

基于化学全息研究四物汤煎煮溶出规律

乔三洋¹, 王学勇¹, 李 耿^{2*}, 吴宏伟³, 杨洪军³

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029

2. 中日友好医院, 北京 100029

3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

摘要:目的 全面研究四物汤四味饮片单、合煎成分组成及含量变化, 探讨四物汤煎煮物质基础变化规律。方法 基于中药化学全息的理念, 采用 LC-MS/MS 技术鉴定并归属四物汤煎液化学成分, 建立超高效液相色谱法同时测定四物汤单煎、合煎液中多种主要化学成分含量方法; 制备四物汤四味饮片等体积、等倍数的单煎液及合煎液并检测, 比较分析不同煎煮方式下四物汤物质基础差异及变化规律。结果 鉴定并归属四物汤中的 72 种成分, 并对 18 种主要成分定量检测, 定量指标成分在相应的质量浓度范围内线性关系良好, 各自的平均加样回收率在 97%~105%, RSD 值均小于 3%。对不同煎煮方式的样品对比分析可得, 藁本内酯、正丁基苯酞、儿茶素、没食子酸、芍药苷溶出量受到溶剂倍数变化的影响, 桃叶珊瑚苷、儿茶素、氧化芍药苷、芍药苷、毛蕊花糖苷受四物汤配伍合煎影响含量增加显著, 相对于饮片单煎液, 四物汤饮片合煎液成分种类变化不显著, 多种成分含量明显变化。结论 通过化学全息研究, 可较全面对比分析中药复方煎煮与单味饮片煎液化学成分的组成、含量, 为研究探讨中药复方煎煮溶出规律提供新的视角, 在中药质量研究方向进行了有益的探索。

关键词: 四物汤; 超高效液相色谱法; 标准煎液; 化学全息; LC-MS/MS; 等体积; 等倍数; 藁本内酯; 正丁基苯酞; 儿茶素; 没食子酸; 芍药苷; 桃叶珊瑚苷; 儿茶素; 氧化芍药苷; 芍药苷; 毛蕊花糖苷

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)19-4960-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.19.015

Dissolution rule of Siwu Decoction by different decocting methods based on chemistry holography

QIAO San-yang¹, WANG Xue-yong¹, LI Geng², WU Hong-wei³, YANG Hong-jun³

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To study the content variation and chemical composition of Siwu Decoction between mixed decoction and single decoction comprehensively, and then explore variation rule of Siwu Decoction by different decocting methods based on material basis. **Methods** Components of Siwu Decoction were identified by LC-MS/MS and an UPLC wavelength switching method for simultaneously determining the contents of multiple compounds in Siwu Decoction was established based on the idea of TCM chemistry holography. The mixed and single decoction samples were prepared and tested. Experimental data was compared to analyze material basis differences and variation rule of Siwu Decoction by different decocting methods. **Results** A total of 72 compounds were identified and assigned, 18 compounds were quantitative detected and all of 18 analytes showed good linearity ($R^2 \geq 0.999$) within the test range. The relative standard deviations of the precision, repeatability and stability were not exceeding 2.0%, and the recoveries were in the range of 97%—105%. Analysis of Siwu Decoction samples showed dissolution of ligustilide, 3-*n*-butylphthalide, catechin, gallic acid and paeoniflorin was affected by the change of solvent volume and dissolution of aucubin, catechin, oxypaeoniflorin, paeoniflorin and acteoside were higher in mixed decoction than single decoction obviously. Compared to single decoction, the kinds of compounds in mixed decoction did not change significantly but the content showed notable variety.

收稿日期: 2020-04-14

基金项目: 中国中医科学院中央级公益性科研院所基本科研业务项目 (No.ZZ13-019)

作者简介: 乔三洋, 男, 硕士研究生。E-mail: qiaosanyang@163.com

*通信作者 李 耿, 博士, 副主任药师, 从事中药质量和中药产业科技研究。E-mail: 13810507641@163.com

Conclusion Through the study of chemistry holography, the composition and content of compounds in TCM mixed decoction and herbs single decoction can be compared and analyzed comprehensively to provide a new perspective for the study on the rule of TCM decoction and dissolution. TCM chemistry holography study may become a useful exploration of the TCM quality study.

Key words: Siwu Decoction; UPLC; standard decoction; chemistry holography; LC-MS/MS; equal volume; equal multiple; ligustilide; 3-*n*-butylphthalide; catechin; gallic acid; paeoniflorin; aucubin; catechin; oxypaeoniflorin; paeoniflorin; acteoside

中药传统以饮片煎汤入药^[1], 煎煮规律研究对于中药质量研究、新药研发、中医临床合理用药、中药配方颗粒的应用都有重要现实意义。复方饮片合煎是一个极其复杂的动态过程, 在此过程中不同药物的成分之间可能会发生酸碱中和、水解、聚合、缩合、氧化、还原、消除和变性等化学反应, 合煎而成的汤液是包括溶液、胶体、混悬液和乳浊液的多成分复杂体系^[2-5]。中药煎煮研究仍存在着诸多需要完善的环节。四物汤由川芎、当归、白芍、熟地黄 4 味药组成, 始见于隋唐《仙授理伤续断秘方》, 后世多用于多种妇科疾病的治疗, 被称为“妇科圣方”^[6], 也广泛应用于血虚、皮肤科疾病、鼻出血等病症^[7]。现代药理研究表明四物汤具有抗血栓、抗炎、免疫调节、抗缺氧、调血脂、增强心脏泵血功能等作用^[8]。四物汤物质基础较为复杂, 虽有一定研究^[9-11], 但其化学成分定性及定量研究尚不够全面。本研究以四物汤入手, 拟全面比较分析四物汤 4 种饮片单煎液与合煎液的物质基础差异, 探寻四物汤煎煮规律。

全息(holography)是现代科学重要概念, 20 世纪 80 年代以来, 全息一词从物理学的全息影像被引入到生命科学等领域中来, 全息理念为干细胞、再生医学等许多学科发展提供了重要导向。近年来, 中药领域里也出现全息应用的研究探索, 如中药智能化学全息库^[12]、中药全息指纹图谱^[13]、中药全息鉴定^[14]等探讨。目前, 中药全息研究的理念和范畴、框架仍有待于凝炼与升华。中药化学全息是借用“全息”理念来开展中药质量信息研究的策略性设想, 强调中药化学研究“全面、无偏、多维、交叉”。化学信息的“全”即一定时期和技术条件下的全面化学信息; 注意研究方法的“全”, 即对于全部次生代谢产物进行朝向“全提取”(高效、非偏倚的全面提取)、“全分离”(宽极性范围、超高效能的色谱分离)、“全解析”(多维光谱的结构解析)、“全定量”(定量+半定量结合), 系统、全面、深入的研究, 获得研究对象全面的化学成分信息, 并对关键质量信息的量化掌握。因此, “化学全息”在当下, 可以是在限定“常量、微量水平的次生代谢产物”范围内的

“全”, 更强调“无偏的, 非特异”研究。现有分离、分析技术的进步拓展了中药化学成分分析的广度和深度, 实现在微量水平之上次生代谢产物的“化学全息”已经基本可行^[15]。

本研究引入化学全息的研究策略, 在当前的技术视野和仪器检测条件下, 聚焦四物汤中的微量、常量的次生代谢产物, 进行全面无偏差的定性、定量研究, 较为全面的掌握四物汤的物质基础概貌。通过 LC-MS/MS 技术结合对照品对四物汤样品成分鉴定, 并归属各化学成分来源; 以较为全面的定量信息为基础, 建立了用 UPLC 同时定量检测四物汤中 18 种主要成分的方法, 这些成分包括挥发油、酚酸、黄酮萜类等多种类成分, 能较全面地表征出四物汤的物质基础。为了全面反映单、合煎的物质变化规律, 本实验制备四物汤合煎液及 4 种饮片分别进行等倍量单煎(固定料液比)和等体积单煎(固定煎液体积)的标准煎液, 同时还可考察因合煎时产生的溶剂体积变化所造成的影响。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

