

# 基于“辛甘化阳,酸甘化阴”思想的桂枝-白芍药对配比的液质联用分析\*

裴艳玲,吴志生\*\*,史新元,潘晓宁,刘晓娜,乔延江\*\*

(北京中医药大学中药学院 北京 100102)

**摘要:**目的:桂芍等量配伍(1:1),一辛散一酸收,一治卫强一治营弱,解表和里,调和营卫。芍药倍用(1:2),酸甘化阴以滋阴养血。基于桂枝-白芍药对1:1和1:2的中医临床用药特点,探讨桂芍药对不同配比的含量变化。方法:采用液质联用技术,乙腈-0.1%乙酸梯度洗脱,正离子模式,毛细管温度350℃,气化温度300℃,考察桂芍配比1:1和1:2及其单味药水煎液,比较1:1和1:2配比成分及含量差异。结果:桂枝中前花鞣B2,2-羟基桂皮醛有明显峰,其中2-羟基桂皮醛在桂枝当量的混煎液中基本无峰,前花鞣B2含量在1:1配比高于1:2配比;白芍中白芍酮、芍药苷亚硫酸酯、1,2,3,6-四-O-没食子酰-β-D-葡萄糖、芍药苷、芍药苷同分异构体、苯甲酰芍药苷及苯甲酰芍药苷同分异构体有明显的峰,其中1,2,3,6-四-O-没食子酰-β-D-葡萄糖、芍药苷、苯甲酰芍药苷、苯甲酰芍药苷同分异构体含量1:1配比高于1:2配比,而白芍酮、芍药苷亚硫酸酯、芍药苷同分异构体含量1:2配比高于1:1配比。结论:在桂芍药对不同配比中,前花鞣B2、1,2,3,6-四-O-没食子酰-β-D-葡萄糖、芍药苷、苯甲酰芍药苷、苯甲酰芍药苷同分异构体含量1:1配比高于1:2配比,而白芍酮、芍药苷亚硫酸酯、芍药苷同分异构体含量1:2配比高于1:1配比。研究不同配比桂芍药对的成分含量差异,为中医临床辨证论治、合理用药提供支撑。

**关键词:**药对 桂枝 白芍 合化思想

doi: 10.11842/wst.2014.10.022 中图分类号:R284.1 文献标识码:A

药对即药物的相互配伍,在药物的相互配伍中,以两味药最为基本<sup>[1,2]</sup>。桂枝汤为张仲景群方之首,全方蕴含着“调和”的思想,主要是通过桂芍药对配伍体现。桂枝为樟科樟属植物肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)的干燥嫩枝,味辛、甘,具有解表散寒、温通经脉、助阳化气、平冲降气等功效。辛能发散、行气、行血,甘能补益、和中、缓急,温能祛寒、温经,归心、肺、膀胱经。白芍为毛茛科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall)的去外皮干燥根,味苦、酸,具有养血敛阴、柔肝止痛、平抑肝阳等功效。苦能通泄、清泄、燥湿,酸能收敛、固涩,性微寒,归肝、脾经<sup>[3-5]</sup>。

《黄帝内经》中记载“辛甘发散为阳,酸苦涌泄为阴”,根据“五味合化”思想,桂枝汤中桂芍等量配伍(1:1),一辛散一酸收,一治卫强一治营弱,一开一合,一表一里,使发汗而不伤阴,止汗而不留邪。小建中汤中芍药倍用(1:2),以桂枝左芍药以致荣气,不是采用桂枝汤的辛散之性,而是和脾胃、调阴阳,倍芍药酸甘化阴以滋阴养血,与原方配伍意义上全然不同<sup>[6,7]</sup>。

“中医不传之密在量”,方剂中药味的量决定了该方的作用趋向,方剂中核心药对的量,更是起到了至关重要的作用<sup>[8,9]</sup>。虽然,目前已有关于桂枝、白芍单味药的化学成分研究报道<sup>[10-14]</sup>,但关于不同比例桂枝-白芍配伍的物质基础研究较少。本文针

