

· 药学基础 ·

## 基于UPLC-Q/TOF-MS分析江西特色炮制工艺对枳壳化学成分的影响

祝婧<sup>1</sup>, 袁恩<sup>1</sup>, 牟俊雍<sup>1</sup>, 钟凌云<sup>1\*</sup>, 张金莲<sup>1</sup>, 杨明<sup>1</sup>, 刘海平<sup>2</sup>  
(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 桂林医学院, 广西 桂林 541004)

**[摘要]** 目的: 比较不同特色炮制工艺对枳壳化学成分的影响, 筛选优势饮片品种。方法: 采用UPLC-Q/TOF-MS检测枳壳中化学成分, 选择ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~10 min, 5%~35%B; 10~18 min, 35%~75%B; 18~21 min, 75%~100%B; 21~24 min, 100%B; 24~24.1 min, 100%~5%B; 24.1~28 min, 5%B), 电喷雾离子源(ESI), 正离子模式, 质谱扫描范围 $m/z$  50~1 200, 通过对照品、相对分子质量、质谱裂解规律和文献信息鉴定枳壳甲醇提取液的化学成分。利用SIMCA-P 13.0软件建立枳壳各炮制品主成分分析(PCA)模型和偏小二乘法-判别分析(PLS-DA)模型, 获取PCA得分图, PLS-DA载荷图和变量重要性投影(VIP)值, 筛选造成枳壳炮制前后主要差异的物质基础。结果: 鉴定出了54个化学成分, PCA提示经不同方法炮制后枳壳组间差异性较大, PLS-DA筛选出VIP值>1的14个化学成分作为炮制前后差异性的主要化学标记物, 包括橙皮素、枸橼苷、柚皮芸香苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、橙皮内酯、柚皮素、去乙酰诺米林、去甲川陈皮素、橙皮素 5-O-葡萄糖苷、橙皮素 7-O-葡萄糖苷、新北美圣草苷和4', 5'-二氢补骨脂素; 将其综合加权评分后发现蜜麸枳壳中有效成分含量最高。结论: 枳壳炮制前后化学成分含量发生显著变化, 黄酮类成分是区分枳壳不同炮制品最重要的化合物类别, 江西樟帮蜜麸枳壳为枳壳的优势炮制品种。

**[关键词]** 枳壳; 炮制; 饮片; 化学成分; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q/TOF-MS); 主成分分析; 偏小二乘法-判别分析

**[中图分类号]** R22; R28; R943.1; C37; O657.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)16-0142-12

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20201069

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200221.1848.003.html>

**[网络出版日期]** 2020-2-22 10:09

### Analysis of Influence of Jiangxi Characteristic Processing Technology on Chemical Compositions of Aurantii Fructus Based on UPLC-Q/TOF-MS

ZHU Jing<sup>1</sup>, YUAN En<sup>1</sup>, MOU Jun-yong<sup>1</sup>, ZHONG Ling-yun<sup>1\*</sup>, ZHANG Jin-lian<sup>1</sup>,  
YANG Ming<sup>1</sup>, LIU Hai-ping<sup>2</sup>

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;  
2. Guilin Medical University, Guilin 541004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the effects of different processing techniques on the chemical constituents of Aurantii Fructus for screening the dominant decoction pieces. **Method:** UPLC-Q/TOF-MS was used to detect the chemical constituents of Aurantii Fructus, chromatography separation was achieved on an ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), and gradient elution was performed with 0.1% formic acid aqueous solution (A)-0.1% formic acid acetonitrile solution (B) as mobile phase (0-10 min,

**[收稿日期]** 20191004(002)

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2018YFC1707206); 国家中医药管理局公益性行业科研专项(201507002-2); 江西省自然科学基金项目(20192BAB215055); 江西省卫生健康委员会科技计划项目(20195646); 江西中医药大学中药学一流学科专项科研项目(JXSYLXK-ZHYA0041); 江西中医药大学博士科研启动基金课题(2019WBZR007)

**[第一作者]** 祝婧, 博士, 讲师, 从事中药饮片炮制机制研究, Tel: 0791-87118995, E-mail: 277836041@qq.com

**[通信作者]** \*钟凌云, 教授, 博士生导师, 从事中药饮片质量标准与炮制机制研究, E-mail: ly1638163@163.com

5%-35%B; 10-18 min, 35%-75%B; 18-21 min, 75%-100%B; 21-24 min, 100%B; 24-24.1 min, 100%-5%B; 24.1-28 min, 5%B)。Data acquisition was carried out in electrospray ionization (ESI) under the positive ion mode, the scanning range was  $m/z$  50-1 200. The chemical constituents in methanol extract of Aurantii Fructus were identified according to reference substance, relative molecular weight, mass spectrometric cleavage rule and literature information. SIMCA-P 13.0 software was used to establish principal component analysis (PCA) model and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) model of Aurantii Fructus processed products, PCA score plot, PLS-DA loading plot and variable importance in the protection (VIP) values were obtained to screen the material basis for the main differences before and after processing of Aurantii Fructus. **Result:** A total of 54 chemical components were identified by UPLC-Q/TOF-MS. PCA indicated that there were significant differences among different groups of Aurantii Fructus processed by different methods. A total of 14 chemical components with VIP value >1 were screened by PLS-DA as the main chemical markers for the differences before and after processing, including hesperidin, poncirin, narirutin, etc. The comprehensive weighted score showed that the content of effective components in Aurantii Fructus processed with honey bran was the highest. **Conclusion:** The contents of chemical constituents in Aurantii Fructus before and after processing are significantly changed. Flavonoids are the most important compounds to distinguish different processed products of Aurantii Fructus. Aurantii Fructus processed with honey bran is the dominant variety.

**[Key words]** Aurantii Fructus; processing; decoction pieces; chemical constituents; ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q/TOF-MS); principal component analysis (PCA); partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA)

枳壳具有理气宽中、行滞消胀、燥湿化痰的功效<sup>[1]</sup>。因生品燥性较强,临床常炮制后使用。江西作为枳壳道地产区,对于枳壳的炮制加工亦具有地方特色,常用饮片除2015年版《中国药典》<sup>[2]</sup>收载品种枳壳生品与麸炒枳壳外,尚有糠炒枳壳<sup>[3]</sup>、樟帮特色蜜麸枳壳<sup>[4]</sup>、建昌帮特色蜜糠枳壳<sup>[5]</sup>等。传统中医药理论认为枳壳经麸制、糠制后具有减燥增效的作用,因缺乏对枳壳炮制前后化学成分变化的研究,目前尚不能明确江西特色炮制技术的科学内涵,这也在一定程度上限制了枳壳特色饮片的推广应用。

为解决上述问题,本实验以江西特色枳壳炮制品为研究对象,选择2015年版《中国药典》<sup>[2]</sup>所收载枳壳、麸炒枳壳作为参照样品,采用UPLC-Q/TOF-MS对枳壳生品、麸炒枳壳、蜜麸枳壳、糠炒枳壳、蜜糠枳壳中化学成分进行检测,结合SIMCA-P 13.0软件对结果进行分析,全面比较不同炮制方法对枳壳中化学成分所产生的影响,探讨江西特色枳壳不同炮制品中物质基础的差异性,以期筛选枳壳优势饮片品种,阐明传统炮制工艺的科学内涵,传承和发展江西地方特色炮制技术。

## 1 材料

Triple TOF™ 5600型液相色谱高分辨串联质谱仪(美国AB SCIEX公司,配备DuoSpray™离子源,

30A型液相色谱系统),AE240型1/10万电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],FA1004B型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),TGL-16B型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),GZX-9076MBE型电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),FW135型中药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),Raynger ST20型红外测温仪(美国雷泰公司)。

