

防己黄芪汤及其组方化学成分与分析方法研究进展

陈 萌, 李爱平, 李 科, 秦雪梅*

山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

摘 要: 防己黄芪汤是由防己、黄芪、白术、甘草、生姜、大枣 6 味药材组成。通过回顾近年来的相关文献, 对防己黄芪汤及其组方中单味药材的化学成分、质量控制和体内代谢研究方法进行综述, 以期对防己黄芪汤及相关组方的药效物质基础研究提供参考。

关键词: 防己黄芪汤; 组方药味; 药效物质基础; 质量控制; 体内代谢

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)07-1695-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.07.031

Research progress on chemical composition and analysis methods of Fangji Huangqi Decoction and herbal medicines

CHEN Meng, LI Ai-ping, LI Ke, QIN Xue-mei

Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Fangji Huangqi Decoction (FHD) is a traditional Chinese medicine formula composed of *Stephaniae Tetrandrae Radix*, *Astragali membranaceus Radix*, *Atractylodis Macrocephale Rhizoma*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle*, *Rhizoma Zingiberis Recens*, and *Jujubae Fructus*. In this paper, the chemical constituents, the methods of quality control, and metabolism *in vivo* of FHD and its component medicines are reviewed so as to provide reference for study of material foundation of FHD and its component medicines.

Key words: Fangji Huangqi Decoction; herbal medicines; therapeutic material basis; quality control; metabolism

防己黄芪汤出自张仲景的《金匮要略》, 为固表益气、祛风利湿的经典良方。全方由防己、黄芪、白术、甘草按 4:5:3:2 比例组成, 临床上常加入生姜和大枣。其中防己和黄芪共为君药, 防己祛风行水, 黄芪益气固表, 兼可行水, 臣以白术健脾补气祛湿, 既助防己祛湿行水, 又增黄芪益气固表之功。甘草调和诸药, 故为佐使之用。防己黄芪汤具有益气祛风、健脾利水之功, 主治汗出恶风、小便不利、身重、苔白、舌淡、脉浮等症状。国内外学者对防己黄芪汤的药理作用进行了大量的研究, 药理研究表明该方具有治疗慢性肾小球肾炎、肾病综合征、肾水肿和心脏水肿等功效, 目前对该方的化学研究表明其主要含有生物碱类、皂苷类、黄酮类和内酯类等化学成分^[1]。由于有关该复方的化学成

分研究较少, 本文就防己黄芪汤及组方单味药化学成分、质量控制及其体内代谢研究方法进行综述, 为防己黄芪汤及相关复方的物质基础研究提供一定的参考。

1 防己黄芪汤主要化学成分与质量控制研究

1.1 化学成分

目前检索到对该方全方的化学成分的研究文献仅有 1 篇。Wang 等^[2]采用超高效液相色谱联合飞行时间串联质谱 (UPLC-Q-TOF/MS) 对防己黄芪汤进行分析, 鉴定出 58 个化合物, 主要包括生物碱、黄酮、皂苷和萜内酯类化合物。其中生物碱类化合物有粉防己碱 F (fenfangjine F)、粉防己碱 G (fenfangjine G)、轮环藤酚碱 (cyclanoline)、延胡索碱 (corydaline)、南天竹啡碱 (nantenine) 等,

收稿日期: 2017-12-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目: 多效中药黄芪的定向药效化学成分研究 (3157010673)

作者简介: 陈 萌 (1991—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药质量控制。Tel: 15735175874 E-mail: 1034397076@qq.com

*通信作者 秦雪梅, 女, 博士, 博士生导师, 研究方向为中药质量控制与活性成分研究、中医药代谢组学研究。

Tel: (0351)7018379 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

黄酮类化合物有毛蕊异黄酮 (calycosin)、5,7-二羟基双氢黄酮 (pinocembrin)、甘草酮 (licoricone)、甘草查耳酮 B (licochalcone B) 等, 皂苷类化合物有黄芪皂苷 I~IV (astragaloside I~IV)、异黄芪苷 I (isoastragaloside I) 等, 萜类化合物有白术内酯 I (atractylenolide I)、白术内酯 II (atractylenolide II)、白术内酯 III (atractylenolide III) 等。

1.2 质量控制方法

关于防己黄芪汤质量控制研究的文献报道主要包括活性成分的含量测定、药材指纹图谱的研究和薄层色谱法。刘书芬等^[3]通过 HPLC 同时测定防己黄芪汤中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、粉防己碱、防己诺林碱、甘草苷和甘草酸 5 个指标性成分的含量, 该方法同时测定了复方中 2 个君药和甘草中的多种成分, 可用于该复方的质量控制。Wang 等^[4]采用 UHPLC-QqQ-MS 对防己黄芪汤中 10 种生物活性成分粉防己碱 (fenfangjine)、防己诺林碱 (fangchinoline)、白术内酯 I、白术内酯 III、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (calycosin-7-glucoside)、甘草苷 (liquiritin)、甘草素 (liquiritigenin)、甘草酸 (glycyrrhizic acid)、异甘草苷 (isoliquiritin)、异甘草素 (isoliquiritigenin) 进行含量测定。本课题组^[5]通过对流动相系统、紫外检测波长和蒸发光漂移管温度进行考察, 建立了防己黄芪汤 HPLC-UV/ELSD 指纹图谱分析方法, 并通过对照品指认出复方中 9 个成分, 分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷 (ononin)、芒柄花素 (formononetin)、甘草苷、甘草素、黄芪甲苷、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 I, 该方法可较全面地表征该方的化学信息, 为防己黄芪汤的质量控制提供一定的依据。张珂等^[6]采用正交试验设计法及酸性染料比色法, 确定了超声提取脂溶性生物碱的最佳提取工艺, 建立防己黄芪汤醇溶性生物碱的含量测定方法, 该法简便、准确, 可用于防己黄芪汤醇溶性生物碱的质量控制。

