

doi: 10.12452/j.fxcxb.250403258

基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术结合多元统计分析方法研究大承气汤复方单煎与合煎差异成分

陈婉纯¹, 毕晓黎², 刘 权¹, 刘焰嫦¹, 卢文森¹, 肖观林^{2*}

(1. 广州中医药大学 第五临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广东省中医药工程技术研究院 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州 510095)

摘要: 利用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术, 构建大承气汤化学成分的高分辨质谱数据库, 结合多元统计分析研究大承气汤合煎与单煎混合冻干粉化学成分的差异。结果表明, 大承气汤合煎与单煎混合冻干粉的主要化学成分相同, 但含量存在差异。共有18个成分含量存在显著差异, 主要为3个黄酮苷类、3个蒽醌类、2个有机酸类、3个木脂素类、4个苯乙醇苷类、1个酚类和2个三萜类。合煎能显著提高大承气汤中芸香柚皮苷、柚皮素、橙皮素、柠檬素和毛蕊花糖苷等成分的含量, 降低大黄酸、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷的含量, 这些成分是大承气汤配伍后增效减毒的关键成分, 一定程度上说明了大承气汤配伍发挥减毒增效作用的科学内涵。研究结果可为大承气汤复方制剂及配方颗粒在临床上的合理应用与评价提供参考。

关键词: 大承气汤; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱; 单煎; 合煎; 化学一致性

中图分类号: O657.7; O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2025)12-2497-10

Investigation on Differential Components Between Single Decoction and Combined Decoction Dachengqi Decoction Using UPLC-Q-TOF-MS/MS Technology Combined with Multivariate Statistical Analysis

CHEN Wan-chun¹, BI Xiao-li², LIU Quan¹, LIU Yan-chang¹, LU Wen-sen¹, XIAO Guan-lin^{2*}

(1. School of Fifth Clinical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;
2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

Abstract: By using ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) technology, a high-resolution mass spectrometry database of the chemical components of Dachengqi Decoction was constructed. Combined with multivariate statistical analysis, the differences in the chemical components of the mixed freeze-dried powder of Dachengqi Decoction prepared by simultaneous decoction and single decoction were studied. The results showed that the main chemical components of the mixed freeze-dried powder of Dachengqi Decoction prepared by simultaneous decoction and single decoction were the same, but the contents were different. There were 18 components with significant differences in content, mainly including 3 flavonoid glycosides, 3 anthraquinones, 2 organic acids, 3 lignans, 4 phenylethanol glycosides, 1 phenol and 2 triterpenoids. Simultaneous decoction could significantly increase the contents of rutin, naringenin, hesperetin, limonin and verbascoside in Dachengqi Decoction, and decrease the contents of rhein and rhein-8-O- β -D-glucoside. These components are the key components for the synergistic effect and reduced toxicity of Dachengqi Decoction after compatibility, which to some extent explains the scientific connotation of the reduced toxicity and enhanced efficacy of Dachengqi Decoction

收稿日期: 2025-04-03; 修回日期: 2025-07-07

基金项目: 广州地区中医药重大科技项目(2025QN003); 广东省中医药局科研项目(20251034); 广东省基础与应用基础研究基金项目(2024A1515012809); 广州中医药大学校院联合科技创新基金(GZYSE2024G07)

* 通讯作者: 肖观林, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 中药质量评价, E-mail: zyfyjs@gzucm.edu.cn

网络首发时间: 2025-11-03

after compatibility. The research results can provide a reference for the rational application and evaluation of Dachengqi Decoction compound preparations and formula granules in clinical practice.

Key words: Dachengqi Decoction; ultra performance liquid chromatography–quadrupole–time of flight high resolution mass spectrometry; single decoction; combined decoction; chemical consistency

大承气汤记载于中医经典《伤寒论》，全方由大黄、枳实、厚朴、芒硝四味中药组成，为通里攻下的经典方剂，主要用于治疗阳明腑实证、里热实证、热结旁流证。此外，大承气汤能改善胰腺微循环，促进胃肠道功能恢复^[1-2]。当前，随着中药配方颗粒的广泛应用，“分煎”后复合的中药配方颗粒与“合煎”的传统汤剂疗效一致性问题仍存在质疑^[3]。研究表明，中药复方配伍合煎所得的有效成分并非单味原料药溶出物的简单组合，在煎煮过程中，部分成分可能发生水解、沉淀、氧化还原、超分子作用等化学反应^[4]，或产生 π - π 堆积、静电作用、范德华力等非共价键相互作用，最终形成包含沉淀相、混悬相、真溶液相和胶体相的“复杂多相态”的混合液^[5]，而这些微妙变化可能影响中药复方的药性或药效。现代研究进一步证实，中药复方合煎可通过多种成分间相互作用降低单味药毒性并增强药效^[6-8]，因此，开展对中药复方分煎液与合煎液差异成分的研究，对于阐明复方的临床疗效与用药安全密切相关，可为中药复方以及配方颗粒的临床应用提供更多依据和理论基础。

课题组前期已建立大承气汤单煎液与合煎液的超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱，为大承气汤物质基准样品与复方制剂的质量控制奠定了基础^[9]。目前，大承气汤的研究多为临床应用、药理作用机制、药效成分筛选及有效物质研究等方面^[10-12]，但对于大承气汤单煎、合煎的化学成分以及药理活性的差异尚不清楚。因此，本研究以大承气汤合煎液与各原料单味药提取后的混合液为研究对象，采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术，同时与多元统计分析方法相结合，用于比较单煎液与合煎液化学成分的差异性，以期为大承气汤的临床应用提供更科学、合理的数据参考。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与药材

Milli-Q Advantage A10 纯水系统(德国 Merck Life Science 公司)，Sorvall Legend Micro 17R 型微量离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)，ExionLC AC 型液相色谱仪、SCIEX X500R 飞行时间质谱仪(美国 SCIEX 公司)，Mettler XS205 型 1/10 万电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

没食子酸(批号 110831-201605，纯度 90.8%)，毛蕊花糖苷(批号 111530-201512，纯度 96.7%)，柚皮素(批号 110722-201815，纯度 91.7%)，橙皮素(批号 110721-201818，纯度 96.2%)，柠檬苦素(批号 110800-201707，纯度 97.9%)，大黄酸(批号 110757-201607，纯度 99.3%)，和厚朴酚(批号 110730-201915，纯度 99.3%)，厚朴酚(批号 110729-201714，纯度 100%)，大黄酚(批号 110796-201922，纯度 99.4%)，均购于中国食品药品检定研究院；大黄酚-8-O-葡萄糖苷(批号 D-068-180914，纯度 95%)，芸香柚皮苷(批号 Y-071-180917，纯度 95%)，均购于成都瑞芬思生物科技有限公司；维采宁-2(批号 PS000897，纯度 98%)，购自成都普思生物科技股份有限公司。实验用水为屈臣氏蒸馏水，甲醇、乙腈(美国 Fisher Chemical 公司)为质谱纯，甲酸(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)为色谱纯，其余试剂均为分析纯。大黄(批号：1811084，产地：甘肃)、芒硝(批号：200411，产地：湖南)、厚朴(批号：2008987，产地：四川)、枳实(批号：200804，产地：四川)，均购于广州金芝中药饮片有限公司，经广东省中医药工程技术研究院刘法锦研究员鉴定均符合 2020 年版《中国药典》(一部)的有关规定。

