

中药指纹图谱的研究进展

邵建强 *

(天津市药品检验所, 天津 300070)

摘要: 指纹图谱技术是中药质量控制的重要技术和手段。近年来, 国内许多学者对指纹图谱用于中药的质量控制方面进行了深入的研究, 并取得了一定的成果。对中药指纹图谱近几年的研究进展进行综述, 并对其今后的发展提出了几点看法。

关键词: 中药; 指纹图谱; 中药现代化

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)06-0994-05

Advances in studies on fingerprints of Chinese materia medica

SHAO Jian-qiang

(Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China)

Key words: Chinese materia medica (CMM); fingerprint; modernization of CMM

指纹图谱技术自 20 世纪 70 年代出现发展至今, 已由最初的研究阶段进入到实际应用阶段, 并从总体上对中药的质量控制起到了推动作用。中药指纹图谱出于能够从整体上来表征中药的内在特征, 目前已成为国际上公认的控制天然药物质量的有效手段^[1], 为实现中药走向世界提供了有利的质量保证。

1 指纹图谱技术的发展

指纹图谱最初来源于法医学, 依据每个人的指纹在微小的细节构造上各有不同, 可以鉴定不同个体的特征。此后随着生物技术的发展, 出现了 DNA 指纹图谱, 可进一步对人、动物、植物的生命体等进行鉴别^[2]。

国际上最早以立法形式规定指纹图谱可作为质控标准的是欧共体草药制剂规范 (Quality of Herbal Remedies), 提出“如果草药含有几种药食同源植物或制剂, 并且不可能测定其中每一个活性成分的稳定性, 那么药品的稳定性应由合适的指纹图谱来决定”。英国草药典 (1996)、印度草药典 (1998)、加拿大药用及芳香植物学会、德国药用植物学会、WHO 草药评价指南 (1996)、美国草药典 (1999 ~ 2001, Monographs) 均接受色谱指纹图谱。

美国食品和药品管理局 (FDA) 于 2000 年 8 月发布的“植物药产品行业指南 (征求意见稿)”中, 在“植物药的临床研究申请”一节中提出“在植物药的初步临床研究阶段, 基本上不需要确定其有效成分或生物标识成分。用色谱指纹图谱来确认及用质量来制定规格的方法是可以接受的”, 并提出建立批与批之间的指纹图谱的适当界限。在“对未上市的植物产品的 期 和 期临床研究申请”与“所有植物产品 期临床研究申请”两节中, 对植物性原药材、植物原料药和植物药产品均提出了“借助光谱和色谱的指纹图谱的化学鉴定”。

随着我国加入世贸组织, 传统中药要进入国际医药市场, 就必须满足国际社会对于药品的基本要求, 即“安全、有效、可控、稳定”, 也就是说要采用国际公认的控制中成药质量的方法体系。我国食品药品监督管理局 (SFDA) 于 2000 年发布了“中药注射剂指纹图谱研究的技术要求 (暂行)”, 首次以中药指纹图谱作为中药质量标准的一个新概念列入了药品管理法规。目前, 中药指纹图谱的研究正日益成为我国中药现代化进程中的热点与焦点。

2 中药指纹图谱的分类

2.1 按指纹图谱的测定对象分类

2.1.1 中药材 (原料药材) 指纹图谱: 中药品种混杂, 历史上形成的同名异物的情况比较多见。同一物种由于产地环境或季节气候的影响所含有的成分也往往相差很大, 因而建立中药材化学指纹图谱要充分考虑到上述因素, 制订较为宽松的指纹图谱。

2.1.2 中药原料药 (包括饮片、配方颗粒) 指纹图谱: 对中药饮片指纹图谱的要求基本和中药材指纹图谱相同。对中药配方颗粒 (包括标准提取物) 指纹图谱的要求可以稍高一些。应鼓励生产厂家采用标准提取工艺, 严格控制操作参数, 并对原药材采取“混批勾兑”的作法, 建立相对稳定的指纹图谱。林文艳等^[3]采用 RP-HPLC 法, 建立市售的 11 批板蓝根饮片的指纹图谱, 发现其特征共有峰有 12 个。王丽莉等^[4]建立了麻黄汤配方颗粒剂的 HPLC 指纹图谱, 通过与传统汤剂进行比较, 为颗粒剂的可行性及合理性提供依据。

