

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合化学模式识别分析温胆汤不同工艺的差异性成分

潘龙祥^{1,2}, 高喜梅^{1,2}, 乔萍^{1,2}, 张雯^{1,2}, 赵晓莉^{1,2}, 池玉梅^{1,2}, 罗子宸^{1,2*}, 狄留庆^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药高效给药系统工程研究技术中心, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 通过超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱技术(UPLC-Q-TOF-MS/MS)指认不同工艺制备温胆汤的化学成分,同时结合化学模式识别分析,明确古今不同制备工艺对于温胆汤成分体系的影响,确定不同工艺制备汤剂中的差异性成分,为温胆汤古今转化质量控制提供依据。**方法** UPLC 采用 Hyperall GOLD-C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm),流动相乙腈-0.1%甲酸水溶液,梯度洗脱,柱温 30 ℃;体积流量 0.5 mL/min;质谱采用电喷雾离子源正、负离子检测模式收集样品数据,扫描范围 m/z 50~1 500。通过分析质谱数据,利用碎片裂解模式,并将结果与现有数据库、相关文献资料以及标准对照品进行对照,对检测出的成分进行全面的指认;通过偏最小二乘法-判别分析(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)对比分析不同工艺温胆汤成分差异。**结果** 在正、负离子模式下,从温胆汤中共鉴定和指认出 121 种成分,包括 23 种有机酸类成分、69 种黄酮类成分、4 种氨基酸类成分、5 种香豆素类成分、6 种三萜皂苷类成分和 14 种其他成分。以 PLS-DA、OPLS-DA 等化学模式识别分析不同工艺间的相对含量显著性差异成分,共鉴定出古代煎煮工艺(ancient decoction process, ADP)与现代煎煮工艺(modern decoction process, MDP)之间的 13 种差异性成分(包括蔗糖、水杨酰葡萄糖醛酸、苯甲酸、芸香柚皮苷、橙皮苷、新香叶木苷、新橙皮苷、甘草素、金柑苷、枸橼苷、柚皮素、橙皮素、6-姜辣素),以及 MDP 与现代醇沉工艺(modern alcohol precipitation process, MAPP)之间的 8 种差异性成分(柠檬酸、蔗糖、戊酮酸、葡萄糖酸、奎宁酸、黏液酸、水杨酰葡萄糖醛酸和新橙皮苷)。**结论** 建立了温胆汤化学成分定性分析的方法,筛选出了不同工艺间差异性成分,为温胆汤古今工艺转换相关质量控制及药效物质基础研究提供依据。

关键词: 温胆汤; 化学模式识别; 制备工艺; 差异性成分; 汤剂; UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术; 质量控制; 偏最小二乘法-判别分析; 水杨酰葡萄糖醛酸; 芸香柚皮苷; 橙皮苷; 新香叶木苷; 新橙皮苷; 甘草素; 金柑苷; 枸橼苷; 柚皮素; 橙皮素; 6-姜辣素

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)08-2811-18

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.08.017

Chemical profiling of Wendan Decoction by UPLC-Q-TOF-MS/MS and differential components identified between different processes based on chemical pattern recognition

PAN Longxiang^{1,2}, GAO Ximei^{1,2}, QIAO Ping^{1,2}, ZHANG Wen^{1,2}, ZHAO Xiaoli^{1,2}, CHI Yumei^{1,2}, LUO Zichen^{1,2}, DI Liuqing^{1,2}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Engineering Research Center for Efficient Delivery System of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective The chemical constituents in Wendan Decoction (WD, 温胆汤) were identified by ultra-high performance

收稿日期: 2024-12-12

基金项目: 国家中医药管理局中药标准化项目(ZYBZH-C-JS-30); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX19-1265); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX19-1313); 江苏省高等学校自然科学基金项目(19KJB360004); 江苏省自然科学基金项目(BK20190800)

作者简介: 潘龙祥(2001—),男,硕士研究生,研究方向为中药药剂学。E-mail: wy896491755@163.com

***通信作者:** 罗子宸,男,博士后,研究方向为中药制剂研究与新产品研发。E-mail: luoze@njucm.edu.cn

狄留庆,男,教授,博士生导师,研究方向为中药制剂研究与新产品研发。E-mail: diliuqing@126.com

liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS), and combined with chemical pattern recognition, aiming to clarify the effects of different preparation processes on the compositional system of WD, to determine the differentiated components in WD between the processes, and to provide a basis for the quality control of the ancient and modern transformation of WD. **Methods** The liquid phase was performed on a Hyperall Gold-C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% aqueous formic acid, gradient elution, the column temperature was 30 °C, flow rate was 0.5 mL/min. Mass spectrometry uses electrospray ionization in both positive and negative ion detection modes to collect sample data, and the scanning range was m/z 50—1 500. By analyzing mass spectrometry data, utilizing fragmentation cleavage patterns, and cross-referencing the results with existing databases, relevant literature, and standard controls, a comprehensive identification of the detected components was performed. Differences in the quality of different processes of WD were analyzed by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) comparisons. **Results** A total of 121 components, including 23 organic acids, 69 flavonoids, four amino acids, five coumarins, six triterpenoid saponins, and 14 other components, were identified in WD in the positive and negative ion mode. The differential components were filtered by chemical pattern recognition, like PLS-DA and OPLS-DA. Thirteen ingredients (hesperidin, neohesperidin, liquiritigenin, naringenin, hesperetin, 6-gingerol, etc.) were identified as the differential components between ancient decoction process (ADP) and modern decoction process (MDP), and eight compounds (neohesperidin and some organic acids) were determined as the differential components between MDP and modern alcohol precipitation process (MAPP). **Conclusion** A method for the qualitative analysis of the chemical constituents of WD was established and the differential constituents among different processes were screened out, which provided the basis for the quality control study related to the conversion of the ancient and modern processes of WD and the study of the material basis of the medicinal effect.

Key words: Wendan Decoction; chemical pattern recognition; preparation processes; differential component; decoction; UPLC/Q-TOF-MS/MS technology; quality control; partial least squares-discriminant analysis; salicylglucuronic acid; rutin naringin; hesperidin; neogeneranol glycoside; neohesperidin; liquiritin; kumquat glycoside; citroside; naringin; hesperidin; 6-gingerol

温胆汤为中医经典化痰名方，由半夏、竹茹、枳实、陈皮、生姜、甘草组成，大量的临床研究表明，该方对抑郁症、失眠症、精神分裂症等神经系统疾病具有良好的治疗作用^[1-4]。温胆汤中主要含有黄酮类、木脂素类、有机酸类、三萜皂苷类等成分，其中黄酮类及有机酸类成分是其活性成分^[5-6]。但由于中药成分的多样性，以及中药配伍后多成分间相互作用的复杂性，为温胆汤中化学成分的整体研究带来了一定困难，也使温胆汤的药效物质基础长期处于模糊状态。此外，受地域、环境、气候、植物品种、储运等因素的影响，中药材成分及其种类难以控制，从而难以保障温胆汤的稳定性和均一性^[7-8]。

超高效液相色谱-飞行时间质谱联用 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 具有高分辨率、高灵敏度、高准确度、周期短、扫描范围广等特点，是研究中药复杂体系中化学成分和定性分析的重要工具^[9-10]。本研究收集了每味中药的 3 个不同主产地共 15 批次样品，组合后采用古代和现代工艺煎煮、现代煎煮纯化工艺分别制得 15 批温胆汤，采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对其中的化学成分进行分析。

经典名方的研究与开发应着眼于如何保留古代名方的卓越疗效，这同时也是温胆汤水煎疗法研

究的核心问题。由于古今环境的巨大差异，所采用的煎煮器具、次数、时间、用水量等可能不同，汤剂中有效成分的溶出也可能不同。另外，为了减少服用量，现代制剂中通常会采用醇沉工艺以去除大分子物质（如糖、淀粉、蛋白质）。然而，醇沉是否会影响有效成分的含量和种类仍有待研究。因此，本实验采用了 2 种化学模式识别方法^[11-12]，以确定温胆汤不同工艺间相对含量显著性差异成分（以下简称差异性成分），旨在为温胆汤古今转化相关质量控制及其谱效相关性研究提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

岛津 LC-20A 型快速液相仪，日本 Shimadzu 公司；Triple TOF 5600 型高分辨质谱仪，美国 AB Sciex 公司；KH-500DE 型超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；Sartorius CPA225D 型电子天平，赛多利斯科学仪器北京有限公司；梅特勒-托利多 X6 型百万分之一电子天平，梅特勒-托利多国际贸易（上海）有限公司；L50A6 型液体加热器，潮州市一壶百饮电器实业有限公司；Free Zone® 6L 立式冷冻干燥机，美国 Labconco 公司；Synergy UV 型系统超纯水仪，广州东锐科技有限公司；RE-52AA 型旋转蒸发仪，上海亚荣生化仪器厂；98-I-B 型电子调温

电热套,天津市泰斯特仪器有限公司;TGL-16M 型台式高速冷冻离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 试剂

乙腈、甲醇,LC-MS 级,Merck 公司;无水甲醇、无水乙醇、甲酸等均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;对照品精氨酸 [*L*-(+)-arginine,批号 140685-201707,质量分数 99.90%]、6-姜辣素 (6-gingerol,批号 111833-201705,质量分数 96.80%)、8-姜酚 (8-gingerol,批号 111993-201601,质量分数 93.80%)、柚皮苷 (naringin,批号 110722-201714,93.40%)、橙皮苷 (hesperedin,批号 110721-201617,质量分数 96.10%)、新橙皮苷 (neohesperidin,批号 111857-201703,质量分数 99.20%)、10-姜酚 (10-gingerol,批号 111994-201501,质量分数 97.10%)、野漆树苷 (rhoifolin,批号 111919-201503,质量分数 92.30%)、甘草苷 (liquiritin,批号 111610-201607,质量分数 93.10%)、腺嘌呤 (adenine,批号 110886-201102,质量分数 99.40%)、芹菜素 (apigenin,批号 111901-201603,质量分数 99.20%),均购于中国食品药品检定研究院;对照品香叶木素 (diosmetin,批号 T22F7X9844)、芸香柚皮苷 (naringenin-7-*O*-rutinoside,批号 P11N8L48150)、7-羟基香豆素 (7-hydroxycoumarin,批号 A04A6L1)、6-姜烯酚 (shogaol,批号 P06J8L39279)、柚皮素 (naringenin,

批号 YJ0603HA13)、异甘草苷 (isoliquiritin,批号 R07D8F50056)、橙皮素 (hesperetin,批号 C03F6Y1)、甘草查耳酮 B (licochalcone B,批号 P15D6F7553)、芹糖异甘草苷 (isoliquiritin apioside,批号 P13A9F58700)、异甘草素 (isoliquiritigenin,批号 C03A8Q41092)、甜橙黄酮 (sinensetin,批号 P14M6R1)、苜蓿素 (tricin,批号 PS011200)、川陈皮素 (nobiletin,批号 H22M8K32109)、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 (3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone,批号 C09O8Y45293)、去甲川陈皮素 (5-*O*-demethylnobiletin,批号 P14D6F7480)、橙皮油素 (auraptene,批号 P30J7F16861)、橘皮素 (tangeretin,批号 H09M7K14409),质量分数均大于 98%,均购于上海源叶生物科技有限公司。

1.3 饮片

15 批次半夏、竹茹、枳实、陈皮、生姜、甘草饮片样品均由南通精华制药有限公司提供,15 批饮片具体信息见表 1,经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定,半夏为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎,竹茹为禾本科箬竹属植物青秆竹 *Bambusa tuldoidea* Munro 的茎秆的干燥中间层,枳实为芸香科柑橘属植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥幼果,陈皮为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮,生姜为姜科姜属植物

