

## 基于 Box-Behnken 设计-响应面法与质量综合评价优化经典名方桃红四物汤煎煮工艺

何 瑶<sup>1</sup>, 江华娟<sup>1</sup>, 成颜芬<sup>1</sup>, 杜克群<sup>1</sup>, 李敏敏<sup>1</sup>, 杨青波<sup>2</sup>, 王振中<sup>3,4</sup>, 傅超美<sup>1\*</sup>, 段 毅<sup>2\*</sup>

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

2. 贵州益佰制药股份有限公司, 贵州 贵阳 550000

3. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

4. 中药制剂过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

**摘要:** 目的 遵古优化和科学评价桃红四物汤 (Taohong Siwu Decoction, TSD) 的煎煮工艺, 为其经典名方中药复方制剂研究奠定基础。方法 以指纹图谱概貌结合多指标定量为综合评价, 采用 Box-Behnken 设计-响应面设计对加水量、浸泡时间、煎煮时间、煎煮次数进行优化。指纹图谱研究采用 SunFire-C<sub>18</sub> 色谱柱 (150 mm×3.0 mm, 3.5 μm), 流动相为乙腈-0.5% 磷酸水溶液, 体积流量为 0.2 mL/min, 柱温为 25 °C, 检测波长为 230 nm; 建立 HPLC 指纹图谱, 对色谱信息进行主成分分析, 进一步建立 UPLC 多波长检测方法测定 6 个关键质控成分含量, 计算各样品综合得分, 通过响应面法进行工艺优化。结果 建立了 29 个试验号 TSD UPLC 指纹图谱, 选择 16 个共有峰, 指认出地黄苷 D、苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、藜芦内酯共 6 个成分。主成分分析提取出 4 个主成分, 综合得分结果显示 15 号工艺为最佳工艺。含量测定显示, 地黄苷 D、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、藜芦内酯、羟基红花黄色素 A 6 种成分线性关系良好, 综合得分结果显示, 15 号工艺为最佳工艺。进一步根据回归模型拟合, 得到最优工艺为加水量 9.90 倍、浸泡时间 0.58 h、煎煮时间 1.19 h、煎煮次数 1.60 次, 最终确定 TSD 煎煮工艺为加 10 倍量水, 浸泡 0.5 h, 煎煮 2 次, 每次 1 h。结论 指纹图谱质量概貌结合关键质控成分可作为 TSD 制备工艺的质量评控方法, 得出的最佳煎煮工艺稳定可行, 可用于经典名方 TSD 复方制剂进一步研究开发。

**关键词:** 桃红四物汤; 经典名方; 煎煮工艺; 指纹图谱; Box-Behnken 设计-响应面法; 质量综合评价; 主成分分析; HPLC; UPLC; 地黄苷 D; 苦杏仁苷; 羟基红花黄色素 A; 芍药苷; 阿魏酸; 藜芦内酯

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)22-6845-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.22.009

## Optimization of decocting process of Taohong Siwu Decoction based on Box-Behnken response surface methodology and comprehensive quality evaluation

HE Yao<sup>1</sup>, JIANG Hua-juan<sup>1</sup>, CHENG Yan-fen<sup>1</sup>, DU Ke-qun<sup>1</sup>, LI Min-min<sup>1</sup>, YANG Qing-bo<sup>2</sup>, WANG Zhen-zhong<sup>3,4</sup>, FU Chao-mei<sup>1</sup>, DUAN Yi<sup>2</sup>

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

2. Guizhou Yibai Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550001, China

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

4. State Key Laboratory of New-tech of Traditional Chinese Medicine Preparation Process, Lianyungang 222001, China

**Objective** To optimize and scientifically evaluate of the decoction process of Taohong Siwu Decoction (桃红四物汤, TSD) according to ancient law, so as to lay a foundation for the study of traditional Chinese medicine compound preparation of classical prescription.

收稿日期: 2021-06-16

基金项目: 四川省科技计划项目 (2021YFS0256); 四川省科技计划项目 (2020YFS0567); 中药制剂过程新技术国家重点实验室开放基金资助项目 (SKL2020Z0305)

作者简介: 何 瑶, 副教授, 主要从事新制剂、新剂型和中药炮制工艺与机制研究。E-mail: 20660306@qq.com

\*通信作者: 傅超美, 教授, 主要从事新制剂、新剂型和中药炮制工艺与机制研究。E-mail: chaomeifu@126.com

段 毅, 主管中药师, 主要从事药理学质量标准研究。E-mail: 121928757@qq.com

**Methods** Using fingerprint profiles combined with multi-index quantitative determination as a comprehensive evaluation, Box-Behnken response surface design was used to optimize water consumption, soaking time, time of decoction, and frequency of decoction. Fingerprinting was performed on the SunFire-C<sub>18</sub> column (150 mm × 3.0 mm, 3.5 μm) with acetonitrile-0.5% phosphoric acid aqueous solution as mobile phase, flow rate was 0.2 mL/min, column temperature was 25 °C, and detection wavelength was 230 nm. The HPLC fingerprint was established, and the comprehensive score of each test sample was calculated by principal component analysis of the chromatographic peaks. Furthermore, the content of the six quality control components was detected by UPLC multiwavelength detection, each sample comprehensive score was calculated, and decoction process was optimized by response surface methodology.

**Results** The HPLC fingerprint of 29 test samples of TSD was established. A total of 16 chromatographic peaks were selected as the common peaks of the fingerprint and six ingredients were identified including rehmannioside D, amygdalin, paeoniflorin, ferulic acid, hydroxysafflor yellow A, ligustilide with good linear relation. The result of comprehensive score showed that process number 15 was the best process. According to the regression model fitting, the optimal process was obtained as follows: adding 9.90 times of water, soaking time 0.58 h, decocting time 1.19 h and decocting times 1.60 times. Finally, the decocting process of TSD was determined as follows: adding 10 times of water, soaking for 0.5 h, decocting twice, 1 h for each time. **Conclusion** Fingerprint quality profile combined with key quality control components can be used to evaluate the quality of the preparation process of TSD. The optimal decoction process is stable and feasible, which can be used for further research and development of the classical prescription TSD.

