芍药甘草汤缓急止痛有效部位筛选及其入血成分分析Δ

解雨欣[1,2*]，杨正清[1,2]，肖莲莲[1,2]，朱喻波[1,2]，赵　勉[1,2]，胡　杨[1,2]，刘陶世[1,2#]，程建明[1,2]（1.南京中医药大学药学院，南京　210023；2.江苏省经典名方工程研究中心，南京　210023）

中图分类号　R965；R285　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）15-1825-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.15.05

摘　要　目的　研究芍药甘草汤缓急止痛的药效物质基础。**方法**　通过大鼠离体肠张力实验考察芍药甘草汤全方、芍药甘草汤乙酸乙酯萃取物及其大孔树脂流出部位和大孔树脂90%乙醇洗脱部位（给药质量浓度按生药量计均为13.44 g/mL）的解痉效果。通过小鼠醋酸扭体实验评价大孔树脂流出部位和大孔树脂90%乙醇洗脱部位（给药剂量以生药量计均为2.4 g/kg）的止痛效果，并检测小鼠血清中肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素1β（IL-1β）、前列腺素E_2（PGE_2）、环氧合酶2（COX-2）水平。采用高效液相色谱-飞行时间质谱技术对灌胃大孔树脂90%乙醇洗脱部位后的小鼠血清进行原型成分及代谢产物鉴定。**结果**　大鼠体外实验中，以大孔树脂90%乙醇洗脱部位的解痉效果最好，其小肠张力抑制率显著高于大孔树脂流出部位（$P<0.05$），且与芍药甘草汤全方比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。小鼠醋酸扭体实验中，与模型组比较，大孔树脂90%乙醇洗脱部位组小鼠的扭体次数显著减少（$P<0.05$），扭体潜伏期显著延长（$P<0.05$），且小鼠血清中COX-2、IL-1β、PGE_2、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$）。从血清中共鉴定出包括芍药苷、甘草酸等在内的10种原型成分和包括羟基化甘草苷、葡萄糖醛酸化甘草素等在内的22种代谢产物。**结论**　芍药甘草汤缓急止痛的有效部位为乙酸乙酯萃取物的大孔树脂90%乙醇洗脱部位，甘草酸、芍药苷等10种成分可能是其药效物质基础。

关键词　芍药甘草汤；缓急止痛；血清药物化学；药效物质基础

Screening of effective parts for acute and chronic pain relief of Shaoyao gancao decoction and analysis of its blood components

XIE Yuxin[1,2], YANG Zhengqing[1,2], XIAO Lianlian[1,2], ZHU Yubo[1,2], ZHAO Mian[1,2], HU Yang[1,2], LIU Taoshi[1,2], CHENG Jianming[1,2]（1. School of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Engineering Research Center of Classic Famous Formulas, Nanjing 210023, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the pharmacological substance basis of Shaoyao gancao decoction for relieving acute and chronic pain. **METHODS** The antispasmodic effect of Shaoyao gancao decoction, ethyl acetate extract of Shaoyao gancao decoction and its effluent part of macroporous resin and 90% ethanol elution part of macroporous resin (the concentration of 4 drugs was 13.44 g/mL according to crude drug) was observed by *in vitro* small intestine tension test in rats. The acetic acid writhing test was conducted in mice to evaluate the analgesic effects of macroporous resin efflux site and macroporous resin 90% ethanol elution site (the dosage of 2.4 g/kg according to crude drug). The levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), prostaglandin E_2 (PGE_2) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in serum of mice were detected. The serum prototype and metabolites of mice after intragastric administration of macroporous resin 90% ethanol elution site were identified by high performance liquid chromatogre-time-of-flight mass spectrometry. **RESULTS** *In vitro* experiment showed that 90% ethanol eluting part of macroporous resin represented the best antispasmodic effect, and the inhibitory rate of small intestine tension was significantly higher than macroporous resin efflux site of Shaoyao gancao decoction ($P<0.05$) without statistical significance, compared with Shaoyao gancao decoction ($P>0.05$). In the acetic acid writhing experiment, compared with model group, the writhing times of mice in the macroporous resin 90% ethanol elution part group were reduced significantly ($P<0.05$), the writhing latency was prolonged significantly ($P<0.05$), and the levels of COX-2, IL-1β, PGE_2 and TNF-α in serum were decreased significantly ($P<0.05$). Ten kinds of protoproducts including paeoniflorin and glycyrrhizic acid were identified from serum of mice, and twenty-two kinds of metabolites including hydroxylated glycyrrhizin and glucosylated liquiritin were identified. **CONCLUSIONS** The effective part of Shaoyao gancao decoction for relieving acute and chronic pain is 90% ethanol elution part prepared by macroporous resin from the ethyl acetate extract. Ten components, including glycyrrhetinic acid and paeoniflorin, may be the basis of its pharmacological substances.