表 1 饮片具体信息

Table 1 Specific information of decoction pieces

半夏			竹茹			枳实			陈皮			生姜			甘草		
编号	批次	产地	编号	批次	产地	编号	批次	产地	编号	批次	产地	编号	批次	产地	编号	批次	产地
B1	171225	湖北荆州	R1	180402	福建建瓯	Z1	181105	重庆江津	C1	180620	湖北宜昌	S1	190102	山东安丘	G1	180415	内蒙古王爺地
B2	180110	湖北荆州	R2	180610	福建建瓯	Z2	181108	重庆江津	C2	180311	湖北宜昌	S2	181225	山东安丘	G2	180420	内蒙古王爺地
B3	180125	湖北荆州	R3	180502	福建建瓯	Z3	181201	重庆江津	C3	180920	湖北宜昌	S3	190103	山东安丘	G3	180428	内蒙古王爺地
B4	180210	湖北荆州	R4	180416	福建建瓯	Z4	181015	重庆江津	C4	180715	湖北宜昌	S4	181220	山东安丘	G4	180512	内蒙古王爺地
B5	180225	湖北荆州	R5	180516	福建建瓯	Z5	181018	重庆江津	C5	181010	湖北宜昌	S5	181228	山东安丘	G5	180515	内蒙古王爺地
B6	180405	江苏南通	R6	180710	福建南平	Z6	180610	江西樟树	C6	1807005	浙江东阳	S6	190102	山东昌邑	G6	170906	内蒙古鄂前旗
B7	180420	江苏南通	R7	180910	福建南平	Z7	180611	江西樟树	C7	1809010	浙江东阳	S7	181226	山东昌邑	G7	170915	内蒙古鄂前旗
B8	180505	江苏南通	R8	180801	福建南平	Z8	180612	江西樟树	C8	1804011	浙江东阳	S8	181217	山东昌邑	G8	170920	内蒙古鄂前旗
B9	180605	江苏南通	R9	181101	福建南平	Z9	180613	江西樟树	C9	180816	浙江东阳	S9	181229	山东昌邑	G9	170926	内蒙古鄂前旗
B10	180520	江苏南通	R10	181010	福建南平	Z10	180803	江西樟树	C10	180817	浙江东阳	S10	181222	山东昌邑	G10	170930	内蒙古鄂前旗
B11	180615	山东菏泽	R11	180410	浙江嘉兴	Z11	180620	江西新干	C11	181010	四川眉山	S11	190103	山东莱芜	G11	170904	内蒙古杭锦旗
B12	180720	山东菏泽	R12	180425	浙江嘉兴	Z12	180621	江西新干	C12	181120	四川眉山	S12	181230	山东莱芜	G12	170905	内蒙古杭锦旗
B13	180715	山东菏泽	R13	180325	浙江嘉兴	Z13	180622	江西新干	C13	180810	四川眉山	S13	190101	山东莱芜	G13	170907	内蒙古杭锦旗
B14	180710	山东菏泽	R14	180310	浙江嘉兴	Z14	180612	江西新干	C14	180915	四川眉山	S14	181227	山东莱芜	G14	170911	内蒙古杭锦旗
B15	180620	山东菏泽	R15	180510	浙江嘉兴	Z15	180625	江西新干	C15	181016	四川眉山	S15	181224	山东莱芜	G15	170923	内蒙古杭锦旗

姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎, 甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎, 均属于《中国药典》2020 年版中的正品来源, 经检测符合规定。

2 方法

2.1 温胆汤饮片组合及不同工艺样品的制备

2.1.1 温胆汤饮片组合 为保证所制备温胆汤质

量的代表性、稳定性和可靠性, 通过 Excel 将各 15 批次饮片样品随机组合形成 15 批温胆汤 (表 2), 且保证每批样品都能被使用到, 并根据随机组合结果依次制备每个工艺的 15 批次温胆汤。

2.1.2 古代煎煮工艺 (ancient decoction process, ADP) 称取 1 个处方量 (半夏 31.25 g, 橘皮 46.87 g, 竹茹 31.25 g, 枳实 31.25 g, 生姜 62.50 g, 甘草

表 2 15 批温胆汤饮片组合

Table 2 Pieces combination of 15 batches of Wendan Decoction

编号	半夏	竹茹	枳实	陈皮	生姜	甘草	编号	半夏	竹茹	枳实	陈皮	生姜	甘草	编号	半夏	竹茹	枳实	陈皮	生姜	甘草
WD1	B10	R15	Z2	C15	S13	G14	WD6	B8	R6	Z5	C3	S7	G11	WD11	B3	R8	Z12	C4	S8	G12
WD2	B2	R12	Z7	C12	S3	G13	WD7	B4	R4	Z14	C5	S2	G1	WD12	B7	R13	Z4	C9	S4	G2
WD3	B12	R7	Z15	C11	S15	G4	WD8	B1	R10	Z9	C6	S10	G5	WD13	B11	R14	Z8	C2	S14	G9
WD4	B15	R9	Z10	C8	S11	G8	WD9	B14	R5	Z11	C10	S6	G10	WD14	B6	R1	Z6	C1	S5	G6
WD5	B9	R3	Z13	C7	S12	G7	WD10	B5	R2	Z1	C13	S1	G3	WD15	B13	R11	Z3	C14	S9	G15

15.62 g) 的“咬咀”后药材放置于砂锅中, 加水 1 600 mL, 以武火煮沸后换成文火煎煮至滤液约为 400 mL, 9 号筛滤过。水煎液置旋转蒸发仪 (真空度为 0.1 kPa、转速为 60 r/min、温度为 70 ℃) 中浓缩至含生药量约为 4.0 g/mL, 置 -80 ℃ 冰箱中冷冻过夜, 然后迅速取出进行冷冻干燥 (温度梯度设置为 0~24 h, -20 ℃; 24~32 h, -4 ℃; 32~40 h, 0 ℃; 40~48 h, 25 ℃), 冻干粉即为 ADP 样品。取表 2 中 15 批温胆汤饮片组合 (WD1~WD15), 按照该工艺制备 15 批温胆汤 ADP 样品, 分别对应编号 ADP1~ADP15。

2.1.3 现代煎煮工艺 (modern decoction process, MDP) 采用上述 15 批温胆汤原料, 均加 8 倍水浸泡 30 min, 加热回流煎煮 2 h, 连续煎煮 3 次, 合并滤液, 以 9 号筛滤过, 水煎液按照“2.1.2”项下同法浓缩并冻干, 冻干粉即为 MDP 样品。取表 2 中 15 批温胆汤饮片组合 (WD1~WD15), 按照该工艺制备 15 批温胆汤 MDP 样品, 分别对应编号 MDP1~MDP15。

2.1.4 现代醇沉工艺 (modern alcohol precipitation process, MAPP) 采用上述 15 批温胆汤原料, 照 MDP 法制备水煎液。将水煎液浓缩至相当于含总生药量 1.00~1.05 g/mL, 加乙醇至含醇量为 80%, 于 4 ℃ 冰箱中静置 12 h, 抽滤, 滤液按照“2.1.2”项下同法浓缩并冻干, 冻干粉即为 MAPP 样品。取表 2 中 15 批温胆汤饮片组合 (WD1~WD15), 按照该工艺制备 15 批温胆汤 MAPP 样品, 分别对应编号 MAPP1~MAPP15。

2.2 供试品溶液的制备

将冻干粉研磨均匀, 分别精密称取相当于 2 g 温胆汤饮片的冻干粉, 置于 50 mL 量瓶中, 加入 4/5 体积的 50% 乙醇, 超声 (功率 250 W、频率 40 kHz) 45 min, 放冷后定容至刻度, 摇匀, 取适量, 14 000 r/min 离心 (离心半径为 3 cm) 10 min, 取上清液, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即为供试品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱为 Hypersil Gold C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 3 μm) 柱; 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0~2 min, 5% 乙腈; 2~30 min, 5%~40% 乙腈; 30~32 min, 40%~75% 乙腈; 32~35 min, 75% 乙腈; 35~37 min, 75%~5% 乙腈; 37~40 min, 5% 乙腈; 柱温 30 ℃; 体积流量 0.5 mL/min; 进样量 5 μL。

2.4 质谱条件

采用 TOF MS-IDA-MS/MS 模式; 正、负离子检测模式; 电喷雾离子源 (ESI); 离子源温度 (TEM) 600 ℃; 雾化器电压 (GS1) 413.685 kPa (60 psi); 辅助加热器电压 (GS2) 413.685 kPa (60 psi); 气帘气 (Curtain Gas) 275.790 kPa (40 psi); 喷雾电压 (IS) 4 500 V (ESI⁻)、5 500 V (ESI⁺); 去簇电压 (DP) 100 V; 碰撞能量 (CE) 40 eV; 碰撞能量差 15 eV; 扫描范围 m/z 50~1 500。

2.5 数据处理

将采集到的原始样品质谱数据和色谱图采用 Makerview 1.2.1 软件进行色谱峰提取、滤过和鉴别, 生成一个由保留时间 (t_R)、质荷比 (m/z) 和每个峰

值区域的归一化离子强度组成的三维数据集。方法学参数设置如下, 保留时间提取范围: 1~33 min; m/z : 50~1 500; 保留时间允许偏差 0.2 min; m/z 允许偏差 $\delta 1.0 \times 10^{-5}$; 噪声阈值 8 000。

将所得色谱峰的碎片信息与现有文献及公共数据库 (HMDB、MassBank、MS-Finder、Pubchem 等) 进行比对, 可对各成分进行初步鉴定。

在正式分析样品前, 将任一样品连续进样 6 针以平衡系统, 并通过分析 6 针样品的色谱峰信息及重叠程度来评估仪器状态的重复性和可靠性。

3 结果与分析

3.1 利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对温胆汤进行成分分析

3.1.1 温胆汤中成分的识别 在正、负离子模式下, 综合 15 批次结果, 从 ADP、MDP、MAPP 3 种工艺温胆汤样品中共鉴定出 121 种成分, 包括 23 种有机酸类成分、69 种黄酮类成分、4 种氨基酸类成分、5 种香豆素类成分、6 种三萜皂苷类成分以及 14 种其他类成分。

与各单煎液进行比较分析, 发现温胆汤中有 26 种成分来自半夏、29 种来自竹茹、78 种来自枳实、53 种来自陈皮、26 种来自生姜、61 种来自甘草, 其中有 20 种成分属于 6 味中药的共有成分。总离子流色谱 (total ion chromatography, TIC) 图见图 1, 121 个成分的详细信息见表 3。

3.1.2 有机酸类成分 以成分 17 ($t_R=4.340$ min) 为例进行鉴定。准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 353.087 7, 二级裂解产生碎片离子峰有 m/z 191.057 0 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$ 、179.034 1 $[M-H-C_7H_{10}O_5]^-$ 、135.045 9 $[M-H-C_8H_{10}O_7]^-$, 且成分 6 ($t_R=0.758$ min) 和成分 16 ($t_R=4.313$ min) 的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 分别为 m/z 191.055 4、179.034 1, 表明它们可能是成分 17 的裂解产物。进一步与对照品的保留时间和碎片比对, 确定成分 17 为绿原酸。成分 6 脱去 1 分子水形成 m/z 173.044 0 $[M-H-H_2O]^-$, 或脱去 CH_4O_3 形成 m/z 127.039 4 $[M-H-CH_4O_3]^-$, 或脱去 $C_3H_6O_4$ 形成 m/z 85.029 7 $[M-H-C_3H_6O_4]^-$, 且成分 16 通过脱掉丙烯酸端的 CO_2 形成 m/z 135.045 3 $[M-H-CO_2]^-$, 这与参考文献一致^[13]。因此, 推测成分 6 和 16 分别为奎尼酸和咖啡酸。裂解途径如图 2 所示。

3.1.3 黄酮类成分 温胆汤中含有大量黄酮类成分, 提取 TIC 图中可看出甘草苷、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷等成分含量较高, 为温胆汤的主要成分。以成分 66 ($t_R=13.237$ min) 为例进行鉴定分析, 其准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 579.168 7, 通过 RDA 裂解反应, 产生 m/z 459.111 8 和 m/z 119.050 4 的离子碎片, 或通过断裂氧苷键, 形成苷元 (柚皮素) 碎片 m/z 271.058 5, 进一步通过 RDA 裂解反应裂解产生碎片离子 m/z 151.002 8

