

中药复方活性筛选形式 与技术研究进展*

□王忠** 刘建勋 (中国中医研究院西苑医院 北京 100091)
肖诗鹰 (科技部 21 世纪议程管理中心 北京 100091)
王永炎 (中国中医研究院 北京 100700)

摘要: 药物发现是新药研究的重要过程,其中药物活性筛选是决定新药研究成败的关键。本文分析了目前中药复方活性筛选的 8 种形式,并按历史进程将筛选技术分为传统筛选技术与现代筛选技术,简述了临床前活性药物优化技术、候选药选择技术、分离技术、分子设计、分子水平筛选、生物芯片技术、药物基因组学、药物相互作用分析技术(BIA)、化学和生物信息学结合、中药复方多层区组筛选模式(MBAS 模式)等现代筛选技术的特征,并探讨药物发现策略的改变和新技术应用对于中药复方活性筛选研究进程的影响。

关键词: 药物发现 活性筛选 中医药现代化 候选药 分子水平筛选 生物芯片 中药功能基因组学 中药复方多层区组筛选模式

新药研究可分为两个步骤:一是药物作用的发现,二是药物应用的研究。药物的发现是药物研究最初始的步骤,是寻找和认识各种物质药用价值的过程^[1]。药物发现最基本的方式是偶然发现和通过筛

选来发现。药物筛选是主动寻找药物的一系列策略和过程,如靶标的发现等^[2]。虽然传统的药物筛选投入成本高、成功率太低等因素制约了其进一步发展,但药物基因组学^[3]、蛋白质组学以及生物芯片等技术的逐步成熟将有力地推进新药发现的进程^[4]。

我国曾长期以仿制国外药品为主,至今没有建

收稿日期:2004-01-07

修回日期:2004-06-16

* 国家重点基础研究发展规划(G19990544):方剂的关键科学问题研究,负责人:王永炎;国家高技术研究发展计划(2003AA2Z2022):生物芯片在中药有效组分抗脑缺血机制及筛选中的应用,负责人:王忠。

** 联系人:王忠,博士,副研究员,主要研究领域为中药功能基因组学、中药活性筛选等,Tel:010-62875599 转 6114/6173, Fax: 62886691, E-mail: zhonw@vip.sina.com。

{ World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica } 51

立起比较完善的药物筛选系统。虽然传统药物源自天然,具有长期的民间应用基础,开发风险相对较低,具有巨大的开发潜力和产业发展前景,已成为新药开发和世界医药产业的重要发展方向之一,一些大型医药企业,开展了一定的传统药物筛选工作。但我国目前还未能建立针对中药复方药理活性的现代筛选方法与技术,从而出现同类品种严重重复,疗效基本相同,技术含量偏低,产品利润空间有限的局面,面对即将到来的国际化竞争缺乏足够的竞争力,尚未能形成自己的核心竞争能力,同时由于信息不全、不准确、不及时,造成选题失误、投资失败的现象时有发生,大大制约了新药研究开发的效率。利用国际上药物筛选中出现的新方法、新技术而建立中药活性筛选的技术平台已迫在眉睫。

一、药物筛选形式

1. 特定病证筛选

运用特定的方法,专门筛选防治特定的某种病证药物的筛选形式。这种方法在药学研究中取得了巨大的成就,如治疗心脑血管系统、肿瘤、神经系统疾病的药物等等。但该筛选不能全面反映出待筛选物质的固有的、全面的作用,特别是针对具有多靶点、多系统性质的中药复方活性筛选。因此,理想的方法是在特定病证筛选的同时能够实现一药多筛,从多方面发现这些物质的作用。

2. 特定方药筛选

利用已有的中药复方化学、药理及临床应用信息,在特定的方药范围内进行筛选。我国目前对中药的研究多采取这种方法,根据中药已有的相关信息,选取对某类疾病可能有效的物质,筛选其有效成分。采用这种方式筛选,具有较高的成功率,但由于筛选范围受到限定,特别是所依据的信息资料的准确性,也可能产生误导。

3. 比较筛选

根据对现有药物的认识,获得化学或功效性质相似的样品,采用确定的模型进行筛选,由此可发现同类型而作用更好的新药物。此法主要用于“me too”药的研究,成功率较高,但难以产生创新药物。

