Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
ELSEVIER
本文经编委遴选,英文版将通过 ScienceDirect 全球发行。

中药复方制剂物质基础研究思路及方法探讨*

□赵晓莉　张新庄　狄留庆**（南京中医药大学中医药研究院　南京　210029）
汪受传（南京中医药大学中医儿科研究所　南京　210029）
蔡宝昌（南京中医药大学江苏省中药炮制研究重点实验室　南京　210029）
杜　秋　单进军　毕肖林　文红梅
（南京中医药大学中医药研究院　南京　210029）

摘　要：中药复方制剂物质基础研究是中药制剂工艺研究的基础，其研究思路与方法是否正确将直接影响中药制剂工艺的合理性与临床疗效。本文综合分析了当前中药制剂物质基础研究思路与方法的特点，探索性的提出中药复方制剂物质基础研究的思路与方法。

关键词：中药复方制剂　物质基础　思路　方法

中药复方制剂是历代医家在长期的医疗实践中形成的中医用药的基本形式。与单纯对抗和补充的药物干预模式不同，它是以中医理论为指导，经辨证后，针对病因病机的关键环节，以中药药性理论为基础，遵循“君臣佐使”，配伍诸药形成“有制之师”，来针对患者的证或病，达到整体综合调节作用。其疗效确实，但其药效物质基础尚不清楚，严重影响中药制剂设计与制备。近年来，随着细胞生物学、分子生物学、计算机科学、现代色谱学等学科及重组受体、基因组学、蛋白组学等生命科学的不断发展以及指纹图谱、高通量筛选、计算机辅助技术在中药复方制剂药效物质基础研究与应用的逐步深入，又逐渐涌现出很多新思路和方法。本文在综述文献研究基础上，结合实验室工作实践，提出中药复方制剂药效物质基础的研究思路。

一、中药复方制剂物质基础研究的思路

思路 1：罗国安[1]认为复方药效物质基础应是广义的化学成分，包括无机成分、有机成分和微量元素，在其研究中应结合化学成分的研究，从药效和作用机理方面来说明中药复方制剂的多靶点、有机整体协同治疗作用。并提出“一个结合、两个基本讲清、三个化学层次、四个药理水平”的理论研究体系，并结合现代科学方法和先进的分析仪器来阐明中药复方制剂作用的物质基础。

思路 2：武孔云[2]等则提出中药复方制剂药效物

收稿日期：2009-04-21
修回日期：2009-08-06
*　国家科技部“863”计划（2003AA2Z3247）：通塞脉微丸的研究与开发，负责人：狄留庆；国家自然基金项目（30873401）：基于代谢组学方法研究通塞脉微丸治疗缺血性中风的机制，负责人：文红梅；江苏省自然基金项目（BK2005150）：通塞脉微丸有效部位群指纹图谱谱效相关性研究，负责人：狄留庆；江苏省“青蓝工程”科技创新团队支持计划：中药复方新型给药系统研究，负责人：狄留庆；南京中医药大学中医儿科重点学科开放课题（EZK2009019）：小儿金宁复方的物质基础研究，负责人：赵晓莉。
**　联系人：狄留庆，教授，博士，主要研究方向：中药制剂新型给药系统适宜性研究，Tel：025-85811071，E-mail：diliuqing928@163.com。

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

质基础的研究方法应与单味中药的药效物质基础的研究方法相同，即在建立中医证候模型的基础上，以功效和主治为判断依据，结合一定的数学方法，逐一排除无效系统中的成分，从而确定复方有效系统。

思路 3：刘建勋[3]等认为中药复方制剂的物质基础是中医证与病相结合的有效成分，其研究思路是在中医药理论与现代医药理论的共同指导下，以临床疗效为基础，建立动物、器官和细胞模型进行深入研究，最终阐明中药的药效物质基础。

思路 4：马增春[4]等认为中药复方制剂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，因而提出中药复方制剂物质基础研究的“分子中药组学”新理论。

思路 5：黄熙[5]等在其“证治药动学”的基础上，认为口服中药复方制剂后，并不是所有的血清中的化学成分都有药理作用和生物活性，只有最后到达病变组织内对疾病起治疗作用的成分才是中药复方制剂的真正有效成分。因此提出了方剂组织药理学新假说。

