

• 综述 •

中药血清药理学研究方法及其应用

阴赅宏 谭余庆 霍海如 崔晓兰 贺玉琢 姜廷良 富杭育

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

几十年来,中药药理学进展迅速,促进了中药现代化的研究。近年来,一个适合中药特点的新的药理学方法学——中药血清药理学的出现,引起了学术界的广泛关注。以中药血清药理学方法为主的中药复方体外试验的方法学研究,已得到了国家自然科学基金资助,这将促进中药血清药理学研究方法的形成和发展,有利于中药研究的现代化、科学化、标准化和规范化。

1 中药血清药理学研究方法概述

目前,中药药理学研究中,有相当一部分中药药理活性实验和作用机理研究是在体外进行的。但是,利用中药粗提物直接进行体外实验,在方法学上存在许多问题,影响实验结果的真实性和实验结论的可靠性。因此,1984年在日本召开的第一届和汉医药学会上,日本学者提出了给动物灌服中药一定时间后,取其血清进行实验的新的药理学方法。1988年日本国立京都医院的田代真一提出了中药“血清药理学”这一新概念,他认为中药有三大特点,即它是多成分的系统、口服的、以证为基础的,要研究其药效和作用机理,应开拓新的研究方法。他指出,含有多种已知和未知成分的中药复方(包括生药)口服后,经消化液和肠内菌群的代谢,在肠道内形成更为复杂的混合物,有的直接排泄,有的被选择性吸收,再经肝酶作用,进入血液的是含有真正有效成分的“粗提物”(其中包括了方药的固有成分及其代谢产物,以及它们在吸收时直接作用而产生的生理活性物质);将含有“粗提物”的血清进行药效评价,即为“血清药理学”^[1]。1990年,姜廷良教授在全国中医方剂研究讨论会上介绍了日本有关中药血清药理学研究的动态和情况,引起了与会者的广泛兴趣。之后,国内陆续开展了这方面的研究工作。1995年,杨奎等研究指出,给动物灌服中药或复方制剂后(一次或多次),在一定的时间内采集血液,分离血清,以血清进行体外药理实验^[2]。此方法不仅适应于药效学研究,

而且可用于药动学研究。

2 国内中药血清药理学方法的应用现状

2.1 对单核细胞产生内生致热原的研究 杨奎等观察了含黄芩、含香薷、含羌活胜湿汤、含九味羌活丸等的血清分别对家兔单核细胞内生致热原产生过程中单核细胞内DNA、蛋白质合成速率及Ca²⁺内流的影响。结果显示,在伤寒、副伤寒内毒素诱导单核细胞产生内生致热原过程中,含黄芩血清能明显抑制单核细胞内DNA合成,抑制Ca²⁺内流,因而能阻止内生致热原的合成,可能是其解热作用机理之一^[3]。含香薷血清、含羌活胜湿汤血清、含九味羌活丸血清三者对单核细胞内DNA合成均有明显抑制,作用强弱顺序为九味羌活丸>羌活胜湿汤>香薷;对单核细胞蛋白质合成的影响,香薷呈明显量效递增性抑制作用,而羌活胜湿汤和九味羌活丸在大剂量却呈促进作用;对单核细胞Ca²⁺内流的影响,香薷和九味羌活丸均呈量效递增性抑制作用,以后者作用较强,而羌活胜湿汤则呈显著量效递减性抑制作用,在较大剂量时翻转为促进内流作用;时效关系表明,九味羌活丸对Ca²⁺内流的抑制作用在给药后90min达高峰,对DNA合成的抑制作用在给药后30min和90min作用较明显,对蛋白质合成的影响在120min内呈轻微促进作用^[2]。本实验应用中药血清药理学方法对上方药影响单核细胞产生内生致热原的机制进行了初步探讨,同时,对兔单核细胞Ca²⁺内流影响的研究表明,中药血清药理学方法在进行中药时效关系研究时,有着较大的优势。

2.2 对肝贮脂细胞增殖及胶原合成影响的研究

刘成海等观察了扶正化瘀方对培养大鼠贮脂细胞功能的影响,结果表明,该复方血清能明显抑制贮脂细胞增殖,且抑制程度与药物剂量及其血清浓度有关,即药物剂量与血清浓度越高,细胞增殖抑制越明显;而且对贮脂细胞内外胶原生成也有一定的抑制作用。该研究还发现,一次给药后1h、2h血清对细胞增

