

核技术在中药药理研究中的应用现状

徐学群 刘长征

(中山医科大学实验核医学教研室; 广州, 510089)

摘要 阐述核技术包括标记技术、示踪技术、放射免疫分析和免疫放射分析技术、受体配基分析以及稳定性同位素技术在中药药理研究中的应用现状。核技术在中药药理研究中有不可替代的作用。

关键词 中药理论; 同位素; 放射免疫测定; 免疫放射分析

中图分类号 R 2-03

中药的使用是在中医理论的指导下进行的。而中医理论至今还没有找到有力的证据, 这使中药也陷入了同样的尴尬境地: 即一方面对于疾病临床疗效的肯定, 一方面又无有力的科学数据来证明而使其应用仅限于经验, 故中药新药的发展相对于西药来说显得缓慢。中药的作用机理和方式及特点明显有异于西药。开展中药学的研究对于发扬传统医药, 进一步开拓中药的使用有重要的意义。

中药的研究极其复杂, 从横向上看, 有单味药和复方研究之分, 其中方剂研究是重点。从纵向看, 中药研究从整体和器官的水平, 已逐步进入到细胞和分子的水平。

中药进入机体后, 对机体的作用可分为直接作用和间接作用。直接作用可以理解成是局部作用。直接作用可以用给予方剂的动物血清添加法^[1]加以证实。间接作用的证实则要难得多。有研究表明, 中药对癌细胞的影响除直接作用外, 更主要的是通过对抗体内环境的调整作用。如羟素和斑蝥酸钠的抗癌作用与肝癌细胞内 cAMP 的提高和 cGMP 的降低呈平行关系^[2]。又如补肾中药方本身不是激素却能对更年期综合征妇女的生殖内分泌免疫网络起良性调节作用而使雌激素回到接近正常水平^[3]。扶正中药方本身没有干扰素却能增加体内内源性干扰素的产生^[4]。小柴胡汤预防致癌作用的主要因素是具有诱导肿瘤坏死因子的作用等^[5]。相对而言, 间接作用的研究要涉及到内分泌、免疫功能、电解质、血液生化、微循环等多方面的因素, 研究的难度要高得多。

在中药的研究中, 核技术占有很重要的作用。核技术是一门使用同位素进行分析的技术, 其显著的特点是①功能判断的量化。这是核技术区别于其他影像技术的最大的特点。核技术可以把解

剖定位和血流情况、功能代谢情况结合起来, 提供从分子水平直至整体水平的全方位动态信息^[6]。如利用细胞摄取葡萄糖进行的¹⁸F-FDG 的 PET 显像, 代表着功能显像的最高水平。此外还可通过核素在体内的分布速度、亲和性等特点来检测脏器血流量的高低、淋巴液的回流途径等来显示脏器的功能, 直接或间接地观察体内特定物质的吸收、分布、排泄等动态的过程。而中药研究的薄弱环节恰恰就是功能性指标的量化上, 可以说核技术满足了中药药理研究的一部分需求。②灵敏度高, 特异性好。如放射免疫分析技术(以下简称放免)和免疫放射分析技术(以下简称免放)的灵敏度达 $10^{-9} \sim 10^{-12}$ g。光镜自显影的分辨率在 $1 \mu\text{m}$, 电镜自显影的分辨率在 $0.1 \mu\text{m}$ 以下, 这是其它分析方法所难以达到的^[7]。

1 标记技术

标记技术是核技术的基础。目前对于标记的核素有同位素和非同位素标记。多用的核素是 ¹²⁵I、³H 和 ¹⁴C, 稳定性同位素多用 ¹⁵N 和 ¹³C。标记物用于研究的分为两类: 一是直接标记中药当中的有效成分, 然后进行体外或体内的分析。如陈芝喜等^[8]用 ³H 标记毛冬青甲素研究中药毛冬青在动物体内的分布, 郭顺根等^[9]用 ³H 标记栀子甙研究栀子, 用 ³H 标记淫羊藿的有效成分淫羊藿甙对该药进行研究^[10]。这类研究多用于中药的生物分布和归经关系, 也适用于药物的吸收、分布和排泄等药代动力学的研究, 所得结果直观可靠, 易于接受。但在复方中的运用则较为困难。二是标记与脏器相关的某些生理性物质或非生理性物质, 再用其它手段进行间接研究的方法。如俞建^[11]用 ^{99m}Tc-EHI-

