

基于 UPLC-Q/TOF-MS 研究掌叶大黄酒蒸前后的化学成分变化

康朝霞¹, 孙 娥^{1*}, 郭舒臣², 王 龙², 黄 然¹, 汪 晶¹, 黄一平^{1*}, 窦志华³, 封 亮², 贾晓斌²

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药口服释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

2. 中国药科大学, 江苏 南京 211198

3. 南通市第三人民医院, 江苏 南通 226006

摘 要: **目的** 基于 UPLC-Q/TOF-MS 技术, 分析掌叶大黄 *Rheum palmatum* 酒蒸前后的化学成分, 运用植物代谢组学方法对掌叶大黄酒蒸前后化学成分进行对比, 研究掌叶大黄酒蒸前后的化学成分变化。 **方法** 采用 ACQUITY UPLC[®]HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相, 体积流量 0.3 mL/min, 在负离子模式下采集掌叶大黄生品及酒蒸品样品数据, 并在此基础上使用正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 研究 8 个不同产地、批次掌叶大黄炮制前后化学成分的差异。 **结果** 全面分析了 8 批掌叶大黄生熟品的化学成分, 共指出 115 个成分 (鉴定 106 个), 包含糖类 3 个、鞣质类 40 个、酚酸类 2 个、黄酮类 20 个、二苯乙烯类 6 个、苯丁酮类 6 个、蒽醌类 22 个、色原酮类 1 个、蒽酮类 6 个, 以及 9 个未知成分。基于植物代谢组学分析, 发现酒蒸前后掌叶大黄化学成分明显不同, 与掌叶大黄生品比较酒蒸后鞣质类、黄酮类、蒽醌类等 6 类共 30 个化学成分呈现差异, 其中有 6 个成分酒蒸后显著上调, 即没食子酸、儿茶素-7-*O*-葡萄糖苷、儿茶素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷和山柰酚; 香叶木素-7-*O*-新橙皮苷、没食子酸-3-*O*-葡萄糖苷、1,6-二-*O*-没食子酰葡萄糖苷等 22 个成分酒蒸后显著下调。 **结论** 掌叶大黄炮制前后化学成分结构发生改变, 鞣质聚合体向鞣质单体转化, 多级糖苷向次级糖苷和苷元转化, 进一步阐释了掌叶大黄酒蒸加热过程成分变化的规律。

关键词: 掌叶大黄; 炮制; 变化规律; UPLC-Q/TOF-MS; 植物代谢组学; 没食子酸; 儿茶素-7-*O*-葡萄糖苷; 儿茶素-3-*O*-葡萄糖苷; 槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷; 大黄素-8-*O*-葡萄糖苷和山柰酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)15-5033-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.15.004

Analysis of *Rheum palmatum*'s components changes before and after steaming with wine based on UPLC-Q/TOF-MS

KANG Chaoxia¹, SUN E¹, GUO Shuchen², WANG Long², HUANG Ran¹, WANG Jing¹, HUANG Yiping¹, DOU Zhihua³, FENG Liang², JIA Xiaobin²

1. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, National Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory of Oral Drug Release System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

3. Nantong Third People's Hospital, Nantong 226006, China

Abstract: Objective Based on UPLC-Q/TOF-MS technology, the chemical components of *Rheum palmatum* were analyzed before and after steaming with wine. Methods of plant metabolomics were used to compare the chemical components of *R. palmatum* before

收稿日期: 2023-11-12

基金项目: 江苏省青年医学重点人才项目 (QNRC2016635); 江苏省医学创新团队项目 (CXTD2017003); 国家中医药管理局重点实验室能力提升项目 (2022GJJZDYJS_01); 南京中医药大学自然科学基金项目 (XZR2020028); 2021 年江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (SJCX21_0717); 2024 年江苏省研究生实践创新计划 (SJCX24_0923)

作者简介: 康朝霞, 硕士研究生, 从事中药炮制与制剂研究。E-mail: pinelliabianxia@163.com

***通信作者:** 孙 娥, 研究员, 硕士生导师, 从事中药炮制与制剂研究。E-mail: sune0825@163.com

黄一平, 研究员, 硕士生导师, 从事中药学研究。E-mail: yiping@163.com

and after steaming with wine and to study the changes. **Methods** The chromatography was performed on ACQUITY UPLC®HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) with acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution as the mobile phase and a volume flow rate of 0.3 mL/min. The data of *R. palmatum* raw and steamed with wine products were collected in negative ion mode, and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) was used to analyse the differences in chemical component of *R. palmatum* before and after steaming with wine in eight different origins and batches. **Results** The chemical components of eight batches of raw and steamed *R. palmatum* were analyzed comprehensively, and 115 components were obtained (106 were identified), including three saccharides, 40 tannins, two phenolic acids, 20 flavonoids, six stilbenes, six butyrophenones, 22 anthraquinones, one chromone, six anthrones and 9 unknown components. Based on plant metabonomics, it was found that the chemical components of *R. palmatum* were significantly different before and after steaming with wine. There were 30 chemical components in six categories, including tannins, flavonoids and anthraquinones showed differences after wine steaming when compared with raw *R. palmatum*. Six of these components were significantly elevated after wine steaming, including gallic acid, catechin-7-*O*-glucoside, catechin-3-*O*-glucoside, quercetin-3-*O*-glucoside, emodin-8-*O*-glucoside and kaempferol. However, the 22 components, such as diosmetin-7-*O*-neohesperidin, gallic acid-3-*O*-glucoside and 1,6-di-*O*-galloylglucoside, were significantly decreased after wine steaming. **Conclusion** The structures of *R. palmatum*'s chemical components changed after steaming, the tannin polymer transformed into tannin monomer and the polyglycosides transformed into secondary glycosides and aglycone, which further clarified the change rule of *R. palmatum*'s chemical components during steaming with wine.

Key words: *Rheum palmatum* L.; steaming with wine; change rule; UPLC-Q/TOF-MS; plant metabonomics; gallic acid; catechin-7-*O*-glucoside; catechin-3-*O*-glucoside; quercetin-3-*O*-glucoside; emodin-8-*O*-glucoside; kaempferol

大黄 *Rhei Radix et Rhizoma* 是大宗饮片之一，来源于蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 和药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根或根茎^[1]。大黄主要含有多糖、鞣质、黄酮、二苯乙烯、苯丁酮、蒽醌、蒽酮、色原酮等成分，具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经、利湿退黄等功效及抗炎、抗菌、抗癌、保肝、保护心脑血管、调节胃肠道等药理活性^[2-3]。大黄炮制方法主要有酒制、蒸制、炒炭、醋制等^[4]。大黄炮制过程涉及添加辅料、加热等，炮制前后大黄各类成分发生变化，目前文献报道中大黄炮制前后化学成分的变化规律主要表现为炮制后没食子酸糖苷、儿茶素糖苷等鞣质类成分含量降低，虎杖苷、反-3,5,4'-三羟基苯乙炔基-4'-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和反-3,5,4'-三羟基苯乙炔基-4'-*O*-β-*D*-(6''-*O*-没食子酰基)葡萄糖苷等二苯乙烯类含量降低^[5-7]；对炮制前后的蒽醌类化合物含量进行统计，大黄中结合蒽醌在炮制后含量均降低，且熟大黄和大黄炭中结合性蒽醌含量与生品比较显著降低；游离蒽醌含量在炮制后较生品升高，表明加辅料、加热的过程可能促进了大黄多聚体化合物向次级聚体化合物转化、苷类向苷元转化^[8-10]。

掌叶大黄是临床常用的大黄品种，掌叶大黄酒蒸后活血化瘀、抑制消化酶活性、抗炎、降低肝肾毒性能力增强，广泛运用于临床内科、妇科、儿科疾病的治疗及研究^[4]。酒蒸掌叶大黄是 1 个加热的

过程，之前的研究主要集中在大黄炮制前后个别成分变化，忽略了大黄整体成分炮制前后变化，所以本研究使用 UPLC-Q/TOF-MS 技术结合植物代谢组学方法整体的研究掌叶大黄酒蒸前后的化学成分变化，深化大黄的炮制机制研究。

超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱 (UPLC-Q/TOF-MS) 技术结合了超高效液相色谱仪的分离功能及飞行时间串联质谱对离子碎片质量的高分辨判别，可以对复杂化合物进行高效分离和定性鉴别。植物代谢组学方法可通过 UPLC-Q/TOF-MS、¹H-NMR 等分析植物小分子化学成分，运用主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)、模式识别等统计学方法研究中药化学成分炮制前后的变化规律，为深入中药炮制理论研究提供了新方法。掌叶大黄的炮制研究内容广泛，但运用植物代谢组学方法针对掌叶大黄的炮制前后的化学成分及化学成分变化研究缺乏，因此本研究运用 UPLC-Q/TOF-MS 技术及植物代谢组学分析对掌叶大黄酒蒸前后的化学成分展开研究，以期得到掌叶大黄炮制前后的全成分及差异成分，促进掌叶大黄炮制机制分析的深入。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters Xevo G2-XS QToF 质谱仪 [电喷雾电离源 (ESI)]、数据处理软件 Mass Lynx V 4.2 (Waters

公司); Mettler MT5 型电子分析天平 (Mettler Toledo 公司); SK5200H 型超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司); YH—C1002 电子天平 (瑞安市英衡电器有限公司); DZTW 型调温电热套 (北京市光明医疗仪器有限公司); RE-5203 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); Milli-Q 型超纯水净化系统 (Millipore 公司)。

1.2 对照品与试剂

对照品没食子酸 (批号 MUST-21071405)、表儿茶素 (批号 MUST-20102910)、表儿茶素没食子酸酯 (批号 MUST-20090215)、表没食子酸儿茶素 (批号 MUST-21042810)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (批号 MUST-20090214) 均购自成都曼思特生物科技有限公司; 儿茶素 (批号 P21J11F118380)、番泻苷 A (批号 P09J10F79265)、番泻苷 B (批号 P20A9F59262)、大黄酸-8-*O*-葡萄糖苷 (批号 P21A10F95764)、芦荟大黄素 (批号 T28D6F8624)、大黄酸 (批号 T30A8F42628)、大黄素 (批号 C18F8Q29652)、大黄酚 (批号 T24J10F93796) 均购

于上海源叶生物科技有限公司; 大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷 (批号 PUS012386)、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷 (批号 PS010709)、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷 (批号 PS011861)、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷 (批号 PS012241)、芦荟大黄素-3-(羟甲基)-*O*-葡萄糖苷 (批号 PS012453) 均购于成都普思生物科技有限公司; 大黄素-8-*O*-葡萄糖苷购于上海澄绍生物科技有限公司 (批号 CS2108PE); 大黄素甲醚购自中国药品生物制品检定所 (批号 110758-201013), 以上对照品质量分数均 $\geq 98\%$ 。质谱级乙腈和甲酸分别购自 Supelco 公司和 aladin 公司。实验黄酒购自浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司 (批号 20191005G), 实验用水为超纯水 (Milli-Q 制备)。

1.3 饮片样本采集

8 批掌叶大黄饮片均购自安徽省亳州中饮片市场, 具体信息见表 1。经中国药科大学王龙副研究员鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *R. palmatum* L., 样本保存于江苏省中医药研究院。掌叶大黄酒蒸品为自制, 样本保存于江苏省中医药研究院。

