

生脉散各味中药之间相互作用*

陶栋梁¹ 黄保贵¹ 徐怡庄^{1,2} 张天喜¹ 贺晓然¹ 翁诗甫¹
吴瑾光^{1**} 郑爱国² 郭凡修² 徐端夫²

1. 北京大学化学与分子工程学院, 化学生物学系, 稀土材料及应用国家重点实验室, 北京 100871

2. 中国科学院化学研究所, 高分子化学与物理重点实验室, 北京 100080

摘要 利用溶出度、红外光谱、飞行时间质谱、透射电子显微镜等方法对生脉散及麦冬, 五味子, 党参的单煎合煎液中溶出各种组分的变化和彼此之间相互作用进行了初步研究. 发现几个单方共煎可以产生协同溶出效应, 亦可抑制某些组分的溶出, 还发现合煎液中有新物质生成. 通过对麦冬、五味子、党参单煎, 合煎液的溶出物进行透射电子显微镜观察发现, 在合煎液溶出物中有空泡结构存在, 说明溶出物之间的相互作用可使它们形成复杂的聚集态结构. 上述实验表明麦冬、五味子、党参合煎液不是各味中药单煎液之间的简单加和. 各味中药在溶出过程中所发生的相互作用对深化理解复方中药的药理提供了一条新思路.

关键词 生脉散 红外光谱 透射电子显微镜 相互作用

中医是经过几千年的医学实践锤炼而留存的灿烂中华文明遗产, 也是人类医学的瑰宝. 中药复方是中医临床用药最广泛的形式, 多年的临床实践证明, 许多中药在治疗西医束手无策的各种疑难杂症上往往表现出惊人的疗效. 中药复方成分复杂, 常由几种, 十几种到几十种或更多种成分组成, 这些成分中有些无疑对于治疗疾病起到关键作用, 科学提取这些有效成分可为发展治疗各种疑难杂症的新药提供新的机会和思路^[1,2]; 而另一些成分则难免有毒副作用. 在合成新药中摒弃这些有害成分将有助于提高新药的疗效, 使抑制其毒副作用成为可能. 鉴于此, 人们用现代生物化学方法, 从分子水平上对中药进行大量系统性的研究^[3,4]. 多年来有关中药的化学研究主要围绕提取、分离单味中药的单一组分, 确定其分子结构以及测定其含量和药效的传统思路展开大量研究. 长期的实践表明, 这种研究思路是行之有效的. 但是, 这种传统的研究方法却存在着一个问题: 大多数中药方是由几味, 十几味到几十味甚至更多中药有机地配合而成. 在复

方中药中各味中药相互配合和相互协同, 复方中药才能取得一味或几味组分难以取得的药效. 这种经过千百年医疗实践总结而成的传统中药意味着复方中药中的各味中药之间应该存在着某些有效的相互作用和/或相互影响, 我们认为, 这是中医中药的精髓和特色. 而当前国内外广泛采用的研究思路却往往难以兼顾各味中药的相互作用和影响.

生脉散是已有 810 多年历史的著名古方, 由党参、麦冬、五味子 3 味中药组成, 具有“益气养阴、保肺生脉”的功能. 古代医家既用此药剂以抢救热伤元气、津液耗伤、脉微欲绝等重症, 又用它作为气阴两虚病人的补益剂. 通过对生脉散各味中药文献的调查, 发现前人的工作主要是各味中药有效成分的分离、提纯、鉴定和药理方面的研究^[5~10]. 而研究各味单方之间相互作用的报告很少, 只查到 6 篇^[11~16], 其内容局限于一两种物质的含量变化或转化. 朱丹妮等报道生脉散合煎过程中有新物质生成, 朱永新等发现人参皂苷在共煎过程中发生水解转化.

