

基于化学特征与核心功效分析经典名方桃红四物汤复方合煎与单煎差异研究

成颜芬¹, 杜克群¹, 吴亿晗¹, 杨青波², 段毅², 胥海婷¹, 韩晓琴¹, 傅超美¹, 何瑶^{1*}, 章津铭^{1*}

1. 成都中医药大学药学院 西南中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137

2. 贵州益佰制药股份有限公司, 贵州 贵阳 550000

摘要: 目的 通过分析桃红四物汤 (Taohong Siwu Decoction, TSD) 合煎和单煎混合冻干粉之间化学成分、核心药效的差异性, 探讨 TSD 经典名方制剂与单味药配方颗粒临床灵活应用的合理性。方法 采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS 对 TSD 基准样品合煎与单煎混合样品进行定性鉴定分析, 同时测定合煎与单煎混合样品中 9 种指标成分的含量, 比较单煎与合煎样品中成分的含量; 并从调经止痛的核心药效建立大鼠急性痛经模型, 对比评价二者药效差异。结果 通过 UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS 技术分析初步鉴定并归属 TSD 合煎和单煎冻干粉中共有 31 种化学成分, 在成分种类上无明显差异; 进一步测定其中 9 种成分的含量, 结果表明, 单煎混合样品相较于合煎样品, 芍药苷、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A 含量相对降低, 而没食子酸、绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、5-羟甲基糠醛、毛蕊花糖苷含量相对升高, 且对 9 种成分含量进行统计学分析表明二者之间含量未有明显差异 ($P>0.05$), 说明这些成分不受合煎与单煎体系的影响; 干膏得率结果表明, 单煎混合样品的平均干膏得率与合煎样品差异不大。调经止痛核心药效实验结果表明, 与模型组相比, 合煎与单煎混合样品组均能延长大鼠扭体潜伏期、降低扭体次数, 显著降低血清中前列腺素 $F_{2\alpha}$ (prostaglandin $F_{2\alpha}$, $PGF_{2\alpha}$)、前列腺素 E_2 (prostaglandin E_2 , PGE_2)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 与子宫组织中 Ca^{2+} 、内皮素-1 (endothelin 1, ET-1)、NO 水平 ($P<0.05$), 改善子宫上皮细胞炎症、水肿等病理变化, 具有一定的缓解痛经作用, 合煎和单煎混合样品在功效上未见显著差异。结论 TSD 复方合煎与单煎基准样品在化学成分种类、含量及核心药效上均未见明显差异, 为其复方制剂与单味药配方颗粒制剂的临床合理应用与评价提供参考依据, 也进一步为实现在古代经典名方基础上随证加减单味药配方颗粒的临床个性化用药方式提供研究基础。

关键词: 桃红四物汤; 经典名方; 合煎; 单煎; 化学特征; 核心药效; UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS; 急性痛经模型; 前列腺素; 血管内皮生长因子; 内皮素-1

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)19-5879-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.19.011

Difference between combined decoction and single decoction of Taohong Siwu Decoction based on integrated research of chemical characteristics and core efficacy

CHENG Yan-fen¹, DU Ke-qun¹, WU Yi-han¹, YANG Qing-bo², DUAN Yi², XU Hai-ting¹, HAN Xiao-qin¹, FU Chao-mei¹, HE Yao¹, ZHANG Jin-ming¹

1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Guizhou Yibai Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550000, China

Abstract: Objective In order to study the differences in chemical composition and core efficacy between the combined decoction and single decoction of Taohong Siwu Decoction (TSD, 桃红四物汤), explore the rationality of the flexible application of classic

收稿日期: 2021-04-30

基金项目: 四川省科技计划项目 (2020YFS0567); 四川省科技计划项目 (2021YFS0256)

作者简介: 成颜芬, 博士研究生, 从事中药新制剂与新剂型研究。Tel: 18408257834 E-mail: chengyanfen122@126.com

*通信作者: 何瑶, 副教授, 从事中药新制剂和新剂型研究。E-mail: 20660306@qq.com

章津铭, 教授, 从事中药新制剂和新剂型研究。E-mail: cdutcmzjm@126.com

prescription preparation and single prescription granules of TSD in clinic. **Methods** UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS was used to identify and analyze the composition of combined decoction and single decoction mixed samples of TSD. Further, the contents of nine index components of them were simultaneously determined to compare and analyze their difference. And the differences in core efficacy of them were evaluate when the rat model of acute dysmenorrhea was established from the core efficacy of regulating menstruation and relieving pain. **Results** Through UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS technology analysis, 31 chemical components were preliminarily identified and attributed to both TSD combined decoction and single decoction. There were no significant differences in the types of components. Further, the results of nine components contents showed that compared with the combined decoction samples, the content of albiflorin, paeoniflorin, and hydroxysafflor yellow A in the single-decocted mixed sample was relatively lower, while the content of gallic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, senkyunolide I, 5-hydroxymethylfurfural and verbascoside were relatively increased. Then statistical analysis of the contents of nine components showed that there was no significant difference in the contents between the two samples ($P > 0.05$), indicating that these components were not affected by combined or single decoction system. The results of dry paste yield showed that the average dry paste yield of combined decocting and single decoction were 46.64% and 47.08%, respectively, but there was no significant difference between combined and single sample. The results of the core efficacy experiment showed that the combined decoction group and single-decocted mixed sample group can prolong the writhing latency, reduce the number of writhing, and significantly reduce $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGE_2 , VEGF levels in the serum and ET-1, Ca^{2+} and NO levels ($P < 0.05$) in the uterine tissue, improve uterine epithelial cell inflammation, edema and other pathological changes, and had a certain effect on alleviating dysmenorrhea, but both combined decoction and single-decocted mixed group had little significant difference in the core efficacy of regulating menstruation and relieving pain. **Conclusion** TSD compounds in combined decoction and single decoction have no significant difference in the chemical composition types and content, and core drug efficacy. It provides a reference for the clinical rational application and evaluation of its compound preparation and single-decoction formula granule preparations. Moreover, this also further provides basic research for the realization of the clinical personalized medicine method of adding or subtracting single-decoction formula granule preparations according to the basis on the basis of ancient classic prescriptions. **Key words:** Taohong Siwu Decoction; classical prescription; combined decoction; single decoction; chemical characteristics; core efficacy; UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS; acute dysmenorrhea model; prostaglandin; vascular endothelial growth factor; endothelin I

桃红四物汤 (Taohong Siwu Decoction, TSD) 出自清·柴得华的《妇科冰鉴》, 处方由生地三钱 (酒洗)、当归四钱 (酒洗)、白芍钱五分 (酒炒)、川芎一钱、桃仁十四粒 (去皮尖研泥)、红花一钱 (酒洗) 6 味药组成, 主治血虚血瘀证, 临床常见于痛经、月经不调等多种妇科疾病, 收录于国家中医药管理局会同国家药品监督管理局制定的《古代经典名方目录 (第一批)》^[1]。古代经典名方中药复方制剂是中医经典方剂的精品制剂, 要求基于尊古思想和复方合煎的制备模式, 既保持原汁原味的合煎特点, 又能实现产品质量与疗效的一致性^[2]。但随着人民群众的饮食结构、生活习惯以及疾病谱等的变化, 仅利用固定经方所制得制剂已不能满足目前临床出现的各类病症治疗, 提出临床应用在传统中医药理论指导下, 常需充分发挥中医辨证论治、遣方用药特点, 实现中医个性化治疗^[3]。而中药配方颗粒是对传统中药饮片的有益补充, 运用现代制剂技术将中药饮片按照提取、浓缩、干燥、制粒等步骤制得, 可供临床配方直接使用, 具有临床调剂方便、患者使用方便、质量可控等优点, 深得患者接受^[4]。目前, 多项研究^[5-8]进一步对比分析传统汤剂单煎与合