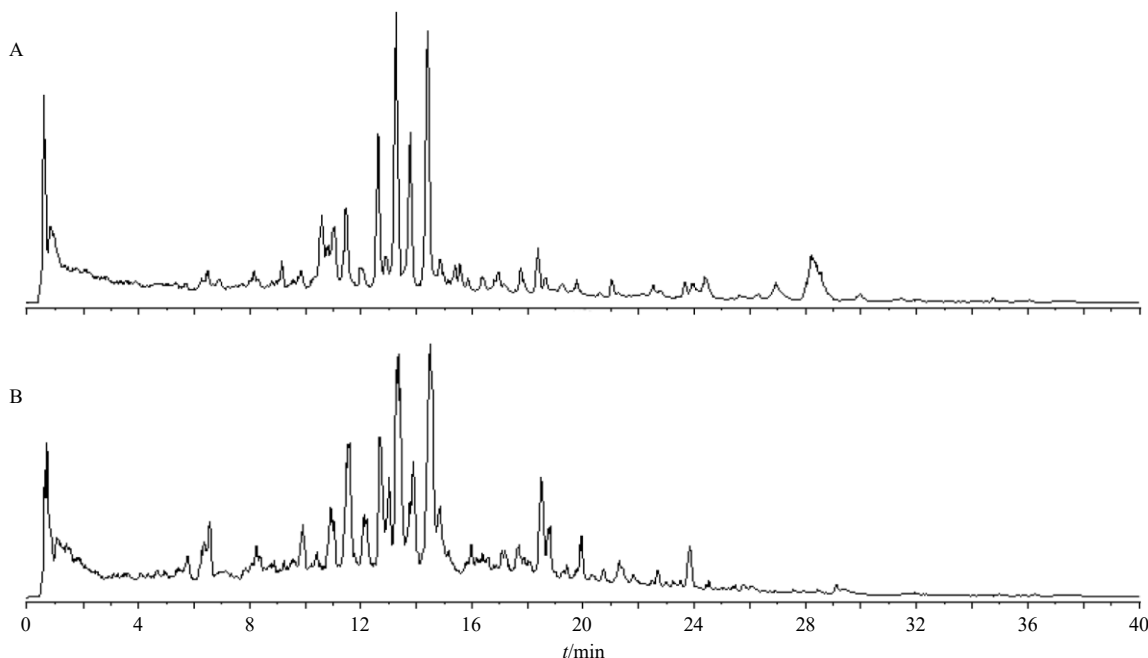


图 1 温胆汤负离子模式 (A) 和正离子模式 (B) 的 TIC 图

Fig. 1 TIC of Wendan Decoction in negative (A) and positive (B) mode

表 3 温胆汤中 121 种成分详细信息

Table 3 Detailed information on 121 components of Wendan Decoction

序号	tr/ min	中文名	英文名	分子式	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	离子 模式	离子碎片 (m/z)	工艺间差 异性成分	药材归属
1	0.524	精氨酸*	L-(+)-arginine*	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	173.104 63	4.52	[M-H] ⁻	131.082 8	-	生姜
2	0.580	柠檬酸	citric acid	C ₆ H ₈ O ₇	191.018 80	1.94	[M-H] ⁻	127.040 7, 111.009 6, 87.010 1	++	半夏
3	0.610	蔗糖	sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.106 93	4.24	[M-H] ⁻	179.055 7, 119.034 7, 59.016 4	+, ++	ALL
4	0.648	戊酮酸	pentonic acid	C ₅ H ₁₀ O ₆	165.039 20	4.30	[M-H] ⁻	147.031 0, 129.020 2, 101.024 4, 75.010 9	++	枳实
5	0.670	葡萄糖酸	gluconic acid	C ₆ H ₁₂ O ₇	195.050 10	1.90	[M-H] ⁻	177.040 6, 129.019 2, 75.010 4	++	竹茹、枳实、陈皮
6	0.758	奎宁酸	quinic acid	C ₇ H ₁₂ O ₆	191.055 35	1.10	[M-H] ⁻	173.044 0, 127.039 4, 109.029 3	++	陈皮
7	1.001	黏液酸	mucic acid	C ₆ H ₁₀ O ₈	209.030 20	2.20	[M-H] ⁻	191.019 6, 176.857 3, 133.014 1, 115.005 1, 85.030 5	++	竹茹
8	1.093	6-羟基烟酸	6-hydroxynicotinic acid	C ₆ H ₅ NO ₃	138.019 97	6.23	[M-H] ⁻	94.030 7, 66.036 8	-	枳实
9	1.120	L-苯丙氨酸	L-phenylalanine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	164.072 27	6.82	[M-H] ⁻	147.044 1, 103.055 5, 72.010 8, 66.035 7	-	ALL
10	1.381	腺嘌呤*	adenine*	C ₅ H ₅ N ₅	134.047 74	8.02	[M-H] ⁻	107.035 5, 92.025 8, 65.018 7	-	ALL
11	1.385	D-泛酸	D-pantothenic acid	C ₉ H ₁₇ NO ₅	218.103 56	3.29	[M-H] ⁻	156.065 0, 146.080 9, 88.043 1, 71.016 1	-	半夏、竹茹、 陈皮、生姜
12	1.412	水杨酰葡萄糖醛酸	salicylic glucuronide	C ₁₃ H ₁₄ O ₉	313.056 50	1.76	[M-H] ⁻	191.019 3, 147.028 4, 85.030 9	+, ++	枳实、陈皮
13	1.553	原儿茶酸	protocatechuic acid	C ₇ H ₆ O ₄	153.019 50	4.71	[M-H] ⁻	108.021 1, 91.019 4, 81.035 4, 65.005 1	-	竹茹
14	1.818	色氨酸	tryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	203.081 90	0.74	[M-H] ⁻	186.054 9, 142.067 0, 116.051 8	-	ALL
15	4.263	七叶苷	esculin	C ₁₅ H ₁₆ O ₉	339.069 74	5.50	[M-H] ⁻	177.019 1, 133.030 5	-	枳实、陈皮
16	4.313	咖啡酸	caffeic acid	C ₉ H ₈ O ₄	179.034 00	2.40	[M-H] ⁻	135.045 3	-	枳实
17	4.340	绿原酸	chlorogenic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 70	1.27	[M-H] ⁻	234.921 1, 191.057 0, 154.947 5, 96.961 8	-	枳实、陈皮
18	4.658	苯甲酸	benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	121.028 70	2.07	[M-H] ⁻	108.022 3, 92.027 4	+	半夏
19	5.624	对羟基苯甲酸	4-hydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₃	137.024 82	6.90	[M-H] ⁻	93.035 2	-	竹茹、陈皮、 枳实、甘草
20	6.366	香草醛	vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	151.039 10	2.78	[M-H] ⁻	108.022 0, 92.027 8, 79.020 2	-	ALL
21	6.825	对香豆酸	p-coumaric acid	C ₉ H ₈ O ₃	163.040 60	6.61	[M-H] ⁻	119.050 3, 93.035 6	-	ALL
22	6.885	4-乙烯基苯酚	4-vinylphenol	C ₈ H ₈ O	119.050 20	4.28	[M-H] ⁻	93.035 4, 65.041 8	-	ALL
23	7.120	光牡荆素-2	lucenin-2	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.144 30	2.07	[M-H] ⁻	519.112 6, 489.101 0, 399.069 9, 369.058 7	-	枳实、陈皮
24	7.472	氢化阿魏酸	hydroferulic acid	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	195.065 83	0.49	[M-H] ⁻	160.840 5, 136.053 2, 121.030 2	-	ALL
25	7.676	丁香醛	syringaldehyde	C ₉ H ₁₀ O ₄	181.050 04	0.21	[M-H] ⁻	166.025 5, 151.002 6	-	ALL
26	7.721	7-羟基香豆素*	7-hydroxycoumarin*	C ₉ H ₆ O ₃	161.024 57	4.36	[M-H] ⁻	133.029 0, 105.034 8	-	ALL
27	7.887	葛根素	puerarin	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	415.101 63	3.07	[M-H] ⁻	295.060 3, 267.064 0, 242.077 4	-	甘草
28	8.098	维采宁-2	vicenin 2	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.146 90	6.31	[M-H] ⁻	503.115 5, 473.105 9, 383.074 9, 353.064 6, 297.075 5	-	ALL
29	8.257	原儿茶醛	protocatechuic aldehyde	C ₇ H ₆ O ₃	137.025 04	8.52	[M-H] ⁻	108.021 1, 92.027 3, 81.033 7	-	ALL
30	8.308	阿魏酸	ferulic acid	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.050 10	0.10	[M-H] ⁻	178.026 6, 134.037 3, 89.040 4	-	ALL
31	8.360	—	N-acetyltryptophan	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₃	245.092 45	0.64	[M-H] ⁻	203.083 1, 116.050 9, 74.025 6	-	陈皮
32	8.461	夏佛塔苷	schaftoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.140 10	0.04	[M-H] ⁻	473.102 5, 443.089 6, 353.063 5	-	半夏、竹茹、甘草
33	8.498	莨菪亭	scopoletin	C ₁₀ H ₈ O ₄	191.034 32	0.60	[M-H] ⁻	176.010 6, 148.017 6, 104.027 1	-	枳实、陈皮
34	8.808	芥子酸	sinapic acid	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	223.060 97	1.45	[M-H] ⁻	208.035 0, 193.012 4, 164.047 3, 149.023 5, 121.029 3, 93.035 4	-	半夏、陈皮、甘草
35	8.910	—	salipurposide	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.112 20	2.93	[M-H] ⁻	271.058 7, 151.002 9, 123.009 1, 107.017 7	-	枳实、陈皮
36	9.349	7,8-二羟基香豆素	daphnetin	C ₉ H ₆ O ₄	177.019 10	1.81	[M-H] ⁻	149.020 7, 133.027 7, 105.032 4, 91.021 0	-	甘草
37	9.370	4-羟基喹啉	4-hydroxyquinoline	C ₉ H ₇ NO	144.045 00	0.42	[M-H] ⁻	126.034 2, 115.039 9, 99.919 3	-	ALL
38	9.383	蜡梅苷	meratin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	625.140 00	0.75	[M-H] ⁻	463.101 5, 300.025 9	-	枳实
39	9.422	异荛素	isoorientin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.090 61	4.73	[M-H] ⁻	357.060 0, 327.050 7, 299.053 9, 285.039 9, 225.051 0	-	陈皮
40	9.476	异夏佛塔苷	isoschaftoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.138 30	3.16	[M-H] ⁻	473.107 3, 443.095 6, 383.075 6, 353.064 8, 325.071 0, 297.076 4	-	半夏、竹茹、甘草
41	9.879	大豆苷	daidzin	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	415.100 50	5.78	[M-H] ⁻	252.042 5, 223.040 5, 196.053 4, 135.008 0	-	甘草

表 3 (续)

序号	t _R / min	中文名	英文名	分子式	实测值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	离子模式	离子碎片 (m/z)	工艺间差 异性成分	药材归属
42	10.444	—	eleutheroside E	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	787.262 78	2.80	[M+FA-H] ⁻	625.164 5, 579.205 7, 417.154 3, 181.049 7	-	陈皮
43	10.453	松柏醛	coniferyl aldehyde	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	177.055 67	2.83	[M-H] ⁻	162.029 8, 134.038 5, 120.022 5	-	竹茹
44	10.601	甘草苷*	liquiritin*	C ₂₁ H ₃₂ O ₉	417.116 01	6.10	[M-H] ⁻	255.064 0, 135.007 7, 119.049 7	-	甘草
45	10.603	牡荆素	vitexin	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₀	431.095 48	5.42	[M-H] ⁻	311.054 9, 283.059 9, 269.066	-	枳实、陈皮、甘草
46	10.608	芹糖基甘草苷	liquiritin apioside	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	549.157 90	5.30	[M-H] ⁻	429.100 8, 255.065 3, 135.008 7	-	甘草
47	10.720	异牡荆素-2"-O-阿拉伯糖苷	isovitexin 2"-O-arabinoside	C ₂₆ H ₃₈ O ₁₄	563.137 60	4.40	[M-H] ⁻	443.098 1, 413.085 8, 293.044 7	-	枳实、陈皮、甘草
48	10.722	牡荆素-2-O-鼠李糖苷	vitexin-2-O-rhamnoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577.152 53	5.55	[M-H] ⁻	413.087 9, 293.043 9, 177.018 6	-	陈皮
49	10.940	异牡荆素	isovitexin	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₀	431.095 30	5.85	[M-H] ⁻	311.052 4, 283.056 4, 269.056 4	-	陈皮、枳实
50	10.948	—	naringenin-4'-glucose-7-rutinoside	C ₃₃ H ₄₂ O ₁₉	741.220 60	4.86	[M-H] ⁻	621.164 6, 271.059 8, 151.003 5	-	枳实
51	11.200	—	xanthorhamnin	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₀	769.217 26	2.42	[M-H] ⁻	723.207 1, 625.123 4, 315.041 6	-	枳实
52	11.337	—	violanthin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577.153 40	4.04	[M-H] ⁻	487.121 3, 457.110 5, 383.074 3, 353.065 4, 297.075 6	-	枳实
53	11.406	金丝桃苷	hyperoside	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₂	463.086 70	2.05	[M-H] ⁻	300.026 0, 271.022 1, 255.028 8, 243.024 3	-	枳实、陈皮
54	11.411	圣草枸橼酸苷	ericiocitrin	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	595.162 57	6.25	[M-H] ⁻	459.111 1, 287.055 8, 151.003 2, 135.045 1	-	枳实
55	11.550	达提斯根苷	datiscin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.147 30	5.63	[M-H] ⁻	285.038 4	-	枳实
56	11.696	—	kaempferol 3-O-rhamnoside	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	739.204 06	6.07	[M-H] ⁻	593.150 4, 285.038 8	-	枳实
57	11.970	杜鹃酸	azelaic acid	C ₉ H ₁₆ O ₄	187.097 06	0.15	[M-H] ⁻	169.095 7, 125.096 2, 97.065 7	-	ALL
58	11.989	—	hesperetin-3'-glucose-7-rutinoside	C ₃₄ H ₄₄ O ₂₀	771.231 00	4.89	[M-H] ⁻	609.179 9, 489.137 6, 301.070 3, 286.047 1	-	枳实
59	12.245	新圣草苷	neoericiocitrin	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	595.162 40	6.54	[M-H] ⁻	459.108 3, 339.072 4, 287.054 2, 233.080 2, 151.002 1, 135.044 1	-	枳实
60	12.624	芸香柚皮苷*	naringenin-7-O-rutinoside*	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	579.166 94	7.66	[M-H] ⁻	271.060 0	+	枳实、陈皮
61	12.697	山柰酚-3-O-芸糖苷	kaempferol-3-O-rutinoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.145 70	8.33	[M-H] ⁻	285.038 1, 255.028 6	-	枳实
62	12.907	紫云英苷	kaempferol-3-glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.090 61	4.73	[M-H] ⁻	285.037 1, 255.024 4, 227.038 9, 150.995 9	-	枳实、陈皮
63	12.910	樱桃苷	naringenin-7-O-glucoside	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.110 70	6.40	[M-H] ⁻	271.059 4, 151.003 0, 119.050 1, 107.013 8	-	枳实、陈皮、甘草
64	13.056	—	naringenin-4'-glucose-7-neohesperidoside	C ₃₃ H ₄₂ O ₁₉	741.220 80	4.59	[M-H] ⁻	621.158 1, 271.059 5, 151.002 9	-	枳实、陈皮
65	13.129	丁香亭-3-O-葡萄糖苷	syringetin-3-O-glucoside	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₃	507.111 76	4.13	[M-H] ⁻	492.087 7, 344.052 5, 329.028 8, 286.010 4, 258.013 7	-	枳实
66	13.237	柚皮苷*	naringin*	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	579.168 70	4.63	[M-H] ⁻	459.111 8, 271.058 5, 151.002 8, 119.050 4	-	陈皮
67	13.616	黄诺马苷	flavanomarein	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449.107 00	3.08	[M-H] ⁻	287.052 1, 151.005 0, 135.045 6	-	枳实
68	13.617	洋芹苷	apiin	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.139 20	1.56	[M-H] ⁻	269.044 0	-	枳实
69	13.661	野漆树苷*	rhoifolin*	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577.152 40	5.77	[M-H] ⁻	269.045 0	-	枳实、陈皮
70	13.771	橙皮苷*	hesperidin*	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	609.178 50	5.65	[M-H] ⁻	301.068 9	+	枳实
71	13.939	新香叶木苷	neodiosmin	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.163 10	5.25	[M-H] ⁻	299.054 5, 284.030 6	+	枳实
72	13.991	香叶木苷	diosmin	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.164 60	2.78	[M-H] ⁻	299.054 4, 284.031 6	-	枳实
73	13.996	-	hesperetin-3'-glucose-7-neohesperidoside	C ₃₄ H ₄₄ O ₂₀	771.231 10	4.76	[M-H] ⁻	609.178 5, 469.143 9, 367.078 0, 286.047 7, 301.069 4	-	枳实
74	14.134	白藜芦醇	resveratrol	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	227.070 22	2.65	[M-H] ⁻	185.062 8, 143.052 4	-	枳实
75	14.224	-	hesperetin 7-glucoside	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁	463.120 79	7.00	[M-H] ⁻	301.069 6, 286.046 5, 242.056 1, 164.010 8	-	枳实
76	14.257	水仙苷	isorhamnetin-3-O-rutinoside	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	623.159 10	3.39	[M-H] ⁻	315.049 5	-	陈皮
77	14.414	新橙皮苷*	neohesperidin*	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	609.178 30	5.98	[M-H] ⁻	489.138 1, 301.069 3	+, ++	枳实
78	14.483	地奥司明	diosmetin-7-O-rutinoside	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.164 00	3.77	[M-H] ⁻	299.054 3, 284.031 0	-	枳实
79	15.027	芒柄花黄素	formononetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	267.065 02	2.65	[M-H] ⁻	252.041 1, 223.038 6, 195.044 2	-	甘草
80	15.282	甘草素	liquiritigenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.065 16	2.22	[M-H] ⁻	135.008 6, 119.050 0, 91.019 8	+	甘草

