

中图分类号: R94; R965 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)02-0037-06  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.02.009



## 不同配伍比例大黄-丹参有效成分溶出率及抗模型大鼠肾纤维化作用比较\*

孟颖, 徐子寒, 高俪原, 韩怡<sup>△</sup>

(江苏省张家港市中医医院, 江苏 张家港 215600)

**摘要:**目的 比较大黄-丹参药对在不同配伍比例时两药7个有效成分(芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、丹酚酸B、丹参酮II<sub>A</sub>)溶出率和抗模型大鼠肾纤维化作用的差异。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法测定大黄单提液、丹参单提液及6种配伍比例(1:1、1:1.25、1:1.75、1:2、1:3、1:4)大黄-丹参混提液中7个有效成分的含量及溶出率。采用单侧输尿管梗阻复制肾纤维化大鼠模型,比较大黄、丹参及1:1.25、1:1.75、1:2配伍比例大黄-丹参混提液对模型大鼠肾组织病理形态及血尿素氮(BUN)、血清肌酐(SCr)、24h尿蛋白(24h-UTP)水平的影响。结果 不同配伍比例大黄-丹参混提液中7个有效成分含量均小于单提液,大黄-丹参(1:2)混提液中有效成分整体溶出率优于其他配伍比例。与模型组比较,大黄单提液、丹参单提液及1:1.25、1:1.75、1:2配伍比例大黄-丹参混提液作用下,大鼠肾纤维化程度显著减轻,BUN、SCr、24h-UTP水平均显著降低,其中以大黄单提液作用最强。结论 所建立的含量测定方法可用于大黄-丹参药对中7个有效成分的含量测定;大黄-丹参不同比例配伍后有效成分溶出率均小于单提液;大黄-丹参配伍后在抗模型大鼠肾纤维化作用方面未产生协同作用,大黄单提液抗肾纤维化作用最佳。

**关键词:** 大黄; 丹参; 配伍比例; 溶出率; 肾纤维化; 大鼠

### Comparison of Rhei Radix et Rhizoma - Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma with Different Compatibility Proportions on Dissolution Rate of Active Ingredients and Anti - Renal Fibrosis

MENG Ying, XU Zihan, GAO Liyuan, HAN Yi

(Zhangjiagang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiagang, Jiangsu, China 215600)

**Abstract: Objective** To compare Rhei Radix et Rhizoma - Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma drug pair with different compatibility proportions on the dissolution rate of seven active ingredients (aloe - emodin, rhein, emodin, chrysophanol, phycion, salvanolic acid B and tanshinone II<sub>A</sub>) and anti - renal fibrosis in rats. **Methods** High - performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine the content and dissolution rate of seven active ingredients in single extract of Rhei Radix et Rhizoma, Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma and mixed extract of drug pair with six compatibility proportions (1:1, 1:1.25, 1:1.75, 1:2, 1:3 and 1:4). Rat models of renal fibrosis were replicated by unilateral ureteral obstruction. The effects of single extract of Rhei Radix et Rhizoma, Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma and mixed extract of drug pair with three compatibility proportions (1:1.25, 1:1.75 and 1:2) on the pathological morphology of renal tissue, blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr) and 24 - hour urine total protein (24 h - UTP) levels in rats were compared. **Results** The content of seven active ingredients in the mixed extract of Rhei Radix et Rhizoma - Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma with different compatibility proportions was lower than that in the above two single extract. The overall dissolution rate of active ingredients in the mixed extract of drug pair at a compatibility proportion of 1:2 was better than that at other compatibility proportions. Compared with that in the model group, the degree of renal fibrosis in rats significantly decreased under the single extract of Rhei Radix et Rhizoma, Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma and mixed extract of drug pair with three compatibility proportions (1:1.25, 1:1.75 and 1:2), and the BUN, SCr and 24 h - UTP levels significantly decreased, with the most obvious improvement under the extract of Rhei Radix et Rhizoma. **Conclusion** The established method can be used for the content determination of seven active ingredients in Rhei Radix et Rhizoma - Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma drug pair. The dissolution rate of active ingredients in the drug pair with different compatibility proportions is lower than that in the two single extract. The compatibility of Rhei Radix et Rhizoma and Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma do not have a synergistic effect on the anti - renal fibrosis, and the extract of Rhei Radix et Rhizoma is the most effective.