2.1.3 中药制剂指纹图谱: 中药制剂指纹图谱稳定性取决于生产工艺全过程。将原药材投料改为提取物投料, 严格控制工艺流程等都是有效的方法。傅萍等^[5]分别以 ELSD 和 UVD 为检测器, 建立了注射用血塞通、血栓通注射液及注射

用血脉通的 HPLC 的指纹图谱。

2.2 按指纹图谱的测定方法分类:从方法学角度来说,中药指纹图谱主要包括色谱法如薄层色谱(TLC)、高效液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)、高效毛细管电泳(CE)和高速逆流色谱(HSCCC)等,其中 HPLC 为其主流方法;光谱法如红外光谱(IR)和紫外-可见光谱(U-Vis)以及核磁共振谱(NMR)和色谱联用技术如液相色谱-质谱(LC-MS)和气相色谱-质谱联用(GC-MS)等。色谱法和色谱-质谱联用技术是目前实用性较强、研究较多的中药指纹图谱信息获取技术,利用色谱指纹图谱技术,结合计算机智能信息处理,可以对中药进行比较全面的质量评价^[6]。

雷敬卫等^[7]建立了生熟地黄的薄层色谱指纹图谱,其方法操作简便,是一种可以快速鉴别药材真伪及考察药材质量的有效手段;石峰等^[8]对葛根药材及其提取物进行了 HPLC 指纹图谱研究;王文燕等^[9]建立了海南产降香药材挥发油的气相色谱指纹图谱;郭涛等^[10]采用高效毛细管电泳法建立以 10 批当归道地药材,10 批川芎道地药材,10 批红花道地药材,10 批心舒口服液为样品的指纹图谱并比较研究了制剂与药材指纹图谱之间的相关性;顾铭等^[11]采用高速逆流色谱技术研究丹参的指纹图谱,此方法可以体现中药化学成分浓度分布情况;张尊建等^[12]应用 HPLC 法测定了穿心莲药材的指纹图谱,标示了 9 个共有峰,并应用 HPLC-MS 联用技术对其中 7 个主要色谱峰进行了初步归属,且对不同产地药材的色谱指纹图谱进行了相似度评价。

2.3 按指纹图谱在中药质量评价中的应用不同进行分类

2.3.1 中药化学指纹图谱:中药化学指纹图谱通过药材中各色谱峰的峰面积或峰高比值来确定样品中化学成分的相对量,并结合数理统计方法通过相似度的比较来评价中药材或制剂质量的优劣。

多指标成分定量指纹图谱是在中药化学指纹图谱基础上发展起来的一种分析方法,它兼具化学指纹图谱的整体定性优势和指标成分的定量分析功能,综合表征了中药方剂的整体定性质量特征和特异性成分的定量质量特征,尤其是对于组成极其复杂的中药复方,或有效成分的指纹信息不突出甚至缺失的情况下,多指标成分定量指纹图谱技术具有尤其重要的意义,其在一定程度上弥补了传统化学指纹图谱定性分析方法的不足,在中药质量控制领域中具有良好的应用前景^[13]。果德安^[14]课题组在对丹参药材及其复方制剂的质控研究中,首先建立了丹参色谱指纹图谱,并在指纹谱中指出了 17 个酚酸类成分和 17 个丹参酮类成分,进一步对药材及制剂进行了多指标成分定量分析,采用不同的色谱条件,定量分析了 6 个酚酸类成分和 4 个丹参酮类成分,并将该方法成功地用于控制丹参药材及其 4 种不同制剂的质量。