**Key words:** Taohong Siwu Decoction; classical prescription; decoction technology; fingerprints; Box-Behnken design-response surface methodology; comprehensive quality evaluation; principal component analysis; HPLC; UPLC; rehmannioside D; amygdalin; hydroxysafflor yellow A; paeoniflorin; ferulic acid; ligustilide

桃红四物汤 (Taohong Siwu Decoction, TSD) 出自《妇科冰鉴》(清·柴得华), 是国家公布的第一批经典名方目录方剂, 也是 2020 年首批公布“古代经典名方关键信息”的 7 个方剂之一。关键信息明确, 该方原方为生地三钱 (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), 服用方法为水煎服, 功效养血、活血、逐瘀, 主治血虚血瘀证<sup>[1-3]</sup>。基于其活血逐瘀功效, 该方剂在现代临床上广泛用于妇科、骨科、内科, 治疗原发性痛经的有效率在 90% 以上, 经常用于治疗骨折、术后血栓和 (或) 凝血等, 以及 TSD 或单用、或与中西药合用, 治疗冠心病、心绞痛、偏头痛、脑卒中、面神经炎、糖尿病及其并发症等多种疾病, 具有确切的临床疗效和较大的临床价值<sup>[4-9]</sup>, 将其开发为中药经典名方制剂有较大的临床需求。

在经典名方制剂研发中, 遵古制备和构建质量控制体系是两个核心要素。关键信息中公布 TSD 的服用方法为“水煎温服”, 没有明确提及煎煮次数、加水量等参数, 在研究中可根据卫生部、国家中医药管理局《医疗机构中药煎药室管理规范》(国中医药发〔2009〕3 号) 相关规定对重要工艺参数进行优化确定。Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 是采用多元回归方程拟合因素和效应值之间的函数关系, 通过对其分析来寻求最佳工艺参数,

是解决多变量问题的一种有效统计方法, 广泛应用于多因素优化试验。BBD-RSM 弥补了传统方法在反映非线性关系中的不足, 多因素多水平之间的关系通过数学模型建立可更稳定准确, 在研究复杂非线性系统中提供了有利的方法<sup>[10-12]</sup>。而中药复方具有多成分、多靶点、多层次、多途径、整体作用的特点, 少数几个指标成分难以科学地评价制剂工艺优劣和制剂质量, 进而得到与方剂功能主治相关的最优提取工艺, 以保障临床用药的有效性和安全性。通过应用现代分析技术构建中药复方的指纹图谱和指标成分含量测定, 从定性和定量 2 个角度综合优化中药复方工艺过程和关键参数, 是建立科学合理中药制备工艺体系的重要策略<sup>[13]</sup>。

课题组基于前期对基于质量标志物辨识原则和 TSD 制备过程关键质控指标的辨识并结合成分可测性<sup>[14-15]</sup>, 筛选得到 6 个成分作为 TSD 的质量评价指标, 分别为地黄苷 D、阿魏酸、芍药苷、羟基红花黄色素 A、苦杏仁苷、藁本内酯。因此, 本实验在 BBD-RSM 设计的基础上, 以指纹图谱概貌、关键成分含量测定结果为评价指标, 对 TSD 煎煮工艺进行试验设计和参数优化, 可为其后续中药经典名方复方制剂研究提供基础。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Thermo Dionex ULtiMate 3000 高效液相色谱系统, 包括 7311959 四元梯度泵、8153411 进样器、

6021984 柱温箱、8155073 DAD 检测器、7313241 在线脱气机和 Chromelon Console 工作站, 赛默飞世尔科技有限公司; DL-720D 型数控超声波清洗器, 上海之信仪器有限公司; FTS-10A 型液体加热器, 潮州市一壶百饮电器实业有限公司; N-1100 型旋转蒸发仪, 上海泉杰仪器有限公司; UPK-I-10T 型优普系列超纯水器, 四川优普超纯科技有限公司; SHB-III A 型循环水式真空泵, 北京中兴伟业有限公司; DD5 型台式大容量低速离心机, 湖南赫西仪器装备有限公司。

### 1.2 药材

地黄(批号 1904138, 产地河南)、当归(批号 1901137, 产地甘肃)、白芍(批号 1812034, 产地安徽)、川芎(批号 1901002, 产地四川)、桃仁(批号 1905004, 产地北京)、红花(批号 2003015, 产地新疆) 6 味药材购自道地产区, 经成都中医药大学中药鉴定专业裴瑾教授鉴定, 红花为菊科红花属植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花, 桃仁为蔷薇科桃属植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子, 地黄为玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根, 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, 当归为伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根, 经检验均符合《中国药典》2020 年版要求。上述药材经实验室炮制得到酒炙地黄、酒炙当归、酒炙红花、川芎、燀桃仁、酒炙白芍。

### 1.3 对照品及试剂

对照品地黄苷 D(批号 wkq20051709)、阿魏酸(批号 wkq19030705)、芍药苷(批号 wkq19090808)、羟基红花黄色素 A(批号 wkq20061509)、苦杏仁苷(批号 wkq20061207)、藁本内酯(批号 wkq20012006) 购自四川维克奇生物科技有限公司。色谱纯磷酸(批号 2019122601)、乙腈(批号 WXBC8826V)、甲醇(批号 WXBC9153V) 购自西格玛奥德里奇贸易有限公司。

## 2 方法和结果

### 2.1 供试品和对照品溶液制备

**2.1.1 供试品溶液** 按古籍记载处方的 2.68 倍量, 称取酒炙地黄 30 g、酒炙当归 40 g、酒炒白芍 15 g、川芎 10 g、酒炙红花 10 g、燀桃仁 10 g, 各试验号样品按表 1 因素水平进行煎煮, 合并煎液, 定容到

2300 mL(饮片量 0.05 g/mL), 取 10 mL, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

**2.1.2 对照品溶液** 分别精密称定芍药苷、苦杏仁苷对照品 15.795、6.435 mg, 加入甲醇定容到 5 mL, 溶解制成质量浓度分别为 3.195、1.287 mg/mL 的单一对照品储备溶液; 分别精密称定地黄苷 D、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、藁本内酯对照品 5.035、2.625、5.650、5.000 mg, 加入甲醇定容到 10 mL, 溶解制成质量浓度分别为 503.5、262.5、565.0、500.0 μg/mL 的单一对照品储备溶液。

### 2.2 BBD-RSM 因素和水平设计

在单因素实验的基础上, 并参考卫生部、国家中医药管理局《医疗机构中药煎药室管理规范》(国中医药发〔2009〕3 号) 相关规定, 分别对浸泡时间、加水量、提取时间、提取次数进行单因素实验, 选取加水量(A)、浸泡时间(B)、煎煮时间(C)、煎煮次数(D)为考察因素, 因素水平见表 1, 得到 29 个试验样品。

### 2.3 TSD 指纹图谱概貌评价研究

**2.3.1 色谱条件** 色谱柱为 SunFire-C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×3.0 mm, 3.5 μm); 流动相为乙腈-0.5% 磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~10 min, 5%~17%乙腈;

表 1 TSD 煎煮工艺响应面优化试验设计

Table 1 Experimental design of response surface optimization of TSD

试验号	因素				试验号	因素			
	A/倍	B/h	C/h	D/次		A/倍	B/h	C/h	D/次
1	8	0.5	1.0	2	16	8	0.5	0.5	1
2	8	0.5	1.0	2	17	8	0.5	1.5	1
3	8	1.0	1.0	1	18	8	1.0	1.0	3
4	6	0.5	1.5	2	19	10	0	1.0	2
5	6	0	1.0	2	20	6	0.5	0.5	2
6	6	1.0	1.0	2	21	8	0.5	0.5	3
7	10	0.5	0.5	2	22	8	0	1.5	2
8	8	0.5	1.0	2	23	10	1.0	1.0	2
9	8	0.5	1.5	3	24	8	0.5	1.0	2
10	8	1.0	1.5	2	25	10	0.5	1.0	1
11	6	0.5	1.0	3	26	8	0	1.0	3
12	8	0.5	1.0	2	27	8	1.0	0.5	2
13	6	0.5	1.0	1	28	10	0.5	1.5	2
14	8	0	0.5	2	29	8	0	1.0	1
15	10	0.5	1.0	3					

