

附子配伍减毒增效及其相关的研究进展*

唐 恒, 晏远智, 唐宝璋**, 游 晶

(昆明医科大学第一附属医院 昆明 650032)

摘 要: 回顾文献, 本文就近年来附子配伍减毒增效及其相关的研究进展, 从以下五个方面作一简介。内容有: 附子的现代基础研究; 四逆汤全方或拆方的减毒增效系列研究; 附子多药配伍方剂中药对的减毒增效研究; 利用复杂生物网络研究附子方剂的疗效; 深入研究附子的领域及展望。

关键词: 附子 配伍 减毒增效 相关研究

doi: 10.11842/wst.2018.10.025 中图分类号: R285.1 文献标识码: A

附子的使用可以追溯到数千年前, 明代医圣张仲景将附子与人参、熟地黄、大黄列为“药中四维”, 清代名医郑钦安誉附子为“扶阳第一品药”, 医家祝味菊则称附子为“百药之长”, 可见附子在中医药中的重要地位。但是, 由于附子的毒性大, 因此, 被古今医家一直认为是“最有用而又最难用的药物”。因为附子长期以来在中医界的医疗实践中颇受重视, 所以总结出了许多宝贵的科学用药经验。当然, 对其毒性和药效等方面的现代化研究却是上世纪才开始的, 现在仍在继续。在中医药学创立以来的漫长发展的岁月中, 辨证施治中核心的用药原则是多味中药配伍应用, 以发挥各味药之长, 克服其短, 目的是提高疗效, 降低毒副作用。这也是中医药的独特优势, 附子也很少单独使用, 大多配伍应用。大量的附子配伍方剂扩大了治疗范围, 使附子在治疗各种疾病中, 特别是治疗复杂重病、疑难顽症中, 发挥了重要作用。现我们仅就附子配伍减毒增效及其相关的研究进展作一综述。

1 附子的现代基础研究

附子为乌头子根的加工品, 主要通过炮制、配伍、久煎等方式降低毒性。附子现代临床上多用其炮制品

而不用生品, 附子毒性在经加工炮制后得到缓解, 便于内服, 炮制品附片、黑顺片、白附片可直接入药。本文主要论述配伍减毒。

1.1 附子的化学成分及作用

附子主要含生物碱、多糖、黄酮、芳香酸、甾醇、微量元素等^[1,2], 目前已从附子中获得 90 余个化学成分(C_{19} 型二萜生物碱 50 个, C_{20} 型二萜生物碱 13 个, 非二萜生物碱 11 个, 非生物碱 22 个)^[3], 这些化学成分是附子发挥多种功能的物质基础。

1.1.1 附子生物碱成分及其毒-效作用

目前附子中的化学成分研究最多的是生物碱, 它也是附子中具有多种药理作用的复杂成分。在目前从附子中获得的 74 个生物碱中, C_{19} 型二萜类生物碱数量最多, 有 50 个, 为附子的有效成分和毒性成分。熊亮等^[3]指出: C_{19} 型二萜类生物碱不仅结构复杂, 而且种类繁多, 我们根据它们酯键数量又可以将这类化合物分为无酯型、单酯型、双酯型乌头碱 3 种。药理研究表明, 其毒性与化合物酯键的数量密切相关, 3 种生物碱毒性大小顺序为: 双酯型、单酯型和无酯型乌头碱。双酯型乌头碱毒性为单酯型的 200 倍, 是无酯型的 2000 倍。双酯型乌头碱为脂溶性生物碱, 易溶于乙醇等有机溶剂, 而难溶于水。经水解后的双酯型生物碱转变为单酯型生物碱, 其毒性明显降低。进一步水解为胺

收稿日期: 2018-07-19

修回日期: 2018-08-10

* 国家自然科学基金面上基金项目(81760111): RORrt, FoxP3 及 SOCS-1/3 在慢性乙肝 Th17/Treg 失衡中的作用及机制, 负责人: 游晶。

** 通讯作者: 唐宝璋, 教授, 硕士导师, 主要研究方向: 中西医结合治疗肝纤维化、肝硬化。

醇类碱,毒性减低更甚,毒性更小^[4]。彭成报告可使毒性降低70%–80%^[5]。双酯型生物碱为:乌头碱、次乌头碱、新乌头碱,是附子的主要毒性成分,又是有效成分,有量-毒关系^[6]。双酯型生物碱可通过上述减毒方法(本文主要论述配伍减毒),水解为毒性较低的单酯型生物碱:苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱。 C_{19} 型二萜类生物碱水解后不仅毒性降低,并可转化为药效物质,现单酯型生物碱被认为是附子的主要药效物质。

此外,附子中的双脂型二萜类生物碱既是毒性极强的物质,但现代研究也表明,它们在低浓度条件下又可以发挥药效作用。

非二萜类生物碱也为药效物质,但李小红等^[7-9]报告从附子中分离出的化学成分,仅获得11个化学物质为非二萜类生物碱,明显少于二萜类生物碱,主要化合物为吡咯、吡啶、腺苷、嘧啶和酰胺类,深入研究的种类也不多。

韩公羽等对蟾蜍研究发现尿嘧啶、附子苷也有强心作用^[10,11]。有研究大鼠发现吡嗪类和吡咯类也对心肌细胞损伤有保护作用^[9,12]。

1.1.2 附子非生物碱成分及其作用

附子多糖也是附子的主要成分之一,也是附子的重要药效物质基础。过去的药理研究主要集中在调节免疫方面。近年来发现,附子多糖可能也是附子强心、保护心肌的药效物质之一^[13,14]。

