



· 学术探讨 ·

基于药物代谢组学的方剂配伍规律 及配伍科学价值揭示

王喜军^{1*}, 张伯礼²

(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 利用现代多维联用色谱技术, 研究不同配伍情况下茵陈蒿汤口服后体内成分及其动态变化规律, 阐明茵陈蒿汤有效成分的体内命运, 阐释了该方药物代谢层面的配伍意义; 同时利用代谢组学对整体代谢轮廓的描述, 评价复杂性多元(方剂成分及代谢产物)输入的调整带来整体效应的变化, 最大限度从对证候的整体效应变化层面揭示配伍意义。在此基础上, 提出了中医方剂药物代谢组学(pharmacometabolomics of chinmediformulae)的概念。

[关键词] 茵陈蒿汤; 代谢; 血清药物化学; 代谢组学; 中医方剂药物代谢组学

药物代谢(drug body fate)是研究表征药物体内命运的学科。广义的药物代谢包括药物代谢(drug metabolism)及药代动力学(pharmacokinetics), 研究药物吸收、分布、代谢和排泄等体内过程和动态规律的学科, 是阐释化合物成药性及药物作用规律, 先导化合物的发现及临床科学用药等问题不可或缺的关键技术。药物代谢组学即关注药物分子本身在体内的过程及代谢产物, 又关注药物分子或其代谢产物作用于生物体后机体代谢轮廓的变化, 以及药物代谢物与内源性小分子代谢物之间的关系。药物代谢组学是药物代谢与代谢组学结合, 也是药代学与药效学的结合(PK-PD)。

方剂是在中医理论指导下, 依据饮片的药性, 按照君、臣、左、使关系配伍形成的“有制之师”——中药组。配伍是方剂中药物的核心关系, 而配伍规律是理、法、方、药的核心内容, 是治病的核心理论和技术, 对它的理解和发展直接决定方剂的有效性, 亦直接决定组方设计的合理性, 更决定临床疗效及中药创新药物水平。

必须承认和坚信, 配伍必有规律存在, 必有其客观的物质基础, 而这种规律的物质基础和作用机制也一定能通过建立一定的方法学研究揭示出来。方剂能发挥符合证候治疗要求的效果, 取决于方剂药物与量的关系, 不同质与量药物的组合, 就会形成不同方剂, 因此也就会产生对应与证候的不同治疗效果。方剂配伍规律的研究不能停留于配伍过程中饮片层面药物与量变化(称其谓表观配伍, apparent compatibility), 更应关注药物成分吸收的影响, 注重体内直接

作用物质的变化, 及与之相应的效应变化规律(称其谓内在配伍, intrinsic compatibility)。基于上述理念, 笔者认为方剂配伍规律研究必须以中医理法方药理论为指导, 在正确认识方剂的配伍意义和方剂化学研究(constituents *in vitro* and *in vivo*)的基础上, 利用现代多维联用色谱技术, 研究不同配伍情况下方剂口服后体内成分及其动态变化规律, 阐明方剂成分的体内命运, 阐释药物代谢层面的配伍意义; 同时利用代谢组学对整体代谢轮廓的描述来评价复杂性多元(方剂成分及代谢产物)输入的调整带来整体效应的变化, 克服有限指标的局限, 最大限度从对证候的整体效应变化层面揭示配伍意义。

1 基于中药血清药物化学的茵陈蒿汤体内药物代谢研究

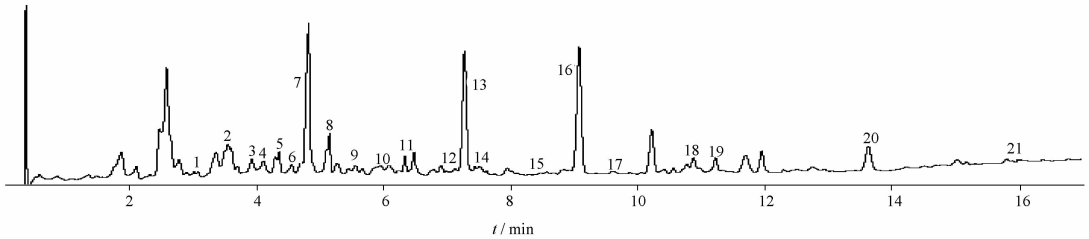
茵陈蒿汤始载汉代张仲景《伤寒论》, 主治湿热黄疸。课题组利用UPLC/MS技术, 从茵陈蒿汤体外样品中分析鉴定45个化合物, 表征了口服茵陈蒿汤后大鼠血中21个移行成分(图1)^[1]。通过研究配伍对血中移行成分的影响, 发现血中21个化合物中, 8个化合物只有在茵陈蒿汤全方配伍时才能选择性地吸收入血, 且均具有显著的保肝利胆活性^[2], 配伍有效地表达了与治疗目标相关的代谢取向。通过多成分经时变化规律的研究, 从21个体内物质中确定了效应-动力学的标记成分, 6,7-二甲氧基香豆素(dimethylesculetin)、栀子苷(geniposide)和大黄酸(rhein)。