上述基于复方物质基础研究的不同层面所提出的研究思路都表现出一定的合理性，在相当长的一段时间内对其研究具有一定的指导意义。但是由于中药复方制剂成分和功效的多样性、体内过程的复杂性、与生物机体作用的多层次性，以及对中医理论认识的局限性，因此目前完全阐明中药复方制剂的物质基础尚很困难。

二、中药复方制剂药效物质基础的研究方法

基于上述研究思路，中药复方制剂物质基础的研究方法可分为两大类。第一类是在化学的密切合作下对活性组分进行跟踪分离或富集，进而对其药理作用进行研究，从而寻找到复方的药效物质基础。如化学物质组学、多靶点高通量筛选；第二类是借助于机体对药物的“提取”功能，通过对体液、血液等样品的研究来探讨复方的物质基础。如血清药理学、分子生物色谱法、代谢物组学等。

1. 血清药理学和血清药物化学

自王喜军提出“中药血清药物化学”概念与实施细则以来，该法在中药的研究中得到了不断的完善。该方法的理论基础在于，大多数中药在前处理（如炮制、煎煮等）过程中和口服后经胃酸、消化道腺液、肠内酶、肠内菌群、肝脏酶等一系列的作用中，形成了极为复杂的混合物，而其中只有部分被选择性吸收入人体发挥作用，由此提出了只有入血成分才有可能是真正起治疗作用的药效物质的假说[6]。此法目前成为复方药效物质基础研究的主要方法之一。金慧等[7]研究了大鼠口服葛根芩连汤和各个单方，通过对血浆的 HPLC 指纹谱的比较分析，发现了 31 个入血成分，其中 15 个成分为复方所含成分的原型，13 个为代谢产物，3 个为复方给药后新产生的物质，从而初步确定了复方的药效物质基础。有人[8~9]对经典方—六味地黄丸的血清进行了深入研究，从血中初步分离得到其补肾的药效物质基础，并结合体外实验发现其中的莫诺苷、獐牙菜苷和马钱子苷的作用最为明显，认为是补肾的核心成分。通过对该方的研究可以阐明复方的部分物质基础，这也为后续的研究打下了良好基础。

此法将中药复方制剂及其作用对象有机的结合起来，排除了复方复杂理化性质（如各种电解质、鞣质、pH 值、渗透压等）的干扰，缩小了寻找范围，有利于寻找机体内真正发挥药理作用的药效成分，同时也为复方的二次开发提供了新的方法[10]。但现阶段该方法仍存在一定的不足：目前的检测手段有限，再加上内源性物质的复杂性，并非能检出入血的所有成分，而复方中的微量成分在其药效中又有举足轻重的作用[11]；机体的状态不同，入血的成分质和量亦不同，得到的结果也就不一样。而目前对中医的证候的确定并没有统一的标准，因此得到的结果也只能是反映复方的一个侧面。

2. 中药组合化学法和化学物质组学法

在天然组合化学库理论的启发下，杨奎[12~13]于 1998 年提出了中药复方组合化学研究法。此法是以中药复方天然组合化学库的多靶点作用机理为依据，在中医药理论的指导下，采用反映方剂主治病证的药理学指标，在对中药中成分结构类型进行分类建库的基础上，通过生物活性筛选的手段直接从个别库中“钓”取有活性的化合物，或通过类似于亲和层析的方法直接从库中吸附有相互作用的化合物，再分别测定其结构和生物活性，经过分析和归纳，最终阐明复方作用的物质基础[10]。在此法的基础上，结合系统生物学理论，罗国安[14]提出了化学物质组学研究法，并将其成功应用于清开灵复方的研究中，研究了该复方的整体化学物质组，并将其分为 9 个子化

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

学物质组。在此基础上,将化学信息矩阵和由多参数药理指标构成的相关活性信息矩阵结合，采用非线性交互作用的组效学研究法从子化学物质组中辨识出有效化学物质组，最后确定清开灵治疗脑缺血损伤的子化学物质组为 4 类有效组分即胆酸类、黄芩苷类、栀子环烯醚萜类、珍珠母提取物等。

该法可以简化方剂分子的多样性，开发精简方剂,是一种既体现整体观,又强调辨证分析的方法,是中药现代化的又一种研究方法。但该技术刚起步,其规范化技术和方法尚未建立，有待今后深入系统的分析研究。同时,在重新组方时,是基于现代的医学理论，如何用中医理论来指导其组方仍将是一个难点。

