

# 基于非靶向代谢组学分析手工与机器煎药对八珍汤中化学成分的影响

周俊怡<sup>1</sup>, 林雨<sup>2</sup>, 罗琼<sup>3</sup>, 黄尧洲<sup>4\*</sup>, 郎娜<sup>4</sup>, 王雄<sup>5</sup>, 赵永亮<sup>2</sup>

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 北京黄尧洲中医研究院有限公司, 北京 100142;  
3. 中国中医科学院 中国医史文献研究所, 北京 100700;  
4. 中国中医科学院 西苑医院, 北京 100091; 5. 北京市密云区中医医院, 北京 101599)

**[摘要]** **目的:**通过非靶向代谢组学方法研究手工与机器煎煮对八珍汤中化学成分的影响,寻找这2种不同煎药方式之间的差异性化学成分。**方法:**以规范化手工煎药与机器煎药2种方式对八珍汤进行煎煮,利用正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)等多元统计方法,结合变量重要性投影(VIP)值及 $t$ 检验分析2种煎药方式对该复方中化学成分的影响。通过UPLC-LTQ-Orbitrap MS对差异性化合物进行分析,流动相乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~3 min,5% A;3~7 min,5%~8% A;7~9 min,8%~15% A;9~17 min,15%~25% A;17~27 min,25%~35% A;27~29 min,35%~40% A;29~35 min,40%~95% A),柱温30℃,流速0.4 mL·min<sup>-1</sup>;采用电喷雾离子源和正、负离子模式,扫描范围 $m/z$  50~1 500。**结果:**在正、负离子监测模式下,共发现87个差异性成分,通过质谱数据结合文献报道,共识别并鉴定了其中的40个成分,包括洋川芎内酯A,甘草素,阿魏酸等。**结论:**手工与机器煎药获得的八珍汤煎煮液在色泽及化学成分上存在着较为明显的差异。若将二者的优点结合起来,在保持手工煎药优势的基础上,借鉴机器煎药包装药液的方式,建立规范的煎药流程,将使中药汤剂的药效得到最大程度上的发挥。

**[关键词]** 八珍汤; 手工煎药; 机器煎药; 非靶向代谢组学; 差异性成分; 洋川芎内酯A; 电喷雾离子源

**[中图分类号]** R22;R94;R28;C37;R969.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)17-0007-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190850

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190101.1122.013.html>

**[网络出版时间]** 2019-01-04 14:59

## Effect of Manual and Machine Decocting on Chemical Constituents in Bazhentang Based on Non-targeted Metabolomics

ZHOU Jun-yi<sup>1</sup>, LIN Yu<sup>2</sup>, LUO Qiong<sup>3</sup>, HUANG Yao-zhou<sup>4\*</sup>, LANG Na<sup>4</sup>,  
WANG Xiong<sup>5</sup>, ZHAO Yong-liang<sup>2</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
2. Beijing HUANG Yaozhou Research Institute of Chinese Medicine Co. Ltd., Beijing 100142, China;  
3. China Institute for History of Medicine and Medical Literature, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
4. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;  
5. Miyun District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing 101599, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the effect of manual decocting and machine decocting on the chemical constituents in Bazhentang based on non-targeted metabolomics, and to find the differential chemical constituents of

**[收稿日期]** 20181116(007)

**[基金项目]** 中国中医科学院重点研究专项(ZZ10-007)

**[第一作者]** 周俊怡,在读硕士,从事中药药效及代谢组学研究,Tel:010-84041249,E-mail:zzjyyy@163.com

**[通信作者]** \*黄尧洲,主任医师,从事中西医结合临床病毒性皮肤病研究,Tel:010-64089131,E-mail:greatzyl@126.com

these two decocting methods. **Method:** Bazhentang was boiled by standardized manual decocting and machine decocting methods, respectively. Orthogonal partial least square-discriminate analysis (OPLS-DA) and other multivariate statistical methods, combined with variable importance in the projection (VIP) value and *t*-test, were employed to analyze the effect of two decocting methods on the chemical constituents in Bazhentang. The differential chemical constituents were analyzed by UPLC-LTQ-Orbitrap MS under positive and negative ion modes, mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution for gradient elution, the scanning range was *m/z* 50-1 500. **Result:** Under the positive and negative ion modes of high-resolution mass spectrometry, a total of 87 differential components were found, 40 of them were identified according to the mass spectrometry data and literature reports, including senkyunolide A, glycyrrhizin, ferulic acid, etc. **Conclusion:** Based on the analysis of color and chemical compositions of Bazhentang, there are obvious differences between the standardized manual decocting and machine decocting. If the advantages of these two methods are combined, a standardized decoction process can be established on the basis of maintaining the advantages of manual decocting, the effectiveness of traditional Chinese medicine decoction will be maximized and it will be convenient for patients to take it.