10~35 min, 17%~22%乙腈; 35~40 min, 22%~65%乙腈; 40~45 min, 65%~80%乙腈; 45~50 min, 80%乙腈; 体积流量为 0.2 mL/min; 柱温为 25 °C; 进样量为 10  $\mu$ L; 230 nm 波长检测。精密吸取空白溶液甲醇、混合对照品溶液和供试品溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测定, 记录色谱图。

**2.3.2 精密度试验** 取试验号 1 样品, 按照“2.1”项下方法制得的同一供试品溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件进行检测, 连续进样 6 次, 记录指纹图谱, 选择出峰稳定、响应值高、峰面积较大的阿魏酸为参照峰, 各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 2%, 表明本方法精密度良好。

**2.3.3 稳定性试验** 取试验号 1 样品, 按照“2.1”项下方法制得的同一供试品溶液, 分别于 0、4、8、12、16、24、48 h 进行检测, 记录指纹图谱, 以阿魏酸为参照峰, 各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 2%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

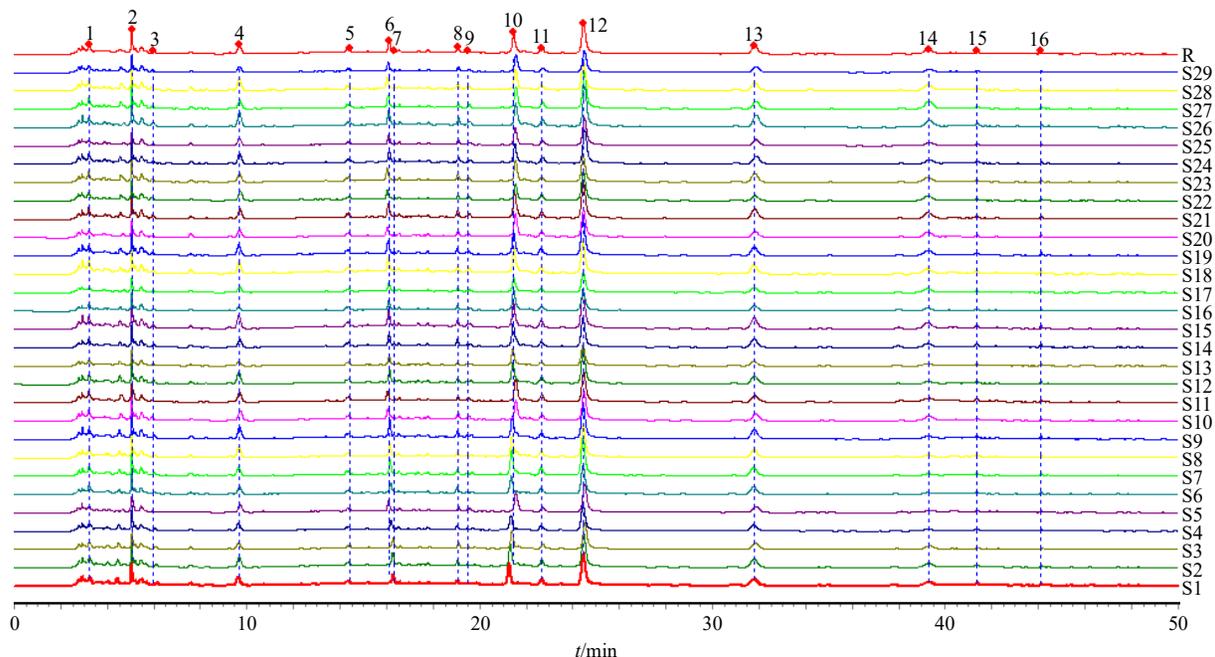
**2.3.4 重复性试验** 取试验号 1 样品, 按照“2.1”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 记录指纹图谱, 以阿魏酸为参照峰, 各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 3%, 表明方法重复性良好。

**2.3.5 指纹图谱分析** 经各对照品溶液色谱图的保留时间比对, 选择了特征明显、重复性好、稳定

性好的 16 个色谱峰为共有峰, 16 个色谱峰中辨认出 6 个成分, 分别是 1 号峰(地黄苷 D)、9 号峰(苦杏仁苷)、11 号峰(羟基红花黄色素 A)、12 号峰(芍药苷)、13 号峰(阿魏酸)、15 号峰(藜芦内酯)。记录各样品色谱图及峰面积信号值, 分析不同煎煮工艺过程中 16 个共有峰相对峰面积变化过程, 结果见图 1 和表 2。

**2.3.6 指纹信息主成分分析 (principal component analysis, PCA)** 将指纹图谱的 16 个共有峰峰面积分别导入 SPSS 20.0 软件, 进行 PCA, 结果见表 3 和图 2。主成分特征值、累积方差贡献率以特征值 > 1 为提取标准, 共提取出 4 个主成分, 得到主成分的累积方差贡献率 79.069%, 故选取前 4 个主成分进行评价, 它代表了 16 个成分量的 79.069% 的信息量, 可较好地反映总体成分信息。在 4 个主成分中, 特征值较大的是主成分 1, 其累积方差贡献率达 52.903%, 是信息量较全面的指标。从表 4 中可以看出根据因子载荷矩阵, 在主成分 1 中, 除了 5、14、1、9、7 号色谱峰以外, 其余 11 个成分的因子载荷非常接近, 均是主成分 1 的重要贡献成分, 说明主成分 1 很好地表达了 TSD 多成分物质群。

用计算得到的主成分对 29 个样品进行得分计算, 将得到的特征向量与标准化后的数据相乘, 得到主成分表达式, 再以每个主成分所对应的特征值



1-地黄苷 D 9-苦杏仁苷 11-羟基红花黄色素 A 12-芍药苷 13-阿魏酸 15-藜芦内酯  
1-rehmannioside D 9-amygdalin 11-hydroxysafflor yellow A 12-paeoniflorin 13-ferulic acid 15-ligustilide

图 1 TSD 样品指纹图谱共有模式

Fig. 1 Fingerprint common modeling for TSD samples

表2 不同煎煮工艺 TSD 样品色谱峰峰面积  
Table 2 Relative peak areas of TSD samples by different decocting methods