由于生脉散中有百种以上化学物质(包括溶出物

2001-07-13 收稿, 2001-09-21 收修改稿

* 国家重点基础研究发展规划项目(G1998061311)、国家自然科学基金(批准号: 29671002, 39730160, 20023005, 59733060, 59873030, 29901002, 59953001, 59903008)、北京大学中药现代研究中心基金(2010xc)和中国科学院知识创新工程(KJ CX1-Y-03)的资助

** 联系人, E-mail: wjg@chem.pku.edu.cn

和不溶物), 至今无法一一搞清这些物质的化学组成, 对于这些化学物质之间的相互作用, 相互影响的研究更是鲜有报道. 我们认为中药中各组分之间的相互作用是中药复方的关键和精华, 强化对组分之间相互作用的研究有助于深化对中药药理认识. 我们尝试采用多种近代谱学手段, 在分子水平上, 从不同角度研究中药中不同组分之间的相互作用, 并希望由此开辟一条研究中药不同组分之间相互作用的新路.

本工作以生脉散为例, 我们应用中药常用的水煎法, 通过溶出度, 红外光谱, 飞行时间质谱, 透射电子显微镜等多种先进手段研究了单味中药, 两味中药复合和 3 味中药复合在煎煮过程中的溶出行为, 阐明生脉散在煎制中各味中药之间确实存在明显的相互作用.

1 实验部分

1.1 实验方法

单味中药独煎、两两合煎和 3 味中药合煎. 称取麦冬、党参和五味子各 15 g, 将它们分别用纱布包起来, 放入 800 mL 烧杯中, 各加入 500 mL 去离子水, 加热至微沸, 微沸 30 min 后停止加热, 水煎液过滤到 250 mL 的圆底烧瓶中. 包有纱布的滤渣真空干燥至衡重, 分别称取其重量并与煎煮前的作对照.

取出部分滤液用于透射电子显微镜观察, 其余滤液经减压蒸馏和 60℃ 真空浓缩, 浓缩液用于红外光谱测试和飞行时间质谱测试.

1.2 仪器

用 Nicolet Magna-IR 750 II 型 Fourier 变换红外光谱仪及 NIC-Plan 显微附件进行中红外光谱测定. 分辨率 4 cm⁻¹, 128 次扫描.

样品的 TEM 观测在日立 H800 透射电子显微镜上进行, 加速电压为 100 kV. 电子显微照片用装在透射电子显微镜上的 CCD 照像机记录.

样品的飞行时间质谱在 Bruker 公司的 BIFLEX III 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF, Matrix assisted laser desorption / ionization time of flight) 上进行. 将中药浓缩液与氰基肉桂酸 (CCA) 混合, 干燥后用 337 nm 紫外激光激发底物 CCA 使之质子化, 然后底物和样品进行质子交换, 质子化的样品通过微通道板检测.

2 结果与讨论

2.1 协同溶出效应和抑制溶出效应

表 1 列出了生脉散 3 味中药单独煎煮、两味中药成分合煎、3 味中药合煎前后的质量. 从表 1 可以看出: 对麦冬来说, 3 种成分合煎比两种成分合煎溶出来的物质多, 比单独煎煮溶出的更多, 麦冬与五味子合煎比与党参合煎溶出的物质多. 这表明五味子和党参可以增加麦冬的成分在水中溶出, 而五味子对麦冬的溶出效应更强; 对党参来说, 则是与五味子合煎溶出的物质最多, 3 味中药合煎溶出的量次之, 与麦冬合煎溶出的量要大于单独煎煮的. 这表明对党参来说, 五味子, 麦冬对党参都具有协同溶出效应, 其中五味子对党参的协同溶出效应最强; 对于五味子, 则是单独煎煮的溶出量最多, 和党参合煎的溶出量次之, 3 味中药合煎的比与麦冬合煎的溶出多. 这表明麦冬和党参对五味子具有抑制溶出效应. 而党参和麦冬在一起则对五味子的抑制溶出效应有所减弱. 以上结果表明在水煎液中, 生脉散 3 味中药之间存在着协同溶出效应和抑制溶出效应. 这些效应反映了 3 味中药之间有相互作用.

