基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 移行成分及谱效关联的舒心口服液抗凝血物质基础研究

奉　梅[1]，郭　靖[2]，王　瑾[2]，罗可译[1]，王艺欣[3]，万培钰[3]，廖清惠[3]，刘　涛[1*]

1. 成都大学食品与生物工程学院，四川 成都　610106
2. 湖北民康制药有限公司，湖北 宜昌　443002
3. 成都大学药学院，四川 成都　610106

摘　要：目的　基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱（ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry，UPLC-Q-TOF-MS/MS）移行成分及谱效关联探究舒心口服液抗凝血物质基础。**方法**　采用 HPLC 建立 15 批次舒心口服液指纹图谱，以凝血酶时间（thrombin time，TT）为抗凝血活性评价指标，采用灰色关联度及偏最小二乘法建立谱效关系，筛选与药效显著相关的成分；利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对舒心口服液入血成分进行分析，结合谱效关系筛选出的药效相关成分确定核心活性成分；利用等体积替代策略对核心活性成分进行体外抗凝活性验证。**结果**　建立了 15 批次舒心口服液指纹图谱，共标定 12 个共有峰，经对照品指认出 11 个化学成分，其中木犀草素、藁本内酯、新绿原酸、羟基红花黄色素 A、隐绿原酸、咖啡酸 6 个成分与 TT 值的关联性及显著性良好；入血成分分析共鉴定 66 个入血原型成分，主要类型为黄酮类、酚酸类、苯丙素类；其中新绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、木犀草素为体外谱效体内入血的交集成分，确定以上 4 个成分为舒心口服液的抗凝血物质基础。活性验证结果显示，复方稀释基准组有明显抗凝血活性，4 种活性成分-纯化水配比组与空白对照组比无显著抗凝活性（$P>0.05$），但活性成分-舒心口服液配比组与空白对照组及复方稀释基准组均有显著性差异（$P<0.01$）。**结论**　构建了舒心口服液指纹图谱及体外抗凝血活性谱效关系，明确了其入血成分，阐明了其抗凝血物质基础，证实了新绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、木犀草素作为舒心口服液物质基础与复方其他背景成分协同增效发挥抗凝血作用的可靠性。为进一步临床研究提供了科学依据，也为中药复方药效物质基础研究提供了新策略。

关键词：舒心口服液；抗凝血物质基础；谱效关系；冠心病；移行成分；等体积替代；新绿原酸；咖啡酸；羟基红花黄色素 A；木犀草素

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2026)22 - 8845 - 15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.22.004

Study on anticoagulant material basis of Shuxin Oral Liquid based on UPLC-Q-TOF-MS/MS migrating components and spectrum-effect relationship

FENG Mei[1], GUO Jing[2], WANG Jin[2], LUO Keyi[1], WANG Yixin[3], WAN Peiyu[3], LIAO Qinghui[3], LIU Tao[1]

1. College of Food and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China
2. Hubei Minkang Pharmaceutical Co., Ltd., Yichang 443002, China
3. School of Pharmacy, Chengdu University, Chengdu 610106, China

Abstract: Objective　To investigate the anticoagulant substance basis of Shuxin Oral Liquid by analyzing its migration components and spectrum-effect relationships using ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS). **Methods**　High-performance liquid chromatography (HPLC) was employed to establish fingerprint profiles for 15 batches of Shuxin Oral Liquid, with the anticoagulant activity thrombin time (TT) as the pharmacodynamic indicator. A

收稿日期：2026-09-22

基金项目：2025 年四川省中医药科研专项科技成果转化引导项目（25CGZHZX069）；成都大学 2026 年省级大学生创业训练计划项目（S202611079005S）

作者简介：奉　梅，硕士研究生，研究方向为中成药开发与质量再评价。E-mail: 2718124293@qq.com

***通信作者：**刘　涛，博士，研究员级高级工程师，从事中成药新药开发及再评价。E-mail: liutao0578@sina.com

spectrum-effect relationship was established using grey relational analysis and partial least squares method to identify components significantly associated with pharmacodynamics. UPLC-Q-TOF-MS/MS was utilized to analyze blood-entering components of Shuxin Oral Liquid, and core active ingredients were determined based on the screened pharmacodynamically relevant components. *In vitro* anticoagulant activity of these core active ingredients was validated using the equal volume substitution strategy. **Results** Fingerprint profiles for all 15 batches were established, with 12 common peaks identified. Among these, 11 chemical components were confirmed via reference standards, including luteolin, ligustilide, neochlorogenic acid, hydroxysafflor yellow A, cryptochlorogenic acid and caffeic acid, which demonstrated strong correlation and statistical significance with TT value. Blood-entering components analysis identified 66 prototype blood-entering constituents, primarily belonging to flavonoids, phenolic acids and phenylpropanoids. Neochlorogenic acid, caffeic acid, hydroxysafflor yellow A and luteolin were confirmed as integrated components bridging *in vitro* spectrum-effect profiles and *in vivo* blood-entry characteristics, thus establishing these four compounds as the fundamental anticoagulant substances of Shuxin Oral Liquid. Activity validation results demonstrated that the compound dilution reference group exhibited significant anticoagulant activity; the ratios of the four active ingredients to purified water showed no significant anticoagulant activity compared to the blank control group ($P > 0.05$), whereas the ratios of the active ingredients to Shuxin Oral Liquid exhibited significant differences compared to both the blank control group and the compound dilution reference group ($P < 0.01$). **Conclusion** The fingerprint profile of Shuxin Oral Liquid and its *in vitro* anticoagulant activity-response relationship were established; its active components entering the bloodstream were identified; its anticoagulant substance basis was elucidated; and the reliability of neochlorogenic acid, caffeic acid, hydroxysafflor yellow A and luteolin serving as the fundamental components of Shuxin Oral Liquid working synergistically with other background constituents of the compound prescription. These findings provide a scientific basis for further clinical research and offer new strategies for studying the pharmacological substance basis of traditional Chinese medicine formulations.

Key words: Shuxin Oral Liquid; anticoagulant material basis; spectrum-effect relationship; coronary heart disease; migratory components; equal volume substitution; neochlorogenic acid; caffeic acid; hydroxysafflor yellow A; luteolin

舒心口服液（Shuxin Oral Liquid）源自湖北中医学院附属医院张晓星教授的临床经验方，全方由党参、黄芪、红花、当归、川芎、三棱、蒲黄共 7 味中药配伍[1]。该药属益气活血剂，临床用于治疗心气不足、瘀血内阻所致的胸痹及冠心病心绞痛，被《冠心病合理用药指南》第 2 版[2]作为气虚血瘀证推荐用药，入选 2025 年版《国家基本医保、工伤及生育保险药品目录》[3]，质量标准依照现行《中国药典》2025 年版一部[1]执行，现行质量控制体系主要依托黄芪甲苷的定性鉴别与含量测定。中药复方内含成分复杂，往往是多成分协同发挥功效，亟需建立能够反映整体化学特征并与临床疗效相关联的质量评价与物质基础研究方法[4-5]。

舒心口服液处方药味多，成分关系复杂，其既往研究多侧重于临床疗效评价[6-8]，而抗凝血物质基础研究尚存明显空白。且现有研究多局限于体外化学成分的常规检测，难以客观反映药物经胃肠吸收及体内代谢后的真实血清移行原貌。全方组分体系的系统解析尚不充分，缺乏“成分-药效”关联分析与体内外联合验证，亦未深入探讨多成分协同抗凝作用机制。再者，传统的单指标评价模式难以映射全方的整体化学特征及临床有效性[9]。冠心病气虚血瘀证常伴随血液高凝状态[10-11]，舒心口服液的化瘀功效与抗凝血作用密切相关，深入阐明其抗凝血物质基础对于研究其治疗冠心病药效物质基础及作用机制具有重要意义。

凝血酶时间（thrombin time，TT）是凝血常规四项之一[12]，直接反映凝血级联反应的终末环节，能够评价药物对凝血酶促纤维蛋白原转化过程的影响[13]，已被广泛用于药物抗凝血活性研究[14-16]。临床研究表明，气虚血瘀型冠心病患者的 TT 值较健康人群显著缩短，呈现明显的高凝状态；而益气化瘀干预可显著延长 TT。因此，TT 值是评估冠心病气虚血瘀证高凝状态及活血抗凝疗效的关键指标[17-18]。近年来，中药指纹图谱与谱效关联分析已被广泛用于筛选复方中的药效活性成分[19-21]，基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱（ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry，UPLC-Q-TOF-MS/MS）的入血成分鉴定也为明确体内物质基础提供了关键技术手段[22-23]。

为阐明舒心口服液的药效物质基础，本研究基于“体外谱效-体内移行成分”关联策略，通过建立 HPLC 指纹图谱及测定抗凝血时间 TT 值，进行指

纹图谱与抗凝血活性间的谱效关联分析，筛选舒心口服液体外抗凝血活性成分。同时采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析鉴定舒心口服液吸收入血的原型成分及代谢产物，明确体内入血成分，结合谱效数据，分析确定核心活性候选物，明确舒心口服液抗凝血药效物质基础，引入等体积替代策略对核心活性成分体外抗凝血活性进行验证，实现“体外谱效筛选-体内移行成分辨识-核心成分验证”的系统闭环，为舒心口服液抗凝血质量再评价研究提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Eclassical 3200 型高效液相色谱仪（大连依利特分析仪器有限公司）；SQP 型电子分析天平（北京赛多利斯科学仪器有限公司）；XN06 型半自动凝血测定仪（武汉景川诊断技术股份有限公司）；Supersil C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），大连依利特分析仪器有限公司；ACQUITY UPLCH-Class 型超高效液相色谱系统、ACQUITY UPLC HSS T3 型色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm，美国 Waters 公司）；5600 Q TOF 型高分辨质谱仪（美国 AB SCIEX 公司）；TG16-WS 型台式高速离心机（湖南湘仪实验室仪器开发有限公司）；Vortex-2 型旋涡混匀仪（上海沪析实业有限公司）；EYELA N-1001 型旋转蒸发仪（日本东京理化器械株式会社）。