[**Key words**] Bazhentang; manual decocting; machine decocting; non-targeted metabolomics; differential components; senkyunolide A; electrospray ionization

中药汤剂是中医临床应用较早且最为常见的剂型,具有可随症加减、吸收快、作用迅速等优点。早在《五十二病方》中就出现了煮石韦治疗石癰等类似汤剂的记载<sup>[1]</sup>。中药汤剂的煎煮方式会直接影响中药的疗效,李时珍在《本草纲目》论及煎药的重要性——“凡服汤药,虽品物专精,修制如法,而煎药者鲁莽造次,水火不良,火候失度,则药亦无功”<sup>[2]</sup>。1990 年代,韩国煎药机进入我国,但由于成本高、煎煮所得的中药汤剂质量不稳定等原因,没有在国内大规模推广使用<sup>[3]</sup>。之后随着厂家对中药煎煮机技术的革新和产品的升级,中药煎煮机已被多数医院所接受,传统手工煎药逐渐有被取代的趋势。但传统手工煎药在火候上可调节、易清洗、特殊药物煎煮(先煎、后下、单煎)等方面均显示出了不可替代的优势。机器煎药虽储存期长、易于携带,但在汤液色泽等外观上与传统手工煎药仍有较明显差异,产生此种差异的物质基础还尚未明确,以机器煎药替代传统的手工煎药的等效性也有待证实。

近年来,随着 LC-MS 等高分辨率、高灵敏度的快速在线检测技术迅猛发展,代谢组学方法成为中药复方复杂成分解析的有力工具<sup>[4-5]</sup>。非靶向代谢组学手段采用多元统计方法,可以对 2 种煎煮模式间的差异变量进行系统分析,同时采用高分辨液质联用技术对主要差异成分进行结构鉴定,使得针对煎煮模式的差异性分析研究成为可能<sup>[6-8]</sup>。八珍汤源自《瑞竹堂经验方》,由四君子汤(人参、茯苓、白术、炙甘草)与四物汤(熟地黄、当归、川芎、白芍)组合而成,是具备补气补血双重功效的经典方剂,主治

气血两虚证<sup>[9-11]</sup>。本实验选择八珍汤为研究对象,借助代谢组学技术探讨手工煎药与机器煎药对该复方中化学成分的影响,以期为经典名方的煎煮方式选择提供参考。

## 1 材料

SCA-2000 型煎药机(天津三延精密机械有限公司),SDF-9309 型普通不锈钢锅(潮安县东风镇顺达不锈钢制品厂),B8-B20XW 型家用液化气灶(广东万和新电气股份有限公司),LTQ Orbitrap Velos Pro 型轨道阱质谱仪和 UltiMate 3000 型超高效液相色谱系统(美国 Thermo 公司)。

党参(产地山西,批号 70291103,桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* 的干燥根),炒白术(产地浙江,批号 180102003,菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的干燥根茎经麸炒的炮制品),茯苓(产地安徽,批号 180405006,多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* 的干燥菌核),炙甘草(产地新疆,批号 180118007,豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根及根茎的炮制加工品),熟地黄(产地河南,批号 70311202,玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* 的干燥块根的炮制加工品),当归(产地甘肃,批号 170518010,伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的干燥根),炒白芍(产地安徽,批号 171116002,毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* 的干燥根经酒炒后的炮制品),川芎(产地四川,批号 171012001,伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎),其中党参、熟地黄 2 种饮片购于北京三和药业有限公司,其余饮片均购于北京仟草中药饮片有限公司,饮片基原

均由中国中医科学院中药资源中心郝近大研究员鉴定,符合 2015 年版《中国药典》(一部)相关项下要求。水为自制超纯水,甲酸为质谱纯,乙腈,甲醇均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

通过对北京市 10 余家医疗机构的广泛调研,选择在北京黄尧洲中医门诊部手工煎药室进行八珍汤的煎煮。根据 2015 年版《中国药典》对八珍颗粒处方的药味及比例,结合临床用药剂量,最终确定八珍汤处方为党参 10 g,白术 10 g,茯苓 10 g,炙甘草 5 g,熟地黄 10 g,当归 10 g,白芍 10 g,川芎 10 g。

### 2.1 手工煎液与机器煎液的制备

**2.1.1 手工煎液** 将 1 剂处方饮片共 75 g 置洁净的不锈钢锅内,加水浸泡。头煎加水量为 7 倍,没过饮片表面 2~3 cm,浸泡 30 min。武火加热至沸腾后改为文火保持微沸状态 30 min。趁热滤过,收集滤液。二煎加水量为 6 倍。武火加热至沸腾后改文火保持微沸状态 20 min,趁热滤过,控干水分,收集滤液,合并 2 次滤液,水浴浓缩至 400 mL。手工煎药 3 剂处方为 1 个样本,共制备 10 批样品,饮片用量共 2.25 kg。

**2.1.2 机器煎液** 将 3 剂处方饮片共 225 g 混合均匀后装入无纺布袋内,置煎药机内。加水量为 10 倍,没过无纺布袋,浸泡 30 min。煎药过程为武火加热 30 min 后文火加热 20 min,滤过,水浴浓缩至 400 mL。机器煎药共制备 10 批样品,饮片用量共 2.25 kg。

