

基于 UPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术分析醋润蜜麸炒柴胡炮制过程中成分差异

胡振宇, 卜俊文, 吴宇, 冯小龙, 钟凌云, 叶喜德*

江西中医药大学, 江西 南昌 330004

摘要: **目的** 通过分析醋润蜜麸炒柴胡炮制过程中成分差异, 探究建昌帮特色炮制方法对柴胡成分变化的影响, 筛选差异性成分, 为揭示其炮制机制奠定基础。**方法** 采用超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱质谱联用 (UPLC-LTQ-Orbitrap MS) 技术分析生柴胡和醋润蜜麸炒柴胡及其炮制过程中的化学成分, 采用 SIMCA 14.1 软件对样品数据进行主成分分析 (principal component analysis, PCA) 及正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA), 以变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) 值 >1 为指标筛选差异性成分。**结果** 从生柴胡中鉴定出 63 个化学成分, 从醋润蜜麸炒柴胡中鉴定出 66 种化学成分, 包括柴胡皂苷类、黄酮类、有机酸类、香豆素类及其他类, 筛选出炮制前后差异性成分 21 种 [黄芩苷、*L*-(-)-阿拉伯糖醇、葡萄糖酸、芹菜素、柠檬酸、*L*-(-)-苹果酸、(15*Z*)-9,12,13-三羟基-15-十八碳烯酸、柴胡皂苷 a、壬二酸、柴胡皂苷 b₂、12,13-二羟基-9-十八碳烯酸、*D*-(-)-奎宁酸、反-6-羟基十八碳-4-烯酸、(±)-9-氢过氧基十八碳-10,12-二羧酸、罗汉松脂素、2''-*O*-乙酰柴胡皂苷 a、绿原酸、9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸、柴胡次皂苷 f、柴胡皂苷 d 和汉黄芩素]。通过峰面积比较发现, 芹菜素、*L*-(-)-苹果酸、(15*Z*)-9,12,13-三羟基-15-十八碳烯酸、壬二酸、柴胡皂苷 b₂、12,13-二羟基-9-十八碳烯酸、反-6-羟基十八碳-4-烯酸、(±)-9-氢过氧基十八碳-10,12-二羧酸、绿原酸、9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸、柴胡次皂苷 f 和汉黄芩素相对含量升高, 黄芩苷、*L*-(-)-阿拉伯糖醇、柴胡皂苷 a、罗汉松脂素、2''-*O*-乙酰柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 相对含量降低, 葡萄糖酸、柠檬酸和 *D*-(-)-奎宁酸为炮制后新增成分。柴胡炮制过程中, 经分析发现柴胡生品、醋润后、蜜麸炒后差异显著, 共筛选出 23 个差异性成分 [柠檬酸、葡萄糖酸、(15*Z*)-9,12,13-三羟基-15-十八碳烯酸、黄芩苷、9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸、罗汉松脂素、柴胡皂苷 a、芹菜素、(±)-9-氢过氧基十八碳-10,12-二羧酸、异鼠李素、柴胡次皂苷 f、12,13-二羟基-9-十八碳烯酸、马来酸、绿原酸、麻黄脂脂肪酸 f、2,4-二羟基-2,3-双[(4-羟基-3-甲氧苯基)甲基]丁酸、柴胡皂苷 d、3-羟基-3,5,5-三甲基-4-(3-氧代-1-丁烯-1-亚基)环己基-I(2)-*D*-葡萄糖硫苷、鸟苷、柴胡皂苷 e、15,16-二羟基-10,13-十八碳二烯酸、*D*-(+)-阿拉伯糖醇和 1-*O*-[(3β,5ξ,9ξ)-3-(β-*D*-葡糖基)-27-羟基-27,28-二氧代齐墩果-12-烯-28-基]-β-*D*-葡萄糖]。**结论** 柴胡经醋润蜜麸炒后, 皂苷类成分发生转换, 酚酸类成分种类和含量增多, 刺激性成分含量降低, 且不同炮制阶段成分差异较为显著, 为深入研究醋润蜜麸炒柴胡的炮制作用机制奠定基础。

关键词: 柴胡; 炮制; UPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析; 柴胡皂苷; 黄酮; 有机酸; 香豆素; 黄芩苷; 芹菜素; 罗汉松脂素; 绿原酸; 汉黄芩素; 柠檬酸; 壬二酸; 马来酸

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)09-3109-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.09.009

Analyzing differences in components of *Bupleuri Radix* by vinegar wetting and honey bran fried during processing based on UPLC-LTQ-Orbitrap MS

HU Zhenyu, BU Junwen, WU Yu, FENG Xiaolong, ZHONG Lingyun, YE Xide

Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective By analyzing the difference of components of Chaihu (*Bupleuri Radix*, BR) by vinegar wetting and honey bran fried during processing, the effects of Jianchangbang's characteristic processing methods on the changes of components of BR were explored, and the differential components were screened to lay a foundation for revealing its processing mechanism. **Methods** The UPLC-LTQ-Orbitrap MS technology was used to analyze the chemical components of BR, stir-fried BR (sfBR) and during the

收稿日期: 2024-12-23

基金项目: 江西省重点研发计划 (20232BBG70013)

作者简介: 胡振宇 (2001—), 男, 江西省九江市人, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制。E-mail: 1292750122@qq.com

*通信作者: 叶喜德 (1977—), 男, 江西省余干县人, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药炮制。E-mail: 552376722@qq.com

processing. The SIMCA 14.1 software was used to conduct principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) on the sample data. The variable importance in projection (VIP) value > 1 was used as an indicator to screen out differential components. **Results** A total of 63 chemical components were identified from BR, and 66 chemical components were identified from sfBR, including saikosaponins, flavonoids, organic acids, coumarins and others. A total of 21 differential components were screened out before and after processing [baicalin, *L*-(-)-arabitol, gluconic acid, apigenin, citric acid, *L*-(-)-malic acid, (15*Z*)-9,12,13-trihydroxy-15-octadecenoic acid, saikosaponin a, azelaic acid, saikosaponin b₂, 12,13-dihydroxy-9-octadecenoic acid, *D*-(-)-quinic acid, *trans*-6-hydroxyoctadec-4-enoic acid, (±)-9-hydroperoxyoctadeca-10,12-dicarboxylic acid, matairesinol, 2''-*O*-acetylsaikosaponin a, chlorogenic acid, 9,10,13-trihydroxy-11-octadecenoic acid, saikogenin f, saikosaponin d, and wogonin]. By comparing the peak area, it was found that the relative contents of apigenin, *L*-(-)-malic acid, (15*Z*)-9,12,13-trihydroxy-15-octadecenoic acid, azelaic acid, saikosaponin b₂, 12,13-dihydroxy-9-octadecenoic acid, *trans*-6-hydroxyoctadec-4-enoic acid, (±)-9-hydroperoxyoctadeca-10,12-dicarboxylic acid, chlorogenic acid, 9,10,13-trihydroxy-11-octadecenoic acid, saikogenin f, and wogonin increased, the relative contents of baicalin, *L*-(-)-arabitol, saikosaponin a, matairesinol, 2''-*O*-acetylsaikosaponin a, and saikosaponin d decreased, and gluconic acid, citric acid and *D*-(-)-quinic acid were newly added components after processing. During the processing of BR, it was found through analysis that there were significant differences among raw products, after being moistened with vinegar, and after being fried with honey bran. A total of 23 differential components were screened out [citric acid, gluconic acid, (15*Z*)-9,12,13-trihydroxy-15-octadecenoic acid, baicalin, 9,10,13-trihydroxy-11-octadecenoic acid, matairesinol, saikosaponin a, apigenin, (±)-9-hydroperoxyoctadeca-10,12-dicarboxylic acid, isorhamnetin, saikogenin f, 12,13-dihydroxy-9-octadecenoic acid, maleic acid, chlorogenic acid, ephedra fatty acid f, 2,4-dihydroxy-2,3-bis[(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]butanoic acid, saikosaponin d, 3-hydroxy-3,5,5-trimethyl-4-(3-oxo-1-buten-1-ylidene)cyclohexyl-1(2)-*D*-glucothioside, guanosine, saikosaponin e, 15,16-dihydroxy-10,13-octadecadienoic acid, *D*-(+)-arabitol, and 1-*O*-[(3β,5ξ,9ξ)-3-(β-*D*-glucosyl)-27-hydroxy-27,28-dioxoolean-12-en-28-yl]-β-*D*-glucopyranose]. **Conclusion** After BR is processed with vinegar moistening to stir-baking with honey bran, the saponin components are converted, the types and contents of phenolic acid components increase, the content of irritating components decreases, and the component differences at different processing stages are relatively significant. This study can lay a foundation for in-depth study of the processing mechanism of BR by vinegar moistening to stir-baking with honey bran.

