

· 综述 ·

中药复方现代研究新技术新方法的进展

魏永燕 刘培勋

摘要 就近几年涌现出的用于中药复方研究的新技术、新方法进行综述。这些新技术、新方法主要包括生物芯片技术、计算机技术、代谢物组学、ADME/Tox 技术、模糊数学方法、分子烙印技术、肠内菌微生物研究方法等。

关键词 中药复方;新技术;新方法

Progress on the Updated Methods and Sophisticated Technics Used in Research of Chinese Traditional Medicinal Compound Recipes WEI Yong-yan, and LIU Pei-xun *Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin (300192)*

Abstract This article reviewed the updated methods and sophisticated technics used in research of traditional Chinese medicinal compound recipes, including mainly biochip technic, computer technic, metabolomics, ADME/Tox technic, fuzzy mathematics, molecular imprinting technic, biotransformation and metabolism in intestinal bacterium and so on.

Key words traditional Chinese medicinal compound; updated technic; sophisticated method

近年来,国内中药复方现代化研究主要集中在制剂工艺改进、剂型改造和质量控制研究。要使世界主流医学接受中医药,必须顺应当前医药科学发展趋势,综合应用现代医学、生物学、中医、药理、药化、制剂、数学以及计算机等学科的概念和方法,进行多学科互动协作交流,阐明中药复方药理及作用机制。近年来新技术、新方法的出现,为中药复方现代化研究带来了新思路和新途径。

1 中药复方研究与生物芯片技术相结合

中药复方具有活性组分多、作用靶点多及作用途径多等特点,使其在药理活性方面表现为多效性、复杂性和某些成分的双向调节性。这些特点使得从整体到细胞以及分子水平研究中中药复方作用机制及其生物活性比较困难。表达谱基因芯片的出现为从基因表达水平上定性定量地反映中药复方药理和毒理作用全貌,并建立标准化中医证候动物模型提供了一个平台,是从基因水平筛选中药的一种有效方法。

与基因组相比,蛋白质组具有多样性和可变性,因此研究药物对基因表达水平影响的同时也要研究药物对蛋白质表达水平的影响。采用蛋白质芯片^[1,2]对中药

复方进行多靶点超高通量筛选,研究中中药复方对蛋白质表达谱的影响,寻找中药复方作用靶分子。同时根据表达水平,分析不同有效成分对蛋白靶点作用及相互关系。

除了基因芯片、蛋白质芯片等高通量生物芯片技术外,新近发展起来的组织芯片(tissue microarray, TMA)技术也备受关注^[3]。组织芯片是通过构建组织阵列蜡块将数十至数千个小组织排列在一张载玻片上而制成的组织阵列切片。它结合了分子生物学和形态学优势,可以从 DNA、mRNA 和蛋白质三个水平检测基因表达^[4]。

因此,综合应用生物芯片技术,结合现代药理学研究方法,并与中药复方组方原理君臣佐使、药味、药性理论及用药剂量相联系,全面分析构成复方诸要素之间的内在联系,将最终阐明复方中药组方的科学依据。

2 用于中药复方研究的数据库与计算机技术相结合

周家驹等^[5,6]对中药传统功效、有效成分及现代药理学研究等资料进行整合,建立起一套中草药化学资料的辨识和分析规范,并据此研制了中药化学数据库(Traditional Chinese Medicine Database, TCMD),TCMD 可提供中草药所含成分化学结构、理化性质、生物活性、药理活性以及文献来源等信息,大大提高了

作者单位:中国医学科学院放射医学研究所(天津 300192)

通讯作者:魏永燕, Tel: 022-85683042, E-mail: ludouer@126.com

中药复方研究效率,是研究中药复方的有用工具。

中国科学院联合软件开发在 MDL 化学信息管理系统基础上建立了中国天然产物数据库(CNPDTM),为中国的新药、天然产物及中药复方等相关研究提供了天然产物、生物活性数据、原植物来源及中药传统应用融为一体的信息。现已用于虚拟筛选方法发现活性化合物的研究^[7]。

徐筱杰等^[8]建立了用于中药复方研究的计算机系统,该系统包括中草药成分三维结构数据库、受体三维结构数据库、代谢库、具有生物活性数据的化合物数据库为核心的知识库系统;以分子对接为核心的分子间相互作用计算机模块;以三维定量构-效关系(3D-QSAR)为核心的构-效关系及分子相似性研究单元等计算模块。该系统对于研究复方组分间相互作用,复方成分及可能形成复合物的三维结构,确定复方有效成分及其中药组分在体内的代谢研究提供了大量数据信息,有助于中药复方物质组成和作用机理研究。

