

· 综述 ·

基于代谢组学的降脂中药的作用物质基础及作用机制研究探索

肖学风,刘昌孝

关键词:高脂血症;代谢组学;物质基础;作用机制

中图分类号:R541.61 文献标识码:B 文章编号:1673-9043(2009)01-0054-03

高脂血症俗称“高血脂”,是生命的“隐形杀手”,对身体的损害是一个缓慢的、逐渐加重的隐匿过程。高脂血症是冠心病、脑中风等心脑血管疾病的危险因素,动脉粥样硬化(AS)为基础病变的脑梗死与血清胆固醇升高之间存在明确的相关性。且血脂高的患者常伴有高血压,糖尿病,高脂血症是中老年的常见病、多发病。随着人们生活水平的提高和生活习惯的改变,该病的发病率明显增加,发病年龄也有所提前。有报告显示,中国成人血脂异常患病率为18.6%,估计目前全国血脂异常患者人数约为1.6亿^[1]。所以,预防和治疗高脂血症对预防冠心病、脑中风等疾病的发生具有重要意义,已引起世界卫生组织(WHO)的高度关注,也成为国内外研究的重大课题。本文对高脂血症药物研究进展,研究中亟待解决问题等进行分析,并提出基于代谢组学的方药指纹—药代标示物—药效靶标三维模式的降脂药物的作用物质基础及作用机制研究的思路。

1 治疗高脂血症药物研究进展

临床治疗高脂血症药物主要有他汀类、贝特类、胆酸螯合剂、烟酸类、不饱和脂肪酸等,它们的作用机制和靶点相对较清楚。他汀类药物是目前临床应用最好的降脂药物^[2-3]但其本身有胃肠道反应、肝功能损害等不良反应,最为严重的是横纹肌溶解,尤其是与贝特类药物联用时,大大增加了不良反应的危险性。因此,需要研发新的降脂药物和开辟新的降脂途径。

中医药在治疗高脂血症的研究方面也有进展,现有的治疗高脂血症的中成药列为国家基本中药品种的有十余种,如益气化瘀绞股蓝总苷片、清肝化痰的茶色素胶囊、祛痰化痰

的血脂康等。《中国药典》2005年版仅收载血脂灵片、脂脉康胶囊、松龄血脉康、血脂宁片4种调脂药物。血脂灵片属于药典代表方剂,由制何首乌、泽泻、决明子、山楂组成。具有化浊降脂,润肠通便功效,用于痰浊阻滞型高脂血症。此方突出了标本兼顾,辨病辨证相结合的特点。在运用清热解毒,化痰祛痰药物的同时,又重视气血的培补,寓通于补中,具有标本同治,攻补兼施的特点。

2 研究“瓶颈”更待突破

治疗高脂血症药物研究中仍存在一些亟待解决的问题:

1)大多数研究是独立的、单指标的、非同步的研究,难以反映高脂血症的复杂性和各项指标的相关性,这就需要同步的、系统的对高脂血症进行研究。2)现在医学研究表明,脂质不仅是组成生物膜的基础物质,而且通过脂—脂作用及脂质与其他生物分子的相互作用构成复杂的脂代谢网络,参与大量的生命活动^[4]。随经百余年的探索,脂代谢紊乱的发病机制仍不十分清楚,现已公认是由多基因、多因素导致的一类复杂性病理过程。高脂血症是一多因素致病的综合性脂质代谢紊乱疾病,因此,多途径、多环节、多靶点全面调节,起综合疗效的复方中药才能有效地控制直至治愈这种疾病。需要从不同角度、不同层次进行系统、深入研究并通过综合分析才能对其有一个较为全面的了解。故寻找中药调脂的物质基础及作用机制成为研究的“瓶颈”函待突破。

3 代谢组学方法为中药复方的系统研究提供重要而有效的新方法

中药是由多种有效成分系统干预人体代谢网络来发挥作用的,具有在系统水平上多靶点干预的特点。将代谢组学应用到中药及其复方的研究中,结合系统生物学及生物学等知识,分析确定整个生物体内系统生化谱图和功能调控规律,有可能在中药及其复方的有效成分筛选和作用机制等方面取得突破^[5]。

