

综 述

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.06.022

方剂配伍实验研究方法概述

张静宇¹, 年莉^{2*}, 尹进¹

(1. 天津中医药大学研究生院, 天津市南开区鞍山西道 312 号, 300193; 2. 天津中医药大学中医学院)

摘要 方剂配伍的实验研究经历了从方剂的单味药到有效部位再到化学成分研究、从体外到体内再到提取血清体外药物化学研究、从单一方法研究到多学科技术融合的历程, 近年来用于方剂配伍实验研究的方法主要集中在剂量配比研究、药对配伍规律研究、药理学研究、拆方研究、整方加味研究、化学成分研究、中药复方组分配伍研究、复方药代动力学研究及中药血清药物化学研究 9 个方面。各种方法各有其优势, 但也存在着研究不具有普遍性、脱离中医理论、研究局限等诸多问题, 因此, 如何实现多方法多手段的相互融合、避免单一方法的局限性仍是方剂配伍实验研究方法有待突破的一个重要问题。

关键词 方剂学; 配伍规律; 中药复方组分; 中药血清药物化学

方剂是治法的体现, 是根据配伍原则, 总结临床经验, 以若干药物配合组成的药方^[1]。方剂作为中医学预防和治疗疾病的一种应用形式和主要手段, 一直为历代医家所重视。从现存最古老的方书《五十二病方》, 到现代的《中医方剂大辞典》, 历代记载方剂的医籍可谓汗牛充栋, 据统计, 仅《中医方剂大辞典》一书所载历代方剂就有 10 万余首^[2]。如此庞大的方剂数量, 其药物配伍绝不是随意的组合, 而是医家多年临床经验的总结, 其中必然存在某种客观规律。方剂的配伍规律一直是古今医家研究探寻的焦点, 也是近年来方剂研究的重点课题, 研究揭示这种规律, 将会促进中医学的发展。除了单纯的文献理论研究, 近年来越来越多的科研工作者着眼于运用现代科学技术手段进行研究, 尤其是药理学、分子生物学、生物化学、药代动力学、计算机等学科与方剂学科的相互渗透, 使所得研究结果更加客观化, 也为方剂配伍规律赋予了更加科学的时代内涵。本文就近年来有关方剂配伍的实验研究方法作一回顾, 并对其中存在的主要问题探讨如下。

1 剂量配比研究

古有“汉方不传之秘在于量”之说, 历代医家对中药复方运用时剂量变化对功效的影响均有所

认识。有学者通过比较药物不同用量配伍对药效的影响来寻找最佳剂量配比关系, 从而探讨中药复方的综合药效, 并取得了一定进展。如华永庆等^[3]通过曲面分析预测, 验证了当归芍药散的最佳配比为当归 8.28 : 芍药 13.3 : 川芎 4.6。商洪才等^[4]建立了适用于效应明确的中药小复方配比优选的试验设计方法, 即基线等比增减设计法, 用于中成药二次开发的药物配比优化方案。该法的特征为 A、B 两种药物 (君药、臣药) 在总量恒定的前提下以《中华人民共和国药典》记载的配比为基线, 其间 A 药含量以 10% ~ 30% 递减, B 药含量以 10% ~ 30% 递增; 或者 B 药含量以 10% ~ 30% 递减, A 药含量以 10% ~ 30% 递增向两侧扩展, 最后扩大到极点, 两侧极点分别为单纯 A 药和单纯 B 药。以 A、B 两种药物若干种配比分组, 根据研究目的以两药主要效应和次要效应为评价指标, 通过综合信息分析, 进行各配比的优化筛选。

2 药对配伍规律研究

药对是历代医家长期医疗实践的经验总结和精华所在, 即以针对一定证候特点所采取相应治法为前提, 结合药味的性能和功用选择性地将 2 药味进行组合配对, 是方剂配伍的最小组方单元。研究方剂中所含药对的最终目的是为了更好地分析复方配伍规律, 通过对药对配伍规律的实验探讨, 有助于

