

基于特征图谱和 UPLC-Q-TOF/MS 技术的北柴胡及其常见混淆品的化学鉴别研究

郭艳艳^{1,2}, 王欢欢^{1,2}, 仲子怡^{1,2}, 刘欣莲^{1,2}, 孙利^{1,2}, 汪晶^{1,2}

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028; 2. 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药口服制剂释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028)

摘要: **目的** 基于特征图谱和 UPLC-Q-TOF/MS 技术对北柴胡及其常见混淆品进行化学鉴别。**方法** 对收集的不同基原、不同产地北柴胡及其常见混淆品进行薄层色谱鉴别, 然后依据建立的 HPLC 特征图谱对北柴胡及其混淆品进行化学成分比较, 进一步结合 UPLC-Q-TOF/MS 技术找出柴胡属混淆品代表性差异标志物。**结果** 薄层色谱显示, 不同基原柴胡饮片均具有柴胡皂苷 A 和柴胡皂苷 D, 根据荧光斑点强度和位置可将其进行区分。北柴胡及其醋炙品特征图谱分别标定了 14、16 个共有峰, 并指认其中 6 个成分。不同产地北柴胡饮片所含化学组分类似, 建立的方法可以较好地体现柴胡特征。进一步通过特征图谱比较发现, 竹叶柴胡在成分类群组成上与正品北柴胡接近, 锥叶柴胡和大叶柴胡具有各自响应值较高的特征峰, 藏柴胡皂苷含量明显高于北柴胡。利用 UPLC-Q-TOF/MS 共鉴定出 69 种柴胡化合物, 主要为三萜皂苷类成分, 其次是黄酮类, 少数色酮、苯丙素类和炔类成分。聚类分析结果显示柴胡种间差异较为明显, 不同柴胡混淆品具有代表性差异标志物。**结论** 建立的特征图谱和 UPLC-Q-TOF/MS 分析方法可用于北柴胡及其常见混淆品的化学鉴别研究, 为全面合理开发利用柴胡资源提供依据。

关键词: 柴胡; 特征图谱; 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱; 薄层色谱法; 化学成分; 真伪鉴别

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2025)01-0066-12

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2025.0066

引文格式: 郭艳艳, 王欢欢, 仲子怡, 等. 基于特征图谱和 UPLC-Q-TOF/MS 技术的北柴胡及其常见混淆品的化学鉴别研究[J]. 南京中医药大学学报, 2025, 41(1): 66-77.

Study on Chemical Identification of *Bupleurum Chinense* and Counterfeits Based on Characteristic Chromatogram and UPLC-Q-TOF/MS Technology

GUO Yanyan^{1,2}, WANG Huanhuan^{1,2}, ZHONG Ziyi^{1,2}, LIU Xinlian^{1,2}, SUN Li^{1,2}, WANG Jing^{1,2}

(1. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 2. State Key Laboratory of Oral Drug Delivery Systems of Chinese Materia Medica, Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To identify *Bupleurum chinense* pieces and its counterfeits based on the characteristic chromatogram and UPLC-Q-TOF/MS technology. **METHODS** Thin layer chromatography was used to identify *Bupleurum chinense* and its counterfeits collected from different origins and different producing areas. Then, the chemical constituents of *Bupleurum chinense* and its counterfeits were compared according to the established HPLC characteristic chromatogram, and the representative differential markers of *Bupleurum chinense* counterfeits were further identified by UPLC-Q-TOF/MS technology. **RESULTS** Thin layer chromatography showed that different original *Bupleurum chinense* pieces had saikosaponin A and saikosaponin D, which could be distinguished according to the intensity and position of fluorescent spots. There were 14 and 16 common peaks in the specific chromatogram of *Bupleurum chinense* and its vinegar-processed products respectively, and 6 components were identified. The chemical components of *Bupleurum chinense* pieces from different producing areas were similar, and the established method could better reflect the characteristics of *Bupleurum chinense*. Further comparison of the specific chromatogram of *Bupleurum chinense* and its counterfeits showed that the composition of *B. marginatum* Wall. was close to that of the authentic *Bupleurum chinense*. *B. bicaule* Helm and *B. longiradiatum* Turcz. had their own characteristic peaks with high response values. The content of saponins in *B. marginatum* var. *stenophyllum* was significantly higher. A total of 69 *Bupleurum* compounds were identified by UPLC-Q-TOF/MS mainly triterpenoid saponins, followed by flavonoids, a few chromones, phenylpropanoids and alkynes. The results of cluster analysis showed that the interspecific differences of *Bupleurum chinense* were obvious, and different *Bupleurum* counterfeits had representative differential markers. **CONCLUSION** The established

收稿日期: 2024-09-10

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81803756); 江苏省中医药科技发展计划项目(MS2022032); 江苏省研究生实践创新计划(SJCX24_0887); 南京市中医药传承创新发展示范试点资助项目(NJCC-ZJ-202351)

第一作者: 郭艳艳, 女, 硕士研究生, E-mail: guoyanyan0609@163.com

通信作者: 孙利, 男, 主任中医师, 主要从事中医学研究, E-mail: 158224865@qq.com;

汪晶, 男, 副研究员, 主要从事中药学研究, E-mail: wangjing3968@126.com

characteristic chromatogram and UPLC-Q-TOF/MS method can be used for the chemical identification of *Bupleurum chinense* and its counterfeits, which provide a basis for the comprehensive and rational development and utilization of *Bupleurum* resources.

KEYWORDS: *Bupleurum*; characteristic chromatogram; UPLC-Q-TOF/MS; TLC; chemical component; authenticity identification

柴胡为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzoniferifolium* Willd. 的干燥根,根据其性状的不同,分别习称为“北柴胡”和“南柴胡”^[1]。柴胡性寒,味微苦,归肝、胆经,具有疏肝解郁、疏散退热的功效,其中柴胡皂苷是主要的药理活性成分^[2-4]。柴胡既是传统大宗药材,又是现代临床常用中药,近些年来,柴胡药用需求量增加,而市场上柴胡药材存在基原繁杂、质量参差不齐的问题。除《中国药典》2020 年版规定的正品柴胡外,地方药材标准中记载着其他基原柴胡,其中,黑柴胡 *Bupleurum smithii* Wolff 在《甘肃省中药材标准》2020 年版中收载;竹叶柴胡 *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC. 在《四川省中药材标准》2010 年版中收载,在四川省已有 40 余年栽培历史,并且被《中国药典》2015 年版收录在成方制剂中作为鼻窦炎口服液、耳聋左慈丸的处方组成^[5-6];锥叶柴胡 *Bupleurum bicaule* Helm 在《内蒙古中药材标准》2021 年版中收载,在内蒙古、东北等地野生资源较为丰富,在当地是南柴胡的主要替代品,其同属植物大叶柴胡的主产区也在东北^[7];藏柴胡 *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC. var. *stenophyllum* (Wolff.) Shan et Y. Li 在《贵州省中药材民族药材质量标准》2019 年版中以“竹叶柴胡”名称收载,因产量高、含量高、价格便宜在市场上广泛流通,经常掺杂在北柴胡中使用^[8]。大叶柴胡 *Bupleurum longiradiatum* Turcz. f. *australe* Shan et Y. Li 有毒,自《中国药典》1977 年版起规定不能入药,但在东北地区依然有少数流通^[9-10]。由此可见柴胡品种的混乱现象严重,建立高效科学的化学鉴别方法,对于了解柴胡的物质基础,保证柴胡基原的准确性,保障患者临床用药安全具有重要意义。