收稿日期:2013-11-04

修回日期:2014-04-01

\* 北京中医药大学自主课题(2013-JYB22-XS-096):基于分析设计空间的中药色谱指纹图谱方法优化研究,负责人:彭严芳。

\*\* 通讯作者:乔延江,本刊编委,教授,博士生导师,主要研究方向:中药质量控制;吴志生,讲师,主要研究方向:中药质量控制。

对桂芍药对两种代表性配比及其单味药成分进行分析,旨在找到药对配伍的物质基础,为临床合理用药提供支撑。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与材料

Accela 型高效液相色谱仪(美国 Thermo 公司)包括二元泵、真空脱气泵、Accela Open AS 自动进样器、柱温箱, MDS Trap XCT 质谱仪(美国 Thermo 公司), C<sub>18</sub> 色谱柱(美国 Agilent 公司)(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)。乙酸(质谱纯, 美国 Fisher 公司), 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher 公司), 纯净水(杭州娃哈哈集团)。桂枝和白芍饮片均购于北京同仁堂药店, 桂枝、白芍药材由北京中医药大学刘春生教授鉴定。

### 1.2 色谱条件

采用 Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱, 柱温 25 ℃, 采集波长 254 nm, 以乙腈 -0.1% 乙酸为流动相, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 进行梯度洗脱, 洗脱条件见表 1<sup>[15-19]</sup>。

### 1.3 质谱条件

采用 MDS Trap XCT 质谱仪(美国 Thermo 公司), 雾化气和干燥气均为氮气(纯度 >99.99%), 碰撞气氦气(纯度 >99.99%), 正离子模式, 电压 4kV, 毛细管电压 25V, 镜筒透镜电压 110V, 毛细管温度 350 ℃, 气化温度 300 ℃, 鞘气体流速 30 L·min<sup>-1</sup>, 辅助气体流速 10 L·min<sup>-1</sup><sup>[20,21]</sup>。

### 1.4 供试品的制备

取桂枝 18 g、白芍 18 g、桂芍药对配比 1:1 (桂枝 9 g、白芍 9 g)、桂芍药对配比 1:2 (桂枝 6 g、白芍 12 g) 4 种组成, 分别置于 500 mL 圆底烧瓶中, 加水 180 mL 煮沸提取 1 h, 共提取 2 次, 抽滤并合并滤液, 浓缩至一定体积, 转移至 100 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 即得母液。

分别取桂枝、白芍母液 1 mL, 定容至 5 mL (样品 1、2), 取桂芍药对配比 1:1 母液 2 mL 定容至 5 mL (样品 3, 其中桂枝白芍的相对浓度与 1、2 相同),

取桂芍药对配比 1:2 母液 1.5 mL 定容至 5 mL (样品 4, 其中白芍的相对浓度与 1、2 相同), 取桂芍药对配比 1:2 母液 3 mL 定容至 5 mL (样品 5, 其中桂枝的相对浓度与 1、2 相同), 过 0.45 μm 微孔滤膜, 制得供试品溶液, 其中样品 3 中桂枝、白芍当量与样品 1、2 相等, 样品 4 中白芍当量与样品 2 相等, 样品 5 中桂枝当量与样品 1 相等。

## 2 结果与分析

### 2.1 液相条件的选择

分别考察乙腈 -0.1% 甲酸、乙腈 -0.1% 磷酸、乙腈 - 水、乙腈 -0.1% 乙酸等 4 种二元体系, 考虑到与质谱连用, 最终确定以乙腈 -0.1% 乙酸作为流动相的二元梯度洗脱色谱条件。

### 2.2 波长的选择

通过对桂枝、白芍提取液在上述流动相条件下进行 HPLC 的 DAD 检测器测定, 在 190—400 nm 之间设置 230、254、296、320 nm 4 个波长, 发现在 254 nm 波长下, 吸收峰相对较多且基线平滑, 所以选定 254 nm 作为实验波长进行 HPLC-MS<sup>n</sup> 实验。

