

基于 HPLC 指纹图谱特征的补中益气汤组方配伍规律研究

贺嫣然^{1,2}, 吉丽群^{2,3}, 吴子佳^{2,3}, 余锦宁², 明良山^{1,2,3,4}, 董子舒^{1,2,3,4}, 刘红宁^{1,2,3,4*}, 樊启猛^{1,2,3,4*}

1. 江西中医药大学高等研究院, 江西 南昌 330004

2. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

3. 江西中医药大学中医基础理论分化发展研究中心, 江西 南昌 330004

4. 江西省中医病因生物学重点实验室, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 通过测算补中益气汤 (Buzhong Yiqi Decoction, BYD) 单味中药、配伍组合及复方的 HPLC 指纹图谱印迹特征参数及总量统计矩相似度, 探讨 BYD 配伍理论的科学内涵。方法 根据 BYD 复方中君臣佐使、药性组方规律将各单味中药重新进行配伍分组, 采用 HPLC 法测定 8 个单味中药、22 个配伍组合及复方的指纹图谱, 并运用总量统计矩相似度等方法进行定性定量分析。结果 BYD 单味中药、君臣佐使及四性组合到复方的峰数、零阶矩、信息熵、信息量传递率不足 100%; 五味组合到复方的峰数、零阶矩、信息量传递率高于 100%; 归经组合的峰数、零阶矩传递率高于 100%, 说明四性、五味、归经等不同层面药性的传递性存在差异。单味中药中当归 *Angelicae Sinensis Radix*、炙黄芪 *Astragali Radix Praeparata Cum Melle*、柴胡 *Bupleuri Radix* 与复方的总量统计矩相似度较高, 分别为 0.913 ± 0.076 、 0.867 ± 0.040 、 0.820 ± 0.071 ; 君臣佐使配伍组合, 君药 (炙黄芪)、君+臣组合 (炙黄芪+炙甘草 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata Cum Melle*、党参 *Codonopsis Radix*、炒白术 *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*) 与复方的总量统计矩相似度最高, 分别为 0.867 ± 0.040 、 0.836 ± 0.026 , 核心药味为炙黄芪; 四气组合与复方的总量统计矩相似度最高的是热性组合, 为 0.864 ± 0.042 , 核心药味为炙黄芪、当归和陈皮 *Citri Reticulatae Pericarpium*; 五味组合与复方的总量统计矩相似度最高的是甘味组合, 为 0.890 ± 0.025 , 核心药味为炙黄芪、当归; 归经组合与复方相似度最高的是肝经组合, 为 0.899 ± 0.059 , 其次是脾经组合, 为 0.847 ± 0.018 , 归肝经的核心药味为当归、柴胡, 归脾经的核心药味为当归、陈皮、升麻 *Cimicifugae Rhizoma*。结论 BYD 复方药性趋向于热性, 甘味, 归肝、脾经, 其不同层次的药性由相应的药味传递而来, 其中炙黄芪是处方中核心药味, 其次则是当归; 为中药复方配伍及复方药性的现代化研究奠定基础。

关键词: 补中益气汤; 君臣佐使; 药性组合; 配伍规律; HPLC; 指纹图谱; 总量统计矩相似度; 信息熵; 信息量; 炙黄芪; 当归

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)22-7633-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.22.007

Compatible theory of Buzhong Yiqi Decoction based on HPLC fingerprint characteristics

HE Yanran^{1,2}, JI Liqun^{2,3}, WU Zijia^{2,3}, YU Jinning², MING Liangshan^{1,2,3,4}, DONG Zishu^{1,2,3,4}, LIU Hongning^{1,2,3,4}, FAN Qimeng^{1,2,3,4}

1. Advanced Research Institute, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. Research Center for Differentiation and Development of TCM Basic Theory, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

收稿日期: 2024-06-20

基金项目: 中央本级重大增减支项目 (2060302); 国家自然科学基金资助项目 (82360782); 江西省自然科学基金资助项目 (20232BAB206170); 江西省教育厅科学技术研究项目 (GJJ2400812); 江西省教育厅科学技术研究项目 (GJJ2200975); 江西省中医药管理局科技计划项目 (2021B617); 江西中医药大学科研基金资助项目 (2021BSZR010); 江西中医药大学校级科技创新团队发展计划 (CXTD22007); 江西省“大学生创新创业训练计划” (S202410412067)

作者简介: 贺嫣然, 助教, 主要从事中药药性与配伍机制研究。E-mail: 554574961@qq.com

***通信作者:** 刘红宁, 博士, 教授, 主要从事中药药性与配伍机制研究。E-mail: lhn0791@139.com

樊启猛, 博士, 副教授, 主要从事中药药性与配伍机制研究, 中药复方的生物有效性及新制剂、新技术与新工艺研究。

E-mail: qimengfan1989@qq.com

4. Jiangxi Province Key Laboratory of TCM Etiopathogenesis, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To explore the scientific connotation of the compatibility theory of Buzhong Yiqi Decoction (BYD, 补中益气汤) by calculating the characteristic parameters and total statistical moments similarity of HPLC fingerprint spectra of single drug, combination and compound formula of BYD. **Methods** According to the rules of the combination of monarch-minister-assistant-guide (君-臣-佐-使) and medicinal properties in the formula of BYD, each single drug was reorganized into compatibility groups. HPLC was used to determine the fingerprints of eight single drugs, 22 compatibility combinations, and the compound. Qualitative and quantitative analysis was conducted using methods such as total statistical moment similarity. **Results** The transmission rate of single herb BYD, monarch-minister-assistant-guide, and the combination of the four properties to the peak number, zero moment, information entropy, and information content of the compound is less than 100%; the combination of five flavor to compound peaks, zero moment, and information content exceeding 100%; the peak number and zero moment of the combination of channel tropism are higher than 100%, indicating that there are differences in the transmission of medicinal properties at different levels such as the four properties, five flavor, channel tropism. Among the single herbs, Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*, ASR), Zhihuangqi (*Astragali Radix Praeparata Cum Melle*, ARPCM), and Chaihu (*Bupleuri Radix*, BR) have high similarity with the compound, with values of 0.913 ± 0.076 , 0.867 ± 0.040 , and 0.820 ± 0.071 , respectively; the combination of monarch drug (ARPCM) and monarch + minister combination [(ARPCM + Zhigancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata Cum Melle*, GRRPCM), Dangshen (*Codonopsis Radix*, CR), and chaobaizhu (fried *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, fAMR)] has the highest similarity with the compound formula, with values of 0.867 ± 0.040 and 0.836 ± 0.026 , respectively; the highest similarity between the four properties combination and the compound formula is the thermal properties combination (0.864 ± 0.042), with the core medicinal flavors being ARPCM, ASR, and Chenpi (*Citri Reticulatae Pericarpium*, CRP); the highest similarity between the five flavor combination and the compound formula is the sweet flavor combination (0.890 ± 0.025), with the core medicinal flavors being ARPCM, ASR; the liver-channel tropism combination has the highest similarity with the compound formula (0.899 ± 0.059), followed by the spleen-channel tropism combination (0.847 ± 0.018). The core medicinal flavors of the liver-channel tropism are ASR and BR, while the core medicinal flavors of the spleen-channel tropism are ASR, CRP and Shengma (*Cimicifugae Rhizoma*, CR). **Conclusion** The formula of BYD tends to be thermal properties, sweet flavor, and belongs to liver-channel tropism and spleen-channel tropism. Its different levels of medicinal properties are transmitted from the corresponding medicinal taste, among which ARPCM is the core medicinal taste in the prescription, while ASR is also important. This study lays the foundation for modern research on the compatibility and properties of traditional Chinese medicine formulas.

