

· 综 述 ·

麝香保心丸研究进展

刘 群, 吕 超, 张卫东, 柳润辉*

第二军医大学药学院, 上海 200433

摘 要: 麝香保心丸具有芳香温通、益气强心之功效, 主要用于治疗心肌缺血引起的心绞痛、胸闷及心肌梗死等, 是临床上治疗冠心病、心绞痛的常用中成药。自麝香保心丸上市以来, 对其化学物质基础、药理作用及系统生物学的研究从未间断。通过文献查阅及研读, 对麝香保心丸的研究进展进行综述。

关键词: 麝香保心丸; 中成药; 化学物质基础; 冠心病; 心绞痛; 系统生物学

中图分类号: R284; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)08-1409-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.08.028

Advance in modern studies on Shexiang Baoxin Pill

LIU Qun, LV Chao, ZHANG Wei-dong, LIU Run-hui

School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: Shexiang Baoxin Pill, which has the functions of activating *Yang* and benefiting vital energy in resuscitation with aromatics, is widely used in clinic for the treatment of angina pectoris, chest distress, and myocardial infarction induced by myocardial ischemia. Since it is commonly used for the treatment of coronary heart disease and angina pectoris in clinic. The study on its chemical material basis, pharmacology, and systems biology of Shexiang Baoxin Pill have been carried out successively. In this paper, the advance in the modern studies on Shexiang Baoxin Pill has been reviewed.

Key words: Shexiang Baoxin Pill; Chinese patent medicine; chemical material basis; coronary disease; angina pectoris; system biology

麝香保心丸源于宋代《太平惠民和剂局方》中记载的苏合香丸, 由麝香、蟾酥、人参提取物、苏合香、牛黄、肉桂、冰片组成, 具有芳香温通、益气强心之功效。戴瑞鸿^[1]于 1972 年首次以西医标准根据增效减毒的原则在原苏合香丸的基础上开始组方研制, 最终确定了麝香保心丸的组方。自 1981 年用于临床以来, 麝香保心丸广泛用于治疗冠心病、心绞痛、心肌梗死等疾病。随着现代分析仪器的应用、血清药物化学和系统生物学等学科的发展, 麝香保心丸的化学物质基础、药理作用及作用机制已得到较深入的研究。本文对近年来麝香保心丸的研究进展进行了综述。

1 麝香保心丸化学物质基础研究

阐明中药复方的化学物质基础是研究其配伍有

效性和科学性必不可少的基础和前提。麝香保心丸由麝香、蟾酥、人参提取物、苏合香等 7 味药材配伍而成, 化学成分十分复杂。对此, 严诗楷等^[2]提出了中药复方现代研究体系中包括化学物质组、药效物质基础、质量控制和药代、药动在内的复方化学物质基础研究模式。

1.1 化学物质组分析

以往鉴定中药复方的化学成分主要采用色谱分离技术, 该方法复杂费时, 且难以系统地体现中药复方中多类成分的特性。随着现代分析仪器的应用, 近年来 GC-MS^[3-4]、LC-MS^[5-6]或 MS/MS (MSⁿ)^[7]等被广泛用于分析中药复方化学成分, 其优点在于能够快速实现复杂体系化学成分的分析 and 鉴定。Jiang 等^[8]采用高效液相-二极管阵列检测器-

收稿日期: 2015-12-15

作者简介: 刘 群 (1992—), 在读天然药物化学研究生。Tel: 18321916858 E-mail: qeliuqun@163.com

*通信作者 柳润辉 (1971—), 教授, 博士, 主要从事天然产物活性成分和中药复方药效物质基础及作用机制研究。

Tel: (021)81871245 E-mail: lyliurh@126.com

电喷雾电离串联质谱的方法 (HPLC-DAD-ESI-MS/MS), 通过各类化合物的紫外吸收特征及质谱裂解规律检测了麝香保心丸中的 57 种非挥发性组分, 并鉴定了其中的 47 种成分, 包含有 20 个来源于人参提取物的人参皂苷类成分, 18 个来源于蟾酥的蟾蜍甾烯类成分, 5 个来源于牛黄的胆酸类成分, 2 个来源于肉桂和苏合香的苯丙烯类成分以及另外 2 个其他类型的化合物。此外, 姜鹏^[9]对麝香保心丸进行了 GC-MS 分析, 并通过 NIST05 数据库的比对, 共鉴定了麝香保心丸中 49 个化合物 (包括肉桂醛、肉桂酸、龙脑、异龙脑等), 完善了麝香保心丸中挥发性成分的化学信息。

1.2 药效物质基础研究及其质量控制

早期中药复方药效物质基础研究主要采用拆方的方法进行研究^[10-11]。近年来, 随着血清药理学、血清药物化学及代谢组学等技术方法的出现及发展, 其在中药复方药效物质基础的研究中逐渐被广泛应用^[12-14]。中药血清药物化学理论^[15]以中药给药后的血清为研究对象, 认为中药的入血成分才可能是其发挥作用的成分, 即为中药复方的药效物质基础。

对于麝香保心丸的血清药物化学研究, Jiang 等^[16]建立了一种高效液相色谱-电喷雾离子化串联质谱的方法 (HPLC-ESI-MS/MS), 通过分析大鼠血浆中麝香保心丸入血成分鉴定了 17 个原型成分和 3 个代谢产物 (人参皂苷 Re、人参皂苷 Ra₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rc、人参皂苷 Rb₂、人参皂苷 Rb₃、人参皂苷 Rd、蟾毒灵、蟾毒它灵、酯蟾毒配基、华蟾毒精、3-表蟾毒灵、胆酸、猪去氧胆酸、鹅去氧胆酸、去氧胆酸、1 β -羟基蟾毒灵、17-羟基黄体酮、11-羟基黄体酮)。郭黎安等^[17]建立了一种快速分析麝香保心丸中挥发性入血成分的方法, 通过比较麝香保心丸提取液、空白血浆及给药血浆的 GC/MS 图谱的差异, 并与在线 NIST05 数据库比对, 鉴定了 10 个挥发性入血成分, 其中 6 个为原型成分, 4 个为代谢产物。