DA 显像法研究利胆护肝合剂对大鼠肝脏摄取葡萄糖排泌功能的影响。王静怡等^[12]用¹²³I-IMP 在脑内的代谢速率观察中药镇眩饮对脑缺血大鼠的血流改善作用。许锋^[13]用¹²⁵I 标记的牛血清白蛋白测定肺微血管通透性。这类研究多是从药效的角度考察问题, 由于指标能够定量, 故用于判断脏器的功能较为理想。

2 放射免疫和免疫放射技术

放射免疫和免疫放射技术主要是用于检测体内的生物活性物质。中药能否改变内环境中的电解质、免疫活性物质、补体、微量元素等的绝对量或相对量而起作用, 是中药研究的一部分内容。研究表明, 不同类型病人体内微量物质如 T₃、T₄、cAMP、cGMP 和皮质醇等的含量各不相同, 通过对内环境中特定物质的定量检测, 可以揭示中药的疗效与机理以及辨证用药等的证据。如许玲等^[14]用放免测定患者的 NK 细胞、OKT₃、OKT₄、OKT₈, 研究益肺抗癌饮与机体的免疫关系; 吴嘉庚等^[15]则用放免测定 PC_{III}(II型胶原)为肝硬变的指标, 研究了中医证型与抗纤方辨证加减后的不同疗效; 顾宇春等^[16]则用放免法研究了中药复方慎柔养真汤, 结果发现, 该方剂中 VIP(血管活性肠肽)的含量比正常人体内的量略高, 而脾虚患者体内的 VIP 的量则比正常人低, 一定程度上揭示了该方剂的作用机理。这些定量指标比传统的中药研究指标如有效、无效、痊愈、好转等更为客观和深入, 从更多的侧面反映了中药的作用机理。同时放免和免放分析具有简单、快速、准确、灵敏度高的特点, 为许多研究者所乐于接受。

3 示踪技术

广义上来说, 示踪包括显像和自显影技术。这是核分析技术中应用较为广泛的一种分析手段, 适用于很多的研究领域。在中药药理研究的范围中, 按研究的目的不同, 可以分为两大类。一是示踪中药本身为目的。用示踪动力学方法研究其在体内过程中的量变规律。研究中药的吸收、分布、蓄积和排泄, 如文献^[8]、^[9]、^[10]。这也是各种新药进入临床使用前不可缺少的研究, 通过不同途径给药的示踪研究可以得到药物绝对或相对的生物利用

度, 为新药设计、剂型研究、药物结构与疗效的关系、合理的给药方案提供重要的依据。二是以中药的疗效为目的, 或以其对机体功能的改变为研究目标。通过标记相关的生理活性物质或前体进行的研究。这些生理活性物质或前体在体内均有其较为明确的代谢路径或化学反应, 通过放射性核素标记这些前体物质可以对这些路径或化学反应的某个环节进行研究。如精氨酸在体内可以被一氧化氮合酶催化生成瓜氨酸, 用³H 标记的精氨酸就可以测定一氧化氮合酶的活性^[17]。通过物质前体的转化还可研究药物对该物质的合成或抑制的影响。众所周知的是利用³H 标记的 TdR 掺入 DNA 的速率进行的多方面的研究。胡笑克等还用³H-TdR 掺入法进行肿瘤化疗方案的选择^[18]。利用前体和产物之间的掺入关系用于中药的研究的还有:³H-UR(尿苷)与 RNA^[19]、³H-Leu(亮氨酸)与蛋白质^[20]、³H-Pro(脯氨酸)与胶原^[20]、谷氨酸, r-GABA 与脑突触体^[21]、¹²⁵I-白蛋白与脂质代谢^[22]、³H-SAM 与 DNA 甲基化水平^[23]等。“掺入”还可以进行脏器功能的测定(如¹³¹I-邻碘马尿酸钠观测肾的排泌功能); 容量的测定 [³H-葡萄糖 (OMG) 测定细胞中水的含量, ⁵¹Cr 标记红细胞测定血容量]^[24]; 营养物质吸收和排泄的测定 (¹⁵N-甘氨酸)^[25]。利用放射性核素与某些脏器的亲和性可进行显像 (^{99m}Tc-MIBI 进行的心肌显像); 可测定其血流量 (⁸⁶Rb 观测心肌营养血流的供应)^[26]。