煎的物质基础成分和药效学质量的异同性, 考察复方合煎和药味单煎混合汤剂在化学成分、药效以及临床应用上的差异相关性。基于此, 提出“复方合煎”的古代经典名方中药复方制剂和“药味单煎混合”的中药配方颗粒在化学成分与核心药效是否一致, 又能否在古代经典名方基础上随证加减单味药配方颗粒, 以实现临床用药的个性化治疗, 是现阶段经典名方未来发展值得深入研究的基础性问题。

课题组前期已通过对本草考证、饮片炮制工艺的考察与进一步优化, 同时已建立 TSD 基准样品 HPLC 化学指纹图谱方法^[9], 采用多成分波长切换法测定了 TSD 基准样品中芍药苷、羟基红花黄色素 A、芍药内酯苷等 9 种指标成分的含量, 为 TSD 基准样品及其复方制剂的质量控制奠定基础。然而, 现有的研究仅从成分差异角度对比分析 TSD 配方颗粒与传统水煎剂中芍药苷、苦杏仁苷及阿魏酸 3 种化学成分含量差异^[10], 其药效物质基础、药效研究甚至临床研究仍不够清楚, 不能有效全面地阐明 TSD 单味药配方颗粒与传统汤剂及其制剂之间的相关性。目前, 多采用 LC-MS/MS 技术鉴定并归属中药复方中的化学成分, 并结合 HPLC 同时测定样

品中多种主要化学成分含量的手段是全面表征, 获得研究对象全面的化学成分信息, 并对关键质量信息进行量化掌握, 明确中药复方的化学特征^[8]。因此, 本研究结合 UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS 对 TSD 单煎与合煎样品成分进行鉴定, 并归属各化学成分来源; 根据前期课题组建立的 TSD 多指标成分含量测定法, 对 TSD 合煎与单煎样品进行定量测定, 以期较全面地表征 TSD 基准样品化学组成, 对比研究合煎和单煎混合所制得冻干粉的 9 种化学成分含量差异; 并根据 TSD “调经止痛” 的核心功效, 建立急性大鼠痛经模型, 对比评价合煎和单煎混合所得冻干粉的药效差异, 为该方单味药配方颗粒临床替代传统汤剂及其复方制剂的可行性提供参考, 也进一步实现在古代经典名方基础上随证加减单味药配方颗粒的临床个性化治疗与用药手段提供基础性研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS 质谱仪和 UltiMate 3000 型高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher 公司。对照品没食子酸(批号 wkq18032304)、5-羟甲基糠醛(批号 wkq19010805)、绿原酸(批号 wkq18022809)、苦杏仁苷(批号 wkq16072002)、芍药内酯苷(批号 wkq18052205)、羟基红花黄色素 A(批号 wkq18010407)、芍药苷(批号 wkq18032104)、阿魏酸(批号 wkq16080209)、毛蕊花糖苷(批号 wkq16062004)、苯甲酰芍药苷(批号 wkq19012812)均购于四川省维克奇生物科技有限公司; 对照品洋川芎内酯 I(批号 Y-085-170609)购于成都瑞芬思生物科技有限公司; 各对照品质量分数均 $\geq 98\%$ 。水为纯化水, 甲醇、乙腈、甲酸、磷酸为色谱级, 其他试剂均为分析纯。前列腺素 F_{2 α} (prostaglandin F_{2 α} , PGF_{2 α})、前列腺素 E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、Ca²⁺、内皮素-1(endothelin 1, ET-1)和 NO 的酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(批号 202101)均购自上海笃玛生物科技有限公司。苯甲酸雌二醇注射液(批次 201017)和催产素注射液(批次 200712)购自上海全宇生物科技(驻马店)动物药业有限公司。塞来昔布胶囊(批号 T97271)购自辉瑞制药有限公司。

1.2 药材

根据 2020 年 11 月国家药监局会同中医药管理

最新公布的 TSD 的考证剂量及炮制规格等关键信息^[9], 6 味药材均购于产自道地产区和主产区相应产地, 并经成都中医药大学药学院中药资源专业裴瑾教授鉴定, 地黄为玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根, 当归为伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根, 白芍为毛茛科芍药属植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根, 川芎为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎, 红花为菊科红花属植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花, 桃仁为蔷薇科樱桃属植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子。各药材均符合《中国药典》2020 年版一部相关项下的性状规定, 所需炮制饮片均由公司提供, 且饮片各项标准均符合药典相关规定。

1.3 动物

实验所用 SD 雌性大鼠, 体质量 180~220 g, 由北京斯贝福有限公司提供, 生产许可证: SCXK(京)2019-0010。动物实验均按照中国国家科学技术委员会颁布的“实验动物管理条例”和成都中医药大学动物实验伦理委员会批准的议定书(批准文号 2014DL-023)规范执行。

2 方法与结果

2.1 样品的配制

2.1.1 TSD 合煎冻干粉(HJ) 根据国家最新公布《古代经典名方关键信息表(7 首方剂)》TSD 中的处方组成^[11]以及剂量换算^[12], 故称取全方饮片 3 倍剂量合计 128.85 g, 并根据前期课题组对相关炮制工艺考察结果, 基于传统水煎煮的遵古理论, 处方饮片浸泡 30 min 后煎煮 2 次, 一煎 30 min, 二煎 20 min, 分别过滤混合制得 TSD 汤剂, 减压浓缩至 200 mL, 冷冻干燥成粉末, 即得 TSD HJ。

2.1.2 TSD 单煎混合冻干粉(DJ) 分别取处方 6 味饮片的 3 倍剂量, 按照“2.1.1”项煎煮工艺, 分别得到各单味药饮片单煎冻干粉。将上述所制备而成的 6 种单味药饮片单煎冻干粉完全混合均匀, 即得 TSD DJ。

2.1.3 供试品溶液 分别精密称取 TSD HJ、DJ 约 0.2 g, 置于 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至完全溶解, 称定质量, 超声 30 min 后, 补足减失的质量, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得 TSD HJ、DJ 的供试品溶液。

2.1.4 混合对照品溶液 取没食子酸、5-羟甲基糠

醛、绿原酸、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I、苯甲酰芍药苷对照品适量，精密称定，置于 10 个量瓶中，分别加甲醇配制成质量浓度依次为 1.412、2.048、1.100、1.892、1.524、1.415、1.604、1.165、1.836、0.880 g/L 的对照品储备液。分别取上述 9 种对照品储备液适量，加入 10 mL 量瓶中，制得没食子酸、5-羟甲基糠醛、绿原酸、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 各成分质量浓度分别为 42.36、20.48、44.00、75.68、121.92、283.00、64.16、23.30、36.72 mg/L 的混合对照品溶液。

2.2 UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS 分析 TSD HJ 与 DJ 之间的化学成分

2.2.1 色谱-质谱条件

色谱柱为 SunFire C₁₈ 柱 (150 mm×3.0 mm, 3.5 μm, Waters, Massachusetts, USA); 以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相, 梯度洗脱: 0~5 min, 5%~13% 乙腈; 5~15 min, 13%~27% 乙腈; 15~25 min, 27%~54% 乙腈; 25~37 min, 54%~99% 乙腈; 37~39 min, 95% 乙腈; 39~39.1 min, 95%~5% 乙腈; 39.1~40.1 min, 5% 乙腈; 体积流量 0.30 mL/min; 柱温 30 °C; 进样体积 2 μL。质谱参数: 离子源为电喷雾离子源 (ESI) 混合离子源模式; 检测范围 m/z 100~1500; 检测模式为正/负离子; 碰撞电压 35 V; 毛细管电压 3.2 kV; 毛细管温度 320 °C; 干燥气流温度 350 °C。

2.2.2 样品分析及数据处理

采用 Xcalibur 软件和 Compound Discover 3.0 数据库采集并分析 TSD HJ、TSD DJ 中化学成分差异, 分别取各供试品溶液 2 μL 进样检测分析。根据对照品和参照文献的质谱信息, 以及 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 等化学数据库在线网址初步筛选化合物。

