

· 中药现代化论坛 ·

## 中药复方物质基础研究的现状与进展

赵建荣, 李晓玫\*

(北京大学第一医院肾内科 北京大学肾脏病研究所, 北京 100034)

**摘要:** 中药复方在中医药物治疗中广泛应用, 其各种复杂成分间的相互作用及确切药理机制目前大多尚不完全清楚。中药复方制剂的成分和药效不是单味药物的简单组合, 对其物质基础的研究对探讨中药复方配伍药理机制十分重要。现对有关中药复方的组合效应及量比关系、复方含药血清、复方化学成分研究、中药复方物质基础常用技术方法及应用前景等方面的最新研究进展进行综述。

**关键词:** 中药复方; 活性成分; 含药血清

**中图分类号:** R28      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0253-2670(2003)11-0963-04

### Status and advance in study on substance basis of Chinese compound prescription

ZHAO Jian-rong, LI Xiao-mei

(Renal Division of Department of Medicine, First Hospital and Institute of Nephrology,

Peking University, Beijing 100034, China)

**Abstract** Chinese compound prescriptions of traditional herbs are widely used in the alternative therapy for all kinds of diseases. It remains unclear how the compounds in different herbs interact each other and which exacting mechanism can complain their effects. The components and pharmacological effects of the combination of Chinese herbs are not due to the simple mixture of single herbs. The substance basis research of combination herbs is one of the important issue for understanding their pharmacological mechanism. Here the recent progress on the substance basis research of combination Chinese traditional herbs is reviewed, including the combinative effects and quantity-ratio relation study, herbs-serum study, chemical compounds research, the methods and techniques in chemical components analysis, and application foreground of Chinese compound prescription.

**Key words** Chinese compound prescription; active constituents; herb-serum

祖国传统医学是中华民族瑰宝。中医以辨证施治为发展宗旨, 以其天地人合一的整体观念及阴阳五行、脏腑气血、卫气阴血等辨证理论, 促进了中药方剂学的发展。几千年来, 历代医家在长期的医疗实践中总结了完整的遣药组方理论, 中药复方在多种疾病的治疗中广泛应用并取得了显著的疗效。在人类日益回归自然的今天, 中药复方已成为人们研究和开发的热点。

由于中药复方大多应用植物药为其药源, 药物成分复杂, 药效和副作用受到药物产地、季节、炮制方法等多方面因素影响, 药动学和药效学研究都受到一定限制。随着现代医药学理论不断进展, 人们

一直试图探索中药复方的作用机制及其物质基础。在以往的工作中, 一方面, 人们根据已知的中药复方临床疗效试图深入了解其器官、组织、细胞甚至分子作用机制, 期望发现其疗效作用的生物学环节; 另一方面, 通过分析比较中药复方中单味中药或其中不同成分的药理作用, 试图找到中药复方的有效成分。然而, 迄今为止上述两方面的研究均未出现重大突破。其主要难点在于: 复方剂型不稳定, 成分复杂, 缺乏定性定量标准, 药效重现性有时较差, 研究结果难以准确反映中药复方的确切作用机制及其配伍规律, 尤其难以深入进行细胞与分子水平的实验研究。此外, 众多研究已经证实, 中药复方的疗效往往明显

\* 收稿日期: 2003-03-31

基金项目: 北京大学“创建世界一流大学”基金和中华医学基金会资助项目

作者简介: 赵建荣(1970-), 女, 内蒙古人, 1997年获内蒙古医学院药理学专业硕士学位, 现攻读北京大学肾脏内科学专业博士学位, 主要从事中药复方治疗肾脏病的物质基础及其机制研究。 Tel: (010) 66171122-2372

\* 通讯作者 Tel: (010) 66171122-2388 E-mail: renalbmu@public.bta.net.cn

优于单味药物和单一成分。如果脱离中医药理论的指导,仅以寻找单味药中有效成分为着眼点去提取、分离中药内化学纯的有效成分,则失去了中药复方药物之间配伍及相互作用的特色和药理学意义。近年来,中医药及现代医学工作者为解决上述问题进行了多方面的研究和探讨,并进行了一些新的尝试,现仅就有关研究现状及其进展进行综述

