

关于中药复方研究的几点思考

马悦颖¹, 李沧海², 李兰芳¹, 霍海如^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所唐氏中药研究中心, 北京 100700;
2. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

[摘要] 目的: 综述近年来中药复方化学和药理研究方法的进展。方法: 查阅近年来关于中药化学和中药药理研究方法的文献, 进行归纳整理并分类汇总。结果: 回顾文献并结合作者实验室最近研究工作, 提出了对中药复方研究方法的一些思考: 加强中药药理指导下化学研究; 建立中药复方化学分析和代谢物组学研究方法; 建立药效物质评价指标体系和加强有效成分研究等。结论: 多学科协作、新方法的涌现会对复方研究带来发展。

[关键词] 中药复方; 中药化学; 中药药理

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2006)06-0068-04

Development of the Research Methods Based on the Characteristics of the Traditional Chinese Prescription

MA Yue-ying¹, LI Cang-hai², LI Lanfang¹, HUO Hai-ru^{1*}

(1. Tang Center for Herbal Medicine Research, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Medical Experimental Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To review the development of the research methods of the chemistry and pharmacology of the traditional Chinese medicine(TCM) in recent years, and present some thoughts. **Methods:** Papers reported in journals were consulted and classified, according to the research methods of the TCM. **Results:** Combining the summary and the latest studies of our laboratory, some thoughts about TCM were offered, such as strengthening the research of chemistry; establishing the study methods of the metabonomics; evaluating the pharmacodynamic material; studying the effective compounds, and so on. **Conclusions:** The deeper cooperation among the correlative subjects and flood of new thoughts would accelerate the study of TCM.

[Key words] Traditional Chinese prescription; chemistry of TCM; pharmacology of TCM

中药复方是中医用药的主要形式,也是中医治法则在组方用药上的具体应用,显示了传统医药防病治病的特色。利用现代科学方法和先进的技术手段阐明中药复方治疗作用的物质基础及其生物效用机制,不仅对阐明中医药理论内涵具有特别重要

的意义,而且也是发挥传统医药资源优势,创新民族新药的一条重要而有效的途径。

1 中药复方化学和药理研究现状

1.1 中药复方化学研究 中药复方是一个高度复杂的化学物质体系,其复杂性不仅表现在组成方剂的化学组分的复杂性及各组分相互关系的复杂性,也体现在方剂与人体相互关系的复杂性^[1]。中药复方诸药在共同煎煮时,发生的物理或化学反应,导致各单味药中成分溶出量增减,甚至产生新物质,使全方产生增效、减毒或改性等药效作用。如四君子汤

[收稿日期] 2006-05-24

[基金项目] 国家自然科学基金重大项目资助(NO: 90209006)

[通讯作者] * 霍海如, Tel: (010) 64041008; E-mail: hrhuo@sohu.com

由党参、茯苓、白术、甘草组成,前三药分煎或合煎,总溶出量变化不大,加甘草则溶出物大增^[2]。如黄连和吴茱萸配伍,小檗碱含量较单味黄连煎液降低 37%,并初步发现小檗碱和吴茱萸中黄酮类化合物生产沉淀^[3]。

我国中药化学研究方法从凭借经验观察药材的外观形态、气味,进入到利用超临界萃取、超滤、逆流色谱等来研究中药的物质基础^[4]。目前已发展到利用 X-射线衍射技术分析含矿物类中药的方剂的质量^[5],应用核磁共振技术对中药天麻及其伪品进行鉴别^[6]。指纹图谱定性、各种气相色谱-高效液相色谱及毛细管电泳手段也已用于中药化学成分的研究。

1.2 中药复方药理研究 药理研究是中药复方现代研究中不可缺少的环节,通过药理研究,不但可以揭示方剂的组成原则和配伍变化,也可为开发中药的新方剂、新制剂提供科学依据。目前已涌现出许多行之有效的中药复方药理研究方法,大致可分为全方研究和拆方研究两大类。由于药效是复方整体起作用,因此首先要进行全方研究。全方研究有助于药效学的研究,并说明药效与临床治疗作用之间的相关性,但在揭示中药复方的组方规律存在不足。拆方研究可说明中药复方的配伍关系和组方理论,通过拆方分析得出的规律性认识,可为研制中药复方新药提供可靠的依据。对许多首方剂拆方后进行深入的现代复方药理研究,在一定程度上证实了方剂配伍的合理性。拆方研究对筛选方剂的有效成分、优化方剂的配伍不失为一种好的方法^[7]。

近年来,新技术、新方法在中药药理研究中不断被采用。研究手段除利用整体反应、组织和细胞反应、生化测定外,一些先进的技术如细胞因子、神经递质等生物活性物质测定、离子通道、基因、受体功能分析等手段均已引入中药药理学领域。细胞重组技术、核酸探针和分子杂交技术、聚合酶链反应、杂交瘤和单克隆抗体技术等分子生物学技术用于中药对基因表达与调控影响的研究也成为热点。基因芯片、蛋白质芯片、组织芯片等生物芯片的综合运用,并与中药复方组方原理君臣佐使、药味、药性理论及用药剂量相联系,全面分析构成复方诸要素之间的内在联系,将最终阐明复方中药组方的科学依据^[8]。

2 关于中药复方研究的一些思考

2.1 药理指导下的化学研究 以药效学为依据,建

立多学科交叉渗透的单味药材和中药方剂化学成分的高效分离、分析方法^[9]。①根据多指标药理研究结果找出复方汤剂的有效部位群或有效成分。采用植化方法对全方化学成分进行系统提取、分离和鉴定。其缺点是得到的有效成分不一定全是活性成分,因此应以药效为标准追踪复方活性部位和有效成分。②选择典型患者及合适动物,口服(灌胃)给药,一定时间后取出动物胃中内容物,分析比较灌胃前后汤剂成分种类和含量的区别;一定时间后抽取患者或动物的体液(血、尿、胆汁等),用 HPLC 等技术,先分析后制备,鉴定体液中相关成分。比较以上各化学部位群(或成分)的区别,根据药理指标找出可能的目标活性成分。③定量分析各目标活性成分。对参附汤体内代谢的化学成分进行了研究,大鼠灌服参附汤后,应用 EMF-MS 从大鼠尿液中检测到 3 个乌头生物碱卡米查林、塔拉胺、附子灵和一个人参皂苷的代谢产物 compound K,并认为乌头类生物碱以原形形式被吸收,人参皂苷经肠内细菌代谢后以代谢产物 compound K 形式吸收进入体内且均通过尿液排出体外^[10]。

2.2 建立中药复方化学分析和代谢物组学方法 当前制约中药复方基础研究的瓶颈是中药复方化学研究的技术与方法。中药复方是一个由许多化学成分或成分群组成的一个十分复杂的“复合体”,仅仅采用传统的中药化学和分析化学的方法、技术进行化学研究颇受局限,且效率低。因此,探索建立中药化学简便快速、高效规范、微量鉴定的新方法是非常迫切的。近年来,随着现代科学的高速发展,中药复方研究已渗入了最新实验研究的手段,如超导二维核磁共振谱、软电离质谱、基质辅助激光解析飞行时间质谱、串联质谱、电子喷雾液质联用色谱、制备型 HPLC、HPCE、SFC 等分离分析技术联合运用以及基因芯片技术和蛋白质组相关分析技术等,为中药复方的化学成分和体内成分分析研究提供了简便、快速高效的技术手段。特别是 HPLC/CEMS/MS 的联用,可对其十几种至几十种化学成分进行指纹图谱分离鉴别,确定复方的主要化学成分及这些成分的含量关系,形成复方的化学成分集——多成分的化学指纹谱,解决复方化学物质基础这一瓶颈问题。萧伟等^[11]对六味地黄软胶囊谱效关系进行了研究,考查不同溶剂提取物与其相应的药理效应的相关性,通过指纹图谱相似度计算分析发现,正丁醇

提取物与六味地黄软胶囊的指纹图谱相似度最高, 乙酸乙酯提取物次之。将相似度结果与药理实验数据相关联, 经统计学处理分析, 提取物的指纹图谱与六味地黄软胶囊指纹图谱的相似度越高, 其与六味地黄软胶囊的药理效应就越接近。可以预见谱效关系研究将是中药复方研究发展的方向之一。

代谢物组学是以代谢物分析的整体方法来研究功能蛋白如何产生能量和处理体内物质, 评价细胞和体液内源性和外源性代谢物浓度及功能关系的新兴学科^[12]。通常采用绘图技术、现代分析测定方法以及应用计算机技术和统计学方法, 以高通量实验和大规模计算为特征, 完成细胞或生物样品所有代谢物的“指纹图谱”。它通过整体代谢物图谱直接认识生理、生化状态, 并通过信息学分析方法得出内源性物质与外源性物质(化学物质和中药)相互作用的复杂关系。在中药复方活性成分筛选中, 代谢物组学作为一种系统研究方法, 能评价动物整体药理反应, 弥补体外高通量筛选技术只能在分子和细胞水平评价化合物生物活性的缺陷。进行中药复方代谢物组学研究, 追踪复方化学成分在体内变化过程、作用强度和毒副作用, 对全面阐明中药复方在体内变化规律、特点和药效学物质基础, 无疑会起到积极作用。

2.3 建立药效物质筛选与评价的动物实验模型和指标体系 辨证论治理论是中医学理论体系的精华, “证”是核心和枢纽, 其理法方药都是针对“证”而设立的。因此, 在中药复方药理研究中, 尤其是复方药效物质的筛选中, 最好是能采用符合中医临床辨证论治实际的模型。在工作中, 一方面可以从疾病病理机制以及中医某些常见证候的病理生理基础出发, 采用多因素进行生物学模拟, 努力建立适应于中药复方研究特点的整体动物模型、病症结合模型、证候模型; 另一方面也要利用多种生物学和药理学等技术与方法, 建立适应于中药复方药效有效成分筛选的细胞药理模型^[13]。分子生物学的研究表明: 人类遗传病、肿瘤、心脑血管病等多种疾病与基因的突变、缺失、插入、表达、调控异常有密切关系。目前已经成功地复制出多种转基因动物模型, 如家族性高胆固醇血症模型、镰刀状细胞贫血模型等, 这些模型具有在分子、细胞水平上操作, 器官主体水平表达的特点, 将分子、组织细胞、器官、整体有机的结合起来, 更接近疾病本身, 又有病症结合的特点。因

此, 建立中药药理动物模型的科研规范、研究体系, 为中药研制和开发、中医药学术的发展提供了坚实的实验基础。

2.4 加强中药复方有效成分的深入研究 目前对于复方中药中的有效成分研究主要有三种思路: 有效浸出物 \rightarrow 有效部位(群) \rightarrow 有效成分^[14]、血清药理学^[15, 16]和有效成分组学^[17]。其中有效成分组学研究思路是一个比较新颖的研究思路, 它是在高通量药物筛选技术在我国迅速发展提出的, 是应用高通量药物筛选技术研究中药有效成分, 探讨中药药理作用机制和中药理论的有益尝试。运用这种研究思路对中药复方有效成分进行研究包括四个部分: 高通量筛选模型的选择与建立, 样品制备, 复方样品活性分析和理论分析。这种研究思路侧重于药理活性的研究, 活性的高通量筛选为其优势, 在进行活性筛选的同时也阐明了复方中药的一些作用机制。另外, 它还有一点独特的优势, 即可以了解中药复方成分中的几乎全部的有效成分, 这对于质量控制具有很大的指导意义, 可以使中药复方的质量控制模式实现从指标成分控制向有效成分控制的飞跃。对于有效成分的实验研究应该为阐明中药复方的组方理论及作用机制、作用靶点提供有力的实验依据, 推进中医药理论的发展^[18]。

2.5 重视应用多学科交叉研究 当代系统科学和非线性科学思想、模糊控制理论、化学计量学、多维分析信息处理技术, 为处理复杂系统的住处提供了多种方法, 传统中药方剂的研究有了新的内涵。计算机模拟研究复方是北京中医药大学基于分子间相互作用而建立的研究中药复方的系统——北大九源药物分子设计系统。该系统包括中草药成分三维结构数据库、受体三维结构数据库、代谢库、具有生物活性数据的化合物数据库(MDDR)为核心的知识库系统, 以分子对接(包括软对接、柔性对接及组合对接)为核心的分子间相互作用计算机模块, 以三维-定量构效关系(3D-QSAR)为核心的构效关系及分子相似性研究单元以及包括量子力学、分子力学、分子动力学、蒙特卡罗方法等用于计算分子性质及进行构象分析等计算机模块, 利用这个系统可开展中药复方作用机理研究^[19]。中国科学院联合软件开发在 MDL 化学信息管理系统基础上建立了中国天然产物数据库(CNPDTM), 为中国的新药、天然产物及中药复方等相关研究提供了天然产物、生物活性数据、原植物来源

及中药传统应用融为一体的信息。现已用于虚拟筛选方法发现活性化合物的研究^[20]。

结合本实验室的最近研究(另文发表),我们对桂枝汤中的化合物进行分离、结构鉴定、药理活性研究,在此基础上,利用计算机学习、知识发现等技术,构建数学模型,对同系化合物进行构效关系的预测。其主要工作可分为两大部分,第一部分是方法研究和建模分析,即基于已报导的三环系环氧合酶 2 (COX₂) 抑制剂结构和活性数据,利用知识表示的手段进行知识的表达和提取,进一步采用人工神经网络、支持向量机、遗传算法等人工智能方法,设计分类器进行训练,搭建有机物活性预测及特征筛选系统,从而找到适用于本问题的建立构效关系的人工智能方法;第二部分是在获得有桂枝汤苯丙烯类化合物实验数据之后,根据前面找到的适合本问题的人工智能方法,在实际数据上训练模型,实现对同系化合物的活性预测与特征筛选。我们将人工智能方法用于药物相互作用的基础研究,通过改良二维定量构效关系的结构参数,建立了遗传算法支持向量回归数学模型,初步解决了桂枝汤苯丙烯类成分的活性预测问题,为中药及其方剂活性成分群或系列化合物中微量或难分离成分的生物活性评价方法的建立,作了有成效的探索,为节约研究工作的实验成本并为新药设计提供指导。

3 展望

中药复方基础研究是一个非常庞大的工程,它所涉及的学科很多,不仅包括药理学和药物化学的交叉,而且包括中医学与物理学、化学、生物学、数理统计学、计算机学等现代科学技术的交叉。复方配伍研究应该以化学分离和制剂分析技术为手段,以药理药效指标为尺度,以临床疗效为核心,有重点、有顺序地从多学科、多角度、多环节进行。我们必须认识到这一过程需要很长的时间,需要很多人的共同努力和不断尝试,同时我们也有理由相信,随着科学技术的发展,更多相关边缘学科的产生将逐步揭开复方配伍的奥秘所在。

[参考文献]

[1] 衷敬伯,王阶,王永炎.方剂的复杂性与中药新药开发[J].中国中药杂志,2002,27(5):321-323.

[2] 王涛,江滨,曾元儿.四君子汤合、单煎液中甘草酸含量的测定[J].广东药学,2002,12(4):8-9.

[3] 叶富强,徐颂芬,黄连,吴茱萸不同配伍的化学成分研究进展[J].中成药,2005,27(10):1209-1210.

[4] 刘红宇,贺福元.中药(复方)提取方法、技术研究进展[J].中医药导报,2006,12(2):91-94.

[5] 徐海星,刘小平,瞿国义,等.中药材海金沙 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱鉴定[J].中药材,2006,29(2):123-126.

[6] 黄占波,宋冬梅,陈发奎.天麻化学成分的研究(I)[J].中国药物化学杂志,2005,15(4):227-228.

[7] 周大兴,李岚.从现代中药药理学研究论重要特色.浙江中医学院学报,2001,25(2):68-70.

[8] 魏永燕,刘培勋.中药复方现代研究新技术新方法的进展[J].中国中西医结合杂志,2005,25(11):1050-1052.

[9] 李伟东,蔡宝昌.中药复方研究思路的探讨[J].中国新药与临床药理,2004,1(3):217-219.

[10] 沈燕.参附汤体内代谢化学成分的初步研究[J].沈阳药科大学学报,2001,18(1):23-24.

[11] 萧伟.六味地黄软胶囊治疗治疗更年期综合症的谱效关系研究[D].南京:南京中医药大学,2003.

[12] 刘昌孝.代谢组学在中药现代研究中的意义[J].中草药,2004,35(6):601-605.

[13] 马春涛,雷燕.中药复方效应物质基础的研究进展及展望[J].中国实验方剂学杂志,2003,9(3):48-49.

[14] 石任兵,刘斌,石钺,等.中药复方化学与创新药物研究[J].世界科学技术——中医药现代化,2003,5(6):6-12.

[15] 王本祥,周秋丽.关于中药活性成分的认识及其研究方法[J].中国中药杂志,2001,26(1):12-15.

[16] 曹洪欣,王喜军,于友华,等.中药复方安替威血清药物化学和抗 SARS 病毒试验研究[J].中国中药杂志,2004,29(3):281-282.

[17] 张永祥.中药药理学新论[M].北京:人民卫生出版社,2004.65-94.

[18] 李忠红,倪坤仪.中药复方有效成分研究进展[J].中成药,2006,28(1):114-117.

[19] 徐葆杰.中药复方的计算机模拟研究[J].化学进展,1999,11(2):202-204.

[20] Shen JH, Xu XY, Cheng F, *et al*. Virtual screening on natural products for discovering active compounds and target information. *Curr Med Chem*, 2003, 10: 2327-2342.