表 1 8 批次掌叶大黄饮片信息

Table 1 Information of eight batches of *R. palmatum*

编号	来源	批号	产地	编号	来源
S1	河北金叶子药业有限公司	181201C020	四川	S9	S1 酒蒸品, 自制
S2	贵州同德药业有限公司	20210901-1	四川	S10	S2 酒蒸品, 自制
S3	重庆万历药业有限公司	201001	甘肃	S11	S3 酒蒸品, 自制
S4	南通三越中药饮片有限公司	201829	甘肃	S12	S4 酒蒸品, 自制
S5	安徽汇中州中药饮片有限公司	21080201	甘肃	S13	S5 酒蒸品, 自制
S6	安徽省万生中药饮片有限公司	200201	四川	S14	S6 酒蒸品, 自制
S7	安徽协和成药业饮片有限公司	21101007	甘肃	S15	S7 酒蒸品, 自制
S8	亳州市永刚饮片有限公司	A211010	甘肃	S16	S8 酒蒸品, 自制

2 方法

2.1 对照品溶液的制备

取对照品没食子酸、表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、表没食子酸儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、儿茶素、番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、大黄酸-8-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素-3-(羟甲基)-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚适量, 精密称定, 加甲醇溶液分别制成质量浓度为 7.76、7.87、8.16、7.53、7.78、7.92、7.72、7.21、7.50、7.98、7.63、7.81、7.60、

7.98、7.92、7.99、8.23、8.00、8.03、7.80 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液, 标记为混合对照品溶液。

2.2 供试品的制备

2.2.1 熟大黄的制备 取掌叶大黄饮片适量, 按照《中国药典》2020 年版酒蒸法 (通则 0213) 蒸至内外均呈黑色。取待炮制掌叶大黄饮片适量, 加黄酒拌匀, 闷润 2 h, 置蒸锅内蒸制 4 h, 取出, 稍晾, 拌回蒸液, 干燥, 干燥箱温度为 55 $^{\circ}\text{C}$ 。每 100 千克掌叶大黄加入黄酒 20 kg。本品呈不规则的块片, 表面黑色, 断面中间隐约可见放射状纹理, 质坚硬, 气微香。

2.2.2 生熟大黄供试品制备 称取生熟掌叶大黄适

量,生品和酒蒸品均采用 10 倍量水提取 2 次,每次 30 min,滤过后合并提取液,减压浓缩至 0.65 g/mL,即得掌叶大黄流浸膏。精密量取生熟掌叶大黄流浸膏 1 mL,置于 10 mL 量瓶,加水稀释后超声,冷却至室温,加水定容至刻度线,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.3 色谱条件和质谱条件

2.3.1 色谱条件 Waters I-class 液相色谱仪,Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.8 μm);以乙腈~0.1%甲酸水溶液为流动相,梯度洗脱:0~1 min,2%~5%乙腈;1~5 min,5%乙腈;5~7 min,5%~10%乙腈;7~9 min,10%~15%乙腈;9~11 min,15%~20%乙腈;11~13 min,20%乙腈;13~15 min,20%~30%乙腈;15~18 min,30%乙腈;18~21 min,30%~60%乙腈;21~23 min,60%~80%乙腈;23~23.5 min,80%乙腈;23.5~25 min,80%~2%乙腈;体积流量为 0.3 mL/min,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量 1 μL 。

2.3.2 质谱条件 质谱系统 SYNAPT Q/TOF-MS,质谱采用电喷雾离子源 ESI,负离子模式下采集数据;采集质量范围 m/z 50~1 200;毛细管电压 3 000 V;低碰撞电压 6 V;高碰撞电压 20~50 V;锥孔电压 40 V;源温度 100 $^{\circ}\text{C}$,脱溶剂气温度 300 $^{\circ}\text{C}$;锥孔气体积流量为 50 L/h,脱溶剂气体积流量 600 L/h;扫描时间 25 min。

2.4 数据处理及统计分析

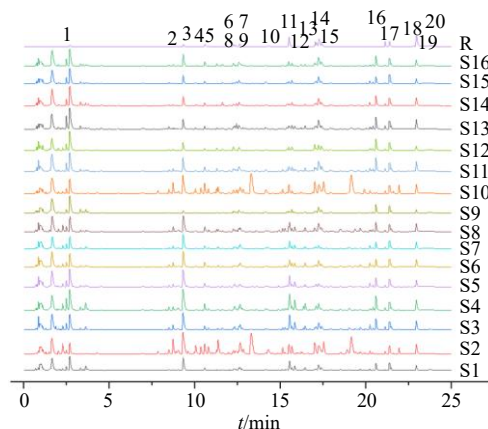
使用 Masslynx V4.1 软件进行数据采集与分析。原始数据使用 MSConvert 转化,标准化处理后使用 Origin 2019 进行指纹图谱生成;使用 SIMCA 进行数据处理后联川生物云平台(<https://www.omicstudio.cn/tool>)进行可视化。采用 PCA 表征样本组间的分离趋势,OPLS-DA 选择 $P \leq 0.05$ 和变量投影重要度(variable importance in projection, VIP) ≥ 1 筛选组间差异性成分,结果使用火山图表征。使用 SPSS 26.0 t 检验筛选出生熟掌叶大黄差异性较大的成分。

3 结果与分析

3.1 UPLC-Q/TOF-MS 鉴别生、熟掌叶大黄全成分

为获得掌叶大黄提取液的最佳检测条件,优化 UPLC-Q/TOF-MS 的洗脱程序和质谱检测参数后发现,与正离子扫描模式比较,负离子扫描模式下的掌叶大黄提取液的色谱峰个数和响应强度更明显,因此选择负离子扫描模式检测样品成分。采用 UPLC-Q/TOF-MS 负离子模式扫描掌叶大黄生品和酒蒸品,8 批掌叶大黄

指纹图谱见图 1,总离子流图见图 2,共指认出 115 个化合物,鉴定 106 个,另含有未知化合物 9 个,其中 20 个化合物通过对照品信息鉴别,结果见表 2。



1-没食子酸;2-表没食子儿茶素;3-儿茶素;4-表儿茶素;5-表没食子儿茶素没食子酸酯;6-芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷;7-番泻苷 B;8-大黄酸-8-*O*-葡萄糖苷;9-表儿茶素没食子酸酯;10-番泻苷 A;11-大黄素-1-*O*-葡萄糖苷;12-大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷;13-芦荟大黄素-3-(羟甲基)-*O*-葡萄糖苷;14-大黄素-8-*O*-葡萄糖苷;15-大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷;16-芦荟大黄素;17-大黄酸;18-大黄素;19-大黄酚;20-大黄素甲醚。

1-galic acid; 2-epigallocatechin; 3-catechin; 4-epicatechin; 5-epigallocatechin gallate; 6-aloe emodin-8-*O*-glucoside; 7-sennoside B; 8-rhein-8-*O*-glucoside; 9-epicatechin gallate; 10-sennoside A; 11-emodin-1-*O*-glucoside; 12-chrysophanol-1-*O*-glucoside; 13-aloe emodin-3-(hydroxymethyl)-*O*-glucoside; 14-emodin-8-*O*-glucoside; 15-chrysophanol-8-*O*-glucoside; 16-aloe emodin; 17-rhein; 18-emodin; 19-chrysophanol; 20-phycion.

图 1 生、熟掌叶大黄的 UPLC 指纹图谱

Fig. 1 UPLC fingerprints of raw and steamed *R. palmatum*

掌叶大黄成分主要来源于糖类、鞣质类、酚酸类、黄酮类、二苯乙烯类、苯丁酮类、蒽醌类、色原酮类、蒽酮类等。

3.2 掌叶大黄炮制前后成分变化规律研究及转化规律研究

3.2.1 掌叶大黄炮制前后成分变化规律研究 生熟掌叶大黄 UPLC-Q/TOF-MS 负离子模式扫描后,原始数据使用 MSConvert 转化进行色谱峰自动识别以及峰匹配,使用 PCA 和 OPLS-DA 对两组间的数据进行模式识别,结果见图 3。PCA 得分图(图 3-A)显示掌叶大黄生品组与酒蒸品组各自聚为一簇,表明生熟掌叶大黄化学成分呈现较大差异。火山图(图 3-B)依据 OPLS-DA ($P \leq 0.05$ 和 $\text{VIP} \geq 1$) 筛选出生熟掌叶大黄差异性化学成分,炮制前后具有差异的标志物见图 3 中蓝色和红色标志物,蓝色表示炮制后标志物相对含量下调,红色表示炮制后标志

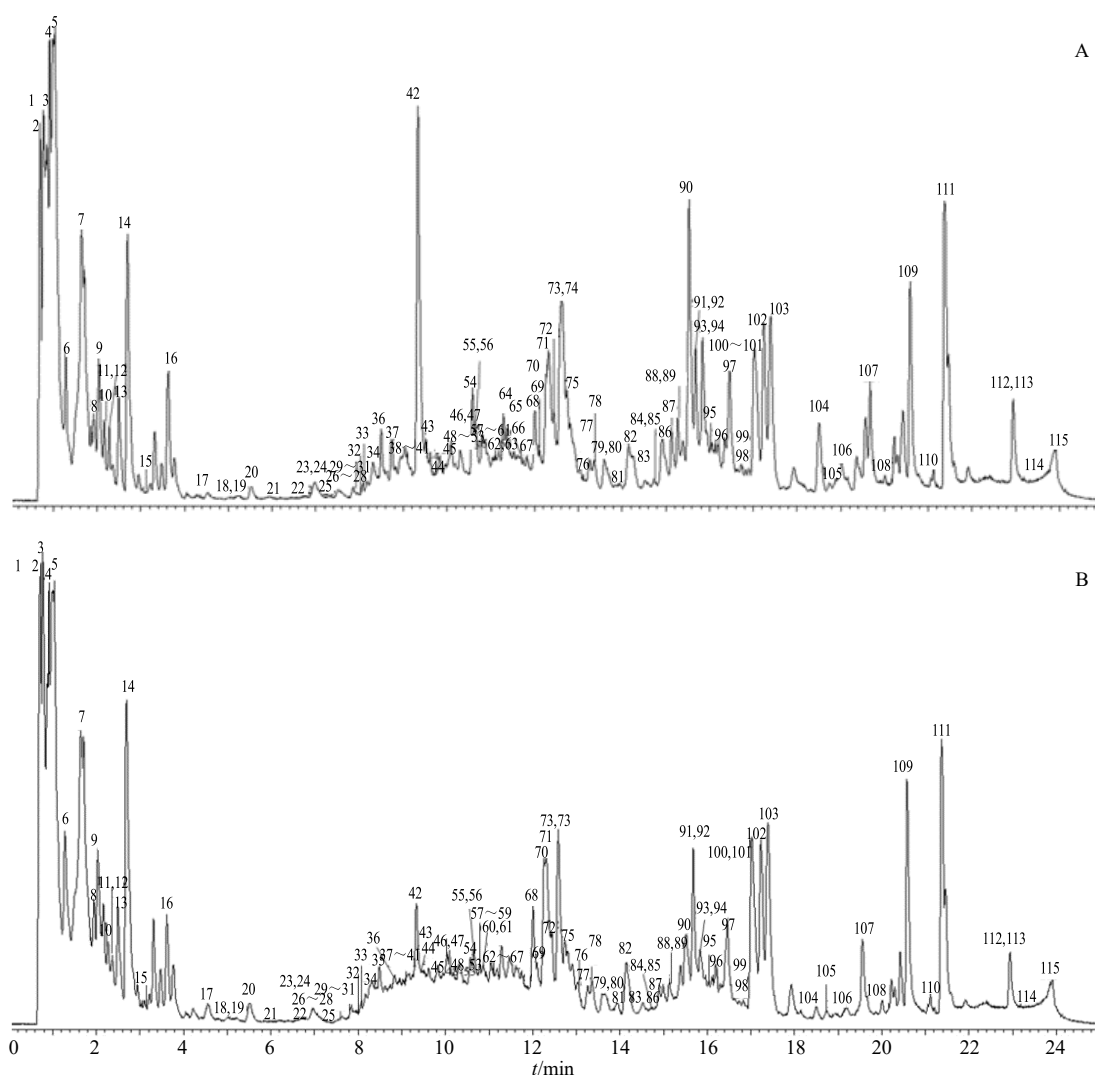


图 2 掌叶大黄生品 (A) 和酒蒸品 (B) 总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion chromatograms of raw (A) and steamed (B) *R. palmatum*

