

· 学术探讨 ·

# “中药复方循证生物系统研究策略”思路探索

闫奎坡, 朱翠玲\*, 朱明军, 刘新灿, 孙彦琴, 陈磊  
(河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000)

**[摘要]** 中药复方在临床中广泛应用,循证医学对中药复方研究提出新的挑战。开展中药复方的研究和开发,提供充足的疗效证据,以促进中医药现代化。本文提出中药复方循证生物系统研究策略(Chinese herbal compound formula evidence-based biosystem research strategy, CHCF-EB-BRS),从中医古籍、系统评价、质量控制、临床辩证治疗疗效评价、物质基础及其作用机制等多层次对中药复方进行研究,从古籍、系统评价和临床研究多层面验证中药复方的临床疗效,采用质量控制良好的复方进行实验室及临床研究,揭示复方的疗效物质基础及其作用机制,为解决目前中药复方研究面临的瓶颈提供参考。本策略各个研究层次已经在基础及临床研究中广泛实施,但仍缺乏某个中药复方系统性研究的案例,CHCF-EB-BRS思路的提出有助于系统深入研究中药复方,进一步促进中医药的发展。

**[关键词]** 中药复方; 循证医学; 生物系统研究策略; 冠心二号; 丹参饮

**[中图分类号]** G644.4; R285.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0218-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016090218

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160311.1045.024.html>

**[网络出版时间]** 2016-03-11 10:45

## Exploration of Research Method of Chinese Herbal Compound Formula Evidence-based Biosystem Research Strategy

YAN Kui-po, ZHU Cui-ling\*, ZHU Ming-jun, LIU Xin-can, SUN Yan-qin, CHEN Lei

(The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

**[Abstract]** Chinese herbal compound formula (CHCF) are widely used in clinic with development of evidence-based medicine, it has put forward a new challenge on CHCF. It becomes a strategic planning to further research and develop CHCF, provide sufficient curative evidence for promoting modernization of traditional Chinese medicine. This paper puts forward CHCF evidence-based biosystem research strategy (CHCF-EB-BRS), which conducts multi-level study of CHCF from ancient medical books, system evaluation and analysis, quality control, material basis and so on. In order to reveal material basis for efficacy of CHCF and its related mechanism, solve bottleneck of CHCF. CHCF clinical efficacy is verified multiply from ancient medical books, system evaluation and clinical study, furthermore, taking a good quality control of CHCF for laboratory and clinical research. Various research levels of the strategy has been widely implemented in basic and clinical research, but it still lacks of a systematic study of CHCF. CHCF-EB-BRS is helpful to further research on development of traditional Chinese medicine.

**[Key words]** Chinese herbal compound formula; evidence-based medicine; biosystem research strategy; Guanxin II; Danshen Yin

**[收稿日期]** 20150708(006)

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81303073);河南中医学院一附院院内博士项目(2012KJ32);河南中医学院省属科研业务专项(2014KYYWF-YQ12);河南省高校科技创新团队支持计划项目(13IRTSTHN012);河南省中医药防治心血管疾病创新型科技团队项目(C20130050)

**[第一作者]** 闫奎坡,博士,从事中西医结合对心血管疾病的预防和治疗研究, Tel:0371-66263102, E-mail: ykp19821122@163.com

**[通讯作者]** \*朱翠玲,主任医师,教授,硕士生导师,从事中医药防治心血管疾病的临床和科研工作, Tel:0371-66263104, E-mail: zhudaifu666@hotmail.com

中药复方 (Chinese herbal compound formula, CHCF) 作为中医临床治疗疾病的主要工具与手段, 是中医用药的基本形式, 其临床疗效经过几千年的实践已得以证实<sup>[1-2]</sup>。循证医学 (evidence-based medicine, EBM) 的快速兴起及医疗模式的转换, 使 CHCF 的广泛推广遇到瓶颈<sup>[2-5]</sup>, 同时, 中医学属于复杂性科学<sup>[6]</sup>, 如何进一步开展 CHCF 的研究和开发, 以提供充足的疗效证据, 促进中医药现代化, 已成为当务之急。2011 年, 欧盟正式颁布《传统植物药注册程序指令》。目前还没有 1 例中药在欧盟正式注册成功。我国中药国际化遭遇瓶颈, 标准化规程不被欧盟《传统植物药注册程序指令》认可, 中医在欧洲市场将面临有中医无中药的尴尬境地<sup>[7]</sup>。国家科技部课题——促进中医药出口创汇的战略与政策研究发现我国中药出口额占天然药物市场销售额的比重仅 3%<sup>[8]</sup>。《新英格兰医学杂志》2002 年 12 月发表的 Herbal remedies<sup>[5]</sup>一文明确提出我国的中药及方剂不被认可的四大障碍为质量控制、疗效、安全性、体内药效物质。如何在现有情况下解决 CHCF 的上述挑战, 本文根据个人的研究经历及相关成果, 在阅读关于 CHCF 研究文献的基础上, 提出中药复方循证生物系统研究策略 (CHCF-EB-BRS), 从中医古籍、系统评价、质量控制、临床辩证治疗疗效评价、物质基础及其作用机制等多层次对中药复方进行研究, 为解决目前 CHCF 研究面临的困境提供参考。