超高效液相色谱(UPLC) Accuracy 系统, 美国 Waters 公司, 包括二元超高压溶剂系统、自动进样恒温样本管理器、二极管阵列检测器、Empower 3 色谱工作站; Thermo Orbitrap Velos Pro 型高分辨液相色谱质谱联用仪, 包括 Ultimate 3000 液相系统、Velos Pro 和 Orbitrap Velos pro 联用质谱系统、Thermo Flex 900 水箱和工作站数据系统; BSM 220.4 电子天平, 上海卓精电子科技有限公司; FD-2 冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; KQ250DB 型超声仪, 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 试剂

没食子酸(批号 10306-201112)、氧化芍药苷(批号 110789-201608)、儿茶素(批号 110877-201604)、绿原酸(批号 110563-201004)、咖啡酸(批号 110885-200102)、芍药内酯苷(批号 110788-201509)、芍药苷(批号 100736-201438)、阿魏酸(批号 100773-200611)、毛蕊花糖苷(批号 110530-201713)、梓醇(批号 110808-201711)、桃叶珊瑚

昔(批号 111761-200601)、洋川芎内酯 I(批号 20157-201703)、洋川芎内酯 H(批号 20156-201704)、苯甲酰芍药昔(批号 111828-201505)、正丁基苯酞(批号 0321-190422)、藁本内酯(批号 0341-189203)、香草醛(批号 111787-201411)、地黄昔 D(批号 10109-201512)对照品均购于南昌贝塔生物科技有限公司,质量分数均大于 98%;甲醇,色谱纯,德国默克公司;乙腈,色谱纯,美国 Fisher 公司;甲酸,色谱纯,天津市福晨化学试剂厂;屈臣氏纯净水,市售;川芎饮片(批号 1902012)、当归饮片(批号 1902012)、白芍饮片(批号 1902012)、熟地黄饮片(批号 1902011)均为河北百草康神药业有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 样品制备

2.1.1 对照品溶液配制 称取各对照品梓醇 4.39 mg、地黄昔 D 2.67 mg、桃叶珊瑚昔 6.24 mg、没食子酸 4.59 mg、氧化芍药昔 3.57 mg、绿原酸 5.43 mg、儿茶素 4.79 mg、咖啡酸 5.99 mg、芍药内酯昔 5.57 mg、芍药昔 5.85 mg、香草醛 5.91 mg、阿魏酸 6.99 mg、毛蕊花糖昔 4.45 mg、洋川芎内酯 I 2.60 mg、洋川芎内酯 H 7.08 mg、苯甲酰芍药昔 3.40 mg 用甲醇溶解并定容 25 mL,称取正丁基苯酞 3.77 mg、藁本内酯 4.20 mg 用甲醇溶解并定容至 10 mL,即得混合对照品溶液。

2.1.2 四物汤合煎 四物汤处方组成为每味药各 12 g,为避免取样量小造成误差,取四物汤各单味饮片(川芎、白芍、熟地黄、当归)4 倍处方量 48 g 共 192 g 合煎,并平行制备 3 份。为了能反映饮片临床使用时的煎煮规律并保证实验标准、可控,因此按中药饮片标准煎液制备流程进行合煎,即每份煎煮 2 次,每次加 10 倍量水 1 920 mL,浸泡 30 min,煮沸后保持 30 min,三层纱布滤过,合并 2 次滤液,定容 4 000 mL,各吸取 1 mL 煎液用 50%甲醇定容至 2 mL,摇匀,用 0.2 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得四物汤标准合煎液样品(HJ 组,4 味药合煎按标准煎液规定料液比 1:10)。煎液冻干制成浸膏,计算浸膏得率(浸膏得率=浸膏量/生药投入量)。

2.1.3 各饮片等倍量单煎 各饮片等倍量单煎液(DB 组,单味药按标准煎液规定料液比 1:10),分别取四物汤各单味饮片(川芎、白芍、熟地黄、当归)48 g,煎煮 2 次,每次加水 480 mL,浸泡 30 min,煮沸后保持 30 min,三层纱布滤过,之后合并 2 次

滤液,定容至 1 000 mL,平行制备 3 份,各吸取 1 mL 煎液用 50%甲醇定容至 2 mL,摇匀,用 0.2 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得四物汤各单味饮片等倍量单煎样品。煎液冻干制成浸膏,计算浸膏得率。

2.1.4 各饮片等体积单煎 四物汤合煎液溶剂倍数为 10 倍,但相对于其中各单味饮片的相对溶剂倍数则为 40 倍,为避免溶剂体积差异带来的影响,因此设置与四物汤合煎液的溶剂体积相同的各饮片等体积单煎液进行对比。分别取四物汤各单味饮片(川芎、白芍、熟地黄、当归)48 g,煎煮 2 次,每次加水 1 920 mL,浸泡 30 min,煮沸后保持 30 min,三层纱布滤过,合并 2 次滤液,定容 4 000 mL,平行制备 3 份,各吸取 1 mL 煎液用 50%甲醇定容至 2 mL,摇匀,用 0.2 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得四物汤各单味饮片等体积单煎样品(DT 组,同四物汤合煎液的溶剂体积,即料液比 1:40)。煎液冻干制成浸膏,计算浸膏得率,结果见表 1。

表 1 不同煎煮方式浸膏得率

煎煮方式	浸膏得率/%				
	川芎	白芍	当归	熟地	总计
等倍量	17.5 $\pm$ 1.2	11.1 $\pm$ 0.1	25.4 $\pm$ 1.2	32.2 $\pm$ 0.9	21.5 $\pm$ 0.3
等体积	14.6 $\pm$ 1.2	11.3 $\pm$ 0.9	29.8 $\pm$ 2.0	38.1 $\pm$ 2.2	23.4 $\pm$ 0.9
复方合煎	—	—	—	—	22.4 $\pm$ 0.6

2.2 检测条件

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Waters Acquity UPLC TSS T3 柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm);流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液,洗脱梯度:0~1 min, 2%~4%乙腈;1~2 min, 4%~10%乙腈;2~3.5 min, 10%~14.5%乙腈;3.5~3.8 min, 14.5%乙腈;3.8~6.2 min, 14.5%~23%乙腈;6.2~8 min, 23%~46%乙腈;8~11 min, 46%~90%乙腈;11~12 min, 90%乙腈;12~12.1 min, 90%~2%乙腈;检测波长为 205、236、254、324 nm;体积流量为 0.4 mL/min;柱温为 45 $^{\circ}\text{C}$;进样量 2 μL ;样品温度 4 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子源(electrospray ion source, ESI)参数设定如下:正负离子扫描模式,毛细管温度为 350 $^{\circ}\text{C}$,毛细管电压为 35 V,喷雾电压为 3.5 kV,鞘气(N_2)压力为 275.790 kPa(40 psi),辅助气(N_2)压力为 68.948 kPa(10 psi)。样品一级质谱在 FT 模式下进行全扫描,分辨率(R)为 30 000,扫描范围为 m/z 150~1 000。数据采集和分

析采用 Xcalibur 软件。

2.3 成分鉴定及归属

应用 UPLC-Q-TOF-MS 技术, 采用上述“2.2.1”项色谱条件和“2.2.2”项质谱条件对四物汤样品进行分析, 在正、负离子模式下的离子流图见图 1。

为尽可能多的对成分进行定性分析, 本实验采用正负 2 种离子的全扫描检测模式。其中, 正离子模式常见离子为 $[M+H]^+$ 、 $[M+NH_4]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 、 $[2M+H]^+$, 负离子模式常见离子为 $[M-H]^-$ 、 $[M+COOH]^-$ 、 $[2M-H]^-$ 。

