

## • 药剂与工艺 •

## 丹参-红花药对不同配比特征化学成分与抗血栓活性的量-效变化规律研究

蓝婷婷<sup>1,2</sup>, 赵青荣<sup>1,2</sup>, 余代鑫<sup>1,2</sup>, 吴啟南<sup>1,2,3\*</sup>, 瞿 城<sup>1,2,3\*</sup>

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023

3. 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏 南京 210023

**摘要:** 目的 综合分析丹参 *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*-红花 *Carthami Flos* 药对不同配比的特征化学成分含量与其抗血栓作用变化规律, 优化丹参-红花药对活血化瘀配伍比例。方法 建立丹参-红花药对不同配比 (1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、2:1、3:1、4:1、5:1) 的指纹图谱及特征成分定量测定方法; 采用 HPLC 法结合综合评分法对丹参-红花药对的提取工艺进行考察, 确定最佳提取工艺; 以斑马鱼模式生物测定不同配比丹参-红花提取物的抗血栓活性; 采用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 法整合特征成分含量与抗血栓活性强度, 从成分和药效 2 个层面综合评价丹参-红花药对的最佳配比。结果 9 种配比的丹参-红花药对指纹图谱共确定了 17 个共有峰, 其中指认了 9 种特征成分, 分别为羟基红花黄色素 A (2 号峰)、木犀草苷 (3 号峰)、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 (4 号峰)、槲皮苷 (5 号峰)、丹酚酸 B (8 号峰)、二氢丹参酮 I (12 号峰)、隐丹参酮 (14 号峰)、丹参酮 I (15 号峰)、丹参酮 II<sub>A</sub> (17 号峰); 最佳提取工艺为 10 倍量 70% 乙醇, 回流提取 1 h。含量测定结果显示, 丹参-红花配伍后相比单味药材, 特征成分含量发生明显变化, 配伍比例为 1:5 时丹参中特有的丹酚酸和丹参酮类成分含量较高, 配伍比例为 3:1、4:1、5:1 时红花中指标性成分羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷的含量相对较高, 提示丹参-红花共煎会促进有效成分的溶出; 抗血栓效应显示, 丹参-红花配比为 3:1 时具有最好的抗血栓活性, 预防血栓率达 43.7%。PCA 结果显示, 丹参-红花配伍“成分-效应”综合评价指标 (*F* 值) 排序为 3:1>4:1>5:1>2:1>1:1>1:5>1:4>1:2>1:3, 表明 3:1 为丹参-红花的最佳配伍比例。结论 通过化学成分分析和体内活性评价, 揭示了不同配比丹参-红花药对的特征成分含量变化与抗血栓作用的相关性, 通过“成分-效应”综合评价解释最佳配伍比例, 为进一步开展该药对的量-效关联性分析奠定了基础, 也为临床遣方时确定适宜用量提供参考。

**关键词:** 丹参-红花药对; 指纹图谱; 抗血栓效应; 主成分分析; 配伍优化; 量-效关联; HPLC; 羟基红花黄色素 A; 木犀草苷; 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷; 槲皮苷; 丹酚酸 B; 二氢丹参酮 I; 隐丹参酮; 丹参酮 I; 丹参酮 II<sub>A</sub>

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)02-0425-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.02.005

## Dose-effect change rule of characteristic chemical components and in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*-*Carthami Flos* herb pair with different compatibility ratios and antithrombotic activity

LAN Tingting<sup>1,2</sup>, ZHAO Qingrong<sup>1,2</sup>, YU Daixin<sup>1,2</sup>, WU Qi'nan<sup>1,2,3</sup>, QU Cheng<sup>1,2,3</sup>

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing 210023, China

3. National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing 210023, China

收稿日期: 2025-08-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82204597); 南京中医药大学自然科学基金项目 (XPT82204597); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX25\_2373)

作者简介: 蓝婷婷, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源与鉴定。E-mail: 13557572631@163.com

\*通信作者: 吴啟南, 男, 教授, 主要从事中药资源生产及药材品质评价研究。E-mail: wuqn@njucm.edu.cn

瞿 城, 男, 讲师, 主要从事中药品质评价及功效物质研究。E-mail: qucheng@njucm.edu.cn

**Abstract: Objective** To analyze the correlation between the content changes of characteristic components and its antithrombotic effect in different proportions of the Danshen (*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, SMRR)-Honghua (*Carthami Flos*, CF) herb pair, and optimize the compatibility ratio of SMRR and CF for promoting blood circulation and removing blood stasis. **Methods** Fingerprint profiles and quantitative determination methods for characteristic components were established for SMRR-CF herb pair at different ratios (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1). The HPLC combined with a comprehensive scoring method was used to determine the optimal extraction process of the SMRR-CF herb pair. The anti-thrombotic activity of the SMRR-CF extracts at different ratios was measured using zebrafish as a model organism. The principal component analysis (PCA) method was used to integrate the content of characteristic components and the intensity of antithrombotic activity, and the optimal ratio of SMRR and CF was comprehensively evaluated from two aspects of composition and efficacy. **Results** The fingerprint profiles of the SMRR-CF herb pair in nine different ratios collectively identified 17 common peaks, among which nine characteristic components were characterized. These include hydroxysafflor yellow A (peak 2), luteoloside (peak 3), kaempferol-3-*O*-rutinoside (peak 4), quercitrin (peak 5), salvianolic acid B (peak 8), dihydrotanshinone I (peak 12), cryptotanshinone (peak 14), tanshinone I (peak 15), and tanshinone II<sub>A</sub> (peak 17). The optimal extraction process was determined to be maceration with 10 times the amount of 70% ethanol for 1 h by reflux. The content determination showed that the characteristic components changed significantly after the compatibility of SMRR and CF compared with the single herb. When the SMRR-CF ratio was 1:5, decoction yielded the highest concentrations of salvianolic acids and tanshinones derived from SMRR. Conversely, ratios of 3:1, 4:1 and 5:1 produced the greatest amounts of hydroxysafflor yellow A, luteoloside and kaempferol-3-*O*-rutinoside from CF, indicating that co-decoction facilitates the extraction of bioactive constituents from both herbs. Pharmacodynamic evaluation revealed that the 3:1 ratio exhibited the strongest antithrombotic activity, achieving a thrombosis inhibition rate of 43.7%. Principal-component analysis of the “composition-effect” dataset ranked the comprehensive indices (*F*-values) as 3:1 > 4:1 > 5:1 > 2:1 > 1:1 > 1:5 > 1:4 > 1:2 > 1:3, confirming that the 3:1 ratio represents the optimal compatibility of the SMRR-CF pair. **Conclusion** In this study, chemical profiling and *in vivo* pharmacodynamic evaluation were integrated to elucidate the quantitative relationship between the dynamic changes of characteristic constituents and the antithrombotic efficacy of the SMRR-CF herb pair across different compatibility ratios. An optimal ratio was identified through a “composition-effect”-based comprehensive assessment. These findings not only establish a foundation for subsequent dose-effect investigations of this classic combination, but also offer a rational reference for determining prescription design in latent prescriptions.

**Key words:** *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*-*Carthami Flos* herb pair; fingerprint; antithrombotic effect; principal component analysis; compatibility optimization; dose-effect correlation; HPLC; hydroxysafflor yellow A; luteoloside; kaempferol-3-*O*-rutinoside; quercitrin; salvianolic acid B; dihydrotanshinone I; cryptotanshinone; tanshinone I; tanshinone II<sub>A</sub>

中药药对又称“对药”，是在中医理论的指导下，临床上常用的、相对固定的 2 味中药或 3 味中药的配伍形式，以药物性味和治法为依据，安全有效为目的，结合炮制、剂量而精确遣药确定下来的用药基本单元<sup>[1]</sup>。丹参和红花均为活血化瘀要药，丹参-红花（*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*-*Carthami Flos*, SMRR-CF）药对是临床上经典的活血化瘀药对，丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根和根茎，红花为菊科红花属植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花，丹参性寒主降，行而不伤，有利于营血新生；红花性温主升，补而兼行、补而兼通，两药同用，一升一降，内外通和，使行气活血之功尤为显著；二药合用可祛瘀生新，除邪而不伤正，共奏活血通络、祛瘀生新之功，临床常以其提取物防治心脑血管疾病<sup>[2-6]</sup>。