1.2 试剂

舒心口服液（批号 240518、241106、240303、241105、241110、240302、241113、240607、240304、240301、241107、241108、241109、240501、240601，S1～S15，湖北民康制药有限公司）；对照品藁本内酯（批号 WP25010609）、毛蕊异黄酮葡萄糖苷（批号 WP24071911）、咖啡酸（批号 wkq18013006）、木犀草素（批号 wkq21040905）、隐绿原酸（批号 WP24052712）、新绿原酸（批号 WP24060712）、绿原酸（批号 WP25012109）、对香豆酸（批号 WP25011309），柚皮素（批号 wkq23011805），质量分数均≥98%，购自四川省维克奇生物科技有限公司；羟基红花黄色素 A（批号 A111637-201609），质量分数≥98%，中国食品药品检定研究院；阿魏酸（批号 0773-9809），质量分数≥98%，中国药品生物制品检定所；无菌抗凝兔血（批号 20251129-02、202609137-02，郑州平睿生物科技有限公司）；TT 凝血酶时间测定试剂盒（批号 524041，武汉中太生物技术有限公司）；甲醇、乙腈（色谱纯，成都科隆科技有限公司）；质谱级甲醇、乙腈（德国 Merck 公司）；质谱级乙酸（中国 CNW 公司）；水为超纯水。

1.3 动物

SPF 级 SD 雄性大鼠，6 只，体质量（240±15）g，由武汉华联科生物科技有限公司提供，实验动物生产许可证号 SCXK-（鄂）2023-0033。动物饲养于相对湿度（60±10）%、环境温度（24±2）℃，饲养期间明暗 12 h 周期交替，普通颗粒饲料进食，自由饮水。本实验经成都大学动物实验伦理委员会审核批准（批准号 FLD202601-06）。

2 方法与结果

2.1 指纹图谱建立

2.1.1 供试品溶液的制备 精密移取舒心口服液 10 mL 于 25 mL 量瓶中，精密加入 10 mL 50%甲醇，混匀，超声 30 min（240 W、50 Hz），冷却至室温，加 50%甲醇至刻度，摇匀后滤过，取续滤液，经 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、藁本内酯、木犀草素、柚皮素对照品适量，精密称定，加 50%甲醇制成对照品储备液。分别吸取各对照品储备液适量，加入 50%甲醇稀释制成含以上成分质量浓度分别为 108、21、44、16、101、12、39、31、398、18、19 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 Supersil C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：乙腈（A）-0.1%磷酸（B），梯度洗脱：0～8 min，8% A；8～15 min，8%～10% A；15～25 min，10%～13% A；25～40 min，13%～20% A；40～50 min，20%～25% A；50～57 min，25%～30% A；57～60 min，30%～35% A；60～70 min，35%～50% A；70～85 min，50%～10% A。检测波长 300 nm；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；进样量 20 μL；

2.1.4 精密度考察 取舒心口服液（S8）按“2.1.1”项下制备供试品溶液，按色谱条件连续进样 6 次，记录各共有峰保留时间及峰面积。以 1 号峰（新绿原酸）为参照峰（S），计算得各共有峰相对保留时间 RSD 值均小于 1.76%，各共有峰峰面积 RSD 值均小于 1.28%，表明该仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性考察 取舒心口服液（S8）按“2.1.1”项下制备供试品溶液，按色谱条件在 0、2、4、8、

12、24、48 h 进样测定，记录各共有峰保留时间及峰面积，以 1 号峰（新绿原酸）为参照峰（S），计算得各共有峰相对保留时间的 RSD 值均小于 1.18%，各共有峰相对峰面积 RSD 值均小于 2.61%，表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.1.6　重复性考察　取舒心口服液（S8）按“2.1.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按色谱条件测定，记录各共有峰保留时间及峰面积，以 1 号峰（新绿原酸）为参照峰，计算得各共有峰相对保留时间的 RSD 值均小于 0.86%，各共有峰相对峰面积 RSD 值均小于 2.75%，该方法重复性良好。

2.1.7　指纹图谱生成及相似度评价　取 15 批次舒心口服液样品（S1～S15），分别按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液，按色谱条件进样检测，将所得的 CDF 格式图谱文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012.130723 版）》进行分析，共确认 12 个共有峰。以舒心口服液 S8 图谱为对照图谱，采用中位数法，设置时间宽度为 0.1 min，多点矫正后进行 Mark 峰匹配，获得 15 批次舒心口服液叠加指纹图谱，见图 1。对 15 批舒心口服液指纹图谱进行相似性分析。15 批舒心口服液样品与对照指纹图谱相似度分别为 0.999、0.999、0.996、0.999、0.998、0.997、0.999、0.999、0.997、0.997、0.997、0.997、0.998、0.997 和 0.997，各批次间相似性良好。

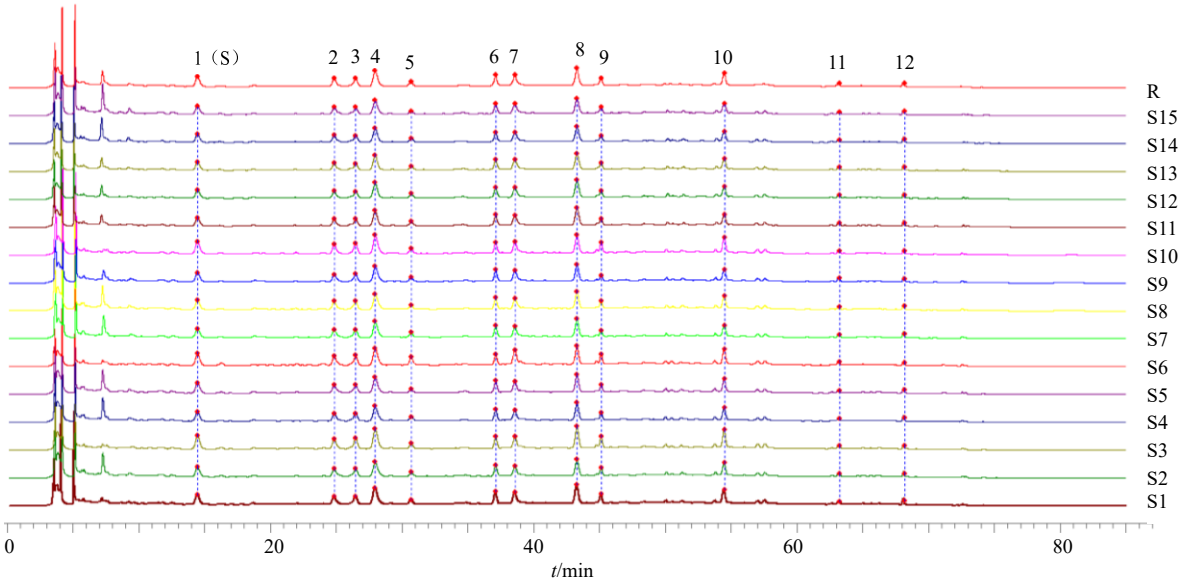


图 1　15 批舒心口服液叠加指纹图谱

Fig. 1　Overlapping fingerprint profiles of 15 batches of Shuxin Oral Liquid

2.1.8　共有峰指认　对所确认的 15 批舒心口服液指纹图谱共确认 12 个共有峰进行指认。通过对照品比对，指认出其中 11 个峰：1 号峰为新绿原酸、2 号峰为绿原酸、3 号峰为隐绿原酸、4 号峰为咖啡酸、5 号峰为羟基红花黄色素、7 号峰为对香豆酸、8 号峰为阿魏酸、9 号峰为毛蕊异黄酮葡萄糖苷、10 号峰为藁本内酯、11 号峰为木犀草素、12 号峰为柚皮素，样品及混合对照图谱见图 2。

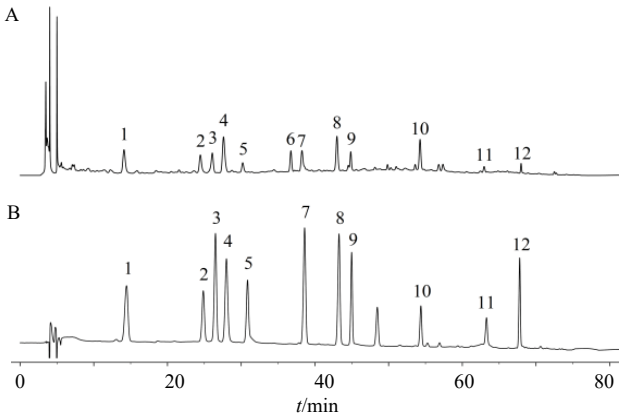
2.2　化学模式识别

2.2.1　聚类分析　采用 SPSS 27.0 进行聚类分析。以 15 批舒心口服液 12 个共有峰峰面积作为变量，以组间链接作为聚类方法，选择平方欧式距离法，进行系统聚类分析，聚类分析结果见图 3。结果显示，当平方欧式距离为 10 时，15 批舒心口服液样品被分为 2 类，S3、S6、S10 为一类，其余 12 个批次为一类，反映了不同批次间微小的成分量值波动，结合相似度分析结果，表明全方整体化学质量仍具备良好均一性。

2.2.2　主成分分析　采用 SPSS Statistics 27.0 软件进行系统主成分分析。将 15 批次舒心口服液 12 个共有峰峰面积经标准化处理所得数据导入软件进行主成分分析，根据特征值＞1 结合碎石图分析最优主成分数量为 2（表 1、图 4），2 个主成分累积方差贡献率为 87.447%，数据结构稳定可靠。

2.3　舒心口服液的 TT 值测定

2.3.1　血浆制备　取无菌抗凝兔血 10 mL 置于离心管中，3 000 r/min 条件下离心 15 min，取上清液，即得。



1-新绿原酸；2-绿原酸；3-隐绿原酸；4-咖啡酸；5-羟基红花黄色素 A；7-对香豆酸；8-阿魏酸；9-毛蕊异黄酮葡萄糖苷；10-藁本内酯；11-木犀草素；12-柚皮素。

1-Neochlorogenic acid; 2-chlorogenic acid; 3-cryptochlorogenic acid; 4-caffeic acid; 5-hydroxysafflor yellow A; 7-*p*-coumaric acid; 8-ferulic acid; 9-calycosin-7-glucoside; 10-ligustilide; 11-luteolin; 12-naringenin.

