省级项目平台

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.02.041

基于 UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS 技术分析桂枝甘草汤的化学成分及入血成分

尹然[1,2],于新颖[3],魏姗姗[2],石崇臻[2],赵爽[3],王雪[3],孙媛方[3],韩飞[3]
(1. 辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室,辽宁 沈阳 110847;
2. 辽宁中医药大学药学院,辽宁 大连 116600;3. 沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 采用超高效液相色谱－四级杆－静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS)方法分析鉴定桂枝甘草汤的化学成分及大鼠口服后的入血成分。方法 采用 XSelect HSS T3 色谱柱(2.1 mm×150 mm,2.5 μm),乙腈－1%醋酸水溶液为流动相进行梯度洗脱,流速0.3 mL/min,柱温35 ℃,正、负离子模式下检测。根据化合物保留时间、精确分子质量、碎片离子、裂解规律并与对照品比对,分析桂枝甘草汤的化学成分;通过对比空白血浆、含药血浆和桂枝甘草汤样品的色谱及质谱信息,分析入血成分。结果 在桂枝甘草汤中共鉴定了68个化学成分,包含30个黄酮类、16个三萜类、8个有机酸类、5个醛类、3个香豆素类及6个其他类成分。大鼠口服桂枝甘草汤后,在大鼠血浆中共鉴定出45个吸收入血的原型成分。结论 建立的UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS方法可对桂枝甘草汤的整体化学成分及其在大鼠体内入血成分进行快速表征,为桂枝甘草汤进一步的药效物质基础与质量控制研究提供依据。

关键词:桂枝甘草汤;UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS;化学成分;入血成分;鉴定
中图分类号:R284.1 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)02-0198-10

Analysis of Chemical Components and Components Migrating to Blood of Guizhi Gancao Decoction(桂枝甘草汤) by UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS Method

YIN Ran[1,2],YU Xinying[3],WEI Shanshan[2],SHI Chongzhen[2],ZHAO Shuang[3],WANG Xue[3],SUN Yuanfang[3],HAN Fei[3]
(1. Key Laboratory of Ministry of Education for TCM Viscera－State Theory and Applications, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Shenyang 110847,Liaoning,China;
2. College of Pharmacy,Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Dalian 116600,Liaoning,China;
3. School of Pharmacy,Shenyang Pharmaceutical University,Shenyang 110016,Liaoning,China)

Abstract:*Objective* To analyze and identify the chemical components of Guizhi Gancao Decoction(桂枝甘草汤) and its components migrating to blood after oral administration to rats using UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS method. *Methods* Chromatographic separation was carried out on XSelect HSS T3 column(2.1 mm× 150 mm,2.5 μm) with gradient elution of acetonitrile－1% acetic acid solution as mobile phase at the flow rate of 0.3 mL/min. The column temperature was 35 ℃,and the detection was performed in positive and negative ion modes. The chemical components of Guizhi Gancao Decoction were analyzed according to the retention time,precise molecular weight,fragment ions,fragmentation pattern and comparison with the reference substances. By comparing the chromatographic and mass spectrometry information of blank plasma,medicated plasma and Guizhi Gancao Decoction samples,the components migrating to blood were analyzed. *Results* A total of 68 chemical components were identified in Guizhi Gancao Decoction,including 30 flavonoids,16 triterpenoids,8 organic acids,5 aldehydes,3 coumarins and 6 other components. After oral administration of Guizhi Gancao Decoction,a total of 45 prototype components were identified in rat plasma. *Conclusion* The established UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS method can rapidly characterize the whole chemical composition of Guizhi Gancao Decoction and its components migrating to blood in rats,providing a basis for further study on the pharmacodynamic material basis and quality control of Guizhi Gancao Decoction.

Keywords:Guizhi Gancao Decoction;UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS;chemical components;components migrating to blood;identification

基金项目:辽宁省自然科学基金项目(2021－MS－246)
作者简介:尹然(1979－),女,辽宁锦州人,副教授,博士,研究方向:药物质量控制和中药药效物质基础。
通讯作者:韩飞(1979－),男,山东济宁人,教授,博士,研究方向:中药药效物质基础与作用机制。E-mail:hanfei_spu@163.com。

心血管疾病是临床常见的严重危害人类健康的疾病,包括冠心病、心绞痛、心律失常、高血压、心力衰竭等多种类型。中医药可发挥多层次、多环节、多靶点的综合作用,在心血管疾病的防治中具有独特优势[1-2]。特别是传统经方,其疗效历经几千年的历史和临床实践验证,在治疗心血管疾病方面具有重要价值[3]。桂枝甘草汤(Guizhi Gancao Decoction)出自《伤寒论》,是仲景治疗心阳虚证的经典方剂[3-5],也是国家中医药管理局会同国家药品监督管理局联合发布的《古代经典名方目录(第二批)》中的经典名方之一。该方由桂枝和炙甘草两味药材配伍而成,具有温复心阳的功效[4-5],在临床上主要用于以心阳虚为主的心血管疾病的治疗,如心律失常、冠心病、心绞痛、原发性低血压、心力衰竭、心血管神经官能症等[5-9]。

目前,对于桂枝甘草汤的相关研究报道主要涉及药效学研究[10-15]、少数化学成分定性或定量研究[16-22]等方面。现有的研究表明了桂枝甘草汤具有多种心血管方面的药理作用,但其发挥作用的化学物质基础尚未得到阐明。桂枝甘草汤的化学成分尚缺少全面、整体的分析表征,且其体内的入血成分鉴定研究亦鲜有报道。因此,有必要对桂枝甘草汤的化学成分进行系统的分析鉴定,从而阐释其发挥药效的物质基础。基于此,本实验拟应用超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)技术对桂枝甘草汤中所含有的化学成分进行定性分析,并探讨大鼠给药后其吸收入血的成分,以期为桂枝甘草汤的药效物质基础与质量控制研究提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Vanquish Flex 超高效液相色谱仪、Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);AG285 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);FA2004 型电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);KQ-700DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);D3024R 高速冷冻离心机[大龙兴创实验仪器(北京)股份公司];SCIENTZ-10N 冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司);MTN-2800D 氮吹浓缩仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);GENIUS 3 涡旋混合器(德国 IKA 公司)。

1.2 试剂与药品

甲醇、乙腈[色谱纯,赛默飞世尔科技(中国)有限公司]、醋酸[质谱纯,赛默飞世尔科技(中国)有限公司]、纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

对照品新甘草苷(批号 AFCG1654)、异甘草苷(批号 AFCC0702)、甘草素(批号 AF20050152)、芒柄花苷(批号 AZBK1414)均购自成都埃法生物科技有限公司;对照品原儿茶酸(批号 M11GB140672)、甘草酸(批号 Y02J11L113432)、甘草苷(批号 Z02M8X30249)、香豆素(批号 Y29M9C57109)、桂皮酸(批号 Y11M10C88100)和桂皮醛(批号 B16N10C102990)均购自上海源叶生物科技有限公司;甘草皂苷 H2(批号 CFS202301)购自武汉天植生物技术有限公司;上述对照品的纯度均≥98%。实验用桂枝(产地广西)、炙甘草(产地内蒙古),经沈阳药科大学贾英教授鉴定均为正品。

1.3 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 220~240 g,许可证号:SCXK(辽)2020-0001,由沈阳药科大学实验动物中心提供。大鼠实验饲养条件为明暗各 12 h,间隔照明控制,室温为(23±3)℃,相对湿度 40%~70%,实验前适应性饲养 7 d。

2 方法

2.1 分析条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱:XSelect HSS T3 柱(2.1 mm×150 mm,2.5 μm);流动相为乙腈(A)-1% 醋酸水溶液(B);梯度洗脱 0~20 min 9%~29% A,20~30 min 29%~31% A,30~34 min 31%~38% A,34~45 min 38%~50% A,45~50 min 50%~65% A,50~50.1 min 65%~9% A,50.1~55 min 9%~9% A;流速:0.3 mL/min;柱温:35 ℃;进样量:5 μL。

