

中药谱效关系的研究思路与应用进展

赵海燕¹ 韩旭²

(1 南京中医药大学,南京,210046; 2 江苏省中医院,南京,210029)

摘要 中药谱效关系是以中药指纹图谱为基础,并将中药药效学与之相结合的一种研究方法,现已广泛应用于中药材及中药复方制剂的质量控制,为中药的药效物质基础研究提供了思路和方法。本文通过总结近几年相关的文献,对谱效关系研究过程中常用的指纹图谱测试方法及谱效关系研究思路进行综述,为中药谱效关系的后续研究提供参考。

关键词 中药;指纹图谱;谱效关系

Research Thoughts and Application Progress of Relations between Mapping and Effect of Chinese Materia Medica

Zhao Haiyan¹, Han Xu²

(1 Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2 Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract The relations between mapping and effect of material medica refers to a research method that combines fingerprint mapping of meteria medica and pharmacodynamics. It is widely used in quality control of herbal medicine and compound medicine which provides thoughts and methods for basic researches on pharmacological substances of meteria medica. After studying on the articles on this topic published recent years, this paper mainly introduced the testing methods of fingerprint mapping and its relations with pharmacological effects which provides reference for future study on the subject.

Key Words Chinese meteria medica; Fingerprint mapping; Relations between mapping and effect

中图分类号:R282.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.04.043

中药谱效学是在中医药理论现代研究的基础上,以中药指纹图谱为基础,以效应及效应体学为主要内容,应用生物信息学方法,建立中药指纹图谱与中药质量疗效内在关系的一门学科^[1]。这一概念最早是由李戎等^[2]系统而明确地提出,其认为:从中医辨证施治而言,用药使用的是药味而非某些化学成分。中药的“补气”“活血”“滋阴”“健脾”等功效,是药材饮片或成药方剂内含物质群的整体作用结果。这些物质群所包含的物质数、物质质量和组成比例差异,都会对功效产生影响。故控制中药功效,不能只针对某一二个化学成分,必须对方剂物质群整体予以控制,只有将标示物质群特征峰的中药指纹图谱与药效结果相对应,将中药指纹图谱中化学成分的变化与中药药效结果联系起来,建立起有实际意义的中药“谱效”关系学,才能建立中药产品与其疗效基本一致的反映产品内在质量的质量标准。

1 中药谱效关系的研究内容与研究方法

1.1 中药谱效关系的研究内容 基于中医传统理论及历代中医师实践经验的中药方剂,多为“君臣佐使”为代表的相互制约相互协调的复方制剂,少有单味药

使用者。而即使单味中药材,亦是通過所含的多种化学成分协同发挥药效,更难以想象复方制剂所含有的具体有效成分。中药化学成分的多样性与复杂性是发挥其疗效的物质基础^[3]。中药谱效关系研究就是通过指纹图谱与药效之间的相互关系揭示中药所含化学成分与药效之间的相互关系。国家食品药品监督管理局颁发《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》以来,中药指纹图谱的研究已成为我国中药研究和产业界的热点。中药指纹图谱指通过对中药材或中成药进行适当处理,采用一定的分析方法,得到能够标志该中药材或中成药特征的色谱或光谱的图谱,旨在通过这一技术反映具有复杂成分的中药材及复方制剂内在质量的均一性及稳定性。然而指纹图谱的多数研究者侧重于化学指纹图谱的获取方法,在建立指纹图谱时,只考虑某些已知的化学成分定性或定量,并未考虑药效的定性或定量。因此,要控制中药药效的质量,就必须建立“谱—效”之间的联系。

1.2 中药谱效关系的研究方法 孙国祥等^[3]认为中药指纹图谱测试学是依托现代分析技术获取具有整体性、特征性和稳健性的规范化中药指纹图谱的学科。

其任务是完成样品处理方法和检测方法的优化、合理参照物峰的选择、指纹峰的指认与归属。此学科可建立中药有效组分提取分离方法,并准确地进行结构确证,是指纹图谱测试过程的重要步骤,以完成明确的峰指认,是指纹图谱的谱效学研究的重要基础。而其中高效液相色谱法(HPLC)是公认的检测中药指纹图谱的主导方法。气相色谱(GC)和薄层色谱(TLC)也是中药指纹图谱研究的重要手段,高效毛细管电泳技术(HPCE)由于其高分离效率、高速度、低消耗、无污染,成为检测中药指纹图谱的又一重要技术。HPLC-MS和GC-MS联用定性鉴定指纹峰成为一种可信的重要方法。现在多数研究者采用的分析方法主要包括:HPLC法、GC法及色谱-质谱联用技术^[4-5]。

