

方剂配伍影响复方化学成分的研究进展*

□杨 亚 肖盛元**

(北京理工大学生命学院 北京 100081)

摘 要:目的:了解中药复方在煎煮过程中化学成分相互作用的研究现状。方法:查阅近期的相关研究文献,通过对其中部分研究成果进行归类,总结中药复方配伍在煎煮过程中化学成分之间的相互影响,及其研究方法。结果:目前采用的研究方法主要包括:植物化学方法、色谱分析方法、质谱分析方法、色谱质谱分析方法等。与单味药材煎煮(单煎)相比,合煎(复方煎剂)的化学成分发生的变化,总结起来包括有以下4个方面:(1)复方汤剂的化学成分与药材单煎的汤剂基本保持一致;(2)复方汤剂的某些化学成分与药材单煎的汤剂相比含量升高;(3)复方汤剂的某些化学成分与药材单煎的汤剂相比含量降低;(4)复方汤剂的化学成分在煎煮过程中发生化学成分转化,产生新的物质。结论:方剂配伍对复方的化学成分确实存在一定的影响,导致复方汤剂中化学组分的含量,或种类的变化,这种变化可能是中药复方配伍的协同作用的物质基础之一。目前,进行方剂配伍的化学机制的研究还不够系统,方法还不够完善,采用色谱质谱联用技术,对方剂配伍和单味药材进行全成分比较,可能是研究方剂配伍的化学机制的有效方法之一。

关键词:中药复方 配伍 煎煮过程

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.05.006

中药是以中医学理论指导下应用的药物,具有其独特的理论体系和应用形式。中药复方(或称中药方剂)是中医临床用药的主要形式。来源于长期的医疗实践,具有深刻的科学内涵和临床价值。中药复方讲究“君臣佐使,协同作用”的配伍原则,强调用药的系统性和整体作用,中药复方配伍所展示的独特疗效是多组分协同作用的结果。复方中的化学成分是

中药发挥药效作用的物质基础,复方化学成分的研究是中医药现代化研究的主要内容之一。

由于不同药材中的化学成分在煎煮过程中可能存在助溶、挥发、水解、氧化、产生沉淀等物理或化学的相互作用,使原有的某些成分溶出增加,或者减少,甚至消失,或是产生新的化合物,化学成分可能会发生一定变化,从而使配伍表现出减毒、增效甚至产生单味药不具备的药理活性。煎煮过程对中药复方的临床应用和药效发挥有重要作用,复方配伍在

收稿日期:2010-01-26

修回日期:2010-03-17

* 北京理工大学教育专项基础研究项目(20091624014):人血清白蛋白非酶糖基化反应动态模式的研究,负责人:肖盛元;科学技术部国家科技支撑计划项目(2007BAI38B03-06):人参、五味子等大宗药材炮制加工新工艺研究及系列功能产品开发——人参炮制组织切片 pH 成像装置的研制,负责人:肖盛元。

** 联系人:肖盛元,副教授,研究生导师,主要研究方向:生物药学,Tel:010-68914607,E-mail:xiaoshy@tsinghua.edu.cn。

煎煮过程中化学成分变化的影响,可能是复方配伍协同发挥疗效的物质基础之一。

本文收集了近年来国内中药配伍煎煮过程的化学成分变化方面的主要研究文献,对其中关于配伍在煎煮过程中化学成分与单味药材化学成分之间的变化关系的研究结果,及其所采用的研究方法进行了分析比较。以期对中药配伍煎煮过程中化学协同现象获得进一步的认识,为研究中药煎煮过程中的化学协同作用提供依据。

一、复方中的化学成分研究

与单味药材煎煮(单煎)相比,合煎(复方煎剂)的化学成分发生的变化,总结起来包括有以下4个方面:

1. 复方煎剂的化学成分与药材单煎基本保持一致

吴昭晖^[1]应用反相高效液相色谱法测定麻黄汤各配伍组合的水煎液中苦杏仁苷的含量,结果表明,麻黄、桂枝、甘草对苦杏仁苷的影响无显著性差异,与杏仁单煎相比,复方中苦杏仁苷含量变化不大。

谭洪根等^[2]应用硅胶柱层析、聚酰胺柱层析结合薄层鉴别法对芍药甘草汤进行了研究,从中分离得到苯甲酸、芒柄花素、异甘草苷元、甘草苷元、4,7-二羟基黄酮、芒柄花苷、甘草苷、没食子酸、芍药苷、异甘草苷和甘草酸共11个化合物,未发现新的化合物。

涂瑶生等^[3]采用同批药材分别制备了单煎和合煎的三利降脂颗粒(由大黄、草决明、半边莲、蒲黄、泽泻、丹参、瓜蒌组成),对其脂溶性成分、有机酸类、生物碱类成分进行了薄层层析定性鉴别,结果显示,这些成分在两种颗粒中没有明显差异。采用硅胶G薄层层析,进行单波长扫描,用外标法计算峰面积,对两种颗粒中的原儿茶醛及大黄素成分进行了定量测定,结果显示,二者在合煎颗粒中的含量略高,但差异无显著性。

王燕生等^[4]从四君子汤(由党参、茯苓、白术和甘草四味药组成)复方和单味白术的水煎剂中分得苍术醚、苍术内酯、羟基苍术内酯和脱水羟基苍术内酯等多种化合物,并用薄层层析和紫外、红外等多种分析手段对四君子汤中的白术主要活性成分进行了考查,结果表明,四君子汤煎剂中白术主要成分与单味白术相比没有发生变化。

