

[质量控制]

桃红四物汤化学成分分析及活性组分含量测定

常昊¹, 唐林峰¹, 赵梦蝶¹, 李金森¹, 李涛^{3*}, 韩岚^{1,2*}

(1. 安徽中医药大学药学院, 现代中药安徽省重点实验室, 安徽省中药复方重点实验室, 安徽合肥 230012; 2. 省部共建安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 安徽合肥 230012; 3. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

摘要: 目的 分析桃红四物汤化学成分, 并测定活性组分含量。方法 HPLC-LTQ-Orbitrap MS 法进行定性分析, HPLC-MS/MS 法测定芍药苷、苦杏仁苷、羟基红花色素 A、阿魏酸、藜本内酯、梓醇、毛蕊花糖苷、山柰酚、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丁基苯酞、5-羟甲基糠醛、对香豆酸、没食子酸、咖啡酸、儿茶素含量。结果 共鉴定出 102 种成分, 包括苯醌类 14 种、黄酮类 23 种、有机酸类 17 种、苷类 27 种、氨基酸类 8 种、其他类 13 种。18 种活性组分在各自范围内线性关系良好 ($r > 0.999 0$), 平均加样回收率 70.02% ~ 120.49%, RSD 1.65% ~ 4.54%, 其中芍药苷 (4.675% ~ 5.403%)、苦杏仁苷 (1.353% ~ 1.512%)、洋川芎内酯 A (1.317% ~ 2.813%) 含量较高, 其余在 0.001% ~ 0.947% 之间。结论 该方法稳定可靠, 可用于桃红四物汤的质量控制。

关键词: 桃红四物汤; 化学成分; 活性组分; 定性分析; 含量测定; HPLC-LTQ-Orbitrap MS; HPLC-MS/MS

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1069-10

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.001

Analysis of chemical constituents and content determination of active components for Taohong Siwu Decoction

CHANG Hao¹, TANG Lin-feng¹, ZHAO Meng-die¹, LI Jin-miao¹, LI Tao^{3*}, HAN Lan^{1,2*}

(1. Anhui Provincial Key Laboratory for Modern Traditional Chinese Medicines; Anhui Provincial Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Compounds; School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 2. Collaborative Innovation Center for Quality Improvement of Anhui Genuine Chinese Medicinal Materials Co-founded by Anhui Province and Ministry of Education, Hefei 230012, China; 3. Medical Experimental Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

ABSTRACT: AIM To analyze the chemical constituents in Taohong Siwu Decoction, and to determine the contents of active components. **METHODS** HPLC-LTQ-Orbitrap MS was adopted in the qualitative analysis, HPLC-MS/MS was adopted in the content determination of paeoniflorin, amygdalin, hydroxysafflower yellow A, ferulic acid, ligustilide, catalpol, verbascoside, kaempferol, albiflorin, benzoylpaeoniflorin, senkyunolide I, senkyunolide A, butylphthalide, 5-hydroxymethylfurfural, coumaric acid, gallic acid, caffeic acid and catechins. **RESULTS** Total 102 constituents were identified, containing 14 phthalides, 23 flavonoids, 17 organic acids, 27 glycosides, 8 amino acids, and 13 others. Eighteen active components showed good linear relationships within their own ranges ($r > 0.999 0$), whose average recoveries were 70.02% - 120.49% with the RSDs of 1.65% - 4.54%, among which the contents of paeoniflorin (4.675% - 5.403%), amygdalin (1.353% - 1.512%) and senkyunolide A (1.317% - 2.813%) were high, while those of others were 0.001% - 0.947%. **CONCLUSION** This stable

收稿日期: 2024-12-06

基金项目: 国家自然科学基金 (82074152)

作者简介: 常昊 (1999—), 男, 硕士生, 从事中药药理及其药效物质基础研究。E-mail: 17856013873@163.com

* 通信作者: 李涛 (1987—), 男, 硕士, 副研究员, 从事中药药效物质基础、药动学、代谢流研究。E-mail: hndxlitao@163.com

韩岚 (1982—), 女, 博士, 教授, 从事中药药理研究。E-mail: hanlan56@ahcm.edu.cn

网络出版日期: 2025-04-29

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20250429.1500.002.html>

and reliable method can be used for the quality control of Taohong Siwu Decoction.

KEY WORDS: Taohong Siwu Decoction; chemical constituents; active components; qualitative analysis; content determination; HPLC-LTQ-Orbitrap MS; HPLC-MS/MS

桃红四物汤最早记载于《医垒元戎》^[1],由6味中药组成,其中桃仁、红花活血化瘀,当归、地黄滋阴补血,白芍养血合营,川芎活血行气,诸药合用,共奏活血化瘀、养血补血功效^[2],临床上用于治疗多种血症类疾病,如缺血性脑卒中、产后血瘀、骨缺血性坏死等^[3-8]。研究表明,桃红四物汤发挥活血化瘀功效的物质基础主要为芳香酸类、糖苷类、苯酞类、黄酮类等成分^[9],但目前相关研究存在成分数量不足、活性组分含量不明确等问题,需要进一步考察。

对中药制剂中的化学成分进行定性定量分析,是评价其一致性、明确其药效物质基础的必经阶段^[10]。高分辨质谱定性技术具有强大的结构鉴定能力,可通过质谱裂解规律、多级碎片等信息来推测与判定未知化合物结构^[11],而三重四级杆质谱技术具有特异性强、灵敏度高等特点,多反应监测(MRM)模式可有效提高分析准确度^[12]。本实验采用高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)法分析桃红四物汤化学成分,并根据该方活血化瘀功效的物质基础筛选出18种活性组分,测定其含量,以期对相关临床研究提供一定的物质基础。

1 材料

1.1 仪器 Exion LC-20AC 高效液相色谱仪,配置 Ion Drive™ TurboV 离子源、Sciex 6500+三重四极杆检测器、Analyst 1.7 数据采集系统、MultiQuant 3.0.3 数据处理系统(美国 AB Sciex 公司); Ultimate 3000 超高效液相色谱仪、LTQ Orbitrap Velos Pro 质谱仪(美国 Thermo Fisher 公司); SCIENTZ-18N 冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司); KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q Integral 5 超纯水制备仪(美国 Millipore 公司)。

1.2 试剂 苦杏仁苷(批号 Y08010K96808)、羟基红花黄色素 A(批号 A091B212053)、山柰酚(批号 A01HB190000)、对香豆酸(批号 A02GB143747)、没食子酸(批号 I05GB153704)、咖啡酸(批号 M27GB143417)、儿茶素(批号 S01HB191501)、苯甲酰芍药苷(批号 D10HB197203)、吡啶美辛(批号 Y01S8C42808)、芍药苷(批号 M28GB143089)、尼莫地平(批号

S08HB407207)对照品均购自上海源叶生物科技有限公司;阿魏酸对照品(批号 P1702831)购自上海诗丹德生物技术有限公司;藁本内酯(批号 15103700)、丁基苯酞(批号#B55338469)、洋川芎内酯 I(批号 C1485018)、洋川芎内酯 A(批号 C153010473)、5-羟甲基糠醛(批号 H6753833F)对照品均购自上海麦克林生化科技有限公司;毛蕊花糖苷对照品(批号 MUST-20092315)购自成都曼思特生物科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$ 。甲醇(色谱纯,北京迪科马科技有限公司);甲酸(色谱纯,美国 Sigma 公司);其余试剂均为分析纯;水为纯净水。