常用的药材鉴别方法包括性状、显微、理化、薄层色谱、指纹图谱、DNA 分子鉴定等^[11-15]。中药特征图谱是一种多指标质量控制模式,可以客观的评价药材一致性和稳定性^[16-17]。超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法(UPLC-Q-TOF/MS)技术具有高分辨率、高灵敏度特点,能快速分离和鉴定化学成分,已广泛应用于中药复杂体系的研究。叶耀辉等^[18]采用 UPLC-Q-TOF/MS 建立了 12 批不同产地北柴胡药材的指纹图谱。郭敏娜等^[19]采

用 LC-MS 分析了柴胡中的 21 个化合物。曲中原等^[20]运用高效液相色谱法建立了南柴胡药材指纹图谱,并结合网络药理学预测 Q-Marker。目前相关文献主要集中在药典规定的正品北柴胡和南柴胡,对于不同基原柴胡属药材的化学成分及鉴别研究研究尚不全面。本研究收集不同产地多批次北柴胡及其混淆品样品,采用薄层色谱、特征图谱以及 UPLC-Q-TOF/MS 技术对其进行化学鉴别研究,寻找差异标志物,以期柴胡属药材的鉴别研究以及质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent HP 1260(美国安捷伦科技有限公司); SCIEX Exion LC 联合 X500B mass spectrometer (AB Sciex, Foster City, CA, USA) 液质联用仪; XPR6UD5/A 型电子分析天平(梅特勒托利多公司);TGL-16B 离心机(上海安亭科学仪器厂);KH-700 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);DGG-9240B 型电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司);实验室超纯水机[舒活泉(厦门)智能科技有限公司];DFY-250 摇摆式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司);ZF-90D 型暗箱式紫外分析仪(上海光豪分析仪器有限公司)。

1.2 材料

对照品柴胡皂苷 A(批号 PS000191,质量分数 99.14%)、柴胡皂苷 D(批号 PS011481,质量分数 98.96%)、柴胡皂苷 C(批号 PS000193,质量分数 99.65%)、柴胡皂苷 F(批号 PS011482,质量分数 99.10%)、柴胡皂苷 B₁(批号 PS010830,质量分数 97.51%)、柴胡皂苷 B₂(批号 PS011487,质量分数 99.70%)均购自成都普思生物科技股份有限公司;柴胡对照药材(批号 120992-201509)购自中国食品药品检定研究院;色谱级甲醇和乙腈购自美国 Tedia 公司;质谱级甲醇和乙腈购自 Fisher Scientific,质谱级甲酸购自 Sigma-Aldrich;氨水、乙酸乙酯、乙醇、硫酸均为分析纯,购自南京化学试剂股份有限公司;对二甲氨基苯甲醛(批号 H2303091)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;硅胶 G 高效板(批号 20230202)购自青岛海洋化工有限公司。米醋(批

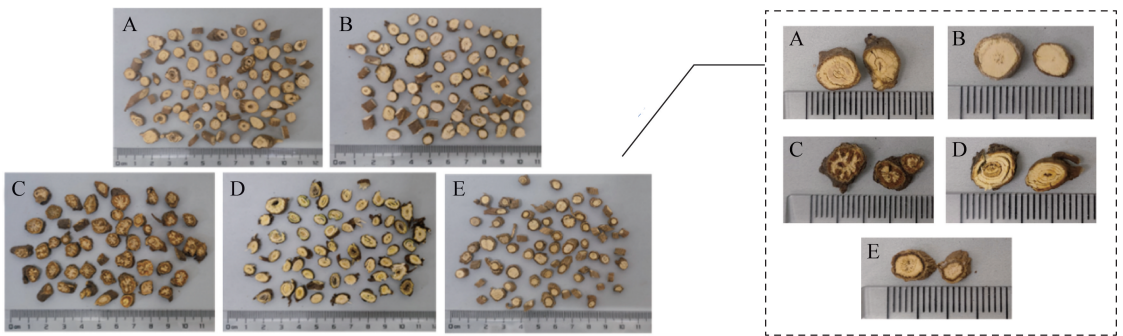
号 20231014) 购自山西紫林醋业股份有限公司, 水为超纯水。柴胡样品购买于各饮片公司和亳州药材市场, 经江苏省中医药研究院李振麟研究员鉴定, 分别为北柴胡 *Bupleurum chinense* DC.、藏柴胡 *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum* (Wolff) Shan et

Y. Li、锥叶柴胡 *Bupleurum bicaule* Helm、竹叶柴胡 *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC. 和大叶柴胡 *Bupleurum longiradiatum* Turcz. f. *australe* Shan et Y. Li 的干燥根, 样品信息见表 1, 不同品种柴胡饮片见图 1。

表 1 不同产地北柴胡饮片及其混伪品的来源信息

Table 1 Source information of *Bupleurum chinense* pieces and counterfeits from different producing areas

编号	药材名	产地	编号	药材名	产地	编号	药材名	产地
S1	北柴胡	山西	S17	北柴胡	陕西	S33	藏柴胡	甘肃
S2	北柴胡	山西	S18	北柴胡	陕西	S34	藏柴胡	甘肃
S3	北柴胡	山西	S19	北柴胡	陕西	S35	锥叶柴胡	内蒙古
S4	北柴胡	山西	S20	北柴胡	陕西	S36	锥叶柴胡	内蒙古
S5	北柴胡	山西	S21	北柴胡	陕西	S37	锥叶柴胡	内蒙古
S6	北柴胡	山西	S22	北柴胡	甘肃	S38	锥叶柴胡	内蒙古
S7	北柴胡	山西	S23	北柴胡	甘肃	S39	锥叶柴胡	内蒙古
S8	北柴胡	山西	S24	北柴胡	甘肃	S40	锥叶柴胡	内蒙古
S9	北柴胡	山西	S25	北柴胡	甘肃	S41	竹叶柴胡	四川
S10	北柴胡	山西	S26	北柴胡	甘肃	S42	竹叶柴胡	四川
S11	北柴胡	山西	S27	北柴胡	河南	S43	竹叶柴胡	山东
S12	北柴胡	山西	S28	北柴胡	吉林	S44	竹叶柴胡	四川
S13	北柴胡	山西	S29	藏柴胡	甘肃	S45	竹叶柴胡	四川
S14	北柴胡	山西	S30	藏柴胡	甘肃	S46	竹叶柴胡	四川
S15	北柴胡	陕西	S31	藏柴胡	四川	S47	大叶柴胡	辽宁
S16	北柴胡	陕西	S32	藏柴胡	甘肃	S48	大叶柴胡	辽宁



注: A. 北柴胡; B. 竹叶柴胡; C. 锥叶柴胡; D. 大叶柴胡; E. 藏柴胡

图 1 不同品种柴胡饮片图

Fig. 1 Different varieties of *Bupleurum* pieces

2 方法与结果

2.1 北柴胡及其混淆品的薄层色谱鉴别

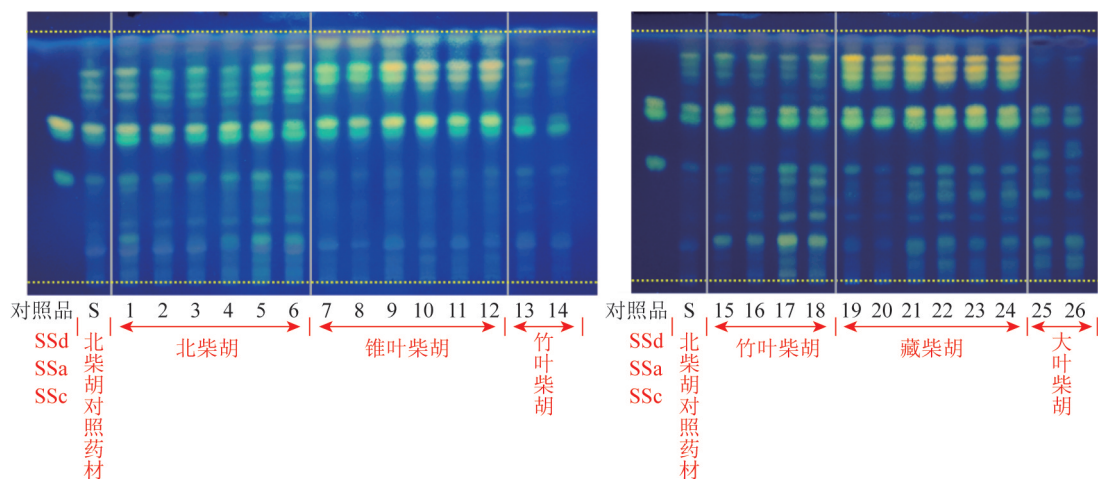
取北柴胡样品粉末 0.5 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 滤液浓缩至 5 mL, 作为供试品溶液; 同法制成柴胡混淆品供试品溶液。取北柴胡对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。取柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D、柴胡皂苷 C 对照品制备每 1 mL 各含 0.5 mg 的混合对照品溶液。分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-乙醇-水 (8:2:1) 为展开

剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 40% 硫酸溶液, 在 60 °C 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。

从图 2 可以看出, 不同柴胡样品均含有柴胡皂苷 D 和柴胡皂苷 A。藏柴胡整体相较于北柴胡具有更强的荧光斑点; 竹叶柴胡在斑点数量和颜色上与北柴胡没有较大的差别; 锥叶柴胡在 $R_f = 0.9$ 的位置上有一个明显的荧光斑点, 其他几种均没有, 且锥叶柴胡斑点颜色较北柴胡深, 表明其所含成分含量较北柴胡高; 大叶柴胡斑点数量较少, 在柴胡皂苷 A

和柴胡皂苷 C 之间有 2 个明显的斑点,可以作为鉴别特征。总体来说,大叶柴胡化学组分与其他柴胡

属品种相差较大,2 个特征斑点可能与其含有的毒性成分有关^[21]。



注:SSd. 柴胡皂苷 D;SSa. 柴胡皂苷 A;SSc. 柴胡皂苷 C

图 2 各柴胡属饮片薄层色谱图

Fig. 2 Thin layer chromatography of *Bupleurum* pieces

2.2 HPLC 特征图谱的建立

2.2.1 对照品溶液的制备 取柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D、柴胡皂苷 C、柴胡皂苷 F、柴胡皂苷 B₁、柴胡皂苷 B₂ 对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并定容,制成每 1 mL 分别含柴胡皂苷 A 142.504 μg、柴胡皂苷 D 227.618 μg、柴胡皂苷 C 232.620 μg、柴胡皂苷 F 201.857 μg、柴胡皂苷 B₁ 160.052 μg、柴胡皂苷 B₂ 202.603 μg 的混合对照品溶液。

2.2.2 供溶液的制备 分取部分北柴胡样品(编号 S1~S28),按《中国药典》2020 版一部醋炙法炮制,得到北柴胡醋炙品(编号 Y1~Y28),取北柴胡及醋炙品粉末(过 4 号筛)约 0.5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加入含 5% 浓氨试液的甲醇溶液 25 mL,30 ℃ 水温超声(700 W,40 kHz)处理 30 min,滤过,用甲醇 20 mL 分 2 次洗涤容器及药渣,洗液与滤液合并置蒸发皿中,水浴锅加热,回收溶剂至干。残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 色谱条件 采用 X-Bridge C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱;流动相为乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~10 min,34%A;10~45 min,34%~54%A;45~65 min,54%~90%A;65~68 min,90%A);体积流量 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 210 nm;柱温 30℃;进样量 10 μL。

2.2.4 HPLC 特征图谱方法学考察

2.2.4.1 精密度试验 取北柴胡供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件分别连续进样测定 6 次,以 9 号峰(柴胡皂苷 D)为参照峰,测得各共有峰的相对保留时间的 RSD 为 0.03%~0.45%,相对峰面积的 RSD 为 0.68%~4.37%,表明仪器精密度良好。

2.2.4.2 重复性试验 取同一批北柴胡供试品 6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,以 9 号峰(柴胡皂苷 D)为参照峰,测得各共有峰的相对保留时间的 RSD 为 0.03%~0.22%,相对峰面积的 RSD 为 1.00%~4.95%,结果表明该方法重复性良好。

2.2.4.3 稳定性试验 取北柴胡供试品溶液,分别在制备后 0、2、4、8、12、24 h 进样测定,以 9 号峰(柴胡皂苷 D)为参照峰,测得各共有峰的相对保留时间的 RSD 为 0.11%~0.38%,相对峰面积的 RSD 为 0.46%~3.76%,表明供试品溶液在室温放置 24 h 稳定性良好。

2.2.5 HPLC 特征图谱的建立与相似度评价 取不同产地的 28 批北柴胡饮片及其醋炙品,按“2.2.2”项下方法制备样品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件分别进样分析,将相关色谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》进行处理,以 S1 号样品色谱图作为参照图谱,时间窗宽度设定为 0.10 min,采用平均数法和多点校正法进行了 Mark 峰匹配,得到北柴胡及醋北柴胡 HPLC 特征图谱共有模式及对照图谱,见图 3。北柴胡样品标示出 14

个共有峰,醋北柴胡样品标示出 16 个共有峰,其中 9 号峰(柴胡皂苷 D)稳定性好,色谱响应高,保留时间适中,故选择该色谱峰为参照峰(S),通过与对照品(图 4)比对,初步确认了其中 6 种化学成分,分别

为 3 号峰柴胡皂苷 C、4 号峰柴胡皂苷 F、6 号峰柴胡皂苷 A、9 号峰柴胡皂苷 D、15 号峰柴胡皂苷 B₂、16 号峰柴胡皂苷 B₁。

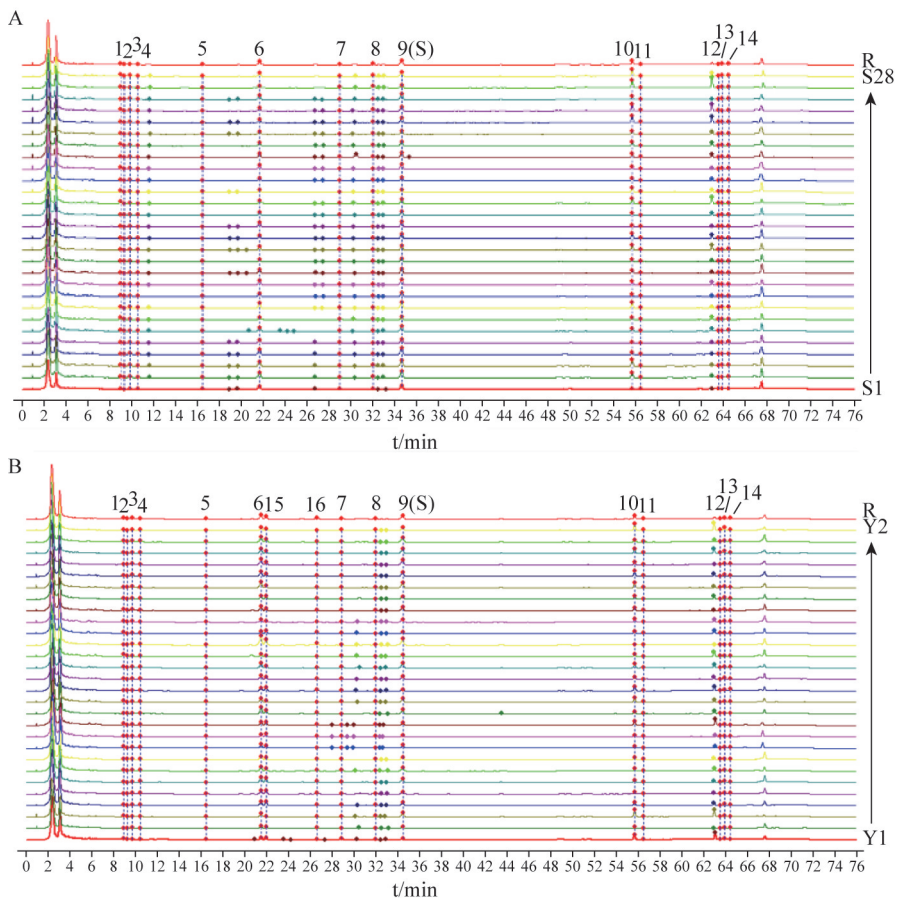
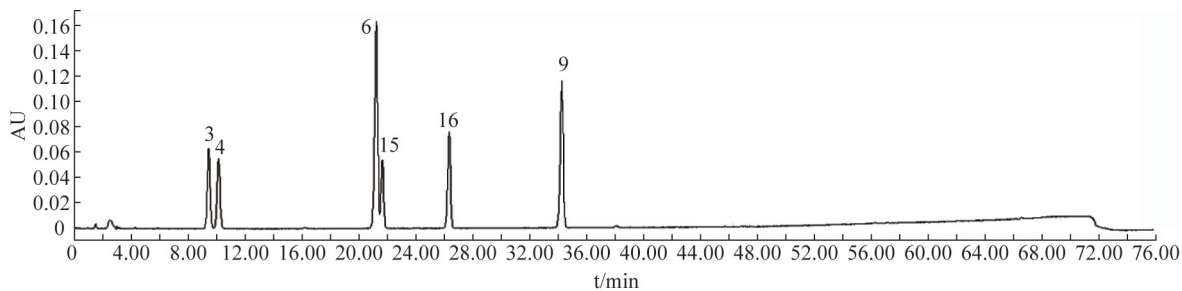


