



本文经编委遴选,英文版将通过 ScienceDirect 全球发行。

从当归补血汤的研究 探讨和分析中药复方共煎的合理性*

□赵奎君 (首都医科大学附属北京友谊医院 北京 100050)
李卓明 陈小莺 董婷霞 詹华强**
(香港科技大学生物系及中药研发中心 香港)

摘要:利用化学和细胞生物学手段,对只有两味药组成的简单复方“当归补血汤”进行了系统研究,在探讨中药复方作用机理的同时,实验结果也证明了传统中药复方共煎的合理性。通过比较共煎、分煎的当归补血汤的化学成分及生物学活性,发现中药复方共煎不仅可以促进有效成分的溶出,而且可以增强免疫活性、补血作用、类雌激素活性、成骨细胞分化活性。共煎促进了复方成分间的相互作用、相互反应,从而产生特殊的活性,体现复方疗效。

关键词:当归补血汤 中药复方 共煎 分煎

传统中药汤剂是体现中药方剂优势特色的主要载体,是中医药辨证施治理论的神韵所在,至今已有数千年的历史。当今中医药现代化呼声甚高,而其中汤剂改革一直是备受关注的热点^[1-4]。以单味中药浓缩颗粒取代传统中药汤剂是学术界较推崇的一种汤剂改革模式^[5-7]。然而,也有传统汤剂的支持者质疑该模式难以保留中药原来的化学成分及疗效,实为有其名而无其质的改革^[10-13]。关于该改革模式的种种争议和辩论,其焦点就在于中药复方“单煎”与“共煎”是否等效。

传统中药方剂用药强调“共煎”。按照中医理论,

“炮制-共煎”的过程中融合中药的七情四性、君臣佐使,从而发挥中药方剂中药物的配伍作用。但是,目前一直欠缺相关的实验数据给予支持。

本课题组多年来致力于仅由黄芪、当归两味药组成的简单复方“当归补血汤”的研究,目的是探讨金元四大家之一李东垣在八百年前所创“当归补血汤”的科学性,从而探讨中药复方现代研究的途径。本课题组利用化学和细胞生物学手段,从化学、细胞分子水平对当归补血汤的生物活性进行了系统研究,通过比较共煎、分煎的当归补血汤其化学成分及生物学活性,发现“共煎”不仅可促进当归补血汤中有效成分溶出,而且可以增强其促免疫功效、补血作用、类雌激素活性及成骨细胞分化活性。“单煎”再重

收稿日期: 2008-08-07

修回日期: 2009-02-18

* 香港特别行政区政府研究基金资助局基础研究计划项目“用蛋白组学研究当归补血汤的作用机理——中药复方的标准化研究”,项目编号 HKUST6419/06M [Research Grants Council, HKSAR, China; Proteomic approach in probing the action mechanism of Danggui Buxue Tang: A sample trial in traditional Chinese medicine standardization; HKUST6419/06M], 负责人: 詹华强; 江苏省方剂研究重点实验室开放课题基金(No. FJK2006011), 负责人: 詹华强。

** 联系人: 詹华强, 教授, 香港科技大学生物系暨中药研发中心主任, 主要研究方向: 中药方剂的作用机理研究, E-mail: botsim@ust.hk。

组的复方,其活性远远达不到“共煎”的效果。

一、共煎合理性在当归补血汤研究中的体现

当归补血汤首见于《内外伤辨惑论·暑伤胃气论》(公元 1247 年),处方由黄芪、当归两味药以 5:1 配伍而成。方中重用黄芪大补元气,以资气血生化之源,符合“有形之血生于无形之气”的理论,又配伍当归养血和营,使阳生阴长,气旺血生,为补气生血的名方。对于气弱血虚之证及妇女行经、产后血虚证有确切的疗效。现代临床将其应用于治疗贫血、更年期综合症等^[14-16]。