试验号	相对峰面积															
	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13	峰14	峰15	峰16
1	9.852	11.682	2.226	10.239	2.647	5.595	1.145	2.818	0.784	18.559	7.406	40.937	15.107	8.549	1.976	1.484
2	7.756	15.469	2.384	11.705	2.395	8.871	1.671	3.796	1.112	21.185	7.711	43.480	16.877	8.818	1.912	1.247
3	7.957	8.559	1.764	7.732	1.898	6.831	0.044	3.637	0.883	17.070	5.410	34.277	12.260	7.659	1.150	0.908
4	9.016	10.426	1.871	9.107	2.039	5.891	0.124	2.146	0.783	14.223	5.856	35.047	12.169	4.162	1.401	1.199
5	2.883	5.245	0.788	9.225	2.270	6.091	0.483	3.136	2.818	19.907	4.851	36.411	10.884	3.717	1.633	1.218
6	9.025	9.409	1.647	8.562	1.865	9.197	0.181	5.686	1.475	16.518	6.648	38.441	14.412	3.739	1.710	1.670
7	9.919	10.235	1.577	9.881	2.646	9.003	0.397	4.166	1.110	24.110	8.256	49.429	15.660	4.485	1.899	1.632
8	8.753	10.113	1.475	11.940	2.295	7.487	0.415	2.533	0.864	17.266	6.289	41.165	16.128	4.889	1.801	1.125
9	10.724	12.460	1.814	12.984	2.642	11.158	0.473	4.666	1.860	19.121	5.886	44.257	17.275	6.687	1.965	1.494
10	11.099	11.404	2.085	11.981	2.411	6.931	0.509	3.197	2.406	20.031	6.332	38.190	12.451	10.067	1.703	1.195
11	7.516	8.912	3.500	13.513	4.031	10.778	0.016	4.763	2.280	27.649	10.414	41.027	14.226	11.890	4.644	2.118
12	9.844	11.503	1.569	13.453	2.371	7.946	0.500	2.576	0.839	22.416	6.794	44.636	16.936	5.331	1.944	1.283
13	6.376	7.153	1.050	4.529	1.854	5.429	0.403	1.500	1.403	15.493	3.366	25.850	9.131	5.169	1.088	0.661
14	8.724	10.035	1.414	8.692	2.376	7.248	0.558	3.861	1.173	19.651	5.458	38.207	15.555	8.621	1.827	1.575
15	12.930	16.157	2.411	14.676	2.894	10.776	0.664	4.242	2.361	24.868	8.423	50.975	20.071	12.633	2.037	1.631
16	7.093	7.801	1.326	4.050	0.044	5.998	0.882	2.283	0.564	19.988	4.213	26.895	10.033	5.903	0.978	1.165
17	3.783	6.814	0.925	6.378	1.683	5.061	0.375	1.926	1.784	14.135	3.640	26.105	9.390	8.545	1.112	0.913
18	11.742	15.841	2.188	13.246	2.908	8.793	0.655	2.986	3.125	22.273	6.186	42.313	16.603	10.695	1.643	1.482
19	7.221	12.779	1.968	11.654	2.504	7.900	0.605	3.380	2.995	18.906	7.481	49.483	15.927	11.124	1.974	1.533
20	4.250	8.845	0.943	9.062	2.320	5.625	0.510	3.027	2.393	21.767	5.105	36.059	11.236	13.642	1.791	1.096
21	9.061	15.083	2.181	11.035	0.012	8.493	0.644	5.183	3.587	27.005	6.958	48.088	18.231	13.221	1.878	1.315
22	9.284	9.226	1.675	11.304	1.832	5.622	0.032	2.930	2.591	16.452	6.404	38.787	10.167	10.902	1.608	1.160
23	10.710	11.426	1.760	9.589	2.312	8.249	0.051	4.159	2.833	21.252	4.823	34.434	16.408	11.501	1.766	1.429
24	6.980	12.392	1.647	11.491	2.240	7.203	0.505	3.279	2.550	20.200	6.691	44.601	16.421	8.493	1.640	1.845
25	3.756	8.853	0.841	8.260	2.083	5.748	0.474	2.766	1.978	16.683	5.450	37.138	11.652	6.813	1.311	0.922
26	6.911	16.995	2.821	16.592	2.769	9.904	0.579	5.442	4.301	25.292	8.405	51.984	24.357	14.029	2.354	1.544
27	9.232	14.093	2.029	9.444	2.309	7.364	0.545	1.953	2.495	20.521	6.345	46.703	15.787	18.082	1.673	1.209
28	10.330	11.147	1.855	13.740	2.362	7.294	0.461	3.134	3.066	21.443	6.940	38.464	14.806	12.928	1.823	1.589
29	7.871	8.202	1.292	6.026	1.875	5.363	0.446	2.825	2.094	14.764	3.707	28.116	10.378	5.933	1.136	1.042

占提取主成分总的特征值之和的比例作为权重得到主成分综合模型，根据主成分综合模型计算 29 个样品的主成分得分及综合得分值，如表 5 所示。综合得分结果显示，15 号工艺为最佳工艺。

#### 2.4 TSD 多成分含量测定评价研究

**2.4.1 色谱条件** 按“2.3.1”项下描述色谱条件，分别在 210 nm (地黄苷 D 和苦杏仁苷)、230 nm (芍药苷)、328 nm (阿魏酸和藁本内酯)、403 nm (羟基红花黄色素 A) 波长下检测。

**2.4.2 系统适应性试验** 分别吸取混合对照品溶

液、供试品溶液各 10 μL，注入液相色谱仪，按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，6 种成分可达基线分离，各吸收峰的理论塔板数均不低于 5000，分离度大于 1.5，色谱图见图 3。

**2.4.3 线性关系考察** 分别精密量取“2.1”项下制备的对照品储备液各 1 mL，混合定容至 10 mL，制备得到混合对照品溶液母液，用甲醇通过 2 倍稀释法分别稀释 2、4、8、16、32 倍，制得各质量浓度的混合对照品溶液，分别按照“2.4.1”项下色谱条件进行测定，以质控浓度为横坐标 (X)，峰面积为

表 3 主成分因子的特征值和方差贡献率

Table 3 Eigenvalue and variance contribution rate of principal component factor

主成分	初始特征值			主成分	初始特征值		
	合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%		合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1*	8.464	52.903	52.903	9	0.307	1.922	95.629
2*	1.755	10.966	63.869	10	0.231	1.441	97.070
3*	1.417	8.859	72.728	11	0.159	0.994	98.064
4*	1.015	6.342	79.069	12	0.117	0.733	98.797
5	0.944	5.897	84.966	13	0.096	0.602	99.399
6	0.694	4.337	89.304	14	0.051	0.321	99.720
7	0.376	2.350	91.654	15	0.028	0.173	99.893
8	0.329	2.054	93.707	16	0.017	0.107	100.000