**Key words:** Rhei Radix et Rhizoma; Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma; compatibility proportion; dissolution rate; renal fibrosis; rat

慢性肾脏病(CKD)是全球性公共卫生问题<sup>[1]</sup>,目前 全球有6.98亿病例,中国患者达1.323亿<sup>[2]</sup>。肾纤维化

\*基金项目:江苏省药学会—奥赛康医院药学基金[A202126];江苏省药学会—天晴医院药学基金[Q202125];江苏省苏州市科技发展计划指导性项目[SKYD2023228, SKYXD2022066];江苏省苏州市科技发展计划(民生科技-医疗卫生应用基础研究)项目[SYSD2020221];江苏省张家港市科技计划项目[ZKS2135, ZKS2147];江苏省张家港市卫生青年科技项目[ZJGQNKJ202235]。

第一作者:孟颖,女,硕士,中药师,研究方向为医院制剂及中药质量控制,(电子信箱)eropink@163.com。

<sup>△</sup>通信作者:韩怡,女,硕士,副主任中药师,研究方向为临床中药学及中药质量控制,(电子信箱)632269273@qq.com。

是CKD的标志,也是肾功能进行性改变和不可逆转的重要原因<sup>[3]</sup>。相较于西药,传统中医药对CKD具有独特的治疗优势。大黄为泻下良药,具有逐瘀破结功效;丹参为活血化瘀良药;两药配伍,为中医临床治疗CKD的高频使用药对<sup>[4-5]</sup>。近年来,含大黄-丹参药对的中成药如肾康注射液(大黄-丹参,1:1)<sup>[6]</sup>和肾衰宁胶囊(大黄-丹参,1:1.75)<sup>[7]</sup>,临床经验方如抗纤灵冲剂(上海中医药大学附属曙光医院,大黄-丹参,1:1.25)<sup>[8]</sup>,固本泄浊饮(张家港市中医医院,大黄-丹参,1:2)<sup>[9]</sup>等广泛用于临床,疗效均较好。已有研究多集中于大黄、丹参单味药材或其单体成分治疗CKD肾纤维化<sup>[10-12]</sup>,药对也仅限于1:1配伍<sup>[13-14]</sup>,两药不同配伍比例下的有效成分及疗效未见研究。为此,本研究中探讨了不同配伍比例大黄-丹参对有效成分溶出率及抗模型大鼠肾纤维化的作用。现报道如下。

## 1 仪器、试药与动物

### 1.1 仪器

e2695型高效液相色谱仪,包括PDA2998型检测器(美国Waters公司);MS105型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司),7170A型全自动生化分析仪(日本Hitachi公司),精度均为0.01 mg;SCQ-250型超声波清洗器(上海声彦超声波仪器有限公司);ST16R型低温离心机(美国Thermo Fisher公司)。

### 1.2 试药

芦荟大黄素对照品(批号为PRF9022841,含量97.72%),大黄酸对照品(批号为PRF9083142,含量98.36%),大黄素对照品(批号为PRF8070501,含量99.44%),大黄酚对照品(批号为PRF8022726,含量99.67%),大黄素甲醚对照品(批号为PRF9031428,含量97.24%),均购于成都普瑞法科技开发有限公司;丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>对照品(批号为MUST-20121710,含量99.56%),丹酚酸B对照品(批号为MUST-21030110,含量98.60%),均购于成都曼斯特生物科技有限公司;磷酸、甲醇均为分析纯,水为娃哈哈纯净水。大黄饮片(批号为210527010),丹参饮片(批号为210710010),均购于苏州天灵中药饮片有限公司,经张家港市中医医院余辉主任中药师鉴定为正品。

### 1.3 动物

SPF级SD大鼠35只,雄性,7周龄,体质量(180±10)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物使用许可证号SYXK(京)2022-0025。饲养于南京中医药大学实验动物中心,室温(23±2)°C,相对湿度(60±5)%,12 h明暗交替,实验期间大鼠自由进食饮水。本实验经我院实验动物伦理委员会批准(批件号:2020伦申第1040号)。

## 2 方法与结果

### 2.1 有效成分溶出率研究

#### 2.1.1 色谱条件

色谱柱:Thermo Hypersil BDS C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸(B),梯度洗脱(0~5 min时5%A,5~15 min时5%A→30%A,15~25 min时60%A,25~35 min时60%A→75%A,35~45 min时75%A,45~65 min时75%A→5%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:35 °C;进样量:10 μL。

#### 2.1.2 溶液制备

大黄混合对照品溶液:称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品各适量,精密称定,分别置5 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,制成单一对照品溶液①-⑤(质量浓度分别为0.996 7,0.946 2,0.938 7,1.521 0,0.958 8 mg/mL)。分别精密吸取740,740,660,1400,660 μL,置同一10 mL容量瓶中,加甲醇稀释并定容,制成混合对照品溶液I(质量浓度分别为73.756,70.019,61.954,212.940,63.281 μg/mL)。

