

- [1] De Clerq E. Strategies in the design of antiviral drugs [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1: 13-25.
- [2] Drake S M. NNRTIs— a new class of drugs for HIV [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2000, 45: 417-420.
- [3] Ng T B, Huang B, Fong W P, *et al*. Anti-human immunodeficiency virus (anti-HIV) natural products with special emphasis on HIV reverse transcriptase inhibitors [J]. *Life Sci*, 1997, 61(10): 933-949.
- [4] Vlietinck A J, De Bruyne T, Apers S, *et al*. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection [J]. *Planta Med*, 1998, 64: 97-109.
- [5] Matthee G, Wright A D, Koning G M. HIV reverse transcriptase inhibitors of natural origin [J]. *Planta Med*, 1999, 65: 493-506.
- [6] Jirachariyakul W, Wiwat C, Vongsakul M, *et al*. HIV inhibitor from Thai bitter gourd [J]. *Planta Med*, 2001, 67(4): 350-353.
- [7] Ye X Y, Ng T B, Rao P F. A Bowman-Birk-type trypsin-chymotrypsin inhibitor from broad beans [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 289(1): 91-96.
- [8] Ng T B, Lam T L, Au T K, *et al*. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase, protease and integrase by bovine milk proteins [J]. *Life Sci*, 2001, 69(19): 2217-2223.
- [9] Boyd M R, Hallock Y F, Cardellina II J H, *et al*. Anti-HIV michellamines from *Ancistrocladus korupensis* [J]. *J Med Chem*, 1994, 37: 1740-1745.
- [10] Hallock Y F, Manfredi K P, Dai J R, *et al*. Michellamines D⁺ F, new HIV inhibitory dimeric naphthylisoquinoline alkaloids, and korupensamine E, a new antimalarial monomer from *Ancistrocladus korupensis* [J]. *J Nat Prod*, 1997, 60: 677-683.
- [11] Kitamura K, Honda M, Yoshizaki H, *et al*. Baicalin, an inhibitor of HIV-1 production *in vitro* [J]. *Antivir Res*, 1998, 37: 131-140.
- [12] Patil A D, Freyer A J, Eggleston D S, *et al*. The inophyllums, novel inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase isolated from the Malaysian tree, *Calophyllum inophyllum* L. [J]. *J Med Chem*, 1993, 36(26): 4131-4138.
- [13] Kashman Y, Gustafson K R, Fuller R W, *et al*. The calanolides, a novel HIV-inhibitory class of coumarin derivative from the tropical rainforest tree, *Calophyllum lanigerum* [J]. *J Med Chem*, 1992, 35: 2735-2743.
- [14] Buckheit R W Jr, White E L, Fliakas-Boltz V, *et al*. Unique anti-human immunodeficiency virus activity of the nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors calanolide A, costatolide and dihydrocostatolide [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(8): 1827-1834.
- [15] Creagh T, Ruckle L, Tolbert D T, *et al*. Safety and pharmacokinetics of single dose of (+)-calanolide A, a novel, naturally occurring nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor, in healthy, human immunodeficiency virus-negative human subjects [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(5): 1379-1386.
- [16] Hu C Q, Chen K, Shi Q, *et al*. Anti-AIDS agents, 10. acacetin-7-O β -D-galactopyranoside, an anti-HIV principle from *Chrysanthemum morifolium* and a structure activity correlation with some related flavonoids [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(1): 42-51.
- [17] Flavin M T, Rizzo J D, Khilevich A, *et al*. Synthesis, chromatographic resolution, and anti-human immunodeficiency virus activity of (+)-calanolide A and its enantiomers [J]. *J Med Chem*, 1996, 39: 1303-1313.
- [18] Zembower D E, Liao S, Flavin M T, *et al*. Structural analogues of the calanolide anti-HIV agents. Modification of the trans-10, 11-dimethyldihydropyran-12-ol ring (ring C) [J]. *J Med Chem*, 1997, 40(6): 1005-1017.
- [19] Fujioka T, Kashiwada Y, Kilkuskie R E, *et al*. Anti-AIDS agents, 11. betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzgium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(2): 243-247.
- [20] Kashiwada Y, Hashimoto F, Cosentino L M, *et al*. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents [J]. *J Med Chem*, 1996, 39: 1016-1017.
- [21] Li B Q, Fu T, Yao D Y, *et al*. Flavonoid baicalin inhibits HIV-1 infection at the level of viral entry [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276: 534-538.

