

· 学术探讨 ·

基于代谢组学的中药配伍减毒研究策略探讨

李桓, 周学平*, 陆艳
(南京中医药大学, 南京 210023)

[摘要] 探讨应用代谢组学技术研究中药配伍减毒的策略。通过分析代谢组学技术应用于中药复方配伍减毒研究的优势,提出基于代谢组学的有毒中药配伍减毒研究方法和内容。代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后发展起来的一门全新学科,具有整体、动态、综合与分析的特点。作为系统生物学的重要组成部分,代谢组学在中药配伍减毒研究中表现出很大的应用潜力。在中药复方配伍减毒研究中应用代谢组学的方法,应从基于药物代谢物组的毒性成分以及有效成分辨识、基于代谢组学的中药毒性靶器官以及毒性生物标志物的确定、基于代谢组学的对证控毒作用机制探究、基于系统建模的毒性成分组合与配伍减毒活性之间关联性分析4个方面进行。代谢组学应用于复方配伍减毒研究具有广阔的前景。

[关键词] 代谢组学; 配伍减毒; 研究策略

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)08-0226-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015080226

Discussions on Research Strategies of Compatibility for Attenuating Toxicity of Herbs Based on Metabonomics LI Huan, ZHOU Xue-ping*, LU Yan (Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] The aim of this study was to explore the application of metabonomics technology in the research on the attenuation strategy by compatibility of traditional Chinese medicine (TCM). By analyzing the advantages of metabonomics used in the research on compatibility for attenuating toxicity of TCM, methods and content of compatibility for attenuating toxicity of TCM based on metabonomics was put forward. Metabonomics was a rapidly developed new technology after genomics, transcriptomics and proteomics, which is characterized by global, dynamic, comprehensive. Metabonomics studies display great potential in compatibility for attenuating toxicity of herbs as significant component of system biology. The application of metabonomics technology in the research on the attenuation strategy by compatibility of TCM should focus on four aspects, including identification of toxic components of drug metabolite group and effective ingredient, ascertainment of toxicity target organ of TCM and toxicity biomarkers, mechanism of toxicity control, and the analysis of correlation between toxic components of system modeling and attenuated activity of compatibility for attenuation synergia. Metabonomics has a vast potential in the research of attenuation strategy by TCM.

[Key words] metabonomics; compatibility for attenuation synergia; research strategies

有毒中药是在治疗或使用时常引起毒性反应或副作用的一类中药^[1]。对于有毒中药,可以通过不同性味、功效药物的合理配伍,起到全面兼顾病情、增强药效,又减轻或消除毒性的作用^[2]。目前,中药配伍减毒的研究主要参考化学

药品毒性研究方法进行,以生化指标和组织形态学的改变为主要检测指标。近年来虽然细胞生物学、基因芯片等分子生物学技术被引入中药的毒性研究中^[3],但是对于中药配伍减毒的效应物质基础以及作用于机体后成分组合的变化规

[收稿日期] 20140927(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072749);教育部博士点基金资助项目(201032371100042);国家重点基础研究发展计划“973计划”项目(2011CB505306)

[第一作者] 李桓,博士,中医药防治风湿免疫疾病研究,Tel:15937148343,E-mail:42059122@qq.com

[通讯作者] *周学平,研究员,博士生导师,从事中医内科风湿病的临床与应用基础研究,E-mail:zxp@njutcm.edu.cn

律、机体整体应答机制的研究不够深入。

代谢组学是以生物系统中的代谢产物为分析对象,以高通量检测 and 数据处理为手段,以生物标记物和系统建模与信息整合为目标的一门科学^[4]。代谢组学分析的是相对分子质量小于 1 000 的代谢产物,以整体代谢图谱来分析研究对象与环境、外源性药物等的关系^[5]。药物代谢物组学是 2006 年 Clayton^[6] 在代谢组学基础上提出的另一个新的概念,利用给药前机体的代谢表型,来预测给药后的药物反应表型,从而预测机体对药物的代谢和毒性反应的差异。