1.3 药材 桃仁(批号 23060504)、红花(批号 23060504)、熟地黄(批号 23010311)、当归(批号 23070403)、白芍(批号 22073002)、川芎(批号 22070701)均购自安徽协和成药业饮片有限公司,经安徽中医药大学中药资源部杨青山副教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备 熟地黄、当归、白芍、川芎、桃仁、红花按 4:3:3:2:3:2 比例加入 10 倍量 75%乙醇,回流提取 2 h,收集滤液,再加入 8 倍量 75%乙醇回流提取 2 h,合并 2 次滤液,浓缩至生药量为 1.8 g/mL^[13],重复 3 次,冷冻干燥,得冻干粉。取 0.1 g,加入 50 mL 50%乙醇,称定质量,超声(功率 300 W,频率 50 kHz)处理 20 min,50%乙醇补足减失的质量,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品 10 mg,置于 10 mL 量瓶中,50%甲醇定容至刻度,即得(芍药苷 200 $\mu\text{g/mL}$ 、苦杏仁苷 100 $\mu\text{g/mL}$ 、羟基红花黄色素 A 50 $\mu\text{g/mL}$ 、阿魏酸 50 $\mu\text{g/mL}$ 、藁本内酯 100 $\mu\text{g/mL}$ 、山柰酚 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、毛蕊花糖苷 5 $\mu\text{g/mL}$ 、梓醇 5 $\mu\text{g/mL}$ 、丁基苯酞 5 $\mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯 I 10 $\mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯 A 200 $\mu\text{g/mL}$ 、对香豆酸 5 $\mu\text{g/mL}$ 、咖啡酸 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、芍药内酯苷 50 $\mu\text{g/mL}$ 、苯甲酰芍药苷 5 $\mu\text{g/mL}$ 、没食子酸 20 $\mu\text{g/mL}$ 、儿茶素 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、5-羟甲基糠醛 10 $\mu\text{g/mL}$),在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下密封保存。

2.3 内标溶液制备 分别选择吡啶美辛、尼莫地

平作为正离子、负离子模式内标, 50% 甲醇制成贮备液, 临用前稀释至 20 μg/mL, 即在 -80 °C 下密封保存。

2.4 HPLC-LTQ-Orbitrap MS 分析条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 流动相 0.01% 甲酸 (A) - 甲醇 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 10.0 min, 5% ~ 55% B; 10.0 ~ 23.0 min, 55% ~ 95% B; 23.0 ~ 26.0 min, 95% ~ 5% B); 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 2 μL; 正负离子扫描; 正离子模式下毛细管温度 350 °C, 毛细管电压 35 V, 喷雾电压 3.5 kV, 鞘气 (N₂) 体积流量 35 mL/min, 辅助气 (N₂) 体积流量 10 mL/min; 负离子模式下毛细管电压 -35 V, 喷雾电压 -3.5 kV, 鞘气 (N₂) 体积流量 35 mL/min, 辅助气 (N₂) 体积流量

10 mL/min。一级质谱在 FT 模式下进行全扫描 (分辨率 30 000, *m/z* 50~1 200), 二级、三级质谱采用数据依赖性扫描。

2.5 HPLC-MS/MS 分析条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 流动相 0.01% 甲酸 (A) - 甲醇 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 9.0 min, 15% ~ 95% B; 9.0 ~ 12.0 min, 95% B; 12.0 ~ 12.01 min, 95% ~ 15% B; 12.01 ~ 15.0 min, 15% B); 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 2 μL; 电喷雾离子源 (ESI); 多反应监测 (MRM) 模式; 正负离子扫描; 气帘气 (N₂) 40 psi (1 psi = 6.895 kPa); 碰撞气 (N₂) 9 psi; 喷雾电压 5 500 V / -4 000 V; 雾化温度 550 °C; 雾化气、辅助气 (N₂) 55 psi。其他参数见表 1。

表 1 各活性组分质谱参数

Tab. 1 Mass spectrometry parameters for various active components

活性组分	离子模式	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	去簇电压/V	碰撞能量/eV
芍药苷	[M-H] ⁻	479.2	449.2[M-H-CH ₂ O] ⁻	-35	-12
苦杏仁苷	[M-H] ⁻	456.0	323.1[M-H-C ₈ H ₇ NO] ⁻	-44	-18
羟基红花色素 A	[M-H] ⁻	611.3	491.2[M-H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁻	-151	-32
阿魏酸	[M-H] ⁻	193.1	133.9[M-H ₂ -CH ₃ -CO ₂] ⁻	-30	-23
藁本内酯	[M+H] ⁺	191.2	117.3[M+H-HCOOH-C ₂ H ₄] ⁺	88	27
梓醇	[M-H] ⁻	361.0	199.0[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	-65	-12
毛蕊花糖苷	[M-H] ⁻	623.2	161.2[M-H-C ₂₀ H ₃₀ O ₁₂] ⁻	-160	-43
山柰酚	[M-H] ⁻	285.0	185.1[M-H-C ₄ H ₄ O ₃] ⁻	-114	-36
芍药内酯苷	[M+H] ⁺	481.3	319.3[M+H-C ₅ H ₆ O ₆] ⁺	102	14
苯甲酰芍药苷	[M-H] ⁻	583.1	120.7[M-H-C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀] ⁻	-440	-43
洋川芎内酯 I	[M-H] ⁻	223.1	205.3[M-H-H ₂ O] ⁻	-97	-16
洋川芎内酯 A	[M+H] ⁺	193.3	147.1[M+H-CO-H ₂ O] ⁺	80	18
丁基苯酞	[M+H] ⁺	191.2	145.3[M+H-CO-H ₂ O] ⁺	107	19
5-羟甲基糠醛	[M+H] ⁺	127.1	108.9[M+H-H ₂ O] ⁺	38	15
对香豆酸	[M-H] ⁻	163.0	119.1[M-H-CO ₂] ⁻	-32	-22
没食子酸	[M-H] ⁻	169.1	125.2[M-H-CO ₂] ⁻	-36	-20
咖啡酸	[M-H] ⁻	179.2	135.1[M-H-CO ₂] ⁻	-83	-22
儿茶素	[M-H] ⁻	289.0	245.1[M-H-CO ₂] ⁻	-105	-23
吡啶美辛 (内标)	[M+H] ⁺	358.0	139.1[M+H-C ₁₂ H ₁₃ O ₃ N] ⁺	120	26
尼莫地平 (内标)	[M-H] ⁻	417.3	122.0[M-H-C ₁₅ H ₂₁ O ₅ N] ⁻	-210	-26

2.6 方法学考察

2.6.1 线性关系考察 取“2.2”项下对照品溶液适量, 按 2 倍梯度依次稀释 12 份, 分别精密吸取 900 μL, 加入 100 μL 内标溶液, 在“2.4”项条件下进样测定。以对照品、内标质量浓度比值为横坐标 (X), 两者峰面积比值为纵坐标 (Y) 进行回归, 并以 S/N=10 为定量限, 结果见表 2, 可知各活性组分在各自范围内线性关系良好。

