

分子生物学在中药复方药理研究中的应用

朱化珍, 陈德兴*

(上海中医药大学中药学院, 上海 201203)

[摘要] 中药复方作为中医治病用药最主要的方式和手段, 是中医整体观念和辨证论治的具体体现, 在中医理论体系中占有重要的地位。因此, 中药复方的现代研究广受关注。近年来, 应用分子生物学对中药复方的药理研究颇多, 取得了许多丰硕的成果。作者对此作了回顾, 并根据中药复方药理研究的侧重点不同作了分类阐述。

[关键词] 中药复方; 配伍; 分子; 基因; 细胞

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0278-03

Applications of Molecular Biology Techniques in Pharmacological Research of Chinese Herbal Formula

ZHU Hua-zhen, CHEN De-xing*

(Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] Traditional Chinese herbal formula is the main drug treatment means. It reflects holistic concept and pattern identification and differentiation, and plays an important role in the theoretical system of traditional Chinese medicine. So, the modern study of Chinese herbal compound attracts wide attention. In recent years, many experts studied the pharmacology of Chinese herbal formula using molecular biological techniques and acquired a lot of fruitful results. This paper reviews the profiles of these studies and discusses them according to different types of content.

[Key words] Chinese herbal formula; prescription composition; molecules; gene; cells

分子生物学主要是从分子水平阐明生命现象本质的一门边缘科学, 近年来发展迅速, 在诸多领域广泛应用。中医学理论与分子生物学尽管属于两种不同的科学体系, 中医学侧重于从宏观上认识人体, 主张通过调整人体自身的阴阳平衡以维护健康, 而分子生物学则是从微观上揭示生命的现象, 但两种科学都是研究生命现象本质的科学, 具有同一性。因此, 把中医学和生命科学中最先进的分子生物技术相结合, 可促进中医学在基础领域的研究, 对中医学的发展和加

速中医现代化的进程具有重要意义。中药复方作为中医治病用药最主要的方式和手段, 是中医整体观念和辨证论治的具体体现, 为中医体系的重要组成部分。当前对中药复方的现代研究颇多, 取得了许多突破性的成果。其中, 许多中医药学家把分子生物技术引入中药复方研究, 并在中药复方有效成分、作用机制、组方配伍、方证模型等方面有了较深入的认识。

1 中药复方有效成分及作用机制的研究

中药复方药效物质基础和作用机制的研究是中医现代化研究中的重要一环。它直接影响着方剂配伍规律、方剂药代动力学及中医证本质等中医药领域内重大基础问题的研究^[1]。然而, 中医方剂的传统研究多用中医理论来阐明中药复方发挥临床疗效的机制, 限制了中医文化的传播、交流与发展。现代中药复方的研究则充分融合了 PCR 技术、液相蛋白芯片技术、酶联免疫吸附、分子杂交及印迹技术、双向电泳、荧光差异显示技术、等先进的分子生物技术。

[收稿日期] 2010-12-09

[第一作者] 朱化珍, 博士研究生, 从事中医方剂作用机制与物质基础研究, E-mail: zhz1981214@126.com.

[通讯作者] * 陈德兴, 教授, 博士生导师, 从事中医方剂作用机制与物质基础研究, Tel: 021-51322201, E-mail: cdx419@163.com.

1.1 中药复方有效成分的研究 陈志奎^[2]等分离了中药复方“99-克星”的一种活性组分 AG-05。体外实验表明 AG-05 具有较强的抑制肝癌细胞增殖的作用,药物作用 48 h 后,荧光显微镜观察可见细胞染色质边集、凋亡小体形成等形态学改变,流式细胞术亦可见凋亡峰形成。提示中药复方治疗疾病是通过药物的生物活性分子作用于机体,从而提高机体自身的修复能力,其有效成分的研究,可阐明药物临床疗效的科学依据。