图 3 北柴胡 (A) 与醋北柴胡 (B) 叠加特征图谱

Fig. 3 *Bupleurum chinense* (A) and Vinegar *Bupleurum chinense* (B) superimposed characteristic chromatogram



注:3. 柴胡皂苷 C;4. 柴胡皂苷 F;6. 柴胡皂苷 A;9. 柴胡皂苷 D;15. 柴胡皂苷 B₂;16. 柴胡皂苷 B₁

图 4 混合对照品 HPLC 色谱图

Fig. 4 HPLC chromatogram of mixed reference substance

以对照特征图谱为参照,计算各批次样品相似度,结果见表 2。北柴胡样品与对照图谱相似度为 0.869~0.999,醋炙品与其对照图谱相似度为 0.853~0.997,说明不同产地北柴胡所含化学组分类似,质量较为均一稳定,北柴胡醋炙工艺稳定,不同批次间相似度较好,所建立的方法可以较好体现

柴胡的特征。

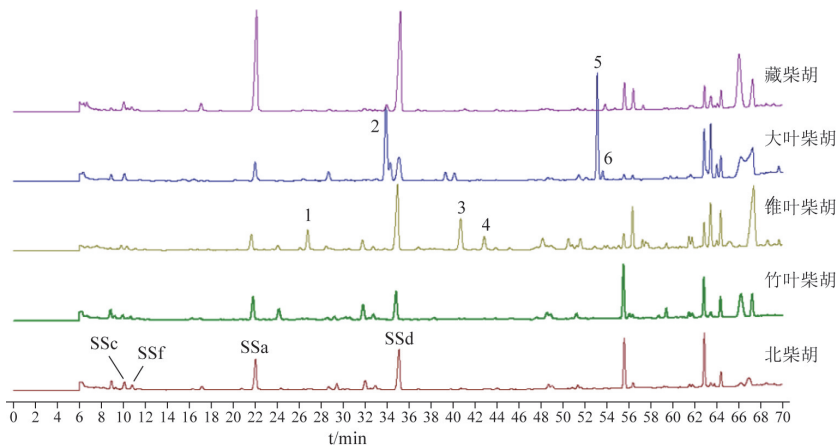
2.3 北柴胡及其混淆品的特征图谱比较

将锥叶柴胡、竹叶柴胡、藏柴胡、大叶柴胡等柴胡属混淆品的 HPLC 特征图谱(按“2.2.3”项下色谱条件进样后获得)导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》,分别生成各自的对照特征

图谱,再以北柴胡对照特征图谱为参照进行对比分析。

表 2 北柴胡生品及醋炙品 HPLC 特征图谱相似度评价
Table 2 Similarity evaluation of HPLC characteristic chromatograms of *Bupleurum chinense* and vinegar-processed *Bupleurum chinense*

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.941	S15	0.954	Y1	0.853	Y15	0.991
S2	0.997	S16	0.979	Y2	0.986	Y16	0.980
S3	0.993	S17	0.984	Y3	0.889	Y17	0.937
S4	0.953	S18	0.949	Y4	0.973	Y18	0.909
S5	0.949	S19	0.991	Y5	0.948	Y19	0.882
S6	0.982	S20	0.981	Y6	0.969	Y20	0.969
S7	0.968	S21	0.988	Y7	0.995	Y21	0.993
S8	0.997	S22	0.992	Y8	0.997	Y22	0.982
S9	0.982	S23	0.999	Y9	0.973	Y23	0.984
S10	0.990	S24	0.962	Y10	0.963	Y24	0.993
S11	0.995	S25	0.965	Y11	0.972	Y25	0.980
S12	0.992	S26	0.985	Y12	0.961	Y26	0.984
S13	0.991	S27	0.869	Y13	0.978	Y27	0.973
S14	0.993	S28	0.951	Y14	0.900	Y28	0.911



注:SSc. 柴胡皂苷 C;SSf. 柴胡皂苷 F;SSa. 柴胡皂苷 A;SSd. 柴胡皂苷 D;峰 1~6. 特征成分

图 5 各柴胡属饮片对照特征图谱比较

Fig. 5 Comparison of characteristic chromatograms of different *Bupleurum* pieces

2.4 UPLC-Q-TOF/MS 鉴定不同柴胡属化学成分

2.4.1 供试品溶液的制备

称取 0.1 g 北柴胡、醋北柴胡、竹叶柴胡、锥叶柴胡、藏柴胡、大叶柴胡样品粉末,加入 10 mL 70% 甲醇,超声提取 30 min,吸取上清,将剩余沉淀物再加 10 mL 70% 甲醇,超声提取 30 min 后再吸取上清,合并 2 次提取的上清液。取 400 μ L 合并后的上清液至 1.5 mL EP 管中,氮气吹干。用 200 μ L 50% 甲醇复溶,以 13 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$,离心 15 min,吸取上清液 150 μ L,注入 LC-MS。剩余样品各取 20 μ L 组成 QC,离心后吸取上清液 150 μ L,注入 LC-MS。

由图 5 可知,北柴胡与竹叶柴胡的特征图谱较为相似,没有显著的标志性差异成分,说明该柴胡属饮片在成分群组成上和药典收录的正品柴胡比较接近,这也与薄层色谱结果相同。锥叶柴胡、大叶柴胡对照特征图谱与北柴胡有较大差异,具有各自的特征峰,锥叶柴胡具有峰 1、峰 3、峰 4 特征成分,大叶柴胡具有峰 2、峰 5、峰 6 特征成分,且部分成分响应值较高。藏柴胡具有较高柴胡皂苷含量,其柴胡皂苷 A 与柴胡皂苷 D 总含量约为北柴胡的 3 倍,这也与相关文献研究一致^[22]。竹叶柴胡、藏柴胡与北柴胡化学成分构成较为相似,仅在组分响应方面有所差异,其中,藏柴胡皂苷含量明显高于北柴胡,且其市售价格约为北柴胡的 1/2,导致市场上存在藏柴胡掺伪或混入其他柴胡属饮片销售、使用的情况。本文在建立的特征图谱基础上,进一步结合 UPLC-Q-TOF/MS 对各柴胡属混淆品进行化学鉴别研究。