4. 随机筛选

采用不同的方法,对可能作为药用物质的样品进行药理活性的广泛筛选。这种筛选方法是新药发现的最基本方式,也是在医药发展过程中普遍存在的方式。从原始阶段人类寻找药物到目前对新化合物的各种生物活性测试,实际上都是随机筛选。随机筛选可能发现全新的药物,但其成功率无法预测。要提高药物随机筛选的成功率,就要保证足够的筛选样品量和广泛的筛选方法。

5. 临床应用筛选

中药复方临床使用的过程,就是一个通过大量、长期经验积累而不断沉淀、丰富、完善的中药复方药理活性筛选的过程。虽然这种筛选具有一定的粗犷性、宏观性,但这是一个十分难得的最接近真实的巨大数据库,也是提高筛选成功率与效率的源泉与保障。

6. 计算机筛选

计算机筛选也称为“理性筛选”,它是根据药理学、药物化学等多学科的知识 and 理论,应用计算机作为工具进行的药理活性预测。最常用的方法是在药物与靶点结合理论上,采用计算机模型进行对接,筛选出可能具有药理活性的化合物结构。

7. 逆向筛选

通过用药以后的反应来判断药物的药理活性的筛选形式。这种形式在药物研究的初期大量使用,待药物的相关知识丰富以后逐步让渡给其它筛选形式。但对一个全新的药物亦常用该种筛选形式。

8. 高通量药物的筛选

高通量药物筛选以随机筛选为基础,可以对大量样品进行筛选^[5]。目前,它已成为主动寻找药物的重要技术手段,一般包括初筛和复筛,深入筛选与确证筛选3个步骤^[6]。其中靶标的确认^[7]与选择^[8]是一个重要的过程。虽然该筛选形式是创新药物发现的重要方式,但由于投入成本较高、成功率相对较低,限制了该形式的普及。

药物筛选目标与形式的统一是决定筛选成功与否的关键步骤,针对不同病证的药物选择相应的筛选形式,不仅可有效地提高筛选成功率,而且能降

低成本,缩短研究周期。各种筛选形式不能孤立看待,应将多种形式有机地结合起来,充分发挥各自的优势,将不同筛选形式的有效结合与交叉使用,能提高筛选效率。如特定方药筛选与特定疾病筛选的结合,既可限定有效的筛选范围,又能针对特定疾病(证候)快速筛选出有效方药;比较筛选与计算机筛选的统一将大大地提高筛选的成功率。

创新药物是广大企业的共同追求,但目前投入与产出的状况是国内企业难以承受的。因此,在充分考虑筛选形式的同时,选择适宜的技术不仅是必须的,而且是实现筛选目标的最现实的行动。

二、药物发现(筛选)技术

1. 传统药物发现技术

(1)神农尝百草之经验式与文献式。众所周知,药物的发现和应用是经过原始的经验积累而完成的。这一过程是人类进行的无意识的自然药物筛选过程。神农尝百草就是人类主动进行药物筛选的具体实践。这是人类认识药物过程中的一次飞跃。

中医药是一个完整的理论体系,不仅对人体的生理、病理有全面而深入的认识,而且其丰富的药理学理论体系,既是指导用药的原则,又对中药活性筛选具有重要指导作用,如对芳香药物解表作用、苦寒药物清热解毒作用的认识等等,都对新药的发现和认识有重要指导意义。因此对中医药文献的分析比较可初步发现药物的药理作用或可能的药理活性。

(2)动物实验的应用。古代文献中就有用动物进行药物毒性观察的大量记载。但人类有目的、有计划地应用动物进行药物筛选,是现代医学发展的结果。直到本世纪70年代中期,动物实验一直是药物筛选的基本方法。

①整体动物模型:单纯从新药筛选的角度看,整体动物筛选模型的最大优点是可以从整体水平,直观地反映出药物的治疗作用,不良反应以及毒性作用。从整体动物模型获得的筛选结果,对预测被筛选样品的临床价值和应用前景具有十分重要的价值。

②组织器官水平的筛选模型和体外药物筛选方法:采用动物的组织、器官制备的药物筛选模型越

来越多,如离体血管实验、心脏灌流实验、组织培养实验等方法。组织器官水平的药物筛选模型在药物筛选和药理学研究中发挥了十分重要的作用,特别是在药理学研究中,具有独特的优势,目前仍在广泛应用。

2. 现代药物发现技术

(1)临床前活性药物优化技术。新药开发中,失败主要来自比较药效学因素,特别是药物活性的差异、异常毒性、安全性评价不当和药物相互作用。应用临床前活性药物优化策略可显著降低上述种种失败的发生率^[9]。由于其便宜、快速、样品用量小,体外药效学试验正在增加,其中细胞培养模型是主流技术。