KEYWORDS　Shaoyao gancao decoction; acute and chronic pain relief; serum medicinal chemistry; pharmacological substances

Δ **基金项目**　国家自然科学基金青年科学基金项目（No. 81803391）；江苏省高等学校基础科学（自然科学）研究重大项目（No. 23KJA350003）；南中医校企合作项目（No.20230069）

＊ **第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药药剂。E-mail：20210711@njucm.edu.cn

通信作者　副教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药药剂。E-mail：tsliur4111@sina.com

芍药甘草汤出自《伤寒论》，为古代经典名方之一。方中，白芍酸寒，可养血敛阴、柔肝止痛；甘草甘温，可健脾益气、缓急止痛；两者配伍，具有柔筋止痛的功效，为张仲景治疗脚挛急的良方[1]。文献研究表明，芍药甘草汤具有抗炎止痛、保护神经、止咳平喘以及解痉等作用，其化学成分主要为黄酮类、皂苷类以及萜苷类等[2]。芍药甘草汤的临床疗效突出，且安全性较好[3]。然而，目前关于该方发挥缓急止痛作用的药效物质基础及作用机制尚不完全清楚，亟待深入研究。前期研究发现，芍药甘草汤化学成分多集中在乙酸乙酯萃取物中[4]，且其解痉效果较好。但该萃取物中化学成分较为复杂，真正发挥缓急止痛的有效部位或有效成分尚不明确。因此，本研究拟采用大孔树脂吸附法，结合大鼠离体肠痉挛模型、小鼠醋酸扭体模型等确认芍药甘草汤缓急止痛的有效部位，并对小鼠灌胃给药后的血清进行化学分析，初步阐明芍药甘草汤发挥缓急止痛的有效成分，以期为后续该方的深入研究提供一定的理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器包括：HV1403型离体组织器官恒温灌流系统、BL-420N型生物信号采集与分析系统、HV1403型氧气泵（成都泰盟软件有限公司），YP20001型电子天平（上海虞钧科学有限公司），Infinite F50型酶标仪（德国PerkinElmer公司），R-210型旋转蒸发仪（上海安亭科学仪器厂），Micro17型冷冻离心机[赛默飞世尔科技（中国）有限公司]，TS100型恒温混匀仪（杭州瑞成仪器有限公司），AB SCIEX Triple TOFM5600型质谱仪（美国AB Sciex公司）。

1.2 主要药品与试剂

芍药甘草汤全方（批号20230702，质量浓度以生药量计为0.4 g/mL）、芍药甘草汤乙酸乙酯萃取物（批号20230703，质量浓度以生药量计为0.4 g/mL）均由本实验室自制；奥替溴铵片（批号2022082522，规格40 mg）购自晋城海斯制药有限公司；芍药苷对照品（批号110736-201035，纯度97.7%）、甘草苷对照品（批号111610-201607，纯度93.1%）和甘草酸对照品（批号110731-201720，纯度97.7%）均购自中国食品药品检定研究院；小鼠肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、环氧合酶2（cyclooxygenase-2，COX-2）、白细胞介素1β（interleukin-1β，IL-1β）、前列腺素E_2（prostaglandin E_2，PGE_2）酶联免疫吸附检测（ELISA）试剂盒（批号均为2023120701）均购自南京翼飞雪生物科技有限公司；HP20大孔树脂（批号N11HS200762，粒径0.30～1.25 mm，非极性）、氯化乙酰胆碱标准品（批号D09HB203558，纯度98%）均购自上海源叶生物科技有限公司。

1.3 动物

本研究所用的SPF级SD雄性大鼠共3只，体重180～220 g，购自南京安诺康生物科技有限公司，动物生产许可证号为SCXK（鲁）2022-0006，实验动物伦理编号为202303A033。本研究所用的SPF级ICR小鼠共60只，雌雄各半，体重18～22 g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，动物生产许可证号为SCXK（京）2021-0006，实验动物伦理编号为202309A035。大鼠和小鼠购入后均饲养在SPF级实验室中，实验室环境温度为25 ℃、相对湿度为45%～65%，饲养期间均自由进食和饮水。所有实验动物均适应性喂养1周后进行后续实验。

