

中药谱效关系研究进展

张丽杰¹, 刘丽娟^{1*}, 齐凤琴², 王阳¹, 赵学玲¹ (1. 黑龙江大学制药工程系, 哈尔滨 150080; 2. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150001)

摘要: 目的 介绍中药谱效关系研究自提出以来近几年的研究进展情况, 为中药的药效物质基础研究提供思路和借鉴。
方法 对中药谱效学建立的基础——指纹图谱的研究、单味中药和中药复方的谱效关系研究思路进行综述, 并总结目前常见的谱效关系研究的实验方法。
结果与结论 中药谱效关系研究是继中药指纹图谱之后提出的更深入一层的科学研究方向, 是将中药指纹图谱中的化学成分与药效结果结合起来, 制定反映产品内在质量的控制标准而进行的研究, 对确立中药药效物质基础的研究具有重要意义。

关键词: 谱效关系; 指纹图谱; 药效物质基础

中图分类号: R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)11-0971-05

Progress in the Study of Profile-Effect of Traditional Chinese Medicine

ZHANG Lijie¹, LIU Lijuan^{1*}, QI Fengqin², WANG Yang¹, ZHAO Xueling¹ (1. Department of Pharmacy, Heilongjiang University, Harbin 150080, China; 2. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To introduce the progress in the study of profile-effect since it has been posed and to provide ideas and references for studying the therapeutic basis of traditional Chinese medicine. **METHODS** The study of fingerprint, technical roadmap for studying the profile-effect of single Chinese herbs and formula were summarized along with the experimental methods commonly used. **RESULTS AND CONCLUSION** The study of the profile-effect following the fingerprint of traditional Chinese medicine is an in-depth scientific research direction. It combines the chemical compositions in fingerprint with its efficacy results. The purpose of the profile-effect study is to make the control standards that can truly reflect the inherent quality of products. It plays important role in the establishment of the therapeutic basis of traditional Chinese medicine.

KEY WORDS: profile-effect; fingerprint; therapeutic basis

中药谱效关系是李戎^[1]最早提出的, 它是指建立在中药指纹图谱的研究基础上, 最大限度地获取有用的化学信息, 将标示物质群特征峰的指纹图谱与药效结果联系起来, 为确立中药药效物质基础、制定反映产品内在质量的控制标准而进行的研究。基于传统理论和历代中医实践的中药, 无论单味药材还是复方制剂, 成分均为多组分的复杂体系, 评价其质量应采用与之相适应的、能提供丰富鉴别信息的检测方法。传统的单一成分的微观分析方法不足以解决这一问题, 建立的中药指纹图谱能较为全面地反映中药及其制剂中所含化学成分的种类与数量, 进而对药品质量进行整体描述和评价。然而,

指纹图谱虽是目前能够为国内外广泛接受的一种中药质量评价模式, 但单纯的化学成分指纹图谱还不能很准确地评价中药的成分与其药效之间存在的相关信息。所以, 进一步深入研究在此基础上探讨的新领域——“谱效关系学”成为必然。目前, 如何进行谱效关系研究尚未有统一认识和适用模式, 但最近几年于实验研究中运用谱效关系学的报道已逐渐增多, 笔者就近年来有关谱效关系研究的进展情况作一简要综述, 包括其建立基础——指纹图谱的研究、单味中药和中药复方的谱效关系研究思路, 并总结了目前常见的谱效关系研究的实验方法, 为研究中药的药效物质基础提供思路和借鉴。

基金项目: 黑龙江省科技厅青年科技创新基金(QC07C65); 黑龙江省教育厅青年基金(11531279); 哈尔滨市科技局科技创新人才研究专项基金(2008RFQXS106)

作者简介: 张丽杰, 女, 硕士生 Tel: 15104548137
Tel: (0451)86609936 E-mail: liulijuan1972@yahoo.com.cn

