

当归补血汤配伍比例的比较研究

金 芳 (南京市中医院 南京 210001)

孙小燕 (南京中医药大学 南京 210029)

摘要 采用反相高效液相色谱法测定不同比例配伍的当归补血汤中阿魏酸的煎出率,并进一步观察了它们对小鼠吞噬功能和免疫器官的影响。结果表明:当归补血汤按经典的当归—黄芪(1:5)配伍时,阿魏酸的煎出率最高;并且当归—黄芪按1:5和5:1配伍时其阿魏酸的煎出率均明显高于按1:1配伍者。药理实验亦表明:当归—黄芪(1:5)配伍的当归补血汤提高小鼠廓清指数(K)和吞噬指数(α)的作用明显强于其它比例配伍者。

关键词 当归补血汤 反相HPLC 阿魏酸 廓清速率

Comparative Studies on Different Proportions of Ingredients in Danggui Buxue Decoction

Jin Fang

(*Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001*)

Sun Xiaoyan

(*Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029*)

Abstract: Using reversal HPLC, yields of ferulic acid isolated from Danggui Buxue decoction (DBD) with various proportions of its two ingredients, Radix Angelicae Sinensis (RAS) and Radix Astragali (RAH), were comparatively estimated. Furthermore, effects of extracts from DBD with different ingredient proportions on phagocytic function and immune organs were also explored in mice. The highest yield of ferulic acid was obtained when a classical ratio of RAS and RAH (1:5) in DBD was adopted. The yield of ferulic acid from DBD with a 1:5 or a 5:1 ratio between RAS and RAH was much higher than that with a 1:1 ratio of the two ingredients. Pharmacological data showed that efficacy of in-

creasing clearance index (K) and phagocytic index (α) by DBD with the 1:5 ratio of RAS and RAH was more potent than that by DBD with other ratios of the two ingredients.

Key words: Danggui Buxue decoction, Reversal HPLC, Ferulic acid, Clearance rate

当归补血汤系祖国医学经典方剂之一, 出自李东垣《内外伤辨惑论》, 由当归、黄芪两药按 (1:5) 比例组成, 其配伍精当, 组方严谨。当归、黄芪作为一常用药对以不同的比例被广泛应用。后人对当归补血汤的配伍比例、药效、主治等有许多争议。本次实验测定了不同比例配伍的当归补血汤中阿魏酸的煎出率, 以及它们对小鼠细胞免疫功能的影响, 探讨当归、黄芪配伍比例的奥秘。

1 仪器与条件

岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, CR-3A 数据处理机, SPD-6A 检测器, C-18 色谱柱, 柱温 25°C, 流动相: 甲醇-乙腈-水-冰醋酸 (36:2:51.5:0.5) 流速 0.5ml/min, 波长 313nm。GEZ-201 紫外可见分光光度计。

2 样品、试剂和材料

标准品: 阿魏酸, 中国药品生物制品鉴定所提供

试剂: 甲醇、乙腈、乙酸乙酯、冰醋酸、碳酸氢钠均为 AR 级, 南京化学试剂厂。

动物: ICR 小鼠, 体重 20±2g, 雌雄兼有, 由南京中医药大学动物房提供。

3 方法与结果

3.1 阿魏酸的煎出率测定

3.1.1 标准品溶液的试制

精密称取干燥恒重的阿魏酸标准品 10.5mg, 用甲醇定容至 100ml, 分别吸取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0ml 用甲醇定

容到 10ml, 配成 6 种不同浓度规格的标准品溶液。

3.1.2 标准曲线的绘制

分别吸取上述标准品溶液 10ul 进样, 记录峰面积。由含量对峰面积求直线方程得

$$Y = 1.17 \times 10^{-5} X + 0.0054,$$

$$r = 0.9993.$$

3.1.3 样品的制备

3.1.3.1 不同比例配伍的当归补血汤的制备

A: 单味当归 60g, 加 10 倍量水, 常规煎煮浓缩定容至 240ml (1:0)