在药效物质研究的基础上, 以主要药效成分建立指纹图谱并进行多成分同时定量测定对麝香保心丸进行质量控制。针对麝香保心丸中挥发性成分, Yan 等^[18]采用 GC-MS 方法建立了麝香保心丸的指纹图谱并对其中 7 个主要挥发性成分 (异龙脑、冰片、肉桂醛、肉桂酸、苯甲酸苄酯、异丙基甲酚、麝香酮) 进行定量分析。此外, Yan 等^[19]通过高效液相色谱蒸发光散射检测和电喷雾电离质谱

(HPLC-ELSD-ESI-MS) 建立了麝香保心丸化学指纹图谱并对其中 7 个主要非挥发性成分 (胆酸、去氧胆酸、熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸、华蟾毒精、酯蟾毒配基和人参皂苷 Rb₁) 进行了定量分析。

1.3 药物代谢动力学和药效动力学研究

药物代谢动力学和药效动力学^[20-21]是按时间同步进行的 2 个密切相关的动力学过程, 前者着重阐明机体对药物的作用, 即药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄的经时过程; 后者描述药物对机体的作用, 即效应随着时间和浓度而变化的过程。药物代谢动力学和药效动力学的研究对于阐明中药复方的物质基础^[22]、作用机制^[23-24]、设计及优化给药方案^[25]等具有非常重要的意义。

1.3.1 药效动力学研究 宋洪涛等^[26]以大鼠心肌血流灌注量为指标测定了麝香保心丸的药效动力学参数。由于增加心肌血流灌注量仅是麝香保心丸药理作用的一个方面, 为避免以此指标得到的药效动力学参数与其他指标的药效动力学参数可能会有所差异, 所以将药效折算成生物相当体存量为基础的参数以求更接近真实。从时效曲线可以看出, 麝香保心丸在体内呈一室模型特征, 效应呈现半衰期为 0.53 h, 效应消除半衰期为 1.21 h, 效应达峰时间为 1.13 h, 药效作用期 3.48 h; 经对时间体存量过程处理判定, 麝香保心丸的体存量过程也属于一室模型, 其吸收半衰期为 0.23 h, 消除半衰期为 1.47 h, 达峰时间为 0.88 h, 说明该药在体内具有吸收快、消除快和作用维持时间较短等特点。

1.3.2 人参皂苷类成分药动学 麝香保心丸含有多种组分, 其中某些组分在体内可能会与人参皂苷类产生相互作用, 从而影响其药动学特征。有报道称, 冰片可以增强肠道对皂苷类成分的吸收^[27-28]。Jiang 等^[29]采用 Caco-2 细胞模型研究了冰片对人参皂苷透膜转运的作用, 测定人参皂苷在冰片-人参皂苷浓度比分别为 1:10、1:1 和 6:1 时透膜吸收的差异, 结果表明在测试范围内人参皂苷的转运率与冰片浓度呈正相关。此外, 通过大鼠体内实验验证了冰片对人参皂苷 Rb₁、Rc、Re 和 Rg₁ 的促吸收作用, 且在实验浓度范围内人参皂苷体内的血药浓度与合用冰片的剂量呈正相关。麝香保心丸组方配伍后, 由冰片作用可致皂苷类成分血药浓度大幅提高, 表明复方配伍的合理性。Peng 等^[30]建立 LC-MS/MS 方法同时测定大鼠血浆中人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₃、Rc 和 Rb₁ 的量, 并应用于麝香保心丸中人参皂苷类

成分的药物代谢动力学研究。研究表明, 人参皂苷在 ig 麝香保心丸单剂量 4 或 8 g/kg 后被迅速吸收, 人参二醇型人参皂苷 Rb₃、Rc 及 Rb₁ 的血药浓度均明显高于人参三醇型人参皂苷 Rg₁ 及 Re。

1.3.3 蟾蜍甙二烯类成分的药动学 蟾酥是麝香保心丸中的臣药, Xu 等^[31]建立一种同时测定大鼠血浆中 5 种主要蟾蜍甙成分 LC-MS/MS 的方法, 并测定了 ig 100 mg/kg 蟾酥后其药动学特性。研究发现蟾蜍毒素、蟾毒它灵、华蟾毒精、蟾毒灵及酯蟾毒配基达峰时间 (t_{max}) 分别为 0.46、0.42、0.28、0.33 和 0.33 h, 峰浓度 (C_{max}) 分别为 314.6、24.9、635.6、41.0 和 73.5 ng/mL。何雅君^[32]采用体外人肝微粒体代谢实验筛选麝香保心丸中 14 种入血成分和潜在代谢产物对华蟾毒精的代谢抑制影响, 研究发现蟾毒灵、酯蟾毒配基、原人参二醇、原人参三醇以及麝香酮能够明显抑制华蟾毒精 2 个代谢产物 5-HCB 和 1-HCB 的生成。Wang 等^[33]建立了高效液相色谱-电喷雾离子化串联质谱 (HPLC-ESI-MS/MS) 同时测定 ig 麝香保心丸后大鼠血浆中 7 种蟾蜍甙类成分, 并初步探讨了大鼠 ig 麝香保心丸 4 g/kg 后其药动学特性。研究发现蟾蜍毒素、蟾毒它灵、华蟾毒精、蟾毒灵、酯蟾毒配基、日蟾毒它灵和远华蟾毒精 t_{max} 分别为 0.92、0.42、1.05、0.88、1.08、1.33 和 1.08 h, C_{max} 分别为 67.06、1.08、155.42、4.49、54.70、68.38 和 13.33 ng/mL。研究发现, 与蟾酥单独给药相比, 大鼠 ig 麝香保心丸后蟾蜍甙类成分的 t_{max} 均有所延长, 提示麝香保心丸配伍后可能通过延长蟾蜍甙类成分的 t_{max} 减小其急性毒性作用, 说明了复方配伍的科学性。