代谢组学(metabonomics)是20世纪90年代中期发展起来的一门新兴学科。是应用核磁共振(NMR)^[6]、气相色谱—质谱(GC-MS)^[7]以及液相色谱—质谱(HPLC-MS/MS)^[8]等高通量、高分辨、高灵敏度的现代分析仪器分析手段,定性定量研究生物体体液中(包括血浆、尿液、组织液、细胞培养液等)的

* 基金项目:本课题得到科技部“中医药代谢组学国际合作研究”(2006BA111b07-04)项目和国家自然科学基金项目(30630075)的资助。

作者单位:300193 天津中医药大学中药学院(肖学风)

300193 天津药物研究院天津药代动力学与药代动力学省部共建国家重点实验室(刘昌孝)

作者简介:肖学风(1966-),女,副教授,在读博士研究生,从事中药药代动力学、代谢组学研究。

内源性代谢产物即代谢组,结合模式识别等化学信息学技术,分析生物体在不同状态下(比如生理与病理状态、给药前后等)的代谢指纹图谱的差异,获得相应的生物标志物群(Biomarkers),从而揭示生物体在特定时间、环境下的整体功能状态^[9]。与传统的代谢研究相比,代谢组学通过现代化学的仪器分析技术测定机体整个代谢产物谱的变化,并通过多元统计分析方法研究整体的生物学功能状况。

代谢组学与有着几千年历史的中医药学在许多方面有相近的属性,如果把它们有机的结合起来研究将是非常有意义的工作。作为一种系统方法,代谢组学已开始用于药物毒性评价、药物筛选及作用机制研究。刘昌孝院士等^[10]应用代谢组学方法对钩藤等多味中药组成的多动合剂的药效机制研究,采用高效液相法(HPLC)跟踪给药动物血清中多种内源性神经递质的动态变化从而发现了具有疗效的生物标记物,证明多动合剂的作用机制与受体有关。但对于降脂的作用机制研究尚未见报道。

4 建立研究技术平台常要完善

目前有关调脂中药的研究,绝大多数停留在血脂水平测定或单个基因表达对血脂的影响上。如“脂与脂蛋白代谢的研究”和“中药降血脂抗动脉粥样硬化的研究”,发现中药中有许多降血脂的方剂、药物和药物中的有效成分,它们具有毒性低、疗效确切等优点。也从外周血中证实了这些药物的调脂作用,但它们的作用途径不确切,因而无法改进方剂的配伍,无法更有效地提取有效成分以及对有效成分的结构进行改造。基于有机体的复杂性,研究其代谢途径及作用机制,必须建立一个研究的实验平台和设计一个好的实验方法,作为中药降脂作用机制研究和高效选择的实验平台。

2003年以来各类高层代谢组学研讨会对这一学科的发展起了推动作用,如2003年中国科学院上海生命科学院组织的代谢组学研讨会,2004—2005年杨胜利、刘昌孝、许国旺等国内科学家在上海、北京、天津、大连组织了多次代谢组学研讨会。中药现代化研究对此进行了初步探讨,为中国开展这方面的研究提供了方向性的指导。2007年由刘昌孝院士等10多位专家牵头《国家重大专项计划项目建议书》,提出代谢组学的研究方法与中医治疗疾病的整体观念是相一致的。从这个意义来看,运用代谢组学研究中药,对认识中药的药效作用和产生毒副作用的物质基础,在治病中正确用药,都具有重要的科学意义、社会效益和经济效益。以及立题运用代谢组学研究中药,对认识该药的药效作用的物质基础,产生毒副作用的物质基础;认识正确用药剂量和疗程;防止毒性反应都具有科学意义,也具有广泛的社会意义和经济价值。刘昌孝院士相继承担并完成国家973前期项目“代谢组学与药物安全性研究”的课题,天津市重大基础研究项目“基于代谢组学的中药药效机制和安全性研究”研究课题。通过近几年的研究实践,建立了基本的代谢组学研究平台,为开展此类课题奠定了技术基础^[11-17]。