1.2 溶液配制

1.2.1 对照品溶液的制备 取没食子酸等 12 种对照品适量，精密称定，加适量甲醇，超声，室温放至澄清。取上清液适量，经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤，得到对照品溶液。

1.2.2 供试品溶液的制备 合煎冻干粉(合煎，HJ)的制备：按原方精密称取大黄 12.00 g、厚朴 15.00 g、枳实 12.00 g、芒硝 9.00 g，加 10 倍量水浸泡 30 min，沸腾后，转文火 30 min，放冷，滤过。

滤液置于 500 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 冷冻干燥成粉末, 得到合煎冻干粉。

单煎冻干粉(单煎, DJ)的制备: 分别准确称取饮片大黄 12.00 g、厚朴 15.00 g、枳实 12.00 g、芒硝 9.00 g, 按照合煎煎煮方法, 得到大黄、厚朴、枳实、芒硝饮片单煎冻干粉, 混合均匀, 即得单煎冻干粉。

供试品溶液的制备: 精密称取 10 批次大承气汤合煎冻干粉与单煎冻干粉各 0.2 g, 分别精密加入 25 mL 甲醇, 超声 30 min, 放冷, 离心 10 min, 取上清液, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得大承气汤单煎、合煎的供试品溶液。

1.3 实验方法及数据处理

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 Waters UPLC BEH C_{18} (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm), 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 0.1% 甲酸水溶液, 流速: 0.3 mL \cdot min $^{-1}$, 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$, 进样量: 1 μL 。洗脱梯度: 0~5 min, 2%~7% A; 5~26 min, 7%~40% A; 26~31 min, 40%~95% A; 31~34 min, 95% A。

1.3.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI), 负离子模式下采集, 参数设置如下: 分子量扫描范围: m/z 100~1 500, 鞘气压力: 379.2 kPa, 气帘气压力: 241.3 kPa, 辅助气压力: 379.2 kPa, 雾化气温度: 500 $^{\circ}\text{C}$ 。二级扫描参数: 毛细管电压: -4.5 kV, 裂解电压: -80 V, 碰撞能量: 35 eV, CES 碰撞能量叠加: (35 \pm 15) eV。

1.3.3 数据处理 对上述样品溶液进行扫描分析, 经峰提取、匹配和归一化处理后, 得到化合物峰面积数据表, 将数据表分别导入 MetaboAnalyst 6.0 及 SIMCA-P 14.1 软件。进行主成分分析(PCA), 总体观察大承气汤单煎与合煎样品的化学成分差异; 随后采用正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)筛选得到组间差异成分, 仅保留同时满足 $\text{VIP}>1$ 且 $p<0.05$ 的变量, 作为大承气汤单煎与合煎样品间的差异标志物。

1.4 差异化学成分的鉴定

通过 CNKI、Chemical Book、PubChem、TCMSP and Analysis Platform 等数据库整理差异成分相关数据, 应用 Peak View 和 SCIEX OS 软件对差异变量的数据进行预处理, 将处理后的数据与自建数据库匹配, 进行色谱峰的提取、匹配、积分及归一化等处理, 基于保留时间、高分辨一级质谱精确相对分子量和二级碎片信息, 并结合文献中报道的化合物裂解信息及裂解规律, 鉴定差异化学成分。

2 结果与讨论

2.1 大承气汤化学成分数据库建立

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术建立大承气汤化学成分的高分辨质谱数据库, 通过文献报道对化合物数据进行整理, 根据保留时间、准确质量数和多级质谱信息, 与对照品和自建数据库比对, 共鉴定出 82 种化学成分(表 1)。

表 1 大承气汤化学成分的 HRMS-Database 数据库
Table 1 HRMS-Database of chemical constituents of Dachengqi Decoction

No.	t_{R} /min	Compound	Formula	Adduct	Actual value	Error/ppm	MS/MS	Source	Identification basis
1	0.91	Citric acid or isomer	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	191.019 9	1	173.014 4, 129.191 0, 111.008 7, 87.008 7	JS	[13]
2	1.66	Citric acid	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	191.019 5	-1.4	173.011 3, 129.019 6, 111.008 4, 87.008 5	JS	[13]
3	1.80	1- β -D-Glucopyranosyloxy-3, 5-dihydroxybenzene or isomer	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_8$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	287.077 0	-1	149.024 3, 125.024 4, 83.013 8	JS	[13]
4	2.06	Gallic acid*	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	169.014 1	-0.9	125.024 2, 124.016 7, 79.018 8	DH	[14]
5	2.07	1-O-Galloyl- β -D-glucose or isomer	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	331.067 0	-0.3	271.046 2, 211.024 4, 169.014 3	DH	[14]
6	5.51	Kelampayoside A or isomer	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	477.161 1	-0.6	183.066 5, 168.043 4	HP	[13]
7	6.29	3-(2-O- β -D-Glucopyranosyl-4-hydroxyphenyl)propanoic acid or isomer	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_9$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	343.103 7	0.6	291.113 9, 197.045 4, 182.022 1	HP	[13]
8	8.60	Plantamajoside or isomer	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	639.192 9	-0.2	621.182 6, 459.150 8, 179.034 9, 161.024 6	HP	[15]

(续表 1)

