中图分类号：R917　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2024)20－0051－07
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2024.20.011

清热凉血方大鼠体内分布特征分析*

刘家邑[1]，白彦萍[2]，蔡　锐[1]，周相男[2]，刘军锋[3△]

（1. 北京中医药大学中日友好临床医学院，北京　100029；2. 中日友好医院，北京　100029；3. 陕西省中医医院，陕西　西安　710003）

摘要：目的　探讨清热凉血方在大鼠体内的分布特征。**方法**　采用超高效液相色谱－四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法，色谱柱为 Thermo Accucore aQ C_{18} 柱（150 mm×2.1 mm，2.6 μm），流动相为甲醇－0.1% 甲酸水溶液（梯度洗脱），流速为 0.3 mL/min，柱温为 35 ℃，进样量为 3 μL。离子源为加热电喷雾离子源（HESI），喷雾电压为 3.5 kV，鞘气（N_2）流量 40 arb，辅助气（N_2）流量 10 arb，辅助加热器温度 350 ℃，毛细管温度 320 ℃。扫描方式采用正、负离子全扫描/数据依赖的二级子离子扫描（Full MS/dd－MS^2）模式，扫描范围 m/z 100～1 500，碰撞能量 30 eV。予大鼠灌胃清热凉血方（93.6 g/kg），每日 1 次，连续 4 d。于给药后不同时间点采集血浆、不同组织及排泄物，鉴定原型成分分布特征。**结果**　共鉴定入体成分 18 种，排泄物 22 种，其中末次给药后 0.5 h、1 h、1.5 h、2 h 时大鼠血浆样品中分别检出 10 种、4 种、6 种、7 种清热凉血方的原型成分；末次给药后 2 h 时心、肝、脾、肺、肾、脑组织中分别检测到 9 种、7 种、7 种、5 种、7 种、9 种原型成分；第 3 日给药后 8 h 至第 4 日给药前粪便和尿液中分别检测到 11 种和 15 种原型成分。**结论**　该研究对清热凉血方中入体成分进行了全面鉴定和分析，为其后续质量评价、药效物质及作用机制等研究奠定了一定基础。

关键词：超高效液相色谱－四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法；清热凉血方；原型成分；体内分布；药效物质

Distribution Characteristics of Qingre Liangxue Formula in Rats

LIU Jiayi[1], BAI Yanping[2], CAI Rui[1], ZHOU Xiangnan[2], LIU Junfeng[3]

(1. China－Japan Friendship Clinical Medical College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, China　100029; 2. China－Japan Friendship Hospital, Beijing, China　100029; 3. Shaanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi, China　710003)

Abstract: Objective　To investigate the distribution characteristics of Qingre Liangxue Formula in rats. **Methods**　The ultra－high－

*基金项目：国家自然科学基金[82074445]；国家中医药管理局岐黄学者支持项目[国中医药人教函〔2022〕6号]。

第一作者：刘家邑，女，在读硕士研究生，研究方向为中西医结合治疗皮肤病，(电子信箱)314816344@qq.com。

△通信作者：刘军锋，男，主任药师，研究方向为中药炮制及中药制剂，(电子信箱)sxzyyljf@126.com。

进展[J]. 辽宁中医药大学学报，2013，15(3)：86－88.

[2] 崔　亚，姜礼双，卜　平. 旋覆代赭汤实验研究及临床应用进展[J]. 江苏中医药，2018，50(1)：82－85.

[3] 杨梦婷，高　乐，王　相，等. 经典名方旋覆代赭汤的研究进展[J]. 中药药理与临床，2021，37(3)：214－220.

[4] 张保国，许卫锋. 经方旋覆代赭汤当代研究与应用[J]. 中成药，2014，36(3)：597－601.

[5] 陈巧华，邓怡芳，文　珊，等. 旋覆花－赭石药对酚酸类成分 UPLC 指纹图谱及多指标成分含量测定[J]. 中国现代中药，2023，25(1)：157－164.

[6] 王　静，丁海燕. 酚酸类化合物抑菌作用研究进展[J]. 中成药，2022，44(6)：1906－1911.

[7] 唐春丽，魏江存，滕红丽，等. 黄酮类成分抗炎活性及其作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊，2021，39(4)：154－159.

[8] 王梦瑜，邵欣欣，李谨彤，等. 中药抗菌活性分布规律及影响因素挖掘研究[J]. 天然产物研究与开发，2020，32(12)：2031－2039.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：370.

[10] 申屠银洪，李欢欢，赵晓莉，等. 经典名方旋覆代赭汤的指纹图谱及功效关联物质预测分析[J]. 中草药，2021，52(16)：4825－4836.

[11] 林　丽，李欢欢，谢　辉，等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学的旋覆花药材质量评价研究[J]. 中草药，2021，52(6)：1751－1758.

[12] 邓桃妹，彭　灿，彭代银，等. 甘草化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的探讨[J]. 中国中药杂志，2021，46(11)：2660－2676.