血清化学的研究现状与展望

季宇彬¹, 彭海生¹, 蓝苑元²

(1. 哈尔滨商业大学 制药工程系, 黑龙江 哈尔滨 150076; 2. 天津中新药业集团股份有限公司, 天津 300122)

摘要: 阐述了有关血清化学的由来, 国内外研究状况及其前景展望。长期以来, 中药的体外试验不能准确的反应药物的体内活性, 体内的药物成分性质与体外试验对照存在诸多不一致现象。忽视中药特点的体外实验方法不能完成药物体内的作用成分的有效检测, 经过国内外专家不懈的努力, 一种全新可行的方法——血清化学逐渐被认可, 尽管值得探讨和操作的问题还很多, 但它已展现了在中药研究试验运用中的光明前景。若紧密配合中药化学、血清药理学、药代动力学、免疫学、分子生物学及微生物学的研究, 其必将为加速中药现代化进程, 可望在中药质控、药物作用靶位、开发新药和中药现代化方面做出独特贡献。

关键词: 血清化学; 血药浓度; 体内监测

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)04-附 2-03

* 收稿日期: 2002-09-13

作者简介: 季宇彬 (1956-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 多年来一直致力于中药药理、肿瘤药理、分子药理学研究; 1999年进入哈尔滨医科大学博士后流动站工作。

Research situation and prospects of serum chemistry

Ji Yu-bin¹, PENG Hai-sheng¹, LAN Yuan-yuan²

(1. Department of Pharmaceutical Engineering, Harbin Commercial University, Harbin 150076, China;

2. Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300122, China)

Key words serum chemistry; blood concentration; *in vivo* monitoring

血清化学提出之前,不少学者一方面认为不可能测定方剂在体内的化学成分,其依据是方剂的化学成分复杂,或者微量,或者化学成分不明;另一方面认为植物来源的单体不能代表母体植物的生物活性,且体内血清中显效成分也存在着与给药单体不一致的现象(如果是某味药具有生理活性)。我国的方剂经历了长期的积淀与考验,从神农尝百草至今,可以说疗效是确切的。中医理论所说的“同病异治、异病同治”的辩证论治思想被西方所排斥,诸多事宜严重的影响了中医药的发展。血清化学方法的提出及深入研究将改变此不利局面,也将进一步促进血清药理学乃至中药制剂的发展。

1 血清药理实验方法的由来

长期以来,中药体外药理试验普遍利用的方法是先对中药的某些成分进行提取、分离,然后将这些成分直接加入体外培养体系或反应体系中,观察其效应,最后把各种成分的效应相加,来说明某一中药或复方的功效。这种方法明显忽视了中药的以下特点:1)中药绝大部分情况下是口服给药,在经过胃肠道和肝脏代谢后,最后进入血液的并不完全是原药成分;2)中药由多种成分组成,这种多成分的整体效应并非等于各个部分效应之和;3)中医临床注重辩证施治,也就是说,某些中药可能在某一证候存在的情况下,才能体现药效作用;4)中药成分复杂,提取物的理化性质不十分稳定,有可能对体外实验产生干扰作用,影响药效的判断和评价。基于以上考虑,日本国立京都医院内分泌疾病中心的田代真一1984年提出了含药血清方法的设想,并进行一系列富有成效的研究。其后又于1988年和1992年两次撰文,提出了“血清药理学”和“血清化学”的概念^[1]。所谓“含药血清”是指给动物或人服用一定量的药物后,经一定的时间采血所获得的血清。由于受到研究手段的限制,这种血清中所含药效成分并不十分明了,但它确实能表现出一定的药理作用,所以姑且命名为“含药血清”,而进一步寻找其中的药效成分,正是研究者努力的方向。国内有关含药血清的报告始见于1994年^[2]。近几年的文献量明显增多,研究的主要内容涉及含药血清的方法探索和中药血清的药效评价等。

2 国内外的研究状况

2.1 含药血清方法学的研究:以药效指标来评判给药时间和取血时间的优劣,即“时效”关系的研究,随着给药方式、次数、间隔、取血时间的变化,得出的结论是^[3]短时间给药取血时间应选择在1~2h为宜,较长时间给药似乎可适当延长取血的时间点。而通行的方案是,每天给药2次,连续3d,末次给药后1h采血。在量效关系研究方向上含药血清的用量大小取决于两个方面:一是动物的给药量;二是培养体系或反应体系中的含药血清浓度(体积比),动物给药量通常采用

