

基于液质联用技术和植物代谢组学的甘草炮制品 化学成分差异性分析

文旺^{1,2}, 李莉^{2,3}, 李德坤^{2,3}, 张磊^{2,3}, 周大铮³, 杨悦武³, 杨建会³, 余伯阳^{1*}, 鞠爱春^{2,3*}

(1. 中国药科大学中药学院, 南京 211198; 2. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410;

3. 天士力控股集团有限公司, 天津 300410)

[摘要] 目的: 识别并鉴定不同甘草炮制品的质量差异标志物。方法: 运用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS^E)技术, 通过负离子检测模式, 采集各甘草炮制品成分高精度质荷比及离子响应强度信息; 利用主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)对预处理后的数据集进行分析, 快速搜寻出不同甘草炮制品间的差异性成分, 依据相对分子质量、碎片离子、质谱数据库和相关文献对差异性成分进行鉴定, 研究甘草炮制前后成分迁移情况。结果: 从甘草片、清炒甘草、蜜炙甘草3组炮制品中共识别10个质量差异标志物, 主要为甘草苷和甘草酸的衍生物, 其中6"-O-acetyllicquiritin apioside, 6"-O-acetyllicquiritin apioside异构体, 6"-O-acetyllicquiritin, 芒柄花黄素和11-脱氧-18 β -甘草亭酸在甘草片中含量最高; 6"-O-acetylisoliquiritin apioside, 6"-O-acetylisoliquiritin, 异甘草苷和单葡萄糖醛酸甘草次酸在清炒甘草中含量最高; 甘草苷在蜜炙甘草中含量最低。结论: 甘草片、清炒甘草和蜜炙甘草存在一定的化学成分差异, 可为甘草炮制品的质量控制和药效研究奠定物质基础。

[关键词] 甘草; 炮制品; 植物代谢组学; 质量差异标志物; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS^E); 化学成分; 甘草苷

[中图分类号] R22; R28; R9; O657.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2020)17-0104-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201073

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200325.0820.001.html>

[网络出版日期] 2020-3-25 11:26

Analysis of Chemical Variability on Different Processed Products of *Glycyrrhiza uralensis* Dry Roots and Rhizomes Based on UPLC-Q-TOF-MS^E and Plant Metabolomics

WEN Wang^{1,2}, LI Li^{2,3}, LI De-kun^{2,3}, ZHANG Lei^{2,3}, ZHOU Da-zheng³, YANG Yue-wu³,

YANG Jian-Hui³, YU Bo-yang^{1*}, JU Ai-chun^{2,3*}

(1. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China;

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co. Ltd., Tianjin 300410, China;

3. Tasly Holding Group Co. Ltd., Tianjin 300410, China)

[Abstract] **Objective:** To identify the quality differential markers of different processed products of *Glycyrrhiza uralensis* dry roots and rhizomes. **Method:** Ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS^E) was used to collect high-precision mass-charge ratio and ion response strength information of the components in *G. uralensis* dry roots and rhizomes before and after processing by negative ion mode. The data set collected after pretreatment was analyzed with principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) to

[收稿日期] 20191214(005)

[基金项目] 天津市科技重大专项与工程项目(18ZXXYSY00020)

[第一作者] 文旺, 在读硕士, 从事中药质量标准研究, E-mail: wenwang1995@163.com

[通信作者] * 余伯阳, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究, Tel: 025-86185158, E-mail: boyangyucpu@163.com;

* 鞠爱春, 正高级工程师, 从事中药注射剂工艺及质量控制研究, Tel: 022-86342096, E-mail: juach@tasly.com

quickly search the differential components in different processed products of *G. uralensis* dry roots and rhizomes. Differential components were identified according to the relative molecular weight, fragment ion, mass spectrum database and related literature information, then the migration of components before and after processing was studied. **Result:** A total of 10 quality differential markers were searched from raw products, roasted products and honey-roasted products of *G. uralensis* dry roots and rhizomes, mainly derivatives of liquiritin and glycyrrhizic acid. Among them, the contents of 6"-*O*-acetyllicquiritin apioside, 6"-*O*-acetyllicquiritin apioside isomer, 6"-*O*-acetyllicquiritin, formononetin and 11-deoxo-18 β -glycyrrhetic acid were the highest in the raw products, the contents of 6" -*O*-acetylisoliquiritin apioside, 6" -*O*-acetylisoliquiritin, isoliquiritin and glycyrrhetic acid 3-*O*-glucuronide were the highest in the roasted products, the content of liquiritin was the lowest in the honey-roasted products. **Conclusion:** There are some chemical differences among the three products. This study can provide material basis for the quality control and pharmacodynamic research of processed products of *G. uralensis* dry roots and rhizomes.