枳壳由江西古汉精制中药饮片有限公司提供,经江西中医药大学中药炮制学科组龚千锋教授鉴定为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* 的干燥未成熟果实;麸炒枳壳、蜜麸枳壳、糠炒枳壳、蜜糠枳壳均为实验室自制,麦麸(益海嘉里食品工业有限公司,批号NY/T119),谷糠(盛杰商贸网络旗舰店),百花蜂蜜(江西汪氏蜂蜜园有限公司,批号M109),柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为wkq16051305, wkq15123105, wkq16041804,纯度均≥98%),辛弗林对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,批号BCTG-0709,纯度≥98%),桔皮素、柚皮芸香苷、伞型花内酯、川陈皮素、橙皮油内酯对照品(实验室自制,经<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, ESI-MS鉴定, HPLC峰面积归一法计算质量分数均不低于98.0%),水为自制双蒸水,甲醇、乙腈、甲酸为质谱

纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 样品的制备** 按照2015年版《中国药典》所载炮制方法分别制备枳壳生品、麸炒枳壳<sup>[2]</sup>。蜜麸枳壳参照江西樟帮炮制法制备<sup>[4]</sup>,炼蜜加0.5倍量开水稀释后与麦麸拌匀,置烘箱内50℃烘1.5h,取出搓散,过50目筛,除去碎屑,即得蜜麸;每100kg麦麸,用炼蜜30kg。中火预热锅后均匀撒入蜜麸,待起烟时投入枳壳,炒至药物表面呈深黄色时取出,筛去蜜麸,放凉,即得蜜麸枳壳;每100kg枳壳,用蜜麸10kg。糠炒枳壳参照2008年版《江西省中药饮片炮制规范》<sup>[3]</sup>中“麸炒枳壳”项下炮制方法制备,先将锅烧热,均匀撒入定量谷糠,用中火加热,待烟起投入枳壳片,不断翻动,炒至淡黄色时取出,筛去谷糠,放凉,得糠炒枳壳;每100kg枳壳片需要用谷糠10kg。蜜糠枳壳参照江西建昌帮炮制法制备<sup>[5]</sup>,炼蜜加0.5倍量开水稀释后与谷糠拌匀,置烘箱内50℃烘1.5h,取出搓散,过50目筛,除去碎屑,得蜜糠;每100kg谷糠,用炼蜜30kg。中火预热锅后均匀撒入蜜糠,待起烟时投入枳壳,炒至药物表面呈深黄色时取出,筛去蜜糠,放凉,即得蜜糠枳壳;每100kg枳壳,用蜜糠10kg。

**2.2 供试品溶液的制备** 精密称取枳壳不同炮制品粉末(过三号筛)各50mg,精密加入甲醇5mL,于50℃超声提取30min,取出,离心(4000 r·min<sup>-1</sup>,离心时间15min,离心半径15cm,下同),取上清液,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

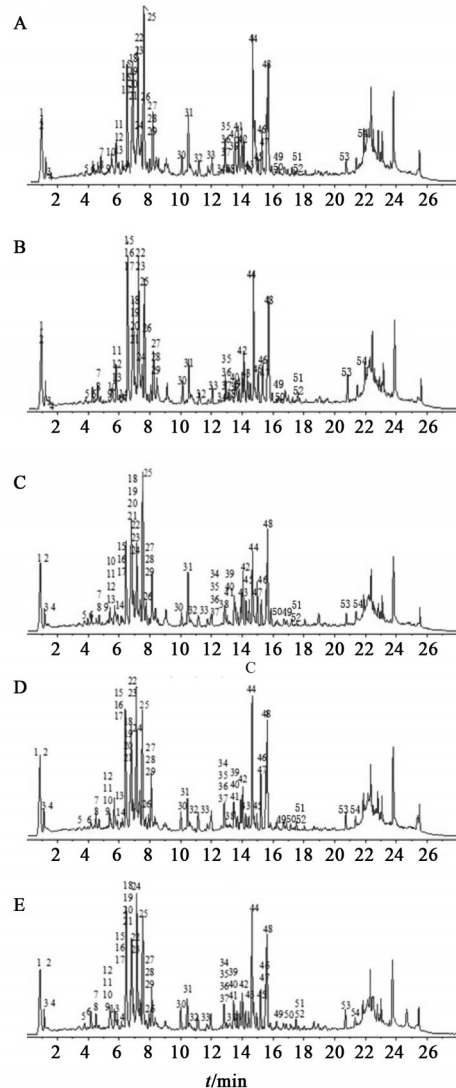
**2.3 对照品溶液的制备** 称取橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、辛弗林、桔皮素、柚皮芸香苷、伞型花内酯、川陈皮素、橙皮油内酯对照品各约5mg,加甲醇使溶解并分别定容于10mL量瓶中,即得各对照品储备液。吸取各对照品储备液适量,分别加入甲醇稀释后得各对照品溶液,离心,经0.45 μm微孔滤膜滤过,供UPLC-Q/TOF-MS分析。

**2.4 色谱条件** ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),流动相0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~10 min, 5%~35%B; 10~18 min, 35%~75%B; 18~21 min, 75%~100%B; 21~24 min, 100%B; 24~24.1 min, 100%~5%B; 24.1~28 min, 5%B),柱温40℃,流速0.4 mL·min<sup>-1</sup>,进样量2 μL。

**2.5 质谱条件** 电喷雾离子源(ESI),在正离子模式下采集数据。干燥气(N<sub>2</sub>)流速10 L·min<sup>-1</sup>,干燥

气温度325℃,保护气温度350℃,保护气流速设定10 L·min<sup>-1</sup>,雾化器压力275.8 kPa,喷嘴电压500 V,毛细管电压4 kV,扫描范围m/z 50~1 200。

**2.6 数据采集和成分鉴定** 通过对文献[6-9]以及化学数据库(CNKI, SciFinder, ChemSpider, Web of Science等)进行检索,共收集枳壳中81种化合物成分信息,建立包括化合物名称、分子式和化学结构等信息的潜在化学成分数据库。将枳壳化学成分数据库导入PeakView 2.1工作站的XIC Manager模块中,并结合柚皮苷等9种对照品的保留时间和质谱信息进行成分鉴定,共鉴定出了54个化学成分。总离子流图见图1,化合物详细信息见表1。



A. 枳壳生品; B. 麸炒枳壳; C. 蜜麸枳壳; D. 糠炒枳壳; E. 蜜糠枳壳;  
2. 辛弗林; 9. 伞形花内酯; 16. 柚皮芸香苷; 20. 柚皮苷; 23. 橙皮苷;  
25. 新橙皮苷; 43. 川陈皮素; 48. 桔皮素; 53. 橙皮油内酯

图1 枳壳不同炮制品的总离子流

Fig. 1 Total ion current chromatograms of different processed products of Aurantii Fructus

表1 枳壳不同炮制品中化学成分的UPLC-Q-TOF/MS鉴定

Table 1 Identification of chemical constituents in different processed products of Aurantii Fructus by UPLC-Q/TOF-MS

