

中药复方配伍理论下生血宝复方化学成分溶出规律研究

李世雄^{1,2}, 赵思宇¹, 李源¹, 何文婧⁴, 张喜利^{1,2*}, 刘文龙^{1,2,3*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

2. 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

3. 中西医结合病原生物学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

4. 长沙医学院中医学院, 湖南 长沙 410219

摘要: **目的** 通过检测 7 种配伍及 7 个单味组成药的单个化学成分与总响应成分的溶出量及变化情况, 探讨生血宝复方配伍理论背后的科学内涵。 **方法** 根据生血宝复方中君臣佐使组方规律将各单味药重新进行配伍分组, 建立 16 种成分 (原儿茶酸、原儿茶醛、红景天苷、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、二苯乙烯苷、木犀草苷、毛蕊异黄酮、特女贞苷、白藜芦醇、木犀草素、蟛蜞菊内酯、芒柄花素、早莲苷 A、大黄素、大黄素甲醚) 同时含量测定的超高效液相色谱 (UPLC)-二极管阵列检测器 (PDA) 方法学, 并运用总量统计矩等方法进行定性定量分析。 **结果** 7 种配伍分组 (君、臣、佐使、君加臣、君加佐使、臣加佐使、复方) 16 个成分的总溶出量前 3 位的是 E (君+佐使)、复方组、C (佐使), 分别为 2.956 3、2.884 6、2.007 2 mg/g, 与复方指纹图谱相似度最高前 3 位是 D (君+臣)、B (臣) 和墨旱莲, 其值分别为 0.767、0.754、0.711。 **结论** 从中药化学成分溶出规律角度探讨了中药复方配伍理论科学内涵, 研究结果揭示了生血宝复方中各成分的溶出度受复方配伍规律的影响与支配, 同时也为生血宝复方制剂的现代化研究奠定了基础。

关键词: 中药现代化; 中药复方; 生血宝; 配伍理论; 溶出规律; 君臣佐使; 中药方剂; 原儿茶酸; 原儿茶醛; 红景天苷; 芍药苷; 毛蕊异黄酮苷; 二苯乙烯苷; 木犀草苷; 毛蕊异黄酮; 特女贞苷; 白藜芦醇; 木犀草素; 蟛蜞菊内酯; 芒柄花素; 早莲苷 A; 大黄素; 大黄素甲醚

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)14-4298-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.14.009

Study on dissolution law of chemical constituents of Shengxuebao compound under compatibility theory of TCM compound

LI Shi-xiong^{1,2}, ZHAO Si-yu¹, LI Yuan¹, HE Wen-jin⁴, ZHANG Xi-li^{1,2}, LIU Wen-long^{1,2,3}

1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification of TCM, Changsha 410208, China

3. Hunan Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Changsha 410208, China

4. College of Traditional Chinese Medicine, Changsha Medical University, Changsha 410219, China

Abstract: Objective The scientific connotation behind the compatibility theory of the Shengxuebao compound was explored by detecting the dissolution and changes of a single chemical component and the total response component of seven compatibilities. **Methods** According to the prescription rules of monarch and minister assistants in the Shengxuebao compound, the single herbs were regrouped. The UPLC-PDA method was established for the simultaneous determination of 16 components (protocatechuic acid, protocatechuic aldehyde, salidroside, paeoniflorin, calycosin, stilbene glycoside, luteolin, calycosin, ligustrum lucidum glycoside, resveratrol, luteolin, wedelolactone, formononetin, ecliptin A, emodin and physcion) and the total statistical moment method was used for qualitative and quantitative analysis. **Results** The top three of the total dissolution of 16 components in 7 compatibility groups (monarch, minister, assistant, monarch plus minister, monarch plus assistant, minister plus assistant and compound) were E

收稿日期: 2022-02-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81874344); 湖南省自然科学基金资助项目 (2021JJ30514); 湖南省中医药管理局项目 (2021073); 湖南省中医药管理局项目 (2021204)

作者简介: 李世雄, 男, 硕士研究生, 从事中药质量研究。Tel: 15339772189 E-mail: 576555387@qq.com

***通信作者:** 张喜利, 女, 副高, 硕士生导师, 从事中药质量研究。Tel: 18229764227 E-mail: xiaoli610@126.com

刘文龙, 男, 教授, 博士生导师, 从事中药质量与药剂学等研究工作。Tel: 13974821547 E-mail: dragon5240@126.com

(monarch plus assistant), compound and C (assistant), which were 2.956 3, 2.884 6 and 2.007 2 mg/g, and the top three fingerprints with the highest similarity to the compound fingerprints were D (monarch + minister), B (minister) and *Eclipta prostrata*, and their values were 0.767, 0.754 and 0.711. **Conclusion** The scientific connotation of the compatibility theory of traditional Chinese medicine compounds was discussed from the perspective of the dissolution law of chemical components of traditional Chinese medicine. The research results revealed that the dissolution of each component in the Shengxuebao compound was affected and controlled by the compatibility law of the compound, and laid the foundation for the modernization of Shengxuebao compound preparation.