E-mail: lanseyewa@163.com

*通信作者: 刘丽娟, 女, 博士, 副教授

1 建立在指纹图谱研究基础上的谱效关系研究

1.1 指纹图谱的优势与不足

中药指纹图谱是指某种(或某产地)中药材或中成药经适当处理后,采用一定的分析手段,得到的能够标志该中药材或中成药特征的色谱或光谱的图谱,其作用主要是反映具有复杂成分的中药及其制剂内在质量的均一性和稳定性^[2]。中药材因生长年限、生长环境的变化而可能产生个体间较为明显的差异,但个体间必然有群体共有的相似性^[3],利用色谱技术对其进行指纹图谱分析是一种十分可行的质量控制模式,运用整体性与模糊性的基本属性,即物种特征的唯一性和同种个体间的相似性,为中药材和中成药提供综合的、宏观的和可量化的质量评价,是中药生产质量控制的一种新型标准,可使中药质量评价过程更加科学化、标准化^[4]。中药指纹图谱的建立,不仅全面反应了中药所含化学成分的种类和数量,并且进一步反映了中药的质量。随着鉴定技术和分析仪器的不断发展,利用中药指纹图谱技术解决中药成分难定、原理不清、疗效不稳定等难题已经成为现实,并且极大地推动了中药现代化的发展。然而,随着对指纹图谱的深入研究,它的局限性也逐渐显现出来。如王薇等^[5]指出中药指纹图谱与药理作用、化学成分之间的相关性并不明确,人们无法从指纹图谱中的某一个峰或某一段峰解析出它的药理作用,而指纹图谱只能作为一种鉴别手段,并不是说样品的指纹图谱与标准的指纹图谱完全相符就能说明样品与标准相符,因此,建立在化学成分模糊不清基础上的中药指纹图谱质量控制方法只能是一种过渡性质量控制方法,其本身有许多需要完善的地方。

1.2 谱效关系研究思路与进展

谱效关系的研究是将化学成分的研究与药理研究相结合,单独的化学成分研究与药理研究均不足以阐明药材或复方中药的药效物质基础。通过化学成分研究结合药理研究,能够讲清有效化学成分的整体疗效及其相互间的关系。2001年谢培山^[6]提出了中药指纹图谱的发展趋势:随着人们认识的深化、分析技术的快速发展和计算机功能的日益强大以及中药药理、生化和临床研究与中医理论的逐渐逼近和融合,指纹图谱将从质量“可视”逐步做到“谱”和“效”一致,即以完整的“谱”表征整体的“效”,也就是中国科学院

士卢佩章等指出的指纹图谱发展的高级阶段:指纹图谱特征和药效相关性研究、指纹图谱的生物等效性研究。中药指纹图谱质和量的特征和药效研究结果相联系,建立两者关联的数学表达式,即中药谱效学^[7]。中药谱效关系研究是中药现代化、国际化的一项重要内容,是近年来提出的能使中药的活性成分群整体特征精细表达与多指标、多靶点作用机制紧密相联系的方法之一。虽然谱效关系的研究是最近几年被提出和被倡导的全新的、处于学术前沿的中药现代化研究思路,但已有一些研究方法的实例,可以为谱效关系的研究提供思路。

1.2.1 单味中药“谱效关系学”方法的建立 李戎等^[1]较早系统地提出了“中药谱效学”,提出“谱效关系学”的研究是建立在中药指纹图谱研究的基础上,但是比指纹图谱更深一层的研究方向,是保证中药功效、提高中药工业整体水平和实现中药现代化、推进中药走向世界的关键环节。贺福元等^[8]提出应建立与动物(人)“证”模型相对应的状态函数关系式的现代中医药数理表述体系,再根据与“证”相一致所对应的基因表述特性蛋白质与效应体(药物)的齿合关系,按亲合色谱,以效应体靶向分离物——特性蛋白质为固定相,采用质量或效应型检测器,建立质量或效应指纹图谱,根据该指纹图谱和生物体状态函数值变化关系,揭示中药复方作用基础。刘荣华等^[9]以山楂叶为例,针对其抗冠心病的主要临床作用,以抗中性粒细胞呼吸爆发为生物活性评价指标,研究其HPLC指纹图谱的各指纹峰,建立各指纹峰面积与药效之间关系(峰效关系)的数学模型,再通过数学、化学计量学、计算机编程与模拟等手段将山楂叶的HPLC指纹图谱翻译成生物活性指纹图谱(包括药效指纹图谱和效价指纹图谱),为中药谱效关系研究提供了思路。卢红梅等^[10]将实验建立在鱼腥草注射液指纹图谱研究的基础上,对鱼腥草抗炎的主要药效进行研究,利用GC和GC-MS技术建立指纹图谱,再做动物实验对抗炎药效进行研究,最后将指纹图谱采用基于欧式距离和均连法的层级聚类分析(hierarchical clustering analysis)方法进行聚类,所有药效实验数据用SPSS 10.0软件处理,最后得出结论:在建立用于质量控制的鱼腥草注射液标准指纹图谱时,可以根据药效结果,考虑加大药效明显的色谱峰族的权重,而减小对

