·思路与方法学·

中药复方方法学研究进展

谭　玮[1]　宋崇顺[1]　高　月[2]

中药复方是中医用药的主要形式,复方中的活性成分是中药发挥药效的物质基础,研究中药复方中的化学成分是了解和掌握中医扶正祛邪、辨证论治及君臣佐使等配伍规律的必由之路。尽管数年来国内外学者一直致力于阐明中医学的方药理论,即中药复方的作用机理,但由于中医药理论的复杂性,至今难以为其疗效提供科学依据。因此,我们要利用现代的科学方法及仪器设备,找出一条适合我国国情,并能发挥中医药特色的创新道路。本文旨在对近年来中药复方的研究状态及方法作一回顾,并为复方中开发有中国特色的新型药物提供思路[1]。

1　中药复方研究存在的问题

数十年来,中药复方的研究已经产生了令人瞩目的成果,为更好的阐明复方作用机理奠定了基础。但是,由于各种原因的影响,大部分中药复方仍停留在开方、抓药、自行煎煮的落后局面上,中药复方的品种相对单一,为丸、散、膏、丹、汤,无法和现代的制剂品种相适应[2]。但在日本和韩国,由于溶入现代科学技术,使中药研制出高效、标准制剂推向国际市场。如日本的救心丹,用高科技制药技术,并按国际药品标准加工生产,挤入了国际市场,为日本创造了巨大的经济效益[3,4]。因此,我国中药复方的发展面临着以下几个问题:(1)中药复方的研究多限于对整体动物的研究,而缺乏从分子和细胞水平进行系统的研究。(2)我们在研究中药复方的时候,多沿用西方医学的思路。(3)中药复方缺乏合理的客观实验室的数据,并且对于中药复方中的化学成分研究还不充分。(4)缺乏多学科的交叉和交流。综上所述,尽管我国是中药复方的发源地,但现在已经面临西方国家及东亚的日本和韩国的巨大挑战,所以我们对中药复方的机理及其配伍规律的研究任重而道远。

2　中药复方的研究方法

2.1　中药复方的有效成分组学的研究　中药复方是一个复杂的体系,复方中的每一味药,对于其所包含的化学成分来说,就是一个小复方,而且中药复方进入体内经过吸收、分布、排泄等动态过程后,很难掌握其所有活性成分。应用现代医学方法研究中药复方作用,已有了相当长的历史,但在中药作用机理研究方面仍然处于初步认识阶段,多数研究仍停留在药效观察水平。造成这种现象的原因有两个方面,一是成分复杂,目前应用的方法不能对全部(或大部分)成分进行研究和观察,二是中药作用机制复杂,是多靶点作用,要全面观察存在极大困难[5,6]。

因此,有学者提出了有效成分组学的概念。有效成分组学(effective compounds group)概念的提出,是在总结中药现代化长期研究经验的基础上,结合实际工作中得到的认识,经过综合分析获得的结果[7]。中药复方的有效成分组学是指中药复方中所含有的所有与该复方临床应用目的密切相关的药理活性成分。中药复方中的成分可分为有效成分、生物活性成分及无活性成分。我们研究中药复方的一个目的即获得其复方中的有效成分,当然有效成分相对于不同"证"或者同一"证"治疗目的不同来说是不同的。所以,不少学者提出了一些有意义的观点和构思,如中药复方化学成分系统分离与鉴定的三元设计方案、中药复方多成分多途径协同作用的霰弹理论、血清药理学研究有效成分及中药天然组合化学库与多靶作用机制等,这些对于如何开展中药复方化学成分的研究工作具有一定的启发和参考价值[8]。目前,在中药及中药复方有效成分研究中形成了两种研究思路[9]:一种是以中药及中药方的传统功效为前提,从单味中药或多味中药复方拆方提取有效成分,寻找先导化合物,再进行结构修饰,如青蒿素经结构修饰后得到双氢青蒿素。另一种是以中医药理论为依据,对中药复方配伍,即君、臣、佐、使,整体观,协同、拮抗作用机制及其物质基础的研究,以获得优质、高效、安全、稳定、可控、"三效"(高效、速效、长效)、"三小"(剂量小,毒性小,副作用小)、"三便"(贮存方便,服用方便,携带方便)的现代中药。关于中药复方的有效成分的研究方法,可归纳如下。