1.2.1 HPLC法 HPLC是现在应用最多的一类,具有分离效能高,分析速度快等优点,尤其对成分差别细微的单味药材及成分较为复杂的复方制剂,其分离与鉴定能力大大优于同分离原理的TLC。如邓书鸿等^[6]对黄芪提取物建立HPLC指纹图谱,并与抗疲劳作用进行相关分析,结果表明黄芪中黄酮类成分与一些其他类成分(包含皂苷类)指纹图谱色谱峰对抗疲劳呈增强作用,而黄芪多糖呈减弱作用。孙冬梅等^[7]用HPLC法测定不同产地陈皮药材中橙皮苷的含量,结果表明不同产地陈皮药材中橙皮苷含量存在差异。

1.2.2 GC法 气相色谱法具有高效、高灵敏度、样品用量少、分析速度快的特点,主要用于中药挥发性成分的鉴定^[8]。如阮健等^[9]用GC法对当归挥发油进行指纹图谱测定,建立当归挥发油的共有指纹峰,为当归药材的质量评价提供依据。

1.2.3 色谱-质谱联用技术 色谱-质谱联用技术是将色谱仪与质谱通过适当接口结合成完整的分析仪器,借助计算机技术进行物质分析的方法。其中质谱可以看作是色谱的检测器。在谱效关系研究中,色谱联用技术主要用于指纹图谱色谱峰对应成分的鉴定,包括GC-MS和HPLC-MS。如张金渝等^[10]使用GC-MS法分析不同产地云当归挥发油化学成分,建立其指纹图谱,结果表明:大理鹤庆马场云当归中鉴定出54个化合物,沾益大坡乡云当归中鉴定出55个化合物,所鉴定的化学成分分别占挥发油色谱峰面积的99.21%和99.17%。沈岚等^[11]在研究芍药甘草复方效应组分谱效关系的过程中,将大鼠含药血清的胃底肌条解聚实验药效学信息与芍药甘草血清HPLC指纹图谱信息进行相关,采用HPLC-ESI-MS/MS对与药效相关性较大的4个色谱峰进行了质谱鉴定。

2 中药谱效关系的物质基础与研究思路

中药谱效关系目前主要应用于单味药材的质量评价和中药复方的药效物质基础这两方面。其根本的思路都是建立指纹图谱,进行药效学实验,然后通过数学软件和计算机技术将二者联系起来,即将“谱”与“效”联系起来,建立更加合理全面的、符合中医中药理论体系的质量评价体系。

2.1 单味中药材物质基础研究 单味药材多根据研究目的的不同,选取包括产地差异、品种差异、提取部位差异及炮制方法差异等不同差异的单味中药材作为研究对象,进行建立指纹图谱和药效学实验,应用一定的科学分析方法,分析药材中相关化学成分和药效间的相互关系。如刘旭等^[12]将三七提取物通过大鼠心肌缺血模型,建立中药三七液相指纹图谱,发现人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1、三七皂苷R1是三七治疗心肌缺血的主要有效成分。刘小花等^[13]以不同产地10批黄芪药材乙酸乙酯部位提取物为研究对象,采用灰关联度分析方法研究其谱效关系,发现黄芪利尿作用与其含有的中等极性的黄酮类化合物相关。朱诗塔等^[14]以掌叶大黄不同炮制品水提取物为研究对象,采用HPLC法建立其指纹图谱,用小鼠剪尾尖法研究其止血作用;用灰关联度分析方法研究其谱效关系。结果发现掌叶大黄不同炮制品的止血作用与以下多种化学成分包括没食子酸、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚等共同作用相关。郭延生等^[15]研究了当归不同炮制品清除自由基的药效物质基础。以酒当归、油当归、土当归和当归炭为研究对象,建立其指纹图谱,鉴定了11个共有峰,通过多元线性回归法分析当归不同炮制品指纹图谱中化学成分与清除自由基之间的关系。结果发现Z-丁烯基酞内酯与抗自由基呈正相关关系;阿魏酸、丁基酞内酯与清除羟基自由基呈正相关关系,洋川芎内酯H和levistolide A也与清除氧自由基密切相关。由此可见,Z-丁烯基酞内酯、阿魏酸、丁基酞内酯、洋川芎内酯H和levistolide A是当归炮制品清除自由基的药效物质基础。