此外,在抗菌作用,增强免疫功能,调节新陈代谢等方面,也有附子研究的大量报道^[9,15,16],如乌头碱可以使小鼠肺部蛋白质合成增加同时肾部合成降低^[17]。

彭成报告,他们通过对附子组学(基因组、蛋白组、代谢组、细胞组)的研究^[1],利用基因芯片等技术,通过大鼠等实验^[18,19],发现:①附子的毒性靶器官主要是心脏、神经、胚胎。②细胞离子通道、亚结构、酶、受体等是乌头碱毒性作用的靶点,其毒性作用具有量-效、时-效关系。

1.2 附子毒-效的靶器官、细胞及其作用机制

1.2.1 心脏、心肌细胞

附子既可以强心,治疗心力衰竭,也可以导致心脏毒性。毒-效作用可以转化,用药剂量是附子毒与效转化的关键点之一。

国内外研究结果显示^[20]:心脏、心肌细胞是附子重要的毒-效靶器官、靶细胞。附子致心脏毒性的主要物质基础是附子的双酯型生物碱,而发挥强心和保护

心肌作用的是附子总生物碱、附子水溶性生物碱、附子多糖及其他一些成分等多成分综合作用的结果。附子对心脏的毒机制和效机制在心肌细胞上存在相同靶点,主要包括细胞形态和功能、细胞膜稳定性、细胞内环境稳态、离子转运相关ATP酶、受体和通道、细胞能量代谢。

现代临床,附子也是治疗心力衰竭的常用药物。现代药理研究也表明附子具有强心、升压、扩血管、抗炎、抗心律失常、镇痛等作用^[21],亦显示附子还有调节神经内分泌体液因子分泌的作用。现代毒理研究发现附子可引起实验动物心律失常、心肌细胞损伤,临床上附子导致的不良事件中,也有心律失常。

1.2.2 神经、神经细胞

附子既有保护神经细胞、抗炎、镇痛作用,又会产生神经毒性。乌头碱对神经细胞的毒性机制可能与心肌细胞毒性机制相似^[22]。

临床研究和动物实验均证实:附子的毒性主要表现在神经系统、心血管系统和消化系统^[21]。附子的神经毒性以酯型生物碱为主要毒性物质基础,可作用于中枢神经系统及周围神经系统,其毒性作用机制主要涉及离子通道、神经递质、信号转导和能量代谢等^[23]。但目前,仍然未能明确有哪些神经毒性的可控靶点。

中枢神经系统及周围神经系统损伤可表现为器质性和功能性改变,导致细胞能量代谢障碍,神经冲动传递抑制及神经元损伤甚至死亡。临床表现为口舌发麻,四肢麻木,皮肤感觉消失,头晕、烦躁,严重者四肢抽搐,以后语言及神志不清,直至衰竭^[5]。

1.2.3 胚胎、生殖细胞

张建军报告,采用高浓度附子生物碱做动物实验,发现大鼠睾丸细胞增殖明显抑制,表明附子生物碱的生殖毒性很强^[24]。另有研究发现乌头碱可抑制黄体细胞的增殖及激素的分泌^[25]。还有报告附子生物碱同样对胚胎具有明显毒性作用,在器官发生期可以引起器官分化、发育延迟和致畸^[26]。

2 四逆汤全方或拆方的减毒增效系列研究

附子的研究报告主要集中在四逆汤这部分,涉及四逆汤减毒增效及其相关研究的论文多达数十篇。四逆汤是源于《伤寒论》的经典方,由附子、甘草(炙)、干姜组成,是回阳救逆的代表方。各味药作用明确,附子为君药,干姜为臣药,甘草为佐使药。现在临床上主要用于治疗冠心病、心绞痛、心力衰竭,多种原因所致的休

克等心血管疾病,具有保护心肌、扩血管、抗休克,降血压等药理活性^[27,28]。

2.1 四逆汤减毒增效的实验研究

翟建英等^[29,30]研究表明附子配伍干姜、甘草后能够部分改善心衰大鼠的心功能。四逆汤全方与拆方比较,在改善心力衰竭大鼠多个血流动力学指标方面,全方作用最全面,效果最佳。此外,研究还发现,附子生物碱与甘草活性物质配伍具有抗炎作用,能缓解大鼠关节炎症状,改善关节的功能和组织结构^[31]。陈儒燕^[32]报告对附子与甘草以不同比例配伍共煎后,各指标成分含量的变化规律进行了系统的定性和定量研究。①通过饮片配伍:附子配伍甘草共煎后,总生物碱含量明显升高,酯型生物碱、双酯型生物碱含量明显下降,最高降幅分别为63%,83%^[31],升高及下降幅度与配伍甘草量成正比;同时总黄酮含量明显升高,而总皂苷含量明显下降。②也有研究发现^[31]甘草中的黄酮和皂苷含量呈下降趋势,最高降幅分别为19%和55%。③有效部位配伍和有效成分配伍与饮片配伍变化相似。上述研究结果,确定了乌头类有毒中药常用配伍药对的物质基础。张广平等^[33-35]实验发现,甘草配伍附子在减轻附子毒性的同时,不影响附子抗炎和镇痛的药效,甘草对附子毒性具有剂量依赖性拮抗作用。同时表明,四逆汤全方减毒增效最显著,以配伍甘草的减毒作用明显,配伍干姜增效作用强。繆萍等^[36],回顾目前国内外对四逆汤的主要研究方向,多集中在3味药中主要活性成分对心血管系统的作用,但对于复方的药效物质基础及从药物吸收、代谢层面阐释配伍机制的系统研究则较为有限。研究表明以四逆汤全方抗心衰效应更为明显,附子配干姜能部分改善相应指标,附子配甘草的强心作用较弱,单用附子的作用最弱^[37]。同时发现,四逆汤及其不同配伍方可有效调节心衰大鼠的心肌能量代谢紊乱,延缓慢性心衰的发展,以四逆汤全方效应更为明显。研究结果为:附子-甘草组、附子-干姜组、四逆汤组均较模型组大鼠心肌ATP(三磷酸腺苷)含量明显增加($P < 0.05$),ADP(二磷酸腺苷)和AMP(一磷酸腺苷)含量明显降低($P < 0.05$),尤其以四逆汤组增加和降低更为显著,保护心肌的作用更强^[38]。