2.2.3 TSD HJ 和 DJ 样品成分鉴定及归属

采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS 技术对 TSD HJ 和 DJ 样品的化学成分进行分析, 为尽可能多的对成分进行定性分析, 常见离子模式为 $[M+H]^+$ 、 $[M-H]^-$ 、 $[M+COOH]^-$, 因此, 在正、负离子模式下总离子流图见图 1。根据一级质谱所得质荷比与二级特征碎片离子信息, 通过分析没食子酸、5-羟甲基糠醛、绿原酸、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 共 9 个混合对照品的母离子和二级碎片离子, 结合相关信息^[13-18], 初步鉴定出 HJ 和 DJ 样品中 31 种化学

成分, 二者在成分种类上没有差异; 并对其药材来源进行了归属, 结果表明, 化学成分的主要药材来源分别为 11 种化合物来自当归和川芎, 7 个化合物来自红花, 5 种化合物来自白芍, 3 种化合物来自熟地黄, 2 种化合物来自桃仁, 另外 4 种成分属于共有成分, 所鉴定出的化合物详细信息见表 1。

2.2.4 代表性化合物质谱裂解分析过程

TSD 主要含有 9 个苯酚类、7 个酚酸类、7 个黄酮类、5 个糖苷类、2 个苯丙素类和 1 种呋喃类成分, 其中有机酸类化合物主要以负离子模式为主, 其离子峰形式为 $[M-H]^-$, 在二级质谱中主要发生 CO₂ 或 H₂O 分子的中性丢失, 易形成 $[M-H-CO_2]^-$ 或 $[M-H-H_2O]^-$ 碎片离子^[19], 苷类成分主要在二级质谱中脱苷形成苷元等特性^[20]。本研究以羟基红花黄色素 A 的裂解规律为例, 以此方式推测其余多种化合物的结构鉴定过程。

化合物 5, 保留时间为 7.52 min, 通过对照品比对鉴定为羟基红花黄色素 A (来源于红花), 化学式为 C₂₇H₃₂O₁₆, 准分子离子峰为 m/z 611.163 8 $[M-H]^-$, 通过失去 1 分子 -C₄H₈O₄ 的基团离子得 m/z 491.120 5 $[M-H]^-$, 在失去 1 分子 -C₄H₈O₄ 和 1 分子水 (H₂O) 得到 m/z 325.072 2 $[M-H]^-$ 的碎片, 由此在失去 1 分子 -C₈H₈O 基团从而裂解得到 m/z 205.014 0 $[M-H]^-$ 和 m/z 119.049 6 $[M-H]^-$ 的碎片。另外, 碎片离子为 m/z 403.103 4 $[M-H]^-$ 由准分子离子峰失去 1 分子 -C₆H₁₀O₅、1 分子 CO 以及 1 分子水的基团离子所得, 再失去 1 分子 -C₄H₈O₄ 后, 碎片为 m/z 283.061 9 $[M-H]^-$, 最后裂解得到 m/z 163.003 1 $[M-H]^-$ 、 m/z 119.049 2 $[M-H]^-$ 的离子碎片。因此, 这些离子碎片可以用来区别和鉴定羟基红花黄色素 A 化合物, 详细裂解过程见图 2。

2.3 基于多指标成分定量测定的 TSD HJ 和 DJ 质量差异评价

2.3.1 色谱条件

没食子酸、5-羟甲基糠醛、绿原酸、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 9 种指标成分的含量测定, 结合其最佳吸收波长, 按照前期课题组已经建立的多波长切换法多成分含量测定方法条件检测^[9], 色谱图见图 3。理论塔板数以各检测成分峰计算均大于 10 000。

2.3.2 线性关系考察

取“2.1.4”项下混合对照品溶液, 分别稀释 0、2、4、8、16、32 倍, 按照“2.3.1”项下色谱条件进行测定。以各成分对照品质量浓度

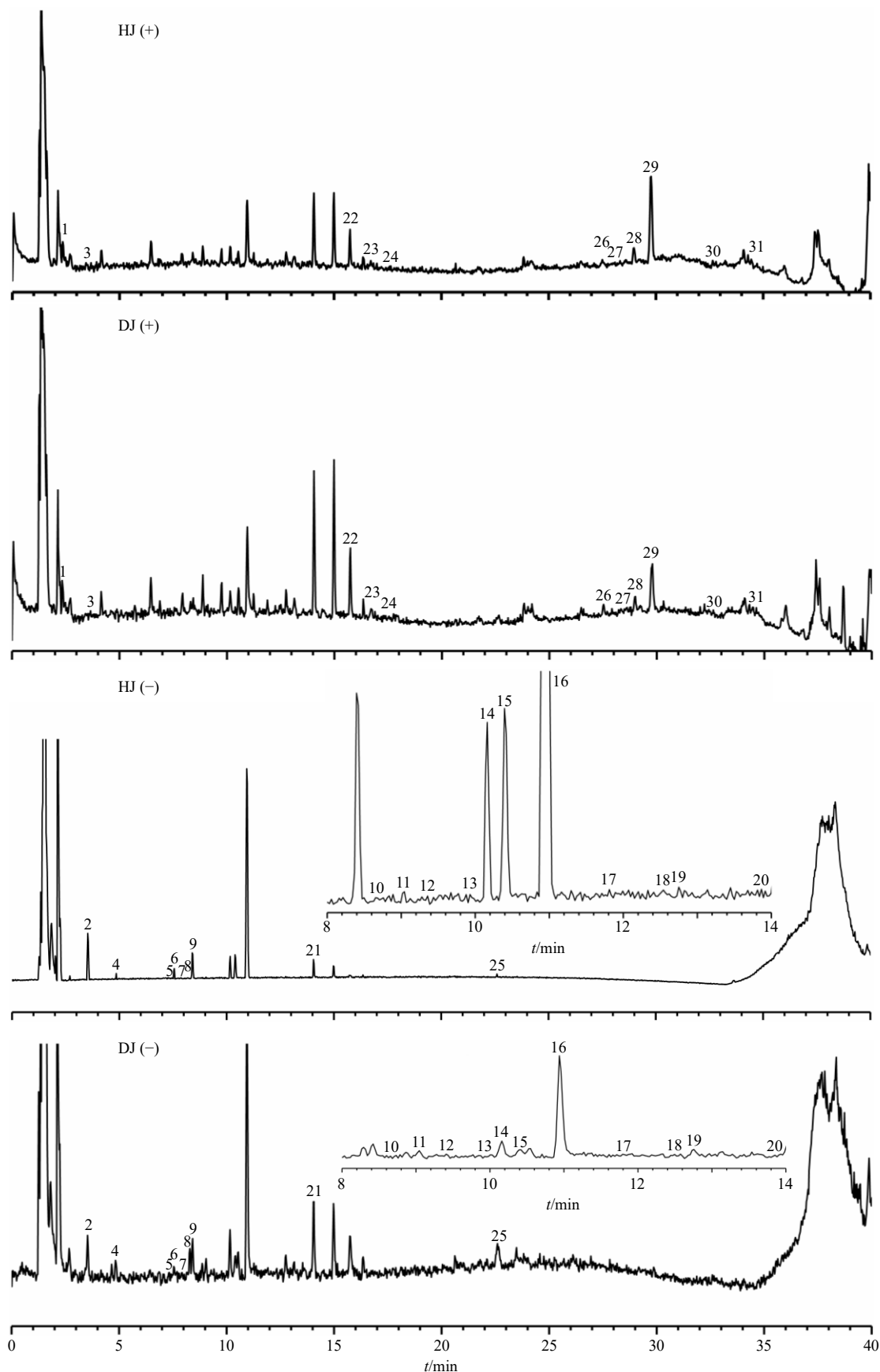


图 1 正、负离子模式下 TSD HJ 和 DJ 样品的总离子流图

Fig. 1 Total ion flow diagram of TSD HJ and DJ samples in positive (ESI⁺) and negative (ESI⁻) ion modes

表1 TSD HJ和DJ样品化学成分质谱鉴定数据

Table 1 Mass spectrometry identification data of chemical components in HJ and DJ of TSD

