

• 中药质量标志物专栏 •

桂枝茯苓方的化学成分、药理作用及质量标志物（Q-marker）的预测分析

张莉野^{1,2}, 田成旺², 刘素香², 陈常青^{2*}

1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 桂枝茯苓方为经典的活血化瘀方, 具有改善血液流变性、调节内分泌、抗炎、抗肿瘤、镇痛等作用。古代用于治疗妇人妊娠下血、行经腹痛、产后恶露不尽等症。现代临床其常用于治疗妇科疾病, 如子宫肌瘤、卵巢囊肿、痛经、子宫内膜异位症等。对桂枝茯苓方近年来的化学成分、药理作用、临床应用以及质量控制的研究进展进行综述, 并在此基础上, 基于中药质量标志物（Q-marker）的“五原则”对桂枝茯苓方的 Q-marker 进行预测分析, 以期对桂枝茯苓方的质量控制研究提供参考。

关键词: 桂枝茯苓方; 质量标志物; 芍药苷; 丹皮酚; 茯苓多糖; 没食子酸; 苦杏仁苷; 桂皮醛

中图分类号: R284; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)02-0265-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.001

Chemical components and pharmacological effects for Guizhi Fuling Prescription and predictive analysis on quality marker (Q-marker)

ZHANG Li-ye^{1,2}, TIAN Cheng-wang², LIU Su-xiang², CHEN Chang-qing²

1. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Guizhi Fuling Prescription is a classic prescription for promoting blood activation and resolving stasis. It has the functions of improving blood rheology, regulating endocrine, anti-inflammation, anti-cancer, and analgesia. In ancient times, it was used to treat women's bleeding during pregnancy, abdominal pain, and postpartum lochia. It is also often used to treat gynecological diseases in modern clinics, such as uterine fibroids, ovarian cysts, dysmenorrhea, endometriosis and so on. This paper reviewed the research progress of chemical constituents, pharmacological activities, clinical application, and quality control of Guizhi Fuling Prescription in recent years. On the basis of this, the quality markers of Guizhi Fuling Prescription are predicted and analyzed based on the "five principles" of quality markers of Chinese materia medica in order to provide reference for the study of quality control of Guizhi Fuling Prescription.

Key words: Guizhi Fuling Prescription; quality marker (Q-marker); paeoniflorin; paeonol; pachyman; gallic acid; amygdalin; cinnamaldehyde

桂枝茯苓方由桂枝、茯苓、牡丹皮、白芍、桃仁 5 味药组成。其中桂枝以其温通经脉而行瘀滞之功效作为君药, 桃仁与其相使配伍作为臣药, 茯苓、牡丹皮、白芍则为佐药^[1]。最初其作为丸剂首载于张仲景的《金匮要略·妇人妊娠》, 用于治疗妇人素有瘕块, 致妊娠胎动不安或漏下不止之证。《济经纲目》将其改为汤剂, 用于催产。现代临床将其用于治疗痛经、

盆腔炎、子宫肌瘤等妇科疾病。但随着临床医学的不断进步, 该方对其他临床疾病也表现出了较好的疗效, 因此近年来国内外对该药的研究报道不断增多。本文对近年来桂枝茯苓方的各方面研究进展进行综述, 并在此基础上依照质量标志物（Q-marker）“五原则”对桂枝茯苓方 Q-marker 进行预测分析, 以期对桂枝茯苓方的质量控制研究提供参考。

收稿日期: 2018-10-13

基金项目: 山东省科技重大专项“桂枝茯苓方的二次开发研究”(2016CYJS08A01-9); 山东省自然科学基金三院联合基金(ZR2016YL009)