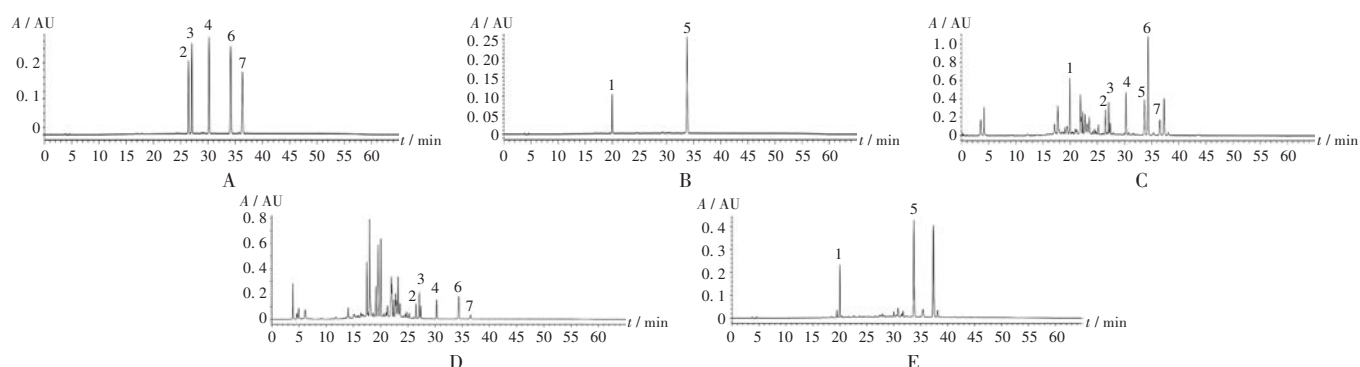
丹参混合对照品溶液:称取丹酚酸B、丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>对照品各适量,精密称定,分别置5 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,制成单一对照品溶液⑥和⑦(质量浓度分别为1.312 2 mg/mL和1.366 6 mg/mL)。分别精密吸取1800 μL和940 μL,置同一10 mL容量瓶中,加甲醇稀释并定容,制成混合对照品溶液II(质量浓度分别为236.196 μg/mL和128.460 μg/mL)。

大黄、丹参单提液:分别取大黄饮片、丹参饮片样品各适量,置陶瓷煲中,加水300 mL,武火煮沸后转文火继续煎煮30 min,滤过,除去药渣,药液浓缩并定容至100 mL,精密吸取药液25 mL,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,30 °C下超声(功率200 W,频率45 kHz)提取10 min,冷却至室温,取上清液,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

不同配伍比例大黄-丹参混提液(供试品溶液):按大黄-丹参配伍比例1:1、1:1.25、1:1.75、1:2、1:3、1:4分别称取大黄饮片样品粉末3.0 g(6份)及丹参饮片样品粉末3.0,3.75,5.25,6.0,9.0,12.0 g,精密称定,分别提取并配伍制备,得供试品溶液①-⑥;按相同配伍比例分别称取丹参饮片样品粉末15.0 g(6份)及大黄饮片样品粉末15.0,12.0,8.57,7.5,5.0,3.75 g,精密称定,分别提取并配伍制备,即得供试品溶液⑦-⑫。

#### 2.1.3 方法学考察

系统适用性试验:取上述对照品溶液、供试品溶液各适量,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,理论板数按丹酚酸B峰计应不低于3000;分离度均大于1.5,基线分离良好。详见图1。



1. 丹酚酸B 2. 芦荟大黄素 3. 大黄酸 4. 大黄素 5. 丹参酮II<sub>A</sub> 6. 大黄酚 7. 大黄素甲醚  
A. 混合对照品溶液 I B. 混合对照品溶液 II C. 供试品溶液⑥ D. 大黄单提液 E. 丹参单提液

图1 高效液相色谱图

1. Salvianolic acid B 2. Aloe - emodin 3. Rhein 4. Emodin 5. Tanshinone II<sub>A</sub> 6. Chrysophanol 7. Physcion

A. Mixed reference solution I B. Mixed reference solution II C. Test solution ⑥ D. Extract of Rhei Radix et Rhizoma E. Extract of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系考察:分别精密量取2.1.2项下单一对照品溶液①-⑦0.1,0.2,0.5,1.0,1.5,2.0 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,制成系列单一对照品溶液。精密量取10 μL,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程。结果见表1。