在中药经典方剂和临床经验方中，丹参与红花

多以 1:1、2:1、3:1 等不同配伍比例出现。例如，在心宁片中，以丹参 300 g、红花 150 g（配比为 2:1）组方<sup>[7]</sup>；已上市的丹红注射液（配比为 3:1），对冠心病、心绞痛有较好的治疗效果<sup>[8]</sup>。在治疗白癜风等相关疾病时，以丹参 33.33 g、红花 33.33 g（配比为 1:1）进行组方<sup>[9]</sup>，然而，不同配伍比例与核心药效之间的量效关系仍缺乏系统的实验验证研究。目前，丹参-红花药对被广泛应用于治疗心脑血管疾病，丹参酮类、丹酚酸类、查耳酮类等活性成分通过多靶点、多通路协同起效<sup>[10-12]</sup>。然而，配伍比例如何影响其特征成分的动态变化，迄今缺乏系统研究。本研究基于丹参-红花药对临床应用的历史有效性和广泛性，建立多类型特征成分的 HPLC 指纹图谱与定量方法，以斑马鱼血栓模型为核心，采用主成分分析（principal component analysis, PCA）法整合化学-药效数据<sup>[13-15]</sup>，系统评价不同配比丹参-红花提取物的抗血栓活性差异，确

定最佳配伍比例,为阐明其配伍机制及复方开发提供实验依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters e2695 型系列高效液相色谱仪,美国沃特世科技有限公司;SQP 型十万分之一电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;AUX 220 型电子天平,日本岛津制作所;Leica DFC 7000T 型电视显微镜,上海徕卡仪器有限公司;5811KN094772 型高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;BSG-300 型程控光照培养箱,上海博讯实业有限公司;Free zone 2S 型冷冻干燥机,美国 Labconco 公司;SAGA-10TY 型实验室级超纯水器,南京易普易达科技发展有限公司;XW-80A 型微型漩涡混合仪,上海沪西分析仪器厂有限公司。

### 1.2 动物

AB 系野生型健康斑马鱼,购自南京尧顺禹生物科技有限公司。斑马鱼饲养于专用循环养殖系统: pH 6.50~7.50,水温 28 °C,溶氧 $\geq 6$  mg/L,光照 14 h/10 h 昼夜交替,每日投喂丰年虾 2 次。选择健康性成熟的斑马鱼(雌-雄 1:2)自然交配,次日 9:00~10:00 时获得受精卵,移入胚胎培养水中,置于 28 °C 下培养。实验动物符合南京中医药大学实验动物伦理委员会的相关规定。

### 1.3 药材与试剂

**1.3.1 药材与饮片** 丹参(批号 1542403083,产地山东巨野)、红花(批号 332207038,产地新疆伊宁)饮片购自陕西兴盛德药业有限责任公司,经南京中医药大学药学院吴啟南教授鉴定,丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参 *S. miltiorrhiza* Bunge 的干燥根和根茎,红花为菊科红花属植物红花 *C. tinctorius* L. 的干燥花。

**1.3.2 对照品** 木犀草苷(批号 J14IB217561)、羟基红花黄色素 A(批号 A09IB212053)、槲皮苷(批号 M23IB210619)、丹酚酸 B(批号 JS298883)、山柰酚-3-O-芸香糖苷(批号 O18IB229246)、丹参酮 I(批号 JB323113)、二氢丹参酮 I(批号 KB341800)、隐丹参酮(批号 J07HB184109)、丹参酮 II<sub>A</sub>(批号 JB278528)均购自上海源叶生物科技有限公司,HPLC 测定质量分数均 $\geq 98.0\%$ 。

**1.3.3 试剂** 甲醇、乙腈为色谱纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;屈臣氏蒸馏水,其他试剂均为分析纯;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO,

批号 J2415459)、苯肼(批号 D2412457)、邻联茴香胺(批号 I12216168)、无水乙酸钠(批号 C2428060)、阿司匹林(批号 504GB159750)均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;苯基硫脲(批号 N12IS231733),上海源叶生物科技有限公司;异丙醇(批号 80109218),国药集团化学试剂有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters PAH C<sub>18</sub> 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相为 0.1%甲酸水溶液-乙腈,梯度洗脱: 0~6 min, 5%~8%乙腈; 6~14 min, 8%~10%乙腈; 14~23 min, 10%~15%乙腈; 23~33 min, 15%~25%乙腈; 33~38 min, 25%~30%乙腈; 38~43 min, 30%~40%乙腈; 43~48 min, 40%~50%乙腈; 48~65 min, 50%~65%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 10  $\mu$ L; 检测波长 280、370 nm(羟基红花黄色素 A)。

### 2.2 混合对照品溶液的制备

取羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品各适量,溶于 80% 甲醇中,配制成含羟基红花黄色素 A 0.067 mg/mL、木犀草苷 0.075 mg/mL、山柰酚-3-O-芸香糖苷 0.067 mg/mL、槲皮苷 0.067 mg/mL、丹酚酸 B 0.067 mg/mL、二氢丹参酮 I 0.067 mg/mL、隐丹参酮 0.067 mg/mL、丹参酮 I 0.067 mg/mL、丹参酮 II<sub>A</sub> 0.067 mg/mL 的混合对照品溶液。

### 2.3 不同配比丹参-红花药对指纹图谱研究

**2.3.1 供试品溶液的制备** 将丹参、红花饮片打成粉末后过三号筛,丹参-红花分别为 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、1:2、1:3、1:4、1:5 共 9 个质量比例,固定丹参、红花粉末总质量为 15 g,按照比例分别称取后混合均匀,加 10 倍量 70% 乙醇加热回流 1 h,冷却滤过,以 10 000 r/min 离心(离心半径 9.5 cm) 2 次,0.22  $\mu$ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

**2.3.2 精密度试验** 依照 2:1 比例,精密称取丹参饮片 10 g 及红花饮片 5 g,按照“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,再按照“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,考察特征峰的保留时间和峰面积一致性。以分离度良好、保留时间适宜的 8 号峰(丹酚酸 B)为参照峰(S),各共有峰的相对保留时间与相对峰面积的 RSD 均 $< 3\%$ ,表明仪器精密度良好。

**2.3.3 稳定性试验** 按照“2.3.1”项下方法制备丹参与红花比例 2:1 的供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件,分别于制备后 2、4、6、8、10、16、24 h 进样测定,考察共有峰保留时间和峰面积的一致性。以分离度良好、保留时间适宜的 8 号峰(丹酚酸 B)为参照峰(S),各共有峰的相对保留时间与相对峰面积的 RSD 均<3%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.4 重复性试验** 按照“2.3.1”项下方法制备丹参与红花比例 2:1 的供试品溶液,平行 6 份,按照“2.1”项下色谱条件进样分析,以分离度良好、

保留时间适宜的 8 号峰(丹酚酸 B)为参照峰(S),各共有峰相对保留时间与相对峰面积的 RSD 均<3%,表明该方法重复性良好。

**2.3.5 丹参-红花药对指纹图谱的建立及相似度评价** 按照“2.3.1”项下方法制备丹参与红花 9 个比例的供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。将图谱输入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》,设置丹参-红花 1:1 药对样品的图谱为参照,采取中位数法。将时间窗宽度设置为 0.1 s,多点校正,构建丹参-红花药对的 HPLC 指纹图谱和对照指纹图谱(R,图 1),确认 9 个配伍

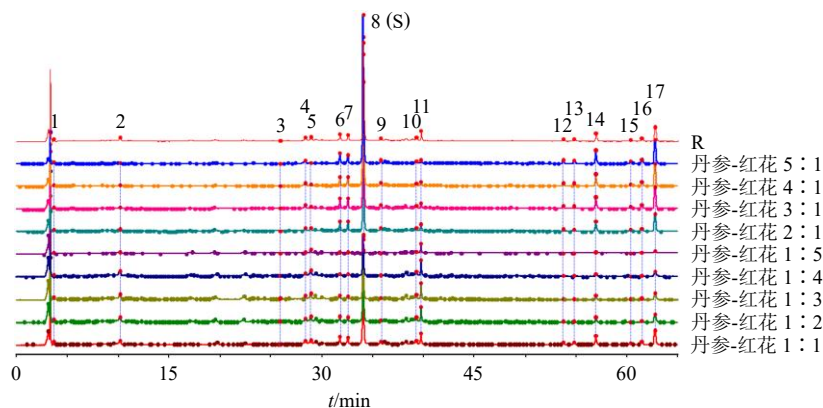


图 1 不同配伍比例丹参-红花药对 HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱(R)

Fig. 1 HPLC fingerprints of different compatibility ratios of SMRR-CF herb pair and control fingerprint (R)

比例丹参-红花药对的 17 个共有峰。不同配伍比例丹参-红花药对样品与 R 的相似度均>0.9(表 1),具有良好的相似度,表明 9 个配伍比例的丹参-红花药对样品质量相对稳定,整体性良好,所建立的指纹图谱方法可用于后续的质量控制。

