

本文引用:张也,伍红年,雷雅婷,刘隆基,王元清,刘乐平,严建业.UPLC-Q-TOF/MS结合镜像对比分析竹节参炮制前后成分变化[J].湖南中医药大学学报,2021,41(11):1689-1697.

UPLC-Q-TOF/MS结合镜像对比分析 竹节参炮制前后成分变化

张也¹,伍红年^{1,2},雷雅婷^{1,3},刘隆基¹,王元清⁴,刘乐平¹,严建业^{1,3*}

(1.湖南中医药大学科技创新中心,湖南长沙410208;2.浏阳市人民医院,湖南浏阳410399;

3.湖南中医药大学药学院,湖南长沙410208;4.中南林业科技大学生命科学与技术学院,湖南长沙410004)

[摘要] **目的** 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)结合镜像技术对比分析竹节参炮制前后成分的变化。**方法** 采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)色谱柱;流动相为 0.1%甲酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱;质谱采用电喷雾(ESI)离子源,在负离子模式下采集数据。**结果** 通过对照品指认、软件预测分析,结合文献报道,从竹节参炮制品中鉴定并推测出 29 个皂苷类化合物,与生品相比新增 5 种成分。**结论** 利用 UPLC-Q-TOF/MS 系统阐明竹节参生品与炮制品中化学成分,并初步归纳其质谱裂解特点,结合镜像对比分析,阐明不同炮制方法对竹节参皂苷类成分的影响,经加炮制后竹节参中的成分数量与响应面积均发生变化,为竹节参的质量控制和炮制应用研究提供了参考依据。

[关键词] 竹节参;皂苷类;炮制;超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱

[中图分类号]R284.1

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.11.008

Comparative Analysis of Composition Changes of *Panacis Japonici Rhizoma* Before and After Processing by UPLC-Q-TOF/MS Combined with Mirror Image

ZHANG Ye¹, WU Hongnian^{1,2}, LEI Yating^{1,3}, LIU Longji¹, WANG Yuanqing⁴, LIU Leping¹, YAN Jianye^{1,3*}

(1. Institute of Innovation and Applied Research in Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The People's Hospital of Liuyang, Liuyang, Hunan 410399, China; 3. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 4. The College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China)

[Abstract] **Objective** To compare and analyze the changes of components of *Panacis Japonici Rhizoma* before and after processing based on ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) and mirror image technique. **Methods** The ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) column was performed; the mobile phase consisted with 0.1% formic acid (A) and acetonitrile (B) for gradient elution; electrospray ion (ESI) source was applied for the analysis under the negative ion mode. **Results** 29 saponins were identified and inferred from *Panacis Japonici Rhizoma* processed products by reference substance identification, software prediction analysis and literature reports, and 5 new components were added compared with raw product. **Conclusion** The chemical constituents of *Panacis Japonici Rhizoma* raw product and processed products were elucidated by UPLC-Q-TOF/MS system, and the characteristics of mass spectrometry fragmentation were preliminarily summarized. The effects of different processing methods on the saponins of *Panacis Japonici Rhizoma* were clarified by mirror

[收稿日期]2021-06-26

[基金项目]湖南省自然科学基金项目(2020JJ4470);湖南省中医药科研计划项目(202072);湖南中医药大学中药学一流建设学科资助(校行科字[2018]3号)。

[作者简介]张也,女,在读硕士研究生,研究方向:中药制剂与质量控制

[通信作者]*严建业,男,副教授,硕士研究生导师,E-mail:yanjianye201@126.com。

contrast technique. The number and response area of components in *Panax Japonici Rhizoma* changed after heating processing, which provided a reference basis for the quality control and processing of *Panax Japonici Rhizoma*.

[**Keywords**] *Panax Japonici Rhizoma*; saponins; processing; ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry

竹节参又名白三七、竹节三七、竹节人参等,为五加科植物竹节参 *Panax japonicus* C. A. Mey. 的干燥根茎^[1], 收载于 1977 年及以后各版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》), 具有人参和三七的活血化瘀、滋补强壮之功效。现代研究表明, 竹节参中主要含有皂苷类、糖类、氨基酸、挥发油、无机元素等成分^[2]。皂苷类成分为竹节参中最主要的成分, 竹节参总皂苷对免疫性炎症及一般炎症均具有较好疗效^[3]。

竹节参是我国西南民族地区民间常用中草药, 目前, 国内外对竹节参的研究主要集中于化学成分与药理作用, 对竹节参的炮制应用研究少见报道。2020 年版《中国药典》一部竹节参饮片项下对炮制只有简单的描述“用时捣碎”, 各省市的炮制规范中, 对竹节参的炮制只有“取原药材, 除去杂质”“洗净, 润透, 切厚片, 干燥”等简略描述。竹节参与人参、三七为同科同属植物, 在应用上又有类似人参的益气补虚与三七的舒筋活血功效^[4], 其中人参、三七均有相应的炮制研究, 人参有生晒参、红参、大力参、糖参、酒制参、醋制参、黄泥煨参等炮制品, 三七有蒸制、砂炒、酒制、烘焙等炮制方法。中药经过加工炮制后, 药性和临床疗效都发生显著的变化, 说明中药在炮制过程中, 其物质基础发生了变化^[5]。中医药理论认为, 酒制能通行血脉, 药物酒制后能增强药物活血、通络、止痛之功效, 从而增强祛风湿止痛的作用; 醋制时能引药入肝经, 入血分, 增强散瘀止痛之功效^[6-7]。根据酒制和醋制的功效与机理以及目前人参、三七的炮制应用, 提示竹节参经炮制后有望能增强其临床疗效。

