

[11] 田 静,任雨贺,苏 蕊,等. 2015 年版《中国药典》一部中含三七成方制剂的归纳与分析[J]. 中成药, 2019, 41(5): 1135-1139.

[12] 陈 光,刘 超,何浩强,等. 含三七中成药用药规律研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 191-197.

[13] 花晓薇,李 岩,程雪梅,等. 蓝红胶囊中三七的质量控制方法[J]. 中成药, 2014, 36(7): 1497-1501.

[14] Wang T, Guo R, Zhou G, *et al.* Traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; A review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 188: 234-258.

[15] 赵一懿,郭洪祝,陈有根,等. UPLC-Q-TOF/MS 法快速分

析血塞通、血栓通注射液化学成分[J]. 中成药, 2017, 39(6): 1217-1222.

[16] Yao C, Yang W, Zhang J, *et al.* UHPLC-Q-TOF-MS-based metabolomics approach to compare the saponin compositions of Xueshuantong injection and Xuesaitong injection[J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(4): 834-841.

[17] 张艳海,金 燕,王峥涛. 在线二维多中心切割液相色谱法测定三七、人参及其相关产品中 8 种人参皂苷[J]. 中草药, 2017, 48(5): 894-901.

[18] Liu Y, Shi X W, Liu E H, *et al.* More accurate matrix-matched quantification using standard superposition method for herbal medicines[J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1254: 43-50.

基于 LC-MS/MS 法分析生、炙甘草中水溶性成分

段伟萍¹, 李缘媛¹, 郑云枫^{1,2*}, 李存玉^{1,2}, 陆兔林^{1,3}, 陈丽红^{1,3}, 彭国平^{1,2*}
(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023; 3. 南京中医药大学国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 江苏 南京 210023)

摘要: **目的** 基于 LC-MS/MS 定性/定量分析生、炙甘草中水溶性成分。**方法** 采用 LC-MS/MS 正、负离子模式对生、炙甘草水溶性成分进行检测, 并以 Marker View 软件分析甘草蜜炙前后的差异性成分; 在此基础上采用梯度波长 HPLC 法对生、炙甘草 8 种主要差异性成分(4 种黄酮及 4 种三萜皂苷)进行定量分析比较。**结果** 从中鉴定出 30 种水溶性差异性成分, 其中包括 12 种黄酮类和 18 种皂苷类; 其中黄酮类异甘草苷、芹糖异甘草苷在蜜炙后平均含量分别上升 5.11%、25.94%, 甘草苷、芹糖甘草苷含量分别下降 21.77%、18.43%, 而 4 种三萜皂苷平均含量在蜜炙后均出现下降, 幅度在 10.07%~16.69%。**结论** 该方法准确稳定, 重复性好, 可为炙甘草的炮制及质量评价研究提供一定的参考。

关键词: 生甘草; 炙甘草; 水溶性成分; LC-MS/MS

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)05-1237-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.05.026

Analysis of water-soluble components in raw and honey-roasted licorice based on LC-MS/MS

DUAN Wei-ping¹, LI Yuan-ai¹, ZHENG Yun-feng^{1,2*}, LI Cun-yu^{1,2}, LU Tu-lin^{1,3}, CHEN Li-hong^{1,3}, PENG Guo-ping^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Provincial Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing 210023, China; 3. Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

收稿日期: 2019-09-02
基金项目: 国家自然科学基金项目(81973482); 国家重点研发计划项目(2018YFC1706503)
作者简介: 段伟萍(1995—), 女, 硕士生, 从事中药化学与分析研究。Tel: (025) 86798186, E-mail: duanweiping1995@sohu.com
* **通信作者:** 郑云枫(1979—), 男, 副教授, 研究方向为中药活性成分与质量评价。Tel: (025) 86798186, E-mail: zyunfeng88@126.com
彭国平(1963—), 男, 研究员, 博士生导师, 从事中药成分分离精制及新药研究。Tel: (025) 86798186, E-mail: guopingpeng@126.com