### 1 中药复方物质基础研究的特点

中药复方是以中医基础理论为指导,根据具体病证运用辩证论治及方剂配伍原则而组成,贯穿着中医思想特色。中药复方的组成往往是一个有层次和结构的有机整体,其疗效是复方中各成分的综合效果,其药物化学成分也不是单味药物化学成分的简单相加。中药复方中的单体成分可以是强效的,也可以是弱效的,既不能简单认为主要药味的主要成分即为复方的有效成分,也不能机械地应用西药的尺度来衡量中药单体成分的活性。两个以上中药组方后,往往产生一种或几种原来单药所不具备的效能,这正是中药复方治疗达到有效性的关键所在。因此,中药复方的物质基础研究也应以对其不同化学成分的组合、量比和相互作用研究为特色,尤其应注重对综合效应的有效物质组群进行研究

### 2 中药复方组合效应及量比关系的研究

在中医理论指导下,中药复方是根据药物的升降沉浮、归经及君臣佐使的配合,讲究各味中药间的量比关系,最终达到组合效应。从现代科学的观点来分析,中药复方的组合效应实际上即指药物化学成分之间的物理效应和化学效应。物理效应是指药物化学成分的电子之间互相影响,使药物化学分子的极性和磁性发生变化,甚至使分子结构发生改变,从而诱导各种化学反应产生。此外,电子间的相互作用还影响药物化学成分的物理性质,如溶解降低产生沉淀、吸附作用使颜色发生改变、小分子溶入大分子或排挤大分子与其他分子的作用等。目前,对中药复方物理效应的研究还较少,但有限的研究仍提供了一些有益的信息。例如,有人利用溶出度、红外光谱、飞行时间质谱、透射电子显微镜等方法对生脉散及麦冬、五味子、党参的单煎、合煎液中溶出各味组份的变化和彼此之间相互作用进行了初步研究,发现几个单方共煎可以产生协同溶出效应,亦可抑制某些组份的溶出,还发现合煎液中有新物质生成;对单煎、合煎液的溶出物进行透射电子显微镜观察发现,在合煎液中溶出物中有空泡结构存在,说明溶出物之间的相互作用可使它们形成复杂的聚集态结构,

而单煎液则没有观察到类似的结构。这一方面证明麦冬、党参、五味子的溶出物有分子间相互作用,另一方面也意味着复方中的各味中药间的相互作用可导致溶出物的增溶或减溶<sup>[1]</sup>。化学效应则主要是指药物化学成分之间发生化学反应,形成新物质,新物质的产生在药效中可能承担主要角色,这方面的研究目前已成为人们关注的热点。

中药复方物质基础研究不能脱离对复方量比关系的探讨。应用现代药理分析方法从中药复方量比关系中找出规律,可使复方作用的物质基础更具定量化、标准化的特征

中药复方量比关系具有严格的原则性,又有极大的灵活性。它受到中医理论体系的核心——阴阳学说以及证群变化的影响。如有学者采用反相高效液相色谱法测定不同比例配伍的黄芪与当归中阿魏酸的煎出率,结果发现黄芪与当归的质量量比为5:1时阿魏酸的煎出率最高<sup>[2]</sup>,并可促进脾虚小鼠红系造血祖细胞增生,增加溶菌酶含量,使MΦ活性增加,CIC水平下降;而其他剂量配伍的黄芪当归对溶菌酶含量、MΦ活性无显著影响。尽管现代药理研究为量比关系研究奠定理论基础并提供了可行性,但由于多种药物组合而成的中药复方中量比关系可能十分复杂,难以直接得出具有普遍规律的结论,有关文献报道也极少。然而,这方面的深入研究有可能提供十分重要的信息。例如:中药复方治疗的物质基础配伍规律、君臣佐使在复方中的含义以及中药的归经与作用靶点的关系等。因此,近年来,中医药工作者开始寻求与数学工作者和生物信息学工作者的跨学科结合研究,正在力图从研究方法中找到新的突破口。