2.3.2 中药谱效关系指纹图谱:中药谱效关系指纹图谱是在中药化学指纹图谱、药效物质成分鉴定和中药药效活性测定的基础上,充分利用现代化学与生物信息学研究的成果,开展指纹图谱信息与药效活性信息的相关性研究,以实现中药化学指纹图谱向中药药效组分指纹图谱的转化,从而建立

中药指纹图谱组效学研究体系。其核心任务是研究特征化学成分与生物活性相关的量效关系。中药谱效关系的研究弥补了目前以化学指纹图谱控制中药质量时与药效脱钩的不足,可为中药质量控制提供更为科学有效的数据^[15]。周立艳等^[16]采用 HPLC 法建立了牡丹皮活血化淤部位的药效指纹图谱。

2.3.3 中药生物指纹图谱:中药生物指纹图谱是利用基因组学和蛋白质组学技术研究药材基因型特征和中药作用于特定生物细胞后引起基因和蛋白表达的变化规律和作用机制,从分子水平上揭示中药与生物细胞作用后的基因与蛋白表达特征。主要包括中药基因组学指纹图谱、中药蛋白组学指纹图谱和中药材 DNA 指纹图谱。此外,还包括反映药材内部组织结构、细胞形状的中药显微图谱,即生物物理图谱^[17]。

利用随机扩增多态 DNA 法(RAPD)和多聚酶链反应(PCR)测序技术(AP-PCR),从不同生物样品中人工合成 DNA 片段,而这种 DNA 片段的大小、数目因不同的生物而异,故又称之为 DNA 指纹图谱。由于 DNA 分子标记直接分析的是生物的基因型而非表现型,鉴别结果不受环境因素、样品形态和材料来源的影响,因此可为中药鉴定提供更加准确可靠的手段。陶钧等^[18]运用 RAPD 技术测定了天麻的 DNA 指纹图谱,其研究成果为天麻基因组 DNA 的开发与利用提供了科学依据,可应用于天麻种群的遗传分类。

中药基因组学指纹图谱和中药蛋白组学指纹图谱系指用中药制剂作用于某种特定细胞或动物后,引起的基因和蛋白的复杂的变化情况,这两种指纹图谱可称为生物活性指纹图谱。王志安等^[19]运用 AFLP 分子标记技术建立了白术种质的基因指纹图谱,为白术种质保存和育种提供了依据。

2.3.4 中药代谢指纹图谱:众所周知,药物进入人体后会经过一系列的生物转化过程,在体内真正起效的成分可能是原型化合物也可能是其代谢产物。因此,中药代谢指纹图谱的研究越来越受到重视。代谢指纹图谱反映的是机体状况的分子集合与其功能之间的关系,其整体反应性特点与中医药治疗疾病的观念相吻合。应用代谢指纹图谱寻找中药效应成分的基本思路是运用 LC-MS、LC-NMR 等技术,比较药物提取物化学指纹图谱与生物体液代谢指纹图谱(如血液、尿液等),发现代谢产物(内源性和外源性)与原型成分,通过代谢产物与原型成分组和量的经时变化,借助于化学计量学和多元统计分析等手段,找出与疗效相关的生物标示物(组),鉴定其结构,找出其在中药提取物中的“关联”成分(群),该成分(群)即为中药特定的效应成分^[20]。

阮毅铭^[21]采用 HPLC-MS 对中药穿心莲的代谢产物进行研究,从而制定与生物有效性相关联的穿心莲化学成分指纹图谱。吴秀君等^[22]建立了中药注射剂脑血宁的 HPLC 指纹图谱,通过鉴定给药后血清中的主要化学成分并对主要化学成分的药动力学进行了初步的研究,其结果将有利于阐明脑血宁注射液体内发挥疗效的真正物质基础及作用机制。

3 中药指纹图谱的构建

中药指纹图谱应具有特征性、重现性和可操作性。一个

理想的指纹图谱应该不仅仅局限于对药物物质基础的相对显示,而应该将测定的参数通过一定的数据进行相关性比较,并联系药物从原材料到最终成品整体过程的质量特性,对中药进行整体、有效的控制^[23]。

