

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20231220005

超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱 法测定米炒人参炮制前后皂苷成分及其 裂解规律的研究

王艺霏, 陈 晶, 马启凤, 张 森, 罗健顺, 高红梅*

(长春中医药大学药学院, 长春 130117)

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法 (ultra performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap-mass spectrometry, UPLC-Q-Orbitrap-MS) 检测米炒人参炮制前后皂苷成分的方法, 并研究其裂解规律。**方法** 采用 Supelco C₁₈ 色谱柱, 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱, 应用电喷雾离子源, 负离子全扫描模式采集一、二级质谱数据, 扫描范围为 150~2000 *m/z*。结合质谱数据库及相关文献信息, 运用 X Calibur 2.2 软件对米炒人参中皂苷类成分进行鉴定。以 6 种人参皂苷 Re、Rg₁、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃ 进行模拟炮制, 确定皂苷类成分裂解产物, 明确皂苷成分的裂解规律。**结果** 从人参中检测出 14 个成分, 鉴定出 13 种人参皂苷成分; 米炒人参中检测出 23 个成分, 鉴定出 20 种人参皂苷成分。通过比较人参米炒前后的皂苷类成分, 发现米炒人参中存在人参中未检测到的 8 种稀有人参皂苷 20(S)-Rg₂、20(S)-Rh₁、20(R)-Rh₁、F₂、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、20(S)-Rs₃、20(R)-Rs₃。模拟炮制结果表明, 人参皂苷 Re 脱去 C-20 糖基, 转化为稀有人参皂苷 20(S)-Rg₂; 人参皂苷 Rg₁ 脱去 C-20 位糖基, 转化为稀有人参皂苷 20(S)-Rh₁、20(R)-Rh₁; 人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc 脱去 C-20 或 C-3 位糖基, 转化为稀有人参皂苷 20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃ 或 F₂。**结论** 人参经米炒后, 稀有人参皂苷成分增加, 产生的稀有皂苷为原型皂苷发生苷键裂解而获得, 模拟炮制可作为其裂解规律研究的有效方法。

关键词: 米炒人参; 超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法; 人参皂苷; 模拟炮制; 裂解规律

Determination of saponin components and their cleavage laws in rice-fried ginseng before and after concoction by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap-mass spectrometry

WANG Yi-Fei, CHEN Jing, MA Qi-Feng, ZHANG Miao, LUO Jian-Shun, GAO Hong-Mei*

(School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of saponin components in rice-fried ginseng before and after concoction by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap-mass spectrometry, and

基金项目: 2023 年全国中药特色技术传承人才培养项目(T20234832005)

Fund: Supported by the 2023 National Traditional Chinese Medicine Technology Inheritance Talent Training Program (T20234832005)

*通信作者: 高红梅, 博士, 教授, 主要研究方向为中药炮制关键技术及科学内涵。E-mail: gaohm@ccucm.edu.cn

*Corresponding author: GAO Hong-Mei, Ph.D, Professor, School of pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China. E-mail: gaohm@ccucm.edu.cn

study their cleavage laws. **Methods** A Supelco C₁₈ column was used with gradient elution of acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution, and an electrospray ionization was applied to collect the primary and secondary mass spectrometry data in negative-ion full-scan mode, with a scanning range of 150–2000 *m/z*. Combined with the information from the mass spectrometry database and the related literatures, the identification of the saponin constituents in rice fried ginseng was carried out by using the X Calibur 2.2 software was used to identify the saponin components in ginseng fried in rice. Six ginsenosides Re, Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂ and Rb₃ were used to simulate processing, to determine the cleavage products of the saponin-like components and to clarify the cleavage laws of the saponin components. **Results** Fourteen components were detected and 13 kinds of ginsenoside components were identified from ginseng; 23 kinds of components were detected and 20 kinds of ginsenoside components were identified from rice-fried ginseng. By comparing the ginsenoside components of ginseng before and after rice-frying, it was found that 8 kinds of rare ginsenosides 20(S)-Rg₂, 20(S)-Rh₁, 20(R)-Rh₁, F₂, 20(S)-Rg₃, 20(R)-Rg₃, 20(S)-Rs₃ and 20(R)-Rs₃, which were not detected in ginseng, were found in the rice-fried ginseng. The results of simulated processing indicated that the ginsenosides Re was converted to the rare ginsenoside 20(S)-Rg₂ by removing the C-20 sugar group; the ginsenoside Rg₁ was converted to the rare ginsenosides 20(S)-Rh₁, 20(R)-Rh₁ by removing the sugar group at the C-20 position; and the ginsenosides Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc were converted to the rare ginsenosides 20(S)-Rg₃, 20(R)-Rg₃ or F₂ by removing the sugar group at the C-20 or C-3 position. **Conclusion** Rare ginsenoside components increased after ginseng is fried in rice, and the resulting rare saponins are obtained by glycosidic bond cleavage of the prototypical saponins, and simulated processing can be an effective method for the study of its cleavage pattern.

KEY WORDS: rice-fried ginseng; ultra performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap-mass spectrometry; ginsenoside; simulated processing; law of cleavage

0 引言

人参为五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)的干燥根和根茎,具有大补元气、补脾益肺等功效^[1],人参在其数千年的应用历史中,根据临床需要产生了不同的炮制品,如生晒参、红参、大力参等常见品种,随着人们对人参的深入了解和炮制技术的不断发展,出现了米炒人参、冻干参、保鲜参、膨化人参等炮制品,提升了人参的药用价值。米作为炮制辅料,应用历史悠久,性甘味平,能补中益气、健脾和胃^[2]。米炒法是将净制或切制后的药物与米共同拌炒的方法^[3]。米炒后产生的焦香味可增强药物健脾止泻的作用,如米炒党参,气味焦香,可以增强党参健脾止泻的作用^[4],且《杂症痘疹药性合参》^[5]中有记载:人参与炒米共同贮存,可得谷气。谷气为食物之气,中医中解释为“胃气”,由此可知人参“得谷气”则补脾胃作用增强。

目前,米炒人参的研究主要有响应面法优化炮制工艺^[6],饮片颜色与成分含量的相关性分析^[7],未见对米炒人参中具体皂苷类成分裂解规律的研究。人参米炒方法是通过加热炮制,推测人参皂苷会发生化学键的断裂,原型皂苷含量降低,稀有人参皂苷的含量会增加。超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法(ultra performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap-mass spectrometry, UPLC-Q-Orbitrap-MS)^[8],是一种结合静电场离子阱和四极

杆技术的快速傅里叶变换新型高分辨质谱,具有高分辨率、高质量精度、质量范围宽等特点,可以高分辨定性,在小分子化合物分析上有很强的优势,广泛应用于成分分析领域^[9]。为进一步探索米炒人参炮制过程中皂苷类成分变化规律,本研究采用 UPLC-Q-Orbitrap-MS,于负离子模式下对样品数据进行采集检测,对米炒人参中皂苷类成分进行分析鉴定;并对人参皂苷进行模拟炮制,分析 6 种人参皂苷(Re、Rg₁、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃)模拟炮制后的皂苷类成分,初步推断米炒人参中皂苷类成分的裂解规律。以期开发人参的新型炮制品,提高人参的应用价值,为米炒人参化学成分研究提供依据与参考,便于后续深入研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人参:购自通化市踏花行土特产有限公司,产地为吉林省通化市,经长春中医药大学高红梅教授鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎。

