

当归-川芎药对超临界提取物配伍红花抗心肌缺血的谱效关系研究

张 静¹, 杨义芳^{1*}, 吴春珍¹, 范思洋¹, 萧 伟², 王振中²

1. 中国医药工业研究总院上海医药工业研究院 创新药物与制剂工艺国家重点实验室, 上海 200040

2. 江苏省康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

摘要: **目的** 研究当归-川芎药对超临界提取物(AC-SFE)配伍红花不同提取物的 HPLC 指纹图谱及其抗心肌缺血作用的谱效关系。**方法** 采用结扎大鼠冠状动脉致急性心肌缺血的模型, 运用双变量相关分析(BCA)和多元回归分析(MRA), 将 AC-SFE 与红花各配伍组合的药效数据与指纹图谱共有峰的相对峰面积相关联, 并采用 LC-MS 指认色谱峰。**结果** 来自 AC-SFE 的 8 个色谱峰与大鼠心肌梗死面积比率及血清乳酸脱氢酶(LDH)呈负相关, 其中 4 个呈显著负相关; 来自红花中的 8 号峰(槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷)则与药效呈现显著正相关。强迫引入法回归分析显示有 4 个峰进入回归曲线方程。LC-MS 共指认出 16 个色谱峰, 其中 12 个是相关峰。**结论** AC-SFE 中的阿魏酸(峰 13)、洋川芎内酯 H(峰 15)、3-羟基丁基苯酞(峰 16)、洋川芎内酯 A(峰 18)、3-丁基苯酞(峰 19)、藁本内酯(峰 20)、二丁基苯酞(峰 21)、苯酞类化合物(峰 17)以及红花中的峰 1(4-methoxy-6-[3, 4, 5-trihydroxy-6-[[3, 4, 5-trihydroxy-6 (hydroxymethyl) tetrahydropyran-2-yl]oxymethyl]tetrahydropyran-2-yl]oxy-cyclohexane-1, 2, 3, 5-tetrol)和峰 2(3-[[6-O-(D-galactopyranosyl)-β-D-galactopyranosyl]oxy]-1, 2-propanediyl diacetate)可能是抗心肌缺血的药效物质; 而峰 8 可能不能缓解心肌缺血。

关键词: 当归-川芎; 红花; 配伍; 抗心肌缺血; 谱效关系

中图分类号: R282.710.5; R972 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)14-1944-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.14.015

Spectrum-activity relationship of *Angelicae Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma* supercritical fluid extraction with *Carthami Flos* against myocardial ischemia

ZHANG Jing¹, YANG Yi-fang¹, WU Chun-zhen¹, FAN Si-yang¹, XIAO Wei², WANG Zhen-zhong²

1. State Key Laboratory of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To study the spectrum-activity relationships between the anti-myocardial ischaemia activity and the HPLC fingerprints of the formula, consisting of *Angelicae Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma* supercritical fluid extraction (AC-SFE) and *Carthami Flos* (CF) solvent-extracted extracts. **Methods** The rat model of acute myocardial ischemia was established by applying left anterior descending coronary ligation, and bivariate correlation analysis (BCA) and multivariate regression analysis (MRA) were used to investigate the spectrum-activity relationship between fingerprints and anti-myocardial ischaemia activity. LC-MS was used for peak assignment. **Results** Eight peaks of AC-SFE were negatively correlated with the infarct size ratio (ISR) and the serum lactate dehydrogenase (LDH), and four of them were significantly correlated. Peak 8 (quercetin-3-O-β-D-galactose glycosides-4'-O-β-D-pyranoglucoside) from CF was positively correlated with the efficacy. Study by regression analysis showed four peaks were in regression equations. LC-MS showed 16 peaks, among which 12 were correlated peaks. **Conclusion** Ferulic acid (peak 13), senkyunolide H (peak 15), 3-hydroxy butylphthalide (peak 16), senkyunolide A (peak 18), 3-butylphthalide (peak 19), ligustilide (peak 20), dibutyl phthalide (peak 21), and phthalide (peak 17) of AC-SFE and peak 1 (4-methoxy-6-[3, 4, 5-trihydroxy-6-[[3, 4, 5-trihydroxy-6 (hydroxymethyl) tetrahydropyran-2-yl]oxymethyl]tetrahydropyran-2-yl]oxy-cyclohexane-1, 2, 3, 5-tetrol) and peak 2 (3-[[6-O-(D-Galactopyranosyl)-β-D-galactopyranosyl]oxy]-1, 2-propanediyl diacetate) of CF might be the material foundation for the anti-myocardial ischaemia activity. Peak 8 might not be able

收稿日期: 2013-03-26

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项“十一五”计划资助项目(20092x09301-007)

作者简介: 张 静(1985—), 女, 山东临沂人, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础。

Tel: (021)624798908-721 E-mail: xiaojingzi1020@163.com

*通信作者 杨义芳 Tel: (021)62473018 E-mail: yangyf4912@163.com

to relieve myocardial ischaemia.