2.4.2 对照品溶液的制备

分别精密称取柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D、柴胡皂苷 C、柴胡皂苷 F、柴胡皂苷 B1、柴胡皂苷 B2、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、芦丁、槲皮素、槲皮苷对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,经 0.22 μ m 微孔滤膜,得混合对照品溶液。

2.4.3 实验条件

色谱条件:液相色谱柱为 Waters Acquity HSS T₃ column (2.1 mm \times 150 mm, 1.8 μ m); 流动相为乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B),梯度洗脱(0~5 min, 3%~8% A; 5~11 min, 8%~30% A; 11~20 min, 30%~80% A; 20~21 min, 80%~95% A; 21~

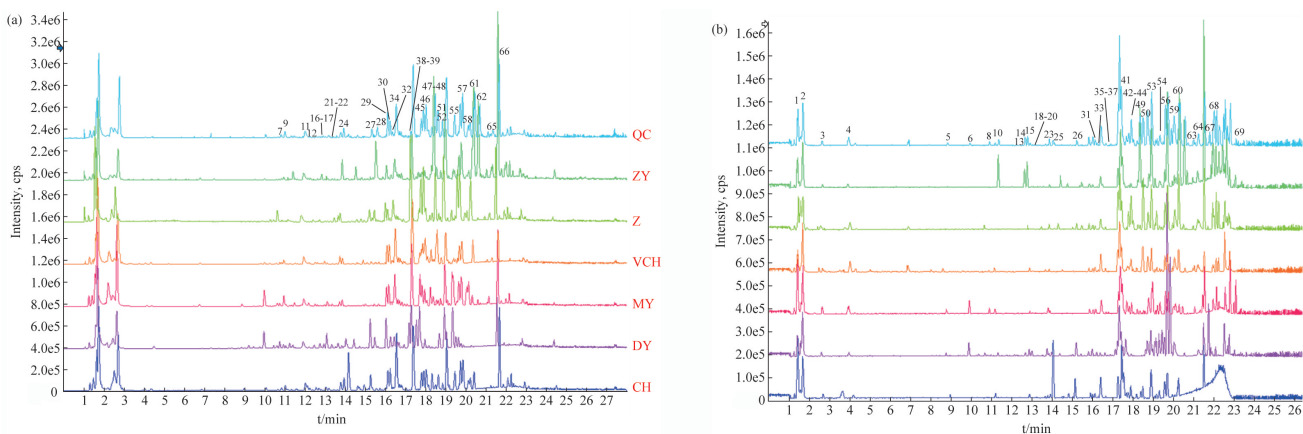
27 min, 95% A); 体积流量 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温 $35 \text{ }^\circ\text{C}$; 进样量 $2 \mu\text{L}$ 。

质谱条件: 电喷雾离子源 ESI, 正负离子扫描模式, 扫描范围 m/z 100~1 250; 雾化气 55 psi, 辅助加热气 55 psi, 气帘气 35 psi, 离子源温度为 $550 \text{ }^\circ\text{C}$; 正、负离子模式喷雾电压: 正离子模式为 5 500 V, 负离子模式为 -4 500 V; 去簇电压: 正离子为 60 V, 负离子为 -60 V; 碰撞能: 正离子为 35 V, 负离子为 -35 V。采用 SCIEX OS 软件进行色谱峰提取和识别等数据处理。

2.4.4 柴胡化学成分表征 基于 UPLC-Q-TOF/MS 的中药复杂成分结构解析和鉴定策略, 根据不同结构类型成分的裂解规律和碎片离子对 QC 中的主要成分进行鉴定, 样品叠加基峰图 (Base peak chro-

matogram, BPC) 见图 6。共鉴别出 69 个化学成分, 主要包括三萜皂苷类 39 个、黄酮类 6 个、色酮类 6 个、苯丙素类 4 个、炔类 3 个、氨基酸类 2 个、有机酸类 2 个、酚酸类 1 个、木脂素类 1 个、香豆素类 1 个、蒽醌类 1 个、萜类化合物 1 个、糖类 1 个以及核苷类 1 个。其中, 60 个成分归属于北柴胡、醋北柴胡, 59 个成分归属于竹叶柴胡, 62 个成分归属于锥叶柴胡, 57 个成分归属于藏柴胡, 63 个成分归属于大叶柴胡, 成分表征结果见表 3。

2.4.5 柴胡成分差异研究 将以上 69 种化合物在北柴胡、醋北柴胡、竹叶柴胡、锥叶柴胡、藏柴胡、大叶柴胡中的质谱响应进行提取, 并绘制热图。同时对化合物和样品均进行了聚类分析, 结果见图 7。



注: a. 负离子 BPC; b. 正离子 BPC; CH. 北柴胡; DY. 大叶柴胡; MY. 竹叶柴胡; Z. 藏柴胡; ZY. 锥叶柴胡; VCH. 醋炙北柴胡; QC. 质控样品

图 6 柴胡叠加图谱

Fig. 6 Superimposed chromatogram of *Bupleurum*

从样品聚类结果看, 不同种类的柴胡可以很好地被各自聚类, 说明种间的差异较为明显。按与北柴胡的亲疏远近, 由亲到疏依次为竹叶柴胡、藏柴胡、锥叶柴胡、大叶柴胡。竹叶柴胡与北柴胡化学成分组成较为类似, 没有明显的差异标志物, 仅在部分成分响应上略有不同, 如精氨酸、柠檬酸、丙二酰基-柴胡皂苷 A、丙二酰基-乙酰基-柴胡皂苷 A、丙二酰基-乙酰基-柴胡皂苷 D。藏柴胡中乙酰化的柴胡皂苷有更高的响应, 如乙酰基-柴胡皂苷 A/D、二乙酰基-柴胡皂苷 A/D 等, 并且 2'', 3'', 6'' 易被乙酰基取代 (图 8A)。锥叶柴胡中含有特征的柴胡次皂苷, 如柴胡次皂苷 F、柴胡次皂苷 G 等, 可能含有特征的升麻素或其类似物, 如升麻精、升麻素苷等; 部分柴胡皂苷有更高的响应 (图 8B)。大叶柴胡中有特征的圆叶柴胡苷类化学成分, 如 Rotundifolio-

side A、Rotundifolioside H 等, 另外, 含有特征的炔烃类化合物, 如柴胡毒素、乙酰柴胡毒素、水芹炔醇等 (图 8C)。

根据特征图谱, 柴胡醋炙后柴胡次生皂苷 B1、B2 响应增加, 结合 LC-MS 分析发现柴胡皂苷 I、槲皮素和异鼠李素也在醋制后明显升高; 而柴胡皂苷 D、丙二酰基-柴胡皂苷 A、丙二酰基-乙酰基-柴胡皂苷 D、3''-O-乙酰基柴胡皂苷 D 和 2''-O-乙酰基柴胡皂苷 D 在醋制后响应降低。据报道, 柴胡原生皂苷 13, 28-环氧醚键在酸性条件或加热时容易开环断裂, 生成具有异环双烯结构的次生皂苷^[23]。醋处理过程可能会促进黄酮苷水解为相应的苷元, 此外, 也可能通过分子间氢键促进黄酮类化合物的提取^[24]。