大米:购自五常市彩桥米业有限公司,产地为黑龙江省哈尔滨市五常市。

人参皂苷 Rb₁、Rc(纯度≥98%,上海源叶生物科技有限公司);人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、Rb₂、Rb₃(纯度≥98%,中国食品药品检定研究院);甲酸(色谱纯,福晨化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,美国 Fisher 有限公司);甲

醇(分析纯,北京化工厂有限责任公司);蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

1.2 仪器与设备

UPLC-Q-Orbitrap-MS 联用仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); Supelco C₁₈ 色谱柱(50 mm×3.0 mm, 2.7 μm; 美国 Supelco 公司); DE-100g 型粉碎机(浙江红景天工贸有限公司); MS-DC-5 型炒药机(常州市金坛迈斯机械有限公司); FA1204B 型万分之一电子天平(上海精密科学仪器有限公司); BT25S 型十万分之一分析天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司); KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); HH-2 型恒温水浴锅(常州国华电器有限公司); 101-3BS 型电热鼓风干燥箱(邦西仪器科技上海有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

取生晒参切片为 2 mm 厚度的饮片,阴干,得到人参饮片。取适量大米,置于已预热(200℃)的炒药机中,炒制 3 min,迅速投入适量人参饮片,炒制 3.5 min 后取出,放凉,得到米炒人参样品。粉碎生晒参饮片和米炒人参饮片,过 4 号筛,即得生晒参与米炒人参粉末。

1.3.2 样品供试品溶液制备

取生晒参与米炒人参样品粉末(过 4 号筛)各约 0.5 g,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中,加甲醇 25 mL,密塞,称重,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 30 min,放凉,称重,补足重量,过滤,取续滤液 10 mL 于蒸发皿内,水浴挥干,残渣加甲醇 2 mL,溶解,转移至 2 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,得人参及米炒人参供试品溶液。

1.3.3 模拟炮制供试品溶液的制备

分别取人参皂苷 Re、Rb₁、Rg₁、Rc、Rb₂、Rb₃ 各 10 mg,精密称定,置于顶空瓶内。恒温鼓风干燥箱预热至 200℃,将装有人参皂苷的顶空瓶置于烘箱中,加热 3.5 min,取出后冷却至室温,加入甲醇 1 mL,溶解,0.22 μm 微孔滤膜滤

过,即得模拟炮制供试品溶液。

1.3.4 色谱条件

Supelco C₁₈ 色谱柱(50 mm×3.0 mm, 2.7 μm); 柱温为 35℃; 进样量为 10 μL; 流速为 0.3 mL/min; 流动相 A 和 B 分别为乙腈和 0.1%甲酸水; 梯度洗脱(0~5 min, 14%~19% A; 5~10 min, 19% A; 10~13 min, 19%~24% A; 13~15 min, 24%~29% A; 15~18 min, 29% A; 18~22 min, 29%~30% A; 22~25 min, 30%~34% A; 25~30 min, 34%~42% A; 30~35 min, 42%~60% A; 35~39 min, 60%~80% A; 39~42 min, 80%~100% A; 42~45 min, 100% A; 45~50 min, 100%~14% A; 50~60 min, 14% A)。

1.3.5 质谱条件

采用 UPLC-Q-Orbitrap MS 联用仪,在电喷雾离子源负离子模式下检测。离子源的参数设置如下:鞘气流量 35 Arb,辅助气体流量 10 Arb,吹扫气流速 1 Arb, S-Lens RF 为 55%,毛细管电压设置为 -3.5 kV,毛细管温度为 350℃。扫描范围为 150~2000 m/z,质谱分辨率为 70000,自动增益控制,目标值为 1×10⁶,最大进样时间为 100 ms。

1.4 数据处理

采用 UPLC-Q-Orbitrap MS 在上述 1.3.4 液相色谱条件和 1.3.5 质谱条件下对米炒人参样品进行分析,经过对照品比对与查阅文献^[10-14],应用 UPLC-Q-Orbitrap MS 对供试品溶液进样分析,得到负离子模式扫描的离子流图及各个成分的离子碎片,应用 X Calibur 2.2 软件记录与分析采集到的数据,对各成分进行指认与推测。

2 结果与分析

2.1 化学成分鉴定

按照 1.3 中条件进样分析,采集负离子数据,所得负离子图见图 1 和图 2。通过 UPLC-Q-Orbitrap-MS 技术的应用与分析,人参中检测出 14 个成分,鉴定出 13 种人参皂苷成分;米炒人参中检测出 23 个成分,鉴定出 20 种人参皂苷成分。

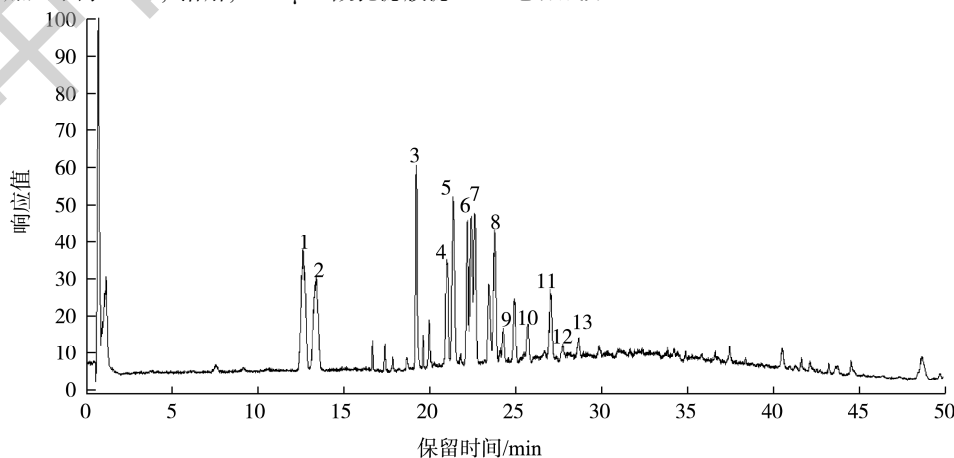


图1 人参饮片负离子流图

Fig.1 Negative ion flow diagram of *Panax ginseng*

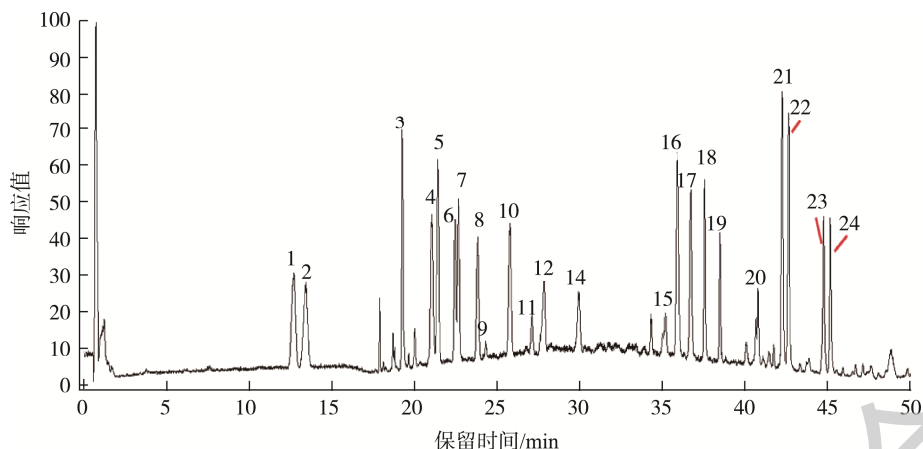


图2 米炒人参样品负离子流图

Fig.2 Rice fried ginseng sample negative ion flow diagram

2.2 人参皂苷成分鉴定

通过 X Calibur 2.2 软件分析得到各个成分的离子碎片, 经过对照品比对与查阅文献^[10-14], 对各成分进行指认与推测, 结果见表 1, 米炒人参中存在人参中未检测到的 8 种稀