2 方法与结果

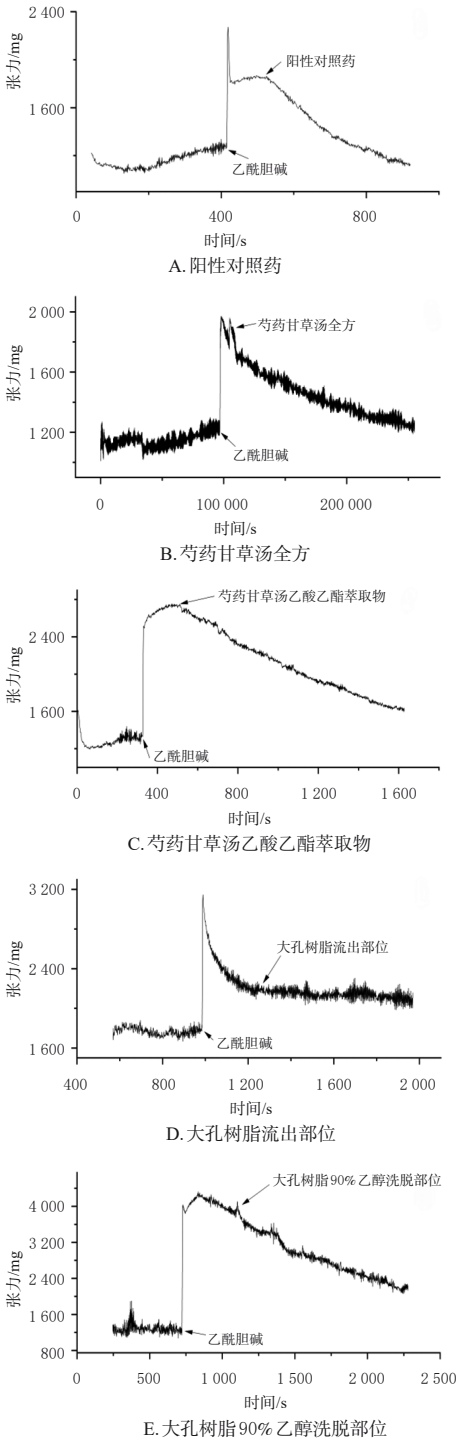
2.1 样品制备

用95%乙醇充分浸泡HP20大孔树脂，使其溶胀后湿法装柱。装柱后先用95%乙醇洗脱，然后再用大量水洗脱至无醇味。将芍药甘草汤乙酸乙酯萃取物配制成0.2 g/mL（以生药量计）的溶液后上样，静置吸附2 h，收集流出液，即为大孔树脂流出部位；用2倍柱体积（BV）水除杂后再用8 BV 90%乙醇洗脱，收集90%乙醇洗脱液，回收乙醇，即为大孔树脂90%乙醇洗脱部位，备用。大孔树脂流出部位和大孔树脂90%乙醇洗脱部位经真空干燥后分别得到15.9、16.2 g样品。

2.2 芍药甘草汤缓急止痛有效部位的筛选

2.2.1 大鼠离体肠张力实验筛选有效部位

每次实验用1只大鼠，实验共重复3次。实验前，大鼠先禁食不禁水24 h，次日颈椎脱臼处死大鼠，快速切开腹腔，剪取距回盲部1.5 cm处小肠肠段约1.5 cm，迅速放入盛有台氏液的培养皿中，除去内容物制成离体标本；将标本放于恒温平滑肌实验系统标本浴槽中，用细线将小段肠管悬挂于通气管和张力换能器之间，并且持续通入95%O_2和5%CO_2混合气体。实验开始后先记录离体肠段正常收缩波形，待曲线稳定后，向平滑肌槽内加入乙酰胆碱（质量浓度为0.8 μg/mL，给药体积0.1 mL）引起肠道痉挛[5]，待肠段稳定后依次加入药物并记录给药前后5 min的肠管运动波形。每次给药后，用预热的台氏液冲洗肠管3次，再进行下一次给药。给药顺序：阳性对照药奥替溴铵片（按人日服用量240 mg确定给药质量浓度为0.025 2 g/mL），芍药甘草汤全方、芍药甘草汤乙酸乙酯萃取物、大孔树脂流出部位以及大孔树脂90%乙醇洗脱部位（4种样品的给药质量浓度按生药量计均为13.44 g/mL，根据人日用量128 g确定）。检测并记录给药前后的张力大小，并计算张力抑制率。张力抑制率＝（给药前平均张力－给药后平均张力）/给药前平均张力×100%。采用GraphPad Prism 8.0.2软件作图并进行数据统计分析；计量资料满足正态分布以$\bar{x} \pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，方差齐时组间两两比较采用LSD-t检验，方差不齐时组间两两比较采用Dunnett-$T3$检验；检验水准α=0.05。结果见图1、表1。



A. 阳性对照药　B. 芍药甘草汤全方　C. 芍药甘草汤乙酸乙酯萃取物　D. 大孔树脂流出部位　E. 大孔树脂90%乙醇洗脱部位

图1　不同样品对大鼠体外小肠张力的影响

表1　不同样品对大鼠体外小肠张力抑制率测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

样品	给药前平均张力/g	给药后平均张力/g	张力抑制率/%
阳性对照药	1.87±0.05	1.47±0.06[a]	21.34±1.03[b]
芍药甘草汤全方	1.51±0.24	1.17±0.22[a]	22.91±2.70
芍药甘草汤乙酸乙酯萃取物	2.46±0.50	1.78±0.46[a]	28.05±5.76
大孔树脂流出部位	3.02±0.70	2.97±0.79	2.33±4.13[b]
大孔树脂90%乙醇洗脱部位	2.97±1.06	1.71±1.00[a]	44.75±13.86

a：与给药前平均张力比较，$P<0.05$；b：与大孔树脂90%乙醇洗脱部位比较，$P<0.05$。

结果显示，除大孔树脂流出部位外，各样品均可显著降低在乙酰胆碱作用下的小肠肠段张力，其中以大孔树脂90%乙醇洗脱部位效果最好。大孔树脂90%乙醇洗脱部位对体外小肠的张力抑制率为（44.75±13.86）%，与芍药甘草汤全方比较差异无统计学意义（$P>0.05$），且显著高于阳性对照药以及大孔树脂流出部位（$P<0.05$）。上述结果表明，大孔树脂90%乙醇洗脱部位保留了芍药甘草汤的解痉活性，解痉效果最佳。

2.2.2　小鼠醋酸扭体实验筛选有效部位

取50只ICR小鼠，按体重随机分为空白组、模型组、阳性对照组（奥替溴铵片，按成人最大日服用量240 mg计，根据人与小鼠给药剂量换算系数9.02确定小鼠的给药剂量为0.036 g/kg）和大孔树脂流出部位组、大孔树脂90%乙醇洗脱部位组（芍药甘草汤的日服用量为128 g，根据人与小鼠给药剂量换算系数9.02确定小鼠的给药剂量——以生药量计均为2.4 g/kg），每组10只（雌雄各半）。空白组和模型组小鼠灌胃生理盐水（10 mL/kg）；其余组小鼠连续灌胃相应药物7 d，每天1次。末次灌胃0.5 h后，除空白组外，其余各组小鼠均按0.01 mL/g的剂量腹腔注射0.7%冰醋酸，观察并记录小鼠30 min内扭体次数以及扭体潜伏期（注射冰醋酸后第1次出现扭体现象的时间），计算小鼠镇痛率。镇痛率＝（模型组扭体次数－给药组扭体次数）/模型组扭体次数×100%。同“2.2.1”项下方法进行统计学分析。结果见表2。

