

## UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 结合药效学的经典名方栀子大黄汤肝保护作用活性成分分析

段聪慧<sup>1,2</sup>, 黄秀莹<sup>2,3</sup>, 果卉<sup>4</sup>, 何颖<sup>5</sup>, 翟宇佳<sup>5</sup>, 陈兴龙<sup>6</sup>, 伍建林<sup>7</sup>, 张荣平<sup>6</sup>, 闻俊<sup>2</sup>, 周婷婷<sup>2\*</sup>

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012
2. 中国人民解放军海军军医大学 药理学系, 上海市药物(中药)代谢产物研究重点实验室, 上海 200433
3. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122
4. 上海市第十人民医院 临床药学部, 上海 200072
5. 中国人民解放军海军军医大学 海军特色医学中心, 上海 200433
6. 云南中医药大学中药学院暨云南省南药可持续利用研究重点实验室, 云南 昆明 650500
7. 澳门科技大学 中药机制与质量全国重点实验室, 澳门 999078

**摘要:** **目的** 采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)技术结合药效学方法,对栀子大黄汤古方和现代优化方中不同药材比例配伍的化学成分进行分析,建立酒精性肝损伤模型评估其药效作用,并筛选潜在肝保护活性成分。**方法** 采用 ACQUITY UPLC HSST3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱以 0.1%甲酸水-0.1%甲酸乙腈为流动相进行梯度洗脱,在正、负离子模式下采集质谱数据,根据文献和数据库资料,并结合化合物的保留时间、精确相对分子质量及二级碎片信息,鉴定栀子大黄汤中的化学成分。用酒精性肝损伤小鼠模型比较两方的药效水平,结合谱效关系研究筛选与肝保护作用相关的活性成分。**结果** 在栀子大黄汤中表征了 80 个共有化学成分,包括有机(酚)酸类 22 种、黄酮类 18 种、环烯醚萜类 11 种、萜醌类 8 种、异黄酮类 6 种等。药效结果表明,古方比例给药的栀子大黄汤小鼠丙氨酸氨基转移酶(alanine amino-transferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transferase, AST)、三酰甘油(triglyceride, TG)水平均明显低于现代优化方( $P<0.05$ )。结合谱效关系分析筛选出栀子苷酸、原儿茶酸、隐绿原酸等与酒精性肝损伤密切相关的药效物质。**结论** 明确了栀子大黄汤古方较现代优化方在酒精性肝损伤方面具有更优的肝保护作用,并阐释了其发挥抗酒精性肝损伤药效的潜在活性成分。

**关键词:** 栀子大黄汤; 酒精性肝损伤; 药效成分; 栀子苷酸; 原儿茶酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)08-3006-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.08.014

## UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS combined with pharmacodynamic analysis for screening hepatoprotective active ingredients in classic formula Zhizi Dahuang Decoction

DUAN Conghui<sup>1,2</sup>, HUANG Xiuying<sup>2,3</sup>, GUO Hui<sup>4</sup>, HE Ying<sup>5</sup>, ZHAI Yujia<sup>5</sup>, CHEN Xinglong<sup>6</sup>, WU Jianlin<sup>7</sup>, ZHANG Rongping<sup>6</sup>, WEN Jun<sup>2</sup>, ZHOU Tingting<sup>2</sup>

1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China
2. Shanghai Key Laboratory of Drug (Traditional Chinese Medicine) Metabolite Research, Department of Pharmacy, PLA Naval Medical University, Shanghai 200433, China
3. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China
4. Clinical Pharmacy Department, Shanghai Tenth People's Hospital, Shanghai 200072, China
5. PLA Naval Medical Center, PLA Naval Medical University, Shanghai 200433, China
6. School of Chinese Materia Medica & Yunnan Key Laboratory of Southern Medicine Utilization, Yunnan University of Chinese

收稿日期: 2025-11-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82304687); 上海白玉兰人才计划浦江项目(23PJD113)

作者简介: 段聪慧, 硕士研究生, 研究方向为中药及天然药物药代动力学研究, E-mail: duanch501@163.com

\*通信作者: 周婷婷, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药药效物质基础与体内代谢研究, E-mail: tingting\_zoo@163.com

Medicine, Kunming 650500, China

7. State Key Laboratory of Mechanism and Quality of Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China

**Abstract: Objective** Ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-electrostatic field orbitrap mass spectrometry (UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS) technology combined with pharmacological methods was developed to analyze the chemical components of Zhizi Dahuang Decoction in different proportions in ancient and modern optimized prescriptions. Subsequently, an alcoholic liver injury model was established to evaluate its hepatoprotective effects and screen potential active ingredients in traditional Chinese medicine. **Methods** Gradient elution was performed on an ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) column with 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile. The mass spectrometry data were collected in positive and negative ion mode. Chemical constituents of Zhizi Dahuang Decoction were identified by comparing with literature and database records, considering retention time, accurate molecular mass, and MS/MS fragmentation patterns. Furthermore, an alcoholic liver injury mouse model was utilized to compare the efficacy of the two formulations, and to screen for active components related to hepatoprotective effects through a spectrum-activity relationship study. **Results** A total of 80 common chemical components were identified in Zhizi Dahuang Decoction, including 22 organic (phenolic) acids, 18 flavonoids, 11 iridoids, eight anthraquinones, six isoflavones, etc. Pharmacological results demonstrated that the classical formula group exhibited significantly lower serum levels of alanine amino-transferase (ALT), aspartate transferase (AST), and triglyceride (TG) compared to the modern optimized group ( $P < 0.05$ ). Screening potential pharmacological substances closely related to alcohol-induced liver injury, such as geniposide acid, protocatechuic acid, and cryptochlorogenic acid, through spectrum-effect relationship analysis. **Conclusion** This study demonstrated that the ancient formulation of Zhizi Dahuang Decoction has better hepatoprotective effects on alcoholic liver injury than the modern optimized formulation, and further characterized the potential bioactive components contributing to its anti-alcoholic liver injury efficacy.

**Key words:** Zhizi Dahuang Decoction; alcoholic liver injury; active ingredients; geniposide acid; protocatechuic acid

中药复方的整体疗效是其多组分、多靶点协同作用的结果。中药复方配伍是其组成的关键原则，是解析中药复方内在联系的核心<sup>[1]</sup>。古方比例是先在长期临床实践中反复验证所形成的结晶。尽管受限于时代变迁、生态环境与栽培技术等差异，但古方比例中所蕴含的“君臣佐使”配伍逻辑与“减毒增效”的核心智慧，仍具有重要的科学价值与研究意义。

我国有着悠久的酒文化，在现代社会，酒精相关性肝病（alcoholic-related liver disease, ALD）的发病率逐年上升，已成为我国最主要的慢性肝病之一<sup>[2]</sup>。2023年9月，国家中医药管理局和国家药品监督管理局联合发布《古代经典名方目录（第二批）》，其中栀子大黄汤作为汉族医药代表方剂之一入选<sup>[3]</sup>。栀子大黄汤源于汉代张仲景所著《金匮要略》，主治“酒黄疸，心中懊憹或热痛”。酒黄疸，亦即酒疸，是因酒伤所致的黄疸病，现代医学认为，酒疸与西医学中的ALD病因一致，同属一类疾病<sup>[4]</sup>，然而，在国内外多篇<sup>[5-7]</sup>现代药理研究中栀子大黄汤多采用栀子-大黄-枳实-淡豆豉3:1:4:8的比例，这与古方考证研究存在明显差异<sup>[8-9]</sup>。目前，虽有研

究证实栀子大黄汤对ALD的保护作用<sup>[4-5]</sup>，但针对古方原配比与现代优化配比的系统性比较研究尚属空白。

基于此，本研究借助超高效液相四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱（UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS）分析技术，对古方原配比和现代优化配比的栀子大黄汤中的共有化学成分鉴定，包括来源于栀子的环烯醚萜类、大黄的蒽醌类、枳实的黄酮类以及淡豆豉的异黄酮类等多种活性成分。在此基础上，进一步评价其药效作用，并结合谱效关系研究，旨在明确其在酒精性肝损伤方面发挥肝保护作用的潜在活性成分，为后续开展药效机制研究、完善质量控制体系提供支撑。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Vanquish 型超高效液相色谱仪，Q-Exactive<sup>TM</sup> Plus 超高效液相质谱联用仪，配有 Xcalibur 化学工作站（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；ACQUITY UPLC HSST3 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱（美国 Waters 公司）；Hi-Tech 18.2 水纯化系统（上海和泰仪器有限公司）；FA224 型电子天平

(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); SpectraMax Mini 酶标仪 (美谷分子仪器有限公司)。

