

中药配伍减毒增效的现代研究及思考

郑雁雪¹, 王圆圆^{1#}, 王琳², 王玉明¹, 魏金霞^{1*}, 李遇伯^{1*}

1. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617

2. 津药达仁堂集团股份有限公司乐仁堂制药厂, 天津 300112

摘要: 中药配伍是中医药临床应用的精华之一, 合理配伍是保障中药临床用药有效性和安全性的重要措施。配伍后减毒增效机制的研究是诠释中药配伍合理性的关键内容。中药配伍机制研究正处于从体外到体内、成分到靶标、单一技术到多学科融合研究技术的转变历程, 因此提出以“体外成分、体内过程、直接靶标”研究为基础, “中药配伍药理机制研究”为目的, 从不同角度和不同层面探索中药配伍后作用机制的研究策略。

关键词: 中药配伍; 减毒增效; 体外成分; 体内过程; 直接靶标; 配伍合理性; 研究模式

中图分类号: R285.62 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)02-0386-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.02.005

Modern research and thinking on compatibility mechanism of reducing toxicity of traditional Chinese medicine

ZHENG Yan-xue¹, WANG Yuan-yuan¹, WANG Lin², WANG Yu-ming¹, WEI Jin-xia¹, LI Yu-bo¹

1. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Larentang Pharmaceutical Factory, Jinyao Darentang Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300112, China

Abstract: Traditional Chinese medicine (TCM) compatibility is one of the essences of TCM clinical practice, and rational compatibility is an important measure to ensure the effectiveness and safety of clinical use of TCM. The study of mechanisms of toxicity reduction and potency enhancement after compatibility is a key element in interpreting the rationality of TCM compatibility. Research on mechanisms of TCM compatibility is in the process of transitioning from *in vitro* to *in vivo*, from composition to target, and from a single technique to multidisciplinary integration of research techniques. Therefore, a research strategy based on study of “*in vitro* components, *in vivo* processes and direct targets” and “the study of pharmacological mechanisms of TCM compatibility” as the objective was proposed in this paper, which explores research strategies on mechanism of action of TCM after compatibility from different perspectives and at different levels.

Key words: traditional Chinese medicine compatibility; toxicity reducing and efficacy enhancing; *in vitro* components; *in vivo* processes; direct targets; compatibility rationality; research model

复方是中医临床上遣方用药的主要形式, 配伍是复方精华之所在, 其在“四气五味”“七情合和”及“君臣佐使”等药性及配伍理论指导下, 各中药饮片通过配伍发挥协同增效和/或拮抗减毒作用^[1]。仅从饮片配伍与药效关系的层面研究, 很难阐明中药配伍的科学规律, 配伍机制的研究正朝物质基础

与生物效应相互关联的方向发展。然而, 中药体外成分复杂、体内过程繁琐和直接靶标情况不明确等限制了其配伍减毒增效机制的研究^[2-3]。且中药配伍后具有多药物、多成分、多靶点与多途径发挥治疗疾病或减轻毒性损害的特点, 仅从成分或靶点等单一层面研究中药配伍减毒增效的作用机制, 无法全面

收稿日期: 2022-07-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81873194); 国家自然科学基金资助项目 (81903938); 国家中医药管理局青年岐黄学者支持项目

作者简介: 郑雁雪 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药学及毒性评价。Email: zhengyanxue515@163.com

*通信作者: 魏金霞, 女, 讲师, 研究方向为药效物质基础分析。E-mail: sykdxwjx410@163.com

李遇伯, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为代谢组学及毒性评价。E-mail: yuboli1@163.com

#共同第一作者: 王圆圆 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药学及毒性评价。E-mail: wangyuanyuan992021@163.com

阐释中药配伍的合理性^[4]。因此,如何全面系统地揭示中药配伍减毒增效机制是中药配伍现代化研究亟待解决的难题。近年来,一些新技术、新策略的提出,极大地推动了中药配伍减毒增效作用机制的研究,如超分子化学研究、相态拆分研究、基于化学修饰/非修饰的直接靶标研究等技术,网络药理学和代谢组学等多学科技术融合研究策略,从新的视

角揭示了中药配伍机制,诠释了中药配伍理论的科学内涵。本文通过综述近年来中药配伍机制研究的技术与进展,提出以“体外成分、体内过程、直接靶标”研究为基础,“中药配伍药理机制研究”为目的,从不同角度和不同层面探索中药配伍后的作用机制,并提出以多学科技术融合探索配伍减毒增效机制的现代化研究策略(图1)。