No.	t_R /min	Compound	Formula	Adduct	Actual value	Error/ppm	MS/MS	Source	Identification basis
9	9.15	Syringic acid 4-O- α -L-rhamnopyranoside	C ₁₅ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	343.102 9	-1.5	299.113 9, 197.045 4, 182.022 1	HP	[15]
10	9.48	Syringic acid 4-O- β -D-glucopyranosyl-(1→5)- α -L-rhamnopyranoside or isomer	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₄	[M-H] ⁻	505.155 4	-1.8	197.045 3, 182.021 8, 166.998 8	DH	[16]
11	10.01	Magnoloside I	C ₃₄ H ₄₄ O ₁₉	[M+HCOO] ⁻	801.244 3	-2	639.214 5, 477.162 5, 161.024 4	HP	[16]
12	10.63	Magnoloside F	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	[M-H] ⁻	785.249 1	-2.3	623.217 7, 477.161 5, 261.076 8, 161.023 8	HP	[16]
13	10.66	Vicenin-2*	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.150 6	-1	503.119 9, 473.109 2, 383.077 7, 353.066 7	HP	[16]
14	10.91	Magnoloside G or isomer	C ₃₄ H ₄₄ O ₂₀	[M-H] ⁻	771.234 0	-1.7	609.203 7, 477.161 9, 161.024 2	HP	[13]
15	11.28	Magnoloside G or isomer	C ₃₄ H ₄₄ O ₂₀	[M-H] ⁻	771.234 2	-1.5	609.204 0, 477.162 1, 161.077 0	HP	[13]
16	11.40	Vicenin-2 or isomer	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.150 8	-0.7	473.100 3, 353.067 1	ZS	[16]
17	11.44	Magnoloside B	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	[M-H] ⁻	785.249 8	-1.4	623.217 7, 477.161 5, 261.076 8, 161.023 8	HP	[16]
18	11.50	Naringenin-3-O-glucopyranoside	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	433.113 9	-0.2	271.060 8, 177.019 5, 151.003 6	ZS	[17]
19	11.87	Acteoside or isomer	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.196 6	-2.5	461.165 9, 315.108 4, 161.023 7	HP	[16]
20	13.16	Neeriocitrin or isomer	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	595.165 9	-1.5	459.149 0, 287.055 3	ZS	[16]
21	13.43	Limonic glucoside	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	649.249 3	-1.4	605.252 5, 443.207 5, 347.186 8, 227.144 3	ZS	[13]
22	13.70	Neeriocitrin or isomer	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	595.165 4	-2.5	459.112 8, 287.055 8, 135.044 7	ZS	[16]
23	13.98	Kaempferol-15-rutinoside or isomer	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.150 8	-0.7	505.172 3, 285.041 0	ZS	[16]
24	14.04	Acteoside*	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.197 0	-1.9	461.166 4, 315.108 5, 161.023 8	HP	[16]
25	14.04	Hesperetin-Glc-Glc-Rha or isomer	C ₃₄ H ₄₄ O ₂₀	[M-H] ⁻	771.234 9	-0.5	489.140 5, 301.071 7	ZS	[15]
26	14.56	Deacetyl nihilistic acid glucoside	C ₃₂ H ₄₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	669.275 8	-0.9	609.256 6	ZS	[15]
27	14.63	Acteoside or isomer	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.197 7	-0.6	461.166 4, 315.108 5, 249.077 2, 161.023 8	HP	[16]
28	14.67	Narirutin*	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	579.171 6	-0.6	271.060 0, 151.003 4	ZS	[16]
29	14.83	Rhoifolin or isomer	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	[M-H] ⁻	577.156 2	-0.2	531.059 9, 269.045 8	ZS	[16]
30	15.09	Acteoside or isomer	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.196 1	-3.2	623.197 6, 461.165 0, 315.107 7, 161.023 5	HP	[16]
31	15.12	Naringenin-3-O-glucopyranoside	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	433.114 1	0.2	271.060 8, 177.019 5, 151.003 6	HP	[13]
32	15.23	Liquiritigenin 7, 4-di(O- β -D-glucopyranoside)	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	[M+HCOO] ⁻	625.177 9	0.8	271.060 8, 151.003 6	DH	[16]
33	15.23	Naringin	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	579.170 2	-2.9	459.114 4, 339.072 1, 271.060 3	ZS	[16]
34	15.32	Rhoifolin or isomer	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	[M-H] ⁻	577.156 1	-0.3	269.045 4	ZS	[16]
35	15.60	Diosmin or isomer	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	607.166 7	-0.2	299.056 4, 284.032 6	ZS	[16]
36	15.75	Hesperetin or isomer	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	301.071 9	0.4	286.048 4, 257.081 1, 242.060 1	ZS	[16]
37	15.75	Hesperidin	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	[M-H] ⁻	609.180 6	-3	301.070 5, 286.048 3	ZS	[16]
38	15.92	Hesperetin-Glc-Rha-Glc or isomer	C ₃₄ H ₄₄ O ₂₀	[M-H] ⁻	771.234 2	-1.5	609.183 3, 489.140 5, 301.071 7	ZS	[15]
39	15.93	Citrauranoside A or isomer	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	441.176 8	0.4	279.124 1, 25.134 0	ZS	[15]
40	16.05	Diosmin or isomer	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	607.167 4	0.9	299.056 2, 274.033 1	ZS	[16]
41	16.29	Neohesperidin	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	[M-H] ⁻	609.180 6	-3	489.140 0, 301.071 6, 286.047 9	ZS	[16]
42	16.38	Hesperetin or isomer	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	301.071 5	-0.7	286.048 0, 257.081 6, 242.058 4	ZS	[16]
43	16.39	Hesperetin 7-O- β -D-glucopyranoside	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	463.124 8	0.6	301.071 9, 286.049 2	ZS	[13]
44	16.41	Emodin-8-O- β -D-glucoside or isomer	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 6	0.4	268.037 2, 239.035 1	DH	[13]
45	17.11	Citrauranoside A or isomer	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	441.176 2	-0.9	279.124 1, 235.134 0, 220.110 7	ZS	[15]

(续表 1)

