

经典名方当归补血汤的药效物质基础和质量控制研究进展

靳如娜¹, 齐晓甜², 孙蓉^{2,3}, 代云桃^{1*}, 马钊杰¹, 仝家羽¹, 吴红华⁴

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;

2. 山东大学 药学院, 高等医学研究院, 济南 250102; 3. 山东大学 第二医院, 济南 250033;

4. 天津中医药大学 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193)

〔摘要〕 当归补血汤 (DBT) 是益气活血的古代经典名方, 由当归与黄芪配伍组成, 具有补精益气、调节免疫之功效, 在临床治疗中具有较高的应用价值, 其疗效确切、配伍简单, 已成为中药复方研究领域的一个热点研究对象。该文从药理作用、药效物质基础、药代动力学、质量控制、配伍和煎煮工艺方面对 DBT 的研究现状进行总结与分析, 以期对经典名方 DBT 的开发及质量标准制定提供参考。

〔关键词〕 当归补血汤; 药理作用; 化学成分; 药效物质基础; 质量控制; 经典名方; 煎煮工艺

〔中图分类号〕 R22; R24; R28; R96; G353. 11 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903 (2019) 16-0220-09

〔doi〕 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20190648

〔网络出版地址〕 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181130.1353.002.html>

〔网络出版时间〕 2018-12-03 09:45

Research Progress on Pharmacodynamic Material Basis and
Quality Control of Danggui Buxue Tang

JIN Ru-na¹, QI Xiao-tian², SUN Rong^{2,3}, DAI Yun-tao^{1*}, MA Zhao-jie¹,
TONG Jia-yu¹, WU Hong-hua⁴

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Institute of Advanced Medical Sciences, School of Pharmaceutical Sciences, Shandong

University, Ji'nan 250102, China; 3. The Second Hospital of Shandong University, Ji'nan 250033, China;

4. Tianjin Key Laboratory of Modern Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional
Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

〔Abstract〕 Danggui Buxue Tang (DBT) is a famous classical formula of traditional Chinese medicine (TCM) for invigorating Qi and activating blood circulation. It is composed of Angelicae Sinensis Radix and Astragali Radix. It has the effect of enriching blood, invigorating Qi and regulating immunity, and has a high application value in clinical treatment. Because of its definite curative effect and simple compatibility, it has become a hot spot in the research field of TCM. This paper summarized and analyzed the research status of DBT from the pharmacological action, pharmacodynamic material basis, pharmacokinetics, quality control, compatibility and decoction process, so as to provide reference for the development of DBT and formulating its quality standard.

〔Key words〕 Danggui Buxue Tang; pharmacological action; chemical constituents; pharmacodynamic material basis; quality control; famous classical formulas; decoction process

〔收稿日期〕 20180918 (005)

〔基金项目〕 国家自然科学基金面上项目 (81473340); “泰山学者”建设工程专项 (Ns201511107); 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09502-015); 山东省自主创新成果转化课题 (2014ZZCX02104)

〔第一作者〕 靳如娜, 在读硕士, 从事中药学研究, E-mail: jrn11330@163.com

〔通信作者〕 * 代云桃, 博士, 副研究员, 从事中药药效物质基础及质量标准研究, E-mail: ytdai@icmm.ac.cn

当归补血汤(DBT)始载于《内外伤辨惑论》,由金元时代李东垣所创,距今约有 800 年的历史。其以当归、黄芪按 1:5 比例组成。DBT 是益气生血的经典名方^[1-4],临床应用十分广泛,中医临床显示该方对气弱血虚之证以及妇女行经、产后血虚证有确切的疗效;现代临床已将其扩展应用于治疗贫血、更年期综合征、心脑血管系统疾病、癌症患者的辅助治疗和免疫功能紊乱所致的疾病等^[5-11]。由于其疗效确切、配伍简单,对成分庞杂、多靶点作用、药材成分之间作用复杂的中药复方来说是一个相对简单的研究对象,从而成为了复方研究的热点。

本文从药理功效角度进行综述,以明确其核心药理作用;从对应的药效物质基础和体内代谢角度分析,以明确其潜在的与功效相关的成分;从制备工艺角度进行分析,以明确其主要工艺参数;最后对质量评价方法进行了总结,为 DBT 质量分析方法的完善和提升提供方向。这些内容将为经典名方 DBT 的研究与开发提供基础,同时为体现 DBT 临床功效的质量标准制定提供参考。

1 药理作用

DBT 的临床功效与其对免疫系统、心血管系统等等的调节作用密切相关。

1.1 免疫调节作用 免疫系统分为非特异性免疫和特异性免疫,由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成。免疫相关的信号通路包括核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,Janus 激酶-信号转导子及转录激活子(JAK-STAT)信号通路,Toll 样受体(TLRs)信号通路,T 细胞活化通路,B 细胞活化通路等^[12]。

