

中药治疗脑卒中的物质基础研究思路

韩忠耀¹, 周福军², 单 淇², 陈 超¹, 侯文彬^{2*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院, 天津 300193

摘 要: 近年来, 脑卒中以其较高的发病率、致残率严重危害中老年人的身体健康。中药治疗脑卒中疗效确切, 但其作用的物质基础尚未明确。就近年来治疗脑卒中的中药物质基础研究近况作简单阐述, 同时结合中药物质基础研究中常用的方法, 具体提出了治疗脑卒中中药的物质基础研究思路, 为进一步研究与开发出临床效果好、市场前景广阔的治疗脑卒中的现代中药提供参考。

关键词: 中药; 脑卒中; 代谢标志物; 物质基础

中图分类号: R743.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2012)01-0036-06

New thoughts of material base for treatment of cerebral apoplexy by Chinese materia medica

HAN Zhong-yao¹, ZHOU Fu-jun², SHAN Qi², CHEN Chao¹, HOU Wen-bin²

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: In recent years, cerebral apoplexy has severely impaired the middle-aged and elderly people's health by its high incidence rate and disability rate. The curative effect of Chinese materia medica (CMM) in the treatment of cerebral apoplexy is accurate and exact, but the role of the material base is not yet clear. The author will rely his new thoughts on studying material base for CMM to make the simple elaboration and put forward his new methods which could be used to treat for cerebral apoplexy by CMM. It could provide a reference for the further research and develop good clinical effect and broad market of modern CMM by which the cerebral apoplexy will be controlled.

Key words: Chinese materia medica (CMM); cerebral apoplexy; metabolic marker; material base

脑卒中(cerebral apoplexy)是一种突然起病的脑血液循环障碍性疾病^[1], 表现为脑部缺血以及出血性损伤, 具有极高的病死率与致残率。脑卒中主要分为出血性脑卒中(脑出血或蛛网膜下腔出血)与缺血性脑卒中(脑梗死、脑血栓)两大类, 其中, 缺血性脑卒中(ischemic stroke)占全部脑卒中的86%^[2]。脑卒中是危害中老年人身体健康的主要疾病之一, 是内科常见病、多发病。我国脑卒中每年发病率为0.219%, 致残率为75.0%^[3]。

近年来, 中药治疗脑卒中已经取得了实质性的进展, 特别是中药以其疗效好、不良反应小等特点, 应用日益广泛, 拥有良好的市场前景与独特优势。但是, 其防治脑卒中的物质基础尚未明确, 影响其

临床用药的疗效以及安全性保证等, 这些都有待于进一步深入的研究与科学的探讨。因此, 探究中药治疗脑卒中的物质基础已成为当务之急。

1 脑卒中的发病诱因及发病机制

风、火、痰、瘀是脑卒中的主要病因, 多见于现代医学急性脑血管病^[4]。诱导脑卒中的发病因素是多方面的, 如高血压病^[5]、动脉粥样硬化、心脏病、脑出血、炎症侵犯脑膜与脑血管、血液病、代谢病(如糖尿病^[5]、高脂血症、代谢综合征^[6]等)、各种外伤、脑瘤(如垂体促乳素释放素分泌腺瘤^[7])等疾病; 另外脑卒中也与气象和时相的变化^[8]、环境、劳力过度 and 情志过激因素^[9], 以及性别、年龄^[10]等有关。杨夏等^[11]认为国人ACE/DD基因型与脑卒

收稿日期: 2011-09-28

作者简介: 韩忠耀(1981—), 男, 2009级硕士研究生, 研究方向为中药新药、质量标准研究。Tel: (022)23006903 E-mail: hzy0396@126.com

*通讯作者 侯文彬(1969—), 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药及天然产物的研究与开发。Tel: 13802027519 E-mail: houwb@tjipr.com