2.1.1　药理活性指导下的植化分离　采用植化

作者单位:1. 北京中医药大学东直门医院(北京 100700);2. 军事医学科学院放射医学研究所二室

通讯作者:谭　玮,Tel:010-66931233,E-mail: skytw@sohu.com

万方数据

方法对全方化学成分进行系统提取、分离和鉴定。其缺点是得到的成分不一定全是活性成分[10]。

2.1.2 以单味药有效成分为指标,对全方制剂进行定性与定量 确定单味药主要有效化学成分作为指标性物质,采用各种分离与分析技术,对复方全方、各药配伍及各单味药制剂中指标性物质(成分)进行定性与定量,并且探讨制备条件、制备方式、配伍和剂型等对指标性物质和量的影响。有学者对六味地黄汤的化学成分进行分析后发现不同制备工艺,化学成分的质与量也不尽相同,复方中化学成分并不等于各单味药化学成分的简单相加,合煎液中化学成分种类多于分煎液。存在的问题仍然是难以全面反映复方作用的物质基础[11]。

2.1.3 以药效为标准追踪复方活性部位与有效成分 根据临床疗效,建立某一病症相对应的药理模型,对全方及其各种提取分离部位进行活性追踪,寻找复方产生某一药理作用的有效部位、有效组分和有效化学成分,同时分析其质和量与药效的关系[10]。

2.2 中药复方的拆方研究 目前,中药复方药理研究方法可分为全方研究与拆方研究两大类[12]。全方研究有助于药效学研究,并可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时存在不足。拆方研究包括单味药研究、药对研究、药组研究、撤药研究、聚类研究、正交设计研究、正交 t 值法、均匀设计等方法,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,为研制新的中成药提供可靠的依据。其中,按照拆方研究中药复方的指导思想不同,对中药复方拆方研究也有两种不同途径:正交试验法和拆方分析法。

2.2.1 正交试验法 正交试验法是按一定的正交设计表将一个方剂中的药物(因素)和剂量(水平)按一定规律设置,然后遵循这种规律性设计,以最少的实验次数得出尽可能最佳的实验结果[13,14]。由于传统的正交试验用方差分析及 F 检验,计算方法较繁,加之中药复方研究有因素多、水平少、实验误差较大等特点(因素常有 6~10 种药物,水平仅大、中、小剂量或用药及不用药 2~3 种,变异系数多在 10% 左右),应用更困难,因此人们在正交试验的基础上,对中药复方的拆方进行了改进,提出了正交 t 值法和直接试验设计技术(direct experimental design, DED)等方法进行拆方研究[15]。如王庆国等将直接实验设计技术用于研究半夏泻心汤类方的物质基础与作用原理[16]。

2.2.2 拆方分析法是依据中医药理论,按照中药复方的不同治法或君臣佐使配伍进行拆方,从而达到分析方中药物作用特点及作用原理的目的。拆方研究成功的例子是"当归芦荟丸"治疗慢性粒细胞白血病的研究。从复方中通过临床试验和实验药理学研究发现主要有效成分只是青黛一味中药,从青黛中发现有效成分靛玉红,又从该化合物经结构修饰发展成异靛甲[17]。此外较成功的例子还有六味地黄汤研究和九味牛黄散拆方研究。