Key words: Buzhong Yiqi Decoction; monarch-minister-assistant-guide; combination of drug properties; compatibility theory; HPLC; fingerprint; total statistical moment similarity; information entropy; information volume; *Astragali Radix Praeparata Cum Melle*; *Angelicae Sinensis Radix*

方剂是中医临床治疗疾病的主要方式，是基于中医整体观，根据不同药味的特点，按一定原则组合成一个新的有机共同体^[1]。药性是中药的特定属性，是方剂配伍的重要原则和依据之一。根据中医理论，中药药效来源于药性，多味中药组成复方后仍以发挥其药性来达到临床治疗作用^[2]。因此，从药性层面研究复方配伍规律，更能体现中药方剂配伍的内在规律，据此可实现有效指导中药临床用药的目的^[3]。

补中益气汤 (Buzhong Yiqi Decoction, BYD) 源自金元时期著名医家李东垣的《脾胃论》^[4]，由炙黄芪、炙甘草、党参、炒白术、当归、陈皮、升麻、柴胡等中药组成，其中以炙黄芪 (甘，温，归肺、脾经) 补中益气、升阳固表，为君药；炙甘草 (甘，

平，归心、肺、脾、胃经)、党参 (甘，平，归脾、肺经)、炒白术 (苦、甘，温，归脾、胃经) 补气健脾，为臣药；当归 (甘、辛，温，归肝、心、脾经) 养血和营，陈皮 (苦、辛，温，归肺、脾经) 理气和胃，共为佐药；升麻 (辛、微甘，微寒，归肺、脾、胃、大肠经)、柴胡 (辛、苦，微寒，归肝、胆、肺经) 升阳举陷，共为使药；全方主治脾胃虚弱、中气下陷等证，为益气健脾的经典方^[5]。

目前，中药配伍规律的研究主要从化学成分、药理学研究 2 个方面进行，需要注意的是发挥药理作用的微观物质基础仍是中药化学成分^[6]。中药指纹图谱在一定程度上反映了中药中大部分成分的化学性质信息 (保留时间) 和含量信息 (峰面积)，具有系统性、特征性和稳定性等特点，广泛应用于评

价中药优劣、鉴别真伪、区分物种、质量控制和谱效关系等研究^[7]。中药指纹图谱相似程度可作为评判中药、中药组合、中药复方性质相似性的重要依据之一^[8]。

本研究依据中药方剂君臣佐使配伍理论及药性配伍理论,将补中益气方按君臣佐使分为 10 个配伍、按性味归经等药性分为 12 个组合、连同 8 个单味药及复方,测定各单味药、配伍组合、复方的 HPLC 指纹图谱,测算指纹图谱印迹特征参数(总量统计矩参数、信息熵、信息量),并运用总量统计矩相似度分析,探究在君臣佐使配伍、药性配伍原则下,其单味药、配伍组合及复方成分群的印迹传递性规律,分析中药配伍的作用关系,为进一步阐明复方中君臣佐使配伍及药性配伍的科学内涵奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司;KQ-500E 型超声仪,昆山市超声仪器有限公司;ME204/02 型电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;CN-LQC10002 型电子天平,昆山优科维特电子科技有限公司;98-I-BN 型电子调温电热套,天津市泰斯特仪器有限公司;M500S 低速离心机,上海迈皋科学仪器有限公司;PINE-T 型超纯水制水机,江西鼎技科学仪器有限公司。

1.2 材料

BYD 饮片炙黄芪(批号 221109,甘肃安源药业有限公司),炙甘草、柴胡(批号 220701、220401,长沙市浩升中药饮片有限公司),党参、当归、升麻(批号 202212288、202211080、202212194,樟树市庆仁中药饮片有限公司),炒白术(批号 221101,湖南君昊中药饮片科贸有限公司),陈皮(批号 220647,湖南华夏湘众药业饮片有限公司)均采购自药店,经江西中医药大学中药鉴定教研室刘应蛟副教授鉴定,炙黄芪为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 干燥根的炮制加工品,炙甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 干燥根及根茎的炮制加工品,党参为桔梗科党参属植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根,炒白术为菊科苍术属植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 干燥根茎的炮制加工品,当归为伞形科当归属植物当归 *Angelica*

sinensis (Oliv.) Diels 的干燥根,陈皮为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮,升麻为毛茛科升麻属植物大三叶升麻 *Cimicifuga heracleifolia* Kom. 的干燥根茎,柴胡为伞形科柴胡属植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的干燥根。

对照品甘草苷(批号 Z07J12X136344)、甘草酸(批号 Y02J11L113432)、橙皮苷(批号 K09S11L123847)、党参炔苷(批号 wqk22032304),质量分数均>98%,购自上海源叶生物科技有限公司;对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 MUST-22040920)、异阿魏酸(批号 MUST-22042811)、槲皮素(批号 MUST-22042012),质量分数均>98%,购自成都曼思特生物科技有限公司。甲醇(批号 22115132)、乙腈(批号 22125321)均为色谱纯,购自美国 Tedia 公司;磷酸(批号 C15306375)分析纯,购自上海麦克林生化科技股份有限公司;水为二次重蒸馏水;其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备

依据君臣佐使原则,将 BYD 拆分为 10 个组合(表 1);依据《中国药典》2020 年版中所载各药味的【性味与归经】^[9],以热寒平性、甘辛苦味、归经(心、肝、脾、肺、胃、大肠经)3 个方面,将 BYD 拆分为 12 个药性组合(表 1)。

依照表 1 内容称取药材,剪碎,加 10 倍量水,浸泡 20 min,再煎煮 1 h,趁热滤去药渣,再经 4 000 r/min 离心(离心半径 97 mm) 15 min,上清液定容至其生药量的 10 倍量体积,取适量经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得待测样品溶液,备用。BYD 8 个单味药待测样品溶液分别按上法制备,备用。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、异阿魏酸、党参炔苷、橙皮苷、槲皮素、甘草苷、甘草酸各 2.0 mg,置 2 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度线,得到 1.0 mg/mL 的对照品溶液;分别取各对照品溶液适量,配置混合对照品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱为月旭 Ultimate AQ-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~5 min, 3.0%乙腈;5~16 min, 3.0%~16.1%乙腈;16~21 min, 16.1%~17.1%乙腈;21~26 min, 17.1%~21.1%乙腈;26~30 min, 21.1%~24.0%乙腈;30~41 min, 24.0%~27.1%乙腈;41~