中药药效贡献小或者负贡献的色谱峰族的权重,以增加质量评价的科学性。所以,在实际指纹图谱建立过程中,必须全面考虑中药的各种药理药效,力争为全面评价一味中药提供有力的根据。

1.2.2 中药复方“谱效关系学”方法的建立 对中药复方的谱效关系学的研究,更要将“谱效关系”建立在中药指纹图谱研究基础上。应用色谱及其联用技术,最大限度地获取有用的化学信息,结合化学计量学的理论与方法,进行数据解析和特征信息的提取,合理优化、量化指纹图谱,建立多模式多柱色谱、多元检测、多水平评价的系统方法^[11]。同时,把能够反映中药复方“多组分多靶点的整合调节作用”特点的“识别指纹图谱”的表现形式用来控制中药复方制剂的质量,更具有实际应用价值。许刚^[12]研究指出,将柴胡与黄芩药材混合后,将其水提液部位分离成4部分,将这4部分进行正交配伍,所得到的各交互配伍组进行活性筛选,得到有效部位,从而得到有效部位所对应的指纹图谱。然后将有效部位的不同时间点的含药血清进行药理实验,得到表示各时间点血清的保肝效应的血清指纹图谱。结合各含药血清的保肝作用活性,利用双变量分析方法分析谱效相关性,得出柴胡-黄芩的有效部位的指纹图谱中,有2个峰所表征的成分是该药保肝作用的有效成分,2个峰中的1个峰所表征的成分是该药保肝作用的关键成分。这就使得中药指纹图谱不仅仅体现中药所含有的化学成分,而且还可表现出其药效是否符合标准,真正体现了中药的质量评价标准,即做到了将中药指纹图谱的“化学表观特征”推进到“药效表观特征”的层次上。孔维军等^[13]用HPLC建立左金丸及类方水提液的特征指纹图谱,计算各特征峰的相对峰面积,采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统A版计算类方间的相似度,用微量热法测定大肠杆菌在左金丸及类方水提液作用下的热谱曲线,得到相应的动力学参数,最后利用典型相关分析法将HPLC中各特征峰的相对峰面积与其相应的主要的动力学参数相关联,研究了它们之间的“谱-效”相关性,得出类方中的3个成分的含量差异是导致其生物热活性不同的主要原因,从化学角度阐明中药复方生物热活性及药效差异的物质基础,将常规的化学和生物研究与热化学结合进行谱效关系研究,寻找出药效的活性物质。梁逸曾^[14]利用化学计量学

方法,将中药指纹图谱中化学成分的变化和中药药效结果进行关联,建立了有实际意义的“谱效学”,为中药的质量控制和药效评价标准提供了规律性的科学依据。

1.2.3 当前常见的建立“谱效关系”的方法 目前,被大多数人选用的方法是:先将全方药做药效,然后把全方药经过不同的提取和分离后,将所得到的各个部分进行高效液相分析和药理实验,再利用数学软件和计算机功能,找出色谱峰与药效之间存在的关系。再进一步将分离得到的各个部分进行组合(常用的组合方法是正交分析法),然后进行高效液相分析和药理实验,再用数学相关分析找出组合后的组分与药效之间存在的关联性。主要流程见图1。