表 3 (续)

序号	t_R / min	中文名	英文名	分子式	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	离子模式	离子碎片 (m/z)	工艺间差 异性成分	药材归属
81	15.412	芹糖基异甘草苷*	isoliquiritin apioside*	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	549.157 90	5.30	[M-H] ⁻	255.064 5, 135.008 4	-	甘草
82	15.556	甘草查耳酮B*	licochalcone B*	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	285.076 00	1.05	[M-H] ⁻	270.050 8, 150.032 3	-	甘草
83	15.602	芒柄花苷	ononin	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	475.121 84	2.31	[M+FA-H] ⁻	267.064 5, 252.042 4	-	甘草
84	15.658	异甘草苷*	isoliquiritin*	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	417.116 30	5.40	[M-H] ⁻	255.064 3, 148.016 5, 135.008 9, 119.050 4, 92.027 3	-	甘草
85	15.750	圣草素	eriodictyol	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.056 50	3.27	[M-H] ⁻	151.003 7, 135.044 7	-	枳实
86	16.059	癸二酸	sebacic acid	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	201.112 74	0.29	[M-H] ⁻	183.100 5, 164.834 0, 139.112 5	-	ALL
87	17.711	异枸橼苷	neoponcirin	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	593.183 43	6.07	[M-H] ⁻	327.083 9, 285.074 7, 241.084 6	-	枳实
88	17.753	金柑苷	fortunellin	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	637.173 43	3.67	[M+FA-H] ⁻	591.161 7, 475.074 8, 283.062 7, 268.036 0	+	枳实
89	17.774	枸橼苷	poncirin	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	593.183 40	6.12	[M-H] ⁻	473.141 5, 327.084 7, 285.075 1, 164.010 6	+	枳实
90	18.630	柚皮素*	naringenin*	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.060 08	2.09	[M-H] ⁻	177.018 6, 151.003 0, 119.049 9, 107.013 6, 65.005 2	+	枳实
91	18.923	-	sissotrin	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	491.114 82	6.18	[M+FA-H] ⁻	283.059 7, 268.038 7	-	甘草
92	19.477	芹菜素*	apigenin*	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 20	0.74	[M-H] ⁻	209.056 7, 133.030 0, 117.032 9, 92.027 6	-	枳实
93	19.789	橙皮素*	hesperetin*	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	301.070 30	3.02	[M-H] ⁻	286.047 5, 242.057 8, 164.010 9, 151.003 2, 136.016 1, 108.021 6	+	枳实
94	19.984	荳蔻素*	tricin*	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	329.064 49	4.96	[M-H] ⁻	314.040 6, 271.022 1, 243.029 1, 227.032 6	-	竹茹
95	20.006	伞房花耳草素	corymbosin	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	357.095 07	6.57	[M-H] ⁻	327.047 8, 284.032 5, 241.011 9, 212.045 4, 173.022 3	-	枳实、陈皮
96	20.088	香叶木素*	diosmetin*	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.054 71	2.83	[M-H] ⁻	284.031 3, 256.035 8, 227.034 3, 151.004 9	-	枳实
97	20.249	柠檬素	limocitrin	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	345.060 42	1.79	[M-H] ⁻	315.012 5, 271.024 0, 243.019 8, 187.040 5	-	枳实、陈皮
98	20.898	川陈皮素*	nobiletin*	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	403.135 80	5.95	[M+H] ⁺	373.089 0, 358.067 9, 330.071 5, 301.069 3	-	枳实、陈皮
99	20.992	甜橙黄酮*	sinensetin*	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	373.126 84	2.11	[M+H] ⁺	358.107 4, 343.080 4, 312.100 6, 297.075 9	-	枳实
100	21.462	3,5,6,7,8,3',4'- 七甲氧基黄酮*	3,5,6,7,8,3',4'- heptamethoxyflavone*	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	433.148 67	0.21	[M+H] ⁺	418.124 7, 403.099 7, 385.090 7, 373.055 6, 345.059 7	-	枳实、陈皮
101	22.099	橘皮素*	tangeretin*	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	373.127 95	0.87	[M+H] ⁺	358.103 5, 343.079 4, 315.085 6, 297.074 8	-	枳实、陈皮
102	22.170	异甘草素*	isoliquiritigenin*	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.065 54	0.75	[M-H] ⁻	135.008 6, 119.050 0, 91.019 8	-	甘草
103	22.761	5-去甲川陈皮素*	5-O-demethylnobiletin*	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	389.122 29	0.66	[M+H] ⁺	359.075 6, 341.065 3, 313.068 7	-	陈皮
104	24.914	异泽兰黄素	eupatilin	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	343.08 220	1.25	[M-H] ⁻	328.056 2, 313.031 0, 270.013 3, 242.020 5	-	枳实、陈皮
105	25.623	6-姜辣素*	6-gingerol*	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	293.174 34	3.22	[M-H] ⁻	193.085 4, 99.081 9, 57.037 2	+	生姜
106	25.889	异樱花素	isosakuranetin	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	285.075 88	1.47	[M-H] ⁻	164.011 1, 151.001 3, 108.021 4, 65.006 2	-	枳实
107	26.934	甘草皂苷G2	licoricesaponin G2	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	837.388 70	2.59	[M-H] ⁻	351.053 9, 193.033 8	-	甘草
108	28.172	甘草次酸	glycyrrhetic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	469.330 06	3.66	[M-H] ⁻	425.339 7, 409.3301	-	甘草
109	28.219	甘草酸	glycyrrhizin	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	821.390 00	7.26	[M-H] ⁻	351.055 0, 193.035 3	-	甘草
110	28.619	橙皮油素*	auraptene*	C ₁₉ H ₂₂ O ₃	299.164 28	2.19	[M+H] ⁺	163.039 4, 119.050 3, 107.051 2	-	枳实
111	29.663	甘草皂苷B2	licoricesaponin B2	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₅	807.416 40	0.36	[M-H] ⁻	351.055 5, 289.054 1, 193.033 5, 113.024 5	-	甘草
112	31.483	甘草皂苷J2	licoricesaponin J2	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₆	823.409 20	2.93	[M-H] ⁻	351.055 3, 193.035 0	-	甘草
113	31.775	甘草查耳酮A	licochalcone A	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	337.141 90	6.17	[M-H] ⁻	282.053 0, 229.083 0	-	甘草
114	31.855	甘草皂苷C2	licoricesaponin C2	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₅	805.398 10	3.65	[M-H] ⁻	567.371 1, 453.336 1, 351.053 5, 191.034 5, 113.024 2	-	甘草
115	31.903	8-姜酚*	8-gingerol*	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	321.205 40	3.67	[M-H] ⁻	193.081 5, 177.053 2, 127.113 1	-	生姜
116	32.149	6-姜烯酚*	shogaol*	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	275.163 85	3.16	[M-H] ⁻	231.179 7, 139.112 3	-	生姜
117	32.723	-	dimorphelic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	295.228 50	4.00	[M-H] ⁻	277.213 7, 195.138 9, 171.101 4	-	ALL
118	32.926	10-姜酚*	10-gingerol*	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	349.238 58	2.00	[M-H] ⁻	155.141 7, 57.035 5	-	生姜
119	34.108	肉豆蔻酸	myristic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	227.200 30	3.52	[M-H] ⁻	209.120 2	-	ALL
120	35.037	十五烷酸	pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	241.216 30	1.87	[M-H] ⁻	97.030 5	-	ALL
121	36.076	十六烷酸	palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	255.231 86	2.10	[M-H] ⁻	237.217 4	-	ALL

“*”表示与对照品比对，“-”表示非工艺间差异性成分，“+”表示 ADP 与 MDP 工艺间差异性成分，“++”表示 MAPP 与 MDP 工艺间差异性成分；“ALL”表示所有 6 味中药。

“*” indicates that compared with the reference substance, “-” indicates the non-inter-process differential component, “+” indicates the inter-process differential component between ADP and MDP, and “++” indicates the inter-process differential component between MAPP and MDP; “ALL” means all six kinds of traditional Chinese medicines.