有研究报道蟾毒灵、酯蟾毒配基及华蟾毒精在体外人肝微粒体中主要通过 CYP3A4 酶代谢^[34]。而 Ma 等^[35]通过比较华蟾毒精、蟾毒灵及酯蟾毒配基在小鼠、大鼠、狗、迷你猪、猴和人肝微粒体的代谢行为, 发现它们的代谢存在种属差异, 在大鼠中华蟾毒基的代谢途径主要为脱乙酰基及表异构化作用, 而在小鼠、狗、迷你猪、猴中与人相似, 主要通过 CYP3A4 酶的羟基化作用代谢。因此, 对于蟾蜍甙二烯类成分的药动学研究, 选择小鼠作为动物模型更能体现药物在人体内的真实情况。Huang 等^[36]研究了麝香保心丸中 5 种蟾蜍甙二烯类化合物在小鼠体内的药动学过程及组织分布情况, 结果表明, 大鼠以麝香保心丸 4 g/kg ig 给药后 30 min 内各化合物均达到最高浓度, 入血快速, 且

其消除速率较快, 药-时曲线均出现双峰现象。酯蟾毒配基、蟾毒灵、日蟾毒它灵、蟾蜍毒素和蟾毒它灵均在小肠中的量最高, 小肠中浓度分别为 162.00、392.54、164.21、324.57、42.14 ng/mL, 提示可能由于给药后药物直接进入胃肠导致。

1.3.4 挥发性成分的药动学 Chang 等^[37]建立了一种固相动态微萃取-气相色谱质谱联用串联质谱 (SPDE-GC-MS/MS) 同时定量麝香保心丸中挥发性成分异龙脑、龙脑、麝香酮和肉桂醛, 并成功应用于给药后大鼠血浆药动学研究, 初步揭示了麝香保心丸给药后挥发性成分的体内动态过程。在大鼠血浆异龙脑和龙脑的 C_{max} 分别为 (3 360.01 ± 1 432.56) 和 (5 490.13 ± 2 136.47) ng/mL, t_{max} 分别是 (1.00 ± 0.52) 和 (0.83 ± 0.58) h, t_{max} 小于 1 h, 表明冰片在体内吸收相对较快, 也较易吸收。麝香酮、肉桂醛的 C_{max} 只有 (23.54 ± 4.33) 和 (18.76 ± 2.11) ng/mL, 可能由于这 2 种化合物在麝香保心丸中的量相对较低, 且肉桂醛在血液中不稳定可迅速地转化为肉桂酸导致的^[38-39]。

2 麝香保心丸现代药理学研究

现代药理学研究表明麝香保心丸具有舒张血管、改善心肌缺血、缩小心肌梗死面积^[40]、促进血管新生、保护原代心肌细胞缺氧-复氧损伤及抑制血管钙化等药理作用。

2.1 舒张血管

罗心平等^[41]采用定量 PCR 技术以高脂血症兔的动脉标本研究麝香保心丸对血管内皮一氧化氮 (NO) 代谢的影响。研究发现 ig 麝香保心丸 (6 粒/d) 可部分逆转高脂饮食造成动脉 NO 代谢紊乱, 增强动脉壁内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) mRNA 的表达, 提高动脉壁 eNOS 的活力, 增加动脉组织 NO 代谢产物的浓度, 提示麝香保心丸可以改善内皮依赖性舒张功能。

2.2 改善心肌缺血、缩小心肌梗死面积

顾明晖等^[42]通过注射垂体后叶素制备家兔急性心肌缺血模型, 检测家兔心肌缺血前后及舌下含服麝香保心丸 (1 丸, 溶于生理盐水 0.5 mL) 前后的心率变异功率指标。结果表明, 麝香保心丸能调整急性心肌缺血时自主神经功能, 尤其是调整交感神经和兴奋迷走神经, 有益于心功能恢复, 改善心肌缺血状态。王大英等^[43]通过对心肌梗死模型大鼠进行研究, 通过检测心肌梗死面积和左心面积, 发现麝香保心丸有减少梗死面积的作用, 且高剂量组 (50 mg/kg) 效果比低剂量组 (15 mg/kg) 效果更明显。

2.3 促进血管新生作用

汪姗姗等^[44]探讨麝香保心丸在鸡胚绒毛尿囊膜模型及培养的微血管内皮细胞系统中的促血管生成作用。以重组碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 作为阳性对照, 通过作用于绒毛尿囊膜, 初步评价麝香保心丸的促血管生成活性; 并通过观察其对培养的牛肾上腺微血管内皮细胞增殖及管腔结构形成的影响, 验证了其促血管生成效应。吕超等^[45]通过建立细胞体外成管模型和大鼠主动脉环模型评价麝香保心丸及其入血单体成分的体外促血管新生活性。结果显示, 不同浓度的麝香保心丸 ($1 \times 10^{-4} \sim 0.01 \mu\text{g/mL}$)、人参皂苷 Rg_3 ($1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$) 和人参皂苷 Rh_2 ($1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$) 能够明显促进人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 增殖、迁移及管腔结构形成。此外, 与对照组相比, 高浓度麝香保心丸 ($0.01 \mu\text{g/mL}$)、人参皂苷 Rg_3 ($10 \mu\text{mol/L}$) 和 Rh_2 ($10 \mu\text{mol/L}$) 具有诱导主动脉环内皮细胞出芽的活性, 提示了麝香保心丸及人参皂苷 Rg_3 、 Rh_2 在体外均具有促进血管新生的活性。