建立中药指纹图谱时主要应考虑:(1)如何体现中药材或方剂中不同类药效成分群的特征;(2)当一种中药的品种、药用部位、产地、采收期、产地加工及炮制方法相对不固定时,如何用指纹图谱表征其质量;(3)如何实现用指纹图谱来控制从药材到中间体,再到最终产品全过程中化学成分群的变化^[2]。

原料药材质量的提高和稳定是中药制剂指纹图谱能否成功建立的首要关键,生产工艺的规范和优化是研究实施指纹图谱的另一个重要环节,而指纹图谱试验的方法学严格验证是图谱达到专属、稳定的保障^[24]。

4 中药指纹图谱的评价

鉴于光谱或波谱所表达信息的复杂性和模糊性,其数据的特征提取、相关性分析、可视化处理已成为中药指纹图谱技术的关键和研究前沿。通常情况下,对中药指纹图谱信息的处理均是为了能够判别样品与参照物指纹图谱的相似度。

4.1 评价模式:化学识别模式是中药指纹图谱评价的主要模式,它是根据物质所含化学成分用计算机对其进行分类或描述,主要有主成分分析、简单分类算法、非线性映照法、聚类分析和人工神经网络识别系统等。聚类分析识别模式和神经网络识别模式是较为常用的两种化学识别模式。

4.1.1 聚类分析识别模式:聚类分析是用“相似度”来衡量样品之间的亲疏程度,并以此来实现分类。王丽丽等^[25]采用裂解气相色谱-质谱法测定了 10 种不同产地的铁皮石斛,并结合系统聚类分析法比较了这些铁皮石斛的指纹图谱;陈彦等^[26]采用高分辨气相色谱-一阶程序升温的方法测定了术类 12 种药材的 Kovats 保留指数及相应组分的相对量,按照模糊聚类分析的数学方法划分了术类药材的种类。

4.1.2 人工神经网络:人工神经网络法可以获取反映中药内在质量的宏观、综合和隐含的信息,并以模糊非线性观点进行比较,评价中药内在质量的真实性、一致性和稳定性,它在中药质量评价、产地、种属、真伪的识别方面应用广泛。张勇等^[27]利用傅里叶变换红外光谱测定了 42 种来自吉林 3 个不同产地的淫羊藿样品的红外光谱,通过人工神经网络所建立的模型能够正确地对 42 个淫羊藿样品进行产地鉴别。

4.1.3 主成分分析法:主成分分析法在尽可能保留原有信息的基础上,对数据进行空间转换,将高维空间中的样本转换到较低维的主成分空间中,找出能反映原始数据特征的主成分,通过对各个变量在主成分上的载荷因子大小找出影响结果的重要变量,进一步选择主要表征变量。朴香兰等^[28]采用 GC-MS,运用主成分分析法对来自中国与日本的 39 个模式组当归药材的指纹图谱进行了化学模式识别研究。

4.2 评价方法:相似度的评价方法主要有 Nei 系数法、距离系数法、相关系数法、夹角余弦法和改进的 Nei 系数法等。聂磊等^[29]把它们分为 3 种类型:一是利用指纹图谱间的差

异性进行评价,如距离系数法;二是利用指纹图谱间的相似性进行评价如夹角余弦法、相关系数法和 Nei 系数法;三是在相似性的基础上引入差异性来评价,如改进的 Nei 系数法。这些方法都有各自的特点和应用范围,如何针对实际问题在实际应用中选用合适的相似度评价方法,使中药指纹图谱的评价更加科学、客观、准确,是亟需解决的问题。为此,学者们进行了相关研究。程翼宇等^[30]经过研究,结果表明夹角余弦法适于分析评价不同批次间药品质量的稳定性。聂磊等^[31]研究认为夹角余弦、相关系数和 Nei 系数适用于中药品种的鉴定;对于组成中药用量的比例不变,但其总量变化的情况下,距离系数和改进的 Nei 系数法能体现,故适用于与总量有关的中药及中药材的质量分析。

