

代谢组学法在中药方剂中的应用概况

赵群菊, 邱林, 李美红, 胡方林

(湖南中医药大学, 湖南 长沙, 410208)

[关键词] 代谢组学; 中药方剂; 应用研究; 综述; 学术性

[中图分类号] R289.5 [文献标识码] A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.05.098

代谢组学是在20世纪90年代中期发展起来的,是定性、定量分析某一生物或细胞中相对分子量<1000的小分子内源性代谢产物的一门新学科。近几年来有不少学者将代谢组学技术引入到中医药的研究中并取得显著收效。代谢组学为中医药的发展开辟了一条通往国际现代化的新道路。将代谢组学法运用到中药方剂多组分、多通道、多靶点治疗协同性作用机制中,是目前中药方剂重点研究内容。

1 代谢组学的概念

代谢组学的概念在20世纪末初次由Jeremy Nicholson教授^[1]的研究小组提出。代谢组学是一门“在新陈代谢的动态过程中,系统研究代谢产物的变化规律,揭示机体生命活动代谢本质”的科学^[2-4],随着代谢组学概念的提出,开辟了分子生物学又一新篇章。

代谢组学与基因组学、蛋白质组学共同构成了分子生物学的主体成分。代谢组学发展更为活跃且迅速,主要有几个显著的优势:(1)代谢组学相比基因组学、蛋白质组学要简单,基因和蛋白的微小变化通过代谢物被放大,通过对代谢物的直接分析,使检测更容易;(2)代谢组是生物体基因表达的终端产物,代谢组学研究的结果更直接、客观地反映了生物体的生理和病理变化;(3)代谢组学研究的对象(生物体液、组织提取液等)易于搜集,其无痛、无伤害性,更容易被患者接受,便于动态的研究^[4]。

代谢组学的研究技术主要为核磁共振(NMR)、液相色谱-质谱(LC-MS)以及气相色谱-质谱(GC-MS)等,采用高通量、高分辨率、高灵敏度现代分析方法、计算机技术及统计方法对在特定条件下测得的代谢图谱与数据库比较加以分析,以代谢表型确定代谢物在特定的时刻、环境下整体功能变化状态^[5]。代谢产物从4个层面进行研究,即代谢指纹分析、代谢轮廓分析、代谢物组分析、代谢靶标分析。

2 代谢组学研究在中药方剂中的优势

中医药经过数千年的实践证实了其科学性和临床有效性,但方剂配伍规律的多样性、效应的整体性和作用机制的

复杂性,却难以用现代科技的语言进行有效的阐释。复方的组方形式灵活多变,每增减一味药物,疗效就会发生改变,甚则方剂药味相同,但剂量不同,也会产生不同的疗效,这些因素都让复方的研究变得艰难。以往方剂量效关系的研究主要采用文献研究、药物化学及药理研究、临床研究、数据挖掘研究等^[6],但这些研究方法都不尽完善,其原因包括:(1)文献研究只对个别医家以往用药经验或验方进行了总结;(2)药物化学及药理研究仅从物质层面揭示了方剂量效关联;(3)临床研究需要结合西方医学的疗效评价才能在确保临床研究安全性的基础上对方剂的量效关联进行深入分析;(4)数据挖掘出的方剂配伍规律,无法得到真实性的验证。而代谢组学研究的焦点是外源性物质刺激机体所产生的整体效应,作为一种系统的研究方法,不单可以研究药物自身的代谢变化,更可以研究药物作用于机体后代代谢物发生的变化情况,直接反映了体内的生物化学过程和状态的变化^[7]。代谢组学技术应用于中医药的研究领域将有助于对中医学在分子水平机制上的认识。

3 代谢组学在中药方剂研究中的应用

3.1 中药方剂作用机制 中药方剂以复方的形式倡导联合用药治疗,“整体大于部分之和”是方剂作用的基本特征,不是方中诸药作用的简单相加,根据临床实践经验预防和治疗疾病。在某些配方中,多组分可以同时多途径击中多个靶点并发挥协同治疗作用。因此,阐明中药方剂复杂的作用机制,对于提高其临床疗效和安全性,促进药物或治疗方法的进一步发展具有重要意义^[8]。了解最佳药物比例和多组分药物的协同机制对于开发新的策略来处理复杂的疾病也是至关重要的。