**2.3.6 共有峰的指认** 取“2.2”项下混合对照品溶

表 1 不同配比丹参-红花药对样品的相似度

Table 1 Similarity of SMRR-CF herb pair samples with different ratios

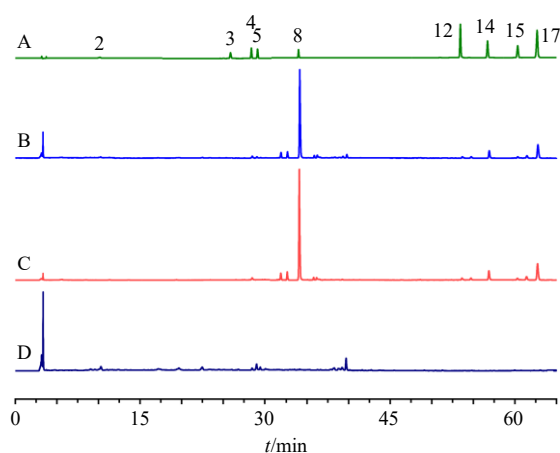
编号	相似度									
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	R
S1	1.000	0.982	0.964	0.911	0.907	0.997	0.996	0.993	0.991	0.999
S2	0.982	1.000	0.991	0.970	0.958	0.967	0.964	0.954	0.951	0.982
S3	0.964	0.991	1.000	0.984	0.984	0.944	0.942	0.930	0.929	0.965
S4	0.911	0.970	0.984	1.000	0.988	0.881	0.876	0.859	0.856	0.912
S5	0.907	0.958	0.984	0.988	1.000	0.878	0.873	0.859	0.857	0.909
S6	0.997	0.967	0.944	0.881	0.878	1.000	0.999	0.998	0.997	0.997
S7	0.996	0.964	0.942	0.876	0.873	0.999	1.000	0.999	0.999	0.997
S8	0.993	0.954	0.930	0.859	0.859	0.998	0.999	1.000	1.000	0.993
S9	0.991	0.951	0.929	0.856	0.857	0.997	0.999	1.000	1.000	0.992
R	0.999	0.982	0.965	0.912	0.909	0.997	0.997	0.993	0.992	1.000

液,按照“2.1”项下色谱条件进样测定,得混合对照品溶液色谱图(图 2-A)。与图 1 所示 R 比对,指出不同配伍比例丹参-红花药对 HPLC 指纹图谱共有峰 2~5、8、12、14、15、17 分别为羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub>。

## 2.4 化学成分定量测定方法的建立

**2.4.1 供试品溶液的制备** 将丹参、红花饮片打成粉末后过三号筛,取丹参粉末 10 g 与红花粉末 5 g (2:1),精密称定,加 10 倍量 70%乙醇加热回流 1 h,冷却滤过,以 10 000 r/min 离心(离心半径 9.5 cm)2 次,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

**2.4.2 混合对照品溶液的制备** 取羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品各适量,溶于 80%甲醇中,配制成含羟基红花黄色素 A 3.010 mg/mL、木犀草苷 1.430 mg/mL、山柰酚-3-O-芸香糖苷 1.270 mg/mL、槲皮



2-羟基红花黄色素 A; 3-木犀草苷; 4-山柰酚-3-O-芸香糖苷; 5-槲皮苷; 8-丹酚酸 B; 12-二氢丹参酮 I; 14-隐丹参酮; 15-丹参酮 I; 17-丹参酮 II<sub>A</sub>。

2-hydroxysafflor yellow A; 3-luteolosid; 4-kaempferol-3-O-rutinosid; 5-quercitrin; 8-salvianolic acid B; 12-dihydrotanshinone I; 14-cryptotanshinone; 15-tanshinone I; 17-tanshinone II<sub>A</sub>。

图 2 混合对照品 (A)、丹参-红花药对 (2:1, B)、丹参单煎 (C) 及红花单煎 (D) 的 HPLC 叠加图

Fig. 2 HPLC overlay diagram of mixed reference substances (A), SMRR-CF herb pair (2:1, B), SMRR single decoction (C) and CF single decoction (D)

苷 1.130 mg/mL、丹酚酸 B 2.230 mg/mL、二氢丹参酮 I 0.670 mg/mL、隐丹参酮 1.81 mg/mL、丹参酮 I 1.445 mg/mL、丹参酮 II<sub>A</sub> 0.845 mg/mL 的混合对照品储备液，备用。

**2.4.3 线性关系考察及检测限、定量限确定** 取混合对照品储备液，依次稀释 2、4、6、8、10 倍，按照“2.1”项下色谱条件进行测定，以各成分峰面积 (Y) 对其质量浓度 (X) 进行线性拟合，得到线性回归方程：羟基红花黄色素 A  $Y=13\,391\,X+145\,051$ ， $R^2=0.999\,3$ ，线性范围 34.2~256.5 μg/mL；木犀草苷  $Y=13\,463\,X-31\,279$ ， $R^2=0.999\,8$ ，线性范围 22.2~166.3 μg/mL；山柰酚-3-O-芸香糖苷  $Y=8\,820\,X-28\,529$ ， $R^2=0.999\,3$ ，线性范围 25.0~187.7 μg/mL；槲皮苷  $Y=11\,622\,X-8\,401.6$ ， $R^2=0.999\,3$ ，线性范围 19.0~142.1 μg/mL；丹酚酸 B  $Y=24\,301\,X-71\,693$ ， $R^2=0.999\,2$ ，线性范围 12.6~94.5 μg/mL；二氢丹参酮 I  $Y=32\,513\,X+21\,676$ ， $R^2=0.999\,2$ ，线性范围 5.6~42.2 μg/mL；隐丹参酮  $Y=19\,269\,X-43\,136$ ， $R^2=0.999\,2$ ，线性范围 10.9~81.5 μg/mL；丹参酮 I  $Y=7\,283.2\,X-14\,058$ ， $R^2=0.999\,5$ ，线性范围 19.3~144.7 μg/mL；丹参酮 II<sub>A</sub>  $Y=16\,766\,X+4\,631.4$ ， $R^2=0.999\,0$ ，线性范围 10.1~76.1 μg/mL；结果表明，各成分线性关系良好。依照

信噪比 (S/N) 为 3:1 及 10:1 确定各成分的检测限及定量限，结果羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 的检测限分别为 0.602、1.155、1.339、1.558、1.505、0.302、1.195、1.264、0.634 μg/mL，定量限分别为 1.656、3.850、4.016、4.159、3.791、1.759、4.778、5.058、2.746 μg/mL。

**2.4.4 精密度考察** 取“2.4.2”项下混合对照品溶液 10 μL，按照“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果显示，羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积的 RSD 为 1.43%、2.70%、3.67%、2.99%、1.02%、0.78%、0.60%、0.93%、1.05%，结果表明该仪器精密度良好。

**2.4.5 稳定性考察** 取丹参粉末 10 g 与红花粉末 5 g (2:1)，精密称定，按照“2.4.1”项下方法制备，于 4℃ 冰箱中冷藏，分别于制备后 2、4、6、8、10、16、24 h，按照“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积。结果显示，羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积的 RSD 分别为 4.07%、2.75%、2.91%、2.60%、0.71%、2.13%、0.88%、1.32%、0.47%，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.4.6 重复性考察** 取丹参粉末 10 g 与红花粉末 5 g，精密称定，按照“2.4.1”项下制备方法，平行制备供试品溶液 6 份，分别进样 10 μL，按照“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积。结果显示，羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 质量分数的 RSD 分别为 4.21%、2.36%、2.18%、2.08%、0.46%、2.84%、1.92%、2.97%、1.24%，结果表明该方法重复性良好。

**2.4.7 加样回收率考察** 取丹参粉末 10 g 与红花粉末 5 g，精密称定，按照“2.4.1”项下制备方法，平行制备供试品溶液 9 份，分低、中、高 3 组，依次加 80%、100%、120% 对照品溶液，按照“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，计算加样回收率。结果显示，羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 的平均加

样回收率分别为 97.59%、101.13%、101.51%、100.40%、98.74%、101.99%、102.23%、99.18%、97.27%，RSD 分别为 3.48%、3.47%、3.01%、1.67%、1.60%、4.55%、2.63%、3.81%、2.15%，结果表明该方法准确度良好。