2.4 保护原代心肌细胞缺氧-复氧损伤的作用

韩琳等^[46]建立原代心肌细胞的缺氧复氧损伤模型, 并采用四甲基偶氮唑盐 (MTT) 比色法对麝香保心丸及其 20 种入血活性成分进行抗缺氧-复氧损伤的活性筛选。研究发现麝香保心丸在 50 ng/mL 时具有较好的保护原代心肌细胞缺氧-复氧损伤的作用, 而人参皂苷 Rb_1 、人参皂苷 Rb_2 、蟾毒灵和麝香酮的有效剂量分别为 10、50、1 和 $1 \mu\text{mol/L}$ 。该研究提示了麝香保心丸中起到保护原代心肌细胞缺氧-复氧损伤的作用的主要成分为人参皂苷 Rb_1 、人参皂苷 Rb_2 、蟾毒灵和麝香酮。

2.5 抑制血管钙化

血管钙化是心脑血管疾病高发病率和死亡率的重要因素之一, 因此防治血管钙化的发生与发展具有重要的意义。张旭升等^[47]首次研究了麝香保心丸干预血管钙化作用, 采用维生素 D_3 与尼古丁诱导大鼠血管钙化建立模型。研究表明麝香保心丸可抑制血管钙化, 下调碱性磷酸酶 (ALP) 活性及人单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 表达, 提示其抑制血管钙化的机制可能与下调 ALP 活性及 MCP-1 表达等有关, 这将为血管钙化的机制研究及防治提供新的思路和作用靶点。

3 麝香保心丸系统生物学研究

系统生物学是以整体性和系统性研究为特征的

一门科学, 包括基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等一系列“组学”技术^[48-49]。系统生物学可以分析复方药物作用后机体在基因、蛋白及代谢物小分子不同水平上的变化, 再采用生物信息学串联起这些变化组合, 可以在整体上描绘复方在体内的作用机制。

3.1 基因组学研究

基因组学^[50-51]是研究基因组结构和功能的科学, 研究内容包括基因的结构、组成、存在方式、表达调控模式、功能及相互作用等, 常用的技术包含基因表达谱、基因芯片等各种高通量技术以及实时荧光 PCR 等定量分析技术。基因芯片技术^[52-53]是核酸分子杂交原理与微电子技术相结合而形成的一种生物技术, 对于中药复杂体系, 基因芯片技术已应用于有效成分研究^[54]、配伍研究^[55]及毒理研究^[56]等。

在麝香保心丸基因组学研究中, 杨爱文等^[57]采用基因芯片技术在急性梗死大鼠模型上研究了蟾酥对心脏的急性毒性及其组方成麝香保心丸后的配伍减毒机制。通过表达谱芯片检测各组药物作用后的基因表达差异, 再通过生物信息学结合实时荧光定量 PCR 研究差异表达基因。结果表明, 蟾酥低剂量 (16 mg/kg) 组可通过干扰离子稳态和肌动蛋白构建来影响心脏的收缩, 同时还会导致心肌细胞的抗凋亡和脂类代谢等应激反应; 蟾酥高剂量 (128 mg/kg) 组除进一步干扰离子稳态和肌动蛋白构建外, 还会引发铁离子蓄积, 最终可能导致细胞凋亡。但在麝香保心丸组 (蟾酥量同低剂量组) 上述影响均不明显, 主要影响血压调节和心肌修复等作用。该研究体现了麝香保心丸配伍的减毒作用。

胡晶晶等^[58]以具有益气活血作用的麝香保心丸、双龙方为研究对象采用基因芯片技术研究了该类中药复方治疗心肌梗死的药效机制。建立大鼠左冠状动脉结扎心肌梗死模型, 药物干预 7 d 后取心肌梗死区边缘缺血组织, 建立基因表达谱, 筛选治疗前后的差异表达基因, 再进行生物信息学分析, 并采用定量 PCR 对芯片数据进行验证。结果表明, 2 种益气活血方干预后大鼠心肌组织的基因表达谱发生改变, 筛选得到 224 个共有的差异表达基因, 其中麝香保心丸组较模型组上调基因 18 个, 下调基因 206 个, 涉及能量代谢相关的甘油三磷酸脱氢酶活性、糖酵解/糖质新生等通路。心肌梗死是一种多基因表达异常的心血管疾病, 益气活血中药在发挥

其治疗作用时,对 224 个共有差异表达基因具有相似调节作用,且主要通过改善大鼠心肌能量代谢异常,达到治疗心肌梗死的作用。

3.2 代谢组学研究

代谢组学之父 Nicholson^[59]称代谢组学为“在新陈代谢的动态过程中,系统研究代谢产物的变化规律,揭示机体生命活动的代谢本质的学科”。此后,克莱顿于 2006 年首次提出“药物代谢组学”^[60],研究病人应用药物后的代谢组变化,药物代谢组学可以详细反映药物对某些代谢通路的影响。整体性是中医药理论特色,复方作为中医治病的主要方式其疗效是体内多靶点协同作用的综合结果。相较于传统研究方法,代谢组学与中药复方的整体观相一致。

3.2.1 麝香保心丸的代谢组学研究 Jiang 等^[61-62]建立了基于 LC-Q-TOF-MS 的代谢组学方法,通过对急性心肌梗死大鼠的血液和尿液的研究,全面地分析了心肌梗死相关的生物标志物,阐明了麝香保心丸治疗心肌梗死疾病的作用机制,即通过抑制炎症、心肌肥大及能量代谢紊乱过程多途径的发挥作用。

在早期急性心肌梗死大鼠血清中鉴定的 14 个生物标志物主要参与炎症、心肌肥大及氧化损伤相关的生物学过程,其中心肌肥大通路干扰严重。研究发现,ig 麝香保心丸 (14 mg/kg) 4 d 对心肌梗死大鼠具有较好的预保护作用,并对心肌梗死标志物具有较好逆转效果,可将皮质酮、醛固酮、考地松以及肾上腺素调控到正常水平。麝香保心丸逆转的标志物中大部分参与心肌肥大过程,提示其可以通过抑制心肌梗死超急性期的心肌肥大过程,从而对心肌梗死的发生起到预保护作用。