Zhang Q等^[9]使用靶向代谢组学法研究,发现大脑中动脉闭塞(MCAO)模型大鼠的氨基酸(AAs)代谢明显受到干扰。经黄连解毒汤F9[6(黄连):4(黄芩):1(陈皮黄柏):3(栀子花)]组治疗后,氨基酸代谢物的水平发生显著变化,并寻找到黄连解毒汤抗脑缺血发挥作用的生物标志物,即

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(编号:2015JJ2110);湖南省中医药管理局资助项目(编号:201437);湖南省中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地开放基金项目(编号:ZYFT201409)

第一作者:赵群菊,女,2016级硕士研究生,研究方向:方剂配伍机制研究

通讯作者:胡方林,男,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:方剂配伍机制研究,E-mail:970679945@qq.com

Glu 谷氨酸、Asp 天冬氨酸、Thr 苏氨酸、Phe 苯丙氨酸、GABA- γ -氨基丁酸、Gly 甘氨酸、Thr 苏氨酸和 Arg 精氨酸。该研究结果表明氨基酸靶向代谢组学对于中药方剂多组分药物的协同机制研究具有指导意义,同时发掘了中药复方治疗复杂疾病机制的潜力。Wang Y 等^[10]通过 GC-MS 代谢组学法对类风湿关节炎(RA)模型大鼠的血浆提取物进行研究,观察到 RA 模型组中支链氨基酸的水平升高。支链氨基酸已被证明能增加细胞因子产生,包括白细胞介素 1 和 2、肿瘤坏死因子、干扰素^[11-12]。细胞因子在 RA 炎症、关节破坏中起关键性作用^[13-14]。四妙丸(SMW)通过影响 RA 大鼠氨基酸代谢,从而抑制蛋白分解和关节胶原降解。在 RA 模型组中同时观察到亚油酸水平降低。有研究^[15]发现,炎症发病与脂肪酸密切相关。SMW 通过抑制 $\Delta 6$ 脱氢酶、 $\Delta 5$ 脱氢酶和 COX-2 的表达,从而抑制花生四烯酸的代谢,减少炎症的发生。研究表明代谢组学方法是研究中中药方剂作用机制的有力工具。杨丽娜等^[16]采用 UPLC-MS 代谢组学法鉴定出 9 个与肝损伤相关的潜在生物标志物。与正常组相比,肝损伤模型大鼠血清中苯丙氨酸、色氨酸、GCDCA 代谢物的水平均显著升高;溶血磷脂酰胆碱类物质 LPC 16:0、LPC 18:0、LPC 18:1、LPC 16:1、LPC 20:4、LPC 22:6 等 6 种代谢物的水平均显著降低。这些发生显著性变化的代谢物提示肝损伤大鼠体内的多个代谢途径发生了改变。这些显著发生变化的代谢物涉及到体内的氨基酸代谢、脂代谢、胆汁酸代谢以及氧化-抗氧化作用平衡,预示着肝损伤大鼠体内这些代谢途径发生了紊乱。大鼠给予四逆散后上述标志物水平向正常状态发生转归,表明四逆散抗肝损伤的作用机制与调节这些代谢途径相关。

3.2 方剂配伍规律 方剂是在中医理论的引导下,各具特性的药物按照君、臣、佐、使组方原则配伍形成的一个整体。清·徐大椿在《医学源流论·方药离合论》中云:“药有个性之专长,方有合群之妙用”^[17]。配伍规律是中医理、法、方、药的核心内容,也是治病的核心理论,对他的理解和研究发展决定了全方设计的合理性及有效性。

孙颖光^[18]通过 LC-MS 代谢组学法对知母及其复方制剂多组分药物进行研究,发现大鼠灌胃复方提取物或单方提取物后在尿液与胆汁中的排泄存在显著差异,进一步研究发现不同的代谢机制导致了不同的排泄行为。根据药物动力学研究,发现知母、贝母二者配伍可影响活性成分的药动学特征,进而推断知母和贝母配伍的合理性。代谢组学对中药方剂的研究克服了有限指标的局限,从深层次揭示了方剂配伍规律的合理性。在不同的配伍情况下,根据方剂口服后生物体内代谢产物的变化规律,进一步阐明方剂配伍规律的有效性 & 药物代谢层面的配伍意义。梅芬^[19]采用代谢组学法对麻黄-石膏药对进行研究,解热、平喘的作用以麻黄-石膏(1:2)配伍比例组最佳,该最佳配伍比例与原方麻杏石甘汤中麻黄-石膏比例相一致。麻黄、石膏、