图 2　舒心口服液 S8 样品 (A) 和混合对照品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 2　HPLC chromatogram of Shuxin Oral Liquid S8 sample (A) and that of mixed reference standard (B)

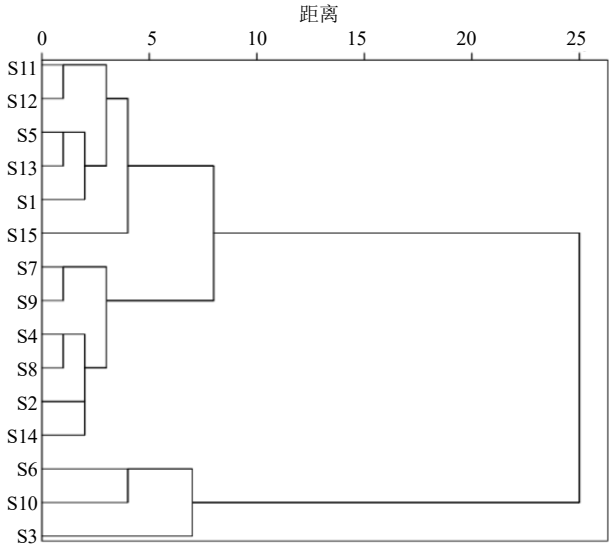


图 3　15 批舒心口服液样品聚类分析树状图

Fig. 3　Cluster analysis dendrogram of 15 batches of Shuxin Oral Liquid samples

表 1　主成分特征值及方差贡献率

Table 1　Principal component eigenvalues and variance contribution ratios

主成分	初始特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	9.083	75.694	75.694
2	1.410	11.752	87.447

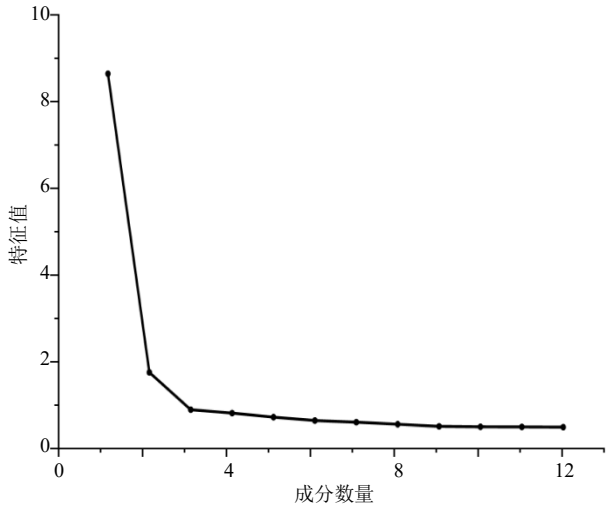


图 4　主成分分析碎石图

Fig. 4　Principal component analysis gravel distribution diagram

2.3.2　样品制备　取舒心口服液，充分摇匀，量取 5 mL 置于洁净、干燥试管中，作为供试品溶液。

2.3.3　测定方法　取血浆 100 μL 至一次性测试杯中，测试杯置于半自动凝血分析仪孔洞中，各孔中加入各样品溶液 100 μL，37 ℃预热 180 s，预热完成后，移至测定区，在就绪条件下，加入 100 μL 凝血酶试剂，测定 TT 值，重复测定 5 次。

2.3.4　稳定性考察　取样品（S8）分别于 0、10、30、60、120 min 按测定方法进行测定，计算得 TT 值的 RSD 值为 3.38%，小于 5.00%，表明舒心口服液样品在 120 min 内稳定。

2.3.5　精密度考察　取同一舒心口服液样品（S8）按测定方法连续测定 6 次，计算得 TT 值的 RSD 值为 1.04%，小于 5.00%，表明该方法精密度良好。

2.3.6　重复性考察　取样品（S8） 6 份，按测定方法进行测定，计算得 TT 值的 RSD 值为 1.70%，小于 5.00%，表明该方法重复性良好。

2.3.7　样品测定　取 15 批舒心口服液样品，置于一次性测试杯，加入血浆 100 μL，于各孔中加入各样品溶液，37 ℃预热 180 s，预热完成后，移至测定区，在就绪条件下，加入 100 μL 凝血酶试剂，测定 TT 值，重复测定 5 次，结果见表 2。

2.4　舒心口服液抗凝血谱效关系分析

2.4.1　灰色关联度分析　将 15 批次舒心口服液 12 个共有峰峰面积及各批次样品的 TT 值数据导入 Excel 进行灰色关联度分析。以 12 个共有峰峰面积为特征序列，各批样品的抗凝血活性 TT 值为母序

表 2　15 批舒心口服液的 TT 值（$\bar{x} \pm s$，$n = 5$）

Table 2　Anticoagulation TT values of 15 batches of Shuxin Oral Liquid ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组别	TT 值/s
纯化水	9.54±0.08
S1	37.96±0.13
S2	33.54±0.11
S3	42.92±0.30
S4	36.82±0.26
S5	38.82±0.19
S6	42.36±0.13
S7	28.66±0.18
S8	34.08±0.18
S9	28.40±0.12
S10	46.64±0.11
S11	39.10±0.21
S12	38.46±0.11
S13	38.16±0.11
S14	37.32±0.16
S15	39.40±0.14

列，所有原始数据以均值化法进行无量纲处理，分辨系数 ρ 设为 0.5，计算各共有峰峰面积与 15 批样品 TT 值之间的关联度。

关联系数按式（1）计算，关联度按式（2）计算。式中，$\xi_i(k)$ 为第 k 批样品中第i个共有峰与母序列的关联系数；$x_0(k)$ 为母序列（TT 值）；$x_i(k)$ 为第 i 个共有峰的特征序列；r_i为第i个共有峰与抗凝血活性 TT 值的关联度；i为共有峰序号，i＝1, 2, …, 12；k为样品批次序号，k＝1, 2, …, 15；n为样品批次数，n＝15；ρ 为分辨系数，取 0.5。

$$\xi_i(k)=\frac{\min\limits_i \min\limits_k |x_0(k)-x_i(k)|+\rho \max\limits_i \max\limits_k |x_0(k)-x_i(k)|}{|x_0(k)-x_i(k)|+\rho \max\limits_i \max\limits_k |x_0(k)-x_i(k)|} \quad (1)$$

$$r_i=\frac{1}{n}\sum_{k=1}^{n}\xi_i(k) \quad (2)$$

结果显示，舒心口服液各共有峰峰面积与样品抗凝血活性 TT 值关联度均大于 0.65，见表 3。

2.4.2　偏最小二乘法回归分析　将 15 批舒心口服液的指纹图谱共有峰峰面积及 TT 值导入 SIMCA 14.1 软件进行偏最小二乘法回归分析，通过模型拟合得到投影变量重要性（variable importance in projection，VIP）值及回归系数，见图 5、6。结果显示，舒心口服液指纹图谱共有峰中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、对香豆酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、藁本内酯、木犀草

表 3　15 批舒心口服液样品共有峰峰面积与 TT 值灰色关联度分析结果表

Table 3　Results of grey relational analysis for total peak area and TT value of 15 batches of Shuxin Oral Liquid samples

共有峰号	关联度	指认成分名称
11	0.853	木犀草素
10	0.827	藁本内酯
1	0.815	新绿原酸
5	0.807	羟基红花黄色素 A
3	0.796	隐绿原酸
4	0.789	咖啡酸
2	0.754	绿原酸
7	0.753	对香豆酸
8	0.721	阿魏酸
9	0.717	毛蕊异黄酮葡萄糖苷
6	0.709	–
12	0.670	柚皮素