2.1.2 质谱条件 离子源:加热电喷雾离子源(HESI);正、负离子模式检测;扫描模式:全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/dd-MS^2);扫描范围:m/z 100~1500 Da;喷雾电压:+3.8 kV/-3.0 kV;鞘气流速:35 arb;辅助气流速:10 arb;毛细管温度:320 ℃;加热器温度:350 ℃;Full MS 分辨率:70 000,MS/MS 分辨率:17 500;碰撞能:20、40、60 eV。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 照桂枝甘草汤处方,称取桂枝 6 g、炙甘草 3 g,加 10 倍量水浸泡 30 min 后,加热回流提取 1 h,趁热过滤,残渣再同法提取 1 次,合并 2 次滤液,滤液经冷冻干燥制得桂枝甘草汤冻干粉样品。取桂枝甘草汤冻干粉样品约 70 mg(约相当于生药 0.23 g),精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入 50% 甲醇 5 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀后经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 取原儿茶酸、新甘草苷、甘草苷、香豆素、芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、桂皮酸、桂皮醛、甘草酸、甘草皂苷 H2 对照品适量,精密称定,分别置于容量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得各对照品储备液。精密移取各对照品储备液适量,置于同一量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,配制成混合对照品溶液。

2.3 动物实验

取桂枝甘草汤冻干粉样品适量,加纯净水配制成含生药约 0.48 g/mL 的灌胃药液。取雄性 SD 大鼠 5 只,实验前禁食 12 h,自由饮水,按大鼠体质量 10 mL/kg 的剂量单次给药。分别于给药前和给药后 0.5、1、2 h 于大鼠眼眶静脉丛采集空白和给药后血样,收集于涂有肝素钠的离心管中,4 ℃下 6000 r/min 离心 10 min,分离出大鼠血浆,于-80 ℃的冰箱中保存备用。

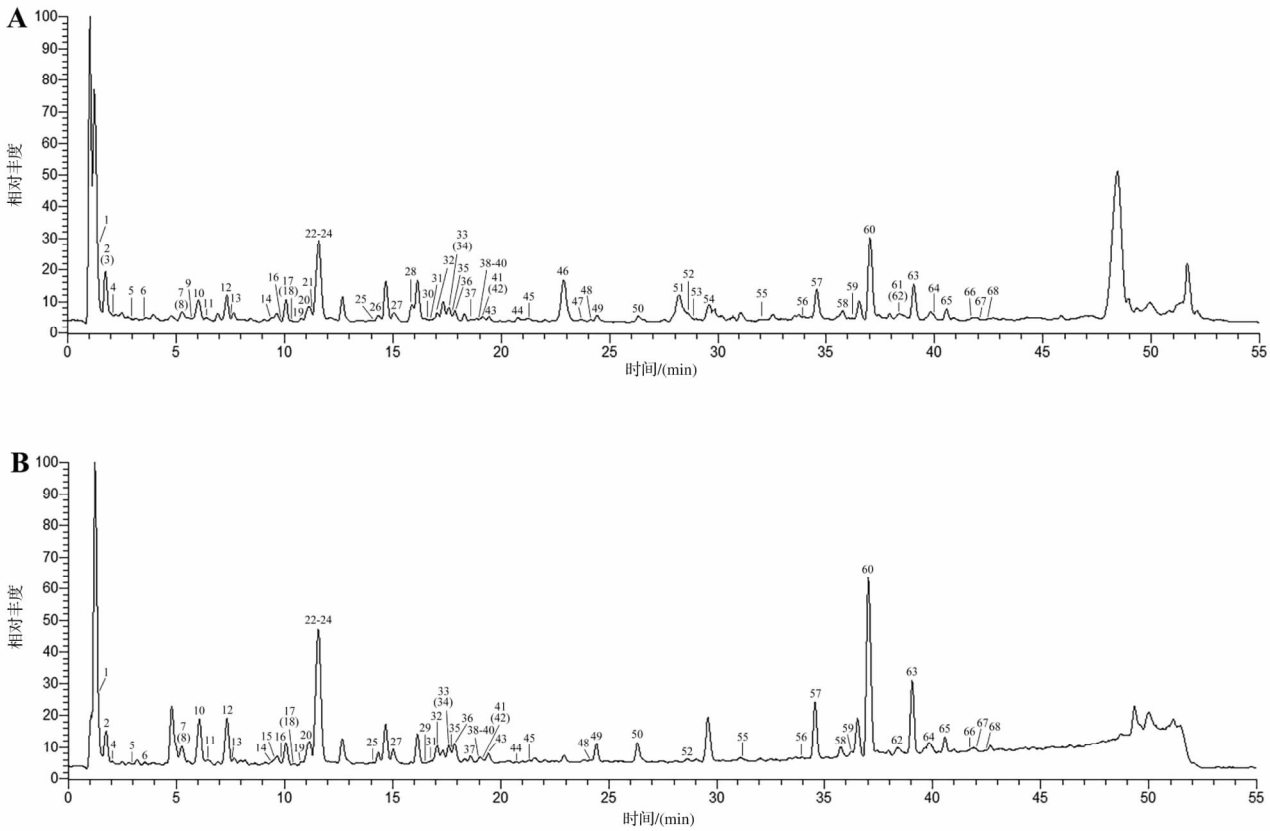
2.4 血浆样品的预处理

将各大鼠空白血浆等体积混合,各大鼠给药后 0.5、1、2 h 的含药血浆等体积混合。分别取混合后的大鼠空白血浆和含药血浆各 500 μL,加入 2 mL 乙腈,涡旋混合 5 min,离心(12 000 r/min)5 min,取上清液于 30 ℃氮气流下吹干,残渣加 100 μL 50% 甲醇复溶,超声 1 min,涡旋 1 min,离心(12 000 r/

min)5 min,取上清液,即得空白血浆和含药血浆样品溶液。

2.5 数据处理

通过查阅 CNKI、SciFinder、Web of Science、ChemicalBook、PubChem 和 HMDB 等平台或数据库,对桂枝甘草汤化学成分的相关信息进行收集整理,构建桂枝甘草汤化学成分数据库。分别取“2.2”项下制得的供试品溶液和混合对照品溶液及“2.4”项下制得的空白血浆和含药血浆样品溶液,按“2.1”项下的分析条件进样检测,得总离子流色谱图(total ion chromatogram,TIC)。利用 TraceFinder 4.1、Xcalibur 4.1.31.9 软件进行数据处理。



注:A:正离子模式;B:负离子模式

图 1 桂枝甘草汤正、负离子模式下的 TIC 图

表 1 桂枝甘草汤化学成分的鉴定结果

序号	t_R/(min)	[M+H]$^+$ 实测值 m/z	[M+H]$^+$ 理论值 m/z	[M+H]$^+$ 误差 ppm	[M-H]$^-$ 实测值 m/z	[M-H]$^-$ 理论值 m/z	[M-H]$^-$ 误差 ppm	MS/MS	分子式	鉴定成分	来源
1	1.39	193.035 00	193.034 28	3.75	191.019 61	191.019 73	-0.64	(-)129.019 03;111.008 64;87.008 68	$C_6H_8O_7$	Citric acid[c]	C
2	1.75	245.076 71	245.076 81	-0.42	243.062 19	243.062 26	-0.27	(-)152.034 73;110.024 68;82.029 82	$C_9H_{12}N_2O_6$	Uridine[f]	C
3	1.75	268.103 91	268.104 03	-0.44	-	-	-	(+)136.061 77;119.035 34	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	Adenosine[f]	C
4	2.11	171.028 93	171.028 80	0.76	169.014 45	169.014 25	1.18	(-)125.024 28;97.029 37	$C_7H_6O_5$	Gallic acid[c]	C
5	2.97	169.049 70	169.049 54	0.97	167.035 00	167.034 98	0.14	(-)149.024 60;139.039 92;123.045 04	$C_8H_8O_4$	Vanillic acid[c]	C
6*	3.57	155.033 98	155.033 89	0.59	153.019 27	153.019 33	-0.38	(-)109.029 35	$C_7H_6O_4$	Protocatechuic acid[c]	C
7	5.28	139.039 02	139.038 97	0.34	137.024 28	137.024 42	-1.05	(-)119.013 53;108.021 65	$C_7H_6O_3$	Protocatechualdehyde[d]	C
8P	5.28	291.085 91	291.086 31	-1.38	289.071 62	289.071 76	-0.47	(-)137.023 90;123.045 04;109.029 44	$C_{15}H_{14}O_6$	Catechin[a]	C
9	5.76	165.091 13	165.091 01	0.70	-	-	-	(+)137.029 60;119.019 14	$C_{10}H_{12}O_2$	2-Methoxyphenylacetone[f]	C
10	6.07	579.148 68	579.149 70	-1.76	577.135 25	577.135 15	0.18	(-)407.074 52;289.073 12;125.024 27	$C_{30}H_{26}O_{12}$	Procyanidin B1[a]	C
11P	6.41	713.230 41	713.228 74	2.34	711.215 33	711.214 19	1.61	(-)549.161 93;255.066 30	$C_{32}H_{40}O_{18}$	Glucoliquiritin apioside[a]	R
12P	7.36	291.085 54	291.086 31	-2.64	289.071 35	289.071 76	-1.42	(-)137.024 00;123.045 01;109.029 38	$C_{15}H_{14}O_6$	Epicatechin[a]	C
13P	7.51	595.166 26	595.165 75	0.86	593.153 26	593.151 19	3.49	(-)473.111 79;353.065 03;297.076 29	$C_{27}H_{30}O_{15}$	Vicenin-2[a]	R
14P	9.38	565.155 09	565.155 18	-0.16	563.141 91	563.140 63	2.27	(-)383.075 38;353.065 22;297.076 69	$C_{26}H_{28}O_{14}$	Schaftoside[a]	R
15P	9.60	-	-	-	383.207 76	383.207 53	0.61	(-)243.101 90;203.107 85;125.060 62	$C_{20}H_{32}O_7$	Perseanol[f]	C
16P	9.91	165.054 52	165.054 62	-0.61	163.040 10	163.040 07	0.18	(-)119.050 03;92.995 80	$C_9H_8O_3$	3-Hydroxycinnamic acid[c]	C