### 2.3 桂枝和白芍单味药及不同配比药对的质谱分析

桂枝和白芍单味药及其不同配比药对供试品溶液在设定的条件下进行 HPLC-MS<sup>n</sup> 分离与分析, 由图 1 可见, 桂枝在 24.62、39.41 min 两处有明显吸收峰, 白芍在 6.59、18.92、25.91、26.78、28.09、35.62、45.48、46.49 min 有明显的吸收峰, 对这些峰位置的桂枝和白芍单味药及其不同配比药对成分进行分析, 确定分析物, 根据峰面积变化, 辨识含量差异。

### 2.4 桂枝和白芍单味药及不同配比药对的成分分析

分析桂枝、白芍单煎液和不同配比的混煎液的总离子流图, 根据分子离子峰辨识出峰位置的物质, 比较峰面积来确定含量的差异, 以此分析桂枝白芍药对的物质基础, 结果如表 2 所示。

由表 2 可见, 桂枝在 24.62、39.41 min 出峰的物质分别是前花甙 B2 和 2- 羟基桂皮醛, 其中前花甙 B2 1:1 配比含量高于 1:2 配比, 2- 羟基桂皮醛在混合液中基本没峰。白芍在 6.59、18.92、25.91、26.78、28.09、35.62、45.48、46.49 min 分别出峰, 代表成分如表所示, 其中 1, 2, 3, 6-四-O-没食子酰-β-D- 葡萄糖、芍药苷、苯甲酰芍药苷、苯甲酰芍药苷同分异构体含量 1:1 配比高于 1:2 配比, 而白芍

表 1 梯度洗脱条件

| 时间 /min | 乙腈 /% | 0.1% 乙酸 /% |
|---------|-------|------------|
| 0       | 5     | 95         |
| 10      | 5     | 95         |
| 50      | 40    | 60         |
| 60      | 60    | 40         |
| 70      | 60    | 40         |