另有文献报道对防己黄芪颗粒的质量控制研究。防己诺林碱和粉防己碱是防己黄芪汤的主要活性成分, 刘幸平等^[7]采用反相高效液相色谱法测定防己黄芪颗粒剂中防己诺林碱、粉防己碱的含量, 该法可作为防己黄芪颗粒剂质量标准的定量分析方法。吴松涛等^[8]采用正交试验法对防己黄芪颗粒的制备工艺进行优选, 采用薄层色谱法 (TLC) 对制剂中主要药物黄芪、防己等进行定性鉴别并采用 HPLC-ELSD 对防己黄芪颗粒中的黄芪甲苷进行含量测定。

2 组方各单味药的化学成分与质量控制研究

2.1 防己

2.1.1 主要化学成分 防己为防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 的干燥根。粉防己中主要活性成分是生物碱, 包括苜蓿基异喹啉类生物碱、双苜蓿基异喹啉类生物碱、原小檗碱类生物碱、阿朴啡类生物碱、菲类生物碱几大类。现代研究表明, 粉防己中鉴定的生物碱类成分主要有防己诺林碱、汉防己甲素 (tetrandrine)、氧化防己碱 (oxofangchirine)、轮环藤酚碱、粉防己碱 G、cyclanoline chloride、氧化南天竹啡碱 (oxoantenine)、无根藤新碱 (cassythicine)、防己醌碱 (stephadione)、无根藤米里丁 (cassameridine)、紫堇醌碱 (corydione)、南天竹啡碱、tazopsine、荷包牡丹碱 [(+)-dicentrine]、异紫堇定碱 (isocorydine)、去氢克班宁 (dehydrocrebanin)、克班宁 (crebanine) 和氧代克班宁 (oxocrebanine)、防己菲碱 (stephanthrine)、粉防己碱 F、argentinine 等, 除此之外, 粉防己中还含有黄酮类和甾体类成分^[9]。

2.1.2 质量控制 《中国药典》2015 年版在防己药材的质量控制方面, 记载了对粉防己碱、防己诺林碱的含量测定方法。目前关于防己药材质量控制的文献报道主要包括活性成分的含量测定和药材指纹图谱的研究。刘永刚等^[10]通过 HPLC 法对防己药材中粉防己碱和防己诺林碱的含量测定方法进行了系统研究, 为完善防己的质量标准提供了参考。Wang 等^[11]采用 UHPLC-MS/MS 技术测定大鼠 ig 给予防己黄芪汤后血浆中的粉防己碱和防己诺林碱 2 种成分的含量及其药动力学参数, 该结果可为阐明防己黄芪汤的药效物质基础提供一定的依据。

目前对于防己药材的指纹图谱研究的报道相对较少, 而且缺乏对指纹图谱的定性研究, 只能粗略地比较不同产地间防己药材的质量。崔金国等^[12]测定了 14 批不同产地不同生长时期的防己药材, 建立了防己药材的 HPLC 指纹图谱, 该方法能够有效地控制药材的内在质量。黄丽萍等^[13]采用毛细管区带电泳法建立色谱图, 通过计算机辅助评价系统对色谱信息进行比较, 得出地域分布是影响粉防己品质最大的因素这一结论。

2.2 黄芪

2.2.1 主要化学成分 黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var.

mongholicus (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根, 是我国最古老的补中益气药之一, 其化学成分主要包括多糖类、黄酮类、皂苷类成分。至今分离得到黄酮类化合物近 40 种, 其中主要有黄酮、异黄酮、异黄烷和紫檀烷 4 大类, 主要包括芒柄花苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮和芒柄花素等^[14]。张亚洲等^[15]从蒙古黄芪根 70%乙醇提取物中分离得到 14 个异黄酮类化合物, 5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基异黄酮、6"-O-乙酰基芒柄花苷、6"-O-乙酰基-(6aR,11aR)-3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷、5,7-二羟基-4'-甲氧基异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷为首次从蒙古黄芪中分离得到的化合物, 6"-O-乙酰基-(3R)-7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷-7-O-β-D-葡萄糖苷为新化合物。

皂苷类化合物为黄芪中主要活性成分之一, 目前已分离出 40 多种三萜皂苷类化合物, 主要包括乙酰基黄芪皂苷、黄芪皂苷、异黄芪皂苷、大豆皂苷 4 大类^[16]。主要有黄芪皂苷 I、II、IV、V、VI、VII, 异黄芪皂苷 I、II、III (isoastragaloside I、II、III) 及大豆皂苷 I 等^[17]。郑善松等^[18]利用柱色谱技术分离纯化蒙古黄芪的乙醇提取物, 黄芪皂苷 VII、大豆皂苷 I、大黄素 (Emodin) 及熊果酸 (ursolic acid) 为首次从蒙古黄芪中分离得到的化合物。

黄芪的多糖类成分主要是葡聚糖和杂多糖。方圣鼎等^[19]分离得到黄芪多糖 I、II、III 3 种多糖成分, 其中黄芪多糖 I 是由 D-葡萄糖、D-半乳糖和 L-阿拉伯糖组成的杂多糖, 黄芪多糖 II 和 III 是一种 D-葡萄糖。