表 1 BYD 复方和按君臣佐使原则、四气五味归经组合重组 22 种组方

Table 1 BYD and 22 combinations reorganized by principle of monarch-minister-assistant-guide and four properties, five flavor and channel tropism

组合	质量/g								组合	质量/g							
	炙黄芪	炙甘草	党参	炒白术	当归	陈皮	升麻	柴胡		炙黄芪	炙甘草	党参	炒白术	当归	陈皮	升麻	柴胡
君药	20								平性组合		10	6					
臣药		10	6	6					甘味组合	20	10	6	6	6		6	
佐药					6	6			辛味组合					6	6	6	
使药							6	6	苦味组合			6		6		6	
君+臣	20	10	6	6					心经组合		10			6			
君+佐	20				6	6			肝经组合					6		6	
君+使	20						6	6	脾经组合	20	10	6	6	6	6	6	
臣+佐		10	6	6	6	6			肺经组合	20	10	6			6	6	
臣+使		10	6	6			6	6	胃经组合		10		6			6	
佐+使					6	6	6	6	大肠经组合							6	
热性组合	20			6	6	6			BYD 复方	20	10	6	6	6	6	6	
寒性组合							6	6									

47 min, 27.1~36.1%乙腈; 47~52 min, 36.1%~41.1%乙腈; 52~56 min, 41.1%~45.1%乙腈; 56~61 min, 45.1%~55.1%乙腈; 61~65 min, 55.1%~95.0%乙腈; 检测波长 228、238、245、254、267、270、280、300 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 20 μL。色谱图见图 1。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取 BYD 饮片, 按“2.1”项下方法制备 BYD 复方供试品溶液, 按拟定色谱条件依次进样测定 6 次, 以对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷作为参照峰, 根据所得 245 nm 指纹图谱计算共有峰相对保留时间与相对峰面积的 RSD 值。结果共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 相对峰面积 RSD 均小于 5.0%, 表明该仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取 BYD 饮片, 按“2.1”项下方法制备 BYD 复方供试品溶液, 分别于室温下放置 0、4、8、12、18、24 h 时, 按拟定色谱条件进样测定, 以对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷作为参照峰, 根据所得 245 nm 指纹图谱计算共有峰相对保留时间与相对峰面积的 RSD 值。结果共有峰相对保留时间 RSD 均小于 2.0%, 相对峰面积 RSD 均小于 4.0%, 表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 取 BYD 饮片, 共 6 份, 分别按“2.1”项下方法制备 BYD 复方供试品溶液, 按拟定色谱条件每份样品分别进样测定 1 次, 以对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷作为参照峰, 根据所得 245 nm 指纹图谱计算共有峰相对保留时间与相对峰面

积的 RSD 值。结果共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 相对峰面积 RSD 均小于 5.0%, 表明结果重复性良好。

2.5 指纹图谱的建立

取“2.1”项下各供试品溶液和“2.2”项下对照品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 将各单味中药、组方、复方及 7 种混合对照品的色谱图数据, 导入国家药典委员会《中药指纹图谱相似度评价系统 2012 版》软件进行处理, 混合对照品及各样品的典型 HPLC 指纹图谱见图 1。

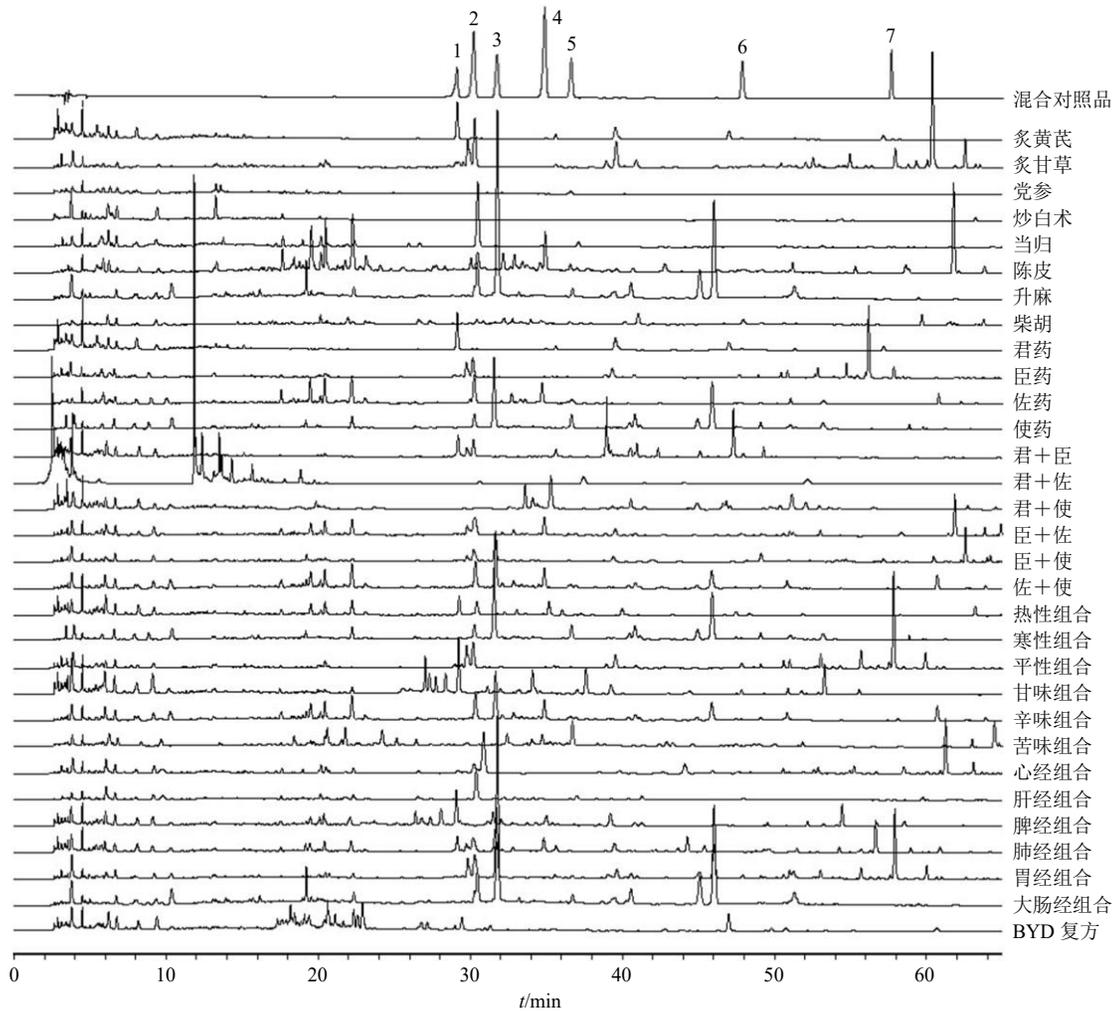
2.6 数据处理

本研究中涉及到的指纹图谱总量统计零阶矩 (area under curve of total quantum, AUC_T)、总量统计一阶矩 (mean chromatographic retention time of total quantum, MCRT_T) 和总量统计二阶矩 (variance of chromatographic retention time of total quantum, VCRT_T) 等参数^[10-11], 以及指纹图谱间总量统计矩相似度 (total quantum statistical moment similarity, TQSMS) 的计算, 参考文献报道的方法^[12-14]; 信息熵 (information entropy, ΔS_{IE})、信息量 (information quantity, ΔS_{IQ}) 的计算, 参考文献报道的方法^[15-16]。

