

基于代谢组学的中药“组效关系” 研究思路与策略*

□许海玉 唐仕欢 (中国中医科学院中药研究所 北京 100700)
陈建新 (北京中医药大学 北京 100029)
李德凤 陈 畅 杨洪军** (中国中医科学院中药研究所 北京 100700)
刘昌孝 (天津药物研究院 天津 300193)

摘要:中药药效物质组合与药效活性的关联性即“组效关系”是中药现代研究的关键科学问题之一。本文提出了基于代谢组学的中药“组效关系”研究的基本策略,即基于药物代谢物组学的有效成分辨识,基于代谢组学的有效成分组合的药效活性评价,基于系统建模的有效成分组合与药效活性之间关联性分析。该策略的提出,对于创新中药质量评价模式、阐释方剂配伍规律、创制组分中药具有重要意义。

关键词:组效关系 药物代谢物组学 代谢组学 有效成分 活性评价 数据挖掘

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2011.01.005

在单成分、单靶点药物研发策略正面临前所未有的挑战的背景下,“多靶点、低亲和力、低选择性”的药物研发模式受到了广泛关注,药物组合对复杂疾病的治疗显现了优势^[1-2]。单一化合物是基于“构效关系”进行设计的,与之相对应,多成分复方药物除了“构效关系”外,更多侧重基于“组效关系”进行研究设计。复方是中医临床治疗的主要形式和手段,是在“辨证立法”的基础上通过配伍形成的“有制之师”。在系统生物学,如功能基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学和网络药理学等促进下,西方学者也开始重视解读传统医药思想的奥妙^[3]。其中,运用系

统生物学的理念、方法,进行中药物质组合与药效活性的关联性即“组效关系”的研究,是亟待突破的关键科学问题之一。

一、中药“组效关系”概述

1999年,周立东^[4]在天然药物研究提出了定量组效关系(Quantitative Composition Activity Relationship, QCAR)的概念,即定量研究多组分药物的化学组成与其生物活性之间关系的方法。2003年来,程翼宇教授课题组^[5-7]对中药“组效关系”重点进行了基于计算机的分析方法研究。

中药复方的物质可以划分为4个层次:有效药材(饮片)、有效部位、有效组分(群)、有效成分(群),

收稿日期: 2010-08-08

修回日期: 2011-02-12

* 国家科技支撑计划项目(2008BAI51B03):基于有效成分群的中药组方设计技术研究,子课题负责人:杨洪军;中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目(Z02063):确有疗效中药、方剂的活性物质基础及其组效关系研究,负责人:杨洪军。

** 通讯作者:杨洪军,研究员,主要研究方向:系统建模与中药组方优化研究,Tel:010-64014411-2948,E-mail:hongjun0420@vip.sina.com。

我们认为有必要结合中药复方物质的层次,对中药“组效关系”的概念进行明确界定。中药材(饮片)层次,是中医药理论的载体,充分体现了中医药特色。依据中医“七情合和”的基本用药原则,“药有个性之特长,方有合群之妙用”的用药理念,从本质上讲,分析不同饮片的组合与临床疗效的关联性,确定最优的饮片组合是临床医生处方用药的核心。而在新药研发过程中,在有效部位、有效组分(群)、有效成分(群)不同层次上,分析中药物质组合与药效活性的关联性,以确定物质基础的最优组合,则是新药研发的关键环节。为此,我们认为,“组效关系”(Combination-Activity Relationship, CAR)是指在不同层次上的中药物质组合与药效活性之间的关联性,系统建模是分析“组效关系”的基本方法。该提法强调了中药物质基础层次性,突出了以药效活性为导向的中药物质优化组合,有别于以往的认识。“组效关系”体现了复方药物的作用特点,为创新中药质量评价模式、阐释方剂配伍规律、创制组分中药提供理论指导。

基于以上认识,我们课题组^[8-12]进行了中药“组效关系”研究,如通过 LARS 回归算法,建立了丹参中的丹参素、原儿茶醛、咖啡酸 3 种成分组合与清除 DPPH 自由基的抗氧化活性的关系^[11];建立了川芎中的阿魏酸、丁基苯酚、藁本内酯 3 种主要成分组合与血管活性的关系,并经过实验验证,证实具有可靠性^[9]。此外,提出了基于“组效关系”的中药质量控制新模式^[12]。通过这些研究发现,成分组合样品均显示了优于单体成分的药效活性作用,且其所含单体成分的浓度均明显低于单体成分的起效浓度,因而说明成分组合样品的作用不是各单体成分作用的简单相加,而可能具有较强的协同增效作用,同时建立的“组效关系”能较好的预测成分组合的活性。