作者简介: 张莉野(1993—), 女, 硕士研究生。E-mail: 1254796393@qq.com

*通信作者 陈常青, 研究员, 研究方向为中药学。E-mail: chencq@tjipr.com

1 主要化学成分

桂枝茯苓方所含成分复杂,目前研究大多集中于药理作用、临床应用、单味药化学成分或是复方中几种主要有效成分的分离鉴定^[2-7]。而中药复方作为一个有机整体,简单的药味加和来阐明其物质基础及用于质量控制是不合理的。已有研究对桂枝茯苓复方的化学成分进行了较为系统的研究^[8-9],通过对桂枝茯苓胶囊(GZFLC)内容物进行多次萃取分离得到了氯仿萃取部分、正丁醇萃取部分、正丁醇和水萃取部分、正丁醇和醋酸乙酯萃取部分以及石油醚和醋酸乙酯萃取部分,从中分离鉴定了 80 多个化合物。这些化合物主要是单萜及其苷类化合物,如芍药苷、paeonidanin A、芍药内酯苷、金丝桃苷、芍药苷 R₁、磺酸钠芍药苷等;三萜及其苷类化合物,如茯苓酸、猪苓酸 C、去氢土莫酸、白桦脂酸、齐墩果酸、胡萝卜苷、 β -谷甾醇、常春藤皂苷元等;黄酮类化合物,如芹菜素、儿茶素、表儿茶素、槲皮素等;有机酸类,如苯甲酸、对香豆酸、香草酸、没食子酸、反式邻甲氧基桂皮酸等;酚及酚苷类,如丹皮酚、牡丹皮苷 F、牡丹皮苷 A、牡丹皮苷 C。除上述成分外还有苷类、氨基酸、甾醇类、糖类、木脂素类、香豆素类以及一些其他成分,如野樱苷、苦杏仁苷、亮氨酸、半乳糖醇、菜油甾醇、没食子酸乙酯、香草醛、香豆素、丁香醛、丁香脂素、肉桂醇等。而有研究证明丹皮酚是治疗子宫内膜异位症的有效成分^[10],槲皮素、儿茶素则可用于癌症的治疗^[11-12]。李维思等^[13]采用 HPLC-ESI-QTOF/MS 对桂枝茯苓胶囊的化学成分进行了分离鉴定,最终鉴定了 18 个化学成分,主要为芍药苷类化合物,分别为没食子酸、芍药苷、芍药亚硫酸酯、羟基芍药苷、芍药内酯苷、丁香酸、苯甲酰氧化芍药苷、牡丹皮苷 C、苯甲酰芍药苷、牡丹皮苷 A 及 *O*- β -D-gentiobiosyl-D-(-)-mandelamide 和 (2*R*)-[6-*O*- β -D-glucopyranosyl oxy] (phenyl) ethanoic acid。有研究建立了桂枝茯苓胶囊的 HPLC 指纹图谱并定性分析了其特征峰,确定了 8 个化学成分,分别为没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6- β -五没食子酰葡萄糖、肉桂酸、苯甲酰芍药苷、桂皮醛及丹皮酚。林夏等^[14]建立了桂枝茯苓胶囊三萜类成分 UPLC 指纹图谱,并采用 UPLC-Q-TOF/MS 初步确定了 15 个成分,分别为常春藤皂苷、胡萝卜苷、土莫酸、茯苓酸 D、去氢土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、去氢茯苓酸、 α -亚麻酸、齐墩果酸、茯苓酸、亚油酸、

棕榈油酸甲酯、棕榈酸及棕榈酸乙酯。

2 药理作用

2.1 免疫调节作用

桂枝茯苓方中的 5 味药及其所含多种成分均有免疫调节作用。张海琴等^[15-16]研究表明桂枝茯苓胶囊具有调节 T 细胞亚群以及红细胞免疫功能的作用。研究发现桂枝茯苓丸能够改变荷瘤小鼠 T 淋巴细胞 Fas 的表达,并且通过降低 Fas 表达来抑制 T 淋巴细胞的凋亡,从而有效调节机体免疫功能,其亦是通过对免疫功能来治疗宫颈癌。王俨如等^[17]应用高内涵技术研究了桂枝茯苓胶囊抗炎及免疫调节活性成分,最终筛选出 15 个活性成分,分别为没食子酸、芍药苷、丹皮酚、苦杏仁苷、苯甲酰芍药苷、五没食子酰葡萄糖、桂皮醛、去氢茯苓酸、茯苓多糖、槲皮素、香豆素、肉桂酸、茯苓酸、白芍苷、去氢土莫酸。江益平等^[18]对桂枝茯苓胶囊及其 15 个活性成分组合物的免疫调节活性及其机制进行了研究,结果显示桂枝茯苓胶囊及活性成分组合物具有免疫调节作用,其可能是通过增强脾脏淋巴细胞活性,促进 T 淋巴细胞活化分子 CD69 和 CD25 的表达以及共同刺激分子 CD80 和 CD86 的表达来提高免疫应答的发生,从而发挥调节免疫功能作用。

2.2 抗肿瘤作用

桂枝茯苓方能够抑制肿瘤生长、转移,延长患者生存时间^[19]。研究^[20]发现桂枝茯苓丸能够抑制肿瘤生长,并且认为其抗肿瘤机制可能是通过抑制突变型 P53 蛋白以及细胞黏附分子 CD44 的表达,来影响肿瘤细胞增殖周期和细胞黏附、降解、迁移过程,达到抗肿瘤的目的。也有研究^[21]表明桂枝茯苓丸可以降低 S₁₈₀ 荷瘤鼠血清中异常增高的血管内皮生长因子(VEGF)水平,增加肿瘤细胞内肿瘤转移抑制基因 nm23H1 的表达,降低肿瘤细胞上黏附分子 CD44 的表达,从而抑制肿瘤转移。研究^[22]显示,桂枝茯苓丸的抑瘤率为 38.93%,细胞凋亡率为 17.79%,结果表明桂枝茯苓丸是通过上调 p21waf/cip 蛋白表达来抑制细胞周期蛋白依赖性酶活性和增殖细胞核抗原(PCNA)活性,从而阻断了细胞的 DNA 合成和复制,抑制肿瘤细胞的增殖及生存素(survivin) mRNA 表达,促进细胞凋亡,进而达到抑制肿瘤生长的目的。范麒如等^[23]应用分子对接法虚拟筛选出 13 个桂枝茯苓胶囊抗子宫肌瘤的活性成分,主要为儿茶素、槲皮素、苦杏仁苷、丹皮酚、没食子酸、苯甲酰羟基芍药苷、邻苯甲基桂皮醛、