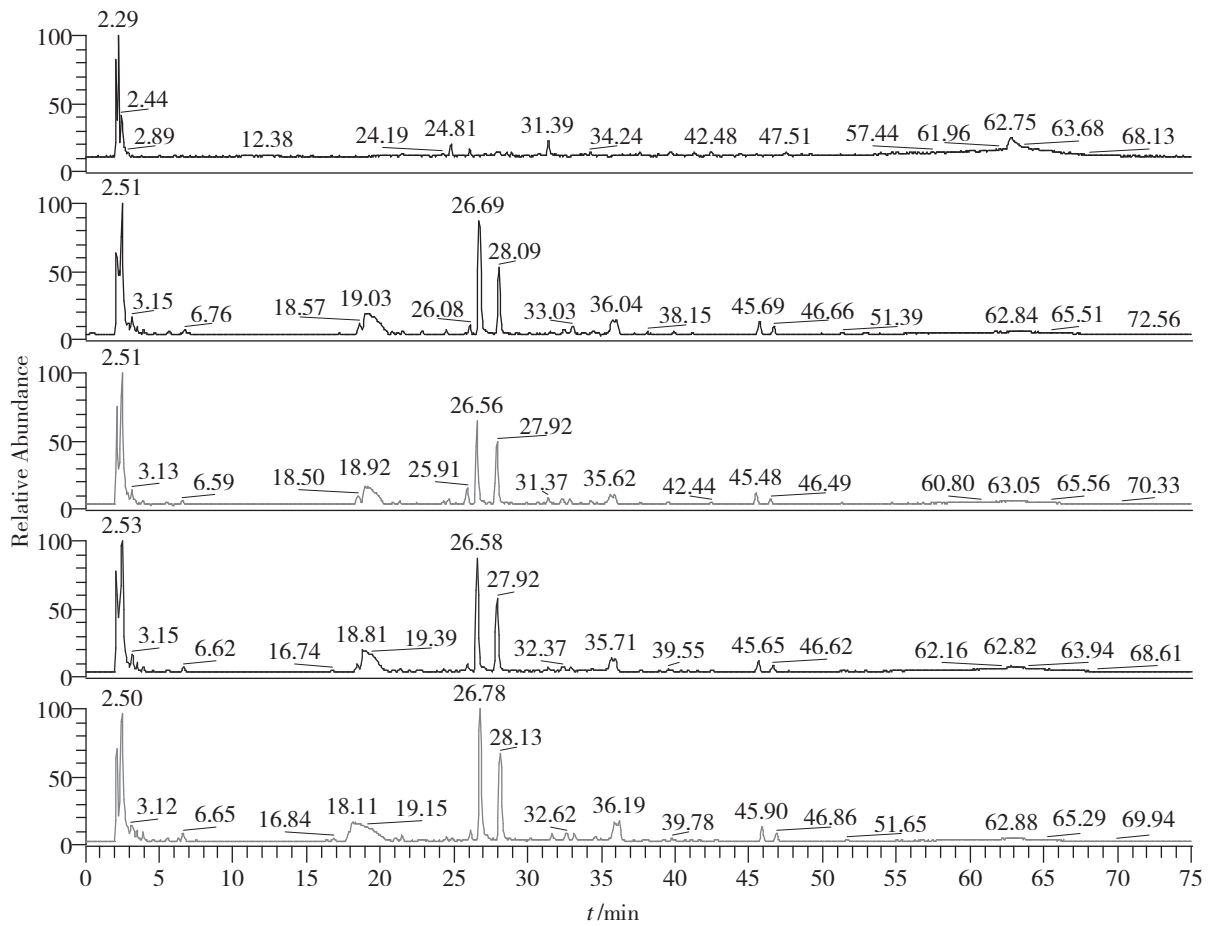


图1 桂枝和白芍单味药及其不同配比药对总离子流图

注:从上到下依次是桂枝、白芍、1:1、1:2(白芍当量相等)、1:2(桂枝当量相等)。

表2 桂枝和白芍单味药及不同配比药对成分及含量分析

| 时间/min | 分子离子峰  | 辨识物质                     | 桂枝峰面积              | 白芍峰面积              | 1:1峰面积             | 1:2(白)峰面积          | 1:2(桂)峰面积          |
|--------|--------|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 6.59   | 383.13 | 白芍酮                      | —                  | $1.27 \times 10^8$ | $6.57 \times 10^7$ | $8.05 \times 10^7$ | $1.95 \times 10^8$ |
| 18.92  | 567.11 | 芍药苷亚硫酸酯                  | —                  | $1.80 \times 10^9$ | $1.46 \times 10^9$ | $1.66 \times 10^9$ | $3.26 \times 10^9$ |
| 24.62  | 579.15 | 前花鞣 B2                   | $5.15 \times 10^7$ | —                  | $7.36 \times 10^7$ | $2.33 \times 10^7$ | $4.48 \times 10^7$ |
| 25.91  | 665.20 | 1,2,3,6-四-O-没食子酰-β-D-葡萄糖 | —                  | $1.23 \times 10^8$ | $2.54 \times 10^8$ | $1.40 \times 10^8$ | $3.03 \times 10^8$ |
| 26.78  | 503.15 | 芍药苷                      | —                  | $2.12 \times 10^9$ | $1.37 \times 10^9$ | $1.69 \times 10^8$ | $3.25 \times 10^9$ |
| 28.09  | 503.15 | 芍药苷同分异构                  | —                  | $1.12 \times 10^9$ | $1.10 \times 10^9$ | $1.16 \times 10^9$ | $2.35 \times 10^9$ |
| 35.62  | 503.15 | 芍药苷同分异构                  | —                  | $6.93 \times 10^8$ | $4.41 \times 10^8$ | $5.46 \times 10^8$ | $1.29 \times 10^9$ |
| 39.41  | 147.04 | 2-羟基桂皮醛                  | $4.03 \times 10^7$ | —                  | —                  | —                  | —                  |
| 45.48  | 607.18 | 苯甲酰芍药苷                   | —                  | $2.23 \times 10^7$ | $2.04 \times 10^8$ | $1.61 \times 10^7$ | $3.44 \times 10^8$ |
| 46.49  | 607.18 | 苯甲酰芍药苷同分异构               | —                  | $1.34 \times 10^8$ | $1.13 \times 10^8$ | $1.05 \times 10^8$ | $2.14 \times 10^8$ |

