

## · 中药现代化论坛 ·

## 基因技术与现代中药

王 兴<sup>1</sup>, 闫智勇<sup>1</sup>, 郝晓锋<sup>2\*</sup>

(1. 康弘集团·成都康弘制药有限公司 博士后科研工作站, 四川 成都 610041; 2. 康弘集团·成都法玛基因科技有限公司, 四川 成都 610036)

**摘要:** 中药由于所含有效成分及作用机制的双复杂性, 难以用现行生物医学理论解释, 严重地制约了中药的现代化。现代中药应采用能与国际接轨的高质量标准, 并通过大力推行药材生产的 GAP 和药品生产的 GMP 来保证。在中药作用机制方面, 应采用“利用基因芯片 (DNA microarray) 建立基因表达差异谱”技术, 将中药与基因表达差异谱有机地结合起来进行研究, 同时以基因表达差异谱为基础建立一种全新的现代中药筛选方法, 使中药真正实现现代化、国际化。

**关键词:** 中药; 现代化; 基因芯片; 基因表达差异谱

中图分类号: R282.12 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)07-0577-03

## Gene technique and modern Chinese materia medica

WANG Xing<sup>1</sup>, YAN Zhi-yong<sup>1</sup>, HAO Xiao-feng<sup>2</sup>

(1. Post-Doctor Workshop, Kanghong Group· Chengdu Kanghong Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 610041, China; 2. Kanghong Group· Chengdu Phargentech Co., Ltd., Chengdu 610036, China)

**Abstract** Chinese materia medica (CMM) has double complexity in bioactive ingredient and its mechanism. It is difficult to explain by the modern biomedicine theory. So it seriously restricts the modernization of CMM. The modern CMM should have the high quality standard to meet the needs of international standard. It can be guaranteed by spreading the GAP for Chinese medicinal materials and GMP for standard production. The mechanism depends on using the DNA microarray to set up “the gene expression difference chart”, to study on the combination of CMM and gene expression difference chart. Meanwhile, we can establish a totally new method of screening modern CMM based on the gene expression difference chart, it can really make the modernization and internationalization of CMM.

**Key words** Chinese materia medica (CMM); modernization; DNA microarray; gene expression difference chart

近年来,随着全世界回归自然热潮的兴起和化学药品毒副作用的不断增多,人们把眼光逐渐转向天然药物,这就为中药的发展创造了一个很好的机会。进行中药现代化研究,最终目的还是要为中药学建立国际化的标准,让更多的人认识和接受中药,弘扬我国传统中药。目前中药在国际上还没有获得普遍的认同,更无法与西药相抗衡。究其原因,主要在于中药化学成分复杂,有效成分不清且定性、定量困难,个体差异大,缺乏现代科学理论的支持<sup>[1]</sup>;另一关键点在于,中药的作用机制方面仅有传统的

中医药理论基础,无法用现代生物医学知识作为理论基础,缺乏一个可以量化的现代生物医学指标,如蛋白质水平和基因表达水平方面的量化指标等。如何以现代科技手段使传统中药变为现代中药,实现中药的现代化、国际化,已经成为当务之急<sup>[2]</sup>。

## 1 现代中药

现代中药即通过现代科学技术手段结合传统中医药理论和现代科学理论,深入研究中药的品质、作用机制,建立新的中药新药筛选、开发方法,以实现中药的品质控制国际化、作用机制国际化、筛选开发

\* 收稿日期: 2002-12-05

作者简介: 王 兴 (1973- ) 男, 博士, 现在康弘集团博士后工作站从事博士后研究, 主要研究方向: 中药多靶点药理、基因表达差异谱及中药新药研究, 先后参与及承担“九五”国家重点科技攻关、国家“973”计划、“十五”国家重点科技攻关及省级科研项目 10 项, 获四川省科技进步三等奖一项。 E-mail: wshing@263.net

国际化。首先,应全面提高现行中药的质量标准,应采用全息指纹图谱代替现有的单一成分标识方法,还应在中药的“检查”项按照国外植物药的规范标准增加重金属检测、农药残留量检测、内毒素检测等指标。同时,应提高现有的卫生学检查标准。其次,全面推行药材生产的 GAP 及药品生产的 GMP,使中药从源头进行质量控制,从根本上解决中药的质量问题和中药标准化和现代化问题。在药品的生产中应严格按照 GMP 标准实施,以确保药品质量最终稳定、可控。

