

# 整合化学物质组学的整体系统生物学

## —中药复方配伍和作用机理研究的整体方法论<sup>\*</sup>

□罗国安<sup>\*\*</sup> 梁琼麟 刘清飞 张荣利 杨辉华 李 雪 王义明

(清华大学化学系生命有机磷与化学生物学教育部重点实验室 北京 100084)  
(清华大学生命科学与医学研究院中药现代化研究中心

贾 伟 (上海交通大学药学院 上海 200030)

张卫东 张 川 (中国人民解放军第二军医大学药学院 上海 200433)

李贻奎 (中国中医科学院西苑医院 北京 100091)

**摘 要:** 本文以中医药学和系统生物学为基础, 探讨建立一个整合化学物质组学的整体系统生物学体系, 用于研究外部干预系统(中药复方)与生物应答系统(人体复杂系统)之间“系统-系统”的相互作用。整合化学物质组学的整体系统生物学提供了一个中医药学与现代科学交流融合的平台, 有助于全面、系统、深刻的揭示中医方剂的药效物质基础和作用机理, 阐明中药复方的配伍规律, 指导复方新药研发, 更好地传承和发展中医药理论。

**关键词:** 整合化学物质组学的整体系统生物学 化学物质组学 中药复方 “系统-系统”相互作用

### 一、引 言

自从“九五”、“十五”我国开展实施中医药现代化发展规划以来, 多学科交叉得到了加强, 现代科学技术大量介入到中医药研究领域, 在中药复方物质基础和

作用机理研究上取得了可喜的成果, 在中药现代研究的方法论层面也进行了有益的探讨。

国际社会也逐步认识到西医的局限性以及西药的毒副作用和耐药性, 认识到中医药独特的疗效和科学研究的价值, 中医药得到了前所未有的关注和接受。2006年 7月美国食品和药物管理局(FDA)批准抗艾滋病新药 A tripla上市, 这是由 V ired, Em triva和 Sustir

收稿日期: 2006-12-08

修回日期: 2006-12-14

<sup>\*</sup> 科学技术部“十五”支撑项目(2006BA I08B04): 中药复方作用和配伍评价研究, 负责人: 罗国安; 国家 973 专项课题(2005CB52350B): 中医临床防治慢性肾功能衰竭的系统生物学研究, 负责人: 李平, 罗国安; 科技部“十五”攻关项目(2004BA 721A 13): 中成药六神丸安全性评价示范研究, 负责人: 罗国安。

<sup>\*\*</sup> 联系人: 罗国安, 本刊编委, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药方剂化学, 现代中药质量标准体系研究, 电话: 010-62781688 E-mail: luog@tsinghua.edu.cn

va 3种已获美国 FDA 批准的药物合在一起制成“鸡尾酒疗法”的组合药物。这充分表明国际主流社会也认识到西方药物单一用药模式的局限性,开始吸收和借鉴中医药复方用药的模式。

传统医药(包括中医药)过去在国际社会被作为补充与替代医学,近年来国际学术界提出把传统医药从替代医学发展为整合医学(Integrated Medicine)。中医学是传统医学中历史最悠久、保存最完整、理论体系最完善、目前影响和作用最大的东方医学的代表,中医药的整体观符合“生物-心理-社会-环境”综合医学模式,中医药更适应新的疾病谱的变化趋势,更符合“预防-治疗-康复-保健”医疗保健模式,中医药的辨证施治符合“个性化医疗”趋势,复方配伍用药模式甚至开始为西医药学习和模仿,从一定意义上说,中医药更适应未来医学的发展方向。因此已有部分学者提出东西方医学经过并行发展、相互借鉴到相互融合的过程,有可能发展成为一种新医药学。

近年来新的科学技术和方法的突破和发展为中医药与现代科学的对话和对接提供了较好的基础,其中最有代表性的是系统生物学的发展和应用,掀起了一股中医药系统生物学研究的热潮。一是国内许多人将系统生物学各种组学用于中医药研究,但总体来说尚处于将其作为一种工具方法,用来阐述中医药一些理论和规律,缺点在于缺乏整体和系统。二是国外科学家用系统生物学各种组学来研究中药,也得出一些很有意义的结果,有的对中医药有相当认识,但由于对中医药理论认识的局限性,同样不能达到理想的高度。但他们的研究已表明从西方现代科学角度来理解中医药哲学和科学理论后所表现出的创新性,很有说服力。