为了明确竹节参炮制前后活性成分变化规律并评价其质量, 对化学成分进行研究十分必要。近年来超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)分析技术, 集 UPLC 快速有效的色谱分离能力和高分辨质谱灵敏度高、定性能力强于一体, 已成为中药活性成分的快速分离和鉴定的有力手段之一^[8]。本研究以民间药物“草药之王”竹节参为研究对象, 采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术结合镜

像对比分析其炮制前后化学成分变化规律, 为竹节参的质量评价研究与临床合理应用提供理论依据, 为其他的民族类药材开发利用提供有益借鉴。

1 仪器与材料

1.1 主要仪器

Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)、Xevo G2-XS Q-TOF/MS 四级杆飞行时间质谱仪(美国 Waters 公司); YX-18LDJ 型手提式压力蒸汽灭菌锅(江阴滨江医疗设备有限公司); LE204E/02 型电子天平(梅特勒-托利多有限公司); Option R7 ultra AN 超纯水系统(英国 ELGA LabWaters 公司)。

1.2 主要试剂与试药

竹节参药材购自湖北恩施, 11 批竹节参生品与炮制品药材信息见表 1, 经湖南中医药大学龚力民副教授鉴定为五加科植物竹节参 *Panax japonicus* C. A. Mey. 的干燥根茎; 对照品人参皂苷 Rg1(批号 wkq15121303)、Re(批号 wkq16081605)、Rb1(批号 wkq16060402) 均购于四川省维克奇生物科技有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$; 竹节参皂苷 V(批号 HG027158198)、IV(批号 HA305950198)、IVa(批号 HC027157198) 均购于宝鸡市辰光生物科技有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$; 乙腈、甲醇(质谱纯, 德国默克股份有限公司), 甲酸(质谱纯, 德国 CNW 公司), 实验用水均为超纯水。

表 1 竹节参生品与炮制品信息

样品编号	炮制方法
S1	/
S2	蒸法
S3	醋蒸
S4	酒蒸
S5	烘法
S6	醋烘
S7	酒烘
S8	炒法
S9	醋炒
S10	酒炒
S11	醋煮

2 方法

2.1 药材的炮制

2.1.1 生品 取竹节参药材,放入合适的容器中,喷淋适量水,闷润至透,切成5~10 mm段,干燥,筛取灰屑,即得。

2.1.2 蒸法 取竹节参饮片20 g,放入合适的容器中,加入适量水,闷润2 h后放入蒸锅内,设置压力0.1 MPa(121 ℃),分别蒸3 h,取出,70 ℃干燥^[9]。

2.1.3 醋蒸法 取竹节参饮片20 g,放入瓷盆中,加20%米醋,闷润2 h后,0.1 MPa(121 ℃)蒸制3 h,70 ℃烘,取出,放凉后即得^[10]。

2.1.4 酒蒸法 取竹节参饮片20 g,放入合适的容器中,加20%黄酒(浓度为10%),闷润2 h后,放入蒸锅内,设置压力0.1 MPa(121 ℃),蒸制3 h,取出,70 ℃干燥^[11]。

2.1.5 烘法 取竹节参饮片20 g,放入合适的容器中,加入超纯水,闷润2 h后130 ℃烘制3 h,取出,放凉后即得^[12]。

2.1.6 醋烘法 取竹节参饮片20 g,放入瓷盆中,加20%米醋,闷润2 h后130 ℃烘制3 h,取出,放凉后即得^[13]。

2.1.7 酒烘法 取竹节参饮片20 g,放入合适的容器中,加20%黄酒(浓度为10%),闷润2 h后,130 ℃烘制3 h,取出,70 ℃干燥^[12]。

2.1.8 炒法 取竹节参饮片20 g,放入合适的容器中,加入超纯水,闷润2 h后,文火炒制6 min,盛出,放凉后即得^[14]。

2.1.9 醋炒法 取竹节参饮片20 g,放入瓷盆中,加20%米醋,闷润2 h后,文火炒制6 min,盛出,放凉后即得^[15]。

2.1.10 酒炒法 取竹节参20 g,放入合适的容器中,加20%黄酒(浓度为10%),闷润2 h,文火炒制6 min,盛出,放凉后即得^[12]。

2.1.11 醋煮法 取竹节参饮片20 g,放入瓷盆中,加20%米醋,闷润2 h后,放入锅中,再加入米醋,文火加热至液体辅料收干,盛出后于120 ℃烘箱中烘干,取出,放凉后即得^[16]。

2.2 对照品溶液的制备

称取人参皂苷(Rg₁、Re、Rb₁)、竹节参皂苷(V、IV、IV_a)适量,置5 mL容量瓶中,加入甲醇溶解,定

容,摇匀,得到含人参皂苷Rg₁(100 μg/mL)、Re(68.60 μg/mL)、Rb₁(102 μg/mL)、竹节参皂苷V(1500 μg/mL)、IV(700 μg/mL)、IV_a(800 μg/mL)的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取竹节参生品与炮制品粉末(过40目筛)约1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加70%甲醇50 mL,称定重量,加热回流提取1 h,放冷,再称定重量,用70%甲醇补足减失重量,摇匀,用0.45 μm的微孔滤膜过滤,即得。

2.4 分析条件

2.4.1 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相0.1%甲酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱,0~2 min,92% A;2~3 min,92%~87% A;3~5 min,87%~79.5% A;5~11 min,79.5%~74% A;11~13 min,74%~73% A;13~15 min,73%~69% A;15~34 min,69%~58% A;34~40 min,58%~25% A;40~45 min,25%~8% A;45~47 min,8% A;47~52 min,8%~92% A;体积流量0.3 mL/min;柱温35 ℃;进样量1 μL。

