

系统生物学在中药复方研究中的应用*

□ 窦圣姍 柳润辉 姜 鹏 张 川 张卫东**

(第二军医大学药学院 上海 200433)

刘 磊 (湖南中医药大学 长沙 41007)

罗国安** (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/清华大学生命科学与医学研究院中药现代化研究中心 北京 100084)

摘 要:中药复方的现代化一直是中医药界多年来关注的焦点。由于中药复方多成分、多靶点的作用特点,其作用物质及机理研究一直处于“知其然,不知其所以然”的尴尬地位,无法进行科学、全面、准确的阐述。系统生物学的提出,为中药复方的研究提供了崭新的思路和方法,成为当今中药研究中的热点领域。系统生物学从整体观出发,系统研究中药复方的药效物质基础、配伍规律、广泛的药理及其作用机理,为打破长久以来困扰中医药研究的“黑匣”问题提供了契机。本文对系统生物学的思路、方法及其在中药复方研究中的应用与发展进行了综述和评价。

关键词:系统生物学 中药复方 应用

近年来,中药以其完善的理论体系和良好疗效在世界范围引发了研究的高潮。目前,中药(包括中药复方)的研究往往停留在化学和药理的研究上,这种研究模式为中药现代化提供了一定的研究思路,但事实上它沿袭了西药研究方法,脱离了传统的中医药理论体系,不能全面、正确地阐释中药作用的本质特征。为了充分发挥中药优势,阐明中药治疗作用的物质基础及作用原理,赋予传统中药以现代科学内涵是十分必要的。这不仅对阐明与发展传统的中医药理论,将中药推向国际社会具有重要的意义,而

且是结合我国国情,发挥传统优势中药产业的一条有效途径^[1]。

中医的遣方用药经历了从简单到复杂、从低级到高级、从单方到复方的发展过程。“用药有利有弊,用方有利无弊”,历经 2000 余年的临床应用,已证明其构成的合理性、科学性和实用性,因而中药复方已成为中医治病用药最主要的形式之一。现代中医药研究逐步认识到中药复方是与化学药物迥然不同的复杂体系,它作用于目标生物机体时响应的是多维非线性的复杂效应^[2]。因此,现代药学已从一味沿袭传统植化研究模式演变为多视角切入、多技术辅助、

收稿日期:2007-09-17

修回日期:2007-11-25

* 科技部“十一五”支撑计划项目(2006BAI08B04-1):中药复方作用机理和中药复方配伍评价方-化学物质组学的整体系统生物学研究,负责人:罗国安;教育部 2007 年新世纪优秀人才支持计划(NCET),负责人:张卫东;上海市科委中药现代化专项(070219702-1):“麝香保心丸”系统生物学研究,负责人:柳润辉。

** 联系人:张卫东,教授,博士生导师,主要研究方向:中药及其复方的活性成分研究,Tel:021-25070386, E-mail:wdzhangy@hotmail.com;罗国安,本刊编委,教授,主要研究方向:中药方剂化学,现代中药质量标准体系研究。

多学科渗透交叉的现代药学研究模式,即需要我们运用不同的方法,多层面中药及其复方进行研究。更多的研究表明,中药复方无论从成分,还是从药效来看都是“整体大于部分之和”。因此,建立一个适合中医药研究的新模式成为中药研究亟待解决的“瓶颈”问题。系统生物学的提出,为中药复方的研究提供了崭新的思路和方法,成为当今中药研究中的热点领域。系统生物学从整体上系统研究中药复方的药效物质基础、配伍规律、广泛的药理及其作用机理,为打破长久以来困扰中医药研究的“黑匣”问题提供了契机。系统生物学使中药复方的研究有望建立一个能与中医整体理论相符的研究思路,从分子水平层次阐明中药复方的作用体系,使中药及其复方的研究真正走出中医药传统研究范畴,真正走向现代化、国际化。