化合物	$t_R$ /min	一级质谱 $m/z$			$\delta$ /ppm	MS/MS	分子式	名称
		理论值	实测值					
1	0.85	319.154 0	319.154 2	-0.6	301 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 177 [M-C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 162 [M-C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 134 [M-C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	泼朗弗林 <sup>[7]</sup>	
2	0.87	168.101 9	168.102 2	1.5	150 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 135 [M-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 119 [M-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 107 [M-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> N] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	辛弗林	
3	1.41	152.107 0	152.107 4	2.4	121 [M-CH <sub>3</sub> N] <sup>+</sup> , 91 [M-CH <sub>3</sub> N-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 77 [M-CH <sub>3</sub> N-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO	N-甲基酪胺 <sup>[10]</sup>	
4	1.50	166.122 6	166.123 0	2.2	151 [M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 137 [M-CH <sub>3</sub> N] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO	大麦芽碱 <sup>[11]</sup>	
5	3.96	181.049 5	181.049 6	0.2	163 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 145 [M-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 137 [M-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	咖啡酸 <sup>[12]</sup>	
6	4.20	595.165 8	595.166 9	2.0	449 [M-Rha] <sup>+</sup> , 287 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	忍冬苷 <sup>[13]</sup>	
7	4.71	439.123 5	439.125 0	3.5	169 [M-C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub> ] <sup>+</sup> , 151 [M-C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	枇杷苷 <sup>[14]</sup>	
8	4.72	743.239 3	743.241 7	3.2	273 [M-C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup> , 153 [M-C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup> , 147 [M-C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>33</sub> H <sub>42</sub> O <sub>19</sub>	柚皮素-4'-葡萄糖苷 <sup>[15]</sup>	
9	5.38	163.039 0	163.039 8	4.8	145 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 117 [M-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 135 [M-CO] <sup>+</sup> , 107 [M-2CO] <sup>+</sup> , 89 [M-2CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	伞形花内酯	
10	5.56	195.065 2	195.065 1	-0.4	177 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 149 [M-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 134 [M-H <sub>2</sub> O-CO-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 117 [M-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> OH-CO] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	阿魏酸 <sup>[16]</sup>	
11	5.75	597.181 4	597.182 6	2.0	569 [M-CO] <sup>+</sup> , 561 [M-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 451 [M-Rha] <sup>+</sup> , 289 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	新北美圣草苷 <sup>[17]</sup>	
12	5.76	451.123 5	451.124 4	1.9	397 [M-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 289 [M-Glc] <sup>+</sup> , 163 [M-Glc-3H <sub>2</sub> O-CO-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	圣草酚-7-O-葡萄糖苷 <sup>[14]</sup>	
13	5.77	597.181 4	597.182 6	2.0	289 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 163 [M-Rha-Glc-3H <sub>2</sub> O-CO-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	圣草次苷 <sup>[17]</sup>	
14	6.14	465.139 1	465.140 7	3.3	303 [M-Glc] <sup>+</sup> , 151 [M-Glc-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 153 [M-Glc-C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	橙皮素-5-O-葡萄糖苷 <sup>[14]</sup>	
15	6.38	611.160 7	611.161 2	0.8	465 [M-Rha] <sup>+</sup> , 303 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 285 [M-Rha-Glc-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 153 [M-Rha-Glc-C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	芦丁 <sup>[18]</sup>	
16	6.42	581.186 5	581.187 0	1.3	435 [M-Rha] <sup>+</sup> , 273 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 153 [M-Rha-Glc-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup> , 147 [M-Rha-Glc-C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 119 [M-Rha-Glc-C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	柚皮芸香苷	
17	6.43	419.133 7	419.135 6	4.7	404 [M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 389 [M-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 371 [M-2CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 361 [M-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	3-羟基-5,6,7,8,3',4'-六甲氧基黄酮 <sup>[19]</sup>	
18	6.74	579.170 8	579.172 6	3.0	433 [M-Rha] <sup>+</sup> , 271 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 253 [M-Rha-Glc-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 235 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	野漆树苷 <sup>[20]</sup>	
19	6.77	315.086 3	315.087 1	2.5	300 [M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 285 [M-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 272 [M-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup> , 257 [M-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	黄芩素 4',7-二甲醚 <sup>[21]</sup>	
20	6.78	581.186 5	581.187 4	1.5	435 [M-Rha] <sup>+</sup> , 273 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 153 [M-Rha-Glc-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup> , 147 [M-Rha-Glc-C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	柚皮苷	
21	6.79	435.128 6	435.129 9	3.1	273 [M-Glc] <sup>+</sup> , 153 [M-Glc-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup> , 147 [M-Glc-C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	柚(昔)配基-7-O-葡萄糖苷 <sup>[22]</sup>	
22	7.13	465.139 1	465.140 7	3.3	303 [M-Glc] <sup>+</sup> , 153 [M-Glc-C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 151 [M-Glc-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	橙皮素 7-O-葡萄糖苷 <sup>[14]</sup>	
23	7.16	611.197 1	611.197 8	1.1	465 [M-Rha] <sup>+</sup> , 303 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 153 [M-Rha-Glc-C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 151 [M-Rha-Glc-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	橙皮苷	
24	7.18	773.249 9	773.252 0	2.8	611 [M-Glc] <sup>+</sup> , 465 [M-Glc-Rha] <sup>+</sup> , 303 [M-Rha-2Glc] <sup>+</sup> , 288 [M-Rha-2Glc-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 273 [M-Rha-2Glc-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>20</sub>	单葡萄糖基橙皮苷 <sup>[14]</sup>	
25	7.52	611.197 1	611.199 1	3.4	465 [M-Rha] <sup>+</sup> , 303 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 153 [M-Rha-Glc-C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 151 [M-Rha-Glc-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	新橙皮苷	
26	7.73	465.139 1	465.140 7	3.3	303 [M-Glc] <sup>+</sup> , 153 [M-Glc-C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 151 [M-Glc-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	橙皮素 7-O-β-D-葡萄糖苷 <sup>[23]</sup>	
27	8.08	261.112 1	261.112 9	2.8	177 [M-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup> , 162 [M-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 149 [M-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 133 [M-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	异橙皮内酯 <sup>[22]</sup>	
28	8.09	279.122 7	279.123 2	1.9	189 [M-CO-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 159 [M-CO-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 131 [M-2CO-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	橙皮内酯水合物 <sup>[22]</sup>	