1.2 中药复方作用机制的研究

1.2.1 中药复方对基因、蛋白质表达的影响 闫燕^[3]等研究证实多种复方中药通过对内皮素及一氧化氮合酶基因、原癌基因、低密度脂蛋白(LDL)受体基因、氧化低密度脂蛋白(OX-LDL)、对黏附分子-1(ICAM-1)基因、对血小板源性生长因子-A(PDGF-A)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)mRNA 及对基质金属蛋白酶(MMP)表达的影响来抑制动脉粥样硬化。有专家研究发现中药复方糖耐康能下调 GK 大鼠胸主动脉血管内皮细胞生长因子(VEGF)基因表达^[4],中药复方案心舒能够促进左室心肌细胞 Bcl-2 基因高表达^[5]。田彦玲等^[6]研究发现“牛黄天龙胶囊”(含药血清)可降低凋亡抑制蛋白 Survivin 表达,同时可提高凋亡效应蛋白半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)表达。有学者研究发现运用复方丹参结合西医治疗可明显降低患者血液中 P-选择素(P-sel)和细胞间黏附分子-1(ICAM-1)水平^[7]。通过中药复方在体内调节基因、蛋白质表达而对机体产生良性影响的研究,有助于从微观角度阐明中药复方的作用机制,并对复方新药的研发具有积极意义。

此外,有研究发现地甘口服液能增强辐射损伤小鼠骨髓细胞周期素基因和造血细胞及基质黏附分子的表达^[8]。刘萍等^[9]发现以黄芪为君,栝楼、薤白为臣的中药复方制剂可明显下调损伤的血管内皮细胞培养上清液中可溶性细胞间黏附分子及其 mRNA 表达水平。有专家研究发现酸味中药复方可能通过调节血管活性调节物质内皮素-一氧化氮(ET-NO),抑制 ICAM-1 基因表达实现其对糖尿病大鼠肾脏病变的保护作用^[10]。

1.2.2 中药复方诱导细胞凋亡的研究 有专家研究发现:海康灵含药血清能明显抑制过氧化氢(H₂O₂)引起的人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞的凋亡^[11],中药复方益糖康具有促进 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中的凋亡作用^[12]。有学者采用原位末端转移酶标记(TUNEL)方法及组织病理学技术,观察发现中药复方制剂 1 可以延缓先天性视网膜变性动物模型 rds 小鼠视网膜色素变性过程中感光细胞凋亡的发展^[13]。郝军等^[14]研究发现莪芪抗癌方剂含药血清诱导白血病 HL-60 细胞发生凋亡。徐瑞荣等^[15]发现复方补益中药上调白血病细胞 Caspase-3 表达,是其诱导白血病细胞凋亡的重要途径。梁朝晖等^[16]运用流式细胞仪、细胞凋亡原位末端标记及免疫组化等方法研究发现中药扶正祛邪复方能有效降低小鼠 Lewis 肺癌细胞 bcl-2 的表达,诱导细胞凋亡。

中药复方是在中医理论的指导下创立的,因此中药复方的研究不能完全跟中医理论相脱离,在应用高科技成果的同时,应注意要符合中医自身发展的规律性,强调基础研究能有效应用于临床。

2 中药复方配伍关系的药理研究

2.1 中药复方配伍合理性的研究 陈竺院士等从分子生物学水平研究了中药复方黄黛片治疗急性早幼粒性白血病的多成分、多靶点作用机制,并用现代分子生物技术阐述了中医方剂“君、臣、佐、使”的配伍原则。在中药复方药理研究中融合现代分子生物技术,从分子水平了解复方中药物之间的配伍关系,从而进行中药复方协同作用的理论分析,可提高对传统中医方剂立法组方的认识水平。

2.2 中药复方成分配伍研究 最近,有学者借助分子生物学技术在传统方剂配伍的基础上,开展了中药复方成分配伍研究。李津等^[17]将中药葛根提取物葛根素和酵母提取物葡萄糖耐量因子(GTF)在分子水平配伍后,分别与单一的葛根素、单一的 GTF 以及阳性对照药进行瘦素受体(OB-R)基因表达的测试,结果表明两者配伍使用后可明显提高 OB-R 基因表达。

2.3 中药复方的联合作用研究 在临床实践中,根据病人的具体的证,经常把两个方剂甚至多个方剂组合来应用,疗效显著。但对复方的联合作用研究也比较少。分子生物技术的兴起,给中药复方联合作用的研究提供了新的契机。陈旭征等^[18]研究了复方中药解毒消抵饮和扶正抑瘤方对小鼠肝癌皮下移植瘤细胞凋亡和免疫功能的影响,结果表明二者的联合应用能提高移植瘤小鼠细胞免疫功能,诱导移植瘤细胞凋亡。