**2.2 供试品溶液的制备** 取手工煎液与机器煎液适量,经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,取续滤液 10  $\mu\text{L}$  进样分析。质控样本(QC)为每个样品等量混合制备而成。

**2.3 色谱条件** ACQUITY UPLC HSS T3  $\text{C}_{18}$  色谱柱(2.1 mm  $\times$  100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~3 min, 5% A; 3~7 min, 5%~8% A; 7~9 min, 8%~15% A; 9~17 min, 15%~25% A; 17~27 min, 25%~35% A; 27~29 min, 35%~40% A; 29~35 min, 40%~95% A),柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,流速 0.4 mL $\cdot$ min $^{-1}$ 。

**2.4 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI),一级模式进行全扫描方式。正、负离子模式下的离子源电压均为 3.5 kV,毛细管加热温度 350  $^{\circ}\text{C}$ ,鞘气压力 2.4  $\times 10^5$  Pa,辅助气压力 6.9  $\times 10^4$  Pa。鞘气和辅助气均为氮气。质谱质量轴校准采用外标法(质量误差 10 ppm),一级全扫描方式的质量扫描范围  $m/z$

50~1 500,分辨率 3 万。

**2.5 数据分析与处理** 原始质谱数据利用 Progenesis Q1 软件对采集的数据进行色谱峰提取与匹配识别、校正和归一化处理,导出保留时间( $t_R$ ),实际  $m/z$  以及峰面积等多个数据集。利用 SIMCA 14.1 软件对数据进行主成分分析(PCA)与正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),OPLS-DA 模型下的载荷图中距中心越远的点表明该差异物对模式识别的贡献越大<sup>[12]</sup>。根据变量重要性投影(VIP)值和 GraphPad Prism 7.01 的  $t$  检验分析对差异变量进行筛选。VIP 值  $> 1$ ,  $P < 0.05$  为常见的差异化学成分筛选指标,并结合手工煎煮与机器煎煮的差异倍数(fold change, FC)进一步衡量组别之间差异代谢物的变量权重。在样品分析前连续进样 5 次 QC 以保证系统的稳定性和分批次的重复性,随后每隔 6~8 个检测分析样本插入 1 个 QC,以保证检测分析过程的精确、稳定,提供可评估重复性的数据。

**2.6 煎液外观** 与机器煎液相比,手工煎液的颜色较深、汤剂较黏稠、药味较浓。

**2.7 多变量统计分析** 在正离子模式下导出 546 个峰,负离子模式下导出 713 个峰。采用监督性的 OPLS-DA 对其代谢物进行分析,在正、负离子模式下模型参数  $R^2Y$  (表示模型的解释能力)分别为 0.978 和 0.946,  $Q^2$  (表示模型的预测能力)分别为 0.800 和 0.889,  $R^2Y$  和  $Q^2$  的数值越大表明预测能力越强,能够体现原始变量的信息<sup>[13]</sup>。上述参数表明手工煎液与机器煎液存在着显著性差异。载荷图中绿色的点代表所检测样品中包含的所有化合物,红色的点代表 VIP 值  $> 1$  的差异性化合物,见图 1 (机器煎液组中有 1 批样品数据偏差较大而被舍弃)和图 2。正、负离子模式下的 OPLS-DA 模型经过 200 次排列响应后过拟合的风险较低,正离子模式下  $R^2 = 0.826$ ,  $Q^2 = -0.557$ ; 负离子模式下  $R^2 = 0.518$ ,  $Q^2 = -0.604$ ,均小于原始值。 $Q^2$  回归直线与  $Y$  轴距离均  $< 0$ ,进一步验证了模型的建立有效,见图 3。根据 VIP 值,  $P$  及 FC 等指标衡量两组之间差异化学成分变量权重,结果显示手工煎液组与机器煎液组明显分离,表明存在着一些差异化学成分对这 2 种煎药方式产生了较大影响。将筛选出的差异代谢物绘制热图进行聚类分析,以直观展示代谢物在不同组别中表达量数据的差异情况,见图 4 (图中右上角数值表示化合物丰度的常用对数)。

