

基于UPLC-Q-TOF/MS和模式识别技术阐释樟帮特色 黄连水炒吴茱萸的炮制科学内涵

赵文燕, 向茜, 王蝉, 龚千锋*, 于欢*

(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:分析黄连水炒吴茱萸炮制前后的化学成分变化,为深入阐明该饮片的炮制机制提供科学依据。方法:采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱法(UPLC-Q-TOF/MS),Titank C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)进行梯度洗脱(正离子模式:0~0.01 min, 5%B; 0.01~20 min, 5%~35%B; 20~25 min, 35%~45%B; 25~50 min, 45%~95%B; 50~52 min, 95%B; 52~52.1 min, 95%~5%B; 52.1~55 min, 5%B。负离子模式:0~0.01 min, 5%B; 0.01~25 min, 5%~30%B; 25~40 min, 30%~55%B; 40~45 min, 55%~95%B; 45~47 min, 95%B; 47~47.1 min, 95%~5%B),柱温40℃,流速0.25 mL·min⁻¹;电喷雾离子源(ESI),分别在正、负离子模式下扫描,扫描范围均为m/z 50~1 250。采用对照品比对、数据库匹配和文献参照对黄连水炒吴茱萸炮制前后化学成分进行鉴定,并通过MarkerView™ 1.2.1软件对所得数据归一化处理,应用SIMCA-P 14.1软件对生品和炮制品的MS数据进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),筛选炮制前后差异性成分。结果:共鉴定出50种化合物,其中黄连水炒吴茱萸48种、生品44种,炮制后新增了丹参素、降氧化北美黄连次碱、氧化小檗碱、原阿片碱、13-methylberberrubine、canadine共6种化合物,(S)-7-hydroxysecuritaecarpine、wuchuyamide II在炮制后未被检出,酚酸类和黄酮类成分在炮制后总体含量明显下降,柠檬苦素类成分含量总体有所上升,生物碱类成分含量总体下降不明显。PCA及OPLS-DA结果表明吴茱萸炮制前后化学成分的组成和含量存在明显差异,共筛选得到槲皮素、二氢吴茱萸次碱、去氢吴茱萸碱等12个炮制差异性成分。结论:黄连水炒吴茱萸中主要含有酚酸、黄酮、柠檬苦素及生物碱类成分,其炮制前后化学成分的组成和含量均发生了一定变化,炮制辅料的加入和热水浸泡是造成这一差异的主要原因,可为该樟帮特色炮制品种的炮制机制阐释提供实验依据。

[关键词] 吴茱萸; 黄连; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱法(UPLC-Q-TOF/MS); 中药炮制; 化学成分; 主成分分析(PCA); 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)

[中图分类号] R22;R28;R943.1;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2022)21-0147-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220147 [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20211221.1553.002.html>

[网络出版日期] 2021-12-22 10:41

Explanation of Scientific Connotation of Euodiae Fructus Stir-fried with Coptidis Rhizoma Based on UPLC-Q-TOF/MS and Pattern Recognition Technology

ZHAO Wenyan, XIANG Qian, WANG Chan, GONG Qianfeng*, YU Huan*

(School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze changes of the chemical composition in Euodiae Fructus before and after processing with Coptidis Rhizoma decoction, so as to provide scientific basis for elucidating the processing mechanism of this decoction pieces. **Method:** Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) was performed on a Titank C₁₈ column (2.1 mm×100 mm,

[收稿日期] 2021-10-22

[基金项目] 国家中药标准化建设项目(ZYBZH-Y-JX-27)

[第一作者] 赵文燕,在读硕士,从事中药炮制、饮片质量标准与炮制机制研究,E-mail:404849665@qq.com

[通信作者] * 龚千锋,教授,博士生导师,从事中药炮制传承、饮片质量标准与炮制机制研究,E-mail:gongqf2002@163.com;

* 于欢,副教授,硕士生导师,从事中药饮片标准化与炮制机制研究,E-mail:416931863@qq.com

1.8 μm), the mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution-acetonitrile for gradient elution, the column temperature was set at 40 $^{\circ}\text{C}$, the flow rate was 0.25 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Electrospray ionization (ESI) was used to scan in positive and negative ion modes, and the scanning range was m/z 50-1 250. The chemical constituents in *Euodiae Fructus* were identified before and after processing by reference substance comparison, database matching and literature reference, and MarkerView™ 1.2.1 software was used to normalize the obtained data, SIMCA-P 14.1 software was employed to perform principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) on MS data of raw and processed products to screen the differential components before and after processing. **Result:** A total of 50 compounds were identified, including 48 kinds of stir-fried products with *Coptidis Rhizoma* decoction and 44 kinds of raw products. After processing, six compounds were added, including danshensu, noroxyhydrastinine, oxyberberine, 13-methylberberubine, protopine and canadine. However, two kinds of compounds, including (*S*)-7-hydroxysecorutaecarpine and wuchuyamide II, were not detected after processing. In general, after processing, the overall contents of phenolic acids and flavonoids decreased significantly, the overall content of limonoids increased, and the overall content of alkaloids did not decrease insignificantly. The results of PCA and OPLS-DA showed that there were significant differences in the composition and content of the chemical components of *Euodiae Fructus* before and after processing, and a total of 12 variables such as quercetin, dihydrorutaecarpine and dehydroevodiamine were obtained by screening. **Conclusion:** *Euodiae Fructus* stir-fried with *Coptidis Rhizoma* decoction mainly contains phenolic acids, flavonoids, limonoids and alkaloids. The composition and content of the chemical components have some changes before and after processing. The addition of processing excipients and hot water immersion are the main reasons for the difference, which can provide experimental basis for interpretation of the processing mechanism of this characteristic processed products of *Euodiae Fructus*.