[**Key words**] *Glycyrrhiza uralensis* dry roots and rhizomes; processed products; plant metabolomics; quality differential markers; ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS^E); chemical compositions; liquiritin

甘草是常用大宗中药材,也是食品加工、轻工业的重要原料。甘草源自豆科植物甘草、胀果甘草或光果甘草的干燥根和根茎^[1],其中又以甘草质量佳、分布最广、产量最高^[2-3]。现代研究发现甘草具有保肝、抗菌抗炎、祛痰镇咳、抗氧化、抗肿瘤和免疫调节等药理作用^[4-6]。

甘草的炮制方法有炒制、酒制、醋制、蜜炙、胆汁制、姜汁制等^[7-8],目前常用炮制品种有甘草片、蜜炙品、清炒品^[9-10]。炮制方式不同会使得各炮制品功效略有偏向,在临床应用中甘草片长于清热解毒、祛痰止咳等,可用于肺热咳嗽,痈肿疮毒;炙甘草以缓急止痛、益气复脉为主,可用于脾胃虚弱、倦怠食少、四肢挛急疼痛^[11-13]。对于甘草“调和药性”的作用,王志芳^[13]认为甘草片味甘而性凉,可缓和清热方或温热方药力迅猛之弊;炒甘草味甘性燥,虽有燥性,然可以甘缓之,以温补中,最能顾护脾胃;蜜炙甘草性温而不燥,增加甘味,善顾护中气,又可润肺止咳。

甘草的有效成分较多,不少文献报道了甘草炮制前后化学成分的变化。周倩等^[14]发现与甘草片相比,炙甘草中甘草素葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸、异甘草苷的含有量均有所下降,其中前3个成分降低程度较为明显。张敏等^[15]发现随加热强度(温度及时间)的增大,清烘甘草中芹糖甘草苷、甘草苷和甘草酸的质量分数、煎出量显著降低;异甘草苷的质量分数、煎出量显著增加,但其煎出率显著降低;加入炼蜜可使以上成分的质量分数、煎出量的变化幅度增强。刘菁华等^[16]发现升高炮制温度、延

长炮制时间都会造成甘草饮片中甘草酸主成分18 α -甘草酸和18 β -甘草酸的分解,其总含量略有下降;在炮制过程中,这对主成分异构体未发生构型转变,并且对两者比例关系也无影响。

炮制的过程也是中药化学成分变化及药效偏转的过程,单一化学成分研究很难反映饮片整体质量的变化。而通过对饮片一级代谢物、次级代谢物进行高通量检测,运用植物代谢组学技术对海量数据进行模式识别,可以对炮制品化学物质基础进行全面研究^[17]。本研究选择甘草为实验药材,采用UPLC-Q-TOF-MS^E技术^[18]进行数据提取,依次将炮制品两两分组,运用多元变量统计分析对数据进行降维、分类及识别等处理,搜寻不同甘草炮制品间差异性成分,为甘草炮制引起的药性差异研究提供物质基础。

1 材料

ACQUITY UPLC-Synapt G2 Q-TOF型色谱-质谱联用仪(美国Waters公司,配有MassLynx V4.1质谱工作站),XS105型1/10万电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司),JJ2000型精密电子天平(美国双杰兄弟有限公司),FD115型电热鼓风干燥箱(德国Binder公司),DQ-103型台式方形中药切片机(温岭市林大机械有限公司),MS-5型炒货机(常州迈斯机械有限公司),BJ-500A型多功能粉碎机(德清拜杰电器有限公司),Milli-Q型超纯水系统(美国Millipore公司)。

6批甘草药材由河北汉广本草中药材销售有限公司提供,分别产自甘肃景泰(编号01和03),甘肃

榆中(编号05和07)和甘肃瓜州(编号08和10),经天津天士力之骄药业有限公司李莉正高级工程师鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎;甘草苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号111610-201607,纯度93.10%),甘草酸对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号wkq18011803,纯度 $\geq 98\%$),罐装蜂蜜(上海冠生园蜜制品有限公司,批号121550x1,为油菜蜂蜜、洋槐蜂蜜、荆条蜂蜜混合蜜),水为自制超纯水,甲醇、乙腈、甲酸为质谱级,其余试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 样品的准备 参照《中药饮片炮制工艺与质量标准及GMP实施实用手册》^[19],取生蜜置锅内,加适量开水稀释,加热至徐徐沸腾后,保持微沸,至所起鱼眼泡带有光泽,颜色稍微加深,得炼蜜。参照2015年版《中国药典》(一部)^[1],取甘草药材,除去芦头、芦尾、须根,洗净,浸润约16 h,取出,晾干,切厚片,55℃鼓风干燥6 h,晾干,得甘草片。参照2008年版《上海市中药饮片炮制规范》^[20],称取甘草片100 g,投入炒货机,150℃炒制12 min,至表面颜色加深、有焦香,立即取出,得清炒甘草。参照2015年版《中国药典》(一部)^[1]和2008年版《上海市中药饮片炮制规范》^[20],称取炼蜜20 g,加入沸水8 mL,拌匀;投入甘草片80 g,搅拌均匀,闷润1 h,投入炒货机,150℃炒制12 min,至表面深黄色、微有光泽、不粘手,立即取出,得蜜炙甘草。