另外据报道, 黄芪中还含有单糖、蛋白质、氨基酸、叶酸、尼克酸、核黄素、维生素 D、亚麻酸、亚油酸、微量元素等成分^[20]。

2.2.2 质量控制 《中国药典》2015 年版在黄芪药材的质量控制方面, 收载了对黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量测定方法。目前关于黄芪药材质量控制的文献报道主要包括通过 TLC 鉴别其成分、基于核磁代谢组学技术评价不同来源的黄芪品质、对其主要活性成分进行含量测定以及黄芪药材的指纹图谱研究等。

彭衡阳等^[21]建立了用于鉴别黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的薄层色谱法。Li 等^[22]基于 NMR 代谢组学技术对不同来源的黄芪进行质量评价。焦美丽等^[23]基于分子标记结合代谢组学比较红芪和黄芪

的差异, 结果显示二者的初级代谢物较相似, 次级代谢物差异较大。冯祖飞等^[24]利用大孔树脂对黄芪样品进行除杂和富集, 通过 HPLC-DAD 双波长检测法同时测定黄芪中毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、芒柄花素 7-O-β-D-葡萄糖苷和黄芪甲苷的含量, 并对国内黄芪主要产区的样品进行测定, 为其质量控制研究提供了参考依据。史静超等^[25]、王艳等^[26]分别对不同批次、不同产地的黄芪药材中皂苷类成分进行含量测定, 结果均表明地域性对黄芪皂苷的含量影响较大。杜国军等^[27]通过简化药典中黄芪甲苷含量测定前处理方法, 缩短样品制备时间, 建立了一种快速、准确的黄芪药材中黄芪甲苷含量测定方法。

指纹图谱是另一种用于中药材品质鉴定与质量控制的方法, 目前对黄芪指纹图谱的研究主要包括对黄酮类和皂苷类成分的质量控制以及鉴定不同品种的黄芪及其代用品。贾晓斌等^[28]以人参皂苷 Re 为内标, 选择 UV 末端吸收 203 nm 为检测波长, 通过 HPLC 对黄芪中皂苷类成分进行指纹图谱研究, 结果表明该方法可用于黄芪药材中皂苷类成分的质量控制。石玉娟等^[29]对山西省不同产地的黄芪药材建立 HPLC 指纹图谱, 评定各类黄芪中所含化学物质的含量, 根据指纹图谱总结出了各个产地黄芪药材的质量区别。陈燕燕等^[30]通过核磁共振指纹谱技术考察了黄芪及其 4 种炮制品化学成分的差异, 结果不同的炮制方法不仅影响黄芪中黄酮类成分的含量, 同时也较大地影响氨基酸类和糖类成分的浸出率。张曦等^[31]通过建立 DNA 指纹图谱, 根据琼脂糖凝胶上显示的 DNA 带型差异鉴别红芪和黄芪, 此方法可以准确、快速地鉴定黄芪及其代用品。

黄芪中有效成分主要为多糖类、皂苷类和黄酮类, 多糖类成分虽为有效成分, 但因其无专属性, 目前尚未建立质量控制方法; 文献报道的多是针对于黄酮类和皂苷类成分的多指标质控方法, 但其含量测定成分都是基于药典中规定成分和文献报道的有效成分, 并非基于入血成分或其药效成分而对其进行质量控制。

2.3 白术

2.3.1 主要化学成分 白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎, 为我国传统中药之一, 始载于《神农本草经》。其化学成分主要包括挥发性、苷类、多糖类等成分。白术中挥发性成分较多, 其主要是萜类成分, 以倍半萜类

成分为主,目前已从白术中鉴定出 100 多种倍半萜类成分,其基本骨架有桉叶烷型、蛇床烷型、榄香烷型、吉马烷型等。此外,还有正十三烷等脂肪族化合物、咖啡酸等有机酸类化合物、苯酚等芳香族化合物。内酯类成分主要有苍术酮(atractylone)、3 β -乙酰氧基苍术酮(3 β -acetoxyatractylon)、脱水苍术内酯(anhydroatractylolide)、8 β -methoxyasterolid、atractylenolide VI、atractylenolide VII、异苍术内酯 A(isoasterolide A)、白术内酯 I(atractylenolide I)、白术内酯 II(atractylenolide II)、双白术内酯(biatractylenolide)、白术内酯 III(atractylenolide III)、白术内酰胺(atractylenolactam)、白术内酯 IV(atractylenolide IV)、atractylenolide V、8 β -ethoxyasterolid 等^[32]。

苷类成分主要是倍半萜糖苷和黄酮苷,Kitajima 等^[33]从白术中分离得到 9 个苷类化合物,分别为苍术苷 A(atractyloside A)、苍术苷 B(atractyloside B)、10-表苍术苷 A(10-*epi*-atractyloside A)、淫羊藿次苷 D1(icarisid D1)、淫羊藿次苷 F2(icarisid F2)、紫丁香苷(syringin)、二氢紫丁香苷(dihydrosyrindine)、(2*E*)-癸烯-4,6-二炔-1,8-二醇-8-*O*- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷和莨菪亭- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷;李伟等^[34]首次从浙江产白术中分离出尿苷(uridine)。