表 2 掌叶大黄的 UPLC-Q/TOF-MS 全成分分析

Table 2 Complete composition analysis in *R. palmatum* by UPLC-Q/TOF-MS

峰号	tr/min	分子式	m/z		误差 ($\times 10^{-6}$)	离子碎片 (MS/MS)	化合物名称	化合物 种类
			理论值	实际值				
1	0.705	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.125 0	609.122 9	-3.45	304.911 5 [M-H-C ₁₅ H ₁₄ O ₇] ⁻ , 289.040 8 [M-H-C ₁₅ H ₁₄ O ₇ -O] ⁻ , 178.979 8 [M-H-C ₁₅ H ₁₄ O ₇ -O-C ₅ H ₂ O ₃] ⁻	没食子儿茶素-4,8'-没食子儿茶素 ^[11]	T
2	0.705	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₄	—	564.829 8	—	418.888 9 [M-H-Rha] ⁻ , 402.914 2 [M-H-Rha-O] ⁻	未知	—
3	0.777	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.108 9	341.110 3	4.10	194.967 1 [M-H-Rha] ⁻ , 178.071 3 [M-H-Glu] ⁻	蔗糖 ^[12]	S
4	0.855	C ₆ H ₁₂ O ₇	195.051 0	195.050 1	-4.61	—	半乳糖酸 ^[13]	S
5	0.927	C ₂₄ H ₄₄ O ₂₂	683.429 3	683.432 8	5.12	387.113 0 [M-H-C ₁₁ H ₂₀ O ₉] ⁻ , 341.106 5 [M-H-C ₁₁ H ₂₀ O ₉ -CH ₂ O ₂] ⁻	乳糖二糖 ^[13]	S
6	1.219	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.166 8	607.168 3	2.47	299.099 3 [M-H-Rha-Glu] ⁻	香叶木素-7-O-新橙皮苷 ^[14]	F

表 2 (续)

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	<i>m/z</i>		误差 ($\times 10^{-6}$)	离子碎片 (MS/MS)	化合物名称	化合物 种类
			理论值	实际值				
7	1.540	C ₁₆ H ₁₂ O ₈	331.067 1	331.066 7	-1.21	169.017 3 [M-H-Glu] ⁻	没食子酸-4- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[15]	T
8	1.598	C ₆ H ₈ O ₇	191.019 7	191.020 8	5.76	147.030 6 [M-H-CO ₂] ⁻	柠檬酸 ^[13]	PA
9	2.040	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅	493.119 9	493.116 2	-7.50	331.063 0 [M-H-Glu] ⁻ , 169.017 3 [M-H-2Glu] ⁻ , 125.027 1 [M-H-2Glu-CO ₂] ⁻	没食子酸- <i>O</i> -二葡萄糖苷 ^[16]	T
10	2.183	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₅	591.174 2	591.176 1	3.21	429.142 1 [M-H-Glu] ⁻ , 285.040 0 [M-H-Glu-C ₆ H ₈ O ₄] ⁻	山柰酚-3- <i>O</i> -6- <i>O</i> -(3-羟基-3-甲基戊二酰)-葡萄糖苷 ^[17]	F
11	2.284	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.067 1	331.066 7	-1.21	169.017 3 [M-H-Glu] ⁻ , 125.027 1 [M-H-Glu-CO ₂] ⁻	没食子酸-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[15]	T
12	2.298	C ₅ H ₇ NO ₃	128.035 3	128.035 8	3.90	—	焦谷氨酸 ^[13]	PA
13	2.498	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.067 1	331.066 7	-1.21	169.017 3 [M-H-Glu] ⁻ , 125.027 1 [M-H-Glu-CO ₂] ⁻	没食子酸-1- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[18]	T
14	2.819	C ₇ H ₆ O ₅	169.014 2	169.014 6	2.37	125.027 1 [M-H-CO ₂] ⁻	没食子酸*	T
15	3.069	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	579.171 9	579.166 9	-8.63	433.095 9 [M-H-Rha] ⁻ , 271.042 6 [M-H-Rha-Glu] ⁻	柚皮素-7- <i>O</i> -芸香苷 ^[14]	F
16	3.312	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅	493.119 9	493.116 2	-7.50	331.063 0 [M-H-Glu] ⁻ , 169.014 6 [M-H-2Glu] ⁻ , 125.024 8 [M-H-2Glu-CO ₂] ⁻	没食子酸- <i>O</i> -二葡萄糖苷 ^[16]	T
17	4.534	C ₂₀ H ₂₂ O ₉	—	405.096 0	—	243.050 2 [M-H-Glu] ⁻ , 158.980 9 [M-H-Glu-C ₃ H ₃ O ₃] ⁻	未知	—
18	5.197	C ₁₉ H ₂₀ O ₁₂	439.087 7	439.083 7	-9.11	313.051 1 [M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻	未知	—
19	5.297	C ₁₃ H ₁₄ O ₇	305.066 7	305.065 3	-4.59	288.936 4 [M-H-O] ⁻ , 178.977 1 [M-H-O-C ₃ H ₂ O ₃] ⁻	没食子儿茶素 ^[11]	T
20	5.568	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	451.124 6	451.121 6	-6.65	289.068 7 [M-H-Glu] ⁻	儿茶素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[19-20]	T
21	5.883	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.078 0	483.075 7	-4.76	313.051 1 [M-H-C ₇ H ₇ O ₅] ⁻ , 169.014 6 [M-H-C ₇ H ₇ O ₅ -Glu] ⁻	1,6-二- <i>O</i> -没食子酰葡萄糖苷 ^[12,21]	T
22	6.961	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₀	421.041 1	421.042 1	2.37	289.077 2 [M-H-Xyl] ⁻	儿茶-7- <i>O</i> -吡喃木糖苷 ^[22]	T
23	6.976	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	451.124 6	451.121 6	-6.65	289.068 7 [M-H-Glu] ⁻ , 203.083 0 [M-H-Glu-C ₃ H ₂ O ₃] ⁻	儿茶素-4'- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[20]	T
24	7.062	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.135 2	577.137 9	4.68	451.117 2 [M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 289.068 7 [M-H-caetchin] ⁻	原花青素 B1 ^[12,21,23]	F
25	7.062	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	595.166 8	595.161 7	-8.57	449.087 3 [M-H-Rha] ⁻ , 287.056 0 [M-H-Rha-Glu] ⁻ , 271.069 6 [M-H-Rha-Glu-OH] ⁻	圣草酚-7- <i>O</i> -芸香糖苷 ^[14]	F
26	7.518	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₁	373.077 6	373.074 4	-8.58	331.063 0 [M-H-C ₂ H ₂ O] ⁻ , 125.027 1 [M-H-C ₂ H ₂ O-Glu-CO ₂] ⁻	1- <i>O</i> -没食子-(2- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷 ^[24]	T
27	7.610	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	325.092 9	325.090 4	-7.69	163.042 8 [M-H-Glu] ⁻	对香豆酰-6- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[25]	B
28	7.705	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.078 0	483.075 7	-4.76	331.066 7 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 178.977 1 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	1,2-二- <i>O</i> -没食子酰葡萄糖苷 ^[12]	T
29	7.739	C ₇ H ₆ O ₃	137.024 4	137.024 8	2.92	—	对羟基苯甲酸 ^[12]	T
30	7.747	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	593.130 9	593.134 8	6.57	577.137 9 [M-H-O] ⁻ , 451.121 6 [M-H-O-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 405.091 9 [M-H-O-C ₆ H ₆ O ₃ -CH ₂ O ₂] ⁻ , 289.068 7 [M-H-O-caetchin] ⁻	原花青素 ^[11]	T
31	7.860	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	739.208 5	739.203 8	-6.36	593.134 8 [M-H-Rha] ⁻ , 447.093 8 [M-H-2Rha] ⁻ , 283.024 3 [M-H-2Rha-Glu] ⁻	刺槐素 ^[14]	F
32	8.054	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	451.124 6	451.121 6	-6.65	289.072 2 [M-H-Glu] ⁻ , 178.977 1 [M-H-caetchin] ⁻	儿茶素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[26]	T

表 2 (续)

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	<i>m/z</i>		误差 ($\times 10^{-6}$)	离子碎片 (MS/MS)	化合物名称	化合物 种类
			理论值	实际值				
33	8.168	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	325.092 9	325.090 4	-7.69	163.042 8 [M-H-Glu] ⁻	对香豆酰-6- <i>O</i> -己糖苷 ^[25]	B
34	8.303	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₆	597.182 5	597.187 0	7.53	461.125 0 [M-H-C ₇ H ₅ O ₃] ⁻ , 325.094 1 [M-H-C ₇ H ₅ O ₃ -Gal] ⁻ , 169.017 3 [M-H-C ₇ H ₅ O ₃ -Glu-C ₉ H ₆ O ₂] ⁻	对香豆酰- <i>O</i> -对羟基苯甲酰- <i>O</i> -没食子酰葡萄糖 ^[21]	B
35	8.482	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	451.124 6	451.121 6	-6.65	289.068 7 [M-H-Glu] ⁻ , 178.977 1 [M-H-caetchin] ⁻	儿茶素-5- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[12,22]	T
36	8.746	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.135 2	577.133 0	-3.81	533.142 0 [M-H-CO ₂] ⁻ , 451.117 2 [M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 425.086 2 [M-H-C ₇ H ₅ O ₄] ⁻ , 407.073 0 [M-H-C ₇ H ₅ O ₄ -O] ⁻ , 289.068 7 [M-H-caetchin] ⁻	原花青素 B2 ^[12,23]	T
37	8.896	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305.066 7	305.065 3	-4.59	289.068 7 [M-H-O] ⁻	表没食子儿茶素*	T
38	8.989	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.1985	865.202 0	4.04	739.181 5 [M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 575.107 6 [M-H-caetchin] ⁻ , 451.125 9 [M-H-caetchin-C ₆ H ₄ O ₃] ⁻ , 407.068 8 [M-H-caetchin-CO ₂] ⁻ , 289.068 7 [M-H-2caetchin] ⁻	原花青素 C1 ^[14,23]	T
39	9.039	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.135 2	577.133 0	-3.81	451.117 2 [M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 289.068 7 [M-H-caetchin] ⁻	原花青素 B5 ^[13,23]	T
40	9.110	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	441.082 7	441.081 5	-2.72	289.068 7 [M-H-C ₇ H ₅ O ₄] ⁻ , 169.017 3 [M-H-caetchin] ⁻	儿茶素没食子酸酯 ^[1]	T
41	9.160	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.078 0	483.075 7	-4.76	331.077 9 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 313.051 1 [M-H-C ₇ H ₇ O ₅] ⁻ , 178.977 1 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	2,6-二- <i>O</i> -没食子酰葡萄糖苷 ^[12,20]	T
42	9.331	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 8	289.072 2	1.38	245.082 0 [M-H-CO ₂] ⁻ , 203.074 2 [M-H-CO ₂ -C ₂ H ₂ O] ⁻	儿茶素*	T
43	9.568	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₃	493.119 9	493.120 7	1.62	289.072 2 [M-H-C ₈ H ₁₂ O ₆] ⁻	未知	—
44	9.709	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.198 5	865.199 3	0.92	739.181 5 [M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 575.107 6 [M-H-caetchin] ⁻ , 289.068 7 [M-H-2caetchin] ⁻	原花青素 C2 ^[23]	T
45	9.874	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	771.198 9	771.199 1	0.26	609.143 1 [M-H-Glu] ⁻ , 447.089 4 [M-H-2Glu] ⁻	山柰酚-3- <i>O</i> -槐二糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[27]	F
46	10.010	C ₃₇ H ₃₀ O ₁₆	729.146 1	729.148 3	3.02	613.107 5 [M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 577.133 0 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 487.144 6 [M-H-2C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 451.121 6 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 289.068 7 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -caetchin] ⁻	原花青素 B-1-3- <i>O</i> -没食子酸酯 ^[15]	T
47	10.095	C ₃₇ H ₃₀ O ₁₆	729.146 1	729.142 7	-4.66	577.133 0 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 487.144 6 [M-H-2C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 451.117 2 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 289.072 2 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -caetchin] ⁻	原花青素 B-2-3'- <i>O</i> -没食子酸酯 ^[15]	T
48	10.281	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	625.141 0	625.139 2	-2.88	463.084 2 [M-H-Glu] ⁻ , 284.103 7 [M-H-2Glu-OH] ⁻ , 178.977 1 [M-H-C ₁₅ H ₉ O ₇ -Glu] ⁻	槲皮素-3,4'- <i>O</i> -二葡萄糖苷 ^[14]	F
49	10.302	C ₂₃ H ₂₀ O ₁₂	—	487.140 1	—	445.069 3 [M-H-C ₂ H ₂ O] ⁻ , 325.090 4 [M-H-Glu] ⁻ , 283.020 8 [M-H-Glu-C ₂ H ₂ O] ⁻	未知	—
50	10.324	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	593.151 2	593.154 8	6.07	431.090 7 [M-H-Glu] ⁻ , 268.076 8 [M-H-2Glu] ⁻	牡荆素- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[28]	F
51	10.353	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₇	639.156 7	639.155 8	-1.41	477.107 3 [M-H-Glu] ⁻ , 314.073 9 [M-H-2Glu] ⁻	异鼠李素- <i>O</i> -二葡萄糖苷 ^[28]	F

