·中药现代化论坛·

生物方剂分析药理:阐明方剂吸收生物活性成分的研究策略

黄 熙[1,2,3*],范 荣[1,2,3],张海男[1,2,3],任 平[2,4],秦 锋[1,2,3],王 杨[1,2,3]

(1. 中南大学湘雅医院中西医结合研究所,湖南 长沙 410008; 2. 国家医药管理局肝藏象相关疾病重点研究室,中南大学湘雅医院,湖南 长沙 410008; 3. 国家中医药管理局"十一五"脑病重点专科,中南大学湘雅医院,湖南 长沙 410008; 4. 中南大学湘雅医院 药剂科,湖南 长沙 410008)

摘 要:综述了生物方剂分析药理研究策略提出的背景、完善过程和内涵。该策略是一种能够阐明方剂体内吸收生物活性成分的思路与方法,是一种吸收成分与母方疗效比较的研究模式,其主要的 3 个要点是:方剂成分在血中的测量、吸收成分与母方疗效的比较、吸收成分剂量等于母方中的量。以冠心 II号为实例,用该策略阐明其体内药效物质。并论述了该策略的研究意义。

关键词:生物方剂分析药理;吸收生物活性成分;药效物质基础

中图分类号:R285.5 **文献标识码**:A **文章编号**:0253-2670(2010)03-0337-03

Bioethnopharmaceutical analytical pharmacology: a strategy for elucidating ethnoherbal absorbed bioactive compounds

HUANG Xi[1,2,3], FAN Rong[1,2,3], ZHANG Hai-nan[1,2,3], REN Ping[2,4], QIN Feng[1,2,3], WANG Yang[1,2,3]

(1. Institute of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2. Key Unit of Gan-Zangxiang Related Disease, State Administration of Traditional Chinese Medicine (SATCM), Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 3. Key Unit of the 11th Five-year Plan of SATCM in Cerebrosis, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 4. Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: To review the background and advance of a strategy of bioethnopharmaceutical analytical pharmacology (BAP). BAP is an idea for elucidating absorbed bioactive compound (ABC) in traditional Chinese medicine (TCM) formula or herbal remedy. It is also a mode of active comparison between absorbed compounds and the parent formula including determination of ABC in blood, the ABC dosage identical to its content in formula, and the active comparison of ABC and the parent formula. The ABC of Guan-Xin-Er-Hao formula elucidated by BAP strategy has been reviewed and the significance of BAP strategy will be further discussed.

Key words: bioethnopharmaceutical analytical pharmacology (BAP); absorbed bioactive compound (ABC); effective substance basis

药效物质基础是方剂研究的核心之一,唐文富等[1]曾提出代谢物组学新假说,用代谢物组学的方法寻找方剂有效成分在体内的作用靶点,以阐明方剂的药效物质基础及其作用途径。生物方剂分析药理(bioethnopharmaceutical analytical pharmacology, BAP)研究策略是新近提出的[2],在方剂吸收入体内成分的分析指导下,进行药理学研究,也是一种比较体内吸收成分与母方的整体药效的研究模式。BAP 策略来源于 2002 年的生物方剂分析中医药学思路[3]。提出 BAP 策略的目的是用生物药物分析的方法阐明方剂的体内药效物质基础,阐明代表方剂疗效的主要吸收的生物活性成分(absorbed bioactive compound, ABC)[2],以有利于阐明方剂的作用机制。本文概述 BAP 提出的背景、内涵及其意义。

①收稿日期:2009-12-09

基金项目:国家"重大新药创制"科技重大专项课题(2009ZX09304);国家中医药管理局肝藏象相关疾病重点研究室经费资助;国家杰出青年科学基金资助(30325045)