2.4.2 质谱条件 ESI负离子模式,锥孔电压30 V,毛细管电压1 KV,离子源温度100 ℃,脱溶剂气温度400 ℃,脱溶剂气气体流速50 L/h,采集方式为MS^E,采集时间52 min,质量扫描范围m/z 100~1500,碰撞能量40~60 V,碰撞气体高纯氦气,亮氨酸脑啡肽进行实时校正。

2.5 数据处理

采用UPLC-Q-TOF/MS模式采集数据,使用UNIFITM软件进行竹节参提取液化学成分的自动识别。查阅文献,建立竹节参数据库,以补充原有的传统中药库,将查找到的化合物化学结构保存为摩尔格式文件,将竹节参数据库导入分析方法中;运用UNIFITM软件自动对数据筛查、鉴定,代替传统的人工提峰、计算分子式以及分析碎片断裂情况;结合碎片离子理论精确质量数、保留时间和分子式,使用对照品比对以及查阅相关文献,对各主要化合物进行人工识别和鉴定。

3 结果与分析

3.1 竹节参生品与炮制品化学成分的UPLC-Q-TOF/MS检测结果与UNIFITM定性分析

本研究对竹节参生品与炮制品进行了液相色谱

谱-质谱分析,在负离子模式下,竹节参生品与醋烘品的基峰强度离子流图(BPI)见图1。

将采集的实验数据进行定性分析,与建立好的数据库进行比对,结合参考文献^[17-18]与对照品,最终共鉴定和推测化合物29个皂苷类成分,其29个化合物信息,包括各化合物的保留时间,分子质量及质谱裂解碎片离子如表2。

3.2 竹节参中皂苷类成分的质谱解析

竹节参及其炮制品的主要成分为人参皂苷类化合物,人参皂苷在ESI-模式下的一级质谱图中,准分子离子主要以[M-H]⁻和[M+HCOOH-H]⁻形式存在^[17]。皂苷类成分苷元部分较为稳定,一般较大压力下也仅失去糖碎片,多数皂苷中呈现相似的单糖或寡糖碎片裂解规律。本实验以化合物**5**、**10**、**18**为例,详细分析化合物的裂解过程。

化合物**5**的一级质谱在保留时间为11.84 min时,出现m/z 991.546 15[M+HCOO-H]⁻和m/z 945.541 464[M-H]⁻,计算其分子式为C₄₈H₈₂O₁₈,在二级质谱图中,碎片m/z 799.483 38[M-H-Rha]⁻、碎片m/z 783.488 92[M-H-Glc]⁻、碎片m/z 637.320 0[M-H-Rha-Glc]⁻,结合参考文献^[19]与对照品质谱将其确定为人参皂苷Re。

化合物**10**的一级质谱在保留时间为20.86 min

时,出现m/z 1153.598 55[M+HCOO-H]⁻和m/z 1107.593 96[M-H]⁻,计算其分子式为C₅₄H₉₂O₂₃,在二级质谱图中,碎片m/z 945.541 63[M-H-Glc]⁻,碎片m/z 783.489 36[M-2Glc]⁻,结合参考文献^[19]与对照品质谱将其确定为人参皂苷Rb1。

化合物**18**的一级质谱在保留时间为27.78 min时,出现m/z 793.436 15[M-H]⁻,计算其分子式为C₄₂H₆₆O₁₄,在二级质谱图中,碎片m/z 631.384 91[M-H-Glc]⁻、碎片m/z 569.384 41[M-Glc-CO₂-H₂O]⁻,结合参考文献^[20]与对照品质谱将其确定为竹节参皂苷IVa。

3.3 竹节参生品与炮制品镜像对比

在负离子模式下,观察生品与加热炮制品总离子图,生品与加热炮制品存在较多相似的成分,主要色谱峰保留时间一致,但是峰面积发生了较大的变化,生品与加热炮制品的总离子流图的镜像对比如图2所示。