3. 多靶点高通量筛选法

中药复方制剂作用的多成分、多靶点的整合调节效应的特点是得到大家的普遍认同的。这种整合作用可能是多靶点生物效应的累加,也可能是多环节、多靶点的有机连锁效应；可能是药效物质对靶点的直接作用，也可能是药效物质通过改变机体的化学环境来影响靶点的生物性能[15]。结合计算机学科,在配体-靶点理论的基础上提出了多靶点高通量筛选法[10],并将其应用到中药药效物质作用靶点分析或有效成分的筛选的过程中。此法是从细胞、分子、酶、基因等层次来揭示中药复方制剂的效应物质基础及作用机理。其中生物芯片技术在复方物质基础研究中应用比较广泛，通过研究不同组方中药影响的重要基因群,分析相关基因,优化靶点,最终用于开发新药[16~17],并从服药后症状的改善,再结合体内组织学和生物化学改变与基因功能的关系来探索中药及复方中发挥作用的物质基础。

应用多靶点高通量筛选技术的前提是确定靶点,并能确定其与相应疗效之间的关系[18]。而中药复方制剂所针对的是中医的“证”,目前从现代科学方面还无法完全揭示中医“证”的内涵,因此也就无法确定符合中医理论的靶标。不过,此法为今后中药及复方的现代化发展拓宽了思路，对经典复方的研究同样也有助于中医“证”的诠释。

4. 分子生物色谱法

基于现代分子生物学的理论,认为中药是通过成分与体内的神经递质、酶、受体作用来调节生命体的活动,从而使体内环境与体外环境达到协调统一。为此,在结合药物化学的基础上,提出了分子生物色谱法。该方法是基于生物大分子的特异性识别来分离和测定活性化合物，主要包括固定血清蛋白生物色谱、固定生物膜色谱以及微量渗析-HPLC 技术等[9]。如邹汉法等[19]以血浆中两种主要的载体蛋白(人血清白蛋白和 α-酸性糖蛋白)为固定相,对几种常用中药进行了分析,结果表明当归中的阿魏酸、藁本内酯,茵陈中的茵陈色原酮、滨蒿内酯等已知有效成分均在分子生物色谱中有明确的保留。

分子生物色谱技术不仅可研究复方效应物质基础,还有助于阐释药物的吸收、排泄、代谢、活性、毒副作用及体内转化[20]。同时,此法可用粗提液直接进样,简便快速,重现性好。因此在中药复方制剂物质基础研究中具有巨大的应用潜力。

5. 谱效学研究

谱效关系是建立在指纹图谱的研究之上。其具体的研究过程分以下几步：首先建立生物体的状态数学函数模型及其与中医宏观“证”所表述的宏观指标、与生物体各平衡和动物模型的关系;其次根据与中医“证”相一致的状态函数所要求的效应体及对应的微观物质本体的齿合关系，设计出效应体靶向分离固定相,再按亲和色谱分离,并用 LC/MS 或效应检测器,制得指纹图谱;然后按照比较前后药物在血药浓度都为零时受试对象效应指标的变化的方法来研究指纹谱与生物体状态函数(中医“证”宏观生物指标)关系,从而揭示中药复方制剂的药效物质基础[21]。宁黎丽[22]等对吴茱萸汤药效物质基础进行研究,通过谱效相关分析发现，图谱的 4、9、10、12 号峰的化学成分(9 号确定为吴茱萸次碱)对给定的药理指标呈正相关,说明这些物质是该方的主要药效物质。

此法以指纹谱的研究为基础,以效应及效应体学为主要内容，以生物体状态函数及与其相关的中医“证”为突破口,在化学指纹谱的基础上更进一层。然而该法目前尚无具体的研究思路,尚处在起步阶段,在复方物质基础的研究中尚需进一步探索。

6. 代谢物组学法

中药是由多种有效成分系统干预人体代谢网络来发挥作用的，具有在系统水平上多靶点干预的特点。因此在结合系统生物学及生物学等知识的基础上，提出了具有反应整体思想的代谢组学来研究中药复方制剂，通过对能反映对生物机体有影响的所有因素的代谢物组的谱的变化的分析，来确定起治疗作用的物质基础。所谓的“代谢物组”是指生物体