编号	<i>t_R</i> /min	化合物	化学式	相对分子质量			离子类型	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片离子	药材来源	分类	文献
				质量	实际值	理论值						
1	2.41	2-羟基肉桂酸 (2-hydroxycinnamic acid)	C ₉ H ₈ O ₃	164.047 7	165.054 6	165.054 6	[M+H] ⁺	0.00	165.054 6, 147.044 1, 123.044 3, 119.049 4, 95.049 7, 91.054 8	红花	酚酸类	13
2 ^a	3.48	没食子酸 (gallic acid)	C ₇ H ₆ O ₅	170.020 9	169.013 5	169.014 2	[M-H] ⁻	-4.14	169.013 5, 125.023 5	白芍	酚酸类	14
3 ^a	3.52	5-羟甲基糠醛 (5-hydroxymethylfurfural)	C ₆ H ₆ O ₃	126.030 9	125.023 5	125.023 3	[M+H] ⁺	1.60	125.023 5	地黄	呋喃类	13
4	4.71	saffloquinoside D or isomer	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	612.169 4	611.162 0	611.161 8	[M-H] ⁻	0.33	491.123 0, 263.551 0, 131.170 4	红花	黄酮类	15
5 ^a	7.52	羟基红花黄色素 A (hydroxysafflor yellow A)	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	612.169 4	611.163 8	611.161 8	[M-H] ⁻	3.27	611.163 8, 491.120 5, 403.102 1, 325.072 2, 283.061 9, 205.013 6, 163.003 1, 119.049 2	红花	黄酮类	15
6	7.62	氧化芍药苷 (oxypaeoniflorin)	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	496.158 5	495.152 6	495.150 8	[M-H] ⁻	3.64	495.152 6, 365.441 9, 321.295 9, 137.023 2, 119.756 5	白芍	糖苷类	14
7 ^a	7.78	绿原酸 (chlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.095 3	353.088 0	353.087 8	[M-H] ⁻	0.57	191.055 5	全部	酚酸类	14
8	8.25	异绿原酸 (neochlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.095 4	353.088 8	353.087 8	[M-H] ⁻	2.83	353.088 8, 191.055 7, 179.033 8, 173.044 7, 135.044 2	全部	酚酸类	14
9 ^a	8.32	芍药内酯苷 (albiflorin)	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	480.163 7	525.161 6	525.161 4	[M+COOH] ⁻	0.38	461.831 3, 167.034 1, 123.044 3	白芍	糖苷类	14
10	8.40	苦杏仁苷 (amygdalin)	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	457.158 7	456.151 2	456.151 1	[M-H] ⁻	0.22	373.513 1, 323.095 7, 161.045 7, 149.012 3, 119.033 8, 89.023 4	桃仁	糖苷类	14
11	8.97	香草酸 (vanillic acid)	C ₈ H ₈ O ₄	168.041 6	167.034 4	167.035 0	[M-H] ⁻	-3.59	167.034 4, 123.044 2	川芎/当归	酚酸类	14
12	9.26	咖啡酸 (caffeic acid)	C ₉ H ₈ O ₄	180.041 8	179.034 4	179.035 0	[M-H] ⁻	-3.35	179.034 4, 135.044 3	全部	酚酸类	14
13	9.99	6-羟基山柰酚-3-O-芸香糖苷-6-O-葡萄糖苷 (6-hydroxykaempferol-3-O-rutinoside-6-O-glucoside)	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	772.207 0	771.194 9	771.197 8	[M-H] ⁻	-3.76	771.194 9, 735.936 0, 301.035 9, 271.025 1	红花	黄酮类	16
14	10.11	safflomin C or isomer	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	612.169 3	611.162 5	611.161 8	[M-H] ⁻	1.15	611.162 5, 521.128 1, 384.777 0, 274.530 2, 119.049 2	红花	黄酮类	15
15	10.25	6-hydroxykaempferol-di-O-glucoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	626.149 1	625.139 2	625.141 0	[M-H] ⁻	-2.88	625.139 2, 561.834 2, 462.077 5, 301.035 4, 271.024 1, 243.030 3, 91.650 0	红花	黄酮类	14
16 ^a	10.87	芍药苷 (paeoniflorin)	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	502.145 4	525.161 8	525.161 4	[M+COOH] ⁻	0.76	449.144 8, 327.108 6, 165.054 9, 121.028 6	白芍	糖苷类	14
17	11.90	槲皮素-3-D-葡萄糖苷 (quercetin-3-D-glucoside)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.096 0	463.088 0	463.087 1	[M-H] ⁻	1.94	463.088 0, 301.035 2, 271.024 2, 243.030 4, 108.025 5	全部	黄酮类	14
18 ^a	13.09	阿魏酸 (ferulic acid)	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.058 1	193.049 8	193.050 6	[M-H] ⁻	-4.14	193.049 8, 178.026 6, 149.060 0, 134.036 4	川芎/当归	酚酸类	17
19 ^a	13.22	毛蕊花糖苷 (acteoside)	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	624.205 5	623.199 0	623.198 1	[M-H] ⁻	1.44	623.199 0, 461.165 3, 205.830 5, 161.023 7, 133.028 5	地黄	苯丙素类	17
20	13.92	山柰酚-3-O-芸香糖苷 (kaempferol-3-O-rutinoside)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	594.159 1	593.150 0	593.150 1	[M-H] ⁻	-0.17	285.040 3, 227.034 6, 201.999 3, 91.650 7	桃仁/红花	黄酮类	16
21	14.13	异毛蕊花糖苷 (isoacteoside)	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	624.169 0	623.198 7	623.198 1	[M-H] ⁻	0.96	623.194 4, 161.023 5	地黄	苯丙素类	17
22	15.70	3-丁基-4-羟基苯酞 (3-butyl-4-hydroxyphthalide)	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	206.094 6	207.101 6	207.101 6	[M+H] ⁺	0.00	207.101 6, 189.090 6, 179.107 0, 161.095 9, 137.983 8, 119.085 6	当归/川芎	苯酞类	18
23 ^a	16.70	洋川芎内酯 I (senkyunolide I)	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	224.105 2	225.112 4	225.112 1	[M+H] ⁺	1.33	207.101 8, 189.081 3, 179.107 1, 165.091 5, 161.096 1, 119.085 9	当归/川芎	苯酞类	18
24	17.57	洋川芎内酯 F (senkyunolide F)	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	206.094 6	207.101 6	207.101 6	[M+H] ⁺	0.00	207.101 6, 189.091 2, 179.106 7, 161.096 1, 119.085 7	当归/川芎	苯酞类	18
25	20.65	苯甲酰芍药苷 (benzoylpaeoniflorin)	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	601.216 6	629.187 9	629.188 4	[M+COOH] ⁻	-0.32	601.901 9, 431.136 2, 121.028 5	白芍	糖苷类	14
26	27.43	洋川芎内酯 A (senkyunolide A)	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	192.115 3	193.122 2	193.122 3	[M+H] ⁺	-0.52	193.122 2, 175.111 8, 147.116 8, 137.059 8, 91.054 7	当归/川芎	苯酞类	18
27	27.97	正丁基苯酞 (3-n-butylphthalide)	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.099 6	191.106 8	191.106 7	[M+H] ⁺	0.52	191.106 8, 173.096 2, 145.101 2, 135.044 1, 91.054 7	当归/川芎	苯酞类	18
28	28.88	E-藜本内酯 (E-ligustilide)	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.099 6	191.106 7	191.106 7	[M+H] ⁺	0.00	191.106 7, 173.096 2, 163.111 7, 149.060 0, 145.101 3	川芎/当归	苯酞类	18
29	29.85	Z-藜本内酯 (Z-ligustilide)	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.099 6	191.106 7	191.106 7	[M+H] ⁺	0.00	191.106 7, 173.096 2, 163.111 9, 145.101 2	川芎/当归	苯酞类	18
30	32.60	丁烯基苯酞 (butyldenephthalide)	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	188.084 0	189.091 1	189.091 0	[M+H] ⁺	0.53	189.091 1, 171.080 3, 161.096 2, 143.085 6, 133.101 3, 128.062 3	当归/川芎	苯酞类	18
31	34.50	欧当归内酯 A (levistilide A)	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	380.199 2	381.206 5	381.206 0	[M+H] ⁺	-3.15	191.106 7, 173.096 0, 149.059 8, 135.044 2	当归/川芎	苯酞类	18