观察图2A可知,生品与蒸制炮制品色谱峰保留时间与响应强度基本一致,但蒸制品化学成分明显增多。

观察图2B可知,生品与烘制炮制品色谱峰保留时间与响应强度基本一致,但烘制品化学成分明显增多。

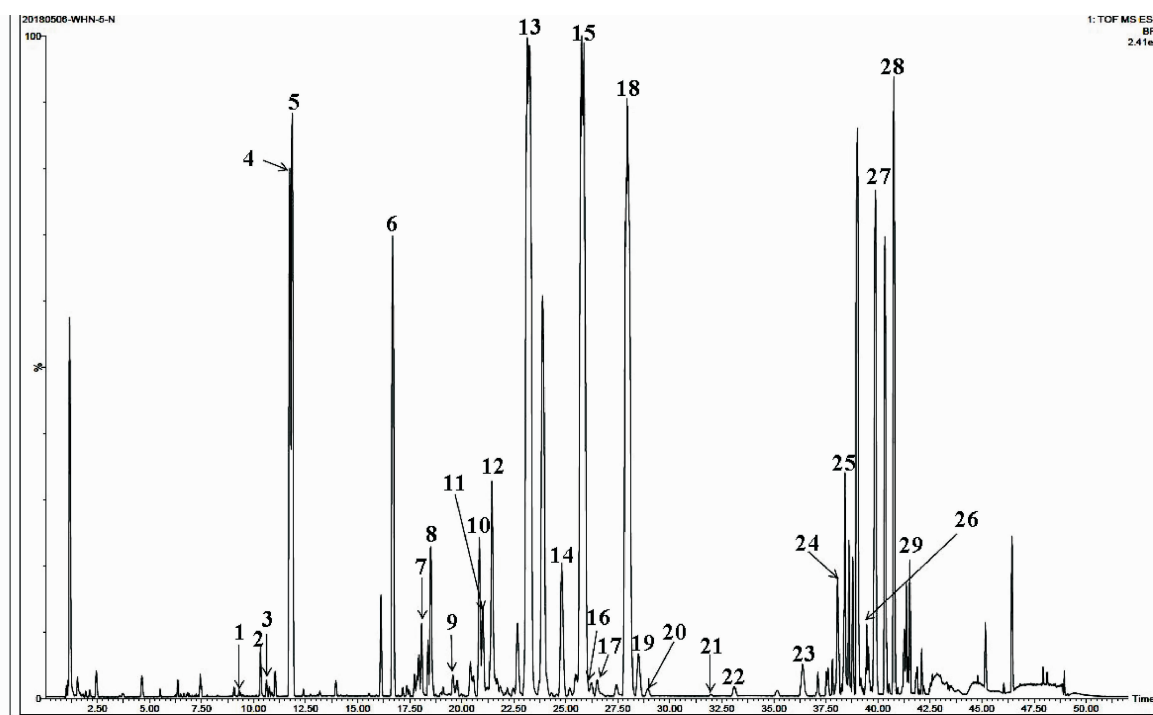


图1 竹节参醋烘品总离子流图

表2 竹节参生品与炮制品皂苷类成分鉴定结果

峰号	保留时间/min	化合物	分子式	MS ⁺ (m/z)	误差/10 ⁻⁶	MS ⁺ (m/z)
1	9.31	人参皂苷 B ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	1 153.600 0 [M+HCOO] ⁻	-0.9	1 107.594 6,945.541 5
2	10.33	三七皂苷 R ₆ /20-葡萄糖基-人参皂苷 Rf	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉	1 007.541 5 [M+HCOO] ⁻	-1.7	961.537 0,815.479 8,653.427 4,491.374 9
3	10.62	越南人参皂苷 R7	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	1 123.589 6 [M+HCOO] ⁻	-0.9	1 077.584 4,945.542 3
*4	11.75	人参皂苷 Rg ₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	845.488 7 [M+HCOO] ⁻	-2.1	799.483 4,637.320 0,475.379 0
*5	11.84	人参皂苷 Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	991.546 2 [M+HCOO] ⁻	-2.2	945.541 5,799.483 4,783.488 9,637.320 0
6	16.69	珠子参皂苷 R ₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₅	861.484 4 [M+HCOO] ⁻	-1.1	815.479 8,653.427 4,491.374 9,
7	18.38	三七皂苷 FaR ₄	C ₅₉ H ₁₀₀ O ₂₇	1 285.639 4 [M+HCOO] ⁻	-3.1	1 239.635 1,1 117.541 2,1 087.530 6,793.437 0
8	18.52	人参皂苷 Rf	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	845.488 7 [M+HCOO] ⁻	-2.0	799.484 3,637.431 9,475.379 3
9	19.58	三七皂苷 R ₂	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃	815.479 0 [M+HCOO] ⁻	-1.0	769.474 1,637.432 3,475.379 5
*10	20.86	人参皂苷 Rb ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	1 153.598 6 [M+HCOO] ⁻	-2.2	1 107.594 0,945.541 6,783.489 4
11	21.00	人参皂苷 Rg ₂	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	829.493 9 [M+HCOO] ⁻	-1.9	783.489 3,637.432 0,475.379 1
12	21.38	巨花雪胆皂苷 B/Tuberoside A	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	955.489 0 [M+HCOO] ⁻	-1.9	793.437 8
*13	23.15	竹节参皂苷 V	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	955.488 3 [M-H] ⁻	-2.3	793.437 6,569.384 7
*14	24.81	假人参皂苷 RT ₁	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₈	925.478 7 [M-H] ⁻	-1.7	763.426 9,613.374 8,569.384 9
*15	25.79	竹节参皂苷 IV	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₈	925.479 2 [M-H] ⁻	-1.1	613.375 0,569.385 2
16	26.21	竹节参皂苷 Ib	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₈	925.478 7 [M-H] ⁻	-1.7	763.426 7,569.384 8
17	26.53	叶三七皂苷 F	C ₅₆ H ₉₄ O ₂₄	1 195.609 3 [M+HCOO] ⁻	-2.0	1 149.604 8,1 107.594 4,1 089.583 3
*18	27.95	竹节参皂苷 IVa	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	793.436 2 [M-H] ⁻	-2.3	631.384 9,569.384 4
19	28.49	七叶胆苷 X VII	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	991.546 2 [M+HCOO] ⁻	-2.1	945.541 4,783.489 3,621.436 9
20	28.95	Cynarasaponin C/姜状三七苷 R ₁	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	793.437 2 [M-H] ⁻	-1.1	631.385 2,569.384 9
21	30.18	丙二酰基人参皂苷 Rd	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₁	1 031.541 6 [M+HCOO] ⁻	-1.6	945.542 0,783.489 2
22	33.09	人参皂苷 Rd	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	991.546 4 [M+HCOO] ⁻	-1.3	945.541 8
23	36.38	竹节参皂苷 V 甲酯	C ₄₉ H ₇₈ O ₁₉	1 015.510 4 [M+HCOO] ⁻	-1.5	969.584 8,807.453 5
24	38.05	人参皂苷 Rg ₆	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	811.483 0 [M+HCOO] ⁻	-2.4	765.473 9,619.421 2
25	38.40	人参皂苷 F ₄	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	811.482 9 [M+HCOO] ⁻	-2.4	765.478 5,619.421 5
26	39.46	人参皂苷 Rg ₃	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	829.494 5 [M+HCOO] ⁻	-1.2	783.489 7,621.437 4,459.384 4,375.290 5
27	39.86	伪人参皂苷 RP ₁	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₃	763.426 2 [M-H] ⁻	-1.5	613.374 6,569.384 8
28	40.76	Prosapogenin H	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	663.411 7 [M+HCOO] ⁻	-0.8	617.406 0,455.353 0
29	41.53	人参皂苷 Rk ₁	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	811.482 9 [M-H] ⁻	-2.5	765.478 6,603.426 6

