

# 合煎与单煎对四物汤中4种化学成分溶出量的影响\*

郭江玉, 孙磊, 闫彦, 余河水, 李薇, 张丽娟, 宋新波  
(天津中医药大学, 天津 300193)

**摘要:** [目的] 建立同时测定四物汤水提液中芍药苷、阿魏酸、藁本内酯和洋川芎内酯 I 4 种化学成分含量测定的方法, 并考察合煎与单煎对这 4 种成分溶出量的影响。 [方法] 采用反相高效液相色谱法, 色谱柱为 Cosmosil C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.3% 甲酸水溶液梯度洗脱, 检测波长为 280 nm, 流速为 1 mL/min, 柱温为 30 ℃, 分析在合煎、单煎条件下四物汤中 4 种化学成分溶出量的变化。 [结果] 芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯 I 在 19.38~310.00 μg/mL ( $r=0.999\ 4$ ), 1.51~24.16 μg/mL ( $r=0.999\ 4$ ), 1.50~24.00 μg/mL ( $r=0.999\ 6$ ), 2.00~32.00 μg/mL ( $r=0.999\ 4$ ) 线性范围内关系良好; 平均加样回收率分别为 95.89% (RSD=2.90%), 97.08% (RSD=2.28%), 96.84% (RSD=2.87%), 98.77% (RSD=1.98%)。四物汤合煎液中洋川芎内酯 I 的溶出量低于当归、川芎药材溶出总量, 而阿魏酸和藁本内酯的溶出量均高于当归、川芎药材溶出总量, 芍药苷溶出量高于芍药药材溶出量。 [结论] 合煎与单煎中化学成分的溶出量并不是组方药味的简单叠加, 而有其内在的配伍规律。

**关键词:** 四物汤; 合煎; 单煎; 芍药苷; 阿魏酸; 藁本内酯; 洋川芎内酯 I

**中图分类号:** R284.2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9043(2017)05-0374-04

四物汤为经典名方, 由熟地黄、当归、白芍和川芎组成, 具补血、调血之效, 主治营血虚滞证<sup>[1]</sup>。中药合煎与单煎是否存在差异以及这种差异对中药临床疗效的影响一直是研究争论的焦点<sup>[2-6]</sup>。关于四物汤合煎与单煎的化学成分变化研究已有一些报道<sup>[7-11]</sup>, 然而同时考察其活性成分芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯 I 在合煎与单煎液中的溶出变化未曾报道。本实验选用四物汤及单味药中主要功效成分芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯 I 进行高效液相色谱-二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 法含量测定, 比较这 4 种成分在单合煎条件下溶出量的变化特点, 为四物汤的配伍研究、临床应用和开发利用提供数据支撑和参考依据。

## 1 仪器与试药

**1.1 仪器** 2695 型高效液相色谱仪 (美国沃世特公司), AL204 型电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限

公司), GL-21M 湘仪高速冷冻离心机 (湖南长沙湘仪离心机仪器有限公司), SB-5200D 型数控超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司), ZDHW 型调温电热套 (北京中兴伟业仪器有限公司)。

**1.2 试药** 中药饮片熟地黄、当归、白芍、川芎均由天津同仁堂有限公司提供, 批号分别为熟地黄: 1407003, 1407007, 1407009; 当归: 1404001, 1404007, 1404010, 白芍: 1405001, 1405002, 1405009, 川芎: 1405007, 1405008, 1405010。经天津中医药大学中药鉴定教研室李天祥教授鉴定, 熟地黄为玄参科植物地黄 (*Rehmannia glutinosa* Libosch.) 的新鲜或干燥块根的炮制加工品; 当归为伞形科植物当归 [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels] 的干燥根; 白芍为毛茛科植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 的干燥根; 川芎为伞形科植物川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort.) 的干燥根茎。对照品芍药苷、阿魏酸 (中国食品药品检定研究院, 批号分别为: 110736-201539, 110773-201313), 对照品藁本内酯 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 7B14185), 对照品洋川芎内酯 I (成都曼斯特生物科技有限公司, 批号 16053115)。试剂甲醇、甲酸均为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为超纯水。