1 代谢组学和药物代谢物组学应用于中药复方配伍减毒研究的优势

1.1 研究技术优势 核磁共振技术(NMR),色谱质谱联用(GC/MS,LC/MS)技术是代谢组学应用研究普遍的方法^[7],这些技术均具有高通量、高分辨、高灵敏度的特点。药物代谢组学能系统检测有毒中药在体内的过程及代谢产物,进而发现其可能的毒性成分或者效应成分;代谢组学技术可检测毒性中药配伍后成分组合变化及内源性代谢产物的变化,从而发现药物代谢物与内源性小分子代谢物之间的关系,并分析代谢组与病证和药效活性关联性,为探讨配伍减毒提供了可能。

1.2 研究策略优势 作为系统生物学的分支,代谢组学具有整体、动态、综合与分析的特点,是一种基于全局观点的整体性研究方法^[8],适用于有毒中药配伍之后整体“毒-效”的评价;药物代谢组学是药物代谢与代谢组学的结合,也是药代学与药效学的结合,不但能发现有有毒中药的效应成分,还能发现被肠道菌群或肝药酶活化或者灭活的代谢产物以及药物和药物代谢产物所致机体内源性物质应答的变化上^[9]。

2 基于代谢组学的有毒中药配伍减毒研究内容

基于代谢组学的有毒中药配伍减毒研究包括 4 个方面:一是基于药物代谢物组的毒性成分以及有效成分辨识;二是基于代谢组学的中药毒性靶器官以及毒性生物标志物的确定;三是基于代谢组学的对证控毒作用机制探究;四是基于系统建模的毒性成分组合与配伍减毒活性之间关联性分析。

2.1 基于药物代谢组学的中药及其复方毒性成分辨识 中药的有效性和毒性是中药作用的两个方面,两者存在对立和统一。对于中药毒性的定义主要包括两个方面:一是在我国药典中被明确标示的“有毒中药”,这些中药含有确切的可致机体损害甚至死亡的化学成分,毒性是这些中药内在的、固有的生物学性质,这些中药的毒性可以通过炮制、辨证论治、配伍、煎煮、服药方法等予以控制,二是经过炮制、配伍、煎煮后药物发生复杂化学反应产生的中药进入机体后与机体发生复杂的交互作用,形成原药物中没有的毒性成分,或者产生与治疗效应无关的其他效应。对中药毒性成分以及有效成分分析研究已不同程度地开展,但是由于中药成分和配伍后在机体内作用机制的复杂性等原因,难以真正阐明中药的毒性和配伍之后减毒增效的物质基础^[10]。物质基础的研究已成为限制中药现代化发展中的“中药作用的物质基础—毒性-有效性”的瓶颈问题之一^[11]。

中药的物质基础包括生物大分子、小分子及无机元素等。中药或者复方进入机体后,起效的是中药中的原有成分;或中药之间相互作用形成的新成分;或被肠道菌群或肝药酶代谢产生活化或灭活的代谢产物;或作用于机体导致机体内源性物质应答的变化形成的新成分,四者构成体内中药或者复方成分的代谢物组。中药复方代谢物组通过多靶点、多器官、多系统,协同干预体内源性代谢物组来治疗疾病。应用药物代谢组学阐明体内药效成分与引起内源性代谢物组的组成和变化关系与中医整体观相一致^[12]。通过追踪有毒中药及其配伍前后影响机体内源性代谢物组的组成和变化,可以整体评价中药及复方的疗效和安全性,阐明有毒中药的毒性物质基础及复方配伍后减毒增效的作用机制,解决中药现代化的瓶颈问题^[13]。王小娟^[14]利用川楝子不同极性的溶剂石油醚、乙酸乙酯、正丁醇提取物作用于机体来进行研究,从血清¹H-NMR 谱峰数据分析得到的 PCA 得分图上可发现,4 组数据点能很好分开,互不重叠。乙酸乙酯提取物对肝肾有着明显的损伤,具体表现在转氨酶升高,肝细胞广泛变性,肾小管明显扩张,上皮细胞变性。说明川楝子毒性物质主要集中在乙酸乙酯部位。