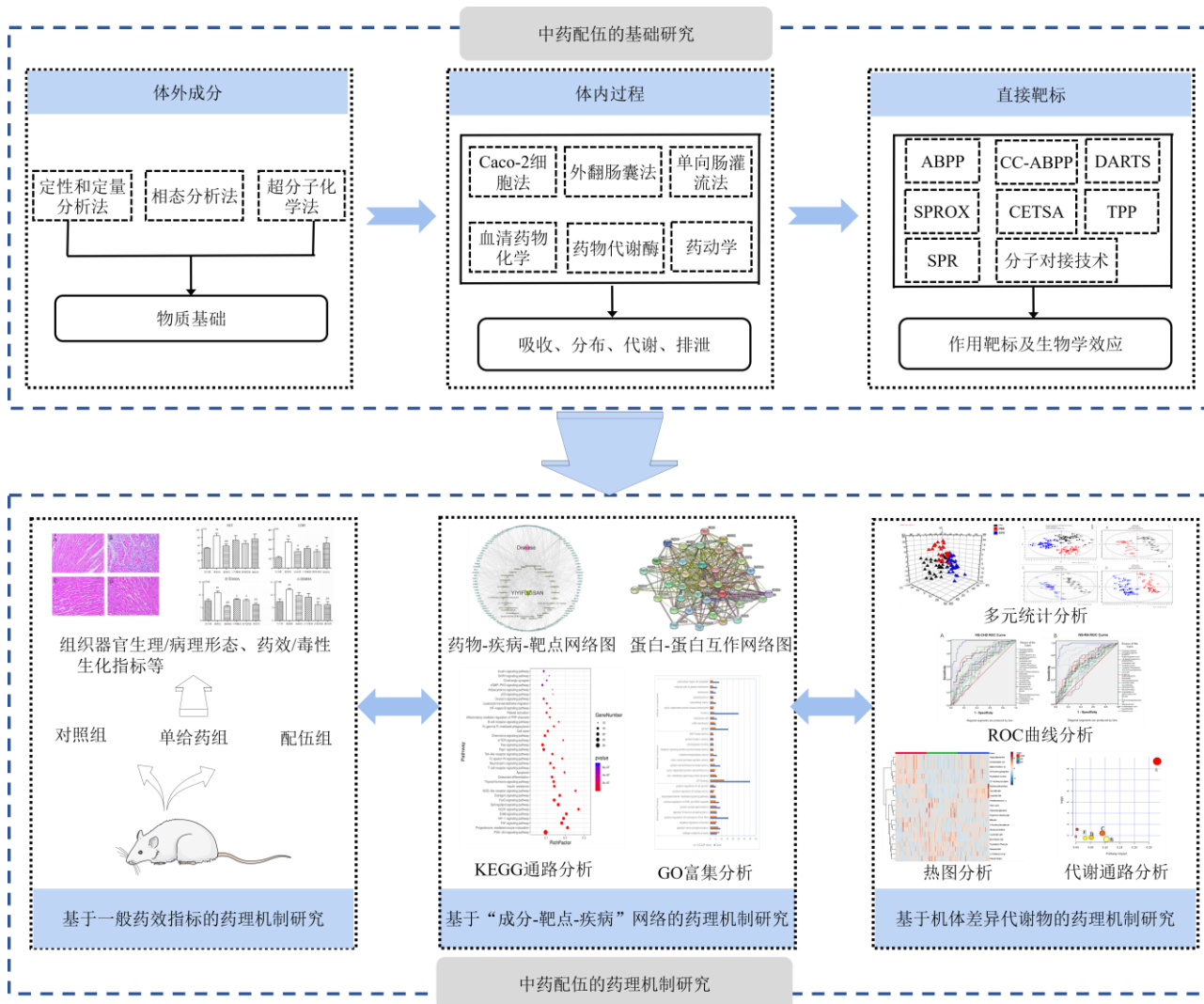


图1 中药配伍减毒增效机制的现代化研究策略

Fig. 1 Modern research strategy on compatibility mechanism of reducing toxicity and enhancing efficiency of TCM

1 基于“体外成分”的中药配伍研究

中药所含活性成分是中药发挥疗效的物质基础,体外成分的复杂变化是研究配伍机制的基础和重点。色谱和质谱及其联用技术已被广泛应用于中药活性成分的定性和定量分析,发现中药配伍后各药味主要通过以下单一或多个反应实现减毒增效作用^[5-6]:(1)减少毒性成分的溶出^[7-8];(2)促进活性成分的溶出^[9-10];(3)生成新的活性物质^[11]。通过定

性和定量分析研究配伍前后成分的组成及含量变化,可初步阐明中药配伍减毒增效的机制^[12],但存在一定局限性。

中药复方在煎煮过程中常伴随一系列复杂的变化,其汤液大多呈现混合相态体系,包括真溶液相、胶体相、混悬相和沉淀相等,中药配伍减毒增效作用不仅由多种相态下的化学成分主导,还与不同释药行为密切相关^[13-14]。因此,基于相态分析的方法被引入

中药配伍后减毒增效机制的研究中,郭玉岩等^[15]发现马钱子与甘草配伍后其毒效成分均有所减少,且主要集中在沉积物相态,由于沉积物相态的缓释作用,可长时间发挥药效,并维持平稳的药物浓度,是实现减毒增效作用的关键。吕邵娃等^[16]认为白虎汤纳米相态对解热成分及解毒成分起到了增溶作用,其强效解毒解热作用的机制与纳米粒子的形成有关。

此外,中药复方在煎煮过程中会出现自沉淀现象,传统中医认为自沉淀应与中药汤剂同服,自沉淀是中药配伍科学内涵的外在表象^[17]。雷海明团队^[18-19]研究发现自沉淀部分存在药效,其作用甚至强于上清液,自沉淀形成机制的研究对中药配伍及合理应用具有重要意义。因此,该团队将超分子化学运用于中药配伍合理性的探究,发现配伍后各成分通过静电、疏水、氢键及 π - π 等相互作用诱导形成多种超分子体系,达到减毒增效的目的^[20-22]。如小檗碱与马兜铃酸在水煎煮过程中产生静电、疏水及 π - π

堆积的稳定超分子结构,这些结构阻断马兜铃酸的毒性基团硝基和羟基的环化,从而抑制其形成毒性代谢物马兜铃内酰胺,以达到配伍减毒的作用^[23]。黄连解毒汤中黄酮苷类有效成分可以与小檗碱于水溶液中在弱键诱导下自组装形成球形和线形超分子,超分子结构的形成会显著影响单体活性,自组装后与前体原料小檗碱相比,对金黄色葡萄球菌的抑制作用和生物膜清除能力明显改变,以达到配伍增效的目的^[24]。

成分定性和定量分析法、相态分析法^[14,25]和超分子化学法^[23-24]均被用于中药配伍合理性研究(图2)。其中,相态分析法不仅可用于配伍机制研究,还可用于不同相态中毒性和活性成分的分析,尽可能除去毒性较大的相态,保留毒性成分少、活性成分多的相态部分,使临床用药更加安全、有效。超分子化学从新的视角揭示了中药配伍后的物质基础,深入研究了中药配伍的合理性,使中药复方焕发新的活力。