2.2 四逆汤的临床研究

喻少峰^[27]研究四逆汤治疗心力衰竭临床疗效及其对血浆BNP水平的影响。BNP(B型尿钠肽)作为心衰定量标志物,心衰时BNP水平明显升高,是诊断心衰

较敏感、特异的一个生化指标。方法:将102例患者随机分为对照组和治疗组各51例,对照组采用常规西医治疗,治疗组在对照组治疗的基础上加用四逆汤加减治疗。治疗20天后观察疗效。结果为:对照组有效率为72.55%(37例/51例),治疗组有效率为86.27%(44例/51例),两组比较有显著性差异($P < 0.05$)。BNP治疗前后检测平均值($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)为:对照组分别为1578.9和891.9;治疗组分别为1585.4和568.9。与治疗前比较,两组BNP水平均显著降低($P < 0.05$),治疗组降低更明显($P < 0.05$)。结论:四逆汤治疗心力衰竭临床疗效显著,而且无明显不良反应。高广军临床报告用炙甘草汤加用制附子治疗病态窦房结综合征19例病人,治疗3个疗程,有效。梁英明将附子、干姜、甘草以5:3:2的剂量用于冠心病患者的治疗,并与消心痛作对照,结果在降低心肌耗氧,改善心功能方面,四逆汤疗效优于消心痛^[31]。

2.3 四逆汤减毒增效的机制

回顾文献,其机制可以从不同角度作一分析。

①药理/毒理角度:研究表明,甘草类黄酮与异甘草素均有明显的抗乌头碱诱发的心律失常作用,其作用可能与抑制心肌细胞 Na^+ 通道有关;还有发现甘草附子配伍后增强心肌收缩力、增加心输出量、升高血压,清除氧自由基、抑制缺血心肌脂质过氧化作用等均优于附子或甘草单用;有认为,甘草苷对乌头碱导致的心肌细胞离子通道mRNA异常表达有改善作用^[39]。另有发现附子干姜配伍对大鼠血浆肾上腺素、血管紧张素、醛固酮、心钠素及内皮素均有一定的调控作用。并显示:这配伍有显著的抗心衰作用,干姜可增强附子的强心、利尿作用,延长药效时间^[40];干姜可增强心衰大鼠的心肌收缩力,减少心肌能量需求,改善冠脉血流量^[36];扩张小鼠微血管,改善微循环,对慢性肾功能衰竭小鼠有一定保护作用^[31]。②化学成分变化角度:目前大多研究表明,附子甘草配伍减毒机制为,甘草酸、甘草黄酮为酸性与附子的生物碱发生沉淀反应,酸碱结合生成盐,并且甘草酸还能加速附子生物碱的水解。使共煎液中双酯型生物碱的含量明显减少,从而降低了毒性^[31]。同样,在附子配伍干姜研究中发现^[36,41],合煎液中,由于干姜含有挥发油,减少了附子双酯型生物碱的溶出,吸收率下降,半衰期延长,生物利用度降低。同时,增加了药效物质单酯型生物碱的生物利用度。也有认为干姜中的醋酸乙酸提取物也可能具有同附子有毒生物碱结合使毒性降低,或可能有拮抗毒性生物碱的作

用^[40]。从而在总体上起到减毒增效的作用。③体内过程:杨奎教授等提出的“中药胃肠药动学”研究胃肠道环境因素对中药方剂有效成分溶出、吸收和代谢的影响,揭示各有效成分间协同或拮抗的规律^[42]。研究发现,附子甘草配伍后,甘草能抑制附子酯型生物碱、双酯型生物碱的溶出^[31],甘草可影响附子毒性成分在胃肠道的吸收,双酯型乌头碱的达峰浓度(C_{max})和药-时曲线下面积(AUC)均降低,表明减缓了有毒成分的吸收。附子有抑制CYP酶活性的作用,甘草则具有诱导作用,附子甘草合用时,甘草对肝药酶的诱导起到了主导作用,加速乌头碱在肝脏中的代谢速度,从而降低其毒性。甘草酸的水解产物还可与乌头类生物碱形成低毒或无毒的葡萄糖醛酸络合物,经尿液排出而减毒。在附子干姜配伍中,干姜也能够抑制小肠中的双酯型生物碱的吸收。干姜中的主要活性成分-姜酚可以抑制CYP3A的活性,可能使附子中的有效成分代谢减少,从而显示出增效的作用^[31,36]。李莹等^[43]在四逆汤代谢组学研究中,根据一些生化指标的变化,结合其生理功能分析,推测四逆汤中附子与甘草合煎减毒增效机制与糖酵解、脂质代谢、三羧酸循环和部分氨基酸等生物代谢途径有关。

配伍组分间的相互作用可发生在体外的煎煮过程中,同样,也可在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程,最终因为药效物质的改变将导致药效作用的变化。同样,药效物质剂量的改变也可以引起毒-效作用的转化。