2.2 供试品及对照品溶液的制备 分别精密称取由6批甘草制备的甘草片(GC-01, GC-03, GC-05, GC-07, GC-08, GC-10),清炒甘草(CGC-01, CGC-03, CGC-05, CGC-07, CGC-08, CGC-10)和蜜炙甘草(MGC-01, MGC-03, MGC-05, MGC-07, MGC-08, MGC-10)粉末(过三号筛)0.5 g,置于具塞锥形瓶中,加入70%乙醇50 mL,密塞,称定质量,超声30 min,冷却至室温,称定质量,加70%乙醇补足缺失的质量,摇匀,取上清液用0.22 μm微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。精密称取甘草苷、甘草酸对照品适量,分别用70%乙醇稀释,配制成质量浓度均为30 mg·L⁻¹的对照品溶液。

2.3 色谱条件 采用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),柱温30℃,流动相0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~2 min, 20%~25%B; 2~10 min, 25%~40%B; 10~18 min, 40%~60%B; 18~22 min, 60%~95%B; 22~23 min, 95%~20%B; 23~26 min, 20%B),流速0.3 mL·min⁻¹,

进样量2 μL。

2.4 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),比较正、负离子2种扫描模式,结果发现在负离子模式下,甘草主要成分具有更高的响应强度和更明确的质谱信息,故选择在负离子模式下进行。毛细管电压2 kV,锥孔电压40 V,提取锥孔电压5 V,离子源温度110℃,脱溶剂气体(N₂)温度350℃,脱溶剂气体流量800 L·h⁻¹,锥孔气流量50 L·h⁻¹,采集频率0.2 s,采集形式centroid。MS^E扫描模式,扫描范围 m/z 50~1 200,碰撞气为氩气(Ar),扫描时碰撞能量20~30 eV。以亮氨酸脑啡肽为内标(LockSpray™)进行质量实时校正,流速3 μL·min⁻¹。

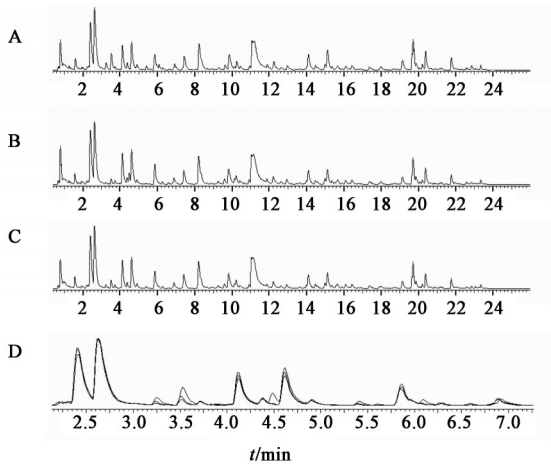
2.5 数据处理与分析 采用MassLynx V4.1软件中MarkerLynx XS插件进行峰提取、峰识别、峰匹配、峰对齐及归一化等数据预处理。参数设置为保留时间0.1~24 min,检测范围 m/z 50~1 200,质量偏差0.05,响应强度阈值3 000 counts,质量窗0.02,保留时间窗口0.20 min,噪音消除水平6.0。导出由样品名称、保留时间-质荷比及对应离子的响应强度组成的数据集,通过SIMCA-P 13.0软件进行模式识别。应用主成分分析(PCA)模型对数据进行识别,考察各组数据的分离情况,评价所建立模型的解释能力和预测能力。在此基础上,利用正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)模型对不同甘草炮制组进行两两分析,通过S型图(S-plot)和变量重要性投影(VIP)值对潜在组间质量差异标志物进行筛选。通过GraphPad Prism 7.0软件对潜在质量差异标志物的离子响应强度数据进行单变量分析,考察潜在质量差异标志物是否存在显著性差异。通过人类代谢组数据库(HMDB),LIPID MAPS数据库及相关文献报道对筛选出的质量差异标志物进行指认和鉴定。