杨亮^[15]基于液质联用技术研究 CYP450 亚酶抑制剂对藜芦总生物碱代谢影响发现, CYP1A2 亚酶抑制剂的加入能明显抑制多种生物碱的代谢,而 CYP2B1, CYP2D1, CYP2E1, CYP3A4 抑制剂对生物碱的代谢抑制不明显,提示 CYP1A2 是参与藜芦总生物碱代谢的主要亚酶。

2.2 基于代谢组学的中药毒性靶器官以及毒性生物标志物的确定 毒性中药都具有效、毒二重性,且成分复杂,作用于机体是多器官多靶点交叉的特点,在毒性的发生上也不能用某一组织或器官的毒性反应来评价。代谢组学通过研究不同时间点生物体液,分析特定毒物的特征性“信息谱”,动态评价药物毒性效应,发现药物毒性作用的靶器官^[16]。生物标志物能反映生物体系与环境因子相互作用所引起的任何可测定的改变,可以对毒性伤害提供早期警报。利用代谢组学对不同中药毒性效应的代谢信息进行多方研究,确定其生物标志物,以解决临床使用中药中遇到的不良反应,还可监测尚未引起病理学改变的组织毒性,早期预测毒性的出现。李建新等^[17]使用核磁共振的代谢组学技术探讨雷公藤甲素口服给药对大鼠尿液内源性代谢产物的影响,结果显示肾脏的损伤部位及其过程表现为,给药后第 1 天损伤肾皮层 S1 部分,生物标志物为醋酸、乳酸、甘氨酸;第 2 天损伤到肾乳头,生物标志物为甜菜碱、二甲甘氨酸;第 3 天损伤到肾脏皮层 S3 段,生物标志物为丙酮,揭示了雷公藤甲素对肾脏毒性作用的部位、过程以及生物标记物。Xu 等^[18]采用代谢组学的方法研究雄黄的入药毒性,通过使用核磁共振技术检测牛黄解毒片中的各味中药的毒性,发现雄黄能通过扰乱机体的能量代谢、胆碱代谢、氨基酸代谢和肠道菌群的紊乱等代谢途径而造成肝、肾等组织不同程度的损伤,其潜在的生物标志物为亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、乳酸盐、丙氨酸、醋酸盐、丙酮酸盐、2-氧戊二酸盐、肌酐、胆碱、氧化三甲胺。

2.3 基于代谢组学的辨证配伍减毒作用机制探究 中医传统理论不仅强调中药毒效双重性的特点,也非常重视其与证的密切关系。有毒中药发挥效、毒作用存在生理与病理状态的差异性。在没有病邪的情况下,中药作用于正常机体,就表现为毒性;反之有毒中药只要使用对证,其毒性则会自然降低。所以在研究中药的安全性时,不仅要将药的毒性与治疗作用区分开来,还应通过以疾病为基础、结合中医证候分类理论确定的病证结合模型^[19],从而使有毒中药的安全性评价更具针对性,但目前中医“证”的客观化标准还难以得到公认,中医证候动物模型的体系建设尚未成形。

证候研究最终还是要基于中医药整体观、恒动观来展开,从生物整体性的角度出发,用包括各种组学在内的现代科技手段与中医药的辨证论治相结合。从系统生物学的角度看,中医的“证”可能是包括蛋白、基因在内的人体生化调节网络受到环境、心理、饮食等等因素影响后发生的一种特异性的、相对稳定的生理状态^[20]。用现代分析技术分析其分泌到血液或尿液中的内源性成分可以捕捉到这些特异性代谢表达图谱,而这些特异性代谢表达图谱可能是证候规律的物质基础以“组”、“群”、“谱”集成的形式在代谢物水平上的反映^[21]。