ABSTRACT: AIM To analyze the water-soluble components in raw and honey-roasted licorice based on LC-MS/MS. **METHODS** The water-soluble components of raw and honey-roasted licorice were detected by LC-MS/MS negative and positive ion modes, and the differential components before and after the processed licorice were analyzed by Marker View software; on this basis, eight major components (four flavonoids and four triterpene saponins) of raw and processed licorice were quantitatively analyzed and compared by gradient wavelength. **RESULTS** Thirty water-soluble components in raw and processed licorice were identified, including twelve flavonoids and eighteen saponins. The average contents of flavonoids isoliquiritin and isoliquiritin apioside increased by 5.11%, 25.94%, respectively, and the contents of liquiritin and liquiritin apioside decreased by 21.77%, 18.43%, respectively, while the average contents of four triterpenoid saponins decreased from 10.07% to 16.69%. **CONCLUSION** This accurate, stable and reproducible method can be used for the processing and quality evaluation of licorice.

KEY WORDS: raw licorice; honey-roasted licorice; water-soluble components; LC-MS/MS

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根及根茎，是最常用的中药之一^[1-2]。历代以来，甘草的临床应用以生、炙甘草为主，其中炙甘草是由生甘草拌入炼蜜后加热炮制而来^[3]，具有补脾和胃、益气复脉之功效^[1]。考虑到中药炮制功效的改变与化学成分变化存在着密切的关系，有研究采用 HPLC 指纹图谱技术对甘草蜜炙前后色谱图进行比较，发现生、炙甘草中一些色谱峰面积存在差异^[4-5]；也有文献对甘草蜜炙前后甘草苷、甘草酸等主要指标性成分进行定量分析研究，结果显示在炮制过程中成分出现了增减变化^[6-7]。

本研究在前期研究的基础上^[8-10]，采用 LC-MS/MS 定性鉴别结合 Marker View 软件分析，系统解析了生、炙甘草水溶性差异成分，进一步以 HPLC 梯度波长法检测了炮制前后黄酮及三萜皂苷水溶性成分的含有量变化，以期对炙甘草的炮制及质量评价提供参考。

1 材料

AB SCIEX Triple TOF™5600 质谱仪，电喷雾离子源 (ESI)，Analyst TF 1.6 和 Peak View 1.2 软件 (美国 AB 公司)；Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司)；JCS-1000 电子天平 (凯丰集团有限公司)；AL204 电子分析天平 (万分之一，瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)；BT125D 分析天平 (十万分之一，德国赛多利斯科学仪器有限公司)。

对照品 芹糖甘草苷 (JBZ180106-139, 纯度 98.1%)、芹糖异甘草苷 (JBZ180205-813, 纯度 98.5%)、异甘草苷 (JBZ180314-015, 纯度

98.3%) 均购自南京金益柏生物科技有限公司；对照品甘草苷 (111610-201607, 纯度 93.1%)、甘草酸铵 (110731-201619, 纯度 97.0%) 均购自中国食品药品检定研究院；对照品 22β-乙酰甘草酸、甘草皂苷 G2、乌拉尔皂苷 B，均由实验室自制，经 HPLC 分析，纯度≥99.0%。乙腈、甲酸均为色谱纯 (德国 Merck 公司)，水为 Milli-Q 超纯水，其他试剂均为分析纯。

6 批生甘草饮片购自内蒙古亿利资源集团有限公司甘草分公司 (批号 20181101~20181106)。经南京中医药大学鉴定教研室严辉副教授鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。

2 方法与结果

2.1 炙甘草制备 蜜炙甘草，取炼蜜 (100 g 生甘草用炼蜜 25 g) 加少量水稀释，加入生甘草饮片中拌匀，稍焖，用文火炒至深黄色、透香气、不粘手时取出放凉。