Key words: *Bupleuri Radix*; processing; UPLC-LTQ-Orbitrap MS technology; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis; saikosaponin; flavonoids; organic acids; coumarins; baicalin; apigenin; matairesinol; chlorogenic acid; wogonin; citric acid; azelaic acid; maleic acid

柴胡为伞形科柴胡属植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC.或狭叶柴胡 *B. scorzonrifolium* Willd. 的干燥根^[1], 根据药材性状差异, 又称为“北柴胡”和“南柴胡”。始载于《神农本草经》, 被列为上品, 具升举阳气、疏肝解郁、解表退热之效, 用以治疗肝郁气滞、表征发热、脏器脱垂等症^[2]。现代研究表明, 柴胡抗炎镇痛、抗抑郁等方面疗效显著, 并具有抗肿瘤、调血脂和抗纤维化等作用^[3-4], 主含皂苷类、黄酮类、挥发油类和多糖类等成分, 皂苷类成分为柴胡主要有效成分, 其中柴胡皂苷 a、d、b₁ 等具有多种药理作用^[5]。

柴胡炮制历史悠久, 早在东汉时期就已经存在柴胡炮制方法, 炮制品种多样, 醋炙柴胡、酒炙柴胡和鳖血炙柴胡为常用品种, 也是柴胡炮制研究的焦点。醋润蜜麸炒柴胡为建昌帮特色炮制品种, 医家认为柴胡自身具有较强升散之性, 故常通过醋润后与蜜麸共炒, 以缓和其药性^[6]。同时, 借助醋引药入肝之性, 以增强柴胡疏肝止痛之效^[7]。然而,

目前研究以常用品种为主, 醋柴胡、鳖血柴胡等炮制工艺优化及炮制前后成分变化研究较多, 醋润蜜麸柴胡研究较少, 多在建昌帮相关书籍中出现, 炮制过程中成分变化并不明确^[8-10]。为此, 本研究基于课题组前期建立的工艺优化参数, 运用超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱质谱联用 (UPLC-LTQ-Orbitrap MS) 技术探究醋润蜜麸炒柴胡炮制前后及炮制过程中所含成分动态变化, 通过相对分子质量、碎片离子和文献资料等进行成分鉴定, 运用主成分分析 (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) 方法, 以便比较炮制过程中不同时间段成分变化, 为深入阐明醋润蜜麸炒柴胡炮制机制奠定基础, 也为提高中药饮片质量评价的科学性和规范性提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

YF-111B 型高速中药粉碎机, 瑞安市永历制药

机械有限公司; BT25S 型万分之一天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; LTQ-Orbitrap Elite 型线性离子阱-串联静电场轨道阱质谱仪, 美国 Thermo Scientific 公司。

1.2 试剂与材料

对照品柴胡皂苷 a (批号 WP23082501)、柴胡皂苷 c (批号 WP23111705)、柴胡皂苷 d (批号 WP23082304), 质量分数均 $\geq 98.0\%$, 均购于四川省维克奇生物科技有限公司。米醋, 批号 20230701, 鹤山市东古调味食品有限公司; 熟蜜, 江西汪氏蜜蜂园有限公司; 乙腈, 色谱纯, 德国默克公司; 娃哈哈纯净水, 南昌娃哈哈食品有限公司; 其余试剂均为分析纯。

柴胡(产自内蒙古)、麦麸, 建昌帮药业有限公司提供, 经江西中医药大学药学院刘应蛟副教授鉴定, 柴胡为伞形科柴胡属植物柴胡 *B. chinense* DC. 的干燥根, 麦麸为禾本科小麦属植物小麦 *Triticum aestivum* L. 的种皮。

2 方法

2.1 醋润蜜麸炒柴胡的制备

2.1.1 蜜麸的制备 根据文献方法^[1], 将熟蜜与水按 2:1 的比例混匀后, 与麦麸按 3:10 的比例搅拌均匀, 置于铁锅内, 用火炒制不黏手, 取出放凉, 即得。每 100 千克麦麸, 用熟蜜 20 kg, 水 10 kg。

2.1.2 醋润蜜麸炒柴胡的制备 根据建昌帮中药传统制法^[6]与前期工艺优化所得参数制备。用柴胡用量 23% 的米醋喷洒均匀, 麻布遮盖, 闷润 1.5 h 后, 取出晾晒干, 取柴胡用量 23% 的预制蜜麸, 倒入热锅内, 于 130 °C 下快速翻炒至热, 将蜜麸铺平锅底, 并向四周铺开, 立即倒入醋柴胡片并不断快速翻炒 17 min, 至柴胡变成淡黄色时, 立即出锅, 筛去麦麸及灰屑, 倒入容器内, 即得。每 100 千克柴胡, 用米醋 23 kg, 蜜麸 23 kg。

2.1.3 样品提取方法

(1) 炮制前后样品: 取 20 g 柴胡药材, 其中 10 g 药材, 按照“2.1.2”项下炮制方法制备为醋润蜜麸炒柴胡炮制品, 另外 10 g 作为柴胡生品。平行制备 5 次, 所得样品进行炮制前后成分变化分析。

(2) 炮制过程中样品: 另取适量柴胡药材, 在炮制过程中, 迅速提取不同时间段样品各约 30 g 并密封保存, 提取时间点分别为 0、4、6、8、10、12、14、17、20、22 min, 得到样品 PZ1、PZ2、PZ3、PZ4、PZ5、PZ6、PZ7、PZ8、PZ9、PZ10, 17 min

所取样品为醋润蜜麸炒柴胡炮制品, 其前为炮制过程中样品, 其后为炒制过久样品。取生柴胡, 得到样品 SP。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取样品粉末 1.0 g, 与 20 mL 70% 甲醇, 共置于烧瓶内, 摇晃均匀并称定质量, 30 min 冷凝回流, 冷却后, 补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 滤液经 11 000 r/min 高速离心(离心半径为 3 cm) 10 min, 再通过 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 得滤液即为供试品溶液, 备用。

2.3 对照品溶液的制备

称取柴胡皂苷 a、c、d 对照品各 1.0 g, 精密称定, 分别置于 10 mL 量瓶内, 用 70% 甲醇溶解并定容, 超声处理(功率 500 W、频率 40 kHz) 30 min, 即得对照品溶液。

2.4 色谱条件

色谱柱为 Acquity UPLC BEH C₁₈ 柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm); 以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相, 梯度洗脱: 0~3 min, 5%~12% 乙腈; 3~5 min, 12%~15% 乙腈; 5~8 min, 15%~18% 乙腈; 8~12 min, 18%~30% 乙腈; 12~16 min, 30%~40% 乙腈; 16~23 min, 40%~50% 乙腈; 23~25 min, 50%~80% 乙腈; 25~27 min, 80%~100% 乙腈; 27~28 min, 100% 乙腈; 28~30 min, 100%~5% 乙腈; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 3 μL 。

2.5 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI), 干燥气温度选用 450 °C, 干燥气体积流量 8 L/min; 雾化气体为 N₂, 碰撞气体为 He, 雾化气压 70 kPa, 负离子模式下毛细管电压 2 kV, 扫描范围 m/z 100~2 000, 碎裂电压 200 V。

3 结果

3.1 化学成分鉴定

柴胡生品及醋润蜜麸炒柴胡炮制品在负离子模式下的总离子流色谱图(total ion chromatograms, TIC) 见图 1。利用 Thermo Scientific Xcalibur™ 工作站进行质谱数据处理, 通过 Compound Discoverer 3.3 比对化合物的保留时间、质荷比与二级碎片离子以及裂解规律等质谱信息, 并结合对照品柴胡皂苷 a、c、d 的质谱信息以及相关文献数据对化学成分进行鉴定。在负离子模式下, 从柴胡生品中鉴定出 63 个化学成分, 从醋润蜜麸炒柴胡炮制品中鉴定出 66 个化学成分, 结果如表 1 所示。