酮、芍药苷亚硫酸酯、芍药苷同分异构体含量 1:2 配比高于 1:1 配比。

### 3 讨论

综上,桂枝、白芍两味药在单煎液和混煎液中含量发生变化,说明不同配比对其成分的溶出有影响。桂枝中 2-羟基桂皮醛在桂枝当量的混煎液中基本无峰,说明白芍的存在抑制了其溶出,而前花甙 B2 在 1:1 配比含量高于 1:2 配比,说明此种物质在桂芍药对不同配比中,由于白芍的存在,溶出有差异;白芍中芍药苷和苯甲酰芍药苷有同分异构体,目前同分异构体的具体物质不明,但在出峰位置是单一物质产生的峰,其中 1,2,3,6-四-O-没食子酰- $\beta$ -D-葡萄糖、芍药苷、苯甲酰芍药苷、苯甲酰芍药苷同分异构体含量 1:1 配比均高于 1:2 配比,说明混煎液中桂枝的量不同程度地促进了这些成分的溶出;而白芍酮、芍药苷亚硫酸酯、芍药苷同分异构体含量 1:2 配比高于 1:1 配比,说明在混煎液中桂枝抑制了这些成分的溶出。

桂枝-白芍作为传统的核心药对,是中医方剂的重要组成部分。桂枝、白芍单味药在化学成分上差异较大,不同配比的桂芍药对在成分含量上存在差别。桂芍药对不同配比表征不同的病症,1:1 配比使卫阳通畅而不伤营阴,营阴收敛而不滞卫阳,而在 1:1 的基础上加大芍药的比例,药性偏于里,入营血,走脏腑,减其辛散而增其益营之力。此符合五味化中“辛甘化阳、酸甘化阴”的思想,研究两种配比的成分差异,从物质基础的角度研究“辛甘化阳、酸甘化阴”思想,为桂芍核心药对在临床上的使用提供指导。

### 参考文献

- 孙洋,陈婷,徐强.从药对的角度考察复方配伍规律.世界科学技术-中医药现代化,2004,6(1):17-21.
- Chen Y, Li X R, Zhao J, et al. Chemical component analysis of volatile oil in drug pair Herba Ephedrae-Ramulus Cinnamomi by GC-MS and CRM. *J Cent South Univ T*, 2007, 14(4):509-513.
- 刘静,傅杰,丁舸.桂枝、白芍核心药对在方剂配伍中的意义.中医研究,2012,25(5):1-3.
- 林跃红,李惠民,张晓民,等.白芍配伍桂枝抗炎作用的实验研究.实用临床医药杂志,2008,12(7):22-25.
- 陈丽平.白芍配合桂枝抗炎作用分析.中国现代药物应用,2011,5(4):175-176.
- 汤尔群,黄玉燕.《黄帝内经》药性理论浅析.江西中医学院学报,2011,23(6):17-19.
- 窦夏睿.从桂枝、白芍的比例看桂枝汤中的“调和”思想.山西中医学院学报,2000,1(1):60-61.
- 赵运昇.中药药对临床运用体会.亚太传统医药,2013,9(5):61-62.
- 傅杰,刘静,丁舸.浅析桂芍药对不同药量配伍意义.中国中医基础医学杂志,2013,19(1):88-89.
- 刘江云,杨学东,徐丽珍,等.桂枝的化学成分研究.中草药,2002,33(8):681-683.
- 张晓燕,王金辉,李锐.白芍的化学成分研究.沈阳药科大学学报,2001,18(1):30-32.
- 杨琳,赵庆春,谭菁菁,等.桂枝的化学成分研究.实用药物与临床,2010,13(3):183-185.
- Wang Q, Liu R X, Guo H Z, et al. Simultaneous LC determination of major constituents in red and white peony root. *Chromatographia*, 2005, 62(11):581-588.
- Ngoc T M, Khoi N M, Ha D T, et al. Xanthine oxidase inhibitory activity of constituents of Cinnamomum cassia twigs. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(14):4625-4628.
- 李红成,夏云华,曹岗.中药白芍指纹图谱的研究进展.中华中医药学刊,2013,31(2):282-284.
- 杨柳,许瞬军,田润涛.白芍的高效液相色谱指纹图谱研究.药理学报,2007,42(1):71-74.
- 戴德舜,曹进,王义明,等.桂枝汤 A 部分指纹图谱的确定及比较(一).中国实验方剂学杂志,2001,7(2):1-4.
- 曹进,戴德舜,王义明,等.桂枝汤 A 部分指纹图谱归属(一).中国实验方剂学杂志,2001,7(3):1-4.
- 王连芝,董静艳.桂枝与白芍配伍的 HPLC 指纹图谱研究.中医药信息,2010,27(4):32-34.
- Li S L, Song Z J, Franky F K, et al. Chemical profiling of Radix Paeoniae evaluated by ultra-performance liquid chromatography/photodiode-array/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Pharmaceut Biomed*, 2009, 49:253-266.
- 母会丹,朱靖博,丁燕,等.白芍化学成分的上PLC/Q-TOF-MS分析.分析化学实验室,2013,32(7):113-117.
- Zhang J Y, Zhang Q, Zhang H X, et al. Characterization of polymethoxylated flavonoids(PMFs)in the peels of 'Shatangju' mandarin(citrus reticulata blanco)by online high-performance liquid chromatography coupled to photodiode array detection and electrospray tandem mass spectrometry. *J Agr Food Chem*, 2012, 60:9023-9034.

