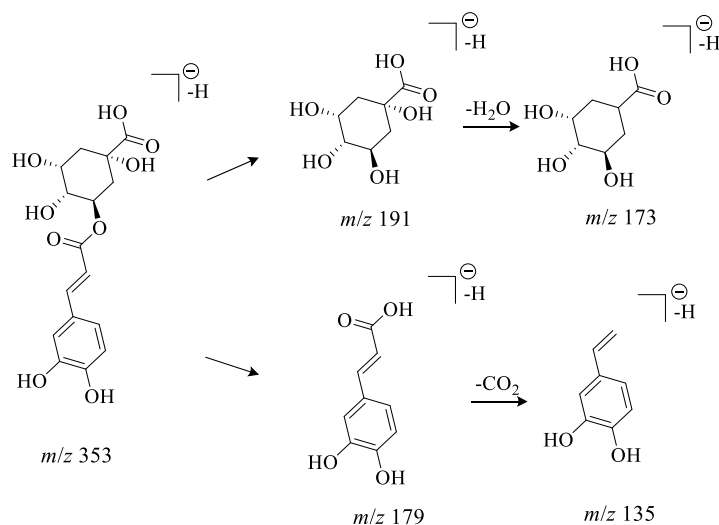


图 5 绿原酸的裂解过程

Fig. 5 Fragmentation pathway of chlorogenic acid

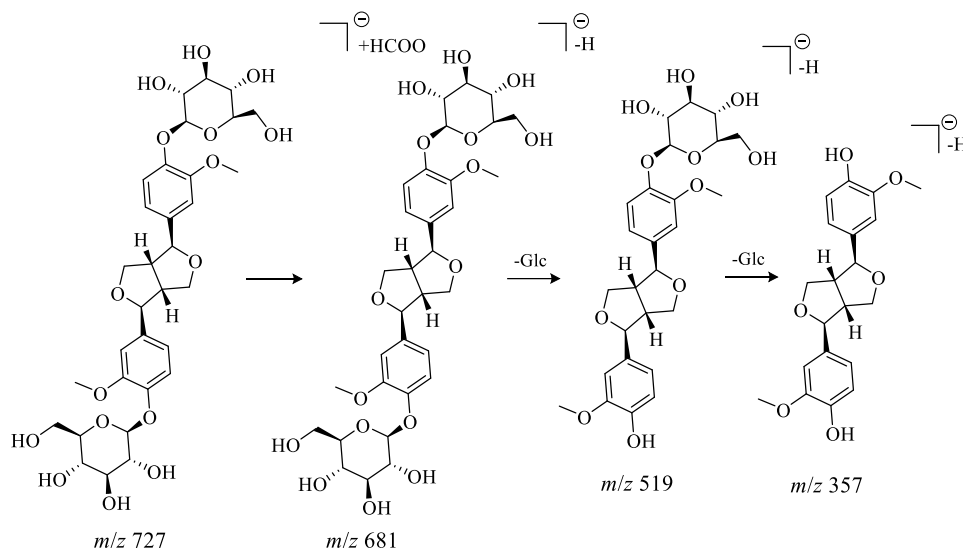


图 6 松脂醇二葡萄糖苷的裂解途径

Fig. 6 Fragmentation pathway of pinoresinol diglucoside

下易形成[M-H]⁻准分子离子, 在裂解过程中经常发生糖苷键的断裂, 丢失葡萄糖分子或鼠李糖分子, 得到苷元碎片离子[M-H-Glc]⁻或[M-H-Rha]⁻等, 苷元碎片后续进一步发生 CH₃、CO、H₂O、CHO 等分子的丢失。峰 50 化合物的准分子离子为 m/z 463.094 9 [M-H]⁻, 拟合分子式为 C₂₁H₂₀O₁₂, 根据二级质谱 301.053 1、255.163 9, 结合数据库检索及文献对比^[52], 推测该化合物为金丝桃苷, 其裂解途径如图 7 所示。

2.5 杜仲盐制前后差异性成分筛选

使用 Peakview 软件对样品中所有鉴定的化合物的质谱峰数据进行提取, 将数据导入 SIMCA 14.1 软件进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares method-discriminant analysis, OPLS-DA) 进行多元统计分析, 筛选出潜在差异性

成分。

2.5.1 聚类分析 将 5 批杜仲及盐杜仲的质谱峰数据导入 MetaboAnalyst 5.0 中, 得到杜仲与盐杜仲样品的聚类热图, 结果见图 8。样品中化合物含量越高, 热图上所显示的颜色就越深。Pearson 聚类热图表明各样品可分为 2 类, S1~S5 聚为一类, Y1~Y5 聚为一类。