1,2,3,6-O-四没食子酰葡萄糖等。而有研究^[24]表明桂枝茯苓胶囊治疗子宫肌瘤的作用机制可能与降低雌二醇和表皮生长因子(EGF)的水平相关。

2.3 抗炎作用

有文献报道^[25-26]桂枝茯苓方具有抗炎作用。吴修红等^[27]研究表明桂枝茯苓丸能明显降低二甲苯所致的小鼠耳肿胀程度,证明其具有很好的抗炎作用。程玥等^[28]研究发现桂枝茯苓胶囊及其15个活性成分组合物均有明显的抗大鼠盆腔炎作用,并且认为这15个活性成分可能是桂枝茯苓胶囊的抗盆腔炎的物质基础。张珍珍等^[29]对桂枝茯苓胶囊及其15个活性成分组合物的抗炎机制进行了研究,发现桂枝茯苓胶囊及其活性成分组合物能够有效抑制脂多糖(LPS)诱导的白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和前列腺素E₂(PGE₂)的释放,且均呈现一定的浓度-效应依赖关系;同时能够有效降低IL-1 β 与膜结合型前列腺素E₂合酶(mPGES-1)的表达。表明桂枝茯苓胶囊的抗炎作用机制可能与降低IL-1 β 与mPGES-1的表达有关。唐兴梅等^[30]研究发现桂枝茯苓胶囊及其活性成分能够通过抑制诱导性一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶-2(COX-2)蛋白的表达进而抑制炎症介质NO和PGE₂的分泌,同时抑制炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的产生来发挥抗炎作用。

2.4 镇痛作用

桂枝茯苓方有良好的镇痛作用,特别是由痛经所引起的疼痛,止痛效果明显^[31-32]。孙兰等^[33]观察桂枝茯苓胶囊对前列腺素F_{2 α} (PGF_{2 α})致小鼠痛经模型和缩宫素(OT)致大鼠痛经模型的作用,发现桂枝茯苓胶囊能明显减少大鼠、小鼠扭体次数,降低大鼠子宫组织PGF_{2 α} 含量和PGF_{2 α} /PGE₂值,升高小鼠血清中 β -内啡肽(β -EP)、6-酮-前列腺素F_{1 α} (6-keto-PGF_{1 α})含量。表明桂枝茯苓胶囊具有治疗痛经的作用,其机制与调节体内 β -EP、6-keto-PGF_{1 α} 、PGF_{2 α} 、PGE₂水平有关。孙兰等^[34]研究表明桂枝茯苓胶囊及其成分组合物能够抑制PGF_{2 α} 诱导的子宫平滑肌收缩,降低子宫组织p42/44MAPK磷酸化水平、抑制Cx43蛋白表达。

仲云熙等^[35]研究发现桂枝茯苓胶囊中的丹皮酚能明显抑制大鼠足趾肿胀、抑制疼痛、抑制子宫内膜增生、纠正超氧化物歧化酶(SOD)、NO、丙二醛(MDA)的异常表达。芍药苷的作用与丹皮酚的类似,但芍药苷较丹皮酚作用弱,桂枝茯苓胶囊

可能是通过丹皮酚抑制炎症介质的表达来治疗原发性痛经的。张新庄等^[36]基于网路药理学研究了桂枝茯苓胶囊治疗痛经、子宫肌瘤和盆腔炎的分子作用机制,从中发现桂枝茯苓胶囊中的五环三萜类和甾醇类化合物,如去氢茯苓酸、去氢土莫酸、柠檬甾二烯醇,以及黄酮类化合物槲皮素等能与多个靶点蛋白作用,起到抑制子宫平滑肌收缩、增生,抑制炎症反应等作用。

2.5 其他作用

桂枝茯苓方还能够降低血液黏度、改善血压、抗氧化、改善脑缺血-再灌注损伤等。有研究^[37]发现桂枝茯苓方的提取物可缓解硝普钠(NO供体)介导的细胞死亡以及降低大鼠血清及脑匀浆中NO的量,从而抑制NO合成酶以减小缺血-再灌注的损伤,说明桂枝茯苓胶囊能够抑制脑缺血-再灌注带来的病变。也有研究表明桂枝茯苓胶囊能够减少脑缺血-再灌注大鼠脑梗死体积和含水量,对脑缺血-再灌注损伤有保护作用。Zhang等^[38]研究表明桂枝茯苓丸能够显著促进大脑中动脉梗死大鼠的神经系统恢复,缩小梗死面积,其保护神经的作用机制可能与抗炎作用有关。

3 临床应用

3.1 妇科疾病

桂枝茯苓方在妇科疾病中的应用最为广泛,如子宫肌瘤、卵巢囊肿、慢性盆腔炎、子宫内膜异位症、痛经等。韩兆忠等^[39-40]研究表明桂枝茯苓胶囊联合米非司酮治疗子宫肌瘤有协同作用,能够提高临床总有效率,具有远期疗效好、不良反应少的优势。赵莹^[41]用桂枝茯苓胶囊联合米非司酮治疗子宫肌瘤50例,临床治愈27例,显效13例,有效10例,总有效率100%。刘刚等^[42]对当归芍药散合桂枝茯苓丸加减治疗单纯性卵巢囊肿的临床疗效进行了研究,按照标准选择了120名单纯性卵巢囊肿患者,随机分为当归芍药散组、桂枝茯苓丸组和当归芍药散合桂枝茯苓丸组,经3个月周期治疗后发现,当归芍药散合桂枝茯苓丸组临床疗效优于其他组,可有效改善患者的症状。李春香等^[43]用桂枝茯苓丸辅助抗生素治疗慢性盆腔炎104例,其中52例为常规抗生素治疗、52例为桂枝茯苓丸辅助抗生素治疗,研究发现桂枝茯苓丸辅助抗生素治疗能够明显降低患者炎症状态,改善患者血液流变学、临床症状等,治疗效果显著并且安全。宗晓^[44]研究表明桂枝茯苓丸治疗子宫内膜异位症临床疗效确切,可改