## 1 中药复方临床疗效的判定

临床疗效是 CHCF-EB-BRS 的基础, 无临床疗效的 CHCF 研究犹如无水之木, 即使基础研究取得明显阳性结果, 但对于该 CHCF 的推广意义不大, 这也是 CHCF-EB-BRS 的关键点之一。CHCF 已在临床应用上千年, 这也使得 CHCF 的研究策略与现在医学药物的研发过程存在天壤之别。前者是从临床到基础的研究, 后者为从基础到临床的研究。判断 CHCF 的疗效主要包括 3 个方面, 古籍的挖掘、现代文献系统评价研究、直接临床疗效评价研究。古籍是传统医学留给后辈的宝贵财富, 是古时医学家临床应用 CHCF 的临床资料、临床经验的总结。在研究 CHCF 之前必须了解该方在最初的形成及治疗疾病的演变过程, 从而使研究不至于太盲目。现代文献系统评价研究主要是借助目前的循证医学工具进行系统评价, 了解某个 CHCF 对某个疾病的治疗作用, 鉴于目前 CHCF 研究临床多采用对某种疾病的治疗作用, 其实已经从根本上忽略了中医药

的辨证论治的内涵, CHCF 临床研究要从“证”进行研究的同时兼顾现代医学的临床疗效, 必要时可根据“证”进行系统评价, 这样才能真正体现 CHCF 的作用, 同时更能体现中医药的精髓<sup>[7]</sup>。

直接临床疗效评价是研究中直接采用临床观察的方法进行研究, 可采用随机对照试验 (randomized controlled trial, RCT), 临床观察甚至个案报道<sup>[7]</sup>。直接临床疗效的判定仍然要对某种“证”或“证型”进行研究, 不能简单照搬现代医学单纯对疾病治疗疗效的研究模式, 3 种方法 (古籍的挖掘、现代文献系统评价研究、直接临床疗效评价研究) 可联合应用, 从多方面验证该方的临床疗效, 这是继续开展 CHCF 研究的基础, 无临床疗效作基础的研究是没有前景的, 也是不符合 CHCF-EB-BRS 的。

古籍是中医药学的重要宝藏, 需要深入挖掘。其中经方的研究比较深入, 较多的研究生论文<sup>[9-11]</sup>选择其作为方向进行多层次研究, 这样对 CHCF 的进一步研究提供了大量古籍研究总结, 进而提供了应用指征和范围, 更好地开发其临床应用。鉴于目前国内外文献数据库的不断完善, 现代文献研究内容更多, 将 CHCF 的研究进行系统评价分析, 可为 CHCF 提供较高的临床疗效证据。目前 CHCF 临床系统评价及 Meta 分析发表较多, 例如瓜蒌薤白半夏汤对心绞痛的 Meta 分析<sup>[12]</sup>、丹参多酚酸盐注射液治疗不稳定心绞痛的 Meta 分析<sup>[13]</sup>、芪苈强心胶囊对缺血性心肌病患者生活质量的影响 Meta 分析<sup>[14]</sup>。直接临床临床疗效评价在国内数据库研究中较多, 但研究设计水平和质量较低, 但仍可作为进一步开展研究的证据, 同时部分研究已经在国际顶级期刊发表, 如芪苈强心胶囊治疗慢性心力衰竭的临床研究发表在《美国心脏病学会杂志》, 并被给与了高度评价<sup>[15]</sup>。CHCF-EB-BRS 策略中需紧密结合上述多种评价方法对 CHCF 进行多方面研究以验证其临床疗效, 为进一步开展基础研究奠定基础。

## 2 中药复方的质量控制

CHCF 在中医药发展历史中剂型较多, 其中中药汤剂延续千年, 故在研究策略中将汤剂作为质量控制标准之一。首先是药物的选择, 经药品专家鉴定, 药物按照经典方剂的比例进行搭配, 药物煎煮之前的处理, 最终得到汤剂剂量的计算或者制备冻干粉等; 之后对药物进一步处理, 并对其质控成分进行定性和定量检测。中医药质量控制在保证中药质量, 达到预期疗效, 确保药效、可重复性及安全性方面发挥了关键作用。丹参饮 (汤剂)<sup>[16]</sup> 及冠心病二

(汤剂及冻干粉)<sup>[17]</sup>的研究中,2 种汤剂在煎煮过程中均采用了严格的时间要求,同时冠心二号还进行了冻干粉制备及 HPLC 质控分析,并对入血吸收成分色谱进行了研究。

血药浓度法定性与定量检测液体中复方化学成分的方法有酶标免疫法、胶束荧光法、紫外分光光度计法和 HPLC 荧光检测法,还有 GC-MS,LC-MS,3D-HPLC 结合四谱(VU,IR,MS 和 NMR)等方法。近十几年又发展了高效毛细管电泳(HPCE)和超临界流体萃取技术(SFE)。液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)融合了色谱技术的高分离能力与质谱技术的高灵敏和结构解析能力,具有高灵敏度、高选择性及能提供相对分子质量和丰富结构信息的特性,随着科学技术的发展,LC-MS 应用日益广泛,目前已成为中药成分分析中最常用的技术之一。

### 3 动物实验研究

目前,新药的开发研究一般需要动物实验研究证实。而对于 CHCF 来说,基础研究的方法较为复杂。首先在人体研究过程中发现 CHCF 的疗效,继之转化为动物研究,如何在动物研究中突破中药传统汤剂的研究方法,发现具有疗效的可吸收活性物质,甚至可吸收活性物质的联合方案代替复方疗效,最终明确具体药效物质。只要这样才能更好地揭示 CHCF 的物质基础及作用机制<sup>[2]</sup>。严格遵守实验设计的 3 个原则(对照、重复和随机)<sup>[2]</sup>。站在中医药现代化角度,仅研究 CHCF 的疗效及作用机制是不够的。在保持中药特有疗效的同时,研究其吸收入活性成分的药效学才能丰富、发展和完善中医药学,这也是实现中医药现代化过程中不可逾越的一道难关。

在解决 CHCF 药效物质基础的研究中,建议采用生物方剂分析药理(bioethnopharmaceutical analytical pharmacology, BAP)研究策略,该策略是指在方剂吸收入生物体内成分分析的指导下,进行方剂的在体/离体药效、药动、质量控制、植物化学等方面研究,以上研究采用的是吸收成分与母方疗效比较的研究模式,同时必须遵循剂量等于母方含量或者血药浓度的原则。前期已在该策略指导下成功申请了国家自然科学基金项目,同时也完成了部分研究,该策略基本流程见图 1。在若干研究中,BAP 策略指导下的冠心二号研究<sup>[17]</sup>利用 HPLC-MS/MS 测定了健康人与大鼠口服冠心二号后吸收入血的 5 个成分(丹参素、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、原儿茶醛和芍药苷)含量,阐明了冠心二号与 FAT(丹参素、

阿魏酸、羟基红花黄色素 A,剂量等于其在母方中含量)在减小大鼠心肌梗面积、抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)活性与增加心肌血流量的疗效一致,其深入抗凋亡机制还涉及通过降低细胞色素 C 释放与 B 细胞淋巴瘤基因-2 相关蛋白/B 细胞淋巴瘤基因-2(Bax/Bcl-2)比值及抗氧化应激途径。

### 4 离体实验研究

以 CHCF 及其活性成分对原代细胞的干预予以说明。由于重金属、其他药物污染、电解质等引起的制剂污染,如果直接进行细胞干预,即使杀毒、灭菌后仍有可能导致假阳性或假阴性结果。按照 BAP 策略,能够扬长避短,药效学物质明确后,基本代表母方的疗效;离体实验分析的药物成分得到精简;药效学物质是吸收入体内的成分(药效成分的直接证据);不存在内源与外源性干扰。同时还可以参考血药浓度范围进行研究,亦可采用 A, B, C 疗效和血清药效学比较的模式研究。