* 通讯作者: nianli9@126.com, (022) 59596189

论证药对配伍的科学性和严谨性,揭示药对配伍的内在物质基础,为指导临床遣方用药提供实验依据。乌头与半夏是中药“十八反”的药对之一,常作为反药药对应用于方剂中,如用于治疗膝骨性关节炎病的方剂“乌头半夏散”^[9]。有学者对乌头与半夏间半量、等量、倍量配伍剂量外用对镇痛效应和皮肤局部吸收急性毒性的影响进行研究得出结论:乌头与半夏比例 1:1 时镇痛作用最强,且毒性较小,乌头与半夏在等量时拟有相互抑制毒性作用,随着剂量的变化毒性拟有增加的趋势,特别是半夏剂量超过乌头时毒性增加最为明显^[9]。

3 药理学研究

方剂配伍的药理学研究,即从药效学角度对方中各药(或药组)的作用、地位及其相互关系进行探讨,以证明方剂中各药味间具有协同或拮抗的相互作用。近年此类研究发展较快,研究水平已从动物的整体、器官组织水平延伸到血清药理、细胞、分子水平等。

3.1 普通药理学研究

冰片及川芎是速效救心丸的主要成分,黄萍等^[9]通过药理学实验发现,冰片与川芎配伍可明显增加大鼠血浆及脑组织环磷酸腺苷(cAMP)的含量,并升高脑组织 cAMP/cGMP 的比值,作用明显优于单用川芎或冰片,提示冰片与川芎配伍对缺血性脑组织损伤的保护作用可能是通过增加大鼠血浆及脑组织 cAMP 的含量实现的,而伍用冰片后可增强川芎对脑缺血损伤的保护作用。

3.2 血清药理学研究

中药血清药理学是指将中药或中药复方经口给动物灌服,一定时间后采集动物血液,分离血清,以含药血清代替中药粗提物作为药物源加入离体反应系统中从而研究其药理作用的一种半体内实验方法^[9]。由于中药大多情况下是口服给药,需经胃肠道和肝脏代谢,最后进入血液的并不完全是原药成分;且方剂成分复杂,粗提物理化性质(如杂质、酸碱度、鞣质等)并不十分恒定,体外实验结果可能影响药效的判断和评价,因此,血清药理学在一定程度上更能真实地反映药效。刘喜平等^[9]研究半夏泻心方不同配伍药组含药血清对体外人胃癌 BGC-823 细胞凋亡的影响及其机制,发现半夏泻心方中辛开、苦降的配伍形式具有抑制体外人胃癌 BGC-823 细胞增殖、诱导细胞凋亡的作用,辛开、苦降配伍后有显著的协同增效趋势,而其他

配伍药群可能存在拮抗作用,因此认为,辛开苦降法可能是中医药防治胃癌的主要治法之一。

4 拆方研究

近年来的拆方研究主要有以下几种方法:1) 成组拆方法:如有学者将小建中汤进行拆方研究,发现白芍、甘草药对的镇痛作用最强,桂枝、生姜与大枣也具有一定的镇痛作用。对脾虚模型肠推进率的影响中,以生姜、大枣的作用最为显著,而白芍、甘草药对亦具有一定的抑制肠推进作用。尽管单独指标分析各因素存在各自的优势,但综合指标分析来看,其结果仍以全方的作用最佳^[10]。2) 撤药法:撤药法就是将方中某味药物撤除后的药效与整方及其单味药药效进行比较,观察某味药对整方药效的影响。如马艳春等^[11]通过麻黄汤不同药物及剂量的增减变化,比较各组实验动物祛痰、发汗等药效学指标的差异,来研究方中诸药君、臣、佐、使地位的变化,进一步阐释君臣佐使配伍规律,结果显示,在促进酚红排泄量方面,麻黄汤原方配伍最佳。3) 正交设计析因分析法:如郑红刚等^[12]通过建立 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型,采用正交设计法分组,观察不同组分中药对 Lewis 肺癌小鼠瘤体的影响,采用析因分析法评价中药复方肺癌平膏组方配伍的合理性,结果表明,该方中的解毒类药物发挥主要抑瘤作用,而益气类药物可协同提高其作用。④均匀设计法:均匀设计法是将数论和多元统计相结合的一种实验设计方法,适用于多因素、多水平的实验研究。该方法舍弃了正交设计的“整齐可比”特点,而让试验点在试验范围内充分“均匀分布”,所以需要安排的试验次数仅与水平数相等(而正交设计试验次数是水平数平方的整数倍),大大减少了试验次数并节省了大量的时间和经费。如王秀凤等^[13]将肾气丸根据其补阴药、补阳药和边缘药的构成进行拆方,建立了基于粗糙集的决策规则模型,通过属性约简之后提取出有效的决策规则,根据决策规则分析补阴药、补阳药和边缘药三者之间的相互作用,最终结论为:肾气丸中补阴药和补阳药之间为相互协同作用,同时边缘药对补阴药和补阳药亦有促进作用,肾气丸的配伍应注重阴阳并补、阴阳互济,补阴补阳同样重要。