4 受体配基分析技术

利用放射性配基和受体特异结合的特性, 对受体进行的定性和定量的分析, 在中草药的筛选和研究的应用前景非常令人乐观。它使中药的筛选由传统的整体动物模型发展到以微量受体筛选为导向的分子水平。在中药的研究中主要用于以下几个方面: ①新药设计和药物筛选。大多数受体是大分子的蛋白质, 构象可以变异。构象不同可能意味着不同亚型。改变药物的化学结构, 找出对某一亚型有特异性作用的化合物, 可能发展为选择性较强而副作用较少的新药。目前这方面的工作还少有开展。至于药物的筛选, 临床已有应用^[18]。②探讨中药治疗疾病的机理, 提高临床合理用药水平。凌昌全等观察了参附汤对血浆皮质酮及肝液液胸腺细胞糖皮质激素受体 (GR) 的影响, 结果表明参

附汤可纠正失血性休克模型 GR 的减少,以发挥其救治休克、回阳固脱的作用^[27]。杜国光等则研究了补肾益精中药固真方的作用,结果表明固真方提取液可下调 TSHR 基因的表达,并使 TSHR 数目减少,提示固真方可调整甲状腺细胞的功能或许有利于调整甲状腺机能亢进^[28]。③定量测定中药作用下组织或血液中产生内源性物质的量和药物浓度。黄晖等采用高效液相色谱-电化学检测法和放射配基受体结合分析法(RBA),观察了填精补血化癆方对老年大鼠大脑皮层单胺类递质和 M 受体的影响^[29],指出该方有提高中枢单胺递质代谢活动,并能增加 M 受体数量。刘洁等则用放免分析法和放射配基分析法观察了知母对甲亢模型 β -肾上腺素受体 cAMP 系统的调节作用^[30]。对比于其他受体检测方法而言,放射性配基分析法具有简单、快速、所需样品量少、结果可靠的特点。

5 稳定性同位素技术

随着生命科学的进展,对稳定性核素示踪技术的要求也越来越多。稳定性核素由于没有放射性,标记物稳定,可安全地在人体内进行示踪实验,尤其可放心地应用于孕妇和儿童。稳定性同位素技术的分析主要包括两个方面:测定样品中稳定核素标记物的含量或分析标记物的结构及标记部位。目前主要的探测技术有发射光谱法、红外光谱法、质谱分析法、活化分析法和核磁共振分析技术等,其中最常用的是气相色谱和质谱分析法的联用,即气质联用仪。其他技术在中药研究中的应用还不是很多。

随着分子生物学的发展,以分子识别为基础的分 子核医学的分析手段如受体显像、反义显像等也逐步走向运用。如果在中药的研究中能够考虑这些前沿手段的运用,在研究的思路和方法上势必能达到一个新的水平。

6 结 语

分析手段的多样化 为科研提供了极大的便利。核技术在中药的研究中对于中药的药代学、药动学、血清药理学与药物化学等中的研究有其不可替代的作用。但从目前的文献来看,研究方法多集中在示踪这一类。实际上稳定性同位素技术、分子核