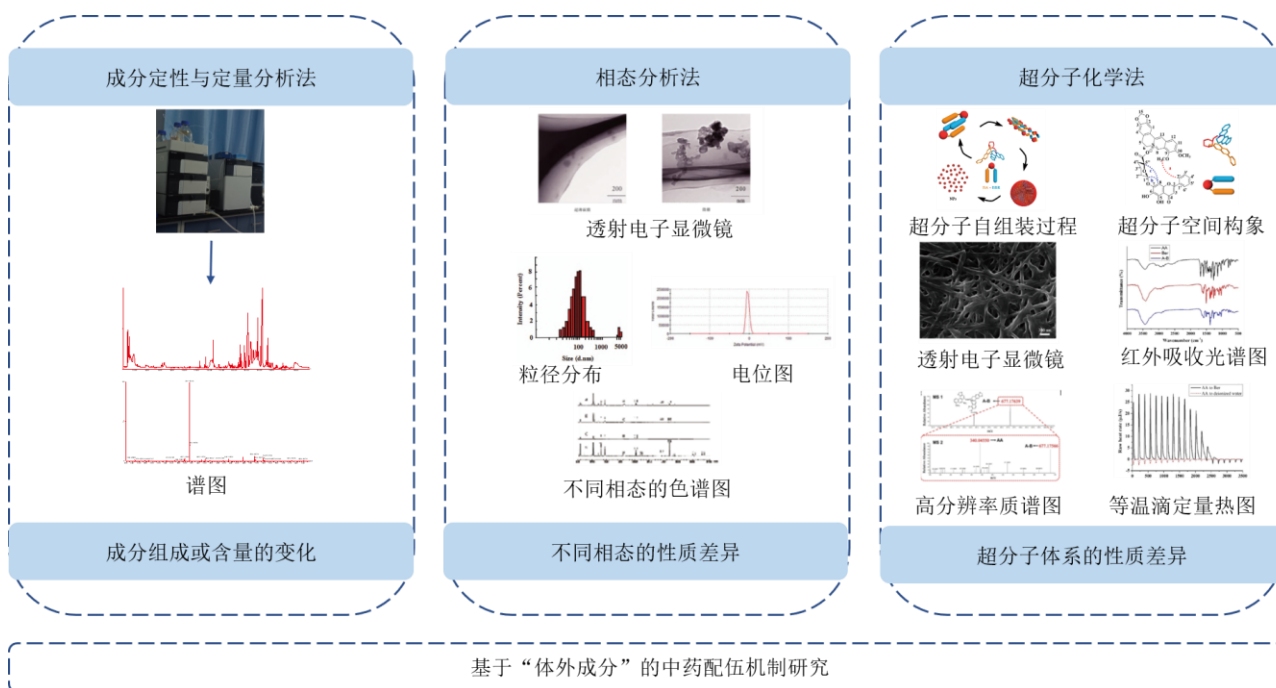


图2 以“体外成分”相互作用为基础的中药配伍机制研究策略

Fig. 2 Research strategy of TCM compatibility mechanism based on interaction of “*in vitro* components”

2 基于“体内过程”的中药配伍研究

中药配伍产生药效或毒效的作用,不仅源于本身复杂的化学成分和组方配伍后各成分相互作用发生的量或质变化,成分进入机体后在吸收、分布、代谢和排泄(absorption, distribution, metabolism and excretion, ADME)不同环节中的表现同样会影响配

伍疗效,因此,研究不同药物成分在体内 ADME 过程有助于阐明配伍减毒增效的具体机制^[26]。近年来,药物配伍后对成分 ADME 影响的研究方法主要有 Caco-2 细胞法^[27]、外翻肠囊法^[28]、单向肠灌注法^[28]、血清药物化学^[29]、药物代谢酶^[30]以及药动学^[31]等,各方法比较见表 1。

表 1 药物 ADME 研究方法的比较

Table 1 Comparison of drug ADME study methods

方法	实验类型	优势	不足	文献
Caco-2 细胞法	体外实验	方便快捷、同源性好、测定药物的摄取和跨膜转运、区分不同肠道吸收通道	结果可能有误差、缺少细胞异质性、缺少部分代谢酶、所需助溶剂多有毒性	32
外翻肠囊法	离体实验	操作简单, 条件可控; 接近实际吸收水平	无法真实模拟体内环境; 受环境因素影响, 结果多偏高	33
单向肠灌流法	在体实验	操作简便、更接近体内真实吸收情况、应用更广泛	需将胆汁引流或胆管结扎; 对灌流管路进行饱和; 助溶剂有毒, 易发生不良反应	32
血清药物化学	体内实验	技术成熟简便、设备普及、成本低廉、适用面广	研究不规范, 不系统; 在血清中浓度过低的成分不易检出	34-35
药物代谢酶	体外/体内实验	体内过程的关键、深入研究作用机制甚至至药物作用靶点	存在种属及性别差异、遗传多态性	36-37
药动学	体内实验	整体观、定量描述成分在体内过程的动态变化规律	杂质干扰严重、入血成分含量低、时间相关性大、实验过程复杂	38-39

2.1 基于体内过程的中药配伍增效机制研究

中药配伍后对吸收过程的影响主要表现在减少有效成分的外排以促进其吸收, 增加药效成分生物利用度, 发挥协同增效作用。P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 和多药耐药相关蛋白 2 (multidrug resistance associated protein 2, MRP2) 在药物的吸收中起着重要的作用, 能够将细胞内的药物外排, 影响其生物利用度^[40]。研究表明许多中药活性成分是 P-gp 和 MRP2 的底物, 受二者的外排影响生物利用度较低, 而配伍的中药能够作为二者的抑制剂, 增加药效成分的吸收。葛根和天麻是治疗心脑血管疾病的传统配伍, 药动学实验发现与单一给药相比, 二者配伍后能增加大鼠体内 6 种葛根活性成分的血药浓度, 进一步单向肠灌流法研究表明天麻可以通过抑制 P-gp 和 MRP2 介导的葛根中药效成分外排, 促进其吸收从而发挥配伍增效的作用^[41]。黄芩苷是黄芩的主要活性成分, 与多种配伍相比, 葛根芩连汤全方中黄芩苷的吸收效果最好^[42], 采用液相色谱-质谱联用 (liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry, LC-MS/MS) 法和 Caco-2 细胞模型进一步发现黄芩苷是 MRP2 蛋白的底物, 而葛根素能够抑制 MRP2 介导黄芩苷外排, 促进黄芩苷的吸收, 揭示葛根芩连汤配伍增效机制与增加主要药效成分的生物利用度相关^[43]。

增加目标治疗部位的药物分布也是中药配伍后通过体内过程增效的机制之一。柴胡-黄芩是治疗呼吸系统和消化系统疾病的经典药对, 其靶器官包括

肝和肺, 配伍后醋柴胡中多种皂苷成分与黄芩主要药效成分黄芩苷在肝、肺、脾组织中分布浓度显著正相关, 并发现乙酰化皂苷、生柴胡皂苷可能是二者配伍后协同增效治疗肝、肺疾病的活性成分^[44]。

此外, 中药配伍还可抑制药物代谢酶的活性以减慢有效成分的代谢, 达到增效作用。如白头翁皂苷 BII 显著增强川陈皮素在肝微粒体中的代谢稳定性, 减慢其体内代谢速率, 这与白头翁皂苷 BII 对细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 3A4 酶的抑制作用相关^[45]。综上, 中药配伍后增效机制主要与增加药效成分生物利用度、改善靶器官药物分布及抑制相关酶对活性成分的代谢速率等体内过程密切相关。