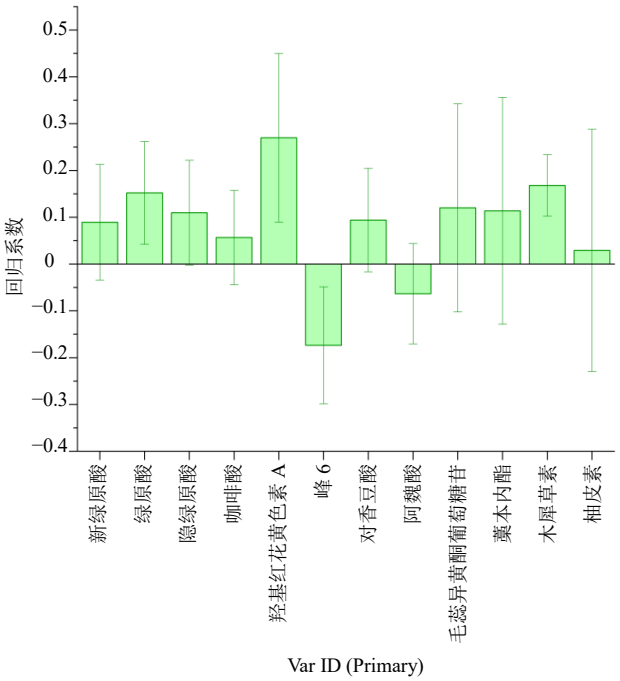


图 5　回归系数图

Fig. 5　Regression coefficient plot

素、柚皮素峰面积与抗凝血活性 TT 值呈正相关，阿魏酸及 6 号峰峰面积与抗凝血活性 TT 值呈负相关。羟基红花黄色素 A、木犀草素、隐绿原酸、新绿原酸、藁本内酯、咖啡酸、绿原酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷的 VIP 值大于 1，说明这些成分对舒心口服液的抗凝血活性的提升具有显著影响。结合灰色关联度的分布特征，选择高于均值且处于数值突变

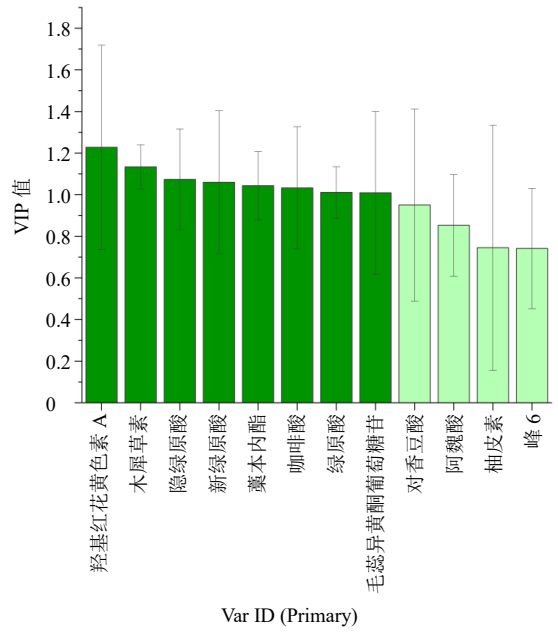


图 6 舒心口服液各共有峰变量投影重要性指标 VIP 值

Fig. 6 VIP values of projection importance indicators for each shared peak variable in Shuxin Oral Liquid

节点的 0.78 作为关联度截断阈值，综合筛选灰色关联度＞0.78，VIP 值大于 1 且满足回归系数为正值的成分，即木犀草素、藁本内酯、新绿原酸、羟基红花黄色素 A、隐绿原酸、咖啡酸为舒心口服液中与抗凝血相关性较大的化学成分。

2.5 入血成分鉴定

2.5.1 色谱条件 使用 ACQUITY UPLC HSS T3 型色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），柱温为 40 ℃，体积流量为 0.4 mL/min，流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液，流动相 B 为 0.1%甲酸乙腈溶液；梯度洗脱：0～1.5 min，85% A；1.5～2.5 min，85%～90% A；2.5～14.0 min，90%～60% A；14.0～24.0 min，60%～5% A；24.0～27.0 min，5% A；27.0～27.1 min，5%～95% A；27.1～30.0 min，95% A；进样体积为 4 μL。

2.5.2 质谱条件 AB 5600 Triple TOF 质谱仪在控制软件（Analyst TF 1.7，AB Sciex）控制下基于 IDA 功能进行一级、二级质谱数据采集。扫描方式为 ESI 正、负离子全扫描结合 IDA 触发二级扫描。在每个数据采集循环中，筛选出强度最强且大于 100 的分子离子进行采集对应的二级质谱数据。一级采集范围 *m*/*z* 50～1 200，轰击能量 30 eV，每次循环采集 15 个二级谱图。使用 ESI 离子源，正离子、负离子模式扫描分别采集样品信号；喷雾电压为 5 500 V（正离子模式）/−4 500 V（负离子模式）；离子源温度 550 ℃；气体种类及工作压力设置：雾化气压（GS1）413.7 kPa，辅助气压 413.7 kPa，气帘气压 241.3 kPa。

2.5.3 供试品溶液的制备 精密移取 100 μL 舒心口服液样品于 1.5 mL EP 管内，涡旋 30 s，加入 300 μL 95%甲醇水溶液，混合，在 20 ℃、17 000×*g* 条件下离心 10 min，取上清液于进样小瓶中，上机测定。

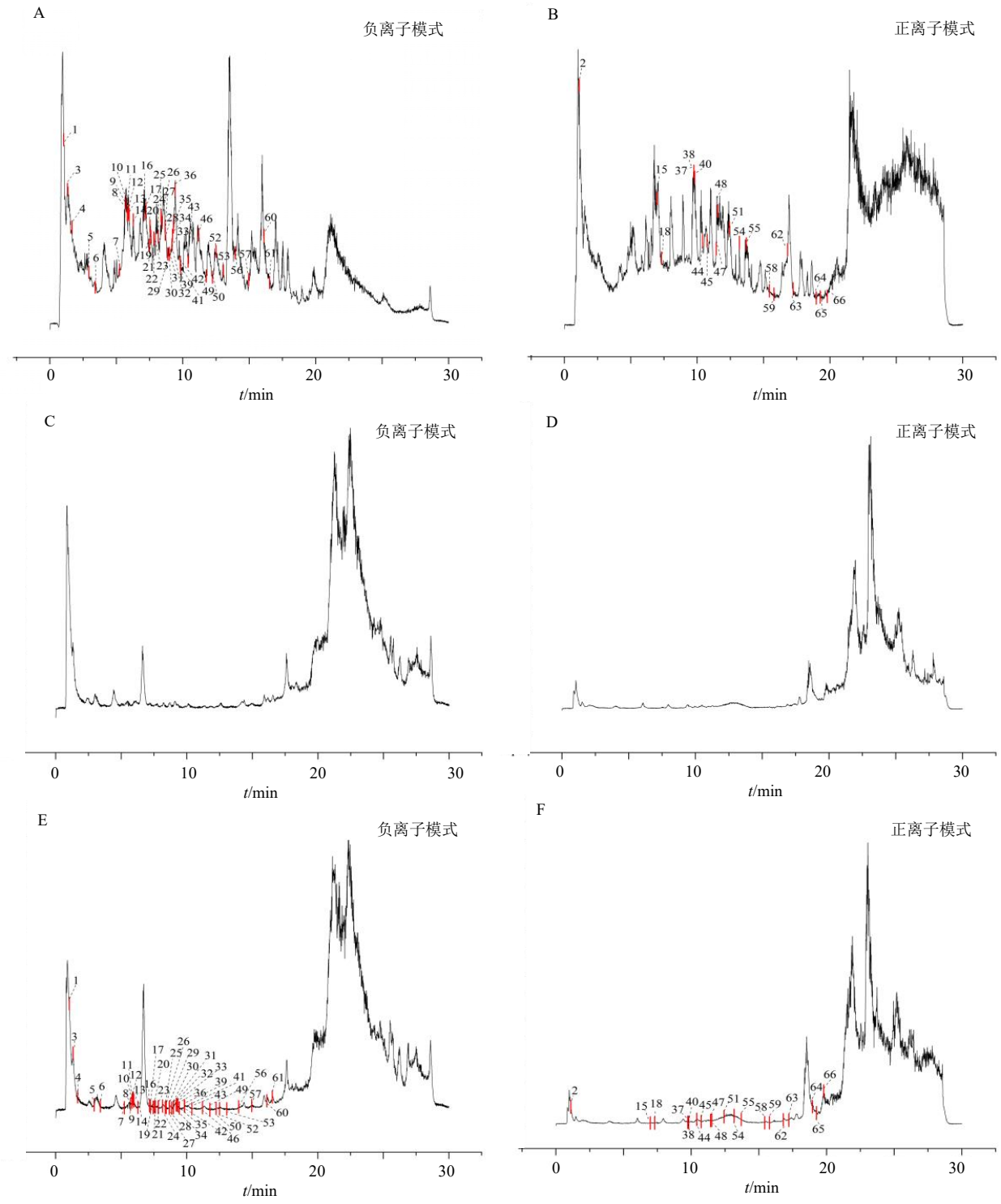
2.5.4 血清样品的采集及处理 SPF 级大鼠适应性喂养 3 d 后，进行随机分组，分为空白组及给药组，每组 3 只。给药组 ig 舒心口服液浓缩液（21.609 g/kg，以生药量计，根据舒心口服液临床人用剂量，参照体表面积折算原则，结合入血成分检出需求进行 5 倍剂量放大，实验所用舒心口服液参照临床规格每毫升含 1.2 g 原生药，为降低 ig 体积、提高血药成分检出率，实验前将其浓缩 2 倍）；空白组 ig 等体积纯化水。所有大鼠连续给药 7 d，每日给药 1 次，末次给药 1.5 h 后，1%戊巴比妥钠（50 mg/kg）ip 麻醉后腹主动脉采血。采集后的血液于室温条件下静置 30 min，4 ℃、3 000 r/min 条件下离心 10 min，取上清液，相同组别不同大鼠的血清混合后，−80 ℃条件下保存。