善患者临床症状及生化指标。有研究^[45-47]表明桂枝茯苓方联用化学药治疗子宫内膜异位症较单纯化学药治疗能有效提高临床治疗总有效率,降低复发率并且安全性较高。王佳^[48]用桂枝茯苓胶囊联合米非司酮治疗子宫内膜异位症 88 例,分为单药组(米非司酮)和联合组(米非司酮和桂枝茯苓胶囊)2 组,其中联合组患者治愈 11 例、显效 22 例、有效 9 例、无效 2 例,临床总有效率 95.5%,较单药组临床总有效率 81.8%,临床疗效更为显著。

3.2 其他

除妇科疾病外,桂枝茯苓方还能够治疗如前列腺增生、冠心病、心绞痛、肝囊肿、肝硬化、脑梗死等生殖系统、心血管系统、消化系统、神经系统等疾病。孙一鸣等^[49]用桂枝茯苓丸加味汤剂联合穴位注射治疗前列腺增生症 50 例,发现其能有效提高治疗效率、改善临床症状。陆进等^[50]用真武汤合桂枝茯苓丸治疗慢性心力衰竭肾阳虚证患者 60 例,分常规化学药组与联合给药组,其中联合给药组治疗率 89.7%,较常规化学药组(71.4%)临床疗效显著。王红胜^[51]用桂枝茯苓丸加黄芪和化学药治疗脑梗死患者 30 例,观察治疗前后病症变化,发现桂枝茯苓丸加黄芪和化学药治疗能够提高脑梗死的治疗效果。

4 质量控制

4.1 指标成分测定

桂枝茯苓方因临床效果显著,目前有多个剂型,其质量控制研究大多集中于多种有效成分的测定。刘国红等^[52]采用 HPLC 测定桂枝茯苓丸中有效部位中苦杏仁苷和芍药苷含量,结果两者在线性范围内均有良好的线性关系,平均回收率为 98.48%、99.06%,该方法专属性强、操作简便,可用于桂枝茯苓丸中有效部位的质量控制。李智慧等^[53]采用 HPLC 测定桂枝茯苓丸中丹皮酚和芍药苷含量,结果两者在线性范围内均呈现出良好的线性关系,平均加样回收率分别是 99.5%、99.4%,精密度与重复性 RSD 均 < 1.5%。所建方法可以简便、准确地同时测定桂枝茯苓丸中丹皮酚和芍药苷的含量,可用于桂枝茯苓丸质量控制。杨鹏飞等^[54]用 HPLC 测定了桂枝茯苓胶囊中去氢土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢茯苓酸和去氢茯苓酸 4 种茯苓三萜酸成分,结果 4 者在线性范围内线性关系良好,平均回收率为 97.5%、98.5%、97.2%、102.3%,所建立的方法可行、重现性好,可用于桂枝茯苓胶囊的质量控制。

尹权微等^[55]采用 HPLC 测定了定桂枝茯苓胶囊中 α -亚麻酸、亚油酸和油酸的含量,结果 3 者在线性范围内呈良好的线性关系,平均加样回收率为 97.02%、97.17%、96.98%,该方法精密度、重复性、稳定性均良好,适合于测定桂枝茯苓胶囊中的活性成分,可为质量控制提供参考。

4.2 指纹图谱

《中国药典》2015 年版^[56]在多指标成分含量测定的基础上,增加了桂枝茯苓胶囊的指纹图谱,将其与定量测定、TLC 法检测以及显微鉴别结合用于桂枝茯苓胶囊的质量控制及评价。吴修红等^[57]建立了桂枝茯苓丸的指纹图谱,经过中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件的分析,认为该方法特征性和专属性强,可用于桂枝茯苓丸的质量控制。耿放等^[58]建立了桂枝茯苓丸脂溶性成分 GC-MS 的指纹图谱,并鉴定了 9 个共有峰,经相似度评价系统软件的分析,10 个批次的样品相似度均在 0.90 以上,认为该图谱特征性和专属性强,可用于桂枝茯苓丸脂溶性成分的质量控制。林夏等^[14]建立了桂枝茯苓胶囊中三萜类成分的 UPLC 指纹图谱,确定了 20 个共有峰,10 个批次成品的相似度在 0.90 以上,认为该图谱精密度、重复性、稳定性良好,可用于桂枝茯苓胶囊的质量控制。

4.3 其他方法

现代质谱技术由于其高灵敏度、高选择性、快捷等优点在中药研究中应用广泛。王书云等^[59]采用 GC-MS 对桂枝茯苓胶囊及其组方药材的挥发油成分进行了分析鉴定及比较,发现桂枝茯苓胶囊的挥发油成分主要为安息香醛(benzaldehyde)和丹皮酚(paeonol),分别来自于桂枝和牡丹皮,认为其挥发油成分是制备过程中选择性提取得到的,可为桂枝茯苓胶囊质量控制提供理论依据。采用 HPLC-DAD-ESI/MS 联用技术对桂枝茯苓胶囊指纹图谱特征峰进行鉴别,最终鉴定了 8 个成分以及推测了一个萜类化合物,具有很好的重现性及特征性,可用于桂枝茯苓胶囊的质量控制。