代谢组学对代谢的终端产物进行多元化综合分析,从整体上展示生物体内在的变化状态的研究模式与中医整体论的思维方法上相趋近^[22]。获取有毒中药作用于对证机体后所发生内源性代谢产物的改变是深入探索对证控毒机制的基础。代谢组学能更快、更准确地发现有毒中药作用于对证机体后产生的毒性物质及其毒性规律,尤其对于多系统。多靶点的对证综合性毒性反应,代谢组学可从多个角度进行全面评价^[23]。谭勇等^[24]采用代谢组学技术,对白附片干预健康和肾虚证大鼠的毒性差异进行了研究,结果显示:肾虚证大鼠对白附子的毒性反应低于正常大鼠,内源性代谢产物溶血磷脂酰乙醇胺(LPC),溶血磷脂酰胆碱(LPE)的变化可能是白附子对两种机体状态产生不同毒性的原因,而氧化磷酸化、脂质代谢及氨基酸代谢的失调是白附片干预两种状态大鼠代谢轮廓的差别。

2.4 基于系统建模的毒性成分组合与配伍减毒活性之间关联性分析 毒性中药及其复方配伍后的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,是利用代谢组学研究有毒中药配伍减毒的关键问题和难点问题之一。罗国安课题组针对中药复方有效部分理论,提出化学物质组学的概念,即使机体产生生物效应动态变化的某一外部扰动体系的所有化学物质的集合^[25]。在此基础上,将中药化学物质组学与系统生物学研究相结合,用化学物质组学表征中药复杂系统、系统生物学表征生命系统,即“系统—系统”的研究体系^[26]。通过层次化的研究策略,从毒性中药复方配伍后的整体化学物质组、毒性化学物质组、毒性成分(群)逐层递进地阐明毒性中药复方配伍后的组成及相互关系,通过系统生物学表征复方作用机体的应答过程,从而可以研究两个复杂系统的相互关系。

3 结语

中药作用于机体后表现出多成分、多层次、多靶点、多代谢途径的特点,给其作用机制及安全性研究带来了不少的困难。而代谢组学、基因组学、蛋白质组学等系统生物学的有效集成,可以提高中药安全性及有效性研究的效率和深度。

以中医理论为指导,深刻理解中医药的作用特点和规律,将中医药配伍减毒理论精髓与代谢组学的技术优势相结合,多角度、多层次、系统的研究隐藏其中的内在规律,通过代谢组学与药代动力学等技术手段,辨识有毒中药的毒性成分和有效成分、定量分析生物标志物并刻画其时空变化规律^[27],将机体不同病理生理状况下的内源性代谢性产物变化与中药在机体内的吸收、分布、代谢、排泄过程相联系^[28],从整体上研究中药的毒性和安全性,促进中医药研究从实验室向临床的转化,为中医理论指导临床应用提供深层次的研究证据。

[参考文献]