注:*为与对照品比对确定

观察图 2C 可知,生品与炒制炮制品色谱峰保留时间与化学成分基本一致,但炒制化合物响应强度较生品偏低。

观察图 2D 可知,生品与醋煮品色谱峰保留时间与化学成分基本一致,但醋煮品化合物响应强度较生品偏高。

3.4 竹节参生品与各炮制品炮制过程中化学成分的变化

从表 3 可以看出,竹节参在不同炮制方法与不同辅料的条件下,化学成分发生巨大的变化。图 3 与表 3 的竹节参皂苷类成分响应面积从整体来看,经过不同的炮制,较多成分含量都相应减少,其中蒸制法对成分的分解影响大于其他炮制方法。竹节参经加热炮制后产生了新的成分:叶三七皂苷 F(17 号峰)、人参皂苷 Rg₃(24 号峰)、Rg₆(25 号峰)、F₄(26

号峰)、Rk₁(29 号峰),依据竹节参同科同属药材(如人参、三七等)炮制对化学成分的影响,推测这些成分是在加热过程中发生反应而得到的化合物。

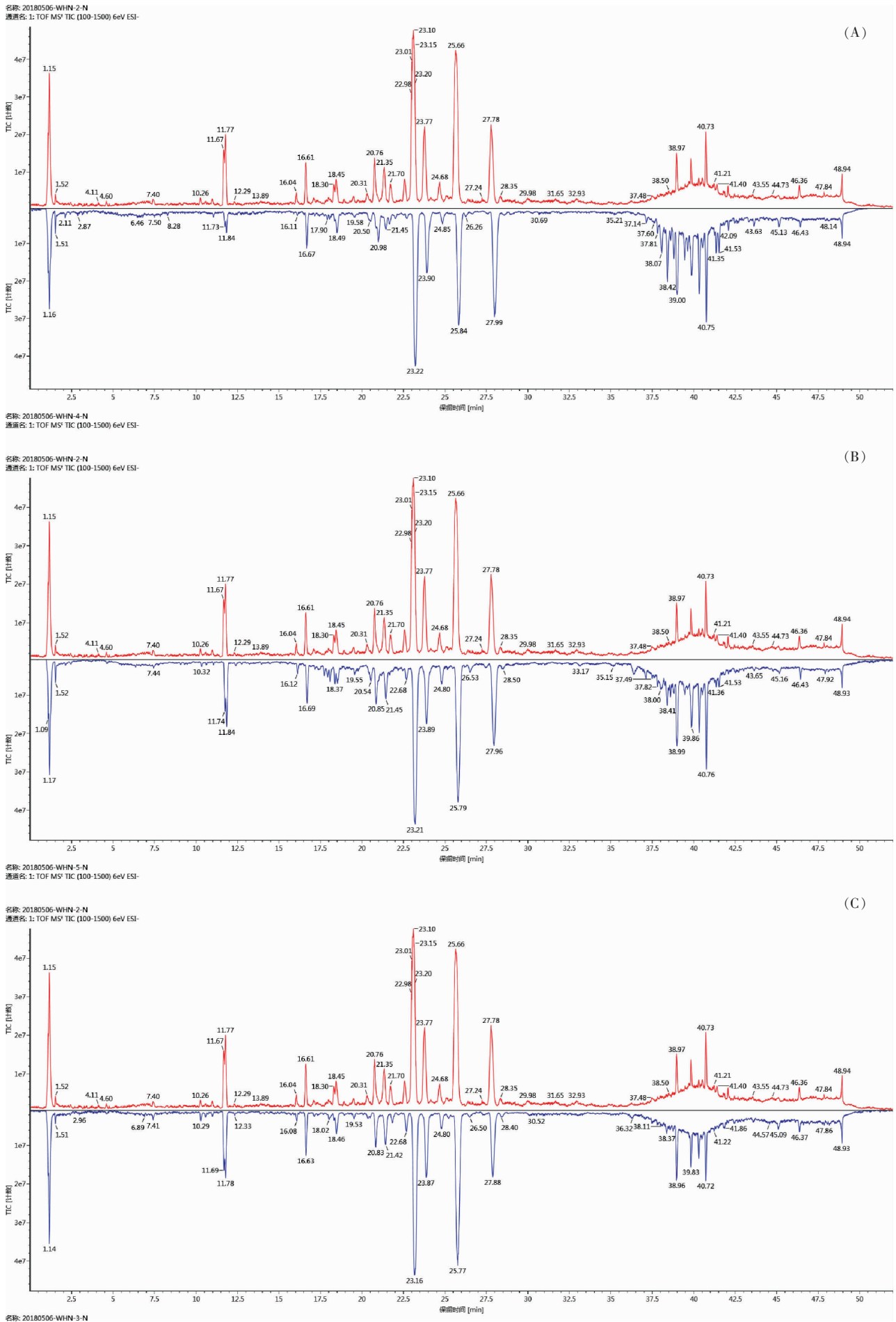
4 讨论

4.1 分析方法的优化

在优化色谱条件时,分别考察了甲醇-水、乙腈-水和乙腈-0.1%甲酸水作为流动相梯度洗脱,结果表明,乙腈-0.1%甲酸水的分离效果更好,各成分峰形更佳,待测物离子化效率更高。此外,质谱条件中比较了正、负离子检测模式,发现负离子模式质谱响应明显优于正离子模式,结合三萜皂苷类化合物的结构性质,本实验在负离子模式下进行检测。