表2　各组小鼠的醋酸扭体实验结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	扭体次数/次	扭体潜伏期/s	镇痛率/%
空白组			
模型组	48.00±9.04	266.67±60.83	
阳性对照组	28.40±7.40[a]	420.00±195.96[a]	40.83
大孔树脂流出部位组	46.00±11.88[b]	259.00±202.61[b]	4.17
大孔树脂90%乙醇洗脱部位组	33.40±6.59[a]	447.00±168.88[a]	30.42

a：与模型组比较，$P<0.05$；b：与阳性对照组比较，$P<0.05$。

表2结果显示，与模型组比较，阳性对照组和大孔树脂90%乙醇洗脱部位组小鼠的扭体次数显著减少（$P<0.05$），扭体潜伏期显著延长（$P<0.05$），且大孔树脂90%乙醇洗脱部位组小鼠的扭体次数、扭体潜伏期和阳性对照组比较差异均无统计学意义（$P>0.05$），提示该洗脱部位具有较好的镇痛效果。

2.2.3　血清中COX-2、IL-1β、TNF-α、PGE_2水平检测

测定小鼠扭体潜伏期和扭体次数后，随机取8只小鼠进行眼底静脉取血，将血样在4 ℃下以3 500 r/min离心10 min，收集上层血清，按照ELISA试剂盒说明书方法检测血清中COX-2、IL-1β、TNF-α、PGE_2水平。同“2.2.1”项下方法进行统计学分析。结果见表3。

表3结果显示，与空白组比较，模型组小鼠血清中COX-2、IL-1β、TNF-α、PGE_2水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，阳性对照组和大孔树脂90%乙醇洗脱部位组小鼠血清中COX-2、IL-1β、TNF-α、PGE_2水平均显著降低（$P<0.05$），大孔树脂流出部位组小鼠血清中仅IL-1β水平显著降低（$P<0.05$）；与大孔树脂流出部位组

表3　各组小鼠血清中COX-2、IL-1β、TNF-α、PGE_2水平测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=8$，pg/mL）

组别	COX-2	IL-1β	TNF-α	PGE_2
空白组	23.52±2.51	45.79±7.31	201.29±28.04	216.38±23.49
模型组	34.36±2.66[a]	92.21±7.60[a]	407.42±35.57[a]	317.98±16.52[a]
阳性对照组	25.41±2.73[b]	57.80±7.97[b]	273.70±32.42[b]	235.62±15.20[b]
大孔树脂流出部位组	31.93±2.92	81.20±5.40[b]	385.31±34.87	304.08±18.49
大孔树脂90%乙醇洗脱部位组	29.50±1.66[b]	72.79±1.99[bc]	360.00±15.47[b]	288.02±16.90[bc]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与大孔树脂流出部位组比较，$P<0.05$。

比较，大孔树脂90%乙醇洗脱部位组小鼠血清中IL-1β、PGE_2水平均显著降低（$P<0.05$）。上述结果表明，大孔树脂90%乙醇洗脱部位降低4种炎症因子水平效果较好。

2.3　有效部位入血成分分析

综合大鼠和小鼠实验结果，最终确定大孔树脂90%乙醇洗脱部位为芍药甘草汤缓急止痛的有效部位，进一步分析该部位入血成分。

2.3.1　动物分组、给药与样品制备

取10只小鼠，灌胃大孔树脂90%乙醇洗脱部位2.4 g/kg，给药体积为0.01 mL/kg，每天给药1次，连续7 d。末次给药5 min后，对小鼠进行眼底静脉取血。将收集到的血样置于4 ℃冰箱中静置2 h，待血清适量析出后，以3 500 r/ min离心10 min，收集上层血清。取血清100 μL，加300 μL甲醇，涡旋10 min混匀，在4 ℃下以12 000 r/ min离心10 min，取上清液，在室温下用氮气吹干；加200 μL甲醇将残留物复溶，涡旋混匀1 min，并在12 000 r/min条件下离心10 min，取上清液，即得分析样品。

2.3.2　检测方法及条件

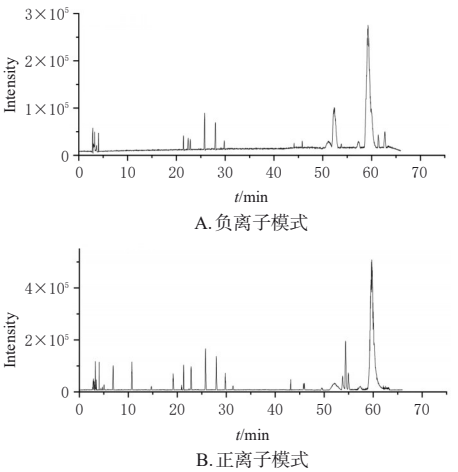
采用高效液相色谱-飞行时间质谱（HPLC-TOF-MS）技术对灌胃有效部位后的小鼠血清进行分析。取“2.3.1”项下分析样品，按照以下色谱和质谱条件进样检测：采用Agilent TC-C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱，以乙腈（A）-0.1%甲酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～14 min，5%A→16%A；14～28 min，16%A→25.3%A；28～38 min，25.3%A→25.5%A；38～40 min，25.5%A→38%A；40～60 min，38%A→50%A）；柱温为30 ℃；流速为0.8 mL/min；进样体积为10 μL。离子源为电喷雾离子源，在正、负离子扫描模式下检测，离子源温度为600 ℃；载气为高纯度N_2；碰撞能量为35 eV；扫描范围为质荷比（m/z）50～1 500。