陈鹤汀等^[13]研究发现 DBT 可提高环磷酰胺化疗荷瘤小鼠脾脏和胸腺指数、腹腔巨噬细胞吞噬功能和自然杀伤细胞(natural killer cell,NK)活性,同时还对刀豆素 A 诱导的 T 淋巴细胞增殖有促进作用。YANG 等^[14]研究结果表明,DBT 不仅可以抵抗免疫介导的血细胞减少,而且还可以刺激骨髓集落细胞的生长,增加骨髓造血祖细胞的质量,DBT 对免疫介导的再生障碍性贫血模型小鼠有明显的治疗作用。袁国红^[15]在研究 DBT 的免疫调节作用时,发现 DBT 组与正常组比较,脾细胞白细胞介素(IL)-2 和 γ -干扰素(INF- γ) mRNA 的表达,IL-2 活性,小鼠腹腔巨噬细胞一氧化氮(NO)的含量均有显著性差异,提示其发挥免疫增强作用可能与其能提高 IL-2、INF- γ 和 NO 等细胞因子的分泌有关。GONG 等^[16]发现在培养的巨噬细胞(RAW 264.7 细胞)中,应用富含多糖的 DBT 提取物可显著提高

IL-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子 mRNA 和蛋白表达水平。GAO 等^[17]的实验结果显示,DBT 可通过诱导 IL-2、IL-6 和 IL-10 的释放来促进 T 淋巴细胞的增殖,从而增强免疫。刘雅等^[18]研究发现 DBT 可使气虚血瘀大鼠 T 淋巴细胞亚群比率由低下逐渐恢复至正常水平,T 淋巴细胞转化增殖的能力显著提高,降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α) mRNA,IL-1 β mRNA 的表达,抑制 NF- κ B,p38,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)多条免疫应答信号转导通路。

综上所述,DBT 能全面调节机体免疫功能,可提高小鼠脾脏指数和胸腺指数,增强小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能,促进 T 淋巴细胞增殖,提高 NK 细胞活性,也能提高 IL-2、IL-6、IL-10、INF- γ 、NO 等细胞因子的分泌,抑制多条免疫应答信号转导通路。

1.2 造血功能 DBT 最重要的药效就是补血作用^[19]。本文总结了一些学者对 DBT 造血功能的研究情况,见表 1。结果发现 DBT 的造血功能主要表现在能增加小鼠的红细胞数和白细胞数、平衡造血微环境中红细胞生成素(EPO)的表达等。

1.3 保护心脑血管作用 黄芪-当归药对具有益气活血作用,滕佳林^[28]提出其实质之一,是对血液流变学以及白细胞黏附分子的表达产生影响。DBT 可能通过激活 3-磷酸肌醇激酶来引起下游蛋白 Akt(蛋白激酶 B)的进一步表达,将信号传至细胞核内,引起血管内皮生长因子(VEGF) mRNA 的表达,从而产生促血管生成效应^[29]。其还能够通过明显降低血瘀模型大鼠血浆内皮素(ET)及纤溶酶原激活物抑制剂(PAI)的水平,改善组织型纤溶酶原激活剂(tPA)的水平,对血管内皮功能起到显著的保护作用^[30]。张志斌等^[31]通过血管紧张素 II(Ang II)诱导的大鼠动脉内皮细胞凋亡模型验证了 DBT 具有抗动脉血管内皮细胞凋亡的作用,其机制可能是通过下调半胱氨酸蛋白酶-8(Caspase-8)和 B 淋巴细胞瘤因子-2(Bcl-2)相关 x 蛋白(Bax)基因表达,分别从死亡受体通路和线粒体通路抑制大鼠内皮动脉细胞凋亡。徐厚谦等^[32]研究得出 DBT 含药血清对 Ang II 诱导心肌细胞肥大起保护作用,其机制之一可能是通过调控心肌细胞磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/(丝氨酸/苏氨酸激酶)(Akt)信号通路实现的。

2 药效物质基础与药代动力学研究

2.1 化学成分研究 DBT 的大量研究表明,其主要成分为皂苷类、黄酮类、挥发油、有机酸、多糖类

表 1 当归补血汤的造血功能研究概况

Table 1 Research status of hematopoietic function of Danggui Buxue Tang

药理模型	评价指标	结果
盐酸苯胍介导小鼠氧化性溶血模型	红细胞计数(RBC),血红蛋白(Hb),红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性,丙二醛(MDA)含量	DBT可增加小鼠RBC数、提高Hb含量、降低MDA水平、增强SOD活性 ^[20]
乙酰苯胍和环磷酰胺联合造成血虚小鼠模型	外周血象,骨髓有核细胞数,骨髓超微结构,小鼠游泳时间,体温,血浆环磷酸腺苷(cAMP)与环磷酸鸟苷(cGMP)的比值	DBT能增加RBC,白细胞数和骨髓有核细胞数,改善网织红细胞在外周血中的比例及骨髓超微结构,延长小鼠游泳时间、升高体温,提高血浆cAMP/cGMP比值 ^[21]
环磷酰胺复制化学性血虚小鼠模型	骨髓造血祖细胞,骨髓有核细胞DNA合成	DBT能促进骨髓造血祖细胞的增殖与分化,促进骨髓有核细胞DNA的增殖 ^[22]
5 Gy ⁶⁰ Co- γ 射线造成急性辐射损伤小鼠模型	白细胞计数(WBC),RBC,血小板计数(PLT)	DBT对辐照损伤的WBC具有修复作用,对PLT具有保护作用 ^[23]
多柔比星造成骨髓抑制模型小鼠	骨髓基质细胞生长状态,骨髓细胞增殖和黏附情况	DBT组骨髓基质细胞生长状态好于正常组和模型组,骨髓细胞之间的聚集明显 ^[24]
环磷酰胺致造血功能受损小鼠模型	克隆刺激因子(CSFs)活性测定	DBT能促进脾条件培养液中CSFs的分泌 ^[25]
骨髓抑制小鼠模型	造血祖细胞集落数,外周血象变化,造血微环境中EPO,血小板生成素(TPO),粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)变化	DBT煎剂、颗粒剂能平衡EPO,TPO,GM-CSF的表达;促进骨髓造血细胞和造血祖细胞增殖,提高外周血象和骨髓象 ^[26]
骨髓移植小鼠模型	外周血细胞、骨髓单个核细胞,骨髓切片	DBT组WBC,PLT和骨髓有核细胞计数、骨髓组织学切片等指标明显好于对照组 ^[27]