有人参皂苷: 20(S)-Rg₂、20(S)-Rh₁、20(R)-Rh₁、F₂、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、20(S)-Rs₃、20(R)-Rs₃。推测人参在米炒过程中发生糖苷键的断裂, 原型人参皂苷转化为稀有人参皂苷。

表 1 成分鉴定表
Table 1 Ingredient identification table

序号	保留时间	成分	化学式	加和离子形式	准分子离子峰	碎片离子	人参	米炒人参	参考文献
1	12.71	Rg ₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	M ⁺ HCOO	845.4944	637, 475	+	+	[11]
2	13.42	Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	M ⁺ HCOO	991.5534	783,621,459	+	+	[11]
3	19.26	20(S)-Rf ₃	C ₄₂ H ₇₄ O ₁₅	M ⁺ HCOO	863.4872	477	+	+	[11]
4	21.03	Rf	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	M ⁺ HCOO	845.2511	799,637, 475	+	+	[11]
5	21.42	Rb ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	M ⁺ HCOO	1153.6064	1107, 945,783, 179	+	+	[10]
6	22.43	Rc	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	M ⁺ HCOO	1123.5959	1107,783,621	+	+	[10]
7	22.67	Ro	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	M ⁺ H	955.4951	793,569,455	+	+	[10]
8	23.82	Rb ₂	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	M ⁺ HCOO	1123.5955	1077,783,621	+	+	[10]
9	24.31	Rb ₃	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	M ⁺ HCOO	1123.5973	1077,783,621	+	+	[12]
10	25.77	未知	未知	未知	1247.5875	1185,620	+	+	
11	27.07	Rd	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	M ⁺ HCOO	991.4723	945,783,621,161	+	+	[10]
12	27.81	Rs ₁	C ₅₃ H ₉₂ O ₂₃	M ⁺ HCOO	1165.6067	1119, 1077,1059,945,783,621,459	+	+	[13]
13	28.76	mRe	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₁	M ⁺ H	1031.5492	945, 799,637,475	+	-	[13]
14	29.89	Rs ₂	C ₅₃ H ₉₂ O ₂₃	M ⁺ HCOO	1165.6068	1119, 1077,1059,945,783,621,459	+	+	[13]
15	35.19	20(S)-Rg ₂	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	M ⁺ HCOO	829.4832	637,475	-	+	[14]
16	35.92	20(S)-Rh ₁	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	M ⁺ HCOO	683.4234	475	-	+	[10]
17	36.69	20(R)-Rh ₁	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	M ⁺ HCOO	683.4235	475	-	+	[11]
18	37.55	未知	未知	未知	856.4373	829, 793		+	
19	38.49	F ₂	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	M ⁺ HCOO	829.4817	621,459	-	+	[15]
20	40.78	未知	未知	未知	888.5009	863		+	
21	42.23	20(S)-Rg ₃	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	M ⁺ HCOO	829.4817	621,459	-	+	[13]
22	42.62	20(R)-Rg ₃	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	M ⁺ HCOO	829.4816	621,459	-	+	[11]
23	44.73	20(S)-Rs ₃	C ₄₄ H ₇₄ O ₁₄	M ⁺ HCOO	871.4929	783, 621,459	-	+	[13]
24	45.13	20(R)-Rs ₃	C ₄₄ H ₇₄ O ₁₄	M ⁺ HCOO	871.4930	783,621,459	-	+	[13]

注: +表示检出; -表示未检出。

2.3 模拟炮制研究

2.3.1 人参皂苷 Rg₁

人参皂苷 Rg₁ 模拟炮制供试品,经 UPLC-Q-Orbitrap MS 分析及数据库比对,鉴定出 4 种人参皂苷,分别为人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 20(S)-Rh₁、人参皂苷 20(R)-Rh₁、人参皂苷 F₁。通过分析人参皂苷成分的结构特点,推测人参皂苷 Rg₁ 经过模拟炮制后,产生两条裂解途径,一种途径是脱去 C-20 位的葡萄糖单糖基,转化为人参皂苷 20(S)-Rh₁ 与 20(R)-Rh₁;另一条转化途径是人参皂苷 Rg₁ 脱去 C-6 位的葡萄糖单糖基,转化为人参皂苷 F₁^[15],如图 3 与图 4。

2.3.2 人参皂苷 Re

人参皂苷 Re 模拟炮制供试品,经 UPLC-Q-Orbitrap

MS 分析及数据库比对,鉴定出 3 种人参皂苷,分别为人参皂苷 Re、人参皂苷 20(S)-Rg₂、人参皂苷 20(R)-Rg₂。推断人参皂苷 Re 经过模拟炮制后,脱去 C-20 位的葡萄糖单糖基,转化为人参皂苷 20(S)-Rg₂ 与 20(R)-Rg₂^[16],如图 5 与图 6。

2.3.3 人参皂苷 Rb₁

人参皂苷 Rb₁ 模拟炮制供试品,经 UPLC-Q-Orbitrap MS 分析及数据库比对,鉴定出 4 种人参皂苷成分,分别为人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 20(S)-Rg₃、人参皂苷 20(R)-Rg₃、人参皂苷 F₂。推测人参皂苷 Rb₁ 经模拟炮制后,产生两条裂解途径,一条途径为脱去 C-20 位的双糖,转化为人参皂苷 20(S)-Rg₃ 与 20(R)-Rg₃;另一条途径为 C-3 位与 C-20 位各脱去一分子葡萄糖,转化为人参皂苷 F₂^[16-17],如图 7 与图 8。