3 结果

3.1 不同甘草炮制品的质量差异标志物筛选

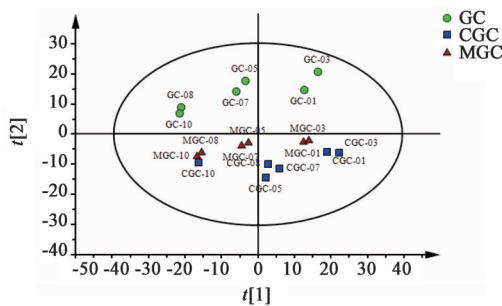
3.1.1 PCA 采用UPLC-Q-TOF-MS^E技术进行数据采集,典型的基峰强度色谱图(BPI)见图1。通过PCA模型对数据集进行相似性和差异性分析,PCA得分图见图2。7倍交叉验证结果显示PCA模型参数 R^2X (表示PCA模型解释率)=0.728,表明模型稳定性良好。图2在 $t[1]$ 方向上,除清炒甘草CGC-08外,不同产地甘草炮制品聚集在不同位置,提示不同产地的甘草化学物质基础存在一定差异。在 $t[2]$ 方向上,甘草片组与清炒甘草组、蜜炙甘草组区分明显,且清炒甘草组和蜜炙甘草组在 $t[2]$ 方向聚集

趋势存在区别,表明不同甘草炮制品化学成分存在一定差异。



A. 甘草片; B. 清炒甘草; C. 蜜炙甘草; D. 三者叠加后局部放大
图1 甘草各炮制品在负离子检测模式下的BPI

Fig. 1 Base peak intensity chromatograms (BPI) of processed products of *Glycyrrhiza uralensis* dry roots and rhizomes under negative ion mode



GC. 甘草片组; CGC. 清炒甘草组; MGC. 蜜炙甘草组(图3,4同)

图2 甘草各炮制品的PCA得分

Fig. 2 PCA score plot of processed products of *Glycyrrhiza uralensis* dry roots and rhizomes

3.1.2 OPLS-DA 由于不同产地的甘草存在化学成分差异,为了最大限度减少组内无关变量干扰,采用OPLS-DA^[21]对差异性较大的生品与另外2组炮制品进行模式识别。将18批样本重新分为甘草片组与炮制组(清炒甘草和蜜炙甘草合为一组)进行OPLS-DA处理,7倍交叉验证结果显示模型参数 R^2Y (表示OPLS-DA模型解释率)=0.971, Q^2 (表示OPLS-DA模型预测率)=0.717,表明拟合模型的准确度和预测能力良好,模型得分图见图3(A),S-plot见图3(B),VIP图见图3(C)。选择图3(C)中VIP值>1.5以及图3(B)中 $|p|>0.1$ 和 $|p(\text{corr})|>0.5$ 作为筛选条件,对潜在质量差异标志物进行搜寻,结合质谱数据库和文献报道进行指认和鉴定,结果共鉴定出6个质量差异标志物,详细信息见表1中化合物

1~6,其离子响应强度变化趋势见图4。为进一步搜寻清炒甘草和蜜炙甘草的质量差异标志物,对这两组样品数据进行OPLS-DA模型分析,7倍交叉验证结果显示模型参数 $R^2Y=1$, $Q^2=0.882$,表明拟合模型的准确度和预测能力良好。该模型OPLS-DA得分图见图3(D),S-plot见图3(E),VIP图见图3(F)。同样选择图3(F)中VIP值>1.5以及图3(E)中 $|p|>0.1$ 和 $|p(\text{corr})|>0.5$ 作为筛选条件,对潜在质量差异标志物进行搜寻,结果鉴定出了1个质量差异标志物,详细信息见表1中化合物7,其离子响应强度变化趋势见图4。

3.1.3 单因素方差分析 为深度发掘其他潜在质量差异标志物,对甘草片组与炮制组OPLS-DA模型中VIP值>1.5这部分数据按不同样品组进行单因素方差分析,样本两两配对检验,以 $P<0.05$ 为阈值遴选含量具有显著性差异的质量差异标志物,结果共鉴定出3个质量差异标志物,详细信息见表1中化合物8~10,三者的离子响应强度变化趋势见图4。结果发现甘草片经炮制后异甘草苷含量升高。清炒甘草和蜜炙甘草中6"-O-acetyllicquiritin apioside, 6"-O-acetyllicquiritin apioside 异构体, 6"-O-acetyllicquiritin, 芒柄花黄素, 11-脱氧-18 β -甘草亭酸含量均低于生品;另一方面,单葡萄糖醛酸甘草次酸, 6"-O-acetylisoliquiritin 和 6"-O-acetylisoliquiritin apioside在清炒甘草和蜜炙甘草中含量增加,特别是在清炒甘草中增加尤为明显。