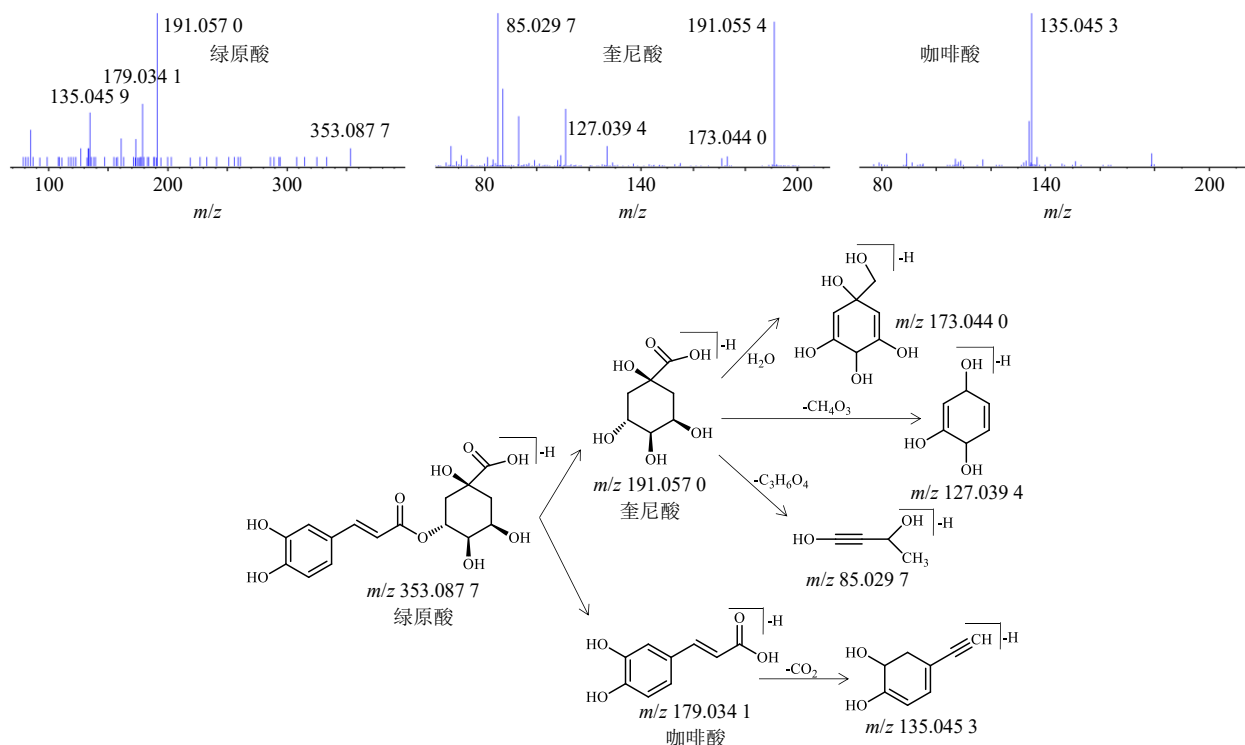


图 2 绿原酸的二级裂解光谱及裂解途径

Fig. 2 MS² spectra and cleavage processes of chlorogenic acid

和 m/z 119.050 4, 其中, m/z 151.002 8 离子重排后还可裂解产生 m/z 107.013 6。经与对照品及参考文献比对^[14-15], 结合质谱裂解规律, 确定成分 66 为柚皮苷, 成分 90 为柚皮素。还发现成分 63 ($t_R=12.910$ min) 也含有柚皮素 m/z 271.058 5 碎片信息, 其准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 433.110 7, 脱去 C7 位的葡萄糖即得柚皮素离子峰 m/z 271.059 4 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$, 参考文献报道^[14,16], 可确定该成分为樱桃苷。裂解途径如图 3 所示。

温胆汤中还含有夏佛塔苷、异夏佛塔苷等黄酮碳苷, 由糖基的端基碳原子与黄酮碳原子直接相连而成。夏佛塔苷的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 563.140 1, 在二级图谱中可观察到一系列 m/z 503.008 5 $[M-H-60]^-$ 、473.102 5 $[M-H-90]^-$ 、443.089 6 $[M-H-120]^-$ 、383.074 9 $[M-H-180]^-$ 、353.063 5 $[M-H-210]^-$ 碎片离子, 这些离子为 C-糖苷环裂解反应的特征碎片离子, 其裂解反应机制见图 4。在图 4 中共有 4 种开环断裂方式: A 为葡萄糖 0、3 键断裂, 脱去 $C_3H_6O_3$ (m/z 90); B 为葡萄糖 0、2 键断裂, 脱去 $C_4H_8O_4$ (m/z 120); C 为阿拉伯糖 0、3 键断裂, 脱去 $C_2H_4O_2$ (m/z 60); D 为阿拉伯糖 0、2 键断裂, 脱去 $C_3H_6O_3$ (m/z 90)。由此可知, m/z 503.008 5 即为准分子离子峰在 C 断裂

方式下所形成的碎片离子; A 或 D 断裂后可形成 m/z 473.102 5; B 断裂后形成 m/z 443.089 6; B、C 或 A、D 同时断裂时可形成 m/z 383.074 9; B、D 同时断裂时可形成 m/z 353.063 5。夏佛塔苷和异夏佛塔苷属同分异构体, 它们之间的明显区别在于己糖和戊糖的键合位置, 二者碎片离子基本一致, 通过参考文献比对^[16-17], 可确定成分 32 ($t_R=8.461$ min) 和成分 40 ($t_R=9.476$ min) 分别为夏佛塔苷和异夏佛塔苷。

3.1.4 香豆素类成分 香豆素类分子中一般具有多个和芳环连接的氧原子、羟基、甲氧基, 故其质谱中经常出现一系列连续失去 CO 、 H_2O 、甲基或甲氧基的碎片离子峰。温胆汤中含有 7-羟基香豆素、7,8-二羟基香豆素、七叶苷等香豆素类成分, 以七叶苷为例进行鉴定分析。该成分在负离子模式下保留时间 t_R 为 4.263 min, 准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 339.069 7, 二级裂解产生的碎片离子峰有 m/z 177.019 1 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 、133.030 5 $[M-H-C_6H_{10}O_5-CO_2]^-$, 裂解途径见图 5, 故结合参考文献比对^[18-19]。推测该成分为七叶苷。

3.1.5 三萜皂苷类成分 三萜皂苷类成分是温胆汤中甘草药材的重要成分。本研究共识别了 6 个三萜皂苷类成分, 均为甘草酸类衍生物。以成分 109

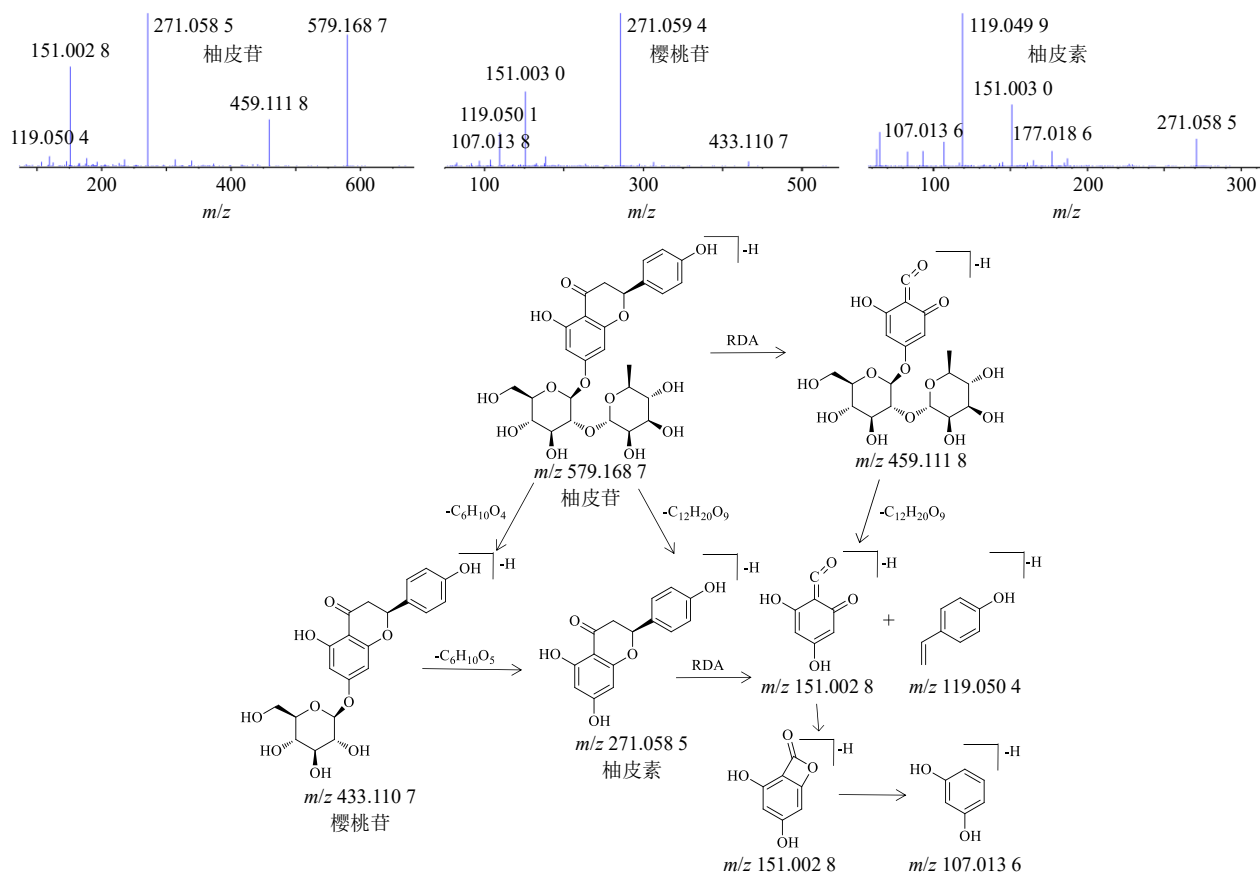


图 3 柚皮苷的二级裂解光谱和裂解过程

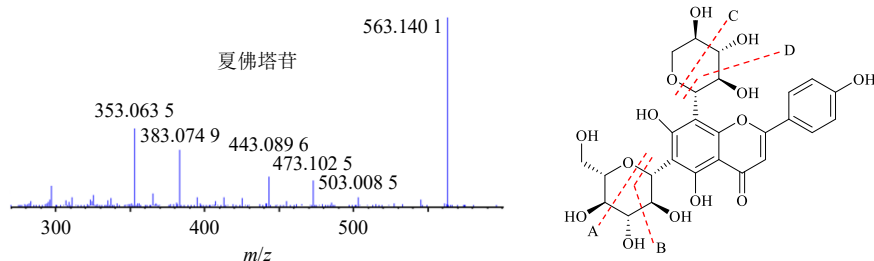
Fig. 3 MS² spectra and cleavage processes of naringin

图 4 黄酮 C-糖苷的二级裂解光谱和裂解过程

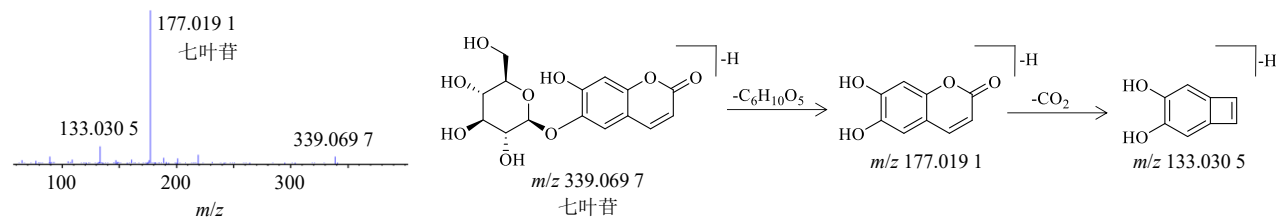
Fig. 4 MS² spectra and cleavage processes of flavone C-glycosides

图 5 七叶苷二级裂解光谱和裂解过程

Fig. 5 MS² spectra and cleavage processes of Esculin

($t_R=28.219$ min) 为例进行鉴定分析, 该成分准分子离子峰[M-H]⁻为 m/z 821.390 3, 二级裂解产生碎片离子峰 m/z 有 645.363 5 [M-H-葡萄糖醛酸]⁻、469.327 3 [M-H-2 葡萄糖醛酸]⁻、351.055 0 [M-

H-甘草次酸]⁻、193.035 3 [M-H-甘草次酸-葡萄糖醛酸]⁻, 裂解途径见图 6 所示。进而结合相关文献比对^[20-21], 确认 m/z 469.327 3 为甘草皂苷元(甘草次酸, 成分 108), 并确定该成分 109 为甘草酸。