2.2 供试品溶液制备 取生甘草或炙甘草样品粉末 (过 3 号筛) 约 0.5 g，精密称定，加入水 25 mL，置 100 mL 圆底烧瓶，称定质量，加热回流 1 h，放至室温，补足减失质量，滤过，精密移取续滤液 5 mL，置 10 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，摇匀，离心 (8 000 r/min, 10 min) 取上清液，即得。

2.3 对照品溶液制备 取 8 种对照品适量，精密称定，加 50% 甲醇溶解，摇匀，制成芹糖甘草苷、甘草苷、芹糖异甘草苷、异甘草苷、22β-乙酰甘草酸、甘草皂苷 G2、甘草酸、乌拉尔皂苷 B 质量浓度分别 272.20、231.71、67.50、86.00、246.68、242.24、715.56、92.00 mg/mL 的混合对照品

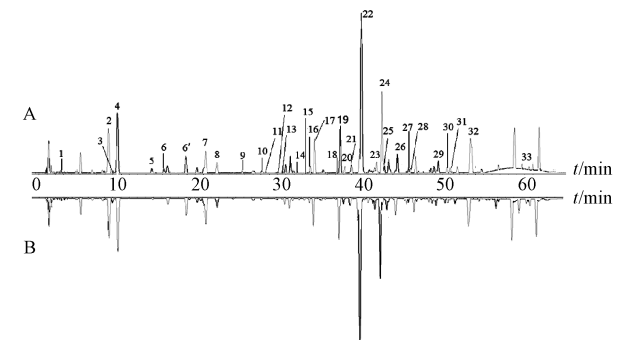
溶液。

2.4 色谱条件 Heder C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) -0.2% 甲酸 (B), 梯度洗脱 (0~15 min, 19%~25% A; 15~25 min, 25%~30% A; 25~41 min, 30%~45% A, 41~60 min, 45%~70% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 ℃; 0~15 min 在 276 nm 下检测芹糖甘草苷和甘草苷, 15~25 min 在 360 nm 下检测芹糖异甘草苷和异甘草苷, 25~60 min 在 254 nm 下检测 22β-乙酰甘草酸、甘草皂苷 G₂、甘草酸和乌拉尔皂苷 B; 进样量 10 μL。

2.5 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI); 正、负离子检测模式; 一级质谱条件为扫描范围 *m/z* 50~1 500; 毛细管温度 550 ℃; 离子喷雾空载电压 5 500 V/-4 500 V, 解簇电压 100 V/-100 V, 碰撞能量 10 V/-10 V, 喷雾电压 5 500 V, 解簇电压 100 V; 二级质谱条件为扫描范围 *m/z* 50~1 500, 解簇电压 100 V/-100 V, 碰撞能量 35 V/-35 V, 碰撞能量幅度-20 V, 雾化器 60 psi (1 psi=6.985 kPa), 辅助加热器 60 psi, 气帘气 40 psi。

2.6 定性分析

2.6.1 差异性化合物分析 按“2.2”“2.3”项下方法制备供试品和对照品溶液。采用正、负离子模式分别进行 LC-MS/MS 检测, 结果显示, 在负离子模式条件下生、炙甘草中黄酮、三萜皂苷类成分的质谱响应值较高, 见图 1。



注: A 为生甘草, B 为炙甘草。

图 1 生、炙甘草水溶性成分 LC-MS/MS (-) TIC
Fig.1 LC-MS/MS (-) TIC of water-soluble components from raw and honey-roasted licorice

依据 LC-MS/MS 所测样本保留时间、各色谱峰离子响应强度和二级质谱信息, 在 Marker View1.2.1 软件中设置质谱处理参数为最小保留时间 3.0 min, 最大保留时间 60.0 min, 最小质荷比宽度 10×10⁻⁶, 最小保留时间宽度 6 scans, 噪波阈