2.6.2 精密度试验 精密吸取高质量浓度 (芍药苷 50 μg/mL、苦杏仁苷 25 μg/mL、羟基红花黄色

素 A 25 μg/mL、阿魏酸 6.25 μg/mL、藁本内酯 25 μg/mL、山柰酚 0.25 μg/mL、毛蕊花糖苷 2.5 μg/mL、梓醇 1.25 μg/mL、丁基苯酞 1.25 μg/mL、洋川芎内酯 I 5 μg/mL、洋川芎内酯 A 50 μg/mL、对香豆酸 1.25 μg/mL、咖啡酸 0.25 μg/mL、芍药内酯苷 12.5 μg/mL、苯甲酰芍药苷 2.5 μg/mL、没食子酸 10 μg/mL、儿茶素 0.13 μg/mL、5-羟甲基糠醛 2.5 μg/mL)、低质量浓度 (6.25、3.13、3.13、0.78、3.13、0.02、0.16、0.08、0.08、0.31、6.25、0.08、0.02、1.56、0.16、1.25、

表2 各活性组分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various active components

活性组分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
芍药苷	$Y=0.009\ 5X+0.135\ 7$	0.997 8	0.039~100.000	6.10
苦杏仁苷	$Y=0.043\ 9X+0.417\ 7$	0.990 5	0.195~50.000	1.53
羟基红花色素 A	$Y=0.086\ 4X+0.341\ 1$	0.996 6	0.244~50.000	3.05
阿魏酸	$Y=0.002\ 6X+0.929\ 2$	0.997 8	0.390~12.500	1.53
藁本内酯	$Y=0.057\ 1X+0.866\ 2$	0.994 2	1.562~50.000	4.88
梓醇	$Y=0.016\ 4X+0.135\ 7$	0.997 8	0.010~2.500	9.77
毛蕊花糖苷	$Y=0.001\ 7X+0.020\ 2$	0.999 9	0.009~5.000	0.31
山柰酚	$Y=0.127\ 6X+0.103\ 9$	0.999 9	0.001~0.500	0.98
芍药内酯苷	$Y=0.022\ 9X-0.001\ 8$	0.991 7	0.097~25.000	3.05
苯甲酰芍药苷	$Y=0.048\ 9X+0.007\ 9$	0.999 8	0.009~5.000	2.44
洋川芎内酯 I	$Y=0.031\ 7X+0.040\ 7$	0.998 7	0.020~10.000	19.53
洋川芎内酯 A	$Y=0.028\ 6X+0.781\ 9$	0.993 9	0.700~100.000	12.21
丁基苯酞	$Y=0.001\ 6X+0.155\ 4$	0.994 4	0.009~2.500	1.22
5-羟甲基糠醛	$Y=0.001\ 1X+0.266\ 1$	0.992 8	0.039~5.000	1.22
对香豆酸	$Y=0.008\ 4X+0.414\ 0$	0.997 7	0.009~2.500	0.61
没食子酸	$Y=0.001\ 8X-0.270\ 7$	0.999 1	0.039~20.000	9.77
咖啡酸	$Y=0.005\ 3X-0.021\ 9$	0.998 5	0.001~0.500	0.49
儿茶素	$Y=0.055\ 0X+0.002\ 4$	0.994 0	0.039~0.250	0.98

0.06、0.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 对照品溶液各 900 μL , 加入 100 μL 内标溶液, 混匀, 在“2.4”项条件下进样测定 6 次, 测得芍药苷、苦杏仁苷、羟基红花色素 A、阿魏酸、藁本内酯、梓醇、毛蕊花糖苷、山柰酚、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丁基苯酞、5-羟甲基糠醛、对香豆酸、没食子酸、咖啡酸、儿茶素峰面积 RSD 分别为 14.02%、5.21%、5.23%、2.55%、4.36%、11.53%、3.54%、4.77%、12.67%、6.47%、5.56%、4.66%、7.01%、4.73%、6.40%、4.89%、6.24%、14.34%, 表明仪器精密度良好。

2.6.3 重复性试验 取“2.1”项下供试品溶液 6 份, 每份 900 μL , 加入 100 μL 内标溶液, 在“2.4”项条件下进样测定, 测得芍药苷、苦杏仁苷、羟基红花色素 A、阿魏酸、藁本内酯、梓醇、毛蕊花糖苷、山柰酚、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丁基苯酞、5-羟甲基糠醛、对香豆酸、没食子酸、咖啡酸、儿茶素峰面积 RSD 分别为 12.30%、8.47%、7.83%、7.29%、3.53%、11.04%、8.08%、8.33%、14.69%、7.50%、5.99%、5.79%、9.04%、7.47%、12.58%、11.08%、9.39%、11.93%, 表明该方法重复性良好。

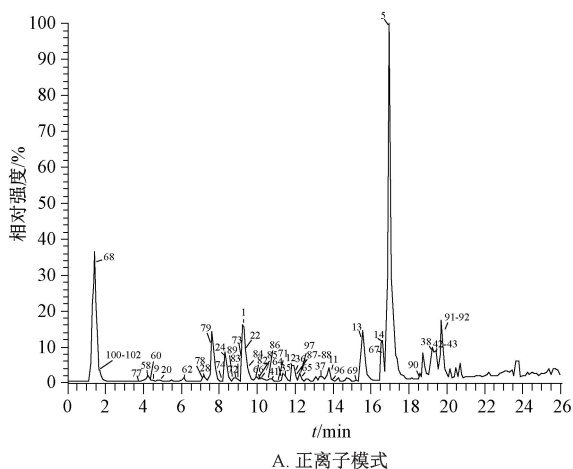
2.6.4 稳定性试验 取“2.1”项下供试品溶液适量, 于 0、4、8、12、24 h 在“2.4”项条件下进样测定, 测得芍药苷、苦杏仁苷、羟基红花色素 A、阿魏酸、藁本内酯、梓醇、毛蕊花糖苷、山柰酚、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丁基苯酞、5-羟甲基糠醛、对香豆酸、没食子酸、咖啡酸、儿茶素平均加样回收率分别为 87.85%、101.27%、110.19%、116.76%、98.19%、88.24%、112.12%、109.64%、84.97%、98.12%、108.39%、91.07%、108.06%、90.81%、105.55%、110.79%、100.65%、

洋川芎内酯 A、丁基苯酞、5-羟甲基糠醛、对香豆酸、没食子酸、咖啡酸、儿茶素峰面积 RSD 分别为 11.25%、13.26%、9.59%、7.08%、5.42%、13.03%、12.49%、9.58%、12.15%、7.61%、6.62%、7.00%、9.53%、14.43%、13.44%、11.97%、12.61%、13.89%, 表明溶液在 24 h 稳定性良好。