3.2 不同甘草炮制品的整体成分差异性分析 将同一编号的3种炮制品BPI图统一积分后,导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)进行处理,以甘草片组样品为参照图谱,进行全谱峰匹配,结果显示各图谱间相似度均>0.97,表明不同甘草炮制品整体化学成分相似度高,差异性小。将3.1.2项下甘草片组与炮制组OPLS-DA模型中VIP值>1.5的这部分数据按保留时间先后顺序排列,进行热图分析,见图5。结果显示不同炮制组可在热图中被区分,表明不同炮制组整体化学成分存在一定的差异,可利用VIP值>1.5这部分数据进行质量差异标志物的识别与搜寻。

4 讨论

本文采用UPLC-Q-TOF-MS^E技术对甘草片及其炮制品的化学成分进行快速识别,并结合植物代谢组学数据分析技术对不同甘草炮制品质量差异标志物进行筛选和搜寻,通过对质谱数据库检索和文献报道分析,最终鉴定出10个具有显著性差异的

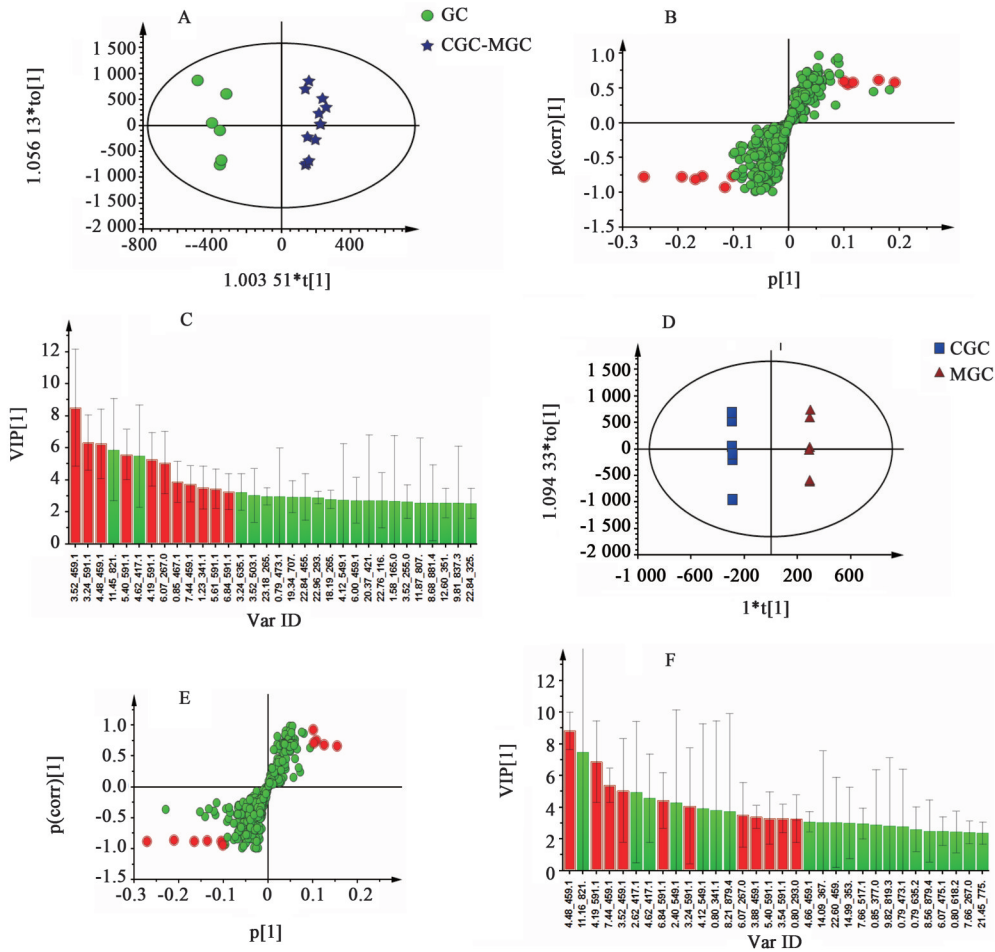


图3 甘草片与炮制组以及清炒甘草与蜜炙甘草的液质数据OPLS-DA
CGC-MGC. 清炒甘草-蜜炙甘草(炮制组); A. 甘草片与炮制组的得分图; B. 甘草片与炮制组的S-plot; C. 甘草片与炮制组的VIP图(图中横坐标数值为保留时间_质荷比); D. 清炒甘草与蜜炙甘草的得分图; E. 清炒甘草与蜜炙甘草的S-plot; F. 清炒甘草与蜜炙甘草的VIP图(图中横坐标数值为保留时间_质荷比)