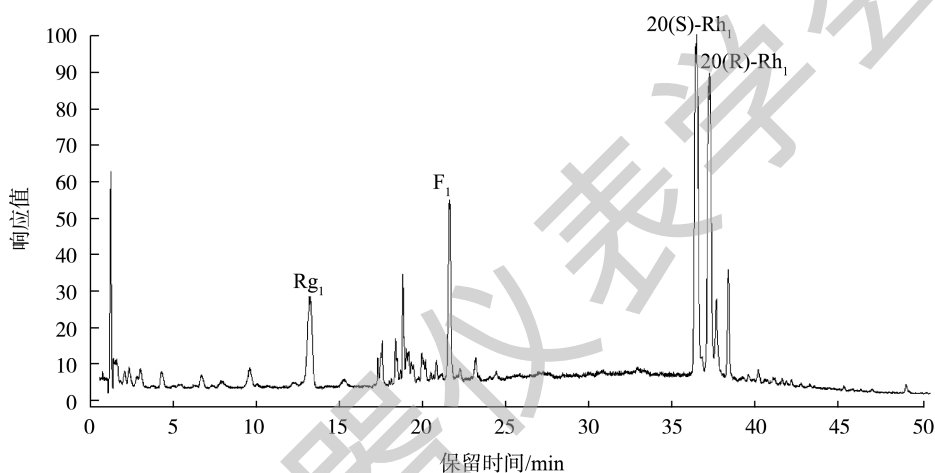


图3 人参皂苷Rg₁负离子流图

Fig.3 Ginsenoside Rg₁ negative ion flow diagram

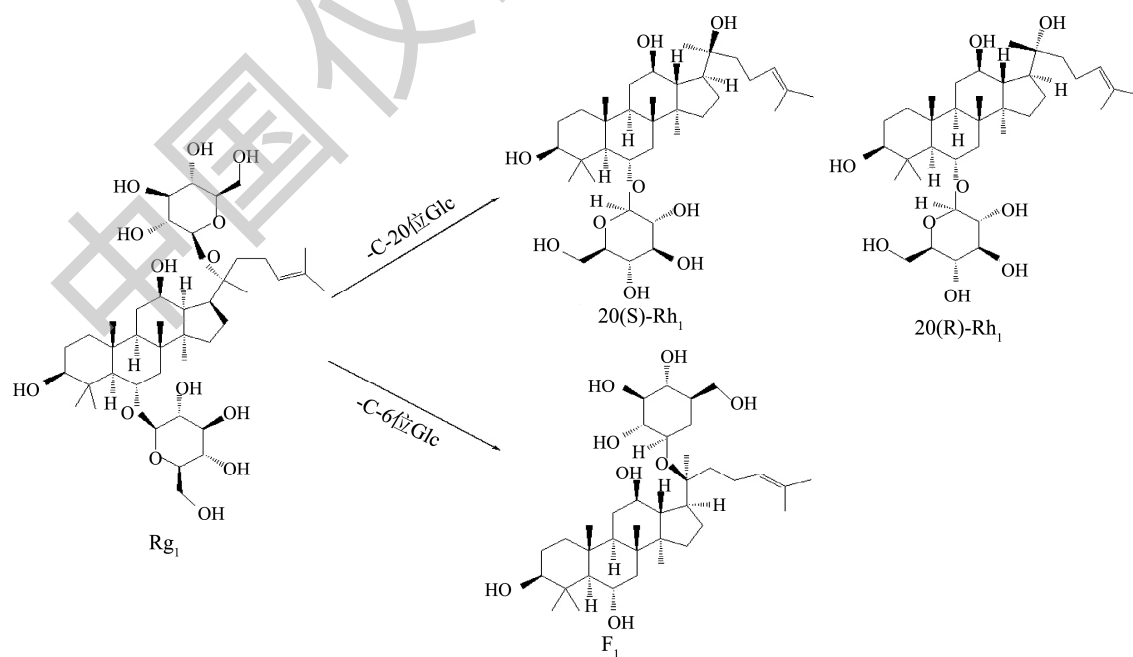


图4 人参皂苷Rg₁裂解图

Fig.4 Ginsenoside Rg₁ cleavage diagram

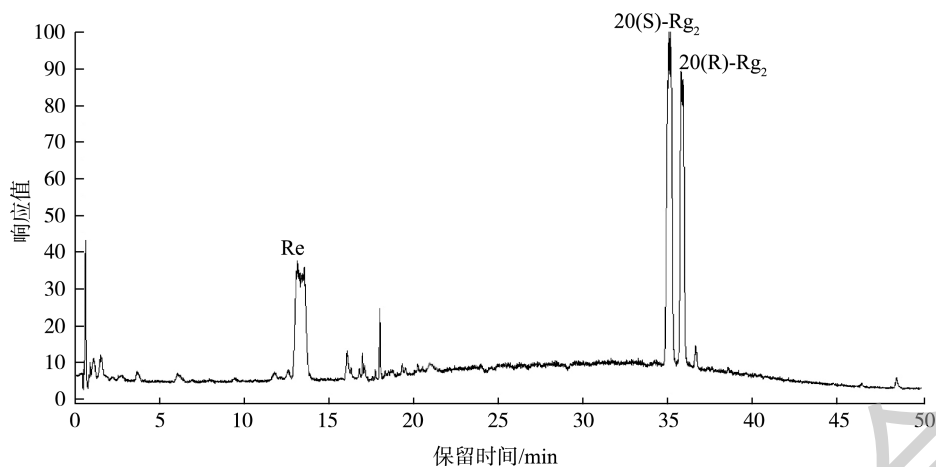


图5 人参皂苷Re负离子流图

Fig.5 Ginsenoside Re negative ion flow diagram

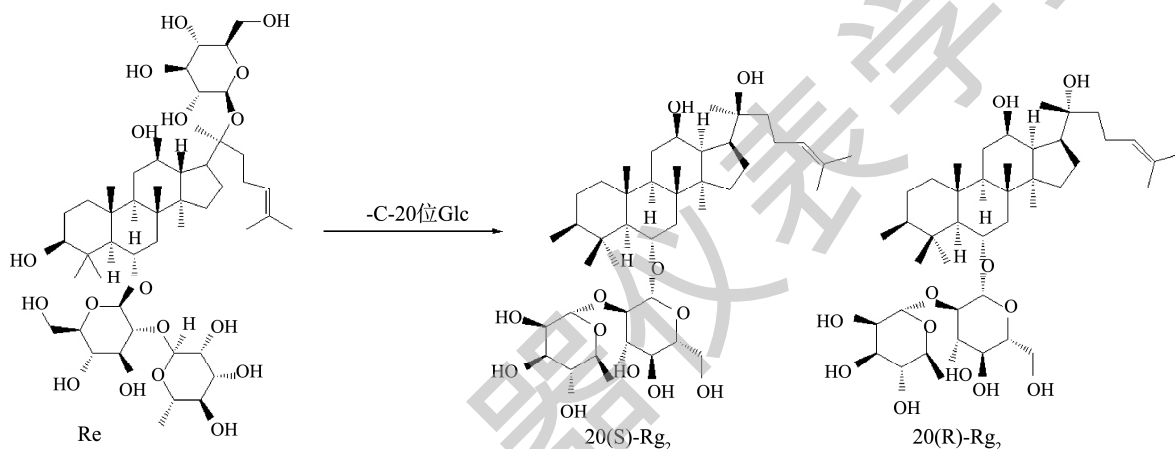
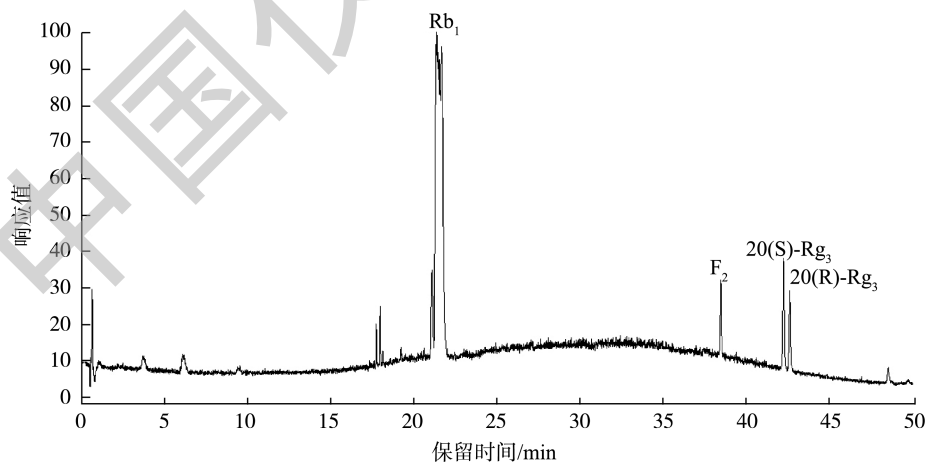


