

微量热分析在中医药研究中的应用

代春美^{1,2}, 肖小河^{1*}, 金城¹, 王迪², 赵艳玲¹

(1. 中国人民解放军第302医院, 北京 100039; 2. 锦州医学院, 辽宁 锦州 121001)

摘要:针对我国中医药现代化研究的现状和问题,结合微量热分析技术的特点和优势,认为基于生物热动力学的微量热分析有可能在中医药研究中发挥独到而突出的作用,建立基于生物热动力学表达的中药四性评价、品质鉴定、药效物质筛选、复方配伍关系分析等研究方法体系,可望为中医药现代化研究提供新的技术支撑。

关键词:中医药;热力学;微量热分析

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)10-1575-03

Application of microcalorimetric analysis to research on traditional Chinese medicine

DAI Chun-mei^{1,2}, XIAO Xiao-he¹, JIN Cheng¹, WANG Di², ZHAO Yan-ling¹

(1. 302 Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100039, China; 2. Jinzhou Medical College, Jinzhou 121001, China)

Key words: traditional Chinese medicine; thermodynamics; microcalorimetric analysis

中药应用历史悠久,是我国传统文化的宝贵财富。中药现代化的战略目标就是要满足人民不断增长和变化的医疗保健需要,全面提升我国民族医药产业。但中药现代化无论在理论基础还是方法手段方面,都存在一系列的制约因素。基于生物热动力学的微量热分析方法,可通过微量热仪和特定的实验方法,定性、定量地刻画不同中药与机体相互作用的能量转移和热变化,并将中药内在的药性品质表达为特征“指纹”——热谱图,并由此衍生一系列热力学参数和特定的数学模型。该方法具有实时、在线、灵敏、准确、高效、普适性好、经济性好等特点,为阐释中医理论,探讨中药的作用机制提供了一种新的研究工具,更值得关注的是,将生物热动力学和中医药学有机结合,建立有关的实验体系,以热力学参数的表达为指标,以中药四性评价及药材品质鉴定、药效物质筛选、复方配伍关系分析为主要研究方向,给中医药现代化带来了新的思想启示和潜在机遇。

1 中药现代研究现状及存在问题

1.1 中药药性理论的研究,长期以来,中药药性一直是中医药基础研究的难点和热点课题,我国和日本学者主要从药性与药理作用的关系方面进行了较广泛的研究。在与植物神经系统和内分泌功能关系的研究中发现,寒凉药可抑制儿茶酚胺类合成,降低交感神经活性,并对肾上腺皮质功能、代谢功能有抑制作用;温热药对交感神经、肾上腺皮质功能、代谢功能有一定的增强作用^[1]。不同药性对机体能量代谢的影响有一定差异,刺激机体代谢,增加体内热量的药物多属于温热药,减少体内产热的药物多属于寒凉药^[2]。寒凉药如黄连能抑制 Na^+ , K^+ -ATP酶的活性,相反,温热药能使 Na^+ , K^+ -ATP酶的活性回升,并能对抗地塞米松引起的 Na^+ , K^+ -

ATP酶“耗竭”现象。中药的药性影响中枢神经递质的量,兴奋中枢神经的中药多属温热性质,抑制中枢神经的中药多属寒凉性质。在药性物质基础研究中,有学者主张去甲乌药碱是多种温热药性的物质基础,无机盐类中药结晶水的存在,是此类中药产生寒凉药性的重要因素,具有共同药理效应的一些有效成分均为药性的物质基础。同时发现,中药药性与铁、锰元素的量有密切关系^[3]。

在中药药性研究中存在的主要问题是历代中医对中药药性认识不一致;实验研究缺乏较理想的病或证药理模型,中药药性的研究是否等同于药物的药理药效实验,中药药性与微量元素间有无内在的必然联系,至今尚未找到直接的支持依据;药物的来源、成分、作用等背景不一致,如何实现药性差异?因此亟需建立一套可被公认的、客观的实验方法和标准。

1.2 中药药效物质基础的研究,中药的化学成分研究经过几十年的努力取得了长足的进展,从500多种常用中药中分离鉴定了近万个化合物,中药起作用必然有其药效物质基础即活性成分。但到目前为止,绝大多数中药的药效物质基础仍不清楚,这应该说是目前中药制剂技术落后、作用机制不明、质量控制困难的根本原因。

过去传统的中药化学成分研究思路和方法的优点在于可以获得大量的单体化合物,进而对这些单体化合物开始药理药效研究。但是在中药分离解析的过程中,各部分的活性有可能减弱或消失,最后得到的化学单体无法代表原药材的药效作用^[4]。