但是在中药“组效关系”研究中,尤其是在有效成分这个层次上,面临着一些瓶颈问题。中药及其方剂数十、上百种化合物组成,从复杂化学体系辨识有效成分难度大,尤其是以活性向导进行有效成分筛选时,出现越纯化分离活性越弱甚至无效的现象。另外,以单一靶点、单一活性评价不符合中药多靶点的作用特点,以整体动物进行药效学研究,由于指标不灵敏,难以体现组分变化的活性差异。代谢组学为中药“组效关系”研究提供了一个新的视野,一方面通过药物代谢组学系统的、有效的辨识中药有效成分;另一方面代谢组学全面的、灵敏的评价组分变化

的造成活性变化,并通过数学建模的构建“组效关系”。

二、基于代谢组学的“组效关系”研究

代谢组学 (Metabonomics) 是 20 世纪 90 年代中期发展起来的一门新兴学科,它和基因组学、转录组学、蛋白质组学一样,是系统生物学的一个重要分支,是研究代谢组在新陈代谢某一动态时刻的变化规律的一门学科^[13-14]。代谢组学研究对象的是生物体(动物或者人体)或细胞体液中是分子量在 1000 以下的,在新陈代谢过程中出现的特定的小分子的代谢产物^[4]。代谢组是反应机体状况的分子集合,所有对生物机体影响的因素均可反映在代谢组 (Metabonome) 中,基因、环境、营养、药物(外源物)和时间(年龄)最终通过代谢组对表达施加影响^[15-16]。

药物代谢物组学 (Pharmaco-metabonomics) 是 2006 年 Clayton 在代谢组学基础上提出的另一个新的概念^[17],是药物进入体内后,药物随时间和空间生物转化的全过程和这些过程代谢的所有产物,它最终将建立起一个时空上的网络。

代谢组学和药物代谢物组学应用到中药“组效关系”中具有以下优势:第一、它们均采用核磁共振 (NMR)、气相色谱-质谱 (GC-MC) 以及液相色谱-质谱 (HPLC-MS/MS) 等高通量、高分辨、高灵敏度的现代仪器分析手段,药物代谢物组学通过系统检测中药入血的成分,进而发现中药的可能有效成分;代谢组学能够检测到成分组合变化造成代谢组的变化,代谢组又与疾病和药效活性具有关联性,为分析“组效关系”提供了可能。第二、代谢组学是系统生物学的分支,一种基于全局观点的整体性研究方法,适用于中药整体效应评价;药物代谢物组学不但能发现中药的原型成分,还能发现被肠内细菌转化物和体内代谢产物,而且能从不同时间和空间观察其物质的变化,有助于从 PK-PD 关联的角度分析中药“组效关系”。

代谢组被视为生物体整体功能状态的“生化表型”,研究药物对机体所形成的生物物质总体代谢调控作用,能够即时、真实表征在不同有效成分及其组合作用下生物体整体功能状态的应答与调节。因此,基于代谢组学研究中药“组效关系”,既符合中医整体观念,又能与现代科学技术结合,利用“国际通用语言”阐明有效成分及其组合与药效活性的关系。

基于代谢组学的中药“组效关系”研究包括 3 个方面:一是基于药物代谢物组的有效成分辨识;二是基于代谢组学的有效成分组合的药效活性评价;三是基于系统建模的有效成分组合与药效活性之间关联性分析。总体研究思路见图 1。

1. 基于药物代谢物组学的中药有效成分辨识

大量中药研究实践告诉我们,单一化学成分不能阐释中药及其方剂的功效和作用机理;反之,中药“全成分”也不全都是有效成分。只要那些直接或间接发挥生物学作用的中药化学物质才可能是中药有效成分,所以中药有效成分包括直接有效效应物质和间接有效效应物质。直接有效效应物质是在机体内直接发挥生物学作用的中药化学物质;间接有效效应物质是指在机体内间接发挥生物学作用的中药化学物质,如大多数原生苷是前药(Prodrug),在人体内以转化产物/或代谢产物发挥生物学作用,其他的化学物质亦可能存在类似的转化形式。既不产生直接作用,也不产生间接作用的化学物质,称之为无效成分。