在急性心肌梗死大鼠尿液中鉴定了 16 个生物标志物,其中包括肌氨酸、尿苷、谷氨酸盐、泛酸、草酰琥珀酸、烟酰胺单核苷酸、苯乙酰甘氨酸、黄嘌呤核苷酸在内的 8 个生物标志物与能量代谢相关。研究表明,ig 麝香保心丸 (14 mg/kg) 15 d 可将急性心肌梗死大鼠尿液的整体状态回调至正常水平,而且可通过调节部分受干扰的能量代谢标志物如肌酸、尿苷、谷氨酸盐、草酰琥珀酸和烟酰胺单核苷酸等,恢复紊乱的能量代谢过程,对心肌梗死产生疗效。

3.2.2 麝香保心丸与化学组合药 Poly pill 的代谢组学研究 冠心病发病机制复杂,单成分、单靶点药物不能达到治疗复杂疾病的目的。因此,越来越多的西医将目光转向了组合用药,即由几种作用机制明确的化

学药组合而成的多成分药物^[63-64]。其中,化学组合药 Poly pill (由辛伐他汀、阿替洛尔、雷米普利、氢氯噻嗪、阿司匹林组成) 由于其经济、疗效显著和患者依从性好的优势备受医药界关注^[65-66]。组合药物这种多成分、多靶点作用的特点与中药复方的作用特点相似,为复杂疾病的治疗带来了新的契机,并为中药复方的研究提供了新思路。

Xiang 等^[67]采用基于 LC-Q-TOF/MS 代谢组学的方法探究了麝香保心丸和组合药物 Poly pill 的作用机制。在急性心肌梗死病变过程中鉴定了 27 种潜在生物标志物和包括氧化损伤、能量代谢功能障碍、氨基酸代谢功能障碍、炎症在内的 4 个病变过程。

麝香保心丸组和 Poly pill 组与模型组比较,发现麝香保心丸和 Poly pill 对潜在的生物标志物均有调控作用。麝香保心丸 (14 mg/kg) ig 15 d 可以将包括高胱氨酸、5-甲基胞嘧啶、前列腺素 E₂ 等在内的 6 种内源性生物标志物调控到假手术组水平,提示了麝香保心丸对急性心肌梗死的治疗作用主要与改善氧化损伤和炎症有关。而 Poly pill (105 mg/kg) ig 15 d 仅对由急性心肌梗死引起的氧化损伤和炎症有治疗作用。麝香保心丸在调控氧化损伤、能量代谢功能障碍、氨基酸代谢功能障碍和炎症上疗效均优于 Poly pill。

3.2.3 麝香保心丸及其组分配伍的代谢组学研究 中药复方含有多种成分,这使其药效物质基础和治疗机制不够明确。对此,有学者提出了中药组合化学^[68]、中药成分组合效应^[69]和有效组合成分(部位)^[70],即针对其主治证,单味中药和中药复方均有与之对应的功效,其药效物质基础则是其中所含部分有效成分的最佳比例组合。中药复方的组合化学研究可以简化方剂的分子多样性,是一种既体现整体观,又强调辨证分析的方法。Xiang 等^[71-72]在血清药物化学基础上将复杂的中药复方简化,重新组合成组分配伍,并采用基于 LC-Q-TOF/MS 代谢组学的方法研究了麝香保心丸及其组分配伍对急性心梗大鼠预保护作用和治疗作用。

Xiang 等^[71]采用基于 LC-Q-TOF/MS 代谢组学的方法研究了麝香保心丸、麝香保心丸组分配伍及组分配伍中 7 种组成化合物单独给药组对急性心肌梗死大鼠的预保护作用。通过对麝香保心丸及其组分配伍调控的生物标志物进行分析,发现麝香保心丸组分配伍可以调控其中 19 个生物标志物至假手术水平,麝香保心丸可以调控其中 20 个生物标志物

至假手术水平,其中 16 个生物标志物在 2 组调控效果相当,8 个生物标志物在 2 组中的调控程度不同。在 8 个调控程度不同的生物标志物中 6-羟基褪黑素、1-油酰基溶血磷脂酸和乳清苷仅能被麝香保心丸组分配伍有效调控至假手术水平,而马尿酸、乙酰肉碱、*L*-丝氨酸、皮质类甾醇和尿苷酸仅能被有效地被麝香保心丸调控至假手术水平。组分配伍组调控的生物标志物主要涉及色氨酸代谢通路中与急性心肌梗死相关的氧化损伤(3-吡啶丙酸)和血小板代谢异常(*L*-色氨酸、色胺和 6-羟基褪黑素);麝香保心丸调控的生物标志物主要涉及色氨酸代谢通路中与急性心肌梗死相关的心肌肥大(皮质类甾醇)和氧化损伤(3-吡啶丙酸),以及嘧啶代谢通路中与能量代谢相关的马尿酸和尿苷酸。此外,2 种药物都对与炎症相关生物标志物 12(S)-HETE 和 12(S)-HHTre 有明显的调控效果,因此麝香保心丸组分配伍和麝香保心丸都对急性心肌梗死引起的炎症有明显的调控效果。综合偏最小二乘判别分析(PLS-DA)和生物标志物调控个数和程度的结果发现,麝香保心丸的预保护效果要略优于麝香保心丸组分配伍。

研究发现麝香保心丸组分配伍中 7 种成分人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Re、胆酸、麝香酮、蟾毒灵、肉桂酸和龙脑单独预防性给药可分别逆转 11、12、12、16、10、10 和 8 个生物标志物,而麝香保心丸组分配伍预防性给药逆转了 19 个生物标志物。其中 6-羟基褪黑素、胞苷、乙酰肉碱和 12(S)-HETE 在麝香保心丸组分配伍中的逆转效果都比在 7 种成分单独预防性给药组中的效果好。结果表明,麝香保心丸组分配伍中每种成分的量都比其单成分单独给药的剂量要低,但疗效较好,说明单成分药物组合以后对急性心肌梗死的预保护作用产生了协同作用。