No.	t_R /min	Compound	Formula	Adduct	Actual value	Error/ppm	MS/MS	Source	Identification basis
46	17.12	Nomilin 17- β -D-glucopyranoside	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	693.275 3	-1.6	565.265 5, 507.223 6	ZS	[15]
47	17.44	Chrysophanol or isomer	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.050 8	0.7	225.056 6, 140.917 1	DH	[16]
48	17.53	Nomilinic acid 17- β -D-glucopyranoside	C ₃₄ H ₄₈ O ₁₆	[M-H] ⁻	711.285 9	-1.4	565.265 5, 471.200 0, 427.213 5	ZS	[15]
49	17.80	5, 7, 3, 5-Tetrahydroxyflavanone	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	287.055 9	-0.8	151.003 5, 135.045 0, 107.014 1	DH	[15]
50	17.97	Hydroxyemodin or isomer	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.040 4	-0.1	256.038 1, 255.030 2	DH	[16]
51	18.29	Obacunone 17- β -D-glucopyranoside	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	633.254 3	-1.5	589.266 3, 427.212 7, 331.191 8	ZS	[13]
52	19.33	Poncirin or isomer	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	593.187 4	-0.4	285.076 8, 151.004 2	ZS	[13]
53	19.51	Chrysophanol or isomer	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.050 7	0.1	224.048 9, 149.915 4	DH	[16]
54	19.51	Chrysophanol 1-O-glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	415.103 5	0.2	277.050 7, 253.050 7, 221.061 0	DH	[13]
55	19.65	Emodin-8-O- β -D-glucoside or isomer	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.097 9	-1.1	269.041 3	DH	[16]
56	19.87	Poncirin or isomer	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	593.187 4	-0.4	285.076 5, 151.017 6	ZS	[13]
57	19.92	Aleo-emodin-8-O- β -D-glucopyranoside or isomer	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 0	-0.8	269.045 6, 225.056 0	DH	[16]
58	20.10	Chrysophanol 8-O-glucoside*	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	415.103 5	0.1	277.051 0, 253.050 3, 221.061 7	DH	[13]
59	20.11	Chrysophanol or isomer	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.050 4	-0.8	225.055 8, 182.037 5	DH	[16]
60	20.12	Laccaic acid D	C ₁₆ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	313.035 4	0	269.045 3, 225.056 0, 197.061 4	DH	[17]
61	20.36	Naringenin*	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	271.061 0	-0.8	177.019 3, 151.003 3, 119.049 8	ZS	[16]
62	20.65	Isomer of 1, 6, 8-trihydroxy-3-methyl-9, 10-anthraquinone	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 5	-0.2	241.050 7, 225.055 4, 181.056 9	DH	[17]
63	20.81	Magnolignan A or isomer	C ₁₈ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	299.128 9	-0.1	223.075 8, 197.097 3	HP	[16]
64	21.50	Hesperetin*	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	301.071 6	-0.6	242.058 4, 164.011 2, 151.003 6, 134.037 4	ZS	[16]
65	21.68	Hydroxyemodin or isomer	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.040 6	0.4	255.030 2, 211.040 7, 209.028 4,	DH	[16]
66	22.12	Magnatriol A or isomer	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	[M-H] ⁻	241.086 8	-0.8	223.076 3, 197.097 0	HP	[15]
67	22.31	Physcion or isomer	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	283.061 2	0.1	268.036 5, 240.042 9	DH	[15]
68	22.28	Emodin-8-O- β -D-glucoside or isomer	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 7	0.7	282.053 7, 269.045 9	DH	[16]
69	24.47	Chrysophanol or isomer	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.050 6	0	225.057 2	DH	[16]
70	24.55	Isomer of 1, 6, 8-trihydroxy-3-methyl-9, 10-anthraquinone	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 5	-0.1	241.050 7, 183.045 5	DH	[15]
71	25.28	Limonin*	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	[M+] HCOO] ⁻	515.191 5	-1.4	469.186 9, 411.145 2, 306.126 0	ZS	[16]
72	26.01	Isomer of 1, 6, 8-trihydroxy-3-methyl-9, 10-anthraquinone	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 6	0.2	241.050 1, 225.055 6,	DH	[15]
73	26.12	Rhein*	C ₁₅ H ₈ O ₆	[M-H] ⁻	283.024 6	-0.8	239.034 5, 211.039 8, 183.045 1	DH	[16]
74	28.18	Chrysophanol or isomer	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.050 9	0.9	232.986 2, 225.053 1	DH	[16]
75	28.18	1-Methyl-8-hydroxy-9, 10-anthraquinone-3-O- β -D-(6-O-cinnamoyl)glucopyranoside or isomer	C ₃₁ H ₂₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	589.134 8	-0.6	266.058 5, 253.050 3, 252.043 2	DH	[15]
76	28.92	Chrysophanol or isomer	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.051 2	2.2	225.056 1	DH	[16]
77	29.15	Emodin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 4	-0.7	241.051 0, 255.055 6, 181.066 4	DH	[16]
78	29.46	Honokiol*	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	[M-H] ⁻	265.123 0	-1.5	224.084 7, 197.082 0, 133.066 0, 119.050 1	HP	[16]
79	29.93	Obovatol	C ₁₈ H ₁₈ O ₃	[M-H] ⁻	281.118 1	-0.7	164.047 8, 133.066 1	HP	[16]
80	30.00	Magnolol*	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	[M-H] ⁻	265.123 0	-1.6	247.112 0, 245.096 9, 119.050 5	HP	[16]
81	30.25	Chrysophanol*	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.051 1	2	225.056 8	DH	[16]
82	30.74	Physcion	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	283.061 6	1.4	268.039 3, 240.043 5	DH	[16]

*confirmed by comparison with reference standards; JS: 枳实, DH: 大黄, HP: 厚朴

2.2 化学成分种类和数目的比较

通过自建数据库, 设置 Mass Error、Difference Isotope Ratio、Library Hit Score 同时为高可信度, 判断测定结果与理论精确质量数的差异。经自建数据库的匹配, 匹配分数均大于 85%, 根据大承气汤单煎液与合煎液的总离子流图(见图 1), 发现单煎和合煎的化学成分种类和数目相同, 但相同峰位的色谱峰峰面积不同。

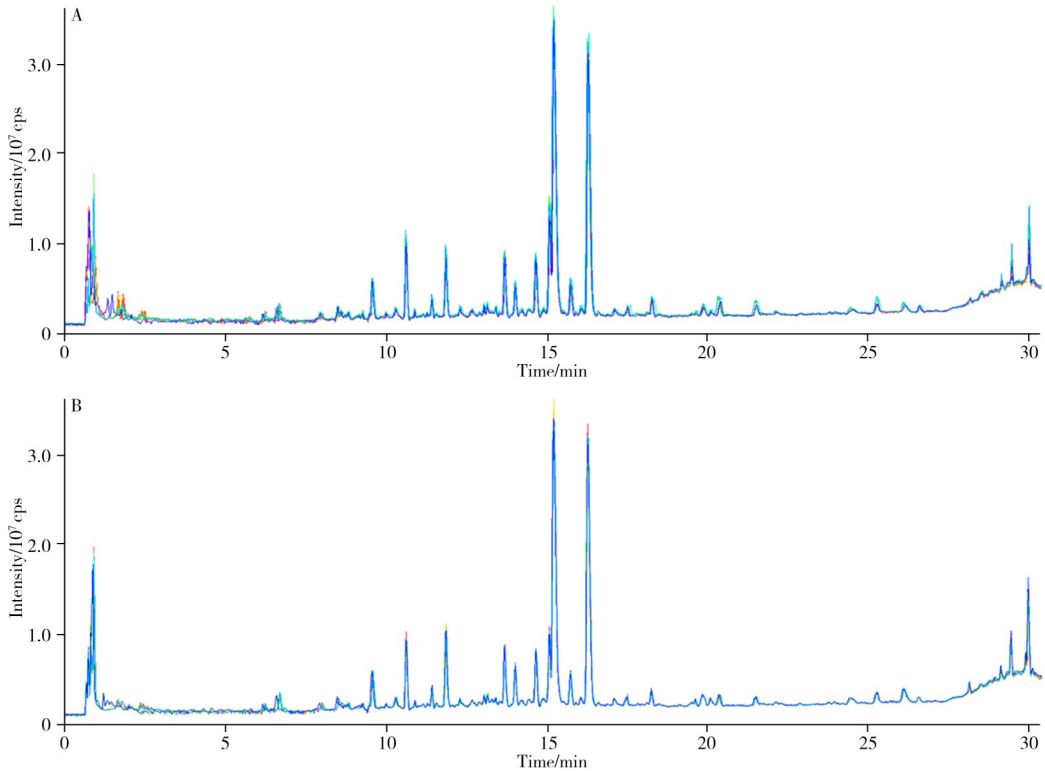


图 1 负离子模式下大承气汤合煎(A)、单煎(B)的 TIC 图

Fig. 1 TIC diagrams of Dachengqi Decoction HJ(A) and DJ(B) under negative ion mode