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

内小分子代谢物的总和，为基因表达和代谢形成的中间产物和最终产物[23]。该法不仅研究药物本身的代谢变化，更重要的是研究药物引起的内源性代谢物的全局和系统性变化，从而可以更直接反映体内生物化学过程和状态的整体变化[24]，这也正符合了中医的调节机体阴阳使其达到平衡的治病原则。黄玉荣[25]等应用代谢物组学的方法对由钩藤等多味中药组成的多动合剂的生物化学机制进行研究，采用 HPLC 测定给药动物血清中多种内源性神经递质（Ach，DA，NE，5-TH 等）的动态变化。从代谢物组成分和含量的经时变化发现具有疗效的生物标志物，认为药物的整体作用产生的生物化学物质是其药效的物质基础。

三、中药复方制剂物质基础研究的新思路

中药复方制剂的主治病证常涉及到现代医学的多种疾病，其功效内涵也涉及到多方面药理作用，要系统、全面阐明复方效应物质基础在目前仍有相当困难。我们在承担国家 863 计划“通塞脉微丸研制与开发”研究过程中提出在病证结合的基础上，建立针对“有限适应证”的复方主要药效物质基础的思路。认为复方主要物质基础存在于与生物机体作用后的成分中，采用现代仪器对含药血清和组织器官进行分析，并结合指纹图谱知识，对体内成分的代谢产物进行分离和分析，确定入体成分，在此基础上，再通过药效学实验最终确定复方制剂的主要物质基础。其具体的研究内容包括：（1）依据中医药理论，选取复方的主治病证，再结合现代医学对该功效的研究，选择多种与此相关的动物模型及相应的评价指标，（2）根据生物体对外源系统（中药复方制剂）的作用功能，包括胃肠道的转化和体内组织器官的代谢，采用指纹图谱技术对生物样品进行处理，并分析化学指纹谱与功能指纹谱之间的相互关系，初步确定出复方主要药效物质基础。其方法为：第一步，利用在体的肠灌流实验和离体的分子生物色谱法，研究复方经不同状态的机体吸收前后成分质和量的变化，并建立起吸收指纹谱，其中那些吸收前后变化的成分可能是复方中潜在的活性成分；第二步，采用血清药理学和血清药物化学的方法研究口服复方后血浆中成分质和量，建立药物血清指纹谱，并明确入血成分的归属；第三步，由于药物作用效果的好坏与靶部位成分的质和量有密切的关系，故根据现代医学研究的结果，选取相应的靶部位，取相应部位的体液或组织进行靶部位指纹图谱的比较分析。收集上述不同层面的数据后，采用统计学分析方法对其化学指纹谱、吸收指纹谱、血清指纹谱和靶部位指纹谱的数据进行分析，探讨各谱之间的相互关系，从而最终确定复方的主要药效物质基础。

四、结　语

以临床疗效为依据，中药复方制剂的主要功效和配伍理论为前提，选用恰当的药理模型，利用多种新兴技术，对中药复方制剂的物质基础进行探索，并在此基础上，结合基因组学、蛋白组学进行了作用机制的研究。但就现状而言，目前对中药复方制剂物质基础的研究还局限于针对某一现代的“病”的物质基础，而复方所针对的“证候”是多种“病”的内在本质的综合体现，因此所得到的药效物质基础只能是复方药效物质基础中的很小的一部分，并不能完全反映复方的全部。近年来结合系统生物学提出的整合化学物质组学的整体系统生物学就是从中医的整体性出发，通过研究中药复方制剂与人体复杂系统之间的“系统-系统”相互作用，可以将“证候-理法-复方-疗效”四者有机的结合，从而能够更完整、系统、深刻的理解和揭示中药复方制剂的药效物质基础和作用机理[26]。

中药复方制剂物质基础的研究表明，深入开展中医药理论的基础科学研究对揭示中药复方制剂物质基础，制定合理的制剂工艺，确保中药制剂临床疗效具有极其重要的意义。

参考文献

1 罗国安，王义明. 中药复方的化学研究体系. 世界科学技术-中药现代，1999，1:16~19.

2 武孔云，梁光义，靳凤云，等. 中药复方药效物质基础研究的思路及方法. 世界科学技术-中医药现代化，2003，5(6):13~15.

3 刘建勋，任钧国. 中药复方作用物质基础研究探讨. 中药研究与信息，2004，6(12):8~11.

4 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.