续表 1

化合物	$t_R$ /min	一级质谱 $m/z$			MS/MS	分子式	名称
		理论值	实测值	$\delta$ /ppm			
29	8.10	189.054 6	189.054 8	0.7	131 [M-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 103 [M-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	4',5'-二氢补骨脂素 <sup>[24]</sup>
30	9.99	595.202 1	595.203 5	2.4	449 [M-Rha] <sup>+</sup> , 287 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 272 [M-Rha-Glc-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 254 [M-Rha-Glc-CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	香风草苷 <sup>[25]</sup>
31	10.41	595.202 1	595.204 4	3.8	449 [M-Rha] <sup>+</sup> , 287 [M-Rha-Glc] <sup>+</sup> , 272 [M-Rha-Glc-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 254 [M-Rha-Glc-CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	枸橼苷 <sup>[14]</sup>
32	11.09	273.075 8	273.076 6	3.1	153 [M-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup> , 147 [M-C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 119 [M-C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	柚皮素 <sup>[14]</sup>
33	11.89	303.086 3	303.087 1	2.7	177 [M-C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 153 [M-C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	橙皮素 <sup>[14]</sup>
34	12.69	217.049 5	217.049 9	1.8	202 [M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 174 [M-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	佛手苷内酯 <sup>[14]</sup>
35	12.82	315.159 1	315.160 0	2.8	297 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 163 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O] <sup>+</sup> , 145 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 135 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 107 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O-2CO] <sup>+</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	6',7'-环氧-7-香叶基氧基香豆素 <sup>[26]</sup>
36	12.83	333.169 7	333.170 8	3.5	163 [M-C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 135 [M-C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> -CO] <sup>+</sup> , 107 [M-C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> -2CO] <sup>+</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>	马尔敏 <sup>[8,27]</sup>
37	12.88	491.227 6	491.228 9	2.7	449 [M-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 407 [M-2C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 365 [M-3C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 347 [M-3C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 329 [M-3C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>	sudachinoid A <sup>[14]</sup>
38	13.44	261.112 1	261.112 9	2.8	189 [M-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup> , 159 [M-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 131 [M-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O-CH <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	橙皮内酯 <sup>[22]</sup>
39	13.53	473.217 0	473.218 0	2.2	427 [M-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 161 [M-C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	去乙酰诺米林 <sup>[23]</sup>
40	13.68	373.128 2	373.129 9	4.7	343 [M-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 328 [M-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 325 [M-CH <sub>2</sub> O-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 300 [M-CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup> , 297 [M-CH <sub>2</sub> O-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	甜橙黄酮 <sup>[14]</sup>
41	14.01	471.201 3	471.202 8	3.1	425 [M-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 161 [M-C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>	柠檬苦素 <sup>[23]</sup>
42	14.41	533.238 1	533.240 0	3.6	369 [M-C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> ] <sup>+</sup> , 161 [M-C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>8</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>36</sub> O <sub>10</sub>	诺米林酸 <sup>[23]</sup>
43	14.69	403.138 7	403.140 4	4.0	388 [M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 373 [M-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 358 [M-3CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 355 [M-2CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 345 [M-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	川陈皮素
44	14.94	515.227 6	515.229 5	3.7	487 [M-CO] <sup>+</sup> , 471 [M-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 469 [M-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 455 [M-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 161 [M-C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>	诺米林 <sup>[23]</sup>
45	15.20	433.149 3	433.151 3	4.5	403 [M-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 385 [M-CH <sub>2</sub> O-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 <sup>[14]</sup>
46	15.37	359.112 5	359.114 1	4.3	344 [M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 329 [M-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 311 [M-2CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	5-羟基-6,7,8,4'-四甲氧基黄酮 <sup>[28]</sup>
47	15.53	419.133 7	419.135 6	4.7	389 [M-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 371 [M-2CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 361 [M-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	柚皮黄素 <sup>[14]</sup>
48	15.63	373.128 2	373.129 9	4.7	343 [M-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 328 [M-3CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 325 [M-2CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 315 [M-2CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	桔皮素
49	16.25	389.123 1	389.124 7	4.2	374 [M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 359 [M-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 341 [M-2CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>8</sub>	去甲川陈皮素 <sup>[29]</sup>
50	16.29	331.117 6	331.116 7	-2.8	313 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 139 [M-H <sub>2</sub> O-Rha-CO] <sup>+</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	3-羟基-4',5,7-三甲氧基黄酮 <sup>[14]</sup>
51	17.50	203.033 9	203.034 8	4.5	131 [M-CO <sub>2</sub> -CO] <sup>+</sup> , 119 [M-3CO] <sup>+</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	花椒毒酚 <sup>[23]</sup>
52	17.51	271.096 5	271.097 8	4.8	203 [M-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ] <sup>+</sup> , 159 [M-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 147 [M-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> -2CO] <sup>+</sup> , 131 [M-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> -CO <sub>2</sub> -CO] <sup>+</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	异欧前胡素 <sup>[30]</sup>
53	20.70	299.164 2	299.165 5	4.3	163 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> ] <sup>+</sup> , 145 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 117 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> -H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 135 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> -CO] <sup>+</sup> , 107 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> -2CO] <sup>+</sup> , 89 [M-C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> -2CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	橙皮油内酯
54	21.66	415.393 4	415.391 4	-4.8	397 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 367 [M-H <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>+</sup> , 255 [M-H <sub>2</sub> O-C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> ] <sup>+</sup> , 213 [M-H <sub>2</sub> O-C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>30</sub> O	$\beta$ -谷甾醇 <sup>[31]</sup>

2.7 裂解规律分析 枳壳醇提液中化学成分主要为黄酮类、香豆素类、生物碱类等,此外还存在少量酚酸类、柠檬苦素类成分。其中黄酮类成分最多,主要分为黄酮及其苷类、多甲氧基黄酮类,黄酮苷类化合物的结构特点主要是与葡萄糖或鼠李糖等

形成氧苷,在质谱高能碰撞下连续苷键的断裂,丢失糖基,生成高强度的黄酮苷元碎片,二级黄酮苷元质谱主要裂解方式有黄酮C环开环断裂及丢失CO<sub>2</sub>,CO,C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O和H<sub>2</sub>O等中性离子等,如柚皮苷、橙皮苷、柚皮芸香苷等;多甲氧基黄酮类化合物在质

谱高能碰撞下通过连续丢失甲基自由基( $\text{CH}_3$ )产生 $[\text{M}+\text{H}-15]^+$ ,  $[\text{M}+\text{H}-30]^+$ ,  $[\text{M}+\text{H}-45]^+$ 等基峰, 然后通过丢失 $\text{CO}$ 和 $\text{H}_2\text{O}$ 等中性离子进一步裂解, 如川陈皮素、桔皮素等。香豆素类成分主要以2种方式进行裂解, 一种是通过脱去吡喃环上的 $\text{CO}$ 形成 $[\text{M}+\text{H}-28]^+$ 碎片离子, 然后连续脱去 $\text{CO}$ , 先后形成 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$ 和 $[\text{M}+\text{H}-3\text{CO}]^+$ 等碎片离子; 另一种是通过脱去吡喃环上的 $\text{CO}_2$ , 形成 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$ 碎片离子, 此离子可继续脱掉吡喃环上的 $\text{CO}$ 产生 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2-\text{CO}]^+$ 碎片离子, 如伞形花内酯、佛手苷内酯、橙皮内酯水合物等。生物碱类成分主要通过脱去 $\text{H}_2\text{O}$ 和甲基自由基形成特征碎片离子, 如辛弗林、大麦芽碱和 $N$ -甲基酪胺等, 以下是9个对照品的二级碎片裂解途径, 见图2, 3。

**2.8 炮制前后化学成分含量变化** 在正离子模式下, 枳壳不同炮制品中色谱峰的保留时间、准分子离子及二级质谱碎片等信息均基本相同的情况下, 以各色谱峰的峰面积变化指数作为反映其对应化合物含量变化的指标<sup>[32]</sup>。变化指数(change index, CI)=炮制品离子峰面积/对应保留时间的生品离子峰面积, 其值 $>1$ 表示此离子峰对应成分含量在炮制后增加,  $<1$ 表示此离子峰对应成分含量在炮制后降低,  $=1$ 表示炮制前后无变化。结果发现枳壳经麸(糠)炒、蜜麸(糠)炒后, 均未发现有新的成分产生, 但不同炮制方法对枳壳中化合物含量的影响不完全相同。经过麸炒后, 有7个化合物峰面积明显升高( $\text{CI}>1.5$ ), 5个化合物峰面积明显降低( $\text{CI}<0.5$ ); 经过蜜麸炒后, 有11种化合物峰面积明显升高, 2种化合物峰面积显著降低; 经过糠炒后, 有5种化合物峰面积明显升高, 3种化合物峰面积明显降低; 经过蜜糠炒后, 有12种化合物峰面积明显升高, 4种化合物峰面积明显降低。枳壳各炮制品在正离子模式下的离子峰面积及炮制前后变化指数见表2。

### 2.9 UPLC-Q/TOF-MS 数据分析

**2.9.1 主成分分析(PCA)** 枳壳不同炮制品中的54种化学成分的离子峰面积数据按照要求处理后, 导入SIMCA-P 13.0软件进行PCA处理, 得分图见图4。结果发现各组样本点之间离散性较小, 表明不同批次枳壳样品自身差异较小, 组内均一性良好; 枳壳各炮制品被明显分成了5组, 说明枳壳经不同方法炮制后其化学成分均发生了显著变化。