*通讯作者 黄 熙 Tel: (0731) 84327222 (O) E-mail: tcmhuangx59@163.com

1 阐明方剂吸收生物活性成分的困难与对策

中药成分复杂多样,且通过多靶点来纠正疾病造成的机体失衡。因此研究草药与方剂中与疗效相关的成分,一直被国际上评价为极端困难、无法解决的问题[4]。艰难之源在于非常繁多、令人恐怖、极端复杂的化学成分。

常用的方法是研究方剂在体药效时结合该方某个(些)单体的活性研究,推测该单体为药效成分[5,6]。其研究特点是没有中药复方或方剂口服后单体被吸收入体内的证据;比较药效研究中,该单体的剂量设计比较随意。基于此提出生物方剂分析药理(BAP)研究策略,以阐明方剂体内药效物质基础。

2 BAP 的研究模式

BAP 策略采用方剂吸收入血成分与母方疗效相比较的研究模式探索方剂的 ABC。BAP 策略能够在 3～5 年而不是百年内阐明方剂中与疗效相关的主要药效物质基础,阐明方剂主要的 ABC。

2.1 BAP 策略是在方剂与证的药动学研究基础上发展起来的:本课题组在 1991 年提出证治药动学假说:不同的证状态与方剂配伍可明显影响方剂药动学参数,并与疗效和药物不良反应密切相关[7]。在国家自然科学基金的资助下,本课题组用川芎复方与血瘀证、甘草复方与脾虚证为实例,基本证明了上述假说,并被其他学者所证实[8,9]。王战国等[10]提出基于代谢组学与方证理论的药效学-药动学方法,从"方证对应"的角度研究中药复方配伍规律。证治药动学假说进一步发展为研究方剂吸收入血成分,其具备以下特点:(1)能定性、定量;(2)数目相对有限;(3)与母方疗效相关;(4)可能被代谢或被机体作用为新的成分;(5)成分之间存在药动与药效相关关系;(6)能被证机体独特处置[7]。经过长期的实践证明,方剂吸收成分能够定性定量,这就为提出生物方剂分析中医药研究思路与方法奠定了基础。

2.2 BAP 策略是基于生物方剂分析中医药学思路与方法:在长期的方剂药动学研究的基础上,在方剂的临床、化学、药效研究取得足够积累的基础上,2002 年提出了"生物方剂分析中医药学研究的设想"[3]。该设想是在方剂吸收入生物体内成分分析的指导下,进行方剂在体/离体药效、药动、质量控制、植物化学等方面的研究。本文讨论的主要是生物方剂分析在体药效学研究部分。

2.3 围绕方剂 ABC 研究过程形成了 BAP 策略:围绕着方剂 ABC 及其作用机制的研究,在国家自然科学基金资助下,课题组成员通过长期联合攻关,特别是近 4 年,对冠心 II号进行了大量的基础与临床相结合的研究,围绕该方 ABC 研究的过程而形成了 BAP 策略(图 1)。

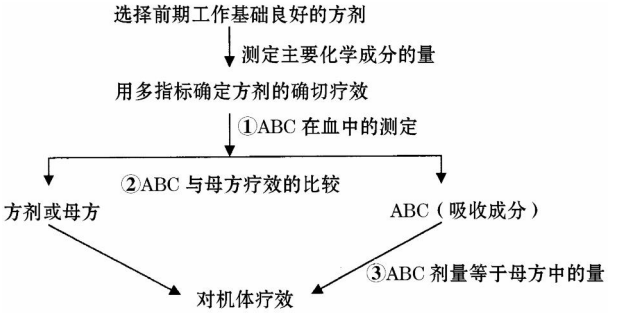

图 1 BAP 研究模式

Fig. 1 Research model of BAP

以冠心 II号为例,来验证 BAP 策略。首先测定冠心 II号的主要化学成分的量,确定冠心 II号在临床和动物抗心肌缺血的确切疗效[2,11～13];证明大鼠口服冠心 II号后吸收入血的成分是阿魏酸(F)、丹参素(T)、羟基红花黄色素 A(A)、芍药苷(E)与原儿茶醛(P)。然后设计分组:冠心 II号组、上述成分单独与联合用药组、FAT 联合组,上述成分的剂量等于在母方中的量[2],观察上述各组对心肌梗死面积的影响。研究结果表明,冠心 II号减小心肌梗死面积是以吸收的 3 种成分(F、A、T)从线粒体细胞色素 C(CYT C)途径,通过抑制心肌细胞凋亡与 caspase 活性实现的[12]。在比较单体成分与母方疗效时,得到了上述成分被吸收的证据[2]。