[13] 谭诗涵，雷雅婷，张　也，等. HPD100 与 D101 大孔吸附树脂纯化禾本科芦笋总黄酮与总酚酸研究[J]. 中国药师，2020，23(5)：839－844.

[14] 黄樱华，李丹涛. Plackett－Burman 试验设计结合 Box－Behnken 响应面法优化泽兰总酚酸及总黄酮的分离纯化工艺[J]. 中华中医药杂志，2021，36(5)：2983－2987.

[15] 于　宁，何承辉，邢建国，等. 大孔吸附树脂分离纯化香青兰提取液工艺研究[J]. 中草药，2016，47(4)：599－605.

[16] 范　玲，唐佳蒙，王　鑫，等. 正交试验法与 Box－Behnken 响应面法优选白残花－乌梅药对提取工艺比较[J]. 中国药业，2022，31(15)：38－43.

[17] 李　莉，张　赛，何　强，等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 实验室研究与探索，2015，34(8)：41－45.

[18] 赫　捷，赵　琳. 响应面法优化夏枯草中总黄酮提取工艺及其抗氧化活性分析[J]. 中国药业，2021，30(19)：39－42.

（收稿日期：2023－10－13；修回日期：2024－06－22）

performance liquid chromatography - quadrupole / electrostatic field orbitaltrap high - resolution mass spectrometry (UPLC - Q - Exactive Orbitrap MS) was adopted. The chromatographic column was the Thermo Accucore aQ C_{18} column (150 mm × 2.1 mm, 2.6 μm), the mobile phase was methanol - 0.1% formic acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 0.3 mL / min, the column temperature was 35 ℃, and the injection volume was 3 μL. The heating electrospray ionization (HESI) was adopted, the spray voltage was 3.5 kV, the sheath gas (N_2) flow rate was 40 arb, the auxiliary gas (N_2) flow rate was 10 arb, the auxiliary heater temperature was 350 ℃, and the capillary temperature was 320 ℃. The Full MS / dd - MS^2 mode with positive and negative ions was adopted, with a scanning range of *m* / *z* 100 - 1 500 and collision energy of 30 eV. The rats were given Qingre Liangxue Formula (93.6 g / kg) by gavage once a day for 4 d. The plasma, different tissues and excreta were collected at different time points after administration to identify the distribution characteristics of prototype components. **Results** A total of 18 prototype components *in vivo* and 22 prototype components in excreta were identified. Ten, four, six, seven prototype components of the Qingre Liangxue Formula were detected in rat plasma samples at 0.5 h, 1 h, 1.5 h and 2 h after the last administration, respectively. Nine, seven, seven, five, seven, nine prototype components were detected in the heart, liver, spleen, lung, kidney, brain tissues at 2 h after the last administration, respectively. Eleven and fifteen prototype components were detected in the feces and urine from 8 h after administration on the 3rd day to before administration on the 4th day, respectively. **Conclusion** The components *in vivo* of Qingre Liangxue Formula are comprehensively identified and analyzed in this study, and the study can lay a foundation for the subsequent quality evaluation and studies on pharmacological substances and mechanisms of Qingre Liangxue Formula.

Key words: UPLC - Q - Exactive Orbitrap MS; Qingre Liangxue Formula; prototype component; *in vivo* distribution; pharmacological substance

银屑病又称“牛皮癣”，为常见慢性炎性皮肤病，易复发。其属中医“白疕”范畴[1]，血热型为其常见类型之一，对于该类型的基本病机，中日友好医院白彦萍教授提出“血分辨证，从湿立论”的理论，以血分湿蕴论治并拟订清热凉血方。该方由经典名方犀角地黄汤化裁而成，由白英、蛇莓、紫草、土茯苓、白花蛇舌草、赤芍、牡丹皮、生地8味中药组成，有清热解毒、凉血活血功效，临床应用广泛，治疗血热炽盛、雍于肌表的血热型银屑病疗效确切[2]。目前对清热凉血方的研究多停留在体外药理机制层面，其药效物质基础尚未明晰，需对方中吸收入体的潜在活性成分进行药效物质基础研究。超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)分析技术能快速鉴定药物化学成分并进行归属。本研究借助该技术，对清热凉血方吸收入血和组织分布，以及排泄特征进行了探讨，初步确定清热凉血方发挥药效的物质，为进一步揭示其潜在的药效物质基础提供依据。现报道如下。

1 材料

1.1 仪器

UltiMate 3000型高效液相色谱仪(美国Dionex公司)；Q Exactive Focus静电场轨道阱高分辨质谱仪，配备加热电喷雾离子源(HESI)和Xcalibur 4.1数据处理软件(美国Thermo Fisher Scientific公司)；TL2010S型中通量组织研磨仪(北京鼎昊源科技有限公司)；NX-1R型冷冻型高速台式离心机[鼎昊源(天津)科技有限公司]；YGC-36型氮吹仪(郑州宝晶电子科技有限公司)；SB-5200DT型超声波清洗机(宁波新艺超声设备有限公司)；BT25S型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司，精度为0.01 mg)。