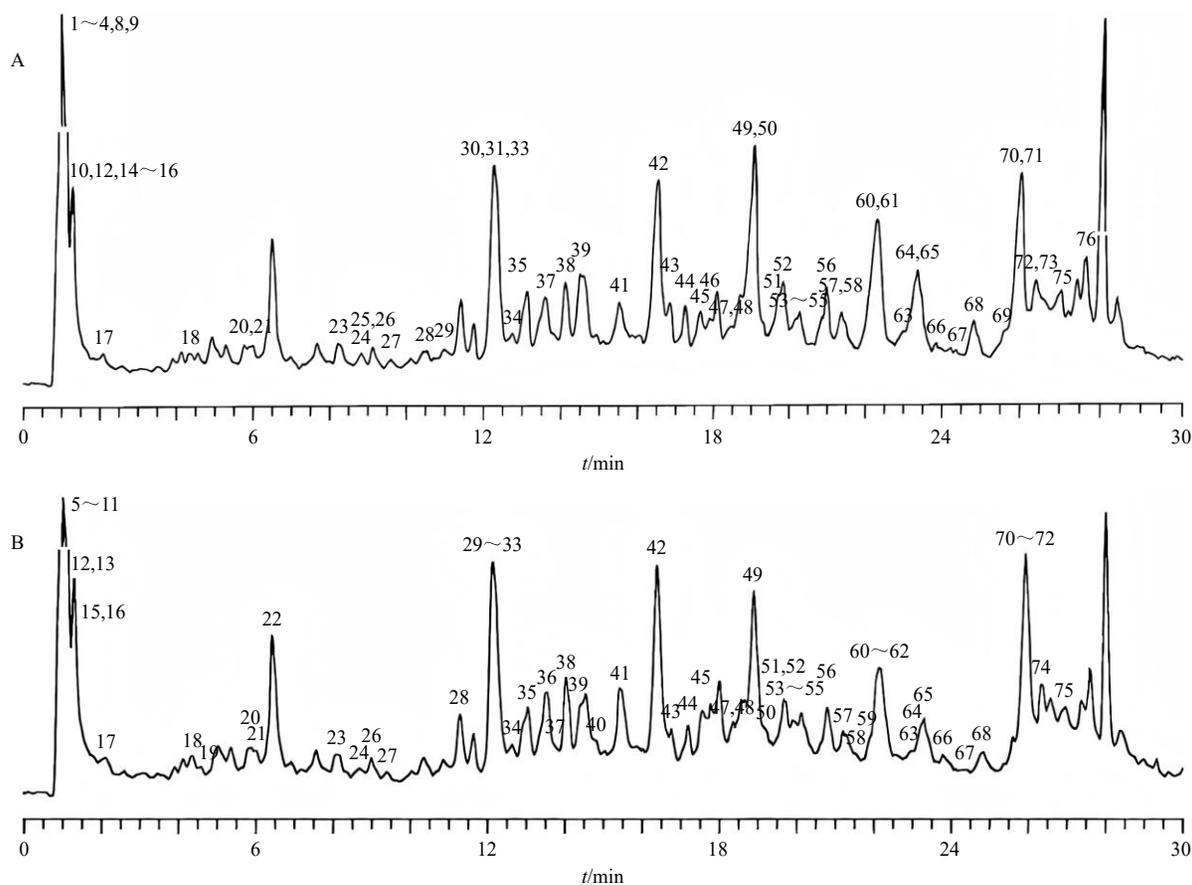


图1 柴胡生品 (A) 及醋润蜜麸炒柴胡炮制品 (B) 负离子模式下的 TIC 图

Fig. 1 TIC of raw BR product (A) and processed BR product (B) by vinegar moistening to stir-baking with honey bran in negative ion mode

3.2 化合物裂解规律分析

3.2.1 柴胡皂苷类 皂苷类成分是柴胡的主要成分之一，其结构主要为五环三萜类齐墩果烷型衍生物。柴胡皂苷主要含同环双烯结构、 C_{28} -COOH、 C_{30} -COOH 和 C_{18} -烯取代基结构等 7 种不同结构，且结构中常含有葡萄糖、鼠李糖和呋喃糖等糖链结构。以柴胡皂苷 a 为例，其分子式为 $C_{42}H_{68}O_{13}$ ，相对分子质量为 780.465 9，在负离子模式下的分子离子峰为 m/z 825.462 8 $[M+FA-H]^-$ 或 m/z 779.423 5 $[M-H]^-$ ， m/z 617.515 1 $[M-H-glu]^-$ 是由 m/z 779.423 5 $[M-H]^-$ 失去 1 个 β -D-葡萄糖苷键所得，之后进一步失去 1 个 β -D-半乳糖苷键形成 m/z 471.637 5 $[M-H-glu-fuc]^-$ ，对比文献数据^[12-14]，鉴定该化合物为柴胡皂苷 a，裂解途径见图 2。

3.2.2 黄酮类 黄酮类成分主要通过丢失 CO 、 H_2O 等中性碎片以及发生 RAD 裂解从而形成碎片离子，最常得到的碎片就是通过丢失糖基而产生的特征性碎片，这也是鉴定黄酮类化合物的重要步骤。以黄酮类成分黄芩苷为例，其分子式为 $C_{21}H_{18}O_{11}$ ，相

对分子质量为 446.084 9，在负离子模式下的分子离子峰为 m/z 445.077 1 $[M-H]^-$ ，特征性离子碎片 m/z 269.034 6 $[M-H-glu]^-$ 是由 m/z 445.077 1 $[M-H]^-$ 失去 β -D-葡萄糖所得，再丢失 1 分子 H_2O 和 1 分子 CO 得碎片离子 m/z 251.185 1 $[M-H-glu-H_2O]^-$ 和 m/z 223.027 4 $[M-H-glu-H_2O-CO]^-$ ，对比文献报道^[15-16]，推测该化合物为黄芩苷，裂解途径见图 3。

3.2.3 有机酸类 柴胡中的有机酸主要分为糖衍生酸类、羧酸类和酚酸类，其中酚酸类化合物容易在裂解过程中形成咖啡酸以及奎宁酸特征离子碎片。以绿原酸为例，其分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$ ，相对分子质量为 354.095 1，在负离子模式下分子离子峰为 m/z 353.087 3 $[M-H]^-$ ，经裂解形成特征离子 m/z 179.050 5 $[M-H-C_7H_{10}O_5]^-$ 和 m/z 191.049 0 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$ 。 m/z 191.049 0 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$ 再失去 1 分子 H_2O 得到碎片离子 m/z 173.044 8 $[M-H-C_9H_6O_3-H_2O]^-$ ， m/z 135.073 9 $[M-H-C_7H_{10}O_5-CO_2]^-$ 由 m/z 179.050 5 $[M-H-C_7H_{10}O_5]^-$ 失去 1 分

表1 柴胡生品及醋润蜜麸炒柴胡负离子模式成分鉴定

Table 1 Identification of negative ion mode components of raw and processed BR products