5 整方加味研究

立足于中医病证病机与治疗该证同类方剂中药物配伍高度统一的规律,在原方基础上加入不同类型药物,从而改善、改变原方的功用主治以适应病

情的变化,并从药理学角度给予科学验证。如梁煜等^[14]观测了白术茯苓汤及其与补气药、除湿药的配伍对脾虚大鼠胃泌素(GAS)、胃动素(MTL)、血管活性肠肽(VIP)含量的影响。结果显示,白术茯苓汤对脾虚大鼠胃肠激素的紊乱有改善作用,综合配伍组对以上指标的改善作用优于白术茯苓汤组及其他配伍组,表明在白术茯苓汤基础上配伍补气药、除湿药,并以补气药为主对于纠正胃肠功能紊乱的作用较好。

6 化学成分研究

方剂所含的有效成分是其治疗疾病的物质基础,单味中药组成方剂后,功效发生变化的本质是化学成分的改变,因而化学成分研究在方剂配伍研究中占有重要地位。配伍过程中发生的物理化学变化可能使有效成分、有毒成分的溶出率升高或降低,可能产生不溶性成分或是新的化合物,亦有可能对原有化学成分影响甚微。将单味药的化学成分与中药配伍以后的化学成分对比发现,中药复方的配伍不是药物数及量上的简单相加,也不是机械的毒副作用的抵消,而是通过药物之间的配伍作用使之发生质的改变。具体有以下几种情况:1) 复方中某些化学成分在配伍后含量升高或降低:如邹佳丽等^[15]对大黄黄连泻心汤配伍前后主要成分的变化进行研究,发现在大黄及黄连配伍黄芩前后,溶液中主要化学成分发生了明显的变化,如君药大黄中的蒽醌类成分明显增加,而黄连生物碱中的小檗碱含量明显减少,说明大黄黄连泻心汤的组方中是否配伍黄芩将对该方的化学成分产生明显影响。2) 复方煎剂的化学成分与药材单煎基本保持一致:如吴昭晖^[16]采用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。3) 复方中化学成分在配伍过程中发生化学成分转化:如艾芸^[17]采用高效液相色谱法,在定量研究氧化苦参碱向苦参碱转化过程的同时,分析其他化学成分的变化,研究结果表明,含有苦参的复方在配伍过程中伴随着氧化苦参碱含量的减少、苦参碱含量增加,同时也存在原有其他成分的消失和新成分的产生。原因是在煎煮过程中发生了氧化还原反应,氧化苦参碱作为氧化剂被还原成苦参碱,同时苦参中的还原性成分被氧化生成新产物。此研究结果可以证明,中药复方中有氧化还原反应