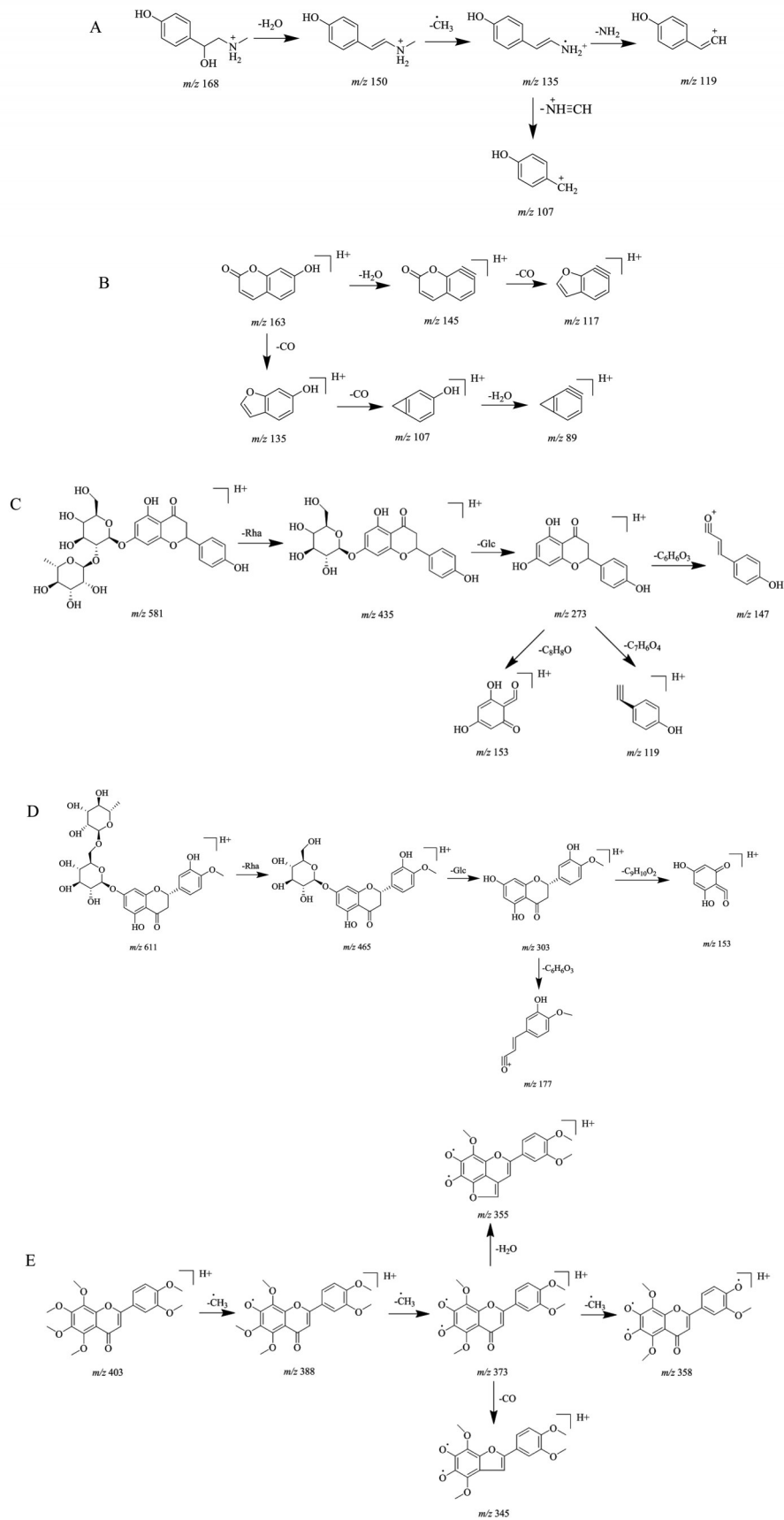
**2.9.2 偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)** 为寻找枳壳不同炮制品的主要差别, 采用PLS-DA考察变量重要性投影(VIP)值, VIP值越大表明该变量

对模型越重要, 通常将VIP值 $>1$ 的变量视为模型的重要标记物<sup>[33]</sup>。通过构建枳壳不同炮制品的PLS-DA( $R^2X[1]=0.629$ ,  $R^2X[2]=0.096$ )模型, 筛选出14个VIP值 $>1$ 的成分作为质量标记物, 分别为橙皮素, 枸橼苷, 柚皮芸香苷, 柚皮苷, 橙皮苷, 新橙皮苷, 橙皮内酯, 柚皮素, 去乙酰诺米林, 去甲川陈皮素, 橙皮素5- $O$ -葡萄糖苷, 橙皮素7- $O$ -葡萄糖苷, 新北美圣草苷, 4', 5'-二氢补骨脂素; 其结果与PLS-DA载荷散点图分析结果基本一致, 见图5, 6。在这14个化学标记物中, 其中有12个黄酮苷类成分, 1个香豆素类成分以及1个柠檬苦素类成分, 证明黄酮类成分是区分枳壳不同炮制品最重要的化合物类别。

**2.10 不同炮制品的物质基础比较** 采用综合加权评分法对枳壳不同炮制品中14个化学标记物峰面积进行综合评分, VIP值越大表明变量对模型越重要, 故将VIP值 $>2$ 的成分与 $1<\text{VIP值}<2$ 的成分的权重系数进行区分, 并按照VIP值大则权重系数高, 且可被除尽的原则, 将VIP值 $>2$ 成分的权重系数设定为8.0%,  $1<\text{VIP值}<2$ 成分的权重系数设定为5.6%。上述成分峰面积越高则提示物质基础越好, 故以峰面积最高的样品为100分, 如橙皮素在蜜麸枳壳中峰面积最高, 记为100分, 则枳壳生品中柚皮苷峰面积得分为 $2\ 395\ 754/2\ 608\ 402\times 100\approx 91.85$ , 其他成分峰面积得分计算方法相同。将14个化学标记物按照权重相加得分即为该饮片品种综合得分, 计算枳壳生品、麸炒枳壳、蜜麸枳壳、糠炒枳壳、蜜糠枳壳的综合得分为84.11, 86.17, 98.21, 87.36, 91.14, 提示蜜麸枳壳物质基础相对较好。