2.3 中药复方血清药理学的研究 随着人们对给药后血清中药物含量研究的重视,血清药理学方法逐渐发展和成熟起来。中药血清药理学研究复方离体试验,是近年来中药药理的热门话题,也是中药复方研究的重要方法之一。血清药理学研究方法首先由日本学者 Hiriko Iwama[18]于 1987 年在日本召开的第一届和汉医药学会上首先提出并采用。中药血清药理学因其自身特点具有以下优点:(1)从中药复方本身来说,克服体外实验不能直接观察到的复方经体内胃肠吸收后的综合整体药理效应。(2)从方法学上解决了中药复方直接应用于离体实验的困难,使中医学研究能在体内实验中直接与分子生物技术相结合,从而推动中医学现代化的进程。(3)含药血清的成分进行药效、药动学研究并与原复方粗提物进行比较,可以发现中药复方发挥药效作用的物质基础,为探讨中药复方作用规律提供思路。(4)有利于发现中药复方中真正有效成分和有效部位。(5)有利于中药药动学的开展。中药血清药理学是一门新兴学科,目前仍处在探索阶段,仍存在一些问题,如给药方案、给药禁食、采血时间、含药血清的处置、添加方式等问题仍有待解决。

2.4 中药复方的现代智能色谱、波谱技术相结合研究 鉴于中药复方化学成分的复杂性,加之许多成分为微量成分,用常规的植化方法制备分离某些成分,不仅工作量巨大,而且其中不少还无法进行。随着现代色谱、光谱及计算机生物信息学的发展,许多学者试图借助各种仪器对中药复方作用机理和物质基础进行研究,常见的有高效液相色谱-质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrum, HPLC-MS)、高效液相色谱-电子喷雾离子化质谱法(high performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrum, HPLC-ESI-MS)、高效液相色谱-核磁共振法(high performance liquid chromatography-nuclear magnetic resonance, HPLC-NMR)、高效毛细血管电泳-质谱法(high performance capillary electrophoresis-mass spectrum, HPCE-MS)及分子生物色谱法等。卢佩章等[19]准备在 5~10 年内建立以智能统一液相色谱法为基础的中药指纹数据库,以及直接

万方数据

用质谱、光谱等手段测定中药组成的数据库，进一步用色谱、质谱、光谱等联用技术建立分离后各组分的质谱和光谱数据库，对数据进行比较、归纳，形成色谱、质谱、光谱综合数据库，并结合色谱、质谱、光谱的规律，专家系统及化学计量学理论，对数据库进行管理，形成智能统一数据库，在完成中药复方分析的同时，结合中药理论，阐明复方作用的化学物质基础。近年来有人开始将分子生物色谱用于中药复方的研究[20]。该技术具有重现性好、色谱系统测量精度高、数据的变异系数小、快速简单等优点，特别是药物在柱上的保留行为直接与活性有关，很适合于成分复杂的中药复方研究。

2.5　中药复方药代动力学　中药复方的药效是其原型药物与其代谢产物的共同作用的结果，对中药复方主要成分及其代谢物的药代动力学进行研究，揭示它们之间的相关性，同时考察药物的分布与药效的关系，对于全面反映复方中药的药代动力学特征，指导临床合理用药具有重要的意义。目前用于中药复方药代动力学(pharmacokinetics of Chinese herbal combinations, PCHC)研究的主要方法有两大类，即生物效应法和血药浓度测定法。其中，生物效应法又包括药理效应法、药物累计法及微生物法 3 种方法。

目前有关中药复方药代动力学的文献报道还较少。对中药复方的药动学测定多数是以一种成分的药代动力学特征代替全方的药代动力学特征。例如，银黄冲剂是按中医传统理论，由金银花、黄芩精制而成，张志荣等[21]采用 HPLC 法对其中的主要成分之一黄芩甙进行了测定，以银黄注射液为对比，测定了黄芩甙的生物利用度，以此作为冲剂的生物利用度。赵福芹等[22]测定了丹参加黄芪注射液中丹参素的兔体内分布情况。常敏毅等[23]对茵陈五苓散的生物利用度进行了研究，以活性成分 6,7 二甲基香豆素为指标。此外，黄熙等于 1991 年提出了“证治药动学”的假说[24]，即中药配伍对方剂药动学的影响和方剂药动学与“病证”的关系。这是将中医理论融汇于现代研究方法的一种有意义的探索。这一假说进一步发展了以药效为指标的药动学研究理论，重新提出了依据体内化合物含量的变化进行药动研究的概念。