我们建立了一系列细胞模型,主要针对当归补血汤补气生血的功效而设。通过测定当归补血汤的免疫调节作用、补血作用、类雌激素作用、促进骨骼细胞生长作用的活性,探讨当归补血汤的作用机理。同时,我们也关注了不同的煎煮方式对当归补血汤有效成分含量和活性的影响,分别考察了“共煎”的当归补血汤及黄芪、当归分别煎煮再按 5:1 混合而成的“分煎”当归补血汤作用的异同。

1. 共煎对当归补血汤化学成分的影响

黄芪甲苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、阿魏酸、藜本内酯是当归补血汤的主要活性成分,是目前当归补血汤的主要质量控制指标。为了分析“共煎”、“分煎”等不同煎煮方式对当归补血汤物质组成及含量的影响^[17],我们比较了共煎的当归补血汤中上述 5 种成分的含量及单煎的黄芪中黄芪甲苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的含量与单煎的当归中阿魏酸、藜本内酯的含量;也比较了共煎的当归补血汤与黄芪、当归分煎后重组的混合物的总黄酮、总皂苷、总多糖有效组分的含量。结果显示,无论是来源于黄芪的黄芪甲苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素,还是来源于当归的阿魏酸、藜本内酯;或者总黄酮、总皂苷、总多糖等有效组分,共煎的当归补血汤的含量均高于单煎的黄芪、当归及“黄芪+当归”分煎后重组的混合物(见图 1)。

可见,在共同煎煮过程中,黄芪和当归的化学成分之间可能因为“助溶”、“增溶”、“吸附”、“沉淀”等作用而改变活性成分的溶出率,而活性成分含量的变化可能直接引起疗效的改变。由此看来,中药复方的共煎过程是一个极复杂的物理化学反应过程,在共煎的作用机制尚未清楚的前提下盲目将复方拆分煎煮,很可能失去了方中各种成分间物理化学反应的条件如催化剂等,必将改变复方的物质基础及其

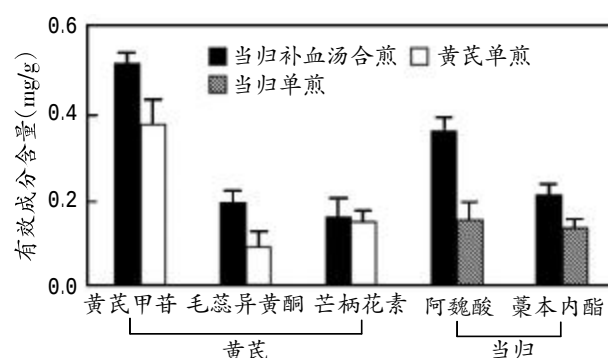


图 1 “共煎”、“分煎”对当归补血汤有效成分含量的影响

含量,继而改变中药复方的治疗效果,应慎而为之。

2. 共煎对当归补血汤生物活性的影响

(1) 共煎增强免疫调节作用。

补脾肺之气,借补气之力使气旺血生,是当归补血汤的组方特色。现代医学研究表明^[18-21],中医概念中的“气”与免疫功能息息相关。因此我们建立了 T-淋巴细胞模型,通过研究免疫调节作用阐明当归补血汤的补气功效。基于 T-淋巴细胞模型,我们从细胞增殖率、细胞外信号调节激酶磷酸化作用和细胞因子的释放三个方面评价“共煎”、“分煎”对当归补血汤免疫活性的影响。

细胞增殖率是评价细胞活性的最直观指标。当归补血汤、黄芪、当归、“黄芪+当归”分煎混合物均显现出显著的升高 T-淋巴细胞增殖率的作用,且呈量效相关。而当归补血汤共煎的细胞增殖活性远远高于“黄芪+当归”分煎,提示当归补血汤共煎可产生更佳的活性效果^[22-23]。

细胞外信号调节激酶 (Extracellular signal-regulated kinase, Erk) 是一种促细胞分裂蛋白酶 (mitogen-activated protein kinase), 是激活 T-淋巴细胞增殖重要的下游生物信号。磷酸化是 Erk 激活的标志。将共煎的当归补血汤加到 T-淋巴细胞中,我们可观察到高于空白对照 8 倍的 Erk 磷酸化信号,而单味的黄芪、当归及“黄芪+当归”分煎后重组的混合物均不能使 Erk 磷酸化,提示共煎当归补血汤有特殊的免疫活性。