2. 复方中某些化学成分在配伍后含量升高

曾惠芳等^[5]采用分光光度法和薄层色谱法对虎杖单煎及复方共煎过程中的物理化学变化进行了研究,结果发现,虎杖分别与槲木、甘草合煎,其有效成分蒽醌煎出量较虎杖单煎高。作者推断槲木、甘草含有丰富的皂苷可能对蒽醌类的溶出有增溶作用,使蒽醌类含量在配伍后升高。李川等^[6]采用分光光度法研究了4种煅石决明及其生品对决明子煎液中的蒽醌煎出率的影响。发现决明子与石决明配伍后,蒽醌煎出率显著提高;且煅石决明的助溶作用优于生品。郭戊等^[7]采用薄层色谱扫描-吸光度比例系数校正法对当归中的磷脂组分进行了探讨,研究了当归承气汤中磷脂对大黄中蒽醌溶出率的影响,结果表明,加大当归用量,汤液中磷脂含量随之升高,大黄总蒽醌的溶出也随之增大。许益民^[8]用麻黄、银花、当归组方,研究发现当归中的磷脂也可以增加麻黄碱、绿原酸的煎出率。分析磷脂的增溶作用,可能在于其结构中具有极性磷酸基和非极性磷酸基,是天然表面活性剂。

苏子仁等^[9]对补骨脂复方煎剂研究发现,与大枣、黄芪、菟丝子、白芍、丹参、当归合煎,可以显著提高补骨脂有效成份的煎出。这是由于中药复方大多含有磷脂、皂苷、高级脂肪醇、甾醇等两亲性物,在共煎中均有可能形成胶团,增加药物有效成份的溶出。苏子仁等^[10]研究发现,在骨康方(由补骨脂、淫羊藿、当归、白芍、黄芪、丹参等组成)中,补骨脂与丹参配伍共煎,对补骨脂素、异补骨脂素均有显著的增溶作用。推测这是由于丹参中的丹参酮在90℃的水中可分解成各种烷烃、高级脂肪醇、甾醇等^[11],一方面该反应产物已经没有原来的药效作用,但另一方面分解产物高级醇、甾醇与磷脂共同组成胶团,在药物共煎液中可以发挥增溶作用,促进其他有效成分的煎出率。

张宇等^[12]在研究四逆汤(由附子、甘草、干姜3味药组成)时,采用薄层层析结合离子对萃取-分光光度法对附子与干姜及3味药配伍前后主要有效成分进行了定性与定量分析。结果表明,附子与干姜配伍及3味药配伍时,乌头碱类生物碱含量升高。王勇等^[13]利用电喷雾质谱分析和比较生附子及其复方中药煎煮液中二萜类生物碱的变化规律。研究结果发现,生附子单煎煮及与甘草共煎后,双酯型乌头生物碱大部分发生水解;而生附子与半夏或五味子共煎,生物碱水解受抑制。生附子和甘草单煎液的酸性远

低于半夏或五味子单煎液,乌头碱在酸性条件下不水解。说明酸性是影响乌头碱类双酯型生物碱水解的重要因素,强酸条件下(与半夏或五味子配伍时)其水解受抑制,从而使其含量相对升高,增加附子煎煮液的毒性。

袁久荣等^[14]采用多种分析方法测定了四物汤(由当归、地黄、赤芍和川芎组成)各药单煎、分煎和合煎液中的阿魏酸、8种微量元素、17种氨基酸及水溶性煎出物的含量,并测定了紫外谱吸收峰位值。结果表明,在加热条件下合煎时,各成分间具有增溶效应。

对生脉散的研究^[15]表明,共煎过程中原来是微量成分的人参皂苷 Rg3、Rh1 等转化为主要成分,含量明显增加。由此推测在加热煎煮过程中发生了人参皂苷的水解转化,使原来单味药中某些微量成分成为复方的主要成分。

在应用高效液相色谱法考察了六味地黄汤(由熟地、山茱萸、山药、丹皮、泽泻、茯苓组成)煎煮过程中对马钱素煎出率的影响,证明了六味地黄汤不同配伍煎煮时对马钱素煎出率有影响,其中丹皮与山茱萸合煎时,能使马钱素的煎出量增加^[16-17]。

3. 复方中某些化学成分在配伍后含量降低

吴昭晖^[1]应用反相高效液相色谱法测定麻黄汤各配伍组合水煎液中甘草酸的含量,结果表明,麻黄、桂枝、苦杏仁能显著降低汤剂中甘草酸的含量。

曾惠芳等^[5]采用分光光度法和薄层色谱法对虎杖单煎及复方共煎过程中的物理化学变化进行了研究,结果发现虎杖分别与五味子、山楂合煎,其有效成分蒽醌煎出量均较虎杖单煎低。

张宇等^[12]在研究四逆汤(由附子、甘草、干姜3味药组成)时,采用薄层层析结合离子对萃取-分光光度法对附子与甘草配伍前后主要有效成分进行了定性与定量分析。结果表明,附子与甘草配伍时,乌头碱含量降低。研究者^[18-21]采用不同方法都得到了同样的结果。