等,其中皂苷类成分主要有黄芪皂苷(astragaloside, AG I, AG II, AG IV, AG V, AG VI, AG VII, 异黄芪皂苷 II (IsoAG II), 乙酰黄芪皂苷 I (acetylastragaloside I) 等;黄酮类成分主要包括芒柄花素(formononetin), 芒柄花苷(ononin), 毛蕊异黄酮(calycosin), 毛蕊异黄酮苷(calycosin-7-*O*- β -D-glucoside) 等;挥发油类成分主要包括 *Z*-藁本内酯(*Z*-ligustilide), *E*-ligustilide, 亚丁基苯酐(3-butylidenephthalide), 正丁基苯酐(*n*-butylphathlide), α -蒎烯(α -pinene) 等;有机酸类成分主要有阿魏酸(ferulic acid), 绿原酸(chlorogenic acid), 异绿原酸(isochlorogenic acid), 香草酸(vanillic acid), 壬二酸(azelaic acid) 等^[33-38]。

2.2 药效物质基础研究 目前,已有很多学者对 DBT 的药效物质基础进行了研究,包括对 DBT 的补血益气作用或者免疫调节作用的物质基础研究,见表 2。

根据王庆敏等^[46]的研究,DBT 石油醚部位主要为极性小的脂溶性物质,以 *E*-藁本内酯为代表;三氯甲烷部位主要是黄酮和异黄酮类,以毛蕊异黄酮和芒柄花素为代表;乙酸乙酯部位主要是阿魏酸和芒柄花素,正丁醇部位则主要是极性较强的物质。由表 2 可知,DBT 发挥补血功效的主要活性成分是多糖组分,非多糖组分中以阿魏酸作用最强,黄芪异

黄酮、黄芪皂苷等成分也发挥了一定作用。有效组分配伍(阿魏酸、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪多糖和当归多糖)也观察到和全方相同的补血功效。发挥补气功效的主要部位为正丁醇和水层部位,其中主要成分为黄芪皂苷类和多糖类。上述研究表明多糖、阿魏酸、黄芪皂苷、黄芪异黄酮均为 DBT 的药效物质成分,这为该复方质量控制标志物的选择提供了科学依据。但上述研究均未发现当归挥发油与 DBT 功效之间的关系。

2.3 药代动力学研究 SHI 等^[47]研究了 DBT 中 5 种主要活性成分(阿魏酸、咖啡酸、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、黄芪甲苷)在血虚及正常大鼠体内 4 h 的代谢情况,结果表明阿魏酸在正常大鼠和血虚大鼠肝脏中的含量均为最高,于 30 min 达峰值。咖啡酸、毛蕊异黄酮苷、黄芪甲苷的含量均在肝脏中为最高,分别于 60,30,30 min 达峰值。此外,芒柄花苷含量在正常组大鼠肝脏中于 30 min 达峰值,在模型组大鼠肝脏中则于 60 min 达峰值,而黄芪甲苷在模型组中的含量明显高于正常组。另外,SHI 等^[48]又对 DBT 中 7 种活性成分(阿魏酸、咖啡酸、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、黄芪甲苷、藁本内酯、丁基苯酐)在血浆中的代谢情况进行了研究。陈国广等^[49]研究发现 DBT 所含阿魏酸在血液中的达峰时间(8.5 $\pm$ 0.5) min,最大血药浓度(188.2 $\pm$ 21.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 当归补血汤的物质基础研究情况

Table 2 Research status of material basis of Danggui Buxue Tang

药理模型	试验样品	结论
饥饿性气虚小鼠模型	石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取液及水层溶液	正丁醇与水层部分组合功能最强 ^[39]
急性失血性血虚小鼠模型	石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取液及水层溶液	正丁醇与乙酸乙酯部分组合与全方比较无显著性差异 ^[40-41]
血虚小鼠模型	多糖组分、非多糖组分、黄芪多糖、黄芪甲苷、黄芪异黄酮、黄芪异黄酮、黄芪皂苷、当归多糖、阿魏酸	多糖组分作用较强,以当归多糖作用更显著。非多糖组分以阿魏酸作用最强,黄芪异黄酮、黄芪皂苷等也能发挥作用 ^[42]
血虚小鼠模型	全方与其有效组分配伍(阿魏酸、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪多糖和当归多糖)	两者对血虚症疗效相似,均能提高小鼠外周血 RBC, WBC,血红蛋白(HGB),红细胞压积(HCT)数量,降低 PLT 数量 ^[43]
化疗贫血小鼠模型	石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取液及水层溶液	三氯甲烷组优于其他给药组 ^[44]
正常及血虚小鼠模型	黄芪挥发油、黄酮、皂苷及多糖,当归多糖、挥发油和黄酮	7 个组分均有不同程度的免疫调节作用,尤其是黄芪皂苷具有较强的免疫调节作用,黄芪与当归的多糖组分表现为明显的浓度依赖性作用方式 ^[45]

