

基于 HPLC 指纹图谱结合网络药理学与化学计量学研究黄芪-大黄不同配比的内在关系变化

吴圆圆¹, 郑琳², 陈秋谷², 黄海漂¹, 吴锦如¹, 赖珍沁¹, 陈剑平^{1,2*}

1. 广州中医药大学第四临床医学院, 广东 深圳 518033

2. 深圳市中医院 深圳市医院中药制剂研究重点实验室, 广东 深圳 518033

摘要: 目的 研究黄芪 *Astragali Radix*-大黄 *Rhei Radix et Rhizoma* 最佳配比的内在关系。方法 利用高效液相色谱法-光电二极管阵列检测器/蒸发光散射检测器 (high performance liquid chromatography-photo-diode array/evaporative light-scattering detector, HPLC-PDA/ELSD) 法建立不同配比黄芪-大黄 (1:1、2:1、3:1、4:1、5:1) 指纹图谱, 采用网络药理学寻找计算黄芪-大黄治疗慢性肾衰钙磷代谢紊乱的特征性成分归一化度 (degree) 值并对标准化峰面积进行加权; 用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 综合化学成分和药效这 2 个层面, 寻找其配比的变化。结果 15 批不同配比黄芪-大黄指纹图谱中有 19 个共有峰 (PDA 条件下 18 个, ELSD 条件下 5 个, 两者重叠峰 4 个)。除了 ELSD 中 1:1 的相似度大于或等于 0.77 外, 其余配比指纹图谱相似度均大于或等于 0.96。黄芪-大黄活性成分指认中, 黄芪甲苷 degree 值最大, 其次是芒柄花苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和大黄素。不同配比黄芪-大黄 PCA 综合评价得分中, 黄芪-大黄 3:1 时得分最高 (0.764), 质量最好。结论 黄芪-大黄最佳配比筛选结果与临床验方中黄芪-大黄的常用配比一致; 为临床用药用量配比关系提供一定的数据参考。

关键词: 黄芪; 大黄; HPLC; 指纹图谱; 网络药理学; 化学计量学; 谱效关系; 主成分分析; 黄芪甲苷; 芒柄花苷; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 大黄素

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)14-4979-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.14.005

Investigating variations in intrinsic relationship between different ratios of *Astragali Radix* and *Rhei Radix et Rhizoma* based on HPLC fingerprint analysis integrated with network pharmacology and chemometrics analysis

WU Yuanyuan¹, ZHENG Lin², CHEN Qiugu², HUANG Haipiao¹, WU Jinru¹, LAI Zhenqin¹, CHEN Jianping^{1,2}

1. The Fourth Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen 518033, China

2. Shenzhen Key Laboratory of Hospital Chinese Medicine Preparation, Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518033, China

Abstract: Objective This study investigates the intrinsic relationship of the optimal Huangqi (*Astragali Radix*, AR)-Dahuang (*Rhei Radix et Rhizoma*, RRR) ratio. **Methods** The HPLC-PDA/ELSD method was used to establish the fingerprints of AR-RRR with different ratios (1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1). Network pharmacology was used to find and calculate the normalized degree value of the characteristic components of AR-RRR in the treatment of calcium and phosphorus metabolism disorders in chronic renal failure, and the normalized peak area was weighted. Principal component analysis was employed to comprehensively evaluate both chemical composition and pharmacodynamic effects. **Results** There were 19 common peaks (18 under PDA, five under ELSD, and four overlapping peaks) in the fingerprints of AR-RRR with different ratios in 15 batches. Except for the similarity of 1:1 in ELSD, which was at least 0.77, the similarity of the other matching fingerprints was greater than or equal to 0.96. Among the identified active ingredients of AR-RRR, astragaloside IV had the highest degree value, followed by ononin, calycosin-7-*O*- β -D-glucopyranoside and

收稿日期: 2025-02-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81804052); 深圳市科技计划项目 (JCYJ20240813152222028); 深圳市科技计划项目 (JCYJ20220531091809022); 深圳市科技计划项目 (ZDSYS201606081515458); 深圳市医疗卫生三名工程项目 (SZZYSM202111002)

作者简介: 吴圆圆 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂。Tel: 15728588836 E-mail: wuyuanyuan8836@163.com

*通信作者: 陈剑平 (1984—), 男, 博士, 主任中药师, 研究方向为中药制剂。Tel: (0755)23947034 E-mail: lycjp@126.com

emodin. Among the comprehensive evaluation scores of PCA with different ratios, AR-RRR had the highest score of 3:1 (0.764) and the best quality. **Conclusion** The screening results of the optimal ratio of AR-RRR were consistent with the commonly used ratio of AR-RRR in clinical prescriptions. This study could offer certain data references for clinical herbal medication dosage ratios and combinations.

Key words: *Astragali Radix*; *Rhei Radix et Rhizoma*; HPLC; fingerprinting; network pharmacology; chemometrics; spectral effect relationship; principal component analysis; astragaloside IV; ononin; calycosin-7-*O*- β -D-glucopyranoside; emodin

黄芪 *Astragali Radix* (AR) 来源于豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根; 大黄 *Rhei Radix et Rhizoma* (RRR) 来源于蓼科大黄属植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根和根茎, 均始载于《神农本草经》。现代药理研究表明, 黄芪的主要成分有黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷等, 可发挥多种药效, 如抗氧化应激、调节钙稳态、促进上皮向间质转化^[1], 缓解肾纤维化, 减轻肾损伤及炎症^[2]等。大黄的主要成分有芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚等, 可发挥多种药效, 如预防慢性肾衰^[3]、抗菌、抗炎、改善慢性肾功能衰竭^[4]、改善肾纤维化^[5], 减轻肾毒性^[6]等。

黄芪-大黄配伍比例的不同, 会对药效造成差异。在黄芪-大黄 4 个配比 (1:1、2:1、4:1、6:1) 中, 黄芪-大黄 2:1 时, 减轻肾纤维化程度更为明显^[7]。黄芪-大黄 4:1 能显著抑制内毒素和肠道菌群细菌移位率^[8]。在中药临床实践中, 黄芪-大黄多以 5 个配伍比例 (1:1、2:1、3:1、4:1、5:1) 出现。如广东省名中医李顺民教授 40 余年治疗慢性肾脏病的经验方——健脾益肾方, 方中黄芪起到君药的作用, 大黄起到使药的作用, 二者配比为 3:1^[9]。此外, 黄芪-大黄组合还是金陵医派治疗慢性肾衰竭的核心组合^[10]。无独有偶, 从慢性肾衰竭治疗常用中药也可以发现, 黄芪和大黄组合是在名老中医处方中出现频次最高的^[11]。国家级名老中医曹恩泽先生, 在治疗慢性肾衰竭时也常用黄芪和大黄这 2 味中药^[12]。

目前, 对黄芪、大黄的研究主要集中在单味药的成分分离^[13]、分析及药理活性^[14-15]等方面, 而对于黄芪-大黄不同配比内在关系的相关性研究尚未见报道。本研究分为指纹图谱、网络药理学、化学计量学分析 3 部分内容。首先, 利用 HPLC-PDA/ELSD 建立黄芪-大黄不同配比的指纹图谱, 再利用

网络药理学预测潜在药效, 最后采用化学计量分析, 通过主成分分析 (principal component analysis, PCA) 寻找配比的内在关系, 以期为临床合理使用黄芪-大黄提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

岛津 LC-2030 型高效液相色谱仪, 蒸发光检测器, 日本岛津公司; LD5-2A 型离心机, 北京京立离心机有限公司; EP225SM-DR 型十万分之一分析天平, 瑞士普利塞斯公司; A3S-10-10-CE 型超纯水机, 美国艾科浦公司。