**2.8 差异化学成分的筛选鉴定** 挑选 VIP 值  $> 1$  和  $P < 0.05$  的差异物,通过比对一级质谱信息得到

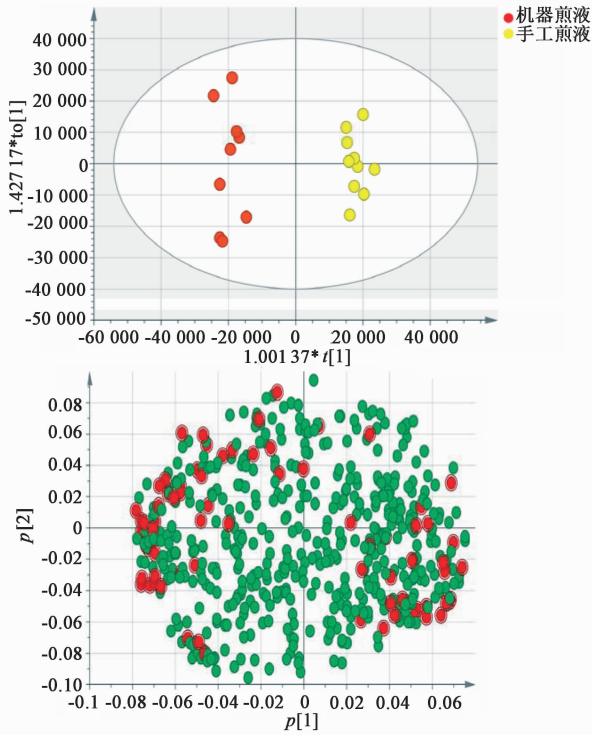


图 1 正离子模式八珍汤机器煎液与手工煎液的 OPLS-DA 二维得分及载荷

Fig.1 Two-dimensional score and loading diagrams of OPLS-DA for machine and manual decoction of Bazhentang under positive ion mode

的精确相对分子质量并结合结构碎片信息,通过查找文献报道与在线数据库比对,对筛选出来的差异化学成分进行鉴定。结果负离子模式下共鉴定出了 30 个化学成分,正离子模式下共鉴定出了 10 个化学成分,见表 1,2。

在正离子模式下,以 32 号化合物为例说明鉴定过程。该化合物的一级与二级质谱信息见图 5,结合 MS/MS 碎片离子峰进行结构解析。在二级质谱中,准分子离子峰  $[M + H]^+$  羟基断裂,在  $m/z$  175.1117 处生成丰度较高的脱水峰  $[M + H - H_2O]^+$ 。随后,所获得的脱水离子再次脱去 1 个羰基,在  $m/z$  147.1169 处生成  $[M + H - H_2O - CO]^+$  碎片峰。同时,准分子离子峰连续脱去 1 个羰基和 1 个双键,在  $m/z$  137.0597 处生成  $[M + H - CO - C_2H_4]^+$  碎片峰。该裂解途径与文献[14-15]报道的洋川芎内酯 A 相符。由此可知,32 号化合物为洋川芎内酯 A。同理,33 号化合物为绿原酸,在该化合物的二级质谱图中,显著可见丢失 1 个奎宁酸片段  $m/z$  192.0628 后得到咖啡酰基碎片峰  $m/z$  163.0390  $[caffeoyl + H]^+$ 。

在负离子模式下,5 号化合物被鉴定为三甲氧

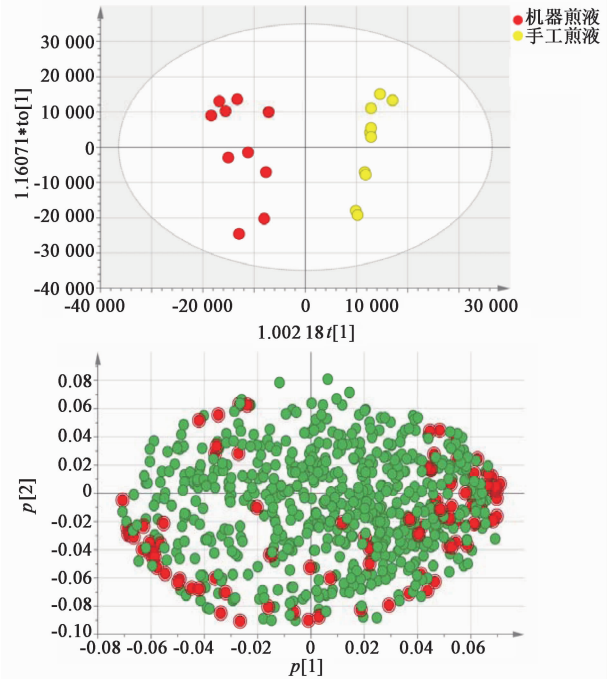
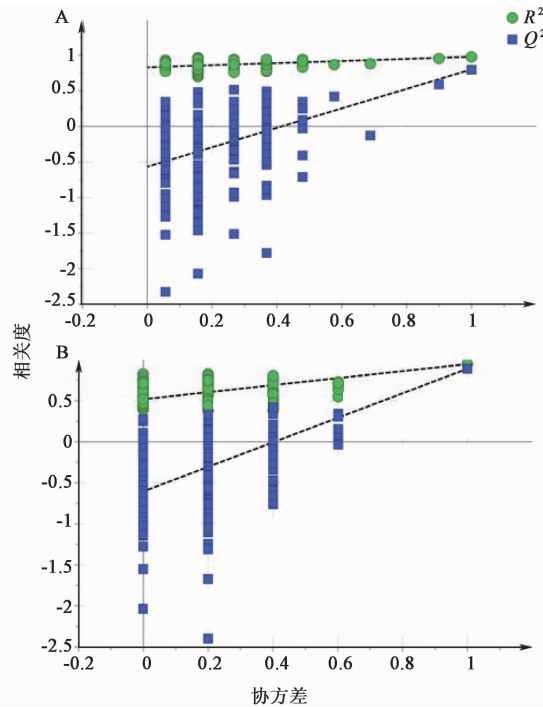