麻黄-石膏各给药组均能在某种程度上改善发热模型大鼠全身物质、能量的异常代谢状况,其中以麻黄-石膏药对配伍后生物标志物的回调程度最大,进一步表明麻黄-石膏药对配伍合用比同剂量的单味石膏或麻黄的使用效果更好。从代谢组学的角度证实了麻黄-石膏配伍的合理性和优势。

3.3 方剂整体疗效 疾病是一个系统、复杂、动态、整体变化的过程,在治疗时应随疾病进程中呈现出的不同状态而适时调整药物的剂量,甚至更换药物的种类,因为疾病发生的不同阶段需要不同的药物组分来发挥调节作用,复方药或多组分药在疾病治疗中担当重要角色^[20]。

Meng Yu 等^[21]使用 UPLC-Q-TOF/MS 法对抗生素诱导的肠道微生物群痢疾大鼠尿液和粪便进行代谢组学研究,确定粪便样品中的 21 种代谢物为参与肠道微生物群发育不良的潜在生物标志物,经柴胡疏肝散(CSGS)治疗后胆汁酸代谢物的所有衍生物得到了校正。MMetP 的相关分析鉴定出 3 个主要的代谢途径,包括甘氨酸代谢,丝氨酸和苏氨酸代谢,烟酸和烟酰胺代谢。而胆汁酸代谢是涉及抗生素诱导的肠道微生物群发育不全最相关的途径。这些研究结果全面了解了 CSGS 对肠道微生物群痢疾大鼠宿主代谢表型的保护作用。姜鹏^[22]采用代谢组学法对大鼠血液提取物进行分析,经麝香保心丸给药后心肌梗死(AMI)模型大鼠状态明显好转,并且有部分模型大鼠的状态转归达到正常水平。发现麝香保心丸干扰了类固醇荷尔蒙合成通路的部分代谢产物的形成,逆转皮质酮,醛固酮,考地松以及肾上腺素 4 个生物标志物使之达到正常水平,从而抑制了心肌梗大的形成,阻止了 AMI 后的病理进程,保护心肌。通过代谢组学研究表明麝香保心丸在长远治疗 AMI 中的整体疗效及其作用机制显著。中药复方整体疗效在系统代谢组学中的研究,将进一步的得到挖掘和展示。

4 小结与展望

代谢组学作为一门迅速发展起来的新兴学科,其研究思路与方法属于系统论的范畴,系统论与整体论的内在属性上又有相似的内涵,如果能将整体性思路的代谢组学技术与中医的整体观念进行有效的结合,一定能进一步推进中医学研究的现代化进程。随着代谢组学等系统生物学技术的发展,其在疾病的诊断和分型、疾病的个体化治疗、药物的开发筛选和安全性评价等方面都具有非常广阔的应用前景,此外还可以用于中药炮制、中药配伍禁忌、中药归经理论、中药量效关系等研究,将有可能探索出循证中医学研究的新方法与新途径。中医药与以代谢组学为核心的系统生物学的结合将是一个极富创造性,并可能引领中医药现代化的重要之举。

参考文献

[1] Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. Metabonomics: understanding