2.2 中药复方物质基础研究 中药复方药材众多,成分更加复杂,现在多采用将原方拆方进行研究,用于拆方的思路和方法主要有单味药研究法、撇药分析法、分组研究法、据有效部位或成分的分组研究法和应用数理原理指导拆方研究等^[16]。而研究方法多以不同厂家、不同配伍组合或不同提取方法制备的复方为研究对象,进行指纹图谱研究,同时进行药效学研究,通过采用多种统计分析方法进行数据处理,建立相应的谱效关系,进而确定复方中的主要活性成分或药效物

质^[17]。如李友等^[18]采用 HPLC 色谱法建立板蓝根制剂的三氯甲烷部位指纹图谱,将 HPLC 指纹图谱共有峰的标准化峰面积比值与抗内毒素活性参数 IC₅₀ 关联。窦志华等^[19]对复方五仁醇胶囊的阴性制剂和单味制剂含药大鼠血清进行指纹图谱测定,并通过考察对诱导的损伤肝细胞的增殖及丙氨酸氨基转移酶泄漏的影响,进行了复方五仁醇胶囊谱效关系分析。结果表明,单味五味子及三七、柴胡、叶下珠阴性制剂与全方制剂含药血清组之间对肝细胞保护作用的药效无显著差异,且谱效之间具有很好的相关性,保肝作用的药效物质基础来自君药五味子所含有的木脂素类成分。李鹏等^[20]以使用己烯雌酚结合缩宫素致小鼠痛经模型,对桃红四物汤及其单味药石油醚部位进行筛选,结合 GC-MS 法对其分析,运用数理统计方法将药理数据与气相色谱峰相对面积相关联,石油醚部位有显著的调经止痛作用。综合回归分析与相关分析,研究表明 23 号峰即亚油酸在延长扭体潜伏期和减少扭体次数方面起主要作用,其次 24 号峰(十八碳烯酸),45 号峰(花生酸)和 61 号峰(二十七烷)对镇痛效果有一定的协同作用,客观的分析评价化学物质与效应之间的关系。林立等^[21]以泻白散为研究对象,将方中各药进行正交组合,测定 HPLC 图谱及评价祛痰、抗炎作用,并对 HPLC 图谱进行峰归属,运用数理统计方法将药理数据和 HPLC 图谱中各色谱峰面积相关联,研究谱效相关性,发现桑白皮中有 2 个峰显示与祛痰作用和抗炎作用呈正相关,初步推断为二苯乙烯苷类成分。研究表明泻白散方中药物桑白皮对药效呈增强作用,与桑白皮为其方中君药相对应。黄勇等^[22]通过柱色谱技术将灯盏细辛提取物划分为 3 个极性组分,并采用正交法将其配伍,研究其各组分与神经母细胞瘤(SH-SY5Y)细胞的保护作用之间的谱效关系。他将各配伍组分活性信息与其相应的 UPLC 指纹图谱化学信息进行方差分析和相关性分析研究,结果表明灯盏细辛在指纹图谱中的 B、C 组分段具有明显活性;其中 4,7~12 号色谱峰与活性呈现正相关。

3 中药谱效关系研究的展望

中药谱效关系的研究无疑是中医药业内人士提出的正在倡导的全新的、处于学术前沿的中药现代化研究思路,它是建立在中药指纹图谱研究基础上,比指纹图谱更深入一层的科学研究方向。但是中药谱效关系学尚处于初步阶段,仍可能存在以下问题:1)某些中药指纹图谱的建立尚存在稳定性、分离效果欠佳的问题。2)很多西化的药理模型不能良好反映中药的临床功效,但选择与中医药理论接近的药理模型,又不利于中