表 2 (续)

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	<i>m/z</i>		误差 (×10 ⁻⁶)	离子碎片 (MS/MS)	化合物名称	化合物 种类
			理论值	实际值				
52	10.402	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.0890	635.092 4	5.35	465.074 1 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁻ , 303.047 5 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅ -Glu] ⁻ , 153.023 4 [M-H-2C ₇ H ₆ O ₅ -Glu] ⁻	1,2,6-三- <i>O</i> -没食子酰-吡喃葡萄糖 ^[12]	T
53	10.488	C ₄₄ H ₃₄ O ₂₀	881.157 1	881.152 2	-5.56	729.148 3 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 577.137 9 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 451.121 6 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄ -C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 407.068 0 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄ -C ₆ H ₆ O ₃ -CO ₂] ⁻ , 289.068 7 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄ -caetchin] ⁻	原花青素 B-2,3,3'- <i>O</i> -没食子酸酯 ^[15]	T
54	10.574	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 8	289.072 2	1.38	245.082 0 [M-H-CO ₂] ⁻ , 203.071 3 [M-H-CO ₂ -C ₂ H ₂ O] ⁻	表儿茶素*	T
55	10.589	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	389.124 2	389.122 4	-4.63	227.069 6 [M-H-Glu] ⁻	白藜芦醇-4'- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[15]	ST
56	10.609	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	435.129 7	435.131 4	3.91	289.068 7 [M-H-Rha] ⁻	儿茶素鼠李糖苷 ^[13]	T
57	10.652	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.146 1	609.148 2	3.45	463.075 4 [M-H-Rha] ⁻ , 299.046 2 [M-H-Rha-Glu] ⁻	槲皮素- <i>O</i> -鼠李糖苷- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[11]	F
58	10.745	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	457.077 6	457.074 6	-6.56	289.068 7 [M-H-C ₇ H ₅ O ₅] ⁻ , 169.017 3 [M-H-caetchin] ⁻	表没食子儿茶素没食子酸酯*	T
59	10.745	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₁	477.103 8	477.107 3	7.34	313.036 7 [M-H-C ₁₀ H ₁₂ O ₂] ⁻ , 169.041 6 [M-H-C ₉ H ₈ O ₂ -Glu] ⁻	异莲花掌苷 ^[12,15]	B
60	10.788	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	477.067 5	477.067 0	-1.05	301.032 9 [M-H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁻	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖醛酸苷 ^[28]	F
61	10.888	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₁	477.103 8	477.102 8	-2.10	315.043 7 [M-H-C ₁₀ H ₉ O ₂] ⁻ , 169.014 6 [M-H-C ₉ H ₈ O ₂ -Glu] ⁻	莲花掌苷 ^[12,15]	B
62	11.180	C ₂₈ H ₂₈ O ₁₃	571.145 7	571.145 9	0.35	418.105 4 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 254.060 2 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -Glu] ⁻ , 225.055 7 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -Glu-CHO] ⁻	土大黄苷-6"- <i>O</i> -没食子酸酯 ^[12-13]	ST
63	11.266	C ₂₇ H ₂₆ O ₁₂	541.135 2	541.130 6	-8.50	378.916 3 [M-H-Glu] ⁻ , 227.069 6 [M-H-Glu-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	白藜芦醇-4'- <i>O</i> -(2"- <i>O</i> -没食子酰)-葡萄糖苷 ^[12]	ST
64	11.366	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	477.103 9	477.107 3	7.13	315.087 3 [M-H-Glu] ⁻ , 242.938 4 [M-H-Glu-C ₂ O ₃] ⁻	异鼠李素-3- <i>O</i> -半乳糖苷 ^[28]	F
65	11.474	C ₁₅ H ₁₈ O ₇	309.098 0	309.099 3	4.21	147.045 5 [M-H-Glu] ⁻	桂皮酰-2- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[15]	T
66	11.830	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.140 6	563.142 0	2.49	431.099 2 [M-H-Xyl] ⁻ , 269.043 5 [M-H-Xyl-Glu] ⁻	芹菜苷 ^[28]	F
67	11.944	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.088 2	463.088 6	0.86	301.032 9 [M-H-Glu] ⁻	金丝桃苷 ^[16-17]	F
68	12.059	C ₁₅ H ₁₈ O ₇	309.098 0	309.095 7	-7.44	147.048 0 [M-H-Glu] ⁻	桂皮酰-1- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[15]	T
69	12.258	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 4	431.095 0	-7.89	269.043 5 [M-H-Glu] ⁻ , 241.045 9 [M-H-Glu-CO] ⁻ , 225.052 6 [M-H-Glu-CO-O] ⁻	芦荟大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷*	AQ
70	12.344	C ₂₇ H ₂₆ O ₁₂	541.135 2	541.135 4	0.37	389.122 4 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 227.069 6 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -Glu] ⁻	白藜芦醇 4'- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -没食子酰)-葡萄糖苷 ^[15]	ST
71	12.351	C ₄₂ H ₃₈ O ₂₀	861.188 4	861.185 7	-3.13	699.134 9 [M-H-Glu] ⁻ , 431.095 0 [M-H-Glu-C ₁₅ H ₉ O ₅] ⁻ , 269.043 5 [M-H-2Glu-C ₁₅ H ₉ O ₅] ⁻	番泻苷 B*	AR
72	12.451	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₁	—	505.127 0	—	313.054 7 [M-H-C ₇ H ₁₂ O ₆] ⁻ , 242.941 6 [M-H-C ₇ H ₁₂ O ₆ -C ₃ H ₂ O ₂] ⁻	未知	—
73	12.601	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	445.077 6	445.073 6	-8.99	283.024 3 [M-H-Glu] ⁻ , 239.034 2 [M-H-Glu-CO ₂] ⁻ , 211.039 8 [M-H-Glu-CO ₂ -CO] ⁻	大黄酸-8- <i>O</i> -葡萄糖苷*	AQ

表 2 (续)

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	<i>m/z</i>		误差 ($\times 10^{-6}$)	离子碎片 (MS/MS)	化合物名称	化合物 种类
			理论值	实际值				
74	12.630	C ₂₂ H ₂₆ O ₁₀	449.144 8	449.144 1	-1.56	407.114 3 [M-H-C ₂ O ₃] ⁻ , 245.078 8 [M-H-C ₂ O ₃ -Glu] ⁻	决明柯酮- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷 ^[16]	AR
75	12.636	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	441.082 7	441.081 5	-2.72	289.068 7 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 169.014 6 [M-H-caetchin] ⁻	表儿茶素没食子酸酯*	T
76	12.994	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.088 2	463.088 6	0.86	301.036 4 [M-H-Glu] ⁻	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[14]	F
77	13.258	C ₃₂ H ₃₂ O ₁₃	623.161 8	623.164 2	3.85	461.072 3 [M-H-Glu] ⁻ , 313.058 4 [M-H-Glu-C ₉ H ₈ O ₂] ⁻ , 295.120 7 [M-H-Glu-C ₉ H ₈ O ₂ -OH] ⁻ , 161.048 3 [M-H-Glu-C ₉ H ₈ O ₂ -OH-C ₉ H ₁₀ O] ⁻	4-(4'-羟基苯基)-2-丁酮- <i>O</i> -桂皮酰-没食子酰-葡萄糖苷 ^[12]	B
78	13.350	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	517.098 8	517.100 8	3.87	431.095 0 [M-H-C ₃ H ₂ O ₃] ⁻ , 269.043 5 [M-H-C ₃ H ₂ O ₃ -Glu] ⁻	大黄素/芦荟大黄素- <i>O</i> -(丙二酰)-葡萄糖苷 ^[16]	AQ
79	13.608	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₂	—	547.130 6	—	505.140 8 [M-H-CO ₂] ⁻ , 233.080 7 [M-H-CO ₂ -C ₁₅ H ₆ O ₇] ⁻	未知	—
80	13.608	C ₄₂ H ₄₀ O ₁₉	847.208 6	847.208 8	0.24	685.152 6 [M-H-Glu] ⁻ , 415.095 6 [M-H-Glu-C ₁₅ H ₉ O ₅] ⁻ , 253.052 5 [M-H-2Glu-C ₁₅ H ₉ O ₅] ⁻	番泻苷 C ^[12]	AR
81	13.958	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	461.108 9	461.111 8	6.29	309.095 7 [[M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 147.048 0 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -Glu] ⁻	没食子酰-1- <i>O</i> -桂皮酰-2- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[16]	T
82	14.186	C ₄₂ H ₃₈ O ₂₀	861.188 4	861.191 7	3.83	699.134 9 [M-H-Glu] ⁻ , 431.095 0 [M-H-Glu-C ₁₅ H ₉ O ₅] ⁻ , 269.043 5 [M-H-2Glu-C ₁₅ H ₉ O ₅] ⁻	番泻苷 A*	AR
83	14.186	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₁	475.088 2	475.087 3	-1.89	447.089 4 [M-H-CO] ⁻ , 269.046 8 [M-H-CO-Glu] ⁻	未知	—
84	14.743	C ₂₃ H ₂₀ O ₁₂	487.088 2	487.085 8	-4.93	445.073 6 [M-H-C ₂ H ₂ O] ⁻ , 283.020 8 [M-H-C ₂ H ₂ O-Glu] ⁻ , 239.034 2 [M-H-C ₂ H ₂ O-Glu-CO ₂] ⁻	大黄酸-1- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷 ^[13]	AQ
85	15.000	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.124 6	463.123 9	-1.51	301.071 9 [M-H-Glu] ⁻	未知	F
86	15.128	C ₁₉ H ₂₂ O ₉	393.119 1	393.116 1	-7.63	231.065 1 [M-H-Glu] ⁻ , 187.098 1 [M-H-Glu-CO ₂] ⁻	芦荟苦素 ^[13]	N
87	15.249	C ₂₃ H ₂₀ O ₁₂	487.088 2	487.085 8	-4.93	445.073 6 [M-H-C ₂ H ₂ O] ⁻ , 283.024 3 [M-H-C ₂ H ₂ O-Glu] ⁻ , 239.037 3 [M-H-C ₂ H ₂ O-Glu-CO ₂] ⁻	大黄酸-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷 ^[13]	AQ
88	15.335	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₁	473.108 4	473.107 4	-2.11	269.043 5 [M-H-C ₂ H ₂ O-Glu] ⁻	大黄素-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷 ^[16]	AQ
89	15.521	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 4	431.095 0	-7.89	269.043 5 [M-H-Glu] ⁻ , 241.052 3 [M-H-Glu-CO] ⁻ , 225.052 6 [M-H-Glu-CO-O]	大黄素-1- <i>O</i> -葡萄糖苷*	AQ
90	15.642	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	459.092 6	459.091 0	-3.48	415.103 9 [M-H-CO ₂] ⁻ , 253.049 2 [M-H-CO ₂ -Glu] ⁻	羧基大黄酚-葡萄糖苷 ^[16]	AQ
91	15.764	C ₁₂ H ₁₀ O ₅	233.045 5	233.046 3	3.43	191.035 0 [M-H-C ₂ H ₂ O] ⁻ , 146.968 6 [M-H-C ₂ H ₂ O-C ₂ H ₃ O] ⁻	2-甲基-5-羧甲基-7-羟基色原酮 ^[15]	C
92	15.821	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.093 3	447.093 8	1.12	357.093 4 [M-H-C ₃ H ₃ O ₃] ⁻ , 285.040 0 [M-H-C ₃ H ₃ O ₃ -C ₃ H ₄ O ₂] ⁻	木犀草素-6- <i>C</i> -葡萄糖苷 ^[14]	F
93	15.835	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	461.108 9	461.107 4	-3.25	309.095 7 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 146.963 6 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -Glu] ⁻	没食子酰-1- <i>O</i> -桂皮酰-6- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[15]	T
94	15.949	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	227.071 4	227.072 6	5.28	158.978 3 [M-H-C ₄ H ₄ O] ⁻	白藜芦醇 ^[29]	ST