Key words: TCM modernization; TCM compound; Shengxuebao; compatibility theory; dissolution law; Junchenzuoshi; TCM prescription; protocatechuic acid; protocatechuic aldehyde; salidroside; paeoniflorin; calycosin; stilbene glycoside; luteolin; calycosin; ligustrum lucidum glycoside; resveratrol; luteolin; wedelolactone; formononetin; ecliptin A; emodin; physcion

中药复方配伍是中医施治的主要方式,为几千年用药沿革的鲜明特色^[1]。中医讲究理法方药、辨证论治,通过中药合理配伍实现临床个体化用药目的^[2]。“君臣佐使”源于《神农本草经》,古人借“君臣佐使”理清中药复方中各单味药的主次和相互关系,针对不同证候发挥不同作用以达到辨证论治目的^[3]。中药方剂的“君臣佐使”表现在:以其中的君药为主要物质基础发挥主要功效,而臣佐使药协助与调和以达到最佳功效与治疗目的^[4]。

复方发挥功效的微观物质基础是中药化学成分,中药化学成分从形成到进入机体发挥疗效历经了几个阶段:第 1 阶段为自然生长或经炮制加工所形成中药及饮片,其物质形态是源头与基础,通过采收天然生长或者种植加工后或经炮制获得;第 2 阶段为中药剂型单元操作所形成的中间体或者制剂,其物质形态通过配伍组方后经制剂单元操作而成;第 3 阶段则是进入体循环至靶点发挥作用时的中药成分群(显效形式),其物质形态通过机体的 ADME(吸收、分布、代谢、排泄)过程形成后发挥功效。中药复方配伍理论在中药成分从第 1 阶段到第 2 阶段的转变过程发挥了重要的指导作用,亦即复方中各单味药在不同的君臣佐使配伍下,其化学成分群的溶出情况不是简单的加减变化规律,与中药的“七情”配伍、“增溶助溶潜溶”以及形成超分子体有关。因此,本实验从不同配伍下中药汤剂的成分溶出情况探讨中药复方配伍理论背后的科学内涵。

生血宝复方由制何首乌、墨旱莲、桑椹、女贞子、白芍、黄芪、狗脊 7 味中药组成,其中以制何首乌为君,是补肝肾、益精血的滋补良药^[5],以墨旱莲、桑椹、女贞子为臣,滋补肝肾,以白芍、黄芪、狗脊为佐使^[6]。目前,临床主要针对放、化疗所致的白细胞减少,缺铁性贫血、化疗后贫血等方

向都具有良好的治疗效果^[7-9],也有选用生血宝合剂讨论辅助治疗新型冠状病毒肺炎的可行性研究分析^[10]。近年来有基于质量源于设计(QbD)理念选择生血宝合剂进行研究,建立了高效液相色谱-紫外-质谱联用(HPLC-UV-MS)定性定量方法^[11],也有采用 HPLC-UV-MS 分析法建立生血宝合剂有效含量测定的方法^[12],但并没有针对生血宝复方配伍理论以及单味药的对比性研究。

本研究从中药复方配伍理论出发,将生血宝复方按照“君臣佐使”的原则重新分成 7 个配伍,连同 7 个单味药一起进行其特征超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱分析,探究“君臣佐使”原则下,生血宝单味药、不同配伍及复方中的 16 种成分在不同配伍下溶出情况及规律,分析中药配伍的关系与作用机制,阐明复方中君臣佐使关系的科学内涵^[13-14],助力中医药现代化研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Acquity UPLC H-Class 型超高效液相色谱仪, PDA 检测器、四元梯度泵、自动进样装置、在线真空脱气装置、柱温箱、Empower3 色谱工作站,美国 Waters 公司; MD205DU 电子分析天平,瑞士梅特勒-托利多公司; SB-5200DTD 型超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司; ZDHW 型电热套,北京中兴伟业仪器有限公司。

1.2 试剂与药材

依据《中国药典》2020 年版及相关文献查询结果^[15-25],选取 16 种对照品分别为毛蕊异黄酮苷(批号 DST201220-013)、2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(批号 DST201021-061)、特女贞苷(批号 DSTDT000901)、红景天苷(批号 DST200425-037)、蟛蜞菊内酯(批号 DST210319-003)、旱莲苷 A(批号 DST200401-021)、木犀草苷(批号

DST201102-016)、木犀草素(批号 DSTDM003202)、白藜芦醇(批号 DST200308-045)、原儿茶醛(批号 DSTDY008001)、毛蕊异黄酮(批号 DST200609-012)、芒柄花黄素(批号 DST201025-011)购于湖南乐美天生物科技有限公司;大黄素(批号 110756-200110)、大黄素甲醚(批号 16070403)、原儿茶酸(批号 110809-200604)购于中国食品药品鉴定研究院;芍药苷(批号 L07M9Q60533)购于上海源叶生物科技有限公司,所有对照品质量分数均大于 98.0%。甲醇(批号 21075141)、乙腈(批号 1903517)均为色谱纯,美国 Tedia 公司;磷酸(批号 20190629-2),分析纯,湖南汇虹试剂有限公司;水为怡宝纯净水;0.22 μm 微孔滤膜(批号 Y8101409),上海安谱实验科技有限公司。

制何首乌、黄芪、桑椹、女贞子、墨旱莲、白芍、狗脊购于湖南老百姓大药房,药材来源均为湖南药圣堂中药科技有限公司,批号分别为 20201101、20210401、20210401、20201101、20210701、20210701、20201101,经湖南中医药大学中药鉴定教研室石继连教授鉴定,制何首乌为蓼科何首乌属植物何首乌 *Polygonum multiflorum*

Thunb.干燥块根的炮制加工品、黄芪为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* Bge. Hsiao 的干燥根、桑椹为桑科桑属植物桑 *Morus alba* L.的干燥果穗、女贞子为木犀科女贞属植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait.的干燥成熟果实、墨旱莲为菊科鳢肠属植物鳢肠 *Eclipta prostrata* L.的干燥地上部分、白芍为毛茛科芍药属植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall.的干燥根、狗脊为蚌壳蕨科金毛狗属植物金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm.的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 生血宝复方及配伍组方供试品溶液的制备 依据《中国药典》2020 年版,以君臣佐使原则,复方剂量严格按照药典“处方”内容,参考“制法”内容^[15],将生血宝复方七味药分为“君一臣三佐使三”后重组的 7 个配伍组方(表 1),按表 1 进行配伍称取,剪碎,加 8 倍量水,浸泡 20 min,再煎煮 1.0 h,趁热抽滤药液,滤渣弃去,滤液减压浓缩至适量,获得其含生药量均为 1.0 g/mL,得供试品溶液,备用。