## 1.2 材料与试剂

质谱级乙腈、甲酸购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 对照品芍药苷 (批号 HY-N0293, 质量分数 $\geq 98\%$ ) 购自 MCE 公司; 对照品栀子苷 (批号 AF20062303)、栀子苷酸 (批号 AB1173)、大豆苷元 (批号 AF21021507)、染料木素 (批号 AF21021508)、黄豆黄素 (批号 AB0961)、柚皮素 (批号 AB0846)、野漆树苷 (批号 AB1463)、大黄酸 (批号 AB0861)、大黄素甲醚 (批号 AB0706) 均购自成都埃法生物科技有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$ ; 联苯双酯购自北京协和药厂有限公司; 羧甲基纤维素钠 (carboxymethyl cellulose sodium salt, CMC-Na) 购自生工生物股份有限公司; 丙氨酸氨基转移酶 (alanine amino-transferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transferase, AST)、三酰甘油 (triglyceride, TG) 检测试剂盒 (C009-2-1、C010-2-1、A110-1-1) 购自南京建成生物工程研究所; Lieber-DeCarli 液体对照饲料、酒精液体饲料 (TP4030C、TP4030D) 购自南通特洛菲饲料科技有限公司。栀子 (批号 220528) 购自上海童涵春堂中药饮片有限公司; 淡豆豉 (批号 2023010301) 购自上海德华国药制品有限公司; 枳实 (批号 221029) 购自安徽亳州中药材专业市场; 大黄 (批号 240726011) 购自安徽华貅药业有限公司, 经海军军医大学生药学教研室辛海量教授鉴定, 栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis. 的干燥成熟果实、淡豆豉为豆科植物大豆 *Glycine max* (L.) Merr. 的干燥成熟种子 (黑豆) 的发酵加工品、枳实为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的干燥幼果、大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根和根茎。

6~8 周龄健康雄性 C57BL/6 小鼠 30 只, 体重约 (20 $\pm$ 2) g, 购自杭州子源实验动物科技有限公司, 实验动物生产许可证号 SYXK (浙) 2024-0004, 动物使用许可证号 SYXK (沪) 2021-0012。饲养环境为温度 (25 $\pm$ 2)  $^{\circ}$ C, 相对湿度 40%~70%, 光照 12h。本实验方案及操作规程均通过上海市第十人民医院动物伦理委员会批准 (批准编号 SHDSYY-2023-4624)。

## 2 方法

### 2.1 栀子大黄汤提取物物质谱分析

#### 2.1.1 色谱条件 色谱柱为 ACQUITY UPLC

HSST3 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu$ m) 柱; 流动相为体积分数 0.1% 的甲酸水溶液 (A) 和体积分数 0.1% 的甲酸乙腈溶液 (B); 梯度洗脱: 0~8 min, 5%~15% B, 8~16 min, 15%~30% B, 16~21 min, 30%~46% B, 21~30 min, 46%~60% B, 30~35 min, 60%~80% B, 35~36 min, 80~95% B, 36~40.9 min, 95% B, 40.9~41 min, 95%~5% B, 体积流量 0.25 mL/min; 柱温 40  $^{\circ}$ C; 进样量 1  $\mu$ L。

2.1.2 质谱条件 电喷雾电离离子源进行电离, 采用正、负离子模式进行数据采集, 毛细管电压为 3 800 V, 毛细管温度为 320  $^{\circ}$ C, 鞘气流速为 30 arb, 氮气辅助气体积流量为 10 arb, 探头加热器温度为 300  $^{\circ}$ C, 扫描范围为  $m/z$  50~1 000。

### 2.2 栀子大黄汤现代计量考证和换算

栀子大黄汤出自《金匱要略》: “栀子十四枚, 大黄一两, 枳实五枚, 豉一升, 上四味, 以水六升, 煮取二升, 分温三服”<sup>[9]</sup>。张仲景著作成书于东汉末年, 东汉官秤 1 两的量为 13.8 g<sup>[10]</sup>, 大黄取用 13.8 g。根据文献考证<sup>[11-12]</sup>一升为 200 mL, 因此煎药水量为 1 200 mL。根据北京中医药大学傅延龄教授团队<sup>[13]</sup>和本课题组 10 人男女各半平行测量 6 次取均值, 对栀子、枳实、淡豆豉质量进行考察, 确定栀子 14 枚 15.9 g、枳实 5 枚 11.5 g、淡豆豉一升为 113.7 g。因此, 古方用法为栀子 15.9 g、大黄 13.8 g、枳实 11.5 g、淡豆豉 113.7 g, 以水 1 200 mL, 煮取 400 mL, 分服 3 次/d。

### 2.3 栀子大黄汤干膏粉的制备

古方比例取栀子 15.9 g、大黄 13.8 g、枳实 11.5 g、淡豆豉 113.7 g, 现代优化方以古方总生药量按照栀子-大黄-枳实-淡豆豉 3:1:4:8 折算, 栀子 29.0 g、大黄 9.7 g、枳实 38.7 g、淡豆豉 77.5 g, 2 种配方均加入 1 200 mL 水, 回流提取 2 次, 每次 60 min, 合并滤液, 旋转蒸发浓缩, 冷冻干燥, 即得干膏粉。计算得率, 古方为 27%, 现代优化方为 24%。

### 2.4 供试品溶液的制备

分别精密称取栀子大黄汤干膏粉 1.35 g、1.20 g (相当于生药材 5 g) 置 25 mL 量瓶中, 加入 10 mg/mL 芍药苷对照品 5  $\mu$ L, 用 75% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 超声 30 min, 补足缺失质量, 12 000 r/min 离心 10 min 取上清, 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 即得。

### 2.5 对照品溶液的制备

分别称取栀子苷、栀子苷酸、大豆苷元、染料木素、黄豆黄素、柚皮素、野漆树苷、大黄酸、大

黄素甲醚对照品适量,制成各含 0.1 mg/mL 的混合对照品溶液,备用。

## 2.6 实验动物

小鼠随机分为对照组(C)、模型组(M)、联苯双酯组(B)、古方组(G)、优化方组(Y)。本研究复制 ALD 领域常用的 Gao-Binge 小鼠模型。ALD 小鼠模型构建分为适应期和造模期。在 5 d 适应期中,模型组小鼠饲料酒精比例逐渐递增,最后完全是酒精液体饲料。对照组小鼠自由饮食 Lieber-DeCarli 对照液体饲料。在造模期内,模型小鼠饲喂 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料,对照组小鼠采用饲喂 Lieber-DeCarli 对照液体饲料。同时,栀子大黄汤各组按生药量 20 g/kg (成人 70 kg 等效剂量) ig 给药, B 组按 150 mg/kg ig 给药, C、M 组 ig 等体积的 0.5% CMC-Na, 第 16 天 7:00~9:00 时,所有造模组小鼠 ig 31.5% 的乙醇溶液,对照组小鼠 ig 45% 的麦芽糖糊精溶液, ig 溶液体积按照体质量(g) × 20 μL, 9 h 取材。血液室温静置 2 h 后,在 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min,收集血清。取出部分肝脏、结肠于 4% 多聚甲醛固定,剩余部分用 0.9% 生理盐水清洗表面残留血,滤纸吸干,置于 -80 °C 保存待用。

## 2.7 小鼠血清中 AST、ALT、TG 水平检测

从 -80 °C 冰箱取出血清,参照试剂盒说明书操作进行试验,用酶标仪检测结果,计算活力值和含量。

## 2.8 HE 染色

将蜡块置于石蜡切片机上切片,片厚 3 μm,置于载玻片上,烘箱 60 °C 烤片,然后取出常温冷却,将切片依次置于二甲苯、梯度酒精中脱蜡复水。然后切片放入苏木素染色,1% 盐酸酒精分化,1% 氨水返蓝,流水冲洗。然后在伊红染液中染色,将切片依次放入梯度酒精、二甲苯脱色透明,中性树胶封片。

## 2.9 统计学方法

实验结果使用 Graphpad Prism10 软件进行统计分析,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组间样本比较采用 *t* 检验,多组间样本比较采用单因素方差分析法(One-Way ANOVA),将  $P < 0.05$  记为具有统计学意义的结果。以内标芍药苷峰为参照,计算各物质的相对峰面积,将数据导入 SPSS.26 软件通过 Spearman 相关性分析和灰色关联分析计算相对峰面积和药效指标两者之间的相关性和关联度。

## 3 结果

### 3.1 栀子大黄汤中化学成分分析

#### 3.1.1 栀子大黄汤中化学成分鉴定 将原始数据

导入 MS-DAIL (5.5) 软件中,进行峰识别、峰对齐和保留时间校正后,提取出峰面积,得到包含保留时间、质荷比以及峰面积等信息。基于 Xcalibur (4.1) 质谱数据系统中的 Qual Browser 软件对质谱数据进行处理,设置质量误差范围为  $1 \times 10^{-5}$ ,根据化合物的精确相对分子质量、保留时间、MS<sup>2</sup> 二级碎片等信息,结合 MassBank、PubChem、中国知网、中药系统药理学平台等数据库收录的相关化学成分,归纳整理。