\* 基金项目: 国家科学技术重大专项基金项目 (2013ZX09508 1050010); 天津市科学技术计划项目 (14TXZYJC00440)。

作者简介: 郭江玉 (1990-), 女, 硕士研究生, 从事中药质量分析研究。

通讯作者: 宋新波, E-mail: songxinbo@tjutc.edu.cn; 余河水, Email: hsyu@tjutc.edu.cn。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱为Cosmosil C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇(A)-0.3%甲酸溶液(B), 梯度洗脱顺序为0~5 min, 8%~15%A; 5~25 min, 15%~30%A; 25~45 min, 30%~50%A; 45~60 min, 50%~100%A; 流速1 mL/min; 检测波长280 nm, 柱温30 ℃, 进样体积20 μL。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照品适量, 置于5 mL棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 制得每1 mL含芍药苷3.10 mg的对照品溶液。分别取阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯I对照品适量, 精密称定, 置于25 mL棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 分别制得每1 mL含阿魏酸241.60 μg、藁本内酯240.00 μg、洋川芎内酯I 320.00 μg的对照品溶液。

**2.3 混合对照品溶液的制备** 精密量取2.2项下制备的芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯I对照品溶液各1 mL, 置于10 mL棕色容量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得。

### 2.4 样品溶液的制备

**2.4.1 合煎液的制备** 通过对四物汤提取工艺进行正交考察, 优选出四物汤合煎液制备方法, 按四物汤处方(熟地黄、当归、白芍、川芎=1:1:1:1)称取单味中药饮片各9 g, 置于圆底烧瓶中, 加入10倍量纯水, 回流提取2次, 每次2.5 h, 滤过, 合并2次滤液, 冷却后定容至800 mL, 备用。

**2.4.2 单煎液的制备** 称取单味药材熟地黄、当归、白芍、川芎各9 g, 按照2.4.1项下方法分别制备各单味药材的单煎液, 备用。

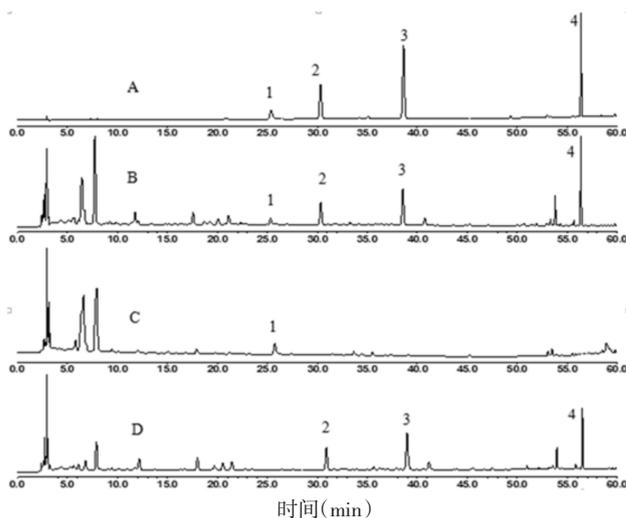
**2.4.3 阴性样品的制备** 按2.4.1项下回流提取方法分别制备缺当归、川芎, 缺白芍的阴性样品溶液, 备用。

**2.5 供试品溶液的制备** 精密量取上述方法制备的四物汤合煎液, 单味药材单煎液及阴性样品溶液各4 mL, 精密加入6 mL甲醇, 超声处理30 min, 取出, 放冷, 离心, 取上清液置于10 mL容量瓶中, 加60%甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得<sup>[12]</sup>。

### 2.6 方法学验证

**2.6.1 专属性实验** 将2.5项下方法制备的各阴性样品, 按照2.1项下的色谱条件, 分别进样。结果显示, 相应阴性对照在芍药苷、阿魏酸、藁本内酯和洋川芎内酯I色谱峰处无吸收峰, 显示在该条件下, 水提液中其他成分对测定的4种化学成分均无干扰,