3 附子多药配伍方剂中药对的减毒增效研究

附子与多药配伍方剂中,药对的研究,包括在经典方中,在辨证施治方剂中,在中成药(如附子理中丸、金贵肾气丸等)中,药对的研究为附子的主要研究方法。因为附子多药配伍全方的研究更困难。由于全方研究涉及药物多,药物之间相互作用的关系极其复杂,全方系统研究、并阐述多成分、多靶点、多途径等机制,难度更大,因此,目前复杂附子药方研究多集中在药对的研究这部分。

3.1 附子多药配伍方剂中药对减毒增效的实验研究

3.1.1 附子大黄药对配伍

李芸霞等^[31,42]在附子大黄药对的配伍方剂(如大黄附子汤、温脾汤)治疗阳虚便秘的研究中,发现:①在体外煎煮中大黄含的鞣质与附子生物碱生成肠道不吸收的鞣酸乌头碱盐,从而减小了附子毒性,且乌头碱的含

量随着大黄剂量的增加而减少,两者呈线性相关,其减毒作用也随大黄剂量的递增而增强。附子与大黄不同比例配伍后,附子的总碱、酯型生物碱和双酯型生物碱含量均明显下降,最高降幅分别为47%、64%和92%,其降幅与配伍的大黄量成正比。同时发现大黄中的总蒽醌、结合型蒽醌和游离型蒽醌含量也呈下降趋势,最高降幅分别为64%、57%和75%,其降幅与配伍的附子量成正比。②体内大鼠药动学研究显示,大黄总蒽醌与附子总生物碱配伍(2:1)后,降低了大鼠体内双酯型生物碱的吸收量及作用时间,从而降低了附子的毒性,同时增加了药效物质单酯型生物碱及醇胺型生物碱的吸收量及作用时间,从而增强了附子的疗效。

3.1.2 附子人参药对配伍

马增春等^[44,45]研究表明:人参与附子配伍的减毒作用在一定范围内,随着人参剂量的增加而增加,尤其在人参:附子为1:1及大于1:1时更明显。人参配伍附子,体外合煎人参可以减少双酯型生物碱的溶出,增加单酯型生物碱的溶出。在体内动物实验人参减少双酯型生物碱的吸收,促进单酯型生物碱的吸收。附子对于心肌细胞具有一定的毒性作用,引起细胞损伤,包括干扰细胞能量代谢,ATP合成减少,细胞内的钙超载,线粒体合成减少和破坏等。人参配伍附子在一定程度上减轻了附子的线粒体毒性,减轻乌头碱引起的心肌细胞 Ca^{2+} 紊乱,并能逆转紊乱的心肌能量代谢。附子的心脏毒性可能与脂质过氧化有关,配伍人参以后,有抗氧化作用,拮抗附子毒性,通过减轻附子的线粒体毒性,改善细胞的能量代谢。临床研究显示,急性心肌梗死患者给予参附注射液后,一些生化指标明显好转。

3.1.3 附子山茱萸药对配伍

附子山茱萸配伍研究发现,附子或山茱萸单用,能改善慢性充血性心力衰竭大鼠心脏舒缩功能,并改善心肌组织病理学变化。山茱萸配伍附子后,以上作用均优于附子或山茱萸单用。此外,配伍山茱萸可显著降低附子所致小鼠心率失常及死亡比例。研究表明,配伍山茱萸能增强附子“温通心阳”的功效,并降低其心脏毒性,表现为减毒增效的作用^[46]。

3.1.4 川乌白芍药对配伍

乌头汤为川乌与白芍配伍。川乌的主要成分为乌头碱,具有抗炎、镇痛作用。芍药性寒味酸,主要成分为芍药苷,具有镇痛、抗炎、解痉及较强的免疫调节作用。有研究发现川乌白芍配伍后的镇痛、抗炎作用均明显强于川乌、白芍单用。镇痛作用增强,镇痛时间延

长,结果均优于消炎痛和各药单独使用^[31]。

3.1.5 川乌防己药对配伍

防己辛苦大寒药,川乌配伍防己是中医治疗风湿痹证的常用的药对。何伟等^[47]采用川乌与防己配伍,比例为1:1后,乌头碱的煎出量比单煎降低了38.8%;比例为2:1配伍后,乌头碱的煎出量比单煎降低了42.9%。小鼠实验表明川乌防己比例1:1和2:1配伍后,乌头碱毒性明显降低,毒性更小。川乌与防己配伍后能增强镇痛作用,延长镇痛时间。两药配伍后,抗炎作用增强比各单味药明显。原因可能是降低了毛细血管通透性和炎症介质 PGE₂ 的含量,减少血浆及肝组织中 LPO 的含量,增强红细胞中 SOD 的活性。

3.2 附子多药配伍方剂中药对的临床研究

张林军等用大黄酒附子汤加减治疗一例5年顽固性便秘患者,3剂后治愈。应明等以人参附子汤治疗病窦综合征21例,每日1剂,疗程2个月,有12例症状明显改善。李晋奇等以乌头汤加减治疗风寒湿痹45例,治疗好转率95.7%,治疗类风湿性关节炎,总有效率90.9%。周兴明以川乌防己汤加减治疗坐骨神经痛25例,治愈12例^[31]。

上述药对的研究,除参附注射液药对的研究为全方研究外,其他药对的研究,只能代表配伍的两味药的研究,它们只是多药方剂中的主要两味药,不能代表全方的研究结果。经典方的全方研究复杂、难度大,也有必要深入进行。