表 1 生脉散单煎、两煎和三煎前后质量对比

(单位: g)

样品	麦冬	党参	五味子	麦冬+党参		麦冬+五味子		党参+五味子		麦冬+党参+五味子		
				麦冬	党参	麦冬	五味子	党参	五味子	麦冬	党参	五味子
煎前质量	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
煎后质量	9.7	8.0	9.0	9.7	7.7	8.4	9.7	6.8	9.3	8.2	7.1	9.6
质量差	5.3	7.0	6.0	5.4	7.3	6.6	5.4	8.2	5.7	6.8	7.9	5.4

2.2 红外光谱研究

图 1, 2 给出了麦冬、党参、五味子单独煎煮、两两合煎以及 3 味中药共煎浓缩液的红外光谱. 由于中药煎出液的成分较多, 光谱比较复杂, 对于光谱的详细分析将另文发表, 本文仅着重比较不同煎出液的光谱之间的异同, 并探讨其与药物间相互作用的关系.

在 3380, 2100, 1640 和 600 cm⁻¹ 附近都有很宽水峰出现. 其中 2100 cm⁻¹ 附近水的合频峰的峰位随溶出物组分的不同而表现出十分明显的变化 (表 2). 就水的合频峰的峰位而言, 可以将所得的 7 种样品划分为 3 类: (1) 不含五味子的煎出浓缩液的峰位均在 2100 cm⁻¹ 以上; (2) 含有五味子的共煎浓

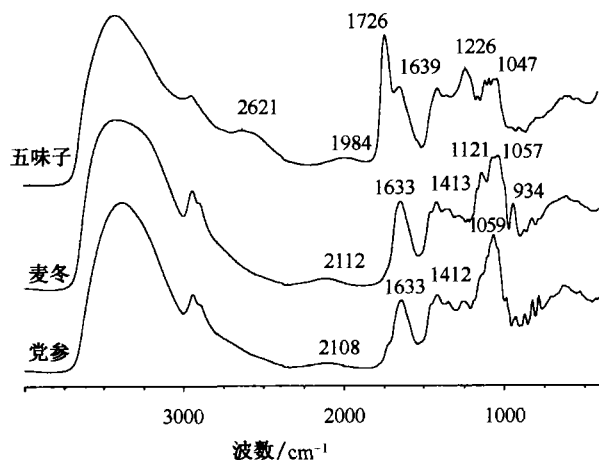


图1 麦冬, 五味子, 党参单煎液的红外光谱

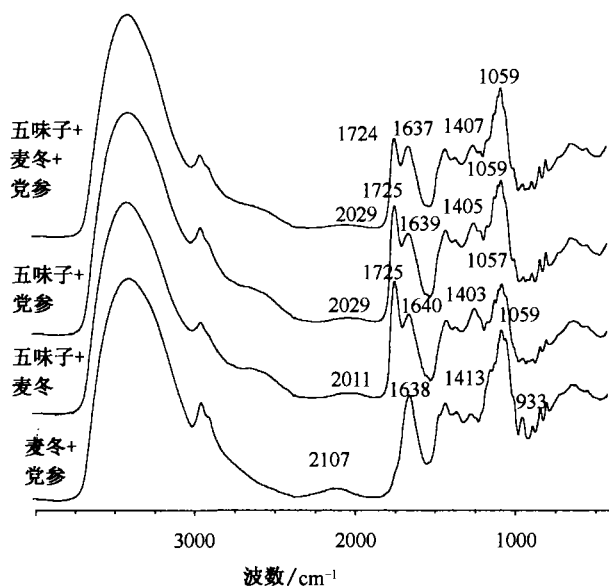


图2 麦冬, 五味子, 党参合煎液的红外光谱

表2 麦冬, 党参, 五味子单煎及合煎浓缩液中水的合频谱带的峰位 (单位: cm^{-1})

	麦冬	党参	麦冬+ 党参	五味子+ 麦冬	五味子+ 党参	五味子+ 麦冬+ 党参	五味子
峰位	2112	2108	2107	2011	2029	2029	1984