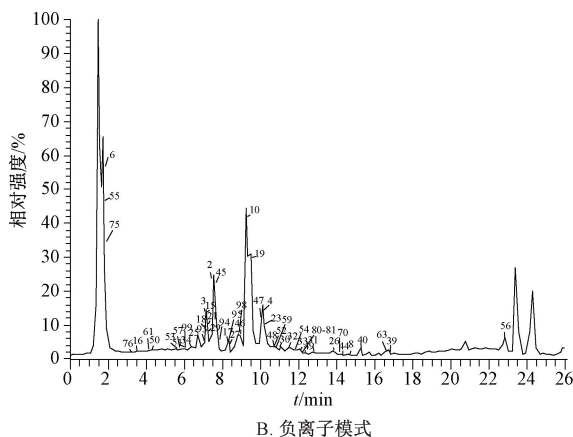
2.6.5 加样回收率试验 取冻干粉 0.1 g, 加入适量“2.2”项下对照品溶液(芍药苷 25.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、苦杏仁苷 12.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、羟基红花黄色素 A 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、阿魏酸 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、藁本内酯 12.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、山柰酚 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、毛蕊花糖苷 0.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、梓醇 0.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、丁基苯酞 0.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、洋川芎内酯 I 1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、洋川芎内酯 A 25.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、对香豆酸 0.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、咖啡酸 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、芍药内酯苷 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、苯甲酰芍药苷 0.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、没食子酸 2.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、儿茶素 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5-羟甲基糠醛 1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 按“2.1”项下方法制备供试品溶液, 在“2.4”项条件下进样测定, 计算回收率。结果, 芍药苷、苦杏仁苷、羟基红花色素 A、阿魏酸、藁本内酯、梓醇、毛蕊花糖苷、山柰酚、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丁基苯酞、5-羟甲基糠醛、对香豆酸、没食子酸、咖啡酸、儿茶素平均加样回收率分别为 87.85%、101.27%、110.19%、116.76%、98.19%、88.24%、112.12%、109.64%、84.97%、98.12%、108.39%、91.07%、108.06%、90.81%、105.55%、110.79%、100.65%、

108.59%、RSD 分别为 3.44%、3.12%、3.13%、3.19%、2.34%、4.38%、3.05%、3.31%、4.43%、3.16%、2.25%、2.22%、3.47%、3.52%、1.17%、2.19%、3.86%、2.20%。

2.7 成分鉴定及其裂解特征分析 取3批冻干粉,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,取900 μL,加入100 μL内标溶液,在“2.5”项条件下进样测定,根据精确相对分子质量,采用质谱处理软件在规定的误差范围内($-1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-5}$)分析可能的元素组成,并将二级质谱离子信息与对照品、文献比对。结果,共鉴定出102种成分,包括苯醌类14种、黄酮类23种、有机酸类17种、糖苷类27种、氨基酸类8种、其他类13种,见图1、表3。



A. 正离子模式



B. 负离子模式

图1 桃红四物汤总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of Taohong Siwu Decoction

苯醌类成分当归主要活性组分,根据其母核数量分为简单苯醌(即苯醌单体)和苯醌二聚体两大类^[14],前者在质谱裂解中容易丢失H₂O、CO、烷基自由基、CO₂等,而后者通常先裂解为

前者,再以相同特征裂解^[15]。例如,化合物37准分子离子峰 m/z 189.091 0 [M+H]⁺,分子式C₁₂H₁₂O₂,产生碎片离子 m/z 171.080 9 [M+H-H₂O]⁺、161.096 6 [M+H-CO]⁺、143.086 0 [M+H-CO-H₂O]⁺,结合文献[16]报道确定为丁烯基苯醌。

有机酸类成分广泛存在于自然界植物中,在质谱中容易丢失CO、CO₂、-COOH、H₂O等^[17]。例如,化合物4准分子离子峰 m/z 193.050 0 [M-H]⁻,分子式C₁₀H₁₀O₄,产生碎片离子 m/z 178.026 2 [M-H-CH₃]⁻、149.060 2 [M-H-CO₂]⁻、134.036 8 [M-H-CH₃-CO₂]⁻,与对照品比对后确定为阿魏酸。

黄酮类成分主要来源于红花,大多以黄酮苷类形式存在,主要质谱裂解特征为先失去糖,得到黄酮苷元,再丢失H₂O、CO或发生RDA反应^[18]。例如,化合物3(羟基红花黄色素A)准分子离子峰 m/z 611.158 8 [M-H]⁻,分子式C₂₇H₃₂O₁₆,碎片离子 m/z 491.119 3 [M-H-C₄H₈O₄]⁻为苷元A环3'位的糖发生1,2位交叉环切除反应丢失糖基产生,继续脱水得 m/z 473.108 4 [M-H-C₄H₈O₄-H₂O]⁻或403.102 8 [M-H-Glu-H₂O-CO]⁻,与文献[19]报道和对照品吻合。

糖苷类成分碎片离子以丢失糖配基较常见^[20]。例如,化合物7(毛蕊花糖苷)准分子离子峰 m/z 623.193 7 [M-H]⁻,分子式C₂₉H₃₆O₁₅,碎片离子 m/z 315.107 2 [M-H-Caffeoyl-Rha]⁻是由分子离子依次脱去咖啡酰基、鼠李糖残基产生,与文献[21]报道和对照品吻合。

2.8 含量测定 取3批冻干粉,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,取900 μL,加入100 μL内标溶液,在“2.4”项条件下进样测定,计算含量,结果见图2、表4。由此可知,不同批次冻干粉中各活性组分含量无显著差异,表明制备工艺稳定;芍药苷含量最高,其次为苦杏仁苷和洋川芎内酯A,其余活性组分含量均小于1%。

3 讨论与结论

本实验分别考察了桃红四物汤冻干粉在水及25%、50%、75%、100%乙醇中的复溶效果,发现50%乙醇最优。然后,固定超声频率50 kHz,分别考察了在超声功率300、400、500 W下提取10、15、20 min的效果,发现300 W、20 min最优。再分别考察了甲醇、乙腈、0.1%甲酸、0.01%甲酸等流动相的分离效果,发现甲醇-0.01%甲酸最优。

表3 桃红四物汤化学成分鉴定结果
Tab. 3 Results for chemical constituent identification of Taohong Siwu Decoction