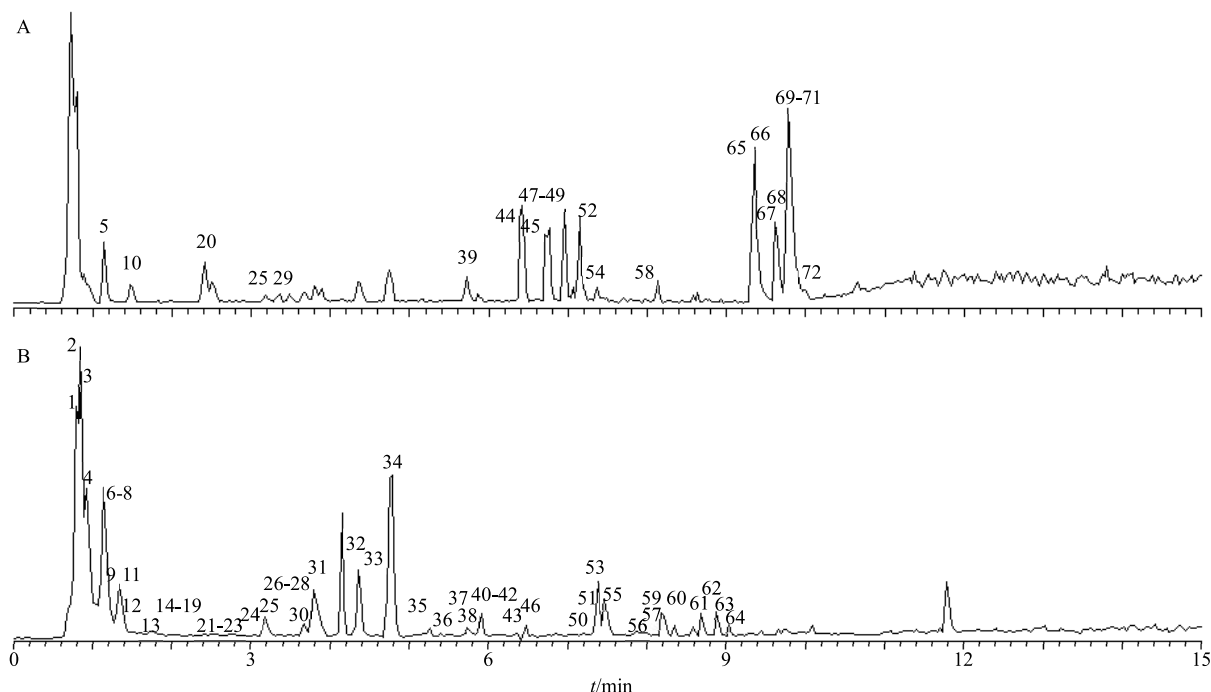


图 1 正 (A)、负 (B) 离子模式四物汤合煎样品的基峰离子流图 (BPC)

Fig. 1 Base peak ion chromatogram (BPC) of Siwu decoction in positive ion mode (A) and negative ion mode (B)

根据一级质谱所得质荷比与二级碎片离子, 结合相关文献信息^[16-19]及对照品, 初步鉴定四物汤化合物, 共鉴定出 72 种成分, 由于四物汤样品为水煎液, 这些成分多为极性成分, 水溶性较好。对应四物汤中的各单味药进行归属, 结果见表 2。

2.4 定量方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项中对照品溶液适量, 按 5、10、100、200、250、500 倍稀释为不同质量浓度梯度的对照品溶液, 按“2.2.1”项中色谱条件分别进样, 测定峰面积。分别以各成分色谱峰面积积分值 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归, 结果见表 3。

2.4.2 精密度考察 精密吸取同一混合对照品溶液, 按“2.2.1”项中色谱条件连续进样 6 次, 测定峰面积, 梓醇、地黄苷 D、桃叶珊瑚苷、没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、儿茶素、咖啡酸、芍药内酯苷、芍药苷、香草醛、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、苯甲酰芍药苷、正丁基苯酞、藁本内酯峰面积的 RSD 值分别为 0.88%、

1.14%、0.53%、1.02%、0.92%、1.15%、0.73%、1.12%、0.91%、0.93%、0.85%、1.53%、0.79%、0.87%、0.63%、0.72%、0.67%、1.19%。

2.4.3 稳定性考察 按“2.1.2”项中方法制备同一供试品溶液 (四物汤合煎液), 按“2.2.1”项中色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样, 测定峰面积, 梓醇、地黄苷 D、桃叶珊瑚苷、没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、儿茶素、咖啡酸、芍药内酯苷、芍药苷、香草醛、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、苯甲酰芍药苷、正丁基苯酞、藁本内酯峰面积的 RSD 值分别为 0.90%、0.97%、0.90%、1.02%、1.08%、0.74%、0.87%、0.89%、1.16%、0.76%、0.60%、0.62%、0.70%、0.75%、2.17%、1.88%、0.67%、2.64%。

2.4.4 重复性考察 按“2.1.2”项中方法平行制备 6 份供试品溶液 (四物汤合煎液), 按“2.2.1”项中色谱条件分别进样, 测定峰面积, 梓醇、地黄苷 D、桃叶珊瑚苷、没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、儿茶素、咖啡酸、芍药内酯苷、芍药苷、香草醛、阿

表 2 四物汤成分鉴定及来源归属

Table 2 Siwu decoction ingredient identification and source attribution

序号	化合物	<i>t_R</i> /min	分子式	离子类型	<i>m/z</i>	MS/MS	归属
1	paeonilactone B	0.79	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	[M-H] ⁻	195.050 7	177.040 6, 159.030 1, 129.019 6	B
2	柠檬酸	0.83	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	191.019 2	111.008 9	S
3	1- <i>O</i> -galloylsucrose 或异构体	0.83	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	493.118 8	331.067 8, 313.057 0, 271.046 5, 169.014 8	B
4	梓醇	0.87	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₀	[M+HCOO] ⁻	407.117 4	361.114 0, 199.061 4, 169.051 0	S
5	腺苷	1.13	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	268.102 5	136.061 8	A
6	桃叶珊瑚苷	1.15	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₉	[M+HCOO] ⁻	391.122 7	345.118 7, 183.066 3, 165.056 0	S
7	6- <i>O</i> -galloylsucrose 或异构体	1.16	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	493.118 8	331.067 8, 313.057 0, 271.046 5, 169.014 8	B
8	牡丹酮-1- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷或异构体	1.29	C ₁₆ H ₂₄ O ₉	[M+HCOO] ⁻	405.139 3	359.135 2, 197.082 4	B
9	没食子酸	1.37	C ₇ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	169.013 8	125.024 6	B
10	苯丙氨酸	1.50	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	166.085 4	120.080 7	C
11	京尼平苷酸	1.52	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	373.112 1	211.061 0, 167.071 4, 149.061 0, 123.045 3	S
12	牡丹皮苷 F 或异构体	1.62	C ₁₆ H ₂₄ O ₈	[M+HCOO] ⁻	389.143 6	343.139 8, 181.087 4, 161.045 9, 151.076 7	B
13	益母草苷	1.85	C ₁₅ H ₂₄ O ₉	[M-H] ⁻	347.132 4	167.071 5, 123.081 7	S
14	去乙酰车叶草苷酸	1.97	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	389.106 6	345.119 1, 209.045 8, 183.066 5, 165.066 1	S
15	8-表番木鳖酸	1.98	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	375.127 4	213.076 9, 169.087 3, 151.076 8	S
16	6- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖基-白芍醇内酯 或异构体	2.01	C ₁₆ H ₂₆ O ₁₉	[M-H] ⁻	361.149 2	199.007 5, 181.087 1, 163.076 6, 137.097 4	B
17	verbasoside	2.01	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	461.163 7	315.108 6, 297.098 1, 135.045 5	S
18	牡丹皮苷 F 或异构体	2.30	C ₁₆ H ₂₄ O ₈	[M+HCOO] ⁻	389.143 8	343.139 8, 181.087 4, 161.045 9, 151.076 7	B
19	地黄苦苷	2.40	C ₁₆ H ₂₆ O ₈	[M-H] ⁻	345.117 2	299.113 3	S
20	<i>D</i> -色氨酸	2.48	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	205.096 2	188.070 8	C
21	牡丹皮苷 F 或异构体	2.52	C ₁₆ H ₂₄ O ₈	[M+HCOO] ⁻	389.143 8	343.139 8, 181.087 4, 161.045 9, 151.076 7	B
22	没食子酸甲酯或异构体	2.54	C ₈ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	183.029 1	168.006 4, 139.040 1, 124.016 8	B
23	芍药苷亚硫酸酯	2.75	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₃ S	[M-H] ⁻	543.116 0	544.121 9, 421.081 3, 375.076 1, 259.028 4, B 213.023 0	B
24	氧化芍药苷	3.08	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	495.149 2	465.140 6, 333.098 2, 299.077 4, 281.066 9	B
25	绿原酸	3.18	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.086 1	191.056 1	CD
		3.20	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	355.100 4	163.039 1, 145.028 5	CD
26	儿茶素	3.27	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	289.070 6	245.081 8, 205.050 7, 179.035 3	A
27	没食子酸甲酯或异构体	3.34	C ₈ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	183.029 4	168.006 5, 124.016 8	A
28	隐绿原酸	3.39	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.086 2	191.056 0, 179.034 9, 173.045 6	CD
29	花椒毒素	3.47	C ₁₂ H ₈ O ₄	[M+H] ⁺	217.096 0	171.091 8, 144.080 8	CD
30	香草酸	3.79	C ₈ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	167.034 3	123.045 2	CD
31	咖啡酸	3.88	C ₉ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.034 3	135.045 2	C
32	芍药内酯苷异构体	4.37	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M+HCOO] ⁻	525.158 3	479.156 0, 357.119 3, 283.082 5	B
33	芍药内酯苷	4.37	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	479.153 1	449.144 8, 357.119 0, 327.108 7, 283.082 5	B
34	芍药苷	4.75	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	479.153 1	449.145 3, 357.119 3, 327.108 6, 267.087 2	B
35	香草醛	5.17	C ₈ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	151.039 4	136.016 4	C
36	地黄紫罗兰苷 A/B	5.27	C ₁₉ H ₃₄ O ₈	[M+HCOO] ⁻	435.222 0	389.217 5	S
37	阿魏酸	5.72	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	193.049 7	178.027 0, 149.060 7, 134.037 4	CD