表 3 柴胡化学成分表征
Table 3 Characterization of chemical constituents of *Bupleurum*

NO.	t_R /min	离子模式	理论值	计算值	分子式	化合物	结构类型	来源					
								CH	VCH	MY	ZY	Z	DY
1	1.25	[M+H] ⁺	175.119 0	175.119 0	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	精氨酸(Arginine)	氨基酸类	+	+	+	+	+	+
2	1.68	[M+NH ₄] ⁺	360.150 0	360.150 1	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	蔗糖(Sucrose)	糖类	+	+	+	+	+	+
3	2.63	[M+NH ₄] ⁺	210.060 8	210.060 6	C ₆ H ₈ O ₇	柠檬酸(Citric acid)	有机酸	+	+	+	+	+	+
4	3.98	[M+H] ⁺	268.104 0	268.103 8	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	腺苷(Adenosine)	核苷	+	+	+	+	+	+
5	8.85	[M+H] ⁺	205.097 2	205.096 6	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	L-色氨酸(L-tryptophan)	氨基酸类	+	+	+	+	+	+
6	10.04	[M+H] ⁺	355.102 4	355.102 8	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	绿原酸(Chlorogenic acid)*	苯丙素类	+	+	+	+	+	+
7	10.81	[M+HCOO] ⁻	569.187 6	569.185 9	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₂	女贞苷(Ligustroside)	酚类	-	-	-	-	-	+
8	10.81	[M+H] ⁺	223.023 7	223.023 7	C ₁₀ H ₆ O ₆	色原酮酸(Saikochromic acid)	色酮	+	+	+	+	+	+
9	10.99	[M+HCOO] ⁻	509.224 0	509.222 3	C ₂₁ H ₃₆ O ₁₁	Eucalyptol-glc-xyl	萜类	+	+	+	+	+	+
10	11.47	[M+H] ⁺	469.170 4	469.170 1	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₁	升麻素苷 (Prim-O-glucosylcimifugin)	色酮	-	-	-	+	-	-
11	12.07	[M-H] ⁻	609.146 1	609.144 8	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	芦丁(Rutin)*	黄酮类	+	+	+	+	+	+
12	12.25	[M+HCOO] ⁻	1151.549 1	1151.545 2	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₄	柴胡皂苷 V(Saikosaponin V)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
13	12.55	[M+H] ⁺	945.505 4	945.505 9	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₉	未知物(Unknown)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
14	12.67	[M+H] ⁺	307.117 6	307.117 4	C ₁₆ H ₁₈ O ₆	升麻精(Cimifugin)	色酮	-	-	-	+	-	-
15	12.72	[M+H] ⁺	453.175 5	453.175 2	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₀	5-O-甲基维斯阿米醇苷 (5-O-Methylvisammioside)	色酮	-	-	-	+	-	-
16	12.74	[M-H] ⁻	623.161 8	623.159 8	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	异鼠李素-3-O-芸香糖苷 (Isorhamnetin-3-O-rutinoside)	黄酮类	+	+	+	+	+	+
17	12.83	[M-H] ⁻	515.119 5	515.118 0	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸 B(Isochlorogenic acid B)*	苯丙素类	+	+	+	+	+	+
18	12.84	[M+H] ⁺	385.112 9	385.112 7	C ₁₇ H ₂₀ O ₁₀	Saikochromoside A	色酮	+	+	+	+	+	+
19	13.12	[M+H] ⁺	517.134 1	517.134 4	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸 A(Isochlorogenic acid A)*	苯丙素类	+	+	+	+	+	+
20	13.24	[M+H] ⁺	223.060 1	223.060 1	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	柴胡色原酮 A(Saikochromone A)	色酮	+	+	+	+	+	+
21	13.26	[M-H] ⁻	447.093 3	447.092 2	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	槲皮苷(Quercitrin)*	黄酮类	+	+	+	-	-	-
22	13.43	[M-H] ⁻	515.119 5	515.118 0	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸 C(Isochlorogenic acid C)*	苯丙素类	+	+	+	+	+	+
23	13.63	[M+H] ⁺	973.500 3	973.501 0	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₀	未知物(Unknown)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
24	13.77	[M+HCOO] ⁻	855.438 4	855.434 9	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₅	未知物(Unknown)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
25	14.16	[M+H] ⁺	447.092 2	447.091 9	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	黄芩苷(Baicalin)	黄酮类	+	+	-	-	+	-
26	15.26	[M+H] ⁺	943.526 1	943.525 2	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	Rotundioside N	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
27	15.34	[M-H] ⁻	301.035 4	301.034 9	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	槲皮素(Quercetin)*	黄酮类	+	+	+	+	+	+
28	15.61	[M-H] ⁻	313.035 4	313.034 5	C ₁₆ H ₁₀ O ₇	山扁豆酸(Endocrocin)	萜醌类	+	+	+	+	-	+
29	16.12	[M+HCOO] ⁻	971.522 1	971.518 5	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	柴胡皂苷 C(Saikosaponin C)*	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
30	16.19	[M+HCOO] ⁻	825.464 2	825.461 0	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	未知物(Unknown)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
31	16.24	[M+NH ₄] ⁺	946.573 4	946.572 5	C ₄₈ H ₈₀ O ₁₇	柴胡皂苷 F(Saikosaponin F)*	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
32	16.33	[M-H] ⁻	1011.517 0	1011.512 2	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₀	丙二酰基柴胡皂苷 C (Malonyl-saikosaponin C)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
33	16.35	[M+H] ⁺	927.531 2	927.531 3	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	柴胡皂苷 I(Saikosaponin I)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
34	16.55	[M-H] ⁻	315.051 0	315.050 2	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	异鼠李素(Isorhamnetin)	黄酮类	+	+	+	+	+	+
35	16.74	[M+H] ⁺	943.526 1	943.525 5	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	Rotundioside W	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
36	16.81	[M+NH ₄] ⁺	830.526 0	830.526 3	C ₄₃ H ₇₂ O ₁₄	柴胡皂苷 B3/B4(Saikosaponin B3/B4)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
37	16.94	[M+H] ⁺	943.526 1	943.525 5	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	柴胡皂苷 S(Saikosaponin S)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
38	17.18	[M+HCOO] ⁻	809.469 3	809.465 2	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₂	柴胡皂苷 E 异构体 (Saikosaponin E isomer)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
39	17.28	[M+HCOO] ⁻	825.464 2	825.460 4	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	柴胡皂苷 A/B2 (Saikosaponin A/B2)*	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+

(续表)