一、系统生物学的概述

2000年,Leroy Hood教授首次提出了“系统生物学”的概念。系统生物学(systems biology),又译为“系统集成生物学”或“系统综合生物学”,它是人类基因组计划之后,科学家们近年来非常关注的一个研究方向^[3]。系统生物学就是在细胞、组织、器官和生物体整体水平上研究结构和功能各异的生物分子以及在特定条件下,如遗传、环境因素变化时,分析这些组分间相互关系的学科^[4],并通过计算生物学来定量阐明和预测生物功能、表型和行为。系统生物学将在基因组测序基础上完成由DNA序列到生命的过程,这是一个逐步整合、优化的过程。系统生物学的目标就是要得到一个理想的模型,使其理论预测能够反映出生物系统的真实性,且可以用来预测系统受到干扰后未来的行为^[5]。

系统生物学不同于以往的实验生物学那样仅关注个别的基因和蛋白质,它要研究所有的基因、蛋白质等众多组分间的相互关系;同时,通过整合各组分信息,以图画或数学方法建立能描述系统结构和行为的模型^[6]。非生物复杂系统一般由相对简单的元件组合产生复杂功能和行为,而生物体则是由大量结构和功能不同的元件组成的复杂系统,并由这些元

件选择性和非线性的相互作用产生复杂的功能和行为;因此,我们要建立多层次的组学技术平台,在各种技术平台产生的大量数据的基础上,通过计算生物学和概念生物学方法,用数学语言定量描述或者预测生物学功能以及生物体的表型与行为,在此基础上建立从分子到细胞、器官、进而到生物体水平的坚实知识结构,按照从序列-结构-功能到相互作用-网络-功能的研究思路理解生物系统的本质^[7]。

系统生物学的研究对象是生物体内具有生物学意义和功能的系统。具体来讲,系统生物学主要致力于实体系统(如生物个体、器官、组织和细胞)的建模与仿真、生化代谢途径的动态分析、各种信号转导途径的相互作用、基因调控网络以及疾病机理研究等^[8-13]。系统生物学的主要技术平台有基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、相互作用组学和表型组学等平台,这些高通量的组学实验平台构成了系统生物学的大科学与工程^[14]。基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学分别在DNA、mRNA、蛋白质和代谢产物水平检测和鉴别各种分子并研究其功能。相互作用组学系统地研究各种分子间的相互作用,包括蛋白质-蛋白质、蛋白质-核酸、蛋白质-代谢物间的相互作用和这些作用形成的分子机器、途径和网络,并在研究各种分子相互作用的基础上绘制生物体的相互作用图谱。表型组学是系统生物学组学平台的终端,通过基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、相互作用组学到表型组学,完成了由基因组序列到基本生命活动的全过程^[15]。

生物系统和其他复杂系统有着本质的区别,是由大量功能各异的元件在选择性和非线性的相互作用下产生复杂的生物功能与行为,因而阐明和定量预测复杂的生物系统需要实验研究和计算研究的整合,这对计算科学是一个新的挑战。计算生物学通过建模和理论探索,为提出科学问题提供了强有力的基础。即系统生物学使生命科学由描述性科学转变为定量和预测的科学^[16]。总之,系统生物学不仅是生命科学理论的重大发展,而且还有极其广阔的应用前景,在科学性和实用性这两方面的潜在利益是巨大的。生物学正发生从分子水平到系统水平的根本

转变,而后者预示着将彻底改变人们对复杂生物调节系统的认识,并为这方面知识的实际应用提供更多的机会。

二、系统生物学在中药及其复方研究中的应用

中医药有着数千年的历史,蕴涵着丰富的哲学理论,然而到了近代,由于西方医学的冲击,传统中医药一度踌躇不前,甚至被全盘否定。近年来,随着人类疾病谱的改变、人口老龄化、保健养生以及“回归自然”世界潮流的影响,中国的传统医学在世界范围内倍受关注。然而,仅凭四气五味、阴阳五行这种玄妙的理论,中医药无法让世人认识与接受^[17]。系统生物学是当前生命复杂体系研究比较公认的科学思维方式和研究手段。它的研究思路与中医学的哲学体系“不谋而合”,在许多方面有近似的属性。系统生物学的崛起,将给中医药带来新的发展机遇。

1. 中医“证候”模型的评价和筛选

中医“证候”是中医诊断中人体内、外在病症的综合体现,这与西医诊断中的病症大相径庭。千百年来,中医诊断都是口传身授,没有科学客观的标准和依据,而中药研究往往遵循西医的还原论思维方式,只关注某些表层现象,无法顾及到整体,导致一个方剂只能用某个或某几个简单的指标模型来表征,即只能研究西医的“病”,而不能研究中医的“证”,难以体现中医药作用的整体性特点。