2.3 多元统计分析

2.3.1 PCA 分析 采用 PCA 多元模式识别法分析 10 批大承气汤单煎液与合煎液的差异, 图 2 为 PCA 评分散点图($R^2X=0.876$, $Q^2=0.872$)。结果显示, 大承气汤单煎液和合煎液的化学成分间有显著差异。

2.3.2 OPLS-DA 分析 OPLS-DA 是一种用于寻找差异成分的统计分析方法。图 3A 为大承气汤单煎和合煎样品的 OPLS-DA 散点图(在负离子模式下, 模型参数为 $R^2X=0.943$, $R^2Y=0.999$, $Q^2=0.998$), 证明该模型的解释及预测能力较强, 结果可以看出单煎和合煎样品组间有显著差异。图 3B 为模型 200 次置换检验的结果, 显示模型未过拟合, 进一步证明上述模型具有较高的可靠性, 可用于后续的差异成分分析。图 3C 是负离子模式下 OPLS-DA 分析的 S-Plot 载荷图, VIP 图见图 3D, 分析 VIP 值大于 1 的成分, 每个点为一个化学成分, 距离中心区域越远, 该变量的组间差异程度越大。这些差异较大的变量被认为是大承气汤单煎液与合煎液的潜在差异成分。

2.3.3 差异化学成分的鉴定及相对含量分析 以 $VIP>1$ 初步筛选组间存在差异的成分, 并利用 t 检验 ($p<0.05$) 进一步筛选差异显著的化合物, 通过数据库、文献及对照品比对, 得到 18 个在大承气汤单煎、合煎过程中发生显著变化的差异成分(见表 2)。

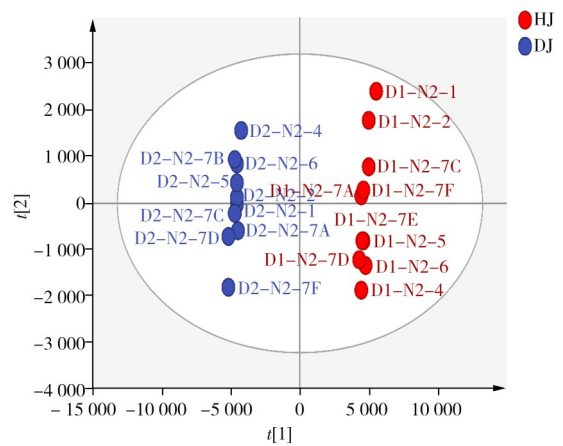


图 2 大承气汤单煎与合煎的 PCA 得分图

Fig. 2 PCA score plot of Dachengqi Decoction DJ and HJ

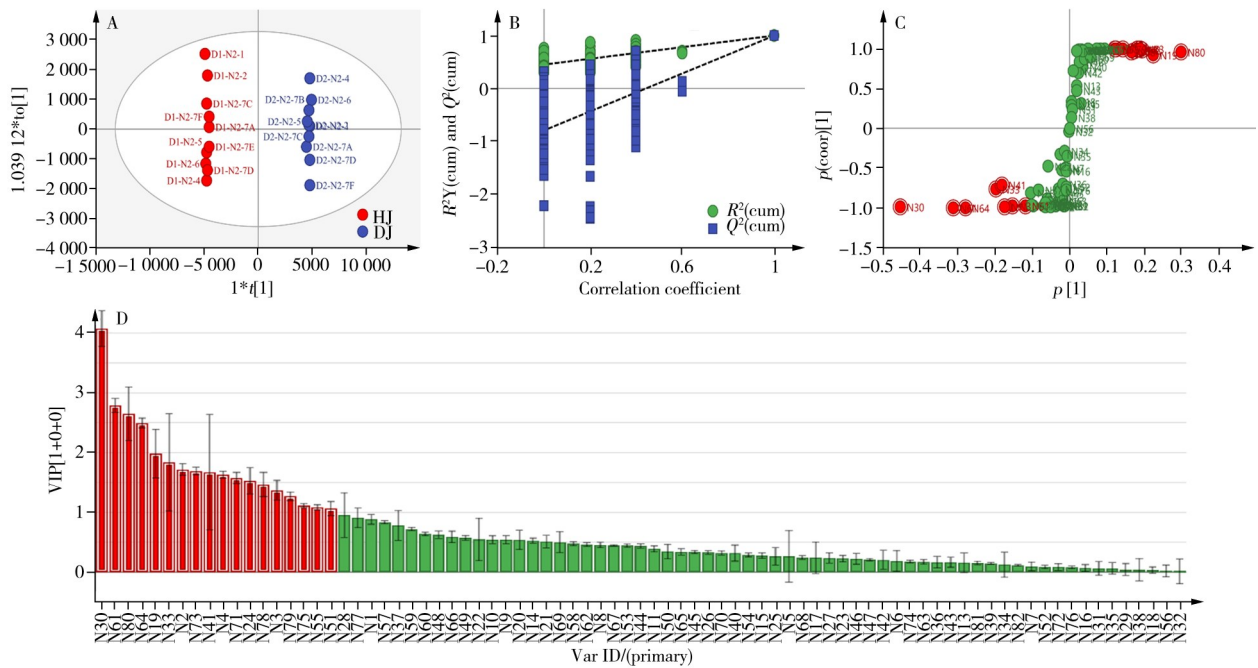


图 3 OPLS-DA 得分散点图(A)、置换检验图(B)、S-Plot 载荷图(C)及 VIP 图(D)

Fig. 3 OPLS-DA dispersion plot(A), substitution test plot(B), S-Plot load plot(C) and VIP plot(D)

表 2 大承气汤单煎与合煎的差异性化学成分鉴定结果

Table 2 Identification results of different chemical components between Dachengqi Decoction DJ and HJ