表 1 按君臣佐使原则重组 7 种配伍组方

Table 1 Reorganization of seven compatible formulas based on the principle of monarch, minister, assistant

组方	制何首乌/g	墨旱莲/g	桑椹/g	女贞子/g	白芍/g	黄芪/g	狗脊/g
A(君药)	645						
B(臣药)		807.5	807.5	807.5			
C(佐使药)					645	645	645
D(君+臣)	645	807.5	807.5	807.5			
E(君+佐使)	645				645	645	645
F(臣+佐使)		807.5	807.5	807.5	645	645	645
G(复方)	645	807.5	807.5	807.5	645	645	645

2.1.2 单味药供试品溶液的制备 分别称取白芍、制何首乌、黄芪、桑椹、女贞子、墨旱莲、狗脊各 4.0 g,剪碎,加 8 倍量水,浸泡 20 min,再煎煮提取 1.0 h,趁热抽滤药液,滤渣弃去,滤液浓缩至 4.0 mL,得单味药供试品溶液,其生药量为 1.0 g/mL。

2.1.3 对照品溶液的制备 分别精密称取对照品毛蕊异黄酮苷 2.6 mg、毛蕊异黄酮 2.9 mg、芒柄花素 3.4 mg,置 1 mL 量瓶中,加甲醇溶液定容,即得;分别精密称取对照品 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷 0.4 mg、特女贞苷 2.6 mg、红景天苷 1.0 mg、蟛蜞菊内酯 0.1 mg、旱莲苷 A 6.2 mg、木

犀草素 0.7 mg、木犀草苷 0.6 mg、白藜芦醇 0.6 mg、原儿茶醛 1.7 mg、大黄素 3.5 mg、大黄素甲醚 3.1 mg、芍药苷 1.3 mg、原儿茶酸 0.8 mg,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶液定容,即得。取各对照品溶液各 200 μL ,制成混合对照品溶液。

2.2 同时测定 16 种成分的方法学研究

2.2.1 色谱条件 Waters Acquity UPLC C₁₈ 色谱柱 T3 (150 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm);流动相为 0.05% 磷酸水溶液-乙腈,梯度洗脱:0~54 min, 26%乙腈;54~57 min, 26%~35%乙腈;57~59 min, 35%乙腈;59~75 min, 80%乙腈;体积流量 0.3 mL/min;

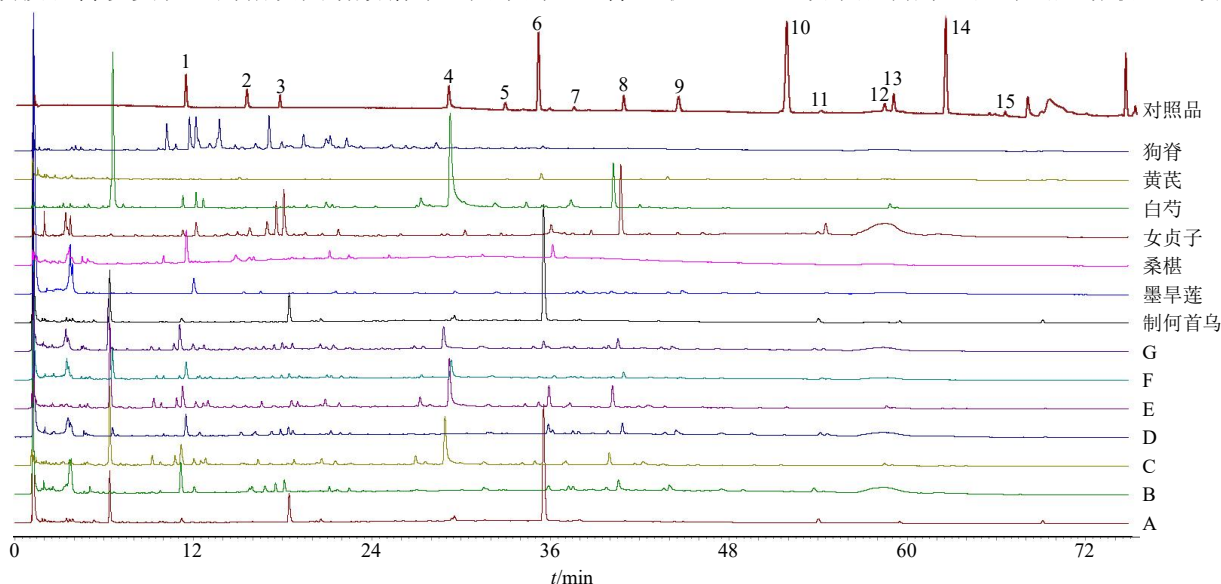
柱温 35 ℃；进样量 1.0 μL；全波长扫描 200~400 nm，图例显示选取波长 220 nm。

2.2.2 UPLC 图的建立 将配伍后的 7 个组方按照“2.1”项下方法制备供试品溶液，均按“2.2.1”项下条件进样，记录各供试品的色谱图。本研究初期针对生血宝复方中共 20 种对照品（例如芹菜素及山柰酚等）进行研究，但由于对照品数量巨大且部分对照品在水提液中含量过低等问题，故选取 7 单味药、7 个配伍组方及 16 种对照品（木犀草素与毛蕊异黄酮保留时间相近，定量时通过分别选取不同最大吸收波长得以实现）的指纹图谱数据导入国家药