- [1] 张廷模. 临床中药学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2004:631.
- [2] 周学平,周玲玲,王旭. 基于“异类相制”理论探讨中药复方的配伍减毒作用[J]. 中医杂志, 2013, 54(4): 271-273.
- [3] 吴晓敏,韩利文,杨官娥,等. 代谢组学在中药安全性评价中的应用[J]. 山东科学, 2014, 27(2): 34-38.
- [4] 李清林,王玲,尹华. 基于代谢组学技术的中医药现代研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(11): 3149-3152.
- [5] 刘昌孝. 代谢组学的发展与药物研究开发[J]. 天津药学, 2005, 17(2): 1-6.
- [6] Clayton T A, Lindon J C, Cloarec O, et al. Pharmacometabonomic phenotyping and personalized drug treatment[J]. Nature, 2006, 440: 1073-1077.
- [7] 杨萍,贾钰华,李杰. 代谢组学技术及其在中医药领域中的应用[J]. 辽宁中医杂志, 2009, 36(1): 32-35.
- [8] Tang H R, Wang Y. Metabonomics: a revolution in progress[J]. Prog Biochem Biophys, 2006, 33(5): 401-405.
- [9] 吴泽明,孙晖,吕海涛,等. 代谢物组学研究进展及其在中医药研究中的应用展望[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2007, 9(2): 101-104.
- [10] 王艳萍,丰加涛,金郁,等. 中药物质基础研究的思路与方法[J]. 中国天然药物, 2009, 7(1): 13-18.
- [11] 杨秀伟. 基于体内过程的中药毒性成分和毒性效应物质的发现策略[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(2): 67-71.
- [12] 张进进,李文兰,丁振铎,等. 代谢组学策略下的中药物质基础研究[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(22): 2648-2651.

- [13] 李春雨,王张,王平,等. 基于代谢组学技术的中药效应物质基础及作用机制研究[J]. 中草药,2013,44(7):918-922.
- [14] 王小娟. 川楝子毒性及配伍减毒的代谢组学研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2011.
- [15] 杨亮. 藜芦人参配伍体内外成分变化与毒性的关联性研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2013.
- [16] Zhang H, Sun H, Wang P, et al. Metabonomics for discovering biomarkers of hepatotoxicity and nephrotoxicity[J]. Pharmazie,2012,67(2):99-105.
- [17] 李建新,华嘉,何翠翠. 中药毒性的代谢组学研究(I):雷公藤甲素的肾脏毒性[J]. 亚太传统医药,2007,3(7):41-45.
- [18] Xu W F, Wang H F, Chen G, et al. ¹H-NMR-based metabonomics study on the toxicity alleviation effect of other traditional Chinese medicines in Niu Huang Jie Du tablet to realgar[J]. Ethnopharmacol,2013,148(1):88-98.
- [19] 刘艳,章诗伟,周兰,等. 乌头类生物碱对心肌的毒性作用及分子毒理学研究进展[J]. 中国法医学杂志,2009,24(6):345-348.
- [20] 贾伟,蒋健,刘平,等. 代谢组学在中医药复杂理论体系研究中的应用[J]. 中国中药杂志,2006,31(8):621-624.
- [21] 林景超,李后开,周明,等. 代谢组学、药物代谢组学与中医药现代化[J]. 中国医学科学院学报,2007,29(6):818-822.
- [22] Coen M, Lenz E M, Nicholson J K, et al. An integrated metabonomic investigation of acetaminophen toxicity in the mouse using NMR spectroscopy[J]. Chem Res Toxicol,2003,16(3):295-303.
- [23] Lao Y M, Jiang J G, Yan L. Application of metabonomic analytical techniques in the modernization and toxicology research of traditional Chinese medicine[J]. Br J Pharmacol,2009,157(7):1128-1141.
- [24] Tan Y, Li J, Liu X, et al. Deciphering the differential toxic responses of radix aconiti lateralis praeparata in healthy and hydrocortisone-pretreated rats based on serum metabolic profiles[J]. Proteome Res,2013,12(1):513-524.
- [25] 罗国安,梁琼麟,刘清飞,等. 整合化学物质组学的整体系统生物学—中药复方配伍和作用机理研究的整体方法论[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2007,9(1):10-15.
- [26] 梁琼麟,谢媛媛,范雪梅,等. 中医药临床系统生物学研究体系与实践[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2013,15(1):1-8.
- [27] Luo G A, Yang Y M, Liang Q L, et al. Systems biology for traditional chinese medicine[M] New York: John Wiley,2011.
- [28] 王广基,郝海平,阿基业,等. 代谢组学在中药方剂整体药效作用及机制研究中的应用与展望[J]. 中国天然药物,2009,7(2):82-89.

[责任编辑 邹晓翠]