1.2 试药

对照品芒柄花苷 (批号 wkq18032703)、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷 (批号 WP23051011), 均购自四川省维克奇生物科技有限公司; 对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (批号 111920-202308)、黄芪甲苷 (批号 110781-202219)、大黄酸 (批号 110757-202308)、大黄素 (批号 110756-201913)、大黄素甲醚 (批号 110758-202218)、大黄酚 (批号 110796-202423)、芦荟大黄素 (批号 110795-202011)、儿茶素 (批号 110877-202306), 均购自中国食品药品检定研究院; 对照品没食子酸 (批号 600113) 购自江苏永健医药科技有限公司; 对照品大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 (批号 230928) 购自成都植标化纯生物技术有限公司; 对照品大黄酸-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 (批号 2024051601)、大黄素甲醚-8-*O*-葡萄糖苷 (批号 2024051301), 购自成都普利斯达医药科技有限公司; 对照品芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷 (批号 AZBG1413) 购自成都埃法生物科技有限公司; 对照品芦荟大黄素-3-(羟甲基)-*O*- β -D-葡萄糖苷 (批号 CFS202301)、大黄酚-1-*O*- β -四葡萄糖苷 (批号 CFS202401) 均购自武汉中标科技有限公司; 上述对照品 HPLC 质量分数均 $\geq 95\%$; 水为超纯水。

黄芪饮片 (批号 231001321), 购自康美药业股份有限公司; 大黄饮片 (批号 231000129), 购自康美 (亳州) 世纪国药有限公司; 经深圳市中医院制剂中心陈剑平主任中药师鉴定, 黄芪为豆科黄芪属

植物蒙古黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根, 大黄为蓼科大黄属植物药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根和根茎, 均符合《中国药典》2020 年版一部各药味项下的有关规定。

2 方法与结果

2.1 不同配比黄芪-大黄指纹图谱研究

2.1.1 色谱条件

(1) HPLC-PDA 色谱条件: 00G-4753-E0 Luna Omega 5 μm PS C_{18} 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 检测波长 256 nm; 流动相为乙腈-0.2%甲酸水溶液, 采用梯度洗脱程序: 0~40 min, 0~8%乙腈; 40~41 min, 8%~9%乙腈; 41~46 min, 9%乙腈; 46~47 min, 9%~10%乙腈; 47~106 min, 10%~17%乙腈; 106~107 min, 17%~19%乙腈; 107~126 min, 19%~20%乙腈; 126~148 min, 20%乙腈; 148~160 min, 20%~27%乙腈; 160~175 min, 27%乙腈; 175~188 min, 27%~29%乙腈; 188~208 min, 29%~30%乙腈; 208~223 min, 30%~42%乙腈; 223~233 min, 42%乙腈; 233~243 min, 42%~44%乙腈; 243~245 min, 44%~52%乙腈; 245~255 min, 52%~60%乙腈; 255~256 min, 60%~67%乙腈; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL 。

(2) HPLC-ELSD 色谱条件: 00G-4252-E0 Luna 5 μm C_{18} 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.2%甲酸水溶液, 采用梯度洗脱程序: 0~6 min, 10%~18%乙腈; 6~9 min, 18%~20%乙腈; 9~25 min, 20%~25%乙腈; 25~30 min, 25%~31%乙腈; 30~34 min, 31%~33%乙腈; 34~37 min, 33%乙腈; 37~45 min, 33%~37%乙腈; 45~50 min, 37%乙腈; 50~55 min, 37%~43%乙腈; 55~65 min, 43%~95%乙腈; 65~75 min, 95%乙腈; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 1.0 mL/min; 漂移管温度 40 $^{\circ}\text{C}$; 增益 6; 进样量 20 μL 。

2.1.2 混合对照品溶液的制备

(1) HPLC-PDA 混合对照品溶液制备: 取没食子酸、儿茶素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、大黄酸-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、芒柄花苷对照品各 1 mg, 分别置于 1 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 即得

各对照品储备液。分别取各对照品储备液 165、158、18、11、41、29、46、26、50、7、8、10、25、10 μL , 置于同一 1 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容, 制得上述成分质量浓度分别为 165、158、18、11、41、29、46、26、50、7、8、10、25、10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

(2) HPLC-ELSD 混合对照品溶液制备: 取芒柄花苷、黄芪甲苷、芦荟大黄素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品各 2 mg, 分别置于 1 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 即得各对照品储备液。分别取各对照品储备液 250、110、150、120、120、150 μL , 置于同一 1 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容, 制得上述成分质量浓度分别为 500、220、300、240、240、300 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 据文献调研^[16-20], 设计黄芪-大黄不同配比 (表 1) 并分别称取, 每个配比的总质量固定皆为 80 g。再称取单一黄芪饮片 80 g 和单一大黄饮片 80 g, 按照标准汤剂^[21]的方法分别煎煮上述饮片, 即加入 7 倍量水浸泡 30 min, 后煎煮 1 h, 滤过, 再加入 6 倍量水煎煮 40 min, 滤过。合并滤液并浓缩至 100 mL, 即得。

表 1 不同配比黄芪-大黄

Table 1 Different ratios of AR-RRR

黄芪-大黄	黄芪/g	大黄/g	黄芪-大黄	黄芪/g	大黄/g
1 : 1	40	40	4 : 1	64	16
2 : 1	53	27	5 : 1	67	13
3 : 1	60	20			

精密移取 1 mL 药液至 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度线, 超声 30 min, 用甲醇补足至刻度线, 摇匀。移入 15 mL 离心管中, 3 000 r/min 离心 5 min。取上清液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得用于 HPLC-PDA 供试品溶液。

用移液管精密移取 10 mL 药液至分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液充分洗涤 4 次, 每次 40 mL, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得用于 HPLC-ELSD 供试品溶液。

2.1.4 精密度试验 取 HPLC-PDA 供试品溶液 (黄芪-大黄 1 : 1), 按照“2.1.1 (1)”项下色谱条件连续进样 6 次, 每次进样 10 μL , 记录 HPLC-PDA 色谱图。以 P12 (大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷) 的保留时间和峰面积为参照, 计算得各共有峰相对保留时间的

RSD<0.145%和相对峰面积的 RSD<0.508%, 结果表明该仪器精密度高。

取 HPLC-ELSD 供试品溶液(黄芪-大黄 1:1), 按照“2.1.1 (2)”项下色谱条件连续进样 6 次, 每次进样 20 μ L, 记录 HPLC-ELSD 色谱图。以 E3(黄芪甲苷)的保留时间和峰面积为参照, 计算得各共有峰相对保留时间的 RSD<0.091%和相对峰面积的 RSD<4.536%, 结果表明该仪器精密度高。

2.1.5 稳定性试验 取 HPLC-PDA 供试品溶液(黄芪-大黄 1:1), 按照“2.1.1 (1)”项下色谱条件, 分别于制备后 0、282、564、846、1 128、1 410 min 依次进样测定, 记录 HPLC-PDA 色谱图。以 P12(大黄酚-8-O-葡萄糖苷)的保留时间和峰面积为参照, 计算得各共有峰相对保留时间的 RSD<0.145%和相对峰面积的 RSD<0.508%, 结果表明该供试品溶液在室温放置 1 410 min 内稳定性良好。

取 HPLC-ELSD 供试品溶液(黄芪-大黄 1:1), 按照“2.1.1 (2)”项下色谱条件, 分别于制备后 0、6、8、12、18 h 依次进样测定, 记录 HPLC-ELSD 色谱图。以 E3(黄芪甲苷)的保留时间和峰面积为参照, 计算得各共有峰相对保留时间的 RSD<0.116%和相对峰面积的 RSD<4.767%, 结果表明该供试品溶液在室温放置 18 h 内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 取同一药液(黄芪-大黄 1:1), 按照“2.1.3 (1)”项下制备方法, 分别制备 6 份 HPLC-PDA 供试品溶液。按照“2.1.1 (1)”项下色谱条件连续进样 6 次, 每次进样 10 μ L, 记录 HPLC-PDA 色谱图。以 P12(大黄酚-8-O-葡萄糖苷)的保留时间和峰面积为参照, 计算得各共有峰相对保留时间的 RSD<0.422%和相对峰面积的 RSD<3.867%, 结果表明该方法重复性较好。

取同一药液(黄芪-大黄 1:1), 按照“2.1.3 (2)”项下制备方法, 分别制备 6 份 HPLC-ELSD 供试品溶液。按照“2.1.1 (2)”项下色谱条件连续进样 6 次, 每次进样 20 μ L, 记录 HPLC-ELSD 色谱图。以 E3(黄芪甲苷)的保留时间和峰面积为参照, 计算得共有峰相对保留时间的 RSD<0.209%和相对峰面积的 RSD<4.916%, 表明该方法重复性较好。