系统生物学是研究一个生物系统中所有组成成分(基因、mRNA、蛋白质等)的构成,以及在特定条件下这些组分间相互关系的学科。它认为生物体是一个不可分割整体,这意味着从分子水平(如基因、蛋白)进行剖析,将所有构成因素的相互关系进行各层面的分析,以其建立一个细胞为单位的生物体模型。它要研究所有的基因、蛋白质,即组分间的所有相互关系。根据系统论的观点,构成系统的关键不是其组成的物质,而是组成部分的相互作用或部分之间的关系,这些相互作用或者关系,从本质上说就是信息,换一个角度来说,生命是远离平衡态的开放系统,为了维持其有序性,生命系统必须不断地与外部环境交换能量,以抵消其熵增过程。显然,系统生物

学是以“整体、系统”性研究为特征的一种大科学,即与中医的“整体论”是相一致的,将系统生物学的方法应用于中医“证候”模型的研究、评价和筛选无疑是传统医学与现代科学的最佳切入点。但我们也要看到,这也是非常庞大的系统工作,其基础就是对人体基因、蛋白等分子水平结构及其相互关系明了的前提下,通过一系列的干涉(包括外源性和内源性)变化后信息的整合与中医理论进行契合,方能将中医的“证候”相呼应,才能有其评判的标准。

王米渠等^[18]用基因芯片方法研究中医寒证,发现寒证的基因表达谱存在明显不同,在59条差异表达基因中,绝大多数与代谢(能量代谢、蛋白质代谢等)有关。说明寒证患者的代谢网络有别于常人,从而使寒证诊断的客观化、现代化成为可能。Chen MJ等^[19]采用代谢组学方法研究发现,肾虚模型动物的代谢网络明显偏离正常组动物,而用温阳中药干预后模型动物的代谢谱回归至正常范围,呈现出“网络修复”的结果。

通过系统生物学研究,建立不同证候的特征基因表达谱和功能基因调控网络,通过不同证候类型的差异蛋白质组学和关键的功能蛋白质的鉴定及定量研究,再结合中医理论,则有可能从多个层次阐明中医辨证论治的科学内涵,同时也有可能发现与证候相对应的特异性基因和功能蛋白标志物,进而为临床辨证和“证候”模型的建立提供科学依据。

2. 中药配伍规律的研究

君臣佐使与五味配伍是中医用药的基本组方原则,这在先秦诸子文献中有迹可寻。配伍理论涉及较广,包括方剂组成之“君臣佐使”,有药物配伍之“七情合和”。中药复方通过多味药物配合应用取得了单味药无法取得的效果,而这种效果不是简单的药味相加,其中的内在联系主要涉及药物与药物之间的关系和药量比例关系两个方面。揭示方剂配伍规律,就是要寻找这中间的内在联系。方剂的作用,也不是各组成药物功用的简单相加。中医辨证论治所用的是其整体功效,属于整体取性原理^[20]。

目前,中药配伍规律的研究主要从药理、化学成分和药代动力学角度进行全方、药对及拆方研究。全

国通过拆方研究配伍关系的方剂约 60 余个,其中早期的正柴胡饮、桂枝汤等名方的研究^[21-22],堪称这类研究的典范。近年来,已经完成了桂枝汤、补中益气汤、补阳还五汤、六味地黄汤及防己黄芪汤等大量经典方剂的拆方研究,在寻找复方增效减毒作用的最佳组合、确定方中主要药物或活性物质、寻找方中药物的最佳剂量配比关系、精简方剂等方面取得一定的进展^[23]。