1.2 试药

肝素钠注射液(医用，上海国药集团化学试剂有限公司，批号为20221207)；甲醇为色谱级，甲酸为质谱级，其他试剂均为分析纯，水为超纯水。白英(批号为2202004)、蛇莓(批号为XF8041)、土茯苓(批号为210306001)、紫草(批号为71082411)、白花蛇舌草(批号为72021011)、生地(批号为210921)、赤芍(批号为211004001)、牡丹皮(批号为5004211201)药材饮片，均由中日友好医院提供。

1.3 动物

健康SPF级SD大鼠12只，雄性，体质量为(200±20)g，购于北京维通利华实验动物技术有限公司，实验动物生产许可证号SCXK(京)2021-0006。于北京中医药大学SPF级实验动物中心适应性喂养1周，室温22~26 ℃，相对湿度40%~70%，光照周期12 h，实验符合北京中医药大学相关伦理要求(伦理审批号2023-KY-181)。

2 方法和结果

2.1 方法

2.1.1 药液制备

取白英、土茯苓、紫草、白花蛇舌草、生地、赤芍、丹皮各15 g，蛇莓10 g，浸泡于10倍量清水1 h，煎煮2次(分别煎煮1.5 h和1 h)，合并水煎液并浓缩成1 g/mL药液。

2.1.2 分组及给药

将12只大鼠随机分为空白对照组和给药组，各6只。给药组大鼠灌胃药液93.6 g/kg[约为普通成人(70 kg)等效剂量的8倍]，空白对照组大鼠灌胃等体积蒸馏水，

每日1次，连续4 d，并于第4日给药前将大鼠置于代谢笼内禁食不禁水12 h。

2.1.3 样品收集与处理

血浆样品：分别于末次给药后0.5 h、1 h、1.5 h、2 h取大鼠眼眶静脉丛血约0.3 mL，置含1%肝素钠溶液的EP管，室温静置0.5 h，4 ℃ 3 000 r/min离心10 min，取上清液100 μL，置1.5 mL EP管中，加入200 μL甲醇，涡旋混匀，4 ℃ 13 000 r/min离心15 min，取上清液，置1.5 mL EP管中，40 ℃下氮气挥干，残渣加入100 μL甲醇复溶，4 ℃下13 000 r/min，离心10 min，取上清液，经0.22 μm微孔滤膜滤过，取续滤液，-80 ℃贮存。

组织样品：取血完毕，大鼠腹腔注射2%戊巴比妥钠麻醉，进行心脏灌注，取出心、肝、脾、肺、肾、脑等组织，用生理盐水快速清洗，吸干水分，精密称定，加入等体积生理盐水，匀浆，低温研磨，4 ℃下13 000 r/min离心15 min，取上清液，加入3倍体积甲醇，4 ℃下13 000 r/min离心10 min，取上清液，经0.22 μm微孔滤膜滤过，取续滤液，-80 ℃贮存。

排泄物样品：从第3日给药后8 h至第4日给药前，将大鼠单独置于代谢笼内，收集尿粪排泄物。粪便加入2倍体积生理盐水，匀浆，4 ℃下13 000 r/min离心15 min，分离上清液，加入3倍体积甲醇，涡旋混匀，4 ℃下13 000 r/min离心15 min，尿液在4 ℃下13 000 r/min离心15 min，取上清液，经0.22 μm微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.1.4 试验条件

色谱条件：色谱柱为Thermo Accucore aQ C_{18}柱（150 mm × 2.1 mm，2.6 μm）；流动相为甲醇（A）-0.1%甲酸水溶液（B），梯度洗脱（0~10 min时2%A→50%A，10~25 min时50%A→95%A）；流速为0.3 mL/min；柱温为35 ℃；进样量为3 μL。

质谱条件：离子源为加热电喷雾离子源（HESI），喷雾电压为3.5 kV，鞘气（N_2）流量40 arb，辅助气（N_2）流量10 arb，辅助加热器温度350 ℃，毛细管温度320 ℃。扫描方式采用正、负离子Full MS/dd-MS^2模式，Full MS分辨率70 000，dd-MS^2分辨率35 000；扫描范围m/z 100~1 500，碰撞能量30 eV。

2.1.5 数据处理

采集样品数据，依据质谱精确各化学成分相对分子量，筛选一级准分子离子峰质荷比（m/z）实测值与理论值误差小于5×10^{-6}的分子与自建的清热凉血方化学成分数据库进行匹配，对目标化学成分进行鉴定和确证。

2.2 结果

入血成分：末次给药后0.5 h、1 h、1.5 h、2 h的大鼠血浆样品中分别鉴定出10种、4种、6种、7种清热凉血方的原型成分（见表1）。大鼠入血成分包括以芍药苷、赤芍药苷、芍药内酯苷、白芍苷R_1、牡丹皮苷E为主的5种单萜苷类成分，以东莨菪内酯、3-羟基香豆素为主的2种香豆素类成分，以对羟基苯甲酸为主的酚酸类成分，以对甲氧基桂皮酸为主的苯丙素类成分，以苯甲酸为主的有机酸类成分，以及环肽类化合物cyclohexaleucyl（isoleucyl），萘醌类化合物des-*O*-methyllasiodiplodin和苯甲酰甲酸乙酯和酪氨酸2种其他类成分。清热凉血方的入血原型成分主要来源于赤芍和牡丹皮，其次为白英、紫草和白花蛇舌草，类型以单萜苷类成分居多。详见图1。