(2)候选药选择。候选药选择条件:药理试验活性,体内活性专一性与广泛性评估^[10],作用时间,药代动力学,组织分布,相关毒性资料,制备工艺,制剂问题,固体稳定性加速试验等。其中关键问题是足够的活性强度、安全性好、原料药和制剂生产成本合理、有市场竞争优势、有专利保护。

(3)分子设计途径。计算机技术在药物发现中的应用主要有2种方式:一是通过模拟药物靶点的结构,建立立体的活性位点结构,然后根据活性位点的结构特点,设计可以与活性位点相结合的化合物分子结构,然后采用合成的方法获得化合物,进行生物活性的筛选。二是在已知的活性化合物或已知的有效药物化学结构基础上,参考药物作用靶点的结构特点,设计新的化合物,通过合成手段获得化合物后,进行活性筛选,此法的目的是获得更好的药物^[11]。目前中药化学信息的KDD技术已运用于中药活性分子的设计研究中。

(4)分子水平筛选模型。分子水平筛选模型是高通量药物筛选中使用最多的模型,根据生物分子的类型,主要分为受体、酶和其他类型的模型。分子水平的筛选模型的最大特点是药物作用靶点明确,应用这种方法筛选可以直接得到药物作用机理的信息。但目前中药作用机制的不明确和多靶点限制了该方法的应用。

(5)芯片技术。药物靶点发现与药物作用机制

研究是生物芯片技术在药物研发中应用最为广泛的一个领域。发现和选择合适的药物靶点是当代药物开发的第一步,也是药物筛选及药物定向合成的关键因素之一。生物芯片可从疾病及药物 2 个角度对生物体的多个参量同时进行研究以发掘药物靶点并同时获取大量其他相关信息^[12]。因此可以说,在这种情况下,任何一元化的分析方法均不及生物芯片这种集成化的分析手段更具有优势^[13]。目前有基因芯片技术,芯片膜片钳技术,微流体芯片技术,细胞芯片以及蛋白质芯片等多种芯片技术可供选择。

(6) 药物基因组学。药物基因组学研究的领域是基因序列的多态性与药物效应多样性之间的关系,即:研究基因本身及其突变体对不同个体药物作用效应差异的影响,以此为平台开发药物,指导合理用药,提高药物作用的有效性、安全性和经济性^[14]。

如将 DNA 芯片技术应用于药物基因组学,可加速药物基因组学的发展,主要是利用 DNA 芯片进行基因功能及其多态性的研究,以确认与药物效应及药物吸收、代谢、排泄等相关的基因,并查明这些基因的多态性;同时, DNA 芯片利用药物基因组学的研究成果,根据基因型将人分群,以实现药物基因组学研究的目的是和价值^[15]。

(7) 化学和生物信息学结合。将计算机化的实验室信息管理系统用于采集、处理、显示、计算、贮存原始数据。理想的软件能够完成方法学验证、稳定性分析和药代动力学研究,甚至提供统一的研究报告格式。

目前,新的药物分子靶点的发现和确立已离不开生物信息学的工作。从某种意义上说,生物信息学在靶点确定中的应用已成为发现药物的新的模式^[16]。同时,基因组学提供了数量十分巨大的大分子潜在靶点。生物信息学可以帮助人们在药物开发过程中更早、更快地找到更佳的药物作用靶点,减少研发时间和所需临床试验的数量。化学和生物信息学结合,能更好地在靶点发现的早期阶段进行位点的筛选,确定和发现分子靶点,人们可以对靶点

有更深入的认识,从而做出更为明智的投资^[17]。

(8) 药物相互作用分析技术。药物相互作用分析是药物发现的重要手段^[18]。BIA 技术的一个应用热点为药物筛选,目前世界上大制药公司几乎都有至少数台以上的 BIAcore 在用于新药的研究和筛选。BIA 技术符合快速、高自动化、结果准确度高要求。更为可取的是 BIA 技术提供的信息量大,涉及反应机理和动态参数,为新药的进一步筛选和鉴定提供指标,缩短新药研制过程。

(9) 中药复方多样筛选模式(MBAS 模式)。根据中药复方的物理、化学、配伍、功效、药理、病理、病机、生物信息学和生物统计学等特征,建立不同于化合物高通量筛选的中药活性物质筛选与评价的模式,用于中药复方多成分、多组分及多药味配伍的活性筛选。特点是依据中药配伍的复杂结构,药物相互作用关系可能有协同、相加、无关、拮抗等多种情况而通过较少实验筛选出主要的活性物质的技术。