精密移取 200 μL 血清于 EP 管内，加入 600 μL 甲醇-乙腈（1∶1）混合液，涡旋 60 s，4 ℃、17 000 × *g* 条件下离心 10 min，取上清液于新 EP 管内，35 ℃条件下真空离心抽干；样品加入 100 μL 50%甲醇水溶液，涡旋 60 s，超声处理 10 min，20 ℃、17 000×*g* 离心 10 min，取上清液于进样小瓶中，上机测定。

2.5.5 数据处理 原始数据经 Analysis Base File Converter 软件处理转换为.abf 格式后，使用 MSDIAL ver 4.6 软件对转换后的数据进行峰识别、峰对齐等预处理。物质鉴定基于一级与二级质谱信息，通过整合 Metlin、MassBank、MoNA 及 HMDB（V6.0）数据库完成。MSDIAL 主要参数设置如下：鉴定环节中，一级质谱精确质量偏差为 0.01，二级质谱偏差为 0.05，鉴定得分阈值设为 60%；峰对齐环节中，保留时间偏差为 0.2 min，一级质谱质量偏差为 0.01。

2.6 舒心口服液入血成分鉴定

通过对舒心口服液、空白血清、给药血清样品进行检测分析，在正、负离子模式下得到总离子流图（total ion chromatogram，TIC）见图 7。原始数据经预处理后，以空白血清为背景对照扣除内源性基质干扰，对各成分的保留时间、精确质荷比及二级质谱碎片离子信息进行匹配比对，最终鉴定舒心口服液的



A、B-舒心口服液；C、D-空白血清；E、F-给药血清。

A, B-Shuxin Oral Liquid; C, D-blank serum; E, F-administration serum.

图 7　舒心口服液及血清样品 TIC 图

Fig. 7　TIC plots of Shuxin Oral Liquid and serum samples

入血成分。共鉴定出 66 个入血成分（表 4），主要类型为黄酮类、酚酸类、苯丙素类、萜类、香豆素类等。

2.7　体外抗凝血活性成分与入血成分结合分析

舒心口服液共鉴定出 66 个入血成分，谱效分析最终得到 6 个体外抗凝血活性成分。利用 Origin2024 软件对谱效筛选的体外抗凝血活性成分与入血成分进行交集分析，绘制 Venn 图（图 8），共得到 4 个交集成分，分别是新绿原酸、咖啡酸、

表 4 舒心口服液入血成分鉴定

Table 4 Identification table of blood-entering components of Shuxin Oral Liquid

编号	t_R/min	化合物	分子式	离子模式	理论值 (*m*/*z*)	实测值 (*m*/*z*)	误差 ($\times10^{-6}$)	MS/MS 碎片	化合物类型
1	1.04	2-呋喃甲酸	$C_5H_4O_3$	$[M-H]^-$	111.008 8	111.008 8	0.28	67.018 5	其他
2	1.11	胡芦巴碱	$C_7H_7NO_2$	$[M+H]^+$	138.055 0	138.055 0	0.04	94.064 4, 92.049 9, 78.033 9, 67.053 8, 53.038 1	生物碱
3	1.33	6-乙酰基毛蕊花糖苷	$C_{31}H_{38}O_{16}$	$[M-H]^-$	665.208 7	665.208 7	0.05	461.166 2, 161.024 4, 203.057 0	苯丙素
4	1.67	蜜二糖	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	341.108 9	341.109 0	0.03	179.056 2, 161.045 3, 89.024 1, 59.013 8	糖
5	2.94	肉豆蔻烯酮 A	$C_{14}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	329.087 8	329.087 6	0.03	311.077 1, 161.023 9, 151.075 1, 123.043 5, 108.021 7	其他
6	3.41	原儿茶酸	$C_7H_6O_4$	$[M-H]^-$	153.019 3	153.019 3	0.03	109.028 7, 108.020 8, 81.034 1, 53.038 4	酚酸
7	5.24	京尼平苷	$C_{17}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	387.129 7	387.129 5	0.48	225.076 5, 179.070 7, 164.050 1, 147.045 1, 85.033 2	萜
8	5.71	邻苯二甲酸	$C_8H_6O_4$	$[M-H]^-$	165.019 3	165.019 3	0.02	121.029 4, 77.039 1	其他
9	5.83	新绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.087 8	353.087 8	0.03	191.056 1, 179.034 5, 173.042 8, 135.044 9, 127.040 4	酚酸
10	5.87	异秦皮啶	$C_{11}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	221.045 5	221.045 6	0.00	206.022 3, 178.028 5, 163.026 8, 145.028 8, 121.028 0	香豆素
11	5.91	3-羟基扁桃酸	$C_8H_8O_4$	$[M-H]^-$	167.035 0	167.035 0	0.10	123.044 7, 121.031 0, 105.034 2	酚酸
12	5.95	芸香糖基伞形花内酯	$C_{21}H_{26}O_{12}$	$[M-H]^-$	469.135 2	469.135 1	0.12	323.077 1, 161.024 6, 161.044 4, 133.028 5, 59.011 9	香豆素
13	5.97	阿魏酰奎宁酸	$C_{17}H_{20}O_9$	$[M-H]^-$	367.103 5	367.102 0	4.00	191.057 5, 173.045 3, 117.034 1	酚酸
14	6.28	咖啡酸	$C_9H_8O_4$	$[M-H]^-$	179.035 0	179.035 0	0.09	135.047 4, 117.031 9, 107.050 3, 89.056 0	酚酸
15	6.98	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M+H]^+$	355.102 4	355.102 4	0.08	163.039 1, 145.027 9, 135.043 2, 89.038 3	酚酸
16	7.16	羟基红花黄色素 A	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	611.161 8	611.161 8	0.06	491.116 9, 431.101 4, 329.062 1, 313.073 1, 255.066 4	黄酮
17	7.23	丁香酸乙酯	$C_{11}H_{14}O_5$	$[M-H]^-$	225.076 8	225.077 1	1.20	197.045 5, 182.023 1, 96.960 2, 79.959 7	酚酸
18	7.30	3-羧基苯甲醛	$C_8H_6O_3$	$[M+H]^+$	151.039 0	151.039 0	0.19	123.041 3, 105.030 1, 79.052 1, 77.037 8, 51.022 1	其他
19	7.45	芍药内酯苷	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M-H]^-$	479.155 9	479.156 2	0.57	327.099 5, 121.027 4, 77.039 7	萜
20	7.54	(*E*)-白藜芦醇苷	$C_{20}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	405.119 1	405.120 4	3.16	227.077 4, 185.060 7, 143.044 7	苯丙素
21	7.60	夏佛塔苷	$C_{26}H_{28}O_{14}$	$[M-H]^-$	563.140 6	563.140 6	0.02	443.097 8, 425.085 5, 353.066 3, 311.056 5, 283.063 1	黄酮
22	7.83	咖啡酸己糖苷	$C_{15}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	341.087 8	341.087 1	2.08	179.036 8, 135.035 6	酚酸
23	7.84	间香豆酸	$C_9H_8O_3$	$[M-H]^-$	163.040 1	163.040 1	0.19	119.009 0, 93.034 1	酚酸
24	8.15	日向苷 II	$C_{20}H_{28}O_{10}$	$[M-H]^-$	427.161 0	427.161 0	0.08	247.098 0, 207.068 4, 163.076 9, 161.059 7	萜类
25	8.37	芥子醛糖苷	$C_{17}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	369.119 1	369.119 4	0.73	207.066 1, 192.042 1, 177.004 6, 163.042 1, 147.005 4, 101.022 5	苯丙素
26	8.44	绿原酸甲酯	$C_{17}H_{20}O_9$	$[M-H]^-$	367.103 5	367.104 1	1.75	205.071 1, 179.036 0	酚酸
27	8.67	芹菜糖苷	$C_{20}H_{24}O_{12}$	$[M-H]^-$	455.119 5	455.119 5	0.01	315.086 3, 269.044 5, 149.024 0	香豆素
28	8.69	新甘草苷	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	417.119 1	417.119 1	0	255.066 5, 148.017 0, 135.007 4, 119.050 8	黄酮