2.5.2 PCA 将各样品在负离子模式下已鉴别的 52 个成分的质谱峰数据导入到 SIMCA 14.1 中进行 PCA, 结果如图 9 所示, 在无监督的情况下, 杜仲样品分布于第 1、4 象限, 盐杜仲样品分布于第 2、3 象限, 两者具有明显的区分, 表明杜仲盐制前后其总体化学特征发生了改变, 可能存在化学成分种类或含量的变化; 各组中不同样本点之间离散较小, 说明各批次样品组内均一性较高。

2.5.3 OPLS-DA 将各样品在负离子模式下已鉴别

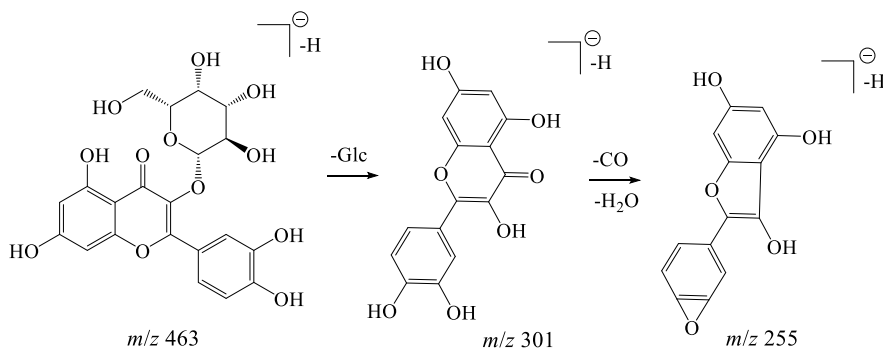


图 7 金丝桃苷的裂解途径

Fig. 7 Fragmentation pathway of hyperoside

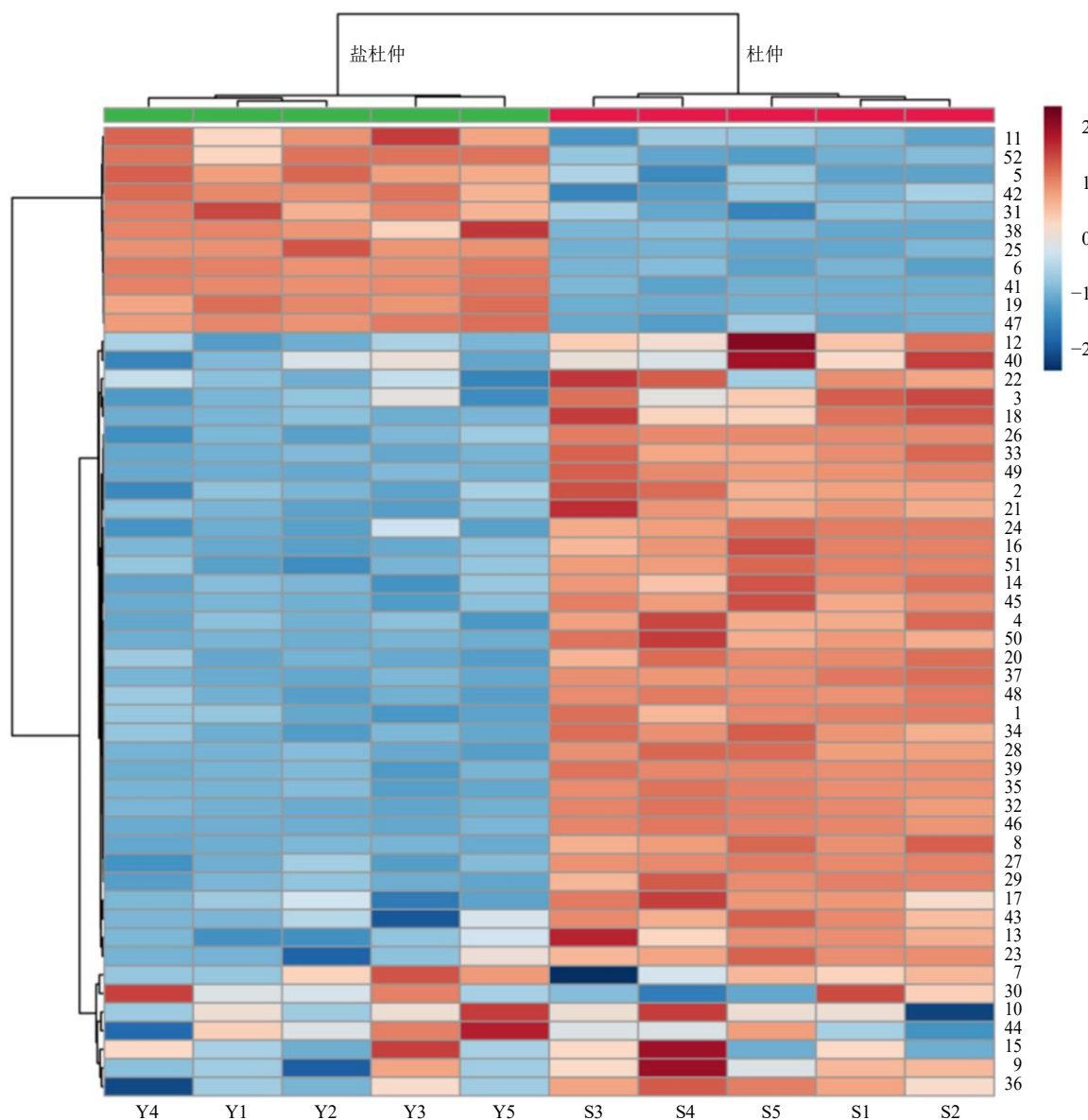


图 8 杜仲与盐杜仲各化学成分聚类热图

Fig. 8 Cluster heat map of chemical components of EC and spEC

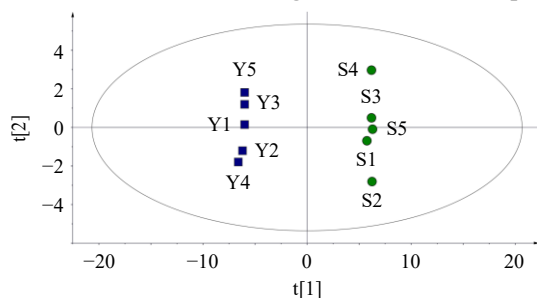


图 9 杜仲与盐杜仲 PCA 得分图

Fig. 9 PCA score plot of EC and spEC

的 52 个成分的质谱峰数据导入到 SIMCA 14.1 中进行 OPLS-DA, 以此来筛选影响杜仲与盐杜仲分类判别的潜在差异成分。样品得分散点图如图 10 所示, 杜仲与盐杜仲聚为 2 类, 模型的累积解释能力参数

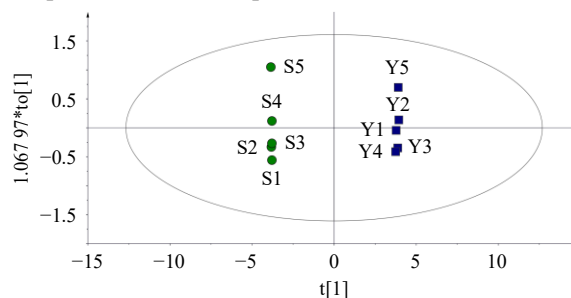