2.3.3　数据处理

采用PeakView软件对实验数据进行分析处理，将得到的数据结果与相关文献及PubChem在线数据库进行比对，对各个色谱峰进行初步推测，得到化合物的准分子离子峰和二级碎片离子、分子式等信息，再结合相关文献、对照品色谱图及质谱裂解规律，进一步对化合物进行推测及鉴定。

2.3.4　原型成分及代谢产物分析结果

在小鼠血清中初步鉴定出10种原型成分和22种代谢产物。10种入血的原型成分包括8种黄酮类化合物（芹糖甘草苷、芹糖异甘草苷、甘草苷、异甘草苷、金圣草素、刺芒柄花素、甘草素、甘草查尔酮B）、1种单萜类化合物（芍药苷）和1种三萜类化合物（甘草酸）。有效部位的总离子流图见图2，入血成分分析结果见表4。



A. 负离子模式

B. 正离子模式

图2　正、负离子模式下芍药甘草汤有效部位的总离子流图

3　讨论

痉挛性疼痛，主要包括血管、骨骼肌或者内脏平滑肌等的结构性（或功能性）变化，如大部分内脏痛、痛经、手术后平滑肌痉挛等[12]。目前常见的解痉药物主要有巴氯芬、托吡酯、地西泮等化学药，但其不良反应较多，如恶心、呕吐、记忆力减退等[13]。除化学药外，中药复方如止痉散、补阳还五汤、葛根汤、芍药甘草汤等亦可治疗各种痉挛性疼痛，并因其具有价格低廉、效果佳、副作用少等优点[3]，在临床的应用逐年增多，但其存在药效物质基础不明确和作用机制不清楚等问题。因此，阐明上述复方治疗痉挛性疼痛的活性组分与作用机制，对指导其临床合理应用和研发创新中药具有重要意义。

现代药理研究表明，芍药甘草汤能显著抑制平滑肌和骨骼肌的收缩，对全身内外肌肉痉挛引起的疼痛有良好的解痉和镇痛作用[14]。临床研究表明，芍药甘草汤在治疗神经病理性疼痛、哮喘、胃肠道痉挛方面效果显著。本研究通过大鼠离体肠张力实验发现，将芍药甘草汤乙酸乙酯萃取物经大孔树脂90%乙醇洗脱后得到的有效部位可显著降低由乙酰胆碱作用下的肠张力，且其小肠张力抑制率明显高于全方水提液，这提示大孔树脂90%乙醇洗脱部位保留了芍药甘草汤的解痉活性。小鼠醋酸扭体实验表明，大孔树脂90%乙醇洗脱部位具有明显的镇痛效果。COX-2、IL-1β、TNF-α、PGE_2是常见的与缓急止痛有关的炎症因子[15]。本研究结果显示，大孔树脂90%乙醇洗脱部位可显著降低小鼠血清中上述4种炎症因子水平，从而发挥缓急止痛作用。