2.2 基于体内过程的中药配伍减毒机制研究

有毒中药经过配伍后, 可以通过抑制毒性成分的吸收、减少其在毒性靶器官中分布、促进其代谢和排泄等单一或多个过程发挥减毒的作用。雷公藤为治疗风湿顽痹之要药, 但因其毒性较大, 在临床上使用受限^[46]。三七和生地黄分别与其配伍后, 明显降低大鼠血浆中毒性成分雷公藤甲素和雷公藤内酯甲的曲线下面积 $AUC_{0-\infty}$ 和最大血药浓度 (C_{max}), 同时表观分布容积 (V_d)/生物利用度 (F) 增加、达峰时间 (t_{max}) 延长, 说明配伍降低了二者的吸收。进一步采用在体肠灌流模型比较雷公藤单给药和配伍给药后的肠吸收特征, 发现毒性成分在配伍组的肠壁吸收有效渗透系数、10 cm% 肠吸收百分率和肠吸收速率常数都显著降低^[47], 揭示雷公藤通过配伍减少毒性

成分吸收发挥减毒作用。而诱导多种器官毒性的雷公藤甲素联合甘草给药后,其在心、脾、肺等组织分布浓度降低且较为平缓,揭示甘草配伍对雷公藤甲素的减毒作用与影响药物分布过程相关^[48]。

CYP450 酶系是人体中最重要的药物代谢酶,参与大多数药物的代谢过程^[49],中药配伍后可以通过影响 CYP450 同工酶,促进毒性成分的代谢以减轻毒性损伤。近年来,许多学者采用“Cocktail”探针药物法研究附子配伍减毒的机制,发现甘草、芍药、干地黄分别与附子配伍后,均可诱导 CYP450 同工酶的活性并增加其含量,从而加快乌头类生物碱的代谢以达到配伍减毒的作用^[50-52]。Tai 等^[53]比较对照组、甘草甜素组与甘草甜素+CYP3A 抑制剂酮康唑组的大鼠 *po* 雷公藤甲素后体内药动学特征,发现与对照组相比,甘草甜素组的 $AUC_{0-\infty}$ 、平均驻留时间(MRT)和半衰期($t_{1/2}$)值显著降低,但这种下降的趋势被酮康唑显著逆转,表明甘草甜素通过诱导 CYP3A 的活性加速雷公藤甲素从体内代谢消除。

排泄过程的影响也是中药配伍减毒的机制之一,中药配伍可以加速有毒成分的排泄,防止其在体内蓄积造成损伤。张锐等^[54]采用 LC-MS/MS 法研究雷公藤内酯酮配伍甘草前后的药动学参数、组织分布与排泄情况,发现配伍后雷公藤内酯酮的代谢速度加快且组织分布浓度降低,此外,联合给药组中雷公藤内酯酮的排泄总量约为单独给药组的 2 倍,表明甘草对雷公藤内酯酮药动学及组织分布与排泄均有显著影响。由此可见,配伍减毒的作用机制包括减少毒性成分的生物利用度、降低毒靶器官的药物分布、促进 CYP450 酶代谢药物、加速排泄减少蓄积等,涉及 ADME 各个过程。

3 基于“直接靶标”的中药配伍研究

目前关于中药配伍机制的研究多集中于主要成分引起的机体表现信号蛋白的表达,而这些表现蛋白是否为药物直接靶标尚不明确,严重限制配伍机制研究的深度。直接靶标是中药活性成分发挥药效的启动点,阐明中药活性成分的直接作用靶标是突破中药现代化研究中分子靶点机制不明的关键,也是当下研究的热点^[55]。近年来,新的药物靶标发现技术不断涌现,将其应用于配伍中药成分直接作用靶标的研究,有助于从分子机制的角度解释配伍的合理性。

3.1 中药活性成分直接靶标发现技术

根据是否对活性成分进行修饰,可将中药活性成分直接靶标发现技术分为化学修饰法与非化学修饰

法 2 大类。化学修饰法是指利用化学方法对中药活性成分进行结构改造,使之成为具有标记作用的衍生物或探针,与靶标蛋白稳定结合后,对靶标蛋白进行富集与鉴定,如活性蛋白质组分析(activity-based protein profiling, ABPP)^[56-57],点击化学-ABPP(CC-ABPP)方法^[58-60]等。非化学修饰法不需要对活性成分进行结构修饰,主要通过检测与成分结合后靶标的酶水解稳定性、热稳定性等理化性质变化,或通过计算机模拟成分与靶标的结合情况,来识别中药活性成分的直接靶标。应用比较广泛的有药物亲和反应的靶点稳定性分析技术^[61-64]、细胞热位移分析技术^[65]、表面等离子共振技术^[66-67]及分子对接方法^[68]等。

3.2 基于活性成分直接靶标的中药配伍机制研究

疾病的发病机制往往涉及某些关键蛋白的功能异常,而配伍中的不同药物可以通过直接作用于与疾病进展密切相关的不同靶标发挥协同增效作用。Ye 等^[69]研究透解祛瘟颗粒抗新型冠状病毒肺炎的疗效机制,应用表面等离子共振技术发现严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2 型 Spike 蛋白为槲皮素和异槲皮苷的结合靶标,而黄芪甲苷和芦丁能够与血管紧张素转化酶 2 蛋白结合,芦丁、异槲皮苷、槲皮素为方中主药连翘的药效成分^[70],而黄芪甲苷为黄芪的主要成分^[71],表明连翘佐以黄芪等药物配伍后通过不同的直接靶点调控病毒感染、免疫和炎症相关的疗效作用。此外,药物配伍后可能通过竞争同一靶标,影响体内药效及毒性成分的作用,发挥减毒增效的作用。He 等^[72]利用分子对接技术发现外排转运蛋白 P-gp 为甘草中活性成分的直接结合靶标,乌头-甘草配伍后,其竞争性抑制乌头碱与 P-gp 结合,延长主要抗炎活性成分乌头碱在体内循环中的保留时间,从直接靶标的角度阐明了二者配伍后抗炎疗效强于乌头碱与甘草酸单用的机制。

近年来,曾克武等^[73]提出“中药化学生物学”概念,在中医药理论指导下,通过寻找中药及其复方活性成分作用靶点并结合细胞表型、遗传学手段、多组学技术等研究方法,揭示成分直接靶标下游信号通路及其生物学功能,并利用细胞或动物模型验证,阐明中药药效物质直接靶标和分子机制,促进中医药理论创新与发展,表明直接靶标及其生物学功能在中药药效机制研究中的重要性。然而直接靶标发现技术虽已被广泛应用于中药的靶标发现,但在中药配伍研究中的应用较少。将各类靶标发现技术结合多学科技术应用于中药配伍后直接靶标的研