续表 2

序号	化合物	<i>t_R</i> /min	分子式	离子类型	<i>m/z</i>	MS/MS	归属
38	地黄紫罗兰苷 A/B	5.79	C ₁₉ H ₃₄ O ₈	[M+HCOO] ⁻	435.222 0 389.217 5		S
39	环五(异)亮氨酸	5.85	C ₃₀ H ₅₅ N ₅ O ₅	[M+H] ⁺	566.423 2 548.419 2, 435.334 5, 322.249 9		CD
40	β-五没食子酰葡萄糖	5.86	C ₄₁ H ₃₂ O ₂₆	[M-H] ⁻	939.100 7		B
41	没食子酰芍药苷或异构体	5.93	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	631.164 1 509.131 2, 465.141 4, 313.057 1, 271.046 7, 211.025 5		B
42	毛蕊花糖苷	5.74	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.194 9 461.166 1		S
43	异毛蕊花糖苷	6.33	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.194 9 461.166 1		S
44	环六(异)亮氨酸	6.38	C ₃₆ H ₆₆ N ₆ O ₆	[M+H] ⁺	679.507 9 679.514 5, 661.505 1, 548.420 1, 435.335 2, 322.250 5		D
45	藁本酮	6.38	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	[M+H] ⁺	249.108 3		C
46	没食子酰芍药苷或异构体	6.46	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	631.165 0 509.130 5, 481.135 6, 463.125 0, 313.056 7		B
47	腺嘌呤	6.86	C ₅ H ₅ N ₅	[M+H] ⁺	136.074 8 118.065 0, 107.085 3, 91.053 9		S
48	川芎酚	6.90	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	[M+H] ⁺	207.100 0 189.090 9, 179.106 5, 165.090 9, 161.096 0, 133.101 0		C
49	环四(异)亮氨酸	6.98	C ₂₄ H ₄₄ N ₄ O ₄	[M+H] ⁺	453.340 4 444.338 4, 435.333 1, 387.796 3, 341.243 5, 228.159 4		BCD
50	地黄苷 A	7.10	C ₂₁ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	523.178 0 361.128 8, 343.118 3, 193.050 6		S
51	芍药新苷	7.16	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀	[M+HCOO] ⁻	507.148 4 461.145 3, 339.108 5, 177.056 9		B
52	洋川芎内酯 I	7.16	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	[M+H-H ₂ O] ⁺	207.100 0 189.091 9, 179.106 5, 165.090 9, 161.096 1, 133.101 0		CD
53	苯甲酰羟基芍药苷	7.34	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	599.174 4 551.156 6, 477.140 4, 433.151 0, 281.066 8		B
54	洋川芎内酯 H	7.38	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	[M+H-H ₂ O] ⁺	207.100 0 189.091 9, 179.106 5, 165.090 9, 161.096 1, 133.101 0		CD
55	β-10-蒽烯基-β-巢菜苷或异构体	7.41	C ₂₁ H ₃₄ O ₁₀	[M+HCOO] ⁻	491.211 5 445.208 0, 293.087 9		B
		7.41	C ₂₁ H ₃₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	445.206 5 315.181 3, 293.088 0, 233.066 4, 191.056 1, 149.045 8		B
56	苯甲酰芍药苷	7.92	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	[M+HCOO] ⁻	629.184 1 583.182 6, 553.173 5, 461.145 5, 431.135 1		B
57	苯甲酰芍药内酯苷	7.95	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	[M+HCOO] ⁻	629.184 1 583.182 0, 553.172 1, 431.134 9, 387.108 4		B
58	补骨脂素	8.01	C ₁₁ H ₆ O ₃	[M+H] ⁺	187.074 1 169.064 9, 159.080 5, 145.064 8, 131.085 6		D
59	洋川芎内酯 B/C/E	8.06	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	[M-H] ⁻	203.070 1 159.081 4, 148.016 6, 130.042 4		D
60	三羟基十八碳烯酸	8.26	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	[M-H] ⁻	329.231 8 311.222 6, 293.212 1, 229.144 3, 211.133 8, 171.102 7		C
61	环氧藁本内酯	8.72	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	[M-H] ⁻	205.086 1 161.097 0, 148.016 4, 132.058 0		C
		8.72	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	[M-H-CO ₂] ⁻	161.040 0		C
62	阿魏酸松柏酯	8.85	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	解离阿魏酸	193.049 8 178.027 0, 149.060 8, 134.037 4		CD
		8.85	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	解离松柏醇	179.055 1 134.044 2		CD
63	洋川芎内酯 B/C/E	8.96	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	[M-H] ⁻	203.070 1 159.081 4, 148.016 6, 130.042 4		D
64	洋川芎内酯 B/C/E	9.13	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	[M-H] ⁻	203.070 1 159.081 4, 148.016 6, 130.042 4		D
65	洋川芎内酯 A	9.34	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	[M+H] ⁺	193.121 3 173.101 5, 119.050 2		CD
66	正丁基苯酞	9.36	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	[M+H] ⁺	191.105 6 173.096 2, 163.111 8, 155.085 6, 149.059 7, 145.101 3		C
67	藁本内酯 E	9.58	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	[M+H] ⁺	191.105 6 173.096 2, 163.111 8, 155.085 6, 149.059 7, 145.101 3		CD
68	藁本内酯 Z	9.73	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	[M+H] ⁺	191.105 6 173.096 2, 163.111 8, 155.085 6, 149.059 7, 145.101 3		D
69	新蛇床内酯	9.77	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	[M+H] ⁺	195.142 1 177.131 2, 149.133 4		C
70	丁烯基苯酞	9.78	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	[M+H] ⁺	189.090 9 171.080 6, 153.074 3, 145.100 8, 117.070 1		C
71	藁本内酯 Z	9.79	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	[M+H] ⁺	191.105 6 173.096 2, 163.111 8, 155.085 6, 149.059 7, 145.101 3		C
72	欧当归内酯 A	10.65	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	[M+H] ⁺	381.210 0 191.106 5		C