尽管,附子多药配伍方剂具有多成分,各成分相互作用极其复杂,给研究带来许多困难。但是,柏冬等认为^[48],目前,在中药研究中同时监测多个成分的药代动力学特征是十分有必要的。建立符合中药多成分、多靶点特点的中药整体药代动力学研究体系,是目前需要解决的关键科学问题。现代科技的发展,随着新的仪器、分析技术的出现,现在已可以同时检测多种成分,且检测特异性强、敏感度高,检测结果可靠,使得中药多成分药代研究成为可能。王广基院士^[49]提出的“中药多组分整合药代动力学研究”的思路较好地解决了这个问题。例如利用 LC-IT-TOF/MS 技术,建立各类成分快速检出与结构推断分析,鉴定了参麦注射液中30种人参皂苷类成分及20种木脂素类成分,以及脉络宁注射液中87种成分。又比如通过计算可将各成分血药浓度整合为整体的血药浓度等。当然仍然存在争议。

4 利用复杂生物网络研究附子方剂的疗效

西方医学的神经网络、神经体液-内分泌-免疫系统三者之间相互作用/调节形成的综合/整合大系统网络,还有,新兴的网络药理学,科学内涵丰富,研究已较为成熟,并且研究仍继续深入,永远没有终点。神经网络中,特别是植物神经(也称内脏神经,包括交感、副交感神经)系统网络极其重要,因为西医确认植物神经系统在影响全身各脏器的活动中,占有主导地位(除中枢神经系统外),主要由它来调节内脏的各种功能活动。这些西医网络系统,可以应用于中医药学的研究中。近代欧美等国家发展起来的许多生物网络数据库,储存有大量的研究成果,资料,信息等。随着新研究方法、新技术等的出现,充分利用这些海量的数据、科技成果,借助高内涵/高通量筛选手段,获得海量资料、大数据后,运用生物信息学进行整合分析,可以大大提高中药复杂药效物质的研究效率。

目前,利用复杂生物网络研究中药、附子及其配伍方剂系统毒理学和网络药理学已成为研究热点。

中药常具功效、毒性两重性,即具有毒-效相关性^[50,51]。如果明确了毒-效物质、减毒增效机制以及药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程。可以通过控制给药剂量,达到有效用药的安全性。中药及其复方常存在“多成分、多靶点相互作用,通过多通路进行网络调控来治疗疾病,即从整体治疗疾病^[52-54]。也可以这样的方式/机制产生毒性。如果药物的毒性成分确定,可以经过修饰其结构,使其失去毒性,开发出无毒、低毒的创新药。

在系统毒理学的美国毒理基因组学数据库(CTD);药物不良反应数据库(MetaADEDB)中;在网络药理学的PubMed、TTD、中草药靶点(HIT)数据库中。这些网络数据库中收录有海量化合物资料,先查询到该化合物,后用搜索工具,可以快速高效获取可靠的大量有相似结构的化合物,两者比对,可以预测出该化合物的未知作用靶点、疾病相关基因和不良反应等,并可发现新药效物质,促进新药的研发^[55]。

应用毒理作用网络技术,在基因、蛋白、化合物和毒性反应之间构建网络,可在这复杂体系中寻找已知和未知毒性物质,并为解释其致毒机制提供有价值的信息。通过构建的“药物-靶点-活性”和“药物-靶点-毒性”网络,整合分析药物的毒-效关系,有助于系统阐述乌头碱类中药的毒效机制,为在临床上“治疗心力

衰竭、风湿痹痛、妊娠疾病”与“产生心脏、神经、胚胎毒性”提供作用规律,同时,揭示毒-效作用更丰富的科学内涵^[56]。

通过网络药理学,Li Na课题组^[57]利用网络数据库和TTD相似性查询工具,比较乌头汤中的化合物和153种药物,发现两者之间有相似结构,这样帮助预测了潜在的作用靶点。吴氏等^[58]利用美国药物大数据库,构建附子多成分-多靶点网络。用他们研究发现的附子22个化学成分与美国FDA批准上市的1401个药物的分子结构及其相应靶点进行对比,结果预测出许多个作用靶点,这些预测结构并且得到文献数据印证。Yue QX等^[59]研究发现,中药多成分协同作用机制主要以药效学(药物效应动力学)为主。药物可以同时多成分作用于生物网络上的相同和/或不同靶点后,药物各成分通过不同方式相互调节,优势互补,减轻或消除毒副作用,提高正面效应,以增强整体疗效。

5 深入研究附子的领域及展望

应用现代研究方法,整合药效物质作用的靶标网络和疾病相关基因的生物网络,通过药效学、药动学分析“药物-靶点-疾病”和“药物-靶点-活性/毒性”的关系,从而阐明药物的毒-效机制。可以缩短研究周期,填补研究短板,加快研究进程,促进中医药现代化^[60]。

在附子化学成分研究方面,近年来取得了很大的进展,共从附子中获得90余个化合物。但在国内外一系列研究中,大部分内容集中于生物碱类。生物碱类研究又主要集中于附子脂溶性成分,而较少见非生物碱类的其他成分的深入研究。在生物碱类中,附子水煎液研究资料也较少。不足的还有:药效物质的鉴别,药理和毒理研究,也相对滞后。因此,附子毒-效作用转化的机制,现在仍然不完全清楚^[3]。李芸霞等^[42]指出,“附子治疗心力衰竭的药效物质基础以及机制,仍不甚明确”。他们提出的“附子治疗心阳虚慢性心力衰竭的药效物质基础是附子水溶性生物碱,而毒性物质基础是脂溶性生物碱”为一种科学假说。何瑶等^[39]认为,现在附子-甘草是中医临床常用药对,对其研究虽已经取得了一定的认识:具有减毒增效作用,但其具体的物质基础和机制仍不完全清楚。