三、中药复方的活性筛选问题与展望

近年我国建立国家新药筛选中心和重点实验室,已注重研究建立了一批细胞水平、分子水平乃至基因水平的筛选模型,使新药筛选逐步从经验式、机遇式的普筛向以新理论为指导的定向设计过渡,并积极掌握自动化实验技术,进行了高通量筛选的尝试;选择中药的活性成分进行结构修饰,获得具有特色的新结构化合物,如根据香茶菜的有效成分进行结构改造,获得了具有抗肿瘤作用较强的新结构化合物,我国新药研究的开发水平有所提高。但目前对药物筛选投入相对较少,需要社会各方面广泛协作才可能加快筛选平台的建设,特别是有远见的企业参与药物筛选工作,十分必要。这对企业长期发展也是关键的明智之举。

药物研究是多学科相互结合的系统工程^[19],评价药物作用不仅需要观察其药理作用,而且需要研究样品的吸收、分布、代谢等过程^[20],应用高通量药物筛选方法发现创新药物,特别是中药复方的活性筛选应解决如下问题:体外模型的筛选结果与整体

药理作用的关系；高通量药物筛选模型的评价标准；筛选模型的新颖性和实用性的统一；以及新的药物作用靶点的研究和发现等等问题。

新方法和新技术的应用，必然会对现有操作方式产生冲击，要求在研究策略方面（包括知识、认识方面）进行调整和改变以提高成功率和筛选速度^[21]。因此，我们应积极研究和应用新方法、新技术，加快我国中医药现代化研究的步伐，提升我国医药企业的创新药物研发能力，使我国的医药产品进入国际医药的主流市场。

参考文献

- Drews J. Drug Discovery: A Historical Perspective. Science. 2000, 287: 1960 ~ 1964.
- Lindsay M. A. Target discovery. Nature Reviews Drug Discovery. 2003, 2: 831 ~ 838.
- Roses A. D. Genome - based pharmacogenetics and the pharmaceutical industry. Nature Reviews Drug Discovery . 2002, 1: 541 ~ 549.
- McCarthy J. J. Advances in pharmacogenomic research and development. Mol Biotechnol, 2003, 25(3): 275 ~ 82.
- Harper G, Pickett S. D, Green D. V. S. Design of a compound screening collection for use in high throughput screening. Combinatorial Chemistry and High throughput screening. 2004, 7: 63 ~ 70.
- 杜冠华. 高通量药物筛选在新药研究中的应用. 基础医学与临床. 2001, 21(4): 289 ~ 294.
- Smith C. Drug target validation: Hitting the target. Nature, 2003, 422: 341 ~ 347.
- J. Knowles J, Gromo G. Target selection in drug discovery. Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2: 63 ~ 69.
- 许关煜, 李敏华. 药物开发的新理念. 上海医药, 2003, (4): 181 ~ 182.
- Kenakin T. Prediction therapeutic value in the lead optimization phase of drug discovery. Nature Reviews Drug Discovery. 2003, 2: 429 ~ 438.
- Becker O. M, Shacham S, Marantz Y, Soiman N. Modeling the 3D structure of GPCRs: advances and application to drug discovery. Curr Opin Drug Discov Devel, 2003, 6(3): 353 ~ 61.
- 王忠, 刘建勋, 张伯礼等. 生物芯片、生物信息学与高通量中药活性筛选. 中国中药杂志. 2003, (7): 686 ~ 8.
- Yokoi A, Kuromitsu J, Kawai T, et al. Profiling Novel Sulfonamide Antitumor Agents with Cell - based Phenotypic Screens and Array - based Gene Expression Analysis. Mol Cancer Ther. 2002, 1: 275 ~ 286.
- Etkin, A. Drugs and Therapeutics in the Age of the Genome. JAMA 2000, 284: 2786 ~ 2787.
- 王忠. 药物基因组学与合理用药. 武警医学. 2003, (10): 579 ~ 581.
- Buchanan S. G. Structural genomics: bridging functional genomics and structure - based drug design. Curr Opin Drug Discov Devel, 2002, 5 (3): 367 ~ 81.
- 孙迎节, 吕鹏, 薛久刚等. 生物信息学在基因和药物发现中的应用. 药学进展, 2002, (3): 174 ~ 179.
- Boumendjel A, Di Pietro A, Dumontet C, Barron D. Recent advances in the discovery of flavonoids and analogs with high - affinity binding to P - glycoprotein responsible for cancer cell multidrug resistance. Med Res Rev, 2002, 22(5): 512 ~ 29.
- Bleicher K. H. . Bohm H. J, Muller K., Alanine A. I. . Hit and lead generation: beyond high - throughput screening. Nature Reviews Drug Discovery. 2003, 2: 369 ~ 378.
- Verkman A. S. Drug discovery in academi. Am J Physiol Cell Physiol 2004, 286: 465 ~ 474.
- Davidov E, Holland J, Marple E, Naylor S. Advancing drug discovery through systems biology. Drug Discov Today, 2003, 8(4): 175 ~ 83.