图 10 杜仲与盐杜仲 OPLS-DA 得分图

Fig. 10 OPLS-DA score plot of EC and spEC

R^2 、 R^2 及预测能力参数 Q^2 分别 0.957、1.000、1.000, 说明模型可靠, 拟合效果较好。由图 11 所示的 200 次置换检验图中可知, R^2 和 Q^2 的回归线分别与左侧纵轴相交于 2 条回归线, 斜率均较大, 且左侧随机排

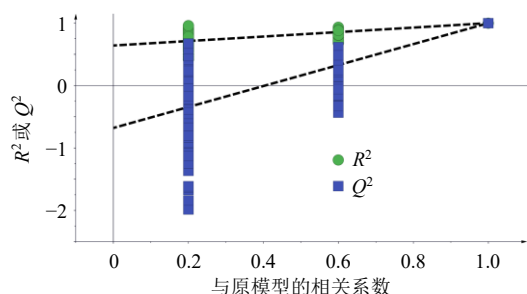


图 11 杜仲与盐杜仲 OPLS-DA 模型置换检验图

Fig. 11 Permutation validation figure of OPLS-DA model of EC and spEC

列得到的 R^2 和 Q^2 随机值均小于右侧的原始值，说明所建立的原模型有效、稳定，且未出现过拟合，可用于进行进一步的数据分析。

进一步生成模型的 VIP 图 (图 12) 和 S-Plot 图 (图 13)，导出得到 VIP 值及 $p(\text{corr})$ 和 P 值，计算 $|p(\text{corr})|$ 和 $-\lg P$ 值，以 $\text{VIP} > 1$ ， $|p(\text{corr})| \geq 0.5$ 和 $-\lg P > 1.3$ 为条件对影响杜仲盐制前后质量差异的潜在差异性成分进行筛选，得到 14 种潜在的差异性化学成分，分别为峰 25 (京尼平苷)、19 (绿原酸)、46 (杜仲醇)、6 (桃叶珊瑚苷)、31 (松脂醇