在正、负离子扫描模式下从栀子大黄汤中鉴定出 80 个共有化学成分(图 1),包括有机(酚)酸类 22 种、黄酮类 18 种、环烯醚萜类 11 种、蒽醌类 8 种、异黄酮类 6 种、生物碱 3 种等,结果见表 1。

**3.1.2 各类代表性成分的质谱裂解规律** 环烯醚萜类物质主要来自栀子,它的主要的裂解途径是先脱去母环上的功能基团,如中性丢失 H<sub>2</sub>O、CO<sub>2</sub> 和糖单元等部分;然后发生 RDA 裂解,产生了 *m/z* 123、101 的环烯醚萜苷母环断裂的特征碎片离子。以栀子苷为例阐述推导过程。化合物 29,在负离子模式下获得准分子离子峰为 *m/z* 387.129 1 [M-H]<sup>-</sup>,丢失 1 分子葡萄糖产生碎片离子 *m/z* 225.076 4 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>;该离子碎片进一步脱水产生 *m/z* 207.065 6 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>,进一步发生特征 RDA 裂解产生 *m/z* 123.043 9 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>]<sup>-</sup>;同时 *m/z* 225.076 4 裂解获得 *m/z* 101.023 2 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup> 的碎片离子,经对照品比对,确认为栀子苷。可能的裂解途径推测见图 2。

异黄酮类物质主要来自淡豆豉,它的糖苷键断裂,A 环和 B 环主要发生中性丢失 H<sub>2</sub>O、CH<sub>3</sub>、CO 等。C 环容易发生 RDA 裂解,环上的羰基还可通过中性损失 CO 发生裂解。以黄豆黄素为例阐述推导过程。化合物 58,在负离子模式下获得准分子离子峰为 *m/z* 283.061 0 [M-H]<sup>-</sup>,裂解丢失 1 个甲基自由基产生 *m/z* 268.037 6 [M-H-CH<sub>3</sub>]<sup>-</sup>,随后丢失 1 分子中性的 CO 产生 *m/z* 240.042 3 [M-H-CH<sub>3</sub>-CO]<sup>-</sup>,经对照品比对,确认为黄豆黄素。可能的裂解途径推测见图 3。

黄酮类物质主要来自枳实,在质谱裂解中易产生单糖、双糖,以及黄酮母核的 RDA 裂解开环。以柚皮素和川陈皮素为例阐述推导过程。化合物 66,在负离子模式下准分子离子峰为 *m/z* 271.060 8 [M-H]<sup>-</sup>。二级质谱图中可见准分子离子峰发生 RDA 反应,产生 *m/z* 151.002 5 [M-H-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O]<sup>-</sup> 和 *m/z*

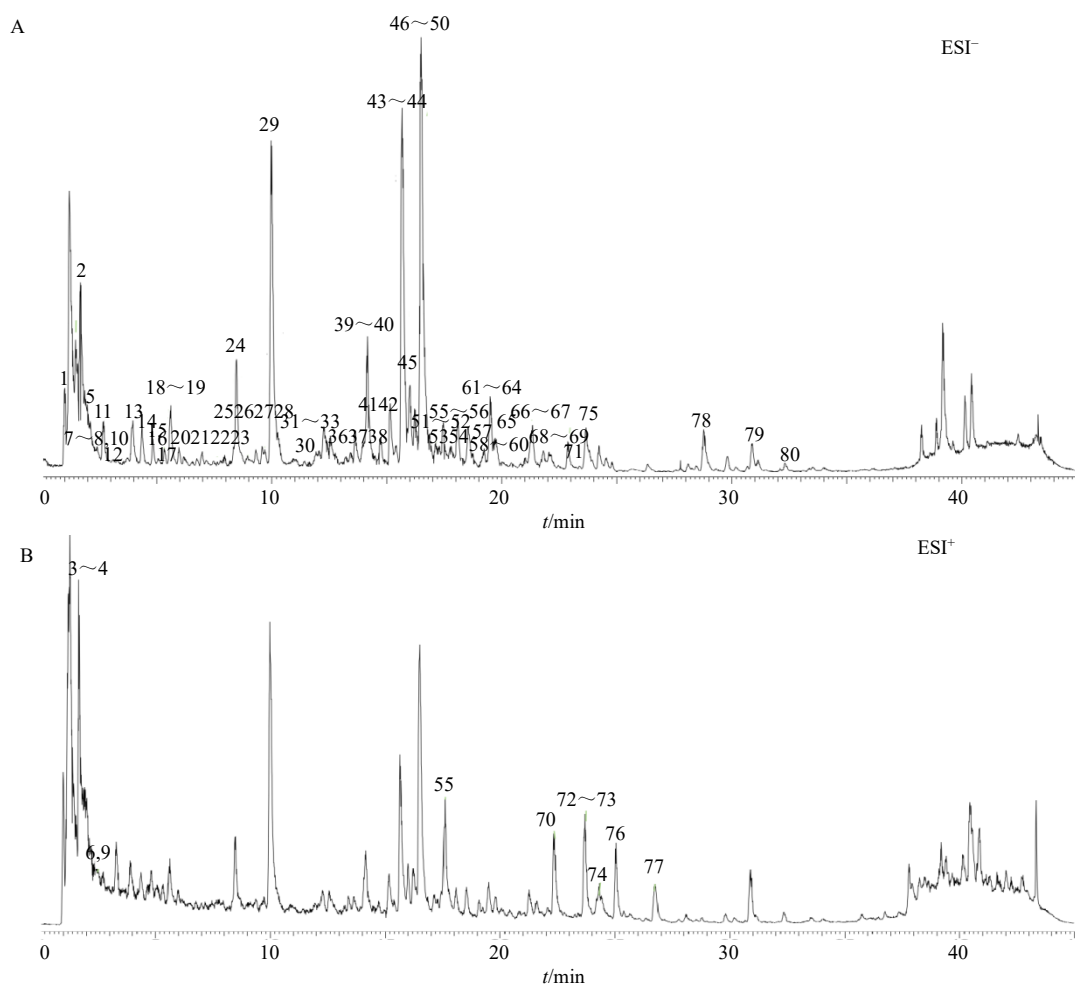


图1 栀子大黄汤的UHPLC Q-Exactive Orbitrap MS总离子流色谱图(A: ESI<sup>-</sup>; B: ESI<sup>+</sup>)

Fig. 1 Total ion chromatograms of Zhizi Dahuang Decoction by UHPLC Q-Exactive Orbitrap MS (A: ESI<sup>-</sup>; B: ESI<sup>+</sup>)

表1 基于UHPLC-Q-Exactive MS的栀子大黄汤化学成分定性分析

Table 1 Qualitative analysis of chemical components in Zhizi Dahuang Decoction by UHPLC-Q-Exactive MS

峰号	名称	分子式	t <sub>R</sub> /min	离子模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 (×10 <sup>-6</sup> )	离子碎片	归属/类别
1	龙胆二糖	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	1.192	[M-H] <sup>-</sup>	341.108 9	341.108 5	-1.2	179.055 2	ZZ/糖类
2	柠檬酸	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	1.490	[M-H] <sup>-</sup>	191.019 7	191.018 7	-5.2	111.007 5, 87.007 4, 57.033 3	ZZ/有机酸
3	辛弗林 <sup>[14]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	1.656	[M+H] <sup>+</sup>	168.101 9	168.101 8	-0.6	150.091 4, 119.049 3	ZS/生物碱
4	腺苷	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	1.786	[M+H] <sup>+</sup>	268.104 0	268.103 8	-0.7	136.061 8	ZS/含氮类
5	3-O-(3-羟基,3-甲基)戊二酰基奎宁酸 <sup>[15]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	2.048	[M-H] <sup>-</sup>	335.098 4	335.098 3	-0.3	191.055 3, 173.044 8, 161.044 6	ZZ/有机酸
6	N-甲基酪胺 <sup>[16]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO	2.245	[M+H] <sup>+</sup>	152.107 0	152.107 0	0	121.064 9	ZS/生物碱
7	4-O-(3-羟基,3-甲基)戊二酰基奎宁酸 <sup>[17]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	2.291	[M-H] <sup>-</sup>	335.098 4	335.098 5	0.3	233.066 4, 191.055 2, 173.044 9, 161.044 4	ZZ/有机酸
8	去乙酰基车叶草苷酸 <sup>[18]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	2.417	[M-H] <sup>-</sup>	389.108 9	389.109 0	0.3	227.055 8, 183.065 4, 165.054 8	ZZ/环烯醚萜
9	大麦芽碱 <sup>[16]</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO	2.461	[M+H] <sup>+</sup>	166.122 6	166.122 6	-0.3	121.064 9	ZS/生物碱

表 1 (续)