图 2 负离子模式八珍汤机器煎液与手工煎液的 OPLS-DA 二维得分及载荷

Fig.2 Two-dimensional score and loading diagrams of OPLS-DA for machine and manual decoction of Bazhentang under negative ion mode

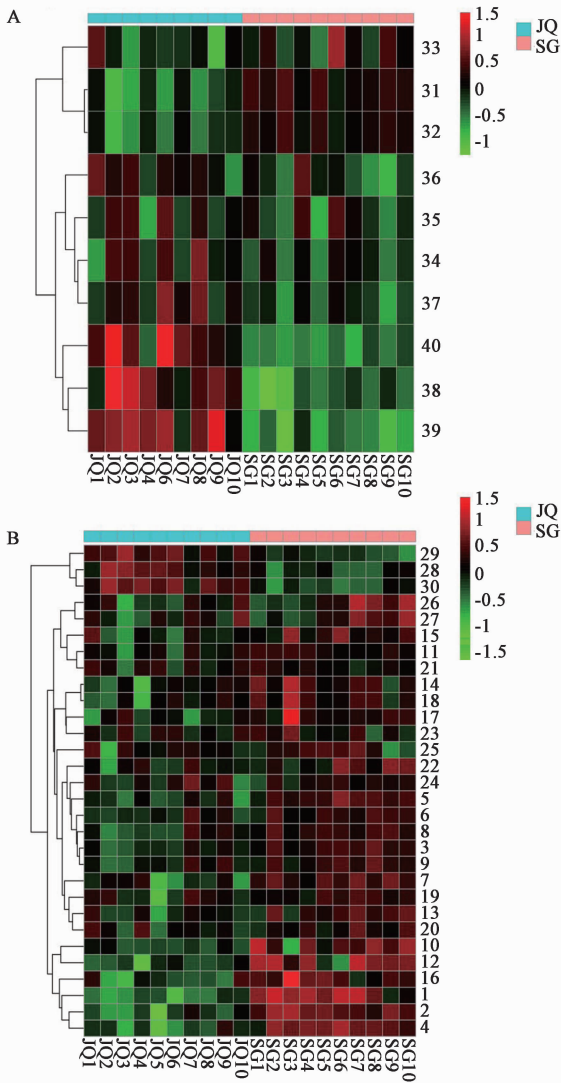


A. 正离子模式;B. 负离子模式(图 4 同)

图 3 OPLS-DA 模型的置换验证 ( $n=200$ )

Fig.3 Validation of OPLS-DA model by permutation test ( $n=200$ )

基肉桂酸。在该化合物的二级质谱中,丰度较大的  $[M - H - COO]^-$  碎片离子  $m/z$  193.0856 清晰可见。同时,13 号化合物在 12.18 min,给出准分子



JQ. 机器煎液; SG. 手工煎液(表 1, 2 同); 序号代表不同的差异性化合物; 颜色表示差异性化合物的丰度大小, 丰度越大对应的数值越大(红色为上调, 绿色为下调)

图 4 八珍汤手工煎液与机器煎液中差异性成分的热图分析  
Fig. 4 Heat map analysis of differential chemical components in of manual and machine decoction of Bazhentang

表 1 负离子模式下八珍汤手工煎液与机器煎液中差异性成分的鉴定

Table 1 Identification of differential components in manual and machine decoction of Bazhentang under negative ion mode

No.	$t_R$ /min	分子式	化合物	VIP 值	$P$	FC (SG/JQ)	实际 $m/z$	理论 $m/z$	$\delta$ /ppm
1	15.36	$C_{22}H_{22}O_9$	芒柄花苷 ononin	1.950	$4.49 \times 10^{-7}$	2.763	429.116 9	429.118 0	-2.560
2	7.45	$C_{29}H_{24}O_9$	茶黄素 theaflavin	1.323	$5.10 \times 10^{-8}$	2.020	515.137 0	515.139 5	4.876
3	8.81	$C_8H_8O_4$	6-甲氧基水杨酸 6-methoxysalicylic acid	4.766	$5.22 \times 10^{-7}$	1.302	167.034 3	167.033 9	2.783
4	18.13	$C_{11}H_{14}O_3$	水杨酸丁酯 butyl salicylate	1.520	$3.68 \times 10^{-7}$	1.985	193.086 3	193.085 9	2.119
5	15.08	$C_{12}H_{14}O_5$	三甲氧基肉桂酸 trimethoxycinnamic acid	4.039	$1.15 \times 10^{-6}$	1.420	237.076 0	237.075 7	1.012
6	3.08	$C_8H_6O_6$	二羟基对苯二甲酸 dihydroxyterephthalic acid	2.613	$4.55 \times 10^{-6}$	1.244	197.008 3	197.008 1	1.348
7	11.21	$C_{15}H_{18}O_8$	儿茶素 catechin	1.191	$2.36 \times 10^{-6}$	1.508	325.091 3	325.091 8	-1.581