以脑组织梗死体积、神经行为学分数、能荷水平(表征细胞的能量代谢状况的一个指标,数值介于0和1之间,能荷值高说明细胞内的ATP生成活跃,进一步评价了该中药对脑缺血再灌注损伤动物模型的恢复作用)以及MDA水平(可间接反映出细胞损伤的程度)为指标,观察给药后脑组织梗死体积是否缩小、不同给药浓度下神经行为学评分情况、模型组与给药组能荷水平、模型组与给药组MDA水平变化情况,建立暂时性局灶性大鼠中动脉缺血模型,进行体内实验来对治疗脑卒中的药物进行活性筛选^[23]。当然,根据需要也可以建立其他动物模型、采用不同的指标来对治疗脑卒中的药物进行活性筛选。在活性筛选的指导下,利用现代色谱分离技术(柱色谱技术、薄层色谱技术、制备液相技术、分析HPLC技术等)和波谱鉴定技术(UV、IR、NMR、MS等)对各相的化学成分进行系统分离和鉴定。以与脑卒中相关的多个靶点为例,分别在整体动物水平、细胞水平和分子水平上,探讨治疗脑卒中的复方化合物,并阐明其可能的有效分子群的作用,以此阐明治疗脑卒中中药复方制剂的药效物质基

础。同时,对组成该复方的各中药成分,尤其是君药、臣药成分进行系统追踪分离,探讨该复方化合物的来源。

以通塞脉微丸为例,通塞脉微丸是在国家中药保护品种通塞脉片的基础上通过中成药二次开发而成的以缺血性脑卒中为主治病症的新型中药制剂,全方由黄芪、当归、金银花、玄参、甘草等多味中药组成,具有清热养阴、活血化痰等功效,用于缺血性脑卒中、脑血栓形成及其后遗症等^[24]。通塞脉微丸物质基础研究思路见图2。

2.2 基于整体思想的代谢组学的研究思路

代谢组学^[25]由英国伦敦大学帝国理工学院Nicholson博士于1999年首次提出。张萍^[26]综述了近年来代谢组学在中药复方药效物质基础研究中的应用,大量研究显示代谢组学的研究和应用为中药复方物质基础的研究打开了一个崭新的局面,有望为中药复方的系统研究提供重要的新思路。黄荣增等^[27]也指出代谢组学可作为一种新兴的中药复方物质基础研究思路。将代谢组学应用于治疗脑卒中中药物质基础的研究,体现了整体性研究思路。张萍^[28]

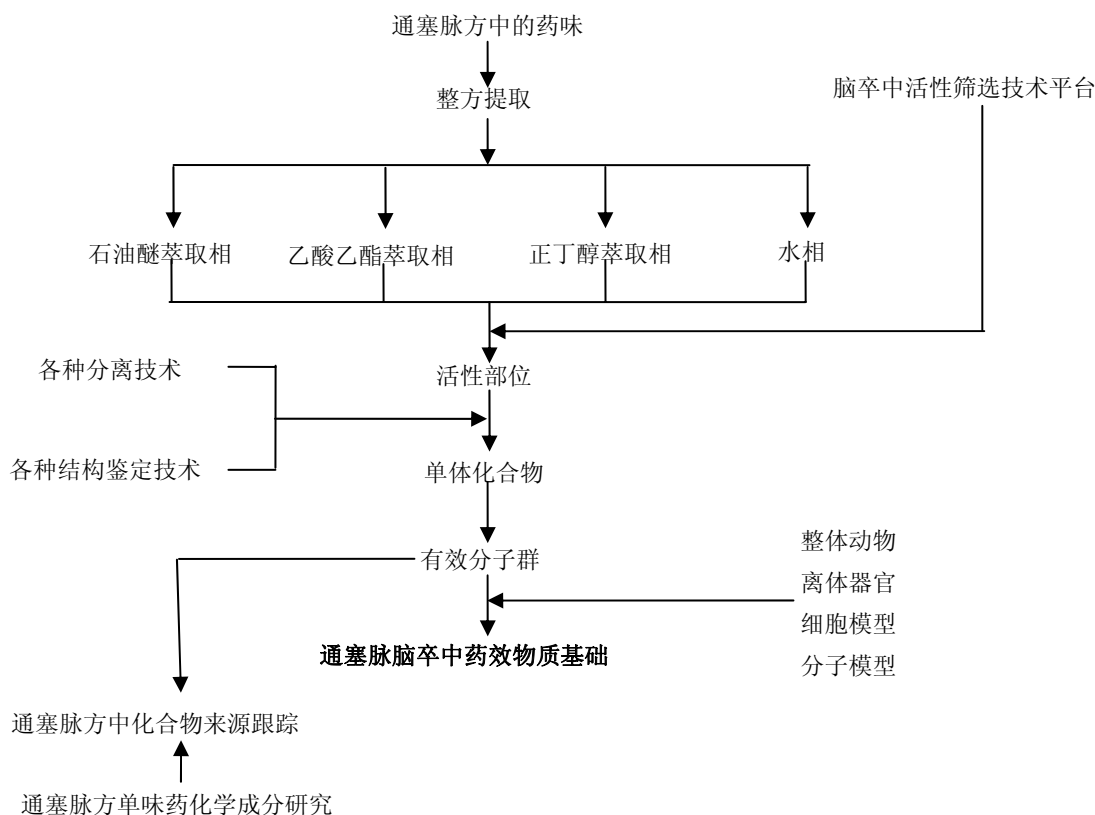


图2 通塞脉微丸以活性导向为指导的植物化学研究思路

Fig. 2 Phytochemical research thought on Tongsaimaiwei Pills under guidance of activity-oriented