峰号	名称	分子式	$t_R/min$	离子模式	理论值 ( $m/z$ )	实测值 ( $m/z$ )	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	离子碎片	归属/类别
10	5-O-(3-羟基-3-甲基)戊二酰基奎宁酸 <sup>[17]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	2.475	[M-H] <sup>-</sup>	335.098 4	335.098 5	0.3	233.066 2, 191.055 3, 173.044 6, 161.044 5	ZZ/有机酸
11	没食子酸 <sup>[17]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	2.674	[M-H] <sup>-</sup>	169.014 2	169.013 1	-6.5	125.023 2	DH/有机酸
12	梔子新苷 <sup>[18]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	3.106	[M-H] <sup>-</sup>	373.114 0	373.113 7	-0.8	211.061 2, 193.049 8, 123.043 8	ZZ/环烯醚萜
13	山梔苷 <sup>[18]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	3.952	[M-H] <sup>-</sup>	391.124 6	391.124 4	-0.5	229.070 9, 185.081 0	ZZ/环烯醚萜
14	梔子苷酸 <sup>[18]*</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	4.394	[M-H] <sup>-</sup>	373.114 0	373.113 6	-1.1	211.060 5, 149.059 7, 123.043 9	ZZ/环烯醚萜
15	去乙酰车叶草苷酸甲酯 <sup>[18]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	4.879	[M-H] <sup>-</sup>	403.124 6	403.124 3	-0.7	241.071 3, 223.060 8, 101.023 0	ZZ/环烯醚萜
16	原儿茶酸 <sup>[16]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	5.097	[M-H] <sup>-</sup>	153.019 3	153.018 2	-7.2	153.018 2, 109.028 2	DH/有机酸
17	羟异梔子苷 <sup>[18]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	5.393	[M-H] <sup>-</sup>	403.124 6	403.124 3	-0.7	241.071 4, 223.060 6, 101.023 1	ZZ/环烯醚萜
18	picrococinic acid	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	5.668	[M-H] <sup>-</sup>	345.155 5	345.155 0	-1.4	179.055 0, 165.091 0	ZZ/有机酸
19	新绿原酸 <sup>[19]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	5.805	[M-H] <sup>-</sup>	353.087 8	353.087 5	-0.8	191.055 2, 135.044 0	ZZ、ZS/有机酸
20	鸡屎藤次苷甲酯	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	6.032	[M-H] <sup>-</sup>	403.124 6	403.124 1	-1.2	241.071 4, 139.038 9, 101.023 1	ZZ/环烯醚萜
21	jasminoside B	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	6.562	[M-H] <sup>-</sup>	345.155 5	345.155 3	-0.6	179.055 1, 165.091 0, 101.023 1, 89.023 0	ZZ/糖苷
22	儿茶素 <sup>[20]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	6.795	[M-H] <sup>-</sup>	289.071 8	289.071 5	-1.0	245.081 5, 222.076 5, 205.049 9, 203.070 7, 151.038 6, 137.023 2	DH/酚类
23	阿魏酸 <sup>[20]</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	7.606	[M-H] <sup>-</sup>	193.050 6	193.049 7	-4.7	149.059 7	DDC/有机酸
24	绿原酸 <sup>[19]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	8.375	[M-H] <sup>-</sup>	353.087 8	353.087 4	-1.1	191.055 3, 179.034 1, 135.043 6	DDC、ZZ、ZS/ 有机酸
25	京尼平龙胆双糖苷 <sup>[18]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	8.490	[M-H] <sup>-</sup>	549.182 5	549.181 8	-1.3	225.076 4, 207.065 7, 123.043 9, 101.023 1	ZZ/环烯醚萜
26	表儿茶素	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	8.498	[M-H] <sup>-</sup>	289.071 8	289.071 4	-1.4	245.081 5, 221.081 3, 205.050 1, 203.070 2, 179.034 2, 137.023 3, 109.028 3	DH/酚类
27	隐绿原酸 <sup>[19]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	8.952	[M-H] <sup>-</sup>	353.087 8	353.087 7	-0.3	191.055 3, 179.033 7, 135.044 1	ZZ、ZS/有机酸
28	咖啡酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	9.634	[M-H] <sup>-</sup>	179.035 0	179.034 0	-5.6	135.043 9	DH、ZS/有机酸
29	梔子苷 <sup>[18]*</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	9.997	[M-H] <sup>-</sup>	387.129 7	387.129 2	-1.3	225.076 4, 207.065 6, 123.043 9, 101.023 2	ZZ/环烯醚萜
30	diosmetin-6,8 di-C-glucoside <sup>[21]</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	11.595	[M-H] <sup>-</sup>	623.161 8	623.161 8	0.1	503.119 2, 383.077 3, 315.051 0	ZS/黄酮
31	6-甲基大黄酸-8-O-β-D-葡萄糖苷 <sup>[16]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	12.244	[M-H] <sup>-</sup>	459.093 3	459.092 9	-0.9	415.102 6, 297.096 1, 253.050 3, 225.076 3, 207.066 0	DH/蒽醌
32	大豆苷 <sup>[15]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	12.296	[M-H] <sup>-</sup>	415.103 5	415.103 0	-1.2	253.049 5, 252.042 5, 89.023 1	DDC/异黄酮
33	没食子酸乙酯 <sup>[16]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	12.323	[M-H] <sup>-</sup>	197.045 5	197.044 6	-4.6	169.013 2, 125.023 1	DH/酯类

表 1 (续)

峰号	名称	分子式	<i>t</i> <sub>R</sub> /min	离子模式	理论值 ( <i>m/z</i> )	实测值 ( <i>m/z</i> )	误差 (×10 <sup>-6</sup> )	离子碎片	归属/类别
34	对香豆酸 <sup>[16]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	12.608	[M-H] <sup>-</sup>	163.040 1	163.039 0	-6.7	119.049 0	DH、DDC、ZS/ 有机酸
35	黄豆黄苷 <sup>[15]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	12.796	[M-H] <sup>-</sup>	445.114 0	445.113 6	-0.9	283.059 4, 282.053 2, 267.029 5	DDC/异黄酮
36	圣草次苷	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	13.634	[M-H] <sup>-</sup>	595.166 8	595.166 3	-0.8	287.056 0, 151.002 6, 135.043 9, 107.012 5	ZS/黄酮
37	芦丁	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	13.921	[M-H] <sup>-</sup>	609.146 1	609.145 6	-0.8	301.034 6, 300.027 3	DDC、ZZ、ZS/ 黄酮
38	新北美圣草苷 <sup>[14]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	14.162	[M-H] <sup>-</sup>	595.166 8	595.166 0	-1.3	459.114 5, 287.056, 151.002 6	ZS/黄酮
39	异槲皮素 <sup>[19]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	14.435	[M-H] <sup>-</sup>	463.088 2	463.088 2	0	300.027 4, 271.025 7, 225.076 4	ZZ/黄酮
40	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	14.453	[M-H] <sup>-</sup>	593.151 2	593.151 3	0.2	285.040 2, 151.002 6	ZS/黄酮
41	染料木苷 <sup>[15]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	14.743	[M-H] <sup>-</sup>	431.098 4	431.097 8	-1.4	269.044 5, 268.037 5	DDC/异黄酮
42	3,4- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸 <sup>[15]</sup>	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	15.189	[M-H] <sup>-</sup>	515.119 5	515.119 0	-1.0	353.087 7, 191.055 3, 179.034 1, 173.044 6, 135.044 0	ZZ/有机酸
43	柚皮苷 <sup>[14]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	15.663	[M-H] <sup>-</sup>	579.171 9	579.171 0	-1.6	459.115 3, 271.061 1, 151.002 5	ZS/黄酮
44	野漆树苷*	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	15.727	[M-H] <sup>-</sup>	577.156 3	577.155 8	-0.9	269.045 4, 151.002 5	ZS/黄酮
45	jasminoside Q <sup>[15]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>12</sub>	15.947	[M-H] <sup>-</sup>	491.213 4	491.213 0	-0.8	323.098 3, 221.066 2, 179.055 2, 167.106 8, 119.033 8	ZZ/糖苷
46	6'- <i>O</i> -反式-对香豆酰基京尼平龙胆双糖苷 <sup>[19]</sup>	C <sub>32</sub> H <sub>40</sub> O <sub>17</sub>	16.225	[M-H] <sup>-</sup>	695.219 3	695.218 6	-1.0	663.197 1, 469.134 9, 225.076 2, 145.028 3, 123.043 9, 101.023 1	ZZ/环烯醚萜
47	香叶木苷	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	16.276	[M-H] <sup>-</sup>	607.166 8	607.166 5	-0.5	299.055 8, 284.032 4	ZS/黄酮
48	3,5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸 <sup>[19]</sup>	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	16.326	[M-H] <sup>-</sup>	515.119 5	515.119 2	-0.6	353.087 6, 191.055 1, 173.044 5	ZZ/有机酸
49	6'- <i>O</i> -反式-芥子酰基京尼平龙胆双糖苷 <sup>[19]</sup>	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>19</sub>	16.347	[M-H] <sup>-</sup>	755.240 4	755.240 3	-0.1	529.158 3, 225.075 9, 123.043 9	ZZ/环烯醚萜
50	橙皮苷	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	16.492	[M-H] <sup>-</sup>	609.182 5	609.181 2	-2.1	301.071 6, 151.002 4	ZS/黄酮
51	西红花苷I	C <sub>44</sub> H <sub>64</sub> O <sub>24</sub>	16.670	[M-H] <sup>-</sup>	975.371 5	975.370 2	-1.3	651.265 8, 327.160 1	ZZ/西红花苷
52	3,5-二咖啡酰基-4-(3-羟基-3-甲基)戊二酰基奎宁酸 <sup>[15]</sup>	C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	16.870	[M-H] <sup>-</sup>	659.161 8	659.161 6	-0.3	497.130 1, 353.088 1, 191.055 3	ZZ/有机酸
53	大黄素-1- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	17.034	[M-H] <sup>-</sup>	431.098 4	431.097 9	-1.2	269.045 4, 240.041 3, 225.054 6	DH/蒽醌
54	jasminoside T <sup>[15]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>11</sub>	17.300	[M-H] <sup>-</sup>	461.202 8	461.202 6	-0.4	313.056 3, 211.024 8, 167.106 7, 101.022 9	ZZ/糖苷
55	橙皮内酯	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	17.595	[M+H] <sup>+</sup>	261.112 1	261.111 8	-1.3	243.101 5, 201.054 7	ZS/香豆素
56	3- <i>O</i> -咖啡酰基-4- <i>O</i> -芥子酰基奎宁酸 <sup>[15]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	17.758	[M-H] <sup>-</sup>	559.145 7	559.145 2	-0.9	397.113 7, 173.044 6	ZZ/有机酸
57	大豆苷元 <sup>[15]*</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	18.551	[M-H] <sup>-</sup>	253.050 6	253.050 2	-1.6	135.225 8	DDC/异黄酮
58	黄豆黄素 <sup>[15]*</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	19.064	[M-H] <sup>-</sup>	283.061 2	283.061 0	-0.7	268.037 6, 240.042 3	DDC/异黄酮