典委员会“中药色谱指纹图谱相似度软件评价系统（2012 版）”，得图 1。

2.2.3 线性关系考察 精密吸取“2.1.3”项下配制的混合对照品溶液适量进行稀释，以峰面积为横坐标（*X*），质量浓度为纵坐标（*Y*）进行线性回归，其回归方程和线性范围见表 2。按照“2.2.1”条件进样，同时测定 16 个化合物含量，获得了 16 种对照品的良好线性方程与线性范围，线性关系良好（*r*≥0.999 5），其线性范围均满足本研究的含量测定。

2.2.4 精密度试验 按照已经建立的 UPLC 分析条件，取“2.1.3”项下配制的混合对照品溶液，连续



1-原儿茶酸 2-原儿茶醛 3-红景天苷 4-芍药苷 5-毛蕊异黄酮苷 6-二苯乙烯苷 7-木犀草素 8-特女贞苷 9-白藜芦醇 10-木犀草素 (毛蕊异黄酮, 最大吸收波长 280 nm) 11-蟛蜞菊内酯 12-芒柄花素 13-旱莲苷 A 14-大黄素 15-大黄素甲醚 A~G-各组方 (同表 1)
1-protocatechuic acid 2-protocatechuic aldehyde 3-salidroside 4-paeoniflorin 5-calycosin 6-stilbene glycoside 7-luteolin 8-ligustrazine 9-resveratrol 10-luteolin(Calycosin, maximum absorption wavelength 280nm) 11-wedelolactone 12-formononetin 13-ecliptin A 14-emodin 15-emodin methyl ether A—G—each formula (same as table 1)

图 1 生血宝中单味药、配伍、复方及混合对照品 UPLC 图

Fig. 1 UPLC chromatogram of a single herb, compatibility, compound, and reference substance in Shengxuebao

表 2 16 种对照品的线性方程与线性范围

Table 2 Linear equations and linear ranges of 16 reference substances

成分	线性方程	<i>r</i>	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)	成分	线性方程	<i>r</i>	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)
二苯乙烯苷	$y=1.03 \times 10^{-7}x+0.0529$	0.9999	61.9~570.0	毛蕊异黄酮	$y=5.02 \times 10^{-6}x-1.78 \times 10^{-3}$	0.9999	11.3~118.0
大黄素	$y=3.81 \times 10^{-8}x+3.04 \times 10^{-4}$	0.9999	1.47~19.00	木犀草素	$y=7.09 \times 10^{-6}x+9.97 \times 10^{-3}$	0.9999	423.0~1210.0
大黄素甲醚	$y=4.93 \times 10^{-8}x+1.35 \times 10^{-4}$	0.9999	0.13~10.00	毛蕊异黄酮苷	$y=1.05 \times 10^{-7}x+2.17 \times 10^{-3}$	0.9999	2.60~23.00
蟛蜞菊内酯	$y=7.45 \times 10^{-8}x+1.40 \times 10^{-4}$	0.9999	0.13~14.00	芒柄花素	$y=1.89 \times 10^{-7}x-5.92 \times 10^{-4}$	0.9999	9.00~28.00
特女贞苷	$y=2.00 \times 10^{-8}x+0.0371$	0.9997	40.0~100.0	木犀草苷	$y=2.47 \times 10^{-7}x-0.0333$	0.9999	42.0~190.0
红景天苷	$y=2.40 \times 10^{-7}x-9.51 \times 10^{-5}$	0.9999	10.3~128.0	原儿茶醛	$y=1.43 \times 10^{-7}x+1.47 \times 10^{-4}$	0.9999	13.5~129.0
旱莲苷 A	$y=2.44 \times 10^{-6}x-2.06 \times 10^{-3}$	0.9999	10.0~57.0	芍药苷	$y=5.00 \times 10^{-6}x+0.0335$	0.9999	52.0~100.0
原儿茶酸	$y=5.48 \times 10^{-8}x+1.56 \times 10^{-4}$	0.9999	2.07~115.00	白藜芦醇	$y=4.01 \times 10^{-6}x+0.0264$	0.9999	9.20~36.00

进样 6 次, 记录色谱图。结果表明该方法的精密符合要求, 测得各相对峰面积 RSD 为 2.75%~4.78%, 说明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 按“2.1.1”项下配制的复方汤剂供试品溶液, 按上述色谱条件下分别于制备后 0、4、8、16、24、48 h 进样, 获得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 为 1.46%~4.55%, 表明在 48 h 内供试品溶液稳定性良好。

2.2.6 重复性试验 按“2.1.1”项下方法平行配制复方汤剂供试品溶液 6 份, 按上述色谱条件进行测定, 记录色谱图, 结果得质量分数的 RSD 为 1.98%~4.88%, 表明实验重复性较良好, 结果表明方法的重复性在误差范围内。

2.2.7 加样回收率试验 取已测定各指标成分含量的复方汤剂供试品溶液 9 份, 分为 3 组, 分别按照已知浓度 50%、100%、150% 3 个水平加入各对照品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 记录色谱图, 获得各对照品平均加样回收率为 96.4%~102.5%, RSD 为 0.66%~3.25%。

2.3 单一成分的溶出量测定

同时测定 16 种化合物在生血宝单味中药及 7 种配伍中的溶出量情况, 从 16 种成分总溶出量可以明显看出, E (君+佐使) 的溶出量最大 (2.956 3 mg/g), 其次为 G 复方 (2.884 6 mg/g), 其结果列