白术中的多糖主要是白术多糖 PSAM-1 和白术多糖 PSAM-2,其中白术多糖 PSAM-1 由半乳糖(Gal)、鼠李糖(Rha)、甘露糖(Man)、阿拉伯糖(Ara)组成;白术多糖 PSAM-2 由半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)、阿拉伯糖(Ara)组成^[35]。梁中焕等^[36]从白术中分离纯化出由半乳糖(Gal)、葡萄糖(Glc)、甘露糖(Man)、鼠李糖(Rha)组成的水溶性多糖 AMP。

另外,邹辉等^[37]从白术中分离得到 7- α -羟基- β -谷甾醇、1-乙酰氧基-6*E*,12*E*-二烯-8,10-二炔-3-醇、3-乙酰氧基-6*E*,12*E*-二烯-8,10-二炔-1-醇。

2.3.2 质量控制 《中国药典》2015 年版在白术药材的质量控制方面,仅规定了理化鉴别以及对水分、总灰分和浸出物的要求,尚未收载化学成分含量测定及其他质量控制方法。目前文献中报道的关于白术药材质量控制的方法主要基于 HPLC、UPLC-PDA、微乳液相色谱法、苯酚-硫酸法对其指标成分进行定量分析以及对药材指纹图谱研究。在含量测定方面主要是以苍术酮或白术内酯系列物作

为主要指标,用于评价不同产地和不同品种的白术质量。尹华等^[38]、闫晗等^[39]分别通过波长切换技术建立同时测定白术中白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III 和苍术酮含量的 HPLC 分析方法。赵玉娇等^[40]建立白术的薄层鉴别与其中 3 种内酯类成分含量同时测定的方法,利用硅胶 GF₂₅₄ 薄层板对白术进行定性鉴别,并通过 UPLC-PDA 梯度洗脱法同时测定白术内酯 I、II、III 的含量。毕雨洁等^[41]通过微乳液相色谱法同时测定白术中白术内酯 I、III 的含量,相比 HPLC 法而言,采用微乳为流动相可减少有机试剂的用量和排放,具有绿色、经济的优点。张晨光^[42]采用苯酚-硫酸法进行多糖含量的测定,结果表明不同地区的白术多糖含量有很大差距。

由于白术中主要是挥发性成分,在指纹图谱研究上,主要是基于 GC-MS 对其挥发性成分进行分析,从而对白术药材进行鉴别和质量评价。段启等^[43]通过 GC-MS 对不同产地白术的挥发性成分进行分析,建立了指纹图谱并标定了 18 个共有指纹峰,其含量占挥发性总成分的 90%以上,但以上 18 种成分是否能完全揭示白术挥发性成分的特征,还需要考虑栽培条件、采收加工、储藏等多种因素的影响,需进一步深入研究。周枝凤等^[44]通过 GC-MS 分别测定了平江、怀化和浙江产白术中挥发油的含量,并借助直观推导式演进特征投影(HELP)法解析数据,该法可较好地克服色谱峰重叠对定性、定量的影响,该指纹图谱可用于白术药材的鉴别和质量控制。另有文献通过 UFLC-Q-TOF/MS 和 HPLC 建立白术药材的指纹图谱。孙学等^[45]通过 HPLC-PDA 建立白术药材指纹图谱,标定了白术指纹图谱的 6 个共有峰,并通过高分辨 UFLC-Q-TOF/MS 对共有峰进行了指认,分别为白术内酯 III、白术内酯 I、白术内酯 II、5-羟甲基糠醛、白术内酯 VI 和双白术内酯,为全面控制白术质量提供了参考。

2.4 甘草

2.4.1 主要化学成分 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根和根茎,是我国的传统中药材,唐代《药性本草》中称其为“国老”,具有调和众药的功效,其化学成分主要是三萜皂苷类、黄酮类、香豆素类、生物碱类、多糖类等。三萜皂苷类成分有甘草酸、甘草次酸(glycyrrhetic acid)、甘草内酯(glabrolide)、异甘草内酯(isoglabrolide)等;黄酮类成分有甘草苷、甘草异

黄酮 (glycyrrhisoflavone)、甘草素、异甘草苷、光甘草定 (glabridin)、刺甘草查耳酮 (retrochalcone)、甘草异黄酮甲 (licoisoflavone A)、甘草异黄酮乙 (licoisoflavone B)、甘草利酮 (licoricone)、甘草查耳酮 B (licochalcone B)、黄羽扇豆怀特酮 (lupiwighteone)、5,7,4'-三羟基-6,8-二异戊烯基异黄酮 5-O-甘草苷元-4'-芹糖葡萄糖苷等; 香豆素类成分有甘草香豆素 (glycycoumarin)、甘草芳香豆素 (licoaryl coumarin)、7,2',4'-三羟基-5-甲氧基-3-芳香豆素等。此外, 还含有 5,6,7,8-四氢-4-甲基喹啉、3-甲基-6,7,8-三氢吡咯并 [1,2-a] 嘧啶-3-酮等生物碱类成分^[46]。多糖成分有葡聚糖 GPS^[47]、葡聚糖 GBW^[48]等。

2.4.2 质量控制 《中国药典》2015 年版在甘草药材的质量控制方面, 收载了对于甘草苷和甘草酸的含量测定方法。文献中报道的甘草质量控制主要采用多成分含量测定及指纹图谱分析方法。含量测定的成分选择主要是依据药典中规定的成分甘草苷和甘草酸。另外, 也有文献报道了对甘草中总黄酮和多糖的含量测定。