续表 1 桂枝甘草汤化学成分的鉴定结果

序号	t_R/(min)	[M+H]⁺ 实测值 m/z	[M+H]⁺ 理论值 m/z	[M+H]⁺ 误差 ppm	[M-H]⁻ 实测值 m/z	[M-H]⁻ 理论值 m/z	[M-H]⁻ 误差 ppm	MS/MS	分子式	鉴定成分	来源
17	10.32	183.065 28	183.065 19	0.48	181.050 74	181.050 63	0.58	(+)155.070 30;140.046 78;123.044 19;95.049 51	$C_9H_{10}O_4$	Syringaldehyde[d]	C
18	10.48	417.117 89	417.118 01	-0.29	415.104 83	415.103 46	3.30	(-)253.049 61;135.008 64	$C_{21}H_{20}O_9$	Sophoraflavone B[a]	R
19[p]	10.84	581.186 10	581.186 48	-0.66	579.173 40	579.171 93	2.54	(-)255.066 18;153.018 69;135.008 62	$C_{27}H_{32}O_{14}$	Liquiritigenin-7,4'-diglucoside or its isomer[a]	R
20*,[p]	11.17	419.133 36	419.133 66	-0.71	417.119 51	417.119 11	0.95	(-)255.066 64;135.008 64;119.050 02	$C_{21}H_{22}O_9$	Neoliquiritin[a]	R
21[p]	11.26	447.128 54	447.128 57	-0.07	-	-	-	(+)285.075 38;270.051 94	$C_{22}H_{22}O_{10}$	Trifolirhizin[a]	R
22[p]	11.50	551.176 45	551.175 92	0.97	549.161 25	549.161 36	-0.19	(-)255.066 27;135.008 61;119.050 03	$C_{26}H_{30}O_{13}$	Liquiritin apioside[a]	R
23[p]	11.55	579.170 84	579.170 83	0.01	577.156 80	577.156 28	0.90	(+)543.151 61;525.138 92;337.071 20	$C_{27}H_{30}O_{14}$	Violanthin[a]	R
24*,[p]	11.59	419.133 30	419.133 66	-0.86	417.118 93	417.119 11	-0.44	(-)255.066 38;135.008 64;119.050 05	$C_{21}H_{22}O_9$	Liquiritin[a]	R
25	14.10	179.070 42	179.070 27	0.83	177.055 73	177.055 72	0.03	(+)161.059 63;147.044 01;119.049 38	$C_{10}H_{10}O_3$	Coniferaldehyde[d]	C
26[p]	14.32	303.049 71	303.049 93	-0.72	-	-	-	(+)285.039 22;257.044 10;229.049 55	$C_{15}H_{10}O_7$	Quercetin[a]	C
27[p]	15.02	435.128 94	435.128 57	0.84	433.114 62	433.114 02	1.39	(-)271.061 77;151.003 39	$C_{21}H_{22}O_{10}$	Naringenin-7-O-glucoside[a]	R
28*,[p]	15.88	147.044 01	147.044 06	-0.36	-	-	-	(+)119.049 04;103.054 56	$C_9H_6O_2$	Coumarin[e]	C
29	16.48	-	-	-	361.167 21	361.165 66	4.28	(-)315.122 59;165.055 48;121.029 33	$C_{20}H_{26}O_6$	Secoisolariciresinol[f]	C
30	16.59	207.101 68	207.101 57	0.55	-	-	-	(+)176.083 18;161.059 43;142.035 00	$C_{12}H_{14}O_3$	Ethyl p-methoxycinnamate[f]	C
31[p]	16.81	563.175 90	563.175 92	-0.03	561.163 02	561.161 36	2.97	(-)267.066 59;252.042 62	$C_{27}H_{30}O_{13}$	Glycyroside[a]	R
32[p]	17.08	551.175 60	551.175 92	-0.58	549.161 93	549.161 36	1.03	(-)255.066 44;135.008 59;119.050 04	$C_{26}H_{30}O_{13}$	Isoliquiritin apioside[a]	R
33*,[p]	17.58	431.133 36	431.133 66	-0.69	429.119 66	429.119 11	1.28	(+)269.080 57;254.056 85	$C_{22}H_{22}O_9$	Ononin[a]	R
34	17.58	461.143 86	461.144 22	-0.78	459.130 43	459.129 67	1.66	(-)255.066 16;153.019 23;135.008 61	$C_{23}H_{24}O_{10}$	6″-Acetyliquiritin[a]	R
35[p]	17.76	551.175 84	551.175 92	-0.14	549.162 72	549.161 36	2.48	(-)255.066 30;119.050 03	$C_{26}H_{30}O_{13}$	Licuraside[a]	R
36*,[p]	17.87	419.133 18	419.133 66	-1.15	417.119 51	417.119 11	0.95	(-)255.065 93;135.008 56;119.050 03	$C_{21}H_{22}O_9$	Isoliquiritin[a]	R
37[p]	18.62	419.133 42	419.133 66	-0.57	417.119 72	417.119 11	1.46	(-)255.066 15;135.008 61,119.050 02	$C_{21}H_{22}O_9$	Neoisoliquiritin[a]	R
38	19.00	287.091 19	287.091 40	-0.74	285.078 06	285.076 85	4.26	(-)270.053 31;149.024 17	$C_{16}H_{14}O_5$	Licochalcone B[a]	R
39[p]	19.00	255.065 22	255.065 19	0.10	253.050 81	253.050 63	0.72	(-)225.054 35;135.008 45;116.995 75	$C_{15}H_{10}O_4$	7,4′-Dihydroxyflavone[a]	R
40[p]	19.02	697.213 07	697.212 70	0.54	695.199 22	695.198 14	1.55	(-)549.162 17;531.149 72;145.029 28	$C_{35}H_{36}O_{15}$	Licorice glycoside B[a]	R
41[p]	19.13	727.223 63	727.223 26	0.51	725.210 39	725.208 71	2.31	(-)549.162 78;531.151 98;255.066 24	$C_{36}H_{38}O_{16}$	Licorice glycoside A[a]	R
42[p]	19.16	265.143 31	265.143 44	-0.49	263.129 39	263.128 88	1.96	(-)219.138 00;203.107 41;189.091 43	$C_{15}H_{20}O_4$	Sydowic acid[c]	C
43*,[p]	19.42	257.080 51	257.080 84	-1.30	255.066 53	255.066 28	0.97	(-)135.008 64;119.050 02;91.018 85	$C_{15}H_{12}O_4$	Liquiritigenin[a]	R
44*,[p]	20.78	149.059 75	149.059 71	0.29	147.045 06	147.045 15	-0.62	(+)131.049 19;121.028 52;103.054 53	$C_9H_8O_2$	Cinnamic acid[c]	C
45[p]	21.32	269.079 99	269.080 84	-3.17	267.067 02	267.066 28	2.76	(-)252.042 62;195.044 71	$C_{16}H_{12}O_4$	Isoformononetin[a]	R
46*	22.87	133.064 73	133.064 79	-0.47	-	-	-	(+)105.070 21	C_9H_8O	Cinnamaldehyde[d]	C
47[p]	23.66	161.059 80	161.059 71	0.55	-	-	-	(+)146.036 27;118.041 56;105.070 24	$C_{10}H_8O_2$	6-Methylcoumarin[e]	C
48[p]	24.12	897.409 85	897.411 46	-1.79	895.398 62	895.396 90	1.92	(+)545.347 66;527.337 16	$C_{44}H_{64}O_{19}$	Uralsaponin F[b]	R
49[p]	24.41	855.397 34	855.400 89	-4.15	853.386 72	853.386 34	0.44	(-)351.054 96	$C_{42}H_{62}O_{18}$	22-Hydroxy-licoricesaponin G2[b]	R
50[p]	26.45	985.460 82	985.463 89	-3.12	983.448 79	983.449 33	-0.55	(-)821.393 01;645.366 39;469.330 63	$C_{48}H_{72}O_{21}$	Licoricesaponin A3[b]	R
51	28.20	163.075 23	163.075 36	-0.82	-	-	-	(+)145.064 83;135.080 49;107.049 42	$C_{10}H_{10}O_2$	2-Methoxycinnamaldehyde[d]	C
52[p]	28.61	881.416 26	881.416 54	-0.32	879.402 04	879.401 99	0.06	(-)351.053 96	$C_{44}H_{64}O_{18}$	22-Acetoxy-glycyrrhizin[b]	R
53	28.92	469.331 39	469.331 24	0.33	-	-	-	(+)451.321 50;405.315 64	$C_{30}H_{44}O_4$	Glabrolide[b]	R
54[p]	29.57	469.330 60	469.331 24	-1.37	-	-	-	(+)451.320 53;405.315 43	$C_{30}H_{44}O_4$	Isoglabrolide[b]	R
55[p]	32.13	269.080 60	269.080 84	-0.90	267.066 96	267.066 28	2.53	(-)252.042 56;195.044 66	$C_{16}H_{12}O_4$	Formononetin[a]	R
56	33.90	821.396 24	821.395 41	1.01	819.383 30	819.380 86	2.98	(-)351.053 86;191.034 73	$C_{42}H_{60}O_{16}$	Licoricesaponin E2[b]	R
57[p]	34.57	839.403 38	839.405 98	-3.10	837.391 11	837.391 42	-0.37	(+)645.360 66;487.341 83;469.331 54	$C_{42}H_{62}O_{17}$	Licoricesaponin G2 or its isomer[b]	R
58[p]	35.73	839.402 34	839.405 98	-4.33	837.391 60	837.391 42	0.22	(+)645.358 58;487.341 74;469.331 21	$C_{42}H_{62}O_{17}$	Licoricesaponin G2 or its isomer[b]	R
59[p]	36.30	297.111 18	297.112 14	-3.25	295.097 81	295.097 58	0.78	(-)277.086 00;233.096 48;205.100 39	$C_{18}H_{16}O_4$	Truxinic acid[c]	C
60*,[p]	37.00	823.407 65	823.411 06	-4.14	821.395 87	821.396 51	-0.77	(+)647.380 25;471.347 63;453.336 21	$C_{42}H_{62}O_{16}$	Glycyrrhizic acid[b]	R
61[p]	38.45	809.429 26	809.431 80	-3.14	807.417 79	807.417 24	0.68	(+)633.399 17;439.357 18	$C_{42}H_{64}O_{15}$	Licoricesaponin B2[b]	R
62[p]	38.45	457.367 89	457.367 62	0.59	-	-	-	(+)439.356 29	$C_{30}H_{48}O_3$	Oleanolic acid[b]	R
63*,[p]	39.06	823.408 63	823.411 06	-2.95	821.396 55	821.396 51	0.04	(-)351.054 66;193.034 68;113.024 38	$C_{42}H_{62}O_{16}$	Licoricesaponin H2[b]	R
64	39.98	823.408 14	823.411 06	-3.54	821.397 16	821.396 51	0.79	(-)351.052 37;193.034 52;113.024 27	$C_{42}H_{62}O_{16}$	Licoricesaponin K2[b]	R
65[p]	40.61	779.422 12	779.421 23	1.14	777.409 24	777.406 68	3.29	(+)647.378 36;471.348 05;453.335 97	$C_{41}H_{62}O_{14}$	Apioglycyrrhizin[b]	R
66	41.80	369.133 21	369.133 26	-0.14	367.120 36	367.118 71	4.50	(+)313.070 98;285.075 47;270.052 09	$C_{21}H_{20}O_6$	Glycycoumarin[e]	R
67	41.99	807.417 36	807.416 15	1.50	805.403 08	805.401 59	1.85	(-)453.343 66;193.034 19	$C_{42}H_{62}O_{15}$	Licoricesaponin C2[b]	R
68[p]	42.50	357.169 80	357.169 65	0.42	355.155 91	355.155 10	2.29	(-)135.044 95;121.029 28	$C_{21}H_{24}O_5$	Glyasperin C[a]	R