我们自去年发表的化学物质组学一文中已提出应将化学物质组学与系统生物学整合的方法体系<sup>[1]</sup>。现将我们近年来的工作结果整理成文,希望所提出的整体系统生物学研究体系能为复方配伍和作用机理,特别是中药复方新药的研发提供一套完整的解决方案。

## 二、系统生物学的发展

美国的 Leory Hood教授较系统地提出系统生物学的概念和研究体系<sup>[2]</sup>。系统生物学是描述在一定条件下某一体系中所有的元素,并确定体系中各元素之间相互关联的生物学网络,以及表征与特定生理病理刺激(扰动)相关的元素或网络之间的信息流<sup>[3]</sup>。简而言之,系统生物学就是研究生物体系中各种元素之间的相互关系<sup>[4]</sup>。现有的技术,例如基因组学、蛋白质组学、代谢组学分析可以大规模获取生物体系各元素的数据信息并整合集成,通过计算生物学揭示和预测特定生物体系的运作过程。

系统生物学也是随着技术的发展而不断整合发展。Leory Hood最早将基因组学、蛋白质组学和计算学(Computation)整合成为一体化的系统生物学(Integrative Systems Biology)<sup>[5]</sup>。Nicholson教授在建立代谢组学方法的基础上,提出了整合基因组学、蛋白质组学与代谢组学的整体系统生物学(Global Systems Biology)<sup>[6]</sup>。近年来建立了更多的组学并被整合到系统生物学的研究中来。

系统生物学采用系统整体的观念和方法刻画人体复杂系统的生理、病理状态及动态规律,但是现有系统生物学局限于生物内部系统(应答系统)信息的刻画,而对外部扰动信息缺乏表征<sup>[4]</sup>。当研究的外部干预系统相对简单时,例如西药,可以归纳为扰动点,相当于“点”对“系统”的作用。但是当研究的外部干预系统本身是一个复杂系统时,例如中医方剂,现有的系统生物学尚不能与方证结合的整体化研究相适应。因为它虽然可以为证候的量化表征以及药物的生物效应(疗效和安全性评价)提供方法,可能解决“证”的表达问题,但是没有整合“方”(药物干预系统)的信息,所以难以揭示两个系统(生物应答系统和中药复方的复杂物质系统)之间的内在关联。

因此我们不仅要在中医药研究中应用系统生物学,而且要源于系统生物学和中医学进行创新和提升,发展高于现有系统生物学、适合两个复杂系统相互作用研究的整体化方案,这也将反过来推动系统生物

学和生命科学方法学的发展。正如钱学森先生于1988年在《中医通讯》上发表文章指出:“中医的理论和实践,我们真正理解了,总结了以后,要影响整个现代科学技术,要引起科学革命”。

### 三、整体系统生物学的定义

中药复方体现了中医学的整体观念和辨证论治思想,对药物的合理选择体现了君臣佐使等配伍理论,通过综合调节机体的机能和平衡,祛邪扶正、标本同治等发挥作用。中药复方药效成分群与人体之间存在非线性的复杂作用关系。中药复方作用机理和配伍评价的研究必须牢牢把握中药复方作用的整体性特征,这种整体性本质上体现为中药与人体两个复杂系统的相互作用并形成一个更高级的系统整体。只有在中医药理论指导下结合现代科学技术深刻地揭示这两个系统间的相互作用关系才能全面深入地阐明中药复方配伍理论、作用机理及其药效物质基础。要达到这一目标,需要两方面结合:一方面是生物机体(应答系统)在中药干预过程中的系统特征的整体刻画(系统生物学解决的问题),另一方面是中药复方(干预系统)化学物质系统内在关系的系统揭示(需要我们所提出的化学物质组学解决的问题),将两个系统关联起来才能够从整体层次上揭示其相互作用。中药复方的研究要求建立与其特点相适应的“系统-系统”的研究方法。

为此,我们提出应在现有的系统生物学基础上,发展整合化学物质组学的整体系统生物学(Global Systems Biology)(如图1所示)。所建立的整体系统生物学通过化学物质组学表征药物干预系统的组成及相互关系,通过系统生物学刻画生物系统的应答过程,进一步整合分析两个系统间的交互关系,即系统揭示化学物质组的变化与生物系统应答的时空响应的相关性(实现方-证信息的关联)。而且,我们认为生物系统的刻画不仅包括分子层次的系统生物学(如基因组学、蛋白质组学、代谢组学等)信息,还要加上动物实验、器官组织、细胞亚细胞等多层次的药理药效及安全性评价研究(药理学)的信息。