当然,附子的研究在药理学和毒理学的研究中,两者同等重要。我们只想在附子药理学研究方面,提点建议。未来研究的方法、路线、方向、内容:以研究全方在机体里整合后的总体治疗效果(整体/总体疗效)为

主。从已有丰富研究基础(资料)的四逆汤开始,以后再选择一些较复杂的附子配伍经典方进行研究,逐步展开。首先研究,附子单药与附子配伍方剂煎煮后,主要生物碱含量变化的比较;随后研究,追踪主要生物碱标记后的代谢途径及其相应疗效。要充分利用西医药学的现代研究成果——方法、结果、理论等,助推附子的研究。从研究方法,到阐述其改善微循环、强心、增强免疫功能等机制。在这些成果中,尤其需要介绍的为:神经-内分泌-免疫网络调节^[61]。因为这个调节网络的各学科已进入现代发展时期,成为生命科学的前沿学科,并且在应用领域取得一系列重要成就。

机体各系统之间各行使其功能,又相互调节和影响,特别是神经内分泌系统与免疫系统的互相作用,互相制约,很重要,以保持整体活动的平衡协调,维持机体内环境稳定。在协调人体的生理活动中,神经-内分泌-免疫网络调节发挥着极其重要的作用;在病理状态下,对药物的治疗作用,这个网络调节同样具有重要影响。

研究证明,几乎所有的免疫细胞上都有不同的神经递质和内分泌激素受体,与神经介质和激素结合后,可增强或降低免疫功能。神经、内分泌细胞也可以合成多种细胞因子,调节免疫功能。另一方面,神经、内分泌组织及细胞可以表达多种细胞因子和胸腺素受体,与免疫细胞产生的细胞因子和胸腺素结合,发挥对神经、内分泌系统的调节。免疫细胞也可以产生神经肽、激素,调节神经、内分泌系统。

附子配伍治疗与神经-内分泌-免疫网络调节也同样存在相互影响,因此,附子配伍减毒增效机制的研究,可采取在治疗过程中,通过检测附子的一些相关生物碱或其他药效物质含量及代谢的变化,和神经递质、内分泌激素、免疫细胞、免疫因子、抗体、补体、多种细胞因子的变化(在生物医学界广泛承认和使用的这些名词及概念,其代表的每种物质都具有多种生物学功能)。最后分析各指标、因素之间的复杂关系及相关性,来阐释其疗效。在此研究基础上,进一步研究,提高附子配伍疗效,加速附子方剂的创新开发。

在研究方向上,从我们的临床实践需要中,也想提一些问题,提点建议。附子是否有直接或间接的活血化瘀作用?附子能否可与活血化瘀药物联合应用/配伍?因为在我们的病例中,一例男性患者,慢性乙型肝炎21年,发展为慢性肝衰竭,顽固性大量腹水的晚期活动性肝硬化。前3个月,西医给白蛋白等药物支持、对症,放腹水等措施治疗,病情无好转。后3个月,请

我院一位老中医主任会诊,用中药重用附子等药治疗,最后奇迹般治愈。我们随访33年,现83岁,至今健在。我们认为这例晚期肝病患者的救治成功可能主要与重用附子(60克)、生口芪(30克)、太子参(40克)等药有关,住院中疗程2~3个月。机制:温通心阳具有提高免疫功能,强心、改善微循环、血液流变学的作用。其中还与血竭、鸡血藤等药的配伍,可能发挥和增强了活血化瘀、抗肝纤维化、肝硬化的作用。我们想与中医药专家探讨:是否可以通过温通心阳,并联合活血化瘀药物来治疗肝纤维化、晚期肝硬化。

附子在丰富的药理作用中,还具有调节免疫等功能。中医药理论认为附子为温肾阳药,中医理论肾为先天之本,中医肾的功能涵盖有西医的神经-内分泌-免疫系统方面的内容。虚寒证时内分泌和交感神经系统的功能均处于低下的状态,免疫失衡。因此,我们是否也可以选择一些附子方剂试用于难治性自身免疫性肝病。这是一大类肝病,包括自身免疫性肝炎(AIH),原发性胆汁性肝硬化(PBC,国际专业学会正在更名中,现在尚未最后统一、确定),原发性硬化性胆管炎(PSC),重叠综合征(overlap syndromes,为上述任何二种自身免疫性肝病重叠,兼有两种疾病的表现)。在这

些肝病中,有的疾病,目前西医药诊治也棘手,西药疗效差,且毒副作用大,例如PBC,特别是PSC。我们遇到过一些发展为晚期肝硬化,并黄疸深的慢性肝衰竭病人,后期就只有肝移植才能挽救生命。在自身免疫性肝病领域,是否可以考虑采用中医药或中西医结合进行诊治,应用附子配伍方剂,通过温阳补肾,从调节植物神经、内分泌和免疫失衡的角度来治疗疾病。另辟蹊径,用中医药纠正这些因自身免疫紊乱而导致的这类肝病。

目前,附子研究主要是配伍方剂中的药对研究,附子多药经典方的全方研究,会更加复杂,难度会更大,但这方面的研究还是需要深入进行。还有研究多集中在动物实验研究,重视基础研究是正确的。但临床应用也希望多有一些系统的研究报告,也应很好计划,投入足够的力量,近年来少见中医药大宗病例的临床研究报告。中医药诊治疾病的优势领域的研究,比如温阳学派医家,重用附子,治疗顽症。在西医方面的自身免疫性疾病、难治性肾病(肾病综合征等)、肝病(肝纤维化、肝硬化等)等,具有广阔空间,诱人前景,需要很好发挥其潜能。因此,在中医药现代化道路上,任重道远。