本研究采用HPLC-TOF-MS法对大孔树脂90%乙

表4　芍药甘草汤有效部位的入血成分分析结果

序号	保留时间/min	名称	分子式	离子模式	理论值（*m/z*）	实际值（*m/z*）	误差/ppm	碎片离子（*m/z*）	参考文献
P1*	18.605	芍药苷	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M-H]^-$	480.163 16	479.155 89	−3.7	121.030 0，165.055 0，327.107 9[M−H−CH_2O−BzH]$^-$，449.145 0[M−H−CH_2O]$^-$	[6]
P2	22.308	芹糖异甘草苷	$C_{26}H_{30}O_{13}$	$[M-H]^-$	550.168 64	549.161 37	−1.2	135.008 5[M−H−Api−Glu−C_8H_8O]$^-$，255.064 2[M−H−Api−Glu]$^-$，417.115 4[M−H−Api]$^-$，549.158 8[M−H]$^-$	[6]
P3	22.495	异甘草苷	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	418.126 38	417.119 11	−0.7	119.050 0，135.008 4[M−H−Glu−C_8H_8O]$^-$，255.066 5[M−H−Glu]$^-$，417.118 1[M−H]$^-$	[6]
P4	26.749	金圣草素	$C_{16}H_{12}O_6$	$[M+H]^+$	300.063 39	301.070 66	−2.9	301.071 5[M+H]$^+$	[6]
P5*	31.856	甘草苷	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	418.126 38	417.119 11	−3.1	119.050 3，135.008 7[M−H−Glu−C_8H_8O]$^-$，255.065 3[M−H−Glu]$^-$，417.117 9[M−H]$^-$	[7]
	30.631			$[M+H]^+$	418.126 38	419.133 66	−3.2	257.077 7[M+H−Glu]$^+$，419.157 9[M+H]$^+$	
P6*	30.636	芹糖甘草苷	$C_{26}H_{30}O_{13}$	$[M-H]^-$	550.168 64	549.161 37	−3.0	135.009 1[M−H−Api−Glu−C_8H_8O]$^-$，255.066 1[M−H−Api−Glu]$^-$，417.113 6[M−H−Api]$^-$，549.158 5[M−H]$^-$	[7]
P7	47.017	刺芒柄花素	$C_{16}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	268.073 56	267.066 28	3.1	132.019 9[M−H−$C_7H_5O_3$]$^-$，252.041 5[M−H−CH_3]$^-$，267.064 6[M−H]$^-$	[8]
	31.624			$[M+H]^+$	268.073 56	269.080 84	−3.1	254.055 9[M+H−CH_3]$^+$，269.078 8[M+H]$^+$	
P8	32.865	甘草查尔酮B	$C_{16}H_{14}O_5$	$[M-H]^-$	286.084 12	285.076 85	1.2	150.041 7[M−H−CH3−C_8H_8O]$^-$，150.029 7[M−H−CH3−C_8H_8O]$^-$，270.048 4[M−H−CH3]$^-$，285.074 4[M−H]$^-$	[9]
P9*	33.944	甘草素	$C_{15}H_{12}O_4$	$[M+H]^+$	256.073 56	257.080 84	−3.2	137.023 0[M+H−C_8H_8O]$^+$，257.079 6[M+H]$^+$	[7]
	34.006			$[M-H]^-$	256.073 56	255.066 28	2.8	119.051 1，135.008 0[M−H−C_8H_8O]$^-$，255.067 2[M−H]$^-$	
P10*	48.226	甘草酸	$C_{42}H_{62}O_{16}$	$[M-H]^-$	822.403 79	821.396 51	0.2	351.054 5，469.332 8[M−H−2GluA]$^-$，821.399 8[M−H]$^-$	[8]
M1	14.693	葡萄糖醛酸化甘草苷	$C_{27}H_{30}O_{15}$	$[M-H]^-$	594.158 47	593.151 19	−0.7	135.007 7[M−H−GluA−Glu−C_8H_8O]$^-$，255.065 8[M−H−GluA−Glu]$^-$，417.111 0[M−H−GluA]$^-$，593.150 0[M−H]$^-$	[7]
M2	17.345	羟基化葡萄糖醛酸化硫酸化甘草素	$C_{21}H_{20}O_{14}S$	$[M-H]^-$	528.057 38	527.050 10	2.7	447.096 2[M−H−SO_3]$^-$，527.056 6[M−H]$^-$	[7]
M3	18.595	葡萄糖醛酸化甘草香豆素	$C_{27}H_{28}O_{12}$	$[M-H]^-$	544.158 08	543.150 80	−4.5	309.097 6[M−H−GluA−2CH_3−CO]$^-$，543.158 2[M−H]$^-$	[7−8]
M4	22.325	葡萄糖醛酸化甘草素	$C_{21}H_{20}O_{10}$	$[M+H]^+$	432.105 65	433.112 92	−3.7	119.050 4[M+H−GluA−C_8H_8O]$^+$，137.024 2[M+H−GluA−C_8H_8O]$^+$，257.080 7[M+H−GluA]$^+$	[8]
	22.416			$[M-H]^-$	432.105 65	431.098 37	−0.4	135.010 0[M−H−GluA−C_8H_8O]$^-$，255.066 4[M−H−GluA]$^-$，431.098 6[M−H]$^-$	
M5	26.905	羟基化葡萄糖醛酸化硫酸化芹菜素	$C_{21}H_{18}O_{11}$	$[M-H]^-$	446.084 91	445.077 64	−0.5	269.045 3[M−H−O−GluA−SO_3]$^-$，445.077 5[M−H]$^-$	[7]
M6	27.333	硫酸化甘草素	$C_{15}H_{12}O_7S$	$[M-H]^-$	336.030 37	335.023 10	−0.2	119.050 2，135.009 1[M−H−SO_3−C_8H_8O]$^-$，255.067 6[M−H−SO_3]$^-$，335.022 6[M−H]$^-$	[8]
M7	27.833	羟基化甘草苷	$C_{21}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	434.121 30	433.114 02	−1.0	119.050 6[M−H−Glu−C_8H_8O]$^-$，433.113 5[M−H]$^-$	[7]
M8	28.450	葡糖苷酸美迪紫檀素	$C_{22}H_{22}O_{11}$	$[M+H]^+$	462.116 21	463.123 49	−5.4	463.123 2[M+H]$^+$	[9]
	28.483			$[M-H]^-$	462.116 21	461.108 94	−1.4	270.053 2[M−H−OH−GluA]$^-$，461.108 3[M−H]$^-$	
M9	28.719	葡糖苷酸甘草素	$C_{21}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	448.100 56	447.093 29	−1.8	119.050 3，137.023 0[M−H−C_8H_8O]$^-$，447.094 0[M−H]$^-$，447.179 6[M−H]$^-$	[8]
M10	28.873	葡萄糖醛酸化美迪紫檀素	$C_{22}H_{22}O_{10}$	$[M+H]^+$	446.121 30	447.128 57	−7.1	447.128 6[M+H]$^+$	[9]
	28.911			$[M-H]^-$	446.121 30	445.114 02	1.1	269.081 7[M−H−GluA]$^-$，445.110 5[M−H]$^-$	
M11	47.017	刺芒柄花素	$C_{16}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	268.073 56	267.066 28	3.1	132.019 9[M−H−$C_7H_5O_3$]$^-$，252.041 5[M−H−CH_3]$^-$，267.064 6[M−H]$^-$	[7]
	31.624			$[M+H]^+$	268.073 56	269.080 84	−3.1	254.055 9[M+H−CH_3]$^+$，269.078 8[M+H]$^+$	
M12	31.768	7,4′-二氢羟基黄酮	$C_{15}H_{10}O_4$	$[M-H]^-$	254.057 91	253.050 63	7.8	253.053 3[M−H]$^-$	[10]
M13	32.337	葡萄糖醛酸化刺芒柄花素	$C_{22}H_{20}O_{10}$	$[M+H]^+$	444.105 65	445.112 92	−6.1	254.056 0[M+H−GluA−CH_3]$^-$，269.079 8[M+H−GluA]$^+$，445.098 6[M+H]$^+$	[7]
	32.357			$[M-H]^-$	444.105 65	443.098 37	−1.5	252.043 1[M−H−GluA−CH_3]$^-$，267.066 4[M−H−GluA]$^-$，443.099 8[M−H]$^-$	
M14	33.669	硫酸化美迪紫檀素	$C_{16}H_{14}O_8S$	$[M+H]^+$	366.040 94	367.048 22	−4.8	287.091 3[M+H−SO_3]$^+$，367.046 0[M+H]$^+$	[8]
M15	42.162	硫酸化刺芒柄花素	$C_{16}H_{12}O_7S$	$[M-H]^-$	348.030 37	347.023 10	−0.3	132.021 4[M−H−SO_3−$C_7H_5O_3$]$^-$，252.042 4[M−H−SO_3−CH_3]$^-$，267.066 0[M−H−SO_3]$^-$，347.024 6[M−H]$^-$	[7−8]
M16	43.466	羟基化甘草素	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	272.068 47	271.061 20	0.7	271.090 5[M−H]$^-$，271.059 3[M−H]$^-$	[11]
M17	43.501	芹菜素	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	270.052 82	269.045 55	1.7	269.045 0[M−H]$^-$	[8]
M18	43.516	甲基化芍药苷	$C_{24}H_{30}O_{11}$	$[M-H]^-$	494.178 81	493.171 54	−3.3	327.138 3[M−H−CH_3−CH_2O−BzH]$^-$，449.150 6[M−H−CH_3−CH_2O]$^-$，479.1763 0[M−H−CH_3]$^-$，493.181 0[M−H]$^-$	[11]
M19	46.331	羟基化甘草酸	$C_{42}H_{62}O_{17}$	$[M-H]^-$	838.398 70	837.391 42	−0.7	351.056 6[M−H−O−2GluA−C_8H_8O]$^-$，837.369 1[M−H]$^-$	[9]
M20	54.271	双羟基化甘草香豆素	$C_{21}H_{20}O_8$	$[M-H]^-$	400.115 82	399.108 54	−0.7	399.115 4[M−H]$^-$	[9]
M21	58.440	葡萄糖醛酸化甘草次酸	$C_{36}H_{54}O_{10}$	$[M-H]^-$	646.371 70	645.364 42	2.2	469.340 7[M−H−GluA]$^-$，645.356 1[M−H]$^-$	[7]
M22	43.636	甲基化甘草素	$C_{16}H_{14}O_4$	$[M+H]^+$	270.089 21	271.096 49	−2.9	271.094 4[M+H]$^+$，271.061 4[M+H]$^+$，271.276 3[M+H]$^+$	[9]
	43.650			$[M-H]^-$	270.089 21	269.081 93	4.0	133.028 8[M−H−CH_3−GluA−C_8H_8O]$^-$，269.083 3[M−H]$^-$，269.044 5[M−H]$^-$，269.118 5[M−H]$^-$	