指出,代谢组学作为一种系统的、整体性的研究方法,能够较全面地揭示中药及其复方在治疗疾病过程中在生物体系内所发生的一系列生物化学变化,并且能够将这些变化与传统手段的测定结果相联系,从而评价药效作用和发现药物作用的物质基础和作用机制。

2.2.1 研究思路 治疗脑卒中的整方代谢组学研究策略。对正常动物、造模动物给药后,寻找并筛选可能的生物标志物,探讨作用机制,阐明其药效物质基础;同时在生物标志物研究的基础上,开展谱效关系研究可以为活性物质筛选提供依据。

脑卒中的生物标志物是指在脑卒中发生、发展以及病理、生理过程中产生的特殊物质,对脑卒中的早期诊断、鉴别诊断、严重度、预后判断有极高的临床价值。近年来已经研究发现了许多脑卒中的生物标志物,如内皮素(endothelin, ET)^[29]、髓鞘碱性蛋白(myelinbasic protein, MBP)^[30]、交联D二聚体(cross-linked D-dimer, XDP)^[31]及脂蛋白相关性磷脂酶A₂(Lp-PLA₂)^[32]。其中,Lp-PLA₂可作为与缺血性进展性脑卒中相关的新炎症标志物,其浓度与缺血性脑卒中的发生呈一定的正相关关系^[32],FDA在2005年批准Lp-PLA₂作为评估缺血性卒中危险性的指标^[33]。除此以外,王培^[34]证明visfatin/Nampt作为脑卒中的生理病理过程中有着重要作用的神经保护因子,也是脑卒中早期诊断的有效生物标志物之一。

2.2.2 研究方案 将治疗脑卒中的待研究处方,首先对正常动物、脑卒中造模动物分别给药。分析正常动物与造模动物体内小分子代谢组分的变化差异,从而寻找并筛选可能的代表性脑卒中疾病生物标志物。对造模动物运用色谱技术、联用技术(GC/MS、HPLC/MS、HPLC/MS/MS等)等手段对造模动物的体液(如尿液、血浆等)及组织器官中的复杂混合物进行分析、分离和鉴定,从代谢物成分和质量分数的经时变化规律发现或验证脑卒中相关的生物标志物,推断可能的调控途径和调控靶点,如是通过保护血脑屏障、减轻脑水肿而治疗脑卒中,还是通过抑制细胞内钙超载而治疗脑卒中,或通过减少炎症反应、抗自由基作用而治疗脑卒中等,籍此研究治疗脑卒中药物发挥药效的物质基础。同时代谢指纹图谱也是研究治疗脑卒中药物的物质基础的方法之一,即将给药组、脑卒中动物模型组、对照组总体的指纹图谱或有目标的代谢指纹图谱,经

数据处理后,进行比较与聚类分析。同时,进一步将进入动物或人体的治疗脑卒中中药活性成分及其活性代谢物(外源性物质)与动物或人体内的内源性代谢物变化及相应的代谢生化通路和网络相关联,探索治疗脑卒中的中药药效物质基础及作用机制^[35]。

以丹参注射液为例。李宝柱等^[36]评价丹参注射液治疗出血性脑中风临床疗效,结果,总有效率达90%。黄丽欢^[37]在脑中风恢复早期使用丹参液穴位注射,对加快患肢肌力功能恢复效果显著。丹参注射液是治疗脑卒中的临床疗效非常好的中药制剂,但很少有对其物质基础研究的报告。基于整体思想的代谢组学研究思路对丹参注射液进行物质基础研究,见图3。