的发生。4) 配伍沉淀物的生成:沉淀反应是中药配伍共煎时最常见的化学变化,许多药物间的配伍在煎煮过程中都会产生沉淀,如黄连与黄芩、大黄之间,大黄与茵陈、金银花之间,苦参与大黄、黄芩、栀子之间,甘草与芒硝、麻黄、黄连之间,以及一些常用方剂如泻心汤、葛根芩连汤、白头翁汤在煎煮时都会产生沉淀。孙启明^[18]将中药沉淀性配伍概括为6类,即含鞣质与生物碱成分中药配伍、含苷类与生物碱成分中药配伍、含有机酸与生物碱成分中药配伍、含鞣质与蛋白质成分中药配伍、含鞣质与苷类成分中药配伍和含鞣质与其他成分中药配伍。有些沉淀在胃肠道中可逐渐溶解,重新被机体吸收,基本不影响其药效,同时还可起到缓解药性的作用,但有些沉淀很难在消化道中被机体吸收,如对机体不利的成分生成沉淀,则可起到减毒作用,如为有效成分相互反应生成沉淀,则提示该药在制剂过程中应单味提取。有关沉淀物的化学研究有较多报道,而配伍沉淀物药效方面报道较少,有待进一步研究。

7 中药复方组分配伍研究

中药复方组分配伍是以中医学理论为基础,以复杂性科学思想为指导,以临床有效的名优中药二次开发为切入点,遵循传统方剂的配伍理论与原则,在基本搞清方剂药效物质和作用机理的基础上,以组效关系为基础,优化设计,针对临床适应病证,筛选有效的中药处方^[19]。中药有效组分配伍的基本方式可分为4种^[20],即单味药标准组分配伍、中药复方有效组分配伍、构成复方的有效组分配伍及针对病理环节的有效组分配伍。对于中药复方组分的研制方法可以分为5个步骤^[19]:1) 标准组分的提取分离;2) 活性评价;3) 组分配伍配比的优化;4) 多目标优化和信息综合处理;5) 组分中药的机理阐明。

虽然中药有效组分的功效并不完全等同于中药饮片,中药有效组分配伍组方的功效亦不能完全等同于中药饮片的配伍功效,但这一研究模式相对于其他方剂配伍研究仍具有不可比拟的优势:一是可望研究出成分清楚、作用靶点明确、作用环节及机制清楚、质量可控的中药有效组分配伍复方,这种组方更易于现代社会所接受;二是可根据特定目的,研究针对性强的高效中药有效组分配伍复方,避免饮片配伍组方作用多样化但效应不强、针对性差的缺点。安全、有效并具有特定功效是中药复方

组分配伍所追求的主要目标,所以中药复方组分配伍研究可为方剂配伍研究带来突破性的进展。如有研究证实,黄芩苷、淫羊藿苷和黄芪甲苷是治疗变应性鼻炎经验方复方别敏片中的有效成分,当黄芩苷、淫羊藿苷、黄芪甲苷的配伍比例为 1 : 2.14 : 2.65 时,抑制致敏小鼠脾淋巴细胞增殖的作用最为明显^[21];郭晓谨等^[22]研究通络救脑注射液中三七总皂苷、栀子苷组分配伍对拟缺血损伤大鼠脑微血管内皮细胞氧化应激反应的药效特征,发现栀子苷在降低脂质过氧化的产物丙二醛(MDA)含量上优于三七总皂苷,而三七总皂苷在提高氧自由基清除酶超氧化物歧化酶(SOD)活性上优于栀子苷,通络救脑注射液均优于两有效组分,显示了中药组方配伍发挥整合调节的治疗优势。

8 复方药代动力学研究

运用药代动力学研究,定性、定量地分析复方配伍后化学成分在体内的吸收、代谢、排泄等变化,能够反映其在体内的作用过程。如丹芎方是以隐丹参酮(丹参的主要脂溶性活性成分之一)为主要活性成分并与丹参水溶性组分及川芎主成分阿魏酸按一定比例组成的处方制剂,比较单用隐丹参酮和丹芎方给药后隐丹参酮在家兔体内的药代动力学变化可以发现,与单独给药相比,经静脉单次给药后丹芎方中的其他化学成分能够减慢隐丹参酮在家兔体内的分布和消除速度^[23]。提示采用药代动力学研究可以真正阐明中药配伍后发挥药效的实质基础。