(责任编辑:刘维杰 柳莎)

中国加速推进生物技术与产业发展

在“2004年全球华人生物科学家大会”开幕式上,中国科技部部长徐冠华向与会的中外科学家宣布了中国政府为进一步加速生物技术与科业的发展而做出的一系列重大决策。

徐冠华说,最近中国决定成立“国家生物技术研究开发与促进产业经领导小组”;决定成立“中国生物技术行业协会”,加强对生物行业的规范与管理;决定制定《中国生物技术与产业化发展纲要》,明确未来20年生物技术与产业发展的重点和方向;决定把《中华人民共和国生物安全法》列入法制规划,加强生物安全的保障工作。

中国政府正在制定国家中长期科学技术发展规划,组织了2000多名科学家,经过近一年的工作,规划的战略研究工作已取得阶段性成果。生命科学与生物技术理所当然地被列为国家中长期科学技术发展规划的重点和优先领域。

今后一段时期,国家将继续大幅度增加对包括生命科学在内的基础研究的支持力度,加大研究开发投入,不分国籍和肤色,从全世界公开招聘国际一流科学家;改革科技评价制度,鼓励科学家开展自由探索研究;加快国家科技基础条件平台建设,大幅度提高科学研究的装备水平,形成重要科研仪器设备和科学数据资料的共享机制,为科学家攀登科学高峰创造条件。

(文摘)

original areas, the patents of special medicinal materials, and brand strategy.

Key words: region south of Five Ridges, special medicinal material, sustainable development

Progress in Study on Screening Forms and Technology of Activity of Compound Chinese Medicines

Wang Zhong (*Xiyuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091*)

Xiao Shiyong

(*Centre for Management of the 21st Century Agenda, Ministry of Science and Technology, Beijing 100091*)

Wang Yongyan (*China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700*)

The discovery of medicines is an important process in the study of new medicines, in which the screening of the activity of medicines constitute the master key to the success of the study on a new medicine. This article analyzes the eight forms used in the screening of the activity of compound Chinese medicines at present; divides screening technology into the traditional and modern ones; generally presents the characteristics of such modern screening technologies as the technology for the optimization of pre-clinical active medicines, the technology for the selection of medicines to be screened, the separation technology, the technology for molecule design, the technology for screening at molecular level, the technology for bio-chips, science of medicine genomes, analytical technology for the interreaction of medicines, the technology for the combination of chemistry and bio-information and the MBAS; and explores the impact of the change in the strategy for the discovery of new medicines and the application of new technologies on the progress in the study on the screening of the activity of compound Chinese medicines.

Key Words: discovery of new medicine, screening of activity, modernization of traditional Chinese medicine and materia medica, medicine to be screened, screening at molecular level, bio-chip, science of functional genomes of Chinese medicine, MBAS

New Progress in Studies on Treatment of Liver cancer by As₂O₃ and Form of This Drug

Liu Xijuan (*Office of Traditional Chinese Medicine, High and New Technology*

Development Zone of Changchun Municipality, Changchun 130000, Jilin Province, China)

Li Chaoying and Li Chunyu

(*School of Materia Medica, Changchun Institute of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117*)

This article summarizes the *in vivo* and *in vitro* experimental studies on the treatment of the cancer of the liver by As₂O₃ and on the clinical experiment and form of this drug by the way of consulting literatures about the study of As₂O₃ in China and abroad recent years. Clinical experiments show that in the treatment of primary cancer of the liver by intravenous injection of As₂O₃ and within the fixed doses the toxicity and side effects of this drug are relatively small and definite effectiveness can be acquired. Therefore it is able to be used for the prevention and treatment of the cancer of the liver, demonstrating encouraging prospects. The study on the mechanisms of As₂O₃ against the cancer of the liver has gone deeply and combined administration in the treatment is being studied; nevertheless, the study of new forms of the

92 [*World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica*]