## 2.5 丹参-红花药对提取工艺优化

**2.5.1 提取工艺的综合评价方法确定** 以羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 含量为评价指标，结合“对药品质量影响大的指标权重可高于影响小者”原则及专家共识对其进行数据归一化处理后加权总评。各指标的加权值分别为羟基红花黄色素 A 0.15、丹酚酸 B 0.15、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 0.10、隐丹参酮 0.10、丹参酮 I 0.10、丹参酮 II<sub>A</sub> 0.10、木犀草苷 0.10、槲皮苷 0.10、

二氢丹参酮 I 0.10。

数据先转换为归一值 ( $d_i$ )，公式为  $d_i = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ ，其中  $Y_{\max}$ 、 $Y_{\min}$  分别是各评价指标的最大值、最小值，再转换为综合评分值，综合评分值 =  $d_i$  (羟基红花黄色素 A)  $\times 0.15 + d_i$  (丹酚酸 B)  $\times 0.15 + d_i$  (山柰酚-3-*O*-芸香糖苷)  $\times 0.10 + d_i$  (隐丹参酮)  $\times 0.10 + d_i$  (丹参酮 I)  $\times 0.10 + d_i$  (丹参酮 II<sub>A</sub>)  $\times 0.10 + d_i$  (木犀草苷)  $\times 0.10 + d_i$  (槲皮苷)  $\times 0.10 + d_i$  (二氢丹参酮 I)  $\times 0.10$ 。

**2.5.2 不同煎煮时间考察** 固定溶剂为 75%乙醇、料液比为 1:10，以 9 个特征成分提取量为考察指标，考察 30、60、90 min 3 个提取时间对丹参-红花提取效率的影响。表 2 结果显示，60 min 时各成分提取量总和较高，故本实验丹参-红花煎煮时间确定为 60 min。

表 2 煎煮时间对丹参-红花药对提取效率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Effects of decoction time on extraction efficiency of SMRR-CF herb pair ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

煎煮时间/min	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )									综合评分
	羟基红花黄色素 A	木犀草苷	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	槲皮苷	丹酚酸 B	二氢丹参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II <sub>A</sub>	
30	9.55±0.07	0.92±0.11	4.42±0.22	3.15±0.05	17.47±0.11	0.27±0.01	1.84±0.01	1.03±0.03	4.29±0.00	0.770 8
60	9.63±0.44	0.96±0.05	4.75±0.16	2.92±0.39	17.60±0.31	0.27±0.02	1.76±0.02	1.04±0.01	4.12±0.04	0.859 0
90	9.24±0.08	0.79±0.40	4.58±0.07	2.74±0.37	17.27±0.02	0.23±0.01	1.65±0.01	0.96±0.00	3.90±0.03	0.046 8

**2.5.3 不同料液比考察** 固定溶剂为 75%乙醇、提取时间为 60 min，以 9 个特征成分提取量为考察指标，综合评价 6、8、10、12 倍不同料液比对丹参-红花提取效率的影响。表 3 结果显示，随料液比升高，羟基红花黄色素 A、木犀草苷、槲皮苷、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II<sub>A</sub> 提取量呈先减后增的趋势，山柰酚-3-*O*-芸香糖苷和丹酚酸 B 提取量呈先增后减的趋势，至 1:10 后趋于平台，故本实验丹参-红花料液比确定为 1:10。

**2.5.4 不同提取溶剂及用量考察** 实验初期比较甲醇与乙醇的提取效果，结果显示甲醇提取效率低，

且甲醇具有一定毒性。提取时间为 60 min、料液比为 1:10，固定 9 个特征成分含量为指标，综合评价 10%、30%、50%、70%、90% 不同乙醇体积分数对丹参-红花提取效果的影响。表 4 结果显示，随乙醇体积分数升高，木犀草苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷、二氢丹参酮 I、隐丹参酮 I 和丹参酮 II<sub>A</sub> 提取量呈先增后减的趋势，羟基红花黄色素 A 和丹酚酸 B 提取量呈先减后增的趋势，于 70%乙醇趋于顶峰，故本实验丹参-红花溶剂确定为 70%乙醇。

**2.5.5 最佳工艺参数确定及实验验证** 根据上述单因素考察结果，确定丹参-红花药对的最佳提取工艺

表 3 料液比对丹参-红花药对提取效率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 Effects of solid-liquid ratio on extraction efficiency of SMRR-CF herb pair ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

料液比	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )									综合评分
	羟基红花黄色素 A	木犀草苷	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	槲皮苷	丹酚酸 B	二氢丹参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II <sub>A</sub>	
1:6	9.54±0.09	0.90±0.19	4.74±0.50	2.89±0.24	14.54±0.22	0.26±0.00	1.72±0.01	0.95±0.01	3.99±0.01	0.568 9
1:8	9.26±0.28	0.92±0.13	5.28±0.16	2.86±0.06	15.37±0.26	0.26±0.02	1.67±0.03	0.92±0.02	3.89±0.02	0.413 6
1:10	9.39±0.13	0.91±0.28	4.66±0.49	2.75±0.33	17.49±0.16	0.26±0.02	1.78±0.03	1.04±0.04	4.14±0.01	0.745 2
1:12	9.21±0.32	0.75±0.10	4.53±0.17	2.77±0.22	15.76±0.10	0.24±0.01	1.74±0.01	1.00±0.01	4.11±0.03	0.300 0



表 4 提取溶剂乙醇体积分数对丹参-红花药对提取效率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 4 Effects of ethanol volume fraction in extraction solvent on extraction efficiency of SMRR-CF herb pair ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

乙醇/ %	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )									综合 评分
	羟基红花 黄色素 A	木犀草苷	山柰酚-3-O- 芸香糖苷	槲皮苷	丹酚酸 B	二氢丹参 酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II <sub>A</sub>	
10	14.15±0.47	0.95±0.08	3.29±0.05	1.94±0.18	15.69±0.13	—	—	—	—	0.336 2
30	15.38±0.19	1.09±0.04	3.77±0.07	2.65±0.07	17.14±0.08	0.10±0.00	0.81±0.02	0.32±0.01	0.34±0.03	0.596 7
50	11.70±0.21	1.26±0.05	4.04±0.14	2.79±0.19	16.33±0.10	0.19±0.02	1.79±0.01	0.96±0.04	3.37±0.09	0.803 3
70	9.22±0.20	0.78±0.08	4.67±0.14	2.98±0.27	16.70±0.11	0.26±0.03	2.00±0.01	1.37±0.06	4.39±0.14	0.820 0
90	5.60±0.56	0.57±0.10	3.76±0.54	1.46±0.34	10.32±0.25	0.27±0.03	1.96±0.03	1.33±0.14	4.37±0.10	0.428 7

“—” 未检测出; 表 6 同。

“—” not detected; Same as table 6.

为提取 1 h、10 倍量水、提取溶剂为 70%乙醇。

取丹参样品粉末 10 g 与红花粉末 5 g, 精密称定, 平行制备 3 组样品, 严格遵循优化参数实施回

流提取。3 批次工艺验证结果见表 5, 各指标成分含量的 RSD 均小于 3%, 表明优选的丹参-红花药对提取工艺稳定可行。

表 5 最佳提取工艺验证实验结果

Table 5 Validation results of optimized extraction process

验证	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )								
	羟基红花 黄色素 A	木犀草苷	山柰酚-3-O- 芸香糖苷	槲皮苷	丹酚酸 B	二氢丹参 酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II <sub>A</sub>
1	9.21	0.78	4.40	2.97	16.40	0.24	2.07	1.40	4.57
2	9.07	0.79	4.51	3.05	16.49	0.25	2.00	1.37	4.48
3	9.48	0.80	4.49	3.07	16.57	0.24	2.11	1.35	4.38
平均值	9.25	0.79	4.47	3.03	16.49	0.24	2.06	1.37	4.48
RSD/%	2.28	1.83	1.29	1.73	0.50	2.47	2.86	1.62	2.09

## 2.6 不同配比丹参-红花药对中化学成分定量测定及聚类分析

### 2.6.1 不同配伍比例丹参-红花药对提取液中各成分含量测定

取 9 个不同配伍比例的丹参-红花药对

的供试品溶液, 按照“2.1”项下色谱条件进样分析, 记录各成分的峰面积, 根据回归方程计算含量, 结果见表 6。当丹参-红花比例为 3:1 时, 羟基红花黄色素 A、槲皮苷含量最高; 比例为 4:1 时木犀草苷

表 6 不同配伍比例丹参-红花药对指标成分含量测定结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 6 Determination results of index components in different compatibility ratios of SMRR-CF herb pair ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