注:*:与对照品比对;p:入血成分;a:黄酮类成分;b:三萜类成分;c:有机酸类成分;d:醛类成分;e:香豆素类成分;f:其他类成分;C:桂枝;R:炙甘草。

3 结果

3.1 桂枝甘草汤化学成分鉴定

结合所建立的化学成分数据库及相关文献,通过对比各化学成分的色谱保留行为、精确质量数、碎片离子等信息,在桂枝甘草汤中共表征了 68 个化合物,包括 30 个黄酮类、16 个三萜类、8 个有机酸类、5 个醛类、3 个香豆素类及 6 个其他类成分;通过与对照品的色谱保留时间和质谱信息进行比较,准确鉴定了 11 个化合物,分别为原儿茶酸、新甘草苷、甘草苷、香豆素、芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、桂皮酸、桂皮醛、甘草酸、甘草皂苷 H2。根据未知化合物的高分辨质谱信息,推测了其他 57 个化合物的结构。桂枝甘草汤正、负离子模式下的 TIC 图见图 1,鉴定的化学成分信息见表 1。

3.1.1 *黄酮类化合物质谱解析* 在桂枝甘草汤中共鉴定出 30 个黄酮类化合物,其中 4 个来源于桂枝,26 个来源于炙甘草。以化合物 24 和 33 为例说明解析过程。

化合物 24 的保留时间为 11.59 min,在正、负离子扫描模式下检测到其准分子离子峰为[M + H]$^+$ m/z 419.133 30 和[M − H]$^-$ m/z 417.118 93,预测其分子式为 $C_{21}H_{22}O_9$。在负离子模式下对其进行碰撞裂解,得到相关二级碎片离子 m/z 255.066 38 [M − H − $C_6H_{10}O_5$]$^-$、m/z 135.008 64 [M − H − $C_6H_{10}O_5$ − C_8H_8O]$^-$ 和 m/z 119.050 05 [M − H − $C_6H_{10}O_5$ − $C_7H_4O_3$]$^-$。推测其准分子离子[M − H]$^-$ 脱去一分子葡萄糖后得到 m/z 255.066 38 的碎片离子,其进一步发生 RDA 裂解,产生 m/z 135.008 64 和 m/z 119.050 05 的碎片离子。结合相关文献[23],经对照品比对后,鉴定该化合物为甘草苷(Liquiritin),其裂解途径如图 2 所示。

化合物 33 的保留时间为 17.58 min,在正、负离子扫描模式下检测到其准分子离子峰为[M + H]$^+$ m/z 431.133 36 和[M − H]$^-$ m/z 429.119 66,预测其分子式为 $C_{22}H_{22}O_9$,在正离子模式下对其进行碰撞裂解,得到相关二级碎片离子 m/z 269.080 57 [M + H − $C_6H_{10}O_5$]$^+$ 和 m/z 254.056 85 [M + H − $C_6H_{10}O_5$ − CH_3]$^+$。推测其准分子离子[M + H]$^+$ 脱去一分子葡萄糖后得到 m/z 269.080 57 的碎片离子,此碎片脱去甲基自由基产生 m/z 254.056 85 的碎片离子,结合相关文献[24],经对照品比对后,鉴定该化合物为芒柄花苷(Ononin),其裂解途径如图 3 所示。

3.1.2 *三萜类化合物质谱解析* 在桂枝甘草汤中共鉴定出 16 个三萜类化合物,主要来源于炙甘草。以化合物 50 和 60 为例说明解析过程。

化合物 50 的保留时间为 26.45 min,在正、负离子扫描模式下分别检测到其准分子离子峰[M + H]$^+$ m/z 985.460 82 和[M − H]$^-$ m/z 983.448 79,预测其分子式为 $C_{48}H_{72}O_{21}$。在负离子模式下对其进行碰撞裂解,得到相关二级碎片离子 m/z 821.393 01 [M − H − $C_6H_{10}O_5$]$^-$、m/z 645.366 39 [M − H − $C_6H_{10}O_5$ − $C_6H_8O_6$]$^-$ 和 m/z 469.330 63 [M − H − $C_6H_{10}O_5$ − $C_6H_8O_6$ − $C_6H_8O_6$]$^-$。推测其准分子离子[M − H]$^-$ 脱去一分子葡萄糖后得到 m/z 821.393 01 的碎片离子,继续脱去一分子葡萄糖醛酸得到 m/z 645.366 39 的碎片离子,此碎片离子再脱掉一分子葡萄糖醛酸后得到 m/z 469.330 63 的碎片离子。结合相关文献[25],推测该化合物为甘草皂苷 A3(Licoricesaponin A3),其裂解途径如图 4 所示。