对免疫相关的细胞因子 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-13、GM-CSF、IFN- γ 和 TNF- α 的研究结果显示,当归补血汤可显著增加细胞因子 IL-2、IL-6、IL-8、IL-10 的释放。而对于 IL-2、IL-6、IL-10,仅在共煎的条件下,当归补血汤才显现出特殊的活性,黄芪、当归、“黄芪+当归”分煎后重组的混合物均

不能增加其释放量。

(2) 共煎促进红细胞生成素的表达及释放。

“补血”是当归补血汤的主要功效。中医的“补血”功能与促进造血系统的造血作用相关。红细胞生成素(erythropoietin, EPO)是一种特殊的红细胞生成因子,可调节骨髓的造血功能。我们在人肝细胞 Hep-3B 模型上,研究了当归补血汤对 EPO 的表达和分泌的影响,揭示当归补血汤“补血”作用的机理。

研究表明^[24],共煎、分煎的当归补血汤对 EPO 的表达和分泌有截然不同的效果。当归补血汤共煎可增加 EPO 转录 RNA 的量,且呈剂量依赖关系,提示可促进 EPO 的合成和表达;但如果将黄芪、当归分煎,则不能改变 EPO 的转录 RNA 量。一般的非缺氧环境下,EPO 的分泌率较低。但当归补血汤共煎,不论是在一般条件还是缺氧条件下,均可显著提高 EPO 的分泌率;但单煎的黄芪、当归及“黄芪+当归”分煎后重组的混合物与空白对照几乎无明显差异,效果明显差于共煎。

(3) 共煎增强类雌激素活性。

妇女更年期综合症与体内雌激素水平下降密切相关。当归补血汤自古被誉为妇科良方,在现代临床更年期综合症的治疗中应用甚广,我们初步推测与其调节雌激素水平的作用有关。为探讨当归补血汤的类雌激素作用及其作用机理,我们引进了人乳腺癌细胞 MCF-7 细胞株,进行了一系列研究和探索^[25]。

首先我们验证了当归补血汤的类雌激素活性。通过构建带有雌激素反应组件(estrogen response element, ERE)的启动子和荧光素酶基因的质粒,将其转录至细胞中,再检测细胞的荧光素酶的信号来评价当归补血汤的雌激素活性。当归补血汤共煎、“黄芪+当归”分煎后重组的混合物及黄芪药材均可引起雌激素荧光素酶信号的上升,但不会引起细胞增殖率的升高,提示当归补血汤有类雌激素活性,能发挥雌激素作用却不会促进乳腺细胞的增殖。特别值得关注的是,共煎当归补血汤的类雌激素活性强度远高于“黄芪+当归”分煎后重组的混合物的类雌激素作用。

当归补血汤类雌激素活性的作用机理也是我们关注的重点。一般而言,雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α)上的氨基酸片段如 S118、S167 等发生磷酸化,即表示受体 α 被激活,与雌激素或类雌激素

物质结合,从而产生活性。通过研究细胞磷酸化发生的情况,就可了解雌激素作用的原理,试验过程中我们选用雌二醇为阳性对照。比较分析当归补血汤共煎与分煎的 S118、S167 磷酸化时效曲线,共煎当归补血汤从 30min 起磷酸化信号明显,强度随时间增加而升高,而“黄芪+当归”分煎后重组的混合物并未观察到磷酸化信号上升。雌激素受体 α (ER α)的表达可能由下游信号因子 Erk1/2 的激活引起,我们通过研究 Erk1/2 的磷酸化继续深入探讨 ER α 表达的机制。无独有偶,共煎的当归补血汤显现出明显的 Erk1/2 磷酸化信号,而“黄芪+当归”分煎后重组的混合物几乎与空白对照没有差异。

由此可以推断,当归补血汤共煎产生的活性成分组合,可引起 Erk1/2 的激活,继而激活雌激素受体,而产生特殊的类雌激素活性。“黄芪+当归”分煎后重组的混合物观察不到这样的作用。