值 100, 保留时间容差 16 min, 质荷比容差 1×10⁻⁶[11], 最大峰数目 500, 选择色谱峰响应值 ≥ e³, 去除同位素峰; 进一步将生、炙甘草两组 LC-MS/MS 总离子流图导入 Marker View 软件中, 对两组数据进行 *t* 检验, 获得差异性成分的 Log (Fold change) versus p-value 图, 见图 2, 图中每个散点代表一种差异性成分, 其位置离 X 轴越远, 代表该成分在生、炙甘草样本中的差异性越大; 以 |Log (Fold change)| ≥ 0.10 为界值, 筛选出了 33 种显著的差异性成分, 见图 1。

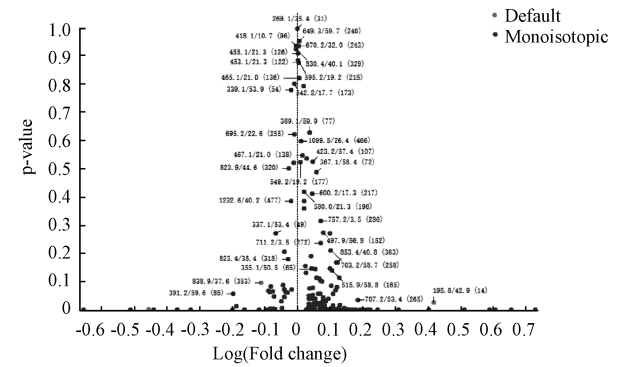


图 2 生、炙甘草差异性成分 Log (Fold change) versus p-value 图
Fig.2 Log (Fold change) versus p-value of different components of raw and honey-roasted licorice

2.6.2 差异性成分定性鉴别 依据相关数据库 Chemspider、Scifinder 检索以及甘草化学成分研究报道, 建立甘草化学成分数据库, 进而对各主要差异性成分的质谱信息进行识别与矫正, 推测化合物结构。其中, 峰 2, 4, 7, 17, 19, 22 和 24 由对照品对照进行了确认, 分别为芹糖甘草苷、甘草苷、异甘草苷、22β-乙酰甘草酸、甘草皂苷 G₂、甘草酸和乌拉尔皂苷 B。其他成分依据已建立的目标数据库, 通过分子式匹配以及化合物质谱裂解碎片信息进行结构鉴定[12-16]。其中, 甘草黄酮类成分在负离子模式下碎片信息丰富, 常见特征分子量丢失为 15 Da (CH₃)、18 Da (H₂O)、32 Da (OCH₃)、56 Da ((CH₃)₂CH=CHCH₃)、132 Da (芹糖)、162 Da (葡萄糖) 等; 而三萜皂苷成分在负离子模式下碎片信息较少, 而在正离子质谱中可见糖取代基分子量丢失 132 Da (木糖)、146 Da (鼠李糖)、162 Da (葡萄糖)、176 Da (葡萄糖醛酸), 以及苷元上取代基的特征分子量丢失 30 Da (C₂₄-OH)、36 Da (2×18, C₂₂-OH)、46 Da (C₂₀-COOH)、60 Da (C₂₂-OAc) 等。

以峰 16 为例，在正离子模式下该化合物准分子离子峰为 m/z 825.425 2 $[M+H]^+$ ，确定其分子式为 $C_{42}H_{64}O_{16}$ ，提示该化合物可能为 Uralsaponin C；此外，在峰 16 的二级质谱中可见 2 个连续脱去葡萄糖醛酸基的碎片离子 m/z 649.393 6 $[M+H-C_6H_8O_6]^+$ 和 473.361 7 $[M+H-2C_6H_8O_6]^+$ ，确定结构中有 2 个葡萄糖醛酸取代基，同时从苷元离子连

续脱去 2 分子 H_2O 可见碎片离子 m/z 437.361 7 $[M+H-2C_6H_8O_6-2H_2O]^+$ ，表明苷元结构 22 位上有羟基取代，以上结构鉴定信息与 Uralsaponin C 相一致，最终峰 16 鉴定为 Uralsaponin C。依据以上差异性成分定性鉴定方法，共推测鉴定了 30 种成分，包括 12 种黄酮及 18 种三萜皂苷，相关质谱信息及化合物结构分别见表 1、图 3。