崔淑芬等^[49]采用 HPLC-DAD、梯度洗脱、检测波长变换法, 成功地实现了同时测定甘草酸和甘草苷的含量。陈云华等^[50]采用 HPLC 对甘草粉末的 67% 甲醇提取物进行分析, 考察了不同波长下的紫外吸收, 建立同时测定甘草中甘草酸、甘草苷和异甘草素含量的方法。李俊松等^[51]采用聚酰胺吸附法纯化甘草总黄酮, 甘草黄酮洗脱率在 90% 左右, 总固体中黄酮含量可达 45%, 该法富集、纯化甘草总黄酮可行, 方法稳定可靠。李薇等^[52]建立了甘草多糖含量定量方法, 对 3 个不同品种甘草多糖进行含量测定, 为评估甘草药材的质量提供方法。

指纹图谱可以较全面地反映药材的化学成分信息, HPLC 因其具有分离能力强、分析效率高等特点, 一直是指纹图谱研究的首选技术, 除此之外, 甘草的指纹图谱研究还基于 TLCS-FP、HPCE-DAD、Fourier 等技术。段天璇等^[53]通过 HPLC-DAD 建立甘草甲醇提取物的指纹图谱, 并通过 HPLC-MS 及结合文献对指纹图谱主要色谱峰进行鉴定, 推断出 17 个色谱峰的可能成分, 为甘草质量评价提供较全面的依据。孙国祥等^[54]采用反相 HPLC 法评价并建立其数字化指纹图谱控制甘草质量, 以甘草酸为参照物峰, 确定 52 个指纹峰, 获得了判别其质量的重要数字化信息, 并以双定性、双定量相似度法评价不同

产地甘草质量稳定性。崔淑芬等^[55]建立了甘草药材的薄层扫描指纹图谱 (TLCS-FP), 可对甘草药材进行科学评价及质量控制。周逸芝等^[56]建立甘草饮片 HPCE-DAD 指纹图谱分析方法, 并将其炮制品与甘草的指纹图谱进行比较, 发现少数甘草饮片的指纹图谱有一定差异, 炮制品与生品的指纹谱中共有峰相对峰面积差异显著。张丽娟等^[57]对 2 个甘草对照品和 8 批甘草药材采用粉末 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱鉴定法进行计算分析, 获得了甘草的标准 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱及特征标记峰值。

3 防己黄芪汤及各单味药的体内代谢研究

3.1 防己黄芪汤的体内代谢研究

Wang 等^[2]通过 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术检测到防己黄芪汤在大鼠血清中的移行成分有 33 个, 其中包括粉防己碱、新异甘草苷 (neoisoliquiritin)、异甘草苷、甘草酸、(3R)-8,2'-二羟基-7,4'-二甲氧基异黄烷 7 个原型成分和 25 个代谢产物, 代谢产物主要为粉防己碱和防己诺林碱的代谢物, 包括 20 个 I 相和 5 个 II 相代谢物。

3.2 防己的体内代谢研究

周茂金等^[58]采用 LC/MSⁿ 技术研究粉防己碱及 5-溴粉防己碱 (5-bromotetrandrine) 在大鼠体内的代谢物, 给大鼠分别 ig 粉防己碱及 5-溴粉防己碱后采集其尿液、粪便、胆汁和肝脏进行分析, 结果表明二者具有相似的代谢途径, 其代谢物的结构仍有待进一步分析。谷元等^[59]应用 UPLC-MS 技术对粉防己碱在大鼠尿中的代谢产物进行鉴定, 在大鼠尿中共检测到 14 个可能的代谢产物, 其中 7 个代谢产物属于首次发现, 主要的代谢途径包括 N-去甲基化、O-去甲基化、芳环碳羟基化、脂肪碳羟基化、N-氧化等。

3.3 黄芪的体内代谢研究

张宇等^[60]采用醇沉试验和斐林反应等化学鉴别法和高效凝胶渗透色谱法鉴定黄芪多糖在 SD 大鼠体内的代谢形式。结果表明在含药血清样品中可检测到黄芪多糖代谢物, 包括单糖或低聚糖, 该研究可为临床用药提供了一定的理论依据。Xu 等^[61]通过人克隆结肠癌 Caco-2 细胞单层模型实验, 改进的大鼠外翻肠囊实验和健康人类志愿者实验, 运用体内和体外结合的方式探究黄芪中可被机体吸收的成分, 其中 26 个黄芪化合物被认为口服后可被吸收, 其中异黄酮类、紫檀素类、异黄烷类可在肠道的吸收过程中被代谢, 其主要代谢产物为葡萄糖醛

酸。Zhang 等^[62]采用 HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MSⁿ 技术研究大鼠肝脏上清液培养体系中毛蕊异黄酮的代谢产物以及大鼠尿液中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的代谢产物,共鉴定了 24 种新的毛蕊异黄酮体外代谢物和 33 个新的毛蕊异黄酮葡萄糖苷的体内代谢产物。Li 等^[63]通过 HPLC-ESI-IT-TOF-MSⁿ 系统地表征黄芪总皂苷在大鼠粪便、尿液和血浆中的原型和代谢物,在尿液中检测到 6 个原型、血浆中 1 个原型,从粪便中检测到 123 个与黄芪总皂苷有关的化合物,其中 107 个为 I 相代谢物,97 个为新的代谢物,73 个为新的化合物。