3 结果与分析

3.1 指纹图谱总量统计矩 4 个参数的量值传递分析

3.1.1 单味中药-配伍组合的总量量值传递分析 单味中药到君臣佐使组合、药性组合的印迹传递率 (组合中各单味中药的算术平均与组合间比值) 见表



1-毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 2-甘草苷; 3-异阿魏酸; 4-橙皮苷; 5-党参炔苷; 6-槲皮素; 7-甘草酸。

1-calycosin-7-O-β-D-glucoside; 2-glycyrrhizin; 3-isoferulic acid; 4-hesperidin; 5-codonopsiside; 6-quercetin; 7-glycyrrhizin.

图1 245 nm 波长下 BYD 单味中药、配伍组合、复方的 HPLC 指纹图谱和混合对照品色谱图

Fig. 1 HPLC fingerprint of a single herb, compatibility, compound, and reference substances in BYD at 245 nm wavelength

2、3。其中单味中药到君+佐药组合、使药组合的峰数、信息熵传递率均大于 100%；单味中药到佐药、臣+使药组合、使药组合的零阶矩、信息量传递率均大于 100%；其他单味中药到君臣佐使组合的印迹传递率均低于 100%。单味中药到寒性组合、肝经组合的峰数、零阶矩、信息熵、信息量传递率均大于 100%；此外，单味中药到心经组合的零阶矩、信息量传递率均大于 100%。而单味中药到复方的峰数、零阶矩、信息熵、信息量传递率均低于 100%，可推测由 BYD 8 味中药到复方的过程中，并非简单的加合，其中蕴含不同药味间的配伍作用。

3.1.2 配伍组合-复方的总量量值传递分析 君臣佐使组合、药性组合到复方的印迹传递率见表 4。其中五味组合到复方的峰数、零阶矩、信息量传递率均大于 100%，归经组合到复方的峰数、零阶矩传

表2 BYD 单味中药-君臣佐使配伍组合的印迹传递率

Table 2 Imprint transmission rate of BYD single herb to monarch-minister-assistant-guide

组合	印迹传递率/%			
	峰数	零阶矩	信息熵	信息量
君药	100.00	100.00	100.00	100.00
臣药	71.83±4.16	96.95±12.60	84.90±6.25	84.31±7.06
佐药	99.37±4.72	136.79±12.05	98.49±4.22	139.44±9.90
使药	112.42±4.79	104.65±12.03	109.50±3.59	105.49±9.89
君+臣	71.57±0.81	79.30±9.03	84.33±5.09	67.73±4.93
君+佐	181.08±10.76	81.38±5.72	118.93±4.76	99.99±6.75
君+使	92.70±5.89	98.51±10.57	89.40±1.23	82.99±6.30
臣+佐	71.84±2.39	94.20±5.59	85.65±4.44	85.57±4.87
臣+使	85.03±1.08	132.58±9.49	85.86±3.02	112.48±7.11
佐+使	93.08±3.41	99.84±6.04	95.36±3.10	93.32±3.71
复方	84.49±3.22	94.16±7.33	85.20±3.19	81.20±5.35

表 3 BYD 单味药-药性配伍组合的印迹传递率

Table 3 Imprint transmission rate of BYD single herb to medicinal properties

组合	印迹传递率/%			
	峰数	零阶矩	信息熵	信息量
热性	79.74±1.70	108.03±6.23	85.38±5.03	98.44±6.14
寒性	112.42±4.79	104.65±12.03	109.50±3.59	105.49±9.89
平性	75.53±3.72	83.97±8.35	90.66±3.97	76.72±6.63
甘味	73.25±4.02	66.51±6.16	82.63±2.78	55.36±4.21
辛味	93.08±3.41	99.84±6.04	95.36±3.10	93.32±3.71
苦味	82.50±2.54	97.38±6.48	93.98±6.12	94.77±3.99
心经	91.81±5.10	111.42±4.72	92.79±1.50	103.64±4.54
肝经	109.51±6.68	135.71±13.86	103.88±3.93	137.66±14.06
脾经	77.73±4.13	102.93±5.70	83.15±3.07	88.48±5.03
肺经	83.90±4.16	102.27±8.18	89.57±2.60	90.81±7.57
胃经	81.13±4.65	98.77±7.58	86.56±2.20	88.61±7.44
大肠经	100.00	100.00	100.00	100.00
复方	84.49±3.22	94.16±7.33	85.20±3.19	81.20±5.35

表 4 BYD 君臣佐使、四性、五味、归经组合-复方的印迹传递率

Table 4 Imprint transmission rate of BYD to monarch-minister-assistant-guide, four properties, five flavor and channel tropism combination

组合	印迹传递率/%			
	峰数	零阶矩	信息熵	信息量
君臣佐使	91.57±3.34	93.20±3.26	91.13±1.51	84.06±2.34
四性	98.02±2.88	95.61±4.05	91.08±1.02	86.72±2.81
五味	106.50±2.00	117.81±7.74	95.48±1.16	112.40±6.77
归经	101.67±3.09	103.20±10.65	91.56±3.09	92.96±6.61

递率均大于 100%；而君臣佐使组合、四性组合到复方的印迹传递率均低于 100%。由此可推测，较四性、归经层面，由 BYD 8 味中药到复方的五味层

面，印迹特征与其中所含化学性质信息及含量信息更加相关。

3.2 指纹图谱总量统计矩相似度分析

3.2.1 单味中药-复方的总量统计矩相似度分析 8 味中药与复方的总量统计矩的相似度分析结果见图 2，其中，总量统计矩相似度最大的是当归-复方，为 0.913±0.076，其次是炙黄芪-复方（0.867±0.040）和柴胡-复方（0.820±0.071），均大于 0.8，其他单味中药-复方的总量统计矩相似度均小于 0.8，可推测单味中药当归、炙黄芪、柴胡这 3 味药在 BYD 组方权重中地位较高。