[Keywords] *Euodiae Fructus*; *Coptidis Rhizoma*; ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS); traditional Chinese medicine processing; chemical constituents; principal component analysis (PCA); orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA)

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa*、石虎 *E. rutaecarpa* var. *officinalis* 或疏毛吴茱萸 *E. rutaecarpa* var. *bodinieri* 的干燥近成熟果实,性热,味辛、苦,具有散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻的功效^[1]。其始载于《神农本草经》,列为中品,有小毒,故临床多以炮制品入药^[2]。吴茱萸的炮制方法繁多,以辅料制法为主,如甘草制、盐制、酒制、醋制、姜制、黄连制等,炮制加工会引起化学成分的质变或量变,从而影响其临床疗效^[3-5]。

樟帮是我国传统四大炮制流派之一,发展至今已有1 800余年的历史,樟帮炮制经久不衰与其独特的炮制辅料和方法密不可分^[6]。黄连水炒吴茱萸作为江西樟帮特色炮制方法一直沿用至今,在临床上常用于治疗胃热呕吐^[7]。其采用炮制中的“反佐”制法,以黄连的苦寒之性抑制吴茱萸的辛燥之性,增强吴茱萸止呕作用的同时降低其大热之性^[8]。现代学者多围绕黄连-吴茱萸药对的化学成分进行研究,比较该药对不同配伍比例的化学成分差异^[9-11],

而关于黄连水炒吴茱萸的化学成分及炮制前后成分变化的研究却鲜有文献报道,致使其物质基础不明确、炮制机制不清晰^[12]。因此,在前期已对黄连水炒吴茱萸炮制工艺优选的基础上,本研究拟采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱法(UPLC-Q-TOF/MS)和多元统计学方法对黄连水炒吴茱萸炮制前后化学成分进行比较和鉴定,从而系统分析该品种炮制前后化学成分的变化情况,为深入阐明其炮制机制和制定其质量标准提供科学依据,促进樟帮炮制技术的继承和发展。

1 材料

Nexera X2 LC-30A型超高效液相色谱仪(日本岛津公司),Triple TOF 5600+型高分辨质谱仪(美国AB SCIEX公司,配备Analyst 1.6数据处理软件),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],SQP型1/1万电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],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), YF-118B型八两装高速中药粉碎机(瑞安市环球药械厂), ST16R型冷冻离心机(美国 Thermo Fisher公司)。

柠檬苦素、绿原酸、咖啡酸、金丝桃苷、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、芦丁、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、去氢吴茱萸碱对照品(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为 CHB201230、CHB201114、CHB201217、CHB201123、CHB201103、CHB201103、CHB201229、CHB201228、CHB201119,纯度均 \geq 98%),水为屈臣氏饮用水,甲醇、乙腈、甲酸均为质谱纯,其余试剂均为分析纯。吴茱萸(批号202005001)购自江西古汉精制中药饮片有限公司,黄连(批号200428)购自江西江中中药饮片有限公司,均经江西中医药大学龚千锋教授鉴定,分别为芸香科植物吴茱萸 *E. rutaecarpa* 的干燥近成熟果实和毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 试样的制备

2.1.1 吴茱萸生品 取吴茱萸饮片100 g,除去长果梗等杂质,即得。

2.1.2 黄连水炒吴茱萸 取黄连饮片10 g,精密称定,加入8倍量水,沸腾后保持微沸30 min;加入6倍量水,沸腾后保持微沸20 min,合并2次煎液,加热浓缩至20 mL备用。取吴茱萸生品100 g,加1.2倍量热水(100 °C)浸泡2 h,取出晒干,晒干后于150 °C锅内喷洒黄连水炒制8 min,即得^[7]。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取吴茱萸生品和炮制品粉末(过三号筛)各0.3 g,置于50 mL具塞锥形瓶中,加入70%甲醇25 mL,称定质量,浸泡1 h,于25 °C超声30 min(功率300 W,频率40 kHz),冷却后称重,用70%甲醇补足减失的质量,离心(转速8 000 r·min⁻¹,离心时间15 min,离心半径5.94 cm,下同),取上清液过0.22 μm微孔滤膜,即得。各样品均平行制备6份。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取柠檬苦素、绿原酸、咖啡酸、金丝桃苷、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、芦丁、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、去氢吴茱萸碱对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为1.158、1.094、1.044、1.126、1.040、1.026、1.032、1.014、1.006 g·L⁻¹的对照品储备液。精密量取各对照品储备液适量,加甲醇稀释,制成混合对照品溶液,离心,经0.22 μm微孔滤膜滤过,待测。

2.4 色谱条件 采用Titank C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm),柱温40 °C,流速0.25 mL·min⁻¹,

进样量1 μL,流动相选择0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)进行梯度洗脱(正离子模式:0~0.01 min,5%B;0.01~20 min,5%~35%B;20~25 min,35%~45%B;25~50 min,45%~95%B;50~52 min,95%B;52~52.1 min,95%~5%B;52.1~55 min,5%B。负离子模式:0~0.01 min,5%B;0.01~25 min,5%~30%B;25~40 min,30%~55%B;40~45 min,55%~95%B;45~47 min,95%B;47~47.1 min,95%~5%B)。

2.5 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI)。正离子模式下扫描范围 m/z 50~1 250,雾化气温度500 °C,气帘气压力40 psi(1 psi≈6.895 kPa),雾化气与辅助气压力均为50 psi,喷雾电压5.5 kV,去簇电压设定100 V,碰撞电压35 eV,碰撞能量叠加(35±15) eV;负离子模式下扫描范围 m/z 50~1 250,喷雾电压选择4.5 kV,雾化气温度500 °C,气帘气压力40 psi,雾化气与辅助气压力均为50 psi,去簇电压-100 V,碰撞电压-35 eV,碰撞能量叠加(-35±15) eV。正、负离子模式下的数据采集时间分别为55、50 min。采用母离子触发子离子的方法作为扫描方式,且将多重质量亏损过滤(MMDF)作为触发二级扫描条件,同时开启动态背景扣除(DBS)。