缩液的峰位在 2100 和 2000 cm^{-1} 之间; (3) 五味子单煎液的峰位在 2000 cm^{-1} 以下. 上述数据表明, 五味子溶出物与水分子之间的氢键相互作用是造成水的 2100 cm^{-1} 附近的合频谱带发生位移的原因. 五味子单煎液在 1720 cm^{-1} 附近的羰基峰和 2620 cm^{-1} 附近的反映较强氢键相互作用的宽胖谱带都从侧面支持了这一推测. 对于五味子与麦冬、党参合煎液而言, 由于溶出物之间相互作用削弱了五味子溶出物与水的相互

作用, 使得 2100 cm^{-1} 谱带的红移幅度比五味子单煎液小, 因此, 水的合频峰的峰位变化从一个侧面反映了五味子与麦冬、党参之间的互相作用和影响.

从麦冬, 党参, 五味子单煎液的光谱可以发现, 五味子的溶出物有一个很强的羰基峰, 其强度远大于右侧的水的变角振动峰; 党参的单煎液在 1720 cm^{-1} 附近有一个弱的羰基峰, 由于较弱, 其强度仅表现为水的变角振动峰的一个肩峰; 而在麦冬单煎液中不存在羰基振动峰. 对于含有五味子的合煎液而言, 1720 cm^{-1} 的相对强度(以水的变角振动峰为标准)呈下降趋势(表3). 造成这一现象的原因有两个: (1) 由于药物相互作用及影响, 合煎液中五味子含羰基组分的溶出量下降; (2) 合煎液中水分含量较高所致. 我们认为第2种可能性是不成立的. 因为如果是由于水分增加造成 I_{1720}/I_{1640} 下降, 那么, 不仅 I_{1720}/I_{1640} 下降, 而且 I_{1059}/I_{1640} 亦应下降, 但是, 当我们比较3味合煎液与两味党参和五味子合煎液、3味合煎液与两味麦冬和五味子合煎液、两味党参和五味子合煎液与两味麦冬和五味子合煎液3对光谱时, 我们发现, 前者的 I_{1720}/I_{1640} 比值小于后者, 而前者的 I_{1059}/I_{1640} 比值却大于后者. 因此, 可以排除第2种可能性, 由此我们得出结论, 由于五味子与麦冬、党参之间的相互作用, 使得五味子中含羰基成分的溶出量下降.

表3 麦冬, 党参, 五味子单煎及合煎浓缩液中 I_{1720}/I_{1640} 和 I_{1059}/I_{1640} 数值

	麦冬	五味子	党参	麦冬+ 党参	麦冬+ 五味子	五味子+ 党参	五味子+ 党参+ 麦冬
I_{1720}/I_{1640}	—	1.73	—	—	1.41	1.32	1.10
I_{1059}/I_{1640}	1.52	1.00	1.95	1.68	1.32	1.56	1.73

红外光谱上除了可以看到上述明显的变化以外, 在一些光谱的精细结构上亦能看到单煎浓缩液与合煎浓缩液之间的差别. 例如, 在麦冬单煎液的光谱中可以观察到一个峰位在 934 cm^{-1} 的单峰, 但该峰在包含麦冬的合煎液中强度大为减弱, 甚至基本消失. 另外, 通过比较五味子、麦冬单煎液和两者合煎液的光谱, 我们注意到以下两点: (1) 在五味子单煎液中不存在峰位在 1057 cm^{-1} 的吸收峰, 在麦冬单煎液中峰位在 1057 cm^{-1} 的吸收峰不是最强, 两者的合谱不可能在 1057 cm^{-1} 处产生局部最强峰, 但是, 两者合煎液在 $950 \sim 1150 \text{ cm}^{-1}$ 区段的最强峰却是 1057 cm^{-1} . (2) 在五味子的单煎液中可观察到一个峰位在

1226 cm^{-1} 的较强, 较尖窄的谱峰, 在麦冬单煎液的光谱中, 在 1200~1300 cm^{-1} 区间内只有一系列弱峰, 而在五味子, 麦冬合煎液的光谱中可观察在 1229 cm^{-1} 处的宽而弱的谱峰, 这一谱带是很难用五味子, 麦冬单煎液光谱的简单加和来解释的。