### 3 中药复方含药血清的研究

中药复方多数是通过口服起效的。由于发挥药效的直接化学成分与口服前复方化学成分相比很可能有重大变化,因此,研究中药复方的体外药效学可能为了解其确切的物质基础提供间接的、十分重要的信息。体外细胞培养技术的应用已为探讨中药细胞生物学效应提供了可能。在体外进行药效学实验时,如果采用中药粗制剂直接加入离体反应体系中,存在许多方法学上的问题,可能会因为药物的杂质或理化特性复杂而影响细胞的培养环境,干扰实验结果,致使试验得出的结论不可靠。为解决上述问题,日本学者发现了血清药理学方法,即先给实验对象服用中药,经适当时间后取血分离血清,用含药血清进行体外药效学研究,分析复方成分变化的效应

改变,可使复方配伍研究大大简化,并且可以减少试验的干扰因素。这种方法作为药效试验方法得到了广泛作用,但收集足够量含药血清,从中分离鉴定药物化学成分,并非易事。已有学者分别用二维、三维 HPLC和液质联用仪等,定性定量分析了甘草芍药(附子)汤、川芎复方等服用后血中的甘草次酸、大黄酸、阿魏酸等成分及其药理学<sup>[3]</sup>。

要明确中药复方作用的物质基础,应该对血清中所含复方化学成分进行进一步分析、鉴定,把得到的化学成分与复方全方再次进行药效学比较,就有可能揭示产生复方药效的化学成分。考察该化学成分(可能是一种或多种,也可能是一类或多类)与口服前的复方化学成分之间的联系,就可能推断出中药复方药效的物质基础。推断是否正确,可以通过药效学实验进行反复检验与修正。目前,尽管还有许多技术与理论问题尚待解决,但研究中药复方含药血清的药效与化学成分之间的关系仍不失为对其药效物质基础研究的重要手段。

#### 4 中药复方化学成分的研究

中药复方药效的物质基础是其化学成分的总和,各单味药经配伍产生化学成分的变化,各成分保持适宜的浓度范围和比例而发挥作用。对复方化学成分的研究有可能从本质上阐明复方作用的物质基础,发掘中药方剂配伍的科学内涵,探索复方制剂过程中化学成分的变化规律,可为优化处方、制定科学的制剂工艺、提高制剂质量提供依据。因此,化学成分的研究在中药复方研究中占有重要地位。目前认为,中药复方化学成分研究的内容主要应解决以下两方面问题:其一,复方配伍中是否有新成分产生,是否由此而发挥疗效;其二,复方配伍中各成分含量的变化规律,是否由于各成分的协同作用产生疗效。目前,中药复方化学成分的研究方法包括以下几种。

4.1 系统分离法<sup>[4]</sup>:即系统分离中药复方中各成分,通过比较各药分煎液与合煎液的成分,确定是否有新化合物产生,再以定量方法研究配伍前后各化学成分的变化规律,从而找出各成分间的相互比例和各自的浓度范围。

4.2 三元论结构分析法<sup>[5]</sup>:即首先将中药复方视为一个整体,同单味药一样进行化学成分的研究,然后按化合物极性大小将其分为大、中、小极性 3 个部位,每部位又分成酸性、碱性、中性 3 类物质,并对每类物质都设计常规提取、分离溶剂和薄层色谱的鉴别方法,从而可系统快速地确定复方中所含化学成分的种类。其中先水煎煮,滤液浓缩至体积比为 1:

1 或 1:2 后,分别用氯仿、醋酸乙酸、正丁醇萃取的方法最适用于经典传统方剂有效部位的筛选。

4.3 化合物群分离法<sup>[6]</sup>:即将中药复方作为一个整体,采用现代分离手段,将其分离为性质相似的化合物群(如皂苷类、黄酮类、生物碱类或多糖类),这些化合物群分别代表了复方中所有药物含某类化合物的总和,进一步采用现代分离方法提取有效部分,进行指纹图谱定性、指标成分定量,并将有效部分与药效学研究相结合,就可能确定化合物群的有效部分中的化学成分。有学者结合化学分离和药理方法对小承气汤、厚朴大黄汤及厚朴三物汤的泻下作用物质基础进行初步研究。药理研究结果显示:三方均明显增加小鼠大肠湿重,其泻下作用强度与所含大黄成正比,小承气汤效价最高;其拆方研究表明,影响泻下作用的最显著因素为大黄,次显著因素为枳实。三方化学成分研究结果显示:小承气汤中蒽醌含量最高。表明三方均具有明显泻下作用,其效价差异的物质基础与方中所含大黄及其煎出的结合蒽醌含量有关。