图6 人参皂苷Re裂解图

Fig.6 Ginsenoside Re cleavage diagram

图7 人参皂苷Rb₁负离子流图Fig.7 Ginsenoside Rb₁ negative ion flow diagram

2.3.4 人参皂苷 Rb₂

人参皂苷 Rb₂ 模拟炮制供试品, 经 UPLC-Q-Orbitrap MS 分析及数据库比对, 鉴定出 4 种人参皂苷成分, 分别为人参皂苷 Rb₂、人参皂苷 20(S)-Rg₃、人参皂苷 20(R)-Rg₃、人参皂

苷 F₂。推测人参皂苷 Rb₂ 经模拟炮制后, 产生两条裂解途径, 一种途径为脱去 C-20 位的双糖, 转化为人参皂苷 20(S)-Rg₃ 与 20(R)-Rg₃; 另一种途径为 C-3 位脱去一分子葡萄糖, C-20 位脱去一分子阿拉伯糖, 转化为人参皂苷 F₂^[15-18], 见图 9 与图 10。

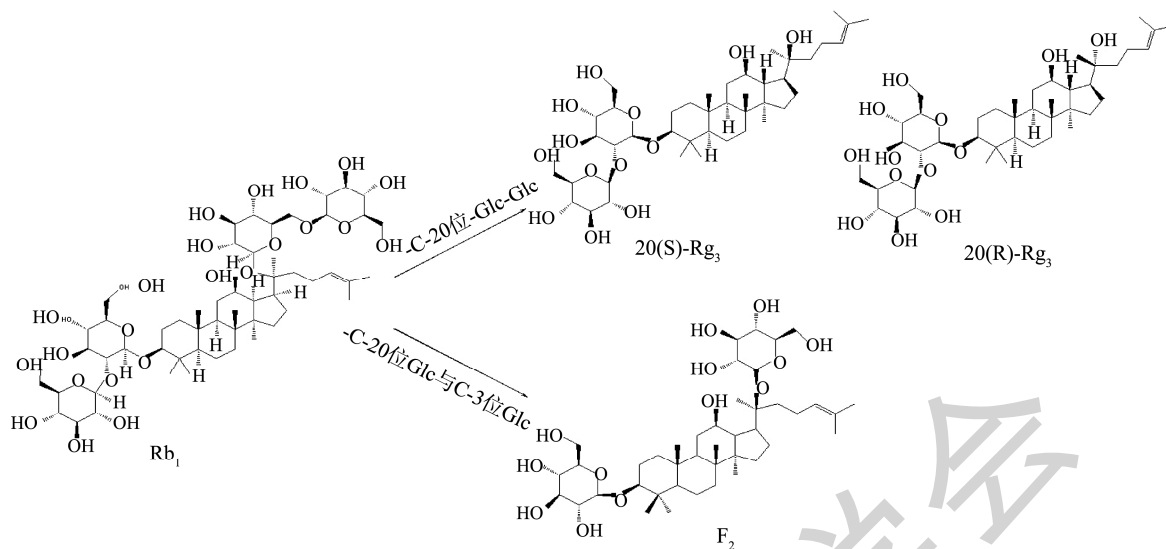


图8 人参皂苷Rb₁裂解图

Fig.8 Ginsenoside Rb₁ cleavage diagram

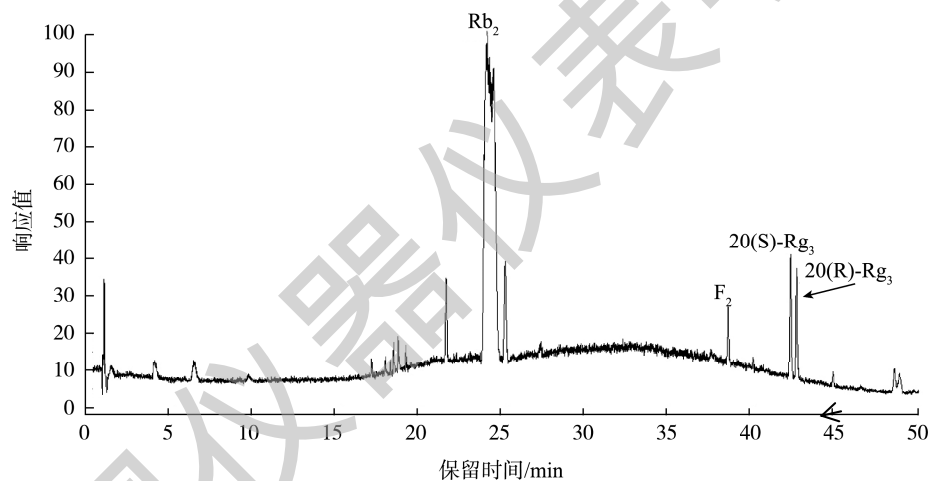


图9 人参皂苷Rb₂负离子流图

Fig.9 Ginsenoside Rb₂ negative ion flow diagram

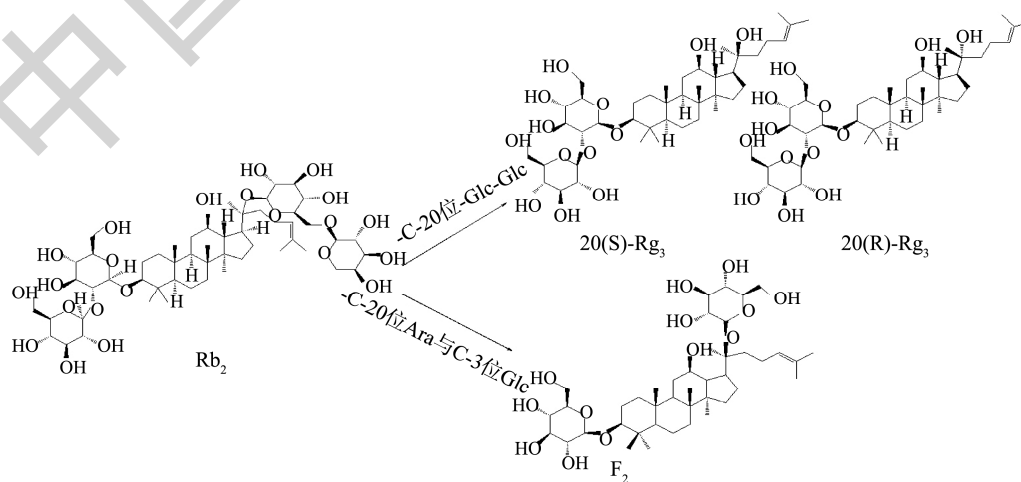


图10 人参皂苷Rb₂裂解图

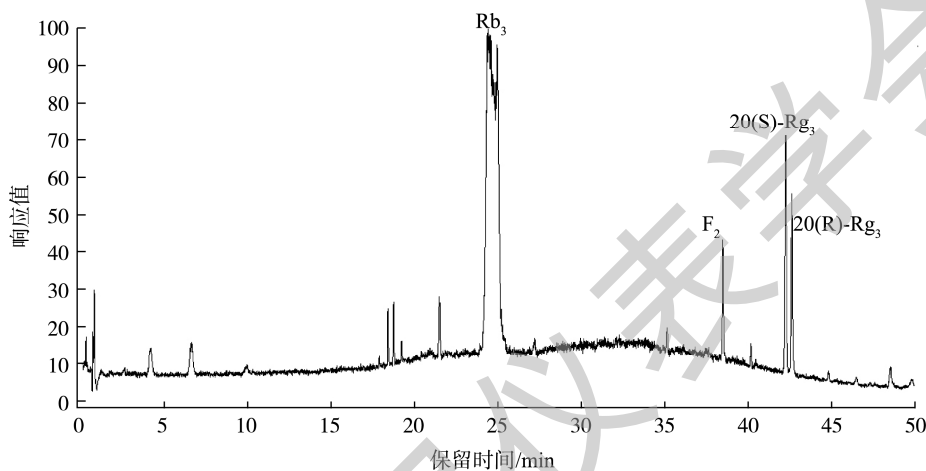
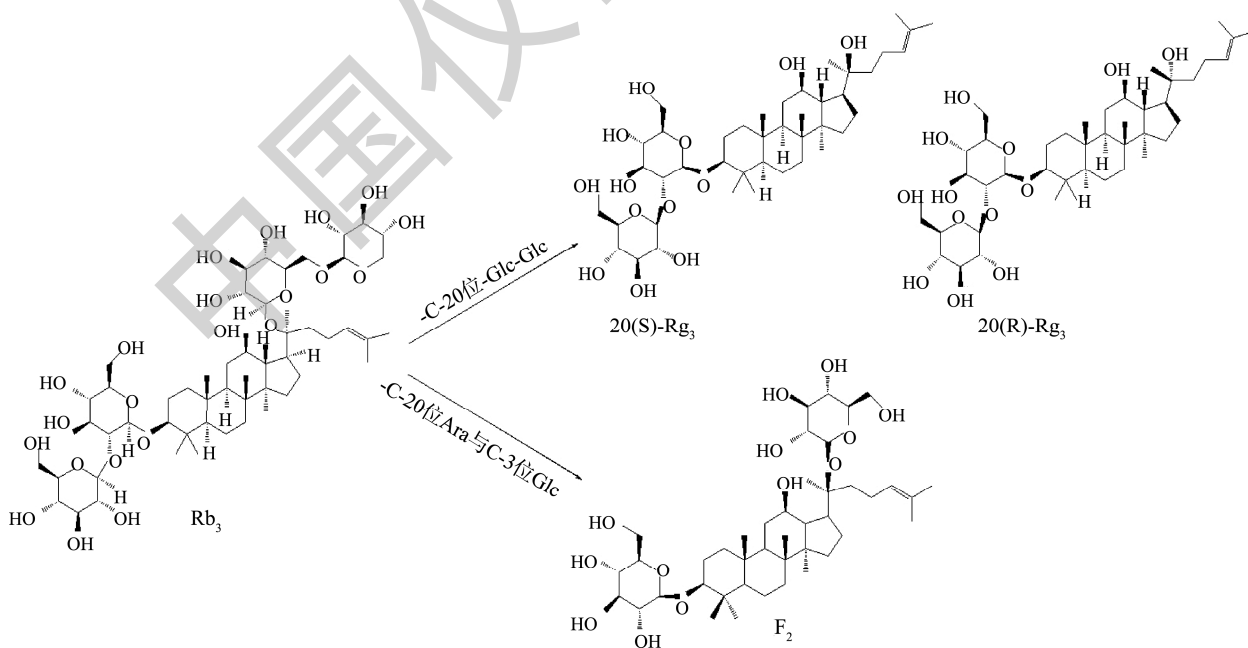