离子峰  $m/z$  193.049 8  $[M - H]^-$ ; 二级质谱中, 在  $m/z$  175.039 8 处发现碎片离子峰  $[M - H - H_2O]^-$ , 确定该化合物为阿魏酸。

### 3 讨论

中药汤剂在临床应用中主要为手工煎煮与机器煎煮 2 种方式, 本实验采用代谢组学技术对比这 2 种方式对八珍汤中差异化学成分的影响。利用多元统计方法对其代谢物进行分析, 寻找潜在的差异成分, 探讨这 2 种煎药方式的优劣性, 尽可能在药物煎煮环节减少不必要的损失, 从而使中药汤剂的药效得到最大程度的发挥。

本研究通过对北京黄尧洲中医门诊部手工煎药和 SCA-2000 型煎药机制备得到的八珍汤煎液进行综合分析, 发现得到的 2 种煎液在性状上存在较大差异。与机器煎液相比, 手工煎煮制备得到的药液颜色较深, 汤剂较黏稠, 药味较浓。同时, 根据多种指标衡量两组之间差异化学成分的变量权重, 结果显示手工煎药组与机器煎药组明显分离, 在正、负离子模式下, 鉴定出的大部分化学成分在手工煎液中的含量要高于机器煎液, 表明手工煎药与机器煎药方式会对汤剂的药效成分产生一定影响。通过对这 2 种方式的工作原理及流程进行调查, 推测手工煎药与机器煎药存在较大的差异主要基于以下 2 个原因: ①手工煎药时, 无需装入无纺布袋, 煎煮过程能有效搅拌, 溶液与饮片充分接触, 有效成分更易溶出; 而机器煎药时饮片需装入无纺布袋包煎, 不能搅拌, 煎煮过程中药物接触溶液较少, 影响有效成分溶出。②机器煎药密闭煎煮 1 次, 手工煎药则需煎煮 2 次, 第 2 次更换新的溶媒, 有助于重新建立浓度差, 促进有效成分溶出, 煎煮次数是影响药物成分释出的重要因素。