## Study on Drug Pair of Cassia Twig and White Peony Root by HPLC/MS Analysis Based on Theory of "Xin-Gan Hua-Yang and Suan-Gan Hua-Yin"

2183 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]



Pei Yanling, Wu Zhisheng, Shi Xinyuan, Pan Xiaoning, Liu Xiaona, Qiao Yanjiang  
(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**Abstract:** This article was aimed to study the different clinical characteristics using drug pair of Cassia twig and white peony root with the contents ratio of 1:1 and 1:2. Based on the different clinical treatment of drug pair of *Cassia twig* and white peony root, different compositional ingredients in ratio of 1:1 and 1:2 were illuminated by HPLC/MS method. The drug pair of *Cassia twig* and white peony roots in ratio of 1:1 and 1:2 and single herbs were extracted for HPLC/MS analysis. A protocol was followed, including acetonitrile – 0.1% acetic acid with gradient elution, positive mode, 350°C capillary temperature and 300°C vaporization temperature. The results showed that Procyanidol B2 and 2-Hydroxy cinnamaldehyde can be extracted from single *Cassia twig*, but 2-Hydroxy cinnamaldehyde cannot be detected in drug pair. It showed the contents of Procyanidol B2 in 1:1 ratio was more than 1:2 ratio. Simultaneously, Palbinone, paeoniflorin sulfonate, 1,2,3,6-Tetra-*O*-galloyl- $\beta$ -*D*-glucose, Paeoniflorin, Paeoniflorin isomers, Benzoylpaeoniflorin, and Benzoyl Paeoniflorin isomers can also be dissolved in white peony root. In addition, the contents of 1,2,3,6-Tetra-*O*-galloyl- $\beta$ -*D*-glucose, Paeoniflorin, Benzoylpaeoniflorin, and Benzoyl Paeoniflorin isomers in 1:1 were more than 1:2. The contents of Palbinone, paeoniflorin sulfonate and Paeoniflorin isomers in 1:2 were more than 1:1. It was concluded that Procyanidol B2, 1,2,3,6-Tetra-*O*-galloyl- $\beta$ -*D*-glucose, Paeoniflorin, Benzoylpaeoniflorin and Benzoyl Paeoniflorin isomers in 1:1 were more than 1:2. The contents of Palbinone, Paeoniflorin sulfonate and Paeoniflorin isomers in 1:2 were more than 1:1. It provided a scientific basis for traditional Chinese medicine treatment using rational drug pair.

**Keywords:** drug pair, *Cassia twig*, white peony root, composite gasification thought

(责任编辑:张 曦, 责任译审:王 晶)