B: 当归 60g、黄芪 60g, 加 10 倍量水, 常规合煎浓缩定容至 240ml (1:1)。

C: 当归 100g、黄芪 20g, 加 10 倍量水, 常规合煎浓缩定容至 400ml (5:1)。

D: 当归 20g、黄芪 100g 加 10 倍量水, 常规合煎浓缩定容至 80ml (1:5)。

E: 当归 60g、黄芪 60g, 分别煎煮浓缩合并定容至 240ml (分煎 1:1)。

3.1.3.2 样品的制备

精密吸取上述 A, B, C, D, E 各 20ml, 分别用乙酸乙酯提取 4 次 (30ml/次), 合并提取液, 用乙酸乙酯饱和的蒸馏水洗两次 (30ml/次)。挥干乙酸乙酯, 用甲醇溶解, 定容至 25ml, 每份样品提取 3 份, 共 15 份。

3.1.4 样品的测定

分别吸取上述样品 5ul 进样, 每份进样两次, 测得图谱和峰面积如图 1、表 1。

表1 不同比例配伍的当归补血汤阿魏酸的煎出率

当归:黄芪	平均峰面积 $\bar{x} \pm sD$	煎出量 mg	煎出率 mg/g 当归	RSD
单味当归	38327±840	0.45376	0.0452±0.0099	2.19%
1:1 (合煎)	31588±548	0.37496	0.0187±0.0032 ¹⁾	1.73%
1:1 (分煎)	38133±741	0.45156	0.0450±0.0087	1.94%
1:5 (经典比例)	38782±921	0.45915	0.0458±0.0108	2.37%
5:1	38708±984	0.45828	0.0458±0.0116	2.54%

注: ¹⁾与单味当归比较 $P < 0.01$

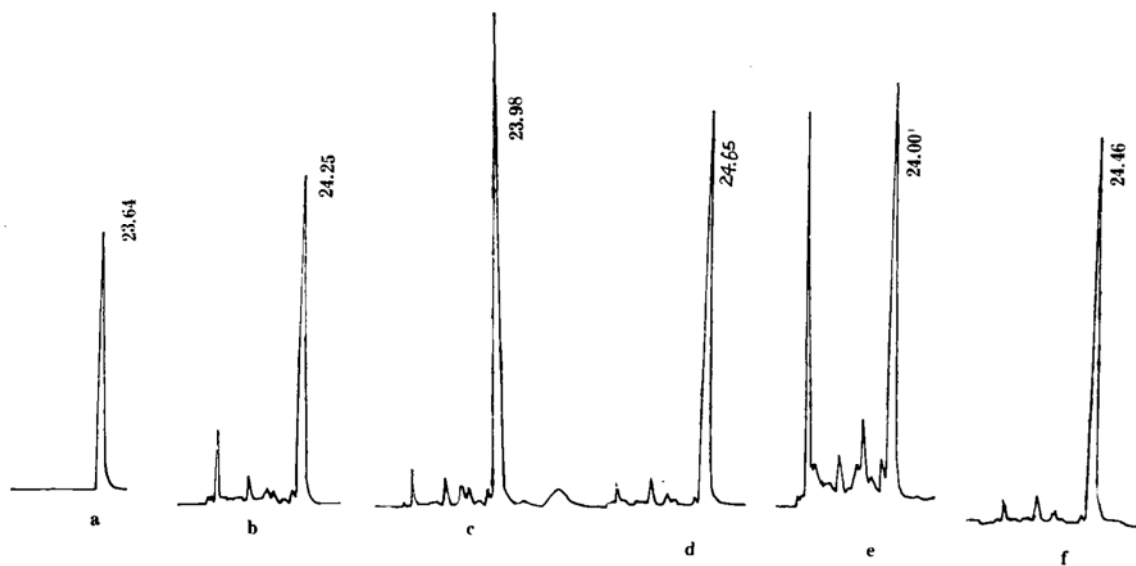


图1 不同比例的当归补血汤的图谱

a 为阿魏酸标准品之图; b 为当归黄芪合煎 (1:1); c 为当归—黄芪分煎 (1:1)
(进样量 6 μ l); d 为单味当归; e、f 分别为当归—黄芪 1:5 和 5:1

表2 不同比例配伍的当归补血汤
对小鼠碳粒廓清速率的影响

当归-黄芪	廓清指数 k	吞噬指数 α
生理盐水组	0.0028±0.001	2.48±0.296
1:5 (经典方)	0.0148± 0.0038 ⁴⁾	4.29± 0.585 ⁶⁾
5:1	0.011± 0.0026 ^{1,6)}	3.84± 0.487 ⁶⁾
1:1 (合煎)	0.0094± 0.0036 ^{2,6)}	3.29± 0.95 ^{1,4)}
1:1 (分煎)	0.0073± 0.0024 ^{3,6)}	3.19± 0.35 ^{2,5)}

注: 动物为每组9只, 均由ig给药, 剂量为11.85g/kg×7天与1:5组比较

¹⁾ P<0.05 ²⁾ P<0.01

³⁾ P<0.001

与生理盐水组比较 ⁴⁾ P<0.05

⁵⁾ P<0.01 ⁶⁾ P<0.001

3.2 药效实验

3.2.1 不同比例配伍的当归补血汤对小鼠

碳粒廓清速率的影响

ICR小鼠45只, 雌雄兼用, 随机分成5组, 连续灌胃给药1周。小鼠末次给药24h后, 每鼠尾静脉注射印度墨水(1:3)生理盐水稀释(10ml/kg), 于注射后的第2min及第15min分别眼眶取血20ul, 按文献^[1]法测定。采血后的小鼠立即处死, 称取体重、肝、脾重, 计算廓清指数(K)及吞噬指数(α), 结果见表2。不同比例配伍的当归补血汤均能显著提高小鼠的K值及 α 值, 尤以经典方当归-黄芪(1:5)作用最强。

3.2.2 不同比例配伍的当归补血汤对小鼠免疫器官的影响

ICR小鼠45只, 雌雄兼用, 随机分成5组, 连续给药7天。末次给药24h后, 迅速处死小鼠, 摘取胸腺、脾脏于扭力天平上准确称重。结果见表3。当归-黄芪按1:5, 5:1, 1:1(分煎)配伍的当归补血汤均能显著提高小鼠胸腺指数, 尤以当归-黄芪1:5配伍作用最明显。而当归-黄芪(1:1)合煎的当归补血汤对小鼠胸腺指数没有显著影响。

表3 不同比例配伍的当归补血汤对小鼠免疫器官的影响

当归-黄芪	动物数	给药途径	剂量 g/kg×d	脾指数 mg/10g	胸腺指数 mg/10g
生理盐水组	9	i. g		49.42±16.17	23.90±6.53
1:5 (经典方)	9	i. g	11.85×7	52.68±9.62	40.74±7.46 ³⁾
5:1	9	i. g	11.85×7	45.35±9.69	36.20±14.51 ¹⁾
1:1 (合煎)	9	i. g	11.85×7	43.70±10.08	27.59±1.66
1:1 (分煎)	9	i. g	11.85×7	46.72±8.95	34.81±6.51 ²⁾

* 与生理盐水组比较 ¹⁾ P<0.05 ²⁾ P<0.01 ³⁾ P<0.001

4 讨论

近年来, 对不同比例配伍的当归补血汤的补血机理研究较多, 尤其对小鼠血小板、红细胞、腹腔巨噬细胞、B, T淋巴细胞的影

响多见报道; 而配伍比例对阿魏酸煎出率的影响及其对细胞免疫功能的影响等未见报道。因此本实验以其中补血药当归的主要活性成分——阿魏酸的含量为测定指标。实验

结果发现：当归—黄芪按不同比例配伍时阿魏酸的煎出率不同，以经典的当归—黄芪（1：5）者煎出率为最高，当归—黄芪（1：1）合煎时煎出率最低。药效实验亦发现：当归—黄芪（1：5）配伍时对小鼠的廓清速率和吞噬指数的提高明显强于其它比例配伍者；除当归—黄芪（1：1）合煎的补血汤外，其

它比例配伍者均能明显提高小鼠的胸腺指数，尤以当归—黄芪（1：5）配伍时作用最强。所以，从阿魏酸的煎出率以及对小鼠细胞免疫功能的影响来看，当归补血汤以当归—黄芪（1：5）配伍似乎最为合理。

参 考 文 献

- 〔1〕戴岳. 中国药科大学学报 1987; 18 (4): 301