王文萍等^[50]研究显示,与单用当归比较,给予 DBT 后新西兰大耳白兔血浆中阿魏酸的药动学参数几乎没有改变;与单用黄芪比较,大鼠口服 DBT 后血浆中黄芪甲苷的达峰时间($T_{\max}$)由 (4.00 ± 1.54) h 缩短到 (2.00 ± 0.95) h,药峰浓度($C_{\max}$)由 (60 ± 7) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 提升到 (146 ± 27) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,说明当归对黄芪甲苷的药代动力学行为有一定的影响。总之,DBT 中常规用于质量控制的成分(阿魏酸、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、黄芪甲苷、藁本内酯等)均为入血成分,

这些成分在体内吸收快,在肝脏中含量最高,且当归对黄芪的药代动力学行为有一定影响。DBT 中这些成分的药代特征将为该复方质量控制研究时的指标成分选择提供参考依据。

3 质量控制研究

已有研究对 DBT 中不同成分进行了含量测定,包括初级成分(多糖),次级成分(阿魏酸、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷),微量元素等,含量测定方法总结见表 3。

表 3 当归补血汤中化学成分的含量测定

Table 3 Determination of ingredients in Danggui Buxue Tang

化学成分	测定方法	平均质量分数/%
阿魏酸 ^[51]	HPLC-PDA,C ₁₈ 色谱柱,流动相甲醇-0.5% 乙酸水溶液	0.059
黄芪甲苷 ^[52]	HPLC-ELSD,C ₁₈ 色谱柱,流动相乙腈-水(32:68)	0.144 78
毛蕊异黄酮苷 ^[53]	HPLC-DAD/ELSD,C ₁₈ 色谱柱,流动相 0.2% 甲酸溶液-0.2% 甲酸乙腈溶液	0.017 2
11 个挥发油类成分 ^[54]	GC-MS	—
葡萄糖、果糖、核糖、蔗糖 ^[55]	离子色谱-脉冲安培检测法,Carbopac PA10 色谱柱(2 mm × 250 mm),流动相 0.055 mol·L ⁻¹ NaOH 淋洗液	—
多糖 ^[56]	苯酚-硫酸比色法 + UV	3.789
Se ^[55]	氢化物发生-原子荧光法	—
As,Cr,Cd,Pb ^[55]	电感耦合等离子体原子发射光谱	—
Zn,Fe,Mn,Co,Cu ^[57]	原子吸收光谱法	—

另外,有学者对 DBT 的指纹图谱进行了研究。王庆敏^[58]对 DBT 石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇部位的化学成分进行分析,并建立了相应部位的指纹图谱,找到了这些部位的特征峰在该复方全

方及在单味药中的归属。黄水清等^[54]采用 GC-MS 建立了 DBT 中挥发油的指纹图谱,主要有 11 个共有峰,其主要成分为 *Z*-藁本内酯,*E*-藁本内酯,亚丁基苯酞和正丁基苯酞等,其中 *Z*-藁本内酯的峰面积

占总峰面积的 67.37%。WANG 等^[59] 综合对比分析了 DBT 提取物指纹图谱与其给药后血液代谢指纹图谱,结果表明 DBT 中有 46 种成分被吸收入血,其中 21 种成分可能是 DBT 中某些成分的代谢物。通过对比分析提取物指纹图谱与代谢指纹图谱,可快速同时分析和筛选出中药复方中多种生物活性成分及其代谢产物,这不仅对中药开发研究和原料药质量控制具有重要意义,而且对中药治疗机制的解释也具有重要参考价值。

YI 等^[33] 采用 HPLC-DAD-ELSD 及 LC-ESI-MS 建立了同时测定 6 种 DBT 制剂中 18 个成分含量的方法,包括 7 种黄酮类[毛蕊异黄酮,毛蕊异黄酮葡萄糖苷,芒柄花素,芒柄花苷,芦丁,(6aR,11aR)-9,10-dimethoxypterocarpan-3-O- β -D-glucoside, (3R)-2'-hydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-O- β -D-glucoside],7 种皂苷类[黄芪甲苷,黄芪皂苷 I,黄芪皂苷 II,黄芪皂苷乙(astramembrannin II),异黄芪皂苷 I,异黄芪皂苷 II,acetylastragaloside I],1 种有机酸类(阿魏酸)和 3 种挥发性化合物[香芹酚,Z-藁本内酯和 Z-亚丁基苯酞(Z-butylidenephthalide)]。之后该课题组又采用 UPLC-TOF/MS 建立了同时测定 DBT 中 15 种活性成分的方法^[35],与之前采用的 HPLC-DAD-ELSD^[33] 比较,该方法具有色谱分离速度快、灵敏度高等特点。

马家骅等^[60-63] 进行了一系列实验,探讨了 DBT 的理化表征参数与组分含量和益气补血药效三者的相关性,研究了 DBT 代表性药效组分(阿魏酸、黄芪甲苷、黄芪多糖、黄芪皂苷等),结果发现表面张力主要受黄芪甲苷类成分的影响,pH 和电导率则主要受阿魏酸类成分的影响,渗透压可能主要受多糖类成分的影响,且表面张力、电导率和渗透压这 3 个参数能反映 DBT 的药效强弱。说明这 3 个参数能够反映 DBT 体系内在质量,通过该复方提取液的理化表征来进行质量控制具有一定的可行性。