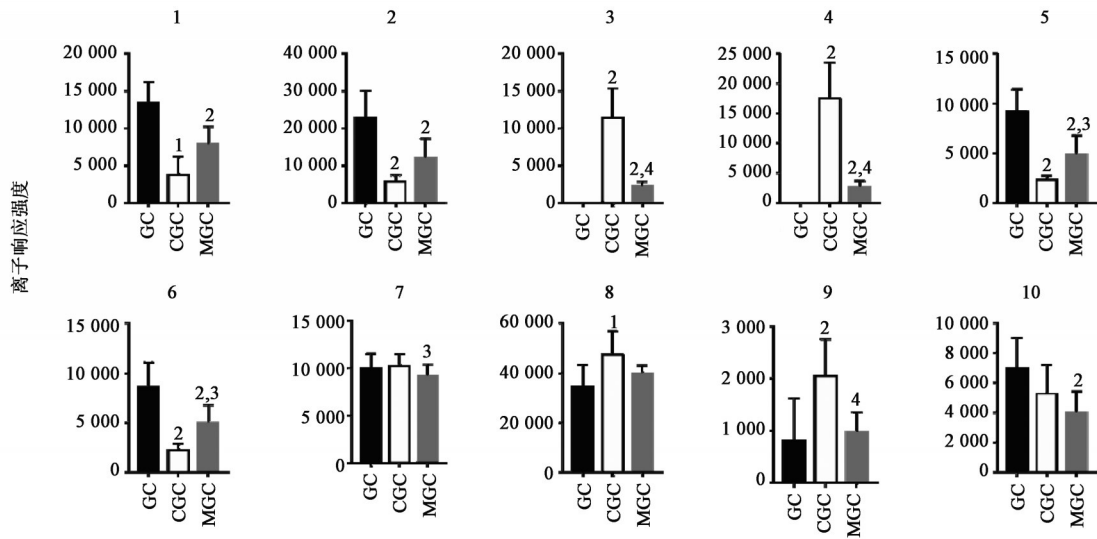
图3 甘草片与炮制组以及清炒甘草与蜜炙甘草的液质数据OPLS-DA

Fig. 3 OPLS-DA of MS data of *Glycyrrhiza uralensis* dry roots and rhizomes in raw products with processed products and roasted products with honey-roasted products

表1 不同甘草炮制品的质量差异标志物鉴定

Table 1 Identification of quality differential markers in processed products of *Glycyrrhiza uralensis* dry roots and rhizomes

| 化合物 | t_R /min | 名称 | 分子式 | 结构类型 | $[M-H]^-$ m/z | δ /ppm | 碎片离子 m/z | 参考文献 |
|-----|------------|---|----------------------|--------------|--------------------|---------------|---|----------|
| 1 | 3.24 | 6"-O-acetyllicquiritin apioside | $C_{28}H_{32}O_{14}$ | 二氢黄酮 | 591.170 9 | -0.85 | 549.160 5, 417.117 7, 255.064 7 | [22] |
| 2 | 3.52 | 6"-O-acetyllicquiritin | $C_{23}H_{24}O_{10}$ | 二氢黄酮 | 459.128 4 | -1.52 | 255.065 1, 135.007 9 | [22-23] |
| 3 | 4.19 | 6"-O-acetylisoliquiritin apioside | $C_{28}H_{32}O_{14}$ | 查尔酮 | 591.170 9 | -0.85 | 417.118 2, 255.065 6 | [22] |
| 4 | 4.48 | 6"-O-acetylisoliquiritin | $C_{23}H_{24}O_{10}$ | 查尔酮 | 459.128 5 | -1.31 | 255.065 6, 135.006 5, 119.047 3 | [22-23] |
| 5 | 5.40 | 6"-O-acetyllicquiritin apioside 异构体 | $C_{28}H_{32}O_{14}$ | 二氢黄酮 或查尔酮 | 591.171 2 | -0.33 | 549.161 5, 417.118 6, 271.089 4, 255.065 5 | [22, 24] |
| 6 | 6.07 | 芒柄花黄素 formononetin | $C_{16}H_{12}O_4$ | 异黄酮 | 267.064 5 | -4.49 | 252.041 1, 223.039 6, 119.055 5 | [22, 25] |
| 7 | 2.62 | 甘草苷 liquiritin | $C_{21}H_{22}O_9$ | 二氢黄酮 | 417.118 0 | -1.44 | 255.067 6, 135.007 3, 119.051 2 | [25-26] |
| 8 | 4.62 | 异甘草苷 isoliquiritin | $C_{21}H_{22}O_9$ | 查尔酮 | 417.118 0 | -1.44 | 255.065 4, 135.008 7, 119.050 4 | [25-26] |
| 9 | 15.52 | 单葡萄糖醛酸甘草次酸 glycyrrhetic acid 3-O-glucuronide | $C_{36}H_{54}O_{10}$ | 三萜皂苷 | 645.363 0 | -1.39 | 369.097 3, 125.025 1 | [22] |
| 10 | 22.84 | 11-脱氧-18 β -甘草亭酸 11-deoxy-18 β -glycyrrhetic acid | $C_{30}H_{48}O_3$ | 三萜 | 455.351 9 | -1.32 | 265.174 9 | [27] |