表 1 甘草蜜炙前后差异性成分定性鉴别

Tab. 1 Qualitative identification of the differential ingredients between raw and honey-roasted licorice							
序号	t_R/min	$\frac{[M-H]^-}{[M+H]^+}$	分子式	主要碎片离子	成分	变化	
1	3.74	579.177 4	$C_{27}H_{32}O_{14}$	461.2, 417.1, 255.8	甘草苷元-7,4'-二葡萄糖苷	-	
2 [#]	9.46	549.161 4	$C_{26}H_{30}O_{13}$	417.1, 255.1, 135.0	芹糖甘草苷	-	
3	10.00	417.119 1	$C_{21}H_{22}O_{10}$	297.1, 255.1, 148.0, 135.0,	新甘草苷	-	
4 [#]	10.59	417.119 1	$C_{21}H_{22}O_9$	255.1, 213.1, 148.0, 135.0	甘草苷	-	
5	14.85	635.161 8	$C_{29}H_{32}O_{16}$	601.2, 565.2, 255.2	未知	-	
6	16.24	459.119 5	$C_{24}H_{24}O_{12}$	255.1, 135.1	6'-乙酰基甘草苷	-	
7 [#]	21.59	417.119 1	$C_{21}H_{22}O_9$	255.1, 148.0, 135.0	异甘草苷	+	
8	22.57	417.119 1	$C_{21}H_{22}O_9$	255.0, 148.0, 135.0	新异甘草苷	-	
9	25.72	635.161 8	$C_{29}H_{32}O_{16}$	591.2, 549.2, 459.2, 255.1	未知	-	
10 [*]	28.30	1 001.455 9	$C_{48}H_{72}O_{22}$	825.4, 649.4, 631.4, 487.3, 469.3, 451.3, 439.3	24-羟基甘草皂苷 A3	-	
11 [*]	28.68	269.081 2	$C_{16}H_{14}O_5$	269.1, 117.1	刺芒柄花素	-	
12 [*]	30.12	955.487 0	$C_{48}H_{74}O_{19}$	809.4, 633.4, 457.4, 439.4, 421.4	乌拉尔甘草皂苷 T	-	
13 [*]	30.61	897.409 6	$C_{44}H_{64}O_{19}$	721.4, 545.3, 527.3, 509.3, 497.3	乌拉尔甘草皂苷 F	-	
14 [*]	32.40	1 027.517 1	$C_{50}H_{74}O_{22}$	881.4, 705.4, 529.4, 511.3, 451.3, 405.3	乌拉尔甘草皂苷 X	-	
15 [*]	33.47	855.399 7	$C_{42}H_{62}O_{18}$	679.3, 503.3, 485.3, 467.3, 455.3	22 羟基甘草皂苷 G2	+	
16 [*]	34.03	825.425 2	$C_{42}H_{62}O_{16}$	649.4, 473.4, 455.3, 437.3	乌拉尔甘草皂苷 C	-	
17 ^{*#}	34.94	881.415 0	$C_{44}H_{64}O_{18}$	705.4, 529.4, 511.3, 451.3, 405.3	22β-乙酰基甘草醛	-	
18	37.11	881.417 6	$C_{44}H_{64}O_{18}$	351.1, 193.0, 839.4, 663.4, 645.4, 627.4	未知	-	
19 ^{*#}	37.88	839.402 4	$C_{42}H_{62}O_{17}$	487.3, 469.3, 451.3, 439.3, 405.3	甘草皂苷 G2	-	
20 [*]	38.16	969.464 8	$C_{48}H_{72}O_{20}$	823.4, 647.4, 599.4, 471.3, 453.3, 435.3, 407.3	rhagleycrrhizin	-	
21 [*]	39.03	839.402 9	$C_{42}H_{62}O_{17}$	663.4, 645.4, 627.4, 487.3, 469.3, 451.3	乌拉尔皂苷 N	-	
22 ^{*#}	40.47	823.352 3	$C_{42}H_{62}O_{16}$	647.4, 471.3, 453.3, 435.3, 407.3, 389.3	甘草酸	-	
23 [*]	42.09	809.306 8	$C_{42}H_{64}O_{15}$	633.3, 597.3, 457.3, 439.3, 421.3	甘草皂苷 B2	-	
24 ^{*#}	42.69	823.407 6	$C_{42}H_{62}O_{15}$	647.3, 471.3, 453.3, 435.3, 357.2	乌拉尔皂苷 B	-	
25 [*]	42.89	823.407 1	$C_{42}H_{62}O_{16}$	647.4, 629.4, 611.4, 593.3, 471.3, 453.3, 407.3	甘草皂苷 H2	+	
26 [*]	44.44	825.419 2	$C_{42}H_{64}O_{16}$	649.4, 631.4, 613.4, 455.4, 437.3, 409.3, 397.3	乌拉尔皂苷 P	-	
27 [*]	45.88	807.392 5	$C_{42}H_{62}O_{15}$	709.3, 631.4, 455.4, 437.3, 419.3	乌拉尔皂苷 W	-	
28 [*]	46.64	807.417 2	$C_{42}H_{64}O_{15}$	633.4, 457.4, 439.4, 421.2, 409.3, 355.3	22 去羟基乌拉尔皂苷 C	-	
29	49.49	367.118 7	$C_{21}H_{20}O_6$	357.1, 339.1	甘草瑞酮	-	
30 [*]	50.41	647.378 9	$C_{36}H_{54}O_{10}$	471.3, 453.3, 435.3, 357.2	单葡萄糖苷酸基甘草酸	+	
31	50.82	351.087 4	$C_{20}H_{16}O_6$	335.1, 321.0, 283.1, 265.1, 199.1	甘草异黄酮 B	+	
32	53.39	353.103 1	$C_{20}H_{18}O_6$	243.1, 227.1, 199.1, 125.0	甘草异黄酮酮	-	
33 [*]	59.62	391.191 5	$C_{25}H_{28}O_4$	203.1, 187.1, 159.1, 132.1	光甘草酚	+	