何桂霞等^[22]用薄层扫描法测定了芍药汤中黄连、大黄、黄芩的有效成分在不同配伍情况下煎液中的含量,结果大黄、黄芩、甘草使黄连中小檗碱含量明显降低,尤以大黄配黄连煎液中小檗碱含量降低最为严重。涂瑶生等^[23]采用薄层色谱扫描法对清胃散(由当归、黄连、生地、牡丹皮、升麻5味中药组成)单煎液与合煎液中黄连的有效成分盐酸小檗碱的含量进行了考察,结果表明,合煎液中小檗碱的含量明显

减低。研究者^[24-25]对白头翁汤进行了研究,结果发现汤剂中小檗碱、七叶树碱、七叶树内酯含量较相应的单味药中的含量降低。黄连配伍白头翁后,小檗碱含量下降最为明显;白头翁、黄连、黄柏分别与秦皮配伍后,汤剂中七叶树内酯含量下降。影响大小顺序为白头翁>黄连>黄柏。白头翁汤合煎液中七叶树内酯含量下降26.37%,小檗碱下降46.45%,二者含量的降低,并不符合各单味药作用的相加。黄连与方中各味药配伍煎煮,均会产生含小檗碱的沉淀,推测可能是配伍后某些化学成分的存在,使小檗碱的溶解度降低而析出。王浴铭等^[26]采用薄层扫描法研究发现,黄连与吴茱萸配伍后,煎液中小檗碱含量较黄连单煎液下降,且有沉淀产生,沉淀物经TLC检识及其化学组成的探讨,发现黄连中小檗碱与吴茱萸中的黄酮类成分产生沉淀。梅全喜等^[27]对含黄连的泻心汤类方剂进行了研究,结果发现复方中同时含有大黄或甘草时,煎液中小檗碱的强烈苦味消失,不含大黄或甘草的煎液有强烈苦味,原因是大黄或甘草存在时小檗碱与大黄鞣质或甘草酸结合生成了难溶性沉淀物,从而使小檗碱含量降低。

徐艳春等^[28]采用高效液相色谱法对黄连与吴茱萸配伍后吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量进行了测定,结果发现配伍后两种生物碱的含量均有不同程度的下降。潘浪胜等^[29]按照黄连和吴茱萸药材先分煎,然后再用分煎液配伍的思路,来研究配伍后主要组分的含量变化规律,二者按不同比例配伍,在100℃下加热1h,在优化的RP-HPLC条件下进行分析,比较色谱指纹图谱,考察主要组分相对峰面积变化和配伍比例之间的关系。结果发现黄连水煎液和吴茱萸水煎液配伍后色谱峰具有加和性,未见新峰产生,吴茱萸中主要组分的相对峰面积未见明显变化,黄连生物碱的相对峰面积随吴茱萸水煎液配比的增加呈线性下降,说明吴茱萸组分存在时,使黄连生物碱溶解度下降,含量降低。

黄熙等^[30]用液相色谱-质谱联用仪和高效液相色谱仪研究了不同煎煮方法所得川芎单煎液和川芎配伍赤芍的合煎液对阿魏酸含量的影响,结果发现川芎与赤芍合煎中阿魏酸含量显著低于川芎单煎液中阿魏酸含量。

吴嘉瑞等^[31]应用薄层扫描法对不同比例人参与莱菔子配伍后人参主要指标性成分人参皂苷 Rg1 的含量进行了测定,并对其煎出量变化进行了初步分

析,实验结果表明,与单煎组比较,不同比例人参参与莱菔子配伍组合中人参皂苷 Rgl 的煎出量均有所减少。

容蓉等^[32]采用 RP-HPLC 对考察了四物汤中白芍与其它各单味药排列组合构成的 8 种样本药物中苯甲酸煎出量的变化,结果显示,四物汤各药合煎提取液的苯甲酸含量明显低于白芍单煎液提取物中苯甲酸的含量。

魏凤环等^[33]应用 GC-MS 法研究了配伍对麻黄汤(由麻黄、桂枝、杏仁、甘草组成)中桂皮醛含量的影响,通过比较麻黄、杏仁、甘草及两两相互作用对桂皮醛含量的影响,发现麻黄汤全方煎液中桂皮醛的含量明显低于其他各配伍组煎液中桂皮醛的含量,且麻黄、杏仁对配方中桂皮醛含量下降影响显著,而甘草及两两相互作用对配方中桂皮醛含量影响不明显。统计结果显示,麻黄、杏仁能显著降低桂皮醛的含量。

谢跃生等^[47]在应用高效液相色谱法考察了六味地黄汤(由熟地、山茱萸、山药、丹皮、泽泻、茯苓组成)煎煮过程中对马钱素煎出率的影响,证明了六味地黄汤不同配伍煎煮时对马钱素煎出率有影响,其中,山茱萸与丹皮配伍,马钱素溶出显著增加(22%),而与山药熟地配伍时,马钱素的溶出增加(2%),而增加泽泻和茯苓后马钱素溶出降低的效应非常显著,全方合煎时使马钱素的煎出率显著下降,达到 26%。研究没有讨论山茱萸加泽泻、茯苓的配伍对马钱素溶出的影响。

钟立贤等^[34]在研究小青龙汤的过程中,测定了各药浓煎剂、单煎混合及混煎液中麻黄碱的含量。结果显示,合煎液中麻黄碱含量最低,作者推测这是由于甘草酸与麻黄碱作用产生沉淀所致。