表 4（续）

编号	t_R/min	化合物	分子式	离子模式	理论值 (*m*/*z*)	实测值 (*m*/*z*)	误差 ($\times10^{-6}$)	MS/MS 碎片	化合物类型
29	8.86	虎杖苷	$C_{20}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	389.124 2	389.122 7	3.81	227.070 0, 185.060 4, 157.031 4	苯丙素
30	8.98	对羟基肉桂酸甲酯	$C_{10}H_{10}O_3$	$[M-H]^-$	177.055 7	177.055 7	0.16	162.033 1, 119.053 5	酚酸
31	8.99	木犀草苷	$C_{21}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	447.093 3	447.093 3	0	285.043 7, 115.003 1, 133.022 5	黄酮
32	9.20	*N*-反式阿魏酰辛胺	$C_{18}H_{19}NO_5$	$[M-H]^-$	328.119 0	328.119 0	0.18	192.031 1, 177.007 0, 149.051 5	苯丙素
33	9.23	异鼠李素-3-*O*-半乳糖苷	$C_{22}H_{22}O_{12}$	$[M-H]^-$	477.103 9	477.103 9	0.12	315.040 1, 300.015 3, 271.044 0	黄酮
34	9.30	毛蕊花苷	$C_{30}H_{38}O_{15}$	$[M-H]^-$	637.213 8	637.213 8	0.02	461.182 4, 161.022 6	苯丙素
35	9.33	芍药苷	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M-H]^-$	479.155 9	479.155 9	0.02	357.113 7, 327.115 6, 161.045 7, 121.029 2	萜
36	9.43	阿魏酸二内酯	$C_{20}H_{18}O_8$	$[M-H]^-$	385.092 9	385.092 9	0.02	341.151 3, 267.064 3, 266.057 4, 167.032 4, 158.036 1	木脂素
37	9.75	毛蕊异黄酮	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	285.075 8	285.076 3	1.89	270.051 7, 253.048 9, 242.054 4, 186.063 8, 169.065 1	黄酮
38	9.75	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$C_{22}H_{22}O_{10}$	$[M+H]^+$	447.128 6	447.128 6	0.05	285.075 5, 270.052 0, 253.049 8, 213.054 2, 197.060 0	黄酮
39	9.81	芸香柚皮苷	$C_{27}H_{32}O_{14}$	$[M-H]^-$	579.171 9	579.171 9	0.09	271.061 4, 151.003 9, 145.029 9, 235.023 3, 117.033 8	黄酮
40	9.81	阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	$[M+H]^+$	195.065 2	195.065 2	0.07	145.028 2, 134.035 6, 117.032 9, 78.045 7	酚酸
41	9.83	水杨酸	$C_7H_6O_3$	$[M-H]^-$	137.024 4	137.024 4	0.14	93.035 0, 65.038 9, 75.023 0	酚酸
42	9.84	毛蕊异黄酮-葡萄糖醛酸苷	$C_{22}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	459.093 3	459.093 3	0.00	283.059 7, 240.049 6, 175.023 9, 113.023 6	黄酮
43	10.40	迷迭香酸	$C_{18}H_{16}O_8$	$[M-H]^-$	359.077 2	359.077 2	0.01	179.034 4, 161.023 9, 133.029 1, 123.044 4, 105.033 4	酚酸
44	10.41	甘草苷	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M+H]^+$	419.133 7	419.133 7	0.09	257.078 9	黄酮
45	10.74	异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷	$C_{28}H_{32}O_{16}$	$[M+H]^+$	625.176 3	625.175 6	1.15	317.066 2, 302.040 8, 85.026 3	黄酮
46	11.20	三甲氧基肉桂酸	$C_{12}H_{14}O_5$	$[M-H]^-$	237.076 8	237.077 1	1.14	193.082 3, 124.017 6	苯丙素
47	11.43	异绿原酸 B	$C_{25}H_{24}O_{12}$	$[M+H]^+$	517.134 1	517.134 1	0.07	499.129 7, 355.080 3, 207.098 3, 163.039 4, 135.047 4	酚酸
48	11.52	沙苑子苷	$C_{28}H_{32}O_{16}$	$[M+H]^+$	625.176 3	625.177 0	1.09	479.125 9, 379.079 3, 361.090 7, 317.060 1, 302.070 8	黄酮
49	11.77	山柰酚-3-*O*-阿拉伯糖苷	$C_{20}H_{18}O_{10}$	$[M-H]^-$	417.082 7	417.082 7	0.01	285.040 5, 257.058 0, 151.007 9	黄酮
50	12.24	3-(己吡喃糖氧基)-2-((2Z)-戊-2-烯-1-基)环戊基乙酸	$C_{18}H_{30}O_8$	$[M-H]^-$	373.186 8	373.186 8	0.02	227.112 5, 119.033 4, 101.024 9, 85.027 9, 59.014 0	其他
51	12.42	乙酰基丁香酚	$C_{12}H_{14}O_3$	$[M+H]^+$	207.101 6	207.101 6	0.09	189.091 1, 165.052 3, 131.063 2, 105.070 2, 77.037 0	苯丙素
52	12.50	木犀草素	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M-H]^-$	285.040 5	285.041 8	4.56	133.002 4, 151.036 2	黄酮
53	13.05	芒柄花素	$C_{16}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	267.066 3	267.066 3	0.10	252.062 5, 224.046 0	黄酮
54	13.17	白芷素	$C_{17}H_{16}O_5$	$[M+H]^+$	301.107 1	301.107 1	0.13	245.048 8, 227.039 7, 175.036 5	香豆素
55	13.70	大黄素甲醚	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	285.075 8	285.076 0	0.84	257.088 9, 229.056 6, 213.053 8, 186.066 5, 134.037 2	醌
56	13.96	没食子酰槲皮苷	$C_{28}H_{24}O_{15}$	$[M-H]^-$	599.104 2	599.104 2	0.10	301.035 4, 169.012 3, 134.041 5	黄酮

表 4（续）

编号	t_R/min	化合物	分子式	离子模式	理论值 (*m*/*z*)	实测值 (*m*/*z*)	误差 ($\times10^{-6}$)	MS/MS 碎片	化合物类型
57	14.96	对香豆酸乙酯	$C_{11}H_{12}O_3$	$[M-H]^-$	191.071 4	191.071 4	0.16	163.042 2, 119.053 2, 117.034 9, 145.029 1, 93.031 0	酚酸
58	15.43	黄豆黄素	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	285.075 8	285.075 5	0.99	270.051 1, 211.075 6, 168.055 1	黄酮
59	15.78	黄芪甲苷	$C_{41}H_{68}O_{14}$	$[M+H]^+$	785.468 2	785.468 2	0.02	623.342 6, 491.313 3, 311.239 4, 215.173 0, 127.109 7	萜
60	16.11	金圣草黄素	$C_{16}H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	299.056 1	299.055 2	3.02	256.045 6, 211.042 4, 151.002 7	黄酮
61	16.53	异鼠李素	$C_{16}H_{12}O_7$	$[M-H]^-$	315.051 0	315.051 0	0.12	300.027 0, 272.024 3, 244.029 8, 216.042 7, 188.047 4	黄酮
62	16.80	苯甲酰芍药苷	$C_{30}H_{32}O_{12}$	$[M+H]^+$	585.196 7	585.196 7	0.11	463.159 1, 341.123 2, 197.078 5, 123.045 0, 105.030 9	萜
63	17.22	罗汉松脂素	$C_{20}H_{22}O_6$	$[M+H]^+$	359.148 9	359.148 9	0.04	341.147 9, 137.059 2	木脂素
64	18.97	川芎内酯 A	$C_{12}H_{16}O_2$	$[M+H]^+$	193.122 3	193.122 3	0.03	137.058 4, 147.115 1, 93.068 7, 91.053 0, 79.052 8	苯丙素
65	19.26	洋川芎内酯 F	$C_{12}H_{16}O_3$	$[M+H]^+$	209.117 2	209.117 2	0.10	191.106 8, 168.077 0, 153.073 7, 135.052 2, 131.054 2	苯丙素
66	19.79	3-正丁基苯酞	$C_{12}H_{14}O_2$	$[M+H]^+$	191.106 7	191.106 7	0.23	173.099 1, 135.044 1, 107.049 2	苯丙素

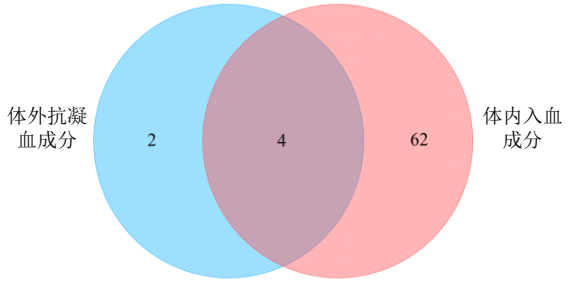


图 8 体外抗凝血活性成分与入血成分 Venn 图

Fig. 8 Venn diagram comparing *in vitro* anticoagulant active components and blood-entering components

羟基红花黄色素 A、木犀草素，确认以上 4 个成分为核心活性成分。

2.8 核心成分体外抗凝活性验证

2.8.1 活性成分对照品溶液的配制 称取新绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、木犀草素对照品适量，精密称定，加纯化水制成以上成分质量浓度分别为 1 088.0、472.0、604.0、496.0 μg/mL 的单一对照品储备液。根据前期 HPLC 法测得的舒心口服液原液中上述 4 种成分的质量浓度（新绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、木犀草素分别为 377.6、66.3、142.1、12.4 μg/mL），分别精密量取各单一对照品储备液适量，用纯化水稀释，制成各成分浓度分别相当于原液中相应成分浓度 0.50、0.75、1.00、1.25、1.50、1.75、2.00 倍的系列混合测试液（T1～T7），用于量效关系考察。另精密量取各单一对照品储备液适量，用纯化水稀释，制成各成分质量浓度与原液成分质量浓度相当的单一对照品溶液，作为后续验证实验用活性对照品溶液。