目前广泛倡导3个化学层次(药材饮片、有效部位和有效成分)和4个药理水平(整体、组织、细胞和分子基因)筛选

收稿日期:2004-12-09

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970911)

作者简介:代春美(1977-),女,医学硕士。 Tel: (010)66933324

* 通讯作者 肖小河 Tel: (010)66933322 Fax: (010)63825768

E-mail: xiaod1176@sina.com

中药药效物质,理论上是科学可行的,但经济上和技术上尚存在较多制约因素。这是因为:从复方到拆方、从药材到有效部位、从有效部位到有效成分之间的化学分离策略和方法多种多样,相应地可得到的提取物、化学组分或化学单体也是千变万化,而有限的人力、物力和时间资源不可能对千变万化的提取分离物质进行一一的药理活性跟踪试验^[5]。因此寻找并应用现代科学技术手段阐明中药的药效物质基础是中药现代化的前提和关键问题之一。

1.3 中药质量控制的研究:中药的质量控制过去一直沿用化学药的质量控制模式。既采用单一有效成分或指标成分来控制中药及其制剂的质量。这种方法含有多种缺点:首先,仅依靠一二个成分代表一味中药是片面的;其次,含有相同成分的中药绝非仅此一种,这给鉴定工作带来了不确定因素;第三,该成分不一定是主要有效成分,不一定能与中医药理论的药性和药效相对应,是不尽合理的,不尽科学的。

目前采用的指纹图谱技术(包括高效液相色谱、薄层色谱、气相色谱等)及联用仪器(如GC-MS、LC-MS、LC-NMR等)的问世把中药的质量控制提高到了一个新的水平,但目前的指纹图谱技术只能从量和质(物质)的角度来评价中药,不能与中药最本质的质量、药效或活性建立一种内在的潜藏关系。

2 微量热分析的基本原理及在相关领域的应用

2.1 微量热分析的基本原理和特点:所有的化学、物理和生命过程都伴随着热效应,热效应与反应物的变化间有定量的相关性^[6]。高灵敏度、高自动化的微量热量计不断涌现,从而使量热测量从过去的静态到动态成为可能,一门研究热熔变化动态过程的新兴学科——热动力学由此诞生。热动力学是根据变化过程的放(吸)热速率研究过程动力学规律的分支学科。热动力学的基本原理在生命现象以及和生命现象有关的物理现象中的应用,则称为生物热动力学。

对于一个生物体系,在生长代谢过程中同样伴随着热效应的产生,通过自动量热计连续准确地检测和记录这一变化过程的热谱曲线,可以得到热功率-时间曲线(简称热谱图),用热动力学的方法对热谱图进行分析,可获得生物体系生长代谢的热力学和动力学信息。微量热法灵敏度高,能准确测定缓慢过程的热效应,所以用于生物体系的代谢过程的热量测定有许多独到之处。它在测量中不用添加任何试剂,能直接监测生物体系所固有的代谢过程,不会引入干扰生物体系正常活动和代谢的因素^[7]。另外,还可以有目的地加入有关物质(如中药),以研究中草药对生物体系代谢的影响。它不需要制成透明清澈的溶液,可直接测量离体的组织和悬浮液,特别是在微量热实验之后,对研究对象没有任何破坏,样品还可以做进一步的分析测试实验研究。尽管生物量热法缺乏特异性,但研究对象本身有其固有的新陈代谢特异性,所以用这种非特异的方法可以得到特异性方法所得不到的结果^[8]。从某种意义上说,微量热法不仅仅提供热化学数据,而且成为一种新的、具有广泛应用前景的研究工具,无论从热化学还是从生物学方面来看都在经典领域的基础上向前迈

进了一大步。

2.2 微量热分析在相关领域的应用:微量热分析在热化学、药剂学、生物化学等领域有广泛的应用。Barros等利用微量热法并结合土壤样品的物理化学性质,研究土壤中所含微生物的活性^[9];沈雪松等运用微量热法研究了氟喹诺酮类药物对大肠杆菌抑制作用的量效关系^[10];Yamaga等用微量热法测定了包括癌细胞、鼠肝细胞、淋巴细胞和中性粒细胞的产热^[11]。