Fig.10 Ginsenoside Rb₂ cleavage diagram

2.3.5 人参皂苷 Rb₃

人参皂苷 Rb₃ 模拟炮制供试品, 经 UPLC-Q-Orbitrap MS 分析及数据库比对, 鉴定出 4 种人参皂苷成分, 分别为人参皂苷 Rb₃、人参皂苷 20(S)-Rg₃、人参皂苷 20(R)-Rg₃、人参皂苷 F₂。推测人参皂苷 Rb₃ 经模拟炮制后, 产生两条裂解途径, 人参皂苷 Rb₃ 经模拟炮制后, 脱去 C-20 位的双糖, 转化为人参皂苷 20(S)-Rg₃ 与 20(R)-Rg₃; 或于 C-3 位脱去一分子葡萄糖, 于 C-20 位脱去一分子阿拉伯糖, 转化为人参皂苷 F₂^[17-19], 见图 11 与图 12。

2.3.6 人参皂苷 Rc

人参皂苷 Rc 模拟炮制供试品, 经 UPLC-Q-Orbitrap MS 分析及数据库比对, 鉴定出 4 种人参皂苷成分, 分别为人参皂苷 Rc、人参皂苷 20(S)-Rg₃、人参皂苷 20(R)-Rg₃、人参皂苷 F₂。推测人参皂苷 Rc 经模拟炮制后, 产生两条裂解途径, 人参皂苷 Rc 经过加热, 脱去 C-20 位的双糖, 转化为人参皂苷 20(S)-Rg₃ 与 20(R)-Rg₃; 或于 C-3 位脱去一分子葡萄糖, 于 C-20 位脱去一分子阿拉伯糖, 转化为人参皂苷 F₂^[19-21], 见图 13 与图 14。

图11 人参皂苷Rb₃负离子流图Fig.11 Ginsenoside Rb₃ negative ion flow diagram图12 人参皂苷Rb₃裂解图Fig.12 Ginsenoside Rb₃ cleavage diagram