\*提取平方和载入的主成分

\* select the principal component loaded by the sum of squares

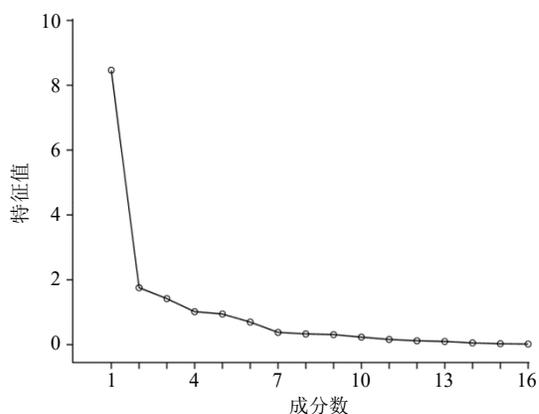


图 2 公共因子碎石图

Fig. 2 Common factor gravel map

纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得到回归方程、相关系数 (r) 和线性范围分别为芍药苷  $Y=0.4169X+0.4105$ ,  $r=0.9998$ , 线性范围  $9.8719\sim315.9000\mu\text{g/mL}$ ; 地黄苷 D  $Y=0.0553X-0.0131$ ,  $r=0.9938$ , 线性范围  $1.5734\sim50.3500\mu\text{g/mL}$ ; 阿魏酸  $Y=1.0564X-0.8515$ ,  $r=0.9991$ , 线性范围  $0.8203\sim26.2500\mu\text{g/mL}$ ; 羟基红花黄色素 A  $Y=0.5661X+0.3423$ ,  $r=0.9995$ , 线性范围  $1.7656\sim56.5000\mu\text{g/mL}$ ; 苦杏仁苷  $Y=0.4269X+0.0517$ ,  $r=0.9999$ , 线性范围  $4.0219\sim128.7000\mu\text{g/mL}$ ; 藜芦内酯  $Y=0.530X+0.0113$ ,  $r=0.9997$ , 线性范围  $1.5625\sim50.0000\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.4 精密度试验 将配制得到的混合对照品母液, 按照“2.4.1”项下色谱条件, 连续进样 5 次, 记录各组分色谱峰峰面积, 计算 RSD。结果地黄苷

表 4 初始因子载荷矩阵

Table 4 Initial factor load matrix

峰号	载荷			
	成分 1	成分 2	成分 3	成分 4
11	0.887	-0.206	-0.115	0.175
4	0.880	0.031	0.029	0.111
13	0.864	0.283	-0.141	-0.142
6	0.860	-0.136	-0.179	-0.267
12	0.858	0.196	-0.093	-0.001
3	0.846	-0.080	-0.050	0.146
10	0.804	0.056	0.168	-0.027
16	0.789	-0.343	-0.064	-0.080
2	0.780	0.559	-0.133	0.019
15	0.740	-0.527	0.147	0.228
8	0.694	-0.163	0.031	-0.553
5	0.527	-0.487	-0.010	0.469
14	0.524	0.388	0.576	0.233
1	0.520	0.130	-0.440	-0.190
9	0.465	0.264	0.761	-0.141
7	0.139	0.597	-0.405	0.405

D、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、芍药苷、苦杏仁苷、藜芦内酯峰面积的 RSD 分别为 3.56%、0.79%、1.04%、0.60%、1.74%、1.33%，表明仪器精密度良好。

2.4.5 稳定性试验 将试验号 1 制备的同一供试品溶液, 室温放置, 按照“2.4.1”项下色谱条件, 于 0、2、4、8、12、24、48 h 进样, 记录各组分色谱峰峰面积, 计算 RSD。结果地黄苷 D、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、芍药苷、苦杏仁苷、藜芦内酯峰面积的 RSD 分别为 3.08%、1.03%、1.00%、1.86%、3.66%、3.96%，表明供试品溶液在室温下 48 h 内稳定良好。

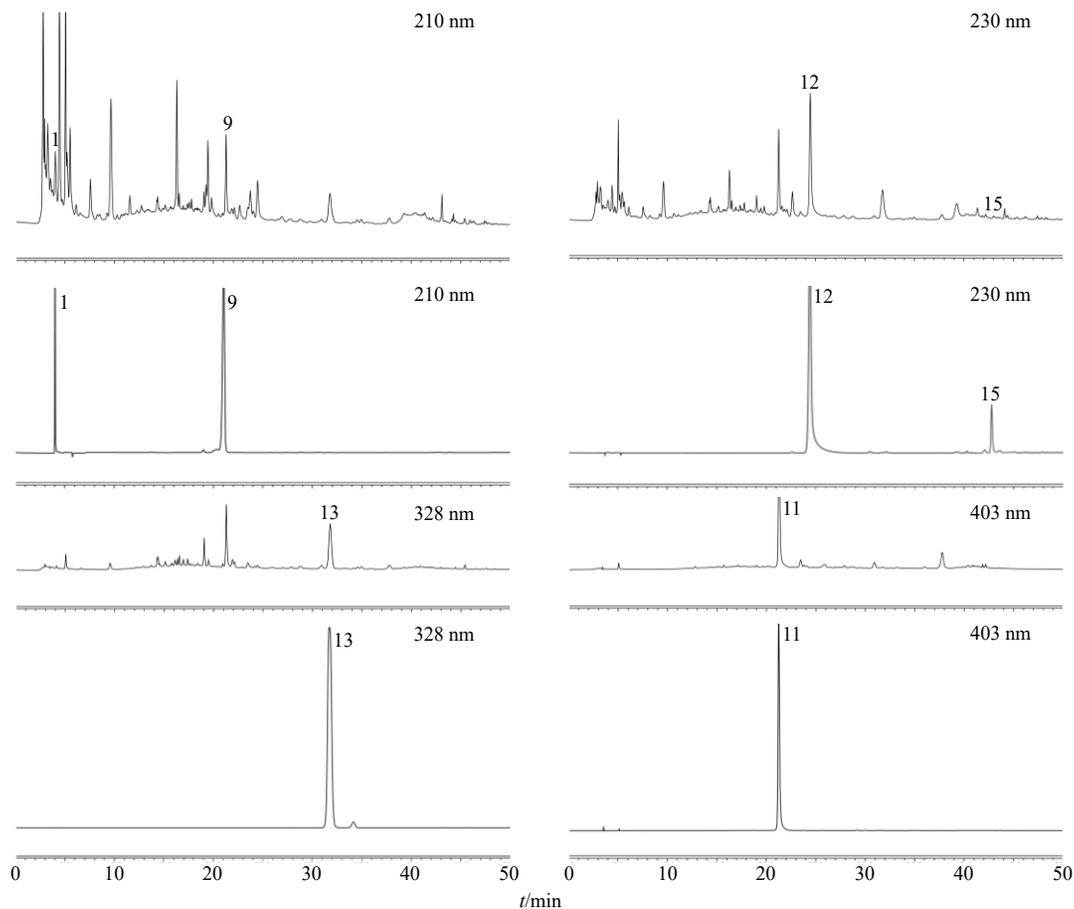
2.4.6 重复性试验 按试验号 1 的制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.4.1”项下色谱条件测定, 记录各组分色谱峰峰面积, 计算其质量浓度的 RSD。结果地黄苷 D、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、芍药苷、苦杏仁苷、藜芦内酯质量浓度的 RSD 分别为 3.17%、1.62%、1.02%、2.97%、1.40%、4.53%，表明方法重复性良好。

2.4.7 加样回收率试验 按试验号 1 的制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 每份精密量取 1 mL, 分别按样品中各成分含量的 100% 水平加入地黄苷 D、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、芍药苷、苦杏仁苷、藜芦内酯 6 种对照品, 进行含量测定, 计算 6 种成