表1 线性关系考察结果

Tab. 1 Results of the linear relation test

待测成分	回归方程	线性范围( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$r$
芦荟大黄素	$Y_1 = 20987X_1 + 3170.5$	9.97~199.34	0.9997
大黄酸	$Y_2 = 21574X_2 + 2453.7$	9.46~189.24	0.9991
大黄素	$Y_3 = 23117X_3 + 6076.2$	9.39~187.74	0.9995
大黄酚	$Y_4 = 27191X_4 + 4331.7$	15.21~304.20	0.9992
大黄素甲醚	$Y_5 = 22691X_5 + 1291.8$	9.59~191.76	0.9996
丹酚酸B	$Y_6 = 80995X_6 + 11294$	13.12~262.44	0.9999
丹参酮II <sub>A</sub>	$Y_7 = 26359X_7 + 21559$	13.67~273.32	0.9998

精密密度试验:取2.1.2项下混合对照品溶液I和II,按2.1.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、丹酚酸B、丹参酮II<sub>A</sub>峰面积的RSD分别为0.61%,0.58%,0.46%,0.42%,0.79%,0.52%,0.44% ( $n=6$ ),表明仪器精密密度良好。

稳定性试验:取供试品溶液⑥适量,分别于室温下放置0,2,4,8,16,24 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、丹酚酸B、丹参酮II<sub>A</sub>峰面积的RSD分别为1.01%,1.23%,0.99%,1.16%,0.92%,1.01%,1.23% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:称取饮片样品适量,精密称定,各6份,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下

色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、丹酚酸B、丹参酮II<sub>A</sub>峰面积的RSD分别为0.41%,0.39%,0.43%,0.35%,0.58%,0.38%,0.51% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的饮片样品适量,共6份,分别加入一定质量浓度的混合对照品溶液I和II,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表2。

#### 2.1.4 样品含量测定

取饮片样品各适量,分别按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积,计算样品含量及溶出率。结果见表3、图2。

### 2.2 抗单侧输尿管梗阻(UUO)模型大鼠肾纤维化研究

建模、分组及给药:将35只大鼠随机分为假手术组(纯净水)、模型组(纯净水)、大黄组(大黄单提液)、丹参组(丹参单提液)、大黄-丹参(1:1.25)组(1:1.25组)、大黄-丹参(1:1.75)组(1:1.75组)、大黄-丹参(1:2)组(1:2组)。大鼠禁食不禁饮12 h后,腹腔注射2.0%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,左侧腹切口,暴露并分离左侧输尿管,在肾盂开口处和输尿管上1/3处结扎,从2个结扎点中间剪断左侧输尿管,逐层缝合,并注射青霉素,以复制UUO大鼠模型。各组灌胃纯净水或相应剂量煎液,按普通成人(体质量以60 kg计)10 g/d的中药量计,大鼠剂量为1.042 g/kg,每天1次,持续2周。假手术组大鼠仅腹腔游离左侧输尿管后缝合腹腔。

肾脏病理形态:取大鼠左侧肾组织,将制得标本置4%多聚甲醛固定液中,脱水、包埋、切片,Masson染色,观察病理改变。结果表明,与假手术组比较,模型组肾

表2 加样回收试验结果( $n=9$ )  
Tab. 2 Results of the recovery test ( $n=9$ )