## 2 利用基因芯片研究中药药理作用机制

目前,中药药理研究所用的动物模型均为西药研究所用的动物模型,其作用途径为单靶点。由于中药在其作用表现方面与西药相比具有作用的多效性、复杂性、相对不稳定性、某些成分的双向调节作用等,同时,中药的药理作用还具有多组分、多途径、多靶点的特点。这些复杂的特点使得中药从整体到细胞、蛋白质水平都很难全面地研究。所以目前西药所用动物模型不适合中药的药理研究。如何应用现代科学技术,给传统中医药理论以现代科学理论解释是中药现代化的关键,也是制约中药现代化的一个瓶颈<sup>[3]</sup>。

解决这个问题的办法在于开发一种全新的研究手段,既符合传统中医理论的整体水平,又能符合现代科学的分子水平,以此研究中药的作用机制。而采用“利用基因芯片建立基因表达差异谱”技术,可以研究中药对基因表达水平的影响,从而为揭开中药作用机制——“黑匣子”提供了有效的依据<sup>[4]</sup>。随着现代生物技术的发展和各种基因组计划的实施,人们越来越清楚地认识到“基因表达的差异”,在细胞分化、病理现象、药物治疗中起着极其重要且必不可少的作用。而基因芯片尤其是基因芯片中 OLIGO 芯片的发明和应用,为研究细胞或组织中基因表达的差异及基因表达差异谱的建立,提供了一种非常快捷、方便、准确的方法。目前这项技术大多应用在肿瘤细胞和同源性正常细胞的基因表达差异的研究上,其目的在于寻找新的诊断方法和新的药物治疗靶点,而在中药现代化方面大多都还停留在理论探讨上。本文的意旨是提出一种全新且切实可行的方法,即采用基因表达差异谱来解决中药作用机制及中药新药筛选的难题。

大量研究表明“疾病正常,基因表达差异谱”中有些表达差异是引起疾病的原因,有些表达差异引发病理症状,而有些表达差异诱发并发症。该研究的

核心内容是:利用与中药适应证相应的疾病模型动物和正常动物,建立在相关靶组织中“疾病正常,基因表达差异谱”,在基因表达水平上,定性、定量地反映疾病的病理全貌;使模型动物成为给药和空白对照两组,建立在相关靶组织中“给药对照,基因表达差异谱”;利用专用计算机软件,依据药物对一系列疾病基因表达的逆转率,对上述两谱进行对比、分析,即可在基因表达水平上,定性、定量地反映中药药理作用机制全貌。当然该方法也适用于中药的毒理作用机制研究。

该研究可在两个层次开展,即细胞系和动物整体。这两个水平不可替代,细胞培养容易操作,但不能完全等同体内条件,可为整体动物模型的筛选提供线索。由于中药是多成分、多途径、多靶点的作用机制,且有效成分复杂,很多中药的有效成分可能是中药的代谢产物,动物整体实验可以提供更多更可靠的信息。

## 3 中药新药筛选

利用基因表达差异谱有助于在基因表达水平上彻底明确中药的作用机制。目前中药新药的筛选方法还是建立在西药筛选方法的基础上,没有真正体现中药对病因、症状、并发症多靶点作用的特点,这同样也成为制约中药现代化的另一个瓶颈。为此我们提出一种可以体现中药特点的新药筛选方法——现代中药新药筛选系统,该系统主要有两个数据库、一套处方模拟软件和一台高速计算机组成。该系统可在基因表达水平上更快速、更准确、更为可行地进行中药单、复方,中药之间的配伍,中药各组分之间的配伍筛选,大大缩短新药研究的周期。筛选虽不是发现中药新药的唯一途径,但对创新药物来讲,筛选是必不可少的手段和途径<sup>[5]</sup>。该方法从建立基因表达差异谱数据库的角度创立了一种全新的中药筛选模式,其具体研究思路如下<sup>[6,7]</sup>。

3.1 实验动物选择:猩猩、猴子与人类基因最相似,但这两种动物数量有限且价格昂贵。鼠、狗、猪等动物与人类的生理活性基因 85%~95% 相同,且价格较为便宜,可选为实验动物。

3.2 建立针对病因的动物模型,寻找疾病相关靶组织:建立不同疾病诱因的动物模型,设立相同数量的模型组和对照组。根据中医整体观的思想,选取动物机体全部组织,即肾脏、肝脏、脾脏、心肌、肺(肺叶)、动静脉大血管、横纹肌、脑组织、胰腺。利用(针对相应动物的高通量 8 000~15 000 个基因的) OLIGO 芯片,通过组织中总 RNA 的提取、标记探针的制

备、与芯片的杂交、芯片扫描、计算机图像数据处理后,即可建立上述全部组织的疾病-正常基因表达谱。排除基因表达无差异的组织,有差异组织即为该疾病的相关靶组织。

3.3 建立不同病程的相关靶组织的、疾病-正常、基因表达差异谱数据库:根据疾病不同病程阶段,用 OLIGO 芯片对相关靶组织进行检测,建立不同病程疾病相关靶组织的、疾病-正常、基因表达差异谱。所选样本必须有统计学意义,这样建立的数据库才有实用价值。建立该数据库的用途在于为全面认识疾病,发现新的病理机制提供依据;可以和有效部位-对照、基因表达差异谱数据库结合,用于筛选新药。