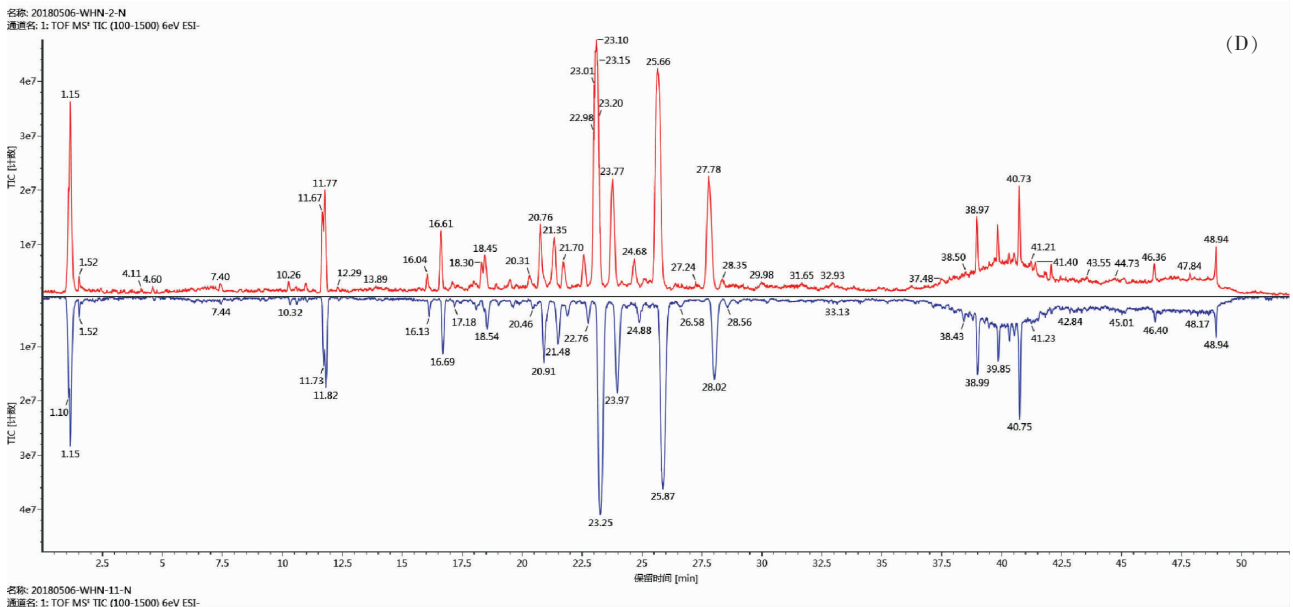
4.2 竹节参炮制前后成分分析

本研究采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术,根据高分



注:A.生品 vs 蒸法;B.生品 vs 醋蒸;C.生品 vs 酒蒸;D.生品

图 2 竹节参生品与不同炮制品镜像图



注:A.生品 vs 蒸法;B.生品 vs 醋蒸;C.生品 vs 酒蒸;D.生品

图2 竹节参生品与不同炮制品镜像图(续)

表3 竹节参生品与加热炮制品响应面积的比较

峰号	化合物	峰面积/(mV*s)						
		生品	蒸法	醋蒸	酒蒸	烘法	醋烘	酒烘
1	人参皂苷 B ₁	49 062	ND	26 336	92 971	63 153	50 071	62 246
2	三七皂苷R ₆ /20-葡萄糖基-人参皂苷 Rf	325 118	52 759	146 198	201 747	269 297	235 443	239 671
3	越南人参皂苷 R ₇	142 300	25 373	99 209	79 406	135 418	188 908	168 181
4	人参皂苷 R _{g₁}	3 232 312	684 289	1 895 579	2 227 574	2 796 823	2 976 358	2 354 685
5	人参皂苷 R _e	4 262 556	1 081 819	2 574 670	2 848 297	3 843 966	3 835 804	3 717 854
6	珠子参皂苷 R ₁	2 920 698	2 588 749	2 299 557	2 849 306	2 863 735	3 011 773	183 762
7	三七皂苷 Fa/R ₄	511 271	141 240	38 424	131 424	378 566	195 252	227 551
8	人参皂苷 Rf	1 705 230	1 194 988	1 617 854	1 175 901	982 781	1 826 064	1 196 260
9	三七皂苷 R ₂	272 031	166 598	251 687	220 925	166 598	357 672	183 762
10	人参皂苷 Rb ₁	1 453 969	451 780	936 577	1 548 779	1 203 020	1 214 146	911 871
11	人参皂苷 R _{g₂}	363 827	1 673 349	933 095	866 595	633 400	810 311	581 603
12	巨花雪胆皂苷 B/Tuberoside A	676 772	337 911	331 223	406 533	373 440	351 219	402 563
13	竹节参皂苷 V	11 978 865	11 566 596	11 254 776	11 710 137	11 664 936	11 606 973	11 949 119
14	假人参皂苷 RT ₁	1 260 411	876 826	697 377	959 859	1 169 943	635 472	1 088 411
15	竹节参皂苷 IV	12 249 539	9 412 309	9 816 006	10 771 990	11 235 755	10 023 258	11 157 838
16	竹节参皂苷 Ib	241 641	314 373	147 180	186 001	235 722	165 315	188 265
17	叶三七皂苷 F	ND	ND	ND	142 067	296 979	264 609	15 816
18	竹节参皂苷 IVa	8 222 234	10 811 412	8 040 629	9 024 047	8 914 934	8 371 351	8 674 458
19	七叶胆苷 X VII	582 792	389 919	660 587	924 304	607 471	738 124	388 814
20	Cynarasaponin C/姜状三七苷 R ₁	211 120	254 887	146 216	200 485	181 106	190 136	184 613
21	丙二酰基人参皂苷 Rd	269 286	ND	ND	236 892	ND	ND	236 892
22	人参皂苷 Rd	298 273	61 338	135 597	190 212	215 720	194 047	148 136
23	竹节参皂苷 V 甲酯	134 956	130 102	148 228	169 130	480 813	591 989	510 358
24	人参皂苷 R _{g₆}	ND	1 758 725	761 760	847 511	601 658	581 753	416 495
25	人参皂苷 F ₄	ND	1 899 507	944 977	1 024 744	849 006	756 183	568 851
26	人参皂苷 R _{g₃}	ND	920 551	2 530 166	519 049	ND	2 623 406	519 049
27	伪人参皂苷 RP ₁	1 143 946	3 343 685	702 969	2 891 342	3 277 598	482 085	3 001 030
28	Prosapogenin H	253 927	483 984	461 099	1 837 467	2 873 351	525 191	134 469
29	人参皂苷 Rk ₁	ND	1 277 527	370 319	753 395	512 839	247 543	292 457