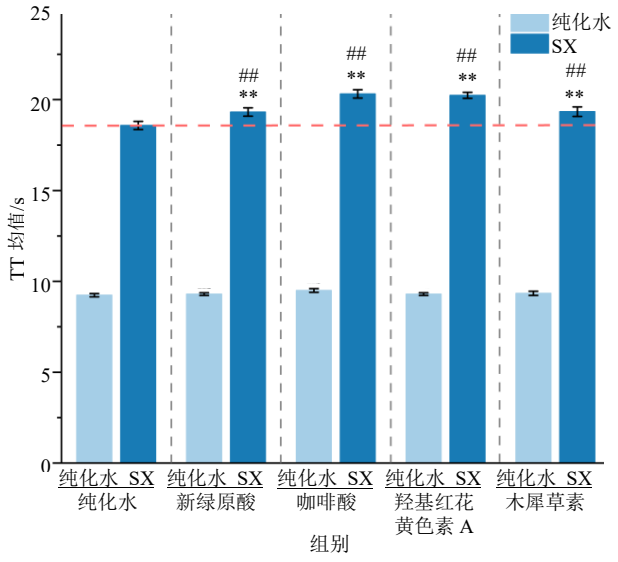
2.8.2 验证体系的分组与测定 将各组分溶液按 1∶1 的体积比于离心管中充分旋涡混匀，平行重复 5 次，构建每组总体积均为 100 μL 的 4 类测试体系。（1）空白对照组：纯化水 50 μL 与纯化水 50 μL 混合；（2）复方稀释基准组：舒心口服液原液 50 μL 与纯化水 50 μL 混合；（3）活性成分-舒心口服液（SX）配比组：舒心口服液 50 μL 4 份，分别与“2.8.1”项下制备的 4 种活性成分对照品溶液 50 μL 混合；（4）活性成分与纯化水配比组：纯化水 50 μL 4 份，分别与“2.8.1”项下制备的 4 种活性成分对照品溶液 50 μL 混合。各组溶液经旋涡混匀后，将 100 μL 混合测试液置于一次性测试杯中，按照“2.3.3”项下测定方法测定 TT 值，记录数据，利用 Origin 多组别分组误差柱状图进行可视化。

2.8.3 不同浓度活性成分对 TT 值影响的量效关系考察 取 T1～T7 系列混合测试液分别与舒心口服液原液按 1∶1 的体积比于离心管中充分旋涡混匀，按“2.3.3”项下测定方法测得各组 TT 值，每组平行测定 5 次，记录数据，利用 Origin 多组别分组误差折线图进行可视化。

2.9 核心活性成分 TT 验证结果与不同浓度活性成分量效关系分析

利用单因素方差分析（One-way ANOVA）及最小显著性差异法（LSD）多重比较，对等体积替代

体系 TT 值进行统计学分析，利用 Origin 2024 软件绘制多组别分组误差柱状图（图 9）。结果显示，新绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、木犀草素对照溶液与纯化水配比各组的 TT 值分别为（9.30±0.07）、（9.50±0.10）、（9.30±0.07）、（9.34±0.11）s，与空白对照组（9.24±0.09）s 无显著性差异，而活性成分与舒心口服液（SX）配比各组的 TT 值分别为（19.32±0.23）、（20.32±0.23）、（20.24±0.17）、（19.34±0.26）s，高于空白对照组（P<0.01），并与复方稀释基准组（18.58±0.23）s 有显著差异（P<0.01），表明 4 种核心活性成分在单一成分独立存在时未产生明显抗凝血作用，与复方其它物质同时存在时则产生明显抗凝血作用。以上结果表明舒心口服液的核心活性成分并非独立发挥药效，而是依赖于复方的化学配伍微环境，与复方其他背景成分产生协同增效效应，以达到抗凝血作用，研究证实了新绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、木犀草素作为舒心口服液物质基础发挥抗凝血作用的可靠性。



浅色柱代表活性成分/纯化水与纯化水配比组，深色柱代表活性成分/纯化水与舒心口服液（SX）配比组；水平红色虚线为复方加入纯化水 1∶1 稀释后的药效基准线；与复方稀释基准组（纯化水与 SX 配比组）相比：$^{**}P$<0.01；与空白对照组（纯化水）相比：$^{\#\#}P$<0.01。

Light-colored bars denote groups prepared with active ingredient/purified water mixed with purified water, and dark-colored bars represent groups prepared with active ingredient/purified water mixed with Shuxin Oral Liquid (SX). The horizontal red dashed line indicates the efficacy baseline of the compound diluted 1:1 with purified water. $^{**}P$ < 0.01 *vs* the compound dilution baseline group (purified water mixed with SX); $^{\#\#}P$ < 0.01 *vs* blank control group (purified water).

图 9　舒心口服液核心活性成分体外抗凝血活性（TT 值）验证结果（n=5）

Fig. 9　Verification results of *in vitro* anticoagulant activity (TT value) of core active ingredient in Shuxin Oral Liquid (n = 5)

为进一步采用等体积替代策略考察核心成分的量效关系，考察了新绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A 及木犀草素在 0.50～2.00 倍浓度梯度（T1～T7）下与原液等体积配比后对 TT 值的影响，结果见图 10。结果显示，各核心成分在不同质量浓度梯度下的 TT 均表现出不同程度地延长，但其量效响应特征存在一定差异。其中，新绿原酸随浓度的递增呈现出良好的剂量相关性趋势，表明其在该浓度范围内具有一定的量效相关性。咖啡酸和羟基红花黄色素 A 在低浓度至 1.00 倍区间内 TT 值快速上升，随后在 1.00～2.00 倍区间内趋于平缓，表明其在接近或达到原药基准浓度时，抗凝血效应已趋于饱和。相比之下，木犀草素在 0.50～1.75 倍区间内变化幅度较小，仅在 2.00 倍时略有回升，其量效响应相对温和。综上所述，除新绿原酸在 0.50～2.00 倍浓度表现出良好的浓度递增趋势外，其余成分在全浓度区间内未呈现出单一的线性相关，而是表现出多样化的量效动力学特征，上述结果进一步验证了新绿原酸等成分作为复方抗凝血物质基础的合理性。

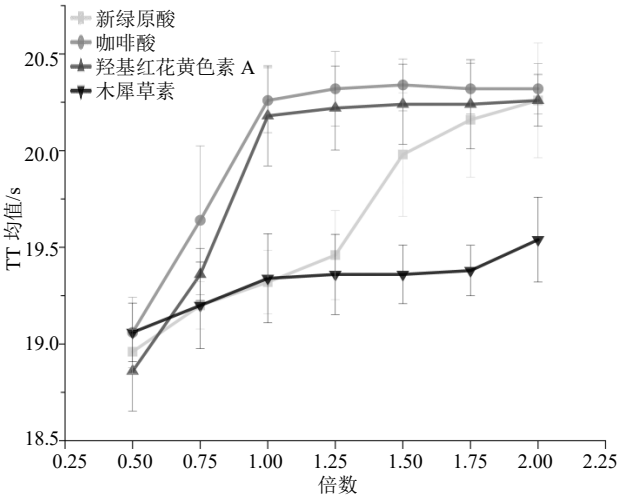


图 10　不同浓度核心活性成分对体外凝血酶时间（TT）的影响（n=5）

Fig. 10　Effects of different concentrations of core active components on thrombin time (TT) *in vitro* (n = 5)

3　讨论

中药复方发挥药效的物质基础具有“多成分、多靶点”的特点[24]。舒心口服液作为临床治疗冠心

病的经验方，其临床疗效确切，但物质基础尚不完全明确。冠心病的发病机制常伴随血液高凝状态及微循环障碍[25-27]。TT 值是凝血常规核心检测指标之一[12]，通过向待测血浆中直接加入凝血酶，可排除复杂上游因子的干扰，直接触发凝血级联反应的终末环节[28]，目前该方法已广泛应用于药物的抗凝血活性研究[14-19]。因此，本研究选择抗凝血活性作为舒心口服液药效评价指标，采用 TT 值评价其抗凝活性，以阐明舒心口服液在治疗冠心病过程中的关键药理作用。

单纯依赖谱效相关性分析或体内入血成分辨识，往往容易因体内不可达、难以区分药效相关性、假阳性表型等多重局限性而难以确证真实药效。本研究通过建立 15 批次舒心口服液指纹图谱，结合抗凝血活性研究构建谱效关系及基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的舒心口服液入血成分分析双重筛选模式，筛选出新绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、木犀草素 4 个核心活性成分。现有研究表明，新绿原酸与咖啡酸为典型的酚酸类成分，具有强效的抗氧化、抗炎活性，可降低脂质过氧化、保护血管内皮、调节血脂代谢，从而延缓动脉粥样硬化进程[29-31]；羟基红花黄色素 A 作为红花的核心活性成分，能显著扩张冠脉、抗血小板聚集、改善微循环[32-33]；木犀草素具有强效的内皮保护与抗炎作用，可抑制血管平滑肌细胞异常增殖[34-36]。从凝血级联与抗栓通路看，新绿原酸可与凝血酶、抗凝血酶III及凝血因子Xa 高亲和力结合，抑制凝血酶活性而延长 TT[37]；咖啡酸主要经升高 cAMP、抑制 P-选择素表达及整合素 αIIbβ3 活化来抑制血小板聚集[38]；羟基红花黄色素 A 可抑制血小板表面 GPIIβ/IIIα 和 TXA_2 表达，减少血小板 Ca^{2+}蓄积，并通过调控 miR-9a-5p/SRC 轴抑制血小板过度活化[39]；木犀草素则通过结合 GPVI 抑制胶原诱导的血小板聚集与黏附，并抑制整合素 αIIbβ3 介导的活化，发挥协同作用[40]。为了进一步验证上述 4 种活性成分对舒心口服液整体药效的真实贡献，本研究创新性地采用等体积替代的核心成分进行体外抗凝活性验证，区别于传统研究中易引入化学过载的超剂量回添，该方法可消除溶液体积变化带来的物理稀释微扰，验证组采用 50 μL 的活性成分对照品溶液原位替代基准组中的 50 μL 纯化水，使得两组体系的体积均为 100 μL，以确保复方背景成分的稀释倍数一致，同时，根据前期舒心口服液原药含量测定结果，配制成与原药中核心成分浓度一致的对照品溶液，与原生核心活性成分在体系中叠合，还原了各核心成分在舒心口服液原药液中的原生生理浓度，而无化学过载。结果显示，复方稀释基准组有明显抗凝血活性，4 种核心活性成分单独与纯化水配比时（活性成分与纯化水配比组），其 TT 值与空白对照组相比均无统计学显著性差异，而与舒心口服液原液等比例混合时（活性成分-舒心口服液配比组），能够达到优于复方稀释基准组的抗凝血作用效果，且有显著性差异，表明上述活性成分不是单一发挥作用，而是与复方整体成分协同增效共同发挥作用。量效实验显示 4 种成分均可延长 TT，结合配伍实验和前期含量测定，新绿原酸含量最高且呈浓度相关性，咖啡酸和羟基红花黄色素 A 在 1.00 倍后趋于饱和，木犀草素含量最低且量效温和，提示各成分贡献方式不同，共同参与复方抗凝，支持其作为舒心口服液抗凝物质基础。