4. 复方中化学成分在配伍过程中发生化学成分转化

肖盛元等^[35]利用色谱二级质谱数据,从干姜水煎煮液中鉴定了 18 个二芳基庚烷类化合物,通过对比干姜水煎煮液和附子、干姜、甘草配伍后水煎煮液中二芳基庚烷类化合物 HPLC-MS 提取离子流色谱图发现,采用配伍/饮片对应的化学成分的积分面积比值(四逆汤中的积分面积比干姜中的积分面积)考察配伍对二芳基庚烷类化合物的影响,从色谱保留行为、质谱数据等推测某些化合物的差向异构体在复方煎煮过程中发生了显著的立体选择性反应,由外

消旋体变成了单一旋光异构体,并从这些化合物的结构特征推测,吡喃环 C4-位手性碳原子上的羟基乙酰化可能是减少这种反应的关键因素。

研究者^[36-38]根据传统中药复方,选取具有代表性的药材分别与苦参配伍,用水煎提取后,比较配伍前后苦参碱和氧化苦参碱含量变化,发现中药复方配伍后,氧化苦参碱含量降低,而苦参碱含量升高。说明苦参入药后苦参碱和氧化苦参碱之间存在相互转化。崔健等^[39]采用薄层扫描法研究了山豆根主要化学成分苦参碱和氧化苦参碱在复方中化学成分的变化,结果表明,山豆根分别与丹参、木蝴蝶、黄柏、玄参等配伍合煎时,氧化苦参碱含量随时间的延长而减少直至消失;苦参碱含量增加。作者认为这是因为氧化苦参碱的结构中含有 N-O 配位键,与含羟基、醛基、双键等基团的化合物合煎(加热条件下)时,会被还原为苦参碱。艾云^[40]采用高效液相色谱法,在定量研究氧化苦参碱向苦参碱的转化过程的同时,分析其他化学成分的变化。研究结果表明,苦参与蛇床子配伍过程中有新成分产生及某些成分的消失,经核磁共振谱和色谱保留时间及紫外吸收研究共煎时新产生的成分和蛇床子中消失的成分,大致判断为氧化还原反应(氧化苦参碱作为氧化剂被还原成苦参碱作为已知半反应)的另一个半反应。作者认为这是证明在中药复方中有氧化还原反应发生的完整证据。

魏其才等^[41]采用络合滴定法对甘草与生石膏配伍煎煮前后,煎液中钙盐含量的变化进行了考察,结果表明,配伍后生石膏中硫酸钙煎出量有所下降,但煎液中钙盐总量仍略有升高,可能由于甘草酸类成分与钙离子结合生成不溶性钙盐,在甘草单煎液中可测出部分可溶性钙盐。研究认为石膏清热之功在于钙离子,麻杏石甘汤清热的物质基础可能与其中的微量元素同有机成分的协同作用有关,即石膏的主要无机元素钙、铁、锰、锌等与麻黄碱、甘草酸、杏仁苷形成络合物。

苏子仁等^[42]在利用 GC-MS 法研究大黄提取精制工艺的过程中,发现大黄素在煎煮过程中发生开环等一系列化学反应,推测这些反应与大黄素在水中发挥醌类递氢体作用,催化自身氧化还原反应有关。

罗尚凤等^[43-44]采用 GC-MS 法以白术中有效化学成分苍术酮、苍术内酯、羟基苍术内酯和脱水羟基苍术内酯为标准,对白术在炮制、组方等不同状况下这 4 种成分的含量和变化进行了研究,结果发现在炮制

时,白术中的苍术酮氧化生成苍术内酯和羟基苍术内酯;而在与枳实组方时,苍术内酯和羟基苍术内酯又可还原成苍术酮。

有关学者^[45-46]对生脉散(由人参、麦冬、五味子3味药组成)煎煮前后的化学成分进行了研究,发现单味人参、麦冬、五味子在煎煮前均不含5-羟甲基-2-糠醛(5-HMF),单味五味子水煎后能产生少量的5-HMF,人参、麦冬与五味子配伍的水煎液中5-HMF的含量显著增高,由此推断5-HMF的形成可能与五味子的酸性有关。朱丹妮等^[45]进一步探讨5-HMF在生脉散各配伍组中的含量变化,用高效液相色谱法测定了不同配伍组中5-HMF的含量,并测定了不同煎煮时间、煎煮次数及不同比例的麦冬与五味子配伍对5-HMF含量的影响。结果表明,5-HMF是麦冬与五味子共煎过程中生成的,含量随麦冬的增加而增加,以煎煮1.5h为最高,且前两次煎煮即可提取完全。据此分析生脉散中5-HMF产生和变化机理:麦冬在与五味子共煎时(酸性条件下),麦冬中所含的糖降解生成了5-HMF。

二、中药复方配伍煎煮过程中化学成分相互影响的研究方法

中药复方化学成分的研究目前处于多方法、多途径的探索阶段,现代科学的高速发展为中药复方的化学成分和体内成分的研究提供了简便、快速、高效的技术手段。

对于中药复方化学成分的现代研究,主要有两大类。其一,是药理活性筛选结合分离纯化、结构鉴定的方法,此处简称植物化学法。其二,是以化学分析为基础的定性、定量分析法。比较常用的包括薄层色谱法、液相色谱法、气相色谱法等色谱法,软电离质谱法,以及与上述方法联用的研究方法等。