峰号	分子式	m/z		离子	误差 ($\times 10^{-6}$)	t _R /min	化合物名称	离子碎片	类别	生品 炮制品	
		实测值	理论值							+	-
1	C ₅ H ₁₂ O ₅	197.066 7	151.068 4	[M+FA-H] ⁻	1.14	0.933	D-(+)-阿拉伯糖醇	89.149 7, 101.081 5, 113.059 6	糖苷类	+	-
2	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.109 0	341.116 2	[M-H] ⁻	0.46	0.937	α,α -海藻糖	113.014 5, 119.018 0, 131.000 2, 161.002 9, 179.013 8	糖苷类	+	-
3	C ₆ H ₁₂ O ₇	195.051 2	195.058 3	[M-H] ⁻	1.09	0.954	半乳糖酸	75.088 1, 99.066 4, 129.005 7	有机酸类	+	-
4	C ₆ H ₁₀ O ₈	209.030 3	209.037 5	[M-H] ⁻	0.06	0.959	D-葡萄糖二酸	85.129 2, 129.025 9, 191.017 7	有机酸类	+	-
5	C ₅ H ₁₂ O ₅	197.066 6	197.068 4	[M+FA-H] ⁻	0.51	0.979	L(-)-阿拉伯糖醇	89.128 3, 101.079 2, 118.997 5	糖苷类	-	+
6	C ₆ H ₁₂ O ₇	195.051 1	195.058 3	[M-H] ⁻	0.78	0.983	葡萄糖酸	128.979 1, 99.100 3, 159.010 6, 177.028 2	糖酸类	-	+
7	C ₇ H ₁₂ O ₆	191.056 1	191.063 3	[M-H] ⁻	0.05	0.986	D(-)-奎尼酸	85.062 8, 111.007 7	有机酸类	-	+
8	C ₄ H ₆ O ₅	133.014 4	133.021 5	[M-H] ⁻	1.18	1.020	L(-)-苹果酸	71.118 6, 87.076 7, 114.965 3	有机酸类	+	+
9	C ₄ H ₄ O ₄	115.003 8	115.010 9	[M-H] ⁻	1.54	1.025	马来酸	71.041 2	有机酸类	+	+
10	C ₅ H ₄ O ₃	111.009 0	111.016 0	[M-H] ⁻	1.49	1.050	糠酸	67.081 2, 83.058 0	有机酸类	+	+
11	C ₅ H ₇ NO ₃	128.035 5	128.042 5	[M-H] ⁻	1.60	1.084	4-氧代脯氨酸	82.116 1, 84.170 9	氨基酸衍生物	-	+
12	C ₃ H ₄ O ₄	103.003 9	103.010 9	[M-H] ⁻	1.72	1.127	丙二酸	59.045 5	有机酸类	+	+
13	C ₆ H ₈ O ₇	191.019 7	191.027 0	[M-H] ⁻	-0.06	1.289	柠檬酸	111.011 9, 172.963 8	有机酸类	-	+
14	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	282.084 5	282.091 6	[M-H] ⁻	0.5	1.303	鸟苷	133.017 2, 149.996 4	核苷类	+	-
15	C ₄ H ₄ O ₄	115.003 9	115.010 9	[M-H] ⁻	1.41	1.356	延胡索酸	71.031 8	有机酸类	+	+
16	C ₄ H ₆ O ₄	117.019 4	117.026 6	[M-H] ⁻	0.78	1.391	琥珀酸	73.034 8, 89.035 0, 99.043 2	有机酸类	+	+
17	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	315.071 9	315.079 4	[M-H] ⁻	-1.29	2.110	异鼠李素	109.045 7, 152.999 6, 181.034 3	黄酮类	+	+
18	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 3	353.095 0	[M-H] ⁻	-1.31	4.321	绿原酸	173.044 8, 179.050 5, 191.049 0	有机酸类	+	+
19	C ₉ H ₈ O ₄	179.035 1	179.042 2	[M-H] ⁻	1.05	4.794	咖啡酸	134.054 1, 135.030 1, 161.099 7	有机酸类	-	+
20	C ₁₉ H ₃₀ O ₈	431.191 2	385.194 0	[M+FA-H] ⁻	0.47	5.901	3-羟基-3,5,5-三甲基-4-(3- 氧代-1-丁烯-1-亚基)环 己基-I(2)-D-葡萄糖苷	385.204 1, 223.114 4, 161.008 2	糖苷类	+	+
21	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	309.124 2	263.136 1	[M+FA-H] ⁻	0.67	6.027	(3aR,4R,5aS,6S,9aR,9bS)-4,6- 二羟基-5a,9-二甲基-3-亚甲 基-4,5,6,7,9a,9b-六氢化- 3aH-苯并[g][1]呋喃-2-酮	265.168 8, 237.127 9, 247.149 7	其他类	+	+
22	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	367.103 1	367.110 7	[M-H] ⁻	-0.75	6.319	3-O-阿魏酰奎宁酸	173.014 4, 191.019 0	有机酸类	-	+
23	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	547.145 5	547.152 9	[M-H] ⁻	-0.71	8.030	白杨素-6-C- β -L-阿拉伯糖- 8-C- β -D-葡萄糖苷	337.069 5, 367.093 5, 427.113 7, 457.114 8, 487.173 2	黄酮类	+	+
24	C ₁₀ H ₈ O ₄	191.034 9	191.042 2	[M-H] ⁻	0.11	8.552	东莨菪素	111.055 1, 146.929 2, 176.004 7	香豆素类	+	+
25	C ₂₁ H ₂₀ O ₇	429.103 3	383.120 9	[M+FA-H] ⁻	-1.34	9.111	3-(苯甲酰氧基)甲基]-4,5, 6-三羟基-4,2-环己烯-1- 苯甲酸酯	383.109 7	其他类	+	-
26	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	547.145 5	547.152 9	[M-H] ⁻	1.74	9.130	白杨素-6-C- β -D-葡萄糖- 8-C- α -L-阿拉伯糖苷	337.051 7, 427.091 7, 457.088 1	黄酮类	+	+
27	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	547.144 5	547.152 9	[M-H] ⁻	-0.05	9.530	白杨素-6-C- β -D-葡萄糖- 8-C- β -L-阿拉伯糖苷	337.086 4, 427.115 5, 457.136 1, 457.067 8, 487.083 1	黄酮类	+	+
28	C ₉ H ₁₆ O ₄	187.097 5	187.104 8	[M-H] ⁻	-0.09	10.403	壬二酸	87.050 0, 125.034 8	有机酸类	+	+
29	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 2	515.126 7	[M-H] ⁻	-0.46	10.859	异绿原酸B	173.026 4, 299.009 2, 353.084 7	有机酸类	+	+
30	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 0	269.052 8	[M-H] ⁻	-1.97	12.122	芹菜素	225.110 6, 251.092 6, 259.090 3	黄酮类	+	+
31	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	445.077 1	445.084 9	[M-H] ⁻	1.30	12.130	黄芩苷	269.034 6, 175.016 9, 445.173 8	黄酮类	+	+
32	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 3	431.105 6	[M-H] ⁻	-0.03	12.236	大波斯菊苷	269.065 4	糖苷类	-	+

表1 (续)

峰号	分子式	m/z		离子	误差 ($\times 10^{-6}$)	t _R /min	化合物名称	离子碎片	类别	生品	炮制品
		实测值	理论值								
33	C ₂₀ H ₂₄ O ₈	391.128 5	391.147 1	[M-H] ⁻	1.29	12.260	2,4-二羟基-2,3-双[(4-羟基-3-甲氧苯基)甲基]丁酸	135.997 8, 223.017 1, 329.184 6, 355.106 3	有机酸类	+	+
34	C ₁₅ H ₂₀ O ₅	279.123 3	279.131 0	[M-H] ⁻	-1.59	12.706	(1'S,2'S)-3',11'-二羟基-1',2',5'-三甲基-8'-氧杂螺环[环氧己烷-2,12'-三环[7.2.1.0 ^{2,7}]十二烷]-5'-烯-4'-酮	97.028 7, 235.141 8, 261.112 9	其他类	+	+
35	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₅	855.437 7	809.440 1	[M-H] ⁻	-1.54	13.043	1-O-[(3β,5ξ,9ξ)-3-(β-D-葡萄糖基)-2-羟基-27,28-二氧代齐墩果-12-烯-28-基]-β-D-葡萄糖	809.407 4	皂苷类	+	+
36	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	253.050 3	253.057 9	[M-H] ⁻	-1.09	13.479	茜草素	209.197 8, 225.101 3, 253.063 4	蒽醌类	-	+
37	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₀	429.082 3	429.089 9	[M-H] ⁻	-0.82	13.490	白杨素-7-O-β-葡萄糖醛酸苷	174.981 4, 253.023 9	黄酮类	+	+
38	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.060 7	283.068 4	[M-H] ⁻	-1.54	14.025	汉黄芩素	268.017 7	黄酮类	+	+
39	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	357.133 6	357.141 6	[M-H] ⁻	-2.11	14.460	罗汉松脂素	135.093 9, 161.056 6, 321.200 9, 339.154 3	木脂素类	+	+
40	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₅	843.474 5	798.440 1	[M+FA-H] ⁻	1.05	14.812	(3β,8ξ,9ξ,12β,14β)-11,12,14-三羟基-20-酮-5-烯-3-甲基6-脱氧己吡喃糖-(1-4)-2,6-双脱氧-3-O-甲基己吡喃糖-(1-4)-2,6-双脱氧-3-O-甲基己吡喃糖苷	797.487 5	糖苷类	-	+
41	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	327.217 4	327.224 9	[M-H] ⁻	-1.53	15.424	黄麻脂肪酸 f	171.074 8, 211.109 4, 229.146 3, 291.191 5	有机酸类	+	+
42	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329.232 9	329.240 6	[M-H] ⁻	-2.62	16.387	(15Z)-9,12,13-三羟基-15-十八碳烯酸	171.089 6, 211.128 7, 229.125 9, 311.221 5	有机酸类	+	+
43	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	971.521 3	926.523 9	[M+FA-H] ⁻	0.30	16.820	柴胡皂苷 c	925.835 8, 779.596 6, 644.798 9, 568.435 6	皂苷类	+	+
44	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₈	973.535 2	927.503 1	[M+FA-H] ⁻	-0.79	17.191	柴胡皂苷 f	927.533 0, 765.530 0, 781.630 0	皂苷类	+	+
45	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329.233 1	329.240 6	[M-H] ⁻	2.58	17.570	9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸	311.184 8, 293.158 6, 211.110 2, 201.070 5	有机酸类	+	+
46	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.060 9	283.068 4	[M-H] ⁻	-0.78	17.730	黄豆黄素	268.039 3	异黄酮类	+	-
47	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	373.092 6	373.100 1	[M-H] ⁻	-0.64	18.318	金腰乙素	343.058 1, 358.097 6	黄酮类	+	+
48	C ₄₀ H ₄₂ O ₁₂	713.260 4	713.267 6	[M-H] ⁻	1.62	18.440	牛蒡酚 f	491.129 7, 561.129 6, 681.195 3	有机酸类	+	+
49	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	825.462 8	779.465 9	[M+FA-H] ⁻	-1.68	18.910	柴胡皂苷 a	779.423 5, 617.515 1, 471.637 5	皂苷类	+	+
50	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	825.463 2	779.465 9	[M+FA-H] ⁻	0.19	19.190	柴胡皂苷 b ₂	779.472 9	皂苷类	+	+
51	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆	865.460 0	865.466 3	[M+FA-H] ⁻	2.32	19.690	丙二酰柴胡皂苷 a	821.434 3, 779.466 4, 617.463 9	皂苷类	+	+
52	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.473 6	821.476 5	[M+FA-H] ⁻	-0.03	19.790	2"-O-乙酰柴胡皂苷 a	761.520 7, 779.515 7, 821.490 7	皂苷类	+	+
53	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.472 9	821.476 5	[M+FA-H] ⁻	-0.81	20.130	4"-O-乙酰柴胡皂苷 a	761.437 1, 779.410 0, 821.422 7	皂苷类	+	+
54	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	663.409 9	617.413 1	[M+FA-H] ⁻	-0.55	20.240	柴胡次皂苷 f	617.409 9	皂苷类	+	+
55	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	311.222 3	311.230 0	[M-H] ⁻	-1.48	20.377	15,16-二羟基-10,13-十八碳二烯酸	223.177 0, 235.180 5, 253.197 1, 275.206 0, 293.234 7	有机酸类	+	+
56	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₂	763.462 1	763.471 0	[M+FA-H] ⁻	-0.79	20.920	柴胡皂苷 e	601.463 7, 763.518 5	皂苷类	+	+
57	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.474 0	821.476 5	[M+FA-H] ⁻	0.46	21.330	6"-O-乙酰柴胡皂苷 a	761.489 2, 779.494 8, 821.495 7	皂苷类	+	+
58	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₃	805.473 2	805.481 6	[M+FA-H] ⁻	-0.08	21.640	乙酰柴胡皂苷 m	763.507 4, 745.460 2, 697.449 9, 601.470 2	皂苷类	+	+
59	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	313.237 8	313.245 7	[M-H] ⁻	-1.94	21.902	(±)-9,10-二羟基十八碳-12-烯乌苏酸	171.073 4, 201.096 6, 295.247 8	有机酸类	-	+
60	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	825.463 6	779.465 9	[M+FA-H] ⁻	-0.96	22.185	柴胡皂苷 d	779.445 8, 471.133 3, 673.387 2	皂苷类	+	+
61	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	311.222 3	311.230 0	[M-H] ⁻	-1.48	22.275	(±)-9-氢过氧基十八碳-10,12-二羧酸	171.100 6	有机酸类	+	+
62	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	313.238 0	313.245 7	[M-H] ⁻	-1.26	22.446	(±)-9,10-二羟基十八碳-12-烯酸	171.117 7, 201.110 2, 276.212 8, 294.218 0	有机酸类	-	+
63	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆	865.457 4	865.466 3	[M+FA-H] ⁻	-0.64	22.960	丙二酰柴胡皂苷 d	821.448 0, 779.449 7, 617.382 4	皂苷类	+	+
64	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.473 6	821.476 5	[M+FA-H] ⁻	-0.03	23.220	2"-O-乙酰柴胡皂苷 d	761.464 9, 779.485 9, 821.430 1	皂苷类	+	+
65	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.473 2	821.476 5	[M+FA-H] ⁻	-0.53	23.290	4"-O-乙酰柴胡皂苷 d	761.464 9, 779.485 9, 821.430 1	皂苷类	+	+
66	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	663.410 3	617.413 1	[M+FA-H] ⁻	0.10	23.810	柴胡次皂苷 g	617.370 0	皂苷类	+	+
67	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₇	907.469 5	907.476 9	[M-H] ⁻	1.07	24.200	O-丙二酰-乙酰柴胡皂苷 d	761.540 7, 821.543 9, 863.469 7	皂苷类	+	+