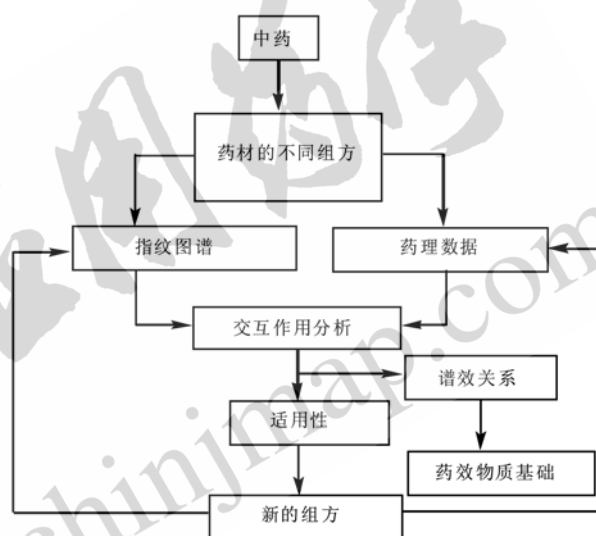


图1 实验方法流程图

Fig 1 Flow chart of experimental method

比较常用的处理指纹图谱数据与药理数据的方法有:回归分析、相关分析、灰关联度分析、聚类分析、主成分分析、典型相关分析等多种分析方法,采用这些方法将其指纹图谱数据与药效活性数据相结合建立数学模型,以此研究二者的相关性,即得到谱效关系。张磊^[15]还利用了化学计量学方法对黄芪注射液的HPLC指纹图谱与清除DPPH自由基作用进行了相关分析,为谱效关系的研究探索了一条新的有效途径。林立^[16]利用回归分析和相关分析方法将抗炎作用与祛痰作用的药理数据和HPLC图谱中的各色谱峰的峰面积相关联,进行谱效关系的研究。沈岚等^[17]将芍药、甘草的各效应组分按照不同配比组合成8组,分别做大鼠血清的胃底肌条解痉实验,将药效学信息

与各组血清的HPLC指纹图谱利用SPSS 13.0 for Windows 98/NT的双变量相关分析方法处理,找出有4个色谱峰与药效相关性较大,这个研究是血清指纹图谱与血清药效的直接相关分析,建立了一种体内活性物质谱效研究的新方法。尹莲等^[18]将加味四妙丸中各有效部位及各组方药中的有效部位进行正交组合,测定指纹图谱及评价抗炎、镇痛及降尿酸作用,再利用数理统计学的方法将药理数据与色谱峰的相对面积相关联,能够将有效部位群中的12个峰进行归属,并与抗炎、镇痛、降尿酸作用具有相关性。此项研究初步表征了加味四妙丸有效部位群的药效物质基础。

2 建立在谱效关系基础上的药效物质基础研究

药效物质基础研究始于20世纪90年代初,其研究方法包括组合化学技术、血清药理学和血清药物化学、多靶点的高通量筛选以及谱效关系分析。目前文献报道的谱效关系的研究多以探讨中药药效物质基础为目的。一般认为,中药复方物质基础就是复方中产生药效的化学成分^[19],早期研究倾向于药效追踪下的单个化学成分的研究,但是,随着研究的不断深入,人们逐渐认识到以追踪单体成分为目的的研究不能真正反应复方物质基础的本质,于是又提出了许多新的观点。谢鸣^[20]认为方剂物质基础是特定药效条件下的复方化学部位的配伍。为了更好的研究复方的药效物质基础,就应进一步更深入地研究复方的谱效关系学。宁黎丽等^[21]对吴茱萸汤的药效物质基础进行研究,通过谱效关系分析发现,在吴茱萸汤中能产生4, 9, 10和12号峰的化学成分对镇痛和止呕两个药理指标成正相关,说明这些物质是吴茱萸汤的主要药效物质。宋宗华等^[22]采用正交试验设计对苓桂术甘汤中组成药味进行加减拆方,选择小鼠常压耐缺氧、对抗氯仿所致小鼠心律失常和利尿3项药理指标对所得16个处方进行药理实验,同时对各处方进行指纹图谱研究,采用方差分析、逐步回归分析与典型相关分析将所得药理数据和组方以及指纹峰面积相关联,进行谱效关系分析,从50个色谱峰中选取17个作为药效物质基础。窦志华等^[23]亦采用相同的方法对复方五仁醇胶囊的组方进行谱效关系分析,从而得出保肝作用的药效物质基础来自君药五味子所含的木脂素成分。许良等^[24]采用多元线性回归分析法对蒙药森登-4汤谱效关系进行分析,初步判定原方中至

少有15种成分在协同作用,成为其抗炎镇痛的主要药效物质基础。

3 结语

谱效关系的研究实际上是数学相关分析与药学的一个交叉应用,它能够反映药物内部各成分与药效之间的相关性,但还没有把每一个成分都阐述清楚,只能体现某个组分与药效相关、或者相关性很大,或者是哪个组分更影响药效等,而且还没有达到阐明复杂成分协同作用的高度,这正是目前需要突破的难点所在,也是中药现代化的关键环节。另外,在谱效关系研究中指纹图谱技术和药效评价系统两者须紧密结合,其中药效评价的模型筛选和两者相关性的研究方法是重中之重,否则谱效关系就不能正确反映化学成分与药效的关系,其研究分析也失去了原有意义。