Key words: *Angelicae Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma*; *Carthami Flos*; compatibility; anti-acute myocardial ischemia; spectrum-activity relationship

当归、川芎伍用又称佛手散，出自《普济本事方》，主要功效为补血活血。现代中医将此方归为活血化瘀、止血、止痛类药对，在临床上广泛用于心脑血管疾病及妇女调经等^[1-2]。本实验室对当归-川芎药对超临界提取物抗心肌缺血的药效物质基础研究，发现3个提取部位（总苯酞、总有机酸和总生物碱）是此药对抗心肌缺血的有效部位，且总提取物的药效优于其他各部位^[3]。红花有活血通经、散瘀止痛、降血压和调血脂的功效，用于治疗痛经、跌打损伤、冠心病、心绞痛和高血压等疾病^[4]。在活血化瘀经典方中，当归、川芎和红花常常一起配伍使用，且红花用于复方均采用水煎入药。故本实验分别用水煎煮和95%乙醇回流制得红花提取物，将其与当归-川芎药对超临界提取物（AC-SFE）配伍，建立配伍前后的HPLC指纹图谱；采用大鼠冠状动脉结扎模型考察各配伍组合的抗心肌缺血作用，将指纹图谱获得的色谱峰信息（给药前）与药效数据相关，得到相关的色谱峰，LC-MS对峰进行指认，以确定相关的药效物质。以期AC-SFE的新复方配伍研究提供实验依据。

1 材料

1.1 药材与试剂

当归为伞形科植物 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根，购自甘肃省岷县玉良药材有限公司，批号 20110815；川芎为伞形科植物 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎，购自四川省天奇药业有限公司，批号 20110822；红花为菊科植物 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花，购自新疆生产建设兵团农六师红旗中心团场，批号 20110815。以上药材均经过本实验室范思洋博士的鉴定。普萘洛尔，江苏省金坛市江南化工厂，批号 20021013；乳酸脱氢酶试剂盒，日本世诺临床诊断制品株式会社；氯化硝基四氮唑蓝（NBT）染色剂，国药集团化学试剂有限公司；对照品羟基红花黄色素 A，购自中国药品生物制品检定所，批号 111637-200502，质量分数 >99%；对照品阿魏酸^[5]、藜本内酯^[6]、洋川芎内酯 A^[7]、洋川芎内酯 H^[8]为本实验室制备，通过¹H-NMR，¹³C-NMR 和质谱实验数据与文献数据比对确定结构，HPLC法定量，确认质量分数依次为

99.23%、94.36%、97.85%、96.48%。甲醇、乙腈（色谱纯），磷酸、甲酸、乙酸（分析纯），中国医药集团；水为重蒸水。

1.2 仪器

Agilent 1260 Infinity 液相色谱仪（包括 Agilent 1260 四元泵、DAD 检测器、Agilent 1260 自动进样器、Agilent Chemstation 软件）；Inova—400 型核磁共振仪，Varian 公司；Q-TOF micro YA019 型四极杆飞行时间质谱仪、Synapt G2-S HDMS，Waters 公司；7080 自动生化分析仪，日本日立科学系统公司。

1.3 动物

SD 大鼠，雄性，体质量 180~220 g，由上海斯莱克动物科技公司提供，许可证号：SCXK（沪）20070005。

2 方法与结果

2.1 提取物制备

按《中国药典》2010 年版当归、川芎和红花 3 味药材常用量以及心舒口服液^[9]中三者用药比例，选定 3 味药材的用量均为 9 g。AC-SFE：当归和川芎粉末以 1:1 混合，采用超临界 CO₂ 梯度萃取^[10]。红花水提取物（HHS）：红花药材依次加 10、8、6 倍的水，分别煎提 3 次，回收溶剂，冷冻干燥得粉末。红花 95%乙醇提取物（HHC）：向红花药材依次加 10、8、6 倍的 95%乙醇，分别加热回流提取 3 次，回收溶剂，冷冻干燥得粉末。