于表 3。本研究中白藜芦醇在单味药及相应配伍中均未检测到。

从表 3 可以看出: ①用本研究建立的方法从 7 个单味药与 7 种配伍中可以检出 15 种成分, 分别存在于除桑椹以外的 6 味中药及配伍中。②可以明显看出与单味药相比, 经复方配伍后溶出量明显减少的成分有: 原儿茶酸、红景天苷、二苯乙烯苷、特女贞苷、蟛蜞菊内酯、旱莲苷 A 和大黄素; 变化不明显的有: 毛蕊异黄酮苷、木犀草素、大黄素甲醚; 明显增加的有: 原儿茶醛、芍药苷、木犀草苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素。③从 16 种成分溶出的总量来看, E (君+佐使) 的溶出量最大 (2.956 3 mg/g), 复方次之 (2.884 6 mg/g), C (佐使) 更次之 (2.007 2 mg/g), 佐使药 (白芍、黄芪、狗脊) 与君药配伍后有明显加强溶出量的作用。但同时发现 E (君+佐使) 总溶出量大于复方约 0.07, 其原因可能为在复方的复杂体系中, 臣药的加入改变了煎煮过程中各化学成分体系的环境, 在其中起到了调协配比的作用。从各单味中药来看, 黄芪的溶出量最大 (1.343 0 mg/g), 制何首乌 (君药) 次之 (1.114 7 mg/g), 女贞子更次之 (0.781 0 mg/g)。

2.4 指纹图谱相似度分析

2.4.1 单味药与配伍之间的相似度分析 将各单味药及不同配伍样品的指纹图谱导入国家药典委员会

表 3 16 种成分在原药材及 7 种配伍下的溶出情况及含量限度

Table 3 Dissolution and limit of content of 16 reference substances in original medicinal materials and 7 kinds of compatibility

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	原儿茶酸 (0.2)	原儿茶醛	红景天苷 (2.0)	芍药苷 (16)	毛蕊异黄酮苷 (0.2)	二苯乙烯苷 (7.0)	木犀草苷	特女贞苷 (7.0)	木犀草素
A	/	/	/	/	/	1.099 1	/	/	/
B	/	/	0.323 1	/	/	/	/	0.086 1	/
C	0.105 4	0.096 5	/	0.233 1	0.067 7	/	0.175 2	/	0.861 2
D	/	/	0.104 4	/	/	0.195 4	/	0.063 0	/
E	0.106 6	0.035 2	/	0.583 0	0.102 3	0.278 5	0.180 1	/	1.012 0
F	0.089 0	0.050 1	0.097 2	0.305 0	0.060 8	/	0.130 0	0.055 0	0.608 8
G	0.108 4	0.091 6	0.154 1	0.466 2	0.061 1	0.170 2	0.390 4	0.062 3	0.873 4
墨旱莲	/	/	/	/	/	/	/	/	/
桑椹	/	/	/	/	/	/	/	/	/
女贞子	/	/	0.616 6	/	/	/	/	0.163 6	/
白芍	/	/	/	0.158 3	/	/	/	/	/
黄芪	/	/	/	/	0.051 3	/	0.081 8	/	0.950 1
狗脊	0.136 2	0.063 8	/	/	/	/	/	/	/

续表 3

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)							总量
	毛蕊异黄酮	蟛蜞菊内酯 (0.4)	芒柄花素	早莲苷 A (2.0)	大黄素 (1.0)	大黄素甲醚 (1.0)	白藜芦醇	
A	/	/	/	/	0.015 2	0.000 7	/	1.115 0
B	/	0.033 2	/	0.057 1	/	/	/	0.499 5
C	0.514 8	/	0.019 2	/	/	/	/	2.073 1
D	/	0.034 0	/	0.028 1	0.005 4	0.001 2	/	0.431 5
E	0.628 8	/	0.023 0	/	0.006 8	0.000 3	/	2.956 6
F	0.155 0	0.018 7	0.004 8	0.003 4	/	/	/	1.577 8
G	0.445 1	0.016 6	0.016 2	0.027 3	0.003 0	0.000 6	/	2.886 5
墨旱莲	/	0.025 3	/	0.035 0	/	/	/	0.060 3
桑椹	/	/	/	/	/	/	/	0.000 0
女贞子	/	/	/	/	/	/	/	0.780 2
白芍	/	/	/	/	/	/	/	0.158 3
黄芪	0.251 2	/	0.008 8	/	/	/	/	1.343 2
狗脊	/	/	/	/	/	/	/	0.200 0

“/” 为未检出，各成分后括号中的数值为原药材中含量限度（为药典中所记载的内容，经过浓度换算获得）

“/” is not detected, the values in parentheses of each component are the limits of content in original medicinal materials

开发的“中药色谱指纹图谱相似度软件评价系统（2012 版）”，计算其相似度值。从表 4 可以看出，①各单味中药及其配伍的指纹图谱间的相似度都不大，说明相似度值可以客观反映其图谱样品来源的一致性；②与 G（复方）相似度最高是 D（君+臣），其值为 0.767，其次是 B（臣）、b（墨旱莲）、A（制何首乌），其相似度分别为 0.754、0.711、0.701，其

他均小于 0.6。

2.4.2 总量统计矩参数及相似度评价系统 应用本团队前期创立的总量统计矩参数及相似度分析方法^[26-29]，分析计算生血宝单、复方总量统计矩三参数及其相似度值，从表 5 可以看出总量零阶矩参数值排在前 3 的依次为 F（臣+佐使）、e（女贞子）和 B（臣药）。表 6 可知 D（君+臣）/（A+B）、E