1. 植物化学方法

植物化学方法将中药复方视为一个整体,采用各种现代化学方法和色谱技术,对其化学成分进行系统的提取、分离、纯化和结构鉴定,同时结合一定的药理实验模型,确定复方的有效部位(组分)。它采用了系统提取分离和结构鉴定的思路,有助于了解复方的化学物质基础,并且可以兼顾有效组分的筛选,通过与单味药成分的比较,也有可能发现复方配伍后是否产生的新化合物。如谭洪根^[2]等采用柱层析结合薄层鉴别法,从芍药与甘草共煎的水提取物中

分离出11个化合物,分别为苯甲酸、芒柄花素、异甘草苷元、甘草苷元、4,7-二羟基黄酮、芒柄花苷、甘草苷、没食子酸、芍药苷、异甘草苷和甘草酸。

植物化学方法的缺点有两个方面,一是不够灵敏,分离纯化所获得的成分种类有限,往往是含量比较高的成分,不能全面地反映复方的化学组成。二是不能反映煎煮过程中由于配伍引起的化学成分之间在含量变化上的影响。植物化学分离纯化主要以获得一定量的纯净化合物以满足结构分析的需要,相对而言,忽视了物质转移过程中的量值转移效率,经过多次处理,植物化学法在量值传递方面必然带入较大的误差,因此不能较好地反映定量关系。如上述对芍药甘草汤的研究过程中,只是提取分离得到并鉴定了11个化合物成分,只能说明在复方中这些成分仍然存在,并不能反映复方煎煮过程中,哪些成分的相对含量发生了变化。同时,芍药甘草汤中的化学成分远不只这11种。

2. 色谱分析方法

应用于中药复方在煎煮过程中化学成分变化的色谱学方法主要包括气相色谱(GC)、液相色谱和薄层色谱等。色谱分析方法可对一种或几种化学成分进行比较准确的定量分析,因此,可以对煎煮过程中配伍引起的化学成分含量变化进行准确、灵敏的比较,从而把握配伍引起的药效、用途变化的物质基础。但是,如前所述,单纯考察一种或几种成分的变化,并不能反映复方的全部,对于未被考察的成分,不能进行含量变化关系的考察,因此,有可能会出错误的推论。

例如艾云^[40]的研究中认为复方中增加的色谱信号和减少的信号是氧化苦参碱还原为苦参碱的还原剂发生氧化反应的结果。但是从减少信号部位的组分和增加信号部位的组分的核磁共振氢谱,两者结构上不应该有太大的相似性。如前所述,复方煎煮过程引起煎煮液中化学成分变化的因素很多,因此,需要经过系统的研究才能搞得出合理的结论。

3. 质谱(MS)分析法

电喷雾质谱(ESI-MS)的出现使复杂组分的溶液直接用于质谱分析,从中获得溶液中的化合物的分子量信息和碎片离子组成信息成为可能。质谱分析有较强的分离能力,可以区分分子量不同的化合物的离子。利用二级质谱特异性的碎片离子,质谱可以对分子结构不同的同分异构体分别进行定量分

析。利用电喷雾质谱直接进样分析中药提取物,可以快速获得中药提取物中大致物质组成情况。研究者^[47-50]利用这种技术对中药附子在炮制、配伍煎煮过程中生物碱类成分的变化规律进行了大量的研究。结果表明,在附子炮制过程中,双酯键取代的乌头碱类化合物酯键连接的取代基会发生水解反应,生成毒性较低,溶解性更好的单酯键取代生物碱。炙甘草、大黄、白芍、干姜、山茱萸等药材与附子配伍时,可以促进双酯乌头碱水解。而山药、白术、半夏、五味子等药材与附子配伍时,可能促进双酯乌头碱的溶出,或减少其酯键的水解。大黄与附子配伍时,乌头碱可能与大黄的某些成分结合而生成难溶复合物从而减少方剂中双酯乌头碱的含量。而另有一些中草药,如肉桂、丹皮、泽泻、地黄、茯苓等则对附子乌头碱没有影响。

直接质谱分析应用于中药提取物直接分析的缺陷表现在以下几个方面。第一,同分异构体难以直接用质谱区分。中药提取物中存在大量的天然化合物的分子量信息和二级质谱信息完全相同,如甘草中的二氢黄酮和查尔酮及其相应的糖复合物;有些化合物在结构上的区别仅仅是取代基的连接位置的差别,例如人参皂苷 **Rb2**, **Rb3** 和 **Rc**。乌头属植物中发现的与乌头碱分子元素组成完全一致的化合物有 4 种,这些化合物单纯采用质谱是难以区分的。第二,源内裂解(In source dissociation)产生的离子难以同提取物中的化合物产生的离子区分。一个离子从离子源产生后,在进入质量分析器之前,可能会在传输过程中发生裂解^[51-52],质量分析器不能区分这些离子的来源。例如,人参皂苷 **Re** 可能因为源内裂解脱除一份子鼠李糖而产生与 **Rg1** 质荷比相同的离子,如果这两种物质的混合物直接进行质谱分析,则对应于 **Rg1** 的离子中可能有部分来源于 **Re** 的源内裂解。通常乙酰基、甲酰基、苯甲酰基取代的化合物只需要几个伏特的电势差就可以发生源内裂解。另外,离子化过程中的离子抑制效应(Ion suppression)以及离子阱质谱的空间电荷效应对直接应用质谱分析复杂混合物的结果产生影响。