丹参- 红花	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )								
	丹酚酸 B	二氢丹参 酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II <sub>A</sub>	羟基红花 黄色素 A	木犀草苷	山柰酚-3-O- 芸香糖苷	槲皮苷
1:0	15.16±0.20	0.25±0.01	2.19±0.03	1.29±0.03	5.03±0.07	—	—	—	—
1:1	16.95±0.07	0.28±0.01	2.32±0.10	1.60±0.11	4.76±0.01	8.29±0.05	0.68±0.05	3.67±0.20	2.62±0.13
1:2	15.63±0.28	0.18±0.02	2.39±0.08	1.53±0.02	4.92±0.28	9.26±0.02	0.51±0.06	1.78±0.09	2.18±0.04
1:3	16.19±0.39	0.26±0.04	2.65±0.04	1.93±0.08	4.50±0.13	8.73±0.13	0.41±0.09	1.91±0.14	2.24±0.12
1:4	16.95±0.08	0.27±0.13	2.64±0.07	1.86±0.07	4.80±0.20	8.46±0.08	0.54±0.06	2.37±0.12	2.51±0.10
1:5	18.17±0.10	0.27±0.04	3.01±0.05	2.31±0.07	5.19±0.07	9.18±0.13	0.65±0.04	2.44±0.24	2.82±0.16
2:1	16.38±0.15	0.25±0.00	1.96±0.03	1.31±0.05	4.31±0.05	8.92±0.26	0.70±0.08	4.50±0.08	2.87±0.16
3:1	15.46±0.20	0.27±0.01	2.27±0.02	1.33±0.06	4.62±0.09	9.49±0.24	0.97±0.04	6.32±0.17	3.02±0.20
4:1	14.47±0.13	0.26±0.01	2.03±0.02	1.36±0.08	4.48±0.02	7.90±0.08	1.05±0.08	6.86±0.44	2.87±0.26
5:1	13.66±0.04	0.25±0.00	2.02±0.01	1.29±0.03	4.54±0.03	6.77±0.10	0.99±0.06	7.52±0.17	2.51±0.10
0:1	—	—	—	—	—	8.45±0.23	0.41±0.03	1.06±0.08	2.84±0.12

含量最高；比例为 5:1 时山柰酚-3-*O*-芸香糖苷的含量最高；比例为 1:5 时，丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 含量最高；当红花的比例增加时，来源于丹参中各含量有所提升；当丹参比例增加时，来源于红花中的羟基红花黄色素 A、木犀草苷、槲皮苷含量呈“U”型分布。结果表明丹参-红花药对共煎可能会增加其有效成分的溶出。

**2.6.2 聚类分析** 采用聚类热图分析，旨在系统比较丹参-红花不同配伍比例下主要活性成分（如丹参酮 I、隐丹参酮等）的相对含量差异，从而揭示化学成分分布与配伍比例之间的内在规律。将 9 个指标成分经归一化处理后作为评价指标，采用 Hiplot Pro

（<https://hiplot.com.cn/>）中的聚类热图工具进行分析，结果见图 3。结果显示，9 个配伍比例丹参-红花药对样品可以划分为 6 类：第 I 类为 4:1、5:1 配伍比例，其中木犀草苷与山柰酚-3-*O*-芸香糖苷含量较高；第 II 类为 3:1、2:1 配伍比例，其中槲皮苷的含量相对较高；第 III 类为 1:2 配伍比例，其中丹参酮 II<sub>A</sub>、羟基红花黄色素 A 的含量相对较高；第 IV 类为 1:5 配伍比例品，其中丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 II<sub>A</sub> 含量相对较高；第 V 类为 1:3 配伍比例，其中隐丹参酮、丹参酮 I 的含量相对较高；第 VI 类为 1:1、1:4 配伍比例，各成分相对含量较少。

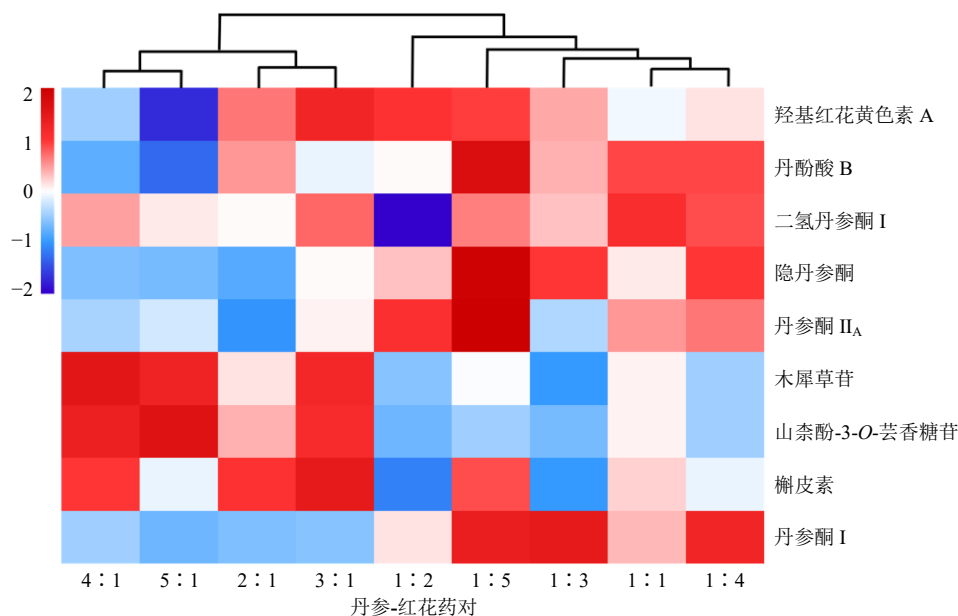


图 3 不同配比丹参-红花药对 9 个指标成分聚类热图

Fig. 3 Clustering heat map of nine index components of SMRR-CF herb pair with different ratios

对比各类样品的热图颜色深浅，发现第 I、II、IV 类样品相对 III、V、VI 类样品颜色更红，表明第 I、II、IV 类药对样品配伍比例共煎煮后更有利于有效成分的溶出。该分析将 9 组样品划分为 6 类，直观识别出有效成分相对富集的优势配伍组以及成分含量较低的配伍组，为后续药效评价与关键配伍比例的筛选提供明确的化学依据。

## 2.7 不同配比丹参-红花药对抗血栓作用

**2.7.1 供试品溶液的制备** 依照“2.4.1”项下方法制备供试品溶液，旋蒸冻干后得冻干粉。丹参-红花 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、1:2、1:3、1:4、1:5 冻干得率分别是 41.7%、42.3%、40.4%、39.8%、38.7%、40.1%、38.4%、41.3%、36.9%，按生药量加斑马鱼胚胎培养液复溶，备用。

**2.7.2 不同配比丹参-红花提取物药液质量浓度的筛选** 选取受精 3 d (3 d post fertilization, 3 dpf) 后发育正常的 AB 系斑马鱼幼鱼，放入 12 孔板中，每孔 10 枚，含有 1 mL 饲养液，设置 3 个复孔。设置空白组 (0.1% DMSO)、丹参-红花给药组 (丹参-红花提取物质量浓度分别为 75、100、150、200、250、300、350、400、450 μg/mL)，28 °C 恒温培养箱培养，给药组每 24 h 更换 1 次相应含药胚胎水，空白组同步更换 0.1% DMSO 胚胎水，培养至 6 dpf，记录各组斑马鱼幼鱼存活数量。由表 7 结果可知，当丹参-红花药对提取物质量浓度 (以生药量计) ≤ 100.0 μg/mL 时，丹参-红花药对所有配伍比例的斑马鱼存活数量均 ≥ 19 条以上，且与空白组无明显差异；根据斑马鱼急性毒性实验结果表明，后续实验



表 7 不同质量浓度下不同配伍比例丹参-红花药对提取物斑马鱼存活数量 ( $n = 30$ )

Table 7 Survival count of zebrafish of different compatibility ratios of SMRR-CF herb pair extract at different mass concentrations ( $n = 30$ )

丹参-红花	存活数量/条								
	75 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	300 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	350 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	450 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
1 : 1	30	30	26	17	15	11	6	5	0
2 : 1	30	30	30	29	28	26	23	14	8
3 : 1	30	30	30	27	26	23	21	15	4
4 : 1	30	30	30	26	26	22	10	6	1
5 : 1	30	30	30	24	18	14	8	6	0
1 : 2	30	19	15	13	8	1	0	0	0
1 : 3	30	25	14	10	8	4	0	0	0
1 : 4	30	20	17	13	12	10	4	0	0
1 : 5	30	23	17	16	13	10	5	0	0

将选取 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$  质量浓度开展不同配伍比例丹参-红花药对斑马鱼抗血栓实验。