3 结语

目前,临床上有众多治疗脑卒中有效中药的临床报告,复方中药制剂如涤痰汤^[38-39]、疏血通注射液^[40]、抗栓丸^[41]等,单味中药、中药提取物或单一中药有效成分如银杏制剂银杏片^[42-44](主要成分为银杏叶提取制得的浸膏糖衣片)、七叶神安分散片^[45](主要成分为三七叶总皂苷)、国产银杏提取物制剂舒血宁注射液^[46]、地奥心血康^[47]、葛根素注射液^[48-49]等,但是针对具体治疗脑卒中的中药有效物质基础研究报告极少,因此对其展开物质基础研究报告具有极大的价值。以生物活性跟踪治疗脑卒中中药活性成分为基础的植物化学研究思路与基于整体思想的代谢组学的研究思路,第一次提出用整方策略去研究脑卒中的物质基础,并指出寻找其相关生物标志物的思想。治疗脑卒中物质基础的研究可以阐明治疗脑卒中中药的有效物质基础,为促进中医药的现代化以及开发出更高效的治疗脑卒中的现代中药新药奠定基础。

第35届国际脑卒中会议摘要指出目前正在进行Ⅲ期临床试验的脑卒中或脑梗死的药物主要有:Renovis公司正在进行disufenton sodium用于治疗出血性脑卒中的Ⅲ期临床试验,disufenton sodium是一种具有自由基清除剂特性的神经保护剂;百时美施贵宝公司正在进行凝血因子Xa抑制剂apixaban的Ⅲ期临床评估;Paion公司、Forest公司和Lundbeck公司正在进行去氨普酶(desmoteplase)治疗急性缺血性脑卒中的Ⅲ期临床试验,去氨普酶是一种纤溶酶原活化因子。在全球范围内西药用于脑卒中的治疗在市场上仍然占主导地位,但是由于

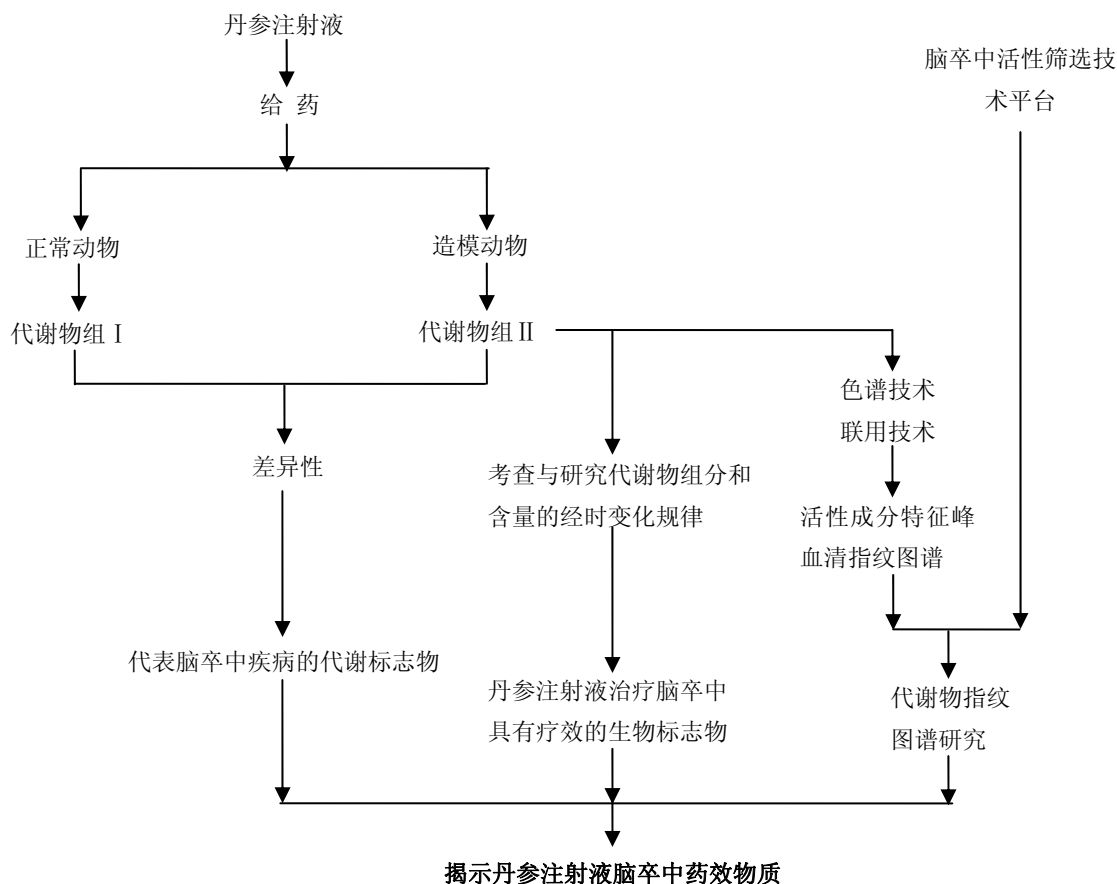


图3 丹参注射液基于整体思想的代谢组学的研究思路

Fig. 3 Research thought on salvia injection based on integrated idea of metabolomics