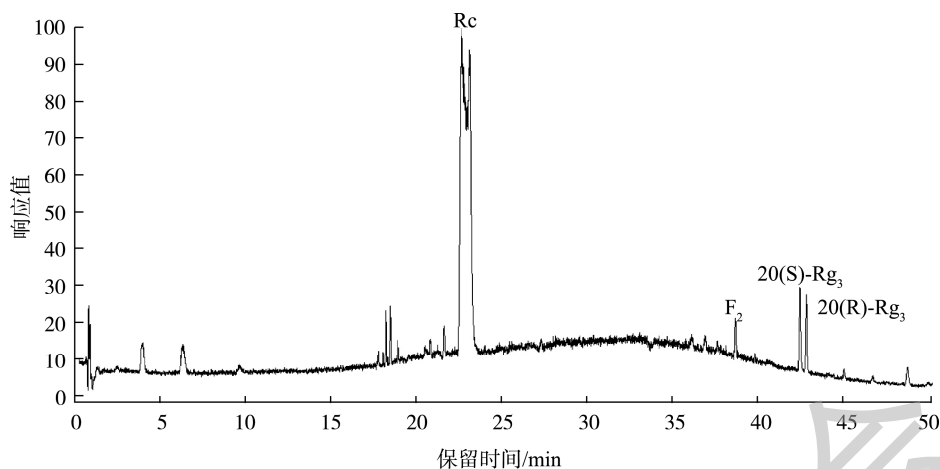


图13 人参皂苷Rc负离子流图

Fig.13 Ginsenoside Rc negative ion flow diagram

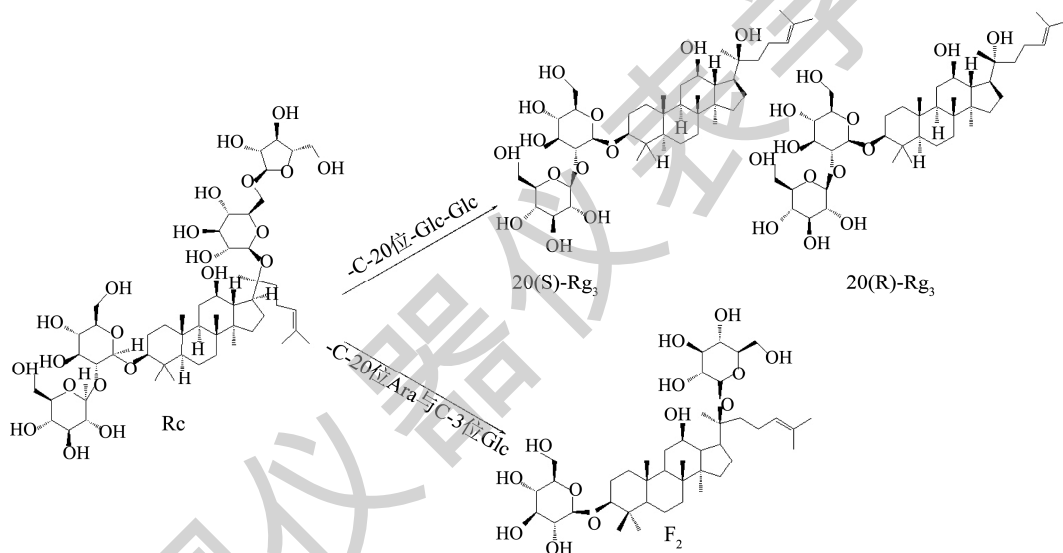


图14 人参皂苷Rc裂解图

Fig.14 Ginsenoside Rc cleavage diagram

3 讨论与结论

通过 UPLC-Q-Orbitrap-MS 技术的应用与分析, 于人参中检测并鉴定出 13 种人参皂苷成分; 米炒人参中检测并鉴定出 20 种人参皂苷成分, 发现米炒人参中存在人参中未检测到的 8 种稀有人参皂苷: 20(S)-Rg₂、20(S)-Rh₁、20(R)-Rh₁、F₂、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、20(S)-Rs₃、20(R)-Rs₃。

为了探索原型人参皂苷成分的变化规律, 对原型人参皂苷进行了模拟炮制研究, 分析原型人参皂苷成分的裂解规律。三醇型稀有人参皂苷 20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃ 是由二醇型人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc 等受热水解去糖基生成^[22-24], 二醇型稀有人参皂苷 20(S)-Rg₂、20(S)-Rh₁、20(R)-Rh₁ 是由三醇型人参皂苷 Re、Rg₁ 受热水解去糖基生成^[25]。人参经米炒后, 稀有人参皂苷成分增加, 产生的稀

有皂苷为原型皂苷发生苷键裂解而获得, 模拟炮制可作为其裂解规律研究的有效方法。

查阅文献^[26-30]发现稀有人参皂苷 20(R)-Rg₃、20(S)-Rh₁、20(R)-Rh₁ 可促进机体的非特异性免疫, 增强细胞免疫的功能, 提高机体免疫防御能力。米炒人参生成的稀有人参皂苷具有提高细胞免疫, 增强机体免疫的能力, 推测米炒人参能实现补脾健脾作用的增强, 后续会进行药效研究, 进而探究米炒人参的补脾作用。

本研究利用 UPLC-Q-Orbitrap-MS 技术建立了米炒人参中皂苷类成分的快速分析方法, 通过文献及数据库比对, 在米炒人参中检测并鉴定出 20 种人参皂苷成分, 发现米炒人参中存在人参中未检测到的 8 种稀有人参皂苷。对人参皂苷 Re、Rg₁、Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc 6 种原型人参皂苷进行了模拟炮制研究, 初步探讨了加热炮制对人参皂苷成分