NO.	t_R /min	离子模式	理论值	计算值	分子式	化合物	结构类型	来源					
								CH	VCH	MY	ZY	Z	DY
40	17.35	[M+H] ⁺	207.065 2	207.065 3	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	滨蒿内酯(Scoparone)	香豆素类	+	+	+	+	-	+
41	17.77	[M+H] ⁺	867.473 7	867.473 2	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆	丙二酰基柴胡皂苷 A (Malonyl-saikosaponin A)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
42	17.78	[M+HCOO] ⁻	957.506 5	957.506 6	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇	Rotundifolioside A	三萜皂苷类	-	-	-	-	-	+
43	17.82	[M+H] ⁺	781.473 3	781.473 6	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	柴胡皂苷 B1(Saikosaponin B1)*	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
44	17.82	[M+NH ₄] ⁺	944.557 7	944.557 9	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	柴胡皂苷 H(Saikosaponin H)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
45	17.83	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.471 2	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	3''-O-乙酰基柴胡皂苷 A (3''-O-Acetyl saikosaponin A)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
46	17.96	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.471 2	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	2''-O-乙酰基柴胡皂苷 A (2''-O-Acetyl saikosaponin A)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
47	18.24	[M+HCOO] ⁻	809.469 3	809.466 0	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₂	柴胡皂苷 E(Saikosaponin E)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
48	18.34	[M+HCOO] ⁻	987.517 0	987.511 9	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	柴胡皂苷 N(Saikosaponin N)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
49	18.48	[M+H] ⁺	619.420 4	619.420 8	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	柴胡次皂苷 F(Prosapogenin F)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
50	18.48	[M+H] ⁺	909.484 2	909.484 6	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₇	丙二酰基乙酰基柴胡皂苷 A (Malonyl-acetyl-saikosaponin A)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
51	18.55	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.471 0	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	6''-O-乙酰基柴胡皂苷 A (6''-O-Acetyl saikosaponin A)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
52	18.68	[M+HCOO] ⁻	825.464 2	825.461 2	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	柴胡皂苷 D(Saikosaponin D)*	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
53	19.01	[M+H] ⁺	259.169 3	259.169 2	C ₁₇ H ₂₂ O ₂	柴胡毒素(Bupleurotoxin)	炔类	-	-	-	-	-	+
54	19.44	[M+HCOO] ⁻	957.506 5	911.497 9	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇	Rotundifolioside H	三萜皂苷类	-	-	-	-	-	+
55	19.65	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.471 2	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	3''-O-乙酰基柴胡皂苷 D (3''-O-Acetyl saikosaponin D)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
56	19.67	[M+H] ⁺	369.133 3	369.133 5	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	Kaerophyllin	木脂素类	+	+	+	+	+	+
57	19.78	[M+HCOO] ⁻	867.474 8	867.471 2	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	2''-O-乙酰基柴胡皂苷 D (2''-O-acetyl Saikosaponin D)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
58	20.11	[M+HCOO] ⁻	809.469 3	809.467 4	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₂	柴胡皂苷 M 或异构体 (Saikosaponin M or isomer)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
59	20.18	[M+NH ₄] ⁺	926.510 8	926.511 4	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₇	丙二酰基乙酰基柴胡皂苷 D (Malonyl-acetyl-saikosaponin D)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
60	20.32	[M+NH ₄] ⁺	840.510 4	840.510 7	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	6''-O-乙酰基柴胡皂苷 D (6''-O-acetyl saikosaponin D)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
61	20.45	[M+HCOO] ⁻	663.411 4	663.408 6	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	柴胡次皂苷 G(Prosapogenin G)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
62	20.76	[M-H] ⁻	615.390 2	615.389 8	C ₃₆ H ₅₆ O ₈	氢化柴胡次皂苷 G (Hydro-Prosapogenin G)	三萜皂苷类	-	-	-	+	-	-
63	21.11	[M+H] ⁺	865.494 4	865.494 2	C ₄₆ H ₇₂ O ₁₅	二乙酰柴胡皂苷 A (Diacetyl-Saikosaponin A)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
64	21.33	[M+H] ⁺	765.478 4	765.478 6	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₂	柴胡皂苷 M 或异构体 (Saikosaponin M or isomer)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
65	21.35	[M+HCOO] ⁻	909.485 3	909.481 3	C ₄₆ H ₇₂ O ₁₅	二乙酰柴胡皂苷 D (Diacetyl - Saikosaponin D)	三萜皂苷类	+	+	+	+	+	+
66	21.66	[M-H] ⁻	295.227 9	295.227 3	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	13(S)-羟基-9Z,11E-十八二烯酸 [13(S)-HODE]	有机酸	+	+	+	+	+	+
67	21.74	[M+H] ⁺	301.179 8	301.179 6	C ₁₉ H ₂₄ O ₃	乙酰柴胡毒素(Acetyl bupleurotoxin)	炔类	-	-	-	-	-	+
68	22.03	[M+H] ⁺	455.352 0	455.351 9	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	齐墩果酮酸(Oleanonic acid)	三萜类	+	+	+	+	+	+
69	23.34	[M+H] ⁺	243.174 3	243.174 3	C ₁₇ H ₂₂ O	水芹炔醇(Oenantheol)	炔类	+	+	+	+	+	+

注: * 表示经对照品验证; + 表示成分检出; - 表示成分未检出。

3 讨论

本研究收集了 48 批不同基原,不同产地的北柴胡及其混淆品样品,同时对 28 批北柴胡进行了醋炙炮制。通过研究发现,不同产地北柴胡所含化学成分及整体质量一致性较高,醋炙工艺稳定,不同批次间相似度较好,且醋炙后柴胡皂苷 B₁、B₂ 响应增加。基于特征图谱对收集的柴胡属混淆品进行鉴别,发现竹叶柴胡在成分群组成上与北柴胡较为相似,藏柴胡皂苷含量明显高于北柴胡,锥叶柴胡和大叶柴胡具有各自的特征峰,这也与薄层色谱结果相互印证。

柴胡化学成分复杂,明确柴胡属混淆品及临床常用醋炙品发挥药效的物质基础是必要的。本研究通过 UPLC-Q-TOF/MS 技术对不同柴胡品种成分进行了表征,结合文献共鉴定 69 个化学成分,大部分是三萜皂苷类,其次是黄酮类,少数色酮、苯丙素类和炔类成分。进一步聚类分析发现柴胡种间差异较为明显,按与北柴胡的亲疏远近,由亲到疏依次为竹叶柴胡、藏柴胡、锥叶柴胡、大叶柴胡,并结合热图找出了差异性标志物。同药典正品北柴胡相比较,藏柴胡中含有响应较高的乙酰化柴胡皂苷,锥叶柴胡中含有特征的柴胡次皂苷、升麻素或其类似物,大叶柴胡中有代表性的圆叶柴胡苷类成分和炔烃类化合物,竹叶柴胡与北柴胡化学成分构成较为相似。

有研究采用 PCA 模式分别识别了 4 种柴胡之间化学成分的差异程度,发现竹叶柴胡与北柴胡样本聚为一类,二者之间无明显差异,这也是其一直在市场上流行并被当作正品使用的原因之一^[25]。此外,北柴胡炮制后显著性上升或下降的成分可能与其“疏肝解郁”功效增强有关^[26-27]。本研究基于特征图谱和 UPLC-Q-TOF/MS 技术对不同柴胡品种进行鉴别并找出代表性差异标志物,为全面合理开发利用柴胡药材资源提供依据,其药理活性与成分构成的关系有待进一步研究。

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.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia: Volume I [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.

[2] 侯会平, 赵士博, 于康平, 等. 北柴胡不同产地、不同采收期和不同炮制品中 6 种柴胡皂苷的含量测定[J]. 药学报, 2018, 53(11): 1887-1893.
HOU H P, ZHAO S B, YU K P, et al. Determination of six saikosaponins in *Bupleurum chinense* DC. samples collected from different producing areas at different harvest time with different processing methods[J]. Acta Pharm Sin, 2018, 53(11): 1887-1893.

[3] 欧小龙, 黄涛阳. 柴胡属植物化学成分研究进展[J]. 中药材,

2021, 44(3): 749-755.
OU X L, HUANG T Y. Research progress on chemical constituents of *Bupleurum* plants[J]. J Chin Med Mater, 2021, 44(3): 749-755.

[4] SUN P, LI Y J, WEI S, et al. Pharmacological effects and chemical constituents of *Bupleurum* [J]. Mini Rev Med Chem, 2019, 19(1): 34-55.

[5] 姚玉乔, 高映, 彭财英, 等. 竹叶柴胡化学成分及药理活性的研究进展[J]. 安徽医药, 2019, 23(10): 1913-1916.
YAO Y Q, GAO Y, PENG C Y, et al. Progress in studies on chemical constituents and pharmacological effects of *Bupleurum marginatum* [J]. Anhui Med Pharm J, 2019, 23(10): 1913-1916.

[6] 马媛媛, 高映, 黄梦婷, 等. 竹叶柴胡的化学成分研究[J]. 中药材, 2021, 44(4): 877-881.
MA Y Y, GAO Y, HUANG M T, et al. Chemical constituents of *Bupleurum marginatum* herb [J]. J Chin Med Mater, 2021, 44(4): 877-881.