比较模式用于整体或离体实验的异同分析,都强调吸收成分并都进行药效的比较;不同的是,整体实验比较中,其吸收成分的剂量等于母方中的含量,而离体比较时,如果单纯研究机制,药物成分机制作用没有重复的话,那么母方作用的机制就应该是吸收的药效学物质机制的综合。如需更精确研究药效学和作用机制,吸收成分剂量需要参考这些成分的药效学血药浓度范围,同时需要联合应用进行比较。本文拟在明确 CHCF 的药效学物质基础上,采用上述模式的精细设计,就能解决这一长期困扰方剂离体作用机制的重大关键科学问题。在冠心二号舒张大鼠主动脉血管环的离体研究<sup>[2]</sup>中,已经采用了 BAP 策略,虽然明确了该复方的舒张血管机制,但遗憾的是未参考血药浓度进行研究,该项研究正在进行中,在 CHCF-EB-BRS 策略指导下,更多的整体、离体研究会陆续开展,可为 CHCF 的药效物质基础及药效学机制分析提供参考。

### 5 讨论

CHCF 作为中医临床治疗疾病的主要工具与手段,是中医用药的基本形式,其临床疗效已得以证实。在现代医学科研水平高度发展的时期,如果仍以君臣佐使、四气五味、升降沉浮等抽象的传统中医理论,不从方剂产生疗效的物质基础、作用机制来解释方剂及其配伍规律,就很难被现代医学所接受<sup>[2]</sup>。CHCF 的药效物质基础不明确正是中医药现代化亟待解决的关键问题<sup>[2]</sup>。因为 CHCF 的药效物质不清楚,难以制订科学的质控标准,难以获得可重