等效量或乘以一定的倍数。由于以上两因素的限制,培养体系中血清浓度可通过改变动物给药量来调整其含药量,是一种较为现实的方法。

2.2 国外的研究概况:在田代真一提出“血清药理学”和“血清化学”两概念后,黑川昌彦等将从汉方药中筛选抗单纯疱疹病毒(HSV-1)药分成4步。即体外实验→豚鼠吸收实验血清药理实验→体内实验→从血清中寻找有效成分(血清药化学)。血清药化学的研究即给药后采集豚鼠血清进行化学成分分离,发现给药后的豚鼠血清存在着抗病毒活性物质。田代真一等对给予三黄泻心汤前后采集的血清相比,服药后2h采集血清的色谱中出现了一些新峰,提示服药后血中存在着动态产生的成分。在三黄泻心汤本身的色谱图中并未见到这些成分的峰^[4]。田代真一等认为对血中的成分进行分析会发现与药效平行的血中浓度升高的成分,此成分为有效成分的概率比较高,从血中分离、精制有效成分,确定其结构。于是他们在五苓散的研究中对血液进行高效液相色谱分析,药效出现时尿中出现了新的成分,该成分的出现恰恰与服五苓散后尿量变化的药效平行,尿中浓度的升高,在药效出现前尿中也存在着此成分,但并非原来所固有的成分。运用双子宫培养法,研究补中益气汤对人精子运动的影响的结果表明:该方可使精子的运动时间延长。以高压液相法对人口服补中益气汤后采集的血清与精液进行分析的结果表明:随着服药后时间的推移,血中出现了一些成分,这些成分是补中益气汤的成分,还是代谢物,还是由这些成分作用于机体分泌激素样的内源性成分,尚待进一步研究^[5]。

2.3 国内的研究情况:杨奎等采用建立血清指纹图谱方法开展血清化学的研究。推论含药血清的药理效应强度与其血清指纹图谱中该成分指纹峰的大小是否一致,说明该成分与药理作用是否相关或不是该药理作用主要成分^[6]。1988年杨奎等以川芎所含阿魏酸为对象建立血清指纹图谱,中药血清药化学与中药血清药理学协同研究显示,含川芎不同提取物血清阿魏酸指纹峰大小顺序为川芎95% EtOH提取物>水煎煮提取物>石油醚提取物>EtOAc提取物>挥发油>生药粉;与其抗血小板释放5-HT作用强度顺序川芎95% EtOH提取物>EtOAc提取物>石油醚提取物>生药粉>挥发油>水煎煮提取物不相一致,说明阿魏酸不是川芎抗血小板释放5-HT作用的主要成分。同样,也证明阿魏酸不是川芎阻滞钙通道作用的主要有效成分^[7]。黄熙等将川芎、川芎丹参汤给大鼠口服后,将血清中化学成分与标准品对照后进行分离、纯化富集,其中1种成分被鉴定为磷酸川芎嗪TMPP^[8]。刘汉清等以银花、黄芩中主要有效成分黄芩苷、绿缘酸为指标,测定银黄口服液和片剂血药浓度并比较生物利

用度^[9]。结果表明:口服液成分的血药浓度均比片剂高,生物利用度也优于片剂。

张志军等对当归四逆汤加吴茱萸生姜汤体内的动态数据研究结果表明:经辨证施治 6个月获得显著疗效,患者体内甘草甜素浓度 6~12 h明显上升,峰值疗效选用热像图观察四肢皮肤温度的变化,与血中甘草甜素的推移有关。以上规律在 6个月疗程前后的重复性良好^[10]。黄熙于 2000年先后提出中药靶成分一方剂^[10,11],进一步提出“方剂血清成分谱”概念,坚持了数目相对有限的观点,即方剂吸收血中能被测定到且能诱导母方药的化学成分数是相对有限的。

3 展望

中药制剂血清化学的深入研究将使临床用药更具科学性和指导性。一个确有疗效的方剂进入人体内的成分谱中多数成分是否存在对疾病的多靶点基因表达的调控作用,是否或如何影响集体多层次网络系统中的内源性成分以及如何从成分谱中挖掘一类新药前体,或将靶成分发展为复方新药前体,是今后亟亟待解决的问题^[11]。