对中药复方化学成分的研究必须与药效学研究相结合,才有可能真正阐明其复方作用的物质基础。近年来,许多学者进行了有意的探索,如严氏等以氯仿诱发小鼠室颤为指标对生脉散合煎液不同部位进行筛选,选择用水饱和的正丁醇直接萃取煎液,将其分为正丁醇部位和水溶部位,进一步以抗心肌缺血、抗心律失常和抗休克 3 项指标研究并比较该两部位对血管的作用,确定了正丁醇部位为生脉散的有效部位。值得注意的是,尽管人们对中药复方的药理药效已进行诸多研究,但对复方化学成分的研究仍十分缺乏。这一方面有待于对植物药物化学分离方法的不断改进,另一方面则主要有赖于临床医学工作者与中药化学研究者的全面合作。

#### 5 中药复方化学成分的分析方法及其应用

在中药复方整体的定性(即全部化学成分)、定量(即复方间量比关系)知之甚少的情况下,中药复方的化学成分分析是一项难度极大、极富挑战的任务。多年来,中医药学者不懈努力,建立了众多中药复方化学成分的分析方法。

以往的研究中,应用最多的主要是普通分析化学方法。例如,采用薄层扫描和紫外吸收光谱法比较左金丸及吴茱萸方中黄连主要成分小檗碱的浓度,发现水煎液中小檗碱溶出率降低,反映了传统用两药配伍多采用丸剂的合理性;采用络合滴定法考察清热泻火方剂中生石膏与甘草配伍对钙盐煎出率的影响,结果

发现二者配伍可使硫酸钙煎出率降低;以单扫描伏安法联合气相色谱-质谱法从分子结构和化学平衡角度研究复方枳术丸组方,发现了剂量、工艺等因素对有效成分含量的影响;以高效液相色谱法测定不同比例白芍与生甘草配伍后水煎液中芍药苷、甘草酸的含量,结果发现与单味白芍水煎液相比,白芍与生甘草以 3:1, 2:1 比例配伍,芍药苷含量基本无变化,比例为 1:1 时,芍药苷含量下降<sup>[7]</sup>。为了进一步了解中药复方的体内作用过程对其疗效物质基础的影响,还有部分学者将体外分析方法与体内实验研究相结合,如孙静芸等用体外模拟实验研究的方法先探讨麻杏石甘汤剂、散剂及同剂型的单味药在人工胃液、胃、肠液中的成分,同时给兔灌胃进行对照实验,以石油醚、氯仿、醋酸乙酯对胃、胃、肠容器进行提取分离,对其主要成分溶出度含量变化规律及 4 种溶剂分步提取的化学成分、pH 变化进行分析,结果发现各部位提取物的总体化学成分及主要成分含量的变化规律与对照组一致,证实了体外模拟法在中药复方化学成分研究中的可行性。

随着分析化学技术与仪器的不断进步,中药复方化学成分的分析方法也日新月异,近年来已从单模式单柱子的分析方法过渡到智能多模多柱系统 (IMMCC) 以及色谱与其他技术的联用。目前对于中药复方的分析,高效液相色谱应用最为广泛,这是因为 HPLC 包括多种分离模式,具有柱效高、重复性好、便于与其他结构测定仪器和计算机联用、自动化操作及智能优化等特点。对于中药中易挥发的化合物,目前优先选择检测灵敏度高、分离效率高的气相色谱进行分析;而对于其他大分子的分析还可选用毛细管电泳的分析方法。作为 HPLC 技术的补充和发展,对于中药复方中大量未知组份的定性通常需借助于联合技术,包括液相色谱和质谱 (LC-MS) 联用、液相色谱-质谱-质谱 (LC-MS-MS) 联用、毛细管电泳-质谱 (CE-MS) 联用、气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用、气相色谱-荧光分光光度 (GC-FTIR) 联用和液相色谱-紫外分光光度法 (LC-UV) 联用等。有学者以当归补血汤为例,液相色谱统一方法为其突破口,提出了对中药复方进行从非水反相 (异丙醇、甲醇) 到纯水反相进行系统分离摸索,并对黄芪中 66 个化学成分、当归中 78 个化学成分和当归补血汤中 71 个化学成分进行了液相色谱、 $a_c$  指数和紫外光谱的测定。通过此项研究发展了复杂样品的智能优化和峰识别的方法及软件,确定了黄芪分离的多阶梯多二元流动相梯度条件,通过中药复方与