3　展望

总之，随着现代科学理论如系统论、耗散结构原理、化学模式识别、天然组合化学库理论等与数据库、计算机技术的不断发展及化学研究和药理研究的不断深入，中药复方研究方法将不断完善，其物质基础、药效和作用机理的相关性研究将会取得长足的进步。

参 考 文 献

1 陈业高，张　燕. 略论天然药物活性成分的研究热点. 云南中医药杂志 2000;21(5):40—41.
Chen YG, Zhang Y. Analysis of research focusing on active components of natural drugs. Yunnan J Tradit Chin Med Materia Medica 2000;21(5):40—41.

2 陈业高，海丽娜，张　曦，等. 中药复方的研究进展. 云南师范大学学报 2002;22(3):70—74.
Chen YG, Hai LN, Zhang X, et al. Development of studying traditional Chinese medicine compound prescriptions. J Yunnan Normal Univ 2002;22(3):70—74.

3 汪运富，熊　英. 中药现代研究需借鉴系统思维. 山东中医学院学报 1996;20(3):165.
Wang YF, Xiong Y. The modernization of Chinese medicine using systematic mind. J Shandong Coll Tradit Chin Med 1996;20(3):165.

4 白玉盛. 中药复方量比关系的探索. 中国中医基础医学杂志 1996;2(6):11.
Bai YS. A research on the proportion of Chinese medicine compound prescription. Chin J Basic Med Tradit Chin Med 1996;2(6):11.

5 刘　俊，魏玉平，周邦靖，等. 秘方茶调散抗菌作用的处方优化研究. 中成药 1997;19(5):1—3.
Liu J, Wei YP, Zhou BJ, et al. Study on optimum prescription of secret prescription Chatiao powder (Radix Scutellariae, Herba Schizonepetae, etc) with antibiotic action. Chin Tradit Patent Med 1997;19(5):1—3.

6 夏　云，李志明，朱丹妮，等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究. 生脉散复方化学的研究(1). 中国中药杂志 1998;23(4):230—231.
Xia Y, Li ZM, Zhu DN, et al. A research on chemical dynamic changes and drug efficacy of Shengmaisan compound prescription - chemical researches on Shengmaisan prescription (1). China J Chin Material Medica 1998;23(4):230—231.

7 杜观华. 中药复方有效成分组学的研究. 中成药 2002;11(24):878—880.
Du GH. Overview of effective compounds group formulation in traditional Chinese medical prescription. Chin Tradit Patent Med 2002;11(24):878—880.

8 李绍平，李　萍，董婷霞，等. 生物芯片技术在中药鉴定研究中的应用与展望. 世界科学技术—中药现代化 2000;2(3):15—18.
Li SP, Li P, Dong TX, et al. Application and prospects of biological chip techniques in identification of Chinese medicine materials. *World Science and Technology - Modernization of* Traditional Chinese Medicine (TCM) 2000;2(3):15—18.

9 袁久荣. 山东省中药现代化发展战略设想. 山东中医药大学

万方数据

学报 1998;22(6):407—411.
Yuan JR. The modernization of traditional Chinese medicine facing the 21st century. J Shandong Univ Tradit Chin Med 1998;22(6):407—411.

10 姚新生.中药复方现代化的研究.化学进展 1999;11(2):192—196.
Yao XS. Studies on the modernization of Chinese traditional compound medicine. Prog Chem 1999;11(2):192—196.

11 文志明.中药复方化学成分的研究进展.中草药 1999;30(6):468—473.
Wen ZM. Research advance on Chinese herbal compound chemical composition. Chin Tradit Herbal Drugs 1999;30(6):468—473.