在多数情况下,中药有效成分需要被吸收入血、到达靶器官并作用于相应靶点后才能发挥药效作用(调节肠道菌群等和在肠道直接发挥作用的药物除外)。尽管有些指标成分在药材中含量较高,但由于生物利用度低、代谢消除迅速等原因难以在体内达

到有效浓度。相应的,有些中药的有效成分原型药物没有药理作用或者药理作用不强,但在生物体内被肠道菌群转化或者被肝药酶代谢转化成活性代谢产物而发挥药效作用。对于中药而言,要辨识其有效成分,药物代谢物组学关注的是中药成分在体内的时间-空间变化,可系统分析进入体内原型药物、转化物和代谢产物,并结合有效成分的代谢特征,发现药代标示物(Pharmacokinetic-Markers, PK-M)^[18],为中药组效关系的研究系统发现中药有效成分和发挥药效的物质基础。

现代分析仪器技术如 HPLC-MS、GC-MS、NMR 等,低检测线、高灵敏度等仪器性能为比较全面分析体内的药物成分提供可能,同时还能提供结构相关信息,为体内药物成分的结构鉴定提供可能,从而为药物代谢物组学的分析提供技术支持。通过系统分析生物体中血液、组织器官、尿液、粪便等中在不同时间的药物(包括原型药物、转化产物和代谢产物等)动态变化情况,并对药物及其代谢物进行定性、定量分析,获得药物各种代谢途径、方式的信息和药代动力学的各种参数。对于能被吸收入血、到达相应的靶器官并且具有适宜的药代动力学特征的化学成分,可作为药代标示物。在体内以原型药物存在,或者以转化物和代谢产物形式存在的,通过与药材中化学成分进行比对,从而发现有效成分。通过药物代谢物组学的研究,从中药复杂的化学体系中简化了研究范围,为中药“组效关系”中有效成分辨识提供了一条切实可行的途径。

2. 基于代谢组学的药效活性评价

药效评价体系是中药“组效关系”中的重要组成部分。本课题组在研究丹参成分组合和抗氧化活性关系^[19],以清除 1,1-二苯基-2-苦肼基(DPPH)自由基作为评价指标,在评价川芎成分组合与血管活性关系^[9],以血管舒张活性作为评价指标,并构建“组效关系”,并证实其结果具有可靠性。但就特定药效指标而言,中药所表现出来的作用强度通常不如化学药品,尽管可以通过多指标体系对中药的药效作用进行描述,但中药对特定病证的整体疗效优势不能通过多个“弱效应”的简单加和来体现。建立符合中药自身特点、能够科学表征其整体疗效的药效评价指标,是科学分析中药“组效关系”的前提。