从现代分子水平而言,中药即为一个复合体系,进入体内要涉及无数基因和蛋白的相互作用,才能从整体上调节人体的平衡和内环境的稳定。中药的配伍既需要研究单味药及复方中各化学成分的理化性质及生物活性,又需要研究化学成分相互间的反应规律及其与人体作用的靶系统协同作用方式。西方医学模式对中药复方的研究方法往往是采用“解剖麻雀”的方法—拆方试验,以期最终找出作用明确的活性成分,但其不能反映方剂中药物的君、臣、佐、使配伍规律。因此,中药要想继续保持强大的生命力,应该以中医药理论为指导,借助系统生物学的研究方法,上升到对中药系统性的研究,以建立一个全新的与现代学科同质的理论体系^[24]。利用系统生物学,首先阐明人体的组成结构(基因、蛋白等)及其相互关系,构建人体系统模型,再将中药及其配伍关系作为干涉因素考察其对系统模型的影响,再通过计算和分析得出配伍的现代寓意方能从根本上阐明中药配伍的科学理论。

3. 中药复方药物代谢动力学方面的应用

中药的药物代谢动力学(简称中药药代动力学)是借助于动力学原理,研究中草药活性成分、组分、中药单方和复方体内吸收、分布、代谢和排泄(ADME)的动态变化规律及其体内时量-时效关系,并用数学函数加以定量描述的一门边缘学科^[25]。它是中药药理学与药物代谢动力学相互结合、相互渗透而形成的,它借助于药代动力学的基本理论和方法研究中草药。中药复方是中医治病的主要临床应用形式,是在中医整体辩证理论指导下组成的复杂体系,研究中药复方的药物代谢动力学规律,可以阐明和完善中药复方组方原理及其作用机制,为提高中药复

方制剂质量和优化给药方案提供科学依据,同时也为解释方剂配伍的科学性和合理性,阐明复方药效物质基础,赋予传统医药以现代科学内涵奠定理论基础^[26]。

中药复方中的每一味药物本身就是一个复方,它的作用实际上是多成分、多靶点的协同作用,对于复方更是如此。要认识真正有效成分的作用,对于药代动力学研究来说,应设法和必须阐明活性成分的生成、吸收、分布、代谢的全过程,包括对制备过程、消化道运行过程、菌丛对化学物质的影响、体内转运代谢的一系列过程。我国中药药物动力学的研究始于陈琼华教授 1963 年对中药大黄的研究^[27],自 1990 年开始,中药药物动力学研究出现生机勃勃的大好局面,新理论和新方法不断涌现^[28-29]。中药的药物动力学研究虽经诸多探索努力,已经创建了一些行之有效的方法,并得到些有意义的结果,但仍远未能达到目的,所创建的方法也远不足以解决中药动力学所面临的困难:中药药动学的中医内涵没有得到突出;目前对中药药动学测定多数是以一种成分的药动学特征代替全方的药动学特征,而事实上,各种成分的药代动力学特征是不同的,它们之间可能存在着相关性和差异性;体内药物浓度法对于有效成分明确的药物能得到较好的结果,若用来研究有效成分不明的中药复方的药动,其结果的代表性尚受到质疑;药物效应法所得结果对中药有一定的临床指导价值,但适应范围窄,使其应用和发展受到了极大的限制。近 10 年来,国外利用体外实验和计算机模拟开展的早期 ADME/T 研究,包括著名的利用分子结构来预测药物溶解度和透膜能力的“5 原则”^[30]、利用溶解度和透膜能力对药物生物利用度进行分类的生物药剂分类系统(BCS)^[31-32]、考虑了人体生理因素的 PBPK 模型以及各种相对活性因子(RAF)的方法^[33]等,这些方法也都是属于“拆卸分类”的水平。尽管这些方法主要从缩短药物研发周期、减少进入候选开发的数量、提高了研发效率和成功率^[34-35]等成本因素的考虑,但是充分利用交叉技术的渗透,积累和获取数据,似乎是很好的过渡方式。对面对双重复杂体系:人体和中药来说,不失为一个很好的借鉴。但现有的方法只局

限于局部环境的模拟,无法与中药整体作用“拟和”。系统生物学的提出使中药药代动力学研究有了贴近中医理论的思路,药代动力学研究由“黑匣”模式转向各过程清晰明了的新型模式,更有利于中药吸收、分布、代谢、排泄各阶段的研究,为中药作用机理的阐明提供了新的技术平台。

4. 中药新药的研发

系统生物学研究的一个重要应用目标就是新药研发。在中药的整体治疗中,药物只有在正确时间、正确部位和正确剂量下才能安全有效,因此,澄清、祛除药物的不稳定性、不可控性或给机体带来危险和危害等非期待的各种效应和因素就是药物研发的主要目的之一。