其单味药所有化学成分的比较发现:黄芪与当归有很多共同的化学成分,但含量不一样;将当归补血汤与黄芪和当归对比发现:当归补血汤配伍后没有主要化学成分的产生或消失,但有含量上的变化<sup>[8]</sup>。

最近,分子生物学技术得到长足发展,也为中药复方物质基础的分析方法带来了新的契机。随着基因芯片技术、基因组与蛋白组分析相关技术的建立,中药复方多组份、多靶点、多途径作用特点必将与相应的基因、蛋白表达联系起来,人们通过比较药物治疗前后其各自不同的差异表达谱,可确定不同配伍组方对应的基因及蛋白表达靶点;根据表达的器官特异性及表达水平、中药复方的君臣佐使理论及用药剂量的关联性,不同配伍组方对应基因及蛋白靶点的相互作用,可分析复方中各组成、各单味药之间的密切关系,从而阐明药物作用的物质基础及内在配伍规律。应用基因芯片技术、差异蛋白质表达技术、多维色谱差异显示技术、智能多模式多柱色谱表达技术、激光共振电离光谱结合色谱技术等分析方法从不同角度去研究中药复方药物组份的“黑箱”和方剂体内效应的“黑箱”,并在此基础上进一步分析有效复方的定性、定量特征及其与机体相应酶、受体、基因和蛋白质表达差异的关系,将有可能发现治疗特定疾病的中药复方有效物质,推动中药新药的开发。

## 6 中药复方物质基础研究的应用前景

中药复方的研究方向在于向微观深入和向宏观扩展的统一。中药复方由于历史的渊源,对复方的研究始终没有建立起以物理、植物化学、分析化学、统计学、临床医学、细胞分子生物学等多学科交叉渗透的系列工程。中药有效单体与化学药品及生物制品相似,尽管它们在药物结构、氨基酸序列、理化性质、药效作用原理等方面十分清楚,但作用相对单一,在治疗慢性疾病的用药过程中存在着药效的单一性与疾病慢性化的多因素、多环节发病机制相悖的明显不足<sup>[9]</sup>,而中药复方因其组方的多成分、代谢的多途径及作用的多靶点可弥补这一不足。例如,根据临床实践经验在中医古方当归补血汤基础上改良制成的黄芪当归合剂 (A & A),根据中医理论具有益气养血活血之功效。现代药理学及作用机制的系列研究表明,A & A 对慢性肾炎具有全身和肾脏局部不同途径的治疗作用<sup>[10]</sup>。研究结果为中药复方黄芪当归合剂的多途径、多靶点、多环节作用提供了强有力的实验证据。因此,进一步应用新的分析方法与技术,结合

(下转第 1010 页)

淫羊藿苷的回收率。结果平均回收率为 100.56%, RSD为 0.30% ( $n=5$ )。

2.9 样品测定:分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 $\mu$ L,按照上述色谱条件测定淫羊藿苷的含量,结果见表 1

表 1 益尔力口服液中淫羊藿苷含量测定结果 ( $n=2$ )

Table 1 Content of icariin in Yierli Oral Solution ( $n=2$ )

批号	淫羊藿苷 / (mg $\cdot$ mL $^{-1}$ )	批号	淫羊藿苷 / (mg $\cdot$ mL $^{-1}$ )
990119	1.34	000221	0.57
990120	1.41	000223	0.52
990121	1.30	000225	0.58
991021	1.28	000227	0.54
000217	0.54	000219	0.54