表 3 竹节参生品与加热炮制品响应面积的比较(续表)

峰号	化合物	峰面积/(mV*s)			
		炒法	醋炒	酒炒	醋煮
1	人参皂苷 B ₁	56 976	57 564	92 971	60 712
2	三七皂苷R ₆ /20-葡萄糖基-人参皂苷 Rf	439 593	354 818	396 721	273 116
3	越南人参皂苷 R ₇	177 993	204 033	170 409	197 110
4	人参皂苷 R _{g1}	3 197 826	3 060 917	2 796 823	3 946 269
5	人参皂苷 Re	3 901 217	3 894 774	3 342 663	ND
6	珠子参皂苷 R ₁	2 953 231	2 851 299	2 873 395	2 751 938
7	三七皂苷 Fa/R ₄	159 092	191 197	163 553	186 949
8	人参皂苷 Rf	1 347 534	1 434 892	1 570 721	1 545 201
9	三七皂苷 R ₂	285 747	302 688	320 776	232 651
10	人参皂苷 Rb ₁	1 277 673	1 371 291	1 667 459	1 586 065
11	人参皂苷 R _{g2}	304 853	292 864	232 944	465 042
12	巨花雪胆皂苷 B/Tuberoside A	505 119	517 427	540 181	455 307
13	竹节参皂苷 V	11 881 675	11 750 223	12 276 061	11 616 150
14	假人参皂苷 RT ₁	1 056 540	896 604	1 016 231	856 009
15	竹节参皂苷 IV	11 752 238	11 027 276	11 677 118	10 788 349
16	竹节参皂苷 Ib	171 356	ND	174 702	ND
17	叶三七皂苷 F	ND	151 799	ND	148 116
18	竹节参皂苷 IVa	6 954 912	7 254 638	7 179 247	6 465 411
19	七叶胆苷 X VII	543 068	767 830	509 492	647 415
20	Cynarasaponin C/姜状三七皂苷 R ₁	153 933	157 976	176 862	134 685
21	丙二酰基人参皂苷 Rd	153 056	230 137	236 892	159 083
22	人参皂苷 Rd	152 658	218 316	278 350	227 659
23	竹节参皂苷 V 甲酯	258 237	87 961	102 263	108 852
24	人参皂苷 R _{g6}	150 500	28 997	21 177	167 628
25	人参皂苷 F ₄	169 241	37 419	30 944	231 831
26	人参皂苷 R _{g3}	ND	1 152 608	ND	1 305 459
27	伪人参皂苷 RP ₁	1 728 406	33 672	1 221 110	337 846
28	Prosapogenin H	212 889	27 900	1 304 340	114 808
29	人参皂苷 Rk ₁	112 001	230 137	15 129	110 994