待测成分	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)	待测成分	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
芦荟大黄素	0.1563	0.1849	0.3418	100.32	100.81	1.79	大黄素甲醚	0.8512	0.8893	1.7311	98.94	99.62	1.55
	0.1523	0.1849	0.3409	102.00				0.8539	0.8663	1.7149	99.39		
	0.1546	0.1849	0.3454	103.19				0.8523	0.8663	1.7036	98.27		
	0.1520	0.1601	0.3122	100.06				0.8559	0.8663	1.7203	99.78		
	0.1559	0.1601	0.3148	99.25				0.1449	0.1739	0.3209	101.21		
	0.1532	0.1601	0.3179	102.87				0.1458	0.1739	0.3205	100.46		
	0.1538	0.1353	0.2868	98.30				0.1453	0.1739	0.3217	101.44		
	0.1547	0.1353	0.2887	99.04				0.1495	0.1583	0.3084	100.38		
	0.1552	0.1353	0.2935	102.22				0.1439	0.1583	0.3017	99.68		
大黄酸	0.3248	0.3547	0.6823	100.79	100.14	1.61	丹酚酸B	0.1466	0.1583	0.3025	98.48	99.53	1.01
	0.3296	0.3547	0.6848	100.14				0.1434	0.1427	0.2864	100.21		
	0.3266	0.3547	0.6893	102.26				0.1438	0.1427	0.2828	97.41		
	0.3237	0.3069	0.6247	98.08				0.1429	0.1427	0.2817	97.27		
	0.3233	0.3069	0.6262	98.70				0.5802	0.5927	1.1795	101.11		
	0.3229	0.3069	0.6356	101.89				0.5862	0.5927	1.1729	98.99		
	0.3201	0.2591	0.5748	98.30				0.5844	0.5927	1.1726	99.24		
	0.3198	0.2591	0.5773	99.38				0.5896	0.5712	1.1603	99.91		
	0.3208	0.2591	0.5844	101.74				0.5830	0.5712	1.1582	100.70		
大黄素	0.3295	0.3605	0.689	99.72	99.20	1.45	丹参酮II <sub>A</sub>	0.5842	0.5712	1.1502	99.09	99.33	1.26
	0.3259	0.3605	0.6873	100.25				0.5867	0.5497	1.1293	98.71		
	0.3268	0.3605	0.6884	100.31				0.5788	0.5497	1.1202	98.49		
	0.3205	0.3319	0.6539	100.45				0.5794	0.5497	1.1211	98.54		
	0.3241	0.3319	0.6462	97.05				0.7648	0.9728	1.7415	100.40		
	0.3227	0.3319	0.6551	100.15				0.7589	0.9728	1.7409	100.95		
	0.3252	0.3033	0.6284	99.97				0.7598	0.9728	1.7287	99.60		
	0.3297	0.3033	0.6256	97.56				0.7670	0.7705	1.5232	98.14		
	0.3278	0.3033	0.6230	97.33				0.7603	0.7705	1.5265	99.44		
大黄酚	0.8594	0.9123	1.7713	99.96	99.47	0.84		0.7612	0.7705	1.5148	97.81		
	0.8556	0.9123	1.7744	100.71				0.7661	0.5682	1.3382	100.69		
	0.8559	0.9123	1.7729	100.52				0.7574	0.5682	1.3218	99.33		
	0.8540	0.8893	1.7349	99.06				0.7582	0.5682	1.3126	97.57		
	0.8552	0.8893	1.732	98.59									

间质蓝色区域显著增多,大量胶原纤维沉积,肾纤维化明显;与模型组比较,各给药组中胶原纤维沉积减少,肾脏纤维化程度降低,其中大黄组肾损伤改善作用更优。详见图3。

肾脏生化指标:用全自动生化分析仪检测大鼠血尿素氮(BUN)、血清肌酐(SCr)、24 h尿蛋白(24 h-UTP)水平。与假手术组比较,模型组大鼠BUN和SCr水平显著升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,各给药组大鼠BUN,SCr,24 h-UTP水平均显著下降( $P < 0.05$ )。但各给药组组间无显著差异( $P > 0.05$ ),大黄组SCr显著优于丹参组。详见表4。

### 3 讨论

#### 3.1 大黄-丹参药对现代药理学

大黄通腑泄浊,具有推陈致新、清泄浊毒之功效。现代药理学研究发现,大黄具有抗炎、抗菌、通便、抗癌等药理作用,大黄提取物具有改善肾损伤、抑制肾组织细胞凋亡和炎症因子释放等功效<sup>[15]</sup>。丹参活血化瘀,具有祛瘀生新、通行血脉之效。现代药理学研究发现,丹参提取物具有减轻肾脏炎症反应,修复肾损伤,改善肾功能等功效<sup>[16-17]</sup>。王宏等<sup>[14]</sup>发现,大黄-丹参药对可减轻慢性肾衰竭模型大鼠肾间质炎症细胞浸润、纤维化程度和结肠上皮屏障结构损伤程度,从而有效保护

表3 不同配伍比例大黄-丹参药对中7个有效成分含量测定结果(mg/g, n=3)

Tab. 3 Results of content determination of seven active ingredients in Rhei Radix et Rhizoma - Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma drug pair with different compatibility proportions (mg/g, n=3)