表 4 所有单味药与配伍之间的相似度分析结果

Table 4 Similarity analysis results of all single herbs and compatibility

样品	相似度													
	制何首乌	墨旱莲	桑椹	女贞子	白芍	黄芪	狗脊	B	C	D	E	F	G	对照
制何首乌	1.000	0.754	0.303	0.049	0.004	0.491	0.029	0.631	0.301	0.718	0.421	0.584	0.701	0.773
墨旱莲	0.754	1.000	0.318	0.067	0.008	0.654	0.049	0.811	0.230	0.835	0.395	0.652	0.711	0.833
桑椹	0.303	0.318	1.000	0.069	0.066	0.205	0.175	0.327	0.183	0.480	0.250	0.460	0.498	0.487
女贞子	0.049	0.067	0.069	1.000	0.014	0.079	0.049	0.440	0.107	0.067	0.101	0.105	0.294	0.380
白芍	0.004	0.008	0.066	0.014	1.000	0.023	0.043	0.020	0.016	0.010	0.012	0.029	0.016	0.203
黄芪	0.491	0.654	0.205	0.079	0.023	1.000	0.062	0.558	0.213	0.550	0.304	0.477	0.465	0.590
狗脊	0.029	0.049	0.175	0.049	0.043	0.062	1.000	0.079	0.129	0.035	0.086	0.083	0.077	0.186
B	0.631	0.811	0.327	0.440	0.020	0.558	0.079	1.000	0.318	0.663	0.392	0.560	0.754	0.866
C	0.301	0.230	0.183	0.107	0.016	0.213	0.129	0.318	1.000	0.242	0.415	0.182	0.640	0.468
D	0.718	0.835	0.480	0.067	0.010	0.550	0.035	0.663	0.242	1.000	0.408	0.674	0.767	0.815
E	0.421	0.395	0.250	0.101	0.012	0.304	0.086	0.392	0.415	0.408	1.000	0.599	0.508	0.583
F	0.584	0.652	0.460	0.105	0.029	0.477	0.083	0.560	0.182	0.674	0.599	1.000	0.572	0.725
G	0.701	0.711	0.498	0.294	0.016	0.465	0.077	0.754	0.640	0.767	0.508	0.572	1.000	0.888
对照	0.773	0.833	0.487	0.380	0.203	0.590	0.186	0.866	0.468	0.815	0.583	0.725	0.888	1.000

(君+佐使)/(A+C)、G(复方)/(A+B+C)的相似度分别为 0.918, 0.953 和 0.948; 表 7 可知 B(臣)/(b+c+d)、F(臣+佐使)/(B+C)的相似度分别为 0.849, 和 0.925; 表 8 可知 C(佐使)/(c+f+g)的相似度为 0.886。通过相似度可以发现单味药与其相应配伍指纹图谱相似度差异性较小, 除臣药配伍总量统计矩中存在相似度值为 0.798、0.773、0.747, 其余均大于 0.800; 与复方相似度最高的为(君+臣)配伍, 为 0.767, 其次为臣药, 值

为 0.754, 其结果可以进一步佐证君臣相须的科学内容。其余结果列于表 5~8。

3 讨论

生血宝复方是滋补肝肾、益气活血的良药。生血宝颗粒剂因其疗效显著被收录于《中国药典》2020 年版中^[15], 为湖南省中药产业发展的重要品种之一。其以制何首乌为君, 墨旱莲、桑椹、女贞子为臣, 白芍、黄芪、狗脊为佐使, 7 味药互相配伍共起滋补肝肾、生津养血之效, 常用于肝肾不足、气

表 5 生血宝单、复方总量统计矩三参数

Table 5 Single herb and compound prescription of Shengxuebao, three values of total statistical moment

药材	总量零阶矩/($\times 10^7 \mu V \cdot s$)	一阶矩/min	二阶矩/min ²	组方	总量零阶矩/($\times 10^7 \mu V \cdot s$)	一阶矩/min	二阶矩/min ²
制何首乌	4.626	18.713	272.890	A	4.626	18.713	272.890
墨旱莲	3.688	9.959	279.266	B	8.502	23.243	345.076
桑椹	3.224	18.307	219.144	C	4.569	20.302	186.892
女贞子	9.703	37.767	330.223	D	4.596	19.224	431.141
白芍	5.217	23.609	177.004	E	5.709	20.980	204.171
黄芪	1.010	13.213	305.753	F	13.147	22.215	291.751
狗脊	5.393	21.684	143.254	G	7.043	19.213	267.609

表 6 君药配伍的总量统计矩相似度分析结果

Table 6 Results of total statistical moment similarity analysis of monarch drug compatibility

样品	相似度					
	D	E	G	A+B	A+C	A+B+C
D	1.000	0.818	0.885	0.918	0.850	0.897
E	0.818	1.000	0.923	0.888	0.953	0.916
G	0.885	0.923	1.000	0.931	0.964	0.948
A+B	0.918	0.888	0.931	1.000	0.906	0.971
A+C	0.850	0.953	0.964	0.906	1.000	0.933
A+B+C	0.897	0.916	0.948	0.971	0.933	1.000

血两虚所致的神疲乏力、腰膝痠软、头晕耳鸣等症状。本研究基于化学成分、药效等方面, 严格考察《中国药典》2020 年版及相关文献查询最终选取了 7 味药中 16 个单一化合物作为溶出情况研究对象, 例如制何首乌中大黄素具有对脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤的保护作用^[30]; 桑椹中的白藜芦醇能够调控细胞炎症因子水平, 修复细胞损伤^[31]; 墨旱莲中木犀草素具有明显的抗炎抗氧化作用等^[32]。众所周知, 单一化合物的溶出情况不仅与本身及溶媒体系的理化性质有关, 还与其所处的化学成分微环境有关。单纯的溶质与溶剂的关系遵循“相似相溶”规

表 7 臣药配伍的总量统计矩相似度分析结果

Table 7 Results of total statistical moment similarity analysis of minister drug compatibility