化合物 60 的保留时间为 37.00 min,在正、负离子扫描模式下分别检测到其准分子离子峰[M + H]$^+$ m/z 823.407 65 和[M − H]$^-$ m/z 821.395 87,预测其分子式为 $C_{42}H_{62}O_{16}$。在正离子模式下对其进行碰撞裂解,得到相关二级碎片离子 m/z 647.380 25 [M + H − $C_6H_8O_6$]$^+$、m/z 471.347 63 [M + H − $C_6H_8O_6$ − $C_6H_8O_6$]$^+$ 和 m/z 453.336 21 [M + H − $C_6H_8O_6$ − $C_6H_8O_6$ − H_2O]$^+$。推测其准分子离子[M + H]$^+$ 连续脱去一分子葡萄糖醛酸后分别得到 m/z 647.380 25 和 m/z 471.347 63的碎片离子,进一步失去一分子 H_2O 得到 m/z 453.336 21的碎片离子。结合相关文献[26],经对照品比对后,鉴定该化合物为甘草酸(Glycyrrhizic acid),其裂解途径如图 5 所示。

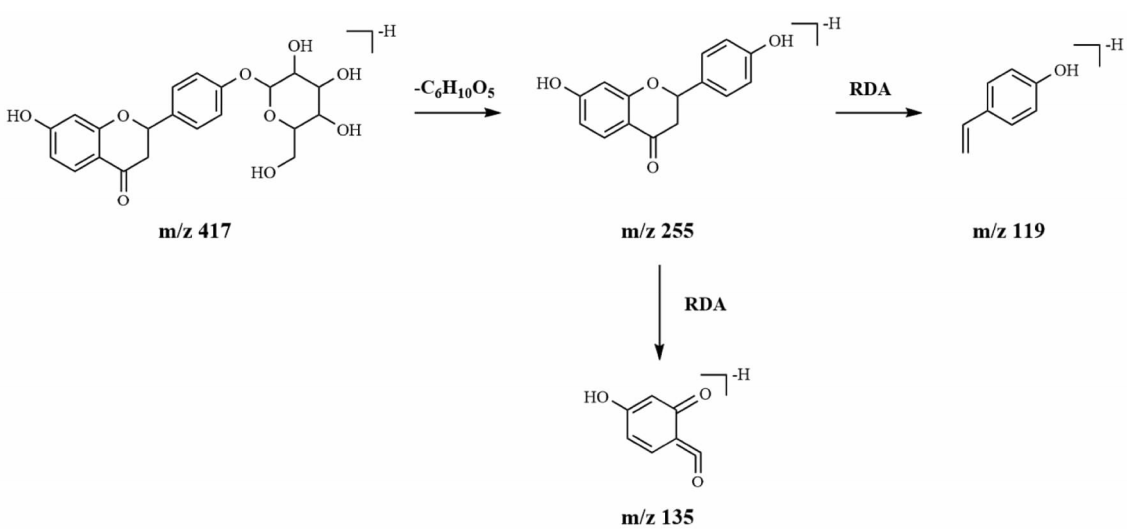


图 2 甘草苷可能的裂解途径

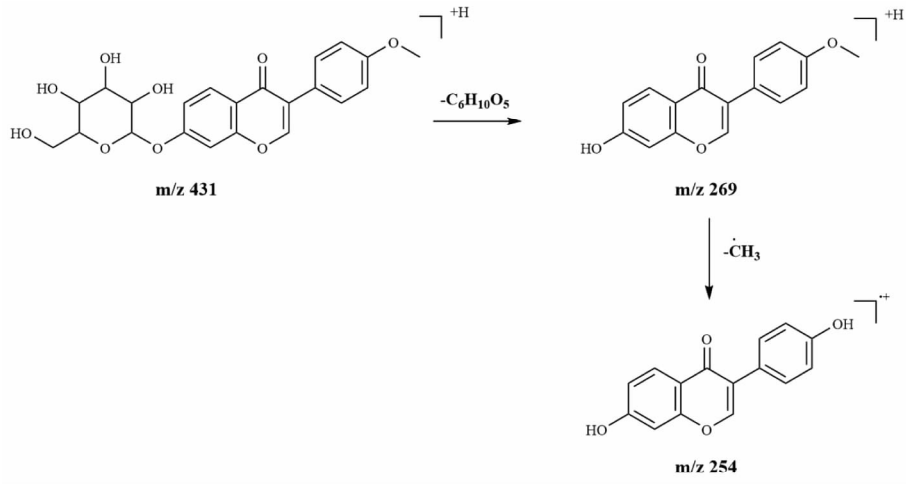


图 3 芒柄花苷可能的裂解途径

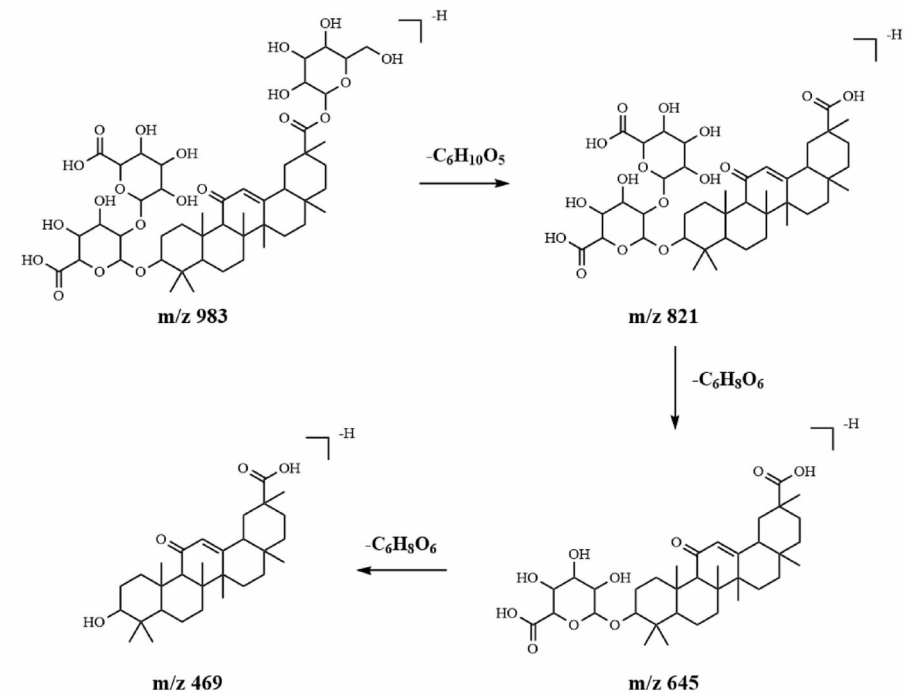


图 4 甘草皂苷 A3 可能的裂解途径

3.1.3 *有机酸类化合物质谱解析* 在桂枝甘草汤中共鉴定出 8 个有机酸类化合物，主要来源于桂枝。以化合物 6 和 44 为例说明解析过程。

化合物 6 的保留时间为 3.57 min，在正、负离子扫描模式下分别检测到其准分子离子峰[M + H]$^+$ m/z 155.033 98 和[M - H]$^-$ m/z 153.019 27，预测其分子式为 $C_7H_6O_4$。在负离子模式下对其进行碰撞裂解，得到二级碎片离子 m/z 109.029 35 [M - H - CO_2]$^-$。推测其准分子离子[M - H]$^-$ 脱去一分子 CO_2 后得到 m/z 109.029 35 的碎片离子。结合相关文献[27]，经对照品比对后，鉴定该化合物为原儿茶酸(Protocatechuic acid)，其裂解途径如图 6 所示。

化合物 44 的保留时间为 20.78 min，在正、负离子扫描模式下分别检测到其准分子离子峰[M + H]$^+$ m/z 149.059 75 和[M - H]$^-$ m/z 147.045 06，预测其分子式为 $C_9H_8O_2$。在正离子模式下对其进行碰撞裂解，得到相关二级碎片离子 m/z 131.049 19 [M + H - H_2O]$^+$、m/z 121.028 52 [M + H - CO]$^+$ 和 m/z 103.054 53 [M + H - H_2O - CO]$^+$。推测其准分子离子[M + H]$^+$ 脱去一分子 H_2O 后得到 m/z 131.049 19 的碎片离子，该碎片离子继续脱掉一分子 CO 得到 m/z 103.054 53 的碎片离子；准分子离子脱去一分子 CO 得到 m/z 121.028 52 的碎片离子。结合相关文献[28]，经对照品比对后，鉴定该化合物为桂皮酸(Cinnamic acid)，其裂解途径如图 7 所示。