单提液/大黄- 丹参配伍比例	大黄成分						丹参成分			合计
	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚	小计	丹酚酸B	丹参酮II <sub>A</sub>	小计	
大黄单提液	0.400±0.023	0.774±0.044	0.720±0.069	0.746±0.060	0.499±0.063	3.139±0.147				3.139±0.147
丹参单提液							1.099±0.104	0.879±0.053	1.977±0.090	1.977±0.090
1:1	0.224±0.026 <sup>*</sup>	0.409±0.016 <sup>*</sup>	0.344±0.024 <sup>*</sup>	0.454±0.025 <sup>*</sup>	0.169±0.031 <sup>*</sup>	1.601±0.067 <sup>*</sup>	0.743±0.115	0.482±0.023 <sup>△</sup>	1.225±0.095 <sup>△</sup>	2.826±0.047
1:1.25	0.289±0.013 <sup>*</sup>	0.490±0.059 <sup>*</sup>	0.515±0.014	0.594±0.038	0.186±0.057 <sup>*</sup>	2.074±0.063 <sup>*</sup>	0.652±0.023	0.728±0.061	1.380±0.051 <sup>△</sup>	3.453±0.075
1:1.75	0.315±0.021	0.469±0.017 <sup>*</sup>	0.513±0.011	0.565±0.030	0.152±0.044 <sup>*</sup>	2.014±0.009 <sup>*</sup>	0.981±0.083	0.577±0.049 <sup>△</sup>	1.558±0.131	3.572±0.140
1:2	0.293±0.018 <sup>*</sup>	0.597±0.016	0.540±0.021	0.602±0.070	0.235±0.015	2.267±0.114 <sup>*</sup>	0.986±0.117	0.820±0.015	1.806±0.103	4.073±0.165
1:3	0.246±0.017 <sup>*</sup>	0.544±0.024 <sup>*</sup>	0.455±0.016	0.558±0.031	0.186±0.017 <sup>*</sup>	1.989±0.008 <sup>*</sup>	0.695±0.157	0.595±0.012 <sup>△</sup>	1.290±0.155 <sup>△</sup>	3.279±0.163
1:4	0.259±0.016 <sup>*</sup>	0.447±0.029 <sup>*</sup>	0.383±0.028 <sup>*</sup>	0.538±0.040	0.149±0.012 <sup>*</sup>	1.775±0.090 <sup>*</sup>	0.526±0.116 <sup>△</sup>	0.492±0.146	1.018±0.108 <sup>△</sup>	2.793±0.077

注:与大黄单提液比较,<sup>\*</sup>P < 0.05;与丹参单提液比较,<sup>△</sup>P < 0.05。

Note: Compared with those in the extract of Rhei Radix et Rhizoma, <sup>\*</sup>P < 0.05. Compared with those in the extract of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma, <sup>△</sup>P < 0.05.

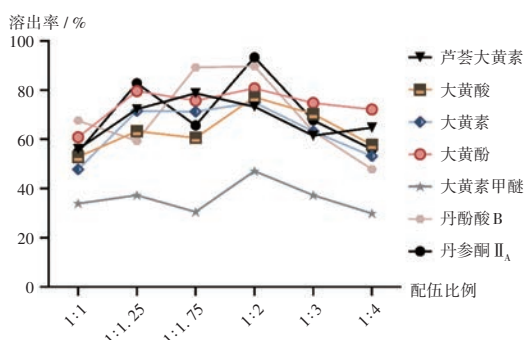


图2 不同配伍比例大黄-丹参药对中7种有效成分溶出率折线图

Fig. 2 Line graphs of dissolution rates of seven active ingredients in Rhei Radix et Rhizoma - Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma drug pair with different compatibility proportions

模型大鼠肾功能。大黄-丹参药对也可显著抑制UUO模型大鼠肾组织中miR-21/PTEN/Akt信号通路,从而发挥对肾纤维化的改善作用<sup>[13]</sup>。

### 3.2 大黄-丹参药对配伍比例选择

2020年版《中国药典(一部)》规定大黄的用量为

3~15g,丹参的用量为10~15g;临床以大黄治疗肾病的常用剂量为6~30g<sup>[18]</sup>,丹参为10~37.3g<sup>[19]</sup>。结合大黄丹参汤、抗纤灵冲剂、固本泄浊饮等含大黄-丹参药对的中药复方对肾脏疾病的临床遣药经验<sup>[20-22]</sup>,本研究选择了大黄-丹参药对临床使用较多的6种配伍比例,研究大黄-丹参混提液中7个有效成分溶出率的变化规律。

### 3.3 不同配伍比例对大黄-丹参药对中7个主要有效成分溶出率的影响

从溶出率测定结果可知,大黄-丹参混提液中7个有效成分含量均低于大黄、丹参单提液;大黄中5个游离蒽醌的溶出率随着与丹参配伍比例改变的变化规律不一致,当大黄-丹参配伍比例为1:2时,5个游离蒽醌的总溶出率最高(72.22%);丹参中2个有效成分总量随着丹参配伍比例的增大总体呈上升趋势,当大黄-丹参配伍比例为1:2时,丹酚酸B和丹参酮II<sub>A</sub>的总溶出率最高为91.35%;从7个有效成分总量来看,在大黄-