生物机体是一个动态的、多因素综合调控的复杂体系,代谢组学是定量测量生物体因病理生理刺

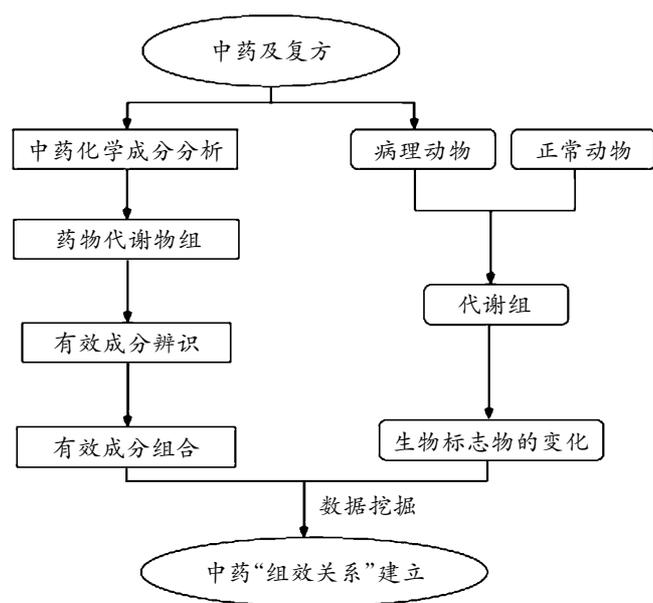


图 1 基于代谢组学的中药“组效关系”的研究

激或基因改变而引起的代谢应答变化,利用现代仪器分析生理状态和病理状态生物体(动物或者人体)体液包括血浆、尿液、组织液、细胞培养液等的小分子内源性代谢产物即代谢组,结合模式识别等化学信息学技术,主要有主成分分析(Principal Components Analysis, PCA)、非线性映射(Nonlinear Mapping, NLM)、聚类分析(Cluster Analysis, CA)等非监督学习方法和偏最小二乘法(Partial Least Square, PLS)、人工神经网络(Artificial Neural Network, ANN)等有监督学习方法,从而获得相应的生物标志物群(Biomarkers)。在现代科学研究中发现,疾病尤其是复杂疾病,往往是多个基因或靶点受到扰动,在小分子代谢产物的水平上,产生与疾病相关联的代谢特征网络体系,这与中医整体观一致,能够较好用于中医症候的研究,体现症候与正常动物的差别。以代谢组学研究中药“组效关系”的药效活性,具有中医药的整体观,能体现中药“多成分、多靶点”整合作用特点,同时是利用现代仪器进行分析,具有较高的灵敏度和准确度,能体现不同有效成分组合的药效活性差异,为较全面的构建中药“组效关系”提供可能。

3. 基于系统建模的成分组合与药效活性关联性分析

中药有效成分群和内源性生物标志物群均是两个复杂体系,建立这两个复杂体系之间的关联性,是中药“组效关系”的关键问题和难点问题之一。

为了便于建立成分和活性之间的关联性,试验设计时采用现代数理统计方法,如均匀设计、对称平衡设计、人工神经网络等方法,设计出不同配比的有效成分组合给动物给药,再通过仪器分析定性定量生物标示物的变化,然后通过系统建模构建两者之间关系。中药数据具有多目标、离散性、非线性和小样本4个主要特点^[9],因此,常规数学建模方法(方差分析、线性相关法、多元线性回归等)难以进行有效的构建,运用基于熵的神经网络多目标优化技术、基于模型选择的LARS回归多目标优化技术、基于改进蚁群算法的进化计算多目标优化技术更符合中药数据的特点。基于熵的神经网络方法克服了传统神经网络方法对小样本过拟合的缺陷,LARS回归方法对于离散型和小样本的数据求解优于传统的多元线性回归方法,改进的蚁群算法更能适合于非线性的数据。这些方法都属于有监督方法,但是整合了无监督的技术,不但能够实现降维,而且能从中药数据里面

挖掘出成分与生物标示物之间确切的关联。特别指出的是,我们提出了先构建关联,然后进行优化的思路,这样不但能更好地实现优化,同时为下一步解码成分与活性之间的关联性奠定了基础,为从关联中挖掘出君臣佐使及组效关系提供了前提。通过这些优化技术,各自针对数据的特点和动物实验验证的结果选择出一个最适合此类问题的多目标优化技术,从而建立以有效成分为自变量与相关生物标示物为因变量的多维函数关系式,见图2。从而阐明中药有效成分和生物标记物的动态规律,以及发现它们代谢轨迹变化规律,阐明药物活性部位与药效的关系、药效基团作用于病变靶点的本质过程。但是,由于这种模型是在有限的数据库上建立起来的,加上模型本身也采取了一定的外推和数学模拟,因此,应通过模型给出的药效范围进行再验证,以期实现模型最佳的描述性和预测性。

本文基于代谢组学建立的中药“组效关系”,一方面可以实现组分优化,筛选出比原方优效的各成分的含量及其配比,为组分中药新药的研究提供基础和依据;另一方面可以根据中药的化学成分的含量及其比例,进行活性预测。

三、展望

本文中采用代谢组学的新方法和思路研究中药“组效关系”,对中药的作用物质基础的发现即有效成分的辨识具有系统性,对中药疗效评价具有整体性,此研究思路将能促进复方药物研究开发,尤其对提高中药及其方剂的认识和研究水平,并能在质量