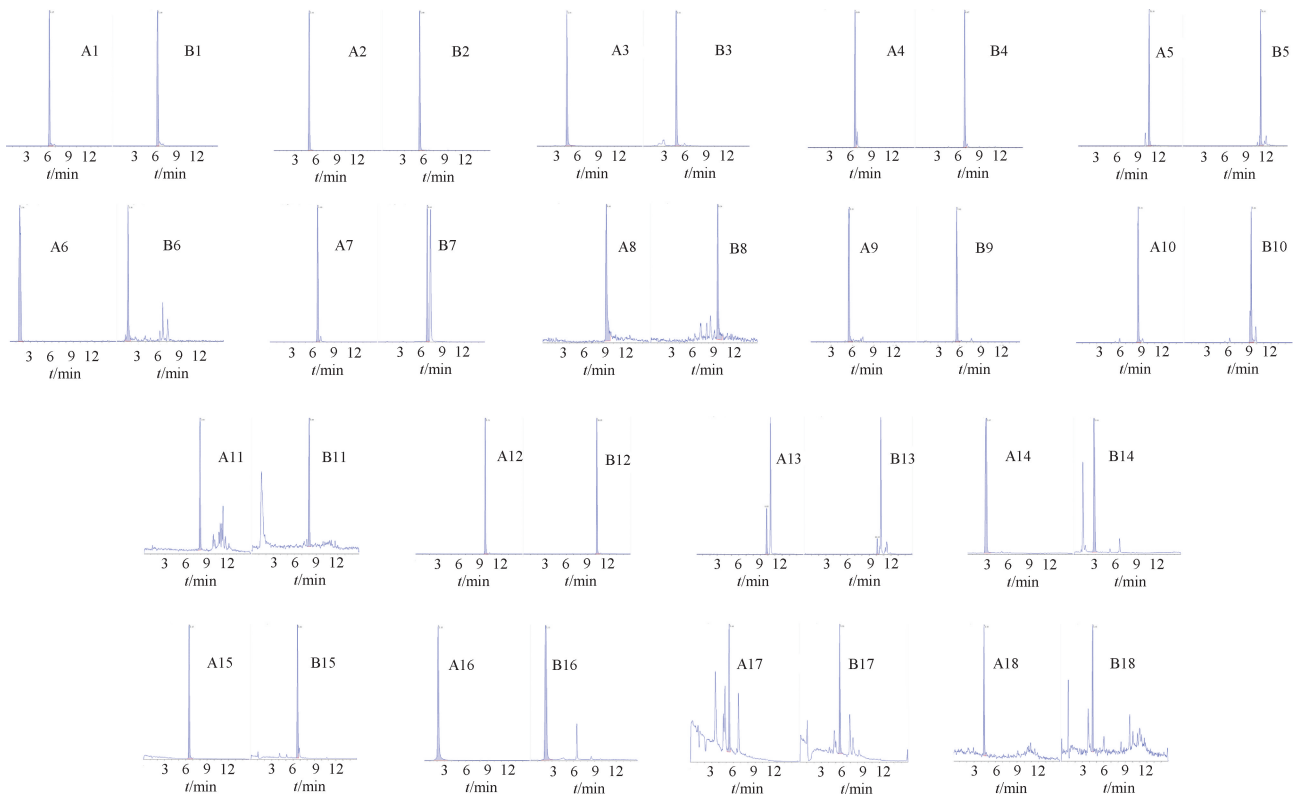
序号	名称	分子式	离子模式	t_R/min	理论值 m/z	实测值 m/z	偏差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片离子 m/z
1	芍药苷	$C_{23}H_{38}O_{11}$	$[M+Na]^+$	9.23	503.152 4	503.152 6	0.352	381.117 2, 341.101 0, 219.063 8
2	苦杏仁苷	$C_{20}H_{27}NO_{11}$	$[M-H]^-$	7.55	456.150 0	456.149 3	-1.572	323.097 7, 263.076 2, 221.066 1, 179.055 7, 161.045 2
3	羟基红花黄色素 A	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	7.15	611.160 7	611.158 8	-3.127	491.119 3, 473.108 4, 403.102 8, 325.071 6, 283.061 2
4	阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	$[M-H]^-$	10.11	193.049 5	193.050 0	2.200	134.036 8, 178.026 2, 149.060 2
5	藜本内酯	$C_{12}H_{14}O_2$	$[M+H]^+$	16.54	191.106 7	191.106 8	0.962	91.054 3, 173.096 7, 163.112 4, 155.086 2, 149.060 2, 145.101 8, 117.070 3
6	梓醇	$C_{15}H_{22}O_{10}$	$[M+HCOO]^-$	2.72	407.118 4	407.117 2	-3.052	199.060 6, 181.049 8, 169.050 1, 137.023 9
7	毛蕊花糖苷	$C_{29}H_{36}O_{15}$	$[M-H]^-$	10.36	623.197 0	623.193 7	-5.434	461.165 3, 315.107 2
8	山柰酚	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M-H]^-$	14.57	285.039 4	285.038 7	-2.331	185.059 4, 229.049 5, 213.054 7, 169.064 8
9	地黄苷 D	$C_{27}H_{42}O_{20}$	$[M+Na]^+$	4.74	709.216 2	709.216 2	0.036	365.106 2, 501.159 9
10	芍药内酯苷	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+HCOO]^-$	9.25	525.160 3	525.157 3	-5.555	479.154 0, 449.144 0, 327.108 0, 283.081 1
11	苯甲酰芍药苷	$C_{30}H_{32}O_{12}$	$[M+Na]^+$	13.57	607.178 6	607.178 6	-0.012	485.143 2, 460.222 3, 375.106 1, 341.100 6, 289.069 4
12	洋川芎内酯 I	$C_{12}H_{16}O_4$	$[M+H]^+$	11.82	225.112 1	225.112 2	0.464	207.102 2, 165.055 0, 121.064 9, 93.069 9
13	洋川芎内酯 A	$C_{12}H_{16}O_2$	$[M+H]^+$	15.56	193.122 3	193.122 5	0.848	147.117 3, 175.112 4, 137.060 2, 119.049 5, 105.070 1
14	丁基苯酚	$C_{12}H_{14}O_2$	$[M+H]^+$	16.62	191.106 7	191.106 9	1.118	173.096 7, 163.112 4, 155.086 2, 145.101 8, 105.070 1, 91.054 3
15	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	7.30	353.086 7	353.086 5	-0.534	191.055 6, 179.034 1, 135.044 6
16	没食子酸	$C_7H_6O_5$	$[M-H]^-$	3.41	169.013 1	169.013 6	2.664	125.023 8
17	咖啡酸	$C_9H_8O_4$	$[M-H]^-$	8.15	179.033 9	179.034 2	1.982	135.044 5, 121.030 0
18	儿茶素	$C_{15}H_{14}O_6$	$[M-H]^-$	7.07	289.070 7	289.070 0	-2.161	245.080 1, 205.049 4, 179.033 9, 137.023 7, 125.023 8
19	对香豆酸	$C_9H_8O_3$	$[M-H]^-$	9.75	163.039 0	163.039 6	3.922	119.049 6
20	5-羟甲基糠醛	$C_6H_6O_3$	$[M+H]^+$	4.47	127.039 0	127.038 9	-0.241	109.028 5, 81.033 4
21	氧化芍药苷	$C_{23}H_{28}O_{12}$	$[M-H]^-$	7.15	495.149 7	495.147 7	-3.964	465.139 5, 333.096 7, 299.076 2, 281.065 9
22	芍药新苷	$C_{23}H_{26}O_{10}$	$[M+H]^+$	9.23	463.159 9	463.160 3	1.007	446.122 6, 301.073 2
23	没食子酰芍药苷	$C_{30}H_{32}O_{15}$	$[M-H]^-$	10.36	631.165 7	631.162 7	-4.795	613.155 4, 491.119 1, 399.092 7, 313.056 2, 271.045 6
24	芍药苷元酮	$C_{17}H_{18}O_6$	$[M+H]^+$	8.29	319.117 6	319.117 7	0.110	301.107 5, 197.081 2, 105.033 5
25	芍药苷亚硫酸酯	$C_{23}H_{28}O_{15}S$	$[M-H]^-$	6.69	543.116 7	543.115 5	-2.224	421.079 6, 375.073 9, 259.027 2, 213.021 9
26	牡丹皮苷 B	$C_{31}H_{34}O_{14}$	$[M-H]^-$	13.80	629.186 5	629.183 4	-4.978	583.179 9, 461.143 0, 387.106 3
27	牡丹皮苷 E	$C_{24}H_{30}O_{13}$	$[M-H]^-$	8.33	525.160 3	525.158 4	-3.575	479.154 6, 357.117 4, 283.080 9
28	8-表番木鳖酸	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M+Na]^+$	7.02	399.126 2	399.126 1	-0.246	381.116 5, 255.196 1, 237.074 0, 219.063 5, 203.053 2
29	saffloquinoside D	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	7.15	611.160 7	611.158 8	-3.127	491.119 3, 403.102 8, 325.071 6
30	异毛蕊花糖苷	$C_{29}H_{36}O_{15}$	$[M-H]^-$	11.08	623.197 0	623.193 6	-5.531	461.165 2, 593.148 6, 315.197 1
31	地黄苦苷	$C_{16}H_{26}O_8$	$[M-H]^-$	12.72	345.154 4	345.153 1	-3.634	165.091 1, 143.034 1, 113.023 9
32	地黄紫罗兰苷 A/B	$C_{19}H_{34}O_8$	$[M+HCOO]^-$	11.27	435.222 5	435.221 0	-3.363	389.215 8
33	水仙苷	$C_{28}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	12.04	623.160 7	623.158 0	-4.335	315.050 4, 300.026 9, 271.024 1, 255.028 9
34	益母草苷	$C_{15}H_{24}O_9$	$[M-H]^-$	6.60	347.133 7	347.132 6	-3.050	197.044 3, 278.827 7