1~10. 化合物1~10(序号同表1);与甘草片比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与清炒甘草比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$

图4 10个质量差异标志物在甘草各炮制品中的离子响应强度

Fig. 4 Ion intensity trend plots of quality differential markers in processed products of *Glycyrrhiza uralensis* dry roots and rhizomes

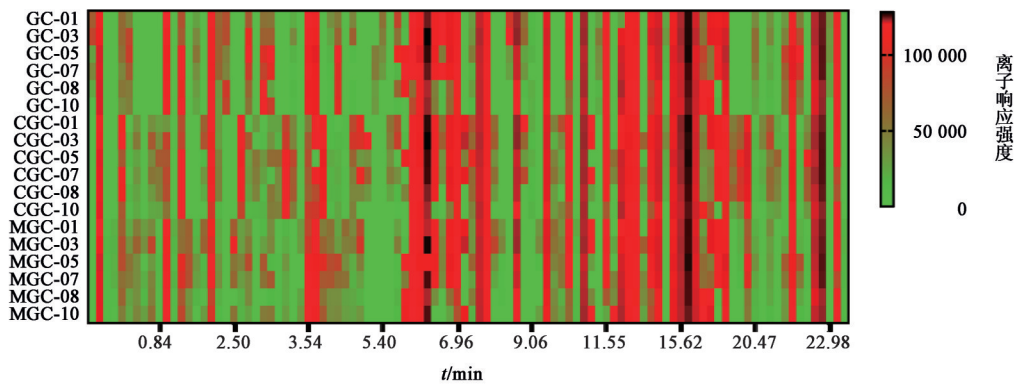


图5 甘草各炮制品差异性成分的热分析

Fig. 5 Heat map of differential ingredients among processed products of *Glycyrrhiza uralensis* dry roots and rhizomes

质量差异标志物。通过对甘草苷和异甘草苷含量变化趋势分析,推测受热后,甘草苷易转变为异甘草苷。6"-O-acetylquiritin apioside及其异构体的含量均以甘草片中为最高;而清炒甘草和蜜炙甘草中6"-O-acetylisoliquiritin apioside含量较甘草片增加明显,推测6"-O-acetylquiritin apioside及其异构体受热不稳定,易转化为6"-O-acetylisoliquiritin apioside,当然也有可能进一步分解。同样,6"-O-acetylquiritin经过受热后,容易转化为6"-O-acetylisoliquiritin。芒柄花黄素为异黄酮类成分,在甘草片中含量最高,清炒甘草中最低,推测其所含的7'-OH在高温状态可氧化为醌式结构。11-脱氧-18 β -甘草亭酸为三萜类成分,在甘草片中含量最高,蜜炙甘草中最低,推测受热过程中易发生脱羧反应,致使其含量降低。单葡萄糖醛酸甘草次酸为甘草酸衍生物,只含有一分子葡萄糖醛酸,甘草片经