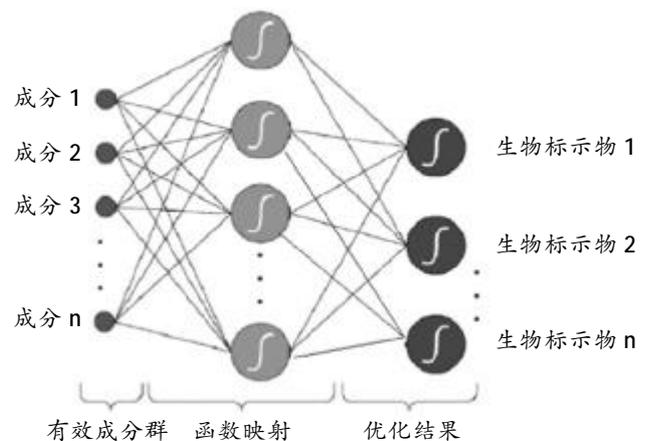


图2 基于数据挖掘的中药“组效关系”示意图

评价、方剂配伍规律、作用机制以及组分中药新药的研发等的关键问题得到应用。

1. 中药质量评价研究

中药治疗作用的发挥依赖于多成分、多靶点的综合调节作用。通过控制单一指标成分的含量来实现质量控制的方法不足以反映中药作用的特点;中药指纹图谱是进行多成分质量评价的有益探索,它是基于大多数药材、道地药材或制剂而建立的,能够在一定程度上反映中药的化学组成,力图实现对中药质量的整体性评价。然而,现行的中药指纹图谱却难以阐明指纹峰与对应药理药效的关系,如果不能与药效建立联系,必然会导致中药的质量评价偏离临床疗效。

基于代谢组学进行中药成分及其组合与药效活性研究,通过建立的“组效关系”数学模型,根据中药中成分的种类和含量,实现成分的活性预测。并且根据所期望的活性范围,确定各成分的含量范围及比例关系。这样,将中药多成分的含量与相关药效有机地联系起来,从而有效地克服某一成分作为中药的质量优劣、真伪的唯一指标,克服中药质量评价中指标成分脱离疗效、盲目性突出的缺点,使中药的质量评价更符合中医特色,由此建立符合中药特点的质量评价标准,为探索建立符合中药作用特点的质量评价模式,提供新思路和新视角。

2. 方剂配伍规律研究

中医在遣方用药过程中,强调“君、臣、佐、使”、“七情和合”,重视“药有个性之特长,方有合群之妙用”的用药理念,为此,方剂配伍被作为中医药研究的重大科学问题。但是,如何阐释中药物质组合与药效活性的关联规律是制约方剂配伍研究的瓶颈之一,基于代谢组与药物代谢组相结合的“组效关系”分析,是解决该问题的有效路径。具体而言,通过分析方剂不同层次物质组合与药效活性的关联规律,可以将宏观的传统配伍理论在化学成分这一微观的层次上得以阐释。

3. 中药多成分整合机理研究

中药是数十上百种化合物组成复杂化合物体系,中药复方就更加复杂。基于药物代谢物组进行中药有效成分具有独特优势,不但能明确那些成分原型药物发挥疗效,那些以转化物或代谢产物发挥作用,是一条发现中药药效物质的有效途径。同时,代谢组学作为一种基于全局观点的整体性研究方法,研究

中医药具有独特的优势,同样用它来评价中药“组效关系”也会具有独特的优势。中药的治疗作用不是单个成分的“弱效应”简单相加,在“组效关系”研究中,通过数据挖掘建立化学成分与生物标志物之间的关系,成分之间协同作用以及成分组合的量效关系等。并且有可能一个或多个化合物的变化与某一个生物标志物的变化有关,或者一个或多个生物标志物的变化与某一个化合物的变化有关,从而建立一个药物组与代谢组的复杂网络体系。开展此项工作的研究,有可能从新的角度阐释中药的作用机理。

4. 用于组分中药新药研究

现在西方科学家认识到复方药物是新药研发的一个重要方向,中药是复杂化学体系,组分中药是中药复方药物的一种新发展,是中药新药研究的一个新方向。组分中药系统研究是以传统中医药理论作指导,以组分分离制备、系统化学及生物学表征为基础,集中药基础研究、新药开发及生产三者为整体的系统工程^[9]。组分中药的研究思路与本文的研究思路一致,辨识的有效成分是标准组分中与疗效相关的成分,具有较强的药理活性,“组效关系”能获得最佳配比的组分配伍,为获得组分中药提供基础。特别是用代谢组学研究组分中药,能够全面的了解组分及其组合的疗效和毒副作用,优化得到优效或者等效、低毒的,且质量相对更可控,作用机理相对更明确中药新药。