组织分布成分：大鼠心、肝、脾、肺、肾、脑组织分别检测到9种、7种、7种、5种、7种、9种清热凉血方的原型成分。其中原型成分在心脏及脑组织分布最广泛，其次为肝脏、肾脏、脾脏，在肺组织内分布最少。这些成分主要来源于牡丹皮、赤芍、生地、白花蛇舌草。详见表2。

排泄物成分：大鼠的粪便和尿液中分别检出11种、15种清热凉血方的原型成分，主要为单萜苷类、有机酸类、酚酸类及环烯醚萜苷类成分。粪便内检测出的化学成分多来源于生地、牡丹皮、赤芍，尿样中的成分多源于牡丹皮、生地、白花蛇舌草、白英。详见表3。

3 讨论

本研究中采用UPLC-Q Exactive Focus MS/MS技术，在正、负离子同时扫描模式下，对大鼠给药后不同时间点的血浆、重要脏器组织和排泄物样品进行分析，共鉴定出18种入体原型成分（可能是清热凉血方潜在治疗银屑病的药效成分），及22种排泄物原型成分。其中共检测到大鼠入血成分13种，组织成分16种，排泄物粪及尿液分别为11种及15种。上述化学成分主要来源于药材赤芍、牡丹皮、白花蛇舌草、生地、白英、紫草及蛇莓，但土茯苓中暂未检出入体成分，考虑可能因药物相互作用，在体内不再以原型成分存在而不易检出。

中药复方作为中医药治疗的重要手段，具有多成分、多途径、多靶点的治疗特点。复方内所含化学成分复杂，种类繁多，只有吸收入体的成分才是发挥治疗作用的可能活性物质。本研究中鉴定的原型成分中芍药苷具有抗炎、抗血小板聚集、扩张血管、肝脏保护作用，其主要通过抑制p38丝裂原激活蛋白激酶（p38 MAPK）和信号转导子与转录激活子（STAT3）的磷酸化，抑制白细胞介素22（IL-22）蛋白表达并调节辅助性T淋巴细胞17（Th17）细胞应答和细胞因子分泌来抑制银屑病[25]。芍药内酯苷可能是通过降低白细胞介素2（IL-2）、白细胞介素6（IL-6）、γ干扰素（IFN-γ）水平而发挥治疗银屑病的作用。对羟基苯甲酸具有抑制细胞增殖、干扰细胞周期、抗炎症反应和抗氧化活性的作用[26]，通过激活雌激素受体β（ERβ）的表达，拮抗雌激素受体α

表 1 清热凉血方入血成分鉴定结果

Tab. 1 Results of identification of components absorbed in the blood from Qingre Liangxue Formula

序号	化学成分	分子式	离子模式	m/z 理论值	m/z 测量值	t_R (min)	δ ($\times 10^{-6}$)	二级碎片离子	来源	类别	末次给药后 0.5 h	1 h	1.5 h	2 h
1	赤芍药苷[3]	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M+Na]^+$	399.126 2	399.126	1.7	0.420 9	237.073 6	赤芍	单萜苷类		+	+	+
2	酪氨酸[4]	$C_9H_{11}NO_3$	$[M+H]^+$	182.081 2	182.081 1	1.99	0.383 3	136.060 9	牡丹皮	其他类	+			+
3	对羟基苯甲酸[5-6]	$C_7H_6O_3$	$[M-H]^-$	137.024 4	137.024 4	4.96	0.127	137.024 9, 119.013 8	白英、牡丹皮	酚酸类	+	+	+	+
4	3-羟基香豆素[3]	$C_9H_6O_3$	$[M+H]^+$	163.039	163.038 9	6.16	0.433	117.033 3, 107.049 0, 89.038 5	牡丹皮	香豆素类	+		+	
5	白芍苷 R_1 或其异构体[7]	$C_{22}H_{28}O_{11}$	$[M+COOH]^-$	525.161 4	525.161 4	6.62	-0.068 4	167.035	赤芍	单萜苷类	+			
6	芍药苷[5-6,8]	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+Na]^+$	503.152 4	503.152 1	6.65	0.596 2	503.151 9	赤芍、牡丹皮	单萜苷类	+			
		$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+H]^+$	481.170 4	481.170 2	6.66	0.494 8	197.081 0, 179.070 3, 121.064 7, 105.033 5						
		$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+COOH]^-$	525.161 4	525.162 1	9.15	-1.332 9	449.144 3, 327.108 7, 165.055 6, 121.029 4						
		$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M-H+Cl]^-$	515.132 6	515.132 5	9.19	0.121 3	449.143 3						
7	苯甲酰甲酸乙酯[9]	$C_{10}H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	179.070 3	179.070 2	7.34	0.394 8	161.059 5, 133.064 8, 105.069 9, 79.054 1	牡丹皮	其他类	+			
8	对甲氧基桂皮酸[10]	$C_{10}H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	179.070 3	179.070 2	7.51	0.394 8	133.064 9, 77.038 4	白花蛇舌草	苯丙素类	+			
9	牡丹皮苷E[11]	$C_{24}H_{30}O_{13}$	$[M-H]^-$	525.161 4	525.161 4	7.52	-0.068 4	449.145 5, 327.108 5, 177.055 3, 165.055 6, 121.029 5, 123.045 2	赤芍、牡丹皮	单萜苷类	+			
10	东莨菪内酯[12]	$C_{10}H_8O_4$	$[M+H]^+$	193.049 5	193.049 6	8.03	-0.335 1	193.049 9, 178.025 9, 150.031 2, 137.059 7, 133.028 4, 105.003 2	赤芍	香豆素类			+	+
11	苯甲酸[5,13]	$C_7H_6O_2$	$[M-H]^-$	121.029 5	121.029 5	9.37	0.022 3	121.029 2	赤芍、牡丹皮	有机酸类		+	+	+
12	Cyclo hexaleucyl (or isoleucyl)[14]	$C_{36}H_{66}N_6O_6$	$[M+H]^+$	679.511 7	679.511	11.69	0.971 6	679.511 1, 661.500 9, 435.336 6	赤芍	环肽	+			+
13	des-*O*-methyllasiodiplodin[15]	$C_{16}H_{22}O_4$	$[M+Na]^+$	301.141	301.140 8	22.16	0.765 1	149.701 7	紫草	萘醌类	+	+	+	+