3.1.4 *醛类化合物质谱解析* 在桂枝甘草汤中共鉴定出 5 个醛类化合物，主要来源于桂枝。以化合物 17 和 46 为例说明解析过程。

化合物 17 的保留时间为 10.32 min，在正、负离子扫描模式下分别检测到其准分子离子峰[M + H]$^+$ m/z 183.065 28 和

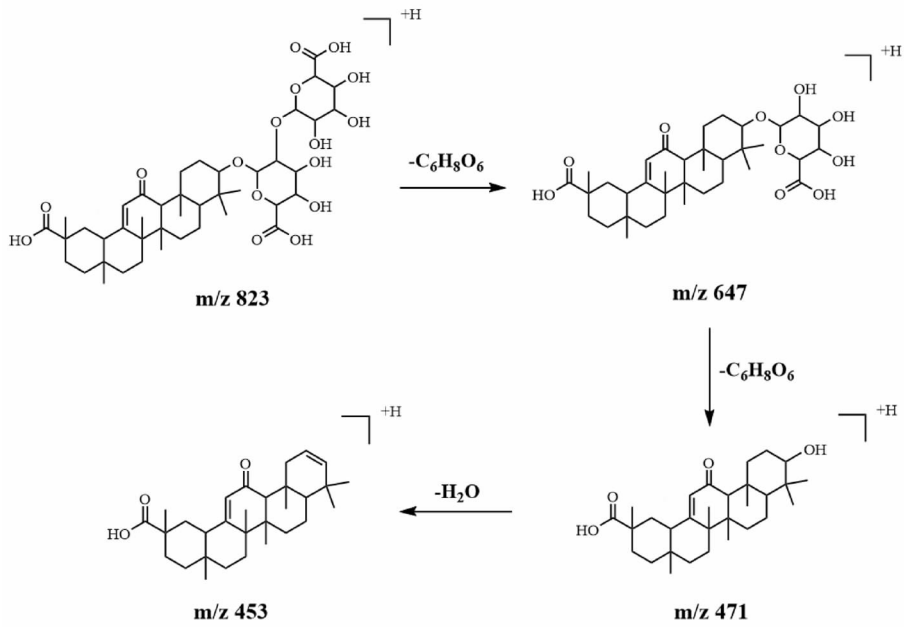


图 5 甘草酸可能的裂解途径

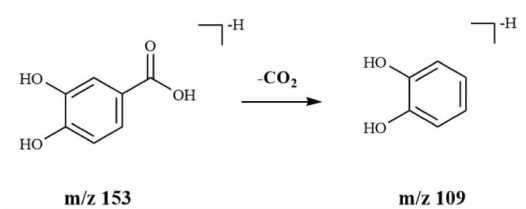


图 6 原儿茶酸可能的裂解途径

$[M-H]^-$ m/z 181.050 74，预测其分子式为 $C_9H_{10}O_4$。在正离子模式下对其进行碰撞裂解，得到相关二级碎片离子 m/z 155.070 30 $[M+H-CO]^+$、m/z 140.046 78 $[M+H-CO-CH_3]^+$、m/z 123.044 19 $[M+H-CO-CH_3OH]^+$ 和 m/z 95.049 51 $[M+H-CO-CH_3OH-CO]^+$。推测其准分子离子 $[M+H]^+$ 脱去一分子 CO 后得到 m/z 155.070 30 的碎片离子，该碎片离子继续裂解脱去一个甲基自由基、一分子 CH_3OH 后分别得到 m/z 140.046 78 和 m/z 123.044 19 的碎片离子，m/z 123.044 19 碎片离子脱掉一分子 CO 得到 m/z 95.049 51

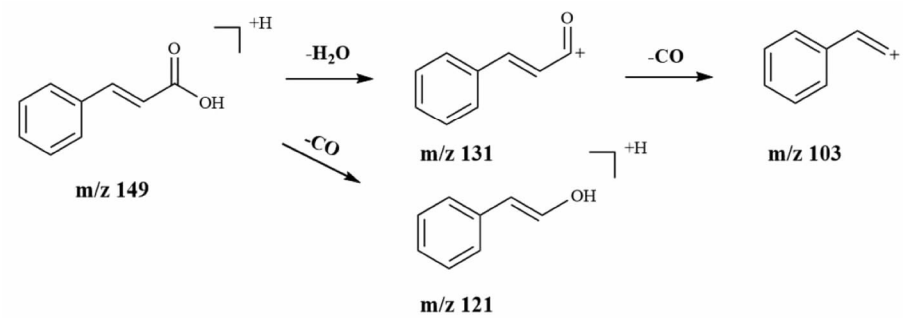


图 7 桂皮酸可能的裂解途径

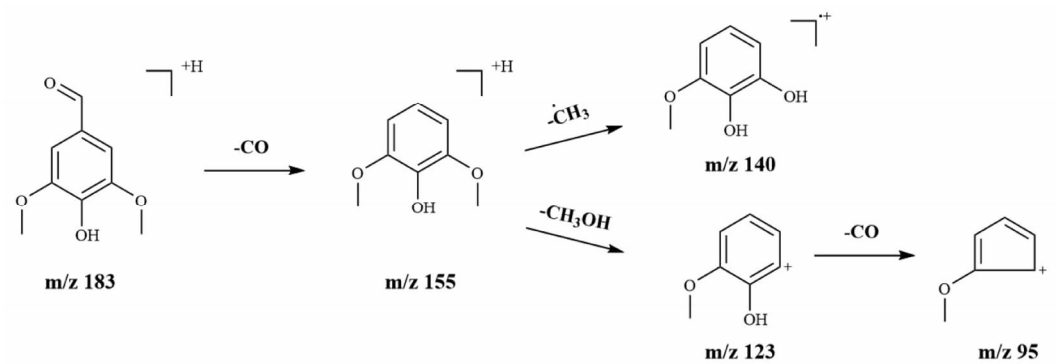


图 8 丁香醛可能的裂解途径

的碎片离子。结合相关文献[29],推测该化合物为丁香醛(Syringaldehyde),其裂解途径如图 8 所示。

化合物 46 的保留时间为 22.87 min,在正离子扫描模式下检测到其准分子离子峰[M + H]$^+$ m/z 133.064 73,预测其分子式为 C_9H_8O。在正离子模式下对其进行碰撞裂解,得到相关二级碎片离子 m/z 105.070 21 [M + H − CO]$^+$。推测其准分子离子[M + H]$^+$脱去一分子 CO 后得到 m/z 105.070 21 的碎片离子。结合相关文献[30],经对照品比对后,鉴定该化合物为桂皮醛(Cinnamaldehyde),其裂解途径如图 9 所示。

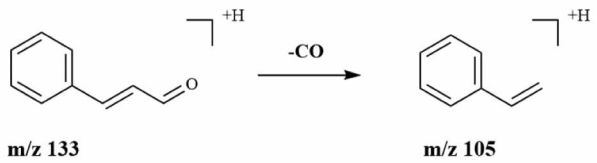


图 9 桂皮醛可能的裂解途径

3.1.5 香豆素及其他类化合物质谱解析 在桂枝甘草汤中共鉴定出 3 个香豆素类化合物及 6 个其他类化合物。香豆素类化合物中 2 个来源于桂枝,1 个来源于炙甘草,以化合物 28 为例说明解析过程。

化合物 28 的保留时间为 15.88 min,在正离子扫描模式下检测到其准分子离子峰[M + H]$^+$ m/z 147.044 01,预测其分子式为 $C_9H_6O_2$。在正离子模式下对其进行碰撞裂解,得到相关二级碎片离子 m/z 119.049 04 [M + H − CO]$^+$ 和 m/z 103.054 56 [M + H − CO_2]$^+$。推测其准分子离子[M + H]$^+$脱去一分子 CO、一分子 CO_2 后分别得到 m/z 119.049 04 和 m/z 103.054 56 的碎片离子。结合相关文献[31-32],经对照品比对后,鉴定该化合物为香豆素(Coumarin),其裂解途径如图 10 所示。