续表 3

序号	名称	分子式	离子模式	t_R/min	理论值 m/z	实测值 m/z	偏差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片离子 m/z
35	3-丁基-4-羟苯酚	$C_{12}H_{16}O_4$	$[M+H]^+$	11.82	225.1121	225.1122	0.420	165.0550, 121.0649, 93.0699, 79.0541
36	洋川芎内酯 F	$C_{12}H_{14}O_3$	$[M+H]^+$	11.92	207.1016	207.1017	0.527	189.0915, 179.1070, 161.0965, 133.1041, 119.0858
37	丁烯基苯酚	$C_{12}H_{12}O_2$	$[M+H]^+$	13.44	189.0910	189.0910	0.073	161.0966, 174.1680, 171.0809, 143.0860, 133.1015, 107.0494
38	欧当归内酯 A	$C_{24}H_{28}O_4$	$[M+H]^+$	19.25	381.2060	381.2062	0.378	191.1074, 363.1967, 335.2019
39	洋川芎内酯 B/C/E	$C_{12}H_{12}O_3$	$[M-H]^-$	16.71	203.0703	203.0703	0.292	159.0804, 174.0310, 130.0416
40	环氧藜本内酯	$C_{12}H_{14}O_3$	$[M-H]^-$	15.26	205.0859	205.0859	-0.296	161.0963, 106.0418
41	洋川芎内酯 K	$C_{12}H_{16}O_3$	$[M+H]^+$	10.77	209.1172	209.1173	0.426	191.1072, 163.1122, 153.0551
42	洋川芎内酯 P	$C_{24}H_{28}O_4$	$[M+H]^+$	19.25	381.2060	381.2062	0.378	191.1072, 231.1749
43	新当归内酯	$C_{24}H_{28}O_4$	$[M+H]^+$	19.25	381.2060	381.2062	0.378	191.1072, 363.1964, 335.2018
44	4,7-二羟基-3-丁基苯酚	$C_{12}H_{14}O_4$	$[M-H]^-$	14.26	221.0808	221.0805	-1.653	177.0910, 94.9245
45	香草酸	$C_8H_8O_4$	$[M-H]^-$	7.68	167.0339	167.0344	3.202	123.0448, 68.9955
46	藏红花素 C	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	8.82	611.1607	611.1593	-2.227	613.1658, 521.1290, 503.1800, 445.1126, 313.0709
47	6-hydroxykaempferol-di-O-glucoside	$C_{27}H_{30}O_{17}$	$[M-H]^-$	9.75	625.1399	625.1374	-4.056	463.0876, 301.0351, 284.0320
48	槲皮素-3-O-葡萄糖苷	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	10.52	463.0871	463.0865	-1.322	301.0344, 343.0440, 272.0310
49	山柰酚-3-O-芸香糖苷	$C_{27}H_{30}O_{15}$	$[M-H]^-$	12.04	593.1501	593.1479	-3.720	285.0399, 327.0491, 257.0447
50	没食子酰蔗糖	$C_{19}H_{26}O_{15}$	$[M-H]^-$	4.48	493.1188	493.1164	-4.941	313.0554, 331.0650, 283.0442, 271.0445
51	rhamnopyranosyl vanilloyl	$C_{14}H_{18}O_8$	$[M-H]^-$	6.06	313.0918	313.0910	-2.727	161.0447, 277.0041, 269.1013, 113.0239, 101.0239
52	1-O-咖啡酰奎尼酸(隐绿原酸)	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	10.61	353.0867	353.0860	-1.922	191.0555, 179.0343, 173.0450
53	5-O-咖啡酰奎尼酸(新绿原酸)	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	5.86	353.0867	353.0855	-3.479	191.0556, 179.0341, 135.0446
54	entiodietyl hexoside	$C_{21}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	11.75	449.1078	449.1060	-4.181	287.0556, 329.0484
55	柠檬酸	$C_6H_8O_7$	$[M-H]^-$	1.73	191.0186	191.0188	0.895	111.0085, 173.0082
56	肉豆蔻酸	$C_{14}H_{28}O_2$	$[M-H]^-$	23.02	227.2006	227.2000	-2.274	227.2006
57	京尼平苷酸	$C_{16}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	5.86	373.1129	373.1116	-3.546	123.0448, 211.0598, 167.0704, 149.0601
58	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M+H]^+$	4.24	268.1040	268.1040	-0.002	136.0621, 268.9785, 250.9691
59	芦丁	$C_{27}H_{30}O_{16}$	$[M-H]^-$	10.52	609.1450	609.1426	-3.892	301.0346, 429.0809, 285.0394, 271.0340
60	苯丙氨酸	$C_9H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	4.47	166.0863	166.0862	-0.272	120.0810, 149.0599, 131.0494
61	牡丹酮-1-O-β-D-葡萄糖苷或异构体	$C_{16}H_{24}O_9$	$[M+HC(OO)]^-$	4.07	405.1391	405.1374	-4.240	359.1321, 197.0805
62	D-色氨酸	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	$[M+H]^+$	6.12	205.0972	205.0971	-0.167	188.0711, 146.0604
63	三羟基十八碳烯酸	$C_{18}H_{34}O_5$	$[M-H]^-$	16.52	329.2323	329.2316	-1.885	229.1429, 211.1325, 171.1015
64	环五亮氨酸	$C_{30}H_{55}N_5O_5$	$[M+H]^+$	11.15	566.4276	566.4273	-0.611	548.4191, 435.3347, 322.2502
65	环六亮氨酸	$C_{36}H_{66}N_6O_6$	$[M+H]^+$	12.04	679.5117	679.5112	-0.721	661.5063, 548.4205, 435.3357, 322.2511
66	环四亮氨酸	$C_{24}H_{44}N_4O_4$	$[M+H]^+$	10.06	453.3435	453.3433	-0.601	322.2498
67	藜本酮	$C_{15}H_{20}O_3$	$[M+H]^+$	16.62	249.1485	249.1486	0.277	135.0809, 231.1388, 179.1079, 93.0700