3 微量热分析在中医药现代研究中的应用与展望

3.1 在中药活性评价中的应用:应用微量热分析技术测定大肠杆菌在含不同浓度麦冬的培养基中的谱图,按指数生长模型对生长段进行了数学处理,得到不同浓度麦冬作用下大肠杆菌的生长速率常数。结果表明,浓度较小时,麦冬对大肠杆菌生长代谢有促进作用,浓度较大时,麦冬对大肠杆菌生长代谢有抑制作用^[12]。应用微量热分析技术测定芦荟提取液对大肠杆菌的促进代谢作用,从热谱图得到生长速率常数,从而确定促菌作用的最适宜用药浓度^[13];应用微量热分析技术计算了不同浓度的甘草液中大肠杆菌的生长速率常数,确定了大肠杆菌在甘草液中的最佳生长浓度和临界生长浓度^[13];应用微量热分析技术研究枸杞中黄酮类化合物清除氧自由基对小鼠L₁₂₁₀癌细胞能量代谢的抑制作用,表明枸杞中黄酮类化合物对多形核白细胞呼吸爆发的产热峰完全抑制,对L₁₂₁₀细胞的能量代谢有明显的抑制作用^[14]。

3.2 在中药药性理论研究中的应用:中药药性理论是中医药最基本的理论之一,是中药形成、发展与应用的重要基础,是联系中医与中药的重要桥梁和纽带,是中医辨证论治、处方遣药的主要依据。广义的药性包括四气、五味、归经、升降浮沉、功能主治、配伍禁忌等。狭义的药性指中药具有寒、热、温、凉4种性气,即中药四性。长期以来,中药药性理论特别是中药四性一直是中医药基础研究的热点和难点。

采用微量热分析法,定性、定量地测定不同药性药物与机体相互作用的能量转移和热变化,建立中药四性的生物热动力学模型和热谱图,对中药的寒、热、温、凉进行客观的描述,对中药四性分类进行多类别归属的研究,将有利于更加全面认识中药药性作用的特点。研究表明,中药的寒、热、温、凉药性是客观存在的,也是相对的;生物热动力学可以作为评价中药四性的有效方法之一,特别是热焓变化等参数可作为重要的评价客观指标;作用于生命体系的方药,如药材品种不同,炮制规格不同,或处方配比不同,寒、热、温、凉药性不同,其生物热谱图及主要热动力学参数值有不同程度的改变,特别是热量输出变化即焓变呈现较明显而有规律的变化,并与传统中医对方药的赋性有映照关系。温热药红参能使大肠杆菌指数生长期的产热量即焓变增加较显著,寒凉药西洋参能使大肠杆菌指数生长期的产热量增加较少。不同药性的药物作用于生命体系,能调控生命体系能量的代谢、转移和热变化,特别是热焓变化,使机体本身呈现寒、热、温、凉差异,从而形成新的稳定的有序状态,这可能是中药药性重要的作用机制之一,也可能是“寒者热之,热者寒之”、“实者泻之,损者益之”等中医治法治则的作用机制之一^[15,16]。

3.3 在中药复方配伍规律分析中的应用:中药复方配伍关系千变万化,非常有限的资源不可能对千变万化的复方配伍变化进行逐个的药理学研究;配伍变化有程度和性质的不同,不是所有的配伍变化都能反映在药效学指标上,即使中药复方配伍的功效发生显著变化,但有些功效没有应用成熟的药理学模型及中医证候模型来表达;大多数中药复方量效关系不明确,有的甚至就没有量效关系,而且有的中药的药效学结果本身也比较模糊。因此,在研究中药复方配伍关系时,一开始就立足于药效学试验或以药效学试验为主,不仅费时耗财,经济上很不合理,而且技术上有很大的制约。

中药复方的配伍关系实际上包括两个层面:一是处方中各单味药的药效物质之间的相互作用;二是全方的药效物质与机体之间的药理、毒理作用。从本质上说,无论是药物之间相互作用,还是药物与机体之间相互作用,都属于化学反应范畴。而任何化学反应发生时,均伴随有能量的转移和热变化,这些能量的转移和热变化均可用热力学的理论和方法加以检测与描述^[17]。采用生物热动力学方法,定性、定量测定复方配伍过程中的能量转移和热变化,建立中药复方配伍关系的生物热力学模型和热谱图,从而实现中药复方配伍变化的实时、连续、在线、无损、快速、灵敏的检测和分析。