4. 色谱质谱联用法

中药复方是一个非常复杂的研究体系,对这种复杂体系的化学成分进行尽量全面的表征需要采用分辨率较高的分析方法。色谱和质谱两种方法均具备较好的分离能力,两种方法联用,可以比较全面地

分辨研究体系中不同物质产生的信号响应。另外,质谱信息可以对分析目标进行一定程度的定性研究,所以色谱质谱联用是目前最适合中药复方研究的方法之一。色谱质谱联用方法的最大优势在于可以根据化合物类群的结构特征,对具有共同结构的化合物类群进行定性定量比较,从而发现复方合煎过程中,同一类群的化合物发生的相同的变化,从而比较明确地推断复方化学协同作用的反应机理。近年来,学者们利用色谱质谱联用的方法,充分利用质谱的定性功能,从化合物类群的角度对复方煎煮过程中配伍对化学成分的影响进行了非常有意义的探索。

魏凤环等^[33]通过应用 **EI-MS** 定性鉴定了不同配伍组成中的桂皮醛,并利用 **GC-MS** 在不同配伍组成中对该成分进行定量研究,得出麻黄能显著降低桂皮醛溶出量的结论。肖盛元等^[35]通过分析干姜中的二芳基庚烷类化合物的 **ESI-MS/MS** 裂解规律,利用 **HPLC-MS/MS** 从干姜中鉴定出 18 种二芳基庚烷类化合物。并发现该类化合物差向异构体在四逆汤复方配伍煎煮过程中发生了显著的立体选择性反应。苏子仁等^[42]在研究大黄提取精制工艺的过程中,利用 **GC-MS** 法探讨大黄素在煎煮过程中的湿热分解机理,同时定性定量了 30 多种大黄素湿热降解产物,发现湿热确能使大黄素开环,发生一系列化学反应。

三、分析与展望

方剂配伍是中医的精华之一,同一种药材经过不同的炮制加工和不同的配伍,发挥不同的临床功效。研究方剂配伍引起的复方化学成分的变化,是研究复方协同发挥药效作用物质基础的途径之一。复方化学背景非常复杂,研究过程中涉及到的影响因素比较多,因此,采用合适的研究方法是获得反应配伍对化学成分影响的真实作用。从研究过程的各个环节看,主要包括以下几个方面:

1. 合理设计样品处理方法

研究复方配伍引起的化学成分的变化,需要精确地比较复方和单味药材在相同条件下处理后化学成分的差异,如前所述,这些成分的差异主要表现在含量变化方面,因此,样品处理过程需要总是分析结果的可比性,尽可能消除处理过程带来的偶然误差。另外,复方配伍引起的化学成分变化应该是在复方煎煮这一特殊条件下产生的,才能反映复方配伍改变药物效应物质基础的意义,因此,在样品处理过程

中有必要确认样品处理条件不至于引起复方物质的变化。例如,对生脉散的复方化学研究^[5]中,研究者将大孔吸附树脂柱洗脱的组分于蒸发皿水浴干燥,残留物用甲醇溶解定容后进行分析,似乎没有考虑到复方中的酸性成分(来源于组方中的五味子)对人参皂苷降解的影响。达玛烷型人参皂苷的 C-20 位糖苷键在酸性条件下加热极易水解,生成相应的次级产物,如 Rg3。因此,需要排除这种由于样品制备过程对处理(复方)和对照(单味药)影响的一致性才能够得到可靠的结论。

2. 选择合适的分析方法

复方是一个背景极其复杂的体系,研究复方中某一类成分的变化规律,不仅需要考虑到这些成分在配伍与单味药之间对应的成分量的变化,而且还要考虑到同一类型成分的变化。例如,肖盛元等^[53]通过液相色谱质谱分析,发现人参加工成红参的过程中,多种丙二酸单酰基人参皂苷发生丙二酰基水解产生同一种皂苷,而且还发现结构相似的丙二酸单酰基人参皂苷的丙二酰基水解的产率基本一致。因此,用于进行复方配伍引起化学成分的研究方法需要能够对体系中相关成分尽可能地进行定性定量的区分。色谱质谱联用技术是实现这一研究目标的最有效的方法之一。其一,现代高效液相色谱拥有很高的分离能力和分离容量;其二,在此基础上,利用质谱的分离能力可以区分色谱共流出组分中不同分子量的成分;其三,质谱检测有较好的灵敏度以及强大的定性能力,尤其是在表达复方配伍引起的化学成分结构上的变化方面具有独到的优势。

3. 全成分的分析比较是进行方剂配伍的化学效应的必要措施

中药大部分来源于植物,植物的次生代谢物质往往归属于几大类,每一类成分往往在结构上具有共同的母核结构,不同成分之间往往是取代基的种类和位置的差异,同一药材之中往往存在多种同分异构体。方剂配伍对相似结构的影响往往是一致的。例如生脉散中,五味子的酸性成分促进煎煮过程中达玛烷型人参皂苷的 C-20 位糖苷键水解^[55]。这种作用对所有 C-20 有糖苷键的皂苷均适用,如果采用色谱质谱联用技术,比较全面地分析上述物质,及相应的其转化产物的量的变化,就可以比较准确地阐述这一规律,从而为解释生脉散不同与单一人参的疗效物质基础提供依据。这种全面分析的方式获得的