3.2.2 单味中药-君臣佐使配伍组合-复方的总量统计矩相似度分析 单味中药与君臣佐使配伍组合的总量统计矩相似度分析结果见图 3，炙甘草-臣药组

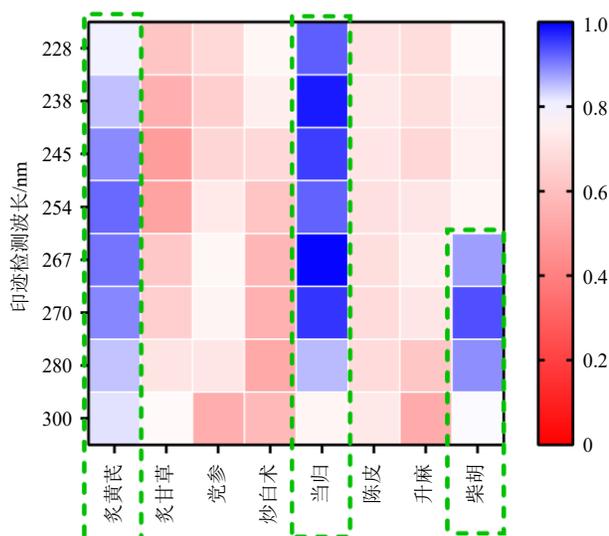


图 2 BYD 单味中药到复方的总量统计矩相似度分析

Fig. 2 Statistical similarity analysis of single herb to compound of BYD

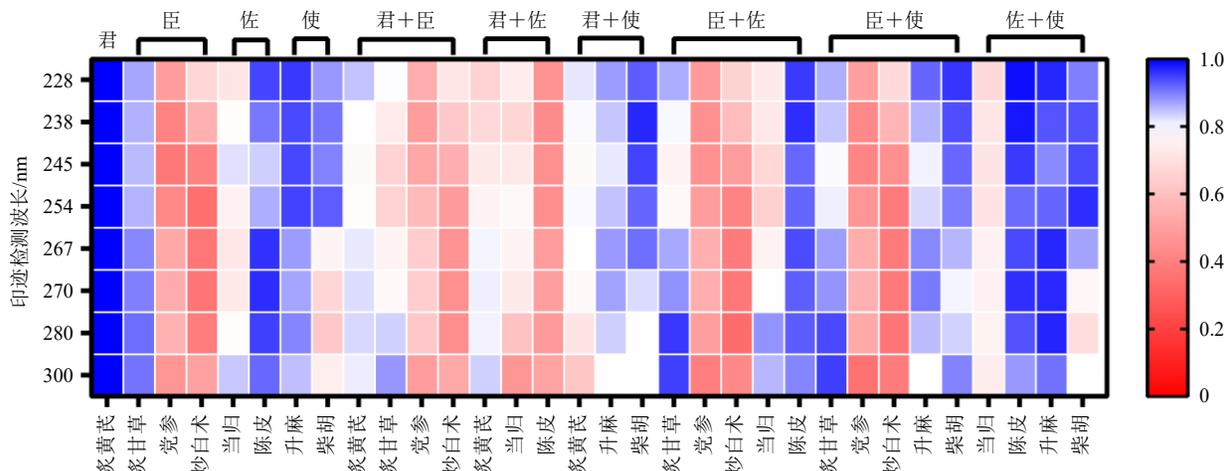


图 3 BYD 单味中药到君臣佐使配伍组合的总量统计矩相似度分析

Fig. 3 Statistical similarity analysis of single herb to monarch-minister-assistant-guide combination of BYD

合 (0.882±0.024)、陈皮-佐药组合 (0.918±0.047)、升麻-使药组合 (0.910±0.042)、柴胡-使药组合 (0.801±0.118) 的总量统计矩相似度均大于 0.8, 可推测炙甘草在臣药组合中的权重、陈皮在佐药组合中的权重、升麻与柴胡在使药组合中的权重地位均较高。

炙黄芪-君+臣药组合 (0.812±0.023)、升麻-君+使药组合 (0.847±0.029)、柴胡-君+使药组合 (0.888±0.069)、炙甘草-臣+佐药组合 (0.858±0.073)、陈皮-臣+佐药组合 (0.931±0.022)、炙甘草-臣+使药组合 (0.872±0.054)、升麻-臣+使药组合 (0.858±0.044)、柴胡-臣+使药组合 (0.889±0.052)、陈皮-佐+使药组合 (0.945±0.035)、升麻-佐+使药组合 (0.942±0.032)、柴胡-佐+使药组合 (0.860±0.096) 的总量统计矩相似度均大于 0.8, 可推测炙甘草、陈皮、升麻、柴胡在君臣佐使配伍中发挥了特殊作用。

君臣佐使配伍组合与复方的总量统计矩相似度分析结果见图 4, 君药组合-复方 (0.867±0.040)、君+臣药组合-复方 (0.836±0.026) 的总量统计矩相似度均大于 0.8, 可推测君药炙黄芪、臣药组合在复方中的权重地位较高, 结合单味中药到配伍组合的总量统计矩相似度分析, 臣药中炙甘草在 BYD 君臣佐使配伍中发挥了特殊作用。

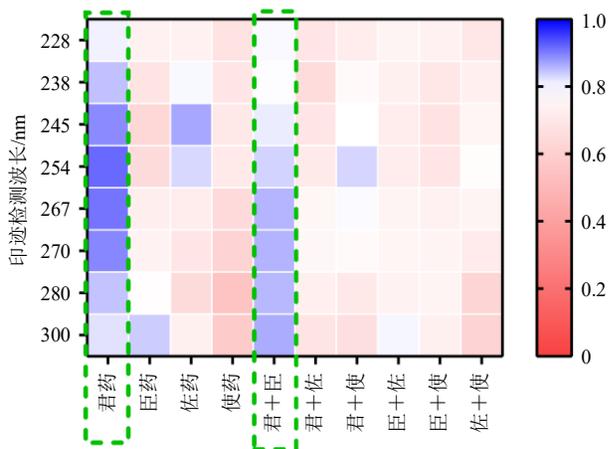


图 4 BYD 君臣佐使组合与复方之间总量统计矩相似度分析
Fig. 4 Statistical similarity analysis of monarch-minister-assistant-guide combination to compound of BYD

3.2.3 单味中药-药性组合-复方的总量统计矩相似度分析 单味中药与药性组合的总量统计矩相似度分析结果见图 5。

在四性组合中, 炙黄芪-热性组合 (0.857±0.056)、当归-热性组合 (0.865±0.040)、陈皮-热性

组合 (0.817±0.051)、升麻-寒性组合 (0.910±0.042)、柴胡-寒性组合 (0.801±0.118)、炙甘草-平性组合 (0.922±0.027) 的总量统计矩相似度均大于 0.8, 可推测炙黄芪、当归和陈皮在热性组合中的权重, 升麻与柴胡在寒性组合中的权重, 炙甘草在平性组合中的权重地位均较高。