基本阐明了冠心 II号的心脏保护作用主要物质基础是吸收的阿魏酸、丹参素、羟基红花黄色素 A[2]。这是国内外首次从体内成分基础上对方剂主要药效物质的研究。

南京大学徐强教授课题组比较除去芍药苷的四逆散与原四逆散的疗效,结果明显降低,而且芍药苷与四逆散疗效类似[14],芍药苷剂量等于其在母方中的量,与 BAP 策略得出的结果一致。与国际上常用的方法比较 BAP 策略在阐明方剂药效物质方面的优势是:ABC 具有体内被吸收的证据;ABC 的剂量符合实际吸收真实情况。

3 BAP 策略的研究步骤

BAP 首先需要选择临床、药理与化学前期工作基础较好的方剂来作为研究对象。首先测定方剂主要化学成分的量,以作为这些成分在比较药效实验时的剂量设计的参考。在确定方剂的确切疗效以后,主要采用吸收成分与母方疗效比较的研究模式,主要包括以下 3 项研究要点:

3.1 方剂 ABC 在血中的定量:一般在研究方剂整体药效的同时,利用 UPLC、LC-MS-MS 等仪器同步测定口服方剂后血中吸收的化学成分[2],明确方剂吸收入体内成分是 BAP 研究的前提与指导思想。

3.2 ABC 与母方疗效的比较:选择一个公认的疗效指标,进行吸收成分联合/单独应用与母方疗效的比较,确定吸收的成分中哪些成分与母方疗效相关,或者说是哪些主要成分引起母方的疗效。

3.3 ABC 剂量等于在母方中的量[2]:在进行上述吸收成分与母方疗效比较研究中,吸收成分剂量要与其在母方中的量等同。这是非常重要的步骤。如冠心 II号由丹参、川芎、赤芍、红花与降香组成,组成比例为 2 ∶1 ∶1 ∶1 ∶1,其中丹参素的量为 0.936 mg/g。冠心 II号的实验剂量为 30 g/kg,其中丹参素的剂量应该是 28.08 mg/kg(0.936 ×30)[2]。按照这个剂量丹参素单独灌胃大鼠,对心肌梗死面积有效但不明显,如果随意的设计为 50 或 100 mg/kg,则完全可能有明显疗效,但相对于冠心 II号而言,则可能是假阳性结果,因为口服的冠心 II号中不含有如此多的丹参素。

4 BAP 策略的研究意义与可能存在的缺陷

4.1 对中医药学科的影响:在 BAP 策略指导下,采取吸收成分与母方疗效比较的研究模式,遵循上述的 3 个研究要点,能够基本阐明代表方剂疗效的主要 ABC(主要体内药效物质)。因此,BAP 策略可能开创阐明方剂体内药效物质基础及其作用机制研究的新途径。阐明代表方剂疗效的主要 ABC,能够将其发展为新的质量控制标准,ABC 既能发展为先导性的现代中药,从而克服了传统中药复方重金属、农药污染等缺陷,又能发展为能够静脉注射的新型中药复方制剂。由于 ABC 与母方疗效类似,从而继承了母方经典的方剂组方理论与治则治法、主治中医证的理论与实践的内涵与成就,方剂是中医理法方药重要的环节,因此对中医药学科发展具有推动作用。