5 Q-marker 预测

Q-marker 是刘昌孝院士^[60]提出的新概念,是指存在于中药材和中药产品中固有的或加工制备过程中形成的,与中药的功能属性密切相关的,能够反映中药质量和药效的标示性物质。

5.1 基于质量传递与溯源的 Q-marker 预测分析

采用质谱法从 5 味药材中鉴别出了 156 个化合

物^[61-63], 桂枝中 16 个化合物, 包括 4 个醛类、6 个有机酸类、2 个醇类、1 个酮类、2 个酯类、1 个香豆素类; 茯苓中 35 个化合物, 包括 34 个三萜类、1 个其他类; 白芍中 38 个化合物, 包括 21 个单萜及其苷类、4 个酚苷类、6 个没食子酰葡萄糖类、3 个有机酸、4 个其他类; 牡丹皮中 48 个化合物, 包括 11 个没食子酰类、17 个单萜及其苷类、8 个酚酸类、1 个三萜类、7 个苯乙酮类以及 4 个黄酮类; 桃仁中 19 个化合物, 包括 2 个苷类、8 个甾醇类、9 个脂肪酸类。对桂枝茯苓胶囊进行化学成分分析鉴别, 确定了 78 个化合物: 单萜及其苷类化合物 16 个, 三萜及其苷类 10 个、黄酮类 7 个、酚及酚苷类 3 个、有机酸 11 个、醇类 2 个、糖类 4 个、没食子酰葡萄糖类 1 个、甾醇类 5 个、香豆素类 2 个、氨基酸类 4 个、木脂素类 1 个、苷类 3 个、二萜及其糖苷类 1 个、醛类 1 个、腺苷 2 个、其他类 5 个。采用 UPLC/Q-TOF-MS 法分析桂枝茯苓胶囊的入血成分^[64], 从中鉴别出来 14 个成分, 包括 13 个原型成分(单萜及其苷类 3 个、酚及酚苷类 2 个、三萜及其苷类 3 个、有机酸 3 个、没食子酰葡萄糖类 1 个和其他类 1 个)及 1 个代谢产物野樱苷, 经研究认为野樱苷应是苦杏仁苷经肠道菌群作用下形成的。

5.2 基于成分特有性的 Q-marker 预测分析

桂枝为樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝, 据文献研究表明, 桂枝主要含有挥发油成分, 其中以醛类化合物为主, 主要有桂皮醛、肉豆蔻醛、邻甲氧基桂皮醛等。此外还有肉桂酸、肉桂醇、香豆素等有机酸、香豆素、萜类等成分。瑞诺烷类二萜是樟科樟属植物的特征性成分^[65]。

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 据文献研究表明, 茯苓主要含有三萜类、多糖类、二萜类、甾醇类等成分。三萜类成分是茯苓的特征性成分, 其中茯苓酸、去氢土莫酸等含量较高, 较具特征性。

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根, 主要含有芍药苷、芍药内酯苷和儿茶素等单萜及其苷类、三萜类、多元酚类、黄酮类等成分。单萜及其苷类以及多元酚类成分是白芍的主要活性成分, 具有多种药理作用, 其中单萜及其苷类成分较具特征性。

牡丹皮为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的干燥根皮, 主要含有单萜及其苷类、酚及酚苷类、三萜及其苷类等成分, 其中以丹皮酚为主

的酚及酚苷类成分是其主要成分, 不仅含量高, 还具有调节免疫、抑制中枢反应、镇痛等作用。

桃仁为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 或山桃 *P. davidiana* (Carr.) Franch. 的干燥成熟种子, 主要成分为脂肪酸类及苷类, 其中以苦杏仁苷为主的苷类成分是桃仁的有效成分, 但其广泛存在于蔷薇科植物中, 专属性差。苷类的其他成分如扁桃酸甲酯苷、福豆苷等较具专属性。

5.3 基于成分与药效关联的 Q-marker 预测分析

基于网络药理学分析发现桂枝茯苓胶囊治疗子宫肌瘤、原发性痛经、盆腔炎作用的作用靶点有 115 个, 生物通路 15 个, 明确了 35 个化学成分, 主要为三萜类、黄酮类以及甾醇类等。采用分子烙印技术定量逐级敲除桂枝茯苓胶囊中主要成分(没食子酸、芍药苷、丹皮酚等 15 个化合物), 观察其主要成分变化对主要药效的影响, 发现随着组分的敲除, 药效逐渐降低, 认为没食子酸、芍药苷、丹皮酚等 15 个化合物是桂枝茯苓胶囊的主要药效物质基础。筛选出桂枝茯苓胶囊的主要药效成分 8 个, 主要来源于桂枝、茯苓、白芍及牡丹皮。结合文献研究认为桂枝茯苓胶囊主要活性成分芍药苷、丹皮酚、五没食子酰葡萄糖、茯苓多糖、白芍苷、苦杏仁苷、没食子酸以及桂皮醛在治疗子宫肌瘤、原发性痛经、盆腔炎的作用中起到了主要作用^[66-67]。