5 唐文富，万美华，黄熙. 方剂组织药理学新假说. 中草药，2005，36(1):1~3.

6 王喜军. 中药血清药物化学的研究动态及发展趋势. 中国中药杂志，2006，31(10):987~297.

7 金慧，王彦，阎超. 葛根芩连汤入血成分的归属. 中国中药杂志，2008，33(22):2687~2691.

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

8 孙晖,张宁,李丽静,等. 六味地黄丸主要血中移行成分对培养大鼠成骨细胞促增殖作用的研究.中国中药杂志, 2008, 33(17):2161~2163.
9 王喜军,张宁,孙晖,等. 六味地黄丸血中移行成分对氢化可的松致大鼠肾虚动物模型的保护作用. 中国实验方剂学杂志, 2008,14(2):33~37.
10 郭立民,王长云,顾谦群,等. 中药复方效应物质基础研究方法及其发展趋势.中成药, 2007, 29(1):118~121.
11 曹治权. 中药药效的物质基础和作用机理研究新思路. 上海中医药大学学报, 2000, 14(1):63~93.
12 杨奎,郭力,周明眉. 中药复方组合化学研究方法初探. 中药药理与临床, 1998, 14(3):42~44.
13 张忠勇,郑晓珂,毕跃峰,等. 中药复方药效物质基础研究进展. 世界科学技术-中药现代化, 2001, 3(5):37~40.
14 罗国安,梁琼麟,张荣利,等. 化学物质组学与中药方剂研究-兼析清开灵复方物质基础研究. 世界科学技术—中医药现代化, 2006,8(1):6~15.
15 李澎涛,乔延江,王永炎,等. 对中药复方研究的思考. 北京中医药大学学报, 1999, 22(5):15~18.
16 刘文泰,李丽华,戴军. 生物芯片技术与中药作用机制研究的思路与方法. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(11):845~847.
17 王忠,刘建勋,张伯礼,等. 生物芯片、生物信息学与高通量中药活性筛选. 中国中药杂志, 2003, 28(7):686~688.
18 王米渠,吴斌,袁世宏,等. 试谈复方药物的分子机制研究. 现代中西医结合杂志, 2003, 12(5):449~450.
19 邹汉法,孔亮,汪海林,等. 以人血清白蛋白为固定相的分子生物色谱分析几种中药活性成分的研究. 高等学校化学学报, 2000, 21(1):36~40.
20 张志琪,张延妮,田振军. 药物筛选模型和技术及其在中药活性成分研究中的应用.中国中药杂志, 2003, 28(10):907~910.
21 贺福元,罗杰芙,刘文龙.中药谱效学研究方向方法初探. 世界科学技术-中医药现代化, 2004, 6(6):44~50.
22 宁黎丽,毕开顺,王瑞,等. 吴茱萸汤药效物质基础的方法学研究. 药学学报, 2000, 35(2):131~134.
23 刘昌孝. 系统生物学与中药现代研究. 天津中医药大学学报, 2006, 25(4):191~194.
24 刘昌孝. 代谢物组学在中药现代研究中的意义. 中草药, 2004, 35(6):10.6~50.6.
25 黄玉荣,魏广力,龙红,等. 钩藤多动合剂的药效作用及用代谢物组学方法研究其生化机制. 中草药, 2005, 36(3):398~402.
26 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. 世界科学技术-中医药现代化, 2007, 9(1):10~15.

Exploration of Thoughts and Methods in Study on Material base of Traditional Chinese Medicinal Herbs Prescriptions

Zhao Xiaoli[1], Zhang Xinzhuang[1], Di Liuqing[1], Wang Shouchuan[2], Cai Baochang[3], Du Qiu[1], Shan Jinjun[1], Bi Xiaolin[1], Wen Hongmei[1]

(1.Institute of Chinese Medicine and Pharmacology, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)
(2.Department of Pediatrics, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)
(3.Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract: The study on the material basis of compound preparation lays a foundation for the development of preparation techniques for traditional Chinese medicine (TCM), and the study ideas and methods directly influence the rationality and clinical efficacy of these techniques. This paper gives a general review on the current characteristics of the study ideas and methods, and presents some new ideas and methods for the study on the material basis of TCM compound preparation.

Keywords: Traditional Chinese Herbs Prescriptions; Material base; thoughts; methods

(责任编辑:王 瑀,责任译审:张立崴)

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn