

中药药效物质基础的研究进展

尚沛津*, 李玉文, 张一恺, 王莎莎, 王若琳, 文爱东*(第四军医大学西京医院药剂科, 西安 710032)

中图分类号 R282 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)28-4000-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.28.36

摘要 目的:为中药以及中药复方制剂药效物质基础研究提供方法参考。方法:以“中药”“中药发展”“药效物质基础”“Traditional chinese medicine”“Material basis of efficacy”为关键词,组合查询2006—2014年中国生物医学、中国知网、PubMed数据库中相关文献,总结归纳后,简述中药药效物质基础研究方法,并探讨建立多元化中药指纹图谱库的重要意义。结果与结论:检索到相关文献94条,其中有效文献41条。中药药效物质基础研究经历了由外而内、由浅入深的细化过程;采用高效液相色谱和质谱等现代化检测体系,结合代谢组学、蛋白质组学等生物技术,是筛选活性化合物群的重要手段。多种现代化检测体系结合交叉应用于中药药效基础研究,有利于筛选活性化合物群;建立多元化中药指纹图谱库,有利于实现中药标准化和现代化。

关键词 中药;药效物质基础;指纹图谱

中药复杂的成分和不甚明确的作用机制无疑是制约其发展的两大难题。其成分复杂主要体现在以下几个方面:(1)固有化学物质种类多;(2)炮制和加工过程中,药物相互反应产生新的化合物^[1-2];(3)经人体代谢产生的有生物活性的新的化合物;(4)经人体微生物代谢产生的新的化合物^[3]。其机制多样主要体现在:(1)多种成分作用于一个相同的靶标,产生协同作用^[4];(2)调节人体内酶的活性,影响物质转运,降低血浆清除速率,延长作用时间,提高生物利用度;(3)克服药物抵抗作用,尤其是针对微生物感染和抗肿瘤治疗过程中产生的药物抵抗和多种药物耐受的现象。

中药作为一个整体发挥药效,且整体药效优于任何单体或拆分单体,如黄连中含多种生物碱,其综合作用强于其中任何一种单体^[5]。该理论突出了中药多成分、多靶点、散弹式综合治疗的优越性,但对中药的研究也构成了非常大的困难和挑战。迄今为止,中药药效物质基础研究还未能建立一种行之有效的现代化检测体系。我们不能再停留在用西药思维方式研究中药的怪圈,应该结合中医药理论,从整体上寻找适合中药药效物质基础研究的新方法、新手段^[6]。笔者以“中药”“中药发展”“药效物质基础”“Traditional chinese medicine”“Material basis of efficacy”为关键词,组合查询2006—2014年中国生物医学、中国知网、PubMed数据库,得到相关文献94条,其中有效文献41条。对文献进行分析归纳后,就中药药效物质研究方法和多元化中药指纹图谱建立两个方面作如下综述,以期为实现中药的质量控制和标准化管理、开发多靶点综合治疗药物和中药现代化提供理论参考。

1 中药药效物质研究方法

1.1 体外提取药理学研究

中药体外提取是方剂研究过程中经典的必不可少的环

节,分析和鉴定方剂的固有成分,可以为进一步研究中药药效物质奠定良好的基础^[7]。Luo LQ等^[1]对补肾益气汤分析结果表明,60%乙醇溶液体外提取效果最佳;采用高效液相色谱-电喷雾飞行时间质谱联用(HPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS)法分析提取液化合物种类,结合动物模型体内细胞因子分泌,比较不同提取方式化合物种类以及动物模型体内炎症因子水平,得到共有的38种化合物,对此进行研究可以进一步找到造成药效反应和药效差异的物质基础。

1.2 体外谱效相关性研究

谱效相关性研究是指运用色谱和光谱手段综合分析中药体外提取物质谱。其特点是选择特征指纹,联系体内外实验药效学变化参数,并利用适当的统计学方法,将“谱”和“效”联系起来,然后采集较稳定的有标志意义的特征峰,用于单味药质量控制和方剂药效物质基础研究^[8-9]。例如采用红细胞凝集活性探讨板蓝根抗病毒活性试验中,板蓝根HPLC指纹图谱显示2号和11号(保留时间分别为7.23、43.00 min)峰的相对峰面积较大,说明在这两个峰处家兔红细胞的凝集作用较强,可能为板蓝根抗病毒活性的特征指纹峰^[10]。可优先选择此特征峰用于板蓝根的进一步药效物质基础研究和质量控制。