注：+ 为检出。表 2、表 3 同。

Note: + indicates that the component is detected (for Tab. 1 - 3).

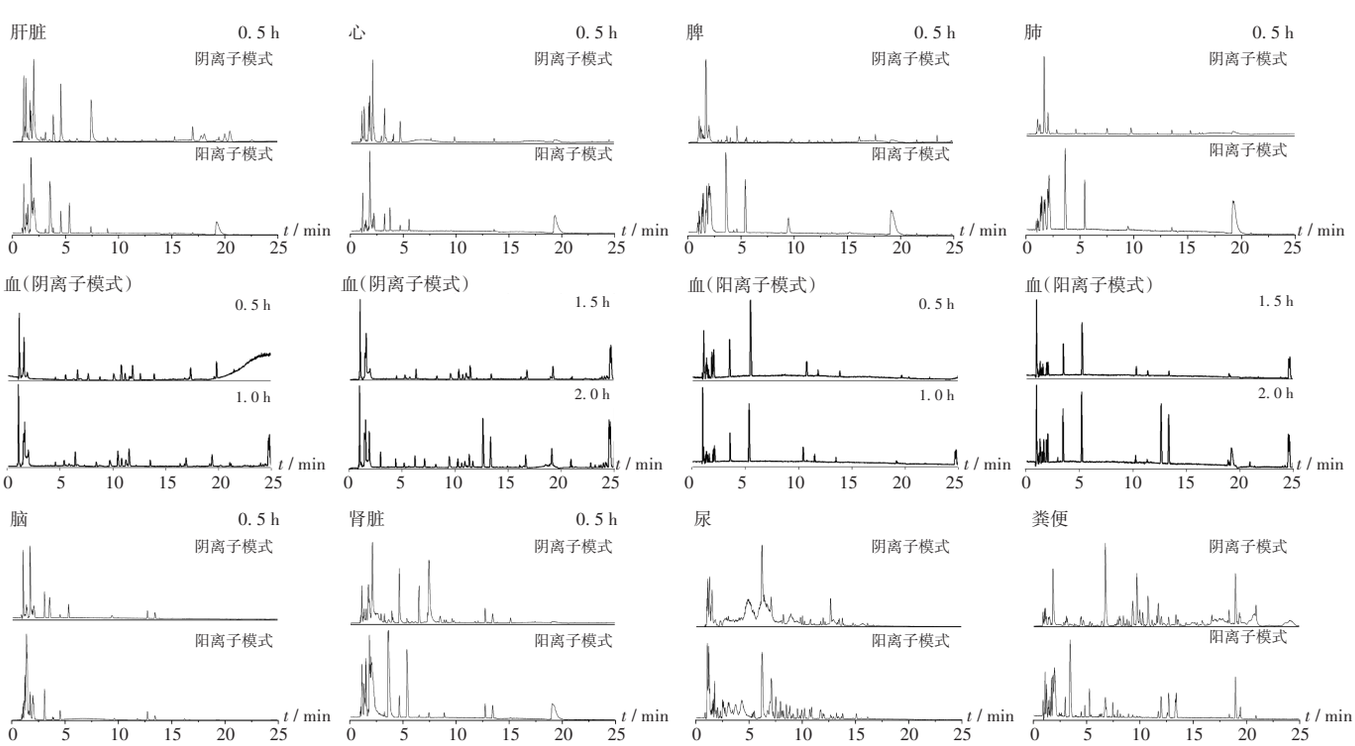


图 1 清热凉血方成分基峰离子色谱图

Fig. 1 Base peak ion chromatograms of Qingre Liangxue Formula components

表 2 清热凉血方组织内成分鉴定结果

Tab. 2 Results of identification of components absorbed in the issues from Qingre Liangxue Formula