6,7-二甲氧基香豆素和栀子苷分别来源于君药茵陈蒿和臣药栀子。分析大鼠灌胃给药后, 2种活性成分在方剂配伍作用下的药代动力学行为显示, 随着方剂组成的改变, 6,7-二甲氧基香豆素和栀子苷的药代动力学行为有显著差异; 然而, 每种组方药物均起到了促进6,7-二甲氧基香豆素和栀子苷吸收、延缓消除, 增加AUC等改善药代动力学行为^[3], 这些协同增效作用在一定层次和环节昭示了茵陈蒿汤配伍

[稿件编号] 20091206010

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2005CB523406)

[通信作者] *王喜军, 教授, 博士生导师, 主要从事中药血清药物化学及方剂配伍规律研究



1. 苦楝红花酸; 2. 绿原酸; 3. 6-甲基香豆素-7-羟基硫酸酯; 4. 7-甲基香豆素-6-羟基硫酸酯; 5. 京尼平龙胆双糖苷; 6. 未鉴定; 7. 京尼平苷; 8. 红花黄色素 A; 9. 茵陈烯炔啉 A; 10. 异秦皮啉; 11. 槲皮素 3-O-葡萄糖苷; 12. 未鉴定; 13. 6,7-二甲氧基香豆素; 14. 2,5-二甲基-7-羟基香豆素; 15. 未鉴定; 16. 未鉴定; 17. 梅笠草酮; 18. 6, 去甲氧基茵陈色原酮; 19. 茵陈色原酮; 20. 大黄酸; 21. 大黄素。

图1 口服茵陈蒿汤后大鼠吸收入血成分及其代谢产物色谱分析图

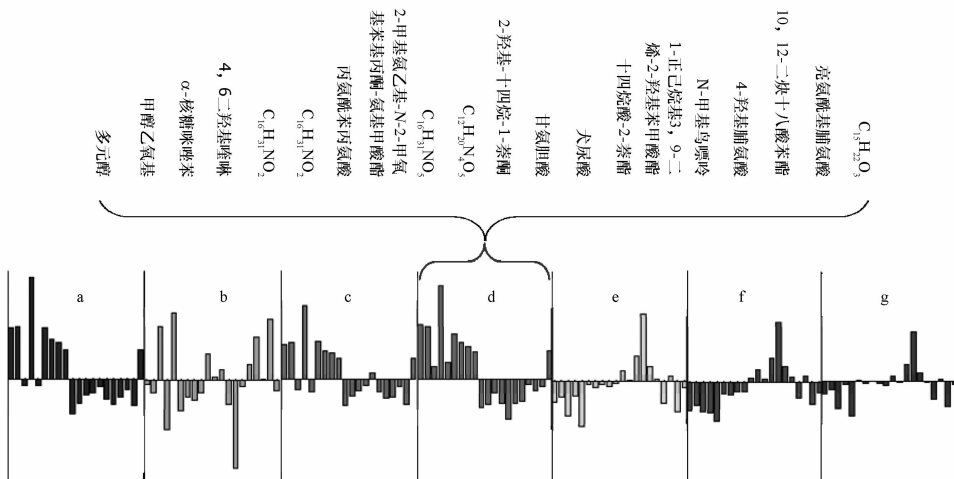
的科学价值。

2 基于代谢轮廓评价茵陈蒿汤配伍与整体效应变化关系

以往的研究多基于特定动物模型结合其相关的效应指标,分析不同配伍对效应影响。但指标的选择具有片面性和或然性,难以反映配伍对证候效应的整体改变规律。而基于系统思想和整体观的代谢组学着眼于机体内源性小分子代谢轮廓及代谢产物的轨迹变化,去衡量和定义机体的状态。其方法客观、无歧视地反应生物机体的整体功能状态,是目前评价中医方证相应规律的最有效途径。以茵陈蒿汤,以及其3个效应-动力学标记物6,7-二甲氧基香豆素,栀子苷和大黄酸进行配伍,利用代谢组学方法研究全方配伍及体内直接作用物质配伍对大鼠肝损伤模型代谢轮廓的影响,以及茵陈蒿汤与其体内直接作用物质间的对应关系。