3.4 在中药药效物质筛选中的应用:基于生物热动力学学表达的微量热分析的本身就是一种生物活性检测方法,并且是一种客观而灵敏的活性评价方法。因为在通常情况下,生物体的生长代谢都伴有能量的转移的热变化,并在一定的阈值范围内呈现规律性波动,中药的生物活性实质上就是中药药效物质对生物体生长代谢的干预作用,这种干预作用不可避免地影响生物体生长代谢的能量转移和产热变化;从化学角度讲,这种干预作用就是中药与生物机体之间的相互作用,这种相互作用可能是物理反应,也可能是化学反应,而任何反应发生时,均伴随有能量的转移和变化;无论生物体生长代谢过程中所伴随的能量和产热的变化,还是化学反应过程产生的能量和产热的变化,都可以采用热动力学方法特别是微量热学方法定性、定量地检测,都可以用热动力学理论加以阐释;根据生物热动力学表达参数和热谱图,监测生物体正常的生长代谢状况以及药物作用下变化情况,从而确定不同药物的药效作用及大小,进而鉴别中药真伪优劣;进一步地,结合化学指纹图谱,可以建立基于“质(物质、化学物质或药效物质)-能(能量或热量)”谱效关系分析的中药药效物质高通量筛选方法体系,多快好省地筛选药效物质,科学准确地确定主要药效物质或相关药效物质。构建与开发基于“质-能”谱效关系分析的中药品质评价与药效物质高通量筛选方法体系,具有较大的学术意义和潜在的应用价值。不仅将使长期制约中药现代化发展的瓶颈因素——中药质量控制与药效物质研究有望取得新的突破,同时也将为重新审视中医药、研究中医药提供新的视角和方法。该方法体系一是可作为中药鉴定的辅助手段,既鉴别中药品种真伪,也可反映中药的质量优劣;二是可作为评价中药生物活性的间接手段,从而反映供试药物的生物活性大小;三是可以作为评价

临床疗效的关联手段。

4 结语

基于“质-能”谱效关系分析的中药药效物质高通量筛选方法体系将比现行的中药化学指纹图谱更能具有“生物活性”,更有利于构建中药“谱效关系”,更直接地“锁定”药效成分,较现在普遍采用的活性示踪分离中药药效物质的筛选方式在经济上和技术上将更加可行,更有利于发现中药主要药效物质或相关药效物质。

References:

- [1] Gao X M. *Chinese Materia Medica* (中药学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [2] Cheng B B. Proceedings in the modern research on four properties of TCD [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11(9): 858-859.
- [3] Gao X S. *Theory of Properties of Chinese Materia Medica* (中药药性论) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1992.
- [4] Guo D A. Key questions of the modernization of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (Suppl): 9.
- [5] Xiao X H. A probe into the innovation connotation of traditional Chinese medicine and the modernization and internationalization of Chinese materia medica [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(Suppl): 64.
- [6] Li X, Liu Y, Qu S S. Microcalorimetric study on the action of selenomorpholine derivatives on growth metabolism of *Escherichia coli* [J]. *Chin J Appl Chem* (应用化学), 2002, 19(7): 645-647.
- [7] Shen X S, Liu Y, Zhou C P, et al. Thermochemical studies on the metabolism of microorganism [J]. *J Wuhan Univ Nat Sci* (武汉大学学报:自然科学版), 2000, 46(4): 429-432.
- [8] Xie C L, Tang H K, Qu S S, et al. Microcalorimetric study of bacterial growth [J]. *Thermochim Acta*, 1988 (123): 33.
- [9] Barros N, Feijo S, Simoni J A, et al. Microcalorimetric study of some Amazonian soils [J]. *Thermochim Acta*, 1999 (328): 99-103.
- [10] Shen X S, Liu Y, Zhou C P, et al. Thermochemical studies on the quantity-antibacterial effect relationship of fluoroquinolones [J]. *Acta Chem Sin* (化学学报), 2000, 58(11): 1463-1466.
- [11] Yamage M, Evans C H. Suppression of mitogen- and antigen-induced lymphocyte proliferation by lanthanides [J]. *Experientia*, 1989, 45: 1129-1131.
- [12] Li X Y, Pan X R, Wu L C, et al. Microcalorimetric study on the action of Maidong affecting on the growth of *Escherichia coli* [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 2001, 25 (4): 307-309.
- [13] Li X Y, Cong D J, Yu J T, et al. Microcalorimetric study on the action of Luhui affecting on the growth of *Escherichia coli* [J]. *Chin J Health Lab Technol* (中国卫生检验杂志), 2001, 12(1): 44-45.
- [14] Huang Y Q, Tan A M. The study on Gouqi flavone compound eliminate oxygen free radical and inhibitory effect on L1210 cancer cell of mice [J]. *J Hyg Res* (卫生研究), 1998, 27(2): 109.
- [15] Yu H M, Xiao X H, Liu T S, et al. Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 2001, 7(11): 60-64.
- [16] Yu H M, Xiao X H, Liu T S, et al. Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese medicine—Comparison of properties of Shengshaishen and Hongshen by microcalorimetry [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(5): 393-396.
- [17] Xiao X H. Speculating about TCM theory [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(2): 81.