样品	相似度							
	B	D	F	G	墨旱莲+桑椹+女贞子	A+B	B+C	A+B+C
B	1.000	0.907	0.955	0.895	0.849	0.963	0.955	0.942
D	0.907	1.000	0.891	0.885	0.773	0.918	0.891	0.897
F	0.955	0.891	1.000	0.926	0.819	0.972	0.925	0.979
G	0.895	0.885	0.926	1.000	0.747	0.931	0.926	0.948
墨旱莲+桑椹+女贞子	0.849	0.773	0.819	0.747	1.000	0.813	0.819	0.798
A+B	0.963	0.918	0.972	0.931	0.813	1.000	0.972	0.971
B+C	0.955	0.891	0.925	0.926	0.819	0.972	1.000	0.979
A+B+C	0.942	0.897	0.979	0.948	0.798	0.971	0.979	1.000

表 8 有关佐使药配伍的总量统计矩相似度分析结果
Table 8 Results of total statistical moment similarity analysis of assistant drug compatibility

样品	相似度					
	C	F	G	e+f+g	B+C	A+B+C
C	1.000	0.884	0.910	0.886	0.884	0.892
F	0.884	1.000	0.926	0.857	0.925	0.979
G	0.910	0.926	1.000	0.930	0.926	0.948
e+f+g	0.886	0.857	0.930	1.000	0.857	0.878
B+C	0.884	0.925	0.926	0.857	1.000	0.979
A+B+C	0.892	0.979	0.948	0.878	0.979	1.000

律，其溶解度大小由溶质与溶剂的溶度参数、溶剂的介电常数等综合决定；但倘若为复杂溶质或者混合溶剂，就会出现“增溶、助溶、潜溶”等复杂相互作用情况，其溶解情况将会偏离“相似相溶”理论^[33-35]。因此，中药复方汤剂中检出很多中等极性或弱极性的成分，诸如本研究在生血宝汤剂中检出有蟾蜍菊内酯、芒柄花素、毛蕊异黄酮苷等脂溶性成分。

3.1 单一成分的溶出情况

本研究建立了同时测定 16 个单一化合物的方法学，作了相应含量测定，各组样品和含量测定在同样的提取、检测环境下，进行了 3 组重复验证，以保证其实验结果的正确性。

通过复方和单味药各化学成分对比可以发现，芍药苷、毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素溶出量都有了明显的增加，其中芍药苷具有促进造血功能、抗血栓作用^[36]；毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素作为黄芪主要化学物质，具有显著的保护心脑血管、抗氧化等作用^[37-38]，说明经过配伍煎煮后，相较于单味药，药理效应有了明显的加强。而各配伍组、单味药化学成分的变化更说明了中药化学成分在煎煮过程中的溶出情况会随着配伍变化而变化，其原因是中药复方配伍的变化直接改变了复杂溶质的构成比，从而改变了煎煮过程分散体系的化学微环境，使生血宝复方中 16 种成分溶出情况表现为以上 3 点规律，进而对复方配伍的药效产生了变化。

3.2 总响应成分的溶出情况

本研究从中药指纹图谱相似度定量分析总响应成分的溶出情况，采用中药色谱指纹图谱相似度软件评价系统（2012 版）进行分析，针对各单位中药及其配伍进行相似度研究，发现相似度可以客观反

映各配伍组方与其对应中药的一致性。观察可知君臣药与总复方的相似度最高，说明其与复方相似度的贡献率最大，而君药 A 的相似度低于臣药 B，可能是因为 A 的效应指数（效量比）高，也暗示君臣药对比单用效果强得多；而同为臣药的桑葚、女贞子的相似度与墨旱莲的相似度为何相差如此之大，可能正是说明了对复方总溶出成分的贡献不一样，但最终对临床疗效的贡献还需要做进一步研究。本研究用总响应成分溶出定量数据初步证明了君臣相须、佐使相辅的科学内涵；

再者，本研究采用团队建立的总量统计矩及相似度分析方法进行了相关研究，生血宝复方 G 的总量零阶矩参数值并未排入前 3，说明单味药单提溶出的成分在配伍时不会全部溶出，再经配伍组方后根据组方理论与用药目的选择性地溶出，且复方总成分溶出量并不一定是最多的；根据总量统计矩相似度分析方法具有加和性的特点，如果配伍前后溶出成分是一致的，通过加和性分析其相似度应该很高。这些实验数据进一步表明配伍前后中药成分溶出情况是不一致的，且与君臣佐使配伍规律有关。

总溶出量能从总体上反映复方的总体溶出情况，根据 Hill 量效关系，针对同一个中药复方，不同的总溶出量可以从总体上反映出整个复方的效应变化情况的，故本研究具有一定的现实意义。此外，本研究建立了运用 UPLC 法同时检测 16 种中药单一成分的定性定量方法，该方法简便易操作，重复性好，为生血宝复方质量综合评价提供了保障。本研究从中药成分溶出情况的角度阐释了中药复方生血宝配伍理论的科学内涵，揭示了不同配伍组方影响了其化学成分溶解度，七味中药通过君臣佐使配伍所得的生血宝复方实现了最大溶出度，以达到临床辨证论治的用药目的。故本研究为中医药现代化研究的提供了新思路与新方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 周远, 苏式兵. 中药复方配伍的研究方法及其进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(23): 202-208.
- [2] 庞婷, 麦蓝尹, 陈勇, 等. 中药药对配伍的化学成分变化研究进展 [J]. 中药材, 2015, 38(11): 2429-2434.
- [3] 李飞. 方剂君臣佐使中的君药辨析 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(4): 481-484.
- [4] 全小林, 刘文科. 君臣佐使理论的再理解及其在现代临床处方中的应用 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(8): 1969-1970.