2.2 供试品溶液制备

精密称取 AC-SFE 4.1 mg（相当于生药 74.41 mg）、HHS 14.1 mg（相当于生药 37.77 mg）、HHC 14.6 mg（相当于生药 37.77 mg），分别加甲醇溶解至 10 mL，AC-SFE+HHS 样品溶液为二者以 1:1 混合溶液，AC-SFE+HHC 溶液亦为二者 1:1 混合溶液。AC-SFE、HHS、HHC 溶液分别用甲醇稀释 1 倍。各样品用 0.45 μm 微孔及滤膜滤过，即得。

2.3 对照品溶液制备

精密称取羟基红花黄色素 A、阿魏酸、洋川芎内酯 A、洋川芎内酯 H、藜本内酯对照品适量，加甲醇制成质量浓度分别为 135.0、12.0、10.0、12.0、63.6 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 LC-MS 分析

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 BEH C₁₈ 柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相 A 相为 0.1% 甲酸水溶液, B 相为 0.1% 甲酸-乙腈溶液, 梯度洗脱 (0~1 min, 5%~10% B; 7~10 min, 30%~90% B, 10~12 min, 90% B); 体积流量 0.65 mL/min; 进样量 2 μL。

2.4.2 质谱条件 ESI 模式, 正离子电压 3 kV, 锥孔电压 60 V, 源温 120 °C, 脱溶剂气温度 500 °C, 脱溶剂气体积流量 800 L/h; 负离子电压 2.5 kV, 锥孔电压 40 V, 源温 120 °C, 脱溶剂气温度 500 °C, 脱溶剂气体积流量 800 L/h。

2.5 HPLC 分析

色谱柱为 XBridge C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 为 0.1% 甲酸-乙腈溶液, 梯度洗脱 (0~7.35 min, 5%~10%B; 7.35~51.47 min, 10%~30%B; 51.47~73.55 min, 30%~90%B; 73.55~88.23 min, 90%B); 体积流量 0.65 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 286 nm; 进样量 15 μL。

2.6 方法学考察

选用 AC-SFE+HHC+HHS (1:1:1) 作为样

品溶液。

2.6.1 精密度试验 取 AC-SFE+HHS+HHC 供试品溶液 75 μL, 连续进样 5 次, 按“2.5”项下色谱条件测定, 测得各色谱峰的相对保留时间 RSD 为 0~0.03%, 相对峰面积 RSD 为 1.04%~2.78%, 表明仪器的精密度良好。

2.6.2 重复性试验 取 AC-SFE+HHS+HHC 供试品, 精密称定, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液 6 份, 在“2.5”项下色谱条件分别进样, 测得各色谱峰的相对保留时间 RSD 为 0~0.19%, 相对峰面积 RSD 为 1.20%~2.61%, 表明方法重复性良好。

2.6.3 稳定性试验 取供试品溶液, 在“2.5”项下色谱条件, 分别在 0、1.3、2.5、3.8、5.1、7.7、10.2、12.8、26.9 h 进样, 测得各色谱峰的相对保留时间 RSD 为 0~0.41%, 相对峰面积 RSD 为 1.16%~2.81%, 表明供试品溶液在 26.9 h 内稳定。

2.6.4 指纹图谱建立 分别吸取“2.2”项下供试品溶液和“2.3”项下对照品溶液各 15 μL, 注入 HPLC 仪, 色谱图见图 1。根据各供试品的出峰情况, 确定 21 个共有峰。通过与混合对照品图谱比对, 确定了 5 个峰所代表的化合物。

