

· 药剂与炮制 ·

## 不同剂量配伍对黄芪-当归中 5 种化学成分的影响

唐蓉, 张依人, 陈叶童, 蒋龙波, 邓常清\*, 邹龙\*

(湖南中医药大学, 长沙 410208)

**[摘要]** **目的:**采用 UPLC-MS 研究黄芪-当归不同剂量配伍药液及小肠吸收液中 5 种化学成分(阿魏酸、毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷)的含量变化,为二者的临床配伍用药提供参考。**方法:**利用水提法制备黄芪-当归不同剂量配伍的药液,运用大鼠外翻肠囊法进行药物吸收试验制备药物的小肠吸收液,通过 UPLC-MS 测定药液和小肠吸收液中 5 种成分的含量,流动相 0.1% 甲酸水溶液-乙腈梯度洗脱,流速  $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,进样量  $1 \mu\text{L}$ ,毛细管电压 4 kV。**结果:**黄芪-当归以 10:1 和 5:1 配伍时,5 种成分的溶出量大多与理论值相近;当黄芪-当归以 1:1 和 1:5 配伍时,5 种成分的溶出大多高于理论值。黄芪-当归 10:1 和 5:1 配伍时,相应质量浓度小肠吸收液中毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和阿魏酸吸收率大多数高于单用黄芪和单用当归;黄芪-当归 1:1 和 1:5 配伍时,相应质量浓度小肠吸收液中 5 种成分的吸收率大多数高于单用黄芪和单用当归。**结论:**黄芪-当归以 1:1 和 1:5 配伍时可促进药物中大多数成分的溶出,且黄芪和当归不同剂量配伍时可不同程度地促进大多数成分的吸收。

**[关键词]** 黄芪-当归; 配伍; 阿魏酸; 芒柄花素; 黄芪甲苷

**[中图分类号]** R283.6;R945;R284.1;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)23-0001-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016230001

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160415.0941.002.html>

**[网络出版时间]** 2016-04-15 9:41

### Effect of Different Compatibility on Five Chemical Components in Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix

TANG Rong, ZHANG Yi-ren, CHEN Ye-tong, JIANG Long-bo, DENG Chang-qing\*, ZOU Long\*

(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study on the change of five chemical components (ferulic acid, calycosin-7-*O*- $\beta$ -D-glycoside, calycosin, formononetin and astragaloside IV) in solution and small intestine absorption liquid of Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix with different compatibility. **Method:** Decoction of Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix with different compatibility was prepared by water extraction method, the small intestinal absorption liquid was prepared by drug absorption experiment which was carried out with isolated everted intestinal method. The contents of five components in solution and small intestine absorption liquid were determined by UPLC-MS. **Result:** The dissolution of five components were mostly close to the theoretical values while Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix at 10:1 and 5:1, but most of them were larger than the theoretical values while Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix at 1:1 and 1:5 ratio. When Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix (10:1), most of the absorption rate of calycosin-7-*O*- $\beta$ -D-glycoside, calycosin,

**[收稿日期]** 20160127(015)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81473581)

**[第一作者]** 唐蓉,在读硕士,从事药剂学研究,E-mail:395939371@qq.com

**[通讯作者]** \*邓常清,博士,教授,从事中医药防治心脑血管疾病研究,E-mail:dchangq@sohu.com;

\*邹龙,博士,教授,从事中药制剂工艺与质量控制研究,Tel:13387488268,E-mail:1042231287@qq.com

astragaloside IV and ferulic acid in small intestinal absorption liquid with the same concentration were higher than that of the single use of Astragali Radix and Angelicae Sinensis Radix. When Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix 5:1, most of the absorption rate of five components in small intestinal absorption liquid with the same concentration were higher than that of the single use of Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix. **Conclusion:** The dissolution of five components can be improved when Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix at 1:1 and 1:5, different compatibility of Astragali Radix and Angelicae Sinensis Radix can promote the absorption of five components in varying degrees.

[Key words] Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix; compatibility; ferulic acid; formononetin; astragaloside IV

黄芪和当归为临床常用的气血双补药对,也是常用的益气活血药对,在临床上被广泛用于治疗心血管<sup>[1]</sup>、血液<sup>[2]</sup>、免疫<sup>[3]</sup>等系统的疾病。黄芪和当归配伍剂量不同的同名异方较多,其中应用最广者当推李东垣创立的黄芪-当归(5:1)的当归补血汤<sup>[4]</sup>。近年有研究表明黄芪-当归在 5:1~1:5 配伍均对促进造血功能的恢复具有协同作用<sup>[5]</sup>。但目前对于二者用于促进造血当以哪一比例配伍尚无定论,临床应用时配伍的比例也不太一致。

黄芪含皂苷类、黄酮类和多糖类成分<sup>[6]</sup>,当归含挥发油、有机酸及多糖类等成分。随着配伍剂量不同,二者所含化学成分组成及含量均会发生变化<sup>[7-9]</sup>,进而影响药效的发挥。为验证黄芪-当归配伍促进造血作用的合理配伍剂量,本实验采用水提法制备黄芪-当归不同剂量配伍的药液,通过外翻肠囊法制备药物的小肠吸收液,运用超高效液相色谱-质谱联用技术(UPLC-MS)分析药液和大鼠小肠吸收液中阿魏酸、毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷的含量变化,为黄芪-当归促进造血作用的合理配伍提供实验依据。

### 1 材料

UPLC/Xevo-G2-S QToF 型超高效液相色谱-质谱联用仪(美国 Waters 公司,Masslynx V4.1 色谱工作站),AR124C 型电子分析天平(奥豪斯仪器有限公司),80-1 型离心沉淀机(江苏金坛市中大仪器厂),TGL20 型高速冷冻离心机(长沙英泰仪器有限公司)。

黄芪、当归均购自湖南中医药大学第一附属医院,经湖南中医药大学中药鉴定教研室刘塔斯教授鉴定,均符合《中国药典》2015 年版相关项下要求。阿魏酸、毛蕊异黄酮苷、芒柄花素和黄芪甲苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110773-201313, 111920-201304, 111703-200603, 110781-201314,纯度均≥98%),毛蕊异黄酮对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号 YY90514,纯度≥

98%),水为超纯水,乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

清洁级 SD 大鼠,体重 180~220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(湘)2011-0003。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×50 mm,1.7 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~1 min,95%~90% A;1~4 min,90%~80% A;4~7 min,80%~65% A;7~10 min,65%~50% A;10~11 min,50%~5% A;11~12 min,5% A;12~13 min,5%~95% A;13~15 min,95% A),柱温 35℃,流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 1 μL。

**2.2 质谱条件** 电喷雾离子源(ESI),正离子模式检测,毛细管电压 4 kV,离子源温度 100℃,脱溶剂温度 350℃,锥孔气(N<sub>2</sub>)流量 50 L·h<sup>-1</sup>,脱溶剂气(N<sub>2</sub>)流量 800 L·h<sup>-1</sup>,采集方式 TOF-MS/MS。5 种待测成分质谱参数见表 1。

表 1 黄芪-当归药对中 5 种成分检测的质谱参数

Table 1 MS parameters of five components in compatibility of Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix

成分	分子式	保留	相对分	增强子	锥孔	碰撞
		时间	子质量	离子	电压	能量
		/min	/Da	m/z	/V	/V
阿魏酸	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	3.59	194.18	145.03	20	14
毛蕊异黄酮苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	4.04	446.40	285.09	30	20
毛蕊异黄酮	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	6.31	284.26	270.06	30	25
芒柄花素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	7.09	268.27	254.06	30	25
黄芪甲苷	C <sub>41</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	8.74	784.97	143.11	30	25

**2.3 对照品溶液的制备** 分别精密称取适量阿魏酸、毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷对照品,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容

至刻度,得质量浓度分别为 896,832,820,696,840  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品溶液。

**2.4 黄芪-当归不同剂量配伍水提液的制备** 黄芪-当归分别以 10:1,5:1,1:1,1:5 配伍,另设单用黄芪和单用当归对照组。分别称取适量药材,加水回流提取 2 次,第 1 次加 8 倍量水,加热保持微沸提取 2 h,冷却后过滤倾出水提液;第 2 次加 6 倍量水,加热保持微沸提取 1 h,冷却后过滤倾出水提液。合并 2 次提取液,真空减压浓缩至生药质量浓度  $500\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.5 供试品溶液的制备** 精密量取各不同剂量配伍药液 0.5 mL,置 10 mL 离心管中,加入甲醇 8 mL,涡旋混合,4 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min,取上清液加 30% 甲醇水溶液定容至 50 mL,摇匀,经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,即得。

**2.6 供外翻肠囊试验药液的制备** 取各配伍药液适量,加 K 氏液(取 NaCl 7.8 g,KCl 0.35 g, $\text{NaHCO}_3$  1.37 g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.32 g, $\text{MgCl}_2$  0.02 g 于 1 L 烧杯中,加水 500 mL 使溶解;取  $\text{CaCl}_2$  0.37 g 于另一烧杯中,加水 500 mL 使溶解,两者混匀后加入葡萄糖 1.4 g,即得)稀释至生药质量浓度分别为 100,200,400  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.7 外翻肠囊试验** 将 SD 雄性大鼠实验前禁食 12 h,自由饮水,按  $0.004\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉,小心将大鼠肠管连同肠系膜剥离,分别取小肠 10 cm,立即放入 K 氏液中,冲洗至流出液不再浑浊、基本无肠内容物为止,小心剥离肠断端表面的肠系膜和脂肪。将肠管一端结扎于自制塑料套管,小心将肠管翻转,用 K 氏液冲洗后将另一端结扎,使之形成囊状。向肠囊内注入 K 氏液 2 mL,将其放入已有 K 氏液 20 mL 的麦式浴槽中,实验过程中保持 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温,并向浴槽中通入氧气-二氧化碳(95:5)的混合气体。平衡 5 min 后,将麦氏浴槽中的 K 氏液倒出,向其注入配制好的药液 20 mL,孵育 1 h 后将肠囊取出,用 K 氏液充分清洗

以除去结合于肠囊表面的药物,用滤纸擦净表面液体,剪开一端,倒出肠囊内容物,置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱冷冻保存。

**2.8 肠吸收液供试品溶液的制备** 精密量取肠吸收液 100  $\mu\text{L}$ ,加入甲醇 900  $\mu\text{L}$ ,涡旋混合,12 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min,取上清液经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,即得。

**2.9 方法学考察** 精密量取对照品溶液稀释成系列质量浓度的对照品溶液。按 2.1 和 2.2 项下条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得阿魏酸、毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷的回归方程分别为  $Y = 17.21X + 3.50 \times 10^3$  ( $R^2 = 0.9996$ ),  $Y = 221.38X - 283.48$  ( $R^2 = 0.9996$ ),  $Y = 5444.45X + 1.48 \times 10^4$  ( $R^2 = 0.9996$ ),  $Y = 2694.5X + 2.58 \times 10^4$  ( $R^2 = 0.9996$ ),  $Y = 5.32X - 30.96$  ( $R^2 = 0.9996$ ), 线性范围分别为 89.6 ~ 8 960, 83.2 ~ 3 328, 41 ~ 3 280, 6.96 ~ 696, 16.8 ~ 336  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。仪器日内精密度 RSD 0.8% ~ 4.0%。样品 12 h 内稳定性 RSD 2.9% ~ 4.2%。各成分的加样回收率 92.88% ~ 105.95%, RSD 2.9% ~ 4.6%。

**2.10 配伍药液中 5 种成分含量的变化** 精密量取各配伍组药液 0.5 mL,按 2.5 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 和 2.2 项下色谱条件测定,各组待测样品制备 2 份,得不同配伍药液中 5 种成分的实际含量。按单用某药材时药液中该成分的实际含量  $\times$  配伍中该药材所占比例计算各不同配伍药液中 5 种成分的理论含量;见表 2。结果显示在黄芪-当归按 10:1 和 5:1 配伍时,5 个成分的含量大多与理论值相近。而黄芪-当归 1:1 配伍时,黄芪甲苷含量实测值与理论值较为接近,其他 4 个成分含量的实测值均高于理论值。黄芪-当归 1:5 配伍时,芒柄花素含量实测值低于理论值,其他 4 个成分含量的实测值均高于理论值。表明当黄芪-当归按 1:1 和 1:5 配伍时,可促进药物中部分成分的溶出。

表 2 黄芪-当归不同剂量配伍药液中 5 种成分的含量变化

黄芪-当归	阿魏酸	毛蕊异黄酮苷	毛蕊异黄酮	芒柄花素	黄芪甲苷
1:0	0	231.48	175.81	26.00	16.69
10:1	7.72(14.94)	206.51(210.44)	120.78(159.83)	28.34(23.64)	15.78(15.17)
5:1	19.13(27.40)	168.34(192.90)	153.71(146.51)	23.12(21.67)	12.98(13.91)
1:1	133.94(82.19)	219.43(115.74)	133.91(87.91)	22.17(13.00)	6.23(8.34)
1:5	160.94(136.98)	45.24(38.58)	33.68(29.30)	2.62(4.33)	4.81(2.78)
0:1	164.37	0	0	0	0

注:括号内的数值表示理论值。

**2.11 小肠吸收液中 5 种成分含量的变化** 精密量取各小肠吸收液 100  $\mu\text{L}$ ,按 2.8 项下方法制备供试品溶液( $n=3$ ),按 2.1 和 2.2 项下色谱条件测定。按某成分肠吸收率 = 小肠吸收液中该成分含量/药液中该成分含量  $\times 100\%$  计算,见表 3。结果发现各配伍组随着药液质量浓度的增加,各成分的小肠吸收量基本呈逐渐增加趋势,但吸收率多呈逐渐降低

的趋势。黄芪-当归按 10:1 和 5:1 配伍时,相应质量浓度小肠吸收液中 5 种成分的吸收率大多数接近于或高于单用黄芪和单用当归。黄芪-当归按 1:1 和 1:5 配伍时,相应质量浓度小肠吸收液中阿魏酸的吸收率低于单用当归,其他 4 种成分的吸收率大多数高于单用黄芪。表明黄芪-当归不同剂量配伍时可不同程度地促进药物中大多数成分的吸收。

表 3 黄芪-当归不同剂量配伍时 5 种成分的小肠吸收量及吸收率

Table 3 Small intestine absorption amount and rate of five components in different compatibility of Astragali Radix-Angelicae Sinensis Radix  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}(\%)$

黄芪-当归	质量浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	阿魏酸	毛蕊异黄酮苷	毛蕊异黄酮	芒柄花素	黄芪甲苷
1:0	100	0(0)	13.81(2.98)	24.21(6.89)	2.41(4.63)	2.09(2.26)
	200	0(0)	17.71(1.91)	30.00(4.26)	3.49(3.36)	1.55(2.32)
	400	0(0)	20.05(1.08)	32.80(2.33)	3.13(1.45)	1.89(1.42)
10:1	100	2.29(14.83)	14.45(3.50)	19.70(8.18)	2.17(3.83)	1.13(3.58)
	200	6.27(20.30)	15.23(1.84)	26.01(5.38)	2.80(2.47)	1.95(3.09)
	400	7.54(12.20)	18.73(1.13)	22.80(2.36)	3.12(1.38)	1.41(1.12)
5:1	100	15.76(41.19)	23.17(6.88)	29.94(9.74)	4.07(8.80)	1.31(5.05)
	200	14.79(19.32)	17.28(2.57)	31.25(5.08)	3.44(3.72)	1.80(3.47)
	400	32.33(21.12)	20.99(1.56)	37.41(3.04)	3.77(2.04)	1.54(1.48)
1:1	100	28.22(10.53)	14.71(3.35)	20.19(7.54)	1.83(4.13)	1.07(8.59)
	200	36.16(6.75)	16.21(1.85)	21.32(3.98)	2.39(2.70)	0.59(2.37)
	400	73.00(6.81)	21.74(1.24)	30.00(2.80)	2.95(1.66)	0.87(1.75)
1:5	100	17.95(5.58)	6.03(6.66)	5.41(8.03)	0.41(7.82)	0.25(2.60)
	200	48.83(7.58)	8.82(4.87)	12.21(9.06)	1.04(9.92)	0.24(1.25)
	400	68.50(5.32)	13.67(3.78)	9.61(3.57)	0.91(4.34)	0.26(0.67)
0:1	100	53.76(16.35)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	200	70.97(10.79)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	400	113.24(8.61)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

注:括号内数值为吸收率。

### 3 讨论

黄芪和当归为临床常用药对,二者的配伍比例不同,其化学成分与药理作用均会发生改变<sup>[10-11]</sup>。研究表明当归中阿魏酸可提高黄芪中活性成分的溶出,从而增强当归补血汤的功效<sup>[12]</sup>。本文对黄芪-当归不同剂量配伍药液中 5 种成分的含量进行测定,结果表明当黄芪-当归按 1:1 和 1:5 配伍时,可促进药物中阿魏酸、毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷的溶出。