4 配伍与煎煮工艺

目前普遍认同 DBT 中黄芪与当归的配伍比例为 5:1,黄芪功效为补气,当归则为养血,因有形之血不能速生,无形之气应当急固,有形之血生于无形之气,补气生血,故黄芪用量倍于当归,为君药,而当归则为臣药。此配伍比例记载于《兰室秘藏》《脾胃论》《内外伤辨惑论》等古籍,然而在其他古籍中也有配伍比例不同于此的记载,例如黄芪与当归的配伍比例在《医学心悟》中记载为 8:1,在《产科心法》与《医部全录》中选择 10:3,《东医宝鉴》则为 5:2,

且均以治疗血虚发热证为主^[64]。为探究 DBT 中黄芪与当归的配伍比例,学者们做了大量工作^[65-73],结果发现黄芪-当归(5:1)时活性最强,各种活性成分含量最高,且含有的黄芪甲苷含量是黄芪-当归(10:1)的 2 倍;同时,黄芪-当归(5:1)配比时,合煎液中阿魏酸和各种有益微量元素溶出率最高,且重金属的溶出率最低。

除了探究配比对 DBT 药效的影响,学者们也从煎煮方式上对 DBT 进行了研究。SONG 等^[74] 针对 DBT 的提取时间、溶剂体积、提取次数进行了正交试验优选,设定了共 9 组提取条件,结果确定最佳提取工艺条件为加 8 倍量溶剂提取 2 次(每次 2 h),此时黄芪甲苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、阿魏酸和藁本内酯的含量最高。Shanmugavasan 等^[75] 研究发现 DBT 中活性成分的煎出与提取时间和提取温度相关,并提出煎煮时应用文火的建议。综合分析,建议当归补血汤的煎煮数应为 2 次,且用文火煎煮。

随着现代中药的发展,以单味药制成的颗粒剂开始出现,但是单味药配方颗粒是否与合煎的汤剂等同,这一问题引起了大家的广泛关注。陈练等^[76] 通过单味药与 DBT 的指纹图谱研究表明,DBT 中化学成分并不是单味药的简单加和,其中非挥发性成分出现了成分的缺失,具体是那些成分缺失尚未明确,可能正是由于这些成分的缺失减小了 DBT 的毒副作用,而挥发性成分则与当归完全相同;黄芪挥发性成分较少,且全部包含于当归挥发性成分中,这表明 DBT 中的挥发性成分主要来源于当归。另外,DBT 合煎液中阿魏酸的含量大于单煎液^[77],合煎液中硒的含量大于单煎^[55]。CHAN 等^[78] 分析了 DBT,当归(ASR)水提物,黄芪(AR)水提物及 AR + ASR 的¹H-NMR 图谱,结果发现 DBT 的图谱不是 AR 和 ASR 的简单总和,天冬酰胺在 DBT 中的浓度明显高于 AR 水提物和 ASR 水提物。香港科技大学詹华强教授课题组对 DBT 合煎和配伍进行了系统研究^[79],对 DBT 单煎-合煎的研究显示,复方合煎不仅可以促进有效成分的溶出,而且可以增强其活性。但上述研究均未对单煎和合煎所得汤剂进行系统的化学成分和药理功效比较,未能明确单煎和合煎对药效的影响。

5 问题与展望

综上所述,目前对于 DBT 已做了大量的研究工作,包括药效物质基础、药代动力学行为、质量控制、煎煮工艺、配伍比例等。DBT 药效物质基础研究表明,与补气升血功效相关的主要成分包括多糖类、

阿魏酸、黄芪异黄酮类、黄芪皂苷类,但不同功效对应的药效成分未能得出确切的研究结论。DBT 的药代动力学研究表明,阿魏酸、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、黄芪甲苷、藜芦内酯等均为入血成分。但是在药效物质基础研究中,已有的研究发现 DBT 乙酸乙酯部位(主要为阿魏酸和芒柄花素),正丁醇部位(主要为皂苷类),水层(主要为多糖类)具有补血益气的活性,但均未发现石油醚部位的活性。因此,DBT 的质量控制指标成分应该包括阿魏酸、黄芪异黄酮类、黄芪甲苷、多糖类,而挥发性成分是否应列入质量控制成分,还需要进一步的研究确认。

单味药当归与黄芪中存在热不稳定性成分,但这些成分在 DBT 中的稳定性尚未见报道。中药成分的稳定性与提取温度、光照以及 pH 有很大关系。黄芪总皂苷口服液中的黄芪甲苷对热和光不稳定,异黄酮类成分的稳定性与溶液 pH 有很大关系。阿魏酸是当归的主要有效成分之一,光照促使其转化为顺式结构,在热水中稳定性差,但酸性环境有利于其保持稳定。因此,考虑到上述成分的稳定性,这些成分在汤剂中是否还可以作为质量控制的指标成分,有待进一步研究确认。传统中药方剂强调合煎,该过程融合了中药的七情、四性、君臣佐使,从而发挥中医方剂中物质的配伍作用。通过对 DBT 不同配伍比例的研究发现,黄芪-当归(5:1)时活性最强,各种活性成分含量最高,且重金属的溶出率最低,所含黄芪甲苷的含量是黄芪-当归(10:1)的 2 倍。黄芪所占比例提高,而黄芪甲苷含量却未同时增加,这些均有待进一步研究探讨。