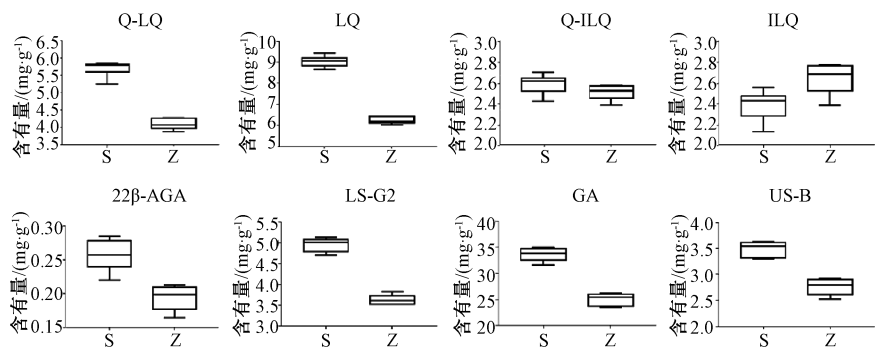
注: [#]为与对照品比对确定; ^{*}为正离子模式下离子信息,其余为负离子模式信息;“-”表示峰面积减小,“+”表示峰面积增加。

2.7 含有量变化分析 为了更准确地评价炮制前后主要特征差异性成分的含有量变化,依据 LC-MS/MS 数据及 Marker View 软件分析,选择了 4 种

黄酮类成分为芹糖甘草苷 (Q-LQ)、甘草苷 (LQ)、芹糖异甘草苷 (Q-ILQ)、异甘草苷 (ILQ) 及 4 个三萜皂苷类成分为 22β-乙酰甘草酸 (22β-