规律,才能够为进一步控制方剂质量提供依据。对复方四逆汤中干姜的二芳基庚烷类成分的研究表明^[35],方剂配伍对复方中同一类的化学物质转化的影响是统一的,不只是影响某些单一成分,因此,对复方配伍的化学效应机制的研究,需要从全成分分析的角度进行。

中药复方是中医遣方用药的主要形式,复方配伍的化学效应机制的研究是有效地研究传统中药的药效物质基础的必要研究内容,是解决中药质量评价和控制问题的基础和关键之一,也是实现生产工业化、中药现代化的关键问题。目前,配伍化学机理的研究还处于方法学探讨阶段。真正地解释复方配伍的化学协同机理需要累积不同处方,不同结构类型,不同含量范围的化学成分变化的大量分析数据,才能获得相对全面的分析结果。复方煎煮过程中化学成分变化的数据累积是解释中药配伍的化学协同机理的首要任务。

参考文献

- 1 吴昭晖.麻黄汤不同配伍对佐使药有效成分及指纹图谱的影响研究.第一军医大学硕士学位论文,2007.
- 2 谭洪根,刘应泉,冯维秀,等.芍药甘草汤配伍的化学成分研究.中国中药杂志,1995,22(9):550-551,576.
- 3 涂瑶生,刘法锦,孙冬梅.单味中药浓缩颗粒组成的三利降脂方与合煎提取物的化学成分比较.中药新药与临床药理,1998,9(2):108-120.
- 4 王燕生,游保成.四君子汤的研究——四君子汤中白术主要成分的考核.中成药,1985,4(11):33-34.
- 5 曾惠芳,苏子仁,史俏蓉,等.虎杖单煎、复方共煎过程中的物理化学变化初探.中国药房,1999,10(3):112-113.
- 6 李川,江文君,李铁林.不同煅石决明与决明子配伍对其煎液质量的影响.中国中药杂志,1995(1):22-24.
- 7 郭戎,卢金朝,许益民.当归磷脂组分的分析.中国中药杂志,1991(12):391-392.
- 8 许益民.磷脂对煎剂中麻黄碱和绿原酸溶出率的影响.中成药,1992,14(5):4-6.
- 9 苏子仁,陈建南.中药制剂工艺过程的物理化学变化研究.中国中药杂志,1998,23(11):671-673.
- 10 苏子仁,徐必达,刘庆思,等.磷脂对骨康方补骨脂素、异补骨脂素煎出的增溶作用探讨.中国实验方剂学杂志,1997,3(3):5-7.
- 11 苏子仁,刘中秋,周华.丹参醇提液在浓缩、干燥工艺过程中的化学成分变化研究(I)——丹参酮 II_A 湿热降解机理探讨.中成药,1997,19(11):5-7.
- 12 张宇,王朝晖,李殿奎.四逆汤药物配伍的研究.中成药,1996,18(12):9-11.
- 13 王勇,刘志强,宋凤瑞,等.附子配伍原则的电喷雾质谱研究.药理学报,2003,38(6):451-454.