表 5 主成分综合得分排序

Table 5 Ranking of principal component comprehensive score

编号	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	综合得分	排名	编号	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	综合得分	排名
15	9.197 759	1.689 089	-0.295 090	-0.182 460	10.409 300	1	1	6.912 146	1.244 423	-0.316 370	-0.044 590	7.795 607	16
26	9.088 709	1.414 116	-0.013 300	-0.156 530	10.332 995	2	20	6.202 486	1.164 894	0.251 906	0.028 680	7.647 965	17
21	8.434 192	1.715 950	-0.010 730	-0.250 610	9.888 808	3	14	6.623 175	1.154 954	-0.216 620	-0.169 640	7.391 865	18
27	7.716 660	1.683 211	0.085 346	0.033 096	9.518 314	4	22	6.326 293	1.138 483	-0.038 410	-0.043 490	7.382 871	19
11	8.235 684	0.963 360	0.040 814	-0.031 830	9.208 025	5	8	6.722 310	1.114 758	-0.414 700	-0.152 790	7.269 585	20
18	7.919 601	1.529 680	-0.208 430	-0.132 590	9.108 257	6	6	6.478 950	0.945 215	-0.424 650	-0.340 320	6.659 195	21
19	7.758 236	1.441 672	-0.116 860	-0.070 170	9.012 883	7	25	5.701 978	1.013 029	-0.071 630	-0.066 000	6.577 382	22
2	7.716 910	1.438 086	-0.315 310	-0.101 800	8.737 884	8	3	5.814 490	0.988 388	-0.195 410	-0.162 520	6.444 951	23
28	7.342 289	1.330 854	-0.003 450	-0.061 120	8.608 564	9	5	5.589 560	0.788 312	-0.039 760	-0.121 020	6.217 098	24
24	7.341 137	1.335 542	-0.172 920	-0.122 590	8.381 174	10	4	5.737 915	0.977 380	-0.398 660	-0.126 470	6.190 174	25
9	7.690 127	1.268 336	-0.419 770	-0.286 420	8.252 267	11	29	4.906 444	0.891 530	-0.151 780	-0.150 320	5.495 867	26
7	7.716 315	1.154 868	-0.455 540	-0.247 340	8.168 304	12	16	4.868 590	0.906 629	-0.163 230	-0.179 420	5.432 567	27
12	7.488 195	1.241 709	-0.422 500	-0.160 150	8.147 248	13	17	4.516 255	0.845 592	0.071 370	-0.025 350	5.407 864	28
23	6.904 903	1.276 199	-0.061 560	-0.213 710	7.905 827	14	13	4.419 362	0.789 963	-0.131 130	-0.100 990	4.977 205	29
10	6.896 099	1.234 271	-0.149 730	-0.092 460	7.888 178	15							



1-地黄苷 D 9-苦杏仁苷 12-芍药苷 15-藜本内酯 13-阿魏酸 11-羟基红花黄色素 A  
 1-rehmannioside D 9-amygdalin 12-paeoniflorin 15-ligustilide 13-ferulic acid 11-hydroxysafflor yellow A

图 3 TSD 样品和对照品溶液的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of TSD samples and reference substance solutions

分的加样回收率。结果地黄苷 D、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、芍药苷、苦杏仁苷、藁本内酯的平均加样回收率分别为 99.0%、99.2%、98.5%、98.8%、98.6%、99.2%，RSD 分别为 0.94%、0.67%、1.40%、0.72%、1.05%、0.74%，表明该方法准确可靠。

**2.4.8 多指标含量测定评价结果** 计算各指标性成分含量测定结果，赋予 6 个关键质控成分相同权重（6 个成分均代表了 6 味药的核心关键成分，故赋予了相同的权重）， $X_1 \sim X_6$  分别代表地黄苷 D、苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、藁

本内酯。综合评分 =  $(X_1/X_{max} + X_2/X_{max} + X_3/X_{max} + X_4/X_{max} + X_5/X_{max} + X_6/X_{max})/6$  进行评价，如表 6 所示。综合得分结果显示，15 号工艺为最佳工艺，与指纹图谱综合评分结果相同，说明这 6 种关键质控成分可较好地代表 TSD 质量概貌。

**2.5 BBD-RSM 回归模型的建立及方差分析**

采用 Design Expert 8.05 软件，通过响应面法进行工艺优化。分别对各因素水平进行多元线性和非线性回归，建立各指标综合评分 (Y) 对 4 个因素（加水量 A、浸泡时间 B、煎煮时间 C、煎煮次数 D）

表 6 TSD 中 6 种指标成分含量测定综合评分结果

Table 6 Comprehensive score results of content determination of six index components in TSD

试验号	质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )						综合评分
	地黄苷 D	苦杏仁苷	羟基红花黄色素 A	芍药苷	阿魏酸	藁本内酯	
15	4.231	0.108	1.947	2.426	0.572	0.076	0.986
21	3.625	0.166	1.869	2.287	0.532	0.070	0.976
19	3.228	0.138	1.729	2.354	0.455	0.074	0.910
18	3.791	0.144	1.849	2.010	0.472	0.062	0.901
26	2.504	0.109	1.706	2.474	0.658	0.062	0.894
9	3.972	0.080	1.659	2.103	0.500	0.074	0.871
7	3.448	0.087	1.836	2.352	0.456	0.071	0.870
2	3.490	0.089	1.663	2.066	0.459	0.072	0.841
23	3.283	0.130	1.579	1.632	0.490	0.066	0.830
27	2.853	0.114	1.598	2.221	0.439	0.063	0.819
28	2.925	0.141	1.495	1.826	0.429	0.068	0.819
24	2.989	0.117	1.469	2.120	0.445	0.061	0.805
11	1.927	0.126	1.661	1.780	0.379	0.084	0.799
12	3.502	0.045	1.581	2.122	0.460	0.073	0.797
14	2.841	0.080	1.696	1.813	0.457	0.069	0.783
1	2.931	0.059	1.573	1.944	0.405	0.074	0.760
8	2.987	0.051	1.543	1.955	0.428	0.068	0.745
10	2.730	0.110	1.425	1.812	0.361	0.064	0.743
20	2.058	0.110	1.621	1.710	0.335	0.067	0.725
5	1.835	0.130	1.422	1.727	0.322	0.061	0.702
6	2.675	0.049	1.290	1.757	0.397	0.064	0.674
22	1.899	0.119	1.130	1.841	0.300	0.060	0.666
25	1.879	0.090	1.360	1.762	0.337	0.049	0.636
3	2.859	0.031	1.336	1.625	0.339	0.043	0.590
4	2.551	0.031	1.101	1.662	0.338	0.052	0.581
29	1.930	0.096	1.262	1.329	0.317	0.042	0.581
17	1.256	0.081	1.079	1.233	0.285	0.042	0.506
16	2.048	0.022	1.533	1.249	0.301	0.032	0.501
13	1.981	0.022	1.255	1.220	0.271	0.041	0.483