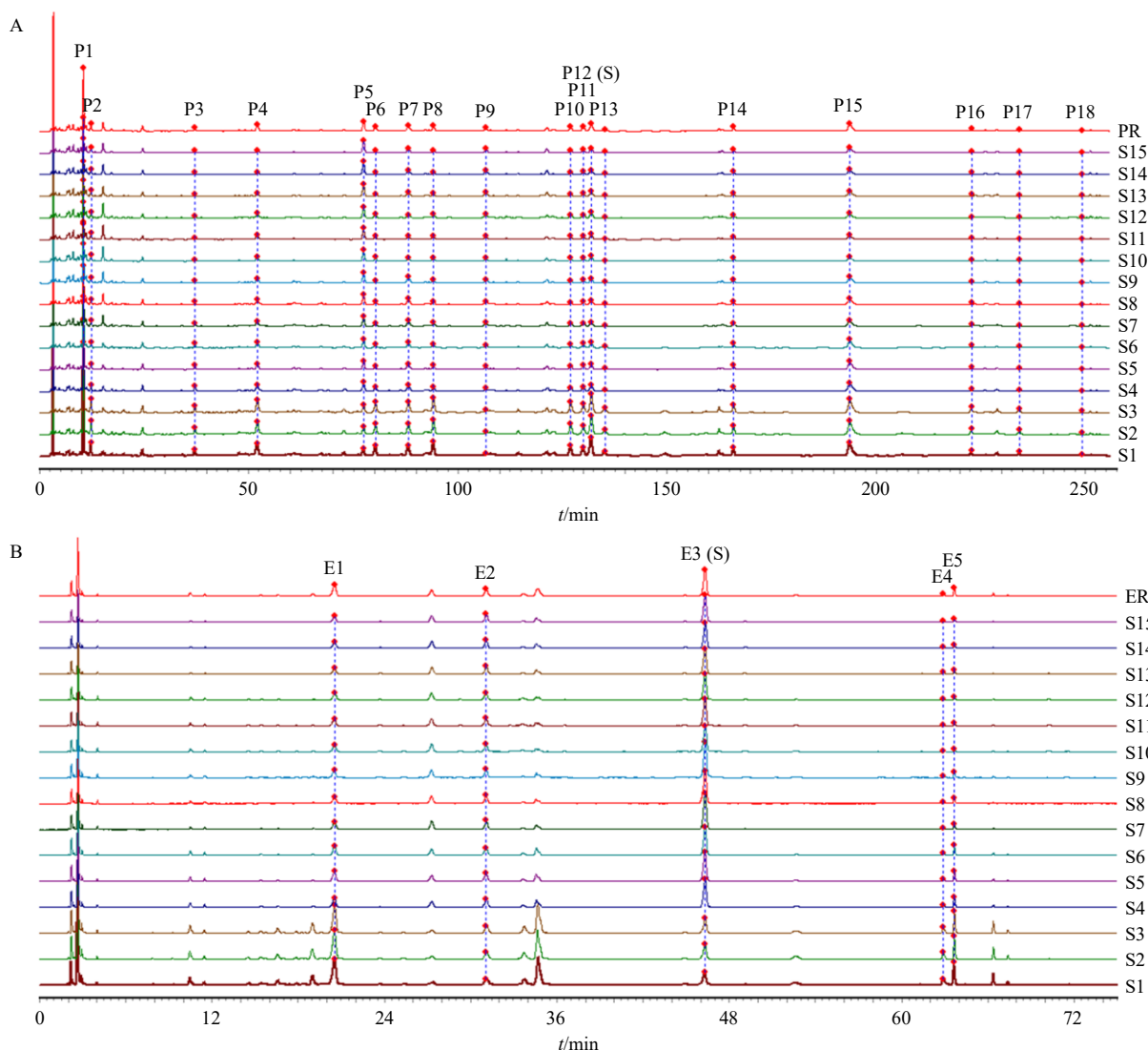
2.1.7 指纹图谱的建立及相似度评价分析 将黄芪及大黄饮片, 依照“2.1.3”项下方法制备成 HPLC-PDA 供试品溶液(S1~S3 黄芪-大黄配比 1:1、S4~S6 黄芪-大黄配比 2:1、S7~S9 黄芪-大黄配比 3:1、S10~S12 黄芪-大黄配比 4:1、S13~S15

黄芪-大黄配比 5:1), 按照“2.1.1 (1)”项下色谱条件进样分析, 记录 HPLC-PDA 色谱图。将 HPLC-PDA 色谱图图谱输入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》, 设置编号 S8 的样品(黄芪-大黄配比为 3:1)图谱为参照, 采取中位数法, 时间窗宽度为 0.1 s, 进行多点校正, 指认 15 批(S1~S15)黄芪-大黄的 18 个共有峰, 建立不同配比黄芪-大黄(1:1、2:1、3:1、4:1、5:1)指纹图谱和对照指纹图谱(R), 并对 15 批黄芪-大黄进行相似度评价。

将黄芪及大黄饮片, 依照“2.1.3”项下方法制备成 HPLC-ELSD 供试品溶液(S1~S3 黄芪-大黄配比 1:1、S4~S6 黄芪-大黄配比 2:1、S7~S9 黄芪-大黄配比 3:1、S10~S12 黄芪-大黄配比 4:1、S13~S15 黄芪-大黄配比 5:1)按照“2.1.1 (2)”项下色谱条件进样分析, 记录 HPLC-ELSD 色谱图。将 HPLC-ELSD 色谱图图谱输入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》, 设置编号 S8 的样品(黄芪-大黄配比为 3:1)图谱为参照, 采取中位数法, 时间窗宽度为 0.1 s, 进行多点校正, 指认 15 批黄芪-大黄(S1~S15)的 5 个共有峰, 建立不同配比黄芪-大黄指纹图谱和对照指纹图谱(R), 并对 15 批黄芪-大黄进行相似度评价。

结果显示, 在 HPLC-PDA 中, 15 批(S1~S15)黄芪-大黄和 R 之间的相似度依次为 0.981、0.981、0.981、0.993、0.993、0.993、0.986、0.986、0.986、0.977、0.977、0.974、0.964、0.960、0.961, 均 $\geq$ 0.96。在 HPLC-ELSD 中, 黄芪-大黄(S1~S3)和 R 之间的相似度依次为 0.770、0.778、0.787, 均 $\geq$ 0.77, 其余 12 批黄芪-大黄(S4~S15)和 R 之间的相似度依次为 0.996、0.996、0.995、0.973、0.972、0.970、0.980、0.980、0.979、0.977、0.976、0.974, 均 $\geq$ 0.97, 这表明各批次黄芪-大黄的相似性较好, 整体质量稳定, 可以用于考察黄芪-大黄水煎液。

在 HPLC-PDA 中, 以分离度较好、峰面积较大的 P12 号峰(大黄酚-8-O-葡萄糖苷)为参照峰(S), 得到 15 批黄芪-大黄 18 个共有峰相对保留时间的 RSD<0.427%, 提示各批次黄芪-大黄共有峰的相对保留时间稳定; 在 HPLC-ELSD 中, 以分离度较好、峰面积较大的 E3 号峰(黄芪甲苷)为参照峰(S), 得到 15 批黄芪-大黄 5 个共有峰相对保留时间的 RSD<0.306%, 提示各批次黄芪-大黄共有峰的相对保留时间稳定。结果见图 1。



A-HPLC-PDA 指纹图谱及其对照指纹图谱 (PR); B-HPLC-ELSD 指纹图谱及其对照指纹图谱 (ER)。
A-HPLC-PDA fingerprint and its control fingerprint (PR); B-HPLC-ELSD fingerprint and its control fingerprint (ER).