2.6 化学成分鉴定 通过查阅文献[13-21]及检索中国知识基础设施工程(CNKI)、ChemSpider、SciFinder、Web of Science等数据库,共收集吴茱萸和黄连中148个化合物信息,建立包括化合物中英文名称、分子式、结构式、化学文摘社(CAS)号等信息的潜在化学成分数据库。利用PeakView 1.2.0.3软件,选择XIC Manager导入吴茱萸及其炮制品的化学成分数据,并结合柠檬苦素等9种对照品的保留时间(t_R)和质谱信息进行成分鉴定,结果一共鉴定出50个成分,其中生物碱类26个、黄酮类13个、柠檬苦素类4个、酚酸类7个。这些成分中有44个来自生品,48个来自炮制品,两者共有成分42个。总离子流色谱图(TIC)见增强出版附加材料,化合物详细信息见表1。

2.7 黄连水炒吴茱萸炮制前后化学成分的解析

2.7.1 酚酸类 吴茱萸生品中鉴定出6个酚酸类成分,炮制品中鉴定出7个酚酸类成分,其中丹参素只出现在炮制品中。在负离子模式下,酚酸类成分常发生中性丢失^[22]。化合物1准分子离子峰为 m/z 179.035 7 [M-H]⁻,失去一分子CO₂得碎片离子 m/z 135.047 9 [M-H-CO₂]⁻,与对照品咖啡酸的 t_R 和MS数据一致,故确定其为咖啡酸,具体裂解途径见增强出版附加材料。化合物9的准分子离子峰为 m/z

表1 吴茱萸炮制前后化学成分的UPLC-Q-TOF/MS鉴定

Table 1 Identification of chemical composition in Euodiae Fructus before and after processing by UPLC-Q-TOF/MS

化合物	t_R /min	分子式	理论分子 离子峰 m/z	准分子离 子峰 m/z	δ /ppm	离子 模式	来源及 构型	二级碎片	名称	变化 指数
1	3.97	C ₉ H ₈ O ₄ ¹⁾	179.035 0	179.035 7	4.1	[M-H] ⁻	1,2 ^a	179.037 9、135.047 9	咖啡酸 ^[13]	0.83
2	4.37	C ₉ H ₁₀ O ₅	197.045 6	197.046 1	2.8	[M-H] ⁻	2 ^a	197.053 6、179.037 1、135.047 4、123.050 5	丹参素 ^[14-15]	NG
3	6.15	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 8	353.086 6	-3.5	[M-H] ⁻	1,2 ^a	353.087 7、191.057 4、179.036 4、135.047 7	新绿原酸 ^[13]	0.73
4	6.42	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	272.128 1	272.127 8	-1.1	[M+H] ⁺	1,2 ^b	272.128 2、255.102 7、237.092 5、209.095 2、194.072 1、161.059 4、107.049 5	去甲乌药碱 ^[14]	0.92
5	7.07	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	341.087 8	341.086 9	-2.7	[M-H] ⁻	1,2 ^a	195.052 4、163.04 2、119.053 9	咖啡酰葡萄糖 ^[13]	0.86
6	8.17	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O	205.133 5	205.133 3	-1.0	[M+H] ⁺	1,2 ^b	174.091 4、162.091 4、159.067 7、143.072 9、142.064 9、131.072 7、130.06 5、115.054 4	5-甲氧基-N-甲基色胺 ^[16-17]	0.80
7	8.66	C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O	219.149 2	219.149 0	-0.9	[M+H] ⁺	1,2 ^b	174.091 3、159.068 0、142.065 2、130.065 4、58.068 8	5-甲氧基-N,N-二甲基色胺 ^[16,18]	1.02
8	9.10	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 8	289.071 5	-0.9	[M-H] ⁻	1,2 ^a	289.073 0、245.083 2、203.073 2、123.050 0、109.034 8	儿茶素	0.36
9	9.46	C ₁₆ H ₁₈ O ₉ ¹⁾	353.087 8	353.086 9	-2.6	[M-H] ⁻	1,2 ^a	191.057 5、179.036 3、173.046 9、135.047 3	绿原酸 ^[13,16,18-19]	0.80
10	10.68	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	371.098 4	371.096 6	-4.7	[M-H] ⁻	1,2 ^a	371.098 9、339.073 3、195.052 3、193.053 0、161.027 3、134.040 6、129.023 2、85.033 7	阿魏酰葡萄糖酸 ^[13]	0.79
11	11.79	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449.108 9	449.106 8	-4.9	[M-H] ⁻	1,2 ^c	449.109 3、287.055 8、269.046 4、259.062 3、243.068 6、151.006 7、125.028 6	香树素-7-O-β-D-葡萄糖苷 ^[13]	0.87
12	12.52	C ₁₀ H ₉ NO ₃	192.065 5	192.065 4	-0.3	[M+H] ⁺	2 ^b	192.065 8、174.055 2、163.043 8、134.058 5、119.049 3	降氧化北美黄连次碱 ^[21]	NG
13	12.82	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₁	785.214 6	785.211 3	-4.1	[M-H] ⁻	1,2 ^c	785.210 0、623.645 0、477.104 5、315.052 2	异鼠李素-3-O-芸香糖-4'-O-β-D-葡萄糖苷 ^[13]	0.79
14	13.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303.049 9	303.045 0	-0.1	[M+H] ⁺	1,2 ^c	303.050 9、285.039 0、257.044 9、247.060 3、229.050 2	槲皮素	0.79
15	14.32	C ₂₉ H ₃₄ O ₁₇	655.186 9	655.185 8	-1.6	[M+H] ⁺	1,2 ^c	347.077 0	丁香亭-3-O-芸香糖苷 ^[16]	0.96
16	14.49	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅	352.118 0	352.118 3	0.9	[M+H] ⁺	2 ^b	352.119 0、337.095 7、322.072 3、308.093 1、294.077 1	氧化小檗碱 ^[21]	NG
17	14.76	C ₁₈ H ₁₅ N ₃ O ₃	322.118 6	322.118 5	-0.3	[M+H] ⁺	1 ^b	176.068 2、158.059 8、148.038 4、130.065 4	A1 ^[13]	ND
18	14.96	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	479.118 4	479.117 9	-1.0	[M+H] ⁺	1,2 ^c	317.066 3、302.042 2	异鼠李素-3-O-β-D-半乳糖苷 ^[13,16-17]	0.85
19	15.39	C ₂₀ H ₁₉ NO ₅	354.133 6	354.133 6	0.0	[M+H] ⁺	2 ^b	354.134 5、324.085 8、310.107 6、296.091 5、281.069 3、190.085 5	原阿片碱 ^[14,21]	NG
20	15.84	C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O ¹⁾	302.128 8	302.128 9	0.5	[M+H] ⁺	1,2 ^b	302.128 0、286.096 7、258.102 0、167.059 8、156.080 4	去氢吴茱萸碱 ^[13,16-19]	0.98
21	16.07	C ₃₀ H ₃₃ N ₃ O ₁₁	612.218 8	612.217 1	-2.7	[M+H] ⁺	1,2 ^c	612.219 3、466.163 4、304.110 1	吴茱萸次碱-10-O-芸香糖苷 ^[16]	0.93
22	16.84	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ ¹⁾	609.146 1	609.144 0	-3.5	[M-H] ⁻	1,2 ^c	609.147 6、301.036 6	芦丁 ^[13,17]	0.78
23	16.85	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₇	466.160 9	466.160 4	-0.9	[M+H] ⁺	1,2 ^c	466.164 1、304.110 0	吴茱萸次碱-10-O-β-D-葡萄糖苷 ^[13,16-17]	0.93
24	17.50	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ ¹⁾	463.088 2	463.086 8	-3.1	[M-H] ⁻	1,2 ^c	463.087 8、301.035 9、300.027 8、299.061 2、271.025 1、255.030 8	金丝桃苷 ^[13,18-19]	0.81
25	18.67	C ₂₀ H ₁₇ NO ₄	336.123 0	336.123 6	1.7	[M+H] ⁺	2 ^b	336.122 0、320.090 5、306.075 0、292.095 8、278.080 1	A2 ^[21]	NG
26	19.20	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	433.077 6	433.075 9	-4.0	[M-H] ⁻	1,2 ^c	301.036 3、300.027 8、271.027 4、255.028 9、179.003 0、151.006 5	槲皮素-3-O-α-D-吡喃阿拉伯糖苷 ^[13]	0.83
27	19.62	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆ ¹⁾	623.161 8	623.159 1	-4.3	[M-H] ⁻	1,2 ^c	315.050 5	异鼠李素-3-O-芸香糖苷 ^[13]	0.92