究,可作为揭示中药配伍减毒增效机制的新方向。

4 中药配伍减毒增效的药理机制研究

中药配伍的最终目标是通过中药间的拮抗或协同作用实现中药有效性和安全性的最大化,药效作用是体现中药配伍优化合理性的核心,也是判断中药配伍合理性的金标准。因此,阐明药效药理机制是中药配伍研究的最终目的。目前中药配伍后药理机制的研究已从整体动物到器官组织、再到细胞亚细胞及分子生物学等多层次进行药效学指标评价^[74]。

4.1 基于一般药效指标的中药配伍药理机制研究

中药配伍后产生减毒增效的药理作用,一般通过观察给药后动物的行为学和死亡情况、脏器指数、组织器官生理或病理形态、药效或毒性生化指标等常见的药效指标来进行评价。

中药配伍的减毒作用通常是成分间有拮抗作用,通过逆转毒性成分产生的异常指标以增强对机体系统的保护作用。如雷公藤甲素可诱导氧化应激反应,引起线粒体损伤,导致细胞凋亡或自噬,从而对肝、肾、睾丸和心脏等多个靶器官产生毒性,使其临床应用受到极大限制^[75]。严银银等^[76]通过实验证实了藏红花素可以逆转雷公藤甲素造成的异常指标,通过配伍可减轻对心脏、肝等器官的损伤,藏红花素对雷公藤甲素的减毒机制可能与抗氧化应激作用有关。此外,白芍和金钱草也可通过抗氧化应激作用减轻雷公藤所致的肝损伤或肾损伤^[77-78]。

中药配伍的增效作用通常是成分间有协同作用,共同发挥对机体系统的保护作用。葛根素和天麻素均有改善微循环的作用^[79-80],姜丽等^[81]发现二药配伍后,其抗凝血和抗血小板聚集作用均强于二药单用。制川乌和白芍配伍也具有协同增效作用,可以增强抗炎效果,其增效机制可能与调节血浆中前列腺素 E₂ 和血清中一氧化氮的含量有关^[82]。此外,协同增效作用也可表现在不同指标的互补上,如丹参和红花配伍在炎症和氧化等指标表现出互补作用,表明二药配伍在抑制炎症和抗氧化方面均具有较好疗效^[83]。

4.2 基于“成分-靶点-疾病”网络的中药配伍药理机制研究

中药及其配伍中多成分与机体内多靶点的相互作用是目前中医药研究的热点及难点,而网络药理学构建“成分-靶点-疾病”等分子网络的研究策略,突破了传统“一药一靶”研究模式^[84]。以网络拓扑分析为基础,通过将配伍中的药效成分与疾病相关

靶点进行关联分析,找出生物分子网络中的关键节点和通路,综合性地观察各成分对疾病的干预和影响,从而整体地研究中药配伍复杂的药理机制。Xie 等^[85]采用网络药理学和实验验证研究乌头汤治疗类风湿关节炎的主要途径以及方中 5 种中药如何协同作用的药理机制。从 TCMID 和 GeneCards 数据库获取成分及其靶标与疾病靶标,构建成分-靶点网络并预测乌头汤抗类风湿关节炎的关键途径为核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 和核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor NF-E2-related factor 2, Nrf2) 通路,分子生物学实验验证乌头通过抑制 NF- κ B 通路介导的炎症反应和促进 Nrf2 通路介导的抗氧化作用缓解类风湿性关节炎症状,而方中麻黄抑制 NF- κ B 通路和促进 Nrf2 通路、黄芪则通过促进 Nrf2 途径增强乌头的疗效。Li 等^[86]通过网络药理学研究葛根芩连汤中的主要成分及其调控的疾病相关靶标和信号通路,结合进一步实验验证方中葛根素和甘草次酸通过上调糖原合酶激酶 3 β 和下调 CTNNT1 基因影响 Wnt 通路发挥协同抗癌作用。

综上所述,药物经过配伍,不同的药效成分进入体内作用于与疾病相关的靶标蛋白,并通过生物分子网络中关键蛋白的作用,影响下游信号通路起到减毒增效的作用,配伍后不同药物的活性成分可能通过影响同一信号通路增强疗效,或影响能发挥协同作用的多个信号通路增强疗效。

4.3 基于机体差异代谢物的中药配伍药理机制研究

代谢物及其网络为进一步反映机体状态的直观指标,中药方剂配伍的疗效必然涉及对紊乱失调代谢网络的调控^[87],探究配伍方剂干预后的代谢网络调控机制,有助于揭示相应药物的效应机制,进一步阐释中药复方的配伍规律。目前研究代谢物及其网络变化的有效手段是代谢组学,是继蛋白组学之后一个系统生物学的新分支,常利用核磁共振波谱或质谱等分析技术,对正常状态、病理状态、单用药及配伍给药的动物体液样品进行检测以鉴定差异代谢物,并通过数据库进行整合分析得到相关代谢簇及代谢途径信息,从机体代谢网络变化的角度揭示配伍药理机制^[88]。

配伍后不同药物的活性成分可能通过影响同一代谢通路或更多代谢通路,起到协同增强疗效的目的。张越凡等^[89]通过超高压液相色谱飞行时间质谱串联技术、主成分分析和正交偏最小二乘方判别分析发现三七-丹参配伍可通过调控亚油酸代谢、类固

醇激素生物合成、 α -亚麻酸代谢、花生四烯酸代谢、苯丙氨酸代谢等 8 条与炎症及氨基酸代谢相关的代谢通路治疗外伤血瘀证，而单用三七或丹参仅能调控部分代谢通路。同样，配伍的药物能反向调节毒性成分相关的代谢通路，达到配伍减毒的作用。Dong 等^[90]结合超高压液相色谱飞行时间高分辨质谱技术及模式识别方法系统地分析川乌毒性机制，鉴定出 17 个与川乌毒性相关的潜在标志物，并发现配伍干姜、白芍和甘草均能不同程度调控川乌紊乱的戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化以及丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等代谢途径。