种成分的含有量，采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行单因素方差分析。结果显示，生甘草在蜜炙后芹糖甘草苷、甘草苷、22β-乙酰甘草酸、甘草皂苷

G2、甘草酸和乌拉尔皂苷 B 成分均下降 ($P < 0.01$)；异甘草苷含有量升高 ($P < 0.05$)，芹糖异甘草苷变化无统计学意义 ($P > 0.05$)，见图 5。



注：S 为生甘草，Z 为炙甘草。

图 5 生、炙甘草中差异性特征成分含有量比较

Fig. 5 Comparison of different characteristic components in raw and honey-roasted licorice

考虑到生甘草炮制过程中加入的炼蜜会对炙甘草中成分的实际含有量产生影响，参考文献 [17] 以每 100 g 炙甘草中含干燥蜂蜜量 12 g 计，扣除蜂蜜质量计算炙甘草各成分实际含有量。结果显示，黄酮类成分芹糖异甘草苷和异甘草苷平均含有量分别上升 5.11%、25.94%，甘草苷和芹糖甘草苷含有量分别下降 21.77%、18.43%，而甘草酸等 4 种三萜皂苷成分平均含有量均出现下降，幅度在 10.07%~16.69%，结果见表 3。

表 3 生、炙甘草中各成分含有量变化 ($\bar{x} \pm s, n=6, \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
Tab. 3 Content change of various constituents in raw and honey-roasted licorice ($\bar{x} \pm s, n=6, \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

成分	生甘草	炙甘草	扣除蜂蜜后含有量变化/%
芹糖甘草苷	5.713±0.092	4.660±0.071	-18.43
甘草苷	9.043±0.107	7.074±0.075	-21.77
芹糖异甘草苷	2.467±0.050	2.593±0.058	+5.11
异甘草苷	2.382±0.059	3.000±0.069	+25.94
22β-乙酰甘草酸	0.257±0.009	0.220±0.009	-14.39
甘草皂苷 G2	4.959±0.067	4.131±0.054	-16.69
甘草酸	33.600±0.518	28.480±0.524	-15.24
乌拉尔皂苷 B	3.495±0.059	3.143±0.073	-10.07

3 讨论

传统中医认为，甘草经蜜炙后功效“由清转补”，补脾和胃、益气复脉功效增强，有研究表明，甘草蜜炙后补脾益气药效作用增强，且明显优于生甘草及清炒品^[18]。本实验通过开展蜜炙对甘草化学成分的影响研究，发现生、炙甘草水溶性化学成分存在一定的差异，具体表现为，甘草蜜炙后芹糖异甘草苷和异甘草苷含有量上升，芹糖甘草苷和甘草苷含有量下降，基于黄酮成分结构转化规

律，应为二氢黄酮成分芹糖甘草苷和甘草苷在炮制加热过程中 B 环开环转化为芹糖异甘草苷和异甘草苷所致，有文献表明异甘草苷等甘草黄酮类成分具有抗心律失常^[19-21]、保护胃黏膜^[22]等作用。炙甘草“益气复脉”功效，主要表现为增强抗心律失常作用，因此异黄酮类成分的转化及含有量提升，可能与炙甘草益气复脉功效的增强有关。

考虑甘草生、炙品在传统临床使用、配方颗粒和经典名方开发均以水为溶剂进行提取或制备，且生、炙甘草中主要活性成分黄酮和皂苷均具有一定的水溶性，因而本实验选择水回流提取的方式。此外，在含有量测定过程中采用二极管阵列检测器对检测波长进行了考察，结果显示芹糖甘草苷和甘草苷等二氢黄酮类成分在 276 nm 波长条件下有较大吸收，芹糖异甘草苷和异甘草苷成分在 360 nm 波长条件下吸收较强，而三萜皂苷类成分如甘草酸等在 254 nm 波长吸收强度最强，因此本实验选择了梯度波长进行检测。