医药走向世界的发展,疗效及量化指标未能有统一标准。所以,更加精准的中药谱效关系的研究仍需在实践中不断探索并完善。

参考文献

- [1] 罗国安, 王义民, 曹进, 等. 建立我国现代中药质量标准体系的研究[J]. 世界科学技术-中药现代化, 2002, 4(4): 5-11.
- [2] 李戎, 闰智勇, 李文军, 等. 创建中药谱效关系学[J]. 中医教育 ECM, 2002, 21(2): 62.
- [3] 孙国祥, 雒翠霞, 任培培, 等. 中药指纹图谱学体系的构建[J]. 中南药学, 2007, 5(1): 69-73.
- [4] 邓书鸿, 聂磊. 中药谱效关系的分析方法及数据处理技术研究进展[J]. 中药材, 2010, 33(11): 1819-1823.
- [5] 郑颖, 吴凤镔. 中药指纹图谱的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(1): 55-60.
- [6] 邓书鸿, 宋丽, 段小菊, 等. 黄芪提取物 HPLC 指纹图谱与抗疲劳作用的相关分析[J]. 中药材, 2013, 36(2): 260-264.
- [7] 孙冬梅, 毕晓黎, 胥爱丽, 等. HPLC 法测定不同产地陈皮药材中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 1-3.
- [8] 王乐, 李素霞, 陈晶. 中药指纹图谱在中药质量控制中的应用[J]. 河北化工, 2010, 33(1): 71-73.
- [9] 阮健, 王凤山, 车鑫, 等. 当归挥发油的 GC 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2006, 37(9): 1338-1341.
- [10] 张金渝, 王元忠, 赵振玲, 等. 气相色谱-质谱联用分析不同产地云当归挥发油化学成分[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(26): 12538-12539.
- [11] 沈岚, 张梁, 冯怡, 等. 芍药甘草复方效应组分谱效关系研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(22): 2658-2661.
- [12] 刘旭, 李明春, 徐霞, 等. 中药三七对大鼠心肌缺血保护作用的谱效学研究[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(8): 819-823.
- [13] 刘小花, 蔺兴遥, 梁瑾, 等. 黄芪药材利尿作用的谱效关系研究[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(5): 491-495.
- [14] 朱诗塔, 雷鹏, 李新中, 等. 掌叶大黄不同炮制品指纹图谱与其止血作用的灰关联度分析[J]. 中南药学, 2009, 7(1): 55.
- [15] 郭延生, 华永丽, 邓红娟, 等. 当归不同炮制品清除自由基谱效关系研究[J]. 中成药, 2010, 32(12): 2107.
- [16] 王丽静, 贾晓斌, 陈彦, 等. 中药复方拆方研究的思路与方法[J]. 中成药, 2008, 30(9): 1343-1345.
- [17] 秦昆明, 郑礼娟, 沈保家, 等. 谱效关系在中药研究中的应用及相关思考[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1): 26-31.
- [18] 李友, 马莉, 沈苾, 等. 板蓝根三氯甲烷提取部位抗内毒素作用的“谱效”关系研究[J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(10): 741-744.
- [19] 窦志华, 罗琳, 丁安伟, 等. 复方五仁醇胶囊含药血清指纹图谱与保肝作用的谱效关系[J]. 第四军医大学学报(J Fourth Mil Med Univ), 2008, 29(2): 1615-1620.
- [20] 李鹏, 李祥, 陈建伟, 等. 桃红四物汤干预痛经模型小鼠有效部位的谱效关系研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 144-149.
- [21] 林立, 刘晓秋. 泻白散 HPLC 谱效关系初探[J]. 中国现代中药, 2009, 11(8): 35-37.
- [22] 黄勇, 齐晓岚, 官志忠, 等. 灯盏细辛组分对脑神经细胞损伤保护作用的谱效关系研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(8): 1038-1041.