**2.7.3 斑马鱼血栓模型的建立及给药** 取 3 dpf AB 系斑马鱼幼鱼置于培养皿中, 在显微镜下挑选发育正常的斑马鱼于 6 孔板中, 每孔 30 条, 设 3 个复孔。设置空白组 (0.1% DMSO)、模型组 (1.5  $\mu\text{mol}/\text{L}$  苯肼培养 24 h 后加入 0.1% DMSO)、阳性对照组 (1.5  $\mu\text{mol}/\text{L}$  苯肼培养 24 h 后加入 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  阿司匹林) 和丹参-红花给药组 (1.5  $\mu\text{mol}/\text{L}$  苯肼培养 24 h 后加入 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$  丹参-红花提取物), 置于 28  $^{\circ}\text{C}$  光照培养箱中培养 24 h, 每组取 6 尾进行染色观察血栓情况, 完成血栓模型的建立及给药。

**2.7.4 不同配比丹参-红花提取物抗血栓效果** 每组随机取 6 条斑马鱼幼鱼, 以 1.0  $\text{mg}/\text{mL}$  邻联茴香胺染料避光染色 15 min (2  $\text{mL}/\text{孔}$ )。弃去染液后用 0.1% DMSO 轻洗 3 次。利用 Image Pro Plus 6.0 软件测量心脏红细胞染色面积 (staining area of erythrocytes in the heart, SA), 计算抗血栓效果 (自定义的药效指数, 用于量化血栓抑制程度)。

$$\text{抗血栓效果} = (\text{SA}_{\text{药物}} - \text{SA}_{\text{模型}}) / (\text{SA}_{\text{空白}} - \text{SA}_{\text{模型}})$$

结果如表 8 和图 4、5 所示, 与空白组比较, 模型组斑马鱼心脏红细胞染色面积明显减小 ( $P < 0.0001$ ), 表明建模成功; 与模型组比较, 阿司匹林组和 9 个不同配伍比例丹参-红花提取物组斑马鱼心脏红细胞染色面积显著增加 ( $P < 0.001$ ), 均表现出不同程度的抑制斑马鱼尾静脉血栓形成的作用 ( $P < 0.05$ 、0.01、0.001), 这表明丹参-红花药对可抑制血栓的形成。

**2.7.5 统计学分析** 利用 Image Pro Plus 6.0 软件测量斑马鱼心脏红细胞染色面积; 利用 Excel 2019 软件对 9 个不同配伍比例丹参-红花样品含量和斑马鱼抗血栓数据进行统计, 计算其平均值和标准偏差; 利用 SPSS 26 软件对 9 个不同配伍比例样品含量和斑马鱼抗血栓数据进行主成分分析。

**2.8 不同配伍比例丹参-红花药对主要成分含量与抗血栓效果之间的相关性分析**

**2.8.1 PCA** 为详细地阐释不同配伍比例 (1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 :

表 8 不同配伍比例丹参-红花药对提取物的抗血栓作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 8 Antithrombotic effects of different compatibility ratios of SMRR-CF herb pair extract ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	心脏红细胞染色面积/ $\mu\text{m}^2$	抗血栓效果/%	尾静脉血栓长度/ $\mu\text{m}$	组别	心脏红细胞染色面积/ $\mu\text{m}^2$	抗血栓效果/%	尾静脉血栓长度/ $\mu\text{m}$
空白	4 787.17 $\pm$ 468.92	—	171.43 $\pm$ 69.94	丹参-红花 3 : 1	1 697.50 $\pm$ 362.33***	43.90	292.20 $\pm$ 57.42**
模型	470.50 $\pm$ 285.28###	—	669.80 $\pm$ 184.90###	丹参-红花 1 : 3	1 713.50 $\pm$ 198.10***	27.58	484.87 $\pm$ 193.14
阿司匹林	2 934.50 $\pm$ 511.79***	51.47	121.22 $\pm$ 147.19***	丹参-红花 4 : 1	2 199.83 $\pm$ 540.07***	35.42	341.23 $\pm$ 83.04**
丹参-红花 1 : 1	1 859.17 $\pm$ 477.21***	29.01	321.36 $\pm$ 120.25**	丹参-红花 1 : 4	2 572.17 $\pm$ 302.81***	25.63	319.04 $\pm$ 244.88**
丹参-红花 2 : 1	1 841.67 $\pm$ 544.76***	36.12	311.09 $\pm$ 145.49**	丹参-红花 5 : 1	2 166.00 $\pm$ 467.64***	29.04	371.56 $\pm$ 144.95*
丹参-红花 1 : 2	1 790.67 $\pm$ 368.84***	28.64	363.39 $\pm$ 154.22*	丹参-红花 1 : 5	1 860.67 $\pm$ 466.79***	25.97	335.10 $\pm$ 176.37**

与空白组比较: ### $P < 0.001$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。

### $P < 0.001$  vs blank group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group.

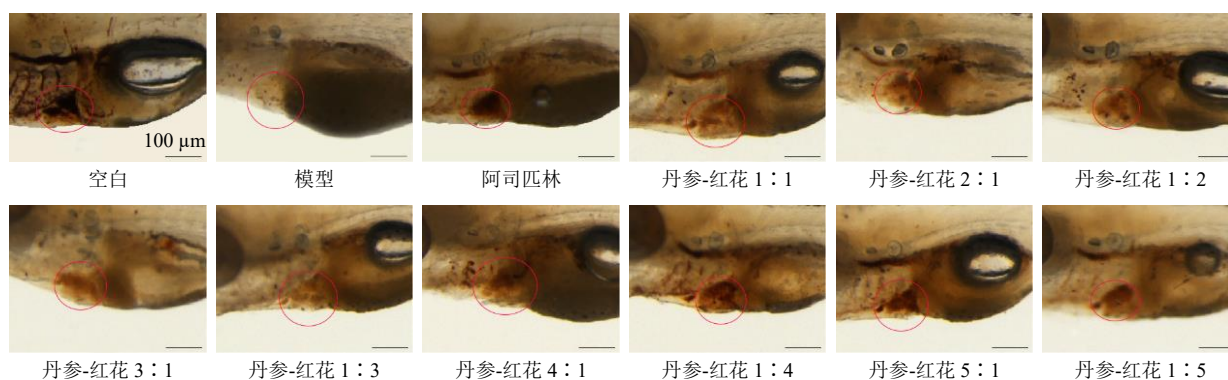


图 4 不同配伍比例丹参-红花药对提取物改善斑马鱼模型心脏的影响 (×12)

Fig. 4 Effects of different compatibility ratios of SMRR-CF herb pair extract on improving heart of zebrafish model (×12)

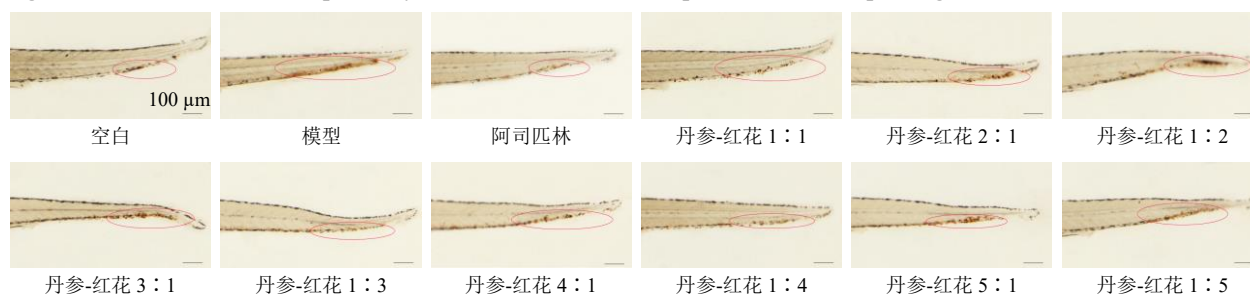


图 5 不同配伍比例丹参-红花药对提取物改善斑马鱼模型尾静脉的影响 (×12)

Fig. 5 Effect of different compatibility ratios of SMRR-CF herb pair extract on improving tail vein of zebrafish model (×12)

1) 丹参-红花药对整体抗血栓药效的差异, 以各药对化学成分羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、隐丹参酮、二氢丹参酮 I、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 含量及心脏/尾静脉抗血栓指标为变量, 采用 SPSS 26.0 软件对变量标准化后进行 PCA。9 种化学成分含量和 2 个生化指标变化的 PCA 结果见表 9 (其中  $Y_1 \sim Y_{11}$  均为标