3.4 甘草的体内代谢研究

Xiang 等^[64]采用 LC-MS 测定甘草在大鼠体内的代谢物,共发现 68 个代谢物,其中血浆中有 42 个,尿中检测到 62 个。Wang 等^[65]通过 HPLC/DAD/ESI-MSⁿ 和 LC/IT-TOF-MS 技术测定异甘草黄酮醇、甘草西定 (licoricidin)、异甘草香豆素等 7 种化合物的代谢物,在大鼠血浆、尿液和粪便中分别找到 16 个、43 个和 31 个代谢物。由于甘草通常作为佐使药配伍使用,因而其在其他组方中的体内代谢研究也有相关报道,如 Miao 等^[66]采用 UHPLC-DAD-qTOF-MS 技术来表征葛根芩连丸在大鼠血浆和尿液中的代谢物,全方共鉴定出 42 个化合物,包括 29 个原型成分和 13 个代谢物,其中甘草中的代谢物鉴定出 6 种。

防己黄芪汤的体内代谢研究中防己和甘草中入血成分较多,且文献中主要针对防己的代谢物开展相关研究。相对防己和甘草而言,黄芪和白术的入血成分相对较少,白术中多为挥发性成分,因而其水提液中白术中的有效成分相对较少,故难以检测到其入血成分;黄芪为方中君药,入血成分较少且文献中并未对其代谢物有相关研究,而在单味药中黄芪的体内研究相对比较充分,故复方的研究相对不够充分,仍需在体内代谢方面进一步探究其药效物质基础。

较复方的体内研究而言,单味药的研究相对较深入,防己的体内研究主要基于尿液、粪便、胆汁和肝脏的代谢物研究,而药物发挥药效的多是入血成分,防己的体内研究中缺少血中移行成分的研究。目前关于黄芪化学成分体内代谢研究的报道包括多糖、黄酮类和皂苷类成分,主要采取包括色谱技术、Caco-2 细胞单层模型实验、大鼠外翻肠囊实验等体内外相结合的方法针对血浆、尿液、粪便等进行研究,为表征单

味药黄芪及含黄芪的复方药效成分研究提供了基础。但针对黄芪在不同机体状态(正常和病理)的代谢差异鲜见报道,值得进一步探讨。白术因其挥发性成分较多,在水提液中有效成分含量相对较低,因而关于其体内代谢研究相对较少。甘草虽在复方中为佐使药,但其在单味药中研究相对较充分,可为相关复方的物质基础提供一定的科学依据。

4 结语

目前防己黄芪汤中各单味药化学成分研究相对比较充分,但在各单味药的质量控制方面仅仅是依据药典规定的指标成分进行含测质控,并非依据其药效成分开展相关研究。有关该复方的化学成分研究相对较少,仅在以下 2 个方面有报道:在含量测定方面,主要是针对药典中收录的化学指标成分及文献中报道的复方中生物活性成分进行研究,未筛选和聚焦其专属性或药效成分;在指纹图谱方面,已报道的指纹图谱表征出的白术成分较少,在此基础上仍需对白术及其他单味药中低极性成分或挥发性成分进行指纹图谱研究。

关于防己黄芪汤全方的体内代谢研究,其主要入血成分主要来源于防己和甘草,代谢物也仅仅局限于防己中的生物碱。单味药中黄芪和甘草进入体内的原型及代谢物报道已经相对比较充分。白术由于其挥发性成分较多,在复方中很少作为君药入药,因此对于其单味药的体内成分研究相对较少,而在相关复方中有一定的研究。较单味药的研究而言,复方的体内研究相对比较欠缺,仅仅对血清样本展开研究,并未采用多种技术,针对血清、尿液和粪便等生物样本进行全面表征,因此仍需大量实验对防己黄芪汤的体内原型及代谢物进行充分研究,以期对黄芪定向药效成分的研究提供依据。

复方化学成分的研究对辨识其发挥药效的物质基础以及探究其药效机制至关重要。而如何准确有效地表征防己黄芪汤中所含的化学成分以及探究出该成分发挥何种功效需要进行更深入的研究。目前本实验室已建立防己黄芪汤的指纹图谱,并对其进行单味药材归属,通过对照品以及 LC-MS/MS 技术辅助辨识其化学成分。后期需采用血清药物化学对复方进行深入研究,同时分析尿液中排泄的药物原型和代谢物,即通过体内代谢的方法进一步探寻防己黄芪汤中发挥药效的成分,并筛选药动行为好的药效成分或专属性成分进行定量分析,为复方的全面质控提供研究基础。