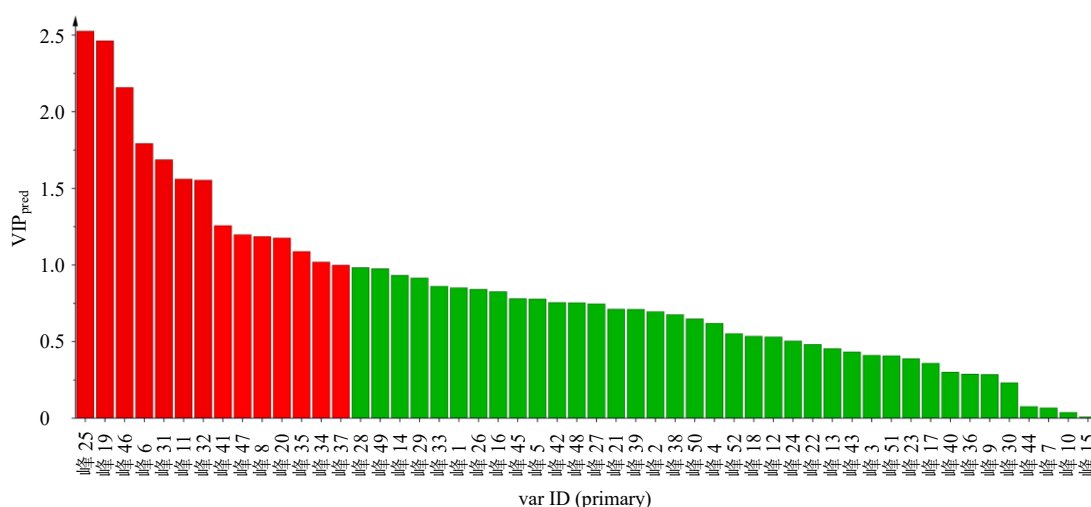


图 12 杜仲与盐杜仲 52 个共同成分 VIP 图

Fig. 12 VIP diagram of 52 common components of EC and spEC

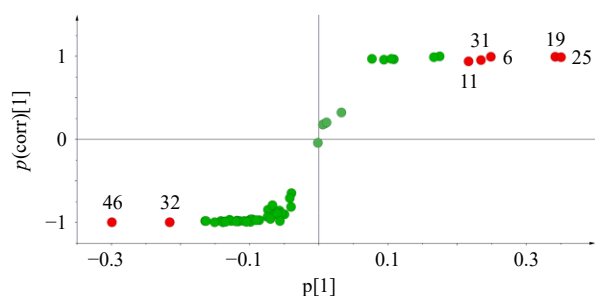


图 13 杜仲与盐杜仲 52 个共有成分 S-Plot 图

Fig. 13 S-plot spectrogram of 52 common components of EC and spEC

二葡萄糖苷)、11 (京尼平苷酸)、32 (京尼平)、41 (eucomoside B)、47 (异绿原酸 C)、8 (teuhircoside 硫酸脂)、20 (橄榄素二葡萄糖苷)、35 (丁香脂素二葡萄糖苷)、34 (中脂素二葡萄糖苷) 和 37 (去氢二松柏醇葡萄糖苷)，结果见表 2。

各成分所对应的峰面积表示含量的变化，本研究计算了 5 批杜仲与盐杜仲的同一成分质谱峰面积占该批次的峰面积总值的百分比，分别以杜仲与盐

表 2 杜仲与盐杜仲差异性成分筛选结果

Table 2 Screening results of differential components between EC and spEC

峰号	成分	VIP	$ p(\text{corr}) $	$-\lg P$
6	桃叶珊瑚苷	1.794 4	0.995 0	8.646 2
8	teuhircoside 硫酸脂	1.186 9	0.984 6	6.634 2
11	京尼平苷酸	1.561 8	0.941 1	4.318 6
19	绿原酸	2.463 9	0.993 4	8.004 6
20	橄榄素二葡萄糖苷	1.177 7	0.982 8	6.369 2
25	京尼平苷	2.527 0	0.991 8	7.554 2
31	松脂醇二葡萄糖苷	1.688 2	0.955 4	4.821 8
32	京尼平	1.555 2	0.996 8	9.171 7
34	中脂素二葡萄糖苷	1.021 0	0.983 2	6.358 3
35	丁香脂素二葡萄糖苷	1.089 1	0.995 8	8.829 3
37	去氢二松柏醇葡萄糖苷	1.001 0	0.995 7	8.817 8
41	eucomoside B	1.258 5	0.997 3	9.785 3
46	杜仲醇	2.159 7	0.998 1	10.320 9
47	异绿原酸 C	1.199 2	0.989 3	7.255 6

杜仲各成分峰面积百分比平均值做比较, 结果如表 3 所示, 杜仲经盐制后桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷、异绿原酸 C 和 eucomoside B 呈上升趋势, 而杜仲醇、京尼平、teuhircoside 硫酸脂、橄榄素二葡萄糖苷、丁香脂素二葡萄糖苷、中脂素二葡萄糖苷和去氢二松柏醇葡萄糖苷呈下降趋势。