Xiang 等^[72]采用基于 LC-Q-TOF/MS 代谢组学的方法对麝香保心丸、麝香保心丸组分配伍及组分配伍中 7 种组成化合物单独给药长期治疗心肌梗死大鼠的疗效及特点进行了研究。血清心肌酶[乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)]的检测结果显示麝香保心丸及其组分配伍均能明显地将 LDH 和 CK 的量调控到假手术组水平。病理组织切片结果显示,麝香保心丸及其组分配伍对坏死的大鼠心脏组织均有明显的逆转作用,而配伍组成中 7 种组分单独给药的逆转效果均不明显或完全没有逆转效果。

通过 PLS-DA 表明麝香保心丸对急性心肌梗死的疗效要优于组分配伍组,而组分配伍组对大鼠急性心肌梗死的疗效要优于其中 7 种组分单独给药。此外,对鉴定到的 27 个心肌梗死相关的生物标志物进行分析,麝香保心丸和组分配伍均可调控 19 个;而 7 种化合物单独给药组中人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Re、蟾毒灵、肉桂酸、麝香酮、龙脑和胆酸分别调控了 12、10、10、12、14、8 和 9 个生物标志物。从调控的生物标志物的数量上来看,多成分药物(麝香保心丸及其组分配伍)的疗效优于单成分药物疗效的。组分配伍组中每种化合物的量都低于 7 个单成分单独给药剂量,而其疗效却优于任何一个单成分,说明 7 个成分组合给药后对急性心肌梗死的治疗具有协同作用。

对各组调控的生物标志物进行通路分析,麝香保心丸主要调控的生物标志物包括马尿酸、高胱氨酸、5-甲基胞嘧啶、PGPC、前列腺素 E₂ 和白三烯-A₄-甲酯,这些生物标志物与能量代谢、氧化损伤和炎症相关,而组分配伍组对这 6 个生物标志物均有明显的调控作用,提示了组分配伍组的作用机制与麝香保心丸相似,具有抑制急性心肌梗死形成后造成的氧化损伤和炎症的作用。

4 结语与展望

基于中药复方具有多成分、多靶点、整体调节的特性,合适的药效指标的寻找和选择、药效物质基础的确定、模型的建立等都是复方研究的难题。2004 年 Barabasi 等^[73]提出“网络生物学”的概念,为中药复方的探索提供了一个新视角。网络生物学通过建立网络模型,可以将复杂生物系统的相互作用抽象表达成网络,通过分析复杂网络的成分关系和特性来获得对生物系统整体上的认识。在长期的中药复方研究过程中,严诗楷等^[2]结合传统中医药理论及现代科学技术,遵循中药基于系统性、整体性作用的特点,提出了中药复方研究体系,包括化学物质基础、现代药理研究、系统生物学和网络生物学研究在内的复方研发模式。该体系的提出,为中药复方麝香保心丸的系统性研究提供一个完整的研究思路,有助于深刻地、系统地、完整地揭示麝香保心丸的科学内涵。向铮等^[74]也提出应用代谢组学和复杂网络方法来研究多组分药物动力学即网络药动力学的设想,以期揭示中药复方作用机制。这也是目前中药复方药物动力学研究的一大趋势。

麝香保心丸化学物质基础、药理作用、系统生

物学已得到较充分的研究,但其作为干预系统与机体应答系统的内在关联尚未完全被揭示,麝香保心丸网络药动学的研究可以为进一步阐明麝香保心丸的作用基础及科学内涵提供理论指导,同时也为中药复方研究提供参考与借鉴,有利于更好地传承和发展中医药理论。