上述这些光谱变化说明, 麦冬、党参、五味子的合煎液光谱不能用麦冬、党参、五味子单煎液的简单光谱加和来解释。这说明生脉散的 3 味中药溶出物之间存在相互作用, 可以增强某些组分的溶出, 亦可抑制另一些组分的溶出。

2.3 飞行时间质谱

由于飞行时间质谱方法是用紫外激光器激发电离,

属于软电离方式, 所电离激发的分子主要是以分子离子形成存在, 而分子碎片结构较少, 因此, 可以认为用飞行时间质谱所得到的各个谱峰反映了样品的各种不同组分。因此, 我们研究了麦冬、党参、五味子的单煎及合煎液的飞行时间质谱, 扣除底物氰基肉桂酸的分子碎片峰后所得结果见表 4。通过比较 7 种样品的飞行时间质谱, 可以看到, (1) 两两合煎液和 3 味合煎液的质谱中有许多在单煎液中找不到的新峰出现; (2) 在单煎液中的许多组分峰却未出现在两两合煎及 3 味合煎液中, 特别是在麦冬、党参、五味子单独煎出液样品中除了 m/z 为 268 和 352 这两个组分峰外, 其他在单煎中出现的组分均未在 3 味合煎液中出现;

表 4 麦冬(A)、党参(B)、五味子(C)的单煎及合煎浓缩液的时间飞行质谱^{a)}

A	B	C	A+B	A+C	B+C	A+B+C
		94				
		104				
					105	
					109	
					118	118
						120
						136
		138		138	138	
						146
						147
						161
169	169	169	169	169		173
	175		175		175	
		176		176		
					184	
						189
						202
					242	242
	268		268		268	268
274			274			
282	282					
		288	288			
290			290			
302						
					312	
318		316				
	337					
	352		352		352	352
						353
		399		399		
		401		401		
		415		415		
		432		432		
				455		
		471		471		
					494	
				522		
		523			523	
		539		539		
		551		551	551	
				553		
		569		569		

a) 表中的数值表示各个组分峰的峰位, m/z

(3) 在两两合煎液中一半以上的组分峰可以在单煎液中找到 m/z 相同的对应物. 上述现象可以用麦冬、党参、五味子之间的相互作用给出很好的解释: 煎出液中的部分组分由于发生相互作用, 使得原本在单煎中可以被很好地溶出的部分组分在合煎液中不再被溶出. 另外, 由于煎出液中的部分组分相互作用产生新物质, 使原本未在麦冬、党参、五味子单煎液中出现的组分却可在合煎液中被观测到, 例如, m/z 为 146, 189 等组分峰.

2.4 透射电子显微镜研究结果

图3, 4显示了生脉散各成分单独煎煮、两两合煎和3种成分合煎, 液的透射电子显微镜照片. 麦冬和党参单独煎煮液电子显微镜照片上看到的是一些分散均匀的、直径较小颗粒状物质(麦冬煎煮液颗粒直径 50 nm, 党参煎煮液颗粒直径 10~20 nm), 五味子的电子显微镜照片显示出一些分离的、较大的块状颗粒(尺度达数百纳米). 在两两合煎液和3种成分合煎液电子显微镜照片中, 一个引人注目的现