表 3 杜仲与盐杜仲差异性成分的峰面积变化结果
Table 3 Results of peak area changes of differential components of EC and spEC

峰号	成分	峰面积占比/%	
		杜仲	盐杜仲
6	桃叶珊瑚苷	2.30	4.19
8	teuhircoside 硫酸脂	1.19	0.35
11	京尼平苷酸	8.29	9.81
19	绿原酸	5.91	9.48
20	橄榄素二葡萄糖苷	3.29	2.47
25	京尼平苷	4.29	8.05
31	松脂醇二葡萄糖苷	11.05	12.80
32	京尼平	4.64	3.22
34	中脂素二葡萄糖苷	2.74	2.12
35	丁香脂素二葡萄糖苷	3.07	2.37
37	去氢二松柏醇葡萄糖苷	1.36	0.77
41	eucomoside B	0.98	1.91
46	杜仲醇	6.17	3.44
47	异绿原酸 C	2.06	2.91

3 讨论

本研究采用 UPLC-Triple-TOF/MS 建立了杜仲化学成分定性分析方法, 通过 Scifinder、Reaxys 数据库、相关文献的搜索以及裂解规律的分析, 共鉴定出 52 种化合物, 主要类别有环烯醚萜类、黄酮类、木脂素类和有机酸类等。

炮制前后仅发现有成分含量高低的变化, 并未发现有新增或消失的成分。PCA 与 OPLS-DA 结果显示, 杜仲与盐杜仲在有监督和无监督的情况下均能得到较好地区分, 利用液质联用数据共筛选出京尼平苷、绿原酸、杜仲醇、桃叶珊瑚苷、松脂醇二葡萄糖苷、京尼平苷酸、京尼平、eucomoside B、异绿原酸 C、teuhircoside 硫酸脂、橄榄素二葡萄糖苷、丁香脂素二葡萄糖苷、中脂素二葡萄糖苷和去氢二松柏醇葡萄糖苷这 14 个潜在差异成分。桃叶珊瑚苷属于环烯醚萜苷类化合物, 现代药理研究表明其

具有抗炎、抗骨质疏松、保护肝肾的作用^[53]。京尼平、京尼平苷、京尼平苷酸均属于环烯醚萜类化合物, 现代药理研究表明京尼平、京尼平苷均具有较好的治疗糖尿病肾病作用^[54-55], 京尼平苷酸是京尼平苷的衍生物, 现代药理研究表明其具有抗炎、抗氧化应激、保护肝脏等作用^[56-58]。

绿原酸属于多酚类化合物, 多个药理研究表明其具有较强的抗菌作用^[59-62]。松脂醇二葡萄糖苷属于木脂素类化合物, 药理研究表明其具有改善骨质疏松的作用, 同时可提升骨质量和骨坚硬程度^[63-64]。杜仲醇属于环烯醚萜类化合物, 现代药理研究表明其具有镇静催眠、安胎的作用^[65-66]。异绿原酸 C 属于苯丙素类化合物, 现代药理作用表明其具有抗炎、保护肝脏等作用^[67-68]。

经质谱峰面积分析, 杜仲盐制后京尼平苷、绿原酸、桃叶珊瑚苷、松脂醇二葡萄糖苷、京尼平苷酸、异绿原酸 C、eucomoside B 呈上升趋势, 这几个差异性成分可作为主要的潜在物质基础研究方向, 根据这几个差异性成分的现代药理作用, 我们推测盐制后能够增强杜仲的抗炎、抗骨质疏松及保护肝肾等功效, 这同时也印证了杜仲“盐制入肾”炮制理论, 为后续开展相关药理对比研究提供了方向。

本研究采用液质联用技术结合化学计量学对盐杜仲增效的物质基础进行研究, 对杜仲各类成分进行了较好的分析, 结合化学计量学对杜仲盐制前后进行差异性成分筛选, 共筛选出 14 个潜在差异成分, 为后续杜仲炮制前后药效学的物质基础的研究及质量标准的提升提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 黄夷. 神农本草经 [M]. 影印本. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 114.

[2] 秧荣昆, 关智宇. 基于肾主骨理论探讨杜仲通过调控 OPG/RANKL/RANK 通路对去势骨质疏松大鼠的影响 [J]. 中成药, 2023, 45(1): 70-74.

[3] 王娟娟, 秦雪梅, 高晓霞, 等. 杜仲化学成分、药理活性和质量控制现状研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(15): 3228-3237.

[4] 黄玲, 苏彦红, 蒋跃平, 等. 杜仲皮中木脂素类化学成分及其对高糖诱导的肾小球系膜细胞保护作用研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(3): 405-409.

[5] 许碧琪, 戴燕青, 傅倩云, 等. 杜仲黄酮对糖尿病肾病小鼠 Nrf2/HO-1 氧化应激信号通路的影响 [J]. 吉林中医药, 2020, 40(6): 788-791.