肠道菌群是生物体肠道中寄生的微生物统称，广泛参与机体内短链脂肪酸、胆汁酸、三甲胺及氨基酸等多种物质的代谢调节，其微生物结构失衡常导致机体内代谢出现紊乱^[91]。维持肠道菌群正常对机体健康具有重要意义，研究表明中药配伍后可以通过调节肠道微生物的种群结构、功能、代谢等方面，调控机体的生理或病理状态。梔子药用历史悠久，药理作用广泛，但其具有肝毒性，过量使用、配伍和炮制不当易引起肝损伤^[92]。罗羽莎^[93]研究表明梔子在伪无菌大鼠中造成的肝损伤小于正常大鼠，且通过配伍淡豆豉可减轻梔子所致损伤，进一步通过 16S rRNA 高通量测序及气相色谱质谱联用发现，梔子可使大鼠肠道有益菌丰度减少，致病菌丰度增大，并降低了肠道中代谢物短链脂肪酸的含量，而配伍淡豆豉可逆转以上异常，揭示二者通过影响肠道菌群及其代谢产物发挥配伍减毒作用的机制。陈源等^[94]研究发现以黄连为主，大黄为辅进行合理配伍后给药，能够改善 2 型糖尿病大鼠体内的糖脂代谢紊乱及菌群结构失衡，进一步 Spearman 相关分析发现差异菌属的变化与代谢指标的改善存在相关性，揭示黄连-大黄配伍通过调控肠道菌群改善糖脂代谢紊乱的作用机制。

5 结语与展望

随着配伍后中药的体外成分、体内过程及直接靶标研究的深入，愈加证实中药配伍后物质基础与分子机制的复杂性，而通过动物或细胞模型的药效学实验、代谢组学技术以及网络药理学方法研究中中药配伍后的药理机制，虽然取得一定的进展，但仍然存在不足：动物或细胞模型的药效学实验及代谢组学技术多以中药提取物进行实验，难以阐明其物质基础；网络药理学研究中，配伍中药的成分及其作用靶点来源于数据库，目前数据库收录的成分完

善度尚有不足，且忽略了配伍后成分含量及其 ADME 的影响。

近年来不断有新技术、新策略提出，将多学科技术融合应用于中药配伍药理机制的研究能更全面诠释配伍的合理性。因此，本文提出以“体外成分、体内过程、直接靶标”研究为基础，“中药配伍药理机制研究”为目的，探索中药配伍减毒增效作用机制的现代研究模式（图 1）。通过中药配伍后体外成分及体内 ADME 过程的研究，明确药效学实验及代谢组学研究中的物质基础，并对网络药理学成分数据库进行补充；配伍后直接靶标的研究与分子生物学技术结合，将药理机制研究由一般药效学指标深入到分子机制指标，亦能为网络药理学数据库进行补充；网络药理学与代谢组学联合分析，研究差异代谢物与基因、蛋白的关系，从信号通路及代谢途径的不同层次相互印证，深入揭示中药配伍的药理机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 黄寅. 神农本草经 [M]. 影印本. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 385.
- [2] 于友华, 王永炎, 赵宜军, 等. 方剂配伍规律的研究 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(4): 219-222.
- [3] 王喜军, 张宁, 常存库, 等. 方剂配伍规律的研究现状和未来发展 [J]. 世界科学技术, 2006, 8(4): 13-16.
- [4] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [5] Yang Y, Yin X J, Guo H M, et al. Identification and comparative analysis of the major chemical constituents in the extracts of single Fuzi herb and Fuzi-Gancao herb-pair by UFLC-IT-TOF/MS [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(7): 542-553.
- [6] Liu P, Shang E X, Zhu Y, et al. Volatile component interaction effects on compatibility of *Cyperus Rhizoma* and *Angelicae Sinensis Radix* or *Chuanxiong Rhizoma* by UPLC-MS/MS and response surface analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 160: 135-143.
- [7] 栗焕焕, 张国琴, 邱紫莹, 等. 基于指纹图谱结合化学计量学的吴茱萸-甘草配伍减毒化学成分研究 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1730-1739.
- [8] 杨明, 刘小彬, 黄庆德. 附子甘草配伍减毒增效机理探析 [J]. 时珍国医国药, 2003, 14(4): 197-198.
- [9] 张也, 孙晓祝, 于淼, 等. 反相离子对-高效液相色谱法同时测定葛根芩连汤中 13 种有效成分及其在配伍机制研究中的应用 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 4852-4859.