参考文献

- 1 Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery. *Nature chemical biology*, 2008, 4(11):680-682.
- 2 Hopkins AL. Network pharmacology. *Nature biotechnology*, 2007, 25(10):1110-1111.
- 3 Schmidt BM, Ribnick DM, Lipsky PE, et al. Revisiting the ancient concept of botanical therapeutics. *Nat Chem Biol*, 2007, 3(7):360-366.
- 4 周立东. 建议在天然药物研究中建立“定量组效关系”(QCAR)概念. *世界科学技术-中药现代化*, 1999:33-34.
- 5 罗国安, 王义明, 曹进, 等. 建立我国现代中药质量标准体系的研究. *世界科学技术-中药现代化*, 2002, 4(4):5-11.
- 6 王毅, 程翼宇. 中药组效关系辨识方法学与计算理论研究思路与策略. *中国天然产物*, 2003, 1(3):178-181.
- 7 赵筱萍, 范晓辉, 余杰, 等. 一类基于组效关系神经网络模型的中药药效预测方法. *中国中药杂志*, 2004, 29(11):1082-1085.
- 8 刘雪松, 王毅, 程翼宇. 一种基于进化学习的中药定量组效关系建模方法. *浙江大学学报*, 2005, 39(4):495-499.
- 9 李振坤, 陈建新, 杨洪军, 等. 基于 LARS 算法的川芎成分组合与血管活性关系分析. *中国实验方剂学杂志*, 2009, 15(3):24-27.

- 10 陈畅,吴宏伟,唐仕欢,等. 基于组效关系的中药质量评价策略. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(10):4-5.
- 11 吴宏伟,陈建新,杨洪军,等. 丹参成分组合与抗氧化活性相关性分析. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(3):68-71.
- 12 Yang HJ, Chen JX, Tang SH, et al. New drug R&D of Traditional Chinese medicine -Role of data mining approaches. Journal of biological systems, 2009, 17(3):329-347.
- 13 Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. Xenobiotica, 1999, 29:1181-1189.
- 14 Nicholson JK, Lindon JC. Systems biology: metabonomics. Nature, 2008, 455(7216): 1054-1056.
- 15 刘昌孝. 代谢组学的发展与药物研究开发. 天津药学, 2005, 17(2):1-6.
- 16 Nicholson JK, Connely J, Lindon JC, et al. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. Nat Rev Drug Discov., 2002, 1(2):153-161.
- 17 Clayton TA, Lindon JC, Cloarec O, et al. Pharmaco-metabonomic phenotyping and personalized drug treatment. Nature, 2006, 440 (7087): 1073-1077.
- 18 Lu T, Yang J, Gao X. Plasma and urinary tanshinol from *Salvia miltiorrhiza* (Danshen) can be used as pharmacokinetic markers for cardiotoxic pills, a cardiovascular herbal medicine. Drug Metab Dispos, 2008, 36(8):1578-1586.
- 19 梁鑫森,徐青,薛兴亚,等. 组分中药系统研究. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, 8(3):1-7.

Research on the Basic Idea and Strategy of Combination-Activity Relationship in Chinese Materia Medica by Metabolomics

Xu Haiyu¹, Tang Shihuan¹, Chen Jianxin², Li Defeng¹, Chen Chang¹, Yang Hongjun¹, Liu Changxiao³

(1. Institute of Chinese Material Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Abstract: Combination-Activity Relationship (CAR), which refers to the relation between combinations and activities of active components in Chinese Materia Medica (CMM), is one of the key scientific study aspects in the modernization of CMM. In this paper, the basic research strategy of CAR based on metabolomics was put forward. This strategy includes active components identification based on pharmaco-metabonomics, pharmacodynamic activity evaluation based on metabolomics, and correlation analysis of active component combinations and their pharmacodynamic activities based on systems modeling. This study supplied theoretical and technical support for improving quality evaluation mode for CMM and multi-component Chinese medicine, and explaining mechanism of synthetical function and compatibility law of CMM prescription.

Keywords: Combination-Activity Relationship, Pharmaco-metabonomics, Metabolomics, Active components, Activity evaluation, Data mining

(责任编辑:李沙沙 张志华, 责任译审:王晶)