A-四物汤中的所有饮片 B-白芍 C-川芎 D-当归 S-熟地黄

A-All kinds of traditional Chinese medicine in Siwu decoction B-*Paeoniae Radix Alba* C-*Chuanxiong Rhizoma* D-*Angelicae Sinensis Radix* S-*Rehmanniae Radix Praeparata*

表 3 18 种成分标准曲线结果
Table 3 Calibration curves of 18 components

成分	t_R/min	回归方程	r^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
儿茶素	3.83	$Y=47\,541\,445.03 X-4\,957.24$	0.999 6	0.38~27.31
洋川芎内酯 I	7.58	$Y=8\,031\,638.67 X+6\,982.96$	0.999 8	0.21~104.00
咖啡酸	4.30	$Y=17\,113\,821.00 X+2\,760.63$	0.999 9	0.48~239.60
绿原酸	3.87	$Y=8\,614\,932.60 X+2\,137.32$	0.999 9	0.43~217.20
氧化芍药苷	3.77	$Y=5\,301\,544.34 X-1\,155.00$	0.999 6	0.29~20.40
阿魏酸	6.12	$Y=16\,705\,066.54 X-2\,585.16$	0.999 9	0.56~39.94
洋川芎内酯 H	7.78	$Y=15\,295\,601.05 X+1\,828.25$	0.999 9	0.56~40.46
梓醇	1.50	$Y=1\,858\,261.50 X-2\,125.82$	0.999 9	3.51~175.60
桃叶珊瑚苷	2.25	$Y=2\,260\,708.40 X+2\,115.78$	0.999 7	0.49~249.60
地黄苷 D	2.38	$Y=906\,045.59 X+309.58$	0.999 9	2.14~106.80
毛蕊花糖苷	6.44	$Y=4\,561\,407.25 X+953.47$	0.999 0	0.36~22.25
藁本内酯	10.36	$Y=7\,275\,586.54 X-25\,431.82$	0.999 8	0.84~420.00
芍药内酯苷	4.95	$Y=3\,203\,400.23 X+3\,180.87$	0.999 3	4.46~222.80
芍药苷	5.33	$Y=3\,735\,533.53 X+1\,142.35$	0.999 9	4.68~234.00
苯甲酰芍药苷	8.35	$Y=6\,285\,464.09 X-2\,389.17$	0.999 9	2.72~136.00
正丁基苯酞	10.32	$Y=6\,932\,309.77 X+357.51$	0.999 2	0.75~47.13
没食子酸	1.96	$Y=32\,808\,122.54 X-22\,528.44$	0.999 9	3.67~183.60
香草醛	5.14	$Y=8\,357\,669.40 X-3\,176.23$	0.999 9	0.47~236.40

魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、苯甲酰芍药苷、正丁基苯酞、藁本内酯质量浓度的 RSD 值分别为 1.00%、1.07%、1.17%、1.04%、1.27%、1.04%、1.20%、1.01%、1.03%、0.97%、1.07%、0.98%、1.18%、1.19%、1.25%、0.94%、1.18%、0.95%。

2.4.5 加样回收率考察 按“2.1.2”项中方法平行制备 6 份供试品溶液(四物汤合煎液),分别加入与样品中待测成分含量相当的对照品溶液适量,制备供试品溶液。按“2.2.1”项中色谱条件分别进样,测定峰面积,梓醇、地黄苷 D、桃叶珊瑚苷、没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、儿茶素、咖啡酸、芍药内酯苷、芍药苷、香草醛、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、苯甲酰芍药苷、正丁基苯酞、藁本内酯的平均加样回收率分别为 98.43%、101.99%、103.11%、103.30%、102.75%、98.32%、98.66%、100.87%、102.57%、99.58%、102.65%、101.17%、103.24%、99.79%、104.39%、99.41%、103.10%、99.96%, RSD 值分别为 2.27%、1.22%、1.26%、2.23%、1.25%、1.30%、1.32%、1.37%、1.28%、1.39%、1.32%、1.35%、1.23%、1.40%、1.20%、1.41%、1.27%、1.43%。

2.5 样品检测

取四物汤样品(平行制备 3 份),进样 2 μL ,记录色谱图与峰面积,计算样品中各个成分的浓度,最终得出煎液中各个成分的质量(mg),由于所有煎液中的各单味饮片取样量均为 48 g,直接对比成分的溶出质量能够更加直观的反映出成分含量的变化,结果见表 4。对照品及样品色谱峰图见图 2。

2.6 数据分析

分别通过直观对比成分含量变化及统计分析方法对数据进行分析。

2.6.1 不同煎煮方式对成分溶出含量对比 对比等倍量样品(DB)与等体积样品(DT)溶出量(表 4 及图 3,香草醛含量量级过小,未在图中表示),得出由溶剂倍数差异导致溶出量变化的成分。等体积样品中的咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 H、地黄苷 D、没食子酸、芍药内酯苷、藁本内酯、正丁基苯酞则有明显提升(溶出量增加 $\geq 10\%$),其中藁本内酯和正丁基苯酞溶出量增加到原来的 2 倍以上,而儿茶素、绿原酸、芍药苷、苯甲酰芍药苷则溶出量有所下降,上述成分在溶出量会受到溶剂体积变化的影响;其余成分溶出量变化在 $\pm 5\%$ 以内波动,这

表 4 四物汤中 18 种成分溶出量

Table 4 Contents of 18 ingredients in Siwu Decoction dissolution

成分	溶出量 (等倍量法) /mg					溶出量 (等体积法) /mg					溶出量 (合煎) /	
	当归	川芎	白芍	地黄	合计	当归	川芎	白芍	地黄	合计	mg	
没食子酸	NA	NA	97.84±3.41	NA	97.84±3.41	NA	NA	128.40±0.33	NA	128.40±0.33	99.06±7.33	
羟基芍药苷	NA	NA	8.42±0.25	NA	8.42±0.25	NA	NA	8.55±0.61	NA	8.55±0.61	12.70±0.64	
儿茶素	NA	NA	9.86±0.57	NA	9.86±0.57	NA	NA	6.87±1.44	NA	6.87±1.44	13.17±1.08	
绿原酸	6.20±0.25	22.26±1.34	NA	NA	28.36±2.45	6.86±0.43	18.31±0.97	NA	NA	25.16±0.56	31.15±1.97	
咖啡酸	2.34±0.34	5.42±0.98	NA	NA	7.91±0.81	2.44±0.13	5.99±0.87	NA	NA	9.43±0.59	7.66±0.30	
芍药内酯苷	NA	NA	197.84±9.52	NA	197.84±9.52	NA	NA	219.83±21.77	NA	219.83±21.77	207.95±6.82	
芍药苷	NA	NA	1 078.83±30.22	NA	1 078.83±30.22	NA	NA	893.21±59.49	NA	893.21±59.49	1 112.17±41.49	
阿魏酸	36.64±2.45	65.54±3.31	NA	NA	102.18±1.08	37.61±2.43	62.40±4.51	NA	NA	120.01±3.37	83.42±5.68	
毛蕊花糖苷	NA	NA	NA	10.74±0.14	10.74±0.14	NA	NA	NA	10.10±0.46	10.10±0.46	13.78±0.48	
梓醇	NA	NA	NA	76.86±2.02	76.86±2.02	NA	NA	NA	73.11±0.83	73.11±0.83	80.48±4.33	
洋川芎内酯 I	28.07±3.22	115.30±3.43	NA	NA	146.55±1.18	44.50±4.21	107.11±4.66	NA	NA	151.60±5.10	156.20±4.52	
洋川芎内酯 H	3.96±0.51	13.61±0.56	NA	NA	17.89±0.63	4.08±0.46	13.79±0.52	NA	NA	19.87±0.40	18.83±1.11	
苯甲酰芍药苷	NA	NA	18.96±2.04	NA	18.96±2.04	NA	NA	17.42±0.93	NA	17.42±0.93	22.94±1.27	
桃叶珊瑚苷	NA	NA	NA	10.66±0.97	10.66±0.97	NA	NA	NA	10.24±0.67	10.24±0.67	32.52±7.78	
正丁基苯酞	4.43±0.18	6.35±0.20	NA	NA	10.78±0.09	7.26±0.43	18.64±0.32	NA	NA	25.78±0.26	17.30±0.90	
藁本内酯	27.22±2.32	19.22±1.98	NA	NA	46.05±1.44	78.40±3.45	35.15±3.32	NA	NA	113.55±2.80	81.04±1.40	
地黄苷 D	NA	NA	NA	94.94±4.37	94.94±4.37	NA	NA	NA	105.64±2.94	105.64±2.94	111.56±14.95	
香草醛	NA	1.95±0.10	NA	NA	1.95±0.10	NA	1.70±0.24	NA	NA	1.70±0.24	1.88±0.20	