表 9 丹参-红花药对化学成分和心脏/尾静脉抗血栓作用的特征值和方差贡献率

主成分	初始特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	5.524	50.222	50.222
2	2.526	22.965	73.186
3	1.393	12.665	85.851
4	0.885	8.046	93.898
5	0.508	4.622	98.520
6	0.104	0.943	99.462
7	0.044	0.404	99.866
8	0.015	0.134	100.000
9	$3.455 \times 10^{-16}$	$3.141 \times 10^{-15}$	100.000
10	$-5.920 \times 10^{-17}$	$-5.390 \times 10^{-16}$	100.000
11	$-2.070 \times 10^{-16}$	$-1.880 \times 10^{-15}$	100.000

准化后的指标变量), 以特征值大于 1 为提取标准, 得到第 1 主成分 ( $Z_1$ ) 的特征值和方差贡献率分别为 5.524 和 50.222%, 第 2 主成分 ( $Z_2$ ) 的特征值和方差贡献率分别为 2.526 和 22.965%, 第 3 主成分 ( $Z_3$ ) 的特征值和方差贡献率分别为 1.393 和 12.665%, 前 3 个主成分的累积方差贡献率已达到 85.851% ( $>85\%$ )。因此, 选取前 3 个主成分作为各指标数据分析的有效成分, 其代表了原有 11 个指标变量的 85.851% 贡献率。

**2.8.2 综合评价模型构建** 由表 10 可知, 以  $Z_1$ 、 $Z_2$ 、 $Z_3$  代替原来的 11 个指标变量 ( $Y_1 \sim Y_{11}$ ), 对 9 个配伍比例丹参-红花进行药效综合评价, 以各自主成分载荷向量除以各自主成分特征值的算术平方根得到主成分系数, 各主成分系数模型分别为  $Z_1 = 0.408 Y_1 - 0.393 Y_2 + 0.388 Y_3 - 0.371 Y_4 - 0.314 Y_5 + 0.300 Y_6 - 0.272 Y_7 + 0.251 Y_8 + 0.173 Y_9 + 0.060 Y_{10} - 0.182 Y_{11}$ ;  $Z_2 = -0.014 Y_1 + 0.053 Y_2 + 0.098 Y_3 + 0.193 Y_4 + 0.377 Y_5 + 0.301 Y_6 + 0.230 Y_7 + 0.484 Y_8 + 0.448 Y_9 + 0.311 Y_{10} + 0.364 Y_{11}$ ;  $Z_3 = 0.180 Y_1 + 0.264 Y_2 + 0.157 Y_3 + 0.163 Y_4 + 0.051 Y_5 - 0.311 Y_6 + 0.016 Y_7 + 0.096 Y_8 - 0.099 Y_9 + 0.663 Y_{10} - 0.536 Y_{11}$ 。

取第 1~3 主成分的方差贡献率  $\alpha_1$  (50.222%)、 $\alpha_2$  (22.965%)、 $\alpha_3$  (12.665%) 作为权重系数,  $Z_1$ 、

表 10 主成分的成分矩阵和成分系数  
Table 10 Composition matrix and composition coefficient of principal components

指标 变量	成分矩阵			成分系数		
	Z <sub>1</sub>	Z <sub>2</sub>	Z <sub>3</sub>	Z <sub>1</sub>	Z <sub>2</sub>	Z <sub>3</sub>
Y <sub>1</sub>	0.958	-0.023	0.212	0.408	-0.014	0.180
Y <sub>2</sub>	-0.924	0.085	0.312	-0.393	0.053	0.264
Y <sub>3</sub>	0.912	0.155	0.185	0.388	0.098	0.157
Y <sub>4</sub>	-0.871	0.307	0.192	-0.371	0.193	0.163
Y <sub>5</sub>	-0.738	0.599	0.060	-0.314	0.377	0.051
Y <sub>6</sub>	0.705	0.479	-0.367	0.300	0.301	-0.311
Y <sub>7</sub>	-0.640	0.365	0.019	-0.272	0.230	0.016
Y <sub>8</sub>	0.589	0.770	0.113	0.251	0.484	0.096
Y <sub>9</sub>	0.407	0.712	-0.117	0.173	0.448	-0.099
Y <sub>10</sub>	0.140	0.494	0.783	0.060	0.311	0.663
Y <sub>11</sub>	-0.427	0.578	-0.633	-0.182	0.364	-0.536

Z<sub>2</sub>、Z<sub>3</sub> 为特征向量因子，构建综合评价模型： $F = \alpha_1 Z_1 + \alpha_2 Z_2 + \alpha_3 Z_3$ ，即  $F = 0.502\ 22 Z_1 + 0.229\ 65 Z_2 + 0.126\ 65 Z_3$ ，式中  $F$  值为综合评价指标。应用该模型结合标准化后的数据，计算出不同配伍比例丹参-红花抗血栓作用的  $F$  值，其高低反映丹参-红花化学成分及抗血栓药效指标综合影响大小。

从表 11 中可以看出，9 个配伍比例  $F$  值排名依次为 3:1>4:1>5:1>2:1>1:1>1:5>1:4>1:2>1:3，说明 9 个配伍比例均具有不同程度抗血栓作用，其中丹参-红花配比为 3:1 时  $F$  值达到最高水平，提示丹参-红花配比为 3:1 抗血栓综合效应最佳。

表 11 丹参-红花药对不同配伍抗血栓作用的  $F$  值  
Table 11  $F$  value of antithrombotic effect of different compatibility of SMRR-CF herb pair

丹参-红花	Z <sub>1</sub>	Z <sub>2</sub>	Z <sub>3</sub>	$F$ 值	排序
1:1	-0.093	1.717	0.625	0.427	5
2:1	0.594	1.730	0.013	0.698	4
1:2	-0.574	1.104	-0.380	-0.083	8
3:1	0.903	2.240	0.108	0.981	1
1:3	-0.897	0.995	0.490	-0.160	9
4:1	1.042	1.505	0.508	0.933	2
1:4	-0.662	1.682	0.677	0.140	7
5:1	0.966	0.865	0.708	0.774	3
1:5	-0.871	2.244	0.588	0.152	6

### 3 讨论

本研究采用与临床一致的回流提取法，以煎煮时间、料液比和溶剂体积分数为考察因素，确定最佳工艺为 10 倍量 70%乙醇回流提取 1 h。色谱条件

筛选中，乙腈-0.1%甲酸水溶液体系分离效果最佳，进一步对检测波长、梯度程序进行优化，最终选定 280 nm 作为指纹图谱采集波长。按上述条件建立的丹参-红花药对 HPLC 指纹图谱稳定可靠，可全面反映其标志性成分差异。

根据文献调研，在方剂中丹参与红花的配比多在 1:5 到 5:1 的比例范围内，故选择典型的 9 个配伍比例，进行化学成分与抗血栓作用相关性研究。现代药理学研究表明，红花的活性组成部分主要是醌式查耳酮类结构，代表性化合物羟基红花黄色素 A 已被证实能够保护心脏，改善心肌缺血和心功能，保护血管内皮细胞、抑制血小板活化聚集，抗氧化、抗炎镇痛、改善急性肝肺损伤<sup>[16-19]</sup>。此外，木犀草苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷也具有不同程度的抗血栓活性<sup>[20-22]</sup>。丹参的核心药理成分主要由水溶性丹酚酸类和脂溶性丹参酮类组成，丹酚酸类主要包括丹酚酸 B，丹参酮类主要包括丹参酮 II<sub>A</sub>、隐丹参酮、丹参酮 I、二氢丹参酮等<sup>[23-25]</sup>。丹参能够稳定动脉粥样硬化斑块，抑制血小板黏附和凝集，改善血液循环扩张和血管内皮功能，抵抗脂质过氧化，同时对炎症、纤维化及细胞凋亡的抑制也具有显著效果<sup>[26-29]</sup>。基于此，选择羟基红花黄色素 A、木犀草苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷、丹酚酸 B、隐丹参酮、二氢丹参酮 I、丹参酮 I、丹参酮 II<sub>A</sub> 作为丹参-红花药对的特征性成分，用于研究该类成分溶出量与药对配比的关系。结果显示，随着红花比例的升高，药对共煎液中丹酚酸 B、二氢丹参酮、隐丹参酮、丹参酮 I 的溶出量均高于丹参；红花的特征成分山柰酚-3-*O*-芸香糖苷含量也会随着丹参比例的增加而提高溶出效率，共煎液中羟基红花黄色素 A、木犀草苷和槲皮苷含量变化呈现“U”型分布，表明丹参和红花在共煎体系中可能通过增溶或助溶作用增加了药对中有效成分的溶出<sup>[30]</sup>，在高比例丹参配伍条件下，其抗血栓效应显著增强，提示该药效的发挥可能与丹参中关键活性成分（如丹参酮 II<sub>A</sub>、丹酚酸 B 等）密切相关。