No.	t_R /min	Compound	Formula	Actual value	Adduct	MS/MS	Error/ppm	Category	VIP	p	Fold change (HJ/DJ)
N1	1.66	Citric acid	$C_6H_8O_7$	191.019 4	$[M-H]^-$	129.019 3, 111.008 4, 85.029 3	-1.6	有机酸	1.72	5.83×10^{-10}	0.524 0
N2	1.80	1- β -D-Glucopyranosyloxy-3, 5-dihydroxybenzene or isomer	$C_{12}H_{16}O_8$	287.077 1	$[M-H]^-$	149.024 3, 125.024 4	-0.5	酚类	1.35	3.03×10^{-9}	6.076
N3	2.06	Gallic acid*	$C_7H_6O_5$	169.014 1	$[M-H]^-$	125.024 2	-0.6	有机酸	1.63	1.36×10^{-14}	0.534 9
N4	10.62	Magnololide F	$C_{35}H_{46}O_{20}$	785.249 3	$[M-H]^-$	623.217 7, 477.160 7, 161.023 6	-2.2	苯乙醇 苷类	1.41	4.89×10^{-4}	1.287
N5	11.86	Acteoside or isomer	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.196 4	$[M-H]^-$	461.165 1, 315.107 9, 161.023 4	-2.9	苯乙醇 苷类	2.04	3.69×10^{-7}	0.799 5
N6	14.04	Acteoside*	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.197 1	$[M-H]^-$	461.166 1, 315.108 6, 161.023 7	-1.7	苯乙醇 苷类	1.53	2.66×10^{-10}	0.739 2
N7	14.66	Narirutin*	$C_{27}H_{32}O_{14}$	579.171 5	$[M-H]^-$	459.114 2, 271.059 5, 151.003 1	-0.7	黄酮苷类	1.02	1.02×10^{-2}	1.229
N8	15.08	Acteoside or isomer	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.196 5	$[M-H]^-$	461.165 5, 315.108 1, 161.023 6	-2.7	苯乙醇 苷类	4.05	4.95×10^{-11}	1.550
N9	18.28	Obacunone 17- β -D-glucopyranoside	$C_{32}H_{42}O_{13}$	633.254 4	$[M-H]^-$	589.268 1, 427.213 1, 331.191 9	-1.4	三萜类	1.06	1.18×10^{-7}	1.256
N10	19.65	Emodin-8-O- β -D-glucoside or isomer	$C_{21}H_{20}O_{10}$	431.098 1	$[M-H]^-$	268.037 1	-0.7	蒽醌类	1.08	1.64×10^{-14}	0.607 7
N11	20.35	Naringenin*	$C_{15}H_{12}O_5$	271.061 0	$[M-H]^-$	187.040 2, 151.003 1, 119.049 6	-0.9	黄酮苷类	2.76	2.13×10^{-12}	1.507
N12	21.49	Hesperetin*	$C_{16}H_{14}O_6$	301.071 5	$[M-H]^-$	286.047 5, 257.282 2	-1	黄酮苷类	2.48	5.58×10^{-14}	1.572
N13	25.27	Limonin*	$C_{26}H_{30}O_8$	515.192 0	$[M+FA-H]^-$	469.186 9, 306.126 0, 229.123 6	-0.5	三萜类	1.55	1.03×10^{-9}	1.224
N14	26.10	Rhein*	$C_{15}H_8O_6$	283.024 6	$[M-H]^-$	239.034 5, 211.039 8, 183.045 1	-0.8	蒽醌类	1.69	1.49×10^{-14}	0.540 5
N15	28.17	1-Methyl-8-hydroxy-9, 10-anthraquinone-3-O- β -D-(6-O-cinnamoyl) glucopyranoside or isomer	$C_{31}H_{26}O_{12}$	589.134 7	$[M-H]^-$	266.058 8, 253.050 6	-0.7	蒽醌类	1.10	1.43×10^{-14}	0.467 8

(续表 2)

No.	t_R /min	Compound	Formula	Actual value	Adduct	MS/MS	Error/ppm	Category	VIP	p	Fold change (HJ/DJ)
N16	29.46	Honokiol*	$C_{18}H_{18}O_2$	265.122 9	$[M-H]^-$	250.100 0, 224.083 8, 197.060 9, 133.065 9	-1.8	木脂素类	1.44	4.69×10^{-9}	0.817 9
N17	29.91	Obovatol	$C_{18}H_{18}O_3$	281.118 4	$[M-H]^-$	240.108 5, 164.047 8, 133.066 2	0.4	木脂素类	1.26	2.92×10^{-14}	0.635 1
N18	29.99	Magnolol*	$C_{18}H_{18}O_2$	265.123 1	$[M-H]^-$	247.112 3, 223.077 1, 133.066 0, 119.050 8	-1.2	木脂素类	2.68	1.61×10^{-6}	0.761 9

*confirmed by comparison with reference standards

2.4 差异成分化合物结构式

共鉴定出 18 个成分的含量存在显著差异, 主要为 3 个黄酮苷类、3 个萜醌类、2 个有机酸类、3 个木脂素类、4 个苯乙醇苷类、1 个酚类和 2 个三萜类, 差异成分结构见图 4。

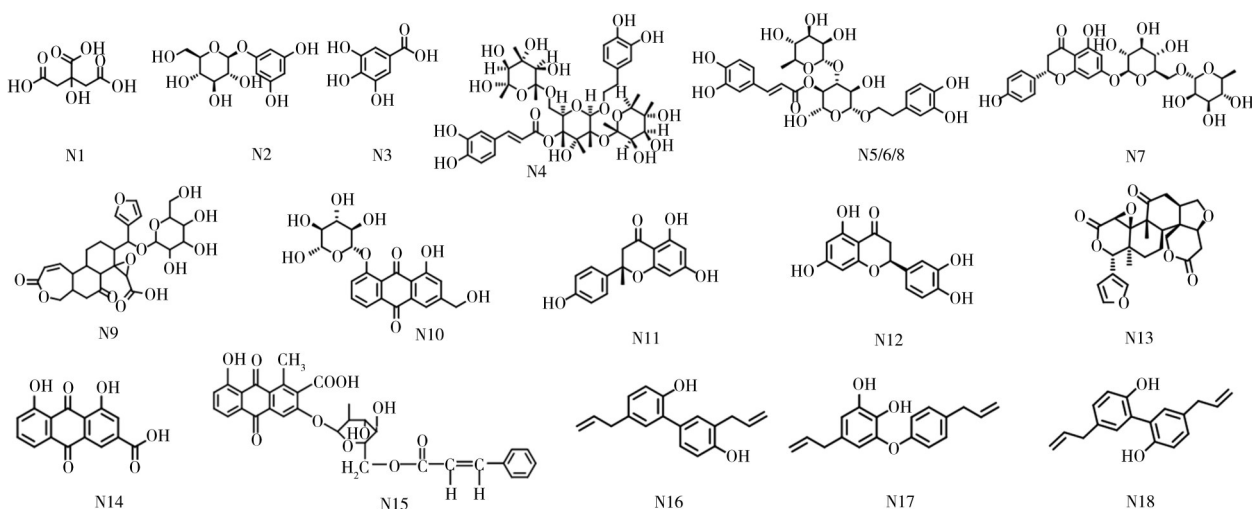


图 4 差异成分化合物的结构

Fig. 4 Structures of differential component compounds

2.5 差异成分变化趋势分析

将以上 18 个差异成分导入 Metaboanalyst 6.0 软件中绘制热图, 可直观显示化合物在每个样本中的含量及变化趋势。如图 5 所示, 单煎和合煎样品明显分开, 且单煎和合煎组间化学成分的差异远大于其组内差异, 18 个差异成分可以区分单煎和合煎, 但该 18 个成分均为二者的共有成分, 在单煎和合煎中的含量存在差异。通过热图的颜色变化发现, 芸香柚皮苷、柚皮素、橙皮素、柠檬素、木兰苷 F 和毛蕊花糖苷等成分在合煎液中的含量显著高于单煎液, 而大黄酸、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、柠檬酸、没食子酸、厚朴酚、和厚朴酚等成分在单煎液中的含量显著高于合煎液。根据峰面积差异倍数(FC)分析, 得到两种煎液中差异较大的成分依次为没食子酸、大黄酸、柠檬酸、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、橙皮素、毛蕊花糖苷、柚皮素, 表明合煎能显著提高橙皮素、毛蕊花糖苷、柚皮素的含量, 而显著降低没食子酸、大黄酸、柠檬酸、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷的含量。将 18 种差异成分在两种煎液中的含量进行比较(见图 6),