3 中药代谢物组学研究

代谢物组学是以代谢物分析的整体方法来研究功能蛋白如何产生能量和处理体内物质,评价细胞和体液内源性和外源性代谢物浓度及功能关系的新兴学科^[9]。通常采用绘图技术、现代分析测定方法(NMR, HPLC, MS)以及应用计算机技术和统计学方法,以高通量实验和大规模计算为特征,完成细胞或生物样品所有代谢物的“指纹图谱”。其核心思想是,它通过整体代谢物图谱直接认识生理、生化状态,并通过信息学分析方法得出内源性物质与外源性物质(化学物质和中药)相互作用的复杂关系。在中药复方活性成分筛选中,代谢物组学作为一种系统研究方法,能评价动物整体药理反应,弥补体外高通量筛选技术只能在分子和细胞水平评价化合物生物活性的缺陷。进行中药复方代谢物组学研究,追踪复方化学成分在体内变化过程、作用强度和毒副作用,对全面阐明中药复方在体内变化规律、特点和药效学物质基础,无疑会起到积极推动作用。

4 细胞层次 ADME/Tox 研究方法

ADME/Tox 方法是一种在细胞(特别是人源细胞或证明与人相关细胞非常接近的细胞)水平上早期进行活性与吸收、分布、代谢、清除和毒性以及药物-药物的相互作用研究的模式。该模式与以往 ADME/Tox 串联研究模式的区别在于提取与筛选同时进行,采用高通量技术,用细胞特别是人体细胞进行实验。将 ADME/Tox 与组合化学和生物信息学结合,构成了体内、体外和计算机三者结合的平台,可以全方位预

万方数据

测吸收、分布、代谢、清除和毒性、药物间相互作用。同时用人源细胞进行实验可极大程度地缩小人与实验动物之间的种属差异,从而做到药物研究中早期淘汰、降低失败率及不必要的损失。

ADME/Tox 最典型的方法之一是 Caco-2 细胞单层吸收模型的经典方法^[10,11]。Caco-2 细胞单层吸收模型可以用于中药复方口服可吸收成分的发现,中药复方成分在吸收过程中相互作用,中药成分经肠吸收能力评价和吸收机理研究,以及中药成分在吸收过程中的转化。

5 模糊数学与中药复方的结合

模糊数学是针对处理自然界及人类思维中普遍存在的模糊性现象而提出和建立的。传统中医药理论中存在大量模糊性概念和规律,无论是性味归经、君臣佐使、组方变化的理论探讨,还是功能主治、临床应用的具体研究,采用模糊数学方法来处理,有可能突破传统定性研究局限。在方剂配伍规律的量化研究中引入模糊数学方法,并以计算机技术为工具,有助于从复方配伍的动态性、模糊性本质上去深入而确切地开展方剂配伍规律量化研究^[12]。

6 分子烙印技术分离中药复方有效部位

分子烙印技术是根据特定目标分子(即模板分子)制备具有高度亲和性聚合物材料(MIP)的技术。MIP 存在与模板分子空间结构互补,功能团相互作用(氢键、离子或范德华力等)的聚合物孔穴。MIP 与模板分子的作用类似于酶和底物的结合,对模板分子具有较强亲和性及识别能力。目前, MIP 作为固相提取材料从中药复方中分离有效部位尚属新颖。谢建春等^[13]尝试以丙烯酰胺作为功能单体,以槲皮素为模板,在极性溶剂中,用非共价键法制备了 MIP。结果表明, MIP 对槲皮素具有特异亲和性,将该 MIP 直接分离银杏叶提取物水溶液,得到主要含模板槲皮素及其结构类似化合物山奈酚两种黄酮类组分。利用 MIP 特异亲和性从中药复方中提取、分离具有相同空间结构、相似功能团的有效部位,将会成为中药复方有效部位提取、分离的有效手段。

7 应用肠内细菌生物转化法研究中药复方

中医用药的特色之一是以汤剂形式口服用药。传统中药复方汤剂在发挥药效作用之前,除在炮制、煎煮过程中会产生化学变化以外,进入机体后,在消化道和肠道内也要发生生物转化或代谢。肠内菌微生物的中药成分生物转化法是利用肠内菌微生物中特定酶将中药成分进行多种生物转化,具有单酶或多酶的高密度转化和高度立体选择性,反应条件温和,可完成一般化

学方法难以实现的反应。例如萜类、甾类、生物碱类等中药成分结构中的非活泼氢可通过微生物进行羟基化反应,生成新物质^[14]。肠内菌微生物的中药成分生物转化法对揭示中药复方药效学物质基础具有十分重要的意义。