5.4 基于复方配伍环境的 Q-marker 的预测分析

用桂枝茯苓胶囊治疗慢性盆腔炎大鼠模型、子宫肌瘤大鼠模型、S₁₈₀ 荷瘤鼠、PGF_{2α} 致小鼠痛经模型, 结果显示其能够明显改善盆腔炎大鼠子宫病变、抑制炎症因子释放, 具有调节免疫功能、抗炎的作用; 对子宫肌瘤小鼠有治疗作用, 能够降低子宫肌瘤大鼠子宫系数、减轻子宫壁平滑肌增生; 同时能够抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长转移、延长存活时间、降低血清 E₂ 水平, 抑制 survivin mRNA 表达, 促进了细胞凋亡, 具有抗肿瘤作用; 能够减少小鼠扭体次数, 调节小鼠体内 β-EP、6-Keto-PGF_{1α} 水平, 具有镇痛作用。以上研究表明, 桂枝茯苓胶囊具有调节免疫、抗炎、抗肿瘤、镇痛的作用。基于网络药理学构建桂枝茯苓胶囊的药材-分子-靶标网络 (herb-drug-target network, HDTN), 其包含 115 个分子, 116 个靶蛋白。分析分子与药材相互关系发现, 有 46 个分子来自桂枝、46 个分子来自茯苓, 28 个分子来自桃仁, 27 个分子来自白芍、27 个分子来自牡丹皮, 其中桂枝与桃仁的成分有较大部分

的重叠,验证了其处方合理性。此外,还发现桂枝茯苓胶囊的多种化学成分如去氢茯苓酸、牡丹皮苷 F、芍药苷等可以与多个靶蛋白如 NOS、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、糖原合成酶激酶 (GSK)、磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K) 等结合,来调控多条生物通道达到降低炎症反应、缓解疼痛、改善病症的作用。分子对接法研究发现桂枝茯苓胶囊中的多种成分如苦杏仁苷、丹皮酚、苯甲酰基芍药苷、没食子酸等能够与 ER、CDK2、EGFR 靶蛋白结合,通过抑制细胞病变、增殖达到抗肿瘤的作用。研究结果显示去氢茯苓酸、芍药苷、苯甲酰基芍药苷、牡丹皮苷 F、苦杏仁苷、丹皮酚、没食子酸等是桂枝茯苓胶囊的主要有效成分。

5.5 基于成分可测性的 Q-marker 预测分析

采用反高效液相色谱波长转换法可同时测定桂枝茯苓丸中芍药苷、肉桂酸、桂皮醛、丹皮酚等成分^[68];建立了桂枝茯苓胶囊指纹图谱质量控制方法,对 10 批桂枝茯苓胶囊进行指纹图谱研究,确定了 13 个共有峰并对其进行了归属,其中 2 个来自白芍、3 个来自牡丹皮、2 个来自桂枝、6 个来自白芍和牡丹皮;建立了桂枝茯苓胶囊三萜类成分 UPLC 指纹图谱方法,确定了 20 个共有峰,对其进行来源归属,其中 13 个来自茯苓,2 个来自桂枝,1 个来自白芍和牡丹皮,1 个来自桃仁、白芍、牡丹皮和桂枝。

综上所述,桂枝茯苓方中的芍药苷、丹皮酚、茯苓多糖、没食子酸、苦杏仁苷、桂皮醛等可能是其主要药效物质基础,可作为桂枝茯苓方的质量标志物。

6 结语

桂枝茯苓方为中药复方,广泛应用于妇科疾病的治疗。近年来其制剂种类繁多,市面上常见的有桂枝茯苓胶囊、桂枝茯苓丸、桂枝茯苓蜜丸等。制剂种类不同,其质量标准亦不相同。本文在对桂枝茯苓方的化学成分、药理作用、临床应用等研究进展进行综述的基础上,基于“五原则”对其 Q-marker 进行了分析,为桂枝茯苓方 Q-marker 的筛选提供了参考。

参考文献

- [1] 王 付,王林玉. 桂枝茯苓丸方证思考与探索 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(7): 2618-2620.
- [2] 蔡芷辰,李振麟,徐 谦,等. 桂枝的化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22): 57-60.

- [3] 李希哲,黄海燕,赵 威,等. 桂枝化合物的分离与鉴定及神经保护作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2016, 33(1): 14-19.
- [4] 许筱凰,李 婷,王一涛,等. 桃仁的研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2649-2655.
- [5] 刘 杰,许 文,李 煌,等. UPLC-MS/MS 法同时测定白芍饮片中 10 种成分 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(4): 635-643.
- [6] 张 伟,王艳华,吴德玲,等. 牡丹皮抗子宫内位症活性部位化学成分研究 [J]. 中成药, 2014, 36(1): 119-121.
- [7] 韩聪敏,朱靖博,丁 燕,等. 超高压液相色谱-飞行时间质谱法分析牡丹皮化学成分 [J]. 大连工业大学学报, 2014, 33(3): 166-170.
- [8] 王雪晶,谢 雪,罗 鑫,等. 桂枝茯苓胶囊化学成分研究 (V) [J]. 中草药, 2015, 46(6): 812-816.
- [9] 谢 雪,张宏达,温建辉,等. 桂枝茯苓胶囊化学成分研究 (VI) [J]. 中草药, 2016, 47(21): 3795-3797.
- [10] 张 伟,王艳华,吴德玲,等. 牡丹皮抗子宫内位症活性部位化学成分研究 [J]. 中成药, 2014, 36(1): 119-121.
- [11] Islam M S, Akhtar M M, Ciavattini A, et al. Use of dietary phytochemicals to target inflammation, fibrosis, proliferation, and angiogenesis in uterine tissues: Promising options for prevention and treatment of uterine fibroids? [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58(8): 1667-1684.
- [12] Fujiki H, Sueoka E, Watanabe T, et al. Synergistic enhancement of anticancer effects on numerous human cancer cell lines treated with the combination of EGCG, other green tea catechins, and anticancer compounds [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2014, 141(9): 1511-1522.
- [13] 李维思,黄玲玲,李振江,等. 桂枝茯苓胶囊 HPLC-ESI-QTOF/MS 化学成分分析过程中提取溶剂的优化 [J]. 生物加工过程, 2016, 14(4): 59-64.
- [14] 林 夏,何艳梅,李家春,等. 桂枝茯苓胶囊中三萜类成分 UPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2857-2862.
- [15] 张海琴,刘瑞芬. 活血化瘀法对慢性盆腔炎大鼠免疫调节的实验研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2013, 15(9): 2042-2046.
- [16] 张海琴,刘瑞芬. 桂枝茯苓胶囊对慢性盆腔炎大鼠 T 细胞亚群和红细胞免疫功能的影响 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(2): 6-8.
- [17] 王俨如,李 娜,曹 亮,等. 应用高内涵技术研究桂枝茯苓胶囊抗炎及免疫调节活性成分 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(6): 1005-1011.
- [18] 江益平,吴 秀,李 娜,等. 桂枝茯苓胶囊及其活性