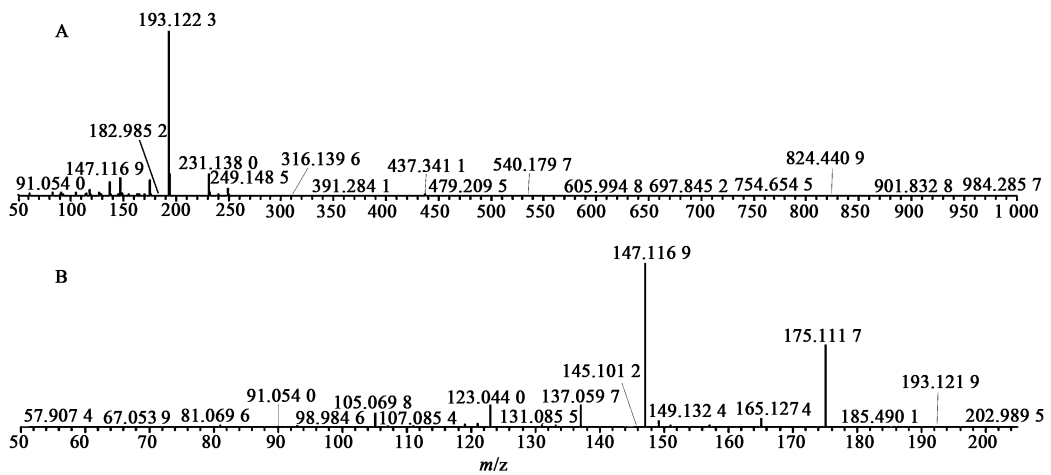
续表 1

No.	$t_R$ /min	分子式	化合物	VIP 值	$P$	FC (SG/JQ)	实际 $m/z$	理论 $m/z$	$\delta$ /ppm
8	15.36	$C_{12}H_{12}O_6$	1,2,4-苯三酚乙酸酯 1,2,4-triacetoxybenzene	4.059	$9.23 \times 10^{-6}$	1.306	251.055 1	251.055 0	0.141
9	8.86	$C_7H_8O_2$	水杨醇 salicyl alcohol	2.289	$5.09 \times 10^{-5}$	1.250	123.044 8	123.044 1	5.965
10	2.58	$C_6H_6O_3$	麦芽醇 maltol	1.473	$1.09 \times 10^{-4}$	1.635	125.024 0	125.023 3	5.275
11	2.12	$C_6H_6O_3$	麦芽醇同分异构体	1.477	$2.19 \times 10^{-5}$	1.217	125.024 0	125.023 3	5.275
12	12.06	$C_{18}H_{18}O_9$	1,2,4-苯三甲酸三(环氧乙烷基甲基)酯 1,2,4-benzenetricarboxylic acid, tris(2,3-epoxypropyl) ester	1.028	$5.76 \times 10^{-5}$	2.010	377.085 5	377.086 7	-3.258
13	12.18	$C_{10}H_{10}O_4$	阿魏酸 ferulic acid	2.401	$7.40 \times 10^{-5}$	1.324	193.049 9	193.049 5	2.097
14	14.76	$C_{23}H_{24}O_{11}$	ordoritin-glucoside	2.683	$3.14 \times 10^{-4}$	1.368	475.122 8	475.123 5	-1.385
15	2.43	$C_{13}H_{16}O_{10}$	没食子酰葡萄糖 glucogallin	1.042	$4.31 \times 10^{-4}$	1.314	331.065 3	331.066 0	-2.003
16	1.82	$C_{13}H_{16}O_{10}$	没食子酰葡萄糖同分异构体	1.671	$3.13 \times 10^{-4}$	1.724	331.065 3	331.066 0	-2.003
17	1.92	$C_7H_{10}O_7$	2-甲基(异)柠檬酸 3-hydroxy-butane-1,2,3-tricarboxylic acid	1.049	$7.97 \times 10^{-4}$	1.349	205.034 4	205.034 3	0.541
18	14.76	$C_{16}H_{12}O_4$	芒柄花素 fermononetin	2.334	$4.81 \times 10^{-4}$	1.338	267.065 2	267.065 2	0.017
19	4.64	$C_7H_6O_6$	丁-1,3-二烯-1,2,4-三羧酸 buta-1,3-diene-1,2,4-tricarboxylic acid	1.009	$2.71 \times 10^{-4}$	1.244	185.008 3	185.008 1	1.112
20	9.73	$C_9H_8O_4$	咖啡酸 caffeic acid	1.852	$7.23 \times 10^{-4}$	1.192	179.034 3	179.033 9	2.419
21	2.12	$C_7H_6O_5$	没食子酸 gallic acid	3.640	$7.34 \times 10^{-4}$	1.134	169.013 5	169.013 1	2.368
22	11.08	$C_{17}H_{20}O_9$	阿魏酰基奎宁酸 feruloylquinic acid	1.021	$1.75 \times 10^{-3}$	1.294	367.101 3	367.102 4	-2.829
23	1.65	$C_4H_6O_4$	琥珀酸 butanedioic acid	1.530	$2.26 \times 10^{-3}$	1.139	117.019 0	117.018 2	6.622
24	18.78	$C_{12}H_{12}O_4$	6,7-二甲氧基-4-甲基香豆素 6,7-dimethoxy-4-methylcoumarin	1.688	$6.17 \times 10^{-3}$	1.156	219.065 3	219.065 2	0.341
25	12.84	$C_{18}H_{18}O_6$	decursidate	1.022	$1.29 \times 10^{-2}$	1.188	329.101 5	329.102 0	-1.412
26	16.09	$C_{12}H_{12}O_5$	4-乙酰氧基-3-甲氧基肉桂酸 4-acetoxy- <i>O</i> -3-methoxycinnamic acid	1.211	$2.52 \times 10^{-2}$	1.302	235.060 2	235.060 1	0.341
27	6.29	$C_8H_6O_5$	4-羟基邻苯二甲酸 4-hydroxyphthalic acid	1.119	$3.88 \times 10^{-2}$	1.229	181.013 3	181.013 1	1.051
28	16.07	$C_{15}H_{12}O_4$	甘草素 glycyrrhizin	2.020	$3.91 \times 10^{-2}$	0.867	255.065 1	255.065 2	-0.178
29	12.01	$C_{26}H_{30}O_{13}$	芹糖异甘草苷 isoliquiritin apioside	4.127	$3.62 \times 10^{-3}$	0.861	549.159 6	549.160 3	-1.197
30	1.01	$C_{12}H_8O_4$	6-甲氧基当归素 sphondin	2.586	$1.17 \times 10^{-3}$	0.776	215.032 4	215.033 9	-6.860

表 2 正离子模式下八珍汤手工煎液与机器煎液中差异性成分的鉴定

Table 2 Identification of differential components in manual and machine decoction of Bazhentang under positive ion mode