续表 1

化合物	t_R /min	分子式	理论分子 离子峰 m/z	准分子离 子峰 m/z	δ /ppm	离子 模式	来源及 构型	二级碎片	名称	变化 指数
28	20.05	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	477.103 9	477.101 9	-4.2	[M-H] ⁻	1,2 ^c	317.066 5	异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[13]	0.94
29	21.32	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	338.139 8	338.139 4	-1.1	[M-H] ⁻	2 ^b	338.138 2、323.117 3、308.093 3、293.070 1、264.064 9	canadine ^[21]	NG
30	22.09	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₃	336.134 3	336.134 0	-0.8	[M+H] ⁺	1 ^b	318.124 6、177.065 1、160.075 3、142.064 3、132.081 0	wuchuyamide II ^[13]	ND
31	25.54	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₂	304.108 1	304.108 0	-0.1	[M+H] ⁺	1,2 ^b	304.109 1、286.098 1、274.097 1、247.086 8、167.060 5、130.065 7	β -羟基吴茱萸次碱 ^[13]	0.88
32	26.18	C ₂₆ H ₃₀ O ₈ ¹⁾	471.201 3	471.200 7	-1.4	[M+H] ⁺	1,2 ^d	471.202 9、427.211 8、425.196 3、161.060 3	柠檬苦素 ^[13,18-20]	0.87
33	26.78	C ₁₈ H ₁₅ N ₃ O	290.128 8	290.128 7	-0.5	[M+H] ⁺	1,2 ^b	290.130 2、273.104 4、171.092 3、120.045 1、92.051 1	二氢吴茱萸次碱 ^[17-18]	0.74
34	27.68	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O	308.175 7	308.175 8	0.2	[M+H] ⁺	1,2 ^b	144.081 4、134.060 9、116.050 5	吴茱萸酰胺 ^[13,17,20]	1.04
35	29.10	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ¹⁾	304.144 4	304.144 2	-0.8	[M+H] ⁺	1,2 ^b	304.144 2、171.091 0、161.070 4、144.080 4、134.059 9、116.049 6、106.065 4、91.055 2	吴茱萸碱 ^[13,16-19]	1.09
36	29.73	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₂	320.139 4	320.139 2	-0.5	[M+H] ⁺	1,2 ^b	177.065 9、144.081 2	羟基吴茱萸碱	0.98
37	30.25	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ¹⁾	288.113 1	288.113 2	0.3	[M+H] ⁺	1,2 ^b	288.112 0、273.088 5、244.085 7、169.075 5、145.039 4、144.079 8、120.044 7	吴茱萸次碱 ^[13,17-20]	1.04
38	30.97	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	315.051 0	315.050 7	-1.1	[M-H] ⁻	1,2 ^c	315.051 1、300.027 8、271.014 3、255.030 2、151.005 1	异鼠李素	2.46
39	31.15	C ₁₈ H ₂₅ NO	272.200 9	272.200 6	-0.9	[M+H] ⁺	1,2 ^b	172.075 8、159.068 0、130.065 2	1-甲基-2-辛基-4-(1H)-喹诺酮 ^[20]	0.89
40	31.70	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₀	501.176 6	501.174 2	-4.8	[M-H] ⁻	1,2 ^d	471.167 5、411.145 6	石虎柠檬素A ^[13]	1.19
41	32.68	C ₂₃ H ₃₃ NO ₃	372.253 3	372.255 4	-0.1	[M+H] ⁺	1,2 ^b	372.254 3、354.242 6、336.232 0、186.090 5、173.083 9	双羟基吴茱萸卡品碱 ^[13]	0.87
42	35.72	C ₂₆ H ₂₈ O ₉	483.166 1	483.164 5	-3.3	[M-H] ⁻	1,2 ^d	483.136 4、421.165 4、395.150 2	吴茱萸内酯醇 ^[13,18,20]	1.31
43	36.10	C ₂₀ H ₂₉ NO	300.232 2	300.232 2	0.0	[M+H] ⁺	1,2 ^b	300.233 8、186.091 4、173.083 7	1-甲基-2-癸基-4-(1H)-喹诺酮 ^[13,20]	0.93
44	37.52	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₀	527.192 3	527.190 6	-3.3	[M-H] ⁻	1,2 ^d	485.181 5、467.169 4、383.147 9	β -乙酰氧基-5-表柠檬苦素 ^[13,18-19]	1.26
45	38.47	C ₂₁ H ₃₁ NO	314.247 8	314.247 9	0.1	[M+H] ⁺	1,2 ^b	186.089 8、173.081 9、158.059 1、132.056 5	1-甲基-2-正十一烷基-4(1H)-喹诺酮 ^[17-20]	0.95
46	39.71	C ₂₃ H ₃₃ NO	340.263 5	340.263 3	-0.6	[M+H] ⁺	1,2 ^b	340.261 9、242.154 4、200.106 4、186.090 8、173.083 0、158.060 7	吴茱萸卡品碱 ^[13,17]	1.07
47	40.03	C ₂₂ H ₃₃ NO	328.263 5	328.263 6	0.3	[M+H] ⁺	1,2 ^b	200.107 1、186.091 1、173.083 3	1-甲基-2-十二烷基-4-(1H)-喹诺酮	1.01
48	40.79	C ₂₂ H ₃₃ NO	328.263 5	328.263 7	0.6	[M+H] ⁺	1,2 ^b	186.091 4、173.083 7	2-十三烷基-4(1H)-喹诺酮 ^[13]	0.96
49	43.09	C ₂₃ H ₃₅ NO	342.279 1	342.279 2	0.2	[M+H] ⁺	1,2 ^b	342.154 4、228.138 8、200.106 4、186.090 8	二氢吴茱萸卡品碱 ^[13,17-20]	0.88
50	47.46	C ₂₅ H ₃₉ NO	370.310 4	370.310 5	0.3	[M+H] ⁺	1,2 ^b	200.107 2、186.091 1、173.083 0、158.060 2	1-甲基-2-十五烷基-4(1H)-喹诺酮 ^[13,17-19]	0.86