- 成分组合物免疫调节活性及其机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(15): 3068-3071.
- [19] Li D H, Zhang Y L, Han H J, *et al.* Effect of Lichong Decoction on expression of IGF-I and proliferating cell nuclear antigen mRNA in rat model of uterine leiomyoma [J]. *Tradit Chin Med*, 2012, 32(4): 636-640.
- [20] 张淑芬, 王海娇, 周明瑶, 等. 桂枝茯苓丸对荷瘤鼠 p53 及 CD44 的影响 [J]. 中医药信息, 2011, 28(3): 60-62.
- [21] 罗晓庆, 孙济宇, 王 琪, 等. 桂枝茯苓丸对 S180 荷瘤鼠移植性肿瘤细胞转移影响的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(4): 520-523.
- [22] 李明琦, 王 琪, 王亚贤. 桂枝茯苓丸诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究 [J]. 中医学报, 2008, 36(1): 51-54.
- [23] 范麒如, 王振中, 马宏跃, 等. 分子对接法虚拟筛选桂枝茯苓胶囊抗子宫肌瘤的潜在活性成分 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(2): 307-312.
- [24] 孙 兰, 宗绍波, 吕耀中, 等. 桂枝茯苓胶囊治疗大鼠子宫肌瘤及其机制研究 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(4): 362-365.
- [25] 孙 兰, 林 楠, 吕耀中, 等. 桂枝茯苓胶囊对大鼠慢性盆腔炎的影响 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(4): 21-24.
- [26] 仲云熙, 孙建国, 王广基. 桂枝茯苓胶囊药理作用与临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 3115-3120.
- [27] 吴修红, 杨恩龙, 孙 泽, 等. 桂枝茯苓丸治疗血瘀型痛经的实验研究 [J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(5): 102-105.
- [28] 程 玥, 唐朝辉, 曹 亮, 等. 桂枝茯苓胶囊及其活性成分组合物的抗大鼠盆腔炎作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(13): 118-121.
- [29] 张珍珍, 张新庄, 李 娜, 等. 桂枝茯苓胶囊及其活性成分组合物抗炎作用与机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(6): 993-998.
- [30] 唐兴梅, 李 芳, 刘莉娜, 等. 桂枝茯苓胶囊及其成分对 LPS 诱导 RAW264. 7 细胞产生炎症介质的影响 [J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(20): 6-8.
- [31] 李 珍. 桂枝茯苓胶囊联合安宫黄体酮片治疗原发性痛经的临床研究 [J]. 罕少疾病杂志, 2014, 21(1): 37-39.
- [32] 吴修红, 杨恩龙, 孙 泽, 等. 桂枝茯苓丸治疗血瘀型痛经的实验研究 [J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(5): 102-105.
- [33] 孙 兰, 林 楠, 李家春, 等. 桂枝茯苓胶囊治疗原发性痛经的实验研究 [J]. 中医药导报, 2014, 20(3): 15-17, 21.
- [34] 孙 兰, 周 军, 宗邵波, 等. 桂枝茯苓胶囊及其成分组合物抗子宫收缩作用及其机制 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(2): 274-278.
- [35] 仲云熙, 金孝亮, 谷世寅, 等. 基于抗炎活性的桂枝茯苓胶囊抗痛经作用机制研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(10): 1095-1102.
- [36] 张新庄, 萧 伟, 徐筱杰, 等. 基于网络药理学的桂枝茯苓胶囊治疗痛经、子宫肌瘤和盆腔炎的分子作用机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(1): 81-94.
- [37] Zheng L, Ding J, Wang J, *et al.* Effects and mechanism of action of inducible nitric oxide synthase on apoptosis in a rat model of cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2016, 299(2): 246-255.
- [38] Zhang Y, Zhang S, Li H, *et al.* Ameliorative effects of Gualou Guizhi Decoction on inflammation in focal cerebral ischemic-reperfusion injury [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 988-994.
- [39] 韩兆忠, 刘 茜, 郑伟然, 等. 桂枝茯苓胶囊联合米非司酮治疗子宫肌瘤临床疗效和安全性的系统性评价 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(3): 543-551.
- [40] 丁 怡, 高晓卫. 分析桂枝茯苓胶囊联合西药米非司酮治疗子宫肌瘤的临床效果 [J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(Z1): 139-140.
- [41] 赵 莹. 桂枝茯苓胶囊联合米非司酮治疗子宫肌瘤 100 例临床观察 [J]. 实用医技杂志, 2016, 23(11): 1233-1235.
- [42] 刘 刚, 严余明. 当归芍药散合桂枝茯苓丸加减治疗单纯性卵巢囊肿的临床研究 [J]. 云南中医学院学报, 2015, 38(2): 73-76.
- [43] 李春香, 王春燕, 武淑霞. 桂枝茯苓丸辅助抗生素治疗慢性盆腔炎的临床疗效观察 [J]. 世界中医药, 2016, 11(7): 1257-1260.
- [44] 宗 晓. 桂枝茯苓丸治疗子宫内异位症的临床效果评价 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(92): 127.
- [45] 练鹏颖, 刘枚芳, 徐景利. 桂枝茯苓胶囊联合米非司酮治疗子宫内异位症随机对照试验的 Meta 分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(4): 564-570.
- [46] 杨竹英. 桂枝茯苓胶囊、小剂量米非司酮联合治疗子宫内异位症疗效评价 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(91): 79, 81.
- [47] 胡 敏. 醋酸亮丙瑞林联合桂枝茯苓胶囊治疗子宫内异位症 [J]. 实用中西医结合临床, 2017, 17(12): 29-31.
- [48] 王 佳. 米非司酮联用桂枝茯苓胶囊治疗子宫内异位症的临床疗效 [J]. 中国实用医药, 2018, 13(3): 107-108.
- [49] 孙一鸣, 余长飞, 李 岳, 等. 桂枝茯苓丸加味联合穴位注射治疗前列腺增生症 50 例临床观察 [J]. 中医杂志, 2015, 56(11): 945-947.