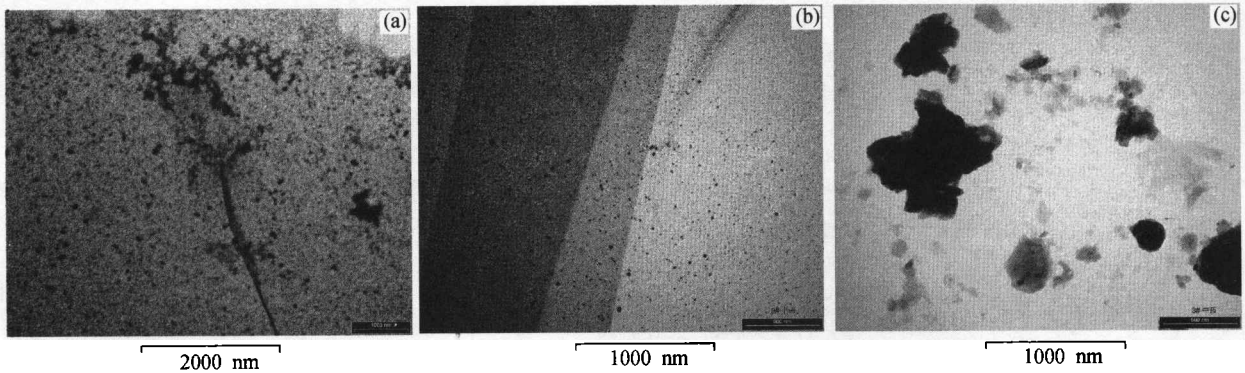


图3 麦冬、党参、五味子单煎溶出物的透射电子显微镜照片
(a) 麦冬; (b) 党参; (c) 五味子

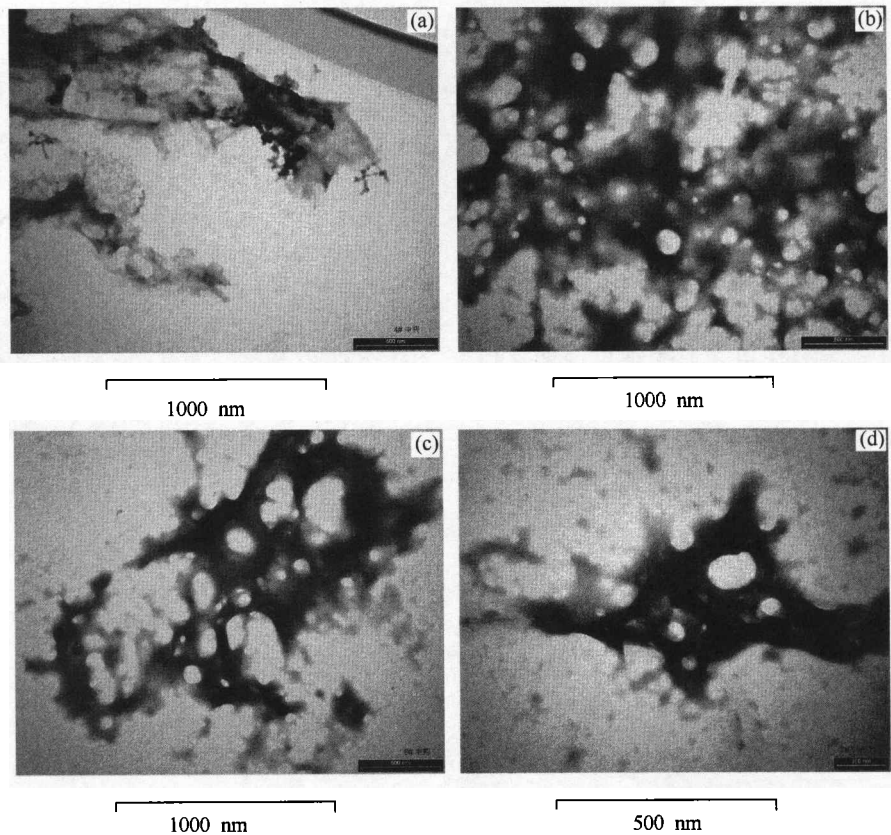


图4 合煎溶出物的电子显微镜照片
(a) 麦冬+党参; (b) 麦冬+五味子; (c) 党参+五味子; (d) 麦冬+党参+五味子

象是可以观察到大量的空泡结构,其尺度在20~100 nm之间.我们认为,造成这种空泡结构的原因是在两两合煎和3种成分合煎液中存在有胶团,囊泡等结构,在电子显微镜制样过程中囊状结构由于其所包容的水分逐渐挥发而被破坏,但是构成囊壁的骨架分子,在干燥沉积过程中由于水囊的占位效应而形成空泡结构.这种胶团,囊泡结构说明中药的复方合煎液不再是简单的真溶液,而是形成了复杂的分子聚集体.这类分子聚集态结构可能是造成合煎中药各成分的增溶(或减溶)效应的结构本质.另一方面,形成这类分子聚集态结构本身就证明了中药的复方合煎液的溶出物质之间存在分子间相互作用.