续表 3

序号	名称	分子式	离子模式	t_R/min	理论值 m/z	实测值 m/z	偏差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片离子 m/z
68	腺嘌呤	$C_5H_5N_5$	[M+H] ⁺	1.69	136.061 8	136.061 7	-0.454	119.049 3, 107.085 6, 91.054 1
69	川芎酚	$C_{12}H_{14}O_3$	[M+H] ⁺	15.22	207.101 6	207.101 5	-0.342	189.091 6, 161.096 6, 151.039 5
70	β -10-蒽烯基- β -巢菜苷	$C_{21}H_{34}O_{10}$	[M+HCOO] ⁻	14.36	491.212 3	491.209 9	-4.892	445.206 5, 293.086 2
71	红花黄色素 A	$C_{22}H_{30}O_{16}$	[M+H] ⁺	11.15	611.160 6	611.160 4	-0.427	303.050 8, 465.103 7, 355.071 0
72	红花素	$C_{15}H_{12}O_6$	[M+H] ⁺	8.85	289.070 6	289.070 8	0.468	169.013 7, 216.102 5, 147.044 6
73	阿魏醛	$C_{10}H_{10}O_3$	[M+H] ⁺	9.23	179.070 3	179.070 5	1.169	151.075 8, 161.060 0, 135.080 8
74	paecilactone B	$C_{10}H_{12}O_4$	[M+H] ⁺	8.29	197.080 8	197.080 9	0.429	179.070 5, 161.059 9, 151.075 7, 133.064 9
75	京尼平苷	$C_{17}H_{24}O_{10}$	[M-H] ⁻	1.55	387.128 5	387.112 7	-1.594	341.107 9, 179.055 7
76	尿苷	$C_9H_{12}N_2O_6$	[M-H] ⁻	3.19	243.061 2	243.062 5	5.379	155.070 1, 197.809 0, 137.060 0
77	鸟苷	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	[M+H] ⁺	3.86	284.098 9	284.098 7	-0.792	152.057 1, 265.130 4
78	neocarthamin	$C_{21}H_{22}O_{11}$	[M+H] ⁺	7.16	451.123 5	451.123 5	0.116	433.114 4, 331.082 5, 313.078 3
79	紫丁香酚苷	$C_{17}H_{24}O_9$	[M+Na] ⁺	7.50	395.131 3	395.131 0	-0.692	233.0779 1, 364.113 8, 185.042 4
80	紫云英苷	$C_{21}H_{30}O_{11}$	[M-H] ⁻	12.04	447.092 2	447.090 4	-4.088	284.031 8, 327.049 2, 255.028 7
81	槐角苷	$C_{21}H_{20}O_{10}$	[M+HCOO] ⁻	12.04	477.102 8	477.100 7	-4.218	315.050 0, 462.078 1, 300.025 8
82	quercetin-3,7-O- β -D-glucoside	$C_{27}H_{30}O_{17}$	[M+H] ⁺	9.70	627.155 5	627.155 6	0.102	303.050 8, 465.103 9
83	saffloquinioside A	$C_{27}H_{30}O_{15}$	[M+H] ⁺	8.85	595.165 7	595.166 0	0.459	433.114 6, 415.103 9, 397.093 0, 301.071 8
84	6-hydroxyapigenin-6-O- β -D-glucoside-7-O- β -D-glucuronide	$C_{27}H_{28}O_{17}$	[M+H] ⁺	9.57	625.139 9	625.139 8	-0.249	463.089 1, 287.056 0
85	6-甲氧基-2H-色烯-2-酮	$C_{10}H_8O_3$	[M+H] ⁺	10.18	177.054 6	177.054 6	-0.230	145.028 8, 117.033 8
86	6-羟基山柰酚	$C_{15}H_{10}O_7$	[M+H] ⁺	10.52	303.049 9	303.049 9	-0.195	257.044 9, 181.013 4
87	异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷	$C_{28}H_{32}O_{16}$	[M+H] ⁺	12.04	625.176 3	625.176 0	-0.450	317.066 5, 479.119 8, 302.043 0
88	槲非醇-3-O-芸香糖苷	$C_{21}H_{30}O_{15}$	[M+H] ⁺	12.04	595.165 7	595.165 8	0.039	287.056 0, 449.109 3, 433.114 3
89	芹苷元-7-葡萄糖苷	$C_{21}H_{20}O_{10}$	[M+H] ⁺	8.85	433.112 9	433.113 1	0.408	331.101 0, 301.071 6
90	土木香内酯	$C_{15}H_{20}O_2$	[M+H] ⁺	18.48	233.153 6	233.153 6	0.101	177.091 5, 190.131 3, 149.096 4
91	邻苯二甲酸二丁酯	$C_{16}H_{22}O_4$	[M+Na] ⁺	19.71	301.141 0	301.141 1	0.165	245.078 8
92	川芎内酯酚	$C_{12}H_{12}O_3$	[M+H] ⁺	19.71	205.085 9	205.086 0	0.386	149.023 6, 177.127 6
93	对羟基苯甲酸	$C_7H_6O_3$	[M+HCOO] ⁻	7.30	137.023 3	137.024 1	5.324	93.034 7, 62.142 4
94	愈创木酚	$C_7H_8O_2$	[M-H] ⁻	7.93	123.044 1	123.044 7	5.396	87.502 7, 59.251 2
95	野黑樱苷	$C_{14}H_{17}NO_6$	[M+HCOO] ⁻	8.33	340.102 7	340.101 4	-3.86	161.044 9, 294.096 5, 188.055 5
96	safflospermidine A	$C_{34}H_{37}N_3O_6$	[M+H] ⁺	13.77	584.275 5	584.275 6	0.099	438.240 1, 420.229 5
97	野黄芩素	$C_{15}H_{10}O_6$	[M+H] ⁺	12.04	287.055 0	287.054 9	-0.294	241.050 3, 213.055 2, 165.018 7
98	3-O-阿魏酰奎尼酸	$C_{17}H_{20}O_9$	[M-H] ⁻	8.82	367.102 4	367.101 1	-3.428	191.055 7, 173.044 8
99	decaffeoylverbascoside	$C_{20}H_{30}O_{12}$	[M-H] ⁻	6.38	461.165 4	461.163 2	-4.581	315.106 6, 293.085 9, 135.044 7
100	精氨酸	$C_6H_{14}N_4O_2$	[M+H] ⁺	1.36	175.190 0	175.118 9	-0.127	158.092 8, 130.097 8, 116.070 9
101	脯氨酸	$C_5H_9NO_2$	[M+H] ⁺	1.42	116.070 6	116.070 4	-1.422	70.065 0
102	焦谷氨酸	$C_5H_7NO_3$	[M+H] ⁺	1.69	130.049 8	130.049 8	-0.228	112.087 1, 84.080 8



注：A 为对照品，B 为供试品。

1. 芍药苷 2. 苦杏仁苷 3. 羟基红花黄色素 A 4. 阿魏酸 5. 藁本内酯 6. 梓醇 7. 毛蕊花糖苷 8. 山柰酚 9. 芍药内酯苷
10. 苯甲酰芍药苷 11. 洋川芎内酯 I 12. 洋川芎内酯 A 13. 丁基苯酞 14. 5-羟甲基糠醛 15. 对香豆酸 16. 没食子酸 17. 咖啡酸 18. 儿茶素

1. paeoniflorin 2. amygdalin 3. hydroxysafflower yellow A 4. ferulic acid 5. ligustilide 6. catalpol 7. verbascoside 8. kaempferol
9. albiflorin 10. benzoylpaeoniflorin 11. senkyunolide I 12. senkyunolide A 13. butylphthalide 14. 5-hydroxymethylfurfural 15. coumaric acid 16. gallic acid 17. caffeic acid 18. catechins