表 1 (续)

峰号	分子式	m/z		离子	误差 ($\times 10^{-6}$)	t_R /min	化合物名称	离子碎片	类别	生品	炮制品
		实测值	理论值								
68	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	867.474 7	821.476 5	[M+FA-H] ⁻	1.23	24.770	6"-O-乙酰柴胡皂苷d	821.410 4	皂苷类	+	+
69	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	311.222 4	311.230 0	[M-H] ⁻	-0.99	25.763	(±)-9-氢过氧基十八碳-10,12-二羧酸	249.214 7, 293.202 5, 311.168 7	有机酸类	+	-
70	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	277.217 1	277.224 5	[M-H] ⁻	-0.39	25.945	γ-亚麻酸	233.184 9, 259.163 4, 277.200 3	有机酸类	+	+
71	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	295.227 5	313.245 7	[M+FA-H] ⁻	2.29	25.950	12,13-二羟基-9-十八碳烯酸	195.168 1, 277.257 8	有机酸类	+	+
72	C ₁₈ H ₃₄ O ₃	297.243 1	297.250 7	[M-H] ⁻	-1.19	26.271	反-6-羟基十八碳-4-烯酸	171.063 3, 279.182 1	有机酸类	+	+
73	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	293.211 9	293.219 4	[M-H] ⁻	-0.93	26.334	13-氢过氧基十八碳-9,11,15-三羧酸	113.073 3, 179.080 8, 249.188 6	有机酸类	+	-
74	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	295.227 6	295.235 1	[M-H] ⁻	-0.90	26.797	9-羟基十八碳-10,12-二烯酸	171.125 1, 277.253 5, 295.231 5	有机酸类	-	+
75	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	279.232 8	279.240 2	[M-H] ⁻	-0.48	26.999	亚油酸	261.213 4, 279.217 4	有机酸类	+	+
76	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	271.227 6	271.235 1	[M-H] ⁻	3.17	27.604	16-羟基十六烷酸	225.175 8, 253.184 5, 271.227 8	有机酸类	+	-

“+”表示检出成分，“-”表示未检出此成分。

“+” indicates the ingredient is detected, “-” indicates the ingredient is not detected.

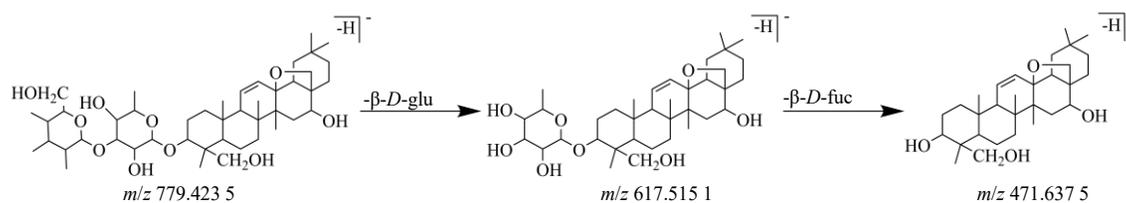


图 2 柴胡皂苷 a 裂解途径

Fig. 2 Fragmentation pathway of saikosaponin a

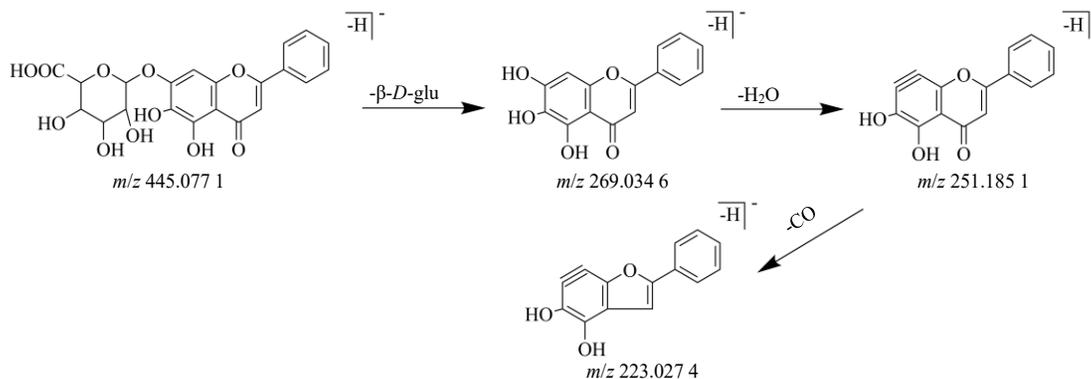


图 3 黄芩苷裂解途径

Fig. 3 Fragmentation pathway of baicalin

子 CO₂ 所得, 根据文献报道^[17-20], 推测该化合物为绿原酸, 裂解途径见图 4。

3.2.4 香豆素类 香豆素是一类具有苯并 α-吡喃酮结构的天然化合物, 该类化合物容易在裂解过程中, 失去特有取代基形成母核特征离子碎片。以东茛菪素为例, 其负离子模式分子离子峰为 m/z 191.034 9 [M-H]⁻, 经裂解后失去 1 分子甲基取代基形成 m/z 176.004 7 [M-H-CH₃]⁻, 再失去 1 分子 CO 得到 m/z 148.817 3 [M-H-CH₃-CO]⁻。对比文献报道^[21-23], 推测该化合物为东茛菪素, 裂解途径见图 5。

3.2.5 其他类 除上述几类化合物外, 还从柴胡中

鉴定出蒽醌、木质素类和氨基酸衍生物类化合物。以木质素类化合物罗汉松脂素为例, 负离子模式下的分子离子峰为 m/z 357.133 6 [M-H]⁻, 分别脱去 2 分子 H₂O 得到 m/z 339.154 3 [M-H-H₂O]⁻、 m/z 321.200 9 [M-H-H₂O-H₂O]⁻。裂解过程中脱下的苯基形成分子离子碎片 m/z 135.093 9 [M-H-C₁₂H₁₄O₄]⁻。上述裂解途径与文献中罗汉松脂素的裂解途径一致, 因此, 推断其为罗汉松脂素^[24-25]。裂解途径见图 6。