表明该方法的专属性良好。见图1。



1:芍药苷;2:阿魏酸;3:洋川芎内酯I;4:藁本内酯

图1 四物汤合煎液、混合对照品及阴性样品溶液的HPLC色谱图

**2.6.2 线性考察** 精密吸取2.3项下制备的混合对照液, 将其按比例稀释, 得混合对照品系列浓度溶液, 其中含芍药苷系列浓度分别为19.38、38.75、77.50、155.00、310.00 μg/mL; 阿魏酸的系列浓度分别为1.51、3.02、6.04、12.08、24.16 μg/mL; 藁本内酯的系列浓度分别为1.50、3.00、6.00、12.00、24.00 μg/mL; 洋川芎内酯I的系列浓度分别为2.00、4.00、8.00、16.00、32.00 μg/mL。按照2.1项下色谱条件, 分别进样, 进样体积为20 μL, 以混合对照品溶液的浓度为横坐标(X, μg/mL), 峰面积(Y)为纵坐标, 求得回归方程依次为 $\hat{Y}=25\ 874X-223\ 420$ ( $r=0.999\ 4$ ),  $\hat{Y}=62\ 517X-24\ 495$ ( $r=0.999\ 4$ ),  $\hat{Y}=68\ 189X-11\ 573$ ( $r=0.999\ 6$ ),  $\hat{Y}=87\ 886X-26\ 232$ ( $r=0.999\ 4$ ), 结果表明芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯I分别在19.38~310.00、1.51~24.16、1.50~24.00、2.00~32.00 μg/mL范围内线性关系良好。

**2.6.3 精密度考察** 精密吸取同一混合对照品溶液, 按照2.1项下色谱条件, 重复进样6次, 测定峰面积, 计算RSD, 结果芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯I峰面积的RSD分别为0.76%、1.19%、1.10%、1.16%, 结果表明该仪器精密度良好。

**2.6.4 稳定性考察** 取按2.5项下方法制备的同一供试品溶液(四物汤合煎液), 按照2.1项下色谱条件, 分别于0、2、4、8、12、24 h进样, 测定峰面积, 计算RSD, 结果芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内

酯I峰面积的RSD分别为0.88%、0.80%、1.17%、1.31%，表明该供试品溶液在24 h内稳定。

**2.6.5 重复性考察** 取按2.5项下方法平行制备6份供试品溶液(四物汤合煎液)，按照2.1项下色谱条件，测定峰面积，计算RSD，结果芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯I峰面积的RSD分别为1.82%、0.76%、1.24%、0.97%，表明该方法的重复性良好。

**2.6.6 加样回收率考察** 取按2.5项下方法制备的已知成分含量的供试品溶液(四物汤合煎液)，分别加入对照品适量(与样品中各待测成分的量相当)，平行6份，按照2.1项下色谱条件进样分析，测定峰面积，计算加样回收率及RSD，结果芍药苷、阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯I的平均加样回收率分别为95.89%、97.08%、96.84%、98.77%；RSD分别为2.90%、2.28%、2.87%、1.98%。

**2.7 样品测定及结果** 见图2。取3个不同批次分别按2.5项下方法制备四物汤合煎液、单味药材单煎液，按照2.1项下色谱条件，分别进样20 μL，根据线性回归方程计算四物汤合煎液、单味药材单煎液(熟地黄9 g，当归9 g，白芍9 g，川芎9 g)中4种成分的溶出量。结果显示，四物汤合煎液中洋川芎内酯I的溶出量低于当归、川芎药材溶出总量，而阿魏酸和藁本内酯的溶出量均高于当归、川芎药材溶

出总量，芍药苷溶出量高于芍药药材溶出量。说明四物汤单味药在共同煎煮过程中存在化学成分的相互作用，增加了阿魏酸、藁本内酯和芍药苷的溶出或转化，而抑制了洋川芎内酯I溶出或洋川芎内酯I发生转化。见表1。

表1 四物汤4种成分的溶出量对比结果(n=3) mg

编号	样品	芍药苷	阿魏酸	藁本内酯	洋川芎内酯I
1	合煎液	155.4	14.890	18.800	14.220
	当归单煎液	-	5.334	4.190	5.550
	川芎单煎液	-	8.387	4.563	12.950
	白芍单煎液	142.4	-	-	-
2	合煎液	168.7	15.080	19.230	13.720
	当归单煎液	-	5.255	4.536	4.300
	川芎单煎液	-	8.891	4.791	12.520
	白芍单煎液	156.2	-	-	-
3	合煎液	170.3	14.440	17.350	14.860
	当归单煎液	-	5.549	4.967	4.980
	川芎单煎液	-	8.012	5.220	11.560
	白芍单煎液	161.4	-	-	-