- [10] 钟询龙, 王若伦, 段炼, 等. 基于 UPLC/Q-TOF-MS 技术分析女贞子与墨旱莲配伍协同增效的物质基础 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(19): 1887-1891.
- [11] 孟楣, 张静, 江莹, 等. 基于“化学基础”探讨新风胶囊方中雷公藤配伍减毒作用 [J]. 中药材, 2016, 39(8): 1829-1832.
- [12] 宋佳, 高晓霞, 田俊生, 等. 中药药对配伍机制的现代研究 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4367-4374.
- [13] 张喜武, 刘美欣, 李秋晗, 等. 以有效相态为视角探讨中药复方药性传递规律 [J]. 中医学报, 2018, 46(2): 1-4.
- [14] 郭玉岩, 李春成, 孙爽, 等. “甘草-马钱子”配伍前后及其拆分相态指纹图谱对比研究 [J]. 中医学报, 2020, 48(10): 1-6.
- [15] 郭玉岩, 马文保, 肖洪彬, 等. 基于 UPLC-MS 技术分析马钱子-甘草药对配伍汤液不同相态中毒效物质的变化规律 [J]. 中草药, 2017, 48(23): 4880-4884.
- [16] 吕邵娃, 武印奇, 李英鹏, 等. 白虎汤相态拆分及不同相态中主要成分的含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(11): 154-160.
- [17] 田学浩, 张昊, 李桐, 等. 中药配伍理论科学内涵的外在表象: 复方水煎自沉淀 [J]. 中草药, 2017, 48(22): 4778-4783.
- [18] Zhang C Z, Zhao R, Yan W Q, *et al.* Compositions, formation mechanism, and neuroprotective effect of compound precipitation from the traditional Chinese prescription Huang-Lian-Jie-Du-Tang [J]. *Molecules*, 2016, 21(8): E1094.
- [19] 房康, 吴高荣, 王辉, 等. 黄连解毒汤自沉淀化学成分及其抗 PC12 细胞损伤研究 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3714-3719.
- [20] 李文, 王志家, 林晓钰, 等. 基于弱键诱导的超分子体系探讨甘草和合黄连“性-味-效”物质基础 [J]. 药学学报, 2022, 57(6): 1901-1908.
- [21] Tian X H, Wang P L, Li T, *et al.* Self-assembled natural phytochemicals for synergistically antibacterial application from the enlightenment of traditional Chinese medicine combination [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(9): 1784-1795.
- [22] Huang X M, Wang P L, Li T, *et al.* Self-assemblies based on traditional medicine berberine and cinnamic acid for adhesion-induced inhibition multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(1): 227-237.
- [23] Wang P L, Guo W B, Huang G R, *et al.* Berberine-based heterogeneous linear supramolecules neutralized the acute nephrotoxicity of aristolochic acid by the self-assembly strategy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(28): 32729-32742.
- [24] Li T, Wang P L, Guo W B, *et al.* Natural berberine-based Chinese herb medicine assembled nanostructures with modified antibacterial application [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(6): 6770-6781.
- [25] 武印奇, 吕邵娃, 李英鹏, 等. 白虎汤中纳米相态的分离与表征 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(12): 121-124, 286.
- [26] 谭晓梅, 刘昌顺, 汤庆发, 等. 基于功效成分体内过程的中药复方配伍及方证相应研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2021, 23(3): 655-661.
- [27] 黄荳, 胡炜华, 黄伟, 等. Caco-2 细胞模型在中药转运机制及相互作用机制中的研究进展 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2016, 56(2): 96-98.
- [28] Lü D, Jiang Q Y, Zhang J, *et al.* Effect of Baizhu (*Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*) extract on intestinal absorption of brucine and strychnine *in vitro* and *in situ* [J]. *Chung I Tsa Chih Ying Wen Pan*, 2020, 40(4): 562-570.
- [29] Dou X X, Lin S, Tian X H, *et al.* Systematic characterization of the chemical constituents *in vitro* and prototypes *in vivo* of Dingkun Dan using ultra-high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry combined with the UNIFI™ software [J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(10): e4914.
- [30] Zuo H L, Huang H Y, Lin Y C, *et al.* Enzyme activity of natural products on cytochrome P450 [J]. *Molecules*, 2022, 27(2): 515.
- [31] 许妍妍, 郭雪君, 李遇伯, 等. 生川乌瓜蒌不同配伍中乌头类生物碱在大鼠体内的药理学研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(3): 273-279.
- [32] 何帅, 蔺明煊, 姜亦南, 等. 中药成分肠吸收模型研究进展与思考 [J]. 中医学报, 2018, 46(3): 121-124.
- [33] 沈芸, 徐蓓蕾, 杨新宇, 等. 三种研究药物肠道吸收机制的方法 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2016, 32(1): 11-13.
- [34] 马飞祥, 薛培凤, 王媛媛, 等. 中药血清药物化学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1265-1270.
- [35] 张灵娜, 林兵, 宋洪涛. 中药血清药理学、血清药物化学的研究概况及展望 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2662-2666.
- [36] 马增春, 王宇光, 谭洪玲, 等. 中药与肝脏药物代谢酶之间的相互作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(7): 994-1001.
- [37] 杨然, 马晓慧, 郭嘉华, 等. 药物代谢酶的特性 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(7): 751-759.
- [38] 李雪激, 张红阳, 朱继孝. 中药复方药物代谢动力学研究进展 [J]. 中医药通报, 2015, 14(5): 65-69.
- [39] 傅春燕, 刘永辉, 曾立, 等. 中药 (复方) 药代动力学研究进展 [J]. 邵阳学院学报: 自然科学版, 2021,

- 18(5): 101-108.
- [40] 刘志浩, 刘克辛. 肠道药物转运体及其研究方法 [J]. 药科学报, 2011, 46(4): 370-376.
- [41] Liu C S, Liang X, Wei X H, *et al.* Comparative pharmacokinetics of major bioactive components from *Puerariae Radix-Gastrodiae Rhizome* extracts and their intestinal absorption in rats [J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1105: 38-46.
- [42] 王婷婷, 安靓, 梁琨, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱的葛根芩连汤的化学成分分析 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1498-1507.
- [43] 顾青青, 邵以诺, 安靓, 等. 葛根芩连汤有效成分对黄芩苷在 Caco-2 细胞模型中吸收转运的影响 [J]. 中成药, 2015, 37(4): 694-699.
- [44] 徐倩, 赵亚, 刘丽娟, 等. 醋柴胡不同极性洗脱部位对黄芩苷在小鼠体内分布的影响以及成分分析 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(8): 912-918.
- [45] Zhang J, Fan M L, Yu X, *et al.* The pharmacokinetic study on the interaction between nobiletin and anemarsaponin BII *in vivo* and *in vitro* [J]. *Pharm Biol*, 2021, 59(1): 1528-1532.
- [46] 杨冬梅, 刘俊. 雷公藤多苷临床应用及不良反应的研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(20): 2185-2190.
- [47] 张本永. 清络通痹精简方中雷公藤配伍减毒的化学基础及其作用机理研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [48] 刘建群, 李青, 张锐, 等. LC-MS/MS 法研究甘草对雷公藤甲素药代动力学及组织分布与排泄的影响 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1664-1671.
- [49] 刘文波, 陈禹保, 邢玉华. 细胞色素 P450 基因多态性与药物代谢研究进展 [J]. 中国生物工程杂志, 2016, 36(12): 104-110.
- [50] 鞠爱霞, 张曦文, 孙爽, 等. 基于 CYP450 酶的四逆汤复方配伍减毒机制研究 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(8): 1863-1866.
- [51] 郭艳丽, 鞠爱霞, 孙爽, 等. 基于肝药代谢酶的附子配伍芍药减毒机制研究 [J]. 化学工程师, 2019, 33(6): 83-88.
- [52] 李秋红, 单万亭, 鞠爱霞, 等. 基于肝脏药物代谢酶研究附子配伍干地黄的减毒机制 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(16): 3961-3966.
- [53] Tai T, Huang X, Su Y W, *et al.* Glycyrrhizin accelerates the metabolism of triptolide through induction of CYP3A in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(2): 358-363.
- [54] 张锐, 李青, 刘芳, 等. LC-MS/MS 法研究甘草对雷公藤内酯酮药代动力学及组织分布与排泄的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 151-156.
- [55] 曾克武. 中药活性成分直接作用靶点“钩钓”技术的建立与应用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(9): 670.
- [56] Liao L X, Song X M, Wang L C, *et al.* Highly selective inhibition of IMPDH2 provides the basis of antineuroinflammation therapy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(29): E5986-E5994.
- [57] Dong T, Li C, Wang X, *et al.* Ainsliadimer A selectively inhibits IKK α/β by covalently binding a conserved cysteine [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6522.
- [58] Speers A E, Cravatt B F. Profiling enzyme activities *in vivo* using click chemistry methods [J]. *Chem Biol*, 2004, 11(4): 535-546.
- [59] Wang J G, Zhang C J, Chia W N, *et al.* Haem-activated promiscuous targeting of artemisinin in *Plasmodium falciparum* [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 10111.
- [60] Dai J Y, Liang K, Zhao S, *et al.* Chemoproteomics reveals baicalin activates hepatic CPT1 to ameliorate diet-induced obesity and hepatic steatosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(26): E5896-E5905.
- [61] Wu X X, Liu L, Zheng Q L, *et al.* Protocatechuic aldehyde protects cardiomyocytes against ischemic injury via regulation of nuclear pyruvate kinase M2 [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(11): 3553-3566.
- [62] 余苏云, 邓蕊, 王爱云, 等. 基于 TRPC5 探讨山奈酚抗胃癌转移的作用及机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(10): 753.
- [63] Tanabe N, Kuboyama T, Tohda C. Matrine directly activates extracellular heat shock protein 90, resulting in axonal growth and functional recovery in spinal cord injured-mice [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 446.
- [64] Lomenick B, Hao R, Jonai N, *et al.* Target identification using drug affinity responsive target stability (DARTS) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(51): 21984-21989.
- [65] Martinez Molina D, Jafari R, Ignatushchenko M, *et al.* Monitoring drug target engagement in cells and tissues using the cellular thermal shift assay [J]. *Science*, 2013, 341(6141): 84-87.
- [66] 尹磊淼. 表面等离子共振技术在中医药研究中应用进展 [J]. 世界中医药, 2020, 15(11): 1555-1558.
- [67] Maalouf R, Fournier-Wirth C, Coste J, *et al.* Label-free detection of bacteria by electrochemical impedance spectroscopy: Comparison to surface plasmon resonance [J]. *Anal Chem*, 2007, 79(13): 4879-4886.
- [68] Koshland D E. Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1958, 44(2): 98-104.
- [69] Ye M B, Luo G W, Ye D X, *et al.* Network pharmacology, molecular docking integrated surface plasmon resonance technology reveals the mechanism of Toujie Quwen