表 2 (续)

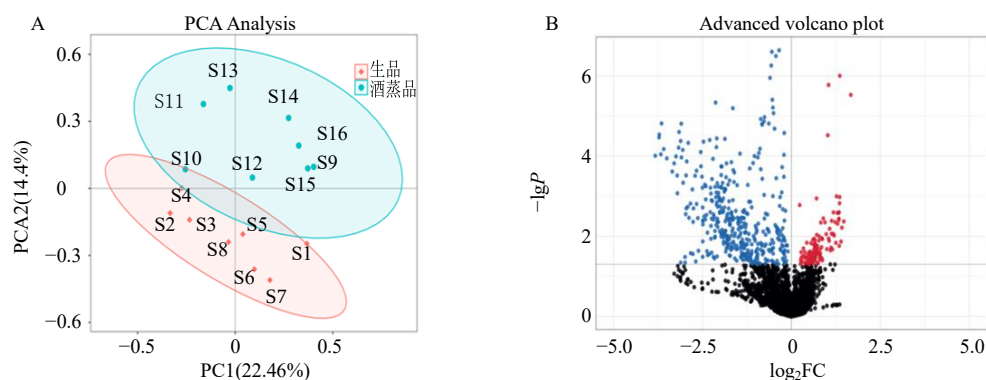
峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	<i>m/z</i>		误差 ($\times 10^{-6}$)	离子碎片 (MS/MS)	化合物名称	化合物 种类
			理论值	实际值				
95	16.306	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀	461.108 9	461.107 4	-3.25	417.109 3 [M-H-CO ₂] ⁻ , 257.075 7 [M-H-CO ₂ -C ₆ H ₈ O ₅] ⁻	丹叶大黄素-(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷 ^[21]	ST
96	16.529	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.035 4	301.036 4	3.32	178.977 1 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻	槲皮素 ^[17,29]	F
97	16.727	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.040 5	285.040 0	-1.75	135.044 5 [M-H-C ₈ H ₆ O ₃] ⁻	木犀草素 ^[29]	F
98	17.028	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	415.103 5	415.099 8	-8.91	253.049 2 [M-H-Glu] ⁻ , 225.055 7 [M-H-Glu-CO] ⁻ , 182.036 9 [M-H-Glu-CO-C ₂ H ₃ O] ⁻	大黄酚-1- <i>O</i> -葡萄糖苷*	AQ
99	17.028	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	407.134 8	407.130 8	-9.82	245.078 8 [M-H-Glu] ⁻ , 187.044 8 [M-H-Glu-C ₂ H ₂ O ₂] ⁻	决明柯酮-8- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[13,17]	N
100	17.099	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 4	431.095 0	-7.89	269.043 5 [M-H-Glu] ⁻ , 240.039 0 [M-H-Glu-CHO] ⁻	芦荟大黄素-3-(羟甲基)- <i>O</i> -葡萄糖苷*	AQ
101	17.148	C ₂₉ H ₂₆ O ₁₅	613.119 9	613.117 6	-3.75	443.101 2 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁻ , 147.045 5 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄ -Glu] ⁻	6-桂皮酰-1,2- <i>O</i> -二没食子酰-葡萄糖苷 ^[12]	T
102	17.220	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 4	431.095 0	-7.89	269.043 5 [M-H-Glu] ⁻ , 240.039 0 [M-H-Glu-CHO] ⁻ , 225.055 7 [M-H-Glu-CHO-CH ₃] ⁻	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷*	AQ
103	17.427	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	415.103 5	415.099 8	-8.91	253.049 2 [M-H-Glu] ⁻ , 225.055 7 [M-H-Glu-CO] ⁻ , 182.036 9 [M-H-Glu-CO-C ₂ H ₃ O] ⁻	大黄酚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷*	AQ
104	18.499	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	517.098 8	517.100 8	3.87	473.107 4 [M-H-CO ₂] ⁻ , 431.095 0 [M-H-CO ₂ -C ₂ H ₂ O] ⁻ , 269.043 5 [M-H-CO ₂ -C ₂ H ₂ O-Glu] ⁻	大黄素-1- <i>O</i> -(6-羧基乙酰基)-葡萄糖苷 ^[29]	AQ
105	18.849	C ₂₂ H ₂₆ O ₁₀	449.144 8	449.144 5	-0.68	245.078 8 [M-H-C ₂ H ₂ O-Glu] ⁻	决明柯酮- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷 ^[16]	AR
106	18.963	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	445.077 6	445.077 9	0.67	283.058 7 [M-H-Glu] ⁻ , 239.034 2 [M-H-Glu-CO ₂] ⁻	大黄素甲醚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[15]	AQ
107	19.356	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₀	457.077 6	457.078 9	2.84	253.049 2 [M-H-C ₂ H ₂ O-Glu] ⁻	大黄酚-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷 ^[21]	AQ
108	20.034	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.040 0	285.040 0	0	—	山柰酚 ^[12,17]	F
109	20.577	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	297.039 9	297.041 4	5.05	283.058 7 [M-H-CH ₂] ⁻ , 253.049 2 [M-H-CH ₂ -CH ₂ O] ⁻ , 225.055 7 [M-H-CH ₂ -CH ₂ O-C ₂ H ₂ O] ⁻	大黄酸甲酯 ^[12]	AQ
110	21.119	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 5	269.043 5	-7.43	240.039 0 [M-H-CHO] ⁻ , 183.044 1 [M-H-CHO-C ₂ H ₂ O] ⁻	芦荟大黄素*	AQ
111	21.383	C ₁₅ H ₈ O ₆	283.024 8	283.024 3	1.77	239.034 2 [M-H-CO ₂] ⁻ , 211.039 8 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	大黄酸*	AQ
112	22.897	C ₁₆ H ₁₀ O ₇	313.035 4	313.036 7	4.15	269.043 5 [M-H-CO ₂] ⁻	虫漆酸 ^[12]	AQ
113	22.940	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 5	269.043 5	-7.43	241.049 1 [M-H-CO] ⁻ , 225.052 6 [M-H-CO-O] ⁻	大黄素*	AQ
114	23.367	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	253.050 6	253.052 5	7.51	225.055 7 [M-H-CO] ⁻	大黄酚*	AQ
115	23.675	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.061 2	283.062 2	3.53	239.034 2 [M-H-CO ₂] ⁻	大黄素甲醚*	AQ

*-表示通过对照品比对确认; —未提供; T-鞣质类; S-糖类; F-黄酮类; PA-酚酸类; B-苯丁酮类; ST-二苯乙烯类; AQ-蒽醌类; AR-蒽酮类; N-萘类; C-色原酮类, 表 3 同。

*-confirmed by comparison of reference substances; —not supported; T-tannin; S-saccharide; F-flavonoid; PA-phenolic acid; B-butyrophenone; ST-stilbene; AQ-anthraquinone; AR-anthrone; N-naphthalene; C-chromone, same as Table 3.

物相对含量上调,且炮制后标志物下调较多,上调的标志物较少。依据 OPLS-DA ($P \leq 0.05$ 和 $VIP \geq 1$)筛选出生熟掌叶大黄 30 个差异性化学标志物(表 3),含有化学成分鞣质类 15 个、黄酮类 4 个、蒽醌类 7 个、二苯乙烯类 2 个、蒽酮类 2 个、苯丁酮类 1 个。生熟掌叶大黄中各成分的响应强度变化反映

了样品中成分的相对含量,响应强度增加表示相对应的成分相对含量增加,响应强度降低表示相对应的成分相对含量下降^[30]。对 8 批次生熟掌叶大黄差异的 30 个成分特征峰进行显著性分析(图 4),结果显示,与生品比较,30 个成分除对香豆酰-6-*O*-己糖苷和丹叶大黄素-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷外,其他



A-生、熟掌叶大黄 PCA 得分图(红色代表生品,蓝色代表酒蒸品); B-生、熟掌叶大黄 OPLS-DA 得分火山图(蓝色代表下调,红色代表上调)。A-PCA score plot of raw and steamed of *R. palmatum* (red represented raw products, blue represented wine steamed products), B-OPLS-DA score volcano map of raw and steamed of *R. palmatum* (blue represented downregulation, red represented upregulation).