P：原型成分；M：代谢产物；*：与对照品比对后确证。

醇洗脱部位进行入血成分分析发现，大鼠血清中含有芍药苷、甘草苷、甘草酸、芹糖甘草苷、芹糖异甘草苷、异甘草苷等10种原型成分和22种代谢产物，其中原型成分多为黄酮类化合物。根据现有研究可知，黄酮类化合物具有调节免疫、抗炎、抗氧化等多种药理作用[16]。其中甘草素具有较强的解痉效果[17]，芍药苷能够减少炎症因子的产生而减轻疼痛感[18]，甘草酸具有显著的抗炎、解痉作用[19]。

综上所述，芍药甘草汤乙酸乙酯萃取物的大孔树脂90%乙醇洗脱部位为其缓急止痛的有效部位，甘草酸、芍药苷、芹糖甘草苷、芹糖异甘草苷、甘草苷、异甘草苷、金圣草素、刺芒柄花素、甘草素以及甘草查尔酮B 10种成分可能是其药效物质基础。然而，在血清化学分析中还可能存在部分化合物由于响应值低未鉴定出的情况，研究结果具有一定局限性，后续还需进一步深入研究进行验证。

参考文献

[1] 惠晨阳，李晓东，李恒飞，等. 芍药甘草汤的古籍文献研究[J]. 中西医结合肝病杂志，2022，32(5)：432-435.
HUI C Y，LI X D，LI H F，et al. Analysis of Shaoyao gancao decoction based on ancient literatures[J]. Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis，2022，32(5)：432-435.

[2] 鲍斌，赵咏麟，王辉俊，等. 芍药甘草汤化学成分、药动学及药效学研究进展[J]. 上海中医药大学学报，2022，36(4)：98-105.
BAO B，ZHAO Y L，WANG H J，et al. Research progress on pharmacokinetics and pharmacodynamics of chemical constituents of Shaoyao gancao decoction[J]. Acad J Shanghai Univ Tradit Chin Med，2022，36(4)：98-105.