(4) 共煎对骨骼细胞生物活性的影响。

当归补血汤有特殊的类雌激素活性,对于治疗更年期综合症有良好的效果,而由于其对骨骼细胞的特殊活性,对于治疗更年期的骨质疏松症疗效显著。究竟共煎当归补血汤与“黄芪+当归”分煎后重组的混合物对于骨骼细胞的活性有没有不同的影响?我们通过骨骼细胞增值率、碱性磷酸酶活性、促骨骼生长基因的表达等指标评价了两者的异同^[26]。

在骨骼细胞 MG-63 细胞株上,我们通过 MTT 法研究当归补血汤对 MG-63 细胞增殖率的影响,从而揭示当归补血汤促进骨骼细胞分化的作用。碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的活性是成骨细胞分化成熟的重要标志之一,其活性的高低可反映细胞钙化的能力和向成骨细胞分化的趋势。对比共煎的当归补血汤与“黄芪+当归”分煎后重组的混合物对骨骼细胞 MG-63 细胞株的活性,MTT 和 ALP 的结果都显示共煎对于骨骼细胞的增殖和分化有较好的活性,且呈量效关系。

我们利用基因芯片技术揭示了当归补血汤调节 MG-63 细胞的基因表达情况(见图 2)。共煎的当归补血汤对 883 个基因有调节作用,其中 403 个为特定的当归补血汤调节基因,黄芪、当归均不能对其起调节作用。黄芪调节的 660 个基因中,有 172 个具有黄芪特异性。当归调节的 1062 个基因,473 个具当归特异性。只有 279 个基因可同时被当归补血汤、黄芪、当归调节。由于当归补血汤、黄芪、当归作用的基因

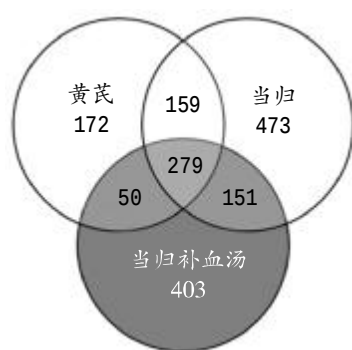


图2 “共煎”、“分煎”当归补血汤对 MG-63 细胞基因表达的影响

有明显不同,其产生的活性会显示出显著的差异。由此我们可更直接地得到“当归补血汤 $\neq$ 黄芪+当归”的结论。

在当归补血汤调节的 883 个基因中,许多是已知的对骨骼细胞生长有重要作用的基因,包括 galectin-9、CCL-8、CCL-7、CCL-2 等。利用 PCR 分析技术,可知 galectin-9、CCL-8、CCL-7、CCL-2 基因的转录编码在共煎当归补血汤给药的细胞中有显著升高,而单煎并不能对这些转录编码的升高产生促进作用。

二、中药复方共煎的思考

1. 当归补血汤共煎的启示

一系列当归补血汤的化学检测、生物活性研究结果显示,中药复方“分煎”和“共煎”并不是“1+1=2”的简单数学关系。对于当归补血汤共煎产生的独特生物效应,我们推测有两种可能^[22-23,25]:一是黄芪当归共煎过程中产生了新的具有特殊生物活性的化学物质,二是共煎使药效物质产生协同作用,从而增强生物活性。为验证我们的推测,我们进行了多番试验,尝试寻找当归补血汤共煎的药效物质基础。虽然迄今为止我们尚未能确定共煎过程中新形成的药效成分,但勿容置疑,黄芪当归的多种活性成分在共煎过程中形成“鸡尾酒”式的协同作用,使共煎的当归补血汤显现出独特的活性和疗效。对此,简单的“黄芪+当归”分煎的效果是无可比拟的。

2. 中药复方共煎的思考

中药复方共煎的理论,是方剂配伍理论研究中的重要组成部分,也属于中药药效物质基础研究的热点范畴,近年引起了广泛的关注和争议。它将“共煎”对中药复方的作用放到一个突出而重要的位置,强调通过“共煎”过程使中药复方中的不同物质充分