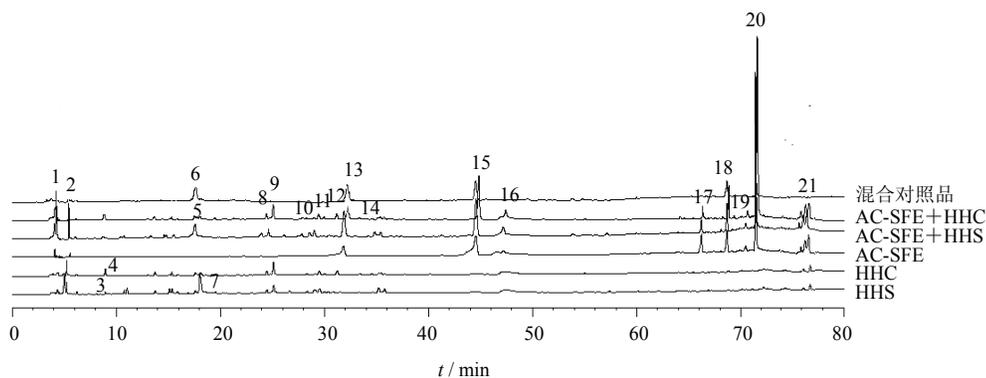


图 1 AC-SFE 及其与红花不同提取物各配伍组合的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint for AC-SFE and different combinations with CF

2.7 样品化合物信息

AC-SFE+HHS+HHC 样品的 UPLC 色谱图和 TIC 图如图 2 所示, 经分析 LC-MS 碎片信息, 峰的紫外吸收情况并与文献数据比对, 得到的样品的化合物信息。结果见表 1。

根据 Waters Masslynx 4.1 软件给出的峰分子式信息以及 MS² 的碎片信息, 推测来自 HHS 的峰 1 可能为 (4-methoxy-6-[3, 4, 5-trihydroxy-6-[[3, 4, 5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) tetrahydropyran-2-yl]

oxymethyl]tetrahydropyran-2-yl] oxy-cyclohexane-1, 2, 3, 5-tetrol), 峰 2 可能为 3-[[6-O-(D-galactopyranosyl)-β-D-galactopyranosyl]oxy}-1, 2-propanediyl diacetate。这 2 个化合物可能的结构和碎片解析见图 3。对这 2 个峰代表的化合物仍需进一步研究与核实。

2.8 各配伍组合抗心肌缺血实验

采用结扎冠状动脉方法[18]制备急性心肌缺血大鼠模型。将大鼠随机分为 8 组 (每组 10 只), 即模型组、普萘洛尔 (1 mg/kg) 阳性药对照组、AC-SFE

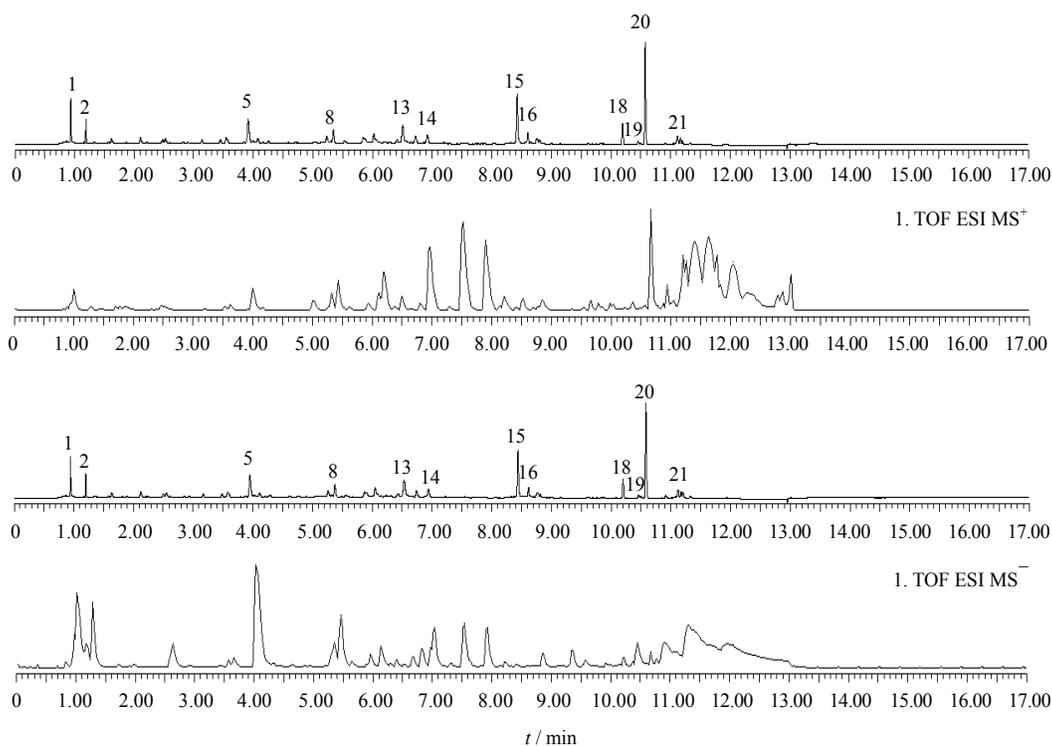


图2 AC-SFE+HHS+HHC 的 UPLC 色谱图、TIC (ESI+/-模式) 图
Fig.2 UPLC and TIC (ESI +/- models) chromatograms of AC-SFE + HHS + HHC