1.3 血清色谱法研究

血清色谱法可以排除机体对药物代谢的影响,更深入地了解中药的系统调节机制,鉴别和检测血中移行成分(包括内源性和外源性生物活性物质)。探索这些化合物群的药理作用和代谢规律,阐明疾病的发生、发展和药物作用关系,将有助于我们快速准确地找出中药药效的基础化合物群^[11]。王喜军等^[12]采用血清药物化学理论分析酸枣仁汤血中移行成分,对比小鼠用药前后血清体外色谱,共发现9个血中移行成分,并鉴定了其中7个移行成分,为进一步阐明各成分药理作用提供

compounds-the dominant volatile class of the essential oil poor *Sonchus arvensis* subsp. *uliginosus* (Bieb.) Nyman.

* 硕士,药师。研究方向:心血管疾病的中药治疗。E-mail: peijin@fmmu.edu.cn

通信作者:主任药师,博士生导师。研究方向:中药药效物质和临床合理用药。电话:029-84773636。E-mail: aidongwen71@hotmail.com

[J]. *Nat Prod Commun*, 2009, 4(3):405.

[45] Guil-Guerrero JL, Giménez-Giménez A, Rodríguez-García I, et al. Nutritional composition of *Sonchus* species (*S. asper* L., *S. oleraceus* L. and *S. tenerrimus* L.) [J]. *J Sci Food Agric*, 1998, 76(4):628.

(收稿日期:2015-06-03 修回日期:2015-09-15)

(编辑:林 静)

了帮助。

1.4 药效差示血清色谱法研究

文爱东等^[13]首先提出药效差示血清色谱法,并认为中药在机体产生药效变化时,机体血清药物成分变化差中必定最小范围而最大程度地包含真正的药效物质。借助色谱法建立中药对症产生最大药效和最小药效时血清中有效化合物物质谱,然后以差示法表达并初步分离出该组方在体内的药效物质基础,并将分离产物用于对症模型,以药效验证结果反馈性调整差示色谱条件,直至确认药效物质。随后,其以血清流变学全血黏度为药效指标,借助HPLC建立红花提取物最大药效和最小药效时含药血清指纹图谱,得到红花药效基础羟基红花黄色素A,最大药效时间为给药后3 h^[14]。该方法证实了红花的药效物质基础,为进一步研究其他中药及其方剂药效物质基础提供了新方法、新思路。

1.5 中药拆方分析研究

中药拆方分析研究是在中医理论的指导下中药研究的常用方法。通过此法分析体内外化合物种类、含量或药效学指标的变化可实现以下几个目的^[15-16]:①确定方剂最佳组合和最佳配比关系,精简方剂;②确定方剂中主要药效物质基础或化合物群;③诠释中药组方的合理性和科学性。王喜军等^[12]检测酸枣仁汤全方和各药物缺味配伍时血中移行成分差异结果显示,9种入血成分只有在方剂全方配伍时才能被机体选择性吸收。刘欣等^[17]对凉血活血胶囊进行拆方研究结果表明,全方组作用优于各拆方组,尤其是抑制人外周血白血病T(Jurkat T)细胞活性和降低肿瘤坏死因子 α (TNF- α)分泌的作用。

1.6 中药蛋白质组学、代谢组学、基因组学研究

中药蛋白质组学将其重点放在可能涉及到特定功能机制的蛋白质群上,研究实验条件下蛋白质的表达情况,将成分复杂的中药成分和蛋白质的表达、修饰相关联,以表明中药方剂多种有效化合物的多靶点综合作用,揭示中药方剂毒性、药效物质基础和作用机制^[18]。类风湿性关节炎(RA)大鼠受损关节滑膜组织的一些蛋白表达水平发生改变,而当归拈痛汤有明确的抑制RA滑膜病理改变作用,使肌球蛋白轻链2、白细胞介素1受体和过氧化物酶等多种蛋白表达恢复正常,揭示其抗RA的机制可能为:①抑制组织局部的炎症反应信号通路;②保护细胞结构;③抑制氧化应激反应^[19]。