反应,从而产生特殊的药效活性。

对中药复方“共煎”、“单煎”的关注,实际上反映了现代中药研究对复方作用的物质基础层面有了更高层次认识 and 了解。过去对中医理论、中药复方的研究局限于单一的成分、部位和作用靶点,往往忽略了它们之间的相互作用。中药复方物质基础的本质是化学成分组合,作用机理的核心是信号分子组合,中医证的本质是信号分子网络紊乱,中药复方是通过化学成分组合影响到信号分子组合,使紊乱的信号分子网络恢复平衡,从而达到治疗中医的证和相关疾病的作用和效果。中药复方的作用是多靶点、多层次的整体调节方式,中药的药理作用和机理是复方中药中众多的有效分子组合对机理生物分子网络进行调节的结果^[27]。因此,复方研究除了关注有效成分、作用部位等,还应该关注成分之间的相互作用,关注复方中各有效物质间的内在联系及靶标分子之间、有效成分与靶标分子间的相互作用关系。这种相互联系的作用,除了反映在体内复杂的吸收、代谢、酶反应等过程,更体现在煎煮过程的不同中药、不同成分间的复杂的物理化学反应。强调复方“共煎”,体现了对中药复方成分相互作用的尊重,也体现了基于现代科学对传统中药煎煮方法的继承和发扬。

“共煎”过程的反应产物,或“共煎”过程形成的不同物质成分间平衡状态的特定比例,均可能产生特殊的活性,从而体现复方的疗效特点。揭开共煎活性物质基础之谜,即可揭开复方共煎之谜。然而,中药化学成分复杂,不同成分有不同的理化性质,中药复方在共煎过程中各种成分之间可能发生多种化学反应,而且各种固有成分的溶出率以及它们在汤液中的比例关系亦会因煎出环境的不同而有变化。因此,谜底的揭开仍有相当长的路要走。

在中药剂改革的过程中,我们既不能对传统顶礼膜拜,自缚手足,也不能妄自菲薄,摒弃传统中的精华。只有借助现代的技术手段,曲中取直,用科学的数据和结果揭示真相,才是可取之道。

参考文献

- 1 王玉芝.中药汤剂改革的思考.中国中药杂志,2001,26(2):134-136.
- 2 丁倩.浅谈中药汤剂改革几种形式.时珍国医国药,2000,11(1):26.
- 3 刘力红.略谈中医现代化与中药汤剂改革.广西中医药,2000,23(4):5-6.
- 4 李秀梅,贾庭强.漫谈中药汤剂改革.黑龙江中医药,1998,5,49-50.
- 5 程心玲,江川.中药汤剂的改革—单味中药浓缩颗粒.福建中医药,