等倍量法合计: 等倍量煎煮样品中的成分含量相加; 等体积法合计: 等体积煎煮样品中的成分含量相加; NA: 样品中未检测到可定量信号

The sum of same solvent multiple group: The sum of compound content in same solvent multiple group. The sum of same solution volume group: The sum of compound content in same solution volume group. NA: No quantifiable signal detected in samples

些成分在单煎到合煎的过程中受到溶剂体积差异的影响较小。

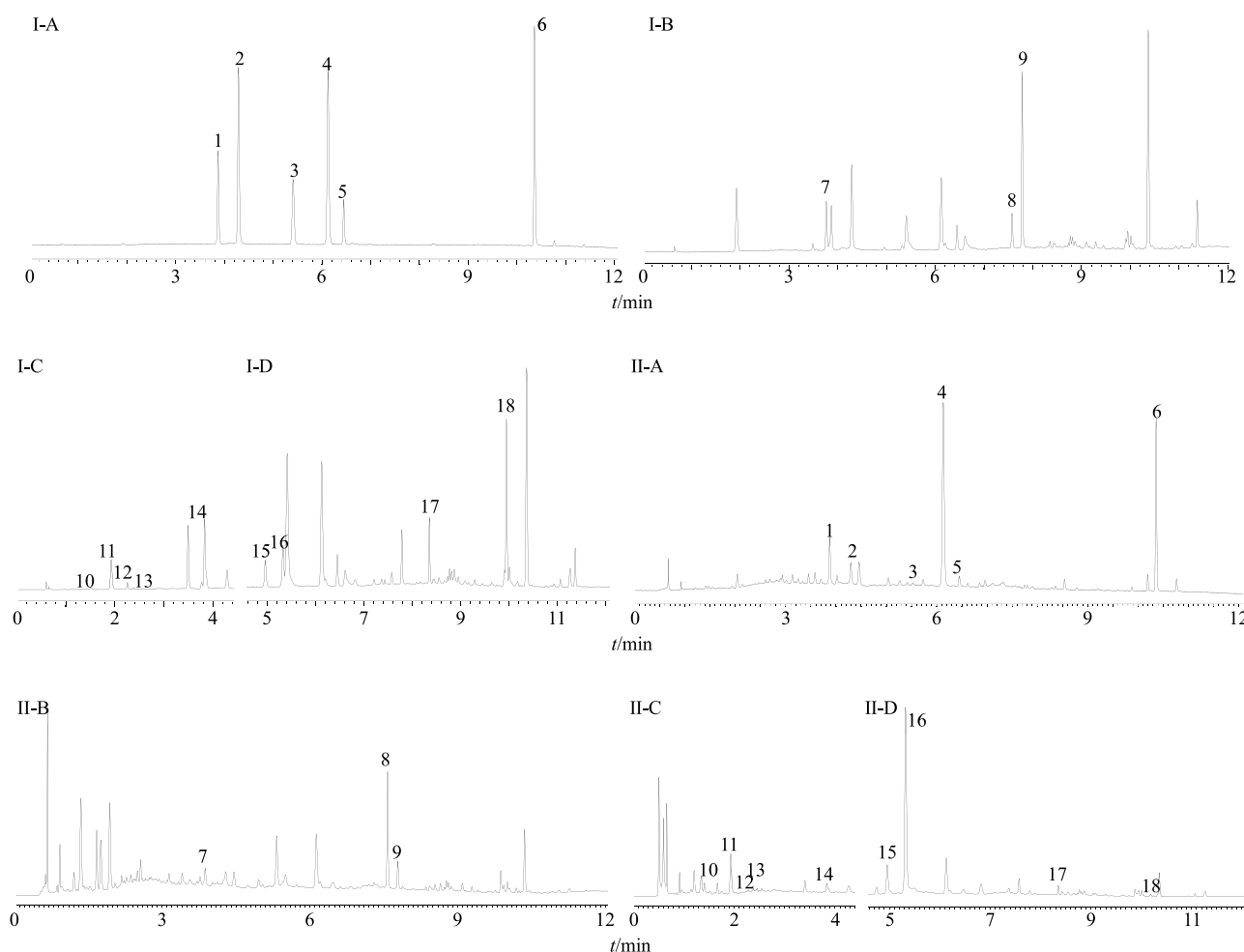
对比等体积样品与合煎样品 (HJ) 溶出量 (见表 4 及图 3), 可直观地分析出受多味药配伍合煎影响较大的化学成分。合煎样品中的儿茶素、绿原酸、氧化芍药苷、桃叶珊瑚苷、毛蕊花糖苷、芍药苷及苯甲酰芍药苷溶出量明显高于等体积样品, 其中合煎样品中的儿茶素、氧化芍药苷和桃叶珊瑚苷分别为等体积样品中的 1.9、1.5、3.2 倍, 而咖啡酸、阿魏酸、藁本内酯、正丁基苯酞和没食子酸的溶出量则明显较低; 其余成分溶出量相当 (含量变化在 ±5% 左右波动), 差异较小。

对比等倍量样品与合煎样品溶出量 (见表 4 及图 3), 较为整体反映出单煎与合煎的成分溶出量差异。合煎样品中的儿茶素、洋川芎内酯 I、氧化芍药苷、绿原酸、桃叶珊瑚苷、毛蕊花糖苷、苯甲酰芍药苷、正丁基苯酞、藁本内酯、地黄苷 D 溶出量明显提升, 其中桃叶珊瑚苷溶出量增加变化大于

200%, 而阿魏酸溶出受到抑制; 其余成分变化率在 ±5% 以内波动, 差异较小。

2.6.2 统计分析 使用 Simca-p13.0 软件, 以 18 种成分作为变量, 按不同煎煮方式分组, 首先对所有样品进行主成分分析 (PCA), 结果如图 4, 前 2 个主成分累积贡献率为 86.2%, 3 组样品组内聚拢, 组间分离趋势明显, 表明不同煎煮方式下的四物汤样品的成分溶出量具有明显差异。

再分别对各组样品两两之间进行偏最小二乘法分析 (PLS-DA), 结果见图 5~7, 3 个 PLS-DA 模型的前 2 主成分累积贡献率分别为等倍量单煎 (DB)-等体积单煎 (DT): 86.7%, 等体积单煎 (DT)-合煎 (HJ): 87.6%, 等倍量单煎 (DB)-合煎: 85.3%。其中造成 DB-DT 差异性的主要变量 (VIP>1, 成分对样品差异性贡献显著) 为藁本内酯、正丁基苯酞、儿茶素、没食子酸、芍药苷, 表明这些成分溶出受溶剂体积变化影响较大; 造成 DT-HJ 差异性的主要变量为桃叶花糖苷、儿茶素、