表1 AC-SFE+HHS+HHC 样品的化合物信息

Table 1 Compounds in AC-SFE + HHS + HHC

峰号	t / min	分子离子峰 (m/z)	主要 MS 碎片 (m/z)	推测化合物	参考文献
*	4.01	451.124 5 (+)	415.102 8, 397.091 9, 301.071 4	红花苷	11
*	6.11	303.050 4 (+)	169.013 6, 155.049 6, 121.029 0	槲皮素	12
*	7.00	287.055 8 (+)	185.060 1, 153.018 8, 137.023 7	山柰酚	12
*	7.64	265.097 4 (+)	247.086 8, 219.092 0, 206.084 2, 167.060 9	川芎嗪	13
1	0.94	517.178 2 (-)	499.167 3, 385.139 5, 253.100 8, 161.054 0	(4-methoxy-6-[3, 4, 5-trihydroxy-6-[[3, 4, 5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) tetrahydropyran-2-yl] oxymethyl] tetrahydropyran-2-yl] oxy-cyclohexane-1, 2, 3, 5-tetrol)	—
2	1.21	499.171 6 (-)	191.065 4, 173.054 6	3-[[6-O-(D-galactopyranosyl)-β-D-galactopyranosyl]oxy]-1, 2-propanediyl diacetate	—
5	3.95	611.161 2 (-)	491.121 6, 473.111 5, 403.108 5, 325.078 5	羟基红花黄色素 A	—
8	5.35	627.156 1 (+)	463.234 8, 462.459 5, 449.105 2, 419.191 6	槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	—
13	6.54	193.050 1 (-)	177.921 6, 133.907 8	阿魏酸	—
14	6.94	593.150 6 (-)	433.091 5, 313.057 3, 301.059 9, 181.902 2	红花黄色素 A	14
15	8.44	225.112 7 (+)	207.101 1, 189.090 7, 179.105 6	洋川芎内酯 H	—
16	8.61	207.101 7 (+)	189.091 1, 171.078 8, 161.096 9, 153.976 1	3-羟基丁基苯酚	15
18	10.20	193.122 9 (+)	175.111 1, 147.116 1	洋川芎内酯 A	—
19	10.49	191.107 2 (+)	213.365 2, 173.096 8, 145.101 9	3-丁基苯酚	16
20	10.58	191.107 3 (+)	173.096 4, 163.112 0, 155.085 6	藜本内酯	—
21	11.12	279.159 6 (+)	235.087 6, 201.037 4, 179.058 7	二丁基苯酚	17