[3] 崔颖竹. 胃阴亏虚型慢性胃炎应用益胃汤合芍药甘草汤治疗的效果[J]. 内蒙古中医药，2023，42(9)：46-48.
CUI Y Z. Effect of Yiwei decoction combined with Shaoyao gancao decoction on chronic gastritis with deficiency of stomach Yin[J]. Inn Mong J Tradit Chin Med，2023，42(9)：46-48.

[4] 马跃，杨燕云，张振秋，等. HPLC波长切换法对芍药甘草汤中不同极性部位化学成分的比较研究[J]. 辽宁中医杂志，2016，43(5)：1029-1031.
MA Y，YANG Y Y，ZHANG Z Q，et al. Comparison of chemical components contents of different polar fractions in paeoniae-glycyrrhizae decoction by HPLC wavelength switching method[J]. Liaoning J Tradit Chin Med，2016，43(5)：1029-1031.

[5] 赵梓含. 五味子提取物对离体兔肠平滑肌运动影响[J]. 中国处方药，2023，21(6)：23-26.
ZHAO Z H. Effects of *Schisandra chinensis* extract on the movement of isolated rabbit intestinal smooth muscle[J]. J China Prescr Drug，2023，21(6)：23-26.

[6] 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.
XU Y L，LI C X，YANG F X，et al. Identification of chemical constituents in the classical prescription Shaoyao gancao decoction based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS[J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med，2021，37(6)：938-948.

[7] CHANG X，JIA H M，ZHOU C，et al. Role of Bai-shao towards the antidepressant effect of Chaihu-shu-gan-san using metabonomics integrated with chemical fingerprinting[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci，2015，1006：16-29.

[8] SHEN L，CONG W J，LIN X，et al. Characterization using LC/MS of the absorption compounds and metabolites in rat plasma after oral administration of a single or mixed decoction of Shaoyao and Gancao[J]. Chem Pharm Bull，2012，60(6)：712-721.

[9] LIU J J，CHENG Y，SHAO Y Y，et al. Comparative pharmacokinetics and metabolites study of seven major bioactive components of Shaoyao gancao decoction in normal and polycystic ovary syndrome rats by ultra high pressure liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. J Sep Sci，2019，42(15)：2534-2549.

[10] WU J，ZHONG Q Q，WANG T Y，et al. MS-based metabolite analysis of two licorice chalcones in mice plasma，bile，feces，and urine after oral administration[J]. Biomed Chromatogr，2021，35(3)：e4998.

[11] WANG Q，QIAN Y，WANG Q，et al. Metabolites identification of bioactive licorice compounds in rats[J]. J Pharm Biomed Anal，2015，115：515-522.

[12] 李海雷. 芍药甘草汤加味治疗急性疼痛撷要[J]. 国医论坛，2021，36(1)：13-14.
LI H L. Highlights of modified Shaoyao gancao decoction in treating acute pain[J]. Forum Tradit Chin Med，2021，36(1)：13-14.

[13] 张令霞，马改英，韩旭，等. 鞘内注射药物治疗在多发性硬化的探索[J]. 临床神经病学杂志，2019，32(3)：234-237.
ZHANG L X，MA G Y，HAN X，et al. Exploration of intrathecal injection of drugs in multiple sclerosis[J]. J Clin Neurol，2019，32(3)：234-237.

[14] 李梦佳，徐西元. 中西医治疗脑卒中后肢体痉挛性瘫痪概述[J]. 河南中医，2023，43(6)：948-956.
LI M J，XU X Y. Overview of integrated traditional Chinese and western medicine in treating limb spastic paralysis after stroke[J]. Henan Tradit Chin Med，2023，43(6)：948-956.

[15] 朱广伟，张贵君，汪萌，等. 中药芍药甘草汤基原及药效组分和药理作用研究概况[J]. 中华中医药杂志，2015，30(8)：2865-2869.
ZHU G W，ZHANG G J，WANG M，et al. Research situation about origin，active components alignment and pharmacological actions of Shaoyao gancao decoction[J]. China J Tradit Chin Med Pharm，2015，30(8)：2865-2869.

[16] 王钧楠，周永峰，崔园园，等. 基于抗炎生物效价的甘草传统感官评价科学性研究[J]. 中国现代中药，2022，24(6)：1018-1025.
WANG J N，ZHOU Y F，CUI Y Y，et al. Scientificity of traditional sensory evaluation of licorice based on anti-inflammatory potency[J]. Mod Chin Med，2022，24(6)：1018-1025.

[17] CHENG M Z，ZHANG J Q，YANG L，et al. Recent advances in chemical analysis of licorice (Gan-Cao)[J]. Fitoterapia，2021，149：104803.

[18] LUO X，WANG X J，HUANG S W，et al. Paeoniflorin ameliorates experimental colitis by inhibiting gram-positive bacteria-dependent MDP-NOD2 pathway[J]. Int Immunopharmacol，2021，90：107224.

[19] ALAGAWANY M，ELNESR S S，FARAG M R，et al. Use of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) herb as a feed additive in poultry：current knowledge and prospects[J]. Animals，2019，9(8)：536.

（收稿日期：2024-02-29　修回日期：2024-06-06）
（编辑：林　静）