图 1 15 批次黄芪-大黄 HPLC-PDA/ELSD 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 15 batches of AR-RRR HPLC-PDA/ELSD fingerprints and their control fingerprints (R)

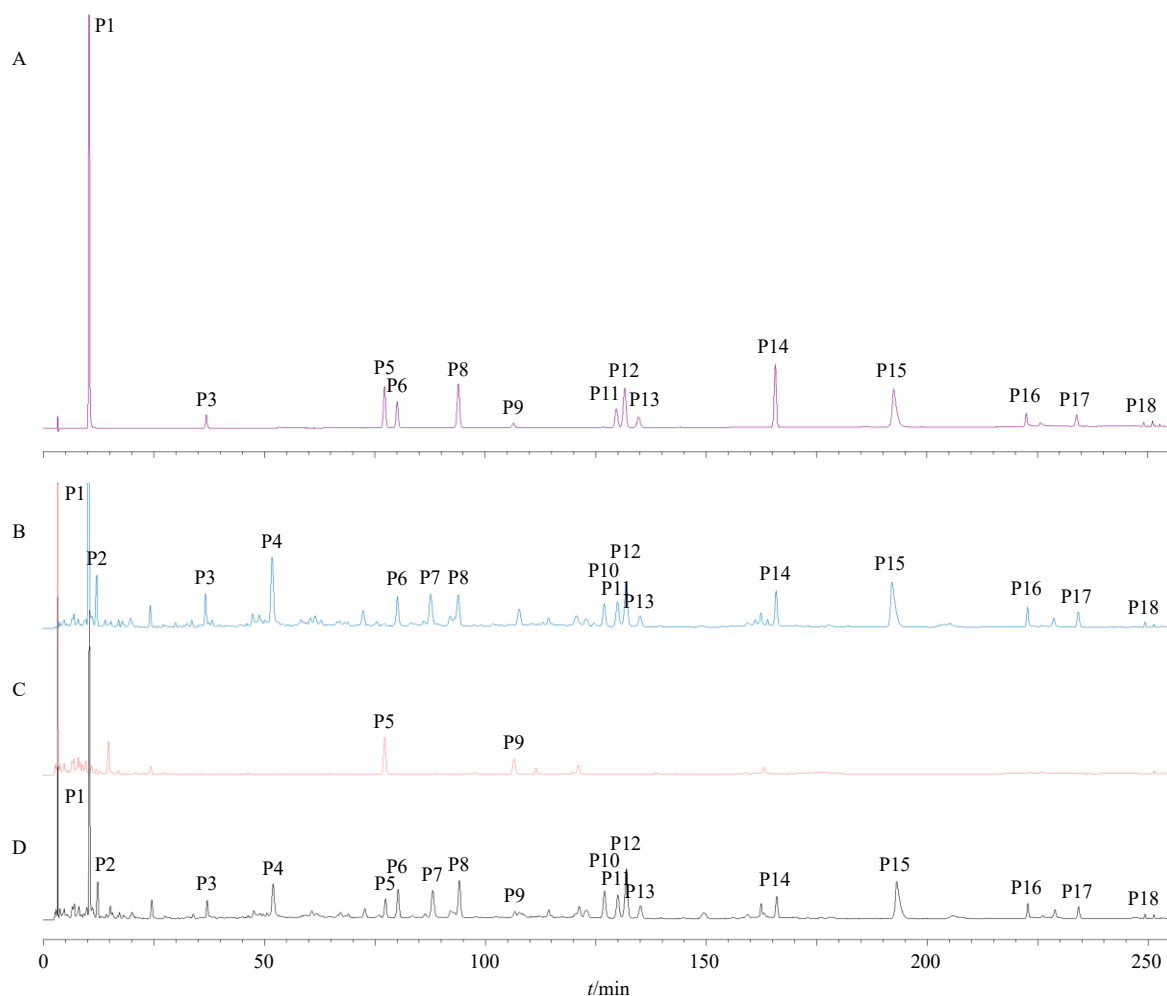
2.1.8 HPLC-PDA/ELSD 色谱图色谱峰指认 通过对比单味中药的色谱峰,黄芪-大黄不同配比 HPLC-PDA 指纹图谱的 18 个共有峰中 P5、P9 号峰,共 2 个峰均来源于黄芪, P1~P4、P6~P8、P10~P18 号峰,共 16 个峰来源于大黄。通过对比混合对照品色谱图,黄芪、大黄及样品 HPLC 叠加图对各样品指纹图谱的各峰进行定性认证,得到 P5 和 P9 号峰分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芒柄花苷,属于单味药黄芪;得到 P1、P3、P6、P8、P11~P18 号峰分别为没食子酸、儿茶素、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷、大黄酸-8-O-β-D-葡萄糖苷、芦荟大黄素-3-O-β-D-葡萄糖苷、大黄酚-8-O-葡萄糖苷、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、

大黄素甲醚,属于单味药大黄。见图 2。

通过对比单味药的色谱峰,黄芪-大黄不同配比 HPLC-ELSD 指纹图谱的 5 个共有峰中 E3 和 E2 号峰,共 2 个峰来源于黄芪, E1、E2、E4、E5 号峰,共 4 个峰来源于大黄。通过对比混合对照品色谱图,黄芪、大黄及样品 HPLC 叠加图对各样品指纹图谱的各峰进行定性认证,得到 E3 号峰为黄芪甲苷,属于单味药黄芪;得到 E5 号峰为大黄素,属于单味药大黄。见图 3。

2.2 网络药理潜在药效预测

2.2.1 靶点预测及标准化 利用 TCMP v2.3 (<https://old.tcmsp-e.com/index.php>) 寻找黄芪、大黄中口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) ≥30%



P1-没食子酸; P3-儿茶素; P5-毛蕊异黄酮葡萄糖苷; P6-芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷; P8-大黄酸-8-*O*- β -D-葡萄糖苷; P9-芒柄花苷; P11-芦荟大黄素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷; P12-大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷; P13-大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷; P14-芦荟大黄素; P15-大黄酸; P16-大黄素; P17-大黄酚; P18-大黄素甲醚。

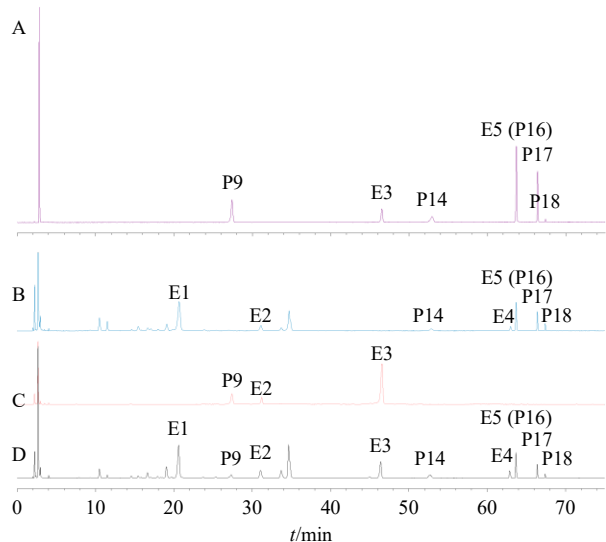
P1-gallic acid; P3-catechin; P5-calycosin-7-*O*- β -D-glucopyranoside; P6-aloe-emodin-8-*O*-glucopyranoside; P8-rhein-8-*O*- β -D-glucopyranoside; P9-ononin; P11-aloe-emodin-3-*O*- β -D-glucopyranoside; P12-chrysophanol-8-*O*-glucoside; P13-emodin-8-*O*- β -D-glucopyranoside; P14-aloe-emodin; P15-rhein; P16-emodin; P17-chrysophanol; P18-phycion.