本实验研究方法能够快速、系统地分析甘草蜜炙前后黄酮及三萜皂苷的成分变化，而差异性组分的解析可为炙甘草炮制及质量标准研究提供一定的依据。但甘草中除了黄酮及三萜皂苷类成分外，还含有多糖及寡糖类组分^[23]，辅料蜂蜜也含有果糖、葡萄糖等成分^[24]，在甘草蜜炙过程中糖类组分如何发生变化，尚待后续作进一步探索。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2015 年版一部 [S]. 北京：中国医药科技出版社，2015：86-87.

[2]

伍宇娟, 张刘强, 李医明. 甘草属植物中异戊烯基黄酮类成分及其药理活性研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(6): 1358-1365.

[3]

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.

[4]

石敏娟, 高锦成, 王卫峰, 等. 高效液相色谱法分析甘草炮制前后化学成分的变化 [J]. 中国药业, 2012, 21 (1): 12-13.

[5]

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.

[6]

周 倩, 孙立立. 蜜炙对甘草化学成分影响研究[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(10): 768-772.

[7]

鲁翠香, 周 萍. 高效液相色谱法分析甘草炮制前后化学成分[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(7): 55-56.

[8]

孙立丽, 游广娇, 任晓亮, 等. 甘草化学成分快速定性分析与化学模式识别研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(5): 2074-2079.

[9]

赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于 HPLC/Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47 (12): 2061-2068.

[10]

周 彪, 万传星. 甘草地上部分化学成分研究[J]. 中草药, 2016, 47(1): 21-25.

[11]

柴 川, 崔小兵, 单晨啸, 等. 基于 UFLC/Q-TOF-MS 对不同产区淡豆豉药材的差异研究 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(2): 590-593.

[12]

Jiang Z Z, Wang Y F, Zheng Y F, *et al.* Ultra high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry and chemometric analysis of licorice based on the simultaneous determination of saponins and flavonoids [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(15): 2928-2940.

[13]

Zheng Y F, Qi L W, Cui X B, *et al.* Oleanane-type triterpene glucuronides from the roots of *Glycyrrhizauralensis* Fischer [J]. *Planta Med*, 2010, 76(13): 1457-1463.

[14]

Zheng Y F, Qi L W, Zhou J L, *et al.* Structural characterization and identification of oleanane-type triterpene saponins in *Glycyrrhiza uralensis* Fischer by rapid resolution liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2010, 24(22): 3261-3270.

[15]

Fang S Q, Qu Q Y, Zheng Y F, *et al.* Structural characterization and identification of flavonoid aglycones in three *Glycyrrhiza* species by liquid chromatography with photodiode array detection and quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(11): 2068-2078.

[16]

方诗琦. 甘草药渣中黄酮类活性成分研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.

[17]

黄 斌. 蜂蜜在中药炮制蜜炙法中的应用[J]. 蜜蜂杂志, 2018, 38(1): 12-14.

[18]

刘雅茜. 蜜炙对甘草化学成分及药理作用的影响 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.

[19]

胡小鹰, 彭国平, 陈汝炎. 甘草总黄酮抗心律失常作用研究 [J]. 中草药, 1996, 27(12): 733-735.

[20]

潘 燕. 甘草水溶性总黄酮抗心肌缺血作用的研究[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(2): 173.

[21]

谢世荣, 黄彩云, 杨静娴, 等. 甘草黄酮抗实验性心律失常的作用[J]. 基础医学与临床, 1998(2): 152-154.

[22]

邢国秀, 李 楠, 王 童, 等. 甘草中黄酮类化学成分的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28 (7): 593-597.

[23]

刘育辰, 王文全, 郭洪祝. 甘草有效成分的提取纯化方法研究进展[J]. 中成药, 2010, 32(11): 1953-1957.

[24]

周 倩, 孙立立. 蜜炙对甘草化学成分影响研究[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(10): 768-772.