a-表示与对照品比对

the compounds marked with "a" were the reference standards

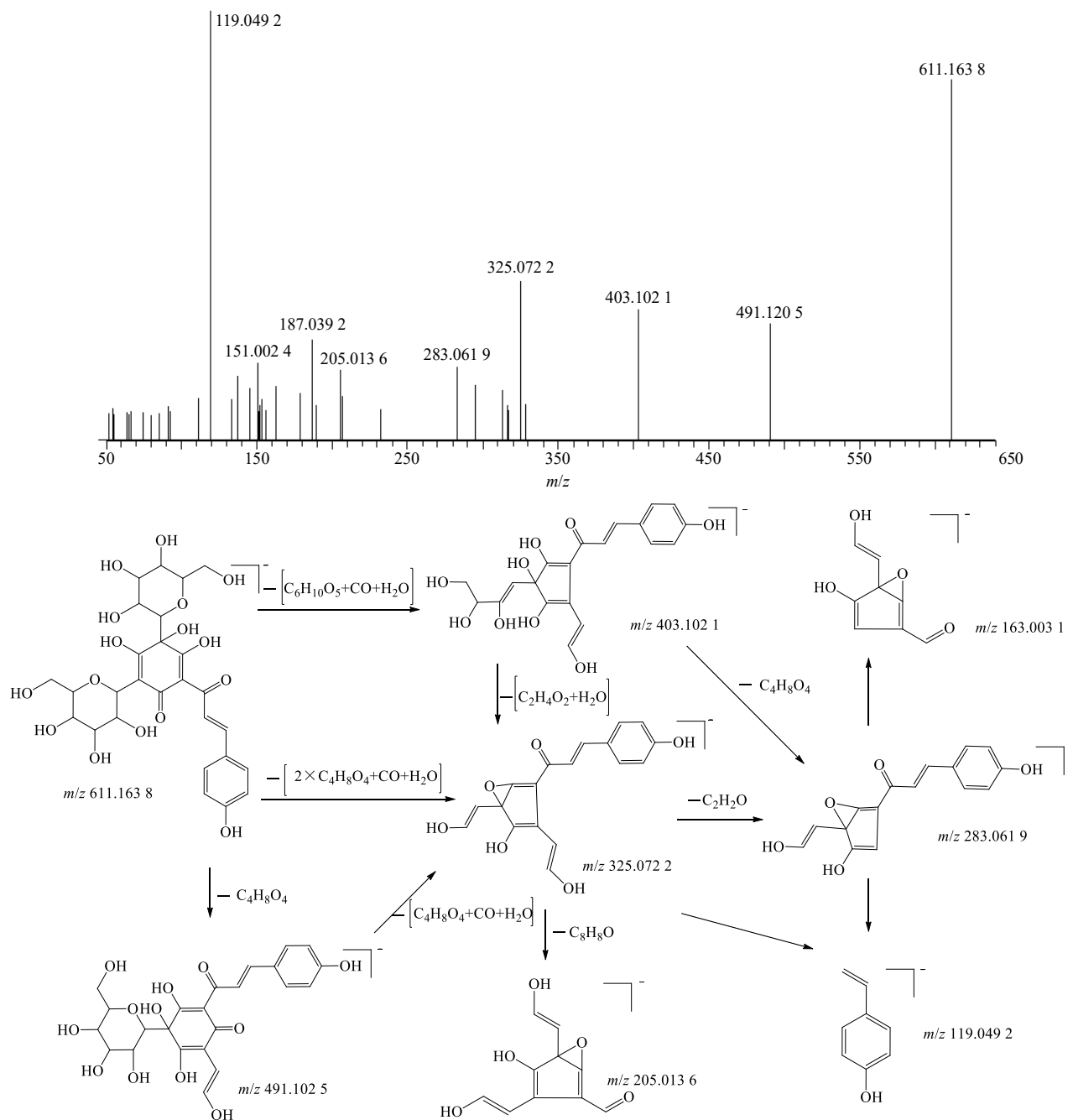


图2 羟基红花黄色素 A 二级谱图以及裂解规律

Fig. 2 Secondary spectra of hydroxysafflor yellow A and cracking patterns

为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得各成分回归方程。结果分别为没食子酸 $Y=1.3789X-0.1201$, $r=0.9997$, 线性范围 1.3237~42.3600 mg/L; 5-羟甲基糠醛 $Y=1.2732X-0.0431$, $r=0.9996$, 线性范围 0.64~20.48 mg/L; 绿原酸 $Y=0.3848X-0.3455$, $r=0.9999$, 线性范围 1.375~44.000 mg/L; 芍药内酯苷 $Y=0.0756X+0.0002$, $r=0.9999$, 线性范围 2.365~75.680 mg/L; 羟基红花黄色素 A $Y=0.1343X-0.4021$, $r=0.9999$, 线

性范围 3.81~121.92 mg/L; 芍药苷 $Y=0.2535X-0.6445$, $r=0.9996$, 线性范围 8.8437~283 mg/L; 阿魏酸 $Y=1.0482X-0.1233$, $r=0.9997$, 线性范围 2.005~64.160 mg/L; 毛蕊花糖苷 $Y=0.2794X-0.0298$, $r=0.9997$, 线性范围 0.7281~23.300 mg/L; 洋川芎内酯 I $Y=0.6384X-0.0323$, $r=0.9996$, 线性范围 1.1475~36.720 mg/L。

2.3.3 精密度试验 取“2.1.4”项下混合对照品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算

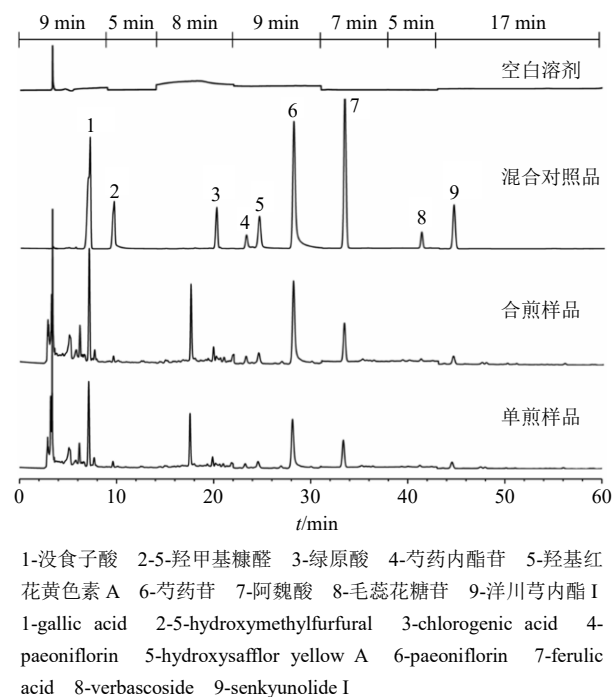


图3 切波长法测定 TSD HJ 和 DJ 样品中 9 种成分
Fig. 3 Nine components contents in HJ and DJ of TSD sample determined by cutting wavelength method

没食子酸、5-羟甲基糠醛、绿原酸、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 峰面积的 RSD 分别为 0.23%、0.52%、0.10%、0.16%、0.26%、1.19%、0.10%、0.09%、0.08%，表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 同一批次样品 (TSD HJ)，按“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，按“2.3.1”项下色谱条件测定，结果没食子酸、5-羟甲基糠醛、绿原酸、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 的 RSD 依次为 0.28%、0.25%、0.51%、0.28%、0.52%、0.25%、0.30%、1.0%、1.2%，表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液 (TSD HJ)，分别于制备后 0、2、4、8、12、24 h，按“2.3.1”项下色谱条件测定，结果没食子酸、5-羟甲基糠醛、绿原酸、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 峰面积的 RSD