- 2005, 36(2):43~44.
- 6 张福成,郝勇,郭继红.值得尝试的中药汤剂改革—单味中药浓缩颗粒简介. 空军总医院学报,2004,20(2):112~114.
 - 7 诸明娜. 免煎中药配方颗粒与传统中药饮片的比较. 湖北中医杂志, 2004, 26(11):55.
 - 8 原思通,赵曦. 对“单味中药浓缩颗粒”的思考. 中国中药杂志, 1999, 24(9):516.
 - 9 程宏. 发展“免煎中药饮片”需要解决的几个问题. 中药房之窗, 2000, 11(5):8~9.
 - 10 原思通,杜思燕,夏坤. 中药复方汤剂分煎共煎对溶出效果的影响. 中国中医药信息杂志, 1999, 6(7):29~32.
 - 11 张筱霞, 江照云. 中药单煎颗粒剂利与弊的分析. 中医药学刊, 2005, 23(6):1116~1117.
 - 12 张愈东,李志伟. 中药颗粒剂(中药免煎饮片)探讨. 航空航天医药, 2005, 16(2):59.
 - 13 杨金团, 沈国平. 对中药饮片颗粒剂的应用分析与建议. 传统医药, 2003, 12(3):66.
 - 14 魏东,郭少华. 当归补血汤治疗气血虚型崩漏临床观察. 中国社区医师, 2006, 8(150):58~59.
 - 15 张俊贤. 当归补血汤加味治疗营养不良性贫血 30 例. 陕西中医, 2006, 27(11):1368~1369.
 - 16 李春,李桂莲,许瑞玲. 当归补血汤治疗更年期综合征 30 例. 中外健康文摘·医药学刊, 2007, 4(10):114.
 - 17 Dong TT, Zhao KJ, Gao QT, et al. Chemical and Biological Assessment of a Chinese Herbal Decoction Containing Radix Astragali and Radix Angelicae Sinensis: Determination of Drug Ratio in Having Optimized Properties. J. Agric. Food Chem. 2006;54:2767~2774.
 - 18 于赫,孙力. 气虚证的生物化学与分子生物学研究进展. 中医药信息, 2005, 22(5):48~51.
 - 19 张战平,张远炎,姚亚军. 气虚证患者免疫球蛋白和补体水平测定. 成都中医药大学学报, 2000, 23(1):24, 32.
 - 20 潘宇政,陈业强,陈永斌,等. 阴虚、阳虚、气虚证病人免疫功能的变化. 广西医科大学学报, 1999, 16(2):128~130.
 - 21 黄杨,顾星. 中医气虚证诊断客观化研究与探讨. 中医药导报, 2007, 13(4):8~9, 11.
 - 22 GAO Qiu T., CHEUNG Jerry K.H., JUN LI, et al. A Chinese herbal decoction, Danggui Buxue Tang, prepared from Radix Astragali and Radix Angelicae Sinensis stimulates the immune responses. Planta Med. 2006; 72:1227~1231.
 - 23 Qiu T. Gao, Jerry K.H. Cheung, Jun Li, et al. A Chinese herbal decoction, Danggui Buxue Tang, activates extracellular signal-regulated kinase in cultured T-lymphocytes, FEBS Lett. 2007; 581 (26):5087~5093.
 - 24 Q. T. Gao, Jerry K.H. Cheung, Roy C.Y. Choi, et al. A Chinese Herbal Decoction Prepared from Radix Astragali and Radix Angelicae Sinensis Induces the Expression of Erythropoietin in Cultured Hep3B Cells. Planta Med. 2008; 74: 392~395.
 - 25 Qiu T. Gao, Roy C.Y. Choi, Anna W.H. Cheung, et al. Danggui Buxue Tang - A Chinese herbal decoction activates the phosphorylations of extracellular signal-regulated kinase and estrogen receptor α in cultured MCF-7 cells. FEBS Lett. 2007; 581(2):233~240.
 - 26 Roy C.Y. CHOI, Q. T. GAO, Anna W.H. CHEUNG, et al. A Chinese Herbal Decoction, Danggui Buxue Tang, Stimulates Proliferation, Differentiation and Gene Expression of Cultured Osteosarcoma Cells: Genomic Approach to Reveal Specific Gene Activation, Genomics. (submitted).
 - 27 马增春,高月,谭洪玲,等. 用分子中药组学技术研究四物汤补血的作用机理. 世界科学技术-中医药现代化, 2005, 7(3):24~28.

The Rationality of Mixed Preparation of Traditional Herbal Decoction: from the Perspective of Danggui Buxue Tang

Zhao Kuijun

(Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050 China)

Li Zhuoming, Chen Xiaoying, Dong Tingxia, Tsin Wahkeung Karl

(Department of Biology and Center for Chinese Medicine,

Hong Kong University of Science and Technology, Hong kong, China)

Authors try to reveal the rationality of preparing medicinal herbs together in a traditional manner, using Danggui Buxue Tang (DBT) as an example, in an attempt to demonstrate the specific requirements for preparing the two herbs together to achieve the full chemical and biological activity. The mixed preparation enhances the solubility of chemicals, immune activity, blood effects, estrogenic activity, and osteoprotective effects. Evidently, these effects are missing in the extracts derived from a single herb. Furthermore, the interactions between decoction components create a special activity especially enjoyed by Chinese medicine.

Keywords: Danggui Buxue Tang; Chinese medicine decoction; mixed preparation; single herb based preparation

(责任编辑:张志华,责任译审:邹春申)