A-324 nm B-254 nm C-205 nm D-236 nm 1-绿原酸 2-咖啡酸 3-香草醛 4-阿魏酸 5-毛蕊花糖苷 6-藜本内酯 7-氧化芍药苷 8-洋川芎内酯 I 9-洋川芎内酯 H 10-梓醇 11-没食子酸 12-桃叶珊瑚苷 13-地黄苷 D 14-儿茶素 15-芍药内酯苷 16-芍药苷 17-苯甲酰芍药苷 18-正丁基苯酐

A-324 nm B-254 nm C-205 nm D-236 nm 1-chlorogenic acid 2-caffeic acid 3-vanillin 4-ferulic acid 5-acteoside 6-ligustilide 7-oxypaeoniflorin 8-senkynolide I 9-senkynolide H 10-catalpol 11-gallic acid 12-aucubin 13-rehmannioside D 14-catechin 15-albiflorin 16-paeoniflorin 17-benzoylpaeoniflorin 18-3-*n*-butylphthalide

图 2 18 种成分混合对照品 (I) 及四物汤样品 (II) 的色谱峰图

Fig. 2 Chromatograms of 18 ingredient standards in mixed reference substances (I) and Siwu Decoction samples (II)

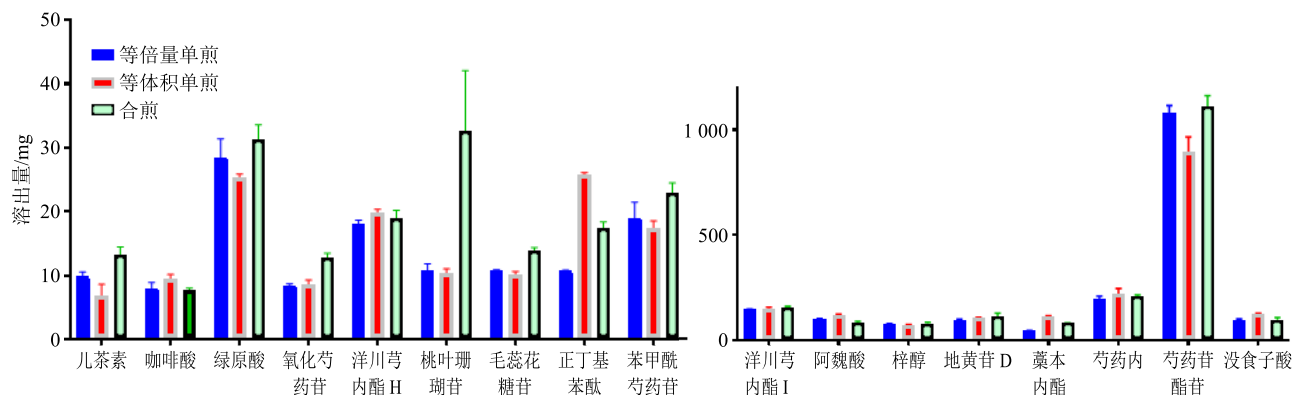


图 3 化学成分在不同煎煮方式下的溶出量对比

Fig. 3 Dissolution contents of ingredients in different decocting methods

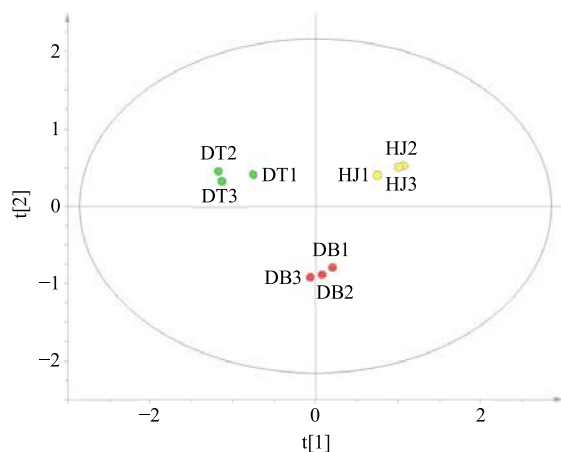


图 4 不同煎煮方式四物汤样品 PCA 散点图

Fig. 4 PCA score scatter plot of Siwu Decoction samples in different decocting methods

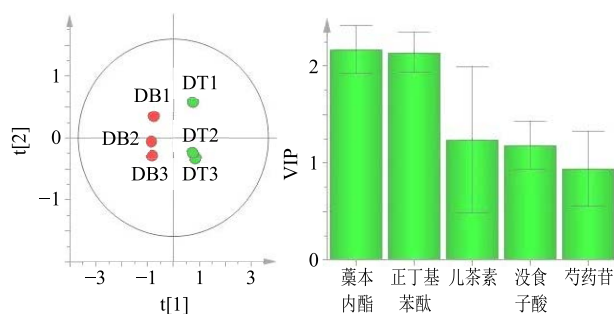


图 5 DB-DT 的 PLS-DA 散点图及 VIP 图

Fig. 5 PLS-DA score scatter plot and VIP plots of Siwu Decoction samples in group DB and group DT

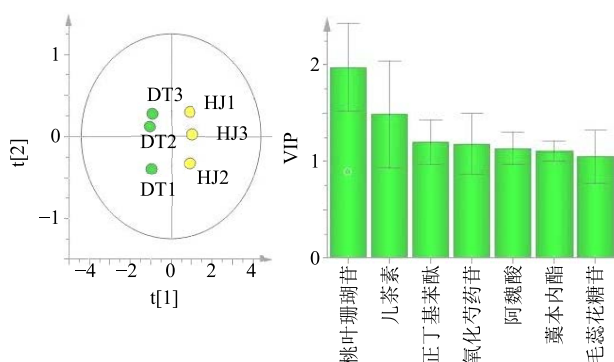


图 6 DT-HJ 的 PLS-DA 散点图及 VIP 图

Fig. 6 PLS-DA score scatter plot and VIP plot of Siwu Decoction samples in group DT and group HJ

正丁基苯酐、氧化芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、毛蕊花糖苷,表明以上成分在配伍合煎过程中所产生的含量变化显著;造成 DB-HJ 差异性的主要变量为桃叶珊瑚苷、藁本内酯、正丁基苯酐、氧化芍药苷、儿茶素、毛蕊花糖苷,上述成分可视为单煎与饮片合煎成分含量差异的标志物。PCA、PLS-DA 统计

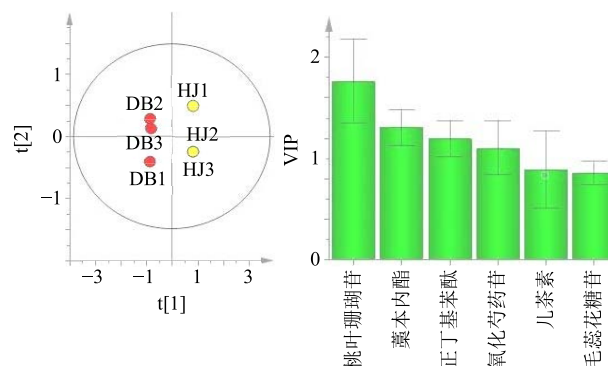


图 7 DB-HJ 的 PLS-DA 散点图及 VIP 图

Fig. 7 PLS-DA score scatter plot and VIP plot of Siwu Decoction samples in group DB and group HJ

分析与前文直观含量对比结果一致。

2.6.3 成分煎煮溶出变化规律分析 根据直观对比及统计分析结果,结合各成分类别和结构,分析煎煮溶出变化规律。统一按照中药标准煎液制备流程的前提下,对比单煎与合煎,首先各单味药相对溶剂倍数的差异导致部分成分溶出量明显增加,如咖啡酸(绿原酸的前体)、阿魏酸、没食子酸等桂皮酸、苯甲酸类成分在等体积单煎样品中的溶出量高于等倍量单煎,这几类成分多为有机合成的前体化合物;同时单煎到合煎的过程中又受到了配伍合煎的影响,上述前体化合物的溶出量在合煎过程中降低,而绿原酸、氧化芍药苷等成分含量显著提高,这些成分可由前体化合物经合成、氧化、取代反应生成,如绿原酸由咖啡酸合成、氧化芍药苷及苯甲酰芍药苷分别为芍药苷的氧化、酯化产物。此外,正丁基苯酐、藁本内酯等挥发性成分在水煎液中的溶解度较低,因此在合煎过程中的溶出量的变化主要受到相对溶剂倍数变化的影响。