[7] 魏晓萌. 锥叶柴胡化学成分及质量控制方法研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
WEI X M. Study on chemical constituents and quality control methods of *Bupleurum chinense* DC [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2018.

[8] 马黎娟, 冯玛莉, 全立国, 等. 藏柴胡药材化学成分及其药理作用研究综述[J]. 中国医药科学, 2023, 13(10): 54-57, 88.
MA L J, FENG M L, TONG L G, et al. Review on chemical constituents and pharmacological efficacies of *B. marginatum* var. *Stenophyllum* herb [J]. China Med Pharm, 2023, 13(10): 54-57, 88.

[9] 于俊林, 赵莎, 任明波, 等. 基于 ITS2 条形码鉴定柴胡与大叶柴胡[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(12): 2160-2163.
YU J L, ZHAO S, REN M B, et al. Identification of *Bupleurum chinense* and *B. longiradiatum* based on ITS2 barcode [J]. China J Chin Mater Med, 2014, 39(12): 2160-2163.

[10] 王惠, 刘霞. 柴胡属药用植物的鉴别研究[J]. 中国药事, 2019, 33(5): 503-512.
WANG H, LIU X. On identification of medicinal plants of *Bupleurum* [J]. Chin Pharm Aff, 2019, 33(5): 503-512.

[11] 丁锤, 徐莹, 马孝熙, 等. 柴胡属 5 种易混药材的鉴别研究[J]. 中药材, 2016, 39(9): 1975-1981.
DING C, XU Y, MA X X, et al. Identification on five kinds of easily confused *Bupleurum* medicinal materials [J]. J Chin Med Mater, 2016, 39(9): 1975-1981.

[12] 张军, 戴衍朋, 王世丽, 等. 北柴胡及常见伪品藏柴胡、锥叶柴胡鉴别研究[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(4): 23-25, 266-268.
ZHANG J, DAI Y P, WANG S L, et al. Study on identification between Beichaihu (*Bupleurum chinense*) and common forgeries Zangchaihu (*Bupleurum tibetica*) and zhuiye Chaihu (*Bupleurum bicaule*) [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(4): 23-25, 266-268.

[13] 赖晶, 倪琳, 蔺瑞丽, 等. 基于 ITS 序列 PCR-RFLP 鉴别北柴胡混伪品藏柴胡[J]. 现代中医药, 2023, 43(5): 105-112.
LAI J, NI L, LIN R L, et al. Identification of mixed and counterfeit Zang Chaihu from Bei Chaihu based on ITS sequence PCR-RFLP [J]. Mod Chin Med, 2023, 43(5): 105-112.

[14] 汪璐, 杨纯国, 韩文凯, 等. 基于实时景深扩展-大图影像拼接与偏振光显微鉴别技术的柴胡及其 4 种混淆品的生药学研究[J]. 中草药, 2023, 54(12): 3999-4011.
WANG L, YANG C G, HAN W K, et al. Identification of *Bupleurum Radix* and its four adulterants based on extended depth of field imaging, image stitching and polarized microscopy techniques [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(12): 3999-4011.

[15] 夏召弟, 刘霞, 冯玛莉, 等. 基于 ITS2 条形码鉴定藏柴胡及其易混品[J]. 中草药, 2020, 51(23): 6062-6069.
XIA Z D, LIU X, FENG M L, et al. Identification of *Bupleurum marginatum* var. Wall. ex DC *Stenophyllum* (Wolff) Shan et Li and its analogues based on ITS2 barcode [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(23): 6062-6069.

- [16] 吕振国, 武恬恬, 赵鹏, 等. 基于 UPLC 指纹图谱和化学计量学对华山参及其混伪品的鉴别研究[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(9): 2202-2206.
LYU Z G, WU T T, ZHAO P, et al. Identification of *Physoclainae Radix* and adulterants based on UPLC fingerprint and chemometrics[J]. *Drugs Clin*, 2023, 38(9): 2202-2206.
- [17] 何雨晴, 陈盛君, 周海琴, 等. 钩藤药材的特征图谱建立、化学模式识别分析及其与不同基原、混伪品的鉴别[J]. 中国药房, 2024, 35(5): 566-571.
HE Y Q, CHEN S J, ZHOU H Q, et al. Establishment of specific chromatogram, chemical pattern recognition analysis and identification with different origins and counterfeit products of *Uncariae Ramulus Cum Uncis* [J]. *China Pharm*, 2024, 35(5): 566-571.
- [18] 叶耀辉, 史毅, 张博文, 等. 不同产地北柴胡药材的 UPLC/Q-TOF-MS 指纹图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(18): 124-129.
YE Y H, SHI Y, ZHANG B W, et al. Fingerprint analysis of *Bupleurum chinense* roots from different origins by UPLC/Q-TOF-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2019, 25(18): 124-129.
- [19] 郭敏娜, 刘素香, 赵艳敏, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的柴胡化学成分分析[J]. 中草药, 2016, 47(12): 2044-2052.
GUO M N, LIU S X, ZHAO Y M, et al. Analysis on chemical constituents in *bupleuri Radix* by HPLC-Q-TOF-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2016, 47(12): 2044-2052.
- [20] 曲中原, 吴双, 郑岩, 等. 基于指纹图谱和网络药理学的南柴胡质量标志物预测分析[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2678-2686.
QU Z Y, WU S, ZHENG Y, et al. Predictive analysis of quality markers of *Bupleurum scorzonrifolium* based on fingerprint and network pharmacology [J]. *Acupunct Res*, 2021, 52(9): 2678-2686.
- [21] 仇慧鑫, 张淑敏, 舒乐新, 等. 柴胡的毒性辨析及影响因素研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(18): 6150-6158.
QIU H X, ZHANG S M, SHU L X, et al. Research progress on toxicity discrimination and influencing factors of *Bupleuri Radix* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(18): 6150-6158.
- [22] 张军, 苏本正, 戴衍朋, 等. 基于市售柴胡饮片质量考察的质量控制标准提升及真伪鉴别研究[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(10): 6172-6177.
ZHANG J, SU B Z, DAI Y P, et al. Study on improvement of quality control standard and true and false identification based on quality investigation of commercial *Bupleuri Radix* pieces [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2021, 36(10): 6172-6177.
- [23] 宋驰, 葛威, 邹佳莉, 等. 北柴胡及醋北柴胡标准汤剂质量差异性分析[J]. 中草药, 2022, 53(8): 2331-2340.
SONG C, GE W, ZOU J L, et al. Quality difference analysis of standard decoction of *Bupleurum chinense* and vinegar-processed *Bupleurum chinense* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(8): 2331-2340.
- [24] LI Z Y, SUN H M, XING J, et al. Chemical and biological comparison of raw and vinegar-baked *Radix Bupleuri* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 165: 20-28.
- [25] 杨印军, 郑伟, 郭佳琪, 等. 北柴胡、竹叶柴胡、藏柴胡与小叶黑柴胡化学成分比较研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(2): 332-337.
YANG Y J, ZHENG W, GUOJIA Q, et al. Comparative analysis on chemical constituents in *Bupleurum chinense*, *B. marginatum*, *B. marginatum* var. *Stenophyllum* and *B. smithii* var. *parvifolium* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2019, 44(2): 332-337.
- [26] QU Z Y, BING Y F, WU S, et al. Discovery and verification of antidepressant active ingredients of raw and vinegar-processed *Bupleurum marginatum* var. *Stenophyllum* based on plant metabolomics and serum pharmacology [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 246: 116239.
- [27] 王雪芹, 赵洋, 汪新体, 等. 醋炙柴胡的化学成分及药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2018, 41(1): 163-168.
WANG X Q, ZHAO Y, WANG X T, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological actions of vinegar-baked *Radix Bupleuri* [J]. *Drug Eval Res*, 2018, 41(1): 163-168.

(编辑:董宇)