其价格昂贵、不良反应大等缺点，从治疗脑卒中的中药中找到突破点成为众多科研工作者日益关注的方向，这也就表明了对治疗脑卒中的中药进行物质基础研究的重要性与必要性。

参考文献

- [1] 陆才刚. 脑卒中复发的影响因素分析及对策 [J]. 咸宁学院学报: 医学版, 2003, 17(1): 51-52.
- [2] 薄传强, 郎森阳, 吴卫平. 脑血管病学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1999.
- [3] 南登昆, 缪鸿石. 康复医学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [4] 王永炎. 中医内科学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004.
- [5] Sugimoto S, Kanda T, Sakai F. Predicting long-term functional outcome of stroke using multivariate analysis [J]. *J Phys Ther Sci*, 2004, 16(2): 129-135.
- [6] Uchiyama S. Impact of metabolic syndrome as a risk factor for atherothrombotic stroke [J]. *Intern Med*, 2005, 44(10): 1021-1022.
- [7] Abe T, Kawamura N, Ozawa H, et al. Male prolactinoma with pituitary apoplexy concomitant with intracerebral hemorrhage [J]. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2002, 42(3): 125-127.
- [8] 刘洪兰, 蒋凯, 王淑珍, 等. 脑梗塞发病与气象和时相的关系 [J]. 中国中医急症, 1995, 4(1): 23-24.
- [9] 庚惠, 邹旭. 中医中风病急性期患者发病诱因的初步调查 [J]. 中国中医急症, 2000, 9(5): 217-218.
- [10] 范吉平, 吴燕, 孙塑伦, 等. 2003 例急性脑血管病的临床资料分析 [J]. 北京中医药大学学报, 1999, 22(1): 61-63.
- [11] 杨夏, 张跃新, 朱滨. ACE 基因型与脑中风的相关性文献研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2007, 30(7): 746-748.
- [12] Cong C, Qin Z, Betz A L, et al. Cellular localization of tumor necrosis factor alpha following focal cerebral ischemia in mice [J]. *Brain Res*, 1998, 10(1-2): 801-802.
- [13] Ramping M W. The great divide: From viscometer to vasculature [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2008, 39(1/4): 9-20.
- [14] Tymianski M, Tator C H. Normal and abnormal calcium homeostasis in neurons: A basis for the pathophysiology