图 2 各活性组分 MRM 色谱图

Fig. 2 MRM chromatograms of various active components

表 4 各活性组分含量测定结果

Tab. 4 Results for content determination of various active components

活性组分	含量/%		
	批次 1	批次 2	批次 3
芍药苷	5.403	5.205	4.675
苦杏仁苷	1.512	1.353	1.679
羟基红花黄色素 A	0.235	0.236	0.283
阿魏酸	0.117	0.102	0.101
藁本内酯	0.947	0.618	0.574
梓醇	0.029	0.041	0.044
毛蕊花糖苷	0.022	0.020	0.026
山柰酚	0.001	0.001	0.001
芍药内酯苷	0.809	0.535	0.870
苯甲酰芍药苷	0.046	0.034	0.036
洋川芎内酯 I	0.028	0.032	0.032
洋川芎内酯 A	2.183	1.407	1.317
丁基苯酞	0.008	0.003	0.003
5-羟甲基糠醛	0.054	0.044	0.031
对香豆酸	0.004	0.004	0.004
没食子酸	0.135	0.092	0.104
咖啡酸	0.004	0.004	0.005
儿茶素	0.003	0.002	0.001

本实验在桃红四物汤中共鉴定出 102 种成分，其中芍药苷、羟基红花黄色素 A、山柰酚能抑制血小板聚集、抗炎、抗缺氧^[22]，苦杏仁苷、阿魏酸能抗凝血、镇痛、缓解血管痉挛^[23]，藁本内酯、梓醇可解痉、镇静^[24]，毛蕊花糖苷、5-羟甲基糠醛可抗炎、抗神经性疼痛、调节免疫^[25]，芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷能镇痛、抑制血小板聚集^[26]，洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丁基苯酞可抗炎、抗血栓、抑制凋亡^[27]，对香豆酸、没食子酸、咖啡酸、儿茶素可抗氧化、抗炎、增强免疫^[28]，综合考虑药理作用，最终选择上述 18 种成分作为活性组分进行含量测定，发现芍药苷、苦杏仁苷、洋川芎内酯 A 较高，山柰酚较低。另外，山柰酚为 2020 年版《中国药典》红花含量测定指标，故可通过改善桃红四物汤提取方式来提高该成分含量。

综上所述，本实验所建立的 HPLC-MS/MS 法

可快速准确地对桃红四物汤化学成分进行分析,并测定活性组分含量,为该方质量标准建立及其体内成分研究提供了参考依据。

参考文献:

[1] Wang X R, Lu J Z, Li G T, *et al.* Established UPLC-MS/MS procedure for multicomponent quantitative analysis of rat plasma: Pharmacokinetics of Taohong Siwu Decoction in normal and acute blood stasis models[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 305: 116094.

[2] 王继陈, 韩 岚, 张艳艳, 等. 桃红四物汤中6种指标性成分的含量测定[J]. 安徽中医药大学学报, 2019, 38(2): 80-85.

[3] 韩 岚, 梁 杰, 张艳艳, 等. 桃红四物汤对产后血瘀大鼠血清NO、子宫组织VEGF的表达及对PI3K/Akt信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(5): 1625-1629.

[4] Chen R, Song C, Qiu J J, *et al.* Exploring the potential mechanism of Taohong Siwu decoction in the treatment of avascular necrosis of the femoral head based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102(50): e35312.

[5] 唐林峰, 聊晓玉, 常 昊, 等. 桃红四物颗粒对原发性痛经模型大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴功能的影响[J]. 中南药学, 2023, 21(10): 2659-2666.

[6] 唐林峰, 常 昊, 王丹丹, 等. 靶细胞捕集联用网络药理学、分子对接及实验验证分析桃红四物汤活性成分及调控缺血性脑卒中潜在作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(17): 4761-4773.

[7] Zhang L J, Xue S J, Fei C Y, *et al.* Protective effect of Tao Hong Si Wu Decoction against inflammatory injury caused by intestinal flora disorders in an ischemic stroke mouse model[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2024, 24(1): 124.

[8] Wang N, Fei C Y, Chu F R, *et al.* Taohong Siwu Decoction regulates cell necrosis and neuroinflammation in the rat middle cerebral artery occlusion model[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 732358.

[9] 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.

[10] 李 涛, 赵小亮, 高文雅, 等. 至宝三鞭丸的定量“制剂质量标志物”研究[J]. 药学学报, 2023, 58(7): 1770-1779.

[11] 高文雅, 李 涛, 周严严, 等. 黄芩水煎液中化学成分的定性及定量研究[J]. 中草药, 2022, 53(23): 7339-7352.

[12] 钟大放. 液相色谱-质谱联用法在药物研究中的应用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2003, 5(4): 44-47; 78-79.

[13] Wang M M, Liu Z Q, Hu S S, *et al.* Taohong Siwu Decoction

ameliorates ischemic stroke injury *via* suppressing pyroptosis[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 590453.

[14] 刘露丝, 彭 成, 熊 亮. 当归苯酚类化合物的研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(5): 958-962.

[15] 张清清, 冯 媛, 李春花, 等. 基于UPLC-Q-TOF/MS技术快速鉴定当归中苯酚类和有机酸类成分[J]. 中国药房, 2022, 33(5): 579-585; 591.

[16] 胡 静. 基于UPLC-Q-TOF-MS结合诊断离子与分子网络策略解析当归补血汤的化学成分[D]. 太原: 山西大学, 2021.

[17] 刘东方, 赵丽娜, 李银峰, 等. 中药指纹图谱技术的研究进展及应用[J]. 中草药, 2016, 47(22): 4085-4094.

[18] 王 倩, 许 霞, 张 珂, 等. 利用UPLC-IT-TOF-MS定性分析芪胶升白胶囊化学成分组[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(18): 4938-4949.

[19] 成颜芬, 杜克群, 吴亿晗, 等. 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[J]. 中草药, 2021, 52(19): 5879-5890.

[20] 刘灿黄, 章泽恒, 汪 辉, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS法定性分析丹膝颗粒的化学成分[J]. 药品评价, 2022, 19(4): 201-209.

[21] 李浩然, 王少平, 孙志强, 等. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS法分析桃红四物汤物质基准中化学成分[J]. 中成药, 2022, 44(4): 1349-1354.

[22] 章 丽, 赵冰洁, 袁嘉瑞, 等. 牡丹皮、赤芍与白芍对急性血瘀模型大鼠活血功效的比较研究[J]. 中草药, 2016, 47(15): 2676-2683.

[23] 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.

[24] 李伟霞, 王晓艳, 唐进法, 等. 基于PLS-DA和多指标综合指数法研究当归-川芎药对对急性血瘀大鼠血清中血管活性物质和黏附分子的影响[J]. 药学学报, 2019, 54(11): 1909-1917.

[25] 张振凌, 吴若男, 于文娜, 等. 生地黄产地加工炮制一体化工艺研究[J]. 中草药, 2018, 49(20): 4767-4772.

[26] 于双慧, 毕开顺, 佟 玲. LC-MS/MS同时检测大鼠血浆中芍药苷和芍药内酯苷的浓度及其药代动力学研究[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(3): 539-542.

[27] Li Z Q, Zhang G S, Liu R Q, *et al.* Anti-glioma effects of ligustilide or *n*-butylphthalide on their own and the synergistic effects with temozolomide *via* PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Onco Targets Ther*, 2023, 16: 983-994.

[28] 俞 凡, 王一清, 戴国梁, 等. HPLC法测定糖痹通络颗粒中原儿茶酸、羟基红花黄色素A、对香豆酸、阿魏酸、 β -蜕皮激素和络石苷[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(12): 2980-2983.