参考文献

- [1] 汪小莉, 刘 晓, 夏春燕, 等. 防己黄芪汤药理作用及各单味药化学成分研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3527-3524.
- [2] Wang X L, Liu X, Xu X Y, *et al.* Screening and identification of multiple constituents and their metabolites of Fangji Huangqi Tang in rats by ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry basing on coupling data processing techniques [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 985: 14-28.
- [3] 刘书芬, 梁倩倩, 陈 岩, 等. HPLC 法同时测定防己黄芪汤中 5 种成分 [J]. 中成药, 2014, 36(11): 2312-2315.
- [4] Wang X L, Liu X, Zhu T T, *et al.* Development and Validation of an UHPLC-QqQ-MS technique for simultaneous determination of ten bioactive components in Fangji Huangqi Tang [J]. *J Anal Method Chem*, 2016, 2016: 1-8.
- [5] 陈 萌, 李爱平, 李 科, 等. 防己黄芪汤 HPLC-UV/ELSD 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(13): 2653-2659.
- [6] 张 珂, 肖娅萍, 邵显会, 等. 防己黄芪汤中醇溶性生物碱的质量控制研究 [J]. 药物生物技术, 2012, 19(2): 134-137.
- [7] 刘幸平, 程康华, 毕肖林, 等. HPLC 法测定防己黄芪颗粒剂中防己诺林碱、粉防己碱的含量 [J]. 南京中医药大学学报: 自然科学版, 2001, 17(4): 230-231.
- [8] 吴松涛, 段雪云. 防己黄芪颗粒的制备工艺与质量控制 [J]. 湖北医药学院学报, 2016, 35(2): 138-141.
- [9] 刘嘉琪, 张雅男, 赵 婉, 等. 粉防己化学成分及药理学研究进展 [J]. 中医药学报, 2017, 45(3): 100-103.
- [10] 刘永刚, 刘 勇, 何瑞杰, 等. HPLC 测定防己中防己诺林碱和粉防己碱的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 49-51.
- [11] Wang X L, Liu X, Cai H, *et al.* Ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for the determination of tetrandrine and fangchinoline in rat plasma after oral administration of Fangji Huangqi Tang and *Stephania tetrandra* S. Moore extracts [J]. *J Separat Sci*, 2015, 38(8): 1286-1293.
- [12] 崔金国, 饶 毅, 魏慧珍, 等. 防己药材的 HPLC 指纹图谱 [J]. 中草药, 2007, 38(2): 269-272.
- [13] 黄丽萍, 左 坚, 纪从兰. 粉防己指纹图谱的初步建立及差异分析研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2009, 23(5): 29-31.
- [14] 王玲丽, 丰华玲, 杨 柯, 等. 黄芪生物学及化学成分研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(6): 2581-2585.
- [15] 张亚洲, 徐 风, 梁 静, 等. 蒙古黄芪中异黄酮类化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21): 3243-3248.
- [16] 孙政华, 邵 晶, 郭 玫. 黄芪化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医临床研究, 2015, 7(25): 22-25.
- [17] 张 霞. 黄芪化学成分及药理作用概述 [J]. 实用中医药杂志, 2013, 29(7): 608-609.
- [18] 郑善松, 王峥涛. 蒙古黄芪化学成分研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2011, 25(5): 89-94.
- [19] 方圣鼎, 陈 嫵, 徐小异, 等. 中药黄芪有效成份的研究 I. 多糖体的分离、性质及其生理活性 [J]. 有机化学, 1982(1): 26-31.
- [20] 温燕梅. 黄芪的化学成分研究进展 [J]. 中成药, 2006, 28(6): 879-883.
- [21] 彭衡阳, 肖 丹, 徐 静, 等. 黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的薄层鉴别 [J]. 食品研究与开发, 2013, 34(5): 100-101.
- [22] Li A P, Li Z Y, Qu T L, *et al.* Nuclear magnetic resonance based metabolomic differentiation of different *Astragali Radix* [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(5): 363-374.
- [23] 焦美丽, 李震宇, 张福生, 等. 基于分子标记和代谢组学技术的黄芪与红芪比较研究 [J]. 药学学报, 2015, 50(12): 1625-1631.
- [24] 冯祖飞, 孙小明, 宁生荣, 等. HPLC-DAD 法同时测定黄芪中 4 种异黄酮和黄芪甲苷的含量 [J]. 中药材, 2010, 33(9): 1425-1427.
- [25] 史静超, 王永辉, 樊思聪, 等. HPLC-ELSD 法测定黄芪中黄芪皂苷 III、黄芪皂苷 IV 的含量 [J]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9(7): 720-722.
- [26] 王 艳, 胡娟妮, 赵 勇, 等. UPLC-MS 法同时测定黄芪中黄芪皂苷 I、II、III 和 IV 的含量 [J]. 中南药学, 2013, 11(12): 925-928.
- [27] 杜国军, 秦雪梅, 李震宇, 等. 山西省中药材标准道地黄芪含量测定方法的建立 [J]. 山西医科大学学报, 2013, 44(2): 134-138.
- [28] 贾晓斌, 陈 彦, 蔡宝昌, 等. 黄芪皂苷类成分的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中医药学刊, 2004, 22(12): 2227-2228.
- [29] 石玉娟, 解 军, 李桂兰. 山西省不同产地中药材黄芪 HPLC 指纹图谱 [J]. 光明中医, 2010, 25(5): 790-791.
- [30] 陈燕燕, 李晓男, 王跃飞, 等. 应用核磁共振指纹谱考察黄芪不同炮制品化学成分的差异 [J]. 中国科技论文, 2014, 9(12): 1410-1413.
- [31] 张 曦, 徐 青, 黄璐琦, 等. 中药材黄芪的 DNA 指纹图谱鉴别 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2006, 8(3): 33-36.
- [32] 杨 娥, 钟艳梅, 冯毅凡. 白术化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 广东药学院学报, 2012, 28(2): 219-221.
- [33] Kitajima J, Kamoshita A, Ishikawa T, *et al.* Glycosides of *Atractylodes ovata* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(9): 1106-1108.