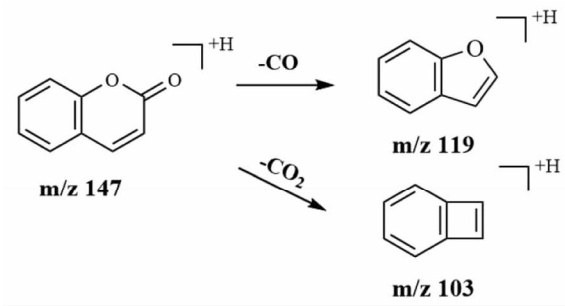


图 10 香豆素可能的裂解途径

其他类化合物如核苷等,主要来源于桂枝,以化合物 3 为例说明解析过程。

化合物 3 的保留时间为 1.75 min,在正离子扫描模式下检测到其准分子离子峰[M + H]$^+$ m/z 268.103 91,预测其分子式为 $C_{10}H_{13}N_5O_4$。在正离子模式下对其进行碰撞裂解,得到相关二级碎片离子 m/z 136.061 77 [M + H − $C_5H_8O_4$]$^+$ 和 m/z 119.035 34[M + H − $C_5H_8O_4$ − NH_3]$^+$。推测其准分子离子[M + H]$^+$脱去一分子核糖后得到 m/z 136.061 77 的碎片离子,该碎片离子继续丢失 NH_3 得到 m/z 119.035 34 的碎片离子,结合相关文献[33],推测该化合物为腺苷(Adenosine),其裂解途径如图 11 所示。

3.2 大鼠入血成分鉴定

将含药血浆样品和空白血浆样品的谱图进行对比,并结合桂枝甘草汤体外化学成分质谱分析数据,根据色谱和质谱信息,在大鼠血浆中共发现并鉴定了桂枝甘草汤 45 个吸收入血的原型成分,包括 26 个黄酮类,12 个三萜类,4 个有机酸类,2 个香豆素类及 1 个其他类成分。空白血浆及含药血浆样品的 TIC 图见图 12,入血成分信息在表 1 中标注。

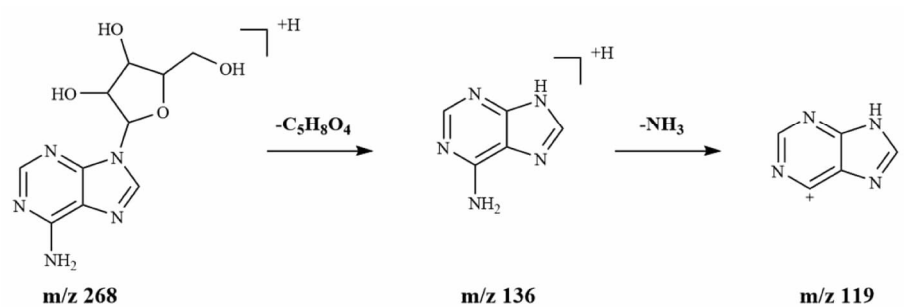
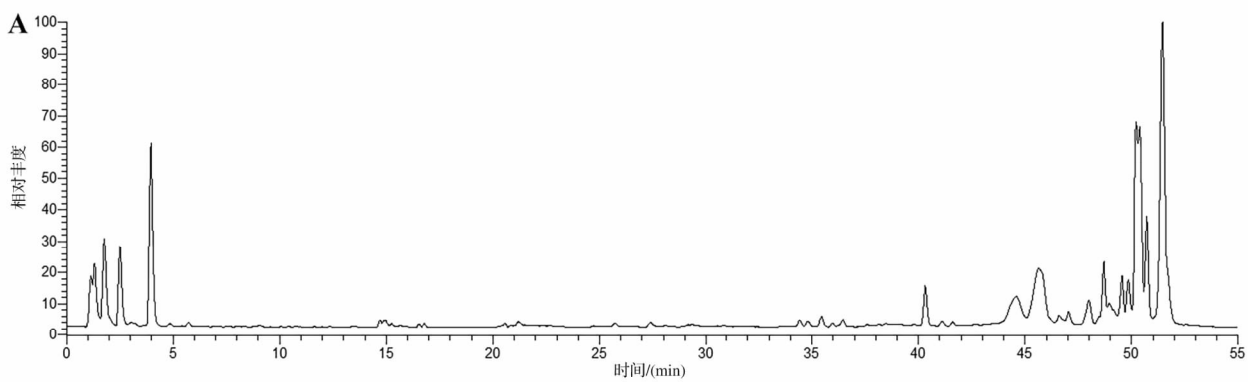
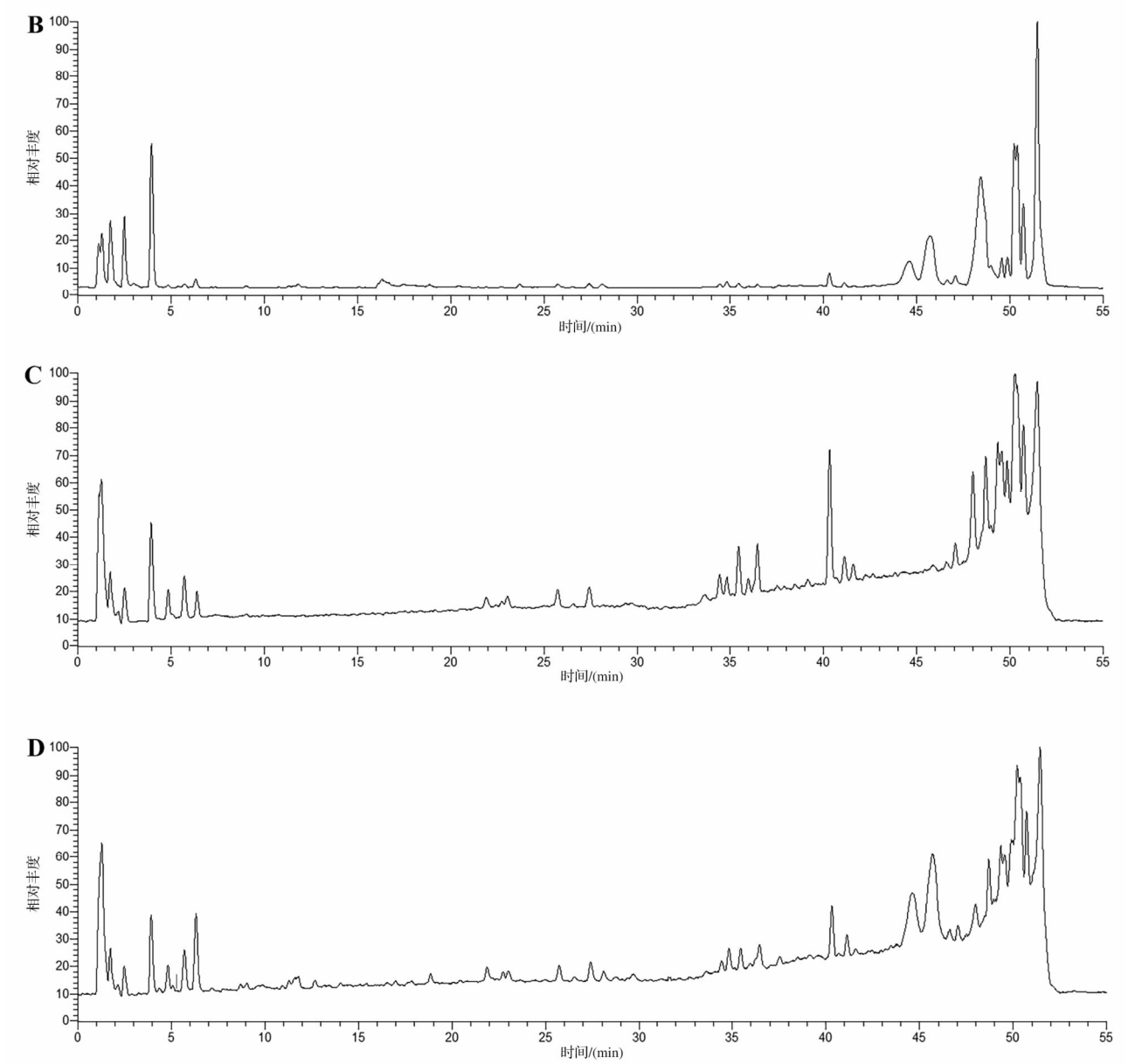