在五味组合中, 炙甘草-甘味组合 (0.845±0.049)、当归-甘味组合 (0.884±0.048)、陈皮-辛味组合 (0.929±0.020)、升麻-辛味组合 (0.922±0.042)、柴胡-辛味组合 (0.880±0.768)、陈皮-苦味组合 (0.964±0.021)、柴胡-苦味组合 (0.862±0.104) 的总量统计矩相似度均大于 0.8, 可推测炙黄芪、当归在甘味组合中的权重, 陈皮、升麻、柴胡在辛味组合中的权重, 陈皮、柴胡在苦味组合中的权重地位均较高。

在归经组合中, 炙甘草-心经组合 (0.884±0.042)、当归-肝经组合 (0.932±0.054)、柴胡-肝经组合 (0.884±0.056)、当归-脾经组合 (0.857±0.062)、陈皮-脾经组合 (0.850±0.022)、升麻-脾经组合 (0.823±0.056)、炙甘草-肺经组合 (0.844±0.023)、陈皮-肺经组合 (0.940±0.023)、升麻-肺经组合 (0.889±0.052)、柴胡-肺经组合 (0.918±0.067)、炙甘草-胃经组合 (0.901±0.054)、升麻-胃经组合 (0.914±0.050) 的总量统计矩相似度均大于 0.8, 可推测炙甘草在心经组合中的权重, 当归、柴胡在肝经组合中的权重, 当归、陈皮、升麻在脾经组合中的权重, 炙甘草、陈皮、升麻、柴胡在肺经组合中的权重, 炙甘草、升麻在胃经组合中的权重地位均较高; 此外, 大肠经组合只有升麻 1 味中药, 升麻即代表大肠经。

四性组合与复方的总量统计矩相似度分析结果如图 6 所示, 热性、寒性、平性组合与复方的总量统计矩相似度分别为 0.864±0.042、0.644±0.059、0.692±0.082, 推测 BYD 复方的四性主要为热性。甘味、辛味、苦味组合与复方的总量统计矩相似度分别为 0.890±0.025、0.747±0.051、0.608±0.036, 推测 BYD 复方的五味主要为甘味。心经、肝经、脾经、肺经、胃经、大肠经组合与复方的总量统计矩相似度分别为 0.702±0.035、0.899±0.059、0.847±0.018、0.756±0.015、0.646±0.038、0.675±0.068, 推测 BYD 复方的归经主要归肝、脾经。

4 讨论

本研究基于 HPLC 指纹图谱, 运用总量统计矩、

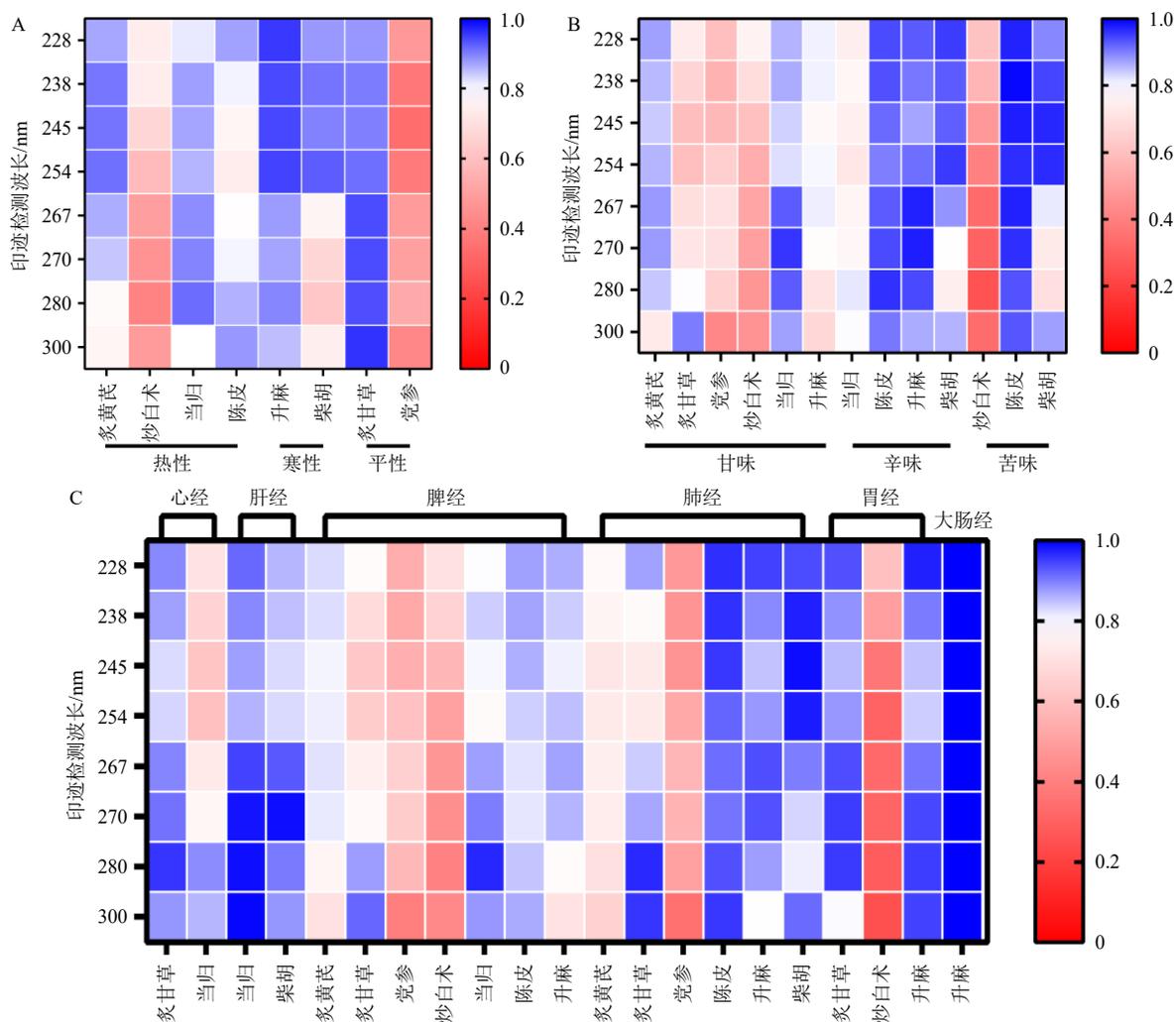


图 5 BYD 单味中药到四性组合 (A)、五味组合 (B)、归经组合 (C) 的总量统计矩相似度分析

Fig. 5 Statistical similarity analysis of single herb to four properties combination (A), five flavor combination (B), channel tropism combination (C) of BYD