序号	化学成分	分子式	离子模式	m/z 理论值	m/z 测量值	t_R (min)	δ (×10⁻⁶)	二级碎片离子	来源	类别	心脏	肝脏	脾脏	肺脏	肾脏	脑
1	赤芍药苷[3]	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M+Na]^+$	399.126 2	399.126	1.7	0.420 9	237.073 6	赤芍	单萜苷类	+	+			+	
2	酪氨酸[4]	$C_9H_{11}NO_3$	$[M+H]^+$	182.081 2	182.081 1	1.99	0.383 3	136.060 9	牡丹皮	其他类	+		+	+	+	+
3	腺苷[16]	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M+H]^+$	268.104	268.104 1	2.58	−0.259 6	136.061 8,119.035 3	生地、牡丹皮	其他类		+				
4	去乙酰基车叶草苷酸[17]	$C_{16}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	389.108 9	389.108 7	3.78	0.602 9	227.057 1,209.045 5,191.035 6,183.066 3,165.055 6,147.045 3	白花蛇舌草	环烯醚萜苷类					+	
5	对羟基苯甲酸[5,6]	$C_7H_6O_3$	$[M-H]^-$	137.024 4	137.024 6	4.96	0.127	137.024 9,119.013 8	白芨、牡丹皮	酚酸类		+	+			
6	8-epiloganic acid[18]	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	375.129 7	375.129 9	5.32	−0.612 9	213.077 0,169.086 9,151.076 5,119.034 8,113.024 4,89.024 4	生地	环烯醚萜苷类	+		+			+
7	对羟基桂皮酸[19-20]	$C_9H_8O_3$	$[M-H]^-$	163.040 1	163.040 1	5.75	−0.2	119.050 2,93.034 5	蛇莓、白花蛇舌草	苯丙素类					+	
8	3-羟基香豆素[3]	$C_9H_6O_3$	$[M+H]^+$	163.039	163.038 9	6.16	0.433	117.033 3,107.049 0,89.038 5	牡丹皮	香豆素类		+				+
9	芍药苷[5-6,8]	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+Na]^+$	503.152 4	503.152 1	6.65	0.561 9	503.151 9	赤芍、牡丹皮	单萜苷类		+	+		+	+
		$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+H]^+$	481.170 4	481.170 2	6.66	0.494 8	197.081 0,179.070 3,121.064 7,105.033 5								
		$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+COOH]^-$	525.161 4	525.161 4	9.15	−0.068 4	449.144 3,327.108 7,165.055 6,121.029 4								
		$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M-H+Cl]^-$	515.132 6	515.132 5	9.19	0.121 3	449.143 3								
10	苯甲酰甲酸乙酯[9]	$C_{10}H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	179.070 3	179.070 2	7.34	0.394 8	161.059 5,133.064 8,105.069 9,79.054 1	牡丹皮	其他类	+					
11	对甲氧基桂皮酸[13]	$C_{10}H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	179.070 3	179.070 2	7.51	0.394 8	133.064 9,77.038 4	白花蛇舌草	苯丙素类	+					
12	东莨菪内酯[15]	$C_{10}H_8O_4$	$[M+H]^+$	193.049 5	193.049 6	8.03	−0.335 1	193.049 9,178.025 9,150.031 2,137.059 7,133.028 4,105.003 2	赤芍	香豆素类	+			+		+
13	苯甲酸[5,16]	$C_7H_6O_2$	$[M-H]^-$	121.029 5	121.029 5	9.37	0.022 3	121.029 2	赤芍、牡丹皮	有机酸类	+	+	+	+	+	+
14	Cyclo hexaleucyl (isoleucyl)[17]	$C_{36}H_{66}N_6O_6$	$[M+H]^+$	679.511 7	679.511	11.69	0.971 6	679.511 1,661.500 9,435.336 6	赤芍	环肽	+	+	+	+	+	+
15	邻苯二甲酸二丁酯[3]	$C_{18}H_{32}O_5$	$[M+H]^+$	279.159 1	279.158 8	21.24	1.023 4	149.023 6,121.028 5,57.070 3	生地	其他类						+
16	des-*O*-methyllasiodiplodin[18]	$C_{16}H_{22}O_4$	$[M+Na]^+$	301.141	301.140 8	22.16	0.765 1	149.701 7	紫草	萘醌类	+		+	+		+

(ERα)以促细胞凋亡,并显著下调炎性细胞因子的mRNA和蛋白质表达水平[27]。对羟基桂皮酸具有抗炎、抗肿瘤,并提高机体免疫力的作用,显著下调肿瘤坏死因子-α(TNF-α)及IL-6的水平[28-29]。

综上所述,该研究对清热凉血方中入体成分进行全面鉴定和分析,为其后续质量评价、药效物质及作用机制等研究奠定了一定基础。

参考文献

[1] GRIFFITHS CEM, ARMSTRONG AW, GUDJONSSON JE, et al. Psoriasis[J]. Lancet (London, England), 2021, 397(10281): 1301-1315.