- the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimulivia multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data[J]. *Xenobiotica*,1999,29(11):1181-1189.
- [2] 黄晓晨,宿树兰,郭建明,等. 代谢组学在中医药若干科学问题研究中的应用与思考[J]. *中草药*,2014,45(2):147-153.
 - [3] 秦昆明,王彬,陈林伟,等. 代谢组学在中药现代研究的应用与展望[J]. *中国中药杂志*,2014,39(16):3010-3017.
 - [4] 冯前进,刘润兰. 中药和方剂的药物代谢组学:从分析到制备[J]. *山西中医学院学报*,2014(6):2,75.
 - [5] 关瑾,许文雅,阎峰,等. 液相色谱-质谱联用技术在药物代谢组学研究中的应用进展[J]. *药物分析杂志*,2016(1):9-16.
 - [6] 宋姚屏,李昆,吴孟旭,等. 方剂量效关联的现代研究方法概述[J]. *辽宁中医杂志*,2006(10):1256-1257.
 - [7] 吴佳,周红光. 代谢组学——中药方剂研究的新方法[J]. *辽宁中医杂志*,2013(2):370-373.
 - [8] Wang L,Zhou GB,Liu P,et al. Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Realgar-Indigo naturalis as an effective treatment for promyelocytic leukemia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2008,105(12):4826-4831.
 - [9] Zhang Q,Wang J,Liao S,et al. Optimization of Huang Lian JieDu Decoction for Ischemic Stroke Treatment and Mechanistic Study by Metabolomic Profiling and Network Analysis[J]. *Front Pharmacol*,2017(8):165.
 - [10] Wang Y,Guo X,Xie J,et al. A GC-MS Based Metabonomics Study of Rheumatoid Arthritis and the Interventional Effects of the Simi-aowan in Rats[J]. *Molecules*,2015,20(12):21364-21372.
 - [11] Bassit RA,Sawada LA,Bacurau RF,et al. The effect of BCAA supplementation upon the immune response of triathletes[J]. *Med. Sci. Sports Exerc*,2000(32):1214-1219.
 - [12] Bassit RA,Sawada LA,Bacurau RF,et al. Branched-chain amino acid supplementation and the immune response of long-distance athletes[J]. *Nutrition*,2002(18):376-379.
 - [13] Kokkonen H,Söderström I,Rocklöv J,et al. Up-regulation of cytokines and chemokines predates the onset of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheumatol*,2010(62):383-391.
 - [14] Brennan FM,McInnes IB. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis[J]. *J. Clin. Investig*,2008(118):3537-3545.
 - [15] Wei YF. Protective Effect of Huang Lian Jie Du Tang Against CLP-induced Polymicrobial Sepsis and Its Influence on Metabolome Profile in Rats[D]. Shanghai:The Second Military Medical University,2014.
 - [16] 杨丽娜,温静,孙毅,等. 四逆散抗肝损伤作用的大鼠血清UPLC-MS/MS代谢组学研究[J]. *药理学学报*,2014(3):368-373.
 - [17] 王颖颖,郭凯波. 六味地黄丸(汤)拆方研究进展[J]. *浙江中西医结合杂志*,2017(4):349-352.
 - [18] 孙颖光. 基于液质联用技术的组学及其复方制剂中多组分同时分析与药物代谢动力学研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2013.
 - [19] 梅芬. 麻黄-石膏药对配伍的化学成分、药效及代谢组学研究[D]. 广州:南方医科大学,2013.
 - [20] 郑敏霞,沈洁. 代谢组学方法及其在中医药中的应用[J]. *中国药房*,2011(23):2201-2203.
 - [21] Meng Yu,Jia HM,Chao Zhou,et al. Urinary and Fecal Metabonomics Study of the Protective Effect of Chaihu Shu Gan San on Antibiotic-Induced Gut Microbiota Dysbiosis in Rats[J]. *Scientific Reports*, Article number: 46551 (2017) doi: 10.1038/srep46551.
 - [22] 姜鹏. 麝香保心丸代谢组学和代谢动力学研究[D]. 上海:第二军医大学,2012.

(收稿日期:2017-09-11)

排石妙药猪鬃草

猪鬃草为铁钱蕨科铁钱蕨属植物铁钱蕨的全草,又名石中珠、猪毛漆等,生于溪边阴湿处及老墙上,贵州及云南各地均有分布,其性凉,味辛、苦、平,入肝肾二经,有清热祛风、利尿消肿之效,亦能活血化瘀、祛瘀生新,诸书多载其治关节风痛、腰背酸痛、跌打损伤,亦有书载其治尿路结石者,如《贵阳民间中草药》《云南中草药选》等,但均仅用水煎服之,亦未强调服用之量。

贵州名医石恩骏认为,本药治疗尿路结石有殊效,然必加甜酒水煎服,始能借其辛甘之性味,促气化,利小便,行药势,方有效果。考尿路结石亦常属阴寒凝结之物,皆是阳气所不到处积聚,若仅用水煎服,则难以奏效。可予本药干品20~50g(鲜品加倍),洗净后用水1500mL浸泡1h,煎30min后加甜酒水150mL,再煎数分钟即可。得药汁约1500mL,为每天药量,分数次饮完。冬日因汗出较少,尿量自然较多,煎药如法得1000mL,服之亦有相同效果。

此外,本品尚可治疗乳腺炎、乳汁不通及妇女血崩、产后瘀血,每用30g,仍需水与甜酒同煎。

本品亦有抗癆之力,前人治疗癆病有良效,可以佐证之。(http://www.cntcm.com.cn/xueshu/2018-04/11/content_42920.htm)