4.2.1 距离系数法:距离系数常用于描述样品间的亲疏程度,系数越大,二者的差异也就越大。欧氏距离是距离测度中使用最广泛的一种。欧氏距离在量上反映指纹图谱间的距离和化学成分量的差异,侧重于特征变量值的大小亲疏程度的相似性。

4.2.2 夹角余弦系数:夹角余弦系数是指纹图谱特征变量在变化模式上的相似性测度,值越小,相似性越大。它可以提供样品真伪相似性的信息。王龙星等^[32]利用向量夹角法,对 11 个不同产地及炮制方法的吴茱萸样品的液相色谱指纹图谱进行相似度计算,结果此法能较好地评价指纹图谱间的相似性。

4.2.3 改进的 Nei 系数法:改进的 Nei 系数法的灵敏度高于距离系数和相似系数法。若两个指纹图谱完全没有共有峰,则 N_{Ir} 为 0,若两指纹图谱完全一致,则 N_{Ir} 等于 1; N_{Ir} 数值一般介于 0~1; N_{Ir} 数值的大小能够完全、定量地反映出两个指纹图谱的相似程度。孟庆华等^[33]对文献中的数据预处理,并用距离系数和相似度系数进行相似性判断,结果与实际并不相符,而改进的 Nei 系数却能很好的反映实际情况。

5 中药色谱指纹图谱在中药质量评价中的应用

5.1 药材的真伪鉴别:通过建立药材指纹图谱,能有效全面地对中药材的质量进行控制。色谱指纹图谱反映全貌的共有峰模式,能有效地对不同产地、不同季节、不同采收期的药材进行体现,从而能起到药材真伪甄别的作用。江蔚新等^[34]采用 HPLC 法测定 10 批不同产地龙胆药材,制定了指纹图谱;刘训红等^[35]采用 RP-HPLC 法测定了赤首乌、白首乌、加工炮制品及其何首乌粉的指纹图谱,结果表明赤首乌与白首乌的指纹图谱具有明显区别,可用于两种药材的鉴别;闫永红等^[36]建立了野生及栽培甘草的 HPLC 指纹图谱,利用 MS/MS 技术推测化合物结构,结果表明,野生与栽培甘草所含成分大部分相同,仅有少量区别。

5.2 生产过程中的质量控制:中成药在生产过程中,由于经过提取、浓缩和精制的阶段,处方药材中的主要有效成分被提取分离出来,但部分有效成分也会损失,如何减少有效成分流失,提高产品质量,越来越多的学者采用指纹图谱技术对生产过程进行控制。

5.3 中药有效性评价:随着色谱指纹图谱技术的广泛应用,对中成药质量的控制也更加全面和有效。但指纹图谱的共有峰是否为主要有效成分是控制产品质量的关键。由于指纹图谱中成分较多,大部分研究均未能对各指纹峰进行一一鉴定。因此,选择正确的有效成分作为指纹共有峰就显得尤为重要,中药指纹图谱中的谱效关系研究也因此逐渐得到开展。尹莲等^[37]采用指纹图谱结合药效实验,对加味四妙丸有效部位群 GC 指纹图谱进行谱效关系及配伍变化研究,发现指纹图谱谱效关系是表征复方整体成分/配伍/药效的相关性的有效途径。

5.4 中药的安全性评价:药物的基本要求是安全。目前色谱指纹图谱用于中药安全性评价主要在中药毒性成分检测及定量方面。如采用 HPLC-MS 法在线快速监测中药中具有肝毒性的吡咯里西啶生物碱^[20]。

5.5 加快中药现代化进程:中药现代化一方面应通过现代科技和管理对中药原药材的种植加工和生产流通以及临床疗效评价等进行全面质量规范和科学指导;另一方面,应该充分应用现代最新科技成果,大胆创新,从中药中提取精华,研发安全有效的现代化药物。从中药新药研发出发,可在研究的起始阶段,同时进行中药化学成分指纹图谱及化学成分和药理作用、药效活性的相关性研究,可以起到事半功倍的效果。不仅能够加速新药开发速度,且能够从一开始就站在较高的起点上。