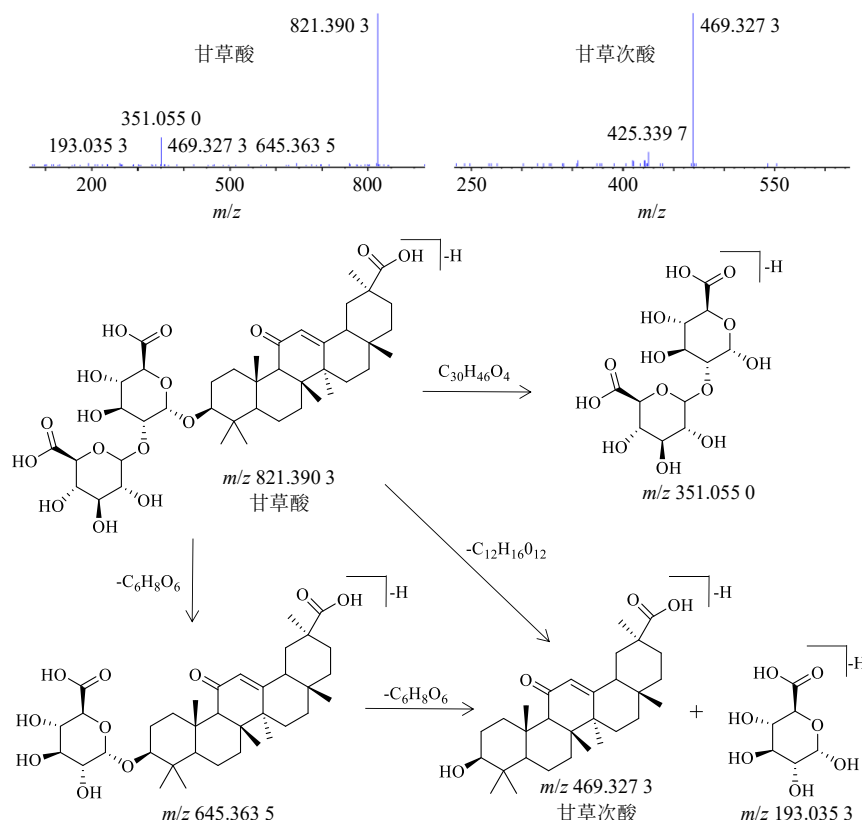


图 6 甘草酸的二级裂解光谱及裂解过程

Fig. 6 MS² spectra and cleavage processes of glycyrrhizin

3.2 基于化学模式识别分析不同工艺条件下温胆汤的成分差异

将 3 个工艺各 15 批温胆汤样品的质谱数据及色谱图导入“2.5”项下 Makerview 1.2.1 软件,进行色谱峰自动识别以及峰匹配处理,并且以成分的峰面积为变量,再将所得数据导入 SIMCA-P 13.0 软件进行有监督的偏最小二乘法-判别分析 (partial least squared discriminant analysis, PLS-DA),初步观察 3 个工艺条件下温胆汤样品的聚集情况,再结合正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 模型的 S-plot 图和变量重要性投影 (variable importance in the projection, VIP) 值对 3 个工艺温胆汤样品进行两两比较。利用 Makerview 1.2.1 软件对 2 组间数据进行独立样本 *t* 检验,可得出 *P* 值和差异倍数 (fold change, FC) 值,以 $P < 0.05$ 、 $FC > 1.5$ 或 < 0.67 、 $VIP > 1.0$ 为条件筛选不同制备工艺温胆汤样品的差异性成分,进一步结合 $\log_2 FC$ 数值的正负性,能判断差异性成分含量的变化趋势^[22]。最后将筛选出的差异性成分导入 Metaboanalyst 网站 (<http://www.Metaboanalyst.ca/>) 进行聚类热图分析,其他

作图主要采用 Graphpad prism 7 软件。

3.2.1 ADP、MDP、MAPP 3 种工艺温胆汤样品的 PLS-DA 利用 SIMCA-P 13.0 软件处理 3 组数据,进行有监督的 PLS-DA 时,需先考察模型的拟合效果,结果如图 7-A 所示, R^2 和 Q^2 分别表示对模型的解释能力和预测能力^[23],其截距值分别为 0.445 和 -0.360。图中所有位于左边的 R^2 和 Q^2 值均低于其最右边的值,且 Q^2 的回归线截距为负值,说明建立的 PLS-DA 模型没有出现过拟合现象,具有较好的预测能力。

据 PLS-DA 得分图可知,除 1 个离群 MDP 样品外,其余样品都在 95% 置信区间内,其中绿色圆点、蓝色方格、红色三角分别代表 ADP、MDP、MAPP 样品,如图 7-B 所示。从图中能够明显看出各组均能较好地聚为一类,且各组间均能明显地分离,说明基于这 3 个不同工艺条件下的温胆汤样品具有一定差异性。此外,与 ADP 组样品相比,MDP 组样品分布更为分散,组内差异较大,这可能与 MDP 组样品提取效率高,从而起到放大批间差异的效果有关;与 MDP 组样品相比,MAPP 组样品的组内差异较小,且各样品的分布有明显的下调,可

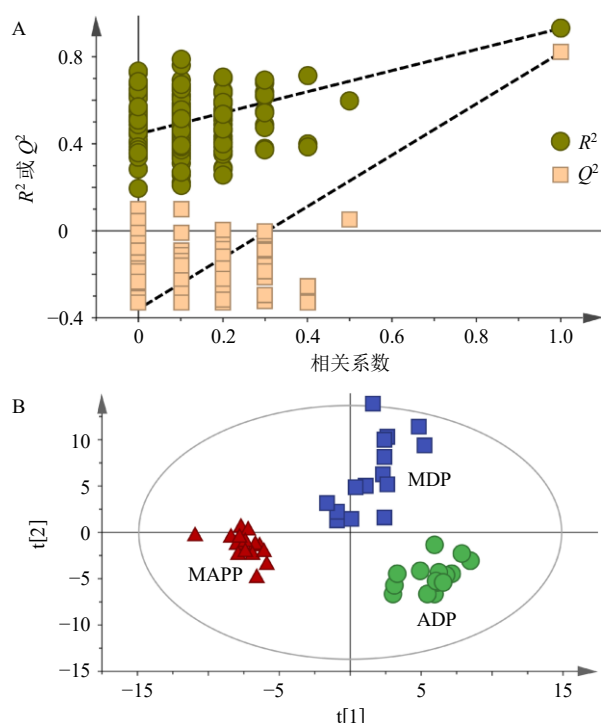


图 7 ADP、MDP、MAPP 3 种工艺温胆汤样品的模型测试图 (A) 和 PLS-DA 得分图 (B)

Fig. 7 Permutation test chart (A) and PLS-DA score chart (B) of Wendan Decoction samples with ADP, MDP and MAPP processes

能与醇沉过程中成分的损失有关；此外，3 种工艺从右向左排列分布，也在一定程度上合理地反映了“MDP 基于 ADP、MAPP 基于 MDP”三者之间层层递进的关系。

3.2.2 ADP 与 MDP 温胆汤样品中差异性成分筛选 相较于 PLS-DA 模型，OPLS-DA 模型可以滤掉与分类无关的信息，以增强组间分离效果，能更为准确地分析组间差异，提高模型的有效性和解析能力^[24]。ADP 与 MDP 样品的 OPLS-DA 模型验证结果表明，其未过度拟合 ($R^2_X=0.396$, $R^2_Y=0.971$, $Q^2=0.865$, $P<0.05$)，并且 ADP 与 MDP 样品明显聚为 2 类，表明该模型稳定可靠、预测能力强，能用于区分 ADP 与 MDP 样品，结果如图 8-A 所示。S-plot 图 (图 8-B) 中 1 个点代表 1 个色谱峰，所有的色谱峰大致呈“S”型分布，其中越靠近“S”型的末尾两端，则对组间差异的贡献越大；VIP 图 (图 8-C) 中 VIP 值越大，表明差异越显著^[25]。

采用 Makerview 1.2.1 软件自动分析 2 组数据的独立样本 t 检验，从而获得 P 值。当 $P<0.05$ 时表明差异显著，被认为有统计学意义。从 Maker view 1.2.1 软件可自动导出 FC 值和 $\log_2FC$ 值， $FC>1.5$ 或 $FC<0.67$ 时，即认为二者之间差异显著。若

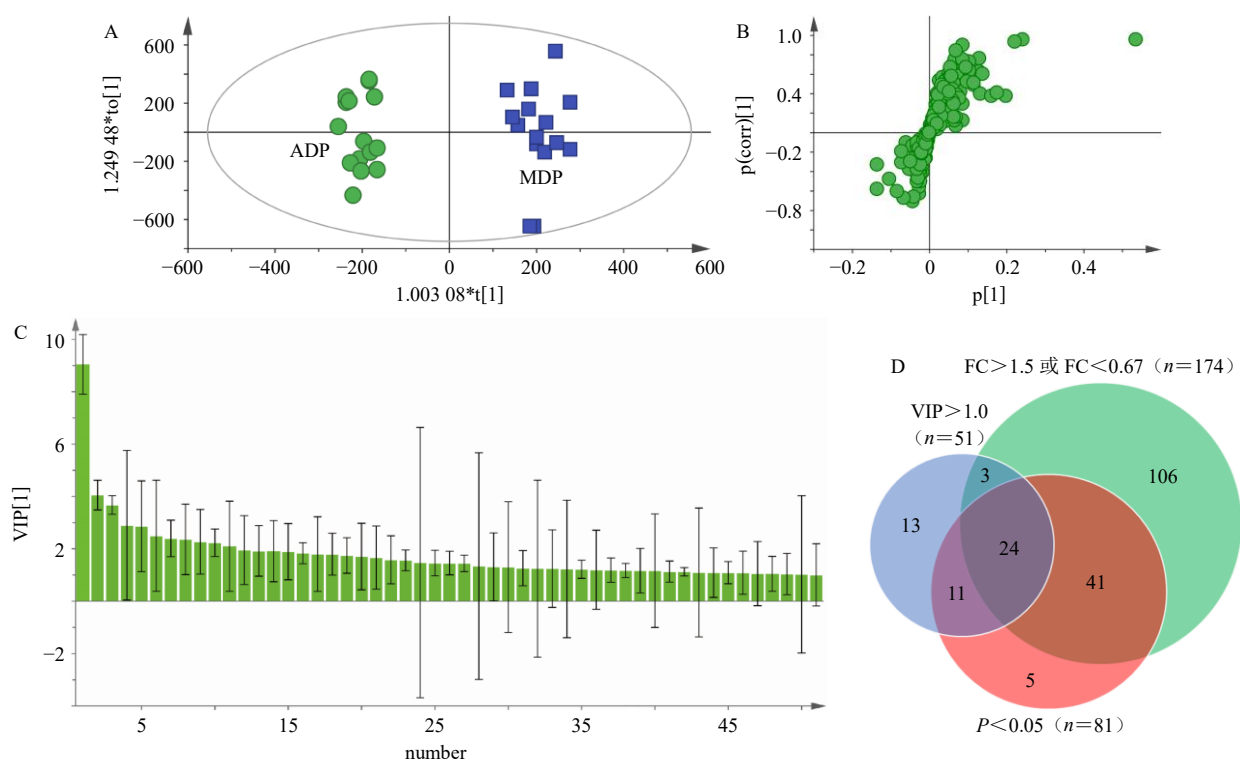


图 8 ADP 与 MDP 温胆汤样品的 OPLS-DA 得分图 (A)、S-plot 图 (B)、VIP 图 (C) 和成分韦恩图 (D)

Fig. 8 OPLS-DA score scatter plot (A), S-plot (B), VIP value (C), Venn diagram (D) of ADP and MDP Wendan Decoction samples

$\log_2FC < 0$, 表明各成分在 MDP 样品中表达上调, 即成分含量更高; 若 $\log_2FC > 0$, 表明各成分在 MDP 样品中表达下调, 即成分含量更低。统计数据后发现符合 $VIP > 1$ 、 $P < 0.05$ 和 $FC > 1.5$ 或 < 0.67 的成分分别为 51、81、174 个, 最后根据三者间的交集筛选出 24 个差异性成分, 如图 8-D 所示。

将 ADP 与 MDP 样品中筛选出的 24 个差异性成分进行聚类热图分析, 即图 9。图中每 1 个纵列

表示 1 组样本, 每个像素点表示 1 个成分, 其中 P1~P24 代表筛选出的 24 个差异性成分。每个像素点的颜色从深蓝到深红过渡, 显示了从低表达到高表达的表达程度^[25]。聚类热图分析结果表明, 除 MDP 组中的 MDP2 样品被聚类至 ADP 组样品簇外, 2 组样品都能各自较好地聚集在同一簇中, 表明 2 组样品间存在显著差异, 同样意味着筛选出的显著差异性成分能作为标志物将 2 组明显区分开来。

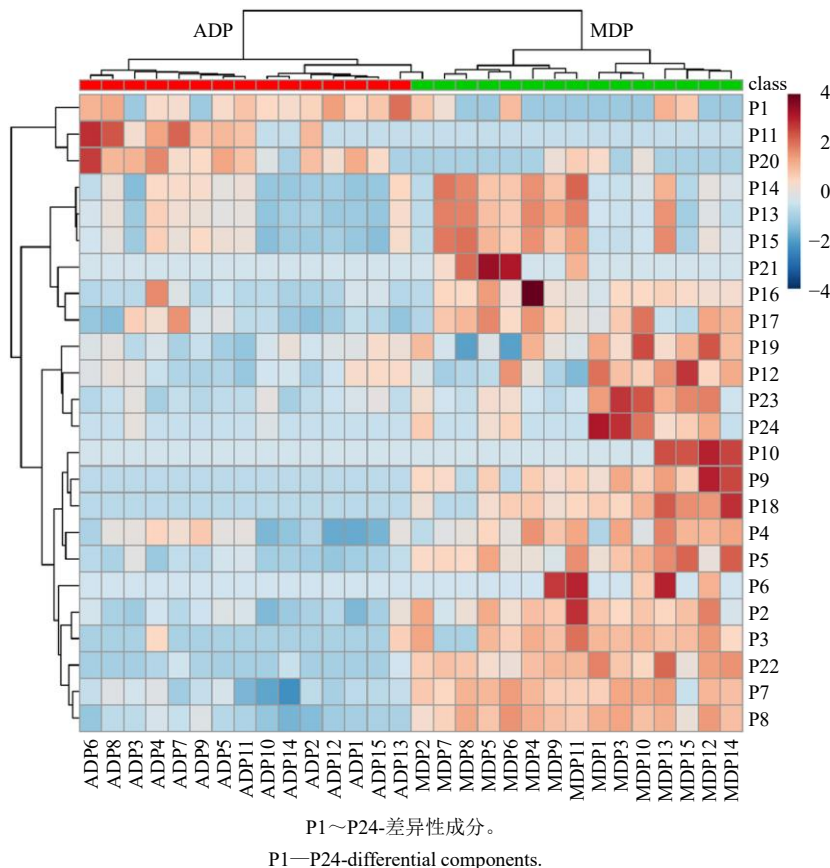


图 9 ADP 与 MDP 温胆汤样品的聚类热图

Fig. 9 Cluster heat map of ADP and MDP Wendan Decoction samples

通过对该 24 个差异性成分的质谱信息进行分析处理, 删除其中相同成分的不同加和形式, 最终可鉴别出 13 个成分作为 ADP 与 MDP 温胆汤样品的差异性标志物, 结果如表 4 所示, 即蔗糖、水杨酰葡萄糖醛酸、苯甲酸、芸香柚皮苷、橙皮苷、新香叶木苷、新橙皮苷、甘草素、金柑苷、枸橼苷、柚皮素、橙皮素和 6-姜辣素, 并且这 13 个成分都满足 $\log_2FC < 0$, 表明相较于 ADP 样品, 这些成分在 MDP 样品中含量更高。