3.4 建立有效部位-对照、基因表达差异谱数据库:选择一系列中药材及药材中不同的有效部位,设立高、中、低 3 个剂量组及正常对照组,观察其对正常动物 9 种组织基因表达的影响,建立有效部位-对照、基因表达差异谱数据库。如果采用不同药物多态性亚型来建立有效部位的基因表达差异谱数据库,则可筛选到适用于某一个体或人群的个体化药物,以实现中药的给药个体化。

上述中药材的有效部位应该有严格的质量控制,包括农药残留量的检测、重金属、内毒素的检测、卫生学指标的检查,同时还要采用全息指纹图谱对有效部位的化学成分进行控制。对于不挥发的部位,可以采用高效液相色谱仪(HPLC)配置蒸发光散射检测器进行控制,对于挥发性的部位,可采用气相色谱仪(GC)对其成分进行控制。这样就可以确保筛选的有效部位质量的稳定、可控。

3.5 采用高速计算机和处方模拟软件,自动模拟组合新药处方:上述两个数据库在 MS SQL Server 2000 的支持下使用,依据不同有效部位对不同疾病-基因表达的逆转吻合率,在 Delphi 软件上开发的自动模拟组合处方程序,即可得到众多全新的中药组方。

3.6 整体动物药效学实验验证:在获得模拟处方

后,应选择与疾病治疗相关的指标进行整体动物的主要药效学实验,以最后确认该组方的有效性。

用基因表达差异谱数据库筛选现代中药,为中药现代化研究提供了一个全新的思路 and 方向。该研究方法将中药与现代基因组学的疾病相关基因表达和现代药物学的化学物质的作用在功能上统一起来,能够在中药和基因表达之间架起一座桥梁,在基因表达水平上解释中药理论和中药的作用机制。这样可使中药成为作用机制明确、物质基础清楚的药物,使中药理论成为人们可以普遍接受的国际医学语言,使中药从根本上实现现代化、国际化。

#### 4 展望

“利用基因芯片建立基因表达差异谱”技术,为中药的现代化研究开辟了一条崭新的道路,其在中药领域内的应用前景非常广阔,将从根本上改变中药基础研究的现状,它代表了未来药学的研究方向和趋势。相信该技术将为推动中药的现代化、国际化作出巨大的贡献。

#### References

- [1] Cao Z Q. New research method of substance base and mechanism of TCM [J]. *J Shanghai Univ TCM* (上海中医药大学学报), 2000, 14(1): 37-38.
- [2] Du X P, Tian R H, Liu S Y, et al. Discussion of applying genechip to modernization of TCM research [J]. *Dev Pharm (药学进展)*, 2001, 25(6): 330.
- [3] Xue Y, Xue Y. *Canister Theory of Chinese Herb Formula* (中药复方霰弹理论) [M]. Beijing: China Environment Science Press, 1996.
- [4] Schena M, Heller R A, Theriault T P, et al. Microarrays: biotechnology's discovery platform for functional genomics [J]. *Trends Biotechnol*, 1998, 16(7): 301-306.
- [5] Nau M E, Emerson L R, Martin R K, et al. Technical assessment of the affymetrix yeast expression Genechip YE6100 platform in heterologous model of genes that confer resistance to antimalarial drugs in yeast [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(5): 1901-1908.
- [6] Chen H Y, Cui Z L, Wu Z R. Genechip technique and its application in pharmacy area [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2002, 37(3): 167-169.
- [7] Wang Z J, Zhang Y B. Application of genechip in new pharmacy research [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22(1): 22-30.

## 中草药有效成分提取

兰州汇元生物技术研究所是专门从事青藏高原中草药有效成分提取技术的研究开发机构,具有多种高科技现代研究、生产设备及先进的分析检验仪器。我们的宗旨是以技术求发展,以质量求生存。

现已开发生产的中草药产品有:红景天、鬼臼素、大黄、黄芩、黄芪、甘草、党参、当归、沙棘、丹参、锁阳、淫羊藿、熊果酸、薯蓣皂苷等各种挥发油和超细粉。

以上产品可广泛用于医药、食品、日化添加剂等领域,并可根据客户的需求,承接各种中草药的精制提取加工,热忱欢迎海内外同仁前来洽谈业务。

单位名称:兰州汇元生物技术研究所

地址:兰州市西固区西固中路 1112号

电话:(0931) 7357097 13099259401

联系人:李义富