3.3 醋润蜜麸炒柴胡炮制前后样品 PCA 及 OPLS-DA

3.3.1 PCA 将醋润蜜麸炒柴胡炮制前后样品数据

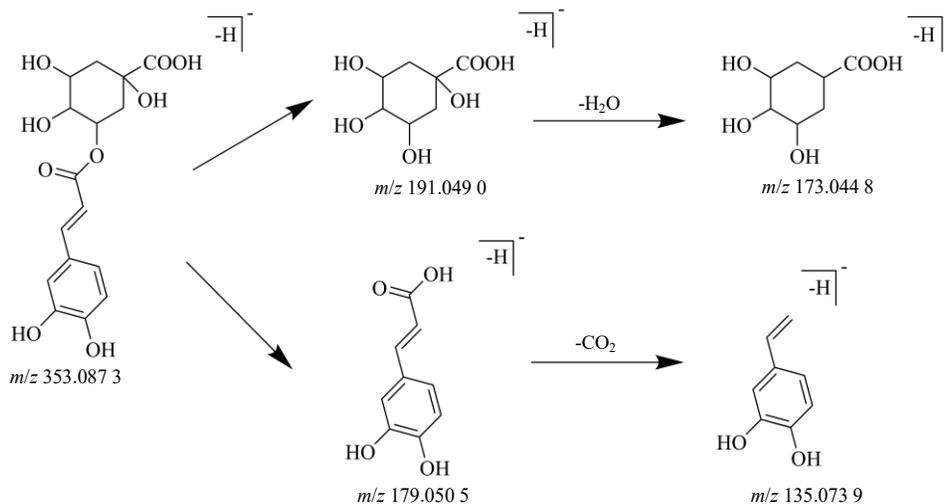


图4 绿原酸裂解途径

Fig. 4 Fragmentation pathway of chlorogenic acid

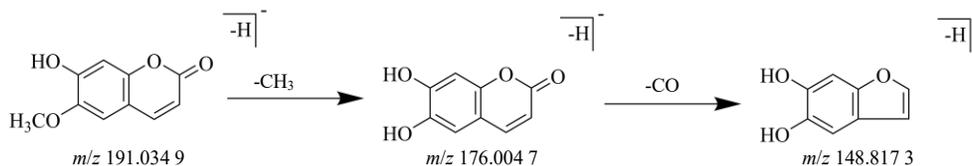


图5 东莨菪素裂解途径

Fig. 5 Fragmentation pathway of scopoletin

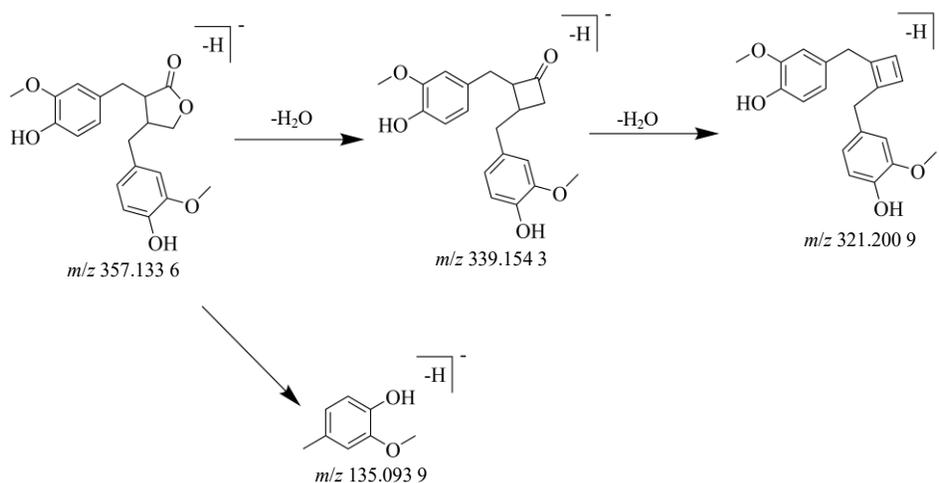


图6 罗汉松脂素裂解途径

Fig. 6 Fragmentation pathway of matairesinol

导入 SIMCA 14.1 软件, 对其进行 PCA, 模型解释率参数 R^2_X 为 0.785, 散点图见图 7。散点图表明, 柴胡生品和炮制品 (17 min 样品) 分布在 t 轴两侧, 可以明显区分, 表明柴胡炮制前后化学成分差异性较大。

3.3.2 OPLS-DA 为识别醋润蜜麸炒柴胡炮制前后样品中差异性成分, 在 PCA 结果的基础上进行 OPLS-DA, 结果见图 8, 200 次置换检验结果见图

9。柴胡炮制前后样品分布在 Y 轴两侧, 可明显区分, 且 R^2_X 为 0.589, 置换检测 Q^2 为 0.180, 表明所建立模型稳定性可靠。

3.3.3 醋润蜜麸炒柴胡炮制前后样品中差异性成分筛选 变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) 值可以体现柴胡炮制前后成分变化情况, VIP 值 > 1 , 表明该化合物为差异性成分, VIP 值越大, 说明该化合物变化影响越大。柴胡炮制前

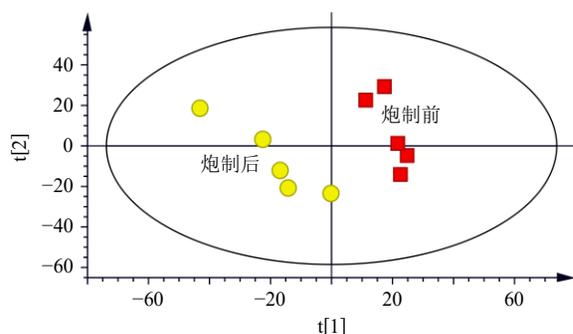


图7 柴胡炮制前后样品 PCA 散点图

Fig. 7 PCA plot of BR before and after processing

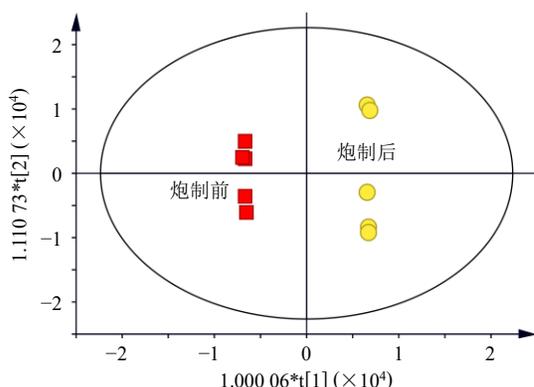


图8 柴胡炮制前后样品 OPLS-DA 图

Fig. 8 OPLS-DA plots of BR before and after processing

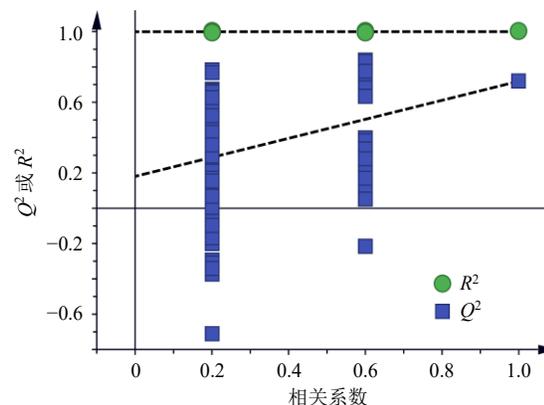


图9 柴胡炮制前后 OPLS-DA 模型 200 次置换检验

Fig. 9 OPLS-DA model 200 replacement tests of BR before and after processing

后共筛选出 21 个差异性成分, 结果见表 2。

3.4 醋润蜜麸炒柴胡炮制过程中样品 PCA 及 OPLS-DA

3.4.1 PCA 将醋润蜜麸炒柴胡炮制过程中样品的数据导入 SIMCA 14.1 软件, 对其进行 PCA, 模型解释率参数 R^2_x 为 0.549, 散点图见图 10。散点图表明, 柴胡炮制前后分散在不同区域, 表明柴胡炮制前后成分发生变化。醋润后样品 (PZ1) 与炒制过