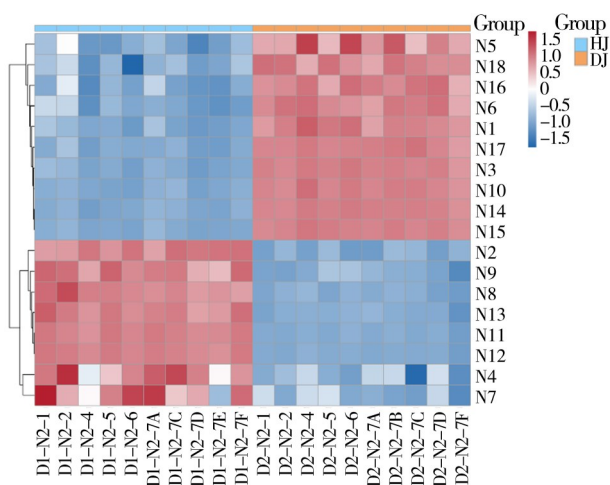


图 5 单煎和合煎的差异性化合物热图

Fig. 5 Heat map of differential compounds in DJ and HJ

发现在 10 批样品中合煎液能显著提高毛蕊花糖苷、柚皮素及橙皮素的含量, 而显著降低厚朴酚、大黄酸、没食子酸及柠檬酸的含量, 这与热图的结果一致。

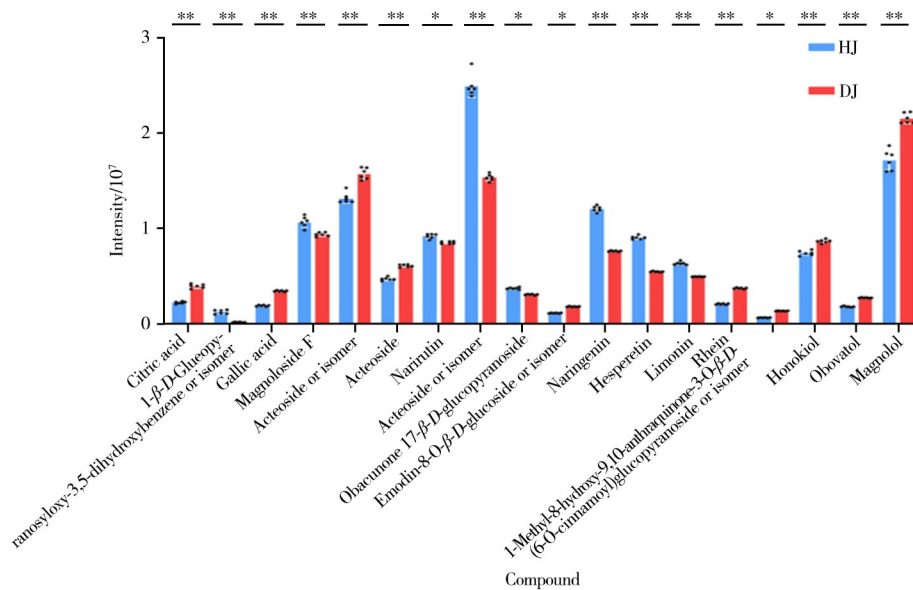


图 6 单煎和合煎含量差异比较

Fig. 6 Comparison of content difference between DJ and HJ

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

2.6 讨论

本实验采用基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的非靶向代谢组学的数据采集方法, 快速评价大承气汤传统合煎汤剂与配方颗粒煎剂的化学一致性, 并采用 OPLS-DA 结合 t 检验从整体上判断两者的化学成分差异, 揭示大承气汤煎制过程中可能发生变化的成分。相较于传统的指纹图谱或多指标含量测定, 该方法能更快速、全面地比较汤剂和配方颗粒煎剂, 并通过结合多元统计分析, 揭示潜在在差异成分, 这些成分可进一步通过紫外光谱、质谱信息以及对照品比对和文献报道得到鉴定。该方法可较为全面地分析大承气汤传统汤剂与配方颗粒化学成分的差异。通过研究发现大承气汤单煎和合煎在化学成分的种类和数目上无差异, 但一些化学成分的含量存在明显差异, 共鉴定出 18 个差异成分, 为 3 个黄酮苷类、3 个蒽醌类、2 个有机酸类、3 个木脂素类、4 个苯乙醇苷类、1 个酚类和 2 个三萜类, 主要是芸香柚皮苷、柚皮素、橙皮素、柠檬素、木兰苷 F、毛蕊花糖苷、大黄酸、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷等成分。合煎液中芸香柚皮苷、柚皮素、橙皮素、柠檬素和毛蕊花糖苷等成分的含量显著高于单煎液, 而大黄酸、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷等成分在合煎过程中含量显著降低, 可能是芒硝的离子溶出改变了溶液极性, 促使某些化合物优先溶出, 同时水煎液 pH 值的变化抑制了游离蒽醌类成分的溶出^[18], 而厚朴、枳实等药渣在合煎过程中会吸附部分游离蒽醌类成分, 导致其含量降低^[19]。阳明腑实证常伴随严重的肠道及全身炎症反应综合征, 芸香柚皮苷、柚皮素、橙皮素、柠檬素和毛蕊花糖苷等成分具有抗炎、抗氧化、抗菌、促进胃肠平滑肌收缩和保护肠道屏障等多种药理活性^[20-23], 是枳实与厚朴为佐药发挥行气除满的主要活性成分, 这些成分在合煎中含量提高, 可有效协同大黄与芒硝的峻下之力, 以实现大承气汤“通腑泄热”的治疗作用。研究表明, 大黄酸、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷存在潜在的肝肾毒性^[24-25], 可诱导血清 AST、LDH 及肝脏 TNF-α 升高, 导致肝损伤^[24-25], 且单味大黄饮片水煎液的肝细胞毒性与其游离蒽醌类成分含量呈正相关^[26], 其在合煎中含量降低, 可降低大黄饮片单独应用的毒副作用。这表明合煎可有效提高大承气汤的治疗效果, 降低大黄饮片水煎液潜在的肝肾毒性。因此芸香柚皮苷、柚皮素、橙皮素、柠檬素、毛蕊花糖苷、大黄酸、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷等成分可能是大承气汤配伍应用发挥增效减毒作用的潜在质量标志物。但本研究仍有一定的局限性, 在采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 进行差异成分区分及鉴定时, 缺乏对照品且由于数据库不完善, 无法区分差异化化合物及其同分异构体, 因此还有毛蕊花糖苷及其同分异构体 3 个成分未分开, 后续将进一步改善研究。