注:在来源及结构类型列,1.吴茱萸生品;2.黄连水炒吴茱萸;^a酚酸类;^b生物碱类;^c黄酮类;^d柠檬苦素类。¹⁾与对照品比对后确定;NG.炮制后新产生的物质;ND.炮制后未检测到的物质;A1.(S)-7-hydroxysecorutaecarpine;A2.13-methylberberrubine

353.086 9 [M-H]⁻,失去一分子咖啡酰基产生碎片离子 m/z 191.057 5 [M-H-C₉H₆O₃]⁻和碎片离子 m/z 179.036 3 [M-H-C₇H₁₀O₅]⁻,碎片离子 m/z 191.057 5 脱去一分子 H₂O 形成碎片离子 m/z 173.046 9,碎片

离子 m/z 179.036 3 脱去一分子 CO₂ 得碎片离子 m/z 135.047 3,与对照品绿原酸的 t_R 、MS 数据一致,故确定其为绿原酸,具体裂解途径见增强出版附加材料。

2.7.2 黄酮类 从吴茱萸生品和炮制品中鉴定的黄酮类成分大多具有2-苯基色原酮的母核,因此,该类化合物在同一条件下有相似裂解规律,经过高能轰击时,主要发生糖链、侧链的裂解和脱水^[23-24]。化合物**22**准分子离子峰为 m/z 609.144 0 $[M-H]^-$, 脱去芸香糖基得碎片离子 m/z 301.036 6 $[M-H-C_{12}H_{20}O_9]^-$, 与对照品芦丁的 t_R 、MS 数据一致,故确定其为芦丁。化合物**24**的准分子离子峰为 m/z 463.086 8 $[M-H]^-$, 分子离子的糖链分别以均裂和异裂的方式脱去一分子半乳糖得到碎片离子 m/z 301.035 9 $[M-H-C_7H_{14}O_4]^-$ 和 m/z 300.027 8 $[M-H-C_7H_{15}O_4]^-$, 碎片离子 m/z 301.035 9 继续失去一分子 H_2O 和一分子 CO 形成碎片离子 m/z 255.030 8, 碎片离子 m/z 300.027 8 继续脱去一分子 CO 和 1 个 H 而形成碎片离子 m/z 271.025 1, 与对照品金丝桃苷的 t_R 、MS 数据一致,故确定其为金丝桃苷,具体裂解途径见增强出版附加材料。化合物**27**的准分子离子峰为 m/z 623.159 1 $[M-H]^-$, 失去一分子葡萄糖和一分子鼠李糖后得特征碎片 m/z 315.050 5 $[M-H-Glc-Rha]^-$, 与对照品异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷的 t_R 、MS 数据一致,故确定其为异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷,具体裂解途径见增强出版附加材料。

2.7.3 柠檬苦素类 在吴茱萸生品和炮制品中均鉴定出4个柠檬苦素类成分,该类成分在高能轰击下主要丢失 H_2O 、 CO_2 、 CO 等中性碎片^[22]。以化合物**32**为例,其在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 471.200 7 $[M+H]^+$, 分别丢失一分子 CO_2 及一分子 H_2O 和 CO 得到碎片离子 m/z 427.211 8 $[M+H-CO_2]^+$ 和 m/z 425.196 3 $[M+H-H_2O-CO]^+$, 在高能轰击后呋喃环连接着内酯环发生断裂形成碎片离子 m/z 161.060 3 $[M+H-C_{16}H_{22}O_6]^+$, 与对照品柠檬苦素的 t_R 、MS 数据一致,故确定其为柠檬苦素。具体裂解途径见增强出版附加材料。