参考文献

- [1] 戴瑞鸿. 我与麝香保心丸 [J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 20(2): 32.
- [2] 严诗楷, 赵静, 窦圣姍, 等. 基于系统生物学与网络生物学的现代中药复方研究体系 [J]. 中国天然药物, 2009, 7(4): 249-259.
- [3] Guo F Q, Liang Y Z, Xu C J, *et al.* Analyzing of the volatile chemical constituents in *Artemisia capillaris* herba by GC-MS and correlative chemometric resolution methods [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 35(3): 469-478.
- [4] Deng C, Yao N, Wang A, *et al.* Determination of essential oil in a traditional Chinese medicine, *Fructus amomi* by pressurized hot water extraction followed by liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 536(1/2): 237-244.
- [5] Hu P, Liang Q, Luo G, *et al.* Multi-component HPLC fingerprinting of *Radix Salviae Miltiorrhizae* and its LC-MS-MS identification [J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(6): 677-683.
- [6] Zhao L H, Huang C Y, Shan Z, *et al.* Fingerprint analysis of *Psoralea corylifolia* L. by HPLC and LC-MS [J]. *J Chromatogr B*, 2005, 821(1): 67-74.
- [7] Liu A H, Lin Y H, Min Y, *et al.* Development of the fingerprints for the quality of the roots of *Salvia miltiorrhiza* and its related preparations by HPLC-DAD and LC-MSⁿ [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 846(1/2): 32-41.
- [8] Jiang P, Dou S S, Liu L, *et al.* Identification of multiple constituents in the TCM-formula Shexiang Baoxin Pill by LC coupled with DAD-ESI-MS-MS [J]. *Chromatographia*, 2009, 70(1/2): 133-142.
- [9] 姜鹏. 麝香保心丸药效物质基础研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [10] 李岩, 陈苏宁, 李宇权, 等. 芍药甘草汤, 四逆散对胃排空及小肠推进功能影响的拆方研究 [J]. 中华消化杂志, 1996, 16(1): 18-21.
- [11] 莫孙炼, 郑有顺. 补阳还五汤拆方对实验性脑缺血损伤大鼠脑组织皮层梗塞面积及血浆内皮素的影响 [J]. 中药药理与临床, 1997, 13(1): 1-3.
- [12] 张群豪, 钟蓓, 陈可冀, 等. 用血清药理学方法观察血府逐瘀浓缩丸对实验性动脉粥样硬化家兔主动脉平滑肌细胞增殖的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(3): 156-159.
- [13] 黄从善, 陈婧, 刘焱文. 复方酸枣仁汤有效部位大鼠血清化学成分分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(5): 522-524.
- [14] Wang X, Sun W, Sun H, *et al.* Analysis of the constituents in the rat plasma after oral administration of Yin Chen Hao Tang by UPLC/Q-TOF-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed*, 2008, 46(3): 477-490.
- [15] 王喜军. 中药血清药物化学的研究现状及未来发展 [J]. 亚太传统医药, 2005(1): 59-63.
- [16] Jiang P, Liu R H, Dou S S, *et al.* Analysis of the constituents in rat plasma after oral administration of Shexiang Baoxin pill by HPLC-ESI-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2009, 23(12): 1333-1343.
- [17] 郭黎安, 王淑萍, 向丽, 等. 气相色谱-质谱法定性分析麝香保心丸挥发性入血成分的研究 [J]. 药学实践杂志, 2012, 30(3): 207-210.
- [18] Yan S, Yang Y, Wu Y, *et al.* Chemical fingerprinting and quantitative analysis of volatiles in Shexiang Baoxin Pill by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometric detection [J]. *J Anal Chem*, 2009, 64(2): 149-155.
- [19] Yan S K, Zhang W D, Liu R H, *et al.* Chemical fingerprinting of Shexiang Baoxin Pill and simultaneous determination of its major constituents by HPLC with evaporative light scattering detection and electrospray mass spectrometric detection [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(7): 1058-1062.
- [20] 何绍雄. 药代动力学-药效学结合模型的应用进展 [J]. 国外医学: 药学分册, 2005, 28(1): 1-5.
- [21] 张忠亮, 李强, 杜思邈, 等. PK-PD 结合模型的研究现状及其应用于中医药领域面临的挑战 [J]. 中草药, 2013, 44(2): 121-127.
- [22] 冯小龙. 银杏叶总黄酮抗肿瘤药效物质基础与药代动力学研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2009.
- [23] 李卫民. 厚朴咳喘方的药代动力学及药效学研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2005.
- [24] 陈浩. 辛伐他汀与非诺贝特联合治疗的药代动力学与药效学研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2004.
- [25] 肖永红. 抗菌药物的药代动力学/药效学概念及其临床意义 [J]. 中华医学杂志, 2004, 84(22): 1914-1915.
- [26] 宋洪涛, 郭涛, 赵明宏, 等. 麝香保心丸增加大鼠心肌血流灌注量的药效动力学 [J]. 解放军药学学报, 2004, 18(3): 137-140.
- [27] He H, Shen Q, Li J. Effects of borneol on the intestinal transport and absorption of two P-glycoprotein substrates in rats [J]. *Arch Pharm Res*, 2011, 34(7): 1161-1170.

- [28] Zhou Y, Chen L L, Ma S, *et al.* Enhancement of intestinal absorption of akebia saponin D by borneol and probenecid *in situ* and *in vitro* [J]. *Environ Toxicol Pharm*, 2010, 29(3): 229-234.
- [29] Jiang P, Fu P, Xiang L, *et al.* The effectiveness of borneol on pharmacokinetics changes of four ginsenosides in Shexiang Baoxin Pill *in vivo* [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(3): 419-427.
- [30] Peng C C, Yang Y, Lv C, *et al.* Pharmacokinetic study of five ginsenosides using a sensitive and rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry method following single and multiple oral administration of Shexiang Baoxin pills to rats [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 29(3): 425-436.
- [31] Xu W, Luo H, Zhang Y, *et al.* Simultaneous determination of five main active bufadienolides of Chan Su in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 859(2): 157-163.
- [32] 何雅君. 基于 CYP3A4 代谢的中药麝香保心丸多成分相互作用研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2012.
- [33] Wang S P, Peng C C, Peng J, *et al.* Simultaneous determination of seven bufadienolides in rat plasma after oral administration of Shexiang Baoxin Pill by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry: Application to a pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr B*, 2014, 967: 255-263.
- [34] Jiang B, Cai F, Gao S, *et al.* Induction of cytochrome P450 3A by Shexiang Baoxin Pill and its main components [J]. *Chembiol Interact*, 2011, 195(2): 105-113.
- [35] Ma X C, Ning J, Ge G B, *et al.* Comparative metabolism of cinobufagin in liver microsomes from mouse, rat, dog, minipig, monkey, and human [J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39(4): 675-682.
- [36] Huang H M, Yang Y, Chao L, *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of five bufadienolides from the Shexiang Baoxin Pill following oral administration to mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 161: 175-185.
- [37] Chang W L, Lin H, Huang H M, *et al.* Simultaneous determination of four volatile compounds in rat plasma after oral administration of Shexiang Baoxin Pill (SBP) by HS-SPDE-GC-MS/MS and its application to pharmacokinetic studies [J]. *J Chromatogr B*, 2014, 963: 47-53.
- [38] Chen Y, Ma Y, Wei M. Pharmacokinetics and bioavailability of cinnamic acid after oral administration of *Ramulus Cinnamomi* in rats [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokin*, 2009, 34(1): 51-56.
- [39] Hang Z, Xie Y, Qian Y, *et al.* Pharmacokinetic study of cinnamaldehyde in rats by GC-MS after oral and intravenous administration [J]. *J Pharm Biomed*, 2014, 89(4): 150-157.
- [40] 徐标, 曾昆, 黄妍. 麝香保心丸对急性心肌梗死大鼠梗死边缘带心肌中 IL-18 时间差异性表达与室性心律失常的影响 [J]. 中草药, 2015, 46(8): 1195-1199.
- [41] 罗心平, 李勇, 范维琥, 等. 麝香保心丸对兔动脉壁一氧化氮代谢影响的研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 6(S1): 36-38.
- [42] 顾明晖, 孙鲁申. 麝香保心丸对家兔急性心肌缺血时心率变异的影响 [J]. 心脏杂志, 1998, 10(4): 266.
- [43] 王大英, 李勇, 范维琥. 麝香保心丸对心肌梗死大鼠梗死面积和血管新生的作用 [J]. 中成药, 2004, 26(11): 912-915.
- [44] 汪姗姗, 李勇, 范维琥, 等. 麝香保心丸对鸡胚绒毛尿囊膜及培养的血管内皮细胞的促血管生成作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(2): 128-131.
- [45] 吕超, 黄慧梅, 畅婉琳, 等. 麝香保心丸促进血管新生作用的活性成分筛选 [J]. 药学实践杂志, 2014, 32(5): 344-347.
- [46] 韩琳, 吕超, 李敏, 等. 麝香保心丸抗心肌细胞缺氧-复氧损伤活性成分筛选 [J]. 药学实践杂志, 2014, 32(3): 209-211.
- [47] 张旭升, 朱平先, 黄战军, 等. 麝香保心丸对实验大鼠血管钙化的作用 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015(1): 52-54.
- [48] Hood L. Systems biology: new opportunities arising from genomics, proteomics and beyond [J]. *Exp Hematol*, 1998, 26(8): 681.
- [49] Ideker T, Galitski T, Hood L. A new approach to decoding life: systems biology [J]. *BMC Syst Biol*, 2011, 5(26): 1-22.
- [50] 李升伟. 新兴的药物基因组学 [J]. 世界科学, 2005(11): 24-25.
- [51] 童福易, 赖仁胜, 张树鹏. 论基因组学技术在中医药学中的应用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(12): 1708-1713.
- [52] 李新华, 张万岱, 肖冰, 等. 微阵列技术及其在消化系统疾病研究中的应用进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2006, 11(7): 1054-1058.
- [53] 荆志伟, 王忠, 高思华, 等. 基因芯片技术与中药研究——中药基因组学 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 289-292.
- [54] 王金津, 钱夕元, 李雪, 等. 双龙方有效成分诱导干细胞分化过程中差异表达基因的筛选和聚类分析 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9(3): 39-42.
- [55] 吕琳星, 范雪梅, 梁琼麟, 等. 基因芯片用于组分中药新双龙方的配伍机制研究 [J]. 高等学校化学学报,