中药代谢组学通过方剂整体作用后代产物的一系列变化,能够整体、系统、全面地反映机体病理生理变化,分析生物体血清、血浆、尿液等体液中代谢产物含量变化,有助于我们寻找有标志意义的药效指标和毒性指标,进而阐明发病机制和中药药效物质基础,特别适合于成分复杂的中药研究^[20-22]。例如,大黄成分最优配比用于大鼠脑缺血再灌注,能调节血浆和尿液中代谢产物恢复正常^[23]。Jun WX等^[24]研究熊胆粉作为传统中药治疗丙型肝炎的结果显示,熊胆粉可使丙肝模型树鼯体内代谢产物中38种小分子化合物水平发生变化,其中25种显著上调,13种明显下调。以上提示这些化合物中必然包含了中药方剂潜在的药效指标,可用于表征疾病发展程度和药物作用强弱,并进一步阐明药物作用机制。

中药基因组学是基于中药和基因对人体的整体调节作用,深入到分子水平和基因水平,寻找中药在基因组上的作用靶点、作用规律以及生物活性成分的片段基因,用于中药药效物质基础的发掘和体外合成研究中^[25]。例如四物汤(SWT)可

以激活核转录因子E2相关因子2(Nuclear factor-E2-related factor 2, Nrf2)以及该因子调节的相关基因(HMOX1、SLC7A11)。另有研究表明,SWT对H₂O₂诱导的人正常乳腺细胞(MCF-10A)凋亡同样有保护作用,并可使HMOX1、SLC7A11基因在小鼠肝脏和乳腺中表达呈剂量相关性上调^[26]。

1.7 细胞膜亲和色谱研究

细胞膜亲和色谱是将HPLC与细胞膜生物学和受体理论结合,利用细胞膜受体与药物间存在的特殊亲和力筛选中药活性成分的方法。细胞膜上存在大量药物作用靶点,只有能与细胞膜靶点结合的化学成分才有可能产生生物效应。该法具有色谱分离和细胞膜活性的双重功效,可以对受体结合药物实行定性定量分析,有利于中药复杂混合物的筛选和分离^[27]。朱建梁等^[28]采用鼠肾小球系膜细胞作为固定相筛选丹皮中活性成分,排除未与细胞膜结合的非活性成分后,确定丹皮酚是丹皮中主要有效成分,可作为控制丹皮及其制剂的质量标准。

2 建立多元化中药指纹图谱库的意义

中药药效物质研究过程同时也是各种检测技术,尤其是色谱和光谱技术在该领域应用不断深化、细化的过程。利用色谱和光谱技术建立中药“指纹图谱”已被广泛应用于中药注射剂和部分固体制剂的质量控制和含量测定,实现了对其制剂的质量和稳定性的良好控制^[29]。中药指纹图谱作为一种综合的、可量化的质量控制手段,兼具整体性与模糊性的特点,适用于中药质量控制^[30]。指纹图谱的建立过程一般由色谱图获取和相似度评价两部分组成,相似度评价的最终目的是通过样品色谱图与对照品图谱比较,判别样品的真伪及是否合格。即通过对具体化学成分物理结构进行表征,可以对方剂复杂体系所含化学成分进行比较直观全面的描述,以表征该类混合物^[31]。

化学药品、抗生素和生物制品有其西药标准,而传统中药成分复杂,每一种单体作用往往无法预知,各成分互相影响,我们应该建立相应的中药标准^[32]。利用质量严格控制、临床作用明确的药品,结合体外提纯分析、血清药物分析、细胞膜亲和分析以及蛋白质、基因、代谢组学分析等多种手段进行图谱分析,形成“多元化中药指纹图谱”,充分探究引起药效和不良反应的药效学基础,寻找能够代表中药主要功效和不良反应的药效学指标,使之成为指纹区相应的识别指标或特征峰^[29]。划定指纹图谱波动范围,制定有借鉴和标准意义的标准图谱,建立中药标准指纹图谱库,通过比对图谱相似性,严格控制指定指标的浮动范围,从而控制中药质量^[33]。

3 结语

中药药效物质基础研究是一个系统工程,而传统中药也无疑是一个有待开发的宝库。我们必须采取多学科交叉的方式,开拓思路,着眼方剂二次开发战略,规范中药市场,使中药方剂成为我国拥有自主知识产权的又一个新兴产业^[34-35]。借鉴西药发展过程中取得的优秀成果,并将之运用到中药之中,开发中药新剂型,寻找适合中药给药的新途径;利用现代工艺,如将中药超微粉碎,加工成使用方便、易于携带的混悬剂、胶囊剂和滴丸剂等,或药效可控的速释、缓释、控释以及肠溶剂等,或结合新工艺制成微囊、包合物和固体分散体等,满足不同病理条件的需求^[36]。还可结合现代制剂工艺,实现对中药的现代化改造和修饰,使药物更加稳定、药理作用更强^[37]。

中药在临床应用过程中,也要警惕类似西药发展过程中

所发生的药物不良事件,以及做好应对不良事件的紧急处理措施^[38]。相比西药,中药应更加注重不同药物间的配伍问题,如单味药之间、单味药与“方”之间、“方”与“方”之间、不同剂型之间、“方”与西药之间等,以到达增效减毒的效果^[39]。中药的用法用量以及所用方剂的种类应结合实际病情加以调整,在中医辨证思想和中医症候分类的基础上建立中药临床应用以及药效学评价原则^[32]。利用动物模型或相关参数较为准确地对病症进行表征,适时变换剂量、种类和配伍,类比西药对于疾病的控制手段,区分重症控制阶段、病情稳定阶段和康复巩固阶段,合理应用以提高疗效、降低不良反应,这不仅是中药方剂现代化和国际化的要求,也是临床合理应用的关键^[40]。

化学药品和抗生素的研究已经到达一个相对的瓶颈阶段,各国学者将会把目光投向有着巨大潜能的天然药物,中药必将在其中占据重要地位。我们虽拥有如此巨大的资源,而研究技术却相对滞后,还没有一个有效的研究体系,必将迎来巨大的竞争和挑战。所以在未来的中药发展中,我们首先要使中药的生产、研究、流通和使用规范化,尤其是在药效物质基础研究领域,让中药研究标准成为未来天然药物研究领域不可或缺的重要标准^[41]。

参考文献

- [1] Luo QL, Nurahmat M, Li MH, *et al.* Pharmacological investigation of a HPLC/MS standardized three herbal extracts containing formulae (Bu-Shen-Yi-Qi-Tang) on airway inflammation and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in asthmatic mice[J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(11):1 439.
- [2] 周思思,马增春,梁乾德,等.基于UPLC/O-TOF-MS分析附子煎煮过程中化学成分的变化[J]. *中西医结合学报*, 2012, 10(8):894.
- [3] 韩旭华,牛欣,杨学智.方剂药效物质系统与单味药成分之间的非线性关系[J]. *中华中医药杂志*, 2006, 21(5):289.
- [4] 刘以霞.浅谈中药七情在炮制中的应用[J]. *内蒙古中医药*, 2011, 30(22):43.
- [5] Yang Y, Zhang Z, Li S, *et al.* Synergy effects of herb extracts: pharmacokinetics and pharmacodynamic basis[J]. *Fitoterapia*, 2014, doi:10.1016/j.fitote.2013.10.010.
- [6] 彭苗苗,方芸.中药复方药效物质基础研究进展[J]. *中国药房*, 2010, 21(7):659.
- [7] 董海燕,董亚琳,贺浪冲,等.白术抗炎活性成分的研究[J]. *中国药理学杂志*, 2007, 42(14):1 055.
- [8] 谭振鹏,夏英杰,王柳萍,等.中药谱效关系研究进展[J]. *中国民族民间医药*, 2013(2):20.
- [9] 赵海燕,韩旭.中药谱效关系的研究思路与应用进展[J]. *世界中医药*, 2014, 9(4):537.
- [10] 孙琴,马丽,李兰,等.板蓝根中红细胞凝集效应组分的谱效关系研究[J]. *中草药*, 2012, 43(1):125.
- [11] 张爱华,孙晔,闫广利,等.“血清药物化学-药代(效)动力学-系统生物学”三维整合体系研究中中药复方的构建及其在茵陈蒿汤分析中的应用[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(21):3 786.
- [12] 王喜军,杨波,张爱华,等.酸枣仁汤的血清药物化学及不同配伍变化对血中移行成分的影响研究[J]. *中药药信*, 2013, 30(4):44.
- [13] 文爱东,乔逸,杨志福,等.方剂药效物质基础研究新方法:“药效差示血清色谱法”[J]. *第四军医大学学报*, 2008, 29(8):673.
- [14] 文爱东,乔逸,杨志福,等.药效差示血清色谱法研究红花的药效物质基础[J]. *中国药师*, 2010, 13(5):624.
- [15] 蔡巧玲,王莹,崔波,等.半夏泻心汤及不同配伍对大鼠肝微粒体中黄芩苷和黄芩素代谢的影响[J]. *中药材*, 2012, 35(8):1 826.
- [16] 贾英杰,李小江,张丽丽,等.中药复方的拆方研究进展[J]. *实用中医药杂志*, 2011, 27(8):578.
- [17] 刘欣,李萍,赵京霞.凉血活血胶囊全方及拆方对 Jurkat T 淋巴细胞增殖、活化及释放细胞因子的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(22):198.
- [18] 陆洁,刘静,申秀萍.蛋白质组学在中药药理研究中的应用[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(5):243.
- [19] 袁立霞,李青原,易国仲,等.当归拈痛汤防治类风湿性关节炎大鼠滑膜病变的蛋白质组学研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2013, 24(6):565.
- [20] 张爱华,王喜军.中医药的代谢组学研究[J]. *世界科学技术:中医药现代化*, 2013, 15(4):643.
- [21] 杨爱华,窦志华.茵陈蒿汤药效物质基础研究方法与配伍机制的研究进展[J]. *中国药房*, 2013, 24(19):1 812.
- [22] 杨改红,任刚,肖锡林,等.代谢组学在中药研究中的应用进展[J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(33):6 582.
- [23] Guan Q, Liang SW, Wang ZH, *et al.* ¹H NMR-based metabonomic analysis of the effect of optimized rhubarb aglycone on the plasma and urine metabolic fingerprints of focal cerebral ischemia-reperfusion rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 154(1):65.
- [24] Jun WX, Li YG, Hua ZA, *et al.* Metabolomics and proteomics approaches to characterize and assess proteins of bear bile powder for hepatitis C virus[J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(6):653.
- [25] 陈士林,朱孝轩,李春芳,等.中药基因组学与合成生物学[J]. *药学学报*, 2012, 47(8):1 070.
- [26] Liu M, Ravula R, Wang Z, *et al.* Traditional chinese medicinal formula Si-Wu-Tang prevents oxidative damage by activating Nrf2-mediated detoxifying/antioxidant genes[J]. *Cell & Bioscience*, 2014, 4(1):8.
- [27] 张聪聪,陈刚,刘家兰,等.细胞膜色谱法在中药研究中的应用进展[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(12):1 881.
- [28] 朱建梁,黄丽妹,卜文婕,等.系膜细胞膜固相色谱法研究丹皮中的效应成分[J]. *安徽大学学报*, 2013, 37(1):104.
- [29] 张振巍,张娜娜,石磊,等.黄芩药材指纹图谱研究[J]. *中国药师*, 2013, 16(10):1 449.
- [30] 潘学强,黄菊英,龚慕辛,等.谱效相关分析方法在中药药效物质基础研究中的应用进展[J]. *北京中医药*, 2013, 32(10):731.
- [31] Xia YG, Yang BY, Liang J, *et al.* Quantitative analysis and fingerprint profiles for quality control of Fructus Schisandrae by gas chromatography: mass spectrometry