- [5] 钟赣生. 中药学 [M]. 第 3 版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 404.
- [6] 于金高, 唐志书, 刘妍如, 等. 基于“扶正祛邪”理论的生血宝合剂辅助治疗新型冠状病毒肺炎的可行性分析 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(4): 504-511.
- [7] 万水云, 胡敏华, 罗丽. 生血宝合剂联合复方硫酸亚铁叶酸片治疗妊娠合并地中海贫血的效果及对患者妊娠结局的影响 [J]. 中国现代药物应用, 2021, 15(13): 7-10.
- [8] 张世君, 徐征. 生血宝颗粒联合乳酸亚铁治疗儿童缺铁性贫血的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2021, 36(6): 1199-1202.
- [9] 何斌, 杨宇飞, 褚亚军, 等. 生血宝合剂治疗非小细胞肺癌患者化疗后白细胞减少症 210 例多中心随机、双盲对照临床研究 [J]. 中医杂志, 2017, 58(9): 763-767.
- [10] 于金高, 唐志书, 刘妍如, 等. 基于“扶正祛邪”理论的生血宝合剂辅助治疗新型冠状病毒肺炎的可行性分析 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(4): 504-511.
- [11] 周紫楣, 潘坚扬, 龚行楚, 等. 基于 QbD 理念的生血宝合剂 HPLC-UV-MS 定量分析方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(21): 4248-4254.
- [12] 潘坚扬, 周紫楣, 瞿海斌, 等. 生血宝合剂浓缩液质量快速分析方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(9): 2115-2121.
- [13] 陈聪聪, 秦雪梅, 杜冠华, 等. 中药有效组分“配伍艺术”的研究基础: 组分配比研究策略 [J]. 药学学报, 2019, 54(5): 808-817.
- [14] 宋宗华, 戴舒佳, 黎辉琴, 等. 苓桂术甘汤配伍机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(10): 760-762.
- [15] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 834.
- [16] 林伟雄, 邓李红, 李美洲, 等. 基于 UPLC 特征图谱及多成分同时定量的酒女贞子炮制工艺研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(3): 236-246.
- [17] 曾荟, 邱韵静, 谭梓君, 等. 墨旱莲不同药用部位 UPLC 特征图谱及 5 种成分含量测定研究 [J/OL]. 中国中医药信息杂志, 2022, doi: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202111452.
- [18] 邱文可, 梁洪梅, 李岩, 等. 基于网络药理学探讨验证白藜芦醇抗 NAFLD 作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(7): 172-178.
- [19] 陈雨菡, 石小鹏, 马善波, 等. 黄芪中毛蕊异黄酮的脑保护作用研究进展 [J]. 中国急救医学, 2021, 41(11): 1004-1008.
- [20] 石碧茹, 高建, 赵晶, 等. 静脉注射早莲苷 A 的药动力学研究 [J]. 中南药学, 2021, 19(10): 2059-2062.
- [21] 李正刚, 马戔, 王丹戔, 等. HPLC 法测定制何首乌饮片中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量的不确定度评估 [J]. 中国医药导刊, 2021, 23(7): 522-525.
- [22] 郑云枫, 李洋, 段伟萍, 等. 一测多评法测定黄芪中异黄酮及苷类成分 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 3104-3111.
- [23] 干丽, 钟如帆, 魏梅, 等. 狗脊炮制工艺优选及色度值测定 [J]. 中成药, 2020, 42(9): 2382-2388.
- [24] 李冰, 冯素香, 冯志毅, 等. 基于 HPLC-Q-HR/MS 技术及多成分含量识别的不同产地墨旱莲药材质量评价 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(6): 1329-1333.
- [25] 曹培杰, 崔晋, 马艳弘. 桑葚籽黄酮超声酶解提取工艺优化及其抗菌、抗氧化活性 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(2): 175-182.
- [26] 刘惠, 杨姣, 朱志飞, 等. 基于总量统计矩分析法的金银花、山银花 HPLC 指纹图谱评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(21): 132-139.
- [27] 贺福元, 周宏灏, 邓凯文, 等. 指纹图谱的一种定性定量研究新方法: 总量统计矩分析法 [J]. 药学学报, 2008, 43(2): 195-201.
- [28] 贺福元, 邓凯文, 刘文龙, 等. 中药复方药物动力学总量统计矩法的实验验证研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 253-262.
- [29] 朱志飞, 樊启猛, 刘有志, 等. 基于信息熵最大化原则优化经典名方身痛逐瘀汤 UPLC 指纹图谱 [J]. 中草药, 2020, 51(12): 3173-3179.
- [30] 汪文漪, 雷梦, 刘灿, 等. 白藜芦醇在对乙酰氨基酚诱导巨噬细胞损伤中的修复作用 [J]. 中成药, 2022, 44(3): 764-770.
- [31] 韩宁馨, 孙雅丽, 盛帅, 等. 木犀草素对氧化应激和炎症的调控机制 [J]. 动物营养学报: 2022, 34(05): 2856-2861.
- [32] 陈加宝, 刘华. 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷可减轻脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤 [J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(7): 1101-1106.
- [33] 罗子宸, 张雯, 杨瑞, 等. 甘草“调和诸药”生物药剂学机制的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 267-277.
- [34] 张定堃, 傅超美, 林俊芝, 等. 中药制剂的“药辅合一”及其应用价值 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1921-1929.
- [35] 陶叶琴, 唐闻汉, 刘金玲, 等. 基于超分子“印迹模板”理论的甘草增溶特征研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(10): 1849-1854.
- [36] 梅茜, 夏金鑫, 郭爽, 等. 基于指纹图谱及网络药理学的白芍质量标志物 (Q-marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2627-2633.
- [37] 李亮亮, 黄金智. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷药理作用的研究进展 [J]. 海南医学院学报, 2020, 26(2): 156-160.
- [38] 白月, 王红芳, 黄怀鹏. 芒柄花素药理作用的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(2): 425-432.

[责任编辑 郑礼胜]