的 2 次回归模型方程  $Y=4.32+0.46 A-0.06 B-0.20 C+0.92 D-0.19 AB+0.01 AC+0.06 AD-0.03 BC-0.2 BD-0.05 CD-0.16 A^2-0.05 B^2-0.22 C^2-0.23 D^2$ 。相关系数  $r=0.947 4$ ，校正系数 0.894 8，说明该模型拟合度良好，试验误差小，可用此模型对综合评分进行分析和预测。

方差分析结果见表 7，自变量 1 次项 C，2 次项 BD、 $C^2$ 、 $D^2$  显著 ( $P<0.05$ )；自变量 1 次项 A、D 极显著 ( $P<0.01$ )，表明模型具有统计学意义。各因素对综合评分的影响顺序为煎煮次数(D) > 加水量(A) > 煎煮时间(C) > 浸泡时间(B)。失拟项

P 值为 0.223 5 > 0.05，对模型有利，说明无失拟因素存在。根据软件拟合得到 2 次回归方程等高线及响应面图，评价试验因素之间的交互强度，来确定最佳煎煮工艺参数。通过等高线的形状反映交互效应的强弱，椭圆表示交互作用强，圆形则交互作用较弱，结果见图 4。根据模型拟合结果，加水量 9.90 倍、浸泡时间 0.58 h、煎煮时间 1.19 h、煎煮次数 1.60 次。结合研究过程中基于指纹图谱和化学模式识别得到的最佳工艺为加 10 倍量水、浸泡 0.5 h、每次煎煮 1 h，最终确定 TSD 煎煮工艺为加 10 倍量水、浸泡 0.5 h、煎煮 2 次、每次 1 h。

表 7 方差分析结果

Table 7 Results of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值	显著性	方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值	显著性
A	2.512 3	1	44.384 5	<0.000 1	$P<0.01$	CD	0.009 0	1	0.159 9	0.695 3	
B	0.044 9	1	0.793 9	0.388 0		$A^2$	0.164 4	1	2.904 6	0.110 4	
C	0.469 1	1	8.287 4	0.012 1	$P<0.05$	$B^2$	0.019 2	1	0.338 8	0.569 8	
D	10.132 3	1	179.008 7	<0.000 1	$P<0.01$	$C^2$	0.319 1	1	5.638 3	0.032 4	$P<0.05$
AB	0.148 5	1	2.623 4	0.127 6		$D^2$	0.334 1	1	5.902 3	0.029 2	$P<0.05$
AC	0.000 2	1	0.003 0	0.957 3		残差	0.792 4	14			
AD	0.012 6	1	0.223 1	0.644 0		失拟项	0.673 6	10	2.266 8	0.223 5	
BC	0.002 6	1	0.045 9	0.833 5		纯误差	0.118 9	4	0.159 9	0.695 3	
BD	0.327 1	1	5.779 7	0.030 6	$P<0.05$	总合	15.059 6	28			

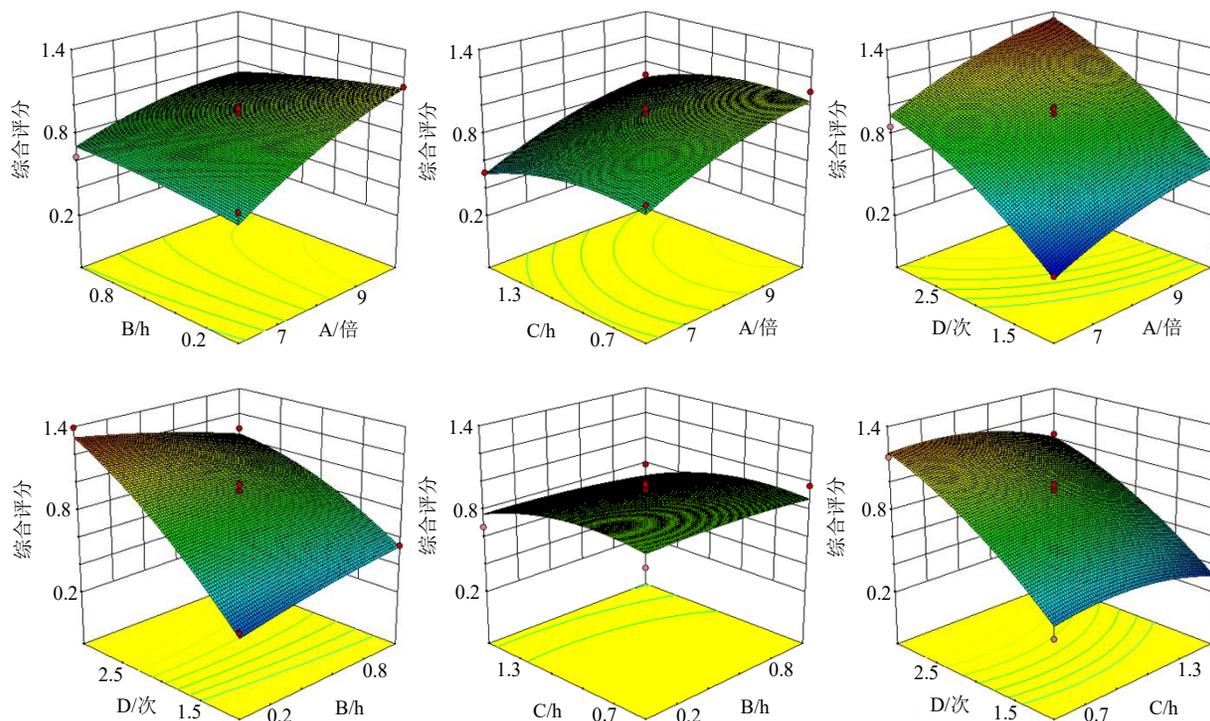


图 4 4 因素对综合评分的响应面图

Fig. 4 Response surface of four factors to comprehensive score

## 2.6 工艺验证试验

选择最佳煎煮工艺条件（加 10 倍量水，浸泡 0.5 h，煎煮 2 次，每次 1 h）进行 3 批验证试验，按上述方法进行指纹图谱和含量测定，计算得到指纹

图谱相似度分别为 0.998、0.976、0.989，3 批验证样品含量测定的综合得分如表 8 所示，分别为 1.194、1.208、1.276，预测值为 1.247，基本吻合，说明优化得到的提取工艺条件较为稳定，具备可行性。

表 8 验证实验结果

Table 8 Verification test results

试验号	质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )						综合评分
	地黄苷 D	苦杏仁苷	羟基红花黄色素 A	芍药苷	阿魏酸	藁本内酯	
1	5.042	0.207	2.638	2.869	0.625	0.096	1.194
2	5.625	0.225	1.989	2.797	0.86	0.084	1.208
3	5.428	0.317	1.876	2.882	0.564	0.117	1.286