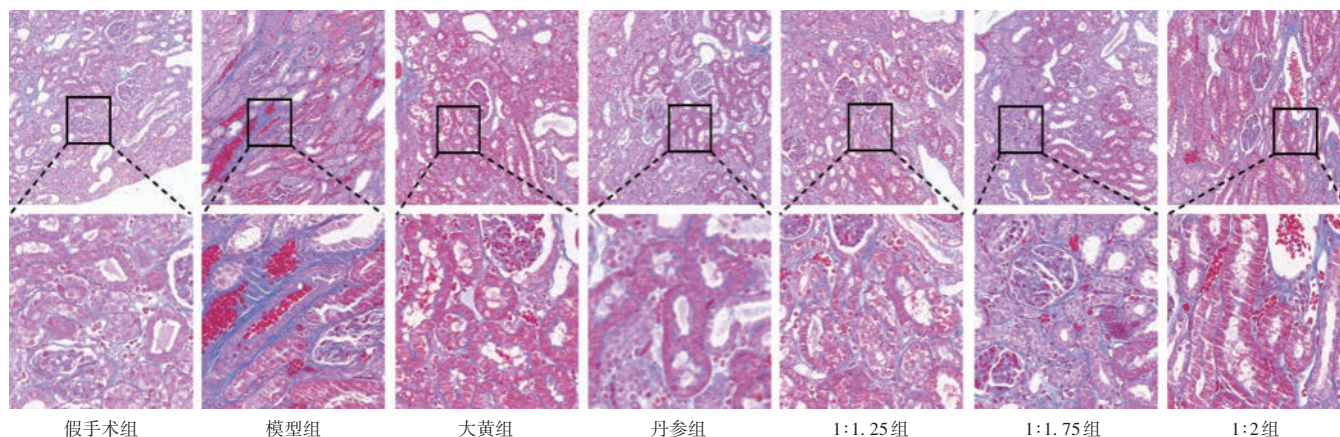


图3 大鼠肾脏病理形态(Masson, ×400)

Fig. 3 Pathological morphology of kidney in rats (Masson, ×400)

表4 各组大鼠肾功能指标比较( $\bar{X} \pm s, n = 5$ )

Tab. 4 Comparison of renal function indexes in each group  
( $\bar{X} \pm s, n = 5$ )

组别	BUN(mmol/L)	SCr( $\mu$ mol/L)	24 h - UTP(mg)
假手术组	5.98 ± 0.69	22.99 ± 3.29	5.26 ± 1.10
模型组	16.01 ± 1.29*	56.03 ± 6.60*	14.90 ± 2.29*
大黄组	9.65 ± 1.27#	36.41 ± 4.91#	8.13 ± 0.70#
丹参组	11.72 ± 0.74#	46.50 ± 3.52# <sup>△</sup>	9.07 ± 1.29#
1:1.25组	10.71 ± 1.58#	42.50 ± 4.59#	8.59 ± 0.85#
1:1.75组	10.58 ± 1.16#	43.44 ± 4.82#	8.51 ± 1.41#
1:2组	11.57 ± 1.02#	44.41 ± 4.65#	8.94 ± 0.70#

注:与假手术组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ;与大黄组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

Note:Compared with those in the sham surgery group,\* $P < 0.05$ . Compared with those in the model group,# $P < 0.05$ . Compared with those in the Rhei Radix et Rhizoma group,<sup>△</sup> $P < 0.05$ .

丹参配伍比例为1:2时的溶出率最高(79.61%)。综合考虑,选取溶出率相对较高的大黄-丹参3种不同配伍比例(1:1.25、1:1.75、1:2)及大黄、丹参单提液共5组进行药效学最佳配伍比例研究。

### 3.4 不同配伍比例对UUO模型大鼠肾纤维化的影响

由药效学实验结果可见,给药后大黄、丹参及其配伍均能显著提升模型大鼠的BUN,SCr,24 h - UTP水平,大黄-丹参配伍后在抗肾纤维化作用方面未产生协同作用,其中大黄单提液药效表现最佳,其余配伍比例无显著差异。病理学检测结果与药效一致,各给药组大鼠肾脏纤维化程度均明显降低,其中大黄单提液改善肾纤维化作用更优。