的裂解规律,为人参炮制应用提供理论基础。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Pharmacopoeia Commission Chinese. Pharmacopoeia of the people's republic of China [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.
- [2] 王清浩, 王云, 张雪, 等. 米炒法中辅料大米的质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(9): 1814-1821.
WANG QH, WANG Y, ZHANG X, *et al.* Study on quality standard of rice as excipients during rice stir-frying method [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(9): 1814-1821.
- [3] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016.
GONG QF. Processing of traditional Chinese medicine [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2016.
- [4] 帖晓燕, 冯银平, 张云鹤, 等. 党参米炒前后醇溶性浸出物、党参炆苷测定及其健脾止泻作用对比[J]. 中成药, 2021, 43(7): 1941-1946.
TIE XY, FENG YP, ZHANG YH, *et al.* Determination of alcohol-soluble extract and codonidin before and after stir-frying *Codonopsis pilosula* and comparison of its effect on strengthening spleen and relieving diarrhea [J]. China Tradit Pat Med, 2021, 43(7): 1941-1946.
- [5] 中国文化研究会. 中国本草全书·102 卷·杂症痘疹药性合参[M]. 北京: 华夏出版社, 1999.
Chinese Culture Research Association. Chinese materia medica book. Volume 102. Combination of drugs for miscellaneous diseases [M]. Beijing: Huaxia Publishing House, 1999.
- [6] 陈晶, 王炳然, 张森, 等. 基于 Box-Behnken 响应面法结合层次分析法-熵权法优化米炒人参炮制工艺[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(6): 1384-1388.
CHEN J, WANG BR, ZHANG M, *et al.* Optimization of processing technology of rice fried ginseng based on Box Behnken response surface method and analytic hierarchy process combined with entropy method [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(6): 1384-1388.
- [7] 陈晶, 王炳然, 马启凤, 等. 米炒人参炮制过程中饮片颜色与成分含量相关性分析[J]. 中药材, 2023, 46(5): 1134-1139.
CHEN J, WANG BR, MA QF, *et al.* Correlation analysis between the color of decoction pieces and compounds contents during the processing of rice fried *Ginseng radix et Rhizoma* [J]. J Chin Med Mater, 2023, 46(5): 1134-1139.
- [8] 聂雪梅, 齐春艳, 许秀丽, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法探究大环内酯类质谱裂解规律[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(13): 5273-5282.
NIE XM, QI CY, XU XL, *et al.* Study on the fragmentation pathway of macrolide antibiotics by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(13): 5273-5282.
- [9] 李春梅, 岳宁, 周杰, 等. 基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术研究全氟化合物质谱裂解规律[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(22): 8380-8386.
LI CM, YUE N, ZHOU J, *et al.* Study of the mass spectrometric cleavage pattern of perfluorinated compounds based on ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbit trap high-resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(22): 8380-8386.
- [10] 吴泳锡, 张美玉, 王一竹, 等. 基于 GC-MS 和 LC-MS 的人参冰酒成分分析[J]. 质谱学报, 2022, 43(2): 189-200.
WU YX, ZHANG MY, WANG YZ, *et al.* Component analysis of ginseng ice wine by GC-MS and LC-MS [J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2022, 43(2): 189-200.
- [11] 王静, 姚长良, 张建青, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的人参配方颗粒化学成分及指纹图谱研究[J]. 中草药, 2022, 53(11): 3286-3294.
WANG J, YAO CL, ZHANG JQ, *et al.* Study on chemical components and chromatographic fingerprints of ginseng dispensing granules based on UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2022, 53(11): 3286-3294.
- [12] 乔梦丹, 刘尚, 张琰, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap MS/MS 研究人参皂苷在发酵过程中的生物转化[J]. 高等学校化学学报, 2018, 39(2): 219-225.
QIAO MD, LIU S, ZHANG D, *et al.* Biotransformation of ginsenosides in fermented ginseng using UPLC-Q-Orbitrap MS/MS [J]. Chem J Chin Univ, 2018, 39(2): 219-225.
- [13] 郑飞, 张琰, 韩铭鑫, 等. RRLC-Q-TOF MS 法分析鲜人参与仙人掌果配伍发酵前后人参皂苷成分的变化[J]. 质谱学报, 2018, 39(5): 532-539.
ZHENG F, ZHANG D, HAN MX, *et al.* Study on the change of ginsenosides in fermenting fresh ginseng and prickly pear by RRLC-Q-TOF MS [J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2018, 39(5): 532-539.
- [14] 王艳红, 吴雨桐, 曹虹芳, 等. 分散固相萃取结合 UPLC-MS/MS 测定不同人参加工品中 46 种皂苷类化合物[J]. 食品科学, 2023, 44(18): 305-315.
WANG YH, WU YT, CAO HF, *et al.* Determination of 46 ginsenosides in different processed ginseng products by dispersive solid phase extraction combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2023, 44(18): 305-315.
- [15] PARK CH, CHOI JS, YOKOZAWA T, *et al.* Increase in the hydroxyl radical-scavenging activity of *Panax ginseng* and ginsenosides by heat-processing [J]. Drug Discove Therapeut, 2018, 12(3): 114-121.
- [16] 温馨, 李梦瑶, 夏娟, 等. 谷氨酸催化水解人参皂苷 Re 制备人参皂苷 Rg₂ 工艺的优选[J/OL]. 吉林农业大学学报, 1-8. [2024-02-04]. <https://doi.org/10.13327/j.jjlau.2020.5604>
WEN X, LI MY, XIA J, *et al.* Process optimization of ginsenoside Rg₂ prepared by hydrolysing ginsenoside Re by glutamic acid [J/OL]. J Jilin Agric Univ, 1-8. [2024-02-04]. <https://doi.org/10.13327/j.jjlau.2020.5604>
- [17] BAATAR, DELGERZUL. Anti-inflammatory effect of ginsenoside Rh₂-mix on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells [J]. J Med Food, 2018, 21(10): 951-960.
- [18] 张睿哲, 徐龙权, 宋建国, 等. 人参皂苷 Rb₃ 糖基水解酶的纯化及其反应特性[J]. 广西植物, 2020, 40(5): 706-714.
ZHANG RZ, XU LQ, SONG JG, *et al.* Purification and reaction characteristics of hydrolyzed ginsenoside Rb₃ glycosylase [J]. Guihaia, 2020, 40(5): 706-714.
- [19] 李丽, 刘春明, 吴巍, 等. 高效液相色谱-电喷雾质谱联用法测定人参和西洋参的皂苷类成分[J]. 分析化学, 2005, 33(8): 1087-1090.
LI L, LIU CM, WU W, *et al.* Analysis of saponins in extract of panax ginseng and panax quinquifolium by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2005, 33(8): 1087-1090.

- 1087-1090.
- [20] 关大朋, 王欢, 李伟, 等. 高温热裂解人参皂苷 R_{k_1} 和 R_{g_5} 的制备工艺优化[J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(1): 91-95.
GUAN DP, WANG H, LI W, *et al.* Optimization of preparing technology of ginsenoside R_{k_1} and R_{g_5} by high-temperature pyrolysis [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2015, 49(1): 91-95.
- [21] 吴鑫慧. 两步法催化转化人参二醇类皂苷制备人参皂苷 R_{h_2} [D]. 大连: 大连工业大学, 2019.
WU XH. Preparation of ginsenoside R_{h_2} by a two-step catalytic conversion of Ginsenodiol saponins [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019.
- [22] 景钰. 人参茎叶皂苷提取物的水解及人参皂苷元的纯化[D]. 北京: 北京林业大学, 2020.
JING Y. Hydrolysis of ginseng stem and leaf saponin extracts and purification of ginsenoside elements [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2020.
- [23] 刘霞. 20(R)-人参皂甙 R_{g_3} 对小鼠免疫功能的影响[D]. 大连: 大连医科大学, 2006.
LIU X. Effect of 20(R)-ginsenoside R_{g_3} on the immunity function in mice [D]. Dalian: Dalian Medical University, 2006.
- [24] 张才军, 郭民, 柳波, 等. 人参皂苷 R_{h_1} 对免疫功能降低小鼠的免疫调节作用研究[J]. 昆明医学院学报, 2009, 30(11): 51-54, 58.
ZHANG CJ, GUO M, LIU B, *et al.* Immunoregulating effects of ginsenoside R_{h_1} on immunosuppressive mice model [J]. J Kunming Med Univ, 2009, 30(11): 51-54, 58.
- [25] 陈声武, 王岩, 王毅, 等. 人参皂苷 R_{g_1} 和 R_{h_1} 抗肿瘤作用的研究[J]. 吉林大学学报(医学版), 2003, (1): 25-28.
CHEN SW, WANG Y, WANG Y, *et al.* Study on anti-tumor activity of ginsenoside R_{g_1} and R_{h_1} [J]. J Jilin Univ (Med Ed), 2003, (1): 25-28.
- [26] 曹建民, 徐晓阳, 冯炜权. 补脾活血中药对小鼠免疫功能的影响[J]. 体育科学, 1996, 16(2): 51-56.
CAO JM, XU XY, FENG WQ. Effects of the chinese traditional medicine for spleen invigoration and blood circulation promotion on the immune function of mice [J]. China Sport Sci, 1996, 16(2): 51-56.
- [27] 何子威. 人参皂苷 R_{g_2} 的制备及抗肝纤维化作用研究[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2022.
HE ZW. Preparation of ginsenoside R_{g_2} and study on its anti-hepatic fibrosis effect [D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2022.
- [28] 杨文华. 原人参二醇型皂苷水解酶的挖掘及其在制备人参皂苷化合物 K 的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
YANG WH. Mining of proto-ginseng diol-type saponin hydrolase and its application in the preparation of ginsenoside compound K [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.
- [29] 朱义刚, 申雁冰, 王敏. 酸水解法富集人参细胞稀有皂苷工艺研究[J]. 特产研究, 2021, 43(1): 1-6.
ZHU YG, SHEN YB, WANG M. Study on the enrichment of rare saponins from ginseng cells by acid hydrolysis [J]. Spec Wild Econ Anim Plant Res, 2021, 43(1): 1-6.
- [30] QUEIROZ M, AZUL L, LEANDRO A, *et al.* Anti-inflammatory impact of luteolin on endothelial and perivascular dysfunction in type 2 diabetes [J]. Atherosclerosis, 2020, 315: e127.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



王艺霏, 硕士, 主要研究方向为中药炮制关键技术及科学内涵。

E-mail: 1749275417@qq.com

高红梅, 博士, 教授, 主要研究方向为中药炮制关键技术及科学内涵。

E-mail: gaohm@ccucm.edu.cn