4.2 对于现代药效思想的影响:经典的药学思想是“一个成分、一个疾病、一个靶点”,对于慢性复杂难治性疾病,已经不能完全治愈[15]。因此产生了多成分、多靶点与多药合用的新药学思想,如 cocktail、polypill 和联合用药等。BAP 阐明方剂的 ABC,就能对现代药学新思想做出中医药的独特贡献。

4.3 BAP 策略尚存不足:只能阐明代表方剂疗效的主要药效物质,不能精确地阐明代表疗效的所有成分,可能遗漏某些低微成分。在进行吸收成分与母方疗效比较时,某些单体成分在单独给药时,可能存在口服生物利用度不如在方剂中好的情形,从而影响药效比较的结果,可以通过进一步的模拟母方中非特异性(淀粉、腺苷、纤维等)成分环境,加以克服。

参考文献:

[1] 唐文富, 陈光远, 黄 熙. 方剂代谢物组学新假说 [J]. 中草药, 2007, 38(6): 801-803.

[2] Huang X, Qin F, Zhang H M, *et al*. Cardioprotection by Guanxin Ⅱ in rats with acute myocardial infarction is related to its three compounds [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 121(2): 268-273.

[3] 黄 熙. 生物方剂分析中医药学研究的设想、背景与意义 [J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(4): 251-252.

[4] Xie P S, Leung A Y. Understanding the traditional aspect of Chinese medicine in order to achieve meaningful quality control of Chinese materia medica [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 1933-1940.

[5] Huang W, Zhang J, Moore D D. A traditional herbal medicine enhances bilirubin clearance by activating the nuclear receptor CAR [J]. *J Clin Incest*, 2004, 113: 137-143.

[6] Takeda H, Sadakane C, Hattori T, *et al*. Rikkunshito, an herbal medicine, suppresses cisplatin-induced anorexia in rats via 5-HT2 receptor antagonism [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(7): 2004-2013.

[7] 黄 熙, 陈可冀. “证治药动学”新假说的理论与实践 [J]. 中医杂志, 1997, 12(38): 745-747.

[8] Di B, Feng N, Liu W. Pharmacokinetic comparisons of Shuang-Huang-Lian with the different combinations of its constitutional herbs [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 107: 401-405.

[9] Li Y, Bi K. HPLC determination of ferulic acid in rat plasma after oral administration of *Rhizoma Chuanxiong* and its compound preparation [J]. *Biomed Chromatogr*, 2003, 17: 543-546.

[10] 王战国, 胡惠玲, 兰 轲, 等. 试论基于代谢组学与方证理论的药效学-药动学方法研究中药复方配伍规律 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 169-172.

[11] Zhao J, Huang X, Tang W, *et al*. Effect of oriental herbal prescripton Guan-Xin-Er-Hao on coronary flow in healty volunteers and anti-apoptosis on myocardial ischemia-reperfusion in rat models [J]. *Phytother Res*, 2007, 21(10): 926-931.

[12] Zhao H W, Qin F, Liu Y X, *et al*. Antiapoptotic mechanisms of Chinese medicine formula Guan-Xin-Er-Hao in the rat ischemica heart [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2008, 216(4): 309-316.

[13] Qin F, Liu Y X, Zhao H W, *et al*. Chinese medicinal formula Guan-Xin-Er-Hao protects the heart against oxidative stress induced by acute ischemic myocardial injury in rats [J]. *Phytomedicine*, 2009, 16: 215-221.

[14] Sun Y, Dong Y, Jiang H J, *et al*. Dissection of the role of paeoniflorin in the traditional Chinese medicinal formula Si-Ni-San against contact dermatitis in mice [J]. *Life Sci*, 2009, 84(11-12): 337-344.

[15] Verpoorte R, Crommelin D, Danhof M, *et al*. Commentary: “A systems vies on the future of medicine: inspiration from Chinese medicine?” [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 121(3): 479-481.