2.7.4 生物碱类 在吴茱萸的生品中鉴定出21个生物碱类成分,在炮制品中鉴定出24个生物碱类成分。此类成分主要分为吲哚类生物碱和喹诺酮类生物碱,吲哚类生物碱的母核通常为[6-5-6-6-6]的五环结构,分子中含有的环己烯结构在正离子模式下易发生逆狄尔斯-阿尔德反应(RDA)裂解^[17]。以化合物**37**为例,其准分子离子峰为 m/z 288.113 2 $[M+H]^+$, 分子中环己烯结构和呋喃双键结构易在正离子模式下发生 RDA 裂解,分别形成特征碎片 m/z 169.075 5 $[M+H-C_7H_5NO]^+$ 、 m/z 120.044 7 $[M+H-C_{11}H_8N_2]^+$ 、 m/z 145.039 4 $[M+H-C_{10}H_9N]^+$ 、 m/z

144.079 8 $[M+H-C_8H_4N_2O]^+$; 准分子离子峰在高能轰击下也会丢失一些小分子形成更稳定的结构,形成特征碎片 m/z 273.088 5 $[M+H-NH]^+$ 和 m/z 244.085 7 $[M+H-C_2H_4O]^+$, 与对照品吴茱萸次碱的 t_R 、MS 数据一致,故确定其为吴茱萸次碱,具体裂解途径见增强出版附加材料。喹诺酮类生物碱的支链上常含有羰基等不饱和双键,在正离子模式下易发生 McLafferty 重排裂解^[13]。以化合物**45**为例,其准分子离子峰为 m/z 314.247 9 $[M+H]^+$, 在高能轰击下得到特征碎片 m/z 186.089 8 $[M+H-C_9H_{20}]^+$ 和 m/z 173.081 9 $[M+H-C_{10}H_{21}]^+$, 根据文献^[17-20]推测其为1-甲基-2-正十一烷基-4(1H)-喹诺酮,具体裂解途径见增强出版附加材料。

2.8 炮制前后化学成分含量变化^[25] 以炮制后该化合物的峰面积除以其炮制前的峰面积作为变化指标来评价黄连水炒吴茱萸炮制前后的含量变化情况,变化指数>1表示该化合物炮制后含量增加,变化指数<1表示该化合物炮制后含量减少^[26]。具体变化指数见表1。结果发现生品中酚酸类成分在炮制后含量均有所降低,推测可能是由于酚酸类化合物结构不稳定,在炮制过程中高温使其结构发生了转化^[27]。其中儿茶素含量降低最为明显,研究表明儿茶素在 pH 呈一定酸性的条件下可稳定存在,而炮制辅料黄连汁的主要成分生物碱可能破坏了其稳定性,故而导致其含量降低^[28]。黄酮类成分在炮制后总体含量下降,该类成分既有一定的亲水性又易受高温影响,炮制过程中的热水浸泡和高温炒制都会致使黄酮类成分有所损失^[29]。柠檬苦素类成分在炮制后石虎柠檬素 A、吴茱萸内酯醇、6 β -乙酰氧基-5-表柠檬苦素含量明显上升,柠檬苦素含量则明显下降。据报道,柠檬苦素中的内酯结构易发生水解^[30],这可能是其炮制后含量降低的原因。生物碱类成分炮制前后总体含量略微下降,但炮制后增加了降氧化北美黄连次碱、氧化小檗碱等5种生物碱类化合物,这些成分均来自炮制辅料黄连汁;(S)-7-hydroxysecorutaecarpine 和 wuchuyamide II 未在炮制品中检出,推测可能在炮制过程中发生了某些化学转化,但具体过程还需进一步确定。

2.9 炮制前后差异性成分的筛选 将黄连水炒吴茱萸炮制前后的 MS 数据导入 MarkerView™ 1.2.1 软件中去除同位素离子峰,进行归一化处理导出。将处理后的数据导入 SIMCA-P 14.1 进行无监督的主成分分析(PCA),得分图见增强出版附加材料。结果发现正、负离子模式下黄连水炒吴茱萸炮制前

后样品能明显区分,说明炮制后化学成分发生了明显变化。将经 MarkerView™ 1.2.1 软件归一化处理所得数据进一步进行 *t* 检验和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),得分图见增强出版附加材料。结果发现黄连水炒吴茱萸炮制前后能明显区分,与 PCA 结果一致。筛选变量重要性投影(VIP)值>1.3 (通常认为VIP值>1的变量有意义,综合比较多个VIP值筛选结果,最终以VIP值>1.3为标准)且 *P*<0.05的成分为差异性成分。结果从鉴定出的50个成分筛选得到12个差异性成分,见表2。黄连水炒吴茱萸炮制前后的差异性成分离子峰面积热图见图1,从中可直观看到吴茱萸炮制前后差异性成分的含量变化。其中13-methylberberrubine为炮制后新增的物质,槲皮素、二氢吴茱萸次碱、去氢吴茱萸碱、异鼠李素-3-*O*-β-*D*-半乳糖苷、儿茶素、新绿原酸、绿原酸炮制后峰面积降低,吴茱萸内酯醇、异鼠李素、6β-乙酰氧基-5-表柠檬苦素、石虎柠檬素A炮制后峰面积升高。

表2 吴茱萸炮制前后的差异性成分

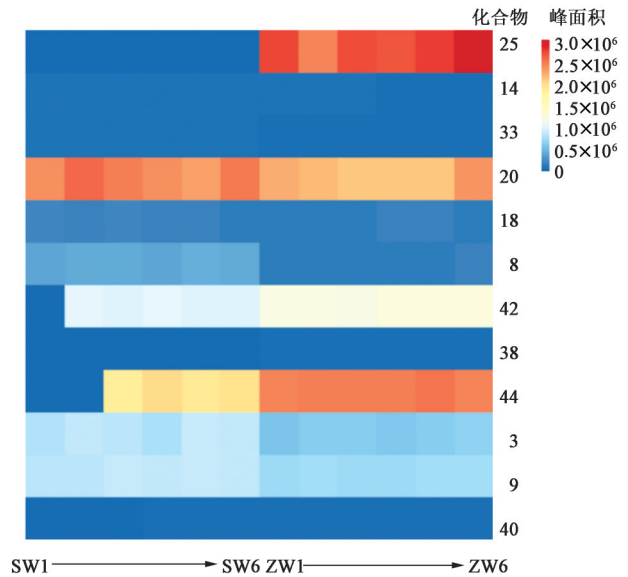
Table 2 Differential components of *Euodiae Fructus* before and after processing