殖无明显抑制;二次重复给药后1h、2h血清则出现明显抑制作用,表明该方以二次重复给药为好^[1]。季光等研究发现,扶正化癥方血清能显著促进正常及损伤肝细胞的增殖,有效地抑制CCl₄所致损伤肝细胞培养上清液中ALT、AST活性,抑制正常及损伤肝细胞的胶原生成率^[5]。本实验应用中药血清药理学研究方法发现,扶正化癥方既能促进肝细胞增殖,又可显著地抑制细胞胶原生成率,在一定程度上体现了该方扶正化癥的双重作用。

2.3 对主动脉平滑肌细胞增殖影响的研究 张群豪等观察了血府逐癥丸对实验性动脉粥样硬化家兔主动脉平滑肌细胞(SMC)增殖的影响。结果表明,血府逐癥煎剂浓缩液和血府逐癥浓缩丸血清对SMC的DNA的合成均有显著的抑制作用,且表现出剂量依赖性;而空白血清、含美降脂血清对SMC的DNA合成无明显作用。说明血府逐癥浓缩丸在体内外均有抑制SMC增殖的作用,血府逐癥丸确实含抗SMC增殖的有效成分,且此成分口服有效。同时,血府逐癥煎剂浓缩液的抑制作用比含药血清强,可能与某些有效成分未能从消化道吸收或经体内代谢失活有关^[6]。本实验为血府逐癥丸的临床应用提供了科学依据。

2.4 抗菌实验研究 杨奎等应用中药血清药理学方法进行了中药体外抗菌实验,发现含黄芩、藿香正气水、藿香正气液的血清分别具有明显的抑菌作用,抑制率高达70%以上。该研究发现一些含中药血清相对于正常血清表现为促进细菌繁殖作用,表明一些中药可以降低机体抗御外邪的能力。同时,该研究还发现,不论是中药复方,还是单味中药,均可出现多个抑菌高峰,表明中药抗菌有效成分复杂,其吸收高峰不相一致,可以对细菌给予多次打击,有利于抑制其繁殖^[7]。因此中药血清药理学方法有可能成为检测或反映中药不良反应的新方法。

2.5 对气管平滑肌作用的研究 黄坚等以小青龙汤煎剂为供试药物,观察了含药血清对离体豚鼠气管平滑肌的松弛作用。结果发现,口服小青龙汤煎剂的豚鼠血清具有显著抗组织胺引起的离体豚鼠气管平滑肌收缩作用,且呈良好的量效关系,与直接煎剂进行的离体药理实验具有相似的药理效应^[8]。该实验提示小青龙汤中的抗组织胺的有效成分可通过胃肠道吸收,进入血液而起作用,其有效成分的达峰时间约为2h,表明血清药效实验的可靠性及可信度在某些方面优于通常的药理实验。

2.6 对免疫功能调节的研究 曾南等观察了灌服雪莲虫草精大鼠的抗凝血对NK细胞活性的影响,结果表明给药物抗凝血可明显增强NK细胞活性,给药动物血清1.25g/kg剂量组能增强IL-2活性,但7.5g/kg、3.75g/kg剂量组作用不明显,相反3.75/kg剂量组却出现抑制作用,这可能与血清的稀释度及其内容物有关^[9]。

2.7 对中药抗癌作用的研究 王力倩等采用中药血清药理学方法观察了含苦参、仙鹤草的血清及其煎剂对肿瘤细胞体外生长的影响,发现苦参、仙鹤草煎剂及含苦参血清均有明显的抗肿瘤活性,而含仙鹤草血清则无效。初步证明苦参对肿瘤细胞体外生长确实有一定的细胞毒性,而含仙鹤草血清及其煎剂出现不同实验结果,可能与中药粗制剂干扰因素有关,也可能与动物在体内代谢过程及血清等因素的影响有关^[10]。本实验发现,离体实验中肿瘤细胞体外生长的抑制作用,中药粗制剂有效,而其含药血清则可能完全无效,提示中药血清药理学方法对中药抗肿瘤作用的评价有一定的意义。

2.8 对附子强心作用的研究 针对以往附子强心作用的研究均采用体外实验或静脉直接给药的方法,而无口服给药的结论,陈长勋等采用中药血清药理学方法观察了附子对离体豚鼠左心房收缩力的影响,结果发现,与未服药动物血清比较,口服附子粗制剂后动物血清有明显增强心肌收缩力和加快心肌收缩速度的作用,给药后2h血清作用达高峰。证明附子煎液确实含强心成分,且此成分口服有效^[11]。该实验结果表明,含附子血清与附子制剂直接给药两者对心肌的正性肌力作用基本相似,说明其强心有效成分确能经胃肠道吸收入血,且不会一经吸收立即被代谢失活。

3 结 语

3.1 中药,特别是复方的粗提物进行体外实验,常常受到多种因素的影响。它们的粗提物既含有有效成分,也含有大量无效成分,能非特异性地影响和干扰体外实验结果。五、六十年代,国内外用瘤细胞株在体外过筛数千种植物粗提物,报道了上百个阳性结果,但体内实验证明,绝大部分是阴性的。另外,粗提物的电解质、渗透压、酸碱度等对体外实验都可能造成一定影响。机体的胃肠系统对中药所含诸成分有选择性吸收及代谢,有的需经肠道内菌群转化后才能成为活性物质吸收而发挥作用。因此,中药及其复方的粗提物的体外药理实验结果,既不能有效排

除上述因素的影响,也难以反映机体真实血药浓度下的药理作用及变化规律,亦不利于中药制剂药理作用的机理研究以及合理解释其药理作用的物质基础。

3.2 近年来,国内外应用中药血清药理研究方法取得了一些可喜的成绩,积累了一定的经验。从目前已有的工作来看,中药血清药理学方法可能具有以下作用:①排除了中药复方及其粗提物中影响体外实验结果的诸多因素,能利用体外实验的优点,比较准确、真实地研究中药的药效和作用机理,特别是微观的作用机理。②能够在一定程度上揭示中药及其复方在胃肠内处置过程中活性成分的转化与改变。③有助于研究中药复方配伍和相使、相须等“七情”的实质。中药血清药理学能通过有效成分在血中的动态变化、相互作用及与药效的相互关系,反映中药复方的配伍原则。④有助于中药及其复方药物动力学研究的开拓和发展,从而有效地解决这一由于方法学的原因而形成的难题。⑤有利于中药真正有效活性部位、有效成分的发现,为新药开发提供基础。⑥作为中药药理学科发展而论,能够创立和发展具有适合中药特点的新的药理学分支——中药血清药理学。

3.3 中药血清药理学方法的工作起步较晚,尚处于不断的探索阶段,因此,还有很多方面的问题需要在今后的研究中予以解决。如①在方法学上,整体动物给药方案、采血时间、血清处置、体外实验条件等技术如何规范。②在应用领域上中药血清药理学方法已应用于抗菌、抗病毒、抗肿瘤等体外实验,其它领域的应用前景如何,其研究结果的可信度、实用性和优缺点如何。

总之,中药血清药理学方法是针对中药及其复方复杂多样的化学成分特点,用含药血清代替煎剂或粗提物进行体外实验,是可信性和科学性更强的新方法。它将有赖于中医药学与现代科学、化学与药理、基础、临床、体内、体外的紧密结合,有赖于微生物学、化学、分子生物学、放射医学等多学科的相互

渗透。通过今后大量的艰苦的系统研究,它将成为中药药理学研究的一种新的方法体系,有助于促进中药现代化研究的发展,有助于加速中医药走向世界的进程。

参考文献

- 1 田代真一.“血清药理学”と“血清药化学”——汉方の药理学から始まつた药物血中浓度测定の新しい世界, TDM 研究,1988,(5):54
- 2 杨奎,沈映君,王一涛,等.含香薷、羌活胜湿汤和九味羌活丸血清对内生致热原产生的影响.中药药理与临床,1995,(4):1
- 3 杨奎,张德波,史焱,等.含黄芩血清及黄芩甙影响内生致热原产生的研究.中药药理与临床,1994,(6):13
- 4 刘成海,刘成,刘平,等.扶正化痰方药物血清对大鼠肝贮脂细胞增殖及胶原合成的影响.中国实验方剂学杂志,1996,2(2):16
- 5 季光,刘平,刘成,等.扶正化痰方药物血清对原代培养大鼠肝细胞增殖及胶原生成率的影响.中国实验方剂学杂志,1997,3(3):20
- 6 张群豪,钟蓓,陈可冀,等.川血清药理学方法观察血府逐瘀汤浓缩丸对实验性动脉粥样硬化家兔主动脉平滑肌细胞增殖的影响.中国中西医结合杂志,1996,16(3):156
- 7 杨奎,王一涛,张德波,等.中药血清药理学研究方法在中药抗菌试验研究中的应用.中药药理与临床,1995,(特):121
- 8 黄坚,陈长勋,李仪奎.川血清实验法观察小青龙汤对离体豚鼠气管平滑肌的作用.中药药理与临床,1995,(6):12
- 9 曾南,杨奎,沈映君.雪莲虫草精对NK细胞活性和IL-2活性的影响.中药药理与临床,1995,(2):36
- 10 王力倩,余上才,李仪奎,等.川血清药理学方法研究中药苦参、仙鹤草的抗肿瘤作用.中国中医药科技,1995,2(5):19
- 11 陈长勋,金若敏,贺劲松,等.川血清药理学实验方法观察附子的强心作用.中国中医药科技,1996,3(3):12

(收稿:1996-10-22)