3 结 论

本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术联合多元统计分析方法评估了大承气汤单煎液与合煎液的化学成分差异,共鉴定出大承气汤化学成分 82 种,发现合煎与单煎混合冻干粉的主要化学成分相同,但含量存在差异。筛选出单煎液与合煎液间的 18 个差异化学成分,合煎液能显著提高大承气汤中芸香柚皮苷、柚皮素、橙皮素、柠檬素和毛蕊花糖苷等成分的含量,同时显著降低大黄酸、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷等蒽醌类成分的含量,这些成分可能是大承气汤配伍应用发挥增效减毒作用的物质基础。研究结果可为大承气汤复方及配方颗粒在临床上的灵活应用提供参考。

参考文献:

- [1] Wang S H, Li J X, Shang L R, Chen L Y, Zhou F Y, Zhang M Q, Lin Q F, Cai Y J, Zhang J L, Wang Y, Yang S L. *Phytomedicine*, **2025**, 136: 156272.
- [2] Sun W J, Chen Y F, Li H C, Liu H, Li J, Chen J, Feng D X. *Biomed. Pharmacother.*, **2020**, 121: 109656.
- [3] Tang Y C, Wang L, Guo X T, Zhou S J, Chen W, Li W L. *J. Instrum. Anal.* (汤瑜晨, 王龙, 郭栩廷, 周孙俊, 陈伟, 李文龙. 分析测试学报), **2023**, 42(8): 1064-1071.
- [4] Lai C J S, Chen Z Y, Qiu Z D, Chen Y R, Wang C Y, Mei N J, Liu J R. *China J. Chin. Mater. Med.* (赖长江生, 陈泽炎, 邱子栋, 陈友润, 王重阳, 梅南菊, 刘锦芮. 中国中药杂志), **2022**, 48(4): 890-899.
- [5] Zhang W, Sun Y F, Jin C S, Gao B, Ren C J, Zhao H S. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (张伟, 孙叶芬, 金传山, 高波, 任萃姣, 赵宏苏. 中草药), **2022**, 53(22): 7221-7233.
- [6] Qiu Z D, Wei X Y, Chen Z Y, Guo J, Huang L Q, Lai C J S. *Phytomedicine*, **2022**, 100: 154059.
- [7] Wang C Y, Chen Y R, Zhang K W, Huang Y, Zhao M, Wang Q, Zhang Y Q, Lai C J S. *Microchem. J.*, **2025**, 213: 113569.
- [8] Qiu Z D, Zhang X P, Wei X Y, Chingin K, Xu J Q, Gao W, Yang B, Wang S L, Tan T, Liu E H, Xu H Y, Cui G H, Guo J, Wang Y N, Shen Y, Zhao Y J, Chen H W, Lai C J S, Huang L Q. *J. Ethnopharmacol.*, **2021**, 277: 114216.
- [9] Li S M, Chen W T, Bi X L, Xu A L, Xiao G L, Jiang J Y, Zhang J N, Li Y X. *J. Guangdong Pharm. Univ.* (李素梅, 陈伟韬, 毕晓黎, 胥爱丽, 肖观林, 江洁怡, 张靖年, 李养学. 广东药科大学学报), **2023**, 39(5): 68-74.
- [10] Lin J, Han C X, Dai N, Bi S W, Du D, Xia Q. *Phytomedicine*, **2023**, 113: 154727.
- [11] Zeng P, Wang X M, Su H F, Zhang T, Ning L N, Shi Y, Yang S S, Lin L, Tian Q. *Phytomedicine*, **2021**, 90: 153630.
- [12] Qi H W, Xu X, Wen R, Gao D S, Wang C R, Liu Y F, Jin H L, Liang X M. *J. Instrum. Anal.* (戚华文, 徐鑫, 温柔, 高德嵩, 王超然, 刘艳芳, 金红利, 梁鑫森. 分析测试学报), **2021**, 40(1): 72-78.
- [13] Liu J J, Liu Y M, Liang H, Peng Z C, Chen X D, Sun D M, Deng Y L. *Chin. Tradit. Pat. Med.* (刘金金, 刘艳梅, 梁慧, 彭致铖, 陈向东, 孙冬梅, 邓亚利. 中成药), **2024**, 46(4): 1195-1208.
- [14] Zhang C, Li L, Xiao Y Q, Tian G F, Chen D D, Wang Y, Li Y T, Huang W Q. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **2010**, 12(12): 1026-1032.
- [15] Luo S N, Peng Z C, Fan Q, Cai S K, Wei M, Cheng X R, Sun D M. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Formulae* (罗思妮, 彭致铖, 范倩, 蔡盛康, 魏梅, 程学仁, 孙冬梅. 中国实验方剂学杂志), **2021**, 27(23): 1-10.
- [16] Lu J, Wang T T, Liang K, An R, Wang X H, Chen Y. *Chin. Tradit. Pat. Med.* (陆杰, 王婷婷, 梁琨, 安靓, 王新宏, 陈颖. 中成药), **2020**, 42(12): 3275-3280.
- [17] Ye M, Han J, Chen H B, Zheng J H, Guo D. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2007**, 18(1): 82-91.
- [18] Xie Z, Zhou Y, Chen Y, Li Y X, Mai L Y, Zhong M Y. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (谢臻, 周媛, 陈勇, 李怡萱, 麦蓝尹, 钟明玉. 中草药), **2013**, 44(24): 3476-3481.
- [19] Wang Y S, Deng J H, Wei H Z, Rao Y, Shen F Y, Jin H X. *China J. Chin. Mater. Med.* (王跃生, 邓杰华, 魏惠珍, 饶毅, 申峰云, 金浩鑫. 中国中药杂志), **2013**, 38(5): 694-697.
- [20] Ri M H, Li M Y, Xing Y, Zuo H X, Li G, Li C, Ma J, Jin X. *Phytother. Res.*, **2023**, 37(4): 1293-1308.
- [21] Chen S S, Jiang J P, Chao G Q, Hong X J, Cao H J, Zhang S. *Front. Pharmacol.*, **2021**, 12: 622744.
- [22] Tundis R, Loizzo M R, Menichini F. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **2014**, 54(2): 225-250.
- [23] Huang W J, Xie X L, Sheng Y M. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (黄文静, 谢兴亮, 盛艳梅. 中草药), **2013**, 44(23): 8256-8268.
- [24] Wang S X, Kong X, Chen N, Hu P W, Boucetta H, Hu Z L, Xu X, Zhang P, Zhan X, Chang M, Cheng R, Wu W, Song M, Lu Y T, Hang T J. *Front. Pharmacol.*, **2022**, 13: 1007284.
- [25] Liu H, Di Y R, Yu Y, Li P H, He Y Y, Yu H Y, Gao X M, Pu W L. *J. Ethnopharmacol.*, **2025**, 350: 120069.
- [26] Wang C Y, Liu X X, Li Y Q, Li D K, Sun Z X. *Carcinog. Teratog. Mutagen.* (王呈谕, 刘晓璇, 李轶群, 李登科, 孙震晓. 癌变·畸变·突变), **2020**, 32(3): 215-220.