德国某公司研制的银杏提取物就是一个很好的范例,在建立银杏提取物 HPLC 指纹图谱的过程中,不仅说明了化学成分群的特征,还确定了与疗效相关的黄酮类和内酯类成分的比例以及有害成分山果酸的限量,达到了质量可控、疗效明显的要求^[38]。

6 结语

中药指纹图谱作为评价与控制中药质量与活性的有力手段之一,已引起了许多科研单位及药品生产企业的高度重视。有关中药指纹图谱的各类文献呈逐年递增趋势。

值得注意的是,就目前中药指纹图谱的研究而言,仍存在着许多问题。近年来有关中药指纹图谱的论文多集中在方法的建立上,而针对数据信息处理和图谱相似性评价的研究相对较少。有关中药的药效物质基础与其药理药效相关性研究尚存在较大的空白。

中药指纹图谱研究目前仍处于起步阶段,从最初指纹图谱的建立到多维多息特征谱的应用都存在一些不足之处。特别是指纹图谱评价的研究还很混乱,缺乏可靠、规范、统一的评价方法,已成为中药指纹图谱推广应用的重大障碍。欲提高中药指纹图谱的整体水平,还有待于在最大信息的量化、色谱峰的归属、特征成分的系统量化等方面进行深入细致地研究。

随着科学技术的迅猛发展及现代分析技术的不断提高,中药指纹图谱的研究也必将不断吸收许多新的技术手段与实验方法,从初级阶段到高级阶段,从单指标至综合多指标方向发展,从而更好地对中药质量做全面整体的评价。

参考文献:

- [1] 周玉新. 中药指纹图谱研究技术 [M]. 北京:化学工业出版社, 2002.
- [2] 元英进, 刘明言, 董岸杰. 中药现代化生产关键技术 [M]. 北京:化学工业出版社, 2002.
- [3] 林文艳, 莫建霞, 于荣敏, 等. 板蓝根药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2005, 22(5): 378-380.
- [4] 王丽莉, 刘晓秋, 陈发奎. 麻黄汤配方颗粒剂与标准汤剂的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中成药, 2006, 28(6): 785-786.
- [5] 傅萍, 刘仲义. 指纹图谱测定注射用血塞通、血栓通注射液及注射用血脉通的化学成分 [J]. 华西药学杂志, 2007, 22(1): 76-78.
- [6] 韩晔华, 霍飞凤, 杨悠悠, 等. 中药指纹图谱研究的某些进展与展望 [J]. 色谱, 2008, 26(2): 142-152.
- [7] 雷敬卫, 白雁, 贾永. 薄层色谱指纹图谱对熟地黄质量稳定性的实验研究 [J]. 河南中医学院学报, 2008, 23(138): 28-30.
- [8] 石峰, 司成栋, 陈卫, 等. 葛根药材及其提取物的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2006, 41(11): 420-423.
- [9] 王文燕, 王靖, 张铁军. 降香挥发油的指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2007, 38(1): 66-68.
- [10] 郭涛, 孙沂, 隋因, 等. 心舒口服液毛细管电泳指纹图谱的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 839-843.
- [11] 顾铭, 张贵峰, 苏志国, 等. 高速逆流色谱技术在丹参指纹图谱中的应用 [J]. 中国药品标准, 2005, 6(6): 7-12.
- [12] 张尊建, 董海鹏, 余静, 等. 穿心莲药材的色谱指纹图谱 [J]. 中国天然药物, 2005, 3(6): 373-376.
- [13] 王勇, 梁琼麟, 胡坪, 等. 色谱及相关技术在中药质量评价中的应用 [J]. 色谱, 2008, 26(2): 136-141.
- [14] 刘荣霞, 叶敏, 果德安. 中药质量控制研究的思路与方法 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(5): 332-337.
- [15] 孙国祥, 毕开顺. 中药指纹图谱学体系在中药创制中的作用 [J]. 色谱, 2008, 26(2): 172-179.
- [16] 周立艳, 梁生旺, 王淑美, 等. 牡丹皮高效液相色谱“药效指纹图谱”研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6): 1337-1339.
- [17] 杨雪梅. 浅谈几种中药指纹图谱技术在中药鉴定中的应用 [J]. 中国药事, 2007, 21(2): 121-123.
- [18] 陶钧, 唐忠球, 王燕, 等. 天麻 DNA 分子的克隆与鉴定及其生物信息学分析 [J]. 长沙理工大学学报:自然科学版, 2008, 5(1): 98-103.
- [19] 王志安, 徐行, 沈晓霞, 等. 白术种质 AFLP 指纹图谱分析体系的建立和应用 [J]. 中药材, 2008, 31(4): 483-487.
- [20] 周建良, 齐炼文, 李萍. 色谱指纹图谱在中药质量控制中的应用 [J]. 色谱, 2008, 26(2): 153-159.
- [21] 阮毅铭. 穿心莲化学成分指纹图谱的生物模型表达 [J]. 黑龙江医药, 2008, 21(5): 33-35.
- [22] 吴秀君, 肇丽梅. 脑血宁注射液血清药物化学及药动学研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(5): 376-379.
- [23] 邵鹏柱, 曹辉. 中药分子鉴定 [M]. 上海:复旦大学出版社, 2004.
- [24] 谢培山. 中药制剂色谱指纹图谱(图像)鉴别 [J]. 中成药, 2000, 22(6): 391-394.
- [25] 王丽丽, 王聪, 潘再法, 等. 铁皮石斛的裂解气相色谱指纹图谱及其系统聚类分析 [J]. 色谱, 2008, 26(5): 613-617.
- [26] 陈彦, 叶崇义, 刘舞霞, 等. 高分辨气相色谱-模糊聚类分析法在术类药材分类中的应用 [J]. 药科学, 1996, 30(3): 230-234.
- [27] 张勇, 金向军, 谢云飞, 等. 基于人工神经网络的淫羊藿红外光谱的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(6): 1251-1254.
- [28] 朴香兰, 洪承权. 气质联用-模式识别方法对中国当归的质量控制 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(16): 2008-2010.
- [29] 聂磊, 曹进, 罗国安, 等. 中药指纹图谱相似度评价方法的比较 [J]. 中成药, 2005, 27(3): 249-252.
- [30] 程翼宇, 陈润军, 吴永江. 化学指纹图谱的相似性测度及其评价方法 [J]. 化学学报, 2002, 60(11): 2017-2021.
- [31] 闫颖, 刘丹霞. 指纹图谱技术在中药制剂研究中的应用 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(12): 3129-3131.
- [32] 王龙星, 肖红斌, 梁鑫淼, 等. 一种评价中药色谱指纹谱相似性的新方法:向量夹角法 [J]. 药科学, 2002, 37(9): 713-717.

- [33] 孟庆华, 刘永锁, 王健松, 等. 色谱指纹图谱相似度的新算法及其应用 [J]. 中成药, 2003, 25(1): 4-8.
- [34] 江蔚新, 钦浩, 何文顺. 龙胆药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1563-1565.
- [35] 刘训红, 王玉玺, 陈斌, 等. 赤首乌和白首乌的 HPLC 指纹图谱鉴定研究 [J]. 中草药, 2005, 36(11): 1704-1706.
- [36] 阎永红, 段天璇, 王文全, 等. 野生及栽培干草 HPLC 指纹图谱 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(2): 116-120.
- [37] 尹莲, 钱俊. 加味四妙丸有效部位群 GC 指纹图谱谱效关系及配伍变化研究 [J]. 中成药, 2007, 29(5): 634-637.
- [38] Sticher O. Quality of *Ginkgo* preparations [J]. *Planta Med*, 1993, 59: 2-11.