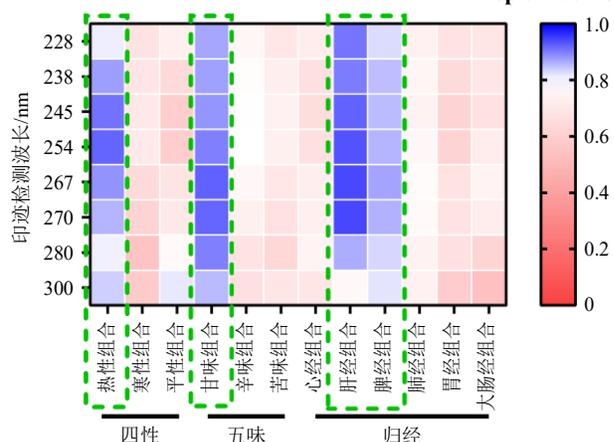


图 6 BYD 药性组合与复方之间的总量统计矩相似度分析

Fig. 6 Statistical similarity analysis of drug properties combination to compound of BYD

信息熵、信息量等参数定性定量表征 BYD 8 个单味药、22 个配伍组合及复方的指纹图谱, 单味中药、

君臣佐使组合到复方的总量统计矩参数峰数、零阶矩、信息熵、信息量的传递率均不足 100%, 说明单味中药单独提取的化学成分, 在与其他药味配伍时部分成分未能溶出或溶出不完全, 因此化学成分选择性地溶出是中药配伍理论中值得关注的问题^[17]。在药性组合中, 与四性组合不同, 五味组合、归经组合到复方的零阶矩传递率均高于 100%, 说明中药五味、归经属性所代表的化学成分, 在属于同一味、同一归经时有更大程度的溶出, 进一步说明性味归经相同的中药有共同的物质基础。

进一步对各指纹图谱间进行了总量统计矩相似度分析, 单味中药炙黄芪、当归与 BYD 复方的总量统计矩相似度高, 说明炙黄芪、当归 2 味中药对整个复方起到了关键的作用。此外, 君药 (炙黄芪)、君+臣药组合 (炙黄芪、炙甘草、党参、白术) 与 BYD 复方的总量统计矩相似度高, 结合单味中药到

君臣佐使配伍组合的总量统计矩相似度，炙黄芪与君+臣药组合总量统计矩相似度高，进一步说明君药炙黄芪是复方补中益气功效的核心药味。

四气组合中热性组合由炙黄芪、炒白术、当归、陈皮4味中药组成，与复方的总量统计矩相似度最高，相比寒性组合（升麻、柴胡）、平性组合（炙甘草、党参），热性组合对复方的贡献更大。五味组合中甘味组合由炙黄芪、炙甘草、党参、炒白术、当归、升麻6味中药组成，与复方的总量统计矩相似度最高，相比辛味组合（当归、陈皮、升麻、柴胡）、苦味组合（炒白术、陈皮、柴胡），甘味组合对复方的贡献更大。归经组合中肝经组合（当归、柴胡）、脾经组合（炙黄芪、炙甘草、党参、炒白术、当归、陈皮、升麻）比心经组合、肺经组合、胃经组合、大肠经组合对复方的贡献大。由此可作推测，BYD复方的药性为性热，味甘，归肝、脾经。

结合单味中药到药性配伍组合的总量统计矩相似度，单味中药炙黄芪、当归、陈皮与热性组合中相似度高，因此复方的热性药性来源于炙黄芪、当归、陈皮3味中药。炙黄芪、当归与甘味组合的相似度高，因此复方的甘味药性来源于炙黄芪、当归2味中药。当归、柴胡与肝经组合的总量统计矩相似度高，当归、陈皮、升麻与脾经组合的总量统计矩相似度高，因此复方的归肝经药性来源于当归、柴胡2味中药，归脾经药性来源于当归、陈皮、升麻3味中药。因此，在君臣佐使配伍中，炙黄芪为核心药味，在药性配伍中，炙黄芪、当归为核心药味。黄芪-当归是近代中药方剂中的常见药对，二者均为益气补血常用药，临床应用广泛，经历代医家证实其临床疗效确切^[18]。现代药理学研究表明，黄芪-当归药对具有调节免疫力、改善血液循环、抗氧化、抗脏器纤维化、抗炎、抗肿瘤等作用^[19]。

当前对BYD配伍规律研究，主要集中在君药炙黄芪及升阳药味柴胡、升麻。BYD方解认为炙黄芪为君药，拆方研究表明，炙黄芪是方中升高血红蛋白、白细胞介素-2（interleukin-2, IL-2）的活性，提高淋巴因子激活的杀伤细胞（lymphokine activated killer cell, LAK）活性和CD4⁺/CD8⁺比值的主要药物^[20]。结合本研究，炙黄芪是复方补中益气功效的核心药味，对于整首方剂药效的贡献最大，与传统的方剂学理论契合。有学者多维度研究了升阳药味配伍柴胡、升麻起关键性增效作用，对脾虚证模型动物的病理状态和代谢的调节有不可替代的

作用^[21-24]。结合本研究，柴胡为BYD归肝经核心药味，升麻为归脾经核心药味，柴胡、升麻在对全方肝脾经选择性作用贡献较大，从归经层面证明了柴胡、升麻在方中的作用。此外，有研究代谢组学层面证明了BYD原方中大量“益气药”（君药炙黄芪）与少量“升阳药”（柴胡、升麻）的配伍起到了“益气升阳”之效^[25-27]，也进一步说明了炙黄芪及柴胡、升麻在方中的重要性^[28]。

此外，在BYD复方HPLC指纹图谱中代表性成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、异阿魏酸、甘草苷、槲皮素对应色谱峰的响应较其他成分更好，毛蕊异黄酮葡萄糖苷是炙黄芪的主要活性成分，有明显的抗氧化、抗病毒、抑制黑色素形成和免疫抑制等作用^[29]；异阿魏酸是升麻的主要活性成分，具有抗炎、抗病毒、抗氧化和抗糖尿病的特性^[30]；甘草苷是炙甘草的主要活性成分，具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗癌、调节免疫力等药理作用^[31]；槲皮素主要来自柴胡、炙甘草、炙黄芪，具有广泛的生物活性，如具有抗氧化、抗炎、心脏保护、抗病毒和抗菌作用^[32]。结合本研究，推测BYD热性的指标性成分可能是毛蕊异黄酮葡萄糖苷，甘味的指标性成分可能是毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、槲皮素，归肝经的指标性成分可能是槲皮素，归脾经的指标性成分可能是毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、槲皮素，后期可进一步对这些成分与复方药性的关系进行研究。

中医认为BYD有两类适应证，一为脾胃气虚，见“发热，自汗出，渴喜温饮，少气懒言，体倦肢软，面色㿔白，大便稀溏，脉洪而虚，舌质淡，苔薄白”，为李东垣创制BYD时的原始适应证“气虚发热”证^[33]；另一为气虚下陷，“见脱肛，子宫脱垂，久泻，久痢，久疟”，主要是从补气生阳的功效而提出的^[34]。两类适应证皆为脾气虚所导致，根据本研究推断的BYD药性为性热、味甘、归肝脾经，与传统中医理论中，BYD甘温除热相吻合^[35]。