- Granules against coronavirus disease 2019 pneumonia [J]. *Phytomedicine*, 2021, 85: 153401.
- [70] 程锦, 邱杰, 曹桂萍. HPLC-MS/MS 同时测定连翘中 7 种成分的含量 [J]. 中药材, 2017, 40(10): 2387-2389.
- [71] 李艳玲, 丁煌, 傅馨莹, 等. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对脑缺血大鼠 BMSCs 移植后神经修复的影响 [J]. 中草药, 2021, 52(21): 6537-6544.
- [72] He Y F, Wei Z H, Xie Y, *et al.* Potential synergic mechanism of Wutou-Gancao herb-pair by inhibiting efflux transporter P-glycoprotein [J]. *J Pharm Anal*, 2020, 10(2): 178-186.
- [73] 曾克武, 姜勇, 王晶, 等. 中药化学生物学: “中药化学”与“生物学”交叉形成的新兴学科 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 849-860.
- [74] 罗国安, 梁琼麟, 刘清飞, 等. 整合化学物质组学的整体系统生物学: 中药复方配伍和作用机理研究的整体方法论 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9(1): 10-15.
- [75] Xi C, Peng S J, Wu Z P, *et al.* Toxicity of triptolide and the molecular mechanisms involved [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 90: 531-541.
- [76] 严银银, 闫敏, 武香香, 等. 藏红花素对雷公藤甲素致小鼠脏器损伤的保护作用研究 [J]. 中国药房, 2021, 32(19): 2320-2326.
- [77] 晏之谦, 张妮, 肖芳, 等. 雷公藤配伍白芍调控氧化应激水平的肝脏减毒效应研究 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(5): 1042-1046.
- [78] 王君明, 蔡泓, 李金花, 等. 基于调控生理状态下抗氧化抗炎水平探讨雷公藤配伍金钱草相杀减毒的生物机制 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(1): 11-14.
- [79] Wu X D, Wang C, Zhang Z Y, *et al.* Puerarin attenuates cerebral damage by improving cerebral microcirculation in spontaneously hypertensive rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 408501.
- [80] 章建平, 方华, 杨淼, 等. 天麻素对脊髓缺血再灌注损伤中脊髓微循环血流量的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(16): 128-133.
- [81] 姜丽, 王玉蓉, 曹唯仪, 等. 基于改善微循环药效的天麻素与葛根素配伍合理性研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2013, 15(2): 244-248.
- [82] 张捷. 制川乌配伍白芍增效作用及其机理研究 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(22): 15-16.
- [83] Bi C, Li P L, Liao Y, *et al.* Pharmacodynamic effects of Dan-Hong Injection in rats with blood stasis syndrome [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109187.
- [84] 周文霞. 网络药理学研究进展和发展前景 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(5): 760-762.
- [85] Xie Y, Mai C T, Zheng D C, *et al.* Wutou Decoction ameliorates experimental rheumatoid arthritis via regulating NF- κ B and Nrf2: Integrating efficacy-oriented compatibility of traditional Chinese medicine [J]. *Phytomedicine*, 2021, 85: 153522.
- [86] Li Y P, Gong Y T, Zhang X, *et al.* Exploring the synergistic mechanism of Gegen Qinlian Decoction on the Wnt signaling pathway using an integrated strategy of network pharmacology and RNA-seq [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 278: 114283.
- [87] Wang X J, Zhang A H, Sun H, *et al.* Discovery and development of innovative drug from traditional medicine by integrated chinmedomics strategies in the post-genomic era [J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2016, 76: 86-94.
- [88] 李瑛, 邵鑫, 李春燕, 等. 基于代谢组学的苦碟子注射液抗心肌缺血作用机制研究 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 789-798.
- [89] 张超凡, 曾锐, 张海霞, 等. 药对三七-丹参对外伤血瘀证大鼠血浆和尿液代谢组的影响 [J]. 中医药信息, 2022, 39(5): 1-10.
- [90] Dong H, Yan G L, Han Y, *et al.* UPLC-Q-TOF/MS-based metabolomic studies on the toxicity mechanisms of traditional Chinese medicine Chuanwu and the detoxification mechanisms of Gancao, Baishao, and Ganjiang [J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(9): 687-698.
- [91] Tang W H W, Kitai T, Hazen S L. Gut microbiota in cardiovascular health and disease [J]. *Circ Res*, 2017, 120(7): 1183-1196.
- [92] 杨新荣, 窦霞, 李国峰, 等. 栀子肝毒性防治的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 4170-4176.
- [93] 罗羽莎. 基于代谢组学技术的肠道菌群介导的栀子肝毒性及栀子豉汤配伍减毒机制研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2021.
- [94] 陈源, 李振华, 岳仁宋, 等. 基于肠道菌群探讨黄连-大黄药对对 2 型糖尿病 GK 大鼠代谢紊乱调控的影响 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(4): 138-143.

[责任编辑 崔艳丽]