综上所述,新技术、新方法的出现无疑会提高中药复方研究的整体水平,揭示复方治病机理,从而真正了解经典复方中各药味配伍应用的精髓。将这些新技术、新方法与中医药传统理论及组方治病原则相结合,构建一个全方位研究中药复方的技术平台,对中药复方进行整合性研究,必将指导中药复方现代化研究,加快中医药现代化进程,实现中医药产业化和国际化。

参 考 文 献

- Albala JS. Array-based proteomics: the latest chip challenge. *Expert Rev Mol Diagn* 2001;1(2):145-152.
- Mouradian S. Lab-on-a-chip: applications in proteomics. *Curr Opin Chem Biol* 2002;6(1):51-56.
- Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998;4(7):844-847.
- 吕 军,黄英武,向正华,等.组织芯片在筛选新型肿瘤分子标志物中的应用. *生命的化学* 2003;23(2):100-102.
Lu J, Huang YW, Xiang ZH, et al. The application of tissue microarrays in screening of tumor molecular markers. *Chem Life* 2003;23(2):100-102.
- Yan XJ, Xie GR. Molecular structure database of traditional Chinese drugs and primary applications. *Comput App Chem* 1998;15(5):277-280.
- 何 敏,沈 敏,周家驹.中药数据库的设计与建立. *计算机与应用化学* 1999;16(5):363-364.
He M, Shen M, Zhou JJ. Design and development of Chinese drug database. *Comput Appl Chem* 1999;16(5):363-364.
- Shen JH, Xu XY, Cheng F, et al. Virtual screening on natural products for discovering active compounds and target information. *Curr Med Chem* 2003;10:2327-2342.
- 徐筱杰.中药复方的计算机模拟研究. *化学进展* 1999;11(2):202-204.
Xu XJ. Study on computer simulation for Chinese traditional compound medicine. *Prog in Chem* 1999;11(2):202-204.
- 刘昌孝.代谢物组学在中药现代研究中的意义. *中草药* 2004;35(6):601-605.
Liu CX. Significance of metabonomics in modern research of Chinese materia medica. *Chin Tradit and Materia Med* 2004;35(6):601-605.
- Nouredine N, Zerrouk N, Nicolis I, et al. Characterization of the absorption of theophylline from immediate- and controlled-release dosage forms with a numerical approach using the in vitro dissolution-permeation process using caco-2 cells. *Drug Dev Ind Pharm* 2005;31(4):397-404.
- Gao J, Hugger ED, Beck - Westermeyer MS, et al. Current protocols in pharmacology-estimation of intestinal mucosal permeation of compounds using caco-2 cell monolayers. New York: John Wiley Sons, Inc, 2000:13-75.
- 马 红,刘苏中,王咏梅.模糊数学方法在中药方剂研究中的应用. *中国实验方剂学杂志* 2000;6(2):56-58.
Ma H, Liu SZ, Wang YM. Application of fuzzy mathematics method in prescription study of traditional Chinese medicine. *Chin Tradit Herbal Drugs* 2000;6(2):56-58.
- 谢建春,骆宏鹏,朱丽莉,等.利用分子烙印技术分离中草药活性组分. *物理化学学报* 2001;17(7):582-585.
Xie JC, Luo HP, Zhu LL, et al. Extracting active compounds from herbs by using molecular imprinting technology. *Acta Phys-Chem Sin* 2001;17(7):582-585.
- 王 夔主编. *中药研究现代方法学*. 北京:化学工业出版社, 2004:84-111.
Wang K, editor. *Modern methodology of traditional Chinese medicine research*. Beijing: Chemical Industry Press, 2004:84-111.

(收稿:2005-06-10 修回:2005-08-15)

欢迎订阅 2006 年《中华中医药杂志》(原《中国医药学报》)

《中华中医药杂志》(原《中国医药学报》)是中国科学技术协会主管、中华中医药学会主办的国家级中医药学术期刊。本刊设立论著、临证经验、思路与方法、专题讲座、综述、会议述要、海外中医药、书评、研究报告、临床报道、读者作者编者等栏目,主要读者对象为广大临床、科研、教学、管理、生产的中医药工作者。

本刊为国际标准大 16 开,月刊,每期 7.00 元,全年 84.00 元。国内外公开发行。国内统一刊号:CN 11-5334/R,国际标准连续出版物编号:ISSN 1673-1727;邮发代号:18-90,全国各地邮局均可订阅。国外发行:中国图书贸易总公司,发行代号:M968。亦可直接汇款至本杂志社,每册 8.00 元(含邮费),全年 96.00 元。

地址:北京市和平街北口樱花路甲 4 号,邮编:100029。电话/传真:010-64216650。