参考文献

- 1 彭成. 中药附子毒效多维评价与整合分析的思维与实践. 世界中医药, 2017, 12(11): 2543-2550.
- 2 唐梅, 赵立春, 徐敏, 等. 附子化学成分和药理作用研究进展. 广西植物, 2017, 37(12): 1614-1627.
- 3 熊亮, 彭成, 繆璐琳, 等. 基于“毒-效整合分析思路”探讨有毒中药附子的物质基础. 世界中医药, 2017, 12(11): 2568-2578.
- 4 王宪楷, 赵同芳, 赖盛. 中坝鹅掌叶附子的生物碱研究 I. 中国药理学杂志, 1995, 30(12): 716-719.
- 5 彭成. 中药毒理学. 北京: 中国中医药出版社, 2014: 80-82.
- 6 张硕峰. 附子中3种双酯型生物碱的心脏毒效关系及甘草苷的干预作用. 北京: 北京中医药大学博士研究生学位论文, 2007.
- 7 李小红, 何成军, 周勤梅, 等. 附子化学成分研究. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(19): 86-89.
- 8 He C J, Peng C, Xie X F, et al. Two new dianthramide glucosides with cardiomyocytes protective activity from Aconitum carmichaelii. *Phytochem Lett*, 2013, 6(2): 299-301.
- 9 Xiong L, Peng C, Xie X F, et al. Alkaloids isolated from the lateral root of Aconitum carmichaelii. *Molecules*, 2012, 17(8): 9939-9946.
- 10 韩公羽, 梁华清, 张卫东, 等. 四川江油附子生物碱和新的强心成分研究. 天然产物研究与开发, 1997, 9(3): 30-34.
- 11 王桂玲. 附子有效成分分离鉴定及药理作用研究. 延吉: 延边大学硕士研究生学位论文, 2005.
- 12 Li G, Cheng P, Ou D, et al. Two new pyrazines from the parent root of Aconitum carmichaelii. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, 48(3): 92-95.
- 13 刘古峰, 吴伟康, 段新芬, 等. 附子多糖对力竭运动小鼠心肌过氧化损伤的保护作用. 海南医学, 2008, 19(70): 67-69.
- 14 刘颖, 纪超. 附子多糖对SD小鼠缺氧/复氧心肌细胞的保护作用及其机制研究. 中药新药与临床药理, 2012, 23(5): 504-507.
- 15 马健, 陆平成, 牧野充弘, 等. 乌头碱对小鼠腹腔巨噬细胞 Ia 抗原表达影响的研究. 中国药理学通报, 1997, 13(4): 341-344.
- 16 Zhao C, Li M, Luo Y, et al. Isolation structural characterization of an immunostimulating polysaccharide from fuzi, Aconitum roots. *Carbohydr Res*, 2006, 341(4): 485-491.
- 17 Hikino H, Takata H, Konno C. Anabolic principles of Aconitum roots. *J Ethnopharmacol*, 1983, 7(3): 277-286.
- 18 李燕, 赵梦杰, 袁岸, 等. 给药剂量对附子总生物碱在大鼠体内药代动力学特征的影响. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(22): 82-85.
- 19 贺抒, 谢晓芳, 张雪, 等. 附子水溶性生物碱对心衰细胞模型的治疗作用. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(16): 127-131.