表 1 (续)

峰号	名称	分子式	$t_R$ /min	离子模式	理论值 ( $m/z$ )	实测值 ( $m/z$ )	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	离子碎片	归属/类别
59	香风草苷	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	19.104	[M-H] <sup>-</sup>	593.187 6	593.187 3	-0.5	285.076 8, 241.087 0, 151.002 2	ZS/黄酮
60	圣草酚 <sup>[16]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	19.123	[M-H] <sup>-</sup>	287.056 1	287.055 9	-0.7	151.002 6, 135.044 0	ZS/酚类
61	marmesin <sup>[21]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	19.427	[M-H] <sup>-</sup>	245.081 9	245.081 2	-2.9	175.039 3	ZS/香豆素
62	大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖 苷 <sup>[22]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	19.443	[M-H] <sup>-</sup>	415.103 5	415.103 0	-1.2	277.050 3, 253.050 1, 239.070 7	DH/蒽醌
63	枸橼苷	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	19.505	[M-H] <sup>-</sup>	593.187 6	593.186 8	-1.3	285.076 7, 151.002 5	ZS/黄酮
64	槲皮素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	19.585	[M-H] <sup>-</sup>	301.035 4	301.035 0	-1.3	151.002 6	ZZ、ZS/黄酮
65	大黄素-8-O-β-D-葡萄糖 苷 <sup>[22]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	19.674	[M-H] <sup>-</sup>	431.098 4	431.097 8	-1.4	269.045 3, 240.041 9	DH/蒽醌
66	柚皮素 <sup>[14]*</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	21.205	[M-H] <sup>-</sup>	271.061 2	271.060 8	-1.5	151.002 5, 119.049 0	ZS/黄酮
67	染料木素 <sup>[15]*</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	21.330	[M-H] <sup>-</sup>	269.045 5	269.045 3	-0.7	225.055 2, 161.044 3	DDC/异黄酮
68	山柰酚	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	21.645	[M-H] <sup>-</sup>	285.040 5	285.040 2	-1.1	151.002 6	ZS/黄酮
69	西红花苷II <sup>[17]</sup>	C <sub>38</sub> H <sub>54</sub> O <sub>19</sub>	21.833	[M-H] <sup>-</sup>	813.318 7	813.318 4	-0.4	651.266 8, 489.214 0, 327.159 9	ZZ/西红花苷
70	异橙黄酮	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	22.406	[M+H] <sup>+</sup>	373.128 2	373.127 6	-1.6	357.096 5, 343.081 1, 327.047 1, 181.013 3	ZS/黄酮
71	大黄酸甲酯	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	22.881	[M-H] <sup>-</sup>	297.040 5	297.040 0	-1.7	253.050 3, 225.055 9	DH/蒽醌
72	橙黄酮	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	23.658	[M+H] <sup>+</sup>	373.128 2	373.127 7	-1.3	358.104 3, 343.081 1, 329.101 8, 312.098 9	ZS/黄酮
73	异橙皮内酯 <sup>[16]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	23.710	[M+H] <sup>+</sup>	261.112 1	261.111 8	-1.1	243.101 5, 189.054 6	ZS/香豆素
74	柠檬苦素 <sup>[23]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>	24.275	[M+H] <sup>+</sup>	471.201 3	471.201 3	-0.2	425.195 7, 367.190 1, 161.059 7	ZS/萜类
75	大黄酸 <sup>[22]*</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	24.542	[M-H] <sup>-</sup>	283.024 8	283.024 4	-1.5	239.034 5, 211.038 8, 183.044 6	DH/蒽醌
76	川陈皮素	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	25.037	[M+H] <sup>+</sup>	403.138 7	403.138 1	-1.5	388.115 1, 373.091 7, 358.066 5, 183.030 0	ZS/黄酮
77	橘皮素 <sup>[14]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	26.730	[M+H] <sup>+</sup>	373.128 2	373.127 8	-1.1	358.104 6, 343.081 0, 325.069 5, 297.075 0	ZS/黄酮
78	大黄素 <sup>[22]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	28.793	[M-H] <sup>-</sup>	269.045 5	269.045 1	-1.5	241.049 6, 225.055 7, 181.070 7	DH/蒽醌
79	藏红花酸	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	30.921	[M-H] <sup>-</sup>	327.160 2	327.159 8	-1.2	283.170 4, 239.180 4, 119.085 1	ZZ/有机酸
80	大黄素甲醚*	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	32.076	[M-H] <sup>-</sup>	283.061 2	283.060 9	-1.1	239.068 2	DH/蒽醌
内标	芍药苷 <sup>[17]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>	11.933	[M-H] <sup>-</sup>	479.155 9	479.155 5	-0.9	327.108 6, 121.028 3	内标

ZZ 表示来自栀子, ZS 表示来自枳实, DH 表示来自大黄, DDC 表示来自淡豆豉; \*与对照品比对。

ZZ represents from *Gardenia jasminoides*, ZS represents from *Citrus aurantium*, DH represents from *Rheum palmatum*, and DDC represents from *Semen Sojae Praeparatum*; \*components confirmed by comparison with the reference standards.

119.049 0 [M-H-C<sub>7</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>]<sup>-</sup>, 经对照品比对, 确认为柚皮素。化合物 **76**, 准分子离子峰  $m/z$  403.138 1 [M+H]<sup>+</sup>, 二级质谱图中可见准分子离子峰连续丢失 CH<sub>3</sub> 产生  $m/z$  388.115 1 [M+H-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>、373.091 7 [M+H-2CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>、358.066 5 [M+H-3CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 以及进一步开环裂解、丢失 CO 产生 [M+H-2CH<sub>3</sub>-

C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>-CO]<sup>+</sup>, 推测为川陈皮素。可能的裂解途径推测见图 4。

蒽醌类物质主要来自大黄, 这些蒽醌类物质中, 结合糖类化合物易丢失糖单元, 游离的蒽醌易发生不饱和环开裂产生 CO<sub>2</sub>、CO、H<sub>2</sub>O 丢失。以大黄素为例阐述推导过程。化合物 **78**, 参考文献