图2 混合对照品 HPLC-PDA 图谱 (A) 和大黄单煎 (B)、黄芪单煎 (C) 及黄芪-大黄 (1:1, D) 样品的 HPLC-PDA 叠加图
Fig. 2 HPLC-PDA profile of mixed reference substances (A) and HPLC-PDA overlay of RRR single decoction (B), AR single decoction (C) and AR-RRR (1:1, D) samples

和类药性指数 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18 的化学成分。通过文献调研寻找黄芪、大黄单味药中可测得化学成分。利用 TCMIP v2.3, PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), PharmMapper Version 2017 (<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) 和 Swiss target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/index.php>) 对找出的所有化学成分进行靶点预测。采用 OMIM (<https://www.omim.org/>)、Therapeutic Target Database^[22] (<https://db.idrblab.net/ttd/>) 和 Genecards (<https://www.genecards.org/>) 平台, “Calcium and phosphorus metabolic disorders in chronic renal failure (慢性肾衰

竭中的钙磷代谢紊乱)”疾病靶点加上 “Calcium and phosphorus metabolic disorders (钙磷代谢紊乱)” 与 “chronic renal failure (慢性肾功能衰竭)” 的交集靶点作为总疾病靶点。将得到的药物成分靶点和疾病靶点名称通过 Uniport 数据库 (<https://www.uniprot.org>) 标准化为基因名。结果表明, 共获得 1 483 个疾病靶点, 942 个药物成分靶点。

2.2.2 共同靶点的筛选及 “中药-成分-交集靶点-疾病” 相互作用网络构建 利用 Draw Venn Diagram (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 将成分与疾病的靶点取交集, 并绘制韦恩 (Venn) 图, 得到黄芪-大黄与慢性肾衰钙磷代谢紊乱的交集靶



P9 芒柄花苷; E3-黄芪甲苷; P14-芦荟大黄素; E5 (P16)-大黄素; P17-大黄酚; P18-大黄素甲醚; E1~E5 为 ELSD 指纹图谱共有峰; P9-ononin; E3-astragaloside IV; P14-aloe-emodin; E5 (P16)-emodin; P17-chrysophanol; P18-phycion; E1~E5 are the common peaks in the ELSD chromatographic fingerprint.

图 3 混合对照品 HPLC-ELSD 图谱 (A) 和大黄单煎 (B)、黄芪单煎 (C) 及黄芪-大黄 (1:1, D) 样品的 HPLC-ELSD 叠加图

Fig. 3 HPLC-ELSD profile of mixed reference substances (A) and HPLC-ELSD overlay of RRR single decoction (B), AR single decoction (C) and AR-RRR (1:1, D) samples

点, 共 345 个。见图 4。

选取“2.2.1”项下筛选得到的药物成分, 药物基因靶点和疾病基因靶点, 采用 CytoScape 3.8.0 软件建立“黄芪-成分-交集靶点-疾病”的可视化网络图, 并进行拓扑分析, 设置基因大小和透明度与度 (degree) 成正比。疾病靶点设置为深红色, 黄芪靶点设置为深紫色, 大黄靶点设置为深蓝色, 基因靶点设置为粉红色, 黄芪成分靶点设置为浅紫色, 大黄成分靶点设置为浅蓝色。结果如图 5 所示。网络中一共有 396 个节点, 1 812 条边。大黄有 25 个化合物, 黄芪有 23 个化合物。黄芪中的槲皮素、黄芪甲苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷有较高

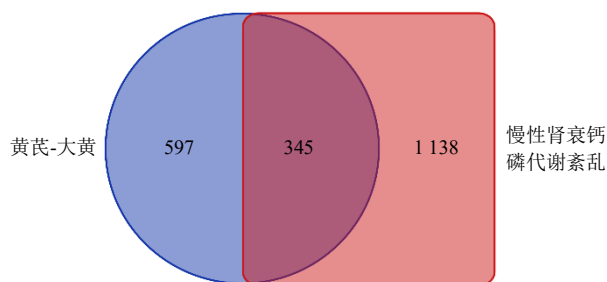
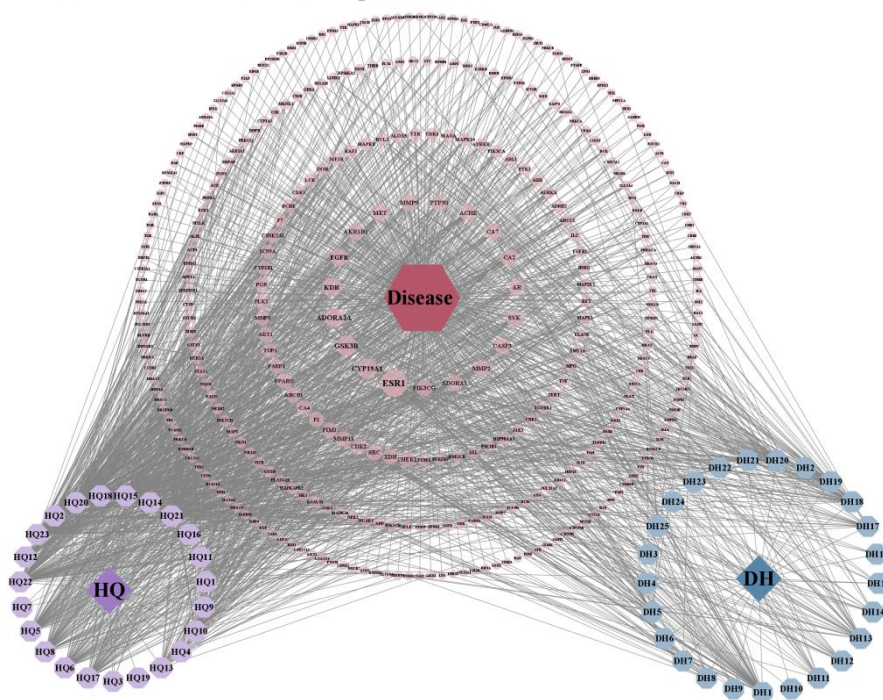


图 4 黄芪-大黄与慢性肾衰钙磷代谢紊乱交集靶点 Venn 图

Fig. 4 Venn diagram of intersection of AR-RRR and chronic renal failure calcium and phosphorus metabolism disorders



HQ-黄芪; DH-大黄; Disease-慢性肾衰钙磷代谢紊乱。

HQ-AR; DH-RRR; Disease-calcium and phosphorus metabolism disorders in chronic renal failure.

图 5 黄芪、大黄-有效成分-交集靶点-疾病网络图

Fig. 5 Network diagram of AR, RRR-active ingredient-intersection target-disease

的连接度，分别为 131、111、103、102。大黄中的泽兰黄醇、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚有较高的连接度，分别为 61、44、41、37。

2.3 黄芪-大黄不同配比化学计量学分析

2.3.1 黄芪-大黄各共有峰溶出率变化 将各配比黄芪-大黄的色谱峰，归属于大黄的峰，以大黄单煎液的生药量为标准，换算成一致的量，并以大黄单煎样品峰面积作为参比；归属于黄芪的峰，以黄芪单煎液的生药量为标准，换算成一致的量，并以黄芪单煎样品峰面积作为参比^[23]。计算公式见式(1)。利用 IBM SPSS Statistics 25 软件，比较标准化后各配比黄芪-大黄的色谱峰与黄芪、大黄单煎液的色谱峰。见表 2。利用 GraphPad Prism 9 绘制黄芪-大黄

不同配比下各成分变化图，见图 6。大于 1 表现为促进作用，小于 1 表现为抑制作用。

$$d_{ij} = S_{ij} / S_{dhj} / S_{hqj} \quad (1)$$

d_{ij} 为配比 i 、峰号 j 的相对峰面积； S_{ij} 为生药量一致后黄芪-大黄配比 i 、峰号 j 的峰面积； S_{dhj} 为黄芪单煎液峰号 j 的峰面积； S_{hqj} 为黄芪单煎液峰号 j 的峰面积

由表 2 和图 6 可知，在不同的配比下各共有峰相对峰面积均有不同程度的变化，绝大部分与黄芪或大黄单味药材相比，表现出显著性差异。大黄中的 P7、P11（芦荟大黄素-3- O - β -D-葡萄糖苷）、P15（大黄酸）号峰全部配比均表现为升高，P4 号峰全部配比均表现为下降，其余的峰大部分配比表现为升高，少部分表现为下降。黄芪中的 P5 号峰（毛蕊

表 2 不同配比黄芪-大黄共有峰及黄芪、大黄单药材相对峰面积 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Common peaks of AR-RRR and relative peak areas of AR, RRR single herbs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

黄芪-大黄		相对峰面积									
配比		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
1:1		1.162±0.009**	1.403±0.012**	1.039±0.006*	0.842±0.007**	1.024±0.009	1.777±0.015**	1.368±0.012**	1.763±0.013***	0.827±0.012##	2.258±0.019***
2:1		1.072±0.031	0.898±0.023	1.145±0.030	0.507±0.038*	0.923±0.011#	0.943±0.028	1.200±0.047	0.759±0.023*	0.789±0.026#	1.134±0.026
3:1		1.244±0.004***	1.159±0.009**	0.679±0.007**	0.612±0.057	0.889±0.014#	0.873±0.005**	1.637±0.007***	0.828±0.009**	0.623±0.004###	0.979±0.007
4:1		0.960±0.012	1.548±0.139	0.764±0.052	0.681±0.068	0.957±0.014	1.631±0.016***	1.044±0.010	1.152±0.013*	0.722±0.011#	1.666±0.023
5:1		1.101±0.006**	1.786±0.012***	0.865±0.004**	0.476±0.001***	1.046±0.012	1.215±0.011**	1.662±0.007***	0.969±0.013	0.784±0.086	1.550±0.019**
黄芪		-	-	-	-	1.000	-	-	-	1.000	-
大黄		1.000	1.000	1.000	1.000	-	1.000	1.000	1.000	-	1.000