图 3 生熟掌叶大黄 PCA 和 OPLS-DA 得分图

Fig. 3 PCA and OPLS-DA score plot of raw and steamed *R. palmatum*

表 3 掌叶大黄生品和酒蒸品 8 批次间差异性化学成分响应强度比较

Table 3 Comparison of response intensities of differential chemical components in eight batches between raw and steamed *R. palmatum*

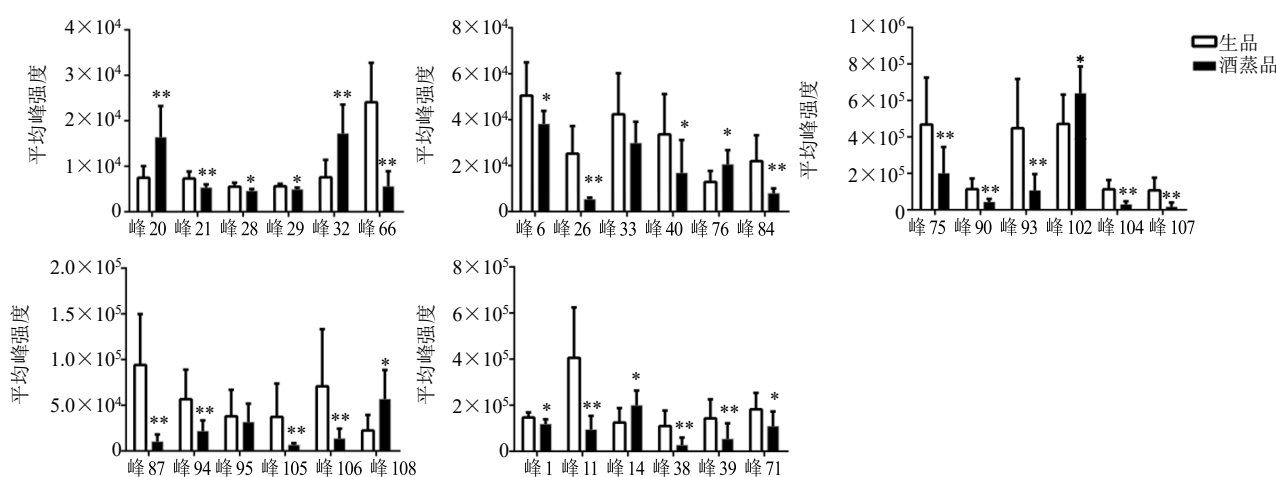
峰号	<i>t</i> _R /min	分子式	<i>P</i>	VIP	化合物名称	平均响应强度		化合物种类
						生品	酒蒸	
1	0.705	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	0.020 7	1.28	没食子儿茶素-4,8'-没食子儿茶素↓	146 729.00	118 318.50	T
6	1.219	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	0.041 1	1.28	香叶木素-7- <i>O</i> -新橙皮苷↓	50 508.50	38 146.00	F
11	2.284	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	0.001 8	1.78	没食子酸-3- <i>O</i> -葡萄糖苷↓	405 862.00	94 176.50	T
14	2.819	C ₇ H ₆ O ₅	0.034 4	1.44	没食子酸↑	124 851.00	199 481.00	T
20	5.568	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	0.004 1	1.56	儿茶素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷↑	7 482.63	16 371.25	T
21	5.883	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	0.005 3	1.53	1,6-二- <i>O</i> -没食子酰葡萄糖苷↓	7 307.63	5 325.13	T
26	7.518	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₁	0.000 3	1.75	1- <i>O</i> -没食子-(2- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷↓	25 207.00	5 367.88	T
28	7.705	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	0.022 6	1.20	1,2-二- <i>O</i> -没食子酰葡萄糖苷↓	5 521.25	4 592.00	T
29	7.739	C ₇ H ₆ O ₃	0.036 0	1.23	原儿茶醛↓	5 603.50	4 928.50	T
32	8.054	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	0.006 4	1.58	儿茶素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷↑	7 590.00	17 216.50	T
33	8.168	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	0.041 3	1.15	对香豆酰-6- <i>O</i> -己糖苷↓	42 334.88	29 823.25	B
38	8.989	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	0.007 4	1.62	原花青素 C1↓	109 836.00	27 141.38	T
39	9.039	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	0.020 8	1.51	原花青素 B1↓	142 785.00	53 566.50	T
40	9.110	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	0.047 8	1.40	儿茶素没食子酸酯↓	33 665.63	16 861.38	T
66	11.830	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	0.000 1	1.81	芹菜苷↓	24 099.75	5 586.38	F
71	12.351	C ₄₂ H ₃₈ O ₂₀	0.048 6	1.23	番泻苷 B↓	182 180.50	109 259.50	AR
75	12.636	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	0.022 5	1.51	表儿茶素没食子酸酯↓	468 050.00	200 861.00	T

表 3 (续)

峰号	t_R/min	分子式	P	VIP	化合物名称	平均响应强度		化合物种类
						生品	酒蒸	
76	12.994	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	0.015 6	1.43	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷↑	12 886.13	20 546.63	F
84	14.743	$\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	0.003 7	1.66	大黄酸-1- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷↓	21 990.88	7 936.88	AQ
87	15.249	$\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	0.000 9	1.76	大黄酸-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷↓	94 110.50	10 204.25	AQ
90	15.642	$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	0.005 7	1.53	羧基大黄酚-葡萄糖苷↓	113 672.50	44 140.25	AQ
93	15.835	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	0.004 4	1.54	1- <i>O</i> -没食子酰-6- <i>O</i> -桂皮酰-葡萄糖苷↓	447 883.30	107 480.80	T
94	15.949	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$	0.012 1	1.51	白藜芦醇↓	56 641.38	21 744.88	ST
95	16.306	$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	0.011 9	1.45	丹叶大黄素-(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷↓	37 985.25	31 555.75	ST
102	17.220	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	0.045 0	1.25	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷↑	470 856.00	639 978.00	AQ
104	18.499	$\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_{13}$	0.000 5	1.78	大黄素-1- <i>O</i> -(6-羧基乙酰基)-吡喃葡萄糖苷↓	113 115.00	30 445.63	AQ
105	18.849	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	0.032 5	1.42	决明柯酮- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷↓	37 248.50	6 610.50	N
106	18.963	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	0.023 6	1.47	大黄素甲醚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷↓	70 682.00	13 628.00	AQ
107	19.356	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	0.003 5	1.67	大黄酚-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)-葡萄糖苷↓	107 404.50	17 337.88	AQ
108	20.034	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	0.017 3	1.51	山柰酚↑	22 396.13	56 831.25	F

“↑”-代表酒蒸品较生品响应强度升高, “↓”-酒蒸品较生品响应强度降低。

“↑”-represents that response strength of steamed wine products is higher than that of raw products, “↓”-represents that response strength of steamed wine products is lower than that of raw products.



与掌叶大黄生品比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs raw *R. palmatum*.

图 4 掌叶大黄生品和酒蒸品 8 批次间差异性化学成分响应强度比较

Fig. 4 Comparison of response intensities of differential chemical components in eight batches between raw and steamed *R. palmatum*

成分炮制后均呈现显著性差异, 其中没食子酸、儿茶素 7-*O*-葡萄糖苷、儿茶素 3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚炮制后呈上升趋势(表 3)。

3.2.2 掌叶大黄炮制前后成分转化规律分析 根据文献报道和对照品质谱图建立大黄的化学成分数据库, 推测大黄各成分化学结构, 共鉴定了 106 个化合物, 利用植物代谢组学技术分析了掌叶大黄成

分变化规律, 分别对鞣质类、黄酮类、蒽醌类等化学成分转化规律进行分析。

(1) 鞣质类化合物: 大黄鞣质类成分以没食子酸、儿茶素为母核的苷类衍生物或与其他鞣质脱水缩合形成酯类化合物为主。化合物 14 通过对照品比对发现其为没食子酸, 其特征性离子碎片为 m/z 169.014 6 和 125.027 1。化合物 52 准分子离子为 m/z 635.092 4, 依据文献推测为 1,2,6-三-*O*-没食子酰-吡喃

葡萄糖,在炮制过程中失去没食子酰基($C_7H_4O_4$),可转化为 1,6-二-*O*-没食子酰-吡喃葡萄糖、1,2-二-*O*-没食子酰-吡喃葡萄糖,进而转化为没食子酸-1-*O*-葡萄糖苷、没食子酸等^[12]。本研究以化合物 **52** 为代表,描述鞣质类化合物的转化规律,如图 5 所示。

化合物 **42**、**54** 通过对照品比对分别鉴定为儿茶素、表儿茶素。本研究发现掌叶大黄中含有较多的儿茶素三聚体化合物、儿茶素二聚体化合物,比如原花青素类 B 类化合物、原花青素 C 类化合物,在炮制后儿茶素三聚体化合物可转化为儿茶素二聚体化合物、儿茶素单体等,而儿茶素没食子酸酯/表儿茶素没食子酸酯可向儿茶素/表儿茶素、没食子酸转化。本研究以原花青素 C1、原花青素 B2、儿茶素没食子酸酯为代表,描述儿茶素三聚体、儿茶素二聚体、儿茶素没食子酸酯类化合物的转化规律见图 6。

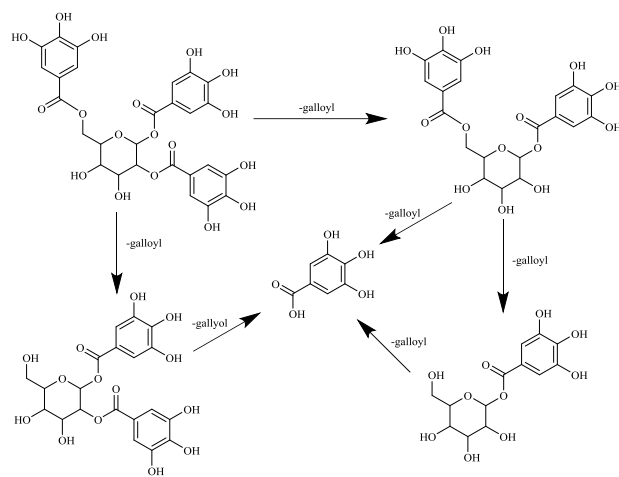


图 5 1,2,6-三-*O*-没食子酰-吡喃葡萄糖转化途径推测

Fig. 5 Transformation path prediction of 1,2,6-tri-*O*-galloyl-glucopyranose

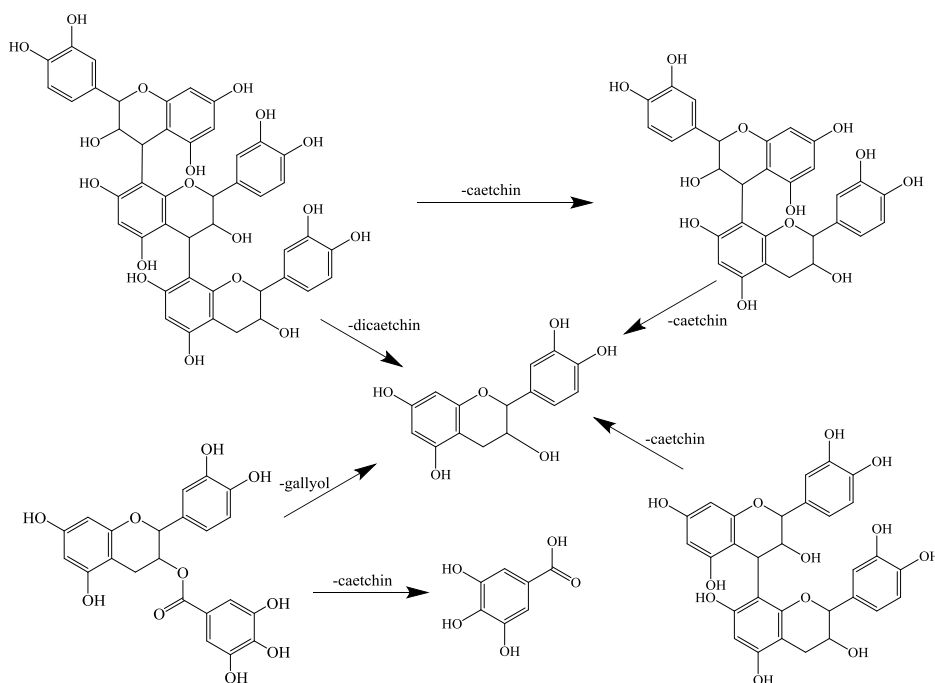


图 6 原花青素 C1、原花青素 B2、儿茶素没食子酸酯转化途径推测

Fig. 6 Transformation path prediction of procyanidin C1, procyanidin B2, and catechin gallate

(2) 黄酮类化合物:从掌叶大黄生熟品中共鉴定黄酮类成分 20 个,主要以黄酮苷及其衍生物为主,在炮制过程中容易丢失葡萄糖苷、鼠李糖苷,形成黄酮次级苷或黄酮苷元。化合物 **31** 和 **45** 准分子离子分别为 m/z 739.203 8、771.199 1,依据文献报道推测 2 种化合物分别为黄酮类化合物刺槐素和山柰酚-3-*O*-槐二糖-7-*O*-葡萄糖苷,2 种化合物在炮制过程中可转化为黄酮苷山柰酚二糖苷、山柰酚葡萄糖苷、山柰酚鼠李糖苷,进而转化为黄酮苷元山