炮制后其含量增加,推测受热后甘草酸易脱去1个葡萄糖醛酸基而生成单葡萄糖醛酸甘草次酸。

甘草成分的化学性质较为稳定,炮制不会引起整体成分的剧烈变化。其主要含有黄酮类、三萜皂苷类、香豆素类等成分,质量差异标志物主要为甘草苷和甘草酸的衍生物,这可能与这些成分结构多样、可变化性强、受热结构易变化有关。甘草、光果甘草和胀果甘草均可用作甘草药材,但这3种甘草存在化学成分差异性,有近50种生物标志物用来区分不同基原的甘草药材^[4]。因此,本研究固定实验药材基原为甘草,从而有效避免了因实验药材基原不一致引起的样品自身成分差异而对实验结果产生干扰。本研究结果表明甘草片、清炒甘草和蜜炙甘草间存在一定的物质基础差异,尤其是甘草片与其他2种炮制品的差异较大,可为清炒甘草和蜜炙甘草的质量标志物遴选、药效研究提供参考。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:86-88.
- [2] 李学斌, 陈林, 李国旗, 等. 中国甘草资源的生态分布及其繁殖技术研究[J]. 生态环境学报, 2013, 22(4): 718-722.
- [3] 杨瑞, 李文东, 马永生, 等. 不同基原甘草的分子鉴定及市售甘草药材的质量评价[J]. 药学学报, 2017, 52(2):318-326.
- [4] 陈红. 甘草药理作用概述[J]. 海峡药学, 2005, 17(4): 37-41.
- [5] 姜雪, 孙森凤, 王悦, 等. 甘草药理作用研究进展[J]. 化工时刊, 2017, 31(7):25-28.
- [6] 何薇, 宁静, 吴敬敬, 等. 甘草化学成分与细胞色素P450酶间的相互作用研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(11):1947-1981.
- [7] 贡济宇, 赵凌, 赵丽茹, 等. 甘草饮片等级标准[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(22):154-158.
- [8] 王存琴, 龙泉江. 甘草炮制的文献研究[J]. 西部中医药, 2007, 20(3):42-44.
- [9] 吕圭源, 俞丽霞. 甘草不同炮制品对家兔离体肠活动的影响[J]. 中国中药杂志, 1986, 11(9):21-23.
- [10] 张玉龙, 王梦月, 杨静玉, 等. 炙甘草化学成分及药理作用研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2015, 29(3):99-102.
- [11] 叶定江, 原思通. 中药炮制学辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2005:235.
- [12] 南京中医药大学. 中药大辞典:上册[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社, 2006:791.
- [13] 王志芳. 炮制不同甘草功效有异[N]. 中国中医药报, 2018-03-07(4).
- [14] 周倩, 戴衍朋, 王亮, 等. HPLC法测定生甘草、炙甘草中6种成分[J]. 中成药, 2016, 38(2):378-382.
- [15] 张敏, 王梦月, 刘雅茜, 等. 炮制对甘草中主要苷类成分质量分数及其煎出量的影响[J]. 中草药, 2011, 42(7):1305-1308.
- [16] 刘菁华, 刘亚南, 胡莹莹. 甘草药材主成分异构体含量及比例在不同炮制和提取条件下的变化[J]. 药学实践杂志, 2018, 36(2):140-146.
- [17] 许国旺, 路鑫, 杨胜利. 代谢组学研究进展[J]. 中国医学科学院学报, 2007, 29(6):701-711.
- [18] 李伟, 宋永贵, 刘匡一, 等. UHPLC-QTOF/MS^E与代谢组学技术对北五味子炮制前后化学成分迁移研究[J]. 药科学报, 2016, 51(9):1445-1450.
- [19] 孙俊杰. 中药饮片炮制工艺与质量标准及GMP实施实用手册[M]. 北京:中国中医药出版社, 2006:921-922.
- [20] 上海市食品药品监督管理局. 上海市中药饮片炮制规范[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2008:63.
- [21] 高嘉宁, 张丹, 何海燕, 等. 基于正交偏最小二乘判别分析法分析滇重楼和华重楼品质成分差异性[J]. 应用与环境生物学报, 2019, 25(1):136-142.
- [22] OTA M, XU F, LI Y L, et al. Comparison of chemical constituents among licorice, roasted licorice, and roasted licorice with honey [J]. J Nat Med, 2018, 72(1):80-95.
- [23] ZHENG X T, SHI P Y, CHENG Y Y, et al. Rapid analysis of a Chinese herbal prescription by liquid chromatography-time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2008, 1206(2):140-146.
- [24] ZHANG L, JIANG Z Z, YANG J, et al. Chemical material basis study of Xuefu Zhuyu decoction by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. J Food Drug Anal, 2015, 23(4):811-820.
- [25] RIZZATO G, SCALABRIN E, RADAELLI M, et al. A new exploration of licorice metabolome [J]. Food Chem, 2017, 221:959-968.
- [26] 杨彬, 王媛, 田梦, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS研究法半夏中甘草化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(3):45-49.
- [27] FARAG M A, PORZEL A, WESSJOHANN L A. Comparative metabolite profiling and fingerprinting of medicinal licorice roots using a multiplex approach of GC-MS, LC-MS and 1D NMR techniques [J]. Phytochemistry, 2012, 76:60-72.

[责任编辑 刘德文]