3 中药复方方证模型研究

中药复方的现代研究离不开病证结合的模式^[19]。有专家选择符合条件的冠心病(CHD)中医痰证、瘀证、痰瘀互结证患者共 97 例,另选 35 例健康患者对照组常规测所有样本的 ICAM-1 血清水平,提取全血 DNA,用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 ICAM-K469E 基因型,发现 ICAM-1 可能是 CHD 独立预测因子之一,其血清水平升高与 CHD 痰瘀互结证、瘀证关系密切^[20]。

4 小结

中药复方经历了几千年的临床检验,已用客观的治疗效果证明了其实用性和科学性。但由于科技的局限性或者说由于传统中医没有有效融合现代科学技术,限制了其自身向微观发展的道路。因此,借助现代科学技术来研究中药复方,是传统中医方剂现代化的必经之路。

[参考文献]

- [1] 张宁,李铁男,任燕冬,等.基于方/证/病本质联系的方剂药效物质基础及作用机理研究构想[J].时珍国医国药,2010,21(5):1284.
- [2] 陈志奎,林礼务,王艳,等.超声介入复方中药“99-克

- 星”活性组分诱导肝癌细胞凋亡及机制[J]. 中国医学影像技术, 2007, 22(12): 1794.
- [3] 闫燕, 李妍怡, 高丽波. 复方中药对动脉粥样硬化形成中基因表达影响的研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(5): 265.
- [4] 段颖, 郭翔宇, 牛洁, 等. 中药复方糖耐康对 GK 大鼠主动脉 VEGF 基因表达的影响[J]. 北京中医药, 2010, 29(1): 67.
- [5] 李敬孝, 黄凤林. 中药复方益心舒对肾性高血压大鼠左室肥厚心肌 BeE1-2 基因表达的影响[J]. 中医药信息, 2009, 26(6): 41.
- [6] 田彦玲, 王玉花, 程建新, 等. 牛黄天龙胶囊(含药血清)诱导人子宫内癌 HEC-B 细胞凋亡及其机制[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(6): 417.
- [7] 张美兰, 廖文焱. 复方丹参注射液对急性水肿型胰腺炎患者可溶性黏附分子水平的影响[J]. 广东医学院学报, 2006, 24(6): 576.
- [8] 何东彻, 何辉, 吴江平, 等. 中药复方对辐射损伤小鼠骨髓细胞周期素基因及黏附分子表达的作用[J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(11): 980.
- [9] 刘萍, 章怡祎, 张静生. 中药复方对损伤人血管内皮细胞表达细胞间黏附分子的影响[J]. 中国临床康复, 2006, 10(27): 54.
- [10] 曹玉莉, 殷桂香, 朱德增. 酸味中药复方对 2 型糖尿病大鼠 ET-1、NO 及肾脏 ICAM-1 基因表达的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2009, 10(5): 400.
- [11] 孙向红, 孙伟, 李静, 等. 中药复方海康灵含药血清对过氧化氢诱导的神经细胞凋亡的影响[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(23): 1781.
- [12] 佟晓哲. 中药复方益糖康对 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中凋亡的影响[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(5): 119.
- [13] 梁丽娜, 李根林, 王津津. 中药复方制剂对 rds 小鼠感光细胞凋亡的干预作用研究[J]. 眼科研究, 2005, 23(5): 462.
- [14] 郝军, 陈彻, 陈龙. 莪芪抗瘤方剂对白血病 HL-60 细胞凋亡的作用及机理研究[J]. 中医药学报, 2007, 35(2): 24.
- [15] 徐瑞荣, 罗忻, 赵钧铭. 复方补益中药诱导白血病细胞凋亡及对 Caspase-3 的影响[J]. 中国中医药科技, 2004, 11(6): 329.
- [16] 梁朝晖, 潘智然, 李娟. 复方中药对小鼠肺癌细胞凋亡的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3(11): 643.
- [17] 李津, 刘亚明, 杜道辉, 等. 葛根素与葡萄糖耐量因子分子水平配伍对瘦素受体基因表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(12): 1590.
- [18] 陈旭征, 曹治云, 杨峻联, 等. 中药复方对小鼠肝癌皮下种植瘤细胞凋亡和免疫功能的影响[J]. 福建中医药, 2009, 40(2): 52.
- [19] 范颖, 马骥. 关于中药复方研究方法的探讨[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(4): 4.
- [20] 莫鸿辉, 黄衍寿, 洪永敦, 等. 黏附分子-1(ICM-1)血清水平及基因多态性与冠心病痰瘀证候关系研究[J]. 新中医, 2009, 41(11): 25.

[责任编辑 何伟]