### 3 讨论

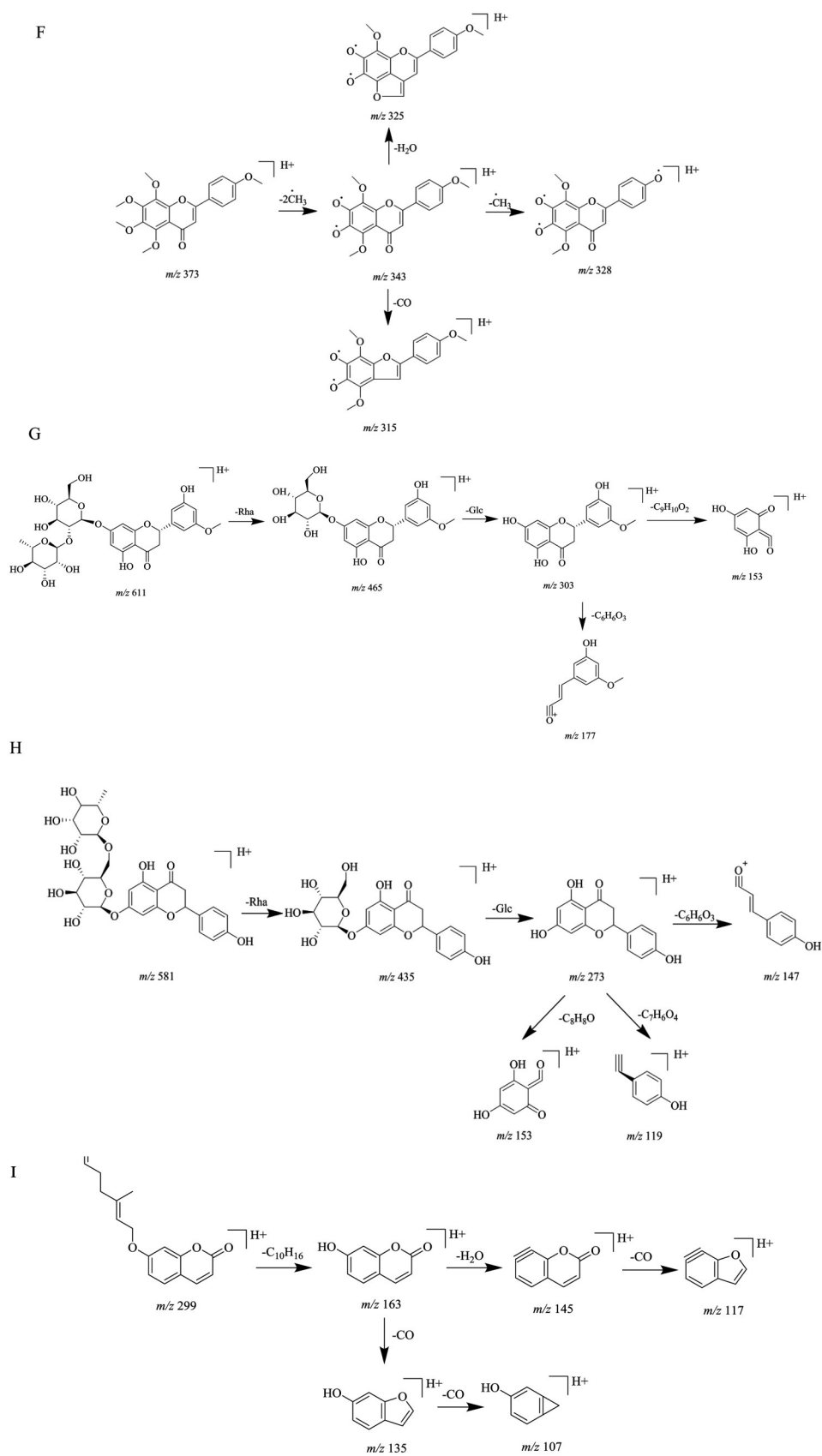
“饮片入药, 生熟异用”是中医临床的用药特点, 不同炮制方法对中药药性和药效可产生不同的影响, 而化学成分则是中药发挥疗效的物质基础。江西“樟帮”“建昌帮”等南方古药帮习惯以当地农作物水稻次生产物谷糠作为炮制辅料, 并擅用双重辅料蜜麸、蜜糠炮制枳壳, 以实现减燥、增效、赋色以及因地取材等目的<sup>[3-5]</sup>。为阐明上述传统炮制技术的科学内涵, 本文采用UPLC-Q/TOF-MS对枳壳化学成分进行了检测, 为准确检测蜜麸枳壳中化学成分, 前期已对提取工艺、色谱条件及质谱条件进行了优化, 并分别以正、负离子模式对蜜麸枳壳样品进行检测, 发现在正离子模式下所显示的成分信息更加丰富, 故选择正离子模式进行成分分析, 并初步鉴定出了54种化学成分。通过直观分析后发



A. 辛弗林; B. 伞形花内酯; C. 柚皮苷; D. 橙皮苷; E. 川陈皮素

图2 枳壳中5个化合物的裂解途径

Fig. 2 Cleavage pathways of five chemical constituents in Aurantii Fructus



F. 桔皮素; G. 新橙皮苷; H. 柚皮芸香苷; I. 橙皮油内酯

图3 枳壳中4个化合物的裂解途径

Fig. 3 Cleavage pathways of four chemical constituents in Aurantii Fructus

表2 枳壳不同炮制品在正离子模式下的离子峰面积炮制前后变化指数

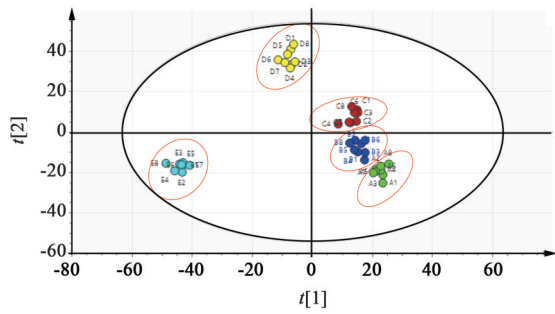
Table 2 Change indexes of ion peak area of Aurantii Fructus processed products before and after processing under positive ion mode

No.	化合物	变化指数 <sup>1)</sup>				No.	化合物	变化指数 <sup>1)</sup>			
		麸炒枳壳	蜜麸枳壳	糠炒枳壳	蜜糠枳壳			麸炒枳壳	蜜麸枳壳	糠炒枳壳	蜜糠枳壳
1	泼朗弗林	1.42	1.34	1.26	1.73	28	3-羟基-5,6,7,8,3',4'-六甲氧基黄酮	1.92	1.56	1.38	1.70
2	辛弗林	0.90	0.93	0.99	0.95	29	野漆树苷	2.23	1.03	0.95	2.39
3	新北美圣草苷	1.01	1.02	1.16	0.82	30	黄芩素4',7-二甲醚	0.70	0.98	0.90	0.85
4	橙皮素5-O-葡萄糖苷	1.08	1.09	0.95	1.00	31	柚(昔)配基-7-O-葡萄糖苷	0.75	1.15	0.79	0.74
5	柚皮芸香苷	1.44	1.76	1.36	1.56	32	单葡萄糖基橙皮苷	0.81	2.48	0.97	1.25
6	N-甲基酪胺	1.00	0.95	0.90	1.32	33	橙皮素7-O-β-D-葡萄糖苷	0.85	3.14	1.27	1.08
7	柚皮苷	0.90	0.89	0.93	0.97	34	异橙皮内酯	0.60	1.04	0.82	0.68
8	橙皮苷	1.29	1.51	1.28	1.46	35	橙皮内酯水合物	0.61	0.97	0.86	0.78
9	大麦芽碱	0.89	0.97	0.85	0.76	36	香风草苷	1.34	1.17	1.01	1.34
10	新橙皮苷	0.93	1.12	0.87	0.96	37	佛手昔内酯	0.78	0.72	0.66	0.87
11	橙皮素7-O-葡萄糖苷	1.31	1.35	1.35	1.29	38	6',7'-环氧-7-香叶基氧基香豆素	0.89	0.89	0.94	1.09
12	4',5'-二氢补骨脂素	0.97	1.10	1.11	0.99	39	马尔敏	0.93	0.92	1.04	1.04
13	咖啡酸	0.50	0.77	0.73	0.68	40	sudachinoid A	1.00	2.51	2.76	0.98
14	枸橼苷	0.90	1.16	0.78	1.00	41	甜橙黄酮	0.30	0.34	0.39	0.44
15	柚皮素	1.02	1.14	1.03	1.05	42	柠檬苦素	1.51	1.92	1.21	1.24
16	橙皮素	1.01	1.09	1.02	1.03	43	诺米林酸	2.49	2.32	1.69	2.27
17	忍冬苷	1.16	0.84	0.65	1.39	44	川陈皮素	0.86	0.70	0.99	0.95
18	枇杷苷	1.10	1.07	0.94	1.01	45	诺米林	2.29	3.37	1.23	1.12
19	去甲川陈皮素	0.76	0.84	1.11	1.24	46	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	0.99	0.89	1.33	1.15
20	橙皮内酯	0.98	1.10	1.09	1.13	47	5-羟基-6,7,8,4'-四甲氧基黄酮	0.14	0.15	0.19	0.37
21	去乙酰诺米林	1.01	1.27	1.01	1.12	48	柚皮黄素	0.49	0.50	0.76	0.62
22	柚皮素-4'-葡萄糖苷	0.34	0.56	0.55	0.23	49	桔皮素	0.99	0.90	0.97	0.95
23	伞形花内酯	1.62	1.31	1.36	1.57	50	3-羟基-4',5,7-三甲氧基黄酮	0.30	0.78	0.37	0.40
24	阿魏酸	0.72	0.56	0.83	0.83	51	花椒毒酚	1.40	1.15	1.16	1.67
25	圣草酚-7-O-葡萄糖苷	0.62	2.49	1.65	1.79	52	异欧前胡素	1.48	1.14	1.17	1.83
26	圣草次苷	1.41	1.10	1.54	1.70	53	橙皮油内酯	2.08	1.23	1.25	1.62
27	芦丁	1.01	1.61	1.91	1.85	54	β-谷甾醇	0.83	1.13	1.05	0.80