分别为 0.65%、0.87%、1.68%、0.72%、1.24%、0.63%、0.33%、0.74%、0.35%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.6 加样回收率试验 取同一批次样品 (TSD HJ) 6 份，分别精密称取约 0.2 g，置 10 mL 量瓶中，分别按已测定含量的 100% 加入没食子酸、5-羟甲基糠醛、绿原酸、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 9 种对照品，按“2.1.3”项下方法分别制备供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件测定，计算各指标成分的回收率。结果 9 种指标成分的平均加样回收率分别为 99.3%、98.7%、99.5%、98.8%、99.0%、99.6%、98.5%、98.0%、99.0%，RSD 分别为 1.2%、0.9%、1.4%、1.0%、0.7%、0.9%、1.1%、1.5%、1.3%，结果表明该方法准确可靠。

2.3.7 TSD DJ 与 HJ 基准样品中 9 种指标性成分含量差异对比 采用已建立的指标成分含量测定方法测得 HJ 样品和 DJ 样品中指标成分的含量见表 2。结果发现，芍药苷、羟基红花黄色素 A、芍药内酯苷含量平均值在 TSD 样品中较高；并对比 HJ 和 DJ 样品，发现 DJ 样品中，芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷 3 种成分平均含量稍低于 HJ 样品，没食子酸、5-羟甲基糠醛、绿原酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 6 种成分平均含量稍高于 HJ 样品。进一步通过 SPSS 22.0 软件分析 HJ 与 DJ 样品中 9 种成分平均含量数据之间的差异，以 9 种成分含量为变量，对所有 DJ 与 HJ 样品进行分组，采用独立样本 *t* 检验分析，多组间两两比较采用最小显著性差异 (LSD) 法检验 ($P < 0.05$ 表示差异有统计学意义)，结果表明，HJ 样品中 9 种成分含量与 DJ 样品中相应成分含量无显著性差异，说明 HJ 与 DJ 对 9 种成分的平均含量结果无影响。

2.4 TSD HJ 与 DJ 样品干膏得率差异分析

根据前期课题组对单味药饮片标准汤剂干膏得率的研究基础^[21]，取 TSD 合煎和各饮片单煎浓缩液 200 mL，冷冻干燥，称取浸膏质量，根据如下公式计算标准煎液的干膏得率，结果见表 3，HJ 样品

表 2 TSD HJ 和 DJ 样品中 9 种指标成分的平均含量 (n = 3)
Table 2 Average contents of nine components in HJ and DJ samples of TSD (n = 3)

样品	平均质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	没食子酸	5-羟甲基糠醛	绿原酸	芍药内酯苷	羟基红花黄色素 A	芍药苷	阿魏酸	毛蕊花糖苷	洋川芎内酯 I
DJ	0.395 9	0.028 3	0.177 3	0.599 1	0.674 2	2.736 7	0.293 3	0.057 3	0.134 6
HJ	0.342 5	0.018 8	0.162 7	0.646 3	0.694 4	2.982 4	0.273 7	0.057 3	0.110 7

表3 TSD HJ 和 DJ 样品的干膏得率 (n = 3)
Table 3 Dry paste yield of TSD HJ and DJ samples (n = 3)

样品	平均干膏得率/%						总计
	酒地黄	酒当归	酒白芍	川芎	禅桃仁	酒红花	
单煎混合冻干粉	55.67	63.89	22.65	26.71	29.40	38.32	47.08
合煎冻干粉	-	-	-	-	-	-	46.64

的平均干膏得率为 46.64%，DJ 样品的平均干膏得率 47.08%，TSD 基准样品在合煎之后干膏得率虽有所降低，但二者差异不大。

干膏得率 = 干膏质量 / 饮片质量

2.5 基于大鼠急性痛经模型评价 TSD 合煎与单煎基准样品的核心药效差异性研究

2.5.1 大鼠急性痛经模型的建立及给药 60 只 SD 雌性大鼠 (体质量 180~220 g)，经过适应性喂养 7 d 后，随机分为 5 组 (n=6 只/组)：对照组、模型组、阳性组、TSD HJ 组、TSD DJ 组。根据文献资料查阅及课题组前期预试验，建立苯甲酸雌二醇联合缩宫素所致急性痛经模型^[22]。除对照组外，其余 4 组均每日 sc 苯甲酸雌二醇 (10 mg/kg)，连续 4 d。在第 4 天，阳性药组 ig 给予塞来昔布溶液 36 mg/kg，TSD HJ 组、TSD DJ 组按照等效临床剂量的 3 倍，分别以 5.47、5.52 g/kg 的冻干粉 ig 给药 (分别称量“2.1.1 和 2.1.2”项下冻干粉加入生理盐水配制给药液)，对照组和模型组 ig 等体积生理盐水，持续 4 d，实验前 12 h 禁食不禁水。于第 7 天末次结束给药后的 30 min，各组分别 ip 催产素 20 U/kg。

2.5.2 统计分析 通过 SPSS 22.0 软件分析多组数据之间的差异，实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料采用独立样本 t 检验分析；多组间两两比较采用最小显著性差异 (LSD) 法检验。

2.5.3 检测指标及结果分析

(1) 扭体潜伏期、扭体次数及扭体抑制率比较：ip 催产素后立即计时，记录大鼠第 1 次发生扭体的时间，即为扭体潜伏期。并记录从第 1 次扭体反应后 30 min 内各组大鼠扭体次数，计算扭体抑制率。结果表明，与对照组相比较，模型组大鼠的扭体潜伏期显著缩短 (P<0.01)，扭体次数显著增加 (P<0.01)。与模型组比较，阳性组、TSD HJ 组和 TSD DJ 组大鼠扭体潜伏期明显增加 (P<0.01)，扭体次数明显减少 (P<0.05、0.01)。其中 TSD HJ 组与 TSD DJ 组相比，二者在大鼠扭体反应抑制率较无明显差异。结果见表 4。

表4 TSD HJ 与 DJ 对急性痛经模型大鼠扭体反应的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Comparison writhing response of HJ and DJ in TSD based on acute dysmenorrhea model rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	扭体潜伏期/min	扭体次数/次	扭体反应抑制率/%
对照	30	0	-
模型	7.48 ± 1.65**	14.17 ± 3.67**	0
阳性	13.32 ± 2.21###	5.83 ± 2.03#	58.86
HJ	10.81 ± 1.59###	6.33 ± 4.27#	55.32
DJ	10.60 ± 0.91###	6.50 ± 3.86###	54.13

与对照组比较：**P<0.01；与模型组比较：#P<0.05 ###P<0.01；“-”表示无数据

**P<0.01 vs control group; #P<0.05 ###P<0.01 vs model group; “-” marked with no data

扭体抑制率 = 1 - 给药组扭体次数 / 模型组扭体次数

(2) 大鼠血清中 PGF_{2α}、PGE₂、VEGF 与子宫匀浆中 ET-1、Ca²⁺以及 NO 含量的测定：大鼠在观察扭体后进行麻醉，腹主动脉采血，并收集左侧同段子宫。全血室温下静止 2 h 后，3000 r/min 离心 10 min，取上清液-20 ℃保存备用，按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 PGF_{2α}、PGE₂、VEGF 含量。同时，精确称取适量子宫样本，用预冷 PBS (0.01 mol/L、pH 7.4) 液冲洗子宫，剪碎子宫组织，将组织与相应体积的 PBS (按 1 : 9 质量体积比) 放入匀浆器里，放置冰上研磨，匀浆后取上清液用于 ELISA 法检测组织中 ET-1、Ca²⁺以及 NO 含量。结果表明，与对照组比较，模型组大鼠血清中 PGF_{2α}、PGE₂、VEGF 与子宫组织中 ET-1、Ca²⁺、NO 水平显著升高 (P<0.01)。与模型组相比，阳性组、TSD HJ 组和 TSD DJ 组各因子水平含量显著降低 (P<0.05、0.01)，其中 TSD HJ 组各因子的水平与 TSD DJ 组相比较，总体差异不大。结果见表 5。