黄芪-大黄		相对峰面积									
配比		P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	E3	
1:1		1.735±0.018**	2.127±0.019***	2.128±0.025***	1.135±0.005	1.583±0.015***	1.355±0.006***	1.367±0.007***	1.396±0.004***	0.676±0.033	
2:1		1.231±0.021*	0.980±0.024	0.839±0.030	0.917±0.026	1.397±0.037*	0.843±0.035	0.692±0.017	0.712±0.027*	0.983±0.022	
3:1		1.284±0.012**	0.925±0.008*	0.737±0.006***	0.870±0.005**	1.267±0.006***	0.674±0.006***	0.580±0.001	0.494±0.009***	1.163±0.012##	
4:1		1.564±0.011***	1.565±0.019**	0.736±0.007***	0.929±0.006*	1.114±0.014*	0.466±0.012***	0.574±0.013**	0.453±0.011***	0.763±0.010##	
5:1		1.712±0.018***	1.557±0.012***	1.455±0.014***	1.181±0.009**	1.702±0.008***	1.080±0.017	0.781±0.009**	0.814±0.005***	0.722±0.021##	
黄芪		-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	
大黄		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	

同大黄饮片比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ ；同黄芪饮片比较：# $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs RRR decoction pieces; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs AR decoction pieces.

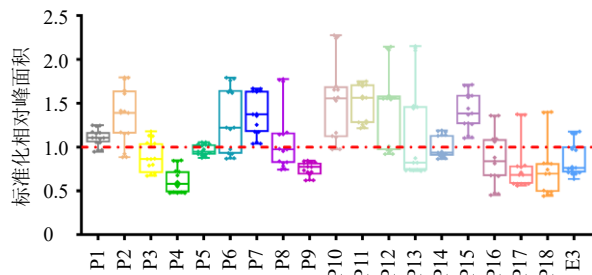


图 6 不同配比下标准化相对峰面积变化

Fig. 6 Changes in normalized relative peak areas at different ratios

异黄酮葡萄糖苷)在黄芪-大黄 1:1、5:1 时上升，E3 号峰（黄芪甲苷）在黄芪-大黄 3:1 时上升，其余的峰全部配比均表现为下降。表明不同配比下大黄的各成分溶出总体升高，而黄芪的各成分溶出总体下降。使用不同配比的黄芪-大黄治疗疾病时得到的治疗效果不同，可能与不同配比中成分的溶出变化有关。

2.3.2 潜在药效成分指标计算 对“2.2.2”项下的“黄芪、大黄-有效成分-交集靶点-疾病”的可视化网络图进行拓扑分析，得到药物成分的 degree 值。将

药物成分与指认成分交集,找到指认成分 degree 值。对指认成分的 degree 值进行归一化处理。计算公式见式 (2) [24]。结果见图 7 和表 3。

$$W_j=(D_j-D_{\min})/(D_{\max}-D_{\min}) \quad (2)$$

W_j 为峰号 j 的权重, D_j 为峰号 j 的 degree 值, $D_{\min}$ 为在指认成分中最小的 degree 值, $D_{\max}$ 为在指认成分中最大的 degree 值

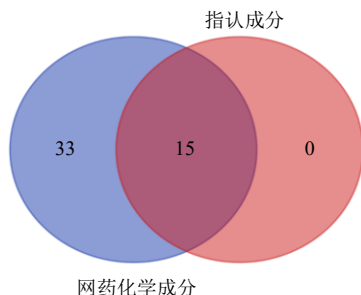


图 7 网络药理学的化学成分与指认成分韦恩图

Fig. 7 Venn diagram of chemical composition of reticulum and identified ingredient

由图 7 和表 3 可知,网络药理学中的化学成分一共有 48 个,ELSD-PDA/ELSD 中指认出的化学成分一共有 15 个,它们的交集成分一共有 15 个。这 15 个成分中,归属于黄芪的有 3 个,归属于大黄的有 12 个。黄芪中,黄芪甲苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷的 degree 值都比较高,分别为 111、103、102,归一化后,它们的值分别为 1.000、0.925、0.916;大黄中大黄素的 degree 值最高,为 44,归一化值为 0.374。

用归一化后的 degree 值作为权重,对指认成分的相对峰面积进行加权,计算出不同配比下潜在药效成分指标值。计算公式见式 (3)。由表 4 可知,黄芪中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (P5) 在黄芪-大黄 5 : 1 时,潜在药效成分指标值最大,芒柄花苷 (P9) 在黄芪-大黄 1 : 1 时,潜在药效成分指标值最大,黄芪甲苷 (E3) 在黄芪-大黄 3 : 1 时潜在药效成分指标值最大;大黄中的大黄素 (P16) 在黄芪-大黄

表 3 指认成分的归一化 degree 值

Table 3 Normalized degree value of identified ingredient

峰号	成分	degree 值	归一化 degree 值	峰号	成分	degree 值	归一化 degree 值
P1	没食子酸	13	0.084	P13	大黄素-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	6	0.019
P3	儿茶素	4	0.000	P14	芦荟大黄素	11	0.065
P5	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	102	0.916	P15	大黄酸	27	0.215
P6	芦荟大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	4	0.000	P16	大黄素	44	0.374
P8	大黄酸-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	5	0.009	P17	大黄酚	41	0.346
P9	芒柄花苷	103	0.925	P18	大黄素甲醚	37	0.308
P11	芦荟大黄素-3- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	12	0.075	E3	黄芪甲苷	111	1.000
P12	大黄酚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	21	0.159				

表 4 不同配比下潜在药效成分指标值 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Potential pharmacodynamic component index values under different ratios ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

黄芪-大黄		E_{ij}						
配比		P1	P5	P8	P9	P11	P12	P13
1 : 1		0.098 $\pm$ 0.001	0.938 $\pm$ 0.008	0.016 $\pm$ 0.000	0.765 $\pm$ 0.011	0.130 $\pm$ 0.001	0.338 $\pm$ 0.003	0.040 $\pm$ 0.000
2 : 1		0.090 $\pm$ 0.003	0.845 $\pm$ 0.010	0.007 $\pm$ 0.000	0.730 $\pm$ 0.024	0.092 $\pm$ 0.002	0.156 $\pm$ 0.004	0.016 $\pm$ 0.001
3 : 1		0.105 $\pm$ 0.000	0.814 $\pm$ 0.013	0.008 $\pm$ 0.000	0.576 $\pm$ 0.003	0.096 $\pm$ 0.001	0.147 $\pm$ 0.001	0.014 $\pm$ 0.000
4 : 1		0.081 $\pm$ 0.001	0.876 $\pm$ 0.013	0.011 $\pm$ 0.000	0.668 $\pm$ 0.010	0.117 $\pm$ 0.001	0.249 $\pm$ 0.003	0.014 $\pm$ 0.000
5 : 1		0.093 $\pm$ 0.000	0.958 $\pm$ 0.011	0.009 $\pm$ 0.000	0.726 $\pm$ 0.079	0.128 $\pm$ 0.001	0.247 $\pm$ 0.002	0.027 $\pm$ 0.000
黄芪-大黄		E_{ij}						
配比		P14	P15	P16	P17	P18	E3	
1 : 1		0.074 $\pm$ 0.000	0.340 $\pm$ 0.003	0.507 $\pm$ 0.002	0.473 $\pm$ 0.002	0.430 $\pm$ 0.001	0.676 $\pm$ 0.033	
2 : 1		0.060 $\pm$ 0.002	0.300 $\pm$ 0.008	0.315 $\pm$ 0.013	0.239 $\pm$ 0.006	0.219 $\pm$ 0.008	0.983 $\pm$ 0.022	
3 : 1		0.057 $\pm$ 0.000	0.272 $\pm$ 0.001	0.252 $\pm$ 0.002	0.201 $\pm$ 0.000	0.152 $\pm$ 0.003	1.163 $\pm$ 0.012	
4 : 1		0.061 $\pm$ 0.000	0.239 $\pm$ 0.003	0.174 $\pm$ 0.005	0.199 $\pm$ 0.005	0.140 $\pm$ 0.003	0.763 $\pm$ 0.010	
5 : 1		0.077 $\pm$ 0.001	0.366 $\pm$ 0.002	0.404 $\pm$ 0.006	0.270 $\pm$ 0.003	0.251 $\pm$ 0.002	0.722 $\pm$ 0.021	