### 四、整体系统生物学研究体系

采用化学物质组学研究中药复方药材配伍和组分配伍的配伍规律和配伍评价,采用整合化学物质组学的整体系统生物学,并与整体动物、器官组织、细胞亚细胞及分子水平的药理研究相结合,来研究中药复方的作用机理,探索建立包括系统生物学指标在内的中药药理药效评价体系(总体技术路线如图2所示)。

#### 1. 化学物质组学研究体系

化学物质组学(Chemomics)是指研究化学物质组的组成及其相互关系的一种方法,而化学物质组(Chemome)是指一定条件下作用于生物系统的外部干预系

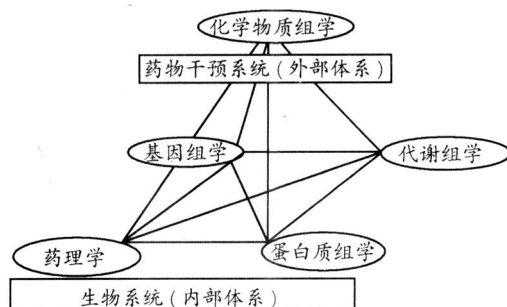


图1 整合化学物质组学的整体系统生物学  
(global systems biology)

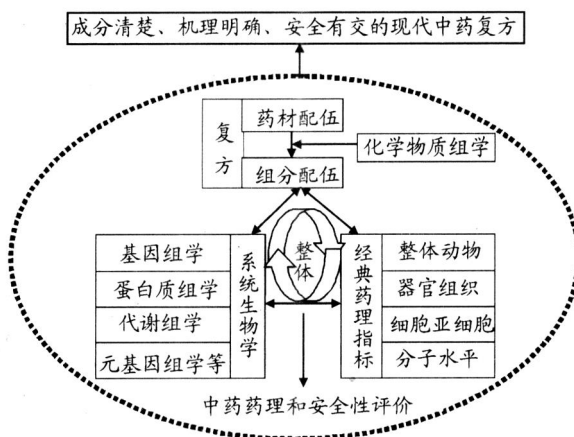


图2 整体系统生物学应用于中药复方配伍和作用机理研究技术路线

统的所有化学物质和 /或化学成分的集合<sup>[1]</sup>。化学物质组学的研究思路是在中药复方配伍理论指导下采取从整体到部分(自上而下)、逐层递进的策略,通过不同层次化学物质组的化学信息流与多参数生物信息流的相关分析,从复方的整体化学物质组中逐步发现和确认有效化学物质组的组成,辨识关键药效成分,从药材、组分乃至成分层次逐步深入地揭示中药复方的配伍关系,进而阐明其作用机理。

目前国内外对于复方药物研究还有一些其它的模式,代表性的有:(1)基于疗效明确的先导化合物或者已上市药物的组合药物(相当于联合用药),例如美国 FDA 批准上市的抗艾滋病新药 A tripla 就是由获美国 FDA 批准的 3 种药物的组合,抗疟疾药物的研究也表明多种先导化合物的组合药物能够降低耐药性、提高疗效<sup>[7]</sup>;(2)基于药材组分组合模式(如图 3 右所示),先从药材中筛选各类有效组分,将有效组分进行组合构成复方药物;(3)美国 FDA 对复方药物的研究提出需要依次验证构成复方的每一种药材的必要性。上述这些方法模式的共同特点都是采取自下而上的方式,即先成分、组分或者药材着手,将有效的成分、组分或者药材通过组合方式构成复方药物。我们提出研究药物和人体相互作用应采用整体评价的模式。从图 3 的比较可以看出,化学物质组学不同于上述自下而上的研究模式,它是从整体有效的中药复方出发,在保持复方整体配伍关系(复方的整体疗效做对照)的前提下

研究子化学物质组的配伍,采取自上而下、逐层递进的方式,通过组效关系的揭示,从整体复方中找出有效化学物质组和有效成分群。我们认为,一方面,现有的中药复方药材配伍是有效和合理的,应予以保持和加以深层次的阐述;另一方面,在发展组分配伍中药时,更应强调“自上而下”的整体化道路,从而更能够体现中药复方的特点,也更容易在中医药理论的指导下优化配伍研究,揭示中药复方的作用