PCA 方法可将复杂的中药化学成分数据降维，简化数据结构，使得数据更易于分析和解释，同时通过可视化展示成分与药效之间的关系，更好地优化中药药对的配伍比例。本研究将药对中 9 个成分的含量和心脏/尾静脉抗血栓作用关联分析，构建成 3 个独立的综合变量，再计算各配比  $F$  值并加权，即可得到综合疗效排序。根据丹参-红花 9 个不同配

比的  $F$  值的排序, 得出丹参-红花配比为 3:1 时抗血栓作用最佳。中医基础理论认为, 丹参性寒主降, 行而不伤, 有利于营血新生; 红花性温主升, 补而兼通, 3:1 时丹参用量倍半于红花, 寒略胜于温, 降中寓升, 既防温升太过, 又借红花之辛散引药周行全身, 形成“寒温并济、升降相因”之势, 契合《素问》“血气者, 喜温而恶寒”之旨。该比例下丹参酮 II<sub>A</sub>、丹酚酸 B 和羟基红花黄色素 A、槲皮苷等关键指标成分含量较高, 寒热并施、升降相因, 下行活血而上行散瘀, 可能通过促进活性成分共溶出与稳定性, 实现“成分-效应”协同, 从而显著增强整体抗血栓活性。

丹参-红花药对在中医经典方剂及现代经验方出现频次较高, 然而其配伍后产生的有效物质群与抗血栓作用机制尚未阐明。本研究首次探讨了丹参-红花药对在不同配比下的含量变化与抗血栓活性之间的相关性, 从“化学成分-药效”2 个层面解析配伍科学内涵。结果显示, 配伍煎煮并非各药成分的简单加和; 在加热、共溶条件下, 2 类药材可发生化学反应、物理吸附或络合物形成等复杂过程, 显著改变活性成分的溶出度与存在形式, 进而增强或调节整体抗血栓效应。进一步采用 PCA 法整合了多个指标, 提示丹参-红花配比为 3:1 有较好的抗血栓作用, 该研究可为丹参-红花药对的临床应用提供科学依据。

诚然, 本研究尚存不足。引发药效差异的关键驱动力极有可能是随配比改变而出现的差异成分; 在这些差异成分内部, 或许潜藏着协同增益与相互抑制的复杂互作。后续工作将围绕丹参-红花各配比下的差异成分谱系, 构建系统的剂量-效应关系; 并借助多层次体内外模型, 从抗炎活性、免疫调节效能及安全性(毒性)等多维角度, 深入阐明其“增效减毒”的分子与网络机制, 以期精准配伍提供成分层面的科学依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 邓树泳, 李静, 罗来成. 中药药对的现代研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4): 1003-1005.
- [2] 候宁, 吴东雪, 刘敏, 等. 基于药性组合的丹参和红花的性效关系研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(2): 224-228.
- [3] 刘玥, 高铸桦, 付长庚, 等. 活血化瘀药物防治冠心病: 循证与展望 [J]. 中国循证医学杂志, 2018, 18(11): 1145-1150.
- [4] 郝晨伟, 李正翔, 张铭慧, 等. 丹参及其配伍制剂治疗冠心病的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(13): 4096-4106.
- [5] 卜雕雕, 苏卓, 柏希慧, 等. 基于网络药理学的丹参-红花治疗心肌梗死的作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2807-2818.
- [6] 薛志鹏, 杜少兵, 周慧慧, 等. 基于网络药理学和实验验证的丹参-红花药对治疗心肌缺血的作用机制探讨 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(4): 759-771.
- [7] 蔡光先. 心宁片治疗冠心病心绞痛临床观察 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2010, 12(4): 571-574.
- [8] Feng X J, Li Y, Wang Y N, et al. Danhong injection in cardiovascular and cerebrovascular diseases: Pharmacological actions, molecular mechanisms, and therapeutic potential [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 139: 62-75.
- [9] 赖旻. 白癜风胶囊联合芪胶升白胶囊治疗白癜风患者的临床效果研究 [J]. 中国实用医药, 2024, 19(9): 128-131.
- [10] Zhao Q R, Yu D X, Lan T T, et al. Danshen-Honghua herb pair: A review on chemical constituents, pharmacology, clinical application, quality control, and  $t$ -copula function analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2026, 354: 120476.
- [11] Lan T T, Yu D X, Zhao Q R, et al. Ethnomedicine, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical application of *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Lamiaceae): A comprehensive review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 350: 120032.
- [12] Pan J J, Wang J H, Lei Z W, et al. Therapeutic potential of Chinese herbal medicine and underlying mechanism for the treatment of myocardial infarction [J]. *Phytother Res*, 2025, 39(1): 189-232.
- [13] 邢耀莹, 王姿杨, 王露, 等. 牛蒡子-甘草药对指纹图谱的建立及其抗炎活性谱效关系研究 [J]. 中草药, 2024, 55(4): 1237-1247.
- [14] 罗浩睿, 庄雪菲, 李曦东, 等. 黄连-苦参不同配比中特征性成分的量-质变化相关性研究 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 3977-3986.
- [15] 耿飞飞, 曲彤, 李宁, 等. 青风藤-白芍药对不同配伍比例化学成分与抗炎活性变化规律研究 [J]. 中草药, 2025, 56(1): 98-107.
- [16] 李响, 俱蓉, 李硕. 红花化学成分药理作用研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(5): 928-939.
- [17] Zhang X L, Shen D Y, Feng Y T, et al. Pharmacological actions, molecular mechanisms, pharmacokinetic progressions, and clinical applications of hydroxysafflor

- yellow A in antidiabetic research [J]. *J Immunol Res*, 2021, 2021: 4560012.
- [18] Wang W X, Liu M, Fu X L, *et al.* Hydroxysafflor yellow A ameliorates alcohol-induced liver injury through PI3K/Akt and STAT3/NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155814.
- [19] Feng X T, Du M, Li S J, *et al.* Hydroxysafflor yellow A regulates lymphangiogenesis and inflammation via the inhibition of PI3K on regulating AKT/mTOR and NF- $\kappa$ B pathway in macrophages to reduce atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Phytomedicine*, 2023, 112: 154684.
- [20] Hua F, Li J Y, Zhang M, *et al.* Kaempferol-3-O-rutinoside exerts cardioprotective effects through NF- $\kappa$ B/NLRP3/Caspase-1 pathway in ventricular remodeling after acute myocardial infarction [J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(10): e14305.
- [21] Xia K R, Zhang X Y, Zhang H Q, *et al.* Network pharmacology analysis and experimental verification of the antithrombotic active compounds of *Trichosanthis Pericarpium* (Gualoupi) in treating coronary heart disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 329: 118158.
- [22] Oh T W, Do H J, Jeon J H, *et al.* Quercitrin inhibits platelet activation in arterial thrombosis [J]. *Phytomedicine*, 2021, 80: 153363.
- [23] Li H Y, Gao C D, Liu C, *et al.* A review of the biological activity and pharmacology of cryptotanshinone, an important active constituent in Danshen [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111332.
- [24] MEIm X D, Cao Y F, Che Y Y, *et al.* Danshen: A phytochemical and pharmacological overview [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(1): 59-80.
- [25] 廖江龙, 范子祥, 孟秋月, 等. 丹参活性成分抗肿瘤分子机制研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(18): 6402-6415.
- [26] 屈媛, 王婷, 付慧婕, 等. 丹参有效成分及药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(9): 172-176.
- [27] Yang Y F, Feng K, Yuan L Y, *et al.* Compound Danshen Dripping Pill inhibits hypercholesterolemia/ atherosclerosis-induced heart failure in ApoE and LDLR dual deficient mice via multiple mechanisms [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(3): 1036-1052.
- [28] Li Z M, Xu S W, Liu P Q. *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen): A golden herbal medicine in cardiovascular therapeutics [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(5): 802-824.
- [29] Xue Y J, Zhang L Y, Zhang L S, *et al.* Danshensu prevents thrombosis by inhibiting platelet activation via SIRT1/ROS/mtDNA pathways without increasing bleeding risk [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154271.
- [30] 魏吉昌, 林晓钰, 张景怡, 等. 基于相态变化探讨煎煮方式对黄芩-黄连超分子物质基础及配伍“和合”机制的影响 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8366-8378.

[责任编辑 郑礼胜]