1 : 1 时, 潜在药效成分指标值最大。

$$E_{ij}=W_i\times d_{ij} \tag{3}$$

E_{ij} 为配比 i 、峰号 j 的潜在药效成分指标值, W_j 为峰号 j 的权重, d_{ij} 为配比 i 、峰号 j 的相对峰面积

2.3.3 PCA 将 15 批不同配比的黄芪-大黄潜在药效成分指标导入 SIMCA 14.1 系统软件进行 PCA-X。该模型 $R^2_X=0.957$, $Q^2=0.813$ 均大于 0.5, 表明该模型预测信度较好。前 3 个主成分, 其方差贡献率分别为 74.191%、15.788%、5.748%, 累积方差贡献率为 95.728%, 可以代表 13 个潜在药效成分的大部分信息, 见表 5。由不同配比下的 PCA 得分可知, 15 批黄芪-大黄可分成 5 类, 其中黄芪-大黄 1 : 1 (S1~S3) 为第 1 类, 黄芪-大黄 2 : 1 (S4~S6) 为第 2 类, 黄芪-大黄 3 : 1 (S7~S9) 为第 3 类, 黄芪-大黄 4 : 1 (S10~S12) 为第 4 类, 黄芪-大黄 5 : 1 (S13~S15) 为第 5 类。见图 8。

表 5 黄芪-大黄 PCA 方差贡献率

Table 5 Variance contribution rate of AR-RRR principal component analysis

主成分	方差占比/%	累积方差贡献率/%
t[1]	74.191	74.191
t[2]	15.788	89.980
t[3]	5.748	95.728

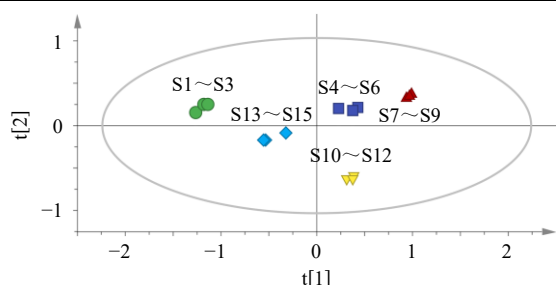


图 8 不同配比下 PCA 得分图

Fig. 8 PCA score chart with different ratios

因子载荷矩阵展示了不同潜在药效成分指标与主成分指标间的线性关系强度。载荷绝对值越大, 该潜在药效成分与主成分关系越密切。正载荷则表明存在正相关关系, 该潜在药效成分的增加会导致主成分的增加; 负载荷则表明存在负相关关系, 该潜在药效成分的增加会导致主成分的减少; 主成分 1 中载荷绝对值较大的峰有 E3 (黄芪甲苷) 和 P16 (大黄素)。黄芪甲苷与主成分 1 呈正相关, 大黄素与主成分 1 呈负相关; 主成分 2 中载荷绝对值较大的峰为 E3 (黄芪甲苷) 和 P16 (大黄素), 皆为正相关; 主成分 3 中载荷绝对值较大的峰为 P9

(芒柄花苷) 和 P15 (大黄酸), 皆为正相关。见表 6。将 3 个主成分的得分分别记为 $t[1]$ 、 $t[2]$ 、 $t[3]$, 以各主成分 ($t[p]$) 对应的贡献率 (c_p) 作为权重系数, 建立综合评价模型。计算公式见式 (4)。

$$T=c_1t[1]+c_2t[2]+\cdots+c_pt[p] \tag{4}$$

得分结果见表 7, 得分反映各批不同配比的黄芪-大黄内在变化情况, 得分越高, 则提示潜在药效越好。由表 7 可知, 黄芪-大黄配比为 3 : 1 时, 得分最高, 则其潜在药效最好。

表 6 黄芪-大黄 PCA 因子载荷矩阵

Table 6 AR-RRR PCA factor loading matrix

峰号	载荷矩阵			峰号	载荷矩阵		
	p[1]	p[2]	p[3]		p[1]	p[2]	p[3]
P1	0.000	0.218	-0.041	P14	-0.106	-0.017	0.114
P5	-0.272	-0.184	0.274	P15	-0.207	0.204	0.504
P8	-0.061	-0.009	-0.157	P16	-0.388	0.442	0.202
P9	-0.279	-0.059	0.433	P17	-0.373	0.290	-0.424
P11	-0.136	-0.143	-0.049	P18	-0.385	0.332	-0.216
P12	-0.308	-0.211	-0.415	E3	0.473	0.644	-0.004
P13	-0.126	0.064	-0.051				

表 7 不同配比下黄芪-大黄的综合评价得分及排序
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 7 Comprehensive evaluation scores and ranking of the main potential pharmacodynamic components of AR-RRR under different ratios ($\bar{x} \pm s, n=3$)

配比	t[1]	t[2]	t[3]	T	排序
1 : 1	-1.197±0.064	0.213±0.056	-0.215±0.029	-0.867±0.054	5
2 : 1	0.347±0.102	0.197±0.018	0.178±0.055	0.298±0.073	2
3 : 1	0.964±0.029	0.347±0.021	-0.107±0.020	0.764±0.023	1
4 : 1	0.359±0.043	-0.616±0.018	-0.156±0.029	0.160±0.031	3
5 : 1	-0.471±0.126	-0.141±0.050	0.300±0.143	-0.355±0.094	4

3 讨论

试验前期使用 LC-20AT 对 HPLC-PDA 供试品溶液 (黄芪-大黄 1 : 1) 进行全波长扫描, 综合考虑各色谱峰的分度度、数目、峰形等因素, 选择能体现黄芪-大黄的整体的质量的波长 256 nm 作为检测波长。本实验还考察了不同的流动相 (乙腈-0.2%甲酸水溶液、乙腈-0.2%磷酸水溶液、乙腈-0.2%醋酸水溶液)、不同体积流量 (0.8、1.0、1.2 mL/min)、不同柱温 (25、30、35 °C) 下黄芪-大黄的分离效果。发现水相为 0.2% 甲酸水溶液, 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C 时, 整体各峰的分度度和峰形较好。

本实验还考察了在 HPLC-ELSD 下, 不同流动

相(水、0.1%甲酸、0.2%甲酸、0.2%乙酸)时,不同体积流量(0.8、1.0、1.2 mL/min),不同柱温(25、30、35 °C)下黄芪-大黄的分离效果。发现水相为0.2%甲酸水溶液,体积流量为1.0 mL/min,柱温为30 °C时,整体各峰的分离度和峰形较好。最终确定其色谱条件。

大量文献研究发现,黄芪-大黄在方剂中多采用1:1至5:1区间配比,故选择典型的5个配比进行黄芪-大黄不同配比的内在关系变化研究。黄芪-大黄是治疗慢性肾衰的临床复方中常出现的组合,但其组合的最佳配比尚未明确。为此,本研究采用HPLC-PDA/ELSD法建立不同配比黄芪-大黄指纹图谱,并对指纹图谱标定的色谱峰进行归属,指认和标准化。比较标准化后的色谱峰可发现,不同配比下的黄芪甲苷溶出率呈现出正态分布特点,这与不同配比当归-黄芪中黄芪甲苷溶出率特点一致^[25]。这说明,过低或过高的黄芪-大黄配比皆不利于黄芪甲苷的溶出。没食子酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芒柄花苷的溶出率在箱式图中呈现出集中趋势,说明不同配比下它们的溶出率差异不大。大黄酚-8-O-葡萄糖苷的极值相差大,且呈现出离散趋势,说明黄芪-大黄的不同配比对它的溶出率影响很大。在不同配比的大黄-桃仁中,大黄酚-8-O-葡萄糖苷溶出率也呈现出该特点^[26]。