表 2 柴胡炮制前后样品中差异性成分

Table 2 Differential components of BR samples before and after processing

序号	化合物名称	VIP值	峰面积		变化	序号	化合物名称	VIP值	峰面积		变化
			炮制前	炮制后					炮制前	炮制后	
1	黄芩苷	6.520	18 092 034	17 163 386	减少	12	D(-)-奎宁酸	1.863	4 342 642	增加	
2	L(-)-阿拉伯糖醇	5.022	26 103 074	25 108 330	减少	13	反-6-羟基十八碳-4-烯酸	1.849	851 411 1 439 971	增加	
3	葡萄糖酸	5.007		4 637 757	增加	14	(±)-9-氢过氧基十八碳-10,12-二羧酸	1.821	5 036 093 5 875 042	增加	
4	芹菜素	4.764	28 678 844	32 482 387	增加	15	罗汉松脂素	1.761	11 109 751 8 821 695	减少	
5	柠檬酸	4.529		17 824 828	增加	16	2"-O-乙酰柴胡皂苷a	1.732	8 073 496 5 420 542	减少	
6	L(-)-苹果酸	3.859	24 178 807	28 965 085	增加	17	绿原酸	1.592	1 294 197 2 053 970	增加	
7	(15Z)-9,12,13-三羟基-15-十八碳烯酸	3.304	30 570 726	33 337 897	增加	18	9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸	1.576	8 343 464 8 992 011	增加	
8	柴胡皂苷a	2.588	21 057 949	14 492 535	减少	19	柴胡次皂苷f	1.178	4 996 741 5 778 195	增加	
9	壬二酸	2.494	3 387 419	5 268 704	增加	20	柴胡皂苷d	1.176	14 007 998 8 615 179	减少	
10	柴胡皂苷b ₂	2.234	231 757	528 364	增加	21	汉黄芩素	1.134	1 100 459 1 405 062	增加	
11	12,13-二羟基-9-十八碳烯酸	2.044	27 541 730	29 301 322	增加						

程中样品 (PZ2~PZ7) 和柴胡生品 (SP) 分散在不同区间, 表明柴胡醋润后 (PZ1) 成分发生变化, 且在炒制后成分同样发生改变。20 min 与 22 min 样品 (PZ9、PZ10) 为炒制过久样品与炮制品 (PZ8) 分散在不同区间, 表明炒制过久也会导致柴胡成分发生改变。

3.4.2 OPLS-DA 运用 OPLS-DA 法对柴胡炮制过

程中样品 PCA 结果进行进一步分析, 结果如图 11 所示, 200 次置换检测结果见图 12。如图所示, 各组间差异更加明显, 且 R^2_x 为 0.751, 置换检测 Q^2 为 -0.342, 表明所建立模型稳定性可靠。

3.4.3 醋润蜜麸炒柴胡炮制过程中样品中差异性成分筛选 将炮制过程中样品 OPLS-DA 数据结合 VIP 值进行分析, 以 VIP 值 > 1 作为筛选条件, 筛

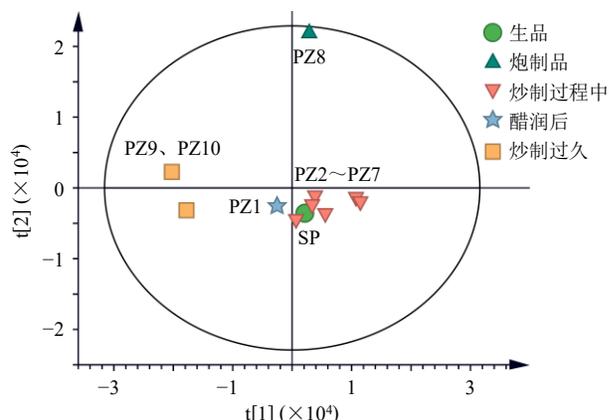


图 10 柴胡炮制过程中样品 PCA 散点图

Fig. 10 PCA plot of samples during processing of BR

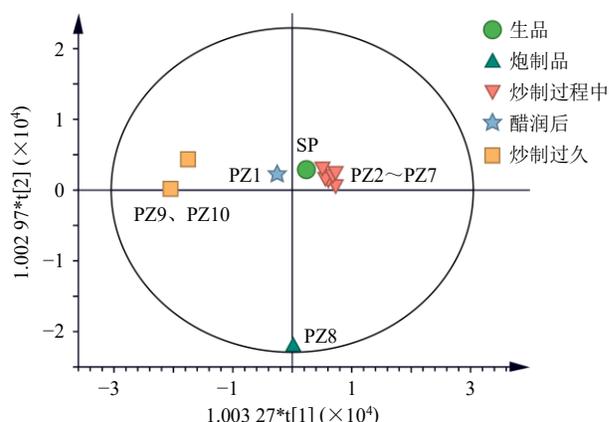


图 11 柴胡炮制过程中样品 OPLS-DA 图

Fig. 11 OPLS-DA plot of samples during processing of BR

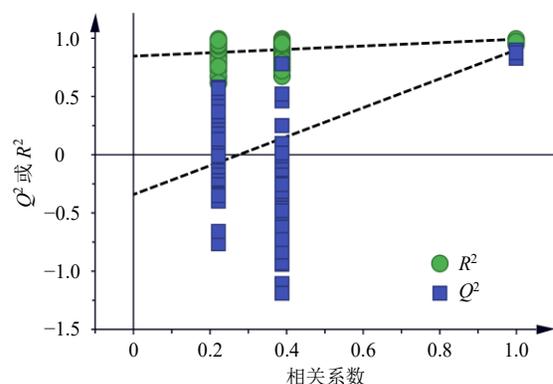


图 12 柴胡炮制过程 OPLS-DA 模型 200 次置换检验

Fig. 12 OPLS-DA model 200 replacement tests during processing of BR

选出 23 个差异性成分, 结果见表 3。23 个差异性成分分别包括 11 个有机酸类成分、7 个糖苷类成分、3 个黄酮类成分、1 个木质素类成分和 1 个核苷类成分。

4 讨论

中药因其含有多种有效成分使其产生多种药理

表 3 柴胡炮制过程差异性成分

Table 3 Differential components during processing of BR

序号	化合物名称	VIP值
1	柠檬酸	5.897
2	葡萄糖酸	4.717
3	(15Z)-9,12,13-三羟基-15-十八碳烯酸	3.584
4	黄芩苷	3.280
5	9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸	2.366
6	罗汉松脂素	2.296
7	柴胡皂苷a	2.265
8	芹菜素	2.039
9	(±)-9-氢过氧基十八碳-10,12-二羧酸	2.000
10	异鼠李素	1.884
11	柴胡次皂苷f	1.688
12	12,13-二羟基-9-十八碳烯酸	1.592
13	马来酸	1.511
14	绿原酸	1.433
15	麻黄脂肪酸f	1.431
16	2,4-二羟基-2,3-双[(4-羟基-3-甲氧苯基)甲基]丁酸	1.327
17	柴胡皂苷d	1.306
18	3-羟基-3,5,5-三甲基-4-(3-氧代-1-丁烯-1-亚基)环己基-I(2)-D-葡萄糖苷	1.217
19	鸟苷	1.211
20	柴胡皂苷e	1.095
21	15,16-二羟基-10,13-十八碳二烯酸	1.051
22	D-(+)-阿拉伯糖醇	1.046
23	1-O-[(3β,5ξ,9ξ)-3-(β-D-葡萄糖基)-27-羟基-27,28-二氧代齐墩果-12-烯-28-基-β-D-葡萄糖]	1.033

作用。中药炮制是我国传统制药工艺, 通过使用不同辅料和炮制方法, 将中药材制成具有不同药理作用的饮片。辅料蜜麸为辅料麦麸的拓展应用, 与麦麸相比具有更好的减噪增效作用, 在南方古药帮中应用广泛, 例如贵州的醋润蜜麸炒三棱、樟帮的蜜麸炒枳壳^[26-28]。建昌帮特色炮制品种醋润蜜麸炒柴胡是在醋炙柴胡基础上, 引入蜜麸炒的炮制方法, 意在其原有功效下, 进一步减缓药性。本研究所使用的醋润蜜麸炒柴胡炮制方法经过了工艺优化及验证, 该方法所制备饮片符合《中国药典》2020 年版规范^[29]。

文献表明^[30-31], 柴胡经醋制后其原本的升散之性得到降低, 疏肝解郁功效增强, 对其炮制前后成分变化进行深入研究, 发现柴胡经醋制后, 柴胡皂苷类和挥发油类成分的含量和种类发生变化, 而皂

苷类和挥发油类成分正是柴胡疏散退热、抗炎镇痛功效的主要来源。同时表明炮制过程也会对药材功效产生影响,这种影响可能是由成分变化产生的。因此,开展柴胡炮制过程中成分变化研究,有利于揭示柴胡炮制后药效变化的关键。本研究运用 UPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术对柴胡炮制过程中化学成分进行了研究,结果表明,在负离子模式下,柴胡炮制前后共检测出 76 个化合物,包括柴胡皂苷类、黄酮类、有机酸类、香豆素类及其他类等。