- [6] 王建辉, 刘永乐, 李赤翎, 等. 杜仲绿原酸对高脂模型小鼠降血脂作用研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(15): 360-362.
- [7] 张萍, 李明华, 周娟, 等. 杜仲炮制工艺对其质量的影响及化学成分与药理研究进展 [J]. 中国药杂志, 2020, 55(6): 421-427.
- [8] 吴永继. 杜仲水提物对脂多糖诱导的小鼠神经炎症的保护作用及其机制研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- [9] 肖黎明, 王程荣, 冯欣, 等. 杜仲安胎的研究进展 [J]. 环球中医药, 2020, 13(12): 2189-2192.
- [10] 林上阳, 周雅倩, 谢辉, 等. 杜仲极细粉与传统饮片有效成分溶出行为及大鼠药动学比较研究 [J]. 世界中医药, 2020, 15(21): 3223-3231.
- [11] 管松滨, 胥骞, 卢白芸, 等. 不同炮制方法对杜仲质量影响的研究进展 [J]. 湖南中医杂志, 2023, 39(4): 201-204.
- [12] 翁泽斌, 颜翠萍, 高倩倩, 等. 不同炮制品的杜仲含药血清及其环烯醚萜类成分对绝经后妇女成骨细胞增殖与分化的影响 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(11): 2636-2638.
- [13] 管松滨, 胥骞, 卢白芸, 等. 不同炮制温度对盐杜仲主要有效成分含量的影响 [J]. 精细化工中间体, 2023, 53(1): 34-38.
- [14] 吴杭莎, 吕悦, 韦飞扬, 等. HPLC 指纹图谱和化学模式识别的杜仲盐炙前后对比 [J]. 中成药, 2022, 44(12): 4072-4076.
- [15] 张琼, 黄平, 彭松. 杜仲炮制品 HPLC 指纹图谱的研究 [J]. 齐鲁药事, 2009, 28(2): 84-85.
- [16] 陶益, 盛辰, 李伟东, 等. 杜仲不同炮制品化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4352-4355.
- [17] 王梦晴, 蔡皓, 刘鑫, 等. 杜仲盐炙前后主要活性成分在肾纤维化大鼠体内的药代动力学研究 [J]. 药学学报, 2023, 58(6): 1611-1618.
- [18] 王玮, 刘颖, 叶斌斌, 等. UPLC-QTOF-MS 结合主成分分析法考察胡芦巴盐制前后的化学成分差异 [J]. 药学研究, 2022, 41(12): 786-790.
- [19] 吴杭莎, 吕悦, 韦飞扬, 等. 液质联用技术联合化学计量法分析比较续断盐制前后质量差异 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2066-2076.
- [20] 文旺, 李莉, 李德坤, 等. 基于液质联用技术和植物代谢组学的甘草炮制品化学成分差异性分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(17): 104-110.
- [21] 《浙江省中药炮制规范》2005 年版 [S]. 2006: 327.
- [22] Guo T Y, Tang C, Song H L, *et al.* Structural identification of sour compounds in wine and tea by ambient ionization mass spectrometry according to characteristic product ion and neutral loss [J]. *Food Chem*, 2021, 353: 129446.
- [23] Sun Y, Ji D Y, Ma H L, *et al.* Ultrasound accelerated γ -aminobutyric acid accumulation in coffee leaves through influencing the microstructure, enzyme activity, and metabolites [J]. *Food Chem*, 2022, 385: 132646.
- [24] Huang Q, Zhang F Y, Liu S, *et al.* Systematic investigation of the pharmacological mechanism for renal protection by the leaves of *Eucommia ulmoides* Oliver using UPLC-Q-TOF/MS combined with network pharmacology analysis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 140: 111735.
- [25] Chen S D, Lu C J, Zhao R Z. Identification and quantitative characterization of PSORI-CM01, a Chinese medicine formula for psoriasis therapy, by liquid chromatography coupled with an LTQ Orbitrap mass spectrometer [J]. *Molecules*, 2015, 20(1): 1594-1609.
- [26] Zhang Z W, Jiang S Q, Tian H Q, *et al.* Ethyl acetate fraction from *Nymphaea hybrida* Peck modulates inflammatory responses in LPS-stimulated RAW 264.7 cells and acute inflammation murine models [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 269: 113698.
- [27] Guo J D, Li J, Yang X J, *et al.* A metabolomics coupled with chemometrics strategy to filter combinatorial discriminatory quality markers of crude and salt-fired *Eucommiae Cortex* [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 838.
- [28] Zhang M, Geng T, Jing S H, *et al.* Chemical profile and miscarriage prevention evaluation of Jiao-Ai Decoction, a classical traditional Chinese formula [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 217: 114832.
- [29] Li C, Sun C Z, Yang Y H, *et al.* A novel strategy by integrating chemical profiling, molecular networking, chemical isolation, and activity evaluation to target isolation of potential anti-ACE2 candidates in *Forsythiae Fructus* [J]. *Phytomedicine*, 2022, 96: 153888.
- [30] He M Z, Jia J, Li J M, *et al.* Application of characteristic ion filtering with ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time of flight tandem mass spectrometry for rapid detection and identification of chemical profiling in *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1554: 81-91.
- [31] Timóteo P, Karioti A, Leitão S G, *et al.* A validated HPLC method for the analysis of herbal teas from three chemotypes of Brazilian *Lippia alba* [J]. *Food Chem*, 2015, 175: 366-373.
- [32] Gao H X, Liu Z Q, Song F R, *et al.* A strategy for identification and structural characterization of compounds from *Plantago asiatica* L. by liquid chromatography-mass spectrometry combined with ion mobility spectrometry [J]. *Molecules*, 2022, 27(13): 4302.
- [33] Napolitano A, di Napoli M, Castagliuolo G, *et al.* The