9 中药血清药物化学研究

中药血清药物化学方法是在全面分析复方血成分、确定复方药效物质的基础上,通过主要药效成分的体内动态、成分间相互作用及消长规律的研究,来科学地诠释复方的配伍规律^[24]。有研究指出,中药血清药物化学的成分及其动态变化研究可在某种程度上解决一个复方的君、臣、佐、使确立及各药的配伍意义问题,即以血中主要移行成分的来源生药确定君药,其他药物亦根据血中移行量和活性来确定^[25]。如通过对茵陈蒿汤不同配伍的体外体内样品进行分析比较,检测并鉴定了茵陈蒿汤大鼠血中移行成分 21 个,其中有 8 个成分只有在茵陈蒿汤全方配伍的情况下才能被机体吸收,而这 8 个成分大都具有较强的保肝利胆活性,说明以湿热黄疸为主治证候的茵陈蒿汤口服后,由于配伍的作用,机体选择性吸收具有保肝利胆活性的成分入

血发挥药效,达到治疗疾病的目的^[26]。此外,对银翘散的血清药物化学成分进行研究,从灌胃银翘散的大鼠血中发现了 15 个入血成分,其中 3 个为新产生的代谢产物;12 个为银翘散所含成分的原型,其中有 1 个成分是来自金银花中的绿原酸^[27],此结果在某种程度上为阐明该方配伍机制及药效物质奠定了实验基础。

10 讨论

配伍是方剂中药物的核心关系,而方剂配伍规律是理、法、方、药的核心内容,对它的理解和发展直接决定着组方设计的合理性,亦决定了方剂的有效性。必须承认,配伍必有规律存在,而这种规律性也一定可以通过恰当的方法揭示出来。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的方剂,因此,也就产生对应不同证候的不同治疗效果。

目前有关方剂配伍的实验研究虽取得了一定的成绩,各种方法各有其优势,但也暴露出一些问题。1) 药对研究虽从一个侧面反映出复方药效是由药对药效相加、相乘、拮抗所产生的,但并非所有复方均由药对组成,故不具有普遍性。2) 药理学研究主要以某种药效为指标,这就不能从宏观调节水平进行药效分析,脱离了中医“证”的概念;且对方剂的物质基础与药效之间的内在关系认识不清,难以从根本上阐明方剂配伍规律及其科学内涵。3) 拆方研究在阐明古方尤其是经方配伍的科学性、寻找复方增效减毒作用的最佳组合、确定方中起主要作用药物或有效成分、寻找方中药物的最佳剂量配比关系和精减方剂等方面取得了确实的成效,但不可否认的是,拆方研究打破了原方的整体性,可能会逐渐脱离中医理论,最终导致评价指标与方剂所治疾病的病机不符,因而所得结论或许不能完全反映原方剂的本质内涵,更难以深入揭示复方配伍的普遍规律。4) 中药复方组分配伍研究所得出的中药处方具有药效物质基本明确、作用机理相对清楚、剂量准确、质量可控、针对性强等优点,但现阶段多数研究只局限于小复方,且存在着临床功效反馈信息量不足、安全性研究薄弱等问题。5) 复方药代动力学研究则存在着以个别成分的药代动力学特征代表复方药代动力学规律的问题。因此,如何实现多方法多手段的相互融合、避免单一方法的局限性就显得尤为重要。

综上,方剂配伍的实验研究经历了从方剂的单味药到有效部位再到化学成分,从体外到体内再到提取血清体外药物化学研究,从单一方法研究到多学科技术融合的历程,在不同层面和不同角度上均取得了显著的进展,但仍存在许多问题,尤其是在方法学上还有待于新的突破。