机理。

## 2 采用自上而下的化学物质组学模式研究中药复方配伍理论和配伍评价

中药复方的配伍理论是中医药整体观和辨证论治思想的重要体现,不仅是中医合理用药的关键,也是中药组方的理论基础。君臣佐使是中药复方配伍理论的核心,对于中药复方的现代研究有着重要的指导作用,随着时代的发展和科学技术的进步,中药复方的配伍理论也需要阐释、传承、丰富和发展。化学物质组学可以从分子水平的物质基础和作用机理层次揭示中药复方药材配伍和复方组分配伍规律,并开展方证相应的中药复方配伍研究。

(1) 将方证对应与中药复方配伍研究相结合,是传承和阐释中药复方配伍理论的关键。

以经典方四君子汤治疗脾虚证为例,开展方证对应的配伍研究。从人参、白术、茯苓、炙甘草四味药材组成的复方(整体化学物质组)出发,按照自上而下、层次递进的方式,从整体化学物质组-有效化学物质组-有效成分群的策略,四君子汤考虑五大类有效组分的配伍研究:皂苷类(主要来自人参、甘草)、挥发油类(主要来自白术)、多糖类(主要来自茯苓,部分来自人参、白术、甘草)、三萜类(主要来自茯苓、甘草)以及黄酮类(甘草)。建立脾虚证的药理模型,通过代谢组学、元基因组学(Metagenomics)<sup>[8]</sup>揭示脾虚证的物质基础,进而研究药材配伍和组分配伍干预脾虚证模型

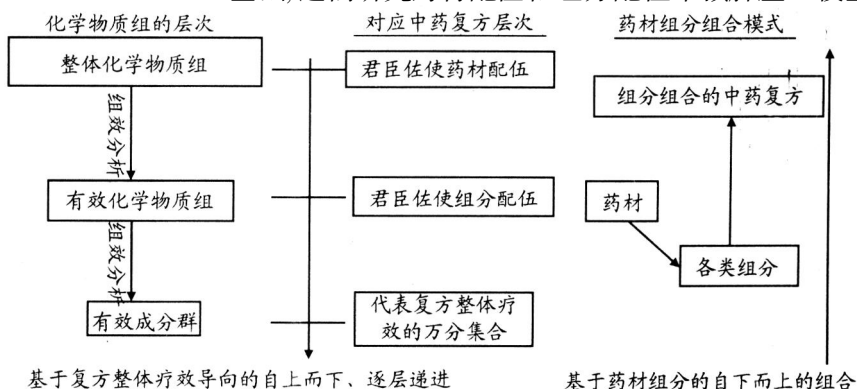


图 3 化学物质组学与药材组分组合模式的比较

前后的变化规律,从药效物质的构成关系以及整合系统生物学指标的药理药效相关性证实四君子汤中君(人参)臣(白术)佐(茯苓)使(炙甘草)配伍理论的科学性。中药药效学评价的关键是如何建立证候与药物疗效之间的相关性,单靶点或少数靶点的组合往往难以全面体现中药复方的整体疗效,系统生物学为从整体水平表征中药复方对证治疗的评价提供了可行的方法。

(2) 从中药复方君臣佐使药材配伍和君臣佐使组分配伍来说明中药复方的配伍规律,是丰富和发展中药复方配伍理论的新要求。

传统的中药复方都是中药材按照一定的组方原理构成,君臣佐使配伍理论也仅指药材配伍层面。但是近年来有效组分的配伍正在成为复方药物研究开发的一种新的趋势。作者在参加十五期间国家 973 项目对清开灵注射液的化学物质组学研究表明,针对抗脑缺血级联反应,通过组效关系分析,确定了 8 味药材组成的复方中起主要药效作用的为 4 类有效组分,并成功开发为有效组分配伍的新复方(组分中药)。组分中药作为中药复方药物的一种新发展,也必然要求加强中药复方组分配伍的理论和规律研究。按照化学物质组学观点,中药复方作为一个整体化学物质组可以看作是若干个相关的子化学物质组的有机配伍,子化学物质组主要体现为两种形式,一种是药材,另一种则是代表复方某一特性的组分(或简称为有效组分),因此从这个意义上来说,有效组分配伍与药材的配伍本质上是一致的。在清开灵的有效组分配伍关系的研究中,也证实四个有效组分存在君一臣三的关系,可见有效组分同样存在君臣佐使的配伍关系。该成果已获得 2006 年国家科技进步二等奖。