(3) HE 染色观察大鼠子宫组织病理情况：取血后处死大鼠，分离大鼠子宫组织，使用冰生理盐清洗组织表面及腔内积血后，用 4% 中性多聚甲醛溶液浸泡固定，制作 HE 染色病理切片，镜检，采用 HE 染色法观察子宫上皮细胞炎症、水肿等病理

变化。结果发现，分离各组大鼠子宫时首先观察子宫形态，对照组子宫形态正常，无水肿，而模型组则出现比较严重的水肿与出血，形态扭曲，给药组有轻微的水肿。进一步通过病理学组织分析，结果显示，与对照组相比，模型组主要显示子宫内膜上

皮细胞变性或坏死，固有层水肿，少量炎症细胞浸润，固有层腺体数量减少，肌层平滑肌细胞排列紊乱。与模型组相比，给药组子宫内膜上皮细胞形态结构趋向正常，炎症明显改善，上皮细胞胞浆空泡化减少，固有层子宫腺体扩张明显改善，结果见图 4。

表 5 TSD 合煎与单煎对急性痛经模型大鼠血清和子宫组织因子水平的对比 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 5 Results of serum and uterine tissue factor levels of acute dysmenorrhea model rats by combined and single decoction of TSD ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	血清			子宫组织		
	PGE ₂ /(pg·mL ⁻¹)	PGF _{2α} /(pg·mL ⁻¹)	VEGF/(pg·mL ⁻¹)	Ca ²⁺ /(μg·mL ⁻¹)	ET-1/(pg·mL ⁻¹)	NO/(μmol·L ⁻¹)
对照	236.40 ± 14.66	143.79 ± 14.72	289.56 ± 31.11	18.87 ± 2.06	74.79 ± 11.75	11.19 ± 1.34
模型	386.18 ± 24.79**	274.14 ± 12.00**	444.42 ± 32.83**	33.24 ± 1.82**	120.73 ± 9.21**	22.86 ± 2.55**
阳性	259.91 ± 23.46##	191.31 ± 18.20##	318.64 ± 30.3##	20.97 ± 1.74##	82.42 ± 6.20##	13.98 ± 2.17##
HJ	311.66 ± 31.32##	228.26 ± 20.38##	348.37 ± 20.93##	24.08 ± 1.49##	92.18 ± 5.88##	17.13 ± 1.85##
DJ	347.92 ± 24.66#	250.45 ± 9.65##	378.55 ± 24.56##	27.67 ± 1.70##	107.38 ± 7.96#	18.45 ± 1.78##

与对照组比较: **P<0.01; 与模型组比较: #P<0.05 ##P<0.01

**P<0.01 vs control group; #P<0.05 ##P<0.01 vs model group

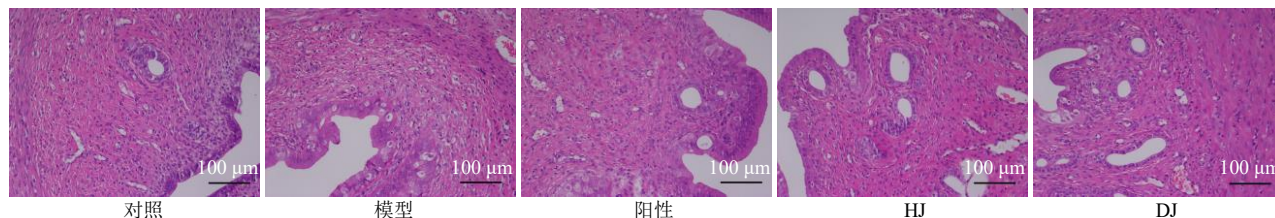


图 4 HE 染色观察大鼠子宫组织病理情况 (HE, ×200)

Fig. 4 Pathological observation of rat uterine tissues by HE staining (HE, ×200)

3 讨论

TSD 中 6 味中药复杂的配伍关系生动地展现该方的养血补血、活血补气的功效，通过化学组成以及核心药效研究，发现复方合煎与单煎基准样品在化学成分以及药效方面未见明显差异。本研究首先结合 UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS 质谱分析方法，初步分析鉴定出 31 个共有成分，并对其进行药材来源归属，未发现新的化合物；进一步对其中 9 种指标成分进行含量差异，发现复方合煎与单煎样品相比，芍药苷、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A 等 9 种成分的平均含量无显著性差异；最后，建立为进一步揭示合煎与单煎样品之间的药效差异，本实验建立苯甲酸雌二醇联合缩宫素构建大鼠急性痛经模型，发现 TSD HJ 与 DJ 样品均具有缓解痛经的作用。实验结果表明，TSD HJ 与 DJ 样品在化学成分种类及数量上基本相同，药效也基本一致，但其成分的含量变化有所不同，可能与自身发生受热分解、结合、沉降等理化反应有关，亦或受煎煮、浓缩、干燥等各个制备工艺环节影响^[5,23]。芍药苷、芍

药内酯苷、羟基红花黄色素 A、没食子酸、阿魏酸、五羟甲基糠醛、洋川芎内酯 I 受合煎、单煎的直接影响，然而绿原酸、毛蕊花糖苷 2 种成分是否受单煎与合煎影响还有待继续研究。可见，化学组分的变化在量化 TSD 复方制剂“药味合煎”与单味药配方颗粒“单煎混合”的基础性研究具有十分重要的意义。

3.1 复方合煎后中药组分含量稍有增加

芍药苷、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A 经过合煎之后成分含量稍有增加。通过查阅大量文献，发现芍药苷作为芍药的主要有效成分，由于结构中含有糖苷键与苯甲酸酯键^[24]，使其在水提过程中溶出率增高，从而增加了芍药苷在水中的溶解度，田祥琴等^[6]通过研究补阳还五汤合煎与分煎，发现芍药苷的含量合煎是单煎的 6 倍，可见芍药苷具有良好的水溶性特点；芍药内酯苷是芍药苷的同分异构体，有研究发现^[25]，经过短时间的煎煮可以有效提高芍药内酯苷的含量，与文献报道基本一致；羟基红花黄色素 A 属于热不稳定性黄酮类成分，在制备

过程中成分易受损失,但亦有研究表明^[26]在红花与桃仁的经典配伍药对下,羟基红花黄色素 A 的提取转移率无显著性影响,本研究羟基红花黄色素 A 含量稍有增加可能与合煎过程中成分的相互作用,抑制了羟基红花黄色素 A 的分解。可见成分的含量增加与自身的结构密切相关,还与用药配伍环境有关。

3.2 复方合煎后中药组分含量稍有降低

合煎后,没食子酸、绿原酸、阿魏酸、五羟甲基糠醛、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 等代表性成分含量降低,与文献报道基本一致。通过文献查阅发现,阿魏酸、没食子酸属于桂皮酸、苯甲酸类成分,作为大多数有机合成的前体化合物^[8],同时,受热易分解,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体系中较易分解而有所降低,比如阿魏酸存在顺反式结构,反式较顺式更稳定,猜测可能合煎体系导致了反式阿魏酸含量增加,顺式阿魏酸降低;5-羟甲基糠醛作为一种在高温或弱酸等条件下由单糖产生的糠醛化合物,在中药配伍及复方变化中溶出量减少,朱敏等^[25]考察不同组合四物汤,发现药对、药组和全方中 5-HMF 含量均低于单味药熟地黄,说明四物汤合煎及其药对的配伍具有抑制 5-HMF 成分溶出的作用;洋川芎内酯 I 属于苯酞类挥发性成分,加热等过程会降低其成分的含量,使其分解^[27]。

特别地,毛蕊花糖苷一般煎煮后含量有所降低,袁晓旭等^[28]研究熟地黄与泽泻、郁金三药合煎对熟地黄中毛蕊花糖苷煎出量的影响,结果发现合煎后毛蕊花糖苷煎出量稍微有所降低,而本研究中毛蕊花糖苷平均含量基本不变;绿原酸作为一种常见的有机酸,大多数研究者^[29]发现绿原酸合煎后含量增加或基本不变,而本实验合煎样品相较于单煎样品的平均含量降低,由此可知,毛蕊花糖苷和绿原酸不受合煎与单煎体系的影响,造成含量变化的因素复杂多样。可见,上述成分在合煎体系中更容易分解或受抑制导致含量降低,也为中药复方制剂“复方合煎”与中药配方颗粒“药味单煎”中存在复杂的化学成分变化过程提供参考,但具体影响因素也有待深入细化研究。