12 陈兰英,陈 奇.中药复方药理研究方法进展.中国实验方剂学杂志 1999;5(3):62—64.
Chen LY, Chen Q. Research advance on pharmacology study of Chinese traditional compound. Chin J Exp Med Formulae 1999;5(3):62—64.

13 沈鼎荪.探讨方剂研究的数学方法.新中医 1983;(10):55.
Shen DS. Discussion about mathematic method of research on Chinese medicine compound. New J Tradit Chin Med 1983;(10):55.

14 裴德凯.正交试验的多指标综合分析以及补充试验和重复试验.中药通报 1984;9(1):48—50.
Pei DK. Multi-criteria synthetic analysis of orthogonal test, complemental and duplicated tests. Bull Chin Material Medica 1984;9(1):48—50.

15 何祥久,邱 峰,姚新生.中药复方研究现状和思路.化学进展 2001;13(6):481—485.
He XJ, Qiu F, Yao XS. Present situation and thinking of Chinese traditional compound medicine research. Prog Chem 2001;13(6):481—485.

16 王庆国.中医理论基础研究进展.广州:广州中医药大学出版社,1998:111.
Wang QG. Research advance on the basic theory of Chinese medicine. Guangzhou: Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine Press, 1998:111.

17 张礼和.我对中药复方有效成分研究的一些看法.化学进展 1999;11(2):186—188.
Zhang LH. Studies of active ingredients of Chinese traditional compound medicine (CTCM). Prog Chem 1999;11(2):186—188.

18 Hiriko Iwama, Sakae Amagaya, Yukio Ogihara, et al. Effect of Shassaikoto. A Japanese and Chinese herbal medical mixture, on the mitogenic activing of lipopolysaccharide——a new pharmacological testing method. J Ethnopharmacol 1987;211:45.

19 卢佩章,梁鑫淼,肖红斌.中药组分智能统一指纹数据库.化学进展 1999;11(2):199—201.
Lu PZ, Liang XM, Xiao HB. Intelligent unified fingerprint database (IUFD) of components in Chinese traditional medicine. Prog Chem 1999;11(2):199—201.

20 汪海林,邹汉法,孔 亮.分子生物色谱用于中药活性成分筛选及质量控制方法的研究.色谱 1999;17(2):123—127.
Wang HL, Zou HF, Kong L. Screening and analysis of biologically active components in traditional Chinese medicine by molecular bio-chromatography. Chinese J Chromatography 1999;17(2):123—127.

21 张志荣,胡晓颖,陈 勇,等.银黄冲剂兔体内生物利用度研究.中国药学杂志 1995;30(11):675—678.
Zhang ZR, Hu XY, Chen Y, et al. Study on bioavailability of Yinhuang Chongji in rabbits. Chin Pharmacol J 1995;30(11):675—678.

22 赵福芹,王爱莲,王 林.中药制剂中丹参素的兔体内分布研究.中国药学杂志 1994;29(5):291—293.
Zhao FQ, Wang AL, Wang L. The distribution of Danshensu in rabbit. Chin Pharmacol J 1994;29(5):291—293.

23 常敏毅,张桂贤.茵陈五苓散的临床和生物利用度的研究.中成药 1993;15(2):33—34.
Chang MY, Zhang GX. The research of clinical and biological availability of Yinchen Wuling San. Chin Tradit Patent Med 1993;15(2):33—34.

24 黄 熙."证治药动学"假说的科学依据和前景.见:陈可冀主编.迈向 21 世纪的中西医结合.北京:中国医药科技出版社,1991:207—216.
Huang X. The scientific evidence and prospect of Zheng and recipe pharmacokinetics. In: Chen KJ, editor. Facing the integrated traditional and western in the 21st century. Beijing: Chinese Medicine and Technology Press, 1991:207—216.

(收稿:2003-12-24 修回:2004-02-15)

万方数据