目前,汤剂制备这个源头尚没有形成统一规定,后续一系列研究会因药材质量、制备工艺等的不同而产生较大差异,致使结果无法进行横向比较,故亟需制定一个统一的标准化汤剂制备方法。2016 年,陈士林等^[80]提出“中药饮片标准汤剂”,对 200 多种饮片的选择、汤剂制备工艺和质量评价方法进行了示范研究,初步给出了不同饮片标准汤剂的质量范围^[81]。同时国家在《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》提出了“标准汤剂”的概念。“中药饮片标准汤剂”或“中药基准物质”的提出,为提高中药产品质量的批间均一性、减小不同批次药材质量差异对产品质量的影响提供了解决方案^[82-83],为标准化不同的临床用药形式、达到用药的一致性和准确性提供了参考,并为标准化中药研究中药物的制备方法、提高不同研究结果的可比性和关联性提供了物质基准。目前《中药经典名方复

方制剂简化注册审批管理规定(征求意见稿)》在经典名方的研发中已经明确提出以“基准物质”(即标准汤剂)为对照的研发思路,为复方中药的研发提供了重要的指导依据。

[参考文献]

[1] 曾宇,张三印,胡冠英. 当归补血汤的研究进展[J]. 时珍国医国药,2016,27(2):422-424.

[2] 周二付. 当归补血汤药理实验研究进展[J]. 中医临床研究,2016,8(3):137-138.

[3] LIN H Q, GONG A G W, WANG H Y, et al. Danggui Buxue Tang (Astragali Radix and Angelicae Sinensis Radix) for menopausal symptoms: a review [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 199: 205-210.

[4] 张孟之,管连城,陈雨佳,等. 当归补血汤的研究进展[J]. 湖南中医杂志,2018,34(8):241-243.

[5] 张喜峰. 当归补血汤对肺癌放疗后骨髓抑制的影响[J]. 北方药学,2017,14(9):39.

[6] 于郎平. 当归补血汤干预白细胞低值状态的亚健康人群的临床研究[D]. 济南:山东中医药大学,2008.

[7] 吴兴辉. 当归补血汤治疗老年粗隆间骨折抗旋转股骨近端髓内钉术后隐性失血临床疗效评价[J]. 中国药业,2017,26(3):47-49.

[8] 陈其林. 当归补血汤治疗骨科手术后非感染性持续发热疗效观察[J]. 新中医,2013,45(11):54-55.

[9] 王小艳. 当归补血汤治疗糖尿病肾病 60 例[J]. 内蒙古中医药,2012,31(3):1.

[10] 刘开心. 当归补血汤超微粉治疗月经病 50 例[J]. 中医研究,2014,27(7):33-34.

[11] Haines C J, 郑景辉, 卢咏文, 等. 当归补血汤治疗绝经过渡期的临床研究[J]. 实用老年医学,2014,28(4):329-333.

[12] 孙明立,魏敏杰,金万宝. 免疫调节相关的信号转导通路研究现状[J]. 沈阳药科大学学报,2008,25(增刊):23-26.

[13] 陈鹊汀,刘智勤,朱惠学,等. 当归补血汤对荷瘤小鼠化疗后免疫功能的影响[J]. 时珍国医国药,2010,21(1):120-121.

[14] YANG X, HUANG C G, DU S Y, et al. Effect of Danggui Buxue Tang on immune-mediated aplastic anemia bone marrow proliferation mice [J]. Phytomedicine, 2014, 21(5):640-646.

[15] 袁国红. 当归补血汤增强小鼠免疫功能的实验研究[D]. 北京:北京中医药大学,2006.

[16] GONG A G, ZHANG L M, Lam C T, et al. Polysaccharide of Danggui Buxue Tang, an ancient Chinese herbal decoction, induces expression of pro-inflammatory cytokines possibly via activation of NF-κB

signaling in cultured RAW 264.7 cells [J]. *Phytother Res*,2017,31(2):274-283.

[17] GAO Q T,Cheung J K H,LI J,et al. A Chinese herbal decoction, Danggui Buxue Tang, activates extracellular signal-regulated kinase in cultured T-lymphocytes [J]. *FEBS Lett*,2007,581(26):5087-5093.

[18] 刘雅,张海港,张翼冠,等. 当归补血汤对气虚血瘀大鼠免疫功能及相关基因的调控 [J]. *中药药理与临床*,2009,25(5):10-13.

[19] 谢东杰,王爱迪,刘宝山. 当归补血汤在血液疾病中作用机制的研究进展 [J]. *中华中医药杂志*,2018,33(6):2488-2490.

[20] 任德旺,叶婷婷,倪必辉,等. 当归补血汤对药物介导小鼠氧化性溶血的疗效及作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*,2014,20(16):135-137.

[21] 金若敏,宁炼,陈长勋,等. 血虚模型动物制备及当归补血汤的作用研究 [J]. *中成药*,2001,23(4):36-39.

[22] 黄丽萍,陈耀辉,吴素芬,等. 当归补血汤含药血清对血虚小鼠骨髓造血功能的影响 [J]. *中药药理与临床*,2014,30(2):18-20.