图 11 腺苷可能的裂解途径





注:A:正离子模式下的空白血浆;B:正离子模式下的含药血浆;C:负离子模式下的空白血浆;D:负离子模式下的含药血浆。

图 12 大鼠血浆样品正、负离子模式下的 TIC 图

4 讨论

桂枝甘草汤化学成分复杂多样,其药效的发挥是多种化学成分综合作用的结果。为从整体上系统揭示其化学成分信息,本研究采用 UHPLC – Q – Exactive Orbitrap MS 方法对桂枝甘草汤的化学成分进行定性表征。在正、负离子两种检测模式下,结合 Q – Exactive Orbitrap MS 提供的分子式、精确分子质量、碎片离子信息以及建立的化合物数据库并参考相关文献,在桂枝甘草汤中共鉴定了 68 个化学成分,其中 25 个成分来源于桂枝,43 个成分来源于炙甘草。结果表明黄酮类、三萜类、有机酸类、醛类和香豆素类等成分是桂枝甘草汤中主要的化学成分。为发现并表征桂枝甘草汤体内直接发挥作用的物质,本研究对桂枝甘草汤灌胃给药后大鼠体内的入血成分进行分析。实验中为获得较多的入血成分信息,同时消除个体差异的影响,将大鼠给药后 0.5、1、2 h 的血浆等体积混合后进行检测。结合桂枝甘草汤体外成分进行综合分析,在大鼠含药血浆中共发现桂枝甘草汤 45 个原型入血成分,包括 26 个黄酮类、12 个三萜类、4 个有机酸类、2 个香豆素类及 1 个其他类成分。结果提示,这些被吸收入血的原型成分可能是影响桂枝甘草汤药效发挥的潜在效应物质。

桂枝甘草汤作为古代经典名方,其应用历史悠久,疗效确切,具有重要的研究和应用价值。本研究应用具有高分辨率和高灵敏度性能的 UHPLC – Q – Exactive Orbitrap MS 技术对桂枝甘草汤化学成分及其在大鼠体内吸收入血成分进行快速定性表征,较全面阐释了桂枝甘草汤的化学物质组成,并初步探讨了桂枝甘草汤吸收入血的效应物质。实验结果可为该经典名方的药效物质基础与质量控制研究、临床应用与进一步开发

提供实验参考和理论依据。

参考文献

[1] 毛静远，赵志强，王贤良，等. 中医药治疗心血管疾病研究述评[J]. 中医杂志，2019，60(21)：1801－1805.

[2] 张晓雨，万思琦，刘文静，等. 迈入高效精准新时代：中医药防治重大疾病循证研究的回顾与展望[J]. 中国科学(生命科学)，2022，52(6)：823－831.

[3] 张效科，丁纪茹. 从经方中感悟仲景治疗心系病证用药智慧[J]. 陕西中医药大学学报，2020，43(1)：30－33.

[4] 郑丰杰.《伤寒论》辨治心阳虚三方证治解析[J]. 北京中医药大学学报，2016，39(12)：973－977.

[5] 刘萍，王平. 仲景桂甘配伍组方浅析[J]. 时珍国医国药，2011，22(5)：1198－1199.

[6] YUAN H J，XUE Y T. To explore the key active compounds and therapeutic mechanism of Guizhi Gancao Decoction in coronary heart disease by network pharmacology and molecular docking[J]. Evid Based Complement Alternat Med，2022，2022：2566407.

[7] 李根. 参附汤合桂枝甘草汤辅治冠心病不稳定型心绞痛临床观察[J]. 实用中医药杂志，2021，37(9)：1537－1539.

[8] 张鑫. 桂枝甘草汤加味对心肾阳虚型室性早搏患者的治疗效果[J]. 中国现代药物应用，2022，16(5)：206－208.

[9] 武志强，何敏，史玉荣，等. 桂枝甘草汤的药理作用与临床应用研究进展[J]. 中药与临床，2014(3)：50－52，55.

[10] GAO Y，SONG G，CAO Y J，et al. The Guizhi Gancao Decoction attenuates myocardial ischemia－reperfusion injury by suppressing inflammation and cardiomyocyte apoptosis[J]. Evid Based Complement Alternat Med，2019，2019：1947465.

[11] CHEN H H，ZHAO P，TIAN J，et al. The effects of Guizhi Gancao Decoction on pressure overload－induced heart failure and posttranslational modifications of tubulin in mice[J]. Evid Based Complement Alternat Med，2017，2017：2915247.

[12] 邢作英，王永霞，朱明军，等. 桂枝甘草汤对豚鼠心室肌细胞 IKs 及 HEK293 细胞 IKr 的影响[J]. 中医杂志，2023，64(7)：729－735.

[13] 王艳，高原，朱明军，等. 桂枝甘草汤干预心肌缺血再灌注损伤大鼠心律失常的作用机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2023，21(21)：3901－3907.

[14] 刘俊红，邢作英，宋欢欢，等. 桂枝甘草汤含药血清对豚鼠心室肌细胞钠通道的影响[J]. 中医学报，2020，35(4)：837－839.

[15] 申冬冬. 桂枝甘草汤对心力衰竭大鼠心肌凋亡及心肌细胞 TGF－β1、ICAM－1 表达的影响[J]. 中华中医药学刊，2018，36(4)：932－935.

[16] 陈丽敏，林辉，徐大量，等. 桂枝甘草汤挥发性成分的 GC－MS 测定研究[J]. 中药新药与临床药理，2010，21(4)：418－421.

[17] 王佳琳，张贵君，向丽，等. 桂枝、炙甘草剂量变化对桂枝甘草汤药效组分的影响[J]. 现代药物与临床，2018，33(4)：728－733.

[18] 陈新阳，毕开顺，易丽听，等. 双波长切换 HPLC 同时测定桂枝甘草汤中 4 种成分的含量[J]. 中国现代应用药学，2011，28(3)：265－267.

[19] 向丽，张贵君，王佳琳，等. 桂枝甘草汤中 10 种成分在不同煎煮时间的变化研究[J]. 现代药物与临床，2017，32(2)：183－187.

[20] 原双兴. 桂枝甘草汤指纹图谱及血清药物化学研究[D]. 郑州：河南中医学院，2014.

[21] 施钧瀚，姚静，王艳丽，等. 桂枝甘草汤传统汤剂与配方颗粒成分比较[J]. 医药导报，2023，42(7)：1026－1033.

[22] JI B，ZHUO L M，YANG B，et al. Development and validation of a sensitive and fast UPLC－MS/MS method for simultaneous determination of seven bioactive compounds in rat plasma after oral administration of Guizhi－gancao decoction[J]. J Pharm Biomed Anal，2017，137：23－32.

[23] 续艳丽，李晨曦，杨飞霞，等. 基于 UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS 技术分析经典名方芍药甘草汤的化学成分[J]. 南京中医药大学学报，2021，37(6)：938－948.

[24] XU X F，LI X H，LIANG X R. Application of ultra－performance liquid chromatography coupled with quadrupole time－of－flight mass spectrometry in identification of three isoflavone glycosides and their corresponding metabolites[J]. Rapid Commun Mass Spectrom，2018，32(3)：262－268.

[25] 马海娟，高简，张亚丽，等. 基于 HPLC－MS^n 的甘草成分快速鉴定及质谱裂解途径研究[J]. 中华中医药杂志，2018，33(3)：1120－1123.

[26] SUN L，ZHAO M，ZHAO Y H，et al. Rapid characterization of chemical constituents of Shaoyao Gancao decoction using UHPLC coupled with Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. RSC Adv，2020，10(49)：29528－29535.

[27] 盛益华，王洪，李思迪，等. 基于 HPLC－Q－TOF－MS 鉴定杜仲不同部位中化学成分及其降血糖活性研究[J]. 中草药，2023，54(19)：6228－6240.

[28] 王晓丽，彭梅梅，陈琪，等. 基于 UPLC－Q－TOF－MS/MS 技术的经典名方黄连汤化学成分鉴定及网络药理学研究[J]. 中国中药杂志，2023，48(5)：1249－1263.

[29] 王天山，何春刚，文俏慧，等. 苯甲酸型芳香小分子的电喷雾多级质谱裂解规律[J]. 海南师范大学学报(自然科学版)，2020，33(1)：36－43.

[30] 程贤，毕良武，曾维星，等. 基于 UHPLC－QTOF MS 的肉桂枝叶蒸油剩余物化学成分研究[J]. 林产化学与工业，2020，40(6)：50－60.

[31] 席海为. 香豆素类化合物检测方法及应用研究[D]. 北京：北京中医药大学，2010.

[32] 孔佳琦，孟宪双，尚宇瀚，等. 青胶蒲公英化学成分鉴定及质谱裂解规律研究[J]. 质谱学报，2022，43(3)：278－286.

[33] 刘春花，谢家丽，付昌丽，等. 基于 UHPLC－Q－Exactive Orbitrap HRMS 和 HPLC－UV 的石吊兰化学成分定性与定量研究[J]. 中国中药杂志，2023，48(13)：3516－3534.