- 14 袁久荣,李以凤,袁浩.四物汤的实验研究.中国中药杂志,1999,16(3):153~155.
- 15 朱丹妮,严永清,李志明.生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究——生脉散复方化学的研究(Ⅲ).中国中药杂志,1998,23(8):483~485.
- 16 严永清,朱丹妮,吴建新,等.六味地黄汤化学研究方法的探索.中国中药杂志,1991,16(5):310~312.
- 17 谢跃生,张振清,乔善义,等.六味地黄汤不同配伍对马钱素煎出率的影响.中成药,2004,26(7):590~591.
- 18 张梅,苏筱琳,雨田,等.五种中药与附子配伍前后有效成分含量的变化.世界科学技术-中医药现代化,2006,8(3):27~29.
- 19 裴妙荣,梁秀如,廖晖,等.薄层扫描法对四逆汤配伍作用的化学分析.中成药,1993,15(6):33~35.
- 20 王浴铭,张君增,朱风云,等.乌头配伍甘草对其水煎液中乌头碱溶出率的影响.中成药,1993,15(3):17~18.
- 21 张宇,陈丽艳,杨义,等.四逆汤口服液中药附子与甘草配伍前后有效成分变化.佳木斯医学院学报,1996,19(1):27~30.
- 22 何桂霞,蒋孟良,冯映冰,等.芍药汤配伍的化学变化研究.中国中药杂志,1998,23(7):432~434.
- 23 涂瑶生,刘法锦,孙冬梅.清胃散单煎与合煎中盐酸小檗碱含量的测定.中国中医基础医学杂志,2000,6(8):531~533.
- 24 丁林生,徐瑞华,吴振洁,等.白头翁汤中小檗碱含量降低原因初探.中成药,1993,15(1):18~19.
- 25 杨卫贤,杭玉秋,毛文学.白头翁汤中药物配伍对化学成分的影响.中国中药杂志,1991,16(10):604~605.
- 26 王浴铭,张君增,朱风云,等.黄连配伍吴茱萸对黄连中主要化学成分的影响.中国中药杂志,1994,19(2):115~118.
- 27 梅全喜,朱学君.甘草的配伍研究.中成药,1988(2):35~36.
- 28 徐艳春,魏璐雪,周玉新,等.高效液相法测定黄连与吴茱萸配伍前后吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量.中国中药杂志,2001,26(12):846~849.
- 29 潘浪胜,徐晓梅,吕秀阳,等.黄连与吴茱萸分煎后配伍时主要组分含量变化规律研究.中国药理学杂志,2005,40(4):258~259.
- 30 黄熙,任平,王骊丽,等.不同煎煮方法和配伍因素对汤剂中阿魏酸含量的影响.中草药,2001,32(5):41~45.
- 31 吴嘉瑞,张冰,常章富,等.人参与莱菔子配伍后人参皂苷 Rg1 含量变化研究.中国中药杂志,2006,31(1):79~80.
- 32 容蓉,袁久荣.四物汤及其配伍组方中苯甲酸煎出量的 HPLC 法测定.中草药,2001,32(2):114~115.
- 33 魏凤环,罗佳波,陈飞龙,等.GC-MS 法测定麻黄汤不同配伍对桂皮醛含量的影响.中草药,2004,35(6):638~639.
- 34 钟立贤,王运荣,李世芳,等.汤剂改进研究——复方小青龙汤浓煎剂的研究.中成药研究,1983(1):7~10.
- 35 肖盛元,刘文霞,林文翰,等.干姜中的二芳基庚烷类化合物及其在四逆汤煎煮过程中的立体选择性反应.分析化学,2007,35(9):1295~1300.
- 36 陆蕴如,杨钟柯,董育妹.苦参在复方中化学成分变化的研究.中国中药杂志,2001(7):412~413.
- 37 宋小妹,考玉萍.洁身洗剂中苦参化学成分转化研究.西北药学杂志,2000,15(6):257~259.
- 38 李丽贤,陈新,崔键.苦参与蛇床子配伍后苦参碱含量变化.长春中医药大学学报,2002,18(4):44~45.
- 39 崔健,耿惠,刘淑杰,等.山豆根在复方中化学成分变化的研究.中草药,2001,32(7):613~614.
- 40 艾云.苦参配伍后化学成分变化的研究及丹参素衍生物的合成.西北大学硕士学位论文,2006.
- 41 魏其才,李锋.甘草对生石膏中钙盐煎出率的影响.中成药,1993,15(2):42~43.
- 42 苏子仁,周华,刘中秋,等.大黄在提取精制工艺中的化学成分变化研究(I)——大黄的湿热降解机理探讨.药物分析杂志,1998,18(2):82~87.
- 43 罗尚凤,李国光,何宇东,等.枳术丸的化学成分分析.西北药学杂志,1994,9(5):204~205.
- 44 罗尚凤,宋俊峰,武建华,等.枳术丸组方与炮制工艺的研究.中国中药杂志,1994,23(1):23~24.
- 45 夏云,李志明,朱丹妮,等.生脉散复方化学动态变化与药效关系研究——生脉散复方化学的研究(I).中国中药杂志,1998,23(4):230~232.
- 46 朱丹妮,李志明,严永清,等.生脉散复方化学动态变化与药效关系研究——生脉散复方化学的研究(Ⅱ).中国中药杂志,1998,23(5):291~293.
- 47 许庆轩,刘志强,王勇,等.八味地黄方与人参汤共煎液中毒性物质的电喷雾质谱研究.中草药,2005,36(1):36~39.
- 48 许庆轩,王勇,宋凤瑞,等.八味地黄汤各药味对附子生物碱影响的电喷雾质谱研究.中草药,2005,36(4):519~602.
- 49 王勇,石磊,金东明,等.四逆汤煎煮过程中乌头类生物碱的溶出和水解平衡.中草药,2003,34(4):311~314.
- 50 越皓,皮子凤,宋凤瑞,等.附子不同配伍药对中生物碱成分的电喷雾质谱分析.药理学杂志,2007,42(2):201~205.
- 51 马小琼,肖红斌,梁鑫森.源内裂解液相色谱-质谱鉴别人参皂甙 Rf 和拟人参皂甙 F11.分析化学,2006,9:1273~1277.
- 52 Damon R. Carla, Robert M. Moisiona, P.B. Armentrout. In -Source Fragmentation Technique for the Production of Thermalized Ions. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2009, 20(12):2312~2317.
- 53 肖盛元,罗国安.红参加工过程中人参皂苷化学反应 HPLC/MS/MS 研究.2005,36(1):40~43.

Current Progress on the Interactions among Chemical Constituents during the Decocting Process of Herb Compounds

Yang Ya, Xiao Shengyuan

(School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: The interactions among different chemicals from herbs of Traditional Chinese Medicine (TCM) compounds in the process of decocting were described in this review. The experiment methods employed for this aim were also reviewed. The chemical interactions among the compositions of TCM compounds were divided into 4 cases according to previous studies in near recent. By compared to the decoction of a signal herb, (1) the constituents from different herb did not interact with each other during the process, (2) the quantities of some chemicals in the decoction increased, (3) the quantities of some chemicals in the decoction decreased, (4) new compounds were derived from the chemical reactions during the decocting process. The main methods employed in these studies can be described from 4 aspects: phyto-chemical, chromatographic, mass spectrometry, and chromatography - mass spectrometry methods. In conclusion, the chemical interactions in the process of decocting may change the chemical composition of a TCM compound. This might be the substantial basis of the compatibility of herbs, and also the reason that formulation changes the clinical application of an herb. Accumulation of data is needed to explain the underlying mechanism of the compatibility of herbs, and how formulation changes the clinical application of an herb.

Keywords: Chinese herb compound, Chemical interaction, Decoction

(责任编辑:李沙沙,责任译审:张立巍)