目前研究药物吸收的方法主要有体外法、在体法和 Caco-2 细胞模型法等。已有研究表明阿魏酸可促进黄芪甲苷在大鼠十二指肠的吸收<sup>[13]</sup>,还可促

进黄芪中活性成分——毛蕊异黄酮和芒柄花素在体外 Caco-2 细胞的通透性,促进药物吸收<sup>[14]</sup>。本文采用外翻肠囊法研究黄芪-当归不同剂量配伍药液的小肠吸收情况,结果表明黄芪-当归不同剂量配伍时可不同程度地促进药物中大多数成分的吸收。

中药配伍后通过影响有效成分的溶出,可使药物吸收、代谢和作用靶点发挥协同增效的作用。中医药常用黄芪和当归配伍治疗造血功能低下,但在临床上两者用于促进造血治疗的配伍比例尚无定论。以往研究表明黄芪-当归在 5:1 ~ 1:5 配伍均对促进造血功能的恢复具有协同作用。而笔者前期研

究表明在小鼠骨髓造血功能抑制模型中,黄芪-当归以1:1,1:2.5,1:5配伍时,其促造血作用强于黄芪-当归5:1配伍。本文结果与前期药效学实验相符,这也从药物化学的角度证明了黄芪-当归促造血作用的有效配伍为1:1和1:5,可为黄芪-当归促造血作用的合理配伍提供实验依据。

[参考文献]

[1] Li Y D, Ma Y H, Zhao J X, et al. Protection of ultra-filtration extract from Danggui Buxue Decoction on oxidative damage in cardiomyocytes of neonatal rats and its mechanism[J]. Chin J Integr Med, 2011, 17(11): 854-859.

[2] 黄丽萍, 吴素芳, 周俊, 等. 当归补血汤对三种血虚模型小鼠作用的比较[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(5): 5-7.

[3] Liu Y, Zhang H G, Li X H. A Chinese herbal decoction, Danggui Buxue Tang, improves chronic fatigue syndrome induced by food restriction and forced swimming in rat [J]. Phytother Res, 2011, 25(12): 1825-1832.

[4] 范颖, 陈信义. 当归补血汤源流及配伍效用关系研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(10): 61-65.

[5] 史旭芹, 尚尔鑫, 唐于平, 等. 基于响应曲面分析法对黄芪-当归配伍养血补血功效相互作用研究[J]. 药学学报, 2012, 47(10): 1375-1383.

[6] 温燕梅. 黄芪的化学成分研究进展[J]. 中成药, 2006, 28(6): 879-883.

[7] 孙大威, 谢华. 黄芪和当归不同配伍提取物化学成分的研究[J]. 黑龙江医药, 2010, 23(6): 889-891.

[8] 赵奎君, 钟萌, 杨恩来, 等. 当归和黄芪的比例变化对当归补血汤活性成分含量的影响[J]. 中国药师, 2006, 9(11): 1032-1034.

[9] 王文萍, 王华伟, 曹琦琛, 等. 当归补血汤不同配伍比例时阿魏酸含量的比较研究[J]. 实用药物与临床, 2008, 11(6): 381-382.

[10] 魏春华. 当归补血汤中当归与黄芪不同比例搭配对其化学成分的影响[J]. 四川中医, 2015, 33(6): 51-53.

[11] 周春刚, 陆曙, 王书乐, 等. 黄芪与当归不同配比水提液对 ANG II 诱导大鼠动脉内皮细胞凋亡的实验观察[J]. 中成药, 2013, 35(10): 2253-2256.

[12] Zheng K Y, Zhang Z X, Du C Y, et al. Ferulic acid enhances the chemical and biological properties of Astragali Radix; a stimulator for danggui buxue tang, an ancient Chinese herbal decoction[J]. Planta Med, 2014, 80(2/3): 159-164.

[13] 易军, 郑子鹏, 汪胜. 阿魏酸促进黄芪甲苷在大鼠十二指肠吸收作用的研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(3): 892-894.

[14] Zheng K Y, Choi R C, Guo A J, et al. The membrane permeability of Astragali Radix-derived formononetin and calycosin is increased by Angelicae Sinensis Radix in Caco-2 cells: a synergistic action of an ancient herbal decoction Danggui Buxue Tang [J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 70: 671-679.

[责任编辑 刘德文]