中医学蕴藏着系统论观点,强调整体认识和调节人体生命活动,西方医学长期来把人体分割成许多独立部分,采取各个“击破”法,而忽视系统的整体性。所以在许多复杂疾病治疗方面,难有根本性突破。系统生物医学把人体作为一个完整系统进行研究,通过大规模提取生物信息,研究基因组信息与环境信息的相互作用,系统生物医学与古老的中医体系“不谋而合”。系统生物学建立在基因组学、蛋白组学、代谢组学、转录组学等一批组学和大规模生物信息计算的基础上,必将发现不同组学之间的大量的联动规律;随着研究的深入,各个组织器官的系列组学研究将提供更加具体的上述联动规律,直至最后能够提供个体化差异的组学联动规律。这些组学联动规律逐步与临床症候对应起来,将直接提供新的药物优化方案。今后,借助系统生物学平台,可以加速药物发现和开发进程。

三、展 望

中药在体内的代谢及发挥疗效的过程不是单一、简单的作用过程,如何理解这一体系的整体(即外在体征)和内在变化相关性也是我们亟待解决的关键问题。利用系统生物学方法,不仅可以从本质上诠释中医的“证候”理论实质及“辩证论治”的科学意义,还可以对中药及其复方的研究赋予现代科学的彰明。对于中医药研究中的“瓶颈”,如中医“证候”模

型的筛选、中药配伍规律的研究、中药二次开发及中药代谢动力学等等诸多问题的解决提供了平台,为打破长久以来困扰中医药研究的“黑匣”问题提供了契机。

参考文献

- 1 姚新生,胡柯.中药复方的现代化研究.化学进展,1999,11:192~196.
- 2 韩旭华,牛欣.方剂药效物质系统与单味药成分之间的非线性关系.中华中医药杂志.2006,21(5):289~291.
- 3 Kitano H. Foundations of systems biology, chapter systems biology: toward system-level understanding of biologic systems. MIT Press, Cambridge/MA, 2001.1.
- 4 J Weston AD, Hood L. Systems biology, proteomics, and the future of health care: toward predictive, preventative, and personalized medicine. LJJJ Proteome Res, 2004, 3(2):179~196.
- 5 Ideker T, Galitski T, Hood L. A new approach to decoding life: Systems Biology. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2001, 2: 343~372.
- 6 Heath JR, Phelps ME, Hood L. NanoSystems biology. UJ. Mol I lging Biol, 2003, 5(5):312.325.
- 7 Angela S. Systems biology the big-ture. Emirom Hea/th Persp, 2004, 112(16):938.
- 8 Kitano H. Systems biology: A brief overview. Science, 2002, 295:1662~1664.
- 9 Kitano H. Computational systems biology. Nature, 2002, 420:206~210.
- 10 Hood L. Systems Biology: integrating technology, biology, and computation. Mechanisms of Aging and Development, 2003, 124:9~16.
- 11 Aufray C, hnbeand S, Roux. Rouqui6M M, Hood L. From functional genomics to systems biology: concepts and practices. C.R. Biologies, 2003, 326:879~892.
- 12 Wemer E. Systems biology: the new darling of drug discovery. Drug Discovery Today, 2002, 7:947~949.
- 13 Wolkenhauer. Systems biology: the reincarnation of systems theory puod in biology. Briefings in Bioinformatics, 2001, 2(3):258~270.
- 14 杨胜利. 系统生物学研究进展. 中国科学院院刊, 2004, 19(1):31~34.
- 15 沈自尹. 系统生物学与中医证的研究. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(3):255~258.
- 16 J Hoed L, Heath JR, Phelps ME, et al. Systems biology and new techn-ologesenable predictive and preventative medicine. Science, 2004, 306(5696):640~643.
- 17 朱海峰. 中医诊断客观化研究的现状和展望. 甘肃中医, 2007, 20(6):10~13.
- 18 王米渠,冯韧,严石林,等. 5例寒证的宏观疗效及基因表达谱芯片