中药复方在体内的作用极其复杂,并非所有的中药复方全部通过血液起作用。如中药复方对消化道的直接作用^[12],中药本身四气五味所起的作用有待血清化学的深入研究及其与血清药理学的有机结合。中医药要想^[13]走向世界与世界接轨,必须采用中西医结合的思路和方法去研究问题、解决问题,采用现代化的测试手段,选择准确的指标分子进行定量表达,否则古老的中医药只能停留在经验积累的基础上,无法实现量化和现代化。根据方剂体内效应成分制定中药材饮片、复方中药制剂和中药质控的新标准,改变目前在不知道某一单体化学成分是否进入体内的情况下,就将其作为质控标准的研究方法和顺序,避免中药制剂学继续走入歧途。应确定其单体成分能否在体内出现,再取舍是否将其作为质控标准,创制全新的中药复方新药,使其与母方在体内成分谱基本一致^[14]。

中药有很多成分未明确,又怎样开展中药血清化学研究,或怎样与中药血清药理学协同研究,这是值得探讨的问题。目前,有效化学指标成分的分析及跟踪检测是影响中药药物血清深入研究的难点,今后的重点应该结合药物血清的药理效应、分析、检测有效的化学成分并探讨其代谢规律与药理效应的关系,阐明药物血清药理效应的物质基础,使中药药物的血清体外研究上一个新台阶。

中药血清药理学作为一种新兴的实验方法显然还未成熟,值得完善的理论与操作甚多,但尽管如此,它已展现了在中药药理实验中的光明前景,紧密配合中药化学、血清药化学、中药药代动力学、免疫学、分子生物学、微生物学的研究,必将加速中药现代化的进程^[15]。

References

[1] Zhan H S. The method containing medicine in the serum and its application prospect during the new medicine development of traditional Chinese medicine preparation [J]. *J Zhejiang Col TCM* (浙江中医学院学报), 2000, 24(2): 78-81.

[2] Yang K, Zhang D B, Shi M, *et al.* The research of the serum containing *Suctellariae Radix* and the influence of its glucoside on producing of endogenous pyrogen [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1994, 10(6): 13-14.

[3] Wang L Q, Li Y K, Fu S G, *et al.* Probing into the research of serum pharmacology method [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1997, 13(30): 29-31.

[4] Iwama H, Amagaya S, Ogihara Y, *et al.* Effect of Shass-aikoto, a Japanese and Chinese herbal medical mixture on the mitogenic of lipopolysaccharide—a new pharmacological testing method [J]. *J Ethnopharmacol*, 1987, 21: 45.

[5] Umeda A M. Effect of certain herbal medicines on the bio-transformation of arachidonic acid—a new pharmacological testing method using serum [J]. *J Ethnopharmacol*, 1998, 23(1): 91.

[6] Yang K, Guo L, Zhou M M, *et al.* Probing primary into coordination with the research approach between traditional Chinese medicine serum pharmacology and serum chemistry [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1998, 14(4): 41-44.

[7] Yang K, Guo L, Zhou M M, *et al.* Probing primary into combinatorial chemical research approach Chinese traditional medicine made of two or more herbs traditional Chinese medicine [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1998, 14(3): 42.

[8] Huang X, Xia T, Ren Ping, *et al.* Influence of combined *Sa-lvia Miltiorrhiza* and *Ligusticum Wallichii* on pharmacokinetics of tetramethylpyrazine in rats [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1994, 14(5): 288.

[9] Liu H Q, Wu J W, Gao J Q. Studies on the bioavailability of Yinhuang Injections, Oral Liquid and Tablet [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1990, 12(6): 2.

[10] Zhang Z J, Li Z D. Circulation and quality of Chinese medicine in recent years in Japan [J]. *Foreign Med Sci—Tradit Chin Med* (国外医学·中医中药分册), 1994, 16(1): 30.

[11] Huang X. The proposition and meanings of concepts of serum composition and target composition of prescriptions in serum and body [J]. *J Fourth Mili Med Univ* (第四军医大学学报), 1997, 18(3): 417-419.

[12] Yang Y F. Studies on serum pharmacology method standardization of medicine made of two or more ingredients in Chinese medicine [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2000, 20(5): 380-381.

[13] Pang Z G, Wang B Q. Research of pharmacokinetics of traditional Chinese medicine made of two or more herbs [J]. *J Xi'an Med Univ* (西安医科大学学报), 1997, 18(3): 417-419.

[14] Huang X, Chen K Y. “Analyses and remedies of pharmacokinetics” of the new theory and practices of hypotheses [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 1997, 38(12): 745-747.

[15] Xu H B, Wu Q H. The discussion of the serum pharmacology method of medicine made of two or more ingredients of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol* (中国中医药科技), 2000, 7(1): 43-44.