- [34] 李 伟, 文红梅, 崔小兵, 等. 白术的化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1460-1462.
- [35] 池玉梅, 李 伟, 文红梅, 等. 白术多糖的分离纯化和化学结构研究 [J]. 中药材, 2001, 24(9): 647-648.
- [36] 梁中焕, 郭志欣, 张丽萍. 白术水溶性多糖的结构特征 [J]. 分子科学学报, 2007, 23(3): 185-188.
- [37] 邹 辉, 杨 柳, 易美玲, 等. 白术化学成分分离鉴定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17): 43-48.
- [38] 尹 华, 王知青, 王 玲, 等. HPLC-DAD 波长切换法同时测定白术中白术内酯 I、II、III 和苍术酮的含量 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(1): 233-236.
- [39] 闫 晗, 孙媛媛, 于治国, 等. HPLC 法同时测定白术药材中白术内酯 I 等 4 种有效成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2015, 32(9): 699-702.
- [40] 赵玉娇, 徐文慧, 沈小丽, 等. 白术中内酯类成分的 TLC 鉴别与 UPLC 含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 531-535.
- [41] 毕雨洁, 张 敬, 陈苏菲, 等. 微乳液相色谱法同时测定白术中白术内酯 I、III 的含量 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(8): 1392-1398.
- [42] 张晨光. 白术多糖含量测定研究 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(89): 380-381.
- [43] 段 启, 马兴田, 李彩萍. 白术 GC-MS 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1249-1251.
- [44] 周枝凤, 沈菊文, 龚 范, 等. 白术挥发油成分分析及其色谱指纹图谱研究初探 [J]. 中草药, 2004, 35(1): 5-8.
- [45] 孙 学, 文红梅, 崔小兵, 等. HPLC-PDA 指纹图谱结合 UFLC-Q-TOF/MS 定性鉴别评价不同产地白术药材质量 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3494-3501.
- [46] 叶田园, 李彦文, 鲍红娟, 等. 四逆汤化学成分研究进展 [J]. 中医药导报, 2014, 20(6): 86-88.
- [47] Wang Y, Zhang H, Lu J, *et al.* Research on the biological activities of a polysaccharide extracted from residue of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch [J]. *Acta Sci Nat Univ Nanka*, 2000, 33(4): 46-48.
- [48] 刘丙灿, 方积年. 甘草葡聚糖的分离纯化与化学结构 [J]. 药学学报, 1991, 26(9): 672-675.
- [49] 崔淑芬, 张信青, 许柏球, 等. 高效液相色谱法同时测定甘草中甘草酸和甘草苷的含量 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(3): 307-308.
- [50] 陈云华, 赵晓霞, 王文全, 等. 高效液相色谱法同时测定甘草中甘草酸、甘草苷、异甘草素的含量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(8): 52-53.
- [51] 李俊松, 徐德生, 冯 怡, 等. 甘草中黄酮的纯化方法和含量测定 [J]. 中成药, 2007, 29(7): 997-1000.
- [52] 李 薇, 宋新波, 孙成荣, 等. 三个不同品种甘草多糖的含量测定 [J]. 天津中医药, 2013, 30(1): 47-49.
- [53] 段天璇, 马长华, 王文全, 等. HPLC-MS 法鉴定甘草的指纹图谱 [J]. 中国药师, 2009, 12(4): 414-417.
- [54] 孙国祥, 王佳庆. HPLC 数字化指纹图谱控制甘草质量 [J]. 中南药学, 2009, 7(1): 51-54.
- [55] 崔淑芬, 蒋轶伦, 王小如. 甘草药材薄层扫描指纹图谱研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(5): 367-370.
- [56] 周逸芝, 韩 乐, 刘训红, 等. 甘草饮片 HPCE 指纹图谱研究 [J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(5): 405-409.
- [57] 张丽娟, 龚宁波, 郑笑为, 等. 中药材甘草的 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱鉴定研究 [J]. 中药材, 2004, 27(5): 332-334.
- [58] 周茂金, 万仁忠, 苏美英, 等. 粉防己碱及 5-溴粉防己碱在大鼠体内的代谢产物分析 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1531-1535.
- [59] 谷 元, 司端运. 粉防己碱在大鼠体内的代谢途径研究. 济宁医学院学报, 2012, 35(5): 306-311.
- [60] 张 宇, 唐雨薇, 王宇亮, 等. 黄芪多糖在体内代谢形式研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(5): 986-988.
- [61] Xu F, Zhang Y, Xiao S, *et al.* Absorption and metabolism of Astragali radix decoction: In silico, *in vitro*, and a case study *in vivo* [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34(6): 913-924.
- [62] Zhang Y Z, Xu F, Dong J, *et al.* Profiling and identification of the metabolites of calycosin in rat hepatic 9000 × g supernatant incubation system and the metabolites of calycosin-7-O-β-D-glucoside in rat urine by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MSⁿ technique [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2012, 70(15): 425-439.
- [63] Li H F, Xu F, Yang P, *et al.* Systematic screening and characterization of prototype constituents and metabolites of total astragalosides using HPLC-ESI-IT-TOF-MSⁿ after oral administration to rats [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 142: 102-112.
- [64] Xiang C, Qiao X, Wang Q, *et al.* From single compounds to herbal extract: a strategy to systematically characterize the metabolites of licorice in rats [J]. *Drug Dispos*, 2011, 39(9): 1597-1608.
- [65] Wang Q, Qian Y, Wang Q, *et al.* Metabolites identification of bioactive licorice compounds in rats [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 115: 515-522.
- [66] Miao W J, Wang Q, Bo T, *et al.* Rapid characterization of chemical constituents and rats metabolites of the traditional Chinese patent medicine Gegen-Qinlian-Wan by UHPLC/DAD/qTOF-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 72: 99-108.