- 分析研究.浙江中医学院报,2003,27(6):60~63.
- 19 Chen MJ,Zhao LP;Jia W.Metabonomic study on the biochemical profiles of a hydrocortisone induced animal model uJJ VtrDtm Res, 2005,4(6):2391~2396.
 - 20 祝世讷.中药方剂的三个原理问题.中国中医基础医学杂志,2000,6(II):713.
 - 21 张伯礼,高秀梅,王永炎.复方丹参方的药效物质及作用机理研究.世界科学技术—中医药现代化,2003,5(5):14~17.
 - 22 商洪才,张伯礼,高秀梅,等.丹参/三七不同配比药效学比较研究—对急性实验性心肌缺血犬心肌生化标志物的影响.天津中医,2002,19(2):43~45.
 - 23 商洪才,张伯礼,王永炎,等.一种适用于中药小复方配比优选设计方法的建立.中国实验方剂学杂志,2003,9(3):1~3.
 - 24 翟晓翔,国承钢.建立中药整体功效系统理论.山东中医药大学学报,1998,22(2):104.
 - 25 中药药代动力学研究的难点和热点刘昌孝 药学报 2005,40(5):395~401.
 - 26 Liu Y ,Yang L.Early Metabolism Evaluation Making Traditional Chinese Effective and Safe Therapeutics.Journal of Zhejiang University SCI-ENCE B,2006,7(2):99~106.
 - 27 陈琼华,高士美,杜学芳,等.中药大黄的综合研究.大黄蒽醌衍生物在体内的吸收、排泄和分布.药学报,1963,10(9):525~530.
 - 28 黄熙,臧益民,夏天,等.试论/证治药动学新假说.中药药理与临床,1994,(6):43~44.
 - 29 薛燕.中药复方霰弹理论.第五届全国中药和天然药物学术交流会论文集汇编.中国药学,1997:38~40.
 - 30 Van de W aterheemd H,Camenisch G ,Folkem G,Raevsky O A. Estima-tion of Caco-2 cell perm eability using calculated molecular descrip-tors.Quant Struct-Act Relat 1996,15(6):480~490.
 - 31 Amidon GL,Lennemas H,Shab VP,Crisen JR.A ttleoretical basis for a biopharmaceutic drag classification: the correlation of in vitro dragproduct dissolution and in vivo ioavailability. Pharm Res. 1995,12(3):413~420.
 - 32 W u CY,Benet LZ.Predicting dmg disposition via application of BCS: tran sport/absorption/elimination interplay and development of a biop-harmaceutics drag disposition classification system.Pharm Res. 2005,22(1):11~23.
 - 33 Chien JY,Mohutsky MA,Wrighton SA.Physiological approaches to the prediction of dm gdmg interactions in study populations.Curt Dm gMetab.2003,4(5):347~356.
 - 34 Draws J,Reyser S.Innovation deficit in the pharmaceutical industry. Dmg Information Journal 1996,30(1):97~108.
 - 35 杨凌,刘洪涛,马红,等.系统生物学中中药 ADME 性质研究中的应用.世界科学技术—中药现代化,2007,9(1):98~104.

System Biology and Its Application in TCM Formula Study

Dou Shengshan, Liu Runhui¹, Jiang Peng, Zhang Chuan, Zhang Weidong
(*1School of Pharmacy, Second Military Medical University; Shanghai 200433*)

Liu Lei

(*Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 41007*)

Luo Guoan

(*Key Lab of Chemical Biology under Ministry of Education Department of Chemistry, Tsinghua University; Modern Research Center of TCM, Institute of Biomedicine, Tsinghua University, Beijing 100084*)

The development of traditional Chinese medicine (TCM) formula in a modernized context has been an endeavor of the TCM industry for many years, though TCM has not yet been understood in a clear manner of its physical basis and mechanism, due to its multi-component and multi-targets nature. Fortunately, system biology is in a position to provide novel insights for TCM study. This means, some difficult spots of TCM formula study, including the physical basis of TCM therapeutic effects, compatibility, pharmacology and action mechanism, will be addressed in an effective manner, and the problem of "black box" in TCM study fully understood, with the help of system biology. In this review, authors discussed different thoughts and methods of system biology and their applications in TCM formula study.

Keywords: system biology; traditional Chinese medicine formula

(责任编辑:王 瑀,责任译审:邹春申)