对空白组和模型组代谢物色谱图经标准化处理后的数据进行分析,利用PCA模式绘制出反映组间离散程度的得分图(Score plot),标示离子对离散趋势贡献程度的载荷图

(Loading plot);通过OPLS分析,获得S-plot,以显示离子对离散趋势贡献程度,结合相关反应贡献度的VIP值,在尿液和血液中分别确定20和12个具有显著贡献率的生物标记物。口服以茵陈蒿汤,以及其3个效应-动力学标记物6,7-二甲氧基香豆素,栀子苷和大黄酸进行配伍组方后,有很好的预防CCL₄诱导大鼠肝损伤的作用,使动物状态保持与正常动物相近的状态。预防给予6,7-二甲氧基香豆素后,使动物状态在一定程度上和一定方向上远离模型状态,配伍京尼平苷或大黄酸后增加了其预防作用,但均是通过其他途径起到肝损伤发生的作用。配伍京尼平苷和大黄酸形成茵陈蒿汤有效成分新组方后综合干预模型发生的各因素,直接阻断动物机体从正常状态向疾病状态的发展,起到预防疾病发生的作用。结果表明通过药物代谢选择的标记成分及其配伍能够反映饮片的配伍意义。通过相关性研究,从深层次揭示体内成分对配伍后的贡献及途径(图2)。



a. 空白; b. 模型; c. 茵陈蒿汤粉; d. 有效成分新组方; e. 6,7-二甲氧基香豆素 + 京尼平苷; f. 6,7-二甲氧基香豆素 + 大黄酸; g. 6,7-二甲氧基香豆素。

图2 生物标记成分及不同配伍组成与效应相关性图



3 综合概论

基于中药血清药物化学的方剂药物体内代谢和代谢组学研究,即可从体内成分及其代谢产物的变化规律层面阐明配伍规律,同时结合代谢组学对整体代谢轮廓的描述来评价复杂性多元(方剂成分及代谢产物)输入的变化带来整体效应的变化,克服有限指标对效应评价的局限,最大限度地体现方剂对证候的整体作用。二者的结合系统从PK-PD结合角度解读方剂配伍对体内直接作用物质的影响,以及体内直接作用物质与整体效应的关系。这一研究途径或方法可称为方剂药物代谢组学(pharmacometabolomics of chinmediformulae),即从方剂体内多成分分析入手,结合代谢轮廓与成分的关系分析,揭示方证相应及成分效应相应的配伍关系,

多分量-时-效相互关系,评价方剂的ADME/T的药理学特性,解决方剂设计、临床合理用药及基于经方的药物发现等科学问题的应用学科。

[参考文献]

- [1] Wang X J, Sun W J, Sun H, et al. Analysis of the constituents in the rat plasma after oral administration of Yinchenhao Tang by UPLC/Q-TOF-MS/MS[J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 46:477.
- [2] Wang X J, Sun W J, Sun H, et al. Effects of formula compatibility of Yinchenhao Tang on the constituents absorbed into blood of rats [J]. Chin J Nat Med, 2008, 6:43.
- [3] Lv H T, Sun H, Sun W J, et al. Pharmacokinetic studies of a Chinese triple herbal drug formula[J]. Phytomedicine, 2008, 15(11):993.

Elucidation of compatibility principle and scientific value of Chinese medical formulae based on pharmacometabolomics

WANG Xijun^{1*}, ZHANG Boli²

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, 150040, China;

2. Tianjin University of Chinese Medicine, Tianjin, 300193, China)

[Abstract] By using UPLC coupled with MS, the analysis of the constituents absorbed into blood after oral administration of Yinchenhao decoction with different combination had been carried out, the body fate of constituents detected in the blood was elucidated also; At the same time, the overall body responses after multi-input of the medical formulae were evaluated by metabolomic analysis. These data explained the scientific values in both drug metabolism and metabolomics, the results had given some new evidences for the potentialities of pharmacometabolomics to elucidate the compatibility principle of Chinese medical formulae. As a conclusion, concept of "Pharmacometabolomics of Chinmediformulae" has been defined.

[Key words] Yinchenhao tang; serum pharmacology; metabolism; metabolomics; pharmacometabolomics of chinmediformulae

doi: 10.4268/cjcm20101028

[责任编辑 周驰]