柰酚^[14,27]。本研究以刺槐素为代表,描述黄酮类化合物的转化规律,见图 7。

(3) 蒽醌类及蒽酮类化合物:依据大黄对照品和文献比对鉴定了蒽醌类化合物 23 个, $VIP \geq 1$ 且 $P \leq 0.05$ 的蒽醌类化合物均为蒽醌苷或蒽醌苷类衍生物。蒽醌苷或蒽醌苷类衍生物在炮制后相对含量以下降为主,可能与炮制过程中丢失葡萄糖苷、葡萄糖苷侧链取代基有关。以大黄酸-8-*O*-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷为例阐释蒽醌类化合物转化规律,见

图 8, 大黄酸-8-*O*-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷在炮制过程中可能丢失乙酰基形成大黄酸-8-*O*-葡萄糖苷, 也可能继续丢失葡萄糖苷形成大黄酸。

依据大黄对照品和文献鉴别了番泻苷 A、番泻苷 B 番泻苷 C 等蒽酮类化合物, 运用代谢组学方法, 识别了番泻苷 B 在炮制后呈现差异, 且相对含量下降, 推测可能与番泻苷 B 炮制过程中丢失糖基有关。本研究以番泻苷 B 为代表, 阐释蒽酮类化合物转化规律, 见图 9。

(4) 苯丁酮类及二苯乙烯类化合物: 苯丁酮类化合物主要包含对香豆酰-6-*O*-葡萄糖苷、莲花掌苷、异莲花掌苷等 6 个化合物。化合物 27 和 33 准分子离子为 m/z 325.090 4, 依据文献分别鉴定为对香

豆酰-6-*O*-葡萄糖苷和对香豆酰-6-*O*-己糖苷; 化合物 59 和 61 的准分子离子为 m/z 477.107 3 和 477.102 8, 依据质谱碎片信息和文献比对分别鉴定为异莲花掌苷和莲花掌苷, 在炮制过程中可转化为没食子酸等化合物^[12,15,25]。本研究以异莲花掌苷为例, 阐释苯丁酮类化合物转化规律, 见图 10。

二苯乙烯类化合物以白藜芦醇苷及其衍生物为主。掌叶大黄炮制后二苯乙烯类化合物白藜芦醇和丹叶大黄素-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷呈现差异性, 这可能与炮制过程中丢失乙酰基、乙酰葡萄糖等相关。本研究以丹叶大黄素-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷为代表, 描述二苯乙烯类化合物的转化规律, 见图 11。

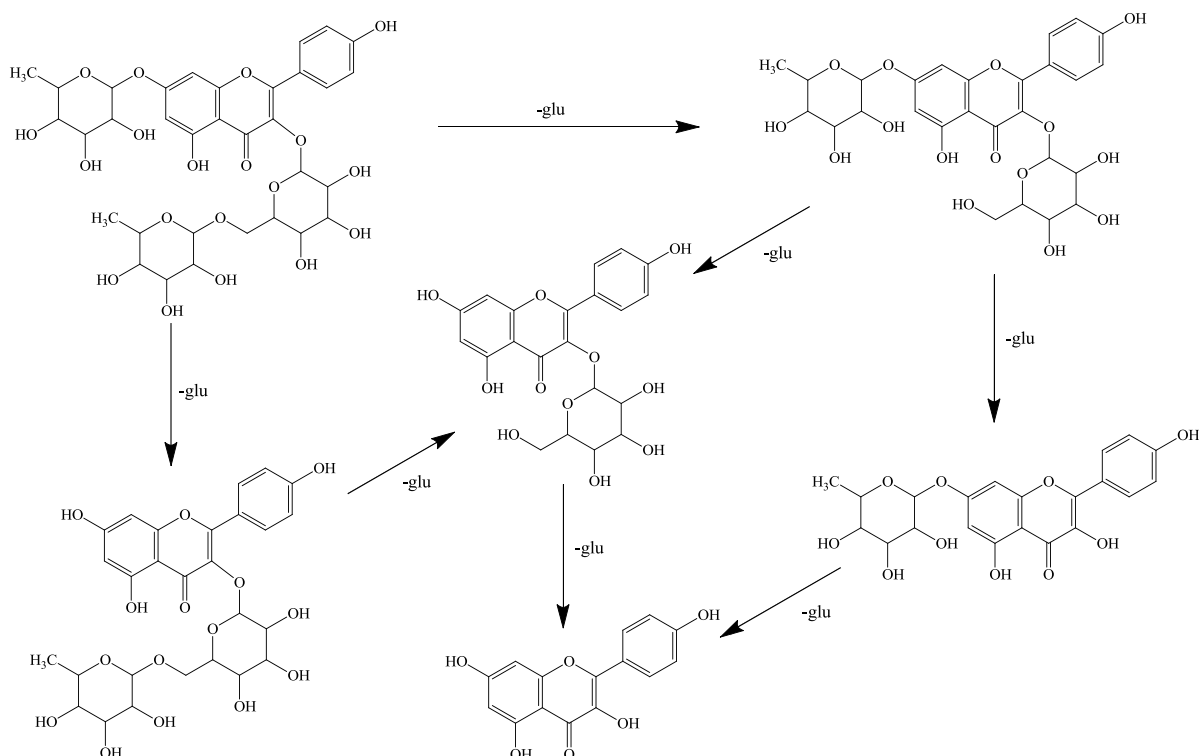


图 7 刺槐素转化途径推测

Fig. 7 Transformation path prediction of robinin

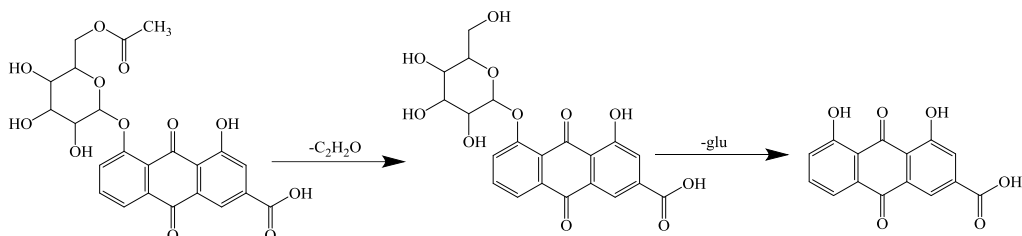


图 8 大黄酸-8-*O*-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷转化途径推测

Fig. 8 Transformation path prediction of rhein-8-*O*-(6'-*O*-acetyl)-glucoside

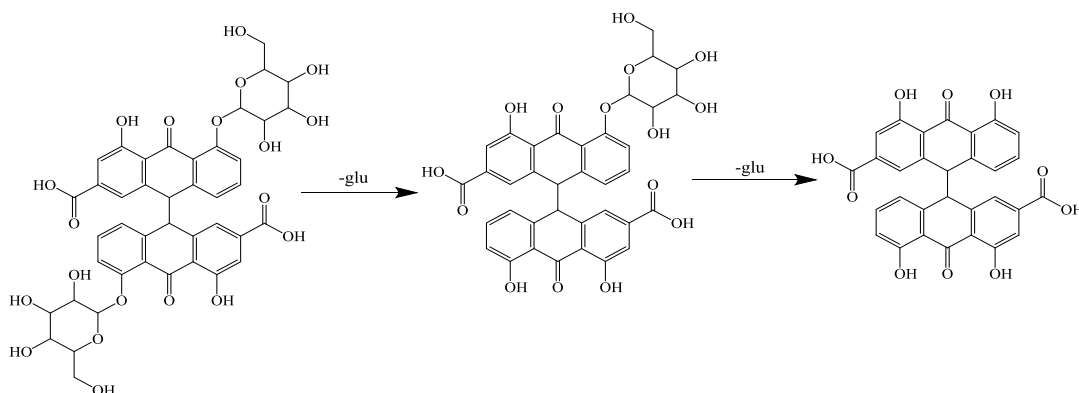


图 9 番泻苷 B 转化途径推测

Fig. 9 Transformation path prediction of sennoside B

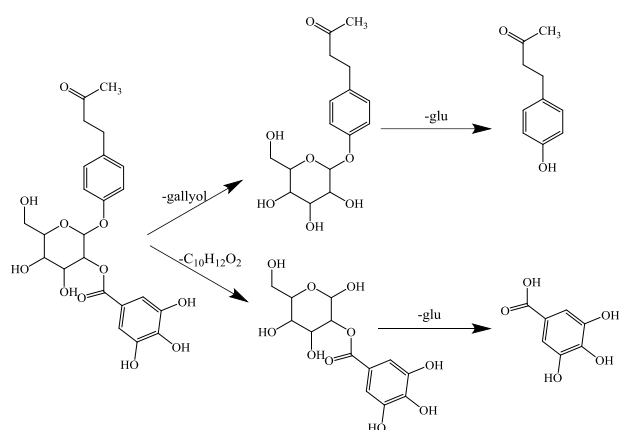


图 10 异莲花掌苷转化途径推测

Fig. 10 Transformation path prediction of isolindleyin

4 讨论

本研究通过建立掌叶大黄 UPLC-Q/TOF-MS 方法,对 8 份不同批次掌叶大黄及其炮制品化学成分进行了快速分析,通过质谱数据解析、对照品和文献分析指出 115 种化学成分(鉴定 106 个)。在此基础上采用 PCA 和 OPLS-DA 对 8 批次生熟掌叶大黄组间数据进行模式识别,得到 PCA 得分图和火山图。PCA 得分图直观显示了生熟掌叶大黄分别聚成 2 簇,表明生品与酒蒸品化学成分结构差异较大;火山图及 t 检验进一步确立了 28 个差异性较显著化学成分,主要的差异性化学成分来自鞣质类、黄酮类、蒽醌类等。本研究发现含有没食子酰基的苷类成分在炮制后相对含量降低,没食子酸相对含量升

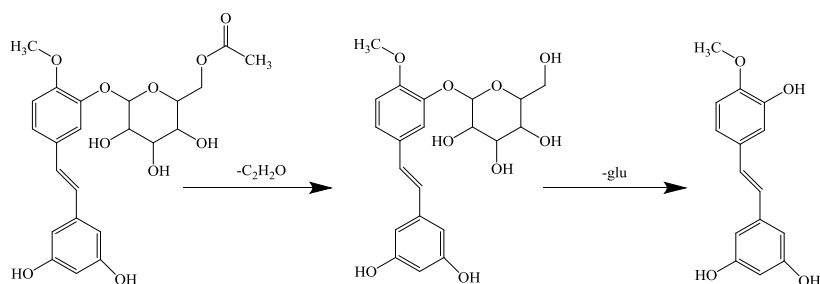


图 11 丹叶大黄素-(6'-O-乙酰基)-葡萄糖苷转化途径推测

Fig. 11 Transformation path prediction of rhapontigenin-(6'-O-acetyl)- glucoside

高,与文献报道一致^[5,31]。没食子酰基的苷类成分在蒸制时由于高温而分解形成没食子酸,提高了没食子酸相对含量。儿茶素-7-O-葡萄糖苷、儿茶素-3-O-葡萄糖苷炮制后相对含量上升,可能大黄含有儿茶素多糖苷,经高温蒸制多糖苷向单糖苷转化^[32]。原花青素 B1 和原花青素 C1 属于原花青素二聚体和原花青素三聚体类缩合鞣质,在炮制过程中可能向儿茶素、表儿茶素等转化,使得炮制后相对含量降