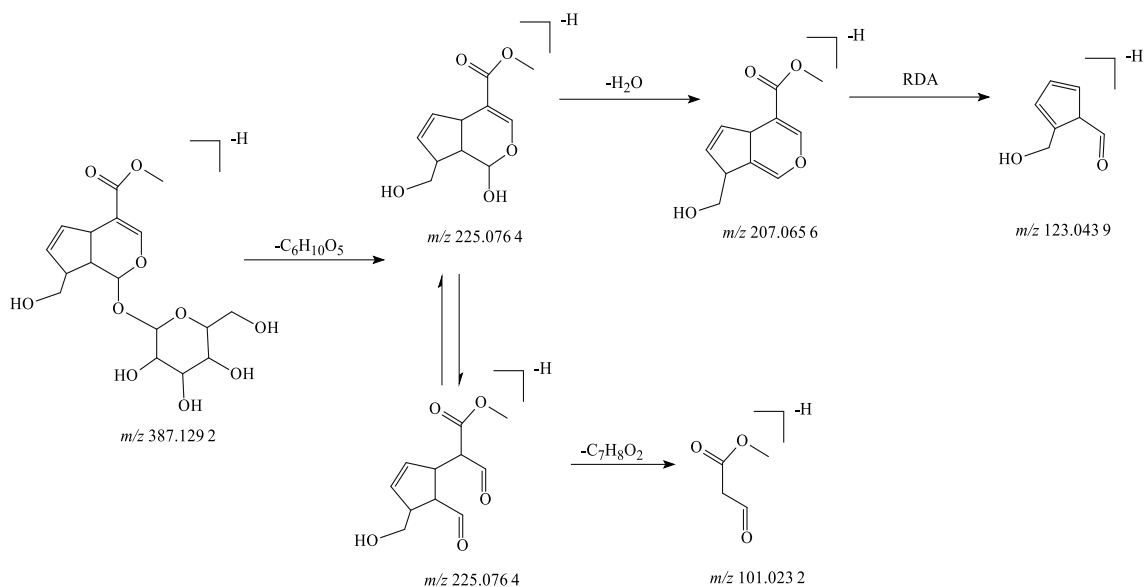


图 2 29 号峰栀子苷可能的裂解途径

Fig. 2 Possible fragmentation pathway of geniposide in peak 29

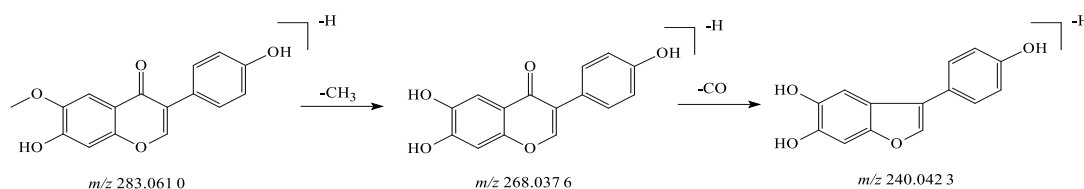


图 3 58 号峰黄豆黄素可能的裂解途径

Fig. 3 Possible fragmentation pathway of glycitein in peak 58

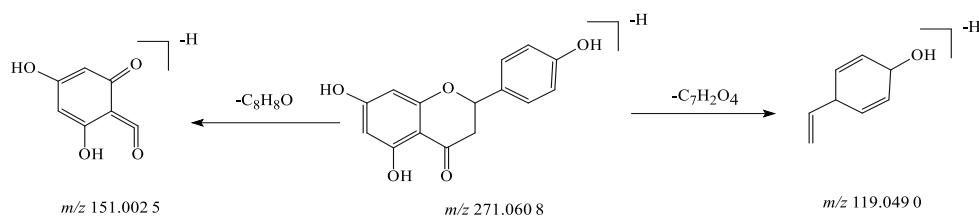


图 4 66 号峰柚皮素可能的裂解途径

Fig. 4 Possible fragmentation pathway of naringenin in peak 66

报道<sup>[24]</sup>, 推测其在负离子模式下获得准分子离子峰为  $m/z$  269.045 1  $[M-H]^-$ , 丢失 1 个  $CO$  分子, 产生碎片离子  $m/z$  241.049 6  $[M-H-CO]^-$ , 准分子离子峰发生重排裂解, 丢失 1 个中性的  $CO_2$  分子, 产生  $m/z$  225.055 7  $[M-H-CO_2]^-$ , 进一步丢失 1 个中性的  $CO_2$  分子, 产生  $m/z$  181.070 7  $[M-H-2CO_2]^-$ , 推测为大黄素。可能的裂解途径推测见图 5。

### 3.2 栀子大黄汤对酒精性肝损伤的保护作用

3.2.1 栀子大黄汤对酒精性肝损伤小鼠肝脏功能指标影响 如图 6 所示, 与对照组相比, 模型组小

鼠血清 ALT、AST 和 TG 水平均显著升高 ( $P < 0.001$ ); 与模型组相比, 联苯双酯组 (B)、古方组 (G) 和优化方组 (Y) 小鼠血清 ALT、AST 和 TG 水平均显著降低 ( $P < 0.01$ ), 而古方组 (G) 和优化方组 (Y) 相比, 小鼠血清 ALT、AST 和 TG 水平均明显降低 ( $P < 0.05$ )。

3.2.2 栀子大黄汤对酒精性肝损伤小鼠组织病理影响 如图 7 所示, 正常组肝细胞圆润、饱满; 肝板排列规则、整齐, 肝窦无明显扩张或挤压; 相邻肝小叶之间的门管区无明显异常; 未见明显的炎性

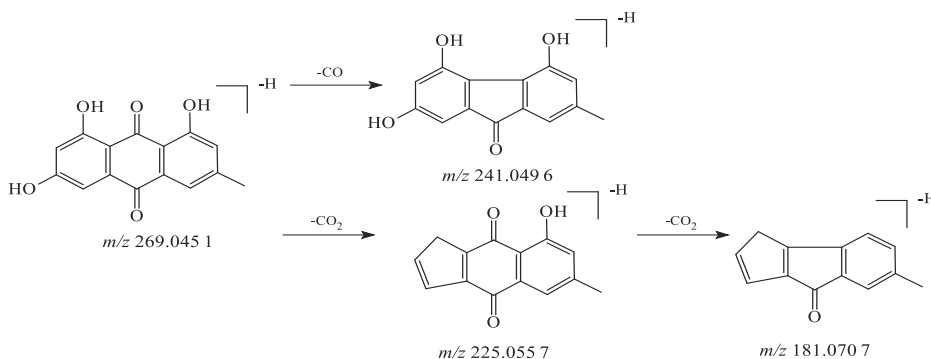
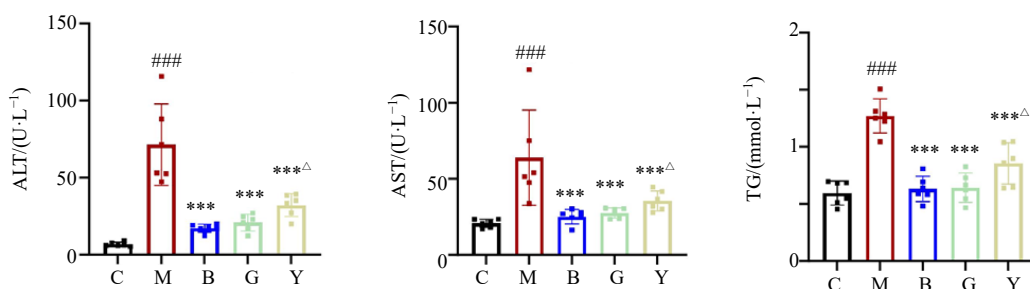


图5 78号峰大黄素可能的裂解途径

Fig. 5 Possible fragmentation pathway of emodin in peak 78



与C组相比: ### $P < 0.001$ ; 与M组相比: \*\*\* $P < 0.001$ , 与G组相比: Δ $P < 0.05$ 。

### $P < 0.001$  vs C group; \*\*\* $P < 0.001$  vs M group; Δ $P < 0.05$  vs G group.

图6 小鼠肝脏功能指标 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 6 Liver function indexes of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

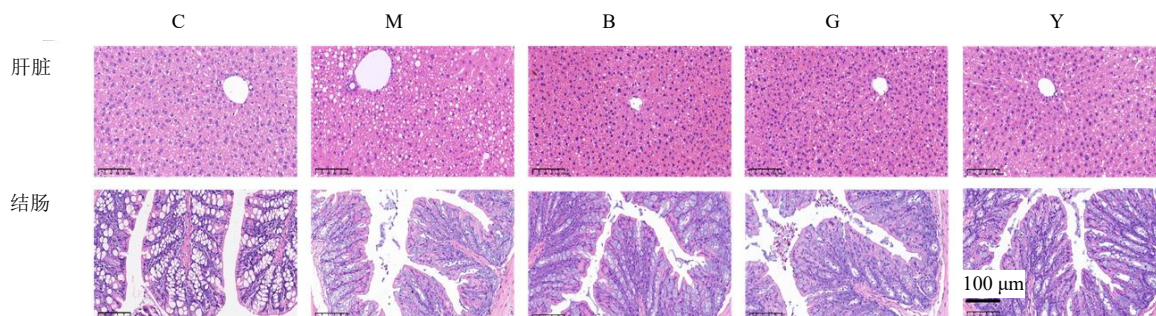


图7 小鼠肝脏和结肠组织HE染色结果 (20×)