此外，有研究认为BYD通过调肝气来达到补中气的目的^[36]；亦有相关临床研究认为，BYD可益气健脾的实质是补肝气^[37]；此外，还有研究认为BYD为肝脾同调之剂，方中注重对肝脾关系的调和，即重脾胃而兼顾肝胆^[38]，总之调肝补肝或为BYD组方配伍的重要内容，与研究结果的BYD归肝、脾经相互印证。

本研究运用中药成分HPLC指纹图谱特征及总量统计矩相似度阐释了中药复方BYD君臣佐使配

伍、药性配伍理论的科学内涵,并得出了 BYD 的复方药性。下一步将使用液质联用等其他先进的色谱学、质谱学方法对 BYD 单味中药、药性配伍组合及复方成分群传递性深入研究,采用细胞实验、动物实验探明 BYD 复方药性配伍的传递性规律,进一步从药性层面揭示复方配伍的内在规律,最终阐明中药复方药性配伍的科学内涵。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陶伟辰,王志娟,安睿,等. 瑶药及其方剂的传统理论基础与现代研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(17): 6051-6068.
- [2] 李佳珊,杜寒倩,徐盼瑜,等. 基于药性组合的雌激素样作用中药“性-效-理-病”关系研究 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6753-6762.
- [3] 格桑尼玛,旦增尼玛,南木加. 基于数据挖掘含阿魏藏药方剂的配伍规律及药性研究 [J]. 中国民族医药杂志, 2024, 30(5): 1823-1829.
- [4] 金·李东垣著. 张年顺校注. 脾胃论 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 32-34.
- [5] 史琳琳,郑娟. 基于古代文献分析补中益气汤的主治疾病 [J]. 中成药, 2023, 45(2): 652-656.
- [6] 谭晓梅,刘昌顺,汤庆发,等. 基于功效成分体内过程的中药复方配伍及方证相应研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2021, 23(3): 655-661.
- [7] 刘东方,赵丽娜,李银峰,等. 中药指纹图谱技术的研究进展及应用 [J]. 中草药, 2016, 47(22): 4085-4094.
- [8] 李世雄,张喜利,刘文龙,等. 一种中药指纹图谱的定性定量研究新方法: 全成分斜率相似度比较方法 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(12): 3064-3066.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 75, 88, 107, 139, 199, 283, 293, 315.
- [10] Zhou J, Fan Q M, Zhang Y T, et al. Novel mathematical model for the assessment of similarity of chromatographic fingerprints of volatile oil from *Houttuynia cordata* [J]. *Phcog Mag*, 2021, 17(73): 154.
- [11] 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.
- [12] 朱志飞,刘金玲,樊启猛,等. 基于指纹图谱段带总量统计矩法和信息熵的桑源药材成分比较分析研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(10): 2547-2555.
- [13] 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.
- [14] 贺福元,邓凯文,黄胜,等. 总量统计矩标准相似度数学模型的建立及应用研究 [J]. 药学学报, 2013, 48(9): 1453-1458.
- [15] 樊启猛,刘润南,贺鹏,等. 经典名方单味药材群体指纹图谱信息熵及一次投料量研究 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(4): 975-979.
- [16] 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.
- [17] 李世雄,赵思宇,李源,等. 中药复方配伍理论下生血宝复方化学成分溶出规律研究 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4298-4306.
- [18] 王文越,王新蒙,许丹丹,等. 黄芪-当归药对配伍效用及其影响因素研究概况 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(5): 865-870.
- [19] 向璐,张巧艳,赵琦明,等. 黄芪-当归化学成分、药理作用及临床应用的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2196-2213.
- [20] 米娜,陈其御,吴敏毓,等. 补中益气汤中黄芪对脾虚小鼠免疫调节的君药地位 [J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(8): 963-966.
- [21] 郭蕾,李强,陈少丽,等. 补中益气汤“要药”的配伍对脾虚大鼠胃肠动力影响的机制研究 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(9): 2156-2160.
- [22] 黄娟,施家希,刘海涛,等. 补中益气汤不同配伍对脾虚大鼠血清淀粉酶、 H^+ , K^+ -ATPase 及糖代谢酶活性的影响 [J]. 中药材, 2017, 40(9): 2191-2194.
- [23] 刘海涛,施家希,黄张杰,等. 补中益气汤不同配伍对脾虚大鼠免疫器官及小肠黏膜转运体蛋白表达的影响 [J]. 中药材, 2017, 40(2): 466-469.
- [24] 李强,郭蕾,陈少丽,等. 补中益气汤“要药”配伍对脾虚大鼠胃肠推进及血浆 Ghrelin、NO 和 VIP 含量的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(2): 390-394.
- [25] 黄张杰. 补中益气汤及其“益气升阳”配比组方的药效和代谢组学研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [26] 施旭光,吴美音,黄曼婷,等. 基于代谢组学的补中益气汤“益气升阳”配伍机制研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(1): 103-106.
- [27] 王闰予. 基于药效及代谢组学的补中益气汤“益气升阳”配伍研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
- [28] 王玉娥,席颖颖,李媛,等. 补中益气汤配伍规律现代研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 221-226.
- [29] 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.
- [30] Rafi Z, Khan M, Khan S, et al. Glycation derived AuNPs bioconjugated novel herbal drug isoferulic acid: As a potential anti-glycation, anti-diabetic and antineoplastic agent [J]. *Colloids Surf A Physicochem Eng Aspects*, 2023, 676: 132148.

- [31] 杨倩倩, 孟子盈, 王晓禹, 等. 甘草苷的提取纯化和药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2023, 42(4): 12-17.
- [32] Mirza M A, Mahmood S, Hilles A R, *et al.* Quercetin as a therapeutic product: Evaluation of its pharmacological action and clinical applications-A review [J]. *Pharmaceuticals*, 2023, 16(11): 1631.
- [33] 丁娜, 都广礼. 补中益气汤之气虚发热机理辨析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(3): 94-95.
- [34] 李德了, 吴捷, 沈丽萍, 等. 补中益气汤治疗气虚下陷型膀胱过度活动症 28 例疗效观察 [J]. 实用中西医结合临床, 2012, 12(2): 8-9.
- [35] 陈玉萍, 马淑然, 王庆国, 等. 基于肝藏象理论探讨补中益气汤甘温除热的机理 [J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(7): 441-444.
- [36] 苏巧珍, 陈延, 雒晓东. 补中益气汤之益气或以调肝为通道 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2015, 21(5): 602-603.
- [37] 谢建晓. 从肝论治重症肌无力经验 [J]. 光明中医, 2015, 30(3): 590-591.
- [38] 王悦琦, 张一鸣, 孙闵, 等. 论补中益气汤之肝脾同调 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(11): 1696-1698.

[责任编辑 郑礼胜]