[2] 白彦萍,杨顶权,王煜明,等. 祛银颗粒治疗血热型银屑病疗效分析[J]. 中国麻风皮肤病杂志,2007,23(12):1065-1067.

[3] 练杭芸,徐王彦君,梁乾德,等. UPLC-QTOF MS法比较赤芍、白芍煎液化学成分差异[J]. 质谱学报,2014,35(3):269-278.

[4] 杨慧敏,杨 彪,胡玉梅,等. 基于UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS技术的桂枝茯苓胶囊化学成分分析[J]. 中国中药杂志,2020,45(4):861-877.

[5] 杜新刚,姜慧洁,张 慧,等. 牡丹皮配方颗粒的质量评价体系研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(10):2065-2071.

[6] 聂 欣,庞 兰,鲜 静,等. 整合文献计量学、血清药物化学及网络药理学辨识经典名方化肝煎关键质量属性研究[J]. 中草药,2022,53(2):382-394.

[7] 何 洋. 复方龙芪汤对2型糖尿病大鼠周围神经病变药效学研究及其化学成分分析[D]. 北京:北京协和医学院,2019.

[8] 韩聪敏,朱靖博,丁 燕,等. 超高压液相色谱-飞行时间质谱法分析牡丹皮化学成分[J]. 大连工业大学学报,2014,33(3):166-170.

[9] 杨华杰. 六味地黄丸和金匮肾气丸药效物质基础和作用机理研究[D]. 南昌:江西中医药大学,2021.

[10] 孙东东,闫秋莹,沈卫星,等. 基于HPLC-ESI-Q-TOF-MS技术分析白花蛇舌草二氯甲烷部位化学成分[J]. 中华中医药杂志,2016,31(2):388-391.

表3 清热凉血方排泄物内成分鉴定结果

Tab. 3 Results of identification of components absorbed in the excreta from Qingre Liangxue Formula