注:<sup>1)</sup>与生品比较。

现,枳壳生品中鉴定出的54个成分经不同方法炮制后均仅发生了量变,未发现新增或消失成分。经过双重辅料蜜麸(糠)炮制后,枳壳中含量发生显著升高的成分种类明显高于经单一辅料麦麸(谷糠)炮制的饮片,而含量发生显著降低成分种类则未表现出明显规律,提示双重辅料蜜麸(糠)更有助于提升枳壳中物质基础。经PLS-DA处理后可知,橙皮素、枸橼苷、柚皮芸香苷等14种成分为枳壳炮制前后内在成分差异的最主要物质基础,其中12种为黄酮类成分,与文献中报道黄酮类成分为枳壳最主要药效物质基础相一致<sup>[34]</sup>。

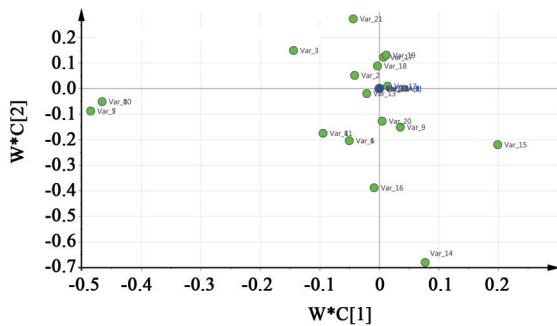
化学标记物中柚皮苷为2015年版《中国药典》<sup>[2]</sup>的枳壳质控指标成分之一,具有促进胃肠动力的作用<sup>[35]</sup>,炮制后其含量不同程度下降,降幅排序为蜜麸枳壳>麸炒枳壳>糠炒枳壳>蜜糠枳壳,这可能与炮制过程中经过高温与辅料共同作用,使得柚皮苷分解为苷元柚皮素所致。柚皮苷为大分子化合物,其生物利用度较低,而柚皮苷转化为其苷元柚皮素后,可极大提升其生物利用度,更易于体内吸收<sup>[36]</sup>,并对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌有较好的抑菌活性,能够通过调节肠道菌群而发挥宽中除胀的作用<sup>[37]</sup>,文献报道柚皮素经



A1~A8. 生品; B1~B8. 麸炒品; C1~C8. 蜜麸品; D1~D8. 糠炒品; E1~E8. 蜜糠品

图4 枳壳各炮制品中离子峰面积数据的PCA得分

Fig. 4 PCA score plot of ion peak area data in *Aurantii Fructus* processed products



Var表示变量(variable),其后面的数字表示化合物序号,序号与表2中一致(图5同)

图5 枳壳各炮制品中部分化合物的PLS-DA载荷散点

Fig. 5 PLS-DA loading scatter plot of some compounds in *Aurantii Fructus* processed products

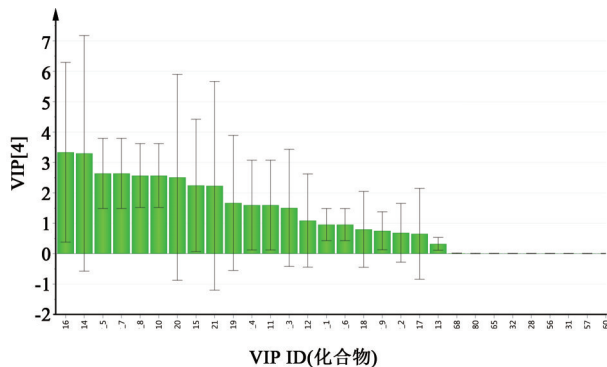


图6 枳壳各炮制品PLS-DA模型中部分化合物的VIP值

Fig. 6 VIP values of some compounds in PLS-DA model of *Aurantii Fructus* processed products

口服给药后,其表观渗透系数为柚皮苷的3倍<sup>[38]</sup>。枳壳炮制后柚皮素含量有不同程度的上升,并且以蜜麸枳壳中柚皮素含量升高最为显著,这一实验结果符合上述推断。

橙皮素是新橙皮苷和橙皮苷的苷元,与柚皮素混合后可产生促胃肠动力的作用,并可抑制大肠埃希氏菌和沙门氏菌<sup>[39]</sup>;新橙皮苷与橙皮苷均具有促

进胃排空、肠推进以及调节肠道菌群的作用<sup>[40]</sup>,是枳壳宽中除胀的主要活性成分,亦为文献报道中枳壳的质量标志物<sup>[41]</sup>。经炮制后橙皮苷及橙皮素均有不同程度上升,且以蜜麸枳壳中含量最高;而麸(糠)炒及蜜糠炒均使新橙皮苷含量不同程度降低,经蜜麸炒则使新橙皮苷含量升高。炮制后上述成分发生量变的机制尚不明确,推测橙皮素含量升高,可能与新橙皮苷、橙皮苷在炮制过程中受高温以及辅料中某些成分的催化分解为苷元相关<sup>[42]</sup>;橙皮苷及新橙皮苷推测是由于在经历不同炮制方法中的高温、炼蜜、麦麸、谷糠、氧气等多重因素共同作用后,产生了一系列复杂的化学变化而使二者含量发生变化;新北美圣草苷、柚皮芸香苷、橙皮素-7-O-葡萄糖苷等黄酮苷类成分具体的变化机制还需进一步深入研究。

通过分析14个化学标记物在不同炮制品间的差异趋势后发现,枳壳麸炒后有8种成分的含量升高,6种成分含量降低;蜜麸炒后有12种成分含量升高,2种成分含量降低;糠炒后有10中成分含量升高,4种成分含量降低;蜜糠炒后有8种成分含量升高,4种成分含量降低,2种成分含量无明显变化。柚皮苷等14个化学标记物均为文献报道中枳壳理气、行滞、祛痰的重要药效成分<sup>[43-45]</sup>,故推测炮制后上述成分含量的变化可能是枳壳炮制后增强或缓和相应疗效的原因之一。选择14个化学标记物峰面积作为评价指标,经多指标加权评分后发现蜜麸枳壳综合得分更高,推测其可作为枳壳的优势炮制品种,本课题组前期药理学研究结果也印证了这一结论<sup>[46-48]</sup>。本课题组后续将在综合目前研究成果的基础上,选择动态生物网络体系等方法,将枳壳炮制前后“成分-药效”变化进行有机关联分析,为优势饮片蜜麸枳壳的炮制机制阐释以及质量标准建立奠定研究基础。

#### [参考文献]

- [1] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2016.
- [2] 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, 2015:246.
- [3] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药饮片炮制规范[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2009:324.
- [4] 龚千锋. 樟树中药炮制全书[M]. 南昌:江西科学技术出版社, 1983.
- [5] 上官贤. 建昌帮中药炮制全书[M]. 南昌:江西教育出版社, 2013:661-662.