通过比较炮制前后化学成分种类和同类成分的峰面积发现,柴胡炮制前后所含成分的种类相近但同种成分的含量存在差异。数据显示,葡萄糖酸、柠檬酸和奎宁酸等有机酸类成分增加明显。柠檬酸不存在于柴胡生品中,但炮制后含量显著增加,表明该化合物可能来源于辅料中。奎宁酸作为酚酸类化合物裂解的特征性离子碎片,其峰面积增加表明柴胡炮制后酚酸类成分含量有所提升,绿原酸的增加进一步体现了该结果,而酚酸类化合物具有保肝、抗氧化和抗炎等作用,与柴胡功效相对应^[32-34]。柴胡皂苷类变化最为明显的成分为柴胡皂苷 a、d、b₂,前 2 种成分为柴胡主要有效成分,具有抗炎、抗菌和抗抑郁等多种作用,而柴胡皂苷 b₂对急性肝损伤有保护作用^[35-36]。

柴胡炮制后柴胡皂苷 a、d 的峰面积均降低,柴胡皂苷 b₁的峰面积升高,这与其他文献中提到的柴胡皂苷 a、d 在酸性环境下环氧醚键发生断裂形成柴胡皂苷 b₁、b₂的结果相符,而柴胡炮制后疏散退热能力减弱,疏肝解郁能力增强,可能与这种柴胡皂苷类成分变化有关^[34]。综上可知,辅料在炮制过程中既提供了柠檬酸等具有酸涩味的化合物,同时提高了酚酸等具有药理作用的化合物的提取率,酸性环境也对柴胡皂苷类成分产生影响,该结果与“醋制入肝”“酸入肝”等中医药理论相关联,可为相关研究提供理论依据。

通过对柴胡炮制前后及炮制过程中的差异性成分进行对比,结果发现 2 种分析方法中柴胡生品和炮制品均存在差异,但差异性成分种类不一致,表明在炮制过程中部分差异性化合物的含量可能发生显著变化后回归最初水平,如马来酸。炮制过程中的差异性成分马来酸具有一定的不良反应,会刺激皮肤和黏膜,同时会抑制氨基酸代谢转氨酶等酶素,长期服用可能会导致肝肾损伤,但该成分在炮制完成后差异性消失^[37]。通过比较不同阶段同一

成分的峰面积可知,马来酸在炮制前期显著增加,随后逐渐减少,该结果表明醋润蜜麸炒炮制方法在增加柴胡药效的同时,还可以缓和药性,减少刺激性成分。

综上所述,本研究通过 UPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术分析鉴定了柴胡和醋润蜜麸炒柴胡在炮制过程中的化学成分,为醋润蜜麸炒柴胡的药效物质基础和临床应用提供依据。同时,通过分析炮制前后与整个炮制过程中的差异性成分,初步探究了柴胡在炮制过程中成分与功效的相关性及其可能原因,以及辅料在整个炮制过程中发挥的作用。后续还需针对柴胡生品和炮制品进行深入的定量分析和药理研究,为进一步发掘醋润蜜麸炒柴胡的科学内涵提供数据支撑和研究基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国医学科学院药用植物资源开发研究所. 中药志 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 366-374.
- [2] 魏·吴普. 神农本草经 [M]. 长春: 时代文艺出版社, 2008: 16.
- [3] 颜美玲, 杨柳, 侯阿娇, 等. 柴胡化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2018, 35(5): 103-109.
- [4] 王威宇, 王玉昆, 陈一笑, 等. 柴胡有效成分及经典名方抗代谢相关脂肪性肝病的药理与临床研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(11): 2490-2495.
- [5] 欧小龙, 黄涛阳. 柴胡属植物化学成分研究进展 [J]. 中药材, 2021, 44(3): 749-755.
- [6] 梅开丰, 张祯祥. 建昌帮中药传统炮制法 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2022: 165-167.
- [7] 上官贤. 建昌帮中药炮制全书 [M]. 南昌: 江西教育出版社, 2013: 113-114.
- [8] 宋艺君, 郭涛, 李诗博, 等. 基于 HS-GC-IMS 比较柴胡醋炙前后挥发性成分的差异 [J]. 药物分析杂志, 2023, 43(9): 1586-1596.
- [9] 高兴笑, 郝敏, 李富艳, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 和网络药理学的柴胡醋制前后抗抑郁质量标志物分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(3): 124-132.
- [10] 李泽浩, 吴双, 刘琳, 等. 基于“物质-功效”关联性研究醋南柴胡抗抑郁药效物质 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8353-8365.
- [11] 王文凯, 张正, 翁萍, 等. 樟帮炮制辅料蜜麸的制备工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(5): 1136-1138.
- [12] 孙秋, 王文娟, 张洪财, 等. 基于液质联用技术的柴胡化学成分研究 [J]. 化学工程师, 2022, 36(6): 20-25.
- [13] 郭敏娜, 刘素香, 赵艳敏, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的柴胡化学成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(12):

- 2044-2052.
- [14] 李骄, 刘蒙蒙, 王志, 等. 基于 HPLC-FT-ICR-MS 技术分析中药复方大柴胡汤中的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2023, 40(11): 1417-1431.
- [15] 霍金海, 孙国东, 魏文峰, 等. UPLC-Q-TOF/MS 法分析牛黄清感胶囊成分 [J]. 中成药, 2018, 40(10): 2340-2348.
- [16] 陈宁, 郝俊菊, 殷康明, 等. 高效液相色谱-质谱联用鉴定黄芩总苷元提取物中黄酮类成分 [J]. 药学与临床研究, 2024, 32(3): 209-217.
- [17] 唐瑞, 吴杭莎, 李亚飞, 等. 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 [J]. 中草药, 2024, 55(5): 1518-1531.
- [18] 张佩杰, 曹妍, 张珂, 等. 利用 HPLC-IT-TOF-MS 分析新疆一枝蒿的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(19): 4658-4666.
- [19] 魏文峰, 陈宏昌, 刘烨, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的刺五加叶血清药物化学初步研究 [J]. 中草药, 2017, 48(7): 1306-1313.
- [20] 严欢, 左月明, 张忠立. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS 技术分析代代花中的化学成分 [J]. 中药材, 2018, 41(10): 2343-2348.
- [21] 王维皓, 严平贞, 杨滨. 羌活中香豆素类化合物 UPLC-Q-TOF 质谱裂解规律研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(5): 1179-1190.
- [22] 刘成东, 郭俊英, 李君, 等. 基于 HPLC-Q-Exactive-MS 技术定性分析冠心七味片的化学成分 [J]. 中南药学, 2024, 22(3): 691-698.
- [23] 王炼, 吴迪, 周景文. 木脂素的生物合成及其微生物法生产的研究进展 [J]. 化工学报, 2021, 72(1): 320-333.
- [24] 勾健, 吴宗芹, 孟欣, 等. 基于 UHPLC Q-Exactive Plus Orbitrap HRMS 高分辨质谱技术的隔山消提取物化学成分分析 [J]. 中国新药杂志, 2024, 33(5): 489-498.
- [25] 田世民, 谢锦, 尚强, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 和 GC-MS 技术的抗病毒颗粒化学成分分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(2): 134-144.
- [26] 傅琳, 祝婧, 钟凌云, 等. 特色辅料蜜麸的炮制历史沿革及研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2021, 17(5): 182-188.
- [27] 张金莲, 何敏, 谢一辉, 等. 正交法优选蜜麸炒樟帮枳壳炮制工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 8-10.
- [28] 连薇薇, 王建科, 李玮, 等. 醋润蜜麸炒三棱质量标准 [J]. 科学技术与工程, 2019, 19(31): 78-86.
- [29] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 280.
- [30] 郝婷, 尹鑫, 傅万峪, 等. 柴胡炮制品中柴胡皂苷含量研究 [J]. 亚太传统医药, 2024, 20(12): 65-68.
- [31] 乔欣, 陈文彬, 马亚男, 等. 基于全二维气相色谱-飞行时间质谱对柴胡醋制前后挥发油成分的研究 [J]. 江西中医药, 2022, 53(2): 60-64.
- [32] 石爱文, 姚佳靖, 王庆, 等. 蒲公英化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(9): 38-45.
- [33] 陈鲁宁, 胡扬, 辛国松, 等. 菟丝子化学成分、药理作用研究进展及其质量标志物 (Q-Marker) 预测 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5298-5314.
- [34] 孟洪令, 孙喜伟, 张语涵, 等. 绿原酸对免疫应激肉鸡肝脏和肠道损伤缓解作用研究 [J]. 中国家禽, 2024, 46(10): 56-63.
- [35] 郑长辉, 马丽娜, 何婷, 等. 基于“通权达变”思想探究柴胡不同炮制方法 [J]. 中国药物警戒, 2024, 21(8): 955-960.
- [36] 有曼, 李瑞芳, 高子涵, 等. 柴胡皂苷 b₂ 对 LPS/GalN 诱导的小鼠急性肝损伤炎症和能量代谢的影响 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(14): 2966-2971.
- [37] 李杰, 于瑞祥. 高效液相色谱法测定淀粉与饮料中马来酸和富马酸 [J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(3): 55-57.

[责任编辑 郑礼胜]