

- [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. 野生及栽培甘草 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 Yiran

(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的问题; (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

发病,相对于其他抗病毒药物有着不可比拟的优势。

但同时天然抗病毒药物研发也有着很大障碍:(1)由于天然药物结构复杂,难于对其进行提高药效和降低毒性的优化改造。(2)虽然可以应用生物转化技术生产天然药物,但定向转化较难,需耗费大量时间和资金投入,不符合我国国情和科研现状。(3)由于天然药物作用靶点通常是免疫系统,靶点数量过于巨大,难以单纯以受体靶点预测方式进行合理药物设计。

而组合微生物转化途径则有望解决以上问题。将微生物转化技术与组合化学理念相结合,参照配套酶工程技术的组合生物催化系统,可应用于天然抗病毒药物的研发,即组合微生物转化的药物研发途径。具体操作如下:

(1) 确定研究对象:依靠计算机辅助药物设计和药理学初期研究,初步确定受体靶点研究对象,即可能有抗病毒活性的一类天然活性物质。

(2) 确定先导化合物:如果天然化合物结构、活性和药理作用明确,可直接作为先导化合物。如不清楚,可依赖微生物转化技术对天然活性物质进行生物转化,用组合化学方式产生大规模化合物库;依赖高通量筛选技术(即用计算机操作实验系统高效获得抗病毒活性化合物)同时对产物实行系统性筛选,最终获得有研究价值的先导化合物。

(3) 改造先导化合物:用组合微生物转化法进行改造,通过筛选技术获得高效低毒先导化合物。还可结合计算机辅助设计、受体靶点作用改造、3D-定量构效改造等定向改造技术,以弥补非定向改造在资源浪费上的不足。最终获得高效低毒可考虑申报上市的药物。

(4) 进行临床前实验和临床试验、药动、药剂学研究,以及与发酵工程技术相对接的工程技术研究,以实现药物的工业化生产。

(5) 新药的申请和上市。

以下简要介绍几种可应用于天然抗病毒药物研究的技术和方法。

1.1 组合化学(combinatorial chemistry):组合化学是将化学合成、组合理论、计算机辅助设计结合在一起,根据组合原理,系统反复连接,从而产生大批的分子多样性群体,形成化合物库(compound library),对库成分进行筛选优化,得到可能的有目标性能的化合物结构的科学。先导化合物的发现和优化阶段,是药物研究最重要的环节,也是资金和时间投入最多的环节。目前抗病毒药物研究的现状:一方面药物研发工作者在不断地寻找病毒及其生活史中可为药物作用的靶点和受体,虽然在核苷类抗病毒药物的研发上取得了一定成果但仍不尽如人意;另一方面从事筛选天然产物的提取物或从化合物专利中寻找线索的研发者也开始发现这些途径在抗病毒药物的研发中受到很多局限。这都使得抗病毒药物研发投入大量人力、物力,却回报甚少。而灵活应用组合化学的理念在提高本阶段效率方面可起到很大作用,包括多样性化合物库的合成和药物先导化合物的优化,大大节约人力、物力、财力和时间。首先,该技术与天然药物的微生物转

化技术相结合,能够快速合成出成千上万具有结构多样性的天然转化产物,因此能够快速发现新的天然抗病毒先导化合物。其次,在对天然抗病毒先导化合物进行优化时组合化学也有其用武之地,可以在没有任何结合模型时通过平行地合成大量化合物来达到优化先导化合物活性的目的。最后,即使研发者已经了解了先导化合物的作用机制,组合化学仍然有助于对药物构效关系的探讨和研究。

据报道^[4],第一个完全采用组合化学技术发现和优化的新型抗生素 Linezolid 已经在 2001 年获得美国 FDA 批准上市,前后共花了约 9 年时间,与传统开发新药的平均时间相比,节约了 4~6 年的时间。随着技术的成熟及与药物合理设计的结合,组合化学研发途径有望节省更多的时间和资金的投入。

1.2 组合生物催化(combinatorial biocatalysis):组合化学为药物研发开辟了一条新途径,而组合生物催化和高通量筛选可以说是组合化学的增强版,对于天然合成药物的研发有着重要意义。

对天然先导化合物进行的修饰和优化时,生物催化反应比合成化学反应具有许多明显的优势^[5]:(1)广泛的反应可能性;(2)高区域选择性和立体选择性,能进行控位修饰;(3)单步反应,避免了保护和脱保护步骤;(4)自动方便,在温和均匀的条件下,反复进行单步反应;(5)反应条件温和,适宜于复杂、不稳定的分子;(6)活性高,催化剂的浓度低;(7)酶催化剂固定化后可以循环利用;(8)酶能被环境完全降解。

天然活性物质和天然产物可以说是先导化合物的资源宝库,由于结构复杂,难以用普遍化学方法优化,生物催化的地位和作用就凸现出来。目前组合生物催化主要配套的是酶工程技术,而适合天然抗病毒活性先导化合物改造的微生物转化还没有与该技术结合。可以参照配套酶工程技术的组合生物催化途径,设计出配套微生物转化技术的组合生物催化,或称之为“组合微生物转化”途径。

1.3 高通量筛选:(high throughput screening)高通量筛选是组合化学、组合生物催化必须依赖的关键技术^[6]。高通量筛选是在微孔板上以自动化操作系统执行实验过程,通过灵敏快速的检测仪器采集实验数据及用计算机处理实验数据。因此高通量筛选技术具有大量化合物的快速筛选、分子和细胞水平的特异作用靶点、检测系统的高灵敏度、自动化操作系统和数据采集传输操作系统等优点。