- [6] 施学骄,黄伟,刘友平. 枳壳果皮、核瓤有效成分的比较研究[J]. 中国药房,2012,23(27):2537-2537.
- [7] 李敏. 枳壳化学成分的研究[D]. 长春:吉林大学,2014.
- [8] LIU W Y, ZHOU C, YAN C M, et al. Characterization and simultaneous quantification of multiple constituents in *Aurantii Fructus Immaturus* extracts by HPLC-DAD-ESI-MS/MS [J]. *Chin J Nat Med*, 2012, 10(6):456-463.
- [9] 曾鸿莲. 枳实和枳壳中活性化合物的富集检测与PAMPA快速筛选研究[D]. 北京:北京中医药大学,2017.
- [10] GUO J H, LI G Z, MENG Q Y, et al. Study on alkaloids in *Fructus Hordei Germinatus* [J]. *Med Plant*, 2018, 9(6):19-22.
- [11] SIMON L, JEAN-MARC C, LAURENCE L, et al. Interaction between the barley allelochemical compounds gramine and hordenine and artificial lipid bilayers mimicking the plant plasma membrane [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):9784.
- [12] WEBER L, MAHDI D H, JANKUHN S, et al. Bioactive plant compounds in coffee charcoal (*Coffea carbo*) extract inhibit cytokine release from activated human THP-1 macrophages [J]. *Molecules*, 2019, doi: 10.3390/molecules24234263.
- [13] 贾志鑫. 脂质组学分析技术的研究及其在与疾病相关潜在生物标志物和中药作用机制研究中的应用 [D]. 北京:北京协和医学院,2016.
- [14] 张栋健,李薇,何庆文,等. UHPLC-Q-TOF-MS分析枳壳炮制前后成分变化[J]. 中国中药杂志,2016,41(11):2070-2080.
- [15] 邢天天. 基于UPLC-QToF-MS的宽皮柑橘和橙果皮化学成分及代谢组学研究[D]. 重庆:西南大学,2018.
- [16] 詹勤. 桔梗在升陷汤中引经作用及其化学成分研究 [D]. 上海:第二军医大学,2012.
- [17] 胡晓茹,杨美丽,孙磊,等. 三七伤药片超高效液相色谱特征图谱的研究[J]. 药物分析杂志,2014,34(10):1755-1762.
- [18] LIN Z T, WANG H, XU Y, et al. Identification of antioxidants in *Fructus Aurantii* and its quality evaluation using a new on-line combination of analytical techniques [J]. *Food Chem*, 2012, 134(2):1181-1191.
- [19] CHEN H F, ZHANG W G, YUAN J B, et al. Simultaneous quantification of polymethoxylated flavones and coumarins in *Fructus Aurantii* and *Fructus Aurantii Immaturus* using HPLC-ESI-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 59:90-95.
- [20] 万茵,谢明勇,曾小星. 车前子总黄酮的纯化及其成分的液相质谱联用分析[J]. 食品科学,2008,29(2):328-332.
- [21] 陈素慧,王小平,谌赛男,等. UPLC-MS/MS法同时测定银黄制剂中26种成分含量[J]. 广东药科大学学报,2018,34(5):586-598.
- [22] 刘群娣,谢春燕,闫李丽,等. 化橘红化学成分的HPLC-DAD-MS/MS分析[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2011,13(5):864-867.
- [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] 徐洋洋. 白术芍药散炮制前后化学成分的变化及与溃疡性结肠炎疗效的相关性研究[D]. 南京:南京中医药大学,2018.
- [25] MA C Y, GAO W Y, GAO Y, et al. Identification of chemical constituents in extracts and rat plasma from *Fructus Aurantii* by UPLC-PDA-Q-TOF/MS [J]. *Phytochem Anal*, 2011, 22(2):112-118.
- [26] ZHAO X, YANG D H, XU F, et al. The *in vivo* absorbed constituents and metabolites of Danshen decoction in rats identified by HPLC with electrospray ionization tandem ion trap and time-of-flight mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2015, 29(2):285-304.
- [27] 祝婧,叶喜德,吴江峰,等. 枳壳炮制历史沿革及炮制品现代研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(20):191-199.
- [28] MEI W L, HAN Z, CUI H B, et al. A new cytotoxic iridoid from *Callicarpa nudiflora* [J]. *Nat Prod Res*, 2010, 24(10):899-904.
- [29] 陈伟康,马双成,罗跃华,等. 超高效液相串联质谱法同时测定乳块消颗粒中6种成分的含量[J]. 中国药理学杂志,2015,50(7):629-633.
- [30] 田玉路. 前胡质量评价方法及呋喃香豆素类同分异构体质谱分析方法研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2016.
- [31] 沙鸥,钱保华,许文林.  $\beta$ -谷甾醇琥珀酸酯的合成表征及质谱碎裂机理研究[J]. 食品研究与开发,2006,27(6):125-126,155.
- [32] 颜晓静,郑博文,张毅达,等. UPLC-Q-TOF/MS分析孟河医派特色猪心血丹参炮制前后化学成分的变化[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(9):109-116.
- [33] 邵艳琳. 基于UHPLC/Q-TOF-MS的药物干预前后种植体周围黏膜炎的代谢组学研究[D]. 泸州:西南医科大学,2017.
- [34] 季忆,陈建真,陈建明. 枳壳黄酮类成分的研究进展

- [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(11): 105-107.
- [35] 陈振鹤, 吴国泰, 任远. 枳壳的化学成分、药理作用及临床应用[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(26): 95-97.
- [36] PURI M. Updates on naringinase: structural and biotechnological aspects [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 93(1): 49-60.
- [37] 霍平, 刘万云. 柚皮素芳酰胺化合物的微波合成与抑菌活性研究[J]. 化学试剂, 2012, 34(4): 312-314.
- [38] 马燕. 柚皮素口服吸收机制及改善其生物利用度的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2006.
- [39] IRANSHAHI M, REZAAEE R, PARHIZ H, et al. Protective effects of flavonoids against microbes and toxins: the cases of hesperidin and hesperetin [J]. Life Sci, 2015, 137: 125-132.
- [40] 秦慧民, 朱思明, 于淑娟. 橙皮苷及酮配合物的抑菌抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2006, 31(6): 81-83.
- [41] 张炜华, 赵锋, 李江英, 等. 和肝理脾颗粒定性定量方法研究[J]. 中南药学, 2016, 14(11): 1249-1253.
- [42] GROHMANN K, MANTHEY J A, CAMERON R G. Acid-catalyzed hydrolysis of hesperidin at elevated temperatures [J]. Carbohydr Res, 2000, 328 (2) : 141-146.
- [43] 李陈雪, 杨玉赫, 冷德生, 等. 枳壳化学成分及药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(2): 158-161.
- [44] LIU X Y, LI L, LI X Q, et al. Identification of active compound combination contributing to anti-inflammatory activity of Xiao-Cheng-Qi Decoction via human intestinal bacterial metabolism [J]. Chin J Nat Med, 2018, 16(7): 513-524.
- [45] CHEN K H, WENG M S, LIN J K. Tangeretin suppresses IL-1 $\beta$ -induced cyclooxygenase (COX)-2 expression through inhibition of p38 MAPK, JNK, and AKT activation in human lung carcinoma cells [J]. Biochem Pharmacol, 2007, 73(2): 215-227.
- [46] 祝婧, 钟凌云, 叶喜德, 等. 枳壳不同炮制品的燥性比较及其对功能性消化不良大鼠胃肠功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(22): 20-26.
- [47] 祝婧, 钟凌云, 童恒力, 等. 基于调控大鼠胃肠 c-kit 和 SCF mRNA 表达的枳壳燥性及炮制减燥机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 14-19.
- [48] 祝婧, 钟凌云, 王凤娇, 等. 中药枳壳“宽中除胀”作用及炮制增效机制分析[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(5): 1914-1920.

[责任编辑 刘德文]