### 3 讨论

3.1 检测波长的选择:取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇溶解并稀释成 30 $\mu$ g/mL 的溶液,于 200~450 nm 波长扫描,在 206, 224, (269 $\pm$ 1) nm 波长处有最大吸收,在 270 nm 处的 E 最大。以 270 nm 作为检测波长,进行高效液相色谱分析时,其他组分对淫

羊藿苷的测定无干扰,故确定 270 nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择:曾试用甲醇-水、甲醇-0.1 mol/L 磷酸二氢钠溶液、甲醇-0.4% 磷酸溶液、水-甲醇-0.1 mol/L 磷酸二氢钠溶液不同比例流动相,结果以乙腈-甲醇-0.1 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (6:55:50) 为流动相效果最好。

3.3 益尔力口服液组份较多,为减少其他组份的干扰,预处理样品曾试用大孔树脂法、正丁醇提取法和甲醇沉淀法。经比较,甲醇既能溶解淫羊藿苷,又能将脂肪、蛋白质、糖等成分沉淀,并可除去大部分杂质,其操作简单,既保护了色谱柱,又可得到较好的色谱图,故采用甲醇沉淀法。

3.4 测定 10 批药材样品中淫羊藿苷的含量,结合药材中淫羊藿苷的含量受产地、采收季节、贮存情况等影响,样品中的淫羊藿苷含量为 0.20%~3.0%,差异较大,规定益尔力口服液中淫羊藿苷不得低于 0.40 mg/mL。

(上接第 966 页)

现代药理学研究方法发现中药复方有效物质,在防治疾病慢性化中将具有重要的理论和实际意义,也将具有十分广阔的临床应用前景。

### 7 结语

综上所述,中药复方物质基础研究已从传统的思路和方法中走出,开始利用多种新兴方法和技术,将中药复方多组份、多靶点、多途径的作用特点与基因、蛋白表达关联起来进行超高通量筛选,将有可能为临床提供目标更加特异、治疗效果更佳、副作用更少的新型药物。高质量的研究将有赖于中西医、医学与药学、临床与基础等多学科之间的跨学科协作。通过这些研究,不仅可以丰富现代医学对疾病发病机制中整体与局部之间关系的认识,而且将进一步深化对传统中医辨证治疗理论的理解,进一步使中医药学理论的丰富内涵在实践中宏扬光大。

### References

- [1] Tao D L, Huang B G, Xu Y Z, et al. The interaction of different fractions from Shengmaisan [J]. *Prog Nat Sci* (自然科学进展), 2002, 12(5): 473-478.
- [2] Jin F, Sun X Y. The study of ratio of compatibleness for Dangguibuxue Decoction [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 1995, 1(1): 33-37.
- [3] Zhang Q H, Chen K J. The assessment of application for serum pharmacology in Chinese herbs and prescription [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1996, 16(3): 131-133.
- [4] Liu J L. Studies of chemical constituents and active extracts in Chinese prescription [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1992, 14(10): 49-50.
- [5] Yu Y G. The cubical structure of Chinese herbs theory and herbal learning system [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1989, 14(9): 48-50.
- [6] Luo G A, Wang Y M. The study of methodology and theory for the active extract of Chinese prescription [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19(8): 44-45.
- [7] Wang J R, Ma C Y, Yan Y Q, et al. Chemical changes of compatibility of white peony root and licorice [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11(2): 102-103.
- [8] Xiao H B, Liang X M, Lu P Z, et al. New analysis methodology and application for Chinese prescription [J]. *Chin Sci Bull* (科学通报), 1999, 44(6): 588-596.
- [9] Ceng L Y, Ceng Y S. The pharmacology study and development clue on Chinese prescription [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 1997, 4(6): 10-11.
- [10] Wang H Y, Li J Z, Pan J S, et al. The effect of *Astragalus* and *Angelica* on nephritic syndrome and its mechanisms of action [J]. *J Peking Univ Health Sci* (北京大学学报·医学版), 2002, 34(5): 542-552.