REFERENCES

- [1] LI R, YAN Z Y, LI W J, et al. The establishment of chromatographic pharmacodynamics [J]. Edu Chin Med(中医教育), 2002, 21(2): 62.
- [2] State Drug Administration. The technical requirements for fingerprint of traditional Chinese medicine injection (provisional) [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2000, 22(10): 671-675.
- [3] XIE P S. The concept, property, technology and application of chromatographic fingerprint identification of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2001, 26(10): 653-655.
- [4] XIE P S. On the feasibility of application of chromatographic fingerprint identification to herbal medication [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2000, 22(6): 391-394.
- [5] WANG W, KANG Y Y. The pros and cons of traditional Chinese medicine fingerprint and its application prospects [J]. Mod Tradit Chin Med(现代中医药), 2009, 29(2): 70-72.
- [6] XIE P S. A feasible strategy for applying chromatography fingerprint to assess quality of Chinese herbal medicine [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2001, 12(3): 141-151.
- [7] GU Y, FENG Y, LI Y M. The application of fingerprint in the study of the material basis for the efficacy of traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2007, 29(7): 1048-1051.
- [8] HE F Y, LUO J Y, LIU W L. Preliminary exploration of orientation and method of chromatographic pharmacodynamics of traditional Chinese medicine [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med(世界科学技术 中医药现代化), 2004, 6(6): 44-50.
- [9] LIU R H, YU B Y, CHEN L Y, et al. Relationship between HPLC fingerprint chromatogram and inhibitory effect on respiratory burst of rat PMN of leaves of crataegus [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(15): 1884-1889.
- [10] LU H M, LIANG Y Z, QIAN P. Profile-effect on quality control of Houptuynia cordata injection [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2005, 40(12): 1147-1150.
- [11] LIANG X M, XU Q. Strategy and methodology for analysis of active component fingerprint of traditional Chinese medicine

- [J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2003, 1(1): 57-60.
- [12] XU G. Study on effective fraction of Bupleurum chinese-Scutellaria balcalensis Georgi herbal pair for hepatoprotection and profile-effect [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2008.
- [13] KONG W J, ZHAO Y L, SHAN L M, et al. Spectrum-effect relationships between HPLC fingerprints and biothermological activity of Zuojinwan and its similar formulaes [J]. Acta Chem Sin(化学学报), 2008, 66(22): 2533-2538.
- [14] LIANG Y Z, GONG F, YU R Q. Chemometrics applied to researches on Chinese traditional medicine [J]. Prog Chem(化学进展), 1999, 11(2): 208-212.
- [15] ZHANG L. Study on Radix Astragali discrimination and relationship between chromatographic fingerprint and efficacy with chemometric [D]. Ji'nan: Shandong University, 2009.
- [16] LIN L, LIU X Q. Primary investigation on spectrum-activity relationship of Xiebai powder [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2009, 11(8): 35-38.
- [17] SHEN L, ZHANG L, FENG Y, et al. Study on fingerprints correlated with pharmacodynamic of *Paeonia lacliflora* and *Glycyrrhiza uralensis* effective compounds [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(22): 2658-2662.
- [18] YIN L, XU L, SHI L, et al. Study of screening effective compounds of Jiaweisimiaoan [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med (世界科学技术 中医药现代化), 2005, 7(4): 28-34.
- [19] WU K Y, LIANG G Y, JIN F Y, et al. Thoughts and methods in study on material foundation of medicinal effectiveness of compound prescriptions of Chinese medicine [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med (世界科学技术 中医药现代化), 2003, 5(6): 13-16.
- [20] XIE M. Discussion on the academic thinking and practice about developing new drugs based on TCM composite recipes [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med (北京中医药大学学报), 1996, 19(5): 15-18.
- [21] NING L L, BI K S, WANG R, et al. Methodological study on the material basis for the efficacy of the traditional Chinese medicine Wuzhuyu decoction [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2000, 35(2): 131-134.
- [22] SONG Z H, FENG D, XU J B, et al. Study on the compatibility and therapeutical basis of composite herbal medicines of Lingguishugan decoction [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2003, 25(2): 132-137.
- [23] DOU Z H, LUO L, DING A W, et al. Profile-effect between fingerprint and liver protection of serum containing compound Wurechun capsules [J]. J Fourth Mil Med Univ(第四军医大学学报), 2008, 29(2):116-118.
- [24] XU L, BI K S. Application of multiple linear regression analytical method to spectrum-activity relationship analysis of Mongolian preparation Sendeng-4 decoction [J]. Comp Appl Chem(计算机与应用化学), 2008, 25(10):1189-1192.

收稿日期: 2010-02-20