- chemical composition of the aerial parts of *Stachys spreitzenhoferi* (Lamiaceae) growing in Kythira Island (Greece), and their antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative properties [J]. *Phytochemistry*, 2022, 203: 113373.
- [34] Saravanakumar K, Park S, Sathiyaseelan A, *et al.* Metabolite profiling of methanolic extract of *Gardenia jaminoides* by LC-MS/MS and GC-MS and its anti-diabetic, and anti-oxidant activities [J]. *Pharmaceuticals*, 2021, 14(2): 102.
- [35] Pi J J, Wu X, Rui W, *et al.* Identification and fragmentation mechanisms of two kinds of chemical compositions in *Eucommia ulmoides* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS [J]. *Chem Nat Compd*, 2016, 52(1): 144-148.
- [36] Lin H Q, Zhu H L, Tan J, *et al.* Comparative analysis of chemical constituents of *Moringa oleifera* leaves from China and India by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2019, 24(5): 942.
- [37] Nkosi N J, Shoko T, Manhivi V E, *et al.* Metabolomic and chemometric profiles of ten southern African indigenous fruits [J]. *Food Chem*, 2022, 381: 132244.
- [38] Liu C, Fan F F, Zhong L, *et al.* Elucidating the material basis and potential mechanisms of Ershiwuwei Lvixue Pill acting on rheumatoid arthritis by UPLC-Q-TOF/MS and network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2022, 17(2): e0262469.
- [39] Jaiswal R, Halabi E A, Karar M G E, *et al.* Identification and characterisation of the phenolics of *Ilex glabra* L. Gray (Aquifoliaceae) leaves by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Phytochemistry*, 2014, 106: 141-155.
- [40] Wang M Y, Zhang M, Yang Q, *et al.* Metabolomic profiling of *M. speciosa* Champ at different growth stages [J]. *Food Chem*, 2021, 376: 131941.
- [41] de Torre M P, Caverio R Y, Calvo M I. Anticholinesterase activity of selected medicinal plants from Navarra region of Spain and a detailed phytochemical investigation of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* [J]. *Molecules*, 2022, 27(20): 7100.
- [42] Li Y, Peng Y, Wang M Y, *et al.* Human gastrointestinal metabolism of the *Cistanches Herba* water extract *in vitro*: Elucidation of the metabolic profile based on comprehensive metabolite identification in gastric juice, intestinal juice, human intestinal bacteria, and intestinal microsomes [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(34): 7447-7456.
- [43] Emad A M, Rasheed D M, El-Kased R F, *et al.* Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of polyphenol-enriched extract of Egyptian celery (*Apium Graveolens* L., Apiaceae) aerial parts via UPLC/ESI/TOF-MS [J]. *Molecules*, 2022, 27(3): 698.
- [44] Mesquita M, Santos E, Kassuya C A, *et al.* Chimarrão, terere and mate-tea in legitimate technology modes of preparation and consume: A comparative study of chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-anxiety properties of the mostly consumed beverages of *Ilex paraguariensis* St. Hil [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114401.
- [45] Zhu H Y, Bi K S, Han F, *et al.* Identification of the absorbed components and metabolites of Zhi-Zi-Da-Huang Decoction in rat plasma by ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 111: 277-287.
- [46] Shi X Q, Luo S B, Zhong K, *et al.* Chemical profiling, quantitation, and bioactivities of Du-Zhong tea [J]. *Food Chem*, 2022, 394: 133552.
- [47] Cheng C F, Lin J C F, Tsai F J, *et al.* Protective effects and network analysis of natural compounds obtained from *Radix dipsaci*, *Eucommiae cortex*, and *Rhizoma Drynariae* against RANKL-induced osteoclastogenesis *in vitro* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 244: 112074.
- [48] He Y, Wang Y M, Zhang X, *et al.* Chemical characterization of small-molecule inhibitors of monoamine oxidase B synthesized from the *Acanthopanax senticosus* root with affinity ultrafiltration mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2020, 34(8): e8694.
- [49] Zeng M, Zhang Y, Zhang X L, *et al.* Two birds with one stone: YQSSF regulates both proliferation and apoptosis of bone marrow cells to relieve chemotherapy-induced myelosuppression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 289: 115028.
- [50] Tian Z H, Sun L P, Chi B Q, *et al.* Affinity ultrafiltration and UPLC-HR-Orbitrap-MS based screening of neuraminidase inhibitors from *Angelica pubescens* [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2022, 1208: 123398.
- [51] Kumar S, Bouic P J, Rosenkranz B. Investigation of CYP2B6, 3A4 and β -esterase interactions of *Withania somnifera* (L.) dunal in human liver microsomes and HepG2 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 270: 113766.
- [52] Ren M S, Xie H H, Ding Y, *et al.* Er-Xian Decoction drug-containing serum promotes Mc3t3-e1 cell proliferation and osteogenic differentiation via regulating BK channel [J]. *J*