- 2013, 33(11): 2397-2404.
- [56] 曾志雄, 方志俊, 胡 冉, 等. 小鼠毒理基因芯片的设计和制作 [J]. 癌变·畸变·突变, 2006, 18(2): 135-138.
- [57] 杨爱文, 范雪梅, 李 雪, 等. 基因芯片研究蟾酥急性毒性及配伍减毒机制 [J]. 高等学校化学学报, 2011, 32(5): 1058-1064.
- [58] 胡晶晶, 范雪梅, 孟宪生, 等. 应用基因表达谱芯片研究中药复方对心肌梗死的药效机制 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(7): 79-82.
- [59] Nicholson J K, John C, Lindon J C, *et al.* Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1(2): 153-161.
- [60] T Andrew C, John C L, Olivier C, *et al.* Pharmacometabonomic phenotyping and personalized drug treatment [J]. *Nature*, 2006, 440(7087): 1073-1077.
- [61] Jiang P, Dai W, Yan S, *et al.* Potential biomarkers in the urine of myocardial infarction rats: a metabolomic method and its application [J]. *Mol Biosyst*, 2011, 7(3): 824-831.
- [62] Jiang P, Dai W X, Yan S K, *et al.* Biomarkers in the early period of acute myocardial infarction in rat serum and protective effects of Shexiang Baoxin Pill using a metabolomic method [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 138(2): 530-536.
- [63] Keith C T, Borisy A A, Stockwell B R. Multicomponent therapeutics for networked systems [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(1): 71-78.
- [64] Borisy A A, Elliott P J, Hurst N W, *et al.* Systematic discovery of multicomponent therapeutics [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(13): 7977-7982.
- [65] Study T I P. Effects of a polypill (Polycap) on risk factors in middle-aged individuals without cardiovascular disease (TIPS): A phase II, double-blind, randomised trial [J]. *Lancet*, 2009, 373(9672): 1341-1351.
- [66] Smith G D, Ebrahim S. Folate supplementation and cardiovascular disease [J]. *Lancet*, 2005, 366(9498): 1679-1681.
- [67] Xiang L, Jiang P, Zhan C, *et al.* The serum metabolomic study of intervention effects of the traditional Chinese medicine Shexiang Baoxin Pill and a multi-component medicine Poly pill in the treatment of myocardial infarction in rats [J]. *Mol Biosyst*, 2012, 8(9): 2434-2442.
- [68] 杨 奎, 薄旭峰. 中药复方组合化学研究方法初探 [J]. 中药药理与临床, 1998, 14(3): 42-44.
- [69] 朱心红, 沈 群, 高天明. 中药成分组合效应假说及实验研究 [J]. 中草药, 2004, 35(2): 122-124.
- [70] 李俊松, 徐德生, 冯 怡. 中药复方的有效组合成分(部位) 研究思路 [J]. 上海中医药杂志, 2006, 40(9): 62-64.
- [71] Xiang L, Han L, Jiang P, *et al.* Metabolomics study of protective effects of Shexiang Baoxin Pill and its bioactive constituents combination in treating the early period of acute myocardial infarction in rats [J]. *Alternat Integrat Med*, 2013, doi: 10.4172/2327-5162.1000127.
- [72] Xiang L, Jiang P, Wang S, *et al.* Metabolomic strategy for studying the intervention and the synergistic effects of the shexiang baoxin pill for treating myocardial infarction in rats [J]. *Evid-Based Cpmpl ALT*, 2013, 2013(1): 823121.
- [73] Barabasi A L, Oltvai Z N. Network biology: understanding the cell's functional organization [J]. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(2): 101-113.
- [74] 向 铮, 蔡小军, 曾 苏. 基于复杂网络与代谢组学的中药药代动力学研究思考与探索 [J]. 药学学报, 2012, 47(50): 558-564.