3 结论

本文研究了生脉散各味中药单独煎煮、两两合煎和3味中药合煎前后各个原料的重量变化,发现各味中药之间存在着协同溶出效应和抑制溶出效应;通过对水煎浓缩液的红外光谱分析,表明单独煎煮、两两合煎和3味中药合煎的溶出物存在较大差别;飞行时间质谱研究表明,中药之间的相互作用不仅可以产生单煎中药中不存在的新物质,亦可阻止某些组分的溶出;透射电子显微镜照片可以看出单独煎煮溶出的物质形态和两两合煎、3味中药合煎溶出物形态存在很大差别.两两合煎和3味中药合煎的电子显微照片中可看到有空泡结构,说明合煎液可能有复杂的聚集体结构存在,而单独煎煮物则没有观察到类似结构.这一方面证明麦冬、党参、五味子的溶出物有分子间相互作用,在另一方面,也意味着复方中药的各味中药间的相互作用可导致溶出物的增溶或减溶作用.上述结果说明,生脉散不是各味中药的简单加和,各味中药在煎煮过程中的相互作用可能产生新物质或增强某些组分的

溶出,从而增加药物的疗效,同时合煎过程亦抑制某些成分的溶出而减小药物的某些作用.这些相互作用可能是研究中药的科学内涵时需要注意的.因此,研究复方中药中的相互作用可能将成为深化中药作用机理的一条新思路.

参 考 文 献

- 1 徐筱杰. 中药复方的计算机模拟研究. 化学进展, 1999, 11(2): 202
- 2 郝建新. 中药新药研究中处方来源初探. 中草药, 1999, 30(7): 附6
- 3 王 强, 等. 试论中医特色现代化. 中国医药学报, 1999, 14(6): 4
- 4 张其成. 关于中医几个重要理论之我见. 中国医药学报, 2000, 15(1): 9
- 5 刘嘉森, 等. 华中五味子的研究. 中国科学, 1978, (2): 232
- 6 廖 杰, 等. 党参化学成分研究. 中草药, 1987, 18(9): 2
- 7 陈延镛, 等. 五味子的研究. 化学学报, 1976, 34(1): 45
- 8 Yukinobu Ikeya, et al, The constituents of schizandra chinenses baill. IV. The structures of two new lignans, pre-gomisin and gomisin. J Chem Pharm Bull, 1979, 27(7): 1583
- 9 Masashi Tomoda. Water-soluble carbohydrates of ophiopogonis tuber. III. Isolation and characterization of a new inulin-type fructan. Chem Pharm Bull, 1973, 21(3): 659
- 10 Masamichi Yuda, Neolignan glycosides from roots of codonopsis tangshen. Phytochemistry, 1990, 29(6): 1989
- 11 朱丹妮, 等. 生脉散复方化学的动态变化与药效关系的研究. 中国中药杂志, 1998, 23(5): 291
- 12 夏 云, 等. 生脉散复方化学的动态变化与药效关系的研究. 中国中药杂志, 1998, 23(4): 230
- 13 朱丹妮, 等. 生脉散复方化学的动态变化与药效关系的研究. 中国中药杂志, 1998, 23(8): 483
- 14 朱永新, 等. 生脉散复方制剂的化学研究. 药物分析杂志, 1988, 8(2): 71
- 15 朱永新, 等. 生脉散复方制剂的化学研究. 药物分析杂志, 1988, 8(6): 343
- 16 朱永新, 等. 复方制剂生脉散的化学分析研究. 药物分析杂志, 1989, 9(1): 5