天然抗病毒药物的组合微生物转化

孙轶然*

(华中科技大学同济医学院药学院, 湖北 武汉 430030)

摘要: 抗病毒药物的研发是现今药物开发的热点, 也是难点。分析抗病毒药物研发的关键性困难和障碍, 在生物合成药理学、天然药物的生物转化学、药物设计学、免疫学、病毒学等学科知识基础上, 借鉴组合化学、组合生物催化、高通量筛选等当今较前沿的药物研发途径和技术, 提出了“组合微生物转化”的研发理念和相应途径, 以应用于天然抗病毒药物的研发和药理毒理改造。

关键词: 抗病毒药物; 组合微生物转化; 天然药物; 组合化学; 组合生物催化; 高通量筛选

中图分类号: R282.1; R977

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)06-0998-03

Combinatorial microbial transformation of natural antiviral drugs

SUN Yi-ran

(Tongji College of Pharmacy, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Key words: antiviral drugs; combinatorial microbial transformation; natural drugs; combinatorial chemistry; combinatorial biocatalyst; high throughput screening

随着社会和科技的进步, 药物研发水平不断提高, 尤其是针对病原微生物的化学药物的研发, 通过几代科学工作者的努力, 获得了令人振奋的成果。但必须正视的是, 对病毒有强杀伤和根除作用且不良反应较少的化学药物仍难一见。据不完全统计, 危害人类健康的传染病中有 60% 是由病毒引起的, 迄今世界发现的病毒有 3 000 多种, 而其中乙肝病毒和艾滋病病毒等这些严重影响着人类健康的病毒, 急需找到有效的治疗药物^[1]。

抗病毒药物难于研制, 概括起来有 4 个方面的原因:

(1) 病毒与宿主细胞共存密切, 导致抗病毒药物的高效性和低毒性难以兼顾。现今主流的核苷类抗病毒药物对于 DNA 病毒和 RNA 病毒等在胞浆中进行转录翻译有疗效, 而对于基因序列整合到宿主细胞的细胞核内的反转录病毒难以起到作用; (2) 与生活史复杂、作用靶点繁多的细菌、真菌等相比, 病毒生活史过于简单, 使得针对病毒的药物作用靶点的设计研究虽然范围小、有针对性, 但受到的局限很大; (3) 主流的核苷类抗病毒药物属于代谢拮抗药物, 抑病毒而不杀病毒; 另一方面病毒体积小、数量多, 这都导致核苷类抗病毒药物极易停药复发, 难以根除病毒, 消除疾病。 (4) 病毒的致病机制往往与自身免疫紊乱有关, 如乙肝病毒的主要病

因实际是机体免疫系统对自身肝脏的损伤, 这使得抗病毒药物难以标本兼治。

近年来, 针对以上问题, 一些从事抗病毒药物研究的学者和科研机构将注意力放到以下几个方面: (1) 对于病毒的免疫治疗, 可能解决病毒的清除不完全和复发的问題; (2) 针对病毒引发的自身免疫病的治疗与抗病毒药物联合用药, 可能找到有效的“鸡尾酒”疗法, 全面对抗病毒感染; (3) 加强天然药物活性物质抗病毒活性研究。有证据表明^[2], 中药中的活性物质如冬虫夏草多糖、香菇多糖等对于乙肝病毒, 甚至是艾滋病病毒感染^[3] 及其自身免疫并发症有一定疗效。其机制有可能是调节免疫功能, 合理激活免疫杀伤功能, 并抑制自身免疫。

其中天然抗病毒活性物质的研究即符合我国天然药物丰富的优势和我国国情, 又有很好的发展前景, 本文将重点探讨其优势、劣势, 以及研发的新方法。

1 天然抗病毒药物的研发

天然抗病毒药物往往不直接作用于病原微生物, 而是调节免疫功能。这一点对于药物作用靶点寻找困难的病毒来说尤为重要。合理激活免疫杀伤功能的天然抗病毒药物, 能抑制自身免疫, 即可以彻底根除病毒, 又可治疗自身免疫并

* 收稿日期: 2009-01-14

作者简介: 孙轶然(1987—), 男, 天津人, 研究方向为天然药物的微生物转化。 Tel: 15926393802 E-mail: bbip_c@yahoo.com.cn