在此基础上,利用网络药理学寻找黄芪-大黄治疗慢性肾衰钙磷代谢紊乱的核心成分 degree 值,并用指认成分的归一化 degree 值对标准化峰面积进行加权和 PCA。通过进一步关联分析不同配比下标准化相对峰面积与 PCA 因子载荷矩阵可以发现,不同成分溶出率的增加,并不一定意味着潜在药效质量提高,也可能出现下降情况。芦荟大黄素-3-O-β-D-葡萄糖苷所有配比的溶出率皆增加,即其含量皆增加。但因它与潜在药效主成分 1、2 和 3 呈负相关,该成分含量的增加会导致潜在药效主成分的减少,进而导致总体潜在药效质量下降。同理,黄芪甲苷在黄芪-大黄 3:1 时表现为溶出率增加,其余配比表现为溶出率下降;因它与药效主成分 1 和 2 呈正相关,该成分含量的增加会导致潜在药效主成分的减少,进而导致总体潜在药效质量下降。不同成分对总体潜在药效质量的影响并非简单的加减关系。因此,需要构建综合得分模型。从综合得分模型可知,黄芪-大黄不同配比综合得分呈现出中间高两边低的特点。

不同配比的黄芪-当归发挥降低丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT),增强 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)和核因子-红细胞 2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2 related factor 2, Nrf2)表达等药效^[27],也呈现出中间配比药效高,两边配比药效低的特点。黄芪-大黄 3:1 时得分最高为 0.764,说明其潜在药效最好。该最高得分配比,与广东省名中医李顺民治疗慢性肾衰时采用的健脾益肾方中黄芪-大黄配比一致。同时,该配比也是临床上的常用配比。本实验证明了临床上使用该配比的合理性。

本研究首次将黄芪-大黄含量与网络药理潜在药效相结合,探究差异性成分含量与潜在药理作用的联系。本研究首次建立化学成分含量与潜在药效综合评价黄芪-大黄质量的模型标准。但是,本实验也存在不足之处,即网络药理学预测的结果没有进行实验验证。后续将构建慢性肾衰钙磷代谢紊乱动物模型或是体外细胞模型,通过蛋白免疫印记法或实时荧光定量 PCR 等技术,验证黄芪-大黄不同配比下其效果和对靶点的作用,以期弥补这一不足。

综上所述,本实验确定的黄芪-大黄最佳配比,可为黄芪-大黄潜在药效质量控制奠定基础,为临床应用药确定适宜配比用量提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Gao Y W, Su X, Xue T Q, *et al.* The beneficial effects of astragaloside IV on ameliorating diabetic kidney disease [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 163: 114598.
- [2] Li D, Liu Y Z, Zhan Q C, *et al.* Astragaloside IV blunts epithelial-mesenchymal transition and G2/M arrest to alleviate renal fibrosis via regulating ALDH2-mediated autophagy [J]. *Cells*, 2023, 12(13): 1777.
- [3] Xu L, Gao J D, Huang D, *et al.* Emodin ameliorates tubulointerstitial fibrosis in obstructed kidneys by inhibiting EZH2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 534: 279-285.
- [4] Gu M J, Lu L D, Wei Q X, *et al.* Improved oral bioavailability and anti-chronic renal failure activity of chrysophanol via mixed polymeric micelles [J]. *J Microencapsul*, 2021, 38(1): 47-60.
- [5] Dou F, Ding Y, Wang C, *et al.* Chrysophanol ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting the TGF-β/Smad signaling pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 180:

- 114079.
- [6] Ma S Q, Xu H, Huang W H, *et al.* Chrysophanol relieves cisplatin-induced nephrotoxicity via concomitant inhibition of oxidative stress, apoptosis, and inflammation [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 706359.
- [7] 宫仁豪, 涂祎琚, 李海燕, 等. 不同配比大黄黄芪对 CRF 大鼠 TGF- β 1/HGF 因子表达的干预研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(11): 2365-2369.
- [8] 钟瑜萍, 郑作亮, 李海燕, 等. 大黄-黄芪不同剂量对比对慢性肾功能衰竭大鼠肠粘膜和肠道菌群移位的影响 [J]. 中药药理与临床, 2017, 33(2): 130-133.
- [9] Huang H P, Huang S Y, Li C H, *et al.* Jian-Pi-Yi-Shen formula ameliorates renal fibrosis-induced Anemia in rats with chronic kidney disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 335: 118607.
- [10] 郝冬阳, 彭婷, 丁瑜. 大黄黄芪直肠灌注联合营养支持治疗在急性肾损伤患者中的应用 [J]. 中国中医急症, 2025, 34(4): 703-706.
- [11] 梁文聪, 熊国良. 数据挖掘名老中医治疗慢性肾功能衰竭的经验 [J]. 中医临床研究, 2021, 13(7): 7-10.
- [12] 吕勇, 王亿平, 忻凌, 等. 基于数据挖掘对曹恩泽治疗慢性肾功能衰竭核心用药规律的分析 [J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(2): 361-365.
- [13] 禹建芳, 赵江源, 杨智明, 等. 膜荚黄芪化学成分研究 [J]. 中药材, 2022, 45(2): 341-345.
- [14] 金荣耀, 茹娅娟. 黄芪的药理活性及其治疗胃溃疡的作用机制研究进展 [J]. 中药材, 2024, 47(9): 2401-2406.
- [15] 韩思琪, 哈伟, 师彦平. 大黄及其有效成分抗炎作用的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(1): 303-316.
- [16] 赵静, 赵文景, 蔡朕, 等. 健脾益肾泄浊方辅助治疗对持续性非卧床腹膜透析脾肾两虚湿浊证患者残余肾功能的影响: 随机对照试验 [J]. 中医杂志, 2023, 64(16): 1656-1660.
- [17] Zhang C Y, Zhu J Y, Ye Y, *et al.* Erhuang Formula ameliorates renal damage in adenine-induced chronic renal failure rats via inhibiting inflammatory and fibrotic responses [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 520-528.
- [18] Ye Q Q, Chen H B, Ma H Z, *et al.* Xiaoyu Xiezhuo drink protects against ischemia-reperfusion acute kidney injury in aged mice through inhibiting the TGF- β 1/Smad3 and HIF1 signaling pathways [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 9963732.
- [19] 朱国盛, 宣建宗, 丁仁华, 等. 芪黄益肾汤联合治疗对慢性肾脏病脾肾亏虚证患者的效果及血清 Lp-PLA2、VEGF 的作用 [J]. 转化医学杂志, 2024, 13(1): 26-31.
- [20] Chen C, Sun S F, Zhao J, *et al.* Yishen-Qingli-Huoxue formula attenuates renal fibrosis by inhibiting indoxyl sulfate via AhR/snail signaling [J]. *Phytomedicine*, 2023, 108: 154546.
- [21] 陈士林: 中药饮片标准汤剂 (第一卷) 出版 [J]. 世界中医药, 2018, 13(1): 150.
- [22] Zhou Y, Zhang Y T, Zhao D H, *et al.* TTD: Therapeutic target database describing target drug gability information [J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(D1): D1465-D1477.
- [23] 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.
- [24] 聂晓兵, 李春晓, 刘小玲, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和 EBI 技术优化天麻干燥条件及 8 个多酚含量的分析研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(2): 233-241.
- [25] 李彦荣, 牛淑秀, 刘光炜, 等. HPLC-DAD/ELSD 法测定当归-黄芪药对不同配比下主要有效成分的含量 [J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2023, 32(1): 79-85.
- [26] 张聪聪, 刘瀚泽, 王永丽, 等. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 法同时测定大黄-桃仁药对中 16 种成分及其溶出规律探究 [J]. 中成药, 2022, 44(4): 1177-1183.
- [27] 张维钲, 祁晓鸣, 左玉芹, 等. 黄芪-当归配伍调节 Keap1/Nrf2/PGC-1 α 信号抑制雷公藤甲素肝脏毒性的作用及机制 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(23): 6378-6386.

[责任编辑 郑礼胜]