3.3 展望

TSD 作为经典名方代表方之一,以治疗痛经为主的临床应用十分广泛,通常以 TSD 为基础方复方合煎,根据具体症状辨证加减用药,如若气滞重者加用柴胡、香附等以疏肝理气;若寒湿甚者加艾叶、

干姜等以温经散寒止痛;若气血虚弱者加黄芪、党参以益气化痰止痛^[30-31],可见,临床患者病证复杂多样,往往需要辨证论治、临方调剂,同时也其携带、储存等诸多不便利。而单味药配方颗粒作为中药汤剂的改良剂型,具有免除煎煮、服用便捷、质量可控的特点,并且 2021 年 4 月国家药品监督管理局批准并已正式颁布首批 160 个中药配方颗粒国家标准^[32],单味药配方颗粒的推广与应用为我国实现经典名方现代化提供了一条新的可行路径,在未来复方合煎的经典名方发展方向上将发挥至关重要的作用。但“复方合煎”的古代经典名方中药复方制剂和“药味单煎混合”的中药配方颗粒在化学成分、核心药效以及临床应用方面是否一致的问题成为现阶段应当解决和研究的难点。本研究在探讨 TSD “复方合煎”与“药味单煎”时,从化学组成与核心药效角度深入分析合煎与单煎的差异性,还应进一步结合临床应用,实现 TSD 临床疗效的加减辨证治疗。古代经典名方复方制剂和中药配方颗粒作为对传统中医药理论指导下的创新发展,因此,古代经典名方中药复方制剂加减配伍中药配方颗粒的使用,既保证中医药辨证施治整体传统特色和经典名方的疗效优势,又可增强经典名方用药的灵活性,方便医生临方调剂、加减化裁,实现“一人一方”的个性化治疗模式,让中药经典名方复方制剂结合中药配方颗粒以更优质的质量与疗效长久持续服务于临床,以期深入实践并探索经典名方复方制剂加减配伍中药配方颗粒的临床应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家中医药管理局关于发布《古代经典名方目录(第一批)》的通知 [EB/OL]. [2018-04-17]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [2] 李鑫,闫影,孙志伟,等. 基于经典名方中药复方颗粒剂的设计研究进展 [J]. 药学研究, 2020, 39(11): 666-669.
- [3] 张倩,韩星星,毛春芹,等. 中药复方制剂开发的机遇与挑战: 古代经典名方研究开发的问题分析 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(19): 4300-4308.
- [4] 何军,朱旭江,杨平荣,等. 中药配方颗粒的现状与发展新思路 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4717-4725.
- [5] 邓轶渊,高文远,陈海霞,等. 中药复方合煎与分煎的差异性研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(12): 1909-1911.
- [6] 田祥琴,邹萍,郭明娟,等. 补阳还五汤配方颗粒与传统汤剂的定性定量比较 [J]. 中国中医药信息杂志,

- 2007, 14(7): 43-44.
- [7] 彭平, 田瑞华, 杜菁, 等. 白虎加桂枝汤单煎与合煎提取物质量表征特性分析 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(16): 3263-3269.
- [8] 乔三洋, 王学勇, 李耿, 等. 基于化学全息研究四物汤煎煮溶出规律 [J]. 中草药, 2020, 51(19): 4960-4971.
- [9] 成颜芬, 江华娟, 王琳, 等. 经典名方桃红四物汤化学指纹图谱及9种成分含量测定研究 [J]. 中草药, 2020, 51(3): 653-661.
- [10] 梁妙莲, 谭梅英. 桃红四物汤配方颗粒与水煎方剂指标性成分差异研究 [J]. 按摩与康复医学, 2018, 9(9): 57-59.
- [11] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方关键信息考证原则》《古代经典名方关键信息表(7首方剂)》的通知 [EB/OL]. [2020-11-10]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2020-11-10/18132.html>.
- [12] 邱隆. 中国历代度量衡单位量值表及说明 [J]. 中国计量, 2006(10): 46-48.
- [13] Xie Y Y, Xiao X, Luo J M, *et al.* Integrating qualitative and quantitative characterization of traditional Chinese medicine injection by high-performance liquid chromatography with diode array detection and tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2014, 37(12): 1438-1447.
- [14] Liu E H, Qi L W, Peng Y B, *et al.* Rapid separation and identification of 54 major constituents in Buyang Huanwu decoction by ultra-fast HPLC system coupled with DAD-TOF/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2009, 23(8): 828-842.
- [15] Si W, Yang W Z, Guo D, *et al.* Selective ion monitoring of quinochalcone C-glycoside markers for the simultaneous identification of *Carthamus tinctorius* L. in eleven Chinese patent medicines by UHPLC/QTOF MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 117: 510-521.
- [16] Qu C, Pu Z J, Zhou G S, *et al.* Comparative analysis of main bio-active components in the herb pair Danshen-Honghua and its single herbs by ultra high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(17): 3392-3401.
- [17] 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.
- [18] Zhang X L, Liu L F, Zhu L Y, *et al.* A high performance liquid chromatography fingerprinting and ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry chemical profiling approach to rapidly find characteristic chemical markers for quality evaluation of dispensing granules, a case study on *Chuanxiong Rhizoma* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 88: 391-400.
- [19] 顾会芬, 李定祥, 孙秦虎, 等. UPLC-ESI-MS/MS 法分析夏枯草口服液中有有机酸类成分 [J]. 中国中医药科技, 2018, 25(3): 348-349.
- [20] Cao W, Wang X, Li H, *et al.* Studies on metabolism of total glucosides of paeony from *Paeoniae Radix Alba* in rats by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2015, 29(11): 1769-1779.
- [21] 成颜芬, 吴亿晗, 杨晓琴, 等. 川芎饮片标准汤剂的质量分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(9): 117-123.
- [22] 嵇波, 张露芬, 朱江, 等. 痛经模型建立和评价方法的思考 [J]. 中国药理学通报, 2008, 24(6): 711-714.
- [23] 崔景朝, 赵自明. 中药配方颗粒研究进展(II): 中药单煎与合煎对比研究概况 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 240-245.
- [24] 曾宝, 黄晓其, 易智彪, 等. 芍药苷在生产工艺过程中的含量变化和影响因素研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(14): 1472-1474.
- [25] 朱敏, 段金廛, 刘培, 等. 四物汤组方配伍主要成分的HPLC/DAD 定量分析 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(8): 2385-2389.
- [26] 刘涛, 晏玲, 刘新燕, 等. 桃仁与红花配伍对药材成分溶出的影响 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2020, 39(1): 27-31.
- [27] 左爱华, 王莉, 肖红斌. 洋川芎内酯 A 和洋川芎内酯 I 的降解产物研究 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2127-2131.
- [28] 袁晓旭, 杨明明, 王慧娜, 等. 泽泻、郁金、熟地黄合煎对熟地黄中毛蕊花糖苷煎出量的影响 [J]. 中国药房, 2017, 28(25): 3487-3490.
- [29] 魏惠珍, 朱敏, 金浩鑫, 等. 基于化学成分研究连翘-金银花药对不同煎煮方式 [J]. 江西中医药大学学报, 2020, 32(5): 81-84.
- [30] 刘立, 段金廛, 宿树兰, 等. 用于妇科血瘀证痛经的四物汤类方: 桃红四物汤的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(5): 814-821.
- [31] 王娇. 桃红四物汤加减治疗原发性痛经 84 例临床观察 [J]. 中国继续医学教育, 2019, 11(29): 147-150.
- [32] 国家药典委员会关于执行中药配方颗粒国家药品标准有关事项的通知 [EB/OL]. [2021-04-29]. <https://www.chp.org.cn/gjydw/tz/15980.jhtml>.

[责任编辑 郑礼胜]