[23] 冯璟,于远望,林洁. 用当归补血汤对受⁶⁰Co- γ 射线辐照小鼠的外周血细胞进行防护的效果研究 [J]. *当代医药论丛*,2014,12(20):167-169.

[24] 薄华本,陈启助,沈晗,等. 当归补血汤调控骨髓造血机理及对造血微环境的影响 [J]. *中国新药与临床杂志*,2013,32(10):824-828.

[25] 陈玉春,高依卿. 当归补血汤补血作用机理的探讨 [J]. *中国中药杂志*,1994(1):43-45,63.

[26] 严苏纯,祝彼得,韩英光,等. 当归补血汤不同剂型及配伍对骨髓抑制小鼠造血调控的实验研究 [J]. *中国药理学杂志*,2008,43(18):1386-1390.

[27] 徐瑞荣,崔兴,王琰,等. 当归补血汤促进小鼠骨髓移植后造血组织重建的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*,2008,14(10):39-41.

[28] 滕佳林. 黄芪配伍当归益气活血作用的理论与实验研究-对血液流变学及白细胞粘附分子表达的影响 [D]. 济南:山东中医药大学,2002.

[29] 薛永亮,田爱兰,王建军. 益气活血化痰中药对血管内皮功能的保护作用的实验研究 [J]. *河南中医学院学报*,2006,21(2):29-30.

[30] 王培利,雷燕,王承龙. 益气活血中药对血管生成 PI3K 和 MAPK 信号途径的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*,2010,8(9):1083-1085.

[31] 张志斌,陆曙,周春刚,等. 当归补血汤对大鼠动脉内皮细胞凋亡的干预作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*,2013,19(3):215-218.

[32] 徐厚谦,颜春鲁,张永花,等. 当归补血汤通过 PI3K/Akt 通路对 Ang II 诱导肥大心肌细胞的保护作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*,2018,24(2):135-139.

[33] YI L,QI L W,LI P,et al. Simultaneous determination of bioactive constituents in Danggui Buxue Tang for quality control by HPLC coupled with a diode array detector,an evaporative light scattering detector and mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*,2007,389(2):571-580.

[34] QI L W,WEN X D,CAO J,et al. Phenolic acids,rapid and sensitive screening and characterization of phenolic acids,phthalides,saponins and isoflavonoids in Danggui Buxue Tang by rapid resolution liquid chromatography/diode-array detection coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*,2008,22(16):2493-2509.

[35] QI L W,CAO J,LI P,et al. Rapid and sensitive quantitation of major constituents in Danggui Buxue Tang by ultra-fast HPLC-TOF/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*,2009,49(2):502-507.

[36] 宋越,盛亮洪,盛龙生,等. 当归补血汤成分的 LC-ESI/TOFMS 分析 [J]. *中国天然药物*,2005,3(5):298-302.

[37] 黄月纯,黄水清,刘东辉,等. 当归补血汤汤剂中挥发油成分的 GC-MS 分析 [J]. *中成药*,2005,27(8):892-894.

[38] ZHANG Y Z,XU F,YI T,et al. Chemical profile analysis and comparison of two versions of the classic TCM formula Danggui Buxue Tang by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MS [J]. *Molecules*,2014,19(5):5650-5673.

[39] 黄兆胜,危建安,吴利. 当归补血汤益气功效及其物质基础研究 [J]. *中药药理与临床*,2003,19(1):5-7.

[40] 黄兆胜,危建安,吴利. 当归补血汤补血功效及其物质基础研究(二) [J]. *中药药理与临床*,2003,19(5):10-11.

[41] 危建安,黄兆胜,吴利. 当归补血汤补血功效及其物质基础研究 [J]. *中药药理与临床*,2003,19(2):8-10.

[42] 宁炼,陈长勋,金若敏,等. 当归补血汤促进造血功能的成分及其作用的研究 [J]. *中国中药杂志*,2002,27(1):50-53.

[43] 李丽君,翁嘉洛,高分飞,等. 当归补血汤抗血虚有效组分的探讨 [J]. *汕头大学医学院学报*,2016,29(1):3-6.

[44] 刘娟,初杰. 不同提取方法的当归补血汤对化疗贫血模型的药效学研究 [J]. *辽宁中医药大学学报*,2011,13(8):113-115.

[45] 王燕平,李晓千,宋纯清,等. 当归补血汤中不同组分对正常及血虚小鼠免疫功能的影响 [J]. *中草药*,2002,33(2):135-138.

[46] 王庆敏,李晓宁,王兵,等. 当归补血汤有效部位指纹

图谱归属分析[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11): 2658-2660.

[47] SHI X Q, TANG Y P, ZHU H X, et al. Comparative tissue distribution profiles of five major bio-active components in normal and blood deficiency rats after oral administration of Danggui Buxue Decoction by UPLC-TQ/MS[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 88: 207-215.

[48] SHI X Q, TANG Y P, ZHU H X, et al. Pharmacokinetic comparison of seven major bio-active components in normal and blood deficiency rats after oral administration of Danggui Buxue decoction by UPLC-TQ/MS [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 153: 169-177.

[49] 陈国广, 孟蕾, 王永禄, 等. 当归补血汤中阿魏酸的药物动力学研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(5): 744-745.

[50] 王文萍, 曹琦琛, 王华伟, 等. 当归补血汤不同配伍的药动学研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14(6): 659-663.