- 20 谢晓芳, 彭成. 附子心脏毒效的多维评价和整合分析研究进展. 世界中医药, 2017, 12(11): 2555-2562.
- 21 黎明. 附子的毒性与临床应用. 中国医药指南, 2011, 9(14): 116-117.
- 22 彭成. 有毒中药附子、川乌、草乌的安全性评价与应用. 成都: 四川科学技术出版社, 2014: 150-155.
- 23 潘校琦, 彭成. 附子神经毒性研究进展. 世界中医药, 2017, 12(11): 2551-2554.
- 24 张建军. 乌头类中药雄性大鼠生殖毒性体内外试验研究. 成都: 四川大学硕士研究生学位论文, 2007.
- 25 庞凌烟, 申蓓, 何晓娟, 等. 乌头碱对大鼠卵巢黄体细胞的毒性研究. 华西药理学杂志, 2010, 25(3): 278-280.
- 26 Xiao K, Wang L, Lin Y, *et al.* Study of aconitine toxicity in rat embryos in vitro. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2007, 80(3): 208-212.
- 27 喻少峰. 四逆汤治疗心力衰竭临床疗效及其对血浆BNP水平的影响. 河南中医, 2014, 34(5): 801-802.
- 28 赵小棋, 王春光, 焦宏, 等. 四逆汤对急性心肌梗死溶栓后再灌注损伤的保护作用. 中国老年学杂志, 2014, 34(3): 590-592.
- 29 翟建英, 靳冉, 朱晓光, 等. 四逆汤及其组分配伍对心力衰竭大鼠血流动力学的影响. 中西医结合心脑血管病杂志, 2013, 11(12): 1480-1482.
- 30 李莹. 基于生物药剂学研究四逆汤中附子与甘草合煎减毒增效机制. 成都: 成都中医药大学博士研究生学位论文, 2013.
- 31 汪星, 孙卫, 张铁军. 乌头类有毒中药配伍减毒增效的研究进展. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 327-331.
- 32 陈儒燕. 附子配伍甘草的物质基础研究. 成都: 成都中医药大学硕士研究生学位论文, 2008.
- 33 张广平, 解素花, 朱晓光, 等. 附子甘草配伍减毒增效/存效实验研究. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(6): 31-34.
- 34 张广平, 朱晓光, 孟贺, 等. 四逆汤组方配伍减毒实验研究. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(8): 29-31.
- 35 杨海润, 孙建宁, 张广平, 等. 四逆汤组方不同配伍毒效关系研究. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23): 266-269.
- 36 缪萍, 裴福荣, 蒋健. 四逆汤化学物质基础及配伍机制的研究进展. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(5): 234-237.
- 37 缪萍, 裴福荣, 曾金, 等. 四逆汤及其不同配伍方对心力衰竭大鼠的保护作用及机制探讨. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(5): 138-142.
- 38 缪萍, 裴福荣, 曾金, 等. 四逆汤及其不同配伍方对心力衰竭大鼠心肌能量代谢的影响. 中华中医药学刊, 2016, 34(1): 42-45.
- 39 何瑶, 章津铭, 高飞, 等. 附子甘草配伍减毒增效作用机制研究进展及展望. 中药与临床, 2013, 4(3): 62-65.
- 40 张增瑞. 不同性味药物与附子配伍减毒增效的研究进展. 内蒙古中药, 2011, 30(2): 69.
- 41 熊文海, 郑琴, 喻进, 等. 附子配伍减毒增效物质基础及机理研究进展. “好医生杯”中药制剂创新与发展论坛论文集, 2013: 1013-1017.
- 42 李芸霞, 彭成. 基于毒效整合分析的附子药动学、药效学研究. 世界中医药, 2017, 12(11): 2579-2584.
- 43 李莹, 傅超美, 彭伟, 等. 四逆汤中甘草减附子之毒的代谢组学研究. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1523-1529.
- 44 马增春, 谭洪玲, 肖成荣, 等. 参附方组分配伍减毒增效作用的机制研究. 药物毒理学会论文集, 2015: 81-82.
- 45 何家乐. 参附配伍减毒的体内物质基础及作用机制研究. 合肥: 安徽医科大学硕士研究生学位论文, 2015.
- 46 金钊, 秦凯华, 叶俏波, 等. 山茱萸对附子“温通心阳”作用的增效减毒作用研究. 中药材, 2015, 38(3): 576-579.
- 47 何伟, 秦林, 司淑媛, 等. 川乌与防己配伍前后乌头碱和粉防己碱煎出量的测定. 中草药, 2002, 33(7): 600.
- 48 柏冬, 王瑞海, 刘丽梅. 近十年中药药代动力学新技术新方法概述. 环球中医药, 2016, 9(7): 891-895.
- 49 王广基. 药物代谢组学与个体化用药的精准医疗. 药学进展, 2017, 41(4): 241-244.
- 50 周远鹏. 附子致心律失常和抗心律失常作用研究的综述及其思考(四). 中药药理与临床, 2015, 31(5): 153-158.
- 51 彭成, 肖小河, 李梢, 等. 中药“毒与效”整合分析的研究进展和前沿分析. 中国科学基金, 2017, 31(2): 176-183.
- 52 李楠. “证、药、效”为基础的现代中药药动学研究及治疗药物监测的现状 & 展望. 中国药师, 2015, 18(7): 1140-1144.
- 53 李川. 中药多成分药代动力学研究: 思路与方法. 中国中药杂志, 2017, 42(2): 607-617.
- 54 李琳, 平静. 附子毒-效关系探析. 河南中医, 2015, 35(1): 171-172.
- 55 宋阔魁, 毕天, 展晓日, 等. 网络药理学指导下的中药有效成分发现策略. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(1): 27-31.
- 56 韩波, 黄维, 谢欣, 等. 有毒乌头类中药的毒效网络整合分析: 思路与方法. 世界中医药, 2017, 12(11): 2585-2597.
- 57 Zhang Y, Wang D, Tan S, *et al.* A systems biology-based investigation into the pharmacological mechanisms of wu tou tang acting on rheumatoid arthritis by integrating network analysis. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013(1): 548498.
- 58 吴磊宏, 高秀梅, 王林丽, 等. 附子多成分作用靶点预测及网络药理学研究. 中国中药杂志, 2011, 45(1): 79-82.
- 59 Yue Q X, Cao Z W, Guan S H, *et al.* Proteomics characterization of the cytotoxicity mechanism of ganoderic acid D and computer-automated estimation of the possible drug target network. *Mol Cell Proteomics*, 2008, 7(5): 949-961.
- 60 刘昌孝. 对中药现代化及中药国际化发展的思考. 中国药房, 2016, 27(11): 1441-1444.
- 61 曹雪涛, 何维. 医学免疫学. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 247-250.

Progress on Toxicity-reducing and Efficacy-enhancing Through Compatibility of *Radix Aconiti Lateralis Praeparata* and Relative Research

Tang Heng, Yan Yuanzhi, Tang Baozhang, You Jing

(First Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650032, China)

Abstract: After reviewing literature, this paper will briefly introduce the research progress on toxicity-reducing and efficacy-enhancing through compatibility of *Radix Aconiti Lateralis Praeparata* in recent years. It includes five parts: modern basic study of *Radix Aconiti Lateralis Praeparata*; research on toxicity-reducing and efficacy-enhancing of complete or separate prescription of Sini Tang; research of the herb-pair in compatible prescription; studying the efficacy of herbal prescription of *Radix Aconiti Lateralis Praeparata* by utilizing complex biological networks; further research of *Radix Aconiti Lateralis Praeparata* and its prospect.

Keywords: *Radix Aconiti Lateralis Praeparata*, Compatibility, Toxicity-reducing and efficacy-enhancing, Relative Research

(责任编辑:刘 宁,责任译审:王 昭)