- of traumatic and ischemic central nervous system injury [J]. *Neurosurgery*, 1996, 38(6): 11-16.
- [15] Carson D A, Ribeiro J M. Apoptosis and disease [J]. *Lancet*, 1993, 341: 1251-1254.
- [16] Yang G Y, Schielke G P, Gong C, *et al.* Expression of TNF- α and ICAM-I after focal cerebral ischemia in IL- β converting enzyme deficient mice [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999, 19: 1109.
- [17] 安泳潼, 夏玉叶, 闵 旸. 缺血性脑卒中的发病机制及其治疗 [J]. 世界临床药物, 2010, 31(1): 35-39.
- [18] 赵卫国, 田恒力, 张天锡, 等. NO代谢变化对缺血性脑组织内皮素产生的影响 [J]. 中华神经外科杂志, 1996, 12(3): 171-173.
- [19] 王永炎. 关于提高脑血管疾病疗效难点的思考 [J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(4): 196.
- [20] 常富业, 王永炎. 中风病毒邪论 [J]. 北京中医药大学学报, 2004, 27(1): 3-6.
- [21] 刘华栋, 任启生, 宋新荣. 中药复方化学研究概况 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(6): 69.
- [22] 王秀兰. 传统复方有效物质研究概况 [J]. 中国民族医药杂志, 2005, 11(1): 41.
- [23] 申 佳. 巴西苏木红素对脑缺血再灌注损伤的作用及血管活性研究 [D]. 清华大学, 2007.
- [24] 韩景献, 韩 力. 通塞脉片治疗缺血性中风恢复期气虚血瘀证临床疗效观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2005, 3(7): 591.
- [25] 蔡 爽, 孙 博, 李发美. 代谢组学及其在药学中的应用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(7): 445-450.
- [26] 张 萍. 代谢组学、化学计量学在中药复方药效物质基础研究中的应用 [J]. 海峡药学, 2010, 22(9): 13-15.
- [27] 黄荣增, 韩林涛, 刘 萍, 等. 新兴的中药复方物质基础研究思路—动物代谢产物研究 [J]. 湖北中医学院学报, 2009, 11(5): 45-48.
- [28] 张 萍. 代谢组学、化学计量学在中药复方药效物质基础研究中的应用 [J]. 海峡药学, 2010, 22(9): 13-15.
- [29] Moldes O, Sobrino T, Millan M, *et al.* High serum levels of endothelin-1 predict severe cerebral edema in patients with acute ischemic stroke treated with t-PA [J]. *Stroke*, 2008, 39(7): 2006-2010.
- [30] Brouns R, De Vil B, Cras P, *et al.* Neurobiochemical markers of brain damage in cerebrospinal fluid of acute ischemic stroke patients [J]. *Clin Chem*, 2010, 56(3): 451-458.
- [31] 詹海涛, 陈 钢. 脑梗死患者血浆 D-二聚体和稀醇化酶含量变化及临床意义 [J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(7): 1226-1228.
- [32] 汪学军, 何杏玲, 扬水泉, 等. 脂蛋白相关性磷脂酶 A2 活性与缺血性进展性脑卒中危险因素关系的研究 [J]. 中国医药指南, 2011, 9(17): 5-6.
- [33] 李炯镇. 短暂性脑缺血发作(TIA)患者血清脂蛋白相关性磷脂酶 A2(Lp-PLA2)活性与其预后关系的研究 [D]. 吉林大学硕士学位论文, 2009.
- [34] 王 培. Visfatin/Nampt 作为新的血管活性物质以及作为脑卒中防治新靶标的研究 [D]. 第二军医大学, 2009.
- [35] 盛龙生. 代谢组学与中药研究 [J]. 中国天然药物, 2008, 6(2): 98-102.
- [36] 李宝柱, 庄云霞. 丹参注射液治疗出血性脑中风 40 例 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(10): 1027.
- [37] 黄丽欢. 丹参液穴位注射治疗脑中风后肢体瘫痪的疗效观察 [J]. 河北中西医结合杂志, 1998, 7(1): 69-70.
- [38] 崔 海, 王 可. 涤痰汤治疗中风病的研究进展 [J]. 中医药导报, 2010, 16(6): 131-133.
- [39] 王延超. 涤痰汤治疗痰浊瘀阻型缺血性脑卒中 31 例 [J]. 河南中医, 2009, 29(8): 774-775.
- [40] 李明海. 疏血通注射液治疗缺血性脑中风 20 例 [J]. 中国民间疗法, 2010, 18(6): 39.
- [41] 陈国成, 何莉娜, 潘林平, 等. 抗栓丸结合常规疗法治疗缺血性脑中风临床研究 [J]. 上海中医药杂志, 2010, 44(7): 39-40.
- [42] 胡海芳, 楼 静. 银杏片治疗缺血性脑中风血瘀证的临床观察 [J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(7): 649-651.
- [43] 纪志强. 银杏叶片对缺血性脑中风急性期血液流变学的影响临床分析 [J]. 中国民康医学, 2006, 18(11): 968-969.
- [44] 张道东, 许 军, 王秀英. 舒血宁联用脑蛋白水解物注射液治疗缺血性脑中风疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15(17): 2329-2335.
- [45] 王晓雪, 方 建. 七叶神安分散片治疗脑卒中后抑郁疗效观察 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 附 9-附 10.
- [46] 崔学军. 国产与进口银杏提取物治疗缺血性脑中风 60 例疗效比较 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(5): 810-811.
- [47] 蒋锡琪, 陈关权, 蒋锦琪. 地奥心血康对冠心病的缺血性脑中风患者浆蛋白 C 和 KPTT 作用的临床观察 [J]. 上海医学, 1995, 18(3): 149.
- [48] 莫耘松, 汤归春, 魏 晨, 等. 葛根素治疗缺血性脑中风患者的临床疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(5): 588-590.
- [49] 沈 颖, 王力强. 炒粳米粉预防能全力引起的脑卒中患者腹泻 108 例临床观察 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(6): 505-507.