### 3.5 方法评价

所建立的含量测定方法可用于大黄-丹参药对中7个主要有效成分的含量测定;大黄-丹参不同比例配伍后有效成分溶出率均小于单提液;大黄-丹参配伍后在抗肾纤维化作用方面未产生协同作用,大黄单提液抗肾纤维化作用最佳。

### 参考文献

[1] 高翔,梅长林.《慢性肾脏病早期筛查、诊断及防治指南(2022年版)》解读[J].中国实用内科杂志,2022,42(9):735-739.  
[2] GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, Regional, and National burden of Chronic Kidney Disease, 1990-2017: a Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J].Lancet,2020,395(10225):709-733.  
[3] KUPPE C, IBRAHIM MM, KRANZ J, et al. Decoding myofibroblast origins in human kidney fibrosis [J]. Nature, 2021,589(7841):281-286.  
[4] 龚飞,李红.基于数据挖掘的中医药治疗慢性肾功能

不全用药规律分析[J].浙江中西医结合杂志,2021,31(7):668-671.

[5] 杨佳.基于数据挖掘的近20年慢性肾衰中药用药规律研究[D].银川:宁夏医科大学,2019.  
[6] 赵舒曼,郭传,沈佳晨,等.肾康注射液治疗慢性肾脏病文献分析[J].北京中医药,2021,40(11):1282-1284.  
[7] 孙顺辉,李波.肾衰宁胶囊治疗慢性肾衰竭早中期患者的疗效及对肾功能指标的影响[J].世界中医药,2017,12(6):1306-1309.  
[8] 张新志,钱玲,吴锋,等.抗纤灵冲剂对肾间质纤维化大鼠结缔组织生长因子蛋白表达的影响[J].中华中医药杂志,2020,35(7):3682-3685.  
[9] 强胜,杜珍芳,黄敏.固本泄浊饮延缓5/6肾切除大鼠慢性肾功能衰竭的机制研究[J].解放军医药杂志,2017,29(1):35-39.  
[10] 汪六林,巴元明.大黄素对UUO小鼠肾脏纤维化及炎症因子的影响[J].时珍国医国药,2022,33(10):2386-2388.  
[11] 陈亚坤,穆霖,邢玲玲.大黄酸对糖尿病大鼠肾脏纤维化的作用机制[J].河北医药,2022,44(14):2186-2188.  
[12] 杨冰,高飞,刘令今,等.丹参多酚酸盐减轻糖尿病肾病小鼠肾纤维化的机制研究[J].广州中医药大学学报,2021,38(5):1018-1024.  
[13] 王宏,刘琳娜,江茜,等.大黄-丹参药对延缓单侧输尿管梗阻大鼠肾纤维化的研究[J].中国临床药理学杂志,2023,39(3):368-372.  
[14] 王宏,徐娟,江茜,等.大黄-丹参药对慢性肾衰竭模型大鼠肠源性尿毒素含量和肠道屏障功能的影响[J].中国药房,2021,32(7):825-831.  
[15] 贾合磊,卢长青,袁彬,等.大黄提取物对脓毒症大鼠急性肾损伤的保护作用和对Keap1/Nrf2信号通路的影响[J].药物分析杂志,2021,41(6):979-985.  
[16] 邱鹏,倪晓娜.基于NLRP3/caspase-1通路研究丹参提取物对系膜增生性肾小球肾炎大鼠的保护作用[J].临床肾脏病杂志,2020,20(1):62-68.  
[17] 张术姣,谭小月,张勉之.丹参提取物对顺铂诱导小鼠急性肾损伤的影响及机制研究[J].中华中医药杂志,2021,36(12):7324-7328.  
[18] 毕超然,张鹏,朴春丽.大黄临床应用及其用量[J].吉林中医药,2019,39(1):28-31.  
[19] 潘韦韦,金美英,崔振海,等.丹参的临床应用及其用量探究[J].吉林中医药,2019,39(6):722-725.  
[20] 申屠伟丰,何永春.大黄丹参汤联合左卡尼汀治疗急性肾功能衰竭对血肌酐、尿素氮水平影响[J].新中医,2016,48(4):70-72.  
[21] 张新志,董飞侠,钱玲,等.抗纤灵冲剂调控基因与蛋白表达干预肾间质纤维化的机制研究[J].辽宁中医杂志,2022,49(1):173-176.  
[22] 强胜,杜珍芳,黄敏.固本泄浊饮对5/6肾切除肾衰竭大鼠TGF- $\beta_1$ 、BMP-7表达的影响研究[J].解放军医药杂志,2016,28(12):11-15.

(收稿日期:2023-04-03;修回日期:2023-08-03)