参考文献

- [1] 李经纬,余瀛鳌,蔡景峰,等. 中医名词术语精华辞典 [M]. 天津:天津科学技术出版社,1996: 200.
- [2] 彭怀仁. 中医方剂大词典 [M]. 北京:人民卫生出版社,1993.
- [3] 华永庆,谢海棠,段金廛,等. 当归芍药散治疗痛经的方药量效关系研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14(5): 557-563.
- [4] 商洪才,张伯礼,王永炎,等. 一种适用于中药小复方配比优选设计方法的建立 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(3): 1-3.
- [5] 龚可,张世俊,何光星,等. 反药“乌头半夏散”镇痛及皮肤急性毒性实验研究 [J]. 黑龙江中医药, 2009 (4): 39-41.
- [6] 龚可,何光星,张世俊,等. 乌头与半夏配伍外用镇痛疗效及皮肤急性毒性研究 [J]. 四川中医, 2009, 27 (4): 54-56.
- [7] 黄萍,吴清和,荣向路. 冰片与川芎配伍对大鼠血浆及脑组织 cAMP/cGMP 的影响 [J]. 中药药理与临床, 2004, 20(2): 8-9.
- [8] 黄臣虎,陆茵,高晓君,等. 中药血清药理学研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 266-271.
- [9] 刘喜平,李沛清,席时燕,等. 半夏泻心方配伍与诱导 BGC-823 细胞凋亡关系的血清药理学研究 [J]. 中医杂志, 2006, 47(2): 134-137.
- [10] 陶玲,柏帅,沈祥春. 小建中汤组方配伍效应规律分析 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 92-94.
- [11] 马艳春,肖洪彬,郑春英,等. 麻黄汤配伍规律的实验研究 [J]. 中医药研究, 2002, 18(2): 36.
- [12] 郑红刚,周雍明,朴炳奎,等. 基于正交设计析因分析法评价肺瘤平膏的组方配伍 [J]. 中医学报, 2014, 29(2): 163-165.
- [13] 王秀凤,张磊,唐小娅,等. 基于粗糙集及均匀设计拆方的肾气丸配伍规律研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(5): 850-852.
- [14] 梁煜,贾波,李晓红,等. 白术茯苓汤及其与补气药、除湿药配伍对脾虚大鼠胃肠激素的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2002, 10(3): 142-144.
- [15] 邹佳丽,黄萍,袁月梅,等. 大黄黄连泻心汤不同配伍浸渍剂中主要化学成分变化研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2009, 11(2): 263-268.
- [16] 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 [J]. 广州:第一军医大学, 2007.
- [17] 艾芸. 苦参配伍后化学成分变化的研究及丹参素衍生物的合成 [J]. 西安:西北大学, 2006.
- [18] 孙启明. 中药沉淀性配伍的研究 [J]. 中药通报, 1985, 10(1): 26-30.
- [19] 张伯礼,王永炎,商洪才. 组分配伍研制现代中药的理论和方法 [J]. 继续医学教育, 2006, 20(19): 89-91.
- [20] 杨金果,李珩,李运伦. 中药有效组分配伍的研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2012, 46(3): 90-93.
- [21] 弓唯一,张新民,沈自尹,等. 复方别敏片中黄芩苷、淫羊藿苷和黄芪甲苷配伍比例的优化 [J]. 中西医结合学报, 2010, 8(6): 541-547.
- [22] 郭晓谨,李兴广,李卫红,等. 三七、栀子组分配伍对拟缺血损伤脑血管内皮细胞氧化应激反应的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(2): 215-216.
- [23] 李晓莉,李晓蓉,王丽娟,等. 单用与复方给药后隐丹参酮在家兔体内的药物动力学比较 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23(8): 1102-1105.
- [24] 陈学习,郑燕慧,施荣枫. 方剂配伍规律现代研究思考与展望 [J]. 中国当代医药, 2010, 17(7): 8-10.
- [25] 王喜军. 中药及中药复方的血清药物化学研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2002, 4(2): 4-8.
- [26] 王喜军,孙文军,孙晖,等. 茵陈蒿汤不同配伍变化对大鼠血中移行成分的影响 [J]. 中国天然药物, 2008, 6(1): 43-47.
- [27] 姜霞,何再安,刘焱文. 银翘散血清药物化学研究 [J]. 湖北中医学院学报, 2007, 9(4): 15-16.

(收稿日期: 2014-07-24; 修回日期: 2014-09-16)

编辑: 崔京艳

欢迎投稿

欢迎订阅