## 3 讨论

现代数理统计和计算机技术的发展，开辟了用数学方法研究中药复方成分变化规律的新领域，也为经典名方工艺研究提供了强有力的工具。本课题基于前期预实验和查阅文献发现，加水量、浸泡时间、提取时间、提取次数对 TSD 提取工艺有较大影响。已开展的 TSD 煎煮工艺研究，多以单因素为其评价指标，难以科学评价中药复方的提取工艺，且得到的工艺参数与古籍记载相去甚远，遵古煎煮与现代工艺参数研究是经典名方 TSD 复方制剂研发的首要关键环节。故本实验通过应用现代分析技术构建中药复方的指纹图谱和指标成分含量测定，从“定性和定量”2 个角度综合优化中药复方工艺过程和关键参数。

《中国药典》2020 年版中 TSD 中 6 味饮片明确规定了 7 个定量检测指标，羟基红花黄色素 A、山奈酚、苦杏仁苷、阿魏酸、芍药苷、梓醇和地黄苷 D<sup>[16]</sup>。本实验基于课题组前期制备过程质量标志物的筛选<sup>[15]</sup>确定地黄苷 D、苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、藁本内酯 6 个成分作为指标成分对 TSD 提取工艺进行考察。地黄苷 D 为地黄中的主要活性成分，在《中国药典》2020 年版中首次被收载为含测成分，其具有补血、降低血糖<sup>[17]</sup>等药理作用。苦杏仁苷为桃仁中的主要有效成分，现代研究发现其具有心血管保护、抗胃溃疡、抑制肝纤维化、免疫调节和抑制、抗肿瘤、止咳、平喘、抗炎、镇痛等多方面的药理活性<sup>[18]</sup>。羟基红花黄色素 A 为红花中的主要有效成分，且在红花中含量较高，其具有抗心血管疾病、调血脂、调节代谢等多种药理作用。芍药苷为白芍中的主要有效成分，其具有抗炎、抗肿瘤、保肝等多种药理作用。阿魏酸

和藁本内酯为当归和川芎的主要活性成分，阿魏酸具有抗氧化、抗血栓、调血脂、降低心肌缺血和耗氧量、抗菌、抗病毒、抗癌等药理活性<sup>[19]</sup>；藁本内酯为当归和川芎挥发油中的主要成分，具有抗炎、镇痛、抗氧化、神经保护等药理活性<sup>[20-21]</sup>。

本实验通过指纹图谱和 6 个指标成分综合评价分析得到的最佳工艺均为 15 号，表明 6 个指标成分可大致代表 TSD 中的化学成分进行工艺评价，也印证了课题组前期经过研究预测得到的关键质量质控指标科学合理，可以代表 TSD 的整体质量，则可以作为 TSD 制备过程的关键质量控制指标进行量质传递研究。通过指纹图谱和指标成分综合评价分析得到的最佳工艺均为 15 号（加 10 倍量水，浸泡 0.5 h，煎煮时间 1 h，煎煮 3 次），通过 BBD-RSM 对工艺进行进一步优化，得到的最佳煎煮工艺为加水量 9.90 倍、浸泡时间 0.58 h、煎煮时间 1.19 h、煎煮次数 1.60 次。其中，煎煮次数是对质量影响最大的因素，而在经典名方研究过程中，煎煮次数也一直是备受争议的问题，关键信息中公布 TSD 的服用方法为“水煎温服”，没有明确提及煎煮次数等参数，故课题组尊古宜今，综合古籍对经典名方的记载以及生产过程中对提取率的考虑，经过 BBD-RSM 分析后，得到最优工艺为煎煮 1.60 次，根据实际情况设定为 2 次。指纹图谱和指标成分含测筛选到的最佳煎煮工艺为 3 次，通过响应面优化明确 2 次可较大程度得将 TSD 中的有效成分进行提取，在保证有效成分转移率的同时还降低了成本。故基于可操作性选择最佳工艺条件为，加 10 倍量水，浸泡 0.5 h，煎煮 2 次，每次 1 h。同时通过验证说明该提取工艺条件较为稳定，具备可行性。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 清·柴得华. 妇科冰鉴 [M]. 于崢, 魏民, 杨威校注. 北京: 人民军医出版社, 2012: 5.
- [2] 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]. (2018-04-13) [2018-12-10]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-0416/7107.html>.
- [3] 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.
- [4] 王升菊, 刘倩倩, 江华娟, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨桃红四物汤治疗原发性痛经的有效成分及作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(22): 5373-5382.
- [5] Zuo C, Zhang Y, Wang J, et al. Deciphering the intervention mechanism of Taohong Siwu Decoction following the abnormal uterine bleeding rats based on serum metabolic profiles [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 170: 204-214.
- [6] Zhang Y Y, Wang J C, Zuo C J, et al. Protective effect of Taohong siwu decoction on abnormal uterine bleeding induced by incomplete medical abortion in rats during early pregnancy [J]. *Chem Pharm Bull*, 2018, 66(7): 708-713.
- [7] 白晶, 陈黎明, 郭盛君, 等. 桃红四物汤+五苓散口服治疗踝关节骨折术后肿胀 25 例 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(1): 59-61.
- [8] 董少阳, 薛鹏宇, 张毅立, 等. 桃红四物汤加减对组合式外固定架治疗股骨转子间骨折患者凝血功能的影响 [J]. 河北中医药学报, 2021, 36(1): 35-40.
- [9] 谢夏阳. 温经汤配合桃红四物汤对月经不调患者性激素水平的影响与安全性分析 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2021, 5(4): 122-124.
- [10] 吴振起, 高畅, 杨璐, 等. 基于层次分析法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优选养阴清肺汤加味提取工艺 [J]. 中草药, 2019, 50(12): 2862-2867.
- [11] 杨凯, 马子豪, 李源, 等. Box-Behnken 响应面法优化白及多糖/聚乙烯醇湿法纺丝工艺及纤维性能评价 [J]. 中草药, 2020, 51(14): 3645-3654.
- [12] 曾海蓉, 李婷娜, 冉倩, 等. 基于熵权法结合 Box-Behnken 响应面法优化桂枝芍药知母颗粒复方提取工艺 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 84-90.
- [13] 张铁军, 刘昌孝. 新形势下中药新药研发的思路与策略 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 1-8.
- [14] 聂欣, 成颜芬, 王琳, 等. 桃红四物汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(4): 226-234.
- [15] 江华娟, 李敏敏, 何瑶, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和化学模式识别的经典名方桃红四物汤制备过程质量评价研究 [J]. 中草药, 2021, 52(4): 1000-1010.
- [16] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 91-339.
- [17] 谢彩侠, 李雅静, 张苗, 等. 怀地黄中地黄苷 A, 地黄苷 D 及益母草苷含量快速分析方法的建立 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 47-54.
- [18] 李露, 戴婷, 李小龙, 等. 苦杏仁苷药理作用的研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2016, 37(1): 63-66.
- [19] 张欣, 高增平. 阿魏酸的研究进展 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(1): 138-147.
- [20] Xie Q X, Zhang L L, Xie L, et al. Z-ligustilide: A review of its pharmacokinetics and pharmacology [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(8): 1966-1991.
- [21] 何树苗, 陈元堃, 曾奥, 等. 藁本内酯药理作用及机制研究进展 [J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(2): 152-156.

[责任编辑 郑礼胜]