*-非共有峰

*- represents non-common peaks

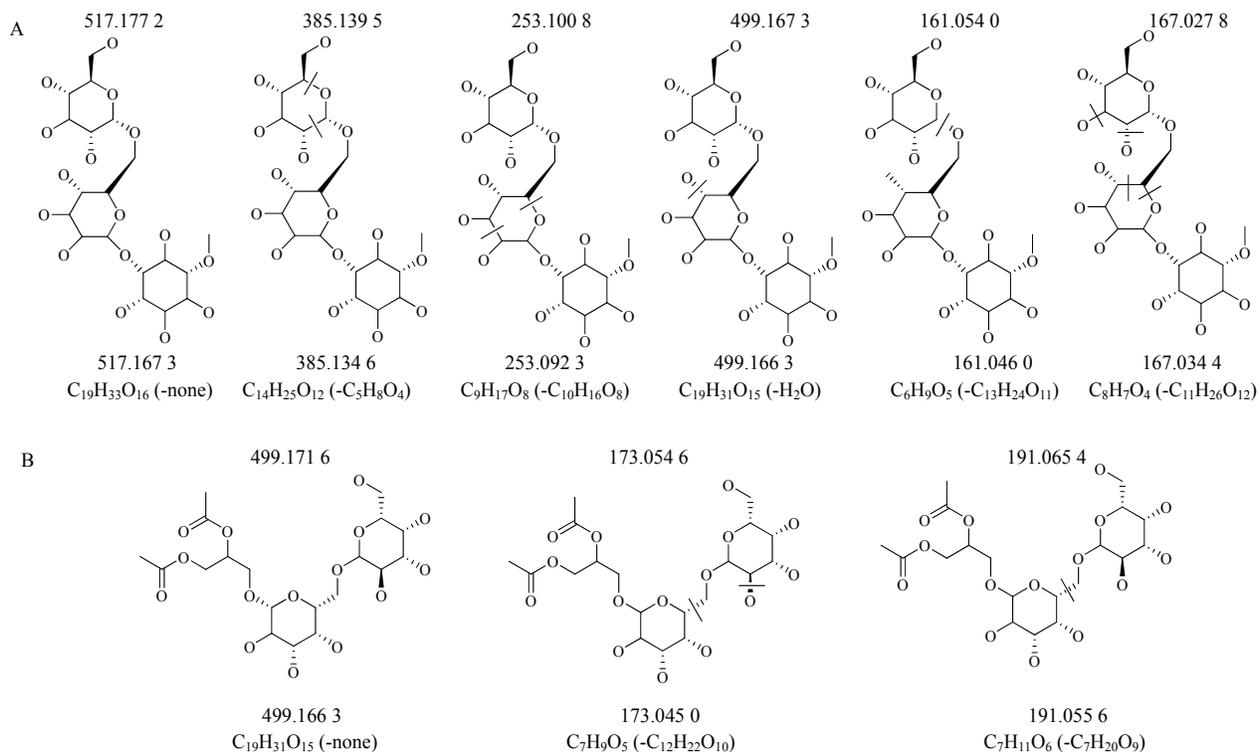


图 3 峰 1 (A) 和峰 2 (B) 结构和碎片解析图

Fig. 3 Structures and fragments of peaks 1 (A) and 2 (B)

(165 mg/kg) 组、HHS (580 mg/kg) 组、AC-SFE+HHS (165 mg/kg+580 mg/kg) 组、HHC (560 mg/kg) 组、AC-SFE+HHC (165 mg/kg+560 mg/kg) 组和假手术组。各给药组大鼠每天 ig 给药 1 次，连续给药 7 d，假手术组大鼠 ig 水。给药 7 d 后，大鼠行结扎冠状动脉左前降支手术，术后 4 h 采血，并取心脏，计算心肌梗死率 (心肌梗死率=梗死心肌质量/全心质量)，测定血清中乳酸脱氢酶 (LDH) 水

平。结果显示，AC-SFE、AC-SFE 配伍 HHC 组均明显降低大鼠心肌梗死率 ($P < 0.05$) 和降低血清 LDH 水平 ($P < 0.05$)。结果见表 2。

2.9 谱效关系分析

2.9.1 双变量相关分析 将“2.6.4”项所获得的各样品 21 个共有峰的相对峰面积数据和“2.8”项中药理数据输入 SPSS17.0 软件，进行双变量相关分析，结果见表 3。可见有 8 个共有峰与药效数据呈

表 2 AC-SFE 及其与红花不同提取物各配伍组合对急性缺血大鼠心肌梗死率和血清 LDH 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of AC-SFE and different combinations with CF on ISR and serum LDH level in rats with acute myocardial ischemia ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	心肌梗死率 / %	LDH / (U·L ⁻¹)
假手术	—	0	1 302 ± 429.7
模型	—	34.69 ± 5.81 ^{▲▲}	2 046 ± 530.8 [▲]
AC-SFE	165	26.96 ± 7.38 [*]	1 390 ± 498.5 [*]
HHS	580	30.53 ± 8.27	2 253 ± 533.6
AC-SFE+HHS	165+580	36.27 ± 7.53	1 666 ± 552.0
HHC	560	36.59 ± 5.76	2 094 ± 479.8
AC-SFE+HHC	165+560	27.33 ± 11.13 [*]	1 497 ± 294.2 [*]
普萘洛尔	1	25.15 ± 9.20 [*]	1 340 ± 499.4 [*]

与假手术组比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$
[▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

表3 共有峰相对峰面积与药理数据的双变量相关分析

Table 3 Relative peak areas of common peak and BCA analysis on pharmacological data