3.2.3 MDP 与 MAPP 温胆汤样品中差异性成分筛选 MDP 与 MAPP 样品的 OPLS-DA 模型验证结果表明, 其未过度拟合 ($R^2_X = 0.504$, $R^2_Y = 0.931$,

$Q^2 = 0.775$, $P < 0.05$), 得分图、S-plot 图和 VIP 图如图 10-A~C 所示。统计数据后发现, 符合 $VIP > 1$ 、 $P < 0.05$ 和 $FC > 1.5$ 或 < 0.67 的成分分别为 37、80、201 个, 最后根据三者间的交集筛选出 18 个差异性成分, 如图 10-D 所示。

对从 MDP 与 MAPP 温胆汤样品中筛选出的 18 个差异性成分 (P1~P18), 同样进行了聚类热图分析, 如图 11 所示。结果表明, 2 组样品均各自聚为一类, 说明 2 组样品存在显著性差异。通过对这 18 个差异性成分进行数据处理并删除其中相同成分的不同加和形式, 最终可鉴别出 8 个成分柠檬酸、蔗糖、戊酮酸、葡萄糖酸、奎宁酸、黏液酸、水杨

表 4 ADP 与 MDP 温胆汤样品间 13 个差异性成分的信息

Table 4 Detailed information on 13 differential components between ADP and MDP Wendan Decoction samples

序号	编号	中文名	英文名	P值	FC值	log ₂ FC	VIP值	MDP/ADP
1	P2	蔗糖	sucrose	0.000 0	0.624	-0.205	2.231	上调
2	P4	水杨酰葡萄糖醛酸	salicylic glucuronide	0.001 0	0.525	-0.280	1.185	上调
3	P5	苯甲酸	benzoic acid	0.000 0	0.596	-0.225	1.221	上调
4	P6	芸香柚皮苷	naringenin-7-O-rutinoside	0.024 2	0.000	-∞	2.271	上调
5	P7、P8	橙皮苷	hesperidin	0.000 0	0.553	-0.257	1.173	上调
6	P9	新香叶木苷	neodiosmin	0.000 0	0.000	-∞	1.456	上调
7	P10	新橙皮苷	neohesperidin	0.032 8	0.000	-∞	2.863	上调
8	P12	甘草素	liquiritigenin	0.039 2	0.598	-0.223	1.246	上调
9	P13	金柑苷	fortunellin	0.006 3	0.558	-0.253	1.911	上调
10	P14、P15	枸橼苷	poncirin	0.005 9	0.568	-0.246	1.893	上调
11	P16	柚皮素	naringenin	0.002 4	0.532	-0.274	1.796	上调
12	P17	橙皮素	hesperetin	0.001 2	0.642	-0.193	1.953	上调
13	P22	6-姜辣素	6-gingerol	0.000 0	0.081	-1.093	1.444	上调

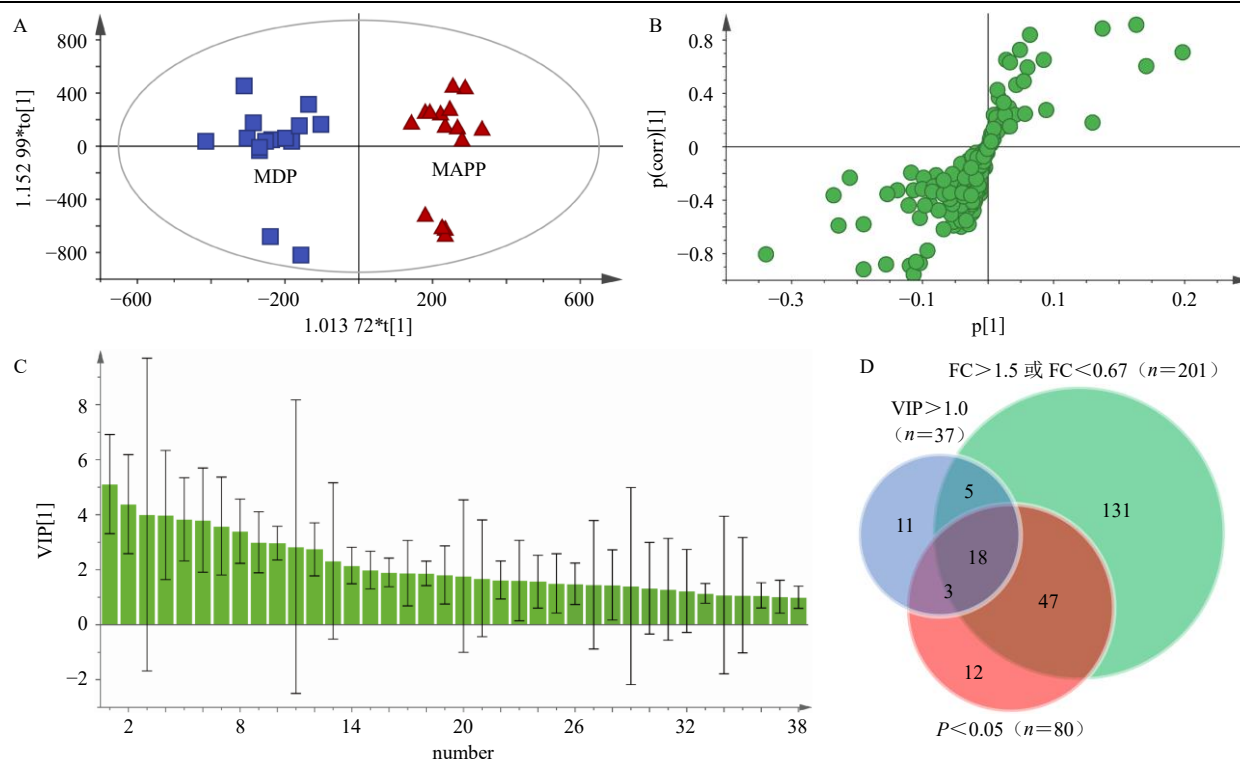


图 10 MDP 与 MAPP 温胆汤样品的 OPLS-DA 得分图 (A)、S-plot 图 (B)、VIP 图 (C) 和成分韦恩图 (D)

Fig. 10 OPLS-DA score scatter plot (A), S-plot (B), VIP value (C), Venn diagram (D) of MDP and MAPP Wendan Decoction samples

酰葡萄糖醛酸和新橙皮苷作为 MDP 与 MAPP 温胆汤样品的差异性标志物, 详细信息见表 5, 发现蔗糖、戊酮酸、葡萄糖醛和奎宁酸这 4 个成分满足 $\log_2\text{FC} < 0$, 说明相较于 MAPP 样品, 这 4 个成分在 MDP 样品中的含量更低, 相应的柠檬酸、黏液酸、水杨酰葡萄糖醛酸和新橙皮苷这 4 个成分在 MDP 样品中的含量更高。

4 讨论

温胆汤由半夏、竹茹、枳实、陈皮、生姜、甘草组成, 鉴于饮片成分复杂、产地间以及批间质量差异大, 可能会影响温胆汤的批间均一性和稳定性, 故本研究以每味中药的各 15 批次饮片样品为原料, 随机混合成 15 批次温胆汤, 依次制备 3 个工艺条件下的 15 批温胆汤样品用于后续工艺间成

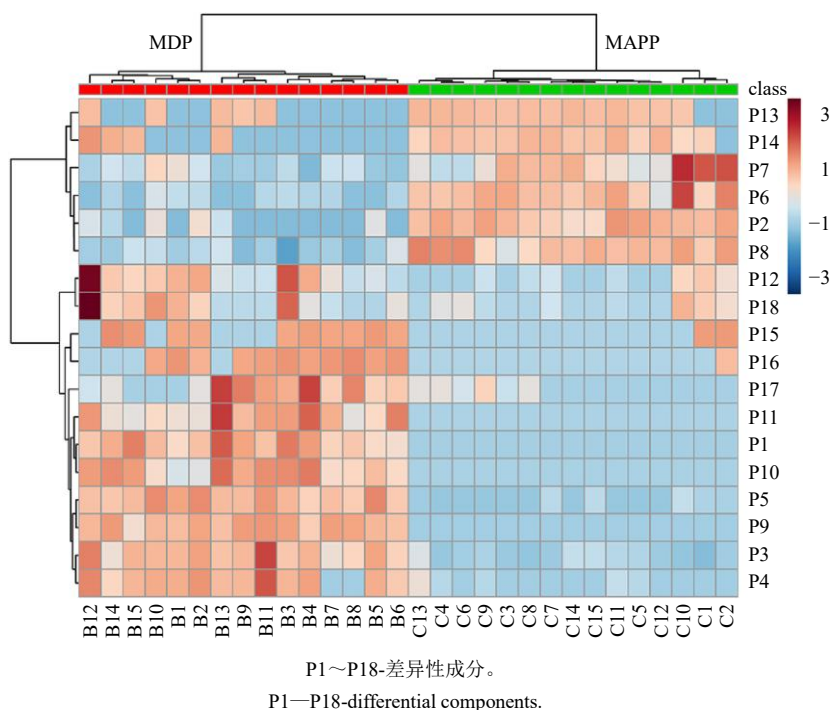


图 11 MDP 与 MAPP 温胆汤样品的聚类热图

Fig. 11 Cluster heat map of MDP and MAPP Wendan Decoction samples

表 5 MDP 与 MAPP 温胆汤样品间的 8 个差异性成分的详细信息

Table 5 Detailed information on eight differential components between MDP and MAPP Wendan Decoction samples

序号	编号	中文名	英文名	P值	FC值	log ₂ FC	VIP值	MAPP/MDP
1	P1	柠檬酸	citric acid	0.000 0	+∞	+∞	2.153	下调
2	P2	蔗糖	sucrose	0.000 0	0.205	-0.689	2.965	上调
3	P6	戊酮酸	pentonic acid	0.000 0	0.237	-0.625	1.141	上调
4	P7	葡萄糖酸	gluconic acid	0.000 1	0.469	-0.329	1.490	上调
5	P8	奎宁酸	quinic acid	0.000 0	0.480	-0.319	3.833	上调
6	P9	黏液酸	mucic acid	0.000 0	+∞	+∞	1.989	下调
7	P10	水杨酰葡萄糖醛酸	salicylic glucuronide	0.000 0	+∞	+∞	1.867	下调
8	P16	新橙皮苷	neohesperidin	0.000 0	13.894	1.143	5.113	下调

分差异研究。

本研究通过将温胆汤的化学结构、保留时间和离子碎片与对照品、相关文献和在线数据库进行对比，有效地指认了温胆汤的成分。共鉴定和指认出 121 种成分，包括 23 种有机酸类成分、69 种黄酮类成分、4 种氨基酸类成分、5 种香豆素类成分、6 种三萜皂苷类成分和 14 种其他成分，黄酮类成分是温胆汤中指认出的种类最多的成分，且主要来自枳实、陈皮和甘草。据报道，黄酮类成分具有显著的抗氧化、抗炎、抗菌和神经保护活性，这与温胆汤的主要药理作用相一致^[26-28]。

为了实现古代工艺向现代工艺的过渡，本研究进一步利用化学模式识别分析了不同工艺对温胆

汤成分体系的影响，结果确定了 13 种成分（蔗糖、水杨酰葡萄糖醛酸、苯甲酸、芸香柚皮苷、橙皮苷、新香叶木苷、新橙皮苷、甘草素、金柑苷、枸橼苷、柚皮素、橙皮素和 6-姜辣素）为 ADP 与 MDP 样品的差异性成分，并且这些成分在 MDP 样品中的含量普遍高于 ADP 样品，表明 MDP 条件下更有利于温胆汤中有效成分的溶出。