(3) 建立采用肠道菌群元基因组学、复方药代动力学和代谢组学的中药复方配伍评价的方法学,是开发新的复方药物的需要。

建立科学(符合中药作用特点)而且高效高通量的中药复方配伍的药效学评价方法,对于提高开发复方药物成功率和产出投入比具有极为重要的意义。在药理效应评价方面,除了经典药理学评价指标,建立

基于整体系统生物学的药物整体生物效应的评价模式可能更适合中药复方的药效学筛选。另外,针对中药复方以口服用药为主,菌群代谢对药物发挥作用可能具有不可忽视的影响,因此研究考察肠道微生物群落分布和菌群代谢的元基因组学也可能发展成为复方配伍评价的新方法。通过中药复方的药代动力学与药效学之间相关性研究(PK/PD),也可以为药物配伍及药物间的相互作用研究提供重要方法,尚需要探索建立适合中药复方特点的药代动力学的研究方法。

### 3 采用整体系统生物学模式研究中药复方的作用机理

#### (1) 对中药复方的药理模型的评价。

选择适合中药复方的药理模型是研究作用机理的前提,但是如何评价所选择的药理模型是否符合中医药理论和中药复方的特点是一个难题,因为首先需要建立与中医药作用特点相符合的评价方法。如前文所述,整体系统生物学与中医药理论具有很多相通之处,因此用来评价中药复方的药理模型更具有合理性。应在中医药理论指导下采用方证对应和病证结合的原则,选择中药复方药理模型和药理指标,将整体动物、器官组织、细胞、分子水平的药理评价以及系统生物学的评价指标相结合,系统评价所选择模型与临床病证的相关性和合理性。除了动物模型以外也应探索高通量的细胞模型,特别是干细胞(stem cell)正在成为国际上新的药物筛选模型。

#### (2) 中药复方的药理评价方法的补充和完善。

过去的中药药理研究很大程度上借鉴了西药药理学的评价规范和标准。目前中药药理学的评价指标已经逐步扩充到整体动物、器官组织、细胞亚细胞及分子生物学层次单个或少数几个指标乃至到多个指标。其发展趋势是提出系统水平的药理评价方法。系统生物学可能实现以基因组、蛋白质组、代谢物组等整合的多层次网络方式表征各种病理、生理状态,揭示生物应答系统的动力学规律,因此系统生物学的相关指标有可能扩展为药理评价规范的新指标。

#### (3) 基于系统生物学的中药复方安全性评价研究。

由于中药特别是中药复方的复杂性,很多中药成药的化学组成尚不够清楚,毒性机理和毒性靶点也不完全明确,这给中药特别是复方的安全性评价带来了困难。系统生物学的发展,特别是代谢组学和生物芯片技术,基于系统整体的研究思路和表征方法大大降低了对研究体系先验知识的依赖。本课题组在所承担的十五攻关项目中通过急性毒性与长期毒性评价相结合,采用化学物质组学和代谢组学以及毒代动力学等方法开展了六神丸的安全性评价研究,研究揭示蟾酥对心脏(主要)的急性毒性损害和雄黄对肝脏(主要)的长期毒性损害,并证实六神丸复方配伍具有减毒增效作用,研究了六神丸的“量-效-时-毒”关系,明确安全剂量和有效剂量(研究结果另文发表)。

#### 4 发展整合化学物质组学的整体系统生物学的关键技术

主要包括信息获取和信息处理技术。

系统生物学包括各种组学的研究首先都需要获取大量的信息,需要发展适合化学物质组学、元基因组学、代谢物组学研究的高通量信息获取技术。例如色谱/质谱/质谱、UPLC-Q/TOF等新技术新方法、生物芯片应用肠道菌群结构分析(元基因组学研究)、中药复方安全性评价等关键技术。

信息整合技术包括系统内的信息整合,还包括两个系统之间的信息整合。充分吸收生物信息学和化学计量学技术,发展关联分析、多源融合技术、因果关系发现技术、多元统计的理论与方法,包括主成分回归(PCR)、偏最小二乘(PLS)、支持向量回归(SVR)等回归分析方法,线性判别分析(LDA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、支持向量回归(SVC)等分类方法,以及网络理论等构建两个系统的相互作用模型。