低;儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯等鞣质在炮制过程也可能失去没食子酰基向儿茶素、表儿茶素转化,使得儿茶素没食子酸酯/表儿茶素没食子酸酯类炮制后相对含量降低。槲皮素-3-O-葡萄糖苷、大黄素-8-O-葡萄糖苷、山柰酚 3 个成分炮制后相对含量显著上升,可能都与化合物脱糖有关。本研究发现大黄中含有槲皮素-3,4'-O-二葡萄糖苷、槲皮素-O-葡萄糖苷-O-鼠李糖苷,经过高温蒸制后均

可脱糖形成槲皮素单糖苷,促进槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷炮制后相对含量上升。同理,山柰酚相对含量上升可能与山柰酚-3-*O*-槐二糖-7-*O*-葡萄糖苷、刺槐素脱糖相关。大黄素-8-*O*-葡萄糖苷炮制后相对含量上升,可能与大黄素-8-*O*-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖丢失乙酰基或者大黄素二糖苷脱糖相关^[33]。大黄酸-1-*O*-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷、大黄酸-8-*O*-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷、羧基大黄酚-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-(6-羧基乙酰基)-吡喃葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-(6'-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷 5 个大黄蒽醌苷类衍生物在炮制后相对含量均降低,表明添加黄酒、加热条件可破坏大黄蒽醌苷类衍生物的乙酰基、羧基、羧基乙酰基等基团,促进蒽醌苷类衍生物向蒽醌苷或游离蒽醌转化。本实验发现原花青素类、没食子酸酯等复合鞣质类化合物在炮制过程中可向没食子酸、儿茶素等鞣质单体转化,促使炮制后复合鞣质相对含量降低,而蒽醌类、二苯乙烯类、苯丁酮类、黄酮类的苷类化合物在炮制过程中糖苷成分向苷元转化,使得炮制后部分糖苷成分和苷元相对含量显著升高。

大黄炮制前后化学成分相对含量差异,可能会导致功效呈现差异。研究发现生大黄具有先泻后秘的错位效应,可能产生不良反应,而熟大黄具有泻敛同步的双向调节作用,在临床上具有稳定的疗效,产生泻敛同步效应与大黄炮制后复合鞣质分解、没食子酸含量增加相关,本研究中没食子儿茶素-4,8'-没食子儿茶素、没食子酸-3-*O*-葡萄糖苷、表儿茶素没食子酸酯、1-*O*-没食子-(2-*O*-乙酰基)-葡萄糖苷、1-*O*-没食子酰-6-*O*-桂皮酰-葡萄糖苷等缩合鞣质在掌叶大黄炮制过程中分解产生没食子酸,促进具有收敛之效的没食子酸相对含量显著增加,可导致掌叶大黄生熟品产生生熟异治之效^[34]。何首乌具有生毒熟减的作用,基于分子对接结果显示表儿茶素没食子酸酯与 CYP3A4 蛋白结合性较强,具有潜在肝毒性,而大黄素-8-*O*-葡萄糖苷能与 CYP1A2 结合,表现较强抑制性,本研究中表儿茶素没食子酸酯炮制后相对含量显著降低,大黄素-8-*O*-葡萄糖苷相对含量显著增加,可导致掌叶大黄生熟品产生生熟异治的功能^[35]。此外,运用肿瘤模型探讨生、熟大黄的生熟异治研究,发现熟大黄抗肿瘤作用优于生大黄,且大黄炮制后未检测到番泻苷 B、大黄素-1-*O*-(6-羧基乙酰基)-葡萄糖苷;本研究发现番泻苷 B、大黄素-1-*O*-(6-羧基乙酰基)-葡萄糖苷在掌叶大黄炮制后相对含量显著降低,与文献报道结果相似,

表明了番泻苷 B、大黄素-1-*O*-(6-羧基乙酰基)-葡萄糖苷与生熟异治相关^[36]。

本研究通过 UPLC-Q/TOF-MS 分析建立了鉴别掌叶大黄及其酒蒸品成分的方法,首次发现了大黄中含有没食子儿茶素-4,8'-没食子儿茶素、香叶木素-7-*O*-新橙皮苷等新化合物。利用植物代谢组学方法结合 *t* 检验分析确立掌叶大黄炮制前后的差异化学成分及其在蒸制过程中的质量传递规律,发现没食子酸、儿茶素-7-*O*-葡萄糖苷、儿茶素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚炮制后相对含量上升。掌叶大黄炮制过程中成分结构改变可能影响其药理作用,炮制后可减轻使用生大黄或减弱生大黄的不良反应,证明炮制的“加热”过程诱导了大黄聚合鞣质、多级糖苷等向鞣质单体、低级糖苷转化增强药效或延缓毒性^[37]。本研究使用了植物代谢组学方法大黄炮制后成分进行了分析,但对炮制前后掌叶大黄大分子未呈现,未来还需要增加大黄大分子研究,促进掌叶大黄炮制机制的深入分析。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 24.
- [2] 韩思琪, 哈伟, 师彦平. 大黄及其有效成分抗炎作用的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(1): 303-316.
- [3] Cao Y J, Pu Z J, Tang Y P, *et al*. Advances in bio-active constituents, pharmacology and clinical applications of rhubarb [J]. *Chin Med*, 2017, 12: 36.
- [4] 王云, 张雪, 麻印莲, 等. 熟大黄的炮制、药效及临床应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(24): 219-226.
- [5] 赵楠, 张晓哲, 胡昌江, 等. 运用代谢组学技术研究发现炮制引起大黄多成分变化 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(9): 1607-1613.
- [6] 李燕芳, 吕露阳, 李莹, 等. 彝药蜜酒同制大黄炮制前后 17 种成分含量比较 [J]. 中草药, 2019, 50(9): 2074-2080.
- [7] 赵金秀, 贾勇, 安志英, 等. 超高效液相色谱 (UHPLC) 对大黄饮片炮制前后化学成分定性定量分析 [J]. 化学工程师, 2021, 35(10): 30-33.
- [8] 李会芳, 孙琴, 王伽伯, 等. 大黄炮制后化学组分转移规律研究 [J]. 山西中医学院学报, 2011, 12(6): 14-17.
- [9] 贾政辉, 王焕成. 大黄饮片炮制前后物质基础变化规律 [J]. 现代养生, 2016, 16(16): 60.
- [10] Doui M, Kakiuchi N, Mikage M. Chemical differences between steamed rhubarbs with or without pre-processing

- with liquor [J]. *J Tradit Med*, 2010, 27(3): 109-114.
- [11] Jaiswal R, Jayasinghe L, Kuhnert N. Identification and characterization of proanthocyanidins of 16 members of the *Rhododendron* genus (Ericaceae) by tandem LC-MS [J]. *J Mass Spectrom*, 2012, 47(4): 502-515.
- [12] 高亮亮. 唐古特大黄、药用大黄和掌叶大黄的化学成分和生物活性研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2012.
- [13] Gao D, Zeng L N, Zhang P, *et al.* Rhubarb anthraquinones protect rats against mercuric chloride (HgCl₂)-induced acute renal failure [J]. *Molecules*, 2016, 21(3): 298.
- [14] Tsugawa H, Nakabayashi R, Mori T, *et al.* A cheminformatics approach to characterize metabolomes in stable-isotope-labeled organisms [J]. *Nat Methods*, 2019, 16(4): 295-298.
- [15] 戴莹, 施凯, 窦志华, 等. 大黄标准汤剂含量传递规律研究 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 2938-2950.
- [16] 赵倩, 陈育鹏, 崔旭盛, 等. 掌叶大黄 UPLC 多指标成分测定及指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2018, 38(10): 1697-1710.
- [17] 咸婧. 药用大地上部分化学成分及生物活性研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2017.
- [18] Komatsu K, Nagayama Y, Tanaka K, *et al.* Development of a high performance liquid chromatographic method for systematic quantitative analysis of chemical constituents in rhubarb [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(7): 941-947.
- [19] Kuriya K, Nishio M, Ono N, *et al.* Isolation and characterization of antihyperglycemic compounds from *Vigna angularis* extracts [J]. *J Food Sci*, 2019, 84(11): 3172-3178.
- [20] Raab T, Barron D, Vera F A, *et al.* Catechin glucosides: Occurrence, synthesis, and stability [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(4): 2138-2149.
- [21] Liu J, Leng L, Liu Y, *et al.* Identification and quantification of target metabolites combined with transcriptome of two *Rheum* species focused on anthraquinone and flavonoids biosynthesis [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 20241.
- [22] Park W S, Kim H J, Khalil A A K, *et al.* Anatomical and chemical characterization of *Ulmus* species from South Korea [J]. *Plants*, 2021, 10(12): 2617.
- [23] Rzeppa S, von Barga C, Bittner K, *et al.* Analysis of flavan-3-ols and procyanidins in food samples by reversed phase high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry (RP-HPLC-ESI-MS/MS) [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(19): 10594-10603.
- [24] Nurmi K, Ossipov V, Haukioja E, *et al.* Variation of total phenolic content and individual low-molecular-weight phenolics in foliage of mountain birch trees (*Betula pubescens* ssp. *tortuosa*) [J]. *J Chem Ecol*, 1996, 22(11): 2023-2040.
- [25] Zhu W J, Sun S, Yang F, *et al.* UHPLC/MS identifying potent α -glucosidase inhibitors of grape pomace via enzyme immobilized method [J]. *J Food Sci*, 2018, 83(4): 1131-1139.
- [26] Khallouki F, Haubner R, Hull W E, *et al.* Isolation, purification and identification of ellagic acid derivatives, catechins, and procyanidins from the root bark of *Anisophyllea dichostyla* R. Br [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(3): 472-485.
- [27] Choi E H, Lee D Y, Park H S, *et al.* Changes in the profiling of bioactive components with the roasting process in *Lycium chinense* leaves and the anti-obesity effect of its bioaccessible fractions [J]. *J Sci Food Agric*, 2019, 99(9): 4482-4492.
- [28] El-Zaedi H, Calín-Sánchez Á, Nowicka P, *et al.* Preharvest treatments with malic, oxalic, and acetylsalicylic acids affect the phenolic composition and antioxidant capacity of coriander, dill and parsley [J]. *Food Chem*, 2017, 226: 179-186.
- [29] 董红娇, 陈晓虎, 曾锐. UPLC-Q-Exactive 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析民族药小大黄的化学成分 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2428-2435.
- [30] 刘鑫. 两头尖炮制前后化学成分分析及抗肝纤维化作用研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2022.
- [31] 颜永刚, 尹立敏, 王红艳, 等. HPLC 法同时测定大黄炮制品中 10 种化学成分的含量 [J]. 中国药房, 2016, 27(27): 3839-3842.
- [32] de Oliveira C A, Mansano V F, Teixeira S P, *et al.* Bloodwood: The composition and secreting-site of the characteristic red exudate that gives the name to the *Swartzia* species (Fabaceae) [J]. *J Plant Res*, 2021, 134(1): 127-139.
- [33] 安芸, 杨剑宏, 王臣臣, 等. UHPLC/Q-TOF-MS 法分析决明子化学成分 [J]. 中成药, 2017, 39(4): 776-781.
- [34] 杨庆, 王娅杰, 周淑媛, 等. 生大黄“先泻后秘”的“错位效应”与熟大黄“泻敛同步”的“双向调节”作用的物质基础与作用机理探讨 [R]. 北京: 中国中医科学院中药研究所, 2017-12-01.
- [35] 陈炜焱. 温敏型羟基积雪草苷脂质体研究及中药何首乌质量评价与炮制 [D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [36] 吴晓青. 生、熟大黄“生泻熟缓、生熟异治”炮制机理研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [37] 赵玲. 生、熟大黄活血化瘀作用及长期毒性的比较研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.