在这 13 种成分中，芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮苷、橙皮素是枳实和陈皮的主要成分，而甘草素与 6-姜辣素则分别来自甘草和生姜，同时橙皮苷、6-姜辣素分别为《中国药典》2020 年版规定的陈皮、生姜的质量控制成分。实验室前期研究发现，对按照古法制备的温胆汤中多种黄酮类成分

进行了测定,发现柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷含量较高,而这 3 种成分与温胆汤所治的“痰热内扰之失眠”又相契合^[29],为了实现温胆汤 ADP 向现代制备工艺有效转化,保证有效成分高效地转移是必要的,其中橙皮苷与新橙皮苷为 ADP 与 MDP 温胆汤样品的差异性成分,这在一定程度上说明筛选出的差异性成分的科学性。同时,又采用古法制备了温胆汤基准样品,针对柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸及 6-姜辣素这 5 种成分进行定量测定,发现这些成分在药材-饮片-温胆汤基准样品中均能够稳定转移^[30]。另外,李娜等^[31]通过构建温胆“成分-靶点-通路”网络预测了温胆汤潜在质量标志物为芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷,进一步证实筛选出的差异性成分的科学性。

此外,大部分差异性成分来自枳实和陈皮,这表明 ADP 与 MDP 2 种不同的工艺对这 2 种药材中有效成分的提取影响较大。并且这些差异性成分大多与神经系统疾病有关。例如,苯甲酸可在一定程度上改善阿尔茨海默病的治疗效果^[32];橙皮苷在抗炎^[33]、神经保护^[34]等方面发挥积极作用;新橙皮苷有助于治疗抑郁症和阿尔茨海默病^[35-36];甘草苷和柚皮苷有助于抗抑郁和神经保护^[37];6-姜辣素能够抑制氧化应激和炎症反应^[38]。因此,推测所筛选出的差异性成分不仅能代表温胆汤不同制备工艺间的差异,还可能反映不同制备工艺所对应的药效差异,后续将进行不同制备工艺温胆汤样品药效差异考察。

分析比较 MDP 和 MAPP 温胆汤样品后可确定 8 种差异性成分,大部分属于有机酸类成分,其中柠檬酸、黏液酸、水杨酰葡萄糖醛酸、新橙皮苷这 4 种成分含量在醇沉之后有下调的趋势,可能是因为中药醇沉过程中淀粉、多糖、蛋白质、无机盐类成分以沉淀的形式被除去,而溶液中一些小分子成分会包裹或负载于沉淀上而导致成分流失、含量减少^[39-40]。由于多糖也具有一定的药理活性^[41-42],故醇沉之后是否会影响温胆汤的药理活性,还需进一步探索。而蔗糖、戊酮酸、葡萄糖酸和奎宁酸这 4 种成分出现上调的趋势,这可能与醇沉过程中某些成分发生水解有关^[43-44]。

综上所述,本研究利用 UPLC/Q-TOF-MS/MS 技术建立了温胆汤的成分分析方法,最终鉴定出 121 种成分;又进一步结合 PLS-DA 和 OPLS-DA 进行不同制备工艺对于温胆汤成分体系影响的分析,

最终筛选出 13 种成分作为 MDP 与 ADP 样品之间的差异性成分,8 种成分为 MDP 与 MAPP 样品之间的差异性成分;进一步结合差异性成分的变化趋势,发现相较于 ADP 样品,MDP 样品更有利于温胆汤中有效成分的溶出,但是 MAPP 样品对于温胆汤成分体系药效优劣的影响还需进一步研究。总之,本研究不仅为温胆汤化学成分的确立提供了一种可靠的方法,还针对古今不同制备工艺对其成分体系的影响,分析筛选出了 ADP、MDP 和 MAPP 3 个不同工艺条件下温胆汤差异性成分,为温胆汤质量标准 and 药效物质基础研究提供了重要依据,同时也为经典名方古今转化相关质量控制研究提供了参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王洋,刘艳芳,孙维颖. AECOPD 合并共病性失眠患者使用温胆汤对呼吸抑制的影响 [J]. 中国防痨杂志, 2024, 46(S1): 135-137.
- [2] 李鸿,张伟锋,康明秀,等. 温胆汤对改善慢粒并发精神分裂症患者化疗后不良反应及精神症状的疗效研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2023, 50(3): 141-144.
- [3] 张建. 温胆汤治疗脑梗死恢复期伴抑郁症患者的探讨 [J]. 医药论坛杂志, 2020, 41(8): 147-150.
- [4] 祁祥,卢健棋,温志浩,等. 基于网络药理学与分子对接的温胆汤治疗冠心病合并抑郁作用机制探讨 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(8): 1540-1548.
- [5] 张奎斌,邢斌,宋纹,等. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 的经典名方温胆汤化学成分分析 [J]. 天津中医药大学学报, 2024, 43(2): 123-129.
- [6] 薛潭,许曼文,范雪花,等. 温胆汤传统汤剂、配方颗粒汤剂中化学成分比较 [J]. 中成药, 2025, 47(02): 384-394.
- [7] 李雅静,何洁,王羽程,等. 机器煎煮、传统煎煮所得中药汤剂质量比较 [J]. 中成药, 2024, 46(2): 552-555.
- [8] 张晶玫. 中药饮片切制规格对中药汤剂煎煮质量的影响 [J]. 北方药学, 2020, 17(11): 8-10.
- [9] 李欣,李念,胡健楠,等. 基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱联用技术的荆莲核消方化学成分分析 [J]. 应用化学, 2024, 41(5): 712-727.
- [10] 张欢,尹德录,路翔宇,等. 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间高分辨质谱联用技术的益心舒胶囊化学成分分析与鉴定 [J]. 安徽医药, 2023, 27(8): 1543-1551.
- [11] 袁传裕,胡俊杰,李娟,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的疏肝和胃汤化学成分、HPLC 指纹图谱、化学模式识别及含量测定研究 [J]. 中草药, 2024, 55(7): 2183-

- 2196.
- [12] 蒲健, 杨帅, 祝扬帆, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定阿胶中 20 种氨基酸含量及其化学模式识别分析 [J]. 中国药业, 2024, 33(22): 87-94.
- [13] 张雯霞, 冯敏, 苗雨露, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的还贝止咳方化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(14): 3022-3034.
- [14] 李哲, 宋瑞, 许凤国, 等. 大鼠灌服枳实提取液后体内黄酮类代谢产物的 LC-MS/MS 分析 [J]. 中国药科大学学报, 2010, 41(6): 539-547.
- [15] Zhang J Z, Gao W Y, Liu Z, *et al.* Systematic analysis of main constituents in rat biological samples after oral administration of the methanol extract of *Fructus Aurantii* by HPLC-ESI-MS/MS [J]. *Iran J Pharm Res*, 2014, 13(2): 493-503.
- [16] Yin Q W, Wang P, Zhang A H, *et al.* Ultra-performance LC-ESI/quadrupole-TOF MS for rapid analysis of chemical constituents of Shaoyao-Gancao decoction [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(7): 1238-1246.
- [17] 陈奕君, 吴浩, 魏紫奕, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 的紫菀药材全成分解析 [J]. 药学学报, 2019, 54(9): 1645-1654.
- [18] Zhou D Y, Zhang X L, Xu Q, *et al.* UPLC/Q-TOFMS/MS as a powerful technique for rapid identification of polymethoxylated flavones in *Fructus Aurantii* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50(1): 2-8.
- [19] Ma C Y, Gao W Y, Gao Y, *et al.* Identification of chemical constituents in extracts and rat plasma from *Fructus Aurantii* by UPLC-PDA-Q-TOF/MS [J]. *Phytochem Anal*, 2011, 22(2): 112-118.
- [20] Montoro P, Maldini M, Russo M, *et al.* Metabolic profiling of roots of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) from different geographical areas by ESI/MS/MS and determination of major metabolites by LC-ESI/MS and LC-ESI/MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 54(3): 535-544.
- [21] 马海娟, 高简, 张亚丽, 等. 基于 HPLC-MSⁿ 的甘草成分快速鉴定及质谱裂解途径研究 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 1120-1123.
- [22] Wei Y L, Davenport T C, Collora J A, *et al.* Single-cell epigenetic, transcriptional, and protein profiling of latent and active HIV-1 reservoir revealed that IKZF3 promotes HIV-1 persistence [J]. *Immunity*, 2023, 56(11): 2584-2601.e7.
- [23] 周欣, 张琳, 毛婵, 等. 基于化学计量学方法结合正交偏最小二乘判别分析的陈皮饮片 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2019, 50(9): 2194-2200.
- [24] 阿基业, 何骏, 孙润彬. 代谢组学数据处理: 主成分分析十个要点问题 [J]. 药学学报, 2018, 53(6): 929-937.
- [25] 时羽杰, 李兴龙, 唐媛, 等. 基于 GC-MS 分析两地白色藜麦种子的代谢差异 [J]. 浙江农业学报, 2019, 31(6): 869-877.
- [26] 张惠静. 枳实中黄酮类成分的降解方法及其产物的化学成分与生物活性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [27] 梅振英, 张荣菲, 赵志敏, 等. 陈皮多甲氧基黄酮类成分组成、提取纯化及生物活性研究进展 [J]. 中成药, 2020, 42(10): 2709-2715.
- [28] 杨思雨, 詹梁, 袁满, 等. 经典名方温胆汤的研究进展 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2021, 23(7): 2361-2371.
- [29] 张琴, 王佳丽, 高喜梅, 等. 经典名方温胆汤水煎液 HPLC 指纹图谱与多成分含量测定研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(6): 930-937.
- [30] 吴婉芬, 郑文烈, 池玉梅, 等. 经典名方温胆汤基准样品标志性成分群质量评价体系构建 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2553-2560.
- [31] 李娜, 王岩, 王长福, 等. 基于指纹图谱和网络药理学的温胆汤质量标志物(Q-Marker)预测 [J]. 中草药, 2023, 54(19): 6241-6252.
- [32] Oliveira C, Bagetta D, Cagide F, *et al.* Benzoic acid-derived nitrones: A new class of potential acetylcholinesterase inhibitors and neuroprotective agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 174: 116-129.
- [33] Tejada S, Pinya S, Martorell M, *et al.* Potential anti-inflammatory effects of hesperidin from the genus *Citrus* [J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(37): 4929-4945.
- [34] 张贵星, 祁星, 曹雪, 等. 橙皮苷抑制 HMGB1/NLRP3 轴对七氟醚诱导的新生大鼠的神经保护作用研究 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2023, 31(3): 453-459.
- [35] Bai Y T, Song L H, Zhang Y H, *et al.* Comparative pharmacokinetic study of four major bioactive components after oral administration of Zhi-Zi-Hou-Po decoction in normal and corticosterone-induced depressive rats [J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 33(9): e4542.
- [36] Carmona V, Martín-Aragón S, Goldberg J, *et al.* Several targets involved in Alzheimer's disease amyloidogenesis are affected by morin and isoquercitrin [J]. *Nutr Neurosci*, 2020, 23(8): 575-590.
- [37] Tayyab M, Farheen S, M M M P, *et al.* Antidepressant and neuroprotective effects of naringenin via sonic hedgehog-GLI1 cell signaling pathway in a rat model of chronic unpredictable mild stress [J]. *Neuromolecular Med*, 2019, 21(3): 250-261.
- [38] Ajayi B O, Adedara I A, Farombi E O. 6-Gingerol abates benzo [a] Pyrene-induced colonic injury via suppression of oxido-inflammatory stress responses in BALB/c mice [J].

- Chem Biol Interact*, 2019, 307: 1-7.
- [39] Jiang L Q, Wang T Y, Wang Y, *et al.* Co-disposition of chitosan nanoparticles by multi types of hepatic cells and their subsequent biological elimination: The mechanism and kinetic studies at the cellular and animal levels [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 6035-6060.
- [40] Ren Y P, Liu S X. Effects of separation and purification on structural characteristics of polysaccharide from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 522(2): 286-291.
- [41] Song C Y, Ji Y F, Wang W Z, *et al.* Ginger polysaccharide promotes myeloid-derived suppressor cell apoptosis by regulating lipid metabolism [J]. *Phytother Res*, 2023, 37(7): 2894-2901.
- [42] Wei X X, Li N, Wu X Y, *et al.* The preventive effect of *Glycyrrhiza* polysaccharide on lipopolysaccharide-induced acute colitis in mice by modulating gut microbial communities [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 239: 124199.
- [43] Fu Q C, Tong C Y, Guo Y, *et al.* Flavonoid aglycone-oriented data-mining in high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry: Efficient and targeted profiling of flavonoids in *Scutellaria barbata* [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(2): 321-333.
- [44] Wu H Y, Feng F, Jiang X N, *et al.* Pharmacokinetic and metabolic profiling studies of sennoside B by UPLC-MS/MS and UPLC-Q-TOF-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 179: 112938.

[责任编辑 郑礼胜]