峰号	与心肌梗死率		与LDH水平	
	相关系数	P值	相关系数	P值
13	-0.267	0.664	-0.786	0.099
15	-0.548	0.338	-0.986	0.003
16	-0.086	0.891	-0.655	0.204
17	-0.576	0.310	-0.854	0.078
18	-0.841	0.074	-0.862	0.074
19	-0.522	0.367	-0.984	0.003
20	-0.545	0.343	-0.987	0.002
21	-0.536	0.352	-0.982	0.004

现负相关,其中4个峰呈显著的负相关,且AC-SFE均有这4个峰出现,表明当归-川芎药对中相应色谱峰代表的化学成分能降低大鼠心肌梗死率和血清LDH水平,且这些成分是协同作用的,这与表2的结果相一致。

在呈现正相关的共有峰中,峰8与LDH值的相关系数为0.9,是显著正相关,故此峰代表的化学成分槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷可能不利于改善大鼠心肌缺血症状。HHS和HHC以相同生药量给药,HPLC检测发现峰8在这二者中的峰面积比约为3:1。

2.9.2 多元回归分析 利用SPSS17.0软件中多元线性回归分析中的强迫引入法(保留P<0.05的各因素),计算各色谱峰相对峰面积与心肌梗死面积比率及血清LDH水平的标准化回归系数(表4)。

可见峰1、2、16、21对冠脉结扎大鼠心肌梗死率和血清LDH值影响较大(P<0.05)。峰1、2出自HHS,峰16、21出自AC-SFE。

逐步回归分析得到LDH值与色谱峰相对峰面积的回归曲线方程为Y=0.9X+1430.979,与双变量相关的结果一致。

表4 强迫引入多元回归分析结果

Table 4 Regression analysis by MRA

峰号	标准化回归系数	
	与梗死面积比率的回归	与LDH值的回归
1	0.747	0.154
2	0.802	0.205
16	-0.087	-0.161
21	-0.062	-0.773

3 讨论

本实验双变量相关分析的结果与药效实验结果基本一致,来自于AC-SFE的8个峰,即峰13(阿魏酸)、15(洋川芎内酯H)、16(3-羟基丁基苯酞)、17(苯酞类)、18(洋川芎内酯A)、19(3-丁基苯酞)、20(藁本内酯)、21(二丁基苯酞)都与药理活性呈现负相关,其中峰15、19、20、21呈显著相关,推测相应峰代表的化合物能抑制冠状动脉结扎引起的心肌缺血,苯酞类化合物对抗心肌缺血作用有较大贡献,这与前期研究结果相符^[3]。阿魏酸也具有抗心肌缺血的药理作用^[19-21]。本实验强迫引入回归分析法分析结果表明,来自HHS的峰1、2和来自AC-SFE的峰16、21进入回归方程,即对大鼠心肌梗死率和血清LDH水平有显著影响。分析还发现,峰8与大鼠心肌梗死率和血清LDH水平呈显著正相关,是与其他8个成分相拮抗的成分。由此可以认为,双变量分析及多元回归分析是研究多变量相关性的有效手段,通过将色谱峰所代表的化学成分信息与药效结果信息相关联,能够发现中药复方的药效物质基础。

本研究发现,红花提取物对冠状动脉结扎所致心肌缺血无明显药效,即使与药效显著的AC-SFE配伍也并没起到增效作用,且通过谱效相关分析发现红花提取物的8号峰与其他成分的抗心肌缺血作用相拮抗,而有文献报道红花制剂、红花黄色素具有缓解心肌缺血、治疗冠心病的作用^[22-24]。经分析可能与下列原因有关:(1)现有研究中红花制剂均为注射给药,而本实验采用ig给药,一些成分未被吸收入血;(2)中药复方中成分复杂,成分间的配伍比例及相互作用均可能影响药效;(3)红花黄色素虽可减慢结扎冠脉大鼠的心率,减少梗死,但与剂量相关^[22];(4)峰8的正向抵抗作用,HHS中峰8的峰面积比值是HHC中的3倍,可能是AC-SFE+HHS没有药效,而AC-SFE+HHC有药效的主要原因;(5)AC-SFE与HHS配伍,可能使红花中的一些成分难以发挥药效,且本实验采用ig给药,不同于“复方当归注射液”的注射给药方式。

综上所述,借助谱效相关的研究手段,可以发现复方配伍的机制和药效物质基础,为复方配伍提供依据。但本实验中仅以紫外吸收强度变化推断物质质量的变化,有可能得到假阳性结论,今后还需借助其他检测手段来提高结论的准确度,而由数学模型得到的药效物质仍需进一步的药效验证。