- Ethnopharmacol*, 2023, 302(Pt A): 115887.
- [53] 朱志铭, 任朝兴, 马博. 桃叶珊瑚苷药理作用及分子机制研究进展 [J]. 生物加工过程, 2021, 19(5): 482-490.
- [54] 晏兴莉. 京尼平抑制巨噬细胞 M1 型极化在 2 型糖尿病肾病小鼠模型中作用的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [55] Wang M X, Wang M M, Liu C, *et al.* A geniposide-phospholipid complex ameliorates posthyperuricemia chronic kidney disease induced by inflammatory reactions and oxidative stress [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 930.
- [56] Jiang P, Zhang Y, Li X J, *et al.* Geniposidic acid attenuates DSS-induced colitis through inhibiting inflammation and regulating gut microbiota [J]. *Phytother Res*, 2023, 37(8): 3453-3466.
- [57] Cheng S, Jia H L, Zhang Y S, *et al.* Geniposidic acid from *Eucommia ulmoides* Oliver staminate flower tea mitigates cellular oxidative stress via activating AKT/NRF2 signaling [J]. *Molecules*, 2022, 27(23): 8568.
- [58] Song M, Chen Z J, Qiu R A, *et al.* Inhibition of NLRP3-mediated crosstalk between hepatocytes and liver macrophages by geniposidic acid alleviates cholestatic liver inflammatory injury [J]. *Redox Biol*, 2022, 55: 102404.
- [59] 樊荣. 绿原酸代谢产物的抗菌作用及其机制研究 [D]. 成都: 成都大学, 2023.
- [60] Ramesh T H, Keshao P P. Chlorogenic acid loaded niosomes and proniosomes: *In vitro* antioxidant and antibacterial activities with efficacy in wound healing [J]. *Digital Chin Med*, 2023, 6(2): 170-188.
- [61] Wang L B, Zhang Y, Liu Y, *et al.* Effects of chlorogenic acid on antimicrobial, antivirulence, and anti-quorum sensing of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 997310.
- [62] Guo C F, Zhou Z Y, Zhang S Q, *et al.* Sulfonated, quaternized, and chlorogenic acid composited sodium alginate hydrogels/*Eucommia ulmoides* rubber films as *in vitro* antibacterial wound dressings for accelerating wound healing [J]. *Ind Crops Prod*, 2022, 190: 115885.
- [63] 黄星翔, 钟超, 叶华, 等. 基于 Nrf2 通路探讨松脂醇二葡萄糖苷改善小鼠骨质疏松的机制研究 [J]. 中国临床解剖学杂志, 2023, 41(2): 162-171.
- [64] 孙悦. 松脂醇二葡萄糖苷促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨性分化及其分子机制研究 [D]. 兰州: 兰州理工大学, 2023.
- [65] Li X, Zhu W X, Yang L P, *et al.* Evaluation of the sedative and hypnotic effects of Eucommiol in *Eucommia* [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27(18): 1657-1659.
- [66] 王永林, 向文英, 陆苑, 等. 杜仲的血清药物化学研究 [J]. 中草药, 2016, 47(7): 1101-1105.
- [67] 陈喜宏, 路桂聪, 王浩磊, 等. 利用牛乳腺细胞和小鼠乳腺组织分析异绿原酸 C 通过 NF- κ B 信号通路对乳腺炎症反应的抑制效应 [J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54(9): 3931-3940.
- [68] 刘海霞. 中华苦苣菜与苣荬菜主要化学成分及保肝抗炎药理作用的比较研究 [D]. 晋中: 山西中医学院, 2016.

[责任编辑 郑礼胜]