化合物	VIP 值	<i>P</i>
25	1.395 7	2.718 7×10 ⁻¹⁴
14	1.371 0	1.354 2×10 ⁻⁷
33	1.363 8	1.051 4×10 ⁻⁷
20	1.357 9	4.006 1×10 ⁻⁷
18	1.329 9	9.414 7×10 ⁻⁶
8	1.313 7	1.349 3×10 ⁻¹³
42	1.311 9	1.773 9×10 ⁻¹²
38	1.310 2	1.969 6×10 ⁻¹¹
44	1.309 0	3.145 0×10 ⁻¹¹
3	1.305 3	2.428 7×10 ⁻¹⁰
9	1.303 7	7.086 3×10 ⁻¹⁰
40	1.301 3	1.028 0×10 ⁻⁹

注:化合物编号同表1(图1同)

3 讨论

樟帮特色黄连水炒吴茱萸在传统黄连制吴茱萸的基础上增加了热水浸泡的步骤,炮制辅料的加入以黄连汁喷洒炒制的方式替代了传统黄连汁浸泡。《本草崇原集说》曰:“陈久者良,滚水泡一、二次,去其毒气用之。”樟帮特色黄连水炒吴茱萸的炮制方法与古人用“滚水泡”来降低吴茱萸毒性的思想内涵一致,现代研究也表明吴茱萸“汤洗”的传统



注:SW.吴茱萸生品;ZW.黄连水炒吴茱萸

图1 黄连水炒吴茱萸炮制前后差异性成分峰面积的热分析

Fig. 1 Thermal analysis of peak areas of differential components in raw and processed products of *Euodiae Fructus*

用法可降低吴茱萸的肝毒性^[31-32]。同时,在化学成分方面,结合相关文献和本课题组前期研究工作发现,热水浸泡后吴茱萸的酚酸、黄酮、生物碱成分含量均有所降低,但对其化学组分无显著影响^[33-35]。生物碱类成分是体现吴茱萸药性的物质基础,柠檬苦素是吴茱萸毒性物质基础^[36]。本文研究结果发现,炮制后吴茱萸生物碱类成分总体略微下降,柠檬苦素含量下降较为明显,说明该炮制方法可在一定程度上降低吴茱萸的热性和毒性。利用黄连汁喷洒炒制的方式代替黄连汁浸泡吴茱萸可在一定程度上减少黄连在炮制过程中的损耗。据报道,黄连的脂溶性成分对吴茱萸脂溶性生物碱有促溶作用^[37],炮制后发现吴茱萸中的吴茱萸碱和吴茱萸次碱等脂溶性生物碱含量均有所升高,吴茱萸碱和吴茱萸次碱是吴茱萸的主要药效成分,二者在抗癌、抗炎、保护心血管系统等方面均具有重要的药理活性^[38]。

差异性成分会直接影响黄连水炒吴茱萸炮制前后的药效。本文研究结果显示,在炮制前后差异性成分中,异鼠李素含量上升最为明显,其具有增强免疫功能、抗炎、抗氧化、保护血管内皮细胞、降血脂、抗血栓等作用^[39]。在差异性成分中吴茱萸内酯醇、6β-乙酰氧基-5-表柠檬苦素和石虎柠檬素A经炮制后含量升高,这些成分均属于柠檬苦素类成分,具有良好的抗炎、抗疟、抗菌作用^[40]。去氢吴茱萸碱是吴茱萸的特有生物活性成分,可以抑制肠胃

运动,具有止呕功能,但炮制后含量略有降低,推测与炮制辅料黄连的加入有关^[41]。这些差异性成分可考虑作为鉴定黄连水炒吴茱萸的特征性成分,可为建立吴茱萸质量的综合评价体系提供参考。

综上所述,UPLC-Q-TOF/MS技术能够较为准确地反映黄连水炒吴茱萸炮制前后化学成分的变化情况,从化学成分组成和含量的角度初步阐释了该炮制方法减毒增效的物质基础,表明樟帮特色黄连水炒吴茱萸方法的科学性和合理性,但具体的药理作用变化还需要结合药效实验进行研究。同时,结合本文研究结果与文献报道发现,“滚水泡”对吴茱萸的化学成分影响较大,本课题组后期将引入“滚水泡”吴茱萸对照组进一步完善实验方案,以期明确吴茱萸在炮制过程中化学成分的变化情况,为进一步优化黄连水炒吴茱萸炮制工艺参数提供参考。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[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,2020:178-179,317.

[2] 张敏,乔日发,钟民勇,等. 吴茱萸炮制的历史沿革、研究现状与展望[J]. 华西药理学杂志,2021,36(2):228-232.

[3] 赵平,许海玉,许浚,等. 吴茱萸不同炮制品化学成分的变化分析[J]. 中国中药杂志,2011,36(5):559-562.

[4] 吴梅青,罗栩强,唐海飞,等. 不同炮制方法对吴茱萸指标成分含量的影响与评价[J]. 中国现代中药,2020,22(7):1108-1112.

[5] LI H H, FENG T, WEN Y L, et al. Comparative investigation for raw and processed products of *Euodiae Fructus* based on high-performance liquid chromatography fingerprints and chemical pattern recognition [J]. *Chem Biodivers*, 2021, 18 (8) : e2100281.

[6] 钟凌云,于欢,祝婧,等. 炮制技术流派——樟树帮药文化探究[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(2):1-6.

[7] 张崇佩,龚千锋,于欢,等. 樟帮特色黄连水炒吴茱萸炮制工艺研究[J]. 中草药,2019,50(13):3065-3070.

[8] 肖洋,段金芳,刘影,等. 吴茱萸炮制方法和功能主治历史沿革[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(3):223-228.

[9] 侯晓杰,刘文,张建锋,等. 黄连-吴茱萸药对 UPLC-MS/MS 指纹图谱研究[J]. 时珍国医国药,2017,28(10):2331-2333.

[10] 周素芹,李洪兵. HPLC法同时测定不同配伍比例黄连-吴茱萸药对中4种有效成分的含量[J]. 中国药房,2017,28(24):3430-3432.