本研究基于“体外谱效-体内移行成分”及核心成分活性验证，得到并验证了舒心口服液的抗凝血物质基础，但仍存在一定局限性。研究仅进行体外药效研究，未进行体内药效学研究，后续将通过建立细胞模型与冠心病动物模型进行舒心口服液治疗冠心病的体内药效实验，验证其核心成分的体内药效作用及对靶点蛋白表达的具体调节作用，以实现对舒心口服液更全面的质量评价。另外，本研究仅基于高分辨质谱初步鉴定入血成分，尚不能确证代谢产物，后续将结合对照品、代谢途径及 NMR 等进一步区分原型与代谢物。

综上，本研究基于“体外谱效-体内移行成分”关联策略，通过 HPLC 指纹图谱-抗凝血谱效关系与 UPLC-Q-TOF-MS/MS 入血成分分析的联合筛选，并引入等体积替代策略进行核心成分体外抗凝活性验证，确定了舒心口服液抗凝血活性物质基础，为舒心口服液抗凝血质量标志物的确立及进一步临床研究提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 1772-1773.

[2] 国家卫生计生委合理用药专家委员会, 中国药师协会. 冠心病合理用药指南 (第 2 版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 103-104.

[3] 国家医疗保障局. 国家基本医疗保险、生育保险和工伤保险药品目录（2025 年）[EB/OL]. (2025-07-10)[2026-

05-14]. https://www.nhsa.gov.cn/art/2025/7/10/art_109_17198.html.

[4] 陈丽华, 肖发林, 黄诗雨, 等. 中药质量评价研究思路及创新发展趋势 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2541–2547.

[5] 贺英俊, 刘博文, 刘前呈, 等. 中药方剂物质基础及质量控制探析 [J]. 成都大学学报 (自然科学版), 2023, 42(1): 1-5.

[6] 王俊力, 李立为, 田强强, 等. 基于“双心疾病”理论探讨舒心口服液联合西医常规疗法治疗稳定性冠心病合并焦虑的临床疗效 [J]. 上海中医药大学学报, 2021, 35(5): 14-19.

[7] 韩欣宇, 宋红星, 朱智瑞, 等. 舒心口服液联合贝尼地平治疗冠心病心绞痛的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(3): 625-629.

[8] 韩欣宇, 宋红星, 朱智瑞, 等. 基于网络药理学探讨舒心口服液治疗冠心病心绞痛的作用机制 [J]. 中国处方药, 2024, 22(05): 21-26.

[9] 项丽玲, 苗明三. 中药质量生物学评价的思考 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(6): 1437-1439.

[10] 孔晓璇, 唐明, 王春燕, 等. 基于“虚气留滞”理论探讨气虚血瘀型冠心病的辨治思路 [J]. 河南中医, 2026, 46(1): 63-66.

[11] Wang Z B, Ying L I, Wang D P, *et al*. Proteomics analysis of coronary atherosclerotic heart disease with different traditional Chinese medicine syndrome types before and after percutaneous coronary intervention [J]. *J Tradit Chin Med*, 2024, 44(3): 554-563.

[12] 姚勇, 董争华, 范厚臻, 等. 中国健康成年人群凝血四项指标参考区间的建立与探讨 [J]. 诊断学理论与实践, 2023, 22(4): 379-384.

[13] Wong S, Slingerland J, Dickerson J A, *et al*. Development of a rapid qualitative screen for anticoagulant presence [J]. *J Appl Lab Med*, 2024, 9(2): 305-315.

[14] 张宇航, 杨静, 吴宿慧, 等. 基于抗凝血活性的丹红注射液生物效价测定方法的建立 [J]. 中草药, 2022, 53(8): 2348-2355.

[15] 赵灵丽, 刘涛, 田佩灵, 等. 复方当归注射液抗凝血活性质量标志物的初步研究 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(3): 613-616.

[16] Li Q, Liu Y B, Ren B Y, *et al*. Recombinant neorudin and its active metabolite hirudin: The fate *in vivo* of a novel anticoagulant drug [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1443475.

[17] 章黎思, 周景, 郑木风. 四物汤对气虚血瘀型冠心病患者凝血功能的影响 [J]. 光明中医, 2025, 40(4): 717-721.

[18] 吴美芳. 参元益气活血汤联合替格瑞洛在高血压冠心病 PCI 术后的疗效及安全性 [J]. 实用中西医结合临床, 2023, 23(17): 43-46.

[19] Li S, Huang X, Li Y, *et al*. Spectrum-effect relationship in Chinese herbal medicine: Current status and future perspectives [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2025, 55(2): 353-374.

[20] 唐明帅, 刘雨彤, 王艳宏. 基于谱效关系的中药复方的药效物质基础及其应用 [J]. 生命的化学, 2025, 45(6): 1042-1048.

[21] 周巧, 张智慧, 张学兰, 等. 基于谱效相关法探究酒炙丹参增强抗凝血活性的物质基础 [J]. 中成药, 2021, 43(4): 954-958.

[22] 策力木格, 张小峰, 苏都娜, 等. 血清药物化学在中药领域的应用现状 [J]. 中国药房, 2017, 28(7): 978-981.

[23] 周思倩, 方艳, 谭金桃, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的百蕊颗粒入血成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(2): 243-251.

[24] 袁媛, 牛娣, 庞欣欣, 等. 中药复方药效物质基础分析技术研究进展 [J]. 中国药房, 2025, 36(21): 2738-2741.

[25] 盘德辉, 李翠君, 姚剑坤, 等. 血糖控制水平对 2 型糖尿病合并冠心病病人血液高凝状态及血栓栓塞事件的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(13): 2097-2100.

[26] 赵爱梅, 任钧国, 刘建勋. 益气活血方治疗冠心病气虚血瘀证作用机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 215-220.

[27] 张艳达, 隋汝杰, 赵健, 等. 冠状动脉微循环障碍: 非阻塞性冠心病潜在发病机制 [J]. 第二军医大学学报, 2020, 41(3): 315-320.

[28] 岳保红, 杨亦青. 临床血液学检验技术 [M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2022: 336-359.

[29] 杨韵琪, 王艳, 余丹凤, 等. 绿原酸调控 NLRP3 炎症小体改善动脉粥样硬化的机制研究 [J]. 中医药信息, 2024, 41(12): 1-5.

[30] Wang Y, Kaur G, Kumar M, *et al*. Caffeic acid prevents vascular oxidative stress and atherosclerosis against atherosclerogenic diet in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 8913926.

[31] Yang T Y, Wu Y L, Yu M H, *et al*. Mulberry leaf and neochlorogenic acid alleviates glucolipotoxicity-induced oxidative stress and inhibits proliferation/migration via downregulating ras and FAK signaling pathway in vascular smooth muscle cell [J]. *Nutrients*, 2022, 14(15): 3006.

[32] Mao T S, Jiang K X, Pang Y T, *et al*. Hydroxysafflor yellow A for ischemic heart diseases: A systematic review and meta-analysis of animal experiments [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1510657.

[33] Liu Y Q, Piao J Y, He J Q, *et al*. Hydroxysafflor yellow A, a natural food pigment, ameliorates atherosclerosis in

ApoE$^{-/-}$mice by inhibiting the SphK1/S1P/S1PR3 pathway [J]. *Food Sci Nutr*, 2024, 12(11): 8939-8955.

[34] Wan C J, Liang Q Z, Ma Y R, *et al*. Luteolin: A natural product with multiple mechanisms for atherosclerosis [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1503832.

[35] 王星茹, 杨泽熔, 武莉, 等. 基于 Kv7 离子通道探讨木犀草素对大鼠胸主动脉血管环的舒张作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(6): 84-92.

[36] 杨萍, 刘军刚, 李学娟, 等. 木犀草素治疗炎症性疾病作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(22): 8424-8435.

[37] 刘福和, 陈少军, 倪文娟. 川芎中抗血栓活性成分的计算机虚拟筛选研究 [J]. 中国药房, 2017, 28(16): 2182-2186.

[38] Nam G S, Park H J, Nam K S. The antithrombotic effect of caffeic acid is associated with a cAMP-dependent pathway and clot retraction in human platelets [J]. *Thromb Res*, 2020, 195: 87-94.

[39] Huang W, Yao W D, Weng Y Y, *et al*. Hydroxysafflor yellow A inhibits the hyperactivation of rat platelets by regulating the miR-9a-5p/SRC axis [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2023, 747: 109767.

[40] Ye Y J, Yang L H, Leng M, *et al*. Luteolin inhibits GPVI-mediated platelet activation, oxidative stress, and thrombosis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1255069.

[责任编辑 王文倩]