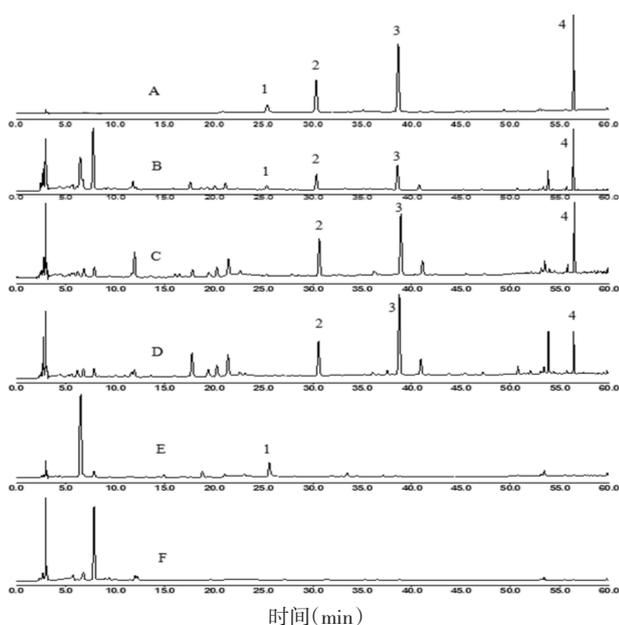
### 3 讨论

《中国药典(2015年版)》中关于四物合剂的质量标准以芍药苷为含量评价指标，四物颗粒以芍药苷、阿魏酸为含量控制指标<sup>[13]</sup>。同时研究发现芍药苷、阿魏酸为四物汤生血的主要功效成分<sup>[14]</sup>。

本实验发现四物汤在共同煎煮过程中存在某些化学成分的相互作用，从而导致阿魏酸、藁本内酯和芍药苷的溶出或转化的增加，而洋川芎内酯I溶出得到抑制或洋川芎内酯I发生转化。进而说明合煎与单煎中化学成分的溶出量并不是组方药味的简单叠加，而有其内在的配伍规律，本研究结果从化学成分溶出量的角度为四物汤的配伍科学性提供了一定的参考及依据。

本实验发现单合煎中藁本内酯的溶出量变化较为显著，在合煎液中藁本内酯的溶出量趋近于当归、川芎单煎总溶出量的2倍，说明四物汤在合煎过程中有存在其溶出显著增加的影响因素，初步推测可能为当归-川芎药对之间相互作用的结果，也可能是与熟地黄、白芍配伍后对藁本内酯的溶出有促进作用。藁本内酯在四物汤单合煎溶出量变化的具体原因及其变化对药理活性的影响有待进一步研究。

四物汤中洋川芎内酯I为苯酞类成分，化学结构不稳定，易发生氧化、水解、光解和异构化等反



A: 混合对照品; B: 四物汤合煎液; C: 当归单煎液; D: 川芎单煎液;  
E: 白芍单煎液; F: 熟地黄单煎液;  
1: 芍药苷; 2: 阿魏酸; 3: 洋川芎内酯I; 4: 藁本内酯

图2 四物汤合煎液及各单味药材单煎液的HPLC色谱图

应<sup>[15-17]</sup>。四物汤在回流提取过程中,受热能促进其转化,本实验发现四物汤在合煎液中洋川芎内酯 I 的溶出量低于当归、川芎单煎液溶出总量,说明合煎过程中洋川芎内酯 I 溶出得到抑制或洋川芎内酯 I 发生转化。初步推测可能为配伍熟地黄、白芍后在高温提取过程中抑制了洋川芎内酯 I 的溶出或促进了其转化。洋川芎内酯 I 溶出量变化的具体原因仍需进一步研究。

参考文献:

[1] 邓中甲. 方剂学[M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2011: 156-157.  
[2] 张伯礼, 陈传宏. 中药现代化 20 年[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2016: 310-311.  
[3] 陈士林, 刘安, 李琦, 等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1367-1375.  
[4] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.  
[5] 张红梅, 宋景政, 谭红胜, 等. 从汤剂到颗粒剂: 中药配方颗粒 20 年回顾与展望[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2012, 14(4): 1740-1753.  
[6] 年莉, 李慧平, 王亚萍, 等. 对方剂配伍规律研究的几点认识[J]. 天津中医药大学学报, 2013, 32(3): 129-131.  
[7] 高家荣, 周丽, 韩燕全, 等. HPLC 法测定酸枣仁与五味子配伍前后酸枣仁皂苷 A 和五味子醇甲[J]. 中国实验方

剂学杂志, 2010, 16(7): 38-41.  
[8] 徐王彦君, 练杭芸, 梁乾德, 等. 计算机辅助 UPLC-TOF-MS 技术快速分析共煎煮对四物汤化学成分的影响[J]. 科学技术与工程, 2014, 14(32): 150-154.  
[9] 朱敏, 段金殿, 刘培, 等. 四物汤组方配伍主要成分的 HPLC/DAD 定量分析[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(8): 2385-2389.  
[10] 付绍平, 张峰, 曾桂凤, 等. 毛细管区带电泳法测定四物汤及其配伍组方中丹皮酚、苯甲酸和没食子酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(2): 197-200.  
[11] 盛或欣, 果德安. 四物汤共煎液与单煎混合液主要成分的含量比较[J]. 药物分析杂志, 2004, 25(1): 1-4.  
[12] 黄月纯, 刘翠玲, 张琼丹, 等. 四物汤中四种成分的含量测定研究[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(4): 64-67.  
[13] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 786-788.  
[14] 梁乾德, 路晓钦, 马增春, 等. 四物汤促进造血功能成分的初步研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(6): 546-549.  
[15] 左爱华, 王莉, 肖红斌. 藁本内酯药理学和药代动力学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(22): 3350-3353.  
[16] 黄开福. 四物汤有效成分代表性组方药代动力学相互作用研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2014.  
[17] 左爱华, 王莉, 肖红斌. 洋川芎内酯 A 和洋川芎内酯 I 的降解产物研究[J]. 中草药, 2012, 43(11): 2127-2131.

(收稿日期: 2017-05-10)

Effect of four chemical components dissolution in Siwu decoction by decocting together and single

GUO Jiang-yu, SUN Lei, YAN Yan, YU He-shui, LI Wei, ZHANG Li-juan, SONG Xin-bo

(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

**Abstract:** [Objective] To establish a method for content determination of peoniflorin, ferulic acid, ligustilide and senkyunolide I in Siwu decoction and study the dissolution variation between mixed-decoction and single-decoction. [Methods] RP-HPLC with Cosmosil C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used, methanol-0.3% formic acid solution gradient elution was applied. The flow rate was 1.0 mL/min. The detection wavelength was 280 nm and the column temperature was 30 °C. The dissolution variation was analyzed between mixed-decoction and single-decoction. [Results] The linear range of four components were 19.38~310.00 μg/mL ( $r=0.999\ 4$ ), 1.51~24.16 μg/mL ( $r=0.999\ 4$ ), 1.50~24.00 μg/mL ( $r=0.999\ 6$ ) and 2.00~32.00 μg/mL ( $r=0.999\ 4$ ) with average recovery 95.89%(RSD=2.90%), 97.08%(RSD=2.28%), 96.84%(RSD=2.87%) and 98.77%(RSD=1.98%) respectively. The dissolution of senkyunolide I was lower mixed-decoction than single-decoction of Angelica and Chuanxiong. The dissolution of ferulic acid and ligustilide were higher mixed-decoction than single-decoction of Angelica and Chuanxiong. The dissolution of peoniflorin was higher mixed-decoction than single-decoction of *Radix paeoniae Alba*. [Conclusion] The dissolution of chemical compositions were not a simple superposition of their dissolution in single medicine, but have their own inherent compatibility regularity. This research from the perspective of the chemical composition dissolution provides a reference for the study of Siwu decoction.

**Key words:** Siwu decoction; mixed-decoction; single-decoction; peoniflorin; ferulic acid; ligustilide; senkyunolide I