[11] 王旭,徐蓓蕾,吴迪,等. 不同配伍比例的黄连-吴茱萸药对研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(3):21-30.

[12] 颜冬梅,李娜,张金莲,等. 江西传统炮制技术的研究进展[J]. 中药材,2016,39(2):447-450.

[13] 赵晓梅,程宇欣,梁彩霞,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的吴茱萸化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(6):113-126.

[14] HAO Y M, HUO J H, WAG T, et al. Chemical profiling of *Coptis* rootlet and screening of its bioactive compounds in inhibiting *Staphylococcus aureus* by UPLC-Q-TOF/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*,2020,180:113089.

[15] 郝艺铭,霍金海,王涛,等. UPLC-Q-TOF/MS技术分析黄连中非生物碱类成分[J]. 中药材,2020,43(2):354-358.

[16] 苏秀丽,印敏,徐曙,等. UPLC-Q-TOF-MS法分析吴茱萸化学成分[J]. 中成药,2017,39(6):1223-1227.

[17] 黄小龙,沈冰冰,梁雪娟,等. HPLC-Q-TOF-MS/MS快速鉴别吴茱萸中的生物碱类组分[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(19):102-108.

[18] LI W L, SUN X M, LIU B M, et al. Screening and identification of hepatotoxic component in *Evodia rutaecarpa* based on spectrum-effect relationship and UPLC-Q-TOFMS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(12):1975-1983.

[19] LIANG J, CHEN Y, REN G, et al. Screening hepatotoxic components in *Euodia rutaecarpa* by UHPLC-QTOF/MS based on the spectrum-toxicity relationship[J]. *Molecules*,2017,22(8):1264.

[20] LING Y, HU P, ZHANG L F, et al. Identification and structural characterization of acylgluconic acids, flavonol glycosides, limonoids and alkaloids from the fruits of *Evodia rutaecarpa* by high performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization and quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr Sci*,2016,54(9):1593-1604.

[21] 郝艺铭,霍金海,王涛,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS技术对黄连须生物碱类成分及其裂解规律的分析[J]. 中国现代应用药学,2020,37(21):2582-2586.

[22] 陈叶青,范欣生,朱振华,等. 基于UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS技术分析双参平肺颗粒化学成分[J]. 中草药,2020,51(2):321-329.

[23] YANG L, LIU R H, FAN A G, et al. Rapid analysis of the chemical compositions in *Semiliquidambar*

- cathayensis* roots by ultra high-performance liquid chromatography and quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2019, 24 (22): 4098.
- [24] LIU R H, ZHANG J Y, LIANG M J, et al. Simultaneous analysis of eight bioactive compounds in Danning tablet by HPLC-ESI-MS and HPLC-UV[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(3): 1007-1012.
- [25] 支美汝, 顾欣如, 韩舒, 等. 应用UPLC-Orbitrap-MS分析草乌及其不同炮制品化学成分差异[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(5): 1082-1089.
- [26] 祝婧, 袁恩, 牟俊雍, 等. 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[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(16): 142-153.
- [27] 王丽霞, 刘聪, 杨晓芸, 等. 四制艾叶炮制前后的UPLC指纹图谱及主要成分含量比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(22): 147-154.
- [28] 韦熹苑, 邓琦, 卢小玲, 等. 广西不同产地金樱根及炮制品中没食子酸和儿茶素的含量差异分析[J]. *广西植物*, 2022, 42(5): 833-844.
- [29] 甄攀, 梁惠花, 王治宝, 等. 吴茱萸炮制品中总黄酮的含量及其清除羟自由基的作用研究[J]. *中成药*, 2005, 22(9): 1041-1044.
- [30] 刘湘丹, 蔡嘉洛, 邹君华, 等. 吴茱萸及其炮制品中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和柠檬苦素成分含量对比分析[J]. *中医药导报*, 2016, 22(3): 39-41.
- [31] 王亮, 窦立雯, 郭威, 等. 基于中药传统用法的毒性Q-Marker发现: 以吴茱萸为例[J]. *中草药*, 2017, 48(6): 1159-1166.
- [32] 陈洋, 董嘉皓, 李斐, 等. 吴茱萸毒性概述与思考[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(9): 2215-2217.
- [33] 张崇佩, 龚千锋, 于欢, 等. UPLC同时测定吴茱萸及其炮制品中12种成分含量[J]. *中药材*, 2019, 42(8): 1781-1784.
- [34] 温慧玲, 程齐来, 吴龙火, 等. 基于指纹图谱探讨吴茱萸不同炮制品成分的差异[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(5): 76-80.
- [35] 温慧玲, 廖梅香, 陈娇婷, 等. 樟帮法泡吴茱萸炮制工艺研究[J]. *赣南医学院学报*, 2020, 40(9): 870-875.
- [36] 刘丽, 张笑敏, 许浚, 等. 吴茱萸化学成分和药理作用及质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. *中草药*, 2020, 51(10): 2689-2702.
- [37] 谭朝丹, 楼冰, 顾伟鹰, 等. 不同比例黄连-吴茱萸配方颗粒/单/合煎对比分析[J]. *中国医院药学杂志*, 2020, 40(21): 2238-2242, 2250.
- [38] LI M I, WANG M L. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of the fruit of *Tetradium ruticarpum*: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 263: 113231.
- [39] SHI H, HE J, LI X, et al. Isorhamnetin, the active constituent of a Chinese herb *Hippophae rhamnoides* L., is a potent suppressor of dendritic-cell maturation and trafficking [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 55: 216-222.
- [40] SONG M, ZHAN J, CHAN G, et al. Bioactive limonoids and triterpenoids from the fruits of *Melia azedarach*[J]. *J Nat Prod*, 2020, 83(12): 3502-3510.
- [41] BABURIN I, VARKEVISSER R, SCHRAMM A, et al. Dehydroevodiamine and hortiamine, alkaloids from the traditional Chinese herbal drug *Evodia rutaecarpa*, are I_{Kr} blockers with proarrhythmic effects *in vitro* and *in vivo*[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 131: 150-163.

[责任编辑 刘德文]