5 基于代谢组学的方药指纹-药代标示物-药效靶标三维模式的研究设想

目前对代谢组学的定义普遍接受的表达方式有两种:“metabonomics”与“metabolomics”。前者其意义为:对生物体在受到病理生理上的刺激以及某种基因修饰所带来的代谢物的动态变化进行研究,从而得到生物体代谢物随时间以及生化过程的变化而改变的信息。将 metabonomics 界定为追踪生物体内源性代谢物随时间和生化过程的改变而动态变化的一种研究。也就是说 metabonomics 专注于研究初级代谢产物,称为“代谢组学”。多用于生物体在外因的刺激以及某种基因修饰所带来的代谢物的动态变化(包括疾病模型、药物作用机制和靶标、药物治疗的转机变化和安全性等)代谢指纹研究。而后者 metabolomics 专注于研究次级代谢产物,称为“代谢物组学”。多用于植物(包括来源于植物的中药)指纹研究。近来根据“metabonomics”与“metabolomics”方法和技术发展的药物代谢组学(pharmaco-metabonomics)用于生物体的药物代谢研究,以确定药代标示物(pharmacokinetic-markers, PK-M)或代谢标示物(metabolic-markers, M-M),以阐明药物或代谢物与药物效应(治疗有效性和安全性)的关系^[18-20]。见图1。

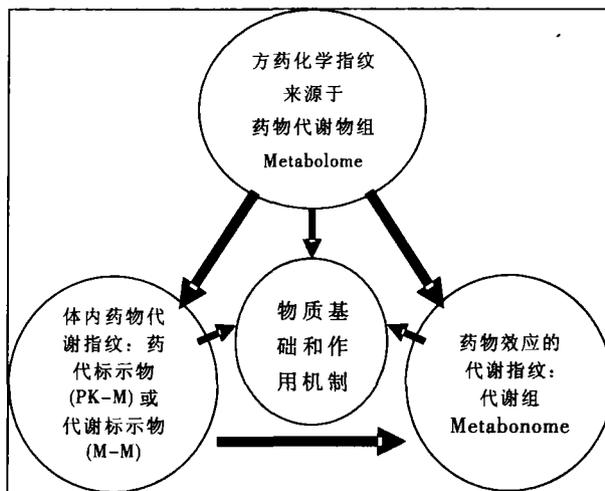


图1 三维模式图

甘油三酯(TG)和胆固醇(TC)是高血脂症的重要靶标物质。而前者的生成与脂肪酸的合成和利用密切相关。脂肪酸合成酶系统是一个多酶复合物。包括下列多种酶:乙酰转酰酶、丙二酸单酰转酰酶、缩合酶(b-酮脂酰 ACP 合成酶)、b-酮脂酰-ACP 还原酶、b-羟脂酰-ACP 脱水酶, 烯脂酰-ACP 还原酶;此外在复合物中还含有酰基载体蛋白(ACP)。脂肪酸合成酶成为寻找高血脂预防和治理研究的新靶标。胆固醇载体蛋白将在胞液中形成的鲨烯转运至内质网的微粒体中,在其中环化成羊毛脂固醇,再转变成胆固醇,而后通过血液送入其他组织。根据影响胆固醇合成研究发现药物作用于该系统的特点,分析药物降低胆固醇的分子机制。最近笔者研究惹

米仁提取物对脂肪酸合成酶系统的影响获得的结果对于认识该中药对脂代谢靶点是有价值的^[21]。

以代谢组学研究为主线,提出基于代谢组学的方药指纹—药代标示物—药效靶标三维模式,建立并分析三者的内在联系,研究降脂药物作用的物质基础及作用机制,该三维模式有以下特点:1)建立从系统生物学研究中中药对疾病的整体调控,以代谢终点表型小分子为对象,以代谢组学研究为主线,提出基于代谢组学的方药指纹—药代标示物—药效靶标三维模式的血脂灵片降脂作用的物质基础及作用机制研究的方案。在多个层次上开展整合性研究,通过数据挖掘与处理,探索方药治疗高脂血症作用机制。开创研究高脂治疗药物作用机制的新途径。2)提出基于代谢组学的方药指纹—药代标示物—药效靶标三维模式的血脂灵片降脂作用的物质基础及作用机制研究的课题研究思路。通过研究方药的代谢物组并比较方药的体内过程的药物代谢组研究,获得药代标示物(PK-M)或代谢标示物(M-M)以权衡方药代谢物组和 PK-M 或 M-M 的贡献分析产生药效的物质基础。3)在以往研究中,对高脂治疗药物作用只是注重在给药时间过程中比较与高脂相关的靶标物质(如 TC, TG)的变化规律的研究。希望应用代谢靶标分析(metabolite target analysis)技术,拟从调控这些靶标物质的分子机制获得突破,有望为中药复方的系统研究提供重要的新思路。