参考文献

- [1] 徐国龙. 药对与临床 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2002.
- [2] 姜春华. 活血化瘀新编 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 2000.
- [3] 冯敬骞. “当归-川芎”药对超临界提取物抗心肌缺血的药效物质基础研究 [D]. 上海: 上海医药工业研究院, 2009.
- [4] 郑虎占, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用 [M]. 第3卷. 北京: 学苑出版社, 1998.
- [5] 赵飞, 胡艳月, 陈益萍. 川芎中阿魏酸的提取分离 [J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(1): 7-10.
- [6] 许玫, 杨义芳. 超临界提取与色谱技术联用制备藜本内酯及相关研究 [J]. 中成药, 2005, 29(11): 1671-1672.
- [7] Dong Z B, Li S P, Hong M, *et al.* Hypothesis of potential active components in *Angelica sinensis* by using biomembrane extraction and high performance liquid chromatography [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 38(4): 664-669.
- [8] Zschocke S, Klaiber I, Bauer R, *et al.* HPLC-coupled spectroscopic techniques (UV, MS, NMR) for the structure elucidation of phthalides in *Ligusticum chuangxiang* [J]. *Mol Diver*, 2005, 9(1/3): 33-39.
- [9] 夏东亚, 郭涛, 潘文灏, 等. HPLC法测定心舒口服液中阿魏酸血浆浓度及其在大鼠体内的药动学研究 [J]. 中草药, 2004, 35(1): 36-38.
- [10] 杨义芳, 许玫. 超临界二氧化碳梯度提取当归和川芎混合物中的总有效部位的方法: 中国, CN101380344 [P]. 2009-03-11.
- [11] 刘玉明, 杨峻山, 刘庆华. 红花的化学成分研究 [J]. 中药材, 2005, 28(4): 289.
- [12] Jin Y, Xiao Y Y S, Zhang F F, *et al.* Systematic screening and characterization of flavonoid glycosides in *Carthamus tinctorius* L. by liquid chromatography/UV diode-array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 46(3): 418-430.
- [13] 唐刚华, 姜国辉, 郑连芳. 稳定同位素法研究川芎嗪药代动力学 [J]. 中国药学杂志, 2001, 36(1): 45-47.
- [14] Jin Y, Zhang X L, Shi H, *et al.* Characterization of C-glycosyl quinochalcones in *Carthamus tinctorius* L. by ultraperformance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(8): 1275-1287.
- [15] 杨帆. 当归标准组分的制备及其物质基础研究 [D]. 大连: 中国科学院大连化学物理研究所, 2006.
- [16] 杨佰娟, 陈军辉, 殷月芬, 等. 川芎 HPLC-APCI-MS 特征图谱方法研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 19(B5): 12-17.
- [17] McNulty J J, Nair J, Cheedoori S, *et al.* Scope and mechanistic insights into the use of tetradecyl (trihexyl) phosphonium bistriflimide: a remarkably selective ionic liquid solvent for substitution reactions [J]. *Chemistry*, 2006, 12(36): 9314-9322.
- [18] 杨宇杰, 程晓亮, 吕英超. 双氢丹酚酸 B 对大鼠急性心肌缺血的质量作用 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 447-449.
- [19] 张明发. 阿魏酸抗动脉粥样硬化研究进展 [J]. 中草药, 1990, 21(1): 41-43.
- [20] 张明发, 沈雅琴. 咖啡酸和阿魏酸的抗缺氧作用 [J]. 西北药学杂志, 1994, 9(3): 118-120.
- [21] 赵润英, 郝伟, 孟祥军, 等. 阿魏酸川芎嗪对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及分子机制研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 230-234.
- [22] 叶丽华, 吴相得, 贾连旺. 超声心动图监测评价红花注射液对冠心病患者左室舒张功能的影响 [J]. 中医学报, 2010, 38(1): 59-62.
- [23] 王大, 傅风华, 韩冰, 等. 羟基红花黄色素 A 对实验性心肌梗死大鼠的保护作用及机制 [J]. 中草药, 2007, 38(12): 1853-1856.
- [24] 陈铎葆, 刘建国, 管云凤, 等. 红花黄素 III 对犬缺血心肌的影响 [J]. 中国药理学通报, 2000, 16(5): 590-591.