### 五、展 望

近年来,采用药理实验和化学分析方法研究中药复方已取得许多成果,但大多是用现代医学的一些指标(分子、细胞、组织、器官和整体等层次)来解释复方的疗效或机制。整合化学物质组学的整体系统生物学

将“证候-理法-复方-疗效”研究四者有机结合,因此不仅能够更完整、系统、深刻的理解和揭示中医方剂的药效物质基础和作用机理,阐明中药复方的配伍规律,指导中药复方新药的创制,而且还提供了中医药学与现代科学交流融合的平台,从而能够更好传承和发展中医药理论。我们已将所建立的方法体系应用于双龙方的复方配伍和作用机理研究。采用冠心病心肌梗塞模型开展双龙方的组效学研究,通过化学物质组学的方法确定了双龙方的主要有效组分,并在增效减毒的原则下对双龙方中的有效组分进行了筛选和优化,实现了从药材配伍到有效组分配伍的二次开发,药效作用优于原方,主要的药效物质(90%以上)明确可控。在动物实验中发现双龙方可能对干细胞的定向分化具有促进作用的基础上,建立了双龙方干预的干细胞模型,采用药理学和蛋白质组学、基因组学等系统生物学相关技术开展了作用机理探索性研究工作(结果另文发表)。

### 参考文献

- 1 罗国安,梁琼麟,张荣利,等.化学物质组学与中药方剂研究.世界科学技术-中医药现代化,2006,8(1):6~15,8(2):131
- 2 Hood L. Systems biology: new opportunities arising from genomics, proteomics and beyond. Experimental Hematology, 1998, 26(8): 681~681
- 3 Ideker T, Galitski T, Hood L. A new approach to decoding life: systems biology. Annual Review of Genomics and Human Genetics, 2001, 2: 343~372
- 4 Weston AD, Hood L. Systems biology: proteomics and the future of health care toward predictive preventative and personalized medicine. Journal of Proteome Research, 2004, 3(2): 179~196
- 5 Hood L. Integrative systems biology: Genomics, proteomics and computation. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 2002, 224, 045-BIOD Part 1: U205~U205
- 6 Nishikawa JK, Wilson ID. Understanding global systems biology: metabolism and the continuum of metabolism. Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2(8): 668~676
- 7 Fidock DA, Rosenthal PJ, Croft SL, et al. Antimalarial drug discovery: efficacy models for compound screening. Nature Reviews Drug Discovery, 2004, 3(6): 509~520
- 8 Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products. Chemistry & Biology, 1998, 5(10): R245~R249

(Continued on Page 24)

lead to a more convincing result. However, syndrome related evaluation shall not be based on a syndrome that does not exist. Scientific evaluation of therapeutic effects of new TCM drugs makes a key link in boosting the TCM development. This paper discusses a range of issues concerning the evaluation of the therapeutic effects of new TCM drugs and associated registration and technical reviews, including six major elements that are generally used in evaluation. Author believes that therapeutic evaluation of new TCM drugs will gradually be perfected and enriched along with increasingly raised level of China's clinical research.

**Keywords** new TCM drugs; therapeutic effects; key elements

(责任编辑:王 , 责任编审:王 阶, 责任译审:邹春申)

(Continued from Page 15)

### **Chemomics- integrated Global Systems Biology: A Holistic Methodology of Study on Compatibility and Mechanism of Formulas in Traditional Chinese Medicine**

*Luo Guoan, Liang Qionglin, Liu Qingfei, Zhang Rongli, Yang Huihua, Li Xue, Wang Yiming*

*Key Lab of Chemical Biology of Ministry of Education, Department of Chemistry, Tsinghua University;*

*Modern Research Center of TCM, Institute of biomedicine, Tsinghua University, Beijing 100084*

*Jia Wei*

*School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240*

*Zhang Weidong, Zhang Chuan*

*College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433*

*Li Yikui*

*Xiyuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091*

A holistic methodology, chemomics- integrated global systems biology, was developed for the study of interaction between external intervention system (TCM) and biological response system (living system) on the basis of fundamental principle of Traditional Chinese Medicine (TCM) and systems biology. The methodology provided a platform of communication between TCM and modern science, unveiling the substantial foundation and pharmacological mechanism, understanding the theory of compatibility, guiding the development of new composite medicine, facilitating the succession and progress of theories of TCM.

**Keywords** chemomics- integrated global systems biology; chemomics; Traditional Chinese Medicine formula; system - system interaction

(责任编辑:王 , 责任编审:张志华)