序号	化学成分	分子式	离子模式	m/z 理论值	m/z 测量值	t_R (min)	δ (×10⁻⁶)	二级碎片离子	文献来源	化合物类别	粪	尿
1	蔗糖/麦芽糖/帕拉金糖[4]	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$[M+Na]^+$	365.105 4	365.104 9	1.09	1.458 8	365.105 4,310.193 4,203.052 6,185.041 9	牡丹皮、赤芍、生地、白花蛇舌草、白英	其他类	+	
2	酪氨酸[4]	$C_9H_{11}NO_3$	$[M+H]^+$	182.081 2	182.081	1.99	0.932 6	182.081 1;132.397 6	牡丹皮	其他类	+	+
3	5-羟甲基糠醛[3]	$C_6H_6O_3$	$[M-H]^-$	125.024 4	125.024 4	2.21	0.138 4	124.016 7;123.008 7;97.029 5;95.013 9;79.019 0;69.034 6	生地、牡丹皮			+
4	没食子酸[5,6]	$C_7H_6O_5$	$[M-H]^-$	169.014 2	169.014 5	2.57	-1.499 3	125.024 6; 124.016 5; 107.013 8; 97.029 5; 81.034 6;79.018 9;69.034 6	生地、赤芍、牡丹皮	酚酸类	+	
5	龙胆酸5-*O*-葡萄糖苷[20]	$C_{13}H_{16}O_9$	$[M-H]^-$	315.072 2	315.072 6	3.89	-1.411 7	152.011 5,108.021 7	白花蛇舌草			+
6	对羟基苯甲酸[5,6]	$C_7H_6O_3$	$[M-H]^-$	137.024 4	137.024 6	4.96	-1.332 6	137.024 9,119.013 8	白英;牡丹皮	有机酸类		+
7	8-epiloganic acid[21]	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	375.129 7	375.129 9	5.32	-0.612 9	213.077 0; 169.086 9; 151.076 5; 119.034 8; 113.024 4;89.024 4	生地	环烯醚萜苷类		+
8	白芍苷R1或其异构体[7]	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+COOH]^-$	525.161 4	525.162 3	6.62	-1.782 1	167.035	赤芍	单萜苷类	+	
9	去乙酰车叶草苷[20-21]	$C_{16}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	371.098 4	371.098 6	7.21	-0.619 8	249.061 3,231.050 6,121.029 5	白花蛇舌草	环烯醚萜苷类		+
10	6′-*O*-*β*-葡萄糖白芍苷或其异构体[17,22-23]	$C_{29}H_{38}O_{16}$	$[M+COOH]^-$	687.214 2	687.215 2	7.28	-1.473 5	611.196 8, 593.188 0, 519.172 4, 489.161 7, 479.153 2,121.029 5	赤芍、牡丹皮	单萜苷类		+
11	苯甲酰甲酸乙酯[9]	$C_{10}H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	179.070 3	179.069 9	7.34	2.070 1	133.064 9;105.069 8;79.054 1	牡丹皮	其他类		+
12	牡丹皮苷Ⅰ[11,24]	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M-H]^-$	479.155 9	479.156 4	7.44	-1.075 2	121.029 4	赤芍、牡丹皮	单萜苷类	+	
13	对甲氧基桂皮酸[13]	$C_{10}H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	179.070 3	179.069 9	7.51	2.070 1	133.064 9,77.038 4	白花蛇舌草	苯丙素类		+
14	牡丹皮苷E[14]	$C_{24}H_{30}O_{13}$	$[M-H]^-$	525.161 4	525.162 3	7.52	-1.782 1	449.145 5, 327.108 5, 177.055 3, 165.055 6, 121.029 5,123.045 2	赤芍、牡丹皮	单萜苷类	+	
15	resacetophenone[25]	$C_8H_8O_3$	$[M-H]^-$	151.040 1	151.040 2	8.67	-0.877 9	135.008 9	牡丹皮	酚酸类		+
16	芍药苷[5-6,8]	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+COOH]^-$	525.161 4	525.162 3	9.15	-1.782 1	449.144 3,327.108 7,165.055 6,121.029 4	赤芍、牡丹皮	单萜苷类	+	
17	乙酰芍药苷[24]	$C_{25}H_{30}O_{12}$	$[M+COOH]^-$	567.171 9	567.172 6	9.28	-1.183 6	491.154 4,121.029 4	牡丹皮	单萜苷类		+
18	苯甲酸[5,16]	$C_7H_6O_2$	$[M-H]^-$	121.029 5	121.029 6	9.37	-0.803 9	121.029 2	赤芍、牡丹皮	有机酸类	+	+
19	Cyclo hexaleucyl (or isoleucyl)[17]	$C_{36}H_{66}N_6O_6$	$[M+H]^+$	679.511 7	679.510 9	11.69	1.118 7	679.511 1,661.500 9,435.336 6	赤芍	环肽	+	+
20	corchorifatty acid F[26]	$C_{18}H_{32}O_5$	$[M-H]^-$	327.217 7	327.218 1	15.25	-1.230 7	211.134 0,171.102 6,85.029 6	生地	有机酸类	+	
21	邻苯二甲酸二丁酯[3]	$C_{16}H_{22}O_4$	$[M+H]^+$	279.159 1	279.158 4	21.24	2.456 3	149.023 6;121.028 5;57.070 3	生地	其他类		+
22	des-*O*-methyllasiodiplodin[18]	$C_{16}H_{22}O_4$	$[M+Na]^+$	301.141 0	301.140 3	22.16	2.425 4	149.701 7	紫草	萘醌及苯醌类	+	+

[11] 谷雨龙,刘 斌,姜艳艳. LCMS-IT-TOF法分析黄芪赤风汤提取物的化学成分[J]. 中华中医药学刊,2018,36(3):630-637.
[12] 邹 翔,隋 洋,唐锡玉,等. UPLC-Q-TOF-MS结合网络药理学探讨南柴胡-赤芍药对抗肝癌作用机制研究[J]. 中国中药杂志,2022,47(13):3597-3608.
[13] 尹权徽,林 夏,秦建平,等. UPLC-QTOF/MS法对活血通络粉针化学成分的初步分析[J]. 药学与临床研究,2016,24(3):198-200.
[14] 吴呈祥. 正柴胡饮活性成分的液质联用分析及其抗炎活性评价[D]. 杭州:浙江大学,2020.
[15] 王宇卿,庄 果,王晓瑜,等. 基于UPLC-ESI-Q-TOF-MS技术定性分析苏孜阿甫化学成分[J]. 中国医院药学杂志,2022,42(22):2353-2360.
[16] 王 敏,刘欢欢,张 婷,等. 基于化学特征和核心功效的经典名方清胃散中地黄炮制品研究[J]. 中草药,2022,53(13):3940-3952.
[17] 于 莉. 白花蛇舌草抗肿瘤活性成分的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2009.
[18] 宋青青,赵云芳,张 娜,等. 生地黄HPLC指纹图谱的建立及其HPLC-ESI-MS分析[J]. 中草药,2016,47(23):4247-4252.
[19] 苗 青. 蛇莓化学成分的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2008.
[20] 苏延旭,覃静华,陶 林,等. UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS法鉴定白花蛇舌草注射液中化学成分[J]. 现代药物与临床,2022,37(2):281-284.
[21] 范姣姣. 基于液质联用技术的消癌解毒方药效物质基础研究[D]. 南京:南京中医药大学,2014.
[22] 王 培. 牡丹皮质量评价及血清药物化学研究[D]. 合肥:安徽中医药大学,2018.
[23] 汤迎凯,褚小磊,王天宏,等. 芍药苷在自身免疫性疾病治疗