注:ND表示未检出

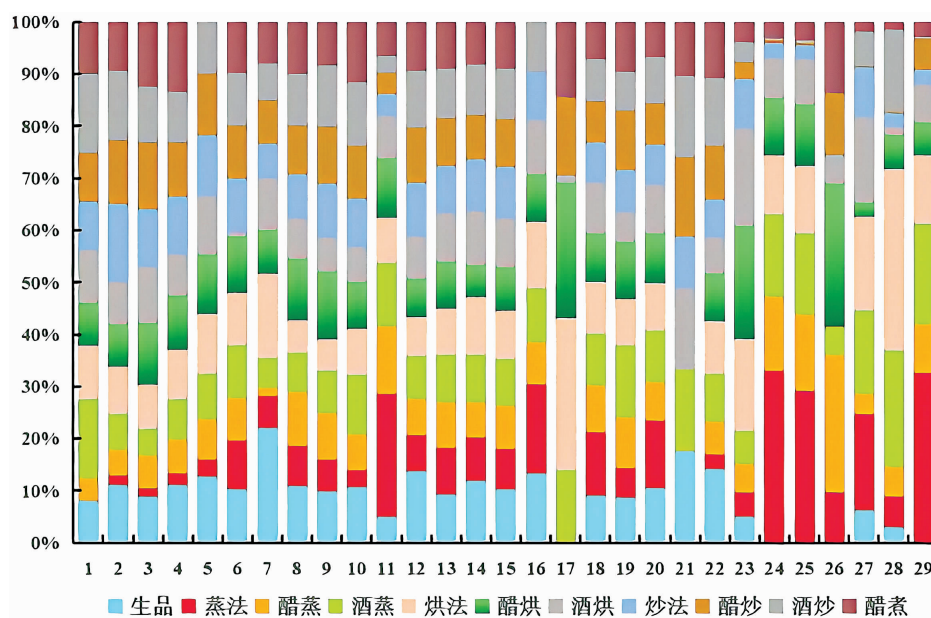


图 3 竹节参生品与加热炮制品响应面积百分比分布图

辨质谱数据快速识别竹节参及其炮制品中的主要化学成分,初步鉴定了竹节参中 29 种皂苷类成分,并结合镜像对比分析,获得不同炮制方法对竹节参皂苷类成分的影响。与竹节参生品相比,经加热炮制后竹节参中的化学成分发生了明显变化。其中,蒸制品、烘制品化学成分数量较生品略有增多,炒制品与醋煮品化学成分数量较生品基本不变;各类炮制品色谱峰保留时间基本一致,但化合物响应强度各有不同;通过响应面积对比发现,蒸制法响应面积最低,其中不加辅料比加辅料更加明显。竹节参经炮制后新增 5 种成分,分别为叶三七皂苷 F、人参皂苷 Rg₃、Rg₆、F₄、Rk₁。竹节参经过炮制后,与同科同属的药材经过炮制后相关文献报道^[21]相同:人参皂苷类成分经过水解反应生成了新的成分,猜测这可能与竹节参生品与加热炮制品皂苷类成分抗氧化活性有关。

综上所述,UPLC-Q-TOF/MS 技术可高效、全面、系统地对竹节参炮制前后的化学成分进行快速定性研究,为进一步的研究民族药物竹节参提供了新的实验数据和方法,为其质量控制水平的提升及其药物资源的进一步开发及利用提供了科学依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2020 年版.一部[S].2020:144-145.
- [2] 周静,付先芸,蔡三金,等.竹节参的化学成分、药理作用及质量标志物(Q-marker)预测分析[J].中草药,2021,52(9):2819-2830.
- [3] 王开元,詹志来,廖天月,等.竹节参的化学成分与药理活性研究进展[J].中国野生植物资源,2021,40(5):48-59.
- [4] 鲁道旺,朱国豪.土家族珍稀药材神参(竹节参)的研究概况[J].中国民族医药杂志,2008,14(5):64-67.
- [5] 张宏,谷伟玲.中药炮制对其化学成分及临床应用的作用探讨[J].当代化工研究,2020(19):167-168.
- [6] 李华鹏,桑立红,侯准,等.中药酒制的研究概况[J].中药材,2011,34(3):478-481.
- [7] 陈新梅,徐溢明.中药醋制研究概况[J].化工时刊,2016,30(7):32-34.
- [8] 崔园园,周永峰,马艳芹,等.基于 UPLC-Q-TOF/MS 法分析生、炙甘草中化学成分的差异性[J].中国药房,2020,31(9):1049-1053.
- [9] 倪志涛,栗会静,杜晓凤,等.白术炮制历史沿革研究[J].中国民族民间医药,2021,30(16):23-28.
- [10] 陈华师,杨克义,郑芝鑫,等.醋蒸香附炮制工艺研究[J].中草药,2013,44(19):2693-2695.
- [11] 吴建华,崔於.酒黄精饮片炮制工艺研究[J].陕西中医,2011,32(11):1542-1543.
- [12] 王德珍,易骏,张翼,等.酒黄连、姜黄连、黄黄连最佳炮制工艺研究[J].中药材,2013,36(1):35-37.
- [13] 於学良,顾瑶华,薛璟,等.丹参醋制工艺条件的研究[J].中国中医药现代远程教育,2013,11(21):107-109.
- [14] 宋平顺,杨树声,马真金,等.酒制甘肃丹参的炮制工艺研究[J].中国中医药信息杂志,2010,17(5):49-51.
- [15] 卢君蓉,王世宇,傅超美,等.香附醋制工艺的优化研究[J].成都中医药大学学报,2012,35(1):60-62.
- [16] 廖婉,傅舒,刘芳,等.星点设计-效应面法优选蓬莪术醋制工艺[J].中药与临床,2011,2(6):22-24.
- [17] 陈佳丽,谈梦霞,邹立思,等.基于 UFLC-triple TOF MS/MS 技术分析竹节参中皂苷类成分[J].食品科学,2019,40(14):249-258.
- [18] WU W, LU Z Y, TENG Y R, et al. Structural characterization of ginsenosides from flower buds of *Panax ginseng* by RRLC-Q-TOF MS[J]. Journal of Chromatographic Science, 2016, 54(2): 136-143.
- [19] 黄仁嵩,王和宇,焦传新,等.UHPLC-MS/MS 法对人参和枸杞配伍中皂苷类成分定性和定量分析[J].中成药,2021,43(9):2412-2417.
- [20] 傅俊.牛膝三萜皂苷类成分定性分析及其体内外代谢初步研究[D].合肥:安徽中医药大学,2019.
- [21] 吕重宁,路金才.人参皂苷在不同商品人参中的分布研究进展[J].中草药,2021,52(17):5329-5338.

(本文编辑 苏维)