参考文献:

[1] 赵文华. 中国 18 岁及以上人群血脂异常流行特点研究 [J]. 中华预防医学杂志, 2005,39(5):306-310.
[2] Except panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel III). Executive summary of the third report of National Cholesterol Education Program (NECP) [J]. JAMA, 2001,285(19):2486-97.
[3] Gotto AM, Whitney E, Stein EA, et al. Relation between baseline and on-treatment lipid parameters and first acute major coronary events in the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS) [J]. Circulation, 2000,101(5):477-484.
[4] Pignone M, Phillips C, Mulrow C. Use of lipid lowering drugs for primary prevention of coronary heart disease: meta-analysis of randomized trials[J]. BMJ,2000, 321(7267):983-986.
[5] Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial Investigators[J]. N Engl J Med, 1996,335(14):1001-1009.
[6] Abookire SA, Karson AS, Fiskio J, et al. Use and monitoring of "statin" lipid-lowering drugs compared with guidelines[J]. Arch Intern Med, 2001,161(1):53-58.
[7] 张哲峰, 刘铁刚, 张冬. 羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂的

[8] 陆益红,王广基,黄青,等. 自发性高血压大鼠血浆代谢组学研究及人参皂苷作用机制初探 [J]. 中国天然药物, 2007,5 (6):443-447.
[9] Lu YH, Hao HP, Wang GJ, et al. Metabolomics approach to the biochemical differentiation of Traditional Chinese Medicine syndrome types of hypertension [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2007,12(10): 1144-1145.
[10] 黄玉荣,魏广力,刘昌孝,等. 钩藤多动合剂的药效作用及用代谢组学方法研究其生化机制[J]. 中草药, 2005,36(3): 398-402.
[11] 林艳萍,司端运,刘昌孝. 液相色谱和质谱联用技术结合化学计量学应用于代谢组学的研究进展[J]. 分析化学, 2007,35(10):1535-1540.
[12] 刘昌孝. 代谢组学助推中药现代研究[J]. 医学研究杂志, 2007,36 (7):1-3.
[13] 刘昌孝,端运,万仁忠,等. 代谢组学与天然药物和中药研究[J]. 中国天然药物, 2008, 6(2):82-88.
[14] Lin YP, Si DY, Liu CX. Detecting and identifying in vivo metabolites of brodimoprim via LC/ESI-MS with data-dependent scanning[J]. Chem. Res. Chinese Universities, 2008,24: 430-436.
[15] Liu CX, Li C, Lin DH, et al. Significance of metabonomics in drug discovery and development [J]. Asian J Drug Metab Pharmacokinet, 2004,4:87-96.
[16] Zhang ZP, Su Y, Yue N, et al. Biochemical mechanism of comparison studies of clozapine and quetiapine by using metabonomic method in rats [J]. Asian J Drug Metab Pharmacokinet, 2004,4(4): 281-284.
[17] Mao Y, Huang X, Yu K, et al. Metabonomic analysis of hepatitis B virus-induced liver failure: identification of potential diagnostic biomarkers by fuzzy support vector machine [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2008,9(6):474-481.
[18] Xiao XF, Qiao XL, Hou WB, et al. Studies on pharmacokinetics of pharmacokinetic-markers in Huanglianjiadu Decoction to cerebral ischemia reperfusion model mice [J]. Asian J Pharmacody Pharmacokinet, 2008,8(4):287-298.
[19] Lu T, Yang JL, Gao XM, et al. Plasma and urinary tanshinol from Salvia miltiorrhiza (Danshen) can be used as pharmacokinetic markers for cardiotoxic pills, a cardiovascular herbal medicine [J]. Drug Metab Dispos, 2008,36(8):1578-1586.
[20] Wang L, Sun Y, Du FF, et al. 'LC-electrolyte effects' improve the bioanalytical performance of liquid chromatography/tandem mass spectrometric assays in supporting pharmacokinetic study for drug discovery [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007,21 (16):2573-2584.
[21] Yu F, Gao J, Zeng Y, et al. Inhibition of Coix seed extract on fatty acid synthase, a novel target for anticancer activity[J]. J Ethnopharmacol, 2008,119(2):252-258.

(收稿日期:2009-02-18)