- [50] 陆进, 廖敏, 郭凯, 等. 真武汤合桂枝茯苓丸对慢性心力衰竭肾虚证患者心功能的影响 [J]. 河南中医, 2018, 38(1): 77-80.
- [51] 王红胜. 桂枝茯苓丸加黄芪治疗中风 (脑梗死) 的临床研究 [J]. 黑龙江中医药, 2016, 45(5): 26-27.
- [52] 刘国红, 赵路, 吴纯伟, 等. HPLC 法测定桂枝茯苓丸有效部位中苦杏仁苷、芍药苷的含量 [J]. 广东药学院学报, 2015, 31(1): 50-53.
- [53] 李智慧, 吴素香, 石森林, 等. HPLC 测定不同厂家桂枝茯苓丸中丹皮酚及芍药苷 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 121-123.
- [54] 杨鹏飞, 李保明, 王振中, 等. HPLC 法同时测定桂枝茯苓胶囊中 4 种茯苓三萜酸成分 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3215-3218.
- [55] 尹权微, 王金玲, 杨素德, 等. 桂枝茯苓胶囊中 α -亚麻酸、亚油酸和油酸的含量分析 [J]. 药学与临床研究, 2016, 24(2): 110-112.
- [56] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [57] 吴修红, 方衡, 朴成玉, 等. 桂枝茯苓丸的高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 分析科学学报, 2014, 30(1): 100-102.
- [58] 耿放, 葛亚南, 方衡, 等. 桂枝茯苓丸脂溶性成分 GC-MS 指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(1): 174-177.
- [59] 王书云, 毛绘娟, 萧伟, 等. GC-MS 分析桂枝茯苓胶囊及组方药材挥发油成分 [J]. 石河子大学学报, 2013, 31(3): 359-364.
- [60] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [61] 康安, 郭锦瑞, 谢彤, 等. UPLC-LTQ-Orbitrap 质谱联用技术分析茯苓中的化学成分 [J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(6): 561-565.
- [62] 赵朕雄, 冯茹, 符洁, 等. GC-MS 联用法分析不同产地白芍和赤芍挥发油成分 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(4): 627-634.
- [63] 赵文军, 林阳, 李鹏飞, 等. 牡丹皮化学成分的 HPLC-QTOFMS 分析 [J]. 药学实践杂志, 2014, 32(4): 261-265.
- [64] 尹权微, 李家春, 秦建平, 等. UPLC/Q-TOF-MS 快速分析桂枝茯苓胶囊的入血成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(21): 83-86.
- [65] 侯小涛, 郝二伟, 秦健峰, 等. 肉桂的化学成分、药理作用及质量标志物 (Q-marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2017, 48(1): 20-34.
- [66] 张红, 唐朝辉, 李娜, 等. 桂枝茯苓胶囊主要成分含量变化对主要药效学的影响研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(5): 1066-1072.
- [67] 曹泽或, 丁明, 苏真真, 等. 分子烙印-活性筛选结合评价桂枝茯苓胶囊主要成分活性贡献度研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(12): 2420-2427.
- [68] 于艳, 张立德, 田原, 等. HPLC 波长切换法同时测定桂枝茯苓丸中 4 种成分 [J]. 中成药, 2013, 35(11): 2426-2429.