3 讨论

中医药是复杂、整体的系统科学,中药是关联、动态的复杂体系。中药的整体性与系统性,既体现在化学上的多成分,又体现在作用活性的多系统、多靶点、多元相关。近年来,随着世界踏入万物互联的大数据时代,大数据思维成为破局复杂系统关系规律研究的重要武器,以复杂性、系统性为特征的中医药学科,尤其中药质量控制技术和理念也将从大数据思维获得新启示,借力大数据实现新跨越。随着中药质量标志物、中药整合质量观(中药大质量观)等新理念、策略的形成,各种现代分析仪器技术的发展及应用,中药质量研究的广度和深度都大大的加深;智能识别、信息传感器等技术的快速

发展,使得未来中药质量信息数据采集的效率和广度均大大的提升。当前,中药质量研究正产生由现象到本质、由小数据到大数据、从静态到动态变化、从与效应关联到质量形成机制,由数据处理计算到智能分析和智慧决策的变化,需要质量控制与监测技术做出相应的变革。跳出因果关系的思维桎梏,采用相关关系的模式来直接辨识优质中药与质量属性的关系,成为大数据时代中药质量控制的重要技术瓶颈节点。

中药的物质基础是化学成分,而药理活性则是依附于物质基础而存在的属性和效应。如果能从整体上把握了中药物质基础的这个客观存在,也就自然的掌握了依附于其上的整体药理活性。因此在对中药的化学成分全面信息量化比较分析基础上的“化学全息”,构建“特征成分鉴品种,主要成分控质量,有害成分控限量”的综合质量控制体系,是较为符合中医药特点的质控研究思路。中药化学全息应用于中药领域,是推动大数据时代中药质量控制变革的有益探索。

作为传统中药复方汤剂,四物汤的临床应用基于四味药配伍合煎而产生的复杂效应,而非各单味药成分单纯的叠加。各单味药的原药材或饮片的物质基础与中药汤剂相比存在差异,为了能反映汤剂临床使用时物质基础并保证实验标准、可控,故本实验将四物汤及其各单味药的汤剂作为研究对象,并按中药饮片标准煎液制备流程进行煎煮提取。

四物汤临床应用广泛,药理作用多元,用少数几种简单药效实验模型难以表征四物汤的整体药效,反映其系统性与整体性特征。本研究基于中药化学全息理念,确定了朝向“全分离”的四物汤 UPLC 提取、检测条件,对四物汤中的 72 种成分进行初步鉴定,并对成分的来源药材进行归属,以此为基础较为广泛地筛选了定量指标成分,包括药典中规定的各单味药指标成分(当归、川芎-阿魏酸、白芍-芍药苷、熟地黄-毛蕊花糖苷)在内的 18 种成分,这些指标成分从极性到非极性较均匀分布,且挥发油、酚酸、有机酸、黄酮、鞣质、萜类等各类成分都有所涉及,可以对四物汤的主要物质基础进行整体表征,能够较为清晰全面地反映出四物汤单合煎成分组成及含量变化规律。这些成分在本实验的液相色谱检测条件下响应较高,分离较好,可以满足检测要求。

四物汤合煎液与各饮片单煎液相比,未发现含

量显著的新成分产生,但多种成分含量发生明显变化。各味饮片进行合煎时,首先由于溶剂倍数的变化影响部分前体化合物的溶出量;再受到配伍合煎的影响,在此过程中存在促进这些前体化合物的氧化、取代及合成产物转化生成的趋势,且四物汤中的部分挥发性成分含量易受到溶剂倍数影响,因此本研究为四物汤及衍生成药和复方的质量控制、评价以及提取制备工艺的考察提供了一定的研究基础,也为饮片临床配伍应用及剂量确定提供了可参考依据。

本研究通过四物汤的化学全息研究,较为全面的对比四物汤饮片合煎液与饮片标准煎液化学成分的组成、含量,分析四物汤煎煮过程多种成分的溶出规律及过程中发生的多种复杂效应,进而探讨中药复方煎煮过程中的基本现象规律。虽然目前中药化学全息的策略、路径、方法仍有待深化,中药复方煎煮溶出规律也有待深入剖析,但这种中药化学全息理念的探索,在逐渐到来大数据信息化、人工智能、万物互联时代,在逐步统一中药化学数据信息规范后,可以在不同研究机构、不同时期的数据间进行对比,可以逐渐发挥其作为中药物质基础及质量基础量化信息底层数据的基础作用。

参考文献

- [1] 王凤秀,翟华强,王永炎,等. 中药煎煮历史源流与技术研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2018, 2: 109-112.
- [2] 殷佳,潘晔,蔡雪朦,等. 中药传统汤剂、浸膏剂和配方颗粒剂的比较 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3871-3875.
- [3] 郑飞,王微,于珊珊,等. 高效液相色谱-飞行时间质谱联用法分析人参及人参皂苷与山楂配伍过程中的水解行为 [J]. 应用化学, 2017, 34(6): 723-728.
- [4] 王勇,夏博,邓晓春. 马兜铃酸 I 在煎煮过程中的缩合反应研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1288-1292.
- [5] 苏一辉. 应重视中药汤剂的服法 [J]. 中国药业, 1996(12): 44.
- [6] 叶亮. 四物汤产生源流及其组成药物的相关研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2009.
- [7] 刘春杰,刘奕兵,杨丽华,等. 四物汤作用机制的网络药理学初步分析 [J]. 中药材, 2019(8): 1896-1902.
- [8] 李明. 四物汤及其加味方的药效作用比较 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2002.
- [9] Su S L, Cui W X, Zhou W, *et al.* Chemical fingerprinting and quantitative constituent analysis of Siwu decoction categorized formulae by UPLC-QTOF/MS/MS and

- HPLC-DAD [J]. *Chin Med*, 2013, 8(1): 5.
- [10] 盛戡欣, 果德安. 四物汤共煎液与单煎混合液主要成分的含量比较 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25(1): 1-4.
- [11] 郭永生, 陶建生. 当归补血汤、四物汤单煎与共煎提取物中化学成分的比较研究 [J]. 中成药, 1996(11): 9-10.
- [12] 蔡少青, 王旋, 梁鑫淼, 等. 中药质量控制的研究策略——中药智能化学全息库的研究建立 [A] // 第四届中国新医药博士论坛论文集 [C]. 北京: 中华中医药学会糖尿病分会, 1999.
- [13] 吴 燕. 中药质量控制中的中药全息指纹图谱模式识别方法的研究及应用 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2013.
- [14] 周娟娟, 刘训红, 吴良伟, 等. 中药全息鉴定数据库 (DACM) 研制 [J]. 现代中药研究与实践, 2012, 2: 25-27.
- [15] 李 耿. 基于化学全息数字化的藁本分类和辨识研究 [D]. 北京: 北京师范大学, 2015.
- [16] 张波泳, 江振作, 王跃飞, 等. UPLC/ESI-Q-TOF MS 法分析鲜地黄、生地黄、熟地黄的化学成分 [J]. 中成药, 2016, 38(5): 1104-1108.
- [17] 胡 杨. 川芎化学成分分离提取及结构鉴定研究 [D]. 长春: 长春师范大学, 2013.
- [18] 杨 帆, 肖远胜, 章飞芳, 等. 当归化学成分的 HPLC-MS/MS 分析 [J]. 药学报, 2006(11): 1078-1083.
- [19] 贺 晶, 高晓霞, 田俊生, 等. UPLC-MS 背景扣除法联合代谢组学技术分析柴胡-白芍药对配伍前后化学成分变化 [J]. 中草药, 2018, 49(8): 1779-1788.