目前正在试图或已经实现应用到抗病毒药物合成的高通量筛选技术主要有^[7]:应用亲和闪烁分析技术(SPA)的艾滋病病毒(HIV)逆转录酶活性测定和丙型肝炎病毒(HCV)NS5B活性测定;应用荧光共振能量转移(ERT)技术的新型冠状病毒(SARS-COV)3CLPRO蛋白酶活性测定;应用病毒-宿主细胞结合的细胞模型筛选技术的人类嗜T淋巴细胞病毒(HTLV)黏附测定;应用荧光相关谱技术等活性测定等。

通过这一高效性、系统性的手段,可将组合化学获得的大规模化合物库进行快速高效筛选。前文提到的天然药物经组合微生物转化过程获得的大量代谢产物,即可通过高通量筛

选技术,获得有抗病毒活性的先导化合物;另外在对先导化合物进行构效关系研究以及结构优化时,可以借助组合化学和高通量筛选途径直接筛选有高活性低毒性的优化产物。

先导化合物筛选时的高通量筛选的具体模型设计可依照研究对象寻找过程中所进行的受体靶点作用研究和计算机辅助的合理药物设计;而先导化合物的优化中的高通量筛选模型设计可依照改造目的(如提高活性)。

2 天然药物的微生物转化(microbial transformation)

天然药物结构十分复杂,往往难以用化学方法进行结构改造。天然药物的生物转化为天然药物的研究开发提供了新的途径。目前发展较好的转化方式有酶转化、微生物转化、植物组织悬浮液转化等^[8]。

其中选择微生物转化与组合化学相结合的药物治疗途径与其他生物转化法相比,主要有以下3方面优势:第一,在诸多生物转化方法中,微生物作为独立生命体,能自发对药物进行降毒性转化;第二,不同于酶转化方法,微生物可以大量培养繁殖,因此微生物转化易于与发酵工程结合,为实现药品的工业化生产提供保障,而酶转化的工业化生产技术不成熟,短期难以实现药物的工业化生产。第三,酶和植物悬浮液需要提取分离,过程较复杂,而且得到的酶和悬浮液可能失活或活性降低,微生物不需分离,较易培养,更容易与组合化学结合。

但依赖微生物转化的天然抗病毒研发可能会耗费大量时间和资金,这种困难不仅体现在由天然活性物质到有开发价值的先导化合物的跨越上,还体现在由先导化合物到高效低毒的有临床价值新药的跨越上。

由于微生物转化是十分复杂的生物化学和代谢反应,即使确定菌种也难以预料产物的成分核结构^[9],所以计算机辅助的合理药物设计也不能完全承担天然药物的微生物转化的任务。主要的手段必须依赖组合化学理念,产生大量的

转化产物化合物库(一般是细菌的次级代谢产物),同时对其进行高通量筛选。而计算机辅助的合理药物设计可以通过受体靶点作用研究为微生物转化实验提供大体方向,帮助研究者选择一定数量的工具菌,这样就使得转化实验有一定程度的定向性,可节约大量时间和资金。

3 结语

我国药物研发的现状是天然药物资源十分丰富,但由于多方面原因难以应用于新药研发上。目前我国在自主研发新药方面远远落后于世界水平。计算机辅助合理药物设计、组合化学和高通量筛选技术等全新的新药研发途径的出现,可减少药物研发资金开发和回报周期,为我国新药研发提供了新的机遇。

天然抗病毒药物的研究立足于我国中药宝库和传统中医理论,如能突破自身局限、发挥自身优势,很有可能取得突破性进展。对我国自主药物研发会产生巨大深远的推动和影响。

参考文献:

- [1] 照日格图. 抗病毒药物研究进展 [J]. 中国感染控制杂志, 2008, 7(3): 145-151.
- [2] 黄皓. 天然多糖类活性物质抗乙肝病毒的研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37(10): 1594-1596.
- [3] 王峰涛(编译). 治疗 HIV 感染的先导天然化合物 [J]. 国外医学药学分册, 2001, 28(4): 227-230.
- [4] 彭涛. 组合化学及其在药物开发中的应用 [J]. 计算机与应用化学, 2008, 22(2): 103-107.
- [5] 李祖义, 魏光亮. 组合生物催化 [J]. 工业微生物, 2003, 32(1): 37-42.
- [6] 王洋. 从化合物库中发现药物先导化合物 [J]. 中国药学杂志, 2003, 28(12): 900-903.
- [7] 史继静. 高通量筛选在抗病毒药物筛选中的应用 [J]. 生命的化学, 2008, 28(3): 339-342.
- [8] 卢艳花. 天然药物的微生物转化 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [9] 文孟良. 微生物源新药筛选中几项新技术 [J]. 微生物学通报, 2003, 30(5): 142-148.

苦参碱药理作用研究进展

张丽华¹, 陈邦恩², 潘明佳^{3*}

(1. 福建省立医院 药剂科, 福建 福州 350001; 2. 福建生物工程职业技术学院, 福建 福州 350002;
3. 天津药物研究院 医药信息中心, 天津 300193)

摘要: 苦参碱是豆科植物苦参的主要有效成分, 药理作用广泛, 各类制剂已被广泛用于临床。随着苦参碱新的药理活性的不断发现, 使其受到各方面的极大关注。现就苦参碱的主要药理作用抗肝损伤、抗肝纤维化、抗肿瘤、对心血管系统作用等进行综述, 为苦参碱的全面开发利用提供参考。

关键词: 苦参碱; 抗肝损伤; 抗肝纤维化; 抗肿瘤; 心血管系统

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)06-1000-04

* 收稿日期: 2009-01-22

作者简介: 张丽华(1971—), 女, 中药师, 1993年毕业于福建生物工程职业技术学院(原福建医药学校), 就职于福建省立医院药剂科至今。