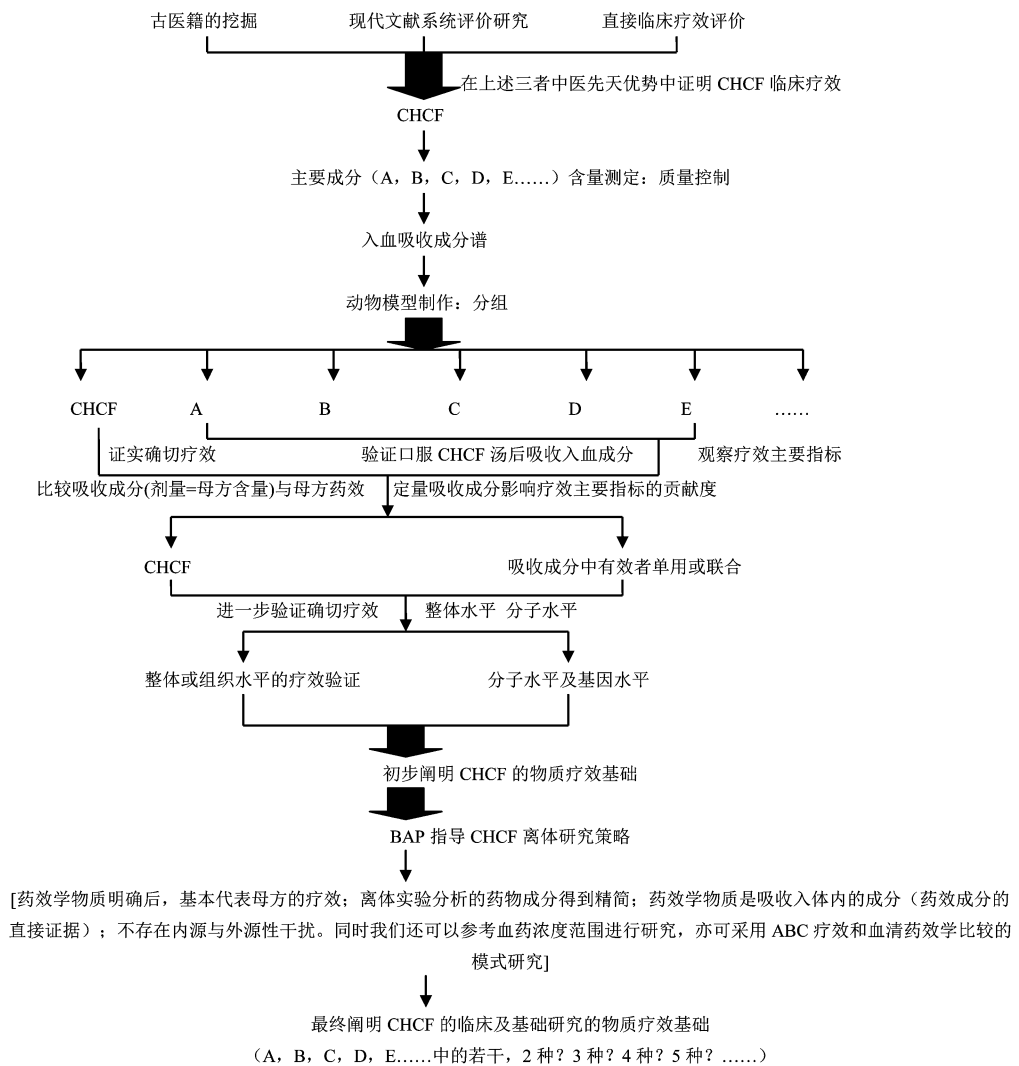


图 1 BAP 指导下 CHCF 质量控制及在体、离体研究策略流程

Fig.1 Flow chart of CHCF quality control and research strategy *in vitro* and *in vivo* guided by BAP

复疗效,存在用药安全隐患。虽个别 CHCF 初步阐明药效物质,但研究还不够深入。作为在中医院一线的临床医师,作者在全力研究 CHCF 的过程中,结合自己的临床及研究历程,同时参考了国内外大量的研究报告,深入学习了流行病学、循证医学、分子生物学、实验动物学、中药药理学等课程,提出 CHCF-EB-BRS 策略,该策略从 CHCF 的古医籍挖掘、现代医学循证评价到临床研究,确立某个复方的临床疗效,继之开展多项基础研究,从动物研究到离体组织及细胞层面的研究,从而验证该方的临床疗效及疗效基础物质。CHCF-EB-BRS 研究 CHCF 的策略正是基于多年来的复方研究,吸取了中药基本理论、药理学、药物制剂学、化学、分子生物学等研究成果,逐步发展起来的,已经初步解决了部分中药复方的药效学物质基础,对其结构、含量进行了初步阐明。

[参考文献]

[1] Cheung F. TCM: Made in China [J]. Nature, 2011, 480 (7378): S82-S83.

[2] 闫奎坡. 冠心病 II 号心脏保护作用的物质基础及其舒张大鼠胸主动脉机制的研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2012.

[3] Stone R. Biochemistry. Lifting the Veil on traditional Chinese medicine [J]. Science, 2008, 319 (5864): 709-710.

[4] Xu Z. Modernization: One step at a time [J]. Nature, 2011, 480 (7378): S90-S92.

[5] Desmet P A. Herbal remedies [J]. N Engl J Med, 2002, 347 (25): 2046-2056.

[6] Ma Y, Sun S, Peng C K. Applications of dynamical complexity theory in traditional Chinese medicine [J]. Front Med, 2014, 8 (3): 279-284.

- [ 7 ] 陈永法.《欧盟传统植物药注册程序指令》对中药国际化的影响[J]. 国际医药卫生导报, 2005(19): 83-85.
- [ 8 ] “九五”以来中医药学科发展报告(1996-2007 年). 第 2 部分[R]. 2008.
- [ 9 ] 姬航宇. 基于多层次文献挖掘的经方用量策略研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2012.
- [10] 杨莎莎. 以方元为核心的经方组方规律研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2012.
- [11] 许传华. 伤寒经方治疗糖尿病周围神经病变的证治规律研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2012.
- [12] 刘宏涛, 闫奎坡, 刘雅芳. 瓜蒌薤白半夏汤加减治疗冠心病心绞痛的 Meta 分析[J]. 中国现代医生, 2012, 50(30): 85-87.
- [13] 闫奎坡, 朱翠玲, 孙彦琴, 等. 丹参多酚酸盐注射液治疗不稳定心绞痛的 Meta 分析[J]. 中国中医急症, 2015, 24(5): 775-778.
- [14] 李露露, 朱翠玲, 闫奎坡, 等. 芪苈强心胶囊对缺血性心肌病患者生活质量的影响 Meta 分析[C]. 北京:第十届国际络病学大会, 2014.
- [15] Li X, Zhang J, Huang J, et al. A multicenter, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of the effects of qili qiangxin capsules in patients with chronic heart failure [J]. J Am Coll Cardiol, 2013, 62(12): 1065-1072.
- [16] Yan K P, Guo Y, Xing Z, et al. Dan-Shen-Yin protects the heart against inflammation and oxidative stress induced by acute ischemic myocardial injury in rats[J]. Exp Ther Med, 2012, 3(2): 314-318.
- [17] Huang X, Qin F, Zhang H M, et al. Cardioprotection by Guanxin II in rats with acute myocardial infarction is related to its three compounds[J]. J Ethnopharmacol, 2009, 121(2): 268-73.

[责任编辑 刘德文]