No.	$t_R$ /min	分子式	化合物	VIP 值	$P$	FC (SG/JQ)	实际 $m/z$	理论 $m/z$	$\delta$ /ppm
31	27.12	$C_{12}H_{14}O$	2-丁基苯并呋喃 2-butyl benzofuran	2.296	$4.32 \times 10^{-5}$	1.531	175.111 8	175.111 7	0.276
32	27.12	$C_{12}H_{16}O_2$	洋川芎内酯 A senkyunolide A	7.437	$7.68 \times 10^{-5}$	1.439	193.122 4	193.122 3	0.382
33	8.62	$C_{16}H_{18}O_9$	绿原酸 chlorogenic acid	1.536	$3.92 \times 10^{-3}$	1.339	355.102 6	355.102 4	0.595
34	2.21	$C_6H_8O_4$	1,6:2,3-二酐- $\beta$ -D-吡喃甘露糖 1,6:2,3-dianhydro- $\beta$ -D-mannopyranose	1.957	$6.83 \times 10^{-3}$	1.153	145.049 5	145.049 5	0.102
35	3.86	$C_6H_8O_3$	2,2-二甲基琥珀酸酐 2,2-dimethylsuccinic anhydride	1.169	$7.12 \times 10^{-4}$	1.217	129.054 5	129.054 6	-0.935
36	8.86	$C_{13}H_{20}O_8$	赤藓醇四乙酸酯 pentaerythritol tetraacetate	1.041	$6.07 \times 10^{-4}$	1.145	305.124 3	305.123 1	4.149
37	4.41	$C_6H_6O_4$	五乙酰-5-巯基葡萄糖 pentaacetyl-5-thioglucose	1.070	$1.87 \times 10^{-2}$	1.102	143.033 7	143.033 9	-1.155
38	27.12	$C_{15}H_{18}O_2$	白术内酯 I atractylenolide I	2.114	$6.34 \times 10^{-3}$	0.702	231.138 0	231.137 9	0.059
39	31.77	$C_{12}H_{14}O_2$	藁本内酯 ligustilide	1.483	$3.05 \times 10^{-5}$	0.606	191.106 7	191.106 7	0.020
40	23.80	$C_{21}H_{20}O_6$	甘草香豆素 glycy coumarin	1.245	$5.25 \times 10^{-3}$	0.750	369.133 4	369.133 2	0.258



A. MS; B. MS<sup>2</sup>

图 5 正离子模式下洋川芎内酯 A 的 MS 和 MS<sup>2</sup>

Fig. 5 MS and MS<sup>2</sup> chromatograms of senkyunolide A under positive ion mode

本文通过对手工煎药与机器煎药 2 种方式获得的八珍汤煎液进行比对分析,发现二者在化学模式上存在明显差异,这种差异是关系到中药复方药效的重要潜在影响要素。该研究方法为中药复方差异性研究提供了参考,后续将基于煎煮手段不同,进一步开展更多的比对研究,同时将化学成分结果与药效评价和临床数据进行关联分析,以期获得更多有价值的实验数据。通过本文研究,建议在保持手工煎药优势的基础上借鉴机器煎药包装药液的方式,将二者的优点结合起来,建立规范的煎药流程,最大程度的保障中药药效,方便患者服用。

[参考文献]

[1] 马继兴. 马王堆古医书中有关药物制剂的文献考察[J]. 中国药学杂志, 1979, 14(9): 423-425.  
[2] 李时珍. 本草纲目(上)[M]. 刘衡如, 刘山永, 校注. 北京: 华夏出版社, 2009: 297.  
[3] 李明森, 曹文龙, 王浩宇, 等. 中药煎煮机的现状与发展趋势[J]. 中国医疗器械信息, 2017, 23(17): 29-31.  
[4] Fiehn O. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes[J]. Plant Mol Biol, 2002, 48(1/2): 155-171.  
[5] 林俊芝, 张定堃, 裴瑾, 等. 基于植物代谢组学方法区分安县附子与江油附子质量的化学标志物[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(13): 35-40.  
[6] 郭慧, 崔扬, 王秋红, 等. 基于代谢组学技术的中药复方研究近况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1):

213-219.  
[7] 闫利利, 史家文, 王金芳, 等. 基于 UPLC/Q-TOF-MS<sup>E</sup> 方法分析半夏泻心汤的化学成分[J]. 药学学报, 2013, 48(4): 526-531.  
[8] 王镇方, 赵阳, 庞旭, 等. 利用 UPLC-Q-TOF-MSE 快速分析四物汤中的化学成分[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(21): 3702-3708.  
[9] 彭怀仁, 项平. 中医方剂大辞典精选本. 上册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 55.  
[10] 王新. 八珍汤临床应用体会[J]. 实用中医药杂志, 2006, 22(11): 708-709.  
[11] 周春玉, 曾庆红. 八珍汤治疗气血虚弱型痛经的临床研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2017, 15(19): 60-62.  
[12] 漆小泉, 王玉兰, 陈晓亚. 植物代谢组学: 方法与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 13-18.  
[13] 冒海蕾, 徐旻, 王斌, 等. 正交信号校正正常成人血清<sup>1</sup>H-NMR 谱的代谢组分析中的滤噪作用评价[J]. 化学学报, 2007, 65(2): 152-158.  
[14] LIN L Z, HE X G, LIAN L Z, et al. Liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric study of the phthalides of *Angelica sinensis* and chemical changes of Z-ligustilide[J]. J Chromatogr A, 1998, 810(1/2): 71-79.  
[15] 倪书茂, 钱大玮, 尚尔鑫, 等. 大川芎方化学成分的超高效液相色谱-电喷雾-四极杆飞行时间质谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(1): 39-45.

[责任编辑 刘德文]