Fig. 7 HE staining results of liver and colon tissues of mice (20×)

改变。模型组肝细胞排列紊乱，肝细胞内的空泡表示肝细胞重度脂肪变性。给药后，肝细胞内脂肪变性减轻；中心静脉及汇管区未见明显扩张，表明给药后肝脏病变有明显减轻。

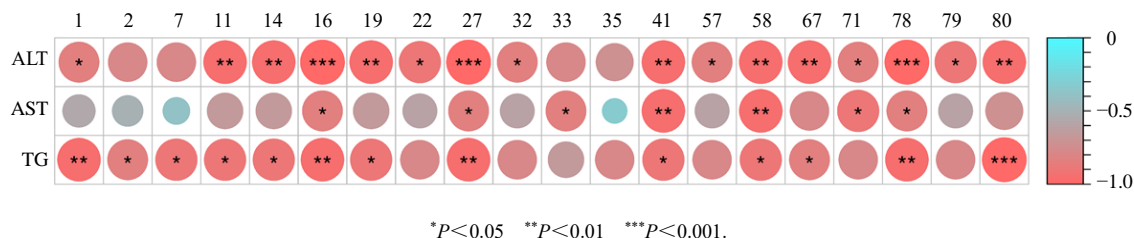
正常组结肠组织腺体结构基本正常，组织黏膜上皮细胞排列较规则，未见明显的炎症细胞浸润。模型组小鼠黏膜上皮细胞脱落，杯状细胞减少，给药组小鼠结肠黏膜损伤好转，结构较完整，表明给药后肠组织病理情况有所改善。

### 3.3 栀子大黄汤与酒精性肝损伤小鼠谱效关系分析

**3.3.1 Spearman 相关性分析** Spearman 相关性分析是一种非参数统计方法，该分析方法无需假设数据服从正态分布，且对异常值具有较强的耐受性，可有效适配中药复方成分与药效指标的复杂数据特征。通过 Spearman 相关性分析计算各峰相对峰面积与药效指标的相关性，见图 8。结果发现 ALT 与龙胆二糖、没食子酸、栀子苷酸、原儿茶酸、新绿原酸、儿茶素、隐绿原酸、大豆苷、染料木苷、

大豆昔元、黄豆黄素、染料木素、大黄酸甲酯、大黄素、藏红花酸、大黄素甲醚呈负相关 ( $P < 0.05$ )，AST 与原儿茶酸、隐绿原酸、没食子酸乙酯、染料木苷、黄豆黄素、大黄酸甲酯、大黄素呈负相关 ( $P < 0.05$ )，TG 与龙胆二糖、柠檬酸、4-O-(3-羟基,3-甲基)戊二酰基奎宁酸、没食子酸、栀子苷酸、原儿茶酸、新绿原酸、隐绿原酸、染料木苷、黄豆黄素、

染料木素、大黄素、大黄素甲醚呈负相关 ( $P < 0.05$ )。为进一步验证筛选获得的物质在古方组与优化方组中的含量，对各物质的色谱峰相对含量进行了对比分析，结果如图 9 所示。热图结果显示，筛选的物质的相对含量水平在古方组中整体高于优化方组。结合上述药效结果印证了，中药不同配伍比例下，有效成分的含量有所不同，相关疗效也有明显差异。



\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ .

图 8 药效指标和成分相关性

Fig. 8 Correlation between pharmacodynamic indexes and components

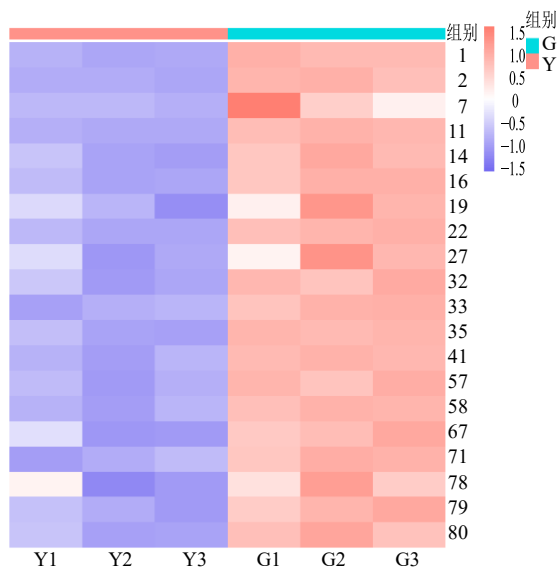


图 9 2 种配方药效成分相对含量热图

Fig. 9 Heatmap of relative content of active ingredients in two formulations

**3.3.2 灰色关联分析** 灰色关联分析可有效表征不同因素间的关联程度，其核心原理为通过计算指标间的关联度并进行排序分析，关联度数值越高，表示关联越紧密，对药效发挥的贡献度也越大。为消除因变量与自变量间量纲差异造成的分析干扰，本研究采用均值化法对原始数据实施无量纲化处理。以药效指标作为母序列，以 Spearman 相关性筛选得到的峰序相对峰面积作为子序列，将 2 组数据导入软件进行计算，结果见表 2。

参照分析判定标准，关联度  $> 0.8$  提示子序列与母序列关联紧密，关联度处于  $0.6 \sim 0.8$  则提示

表 2 2 种配方药效关联度

Table 2 Pharmacological efficacy correlation of two formulations

峰号	关联度结果		
	ALT	AST	TG
1	0.823	0.702	0.755
2	0.785	0.822	0.856
7	0.719	0.765	0.793
11	0.835	0.742	0.802
14	0.769	0.825	0.867
16	0.793	0.848	0.875
19	0.737	0.809	0.803
22	0.806	0.811	0.874
27	0.728	0.800	0.791
32	0.780	0.839	0.863
33	0.728	0.568	0.862
35	0.796	0.829	0.847
41	0.793	0.817	0.847
57	0.791	0.813	0.853
58	0.793	0.823	0.847
67	0.755	0.827	0.842
71	0.765	0.794	0.781
78	0.721	0.784	0.857
79	0.764	0.818	0.855
80	0.834	0.815	0.619

两者关联程度一般。将灰色关联度结果和 Spearman 相关性分析综合分析发现 14 号峰栀子苷酸、16 号峰原儿茶酸、41 号峰隐绿原酸、67 号峰染料木素、78 号峰大黄素是与 ALD 相关性更密切的物质。综上，栀子大黄汤提取物对 ALD 的保护作用，是由其

内部多种化学成分协同作用所介导的。

#### 4 讨论

枳实破气消积、消胀除满，常用来治疗功能性消化不良。现代优化方中用量较大，但未引起药效的显著增强，可能是古方用量已足够与整体复方构成的化学成分体系发挥酒精性肝损伤保护作用，体内吸收出现饱和<sup>[25]</sup>，则药量的增加并不能带来药效上的显著差异。古方中淡豆豉占比较高，其发酵过程中产生的多种有机酸和氨基酸会导致体系酸度增加<sup>[26]</sup>，使整个汤剂 pH 值相对降低，而酸性环境恰好为槲子中槲子苷的转化提供了条件——槲子苷苷键不稳定，在酸性加热条件下易发生水解，转化为槲子苷元后进一步氧化生成槲子苷酸，这也使得古方比例中槲子苷酸含量更高。值得注意的是，槲子苷酸作为沉默信息调节蛋白 6 (NAD-dependent deacetylase sirtuin-6, SIRT6) 的新型激活剂，可以调节过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , PPAR  $\alpha$ ) 信号传导，导致脂肪酸  $\beta$  氧化受损，进而增加胆固醇和三酰甘油合成，因此槲子苷酸可通过直接作用于肝脏 SIRT6，促进其表达并增强去乙酰化酶活性，激活 SIRT6-PPAR $\alpha$  信号通路以减轻肝脂肪变性<sup>[27]</sup>，这与槲子苷酸与 TG 呈显著负相关的结果相契合。

淡豆豉中丰富的异黄酮也是发挥药效的重要物质基础，这些异黄酮可通过肠道菌群激活脂质代谢和炎症反应通路，实现调血脂效果<sup>[28]</sup>，有研究证实，淡豆豉 ig 可降低酗酒大鼠血醇、炎症因子和调节血脂，发挥酒精性肝损伤保护作用<sup>[29]</sup>，这与上述异黄酮成分多与 ALT、TG 呈负相关的结果一致。此外，现代药理研究发现槲子过量服用具有肝毒性，但与淡豆豉配伍后肝毒性可显著减轻<sup>[30]</sup>，古方中大剂量淡豆豉的配伍设计，可能正是为了减轻槲子毒性，保障用药安全。大黄中的蒽醌类成分与 ALT、TG 呈负相关。研究证实，大黄素可显著降低对乙酰氨基酚诱导的 ALT、AST 升高，其机制可能与上调核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 介导的抗氧化应激通路、抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症小体激活及下调环磷酸鸟苷-磷酸腺苷合成酶-干扰素基因刺激蛋白 (cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon genes, cGAS-STING) 信号通路有关<sup>[31]</sup>，这为大黄素与 ALT、AST 呈负相