[51] 张凤瑞, 周贤, 刘炎, 等. 当归补血汤中当归的鉴别及阿魏酸的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(1): 98-100.

[52] 张凤瑞, 周贤, 刘炎, 等. 当归补血汤中黄芪的鉴别及黄芪甲苷的含量测定[J]. 吉林中医药, 2013, 33(3): 289-291.

[53] 潘自皓, 崔梦迪, 潘立群, 等. 当归补血汤中三种指标性成分的 HPLC-DAD/ELSD 法同时测定[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(3): 547-550.

[54] 黄水清, 魏刚, 黄月纯, 等. 当归补血汤挥发油的气相色谱-质谱指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(8): 1-3.

[55] 余杲然. 当归补血汤中组分的分析方法及溶出效应研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.

[56] 张玲玲, 谭正德, 黄赛金. 当归补血汤中多糖含量的测定[J]. 广东化工, 2010, 37(2): 131-133.

[57] 刘为贱, 李洪亮. 原子吸收法测定 3 种补血汤中常见微量元素[J]. 广东微量元素科学, 2013, 20(5): 1-4.

[58] 王庆敏. 当归补血汤指纹图谱的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2009.

[59] WANG P, LIANG Y Z, ZHOU N, et al. Screening and analysis of the multiple absorbed bioactive components and metabolites of Dangguibuxue decoction by the metabolic fingerprinting technique and liquid chromatography/diode-array detection mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21(2): 99-106.

[60] 马家骅, 李霞, 谭承佳, 等. 基于药效理化表征的当归补血汤质量控制模式初探[J]. 中草药, 2012, 43(5): 901-905.

[61] 马家骅, 谭承佳, 李霞, 等. 基于有效组分检测与理化表征相结合的当归补血汤制备工艺与质量控制研究[J]. 中草药, 2012, 43(3): 482-486.

[62] 马家骅, 李霞, 熊永爱, 等. 当归补血汤表征参数与其益气补血功效的关系初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 111-116.

[63] 马家骅, 李霞, 张明令, 等. 当归补血汤主要活性成分与其理化参数的关系研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(15): 1953-1956.

[64] 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.

[65] 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.

[66] 唐蓉, 张依人, 陈叶童, 等. 不同剂量配伍对黄芪-当归中 5 种化学成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(23): 1-5.

[67] DONG T T X, ZHAO K J, GAO Q T, et al. Chemical and biological assessment of a Chinese herbal decoction containing Radix Astragali and Radix Angelicae Sinensis; determination of drug ratio in having optimized properties [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(7): 2767-2774.

[68] GAO Q T, LI J, Cheung J K H, et al. Verification of the formulation and efficacy of Danggui Buxue Tang (a decoction of Radix Astragali and Radix Angelicae Sinensis): an exemplifying systematic approach to revealing the complexity of Chinese herbal medicine formulae [J]. Chin Med, 2007, doi: 10. 1186/1749-8546-2-12.

[69] 寿迪文, 马伟斌. 当归补血汤的不同配比对黄芪甲苷、阿魏酸及芒柄花素含量的影响[J]. 新中医, 2016, 48(6): 274-276.

[70] 付玲. 当归补血汤配伍比例的合理性分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(35): 164-165.

[71] 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): 159-64.

[72] 姜晓洋, 袁义. 当归补血汤中当归、黄芪两味中药不同比例搭配对其化学成分的影响[J]. 内蒙古中医药, 2016, 35(14): 147-148.

[73] 孙丽霞, 方南元, 周玲玲, 等. 当归补血汤及拆方对大鼠免疫性肝损伤的治疗作用[J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(2): 150-152.

[74] SONG Z H, JI Z N, Lo C K, et al. Chemical and biological assessment of a traditional Chinese herbal

decoction prepared from Radix Astragali and Radix Angelicae Sinensis; orthogonal array design to optimize the extraction of chemical constituents[J]. Planta Med, 2004, 70(12):1222-1227.

[75] Shanmugavasan A, Ramachandran T. Investigation of the extraction process and phytochemical composition of preparations of *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 137(3):1172-1176.

[76] 陈练, 梁逸曾. 当归补血汤及其组成单味药极性成分的研究[J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(增刊): 84-88.

[77] 梁光义, 徐必学, 李霞, 等. 高效液相色谱法测定当归补血汤分煎液与合煎液中阿魏酸含量[J]. 中成药, 2003, 25(2):60-62.

[78] CHAN P H, Wendy L Z, Cheung C Y, et al. Quality control of Danggui Buxue Tang, a traditional Chinese medicine decoction, by ¹H-NMR metabolic profiling[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, doi: 10.1155/2014/567893.

[79] 赵奎君, 李卓明, 陈小莺, 等. 从当归补血汤的研究探讨和分析中药复方共煎的合理性[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2009, 11(2):294-298.

[80] 陈士林, 刘安, 李琦, 等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8):1367-1375.

[81] 陈士林. 中药饮片标准汤剂. 第一卷[M]. 北京: 科学出版社, 2017:1-10.

[82] 杨立伟, 王海南, 耿莲, 等. 基于标准汤剂的中药整体质量控制模式探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8):1-6.

[83] 全家羽, 赵嵘, 代云桃, 等. 当归标准汤剂质量评价体系的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 18-23.

[责任编辑 刘德文]