关的结果提供了直接的药效学解释。

与 ALT、AST、TG 均呈负相关的原儿茶酸和隐绿原酸，也通过明确的信号通路发挥 ALD 保护作用：原儿茶酸可通过调控 miR-219a-5p/p66shc 信号通路发挥 ALD 保护作用<sup>[32]</sup>，隐绿原酸则能通过抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/核因子- $\kappa$ B 信号通路 (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signaling pathway/nuclear factor kappa-B, PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B) 信号通路减少促炎因子释放，发挥抗炎作用<sup>[33]</sup>，这也为二者与多个肝损伤相关药效指标呈负相关的结果提供了合理的机制解释。此外，与 ALT 呈负相关的藏红花酸作为强效抗氧化剂，可清除活性氧和自由基，有报道显示摄入藏红花酸纳米脂质体可显著提高小鼠肝脏中乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶的活性，加速酒精在体内的代谢<sup>[34]</sup>，推测其可能通过促进酒精代谢、减轻氧化应激损伤，从而降低 ALT 水平，发挥肝脏保护作用。

本研究采用 UHPLC-Q-Orbitrap MS 技术，对古方和现代优化方 2 种比例下的槲子大黄汤进行成分定性，并结合药理实验评估 2 种比例对酒精性肝损伤保护作用。结果表明，古方比例下的 ALT、AST、TG 水平均明显低于现代优化方，这与其成分密切相关。进一步将各成分相对峰面积和药效指标做谱效关系分析，发现槲子苷酸、原儿茶酸、隐绿原酸、染料木素、大黄素是槲子大黄汤发挥酒精性肝损伤保护作用密切相关的物质。本研究为阐释古方药效活性成分、指导临床合理用药及后续药效物质的深入开发提供了实验依据与理论支撑。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 李海英, 贺鹏, 贺玉婷, 等. 中药复方配伍研究的关键问题及超分子化学解决对策 [J]. 中草药, 2019, 50(12): 2757-2762.
- [2] Wang F S, Fan J G, Zhang Z, *et al.* The global burden of liver disease: The major impact of China [J]. *Hepatology*, 2014, 60(6): 2099-2108.
- [3] 国家中医药管理局. 国家中医药管理局 国家药品监督管理局关于印发《古代经典名方目录 (第二批)》的通知 [EB/OL]. (2023-8-23)[2023-09-01]. <http://www.natcm.gov.cn/kejisi/gongzuodongtai/2023-09-01/31743.html>.
- [4] 侯逸文, 张荣杰, 纪龙珊, 等. 槲子大黄汤在酒精性肝病小鼠模型中的保护作用 [J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(12): 2873-2884.
- [5] 李欣昕, 陈林飞, 欧阳永中, 等. 槲子大黄汤对酒精性

- 肝损伤保护作用的质谱评价 [J]. 中国药科大学学报, 2015, 46(5): 579-586.
- [6] Wu H, Wang D, Meng J, *et al.* A plasma untargeted metabolomic study of Chinese medicine Zhi-Zi-Da-Huang Decoction intervention to alcohol-induced hepatic steatosis [J]. *Anal Methods*, 2017, 9(4): 586-592.
- [7] 朱鹤云, 毕开顺, 韩飞, 等. 栀子大黄汤中活性成分在正常大鼠和酒精性肝损伤大鼠体内的药动学比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(22): 77-81.
- [8] 高乐乐, 梁绿圆, 曹佳蕾, 等. 经典名方栀子大黄汤的文献考证及临床应用分析 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(7): 86-94.
- [9] 张鼎, 蒋鑫, 赵日开, 等. 经典名方栀子大黄汤的文献考证及现代临床应用特点分析 [J]. 世界中医药, 2024, 19(24): 3827-3834.
- [10] 傅延龄, 宋佳, 张林. 论张仲景对方药的计量只能用东汉官制 [J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(6): 365-369.
- [11] 丘光明, 邱隆, 杨平. 中国科学技术史 度量衡卷 [M]. 北京: 科学出版社, 2017: 391.
- [12] 李经纬, 王振瑞. 简明中医辞典 [M]. 第3版. 北京: 中国中医药出版社, 2018: 1118.
- [13] 傅延龄, 张林, 宋佳. 中药临床用量流域研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2015: 20-43.
- [14] Wen L R, He M Y, Yin C X, *et al.* Phenolics in *Citrus aurantium* fruit identified by UHPLC-MS/MS and their bioactivities [J]. *LWT*, 2021, 147: 111671.
- [15] 陈梦倩, 王允吉, 冯芳. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 的栀子甘草豉汤化学成分分析 [J]. 广州化工, 2021, 49(8): 97-103.
- [16] 王艳敏, 江垭霓, 徐艳蕊, 等. 基于 UHPLC Q-Exactive Orbitrap MS 结合特征分子网络技术的大承气汤化学成分快速分析 [J]. 中草药, 2025, 56(18): 6531-6557.
- [17] 张安娜, 陈森杰, 周晨阳, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS 分析柴胡清肝汤的物质基础及其体内分布特征 [J]. 中草药, 2025, 56(14): 4947-4965.
- [18] Han Y, Wen J, Zhou T T, *et al.* Chemical fingerprinting of *Gardenia jasminoides* Ellis by HPLC-DAD-ESI-MS combined with chemometrics methods [J]. *Food Chem*, 2015, 188: 648-657.
- [19] Zhou J, Zhang Y J, Li N, *et al.* A systematic metabolic pathway identification of common *Gardenia* fruit (*Gardeniae Fructus*) in mouse bile, plasma, urine and feces by HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2020, 1145: 122100.
- [20] 热则耶·艾力, 陶楚君, 刘旖哲, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS 的络明目胶囊化学成分轮廓分析 [J]. 中草药, 2025, 56(17): 6108-6120.
- [21] Hwang Y H, Ma J Y. Preventive effects of an UPLC-DAD-MS/MS fingerprinted hydroalcoholic extract of *Citrus aurantium* in a mouse model of ulcerative colitis [J]. *Planta Med*, 2018, 84(15): 1101-1109.
- [22] Li Y, Zhao Y, Niu X, *et al.* Distinguishment of different varieties of rhubarb based on UPLC fingerprints and chemometrics [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 241: 116003.
- [23] 于国华, 杨洪军, 李俊芳, 等. 基于 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 技术分析枳实中的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(18): 3371-3378.
- [24] 崔培坤. 大黄蒽醌 ESI-ITMS<sup>n</sup> 质谱行为的量子化学辅助研究 [D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2013.
- [25] 王旭杰. 元姜片治疗缓慢性心律失常的药效机制与药代动力学研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2024.
- [26] Chai C, Cui X B, Shan C X, *et al.* Simultaneous characterization and quantification of varied ingredients from *Sojae Semen Praeparatum* in fermentation using UFLC-TripleTOF MS [J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1864.
- [27] Zhou Y Y, Feng M, Hai H Y, *et al.* Geniposidic acid alleviated metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease by exciting SIRT6 signaling [J]. *Phytomedicine*, 2025, 146: 157140.
- [28] An M Q, Xu Y N, Xiao N, *et al.* Douchi ameliorates high-fat diet-induced hyperlipidaemia by regulation of intestinal microflora in rats [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2022, 57(5): 2756-2769.
- [29] 赵文俊, 叶倩君, 李伟杰, 等. 自制淡豆豉对 SD 大鼠急性酒精性肝损伤的保护作用 [J]. 现代食品科技, 2022, 38(11): 11-19.
- [30] 杜玉青, 袁美杰, 王鑫国. 栀子与淡豆豉配伍减毒机制的研究 [J]. 河北中医, 2019, 41(1): 91-95.
- [31] Shen P, Han L, Chen G, *et al.* Emodin attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity via the cGAS-STING pathway [J]. *Inflammation*, 2022, 45(1): 74-87.
- [32] Fu R, Zhou J J, Wang R W, *et al.* Protocatechuic acid-mediated miR-219a-5p activation inhibits the p66shc oxidant pathway to alleviate alcoholic liver injury [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 3527809.
- [33] 龚明旭. 基于肝肠轴研究隐绿原酸对酒精相关性肝病的治疗作用及机制研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2025.
- [34] 南剑, 司冠儒, 程浩然, 等. 藏红花酸纳米脂质体抗酒精性肝损伤活性研究 [J]. 合肥工业大学学报: 自然科学版, 2025, 48(3): 376-380.