医学技术都是很有前途的方法。中药研究运用这一领域的方法较少。即使是示踪技术的运用,也有待于进一步的深入。核分析技术在中药药理的研究中大有可为。

参 考 文 献

- 1 刘成海,刘平,刘成,等.抗肝纤维化有效中药复方血清药理学方法探讨.中国实验方剂学杂志,1998,4(2):16
- 2 张英华.斑蝥酸钠和肿节风对腹水型肝癌 H₂ 细胞荷瘤小鼠肝癌能量代谢与环核苷酸代谢的影响.中西医结合杂志,1985,5(1):1686
- 3 李大金,李超荆,俞瑾,等.中药复方对更年期综合征妇女生殖内分泌免疫或能的调节.上海免疫学杂志,1995,15(5):257
- 4 孙燕.中医中药在肿瘤治疗中的应用.中国中西医结合杂志,1994,4(8):458
- 5 山铺昌由.小柴胡汤对肿瘤坏死因子诱导作用的研究.国外医学(中医中药分册),1995,17(5):7
- 6 国家自然科学基金委员会编.临床医学基础.北京:科学出版社,1997.186~188
- 7 周申,主编.核医学.第4版.北京:人民卫生出版社,1997.58~59
- 8 陈芝喜,林炳流,何赞厚,等.³H-毛冬青甲素在动物体内分布的研究.放射免疫学杂志,1997,10(3):133
- 9 郭顺根,贲长恩,赵丽云,等.³H-栀子苷整体放射自显影及图像分析与栀子归经的关系.北京中医药大学学报,1996,19(4):28
- 10 郭顺根,贲长恩,杨美娟,等.³H-淫羊藿苷定量分布与淫羊藿归经关系的研究.北京中医药大学学报,1997,20(1):40
- 11 俞建,时毓民,曾纪骅.同位素示踪法及图像分析法研究利胆护肝合剂的作用机理.中国实验方剂学杂志,1998,4(1):19
- 12 王静怡,汪宗江,间贺田泰宽,等.用¹²⁵I-IMP示踪法观察中药镇眩饮对脑缺血大鼠的血流改善作用.中医杂志,1996,37(12):742
- 13 许锋,鲁焕章,吴咸中.急性重症胆管炎大鼠肠肝肺功能损伤的病理机制及中药的保护作用.中国中西医结合杂志,1996,16(3):160
- 14 许玲,刘嘉湘.益肺抗癌饮对肺癌转移及免疫功能的影响.中国中西医结合杂志,1997,17(7):401
- 15 吴嘉庚,李夏玉.抗纤方治疗肝硬变的临床研究.新消化病学杂志,1997,5(5):303
- 16 顾宇春,陈德珍.中药复方慎柔养真汤中血管活性肽的探讨.新消化病学杂志,1997,5(3):158

- 17 强文安, 刘捷, 吕芳玲, 等. ^3H -精氨酸转化测定一氧化氮合酶特性. 中华医学杂志, 1996, 6(8): 567
- 18 胡笑克, 卢汉平, 吴乃允, 等. ^3H -TdR 掺入法选择肿瘤化疗方案的研究. 标记免疫与临床, 1996, 3(4): 196
- 19 李尹雄, 范慕贞, 张京俐, 等. 反义转染细胞 HLR-9 的 C-myc 基因表达其生物大分子的生物合成. 中华肿瘤杂志, 1999, 18(1): 16
- 20 季光. 扶正化疗方药物血清对原代培养大鼠肝细胞增殖及胶原生成率的影响. 中国实验方剂学杂志, 1997, 3(3): 20
- 21 高国全, 欧阳佩珍, 姚志彬. 精氨酸加压素 4~9 片断对老年大鼠脑突触体摄取 ^3H -谷氨酸, ^3H -GABA 的影响. 中华老年医学杂志, 1996, 15(6): 361
- 22 赵明, 黄祖汉, 高晓, 等. 高效简便的人低密度脂蛋白 ^{125}I 标记法. 第一军医大学学报, 1997, 17(3): 230
- 23 白坚石, 何忠效, 吴电奎, 等. 抗衰老药物对大鼠脑 DNA 甲基化酶的影响. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(6): 358
- 24 Klezien R F, Paiiza M W, Becker J, *et al.* A method using 3- α -Methyl-D-glucose and phloretin for the determination of intracellular waterspace of cells in monolayer culture. Anal Biochem, 1975, 68: 537
- 25 张宏伟, 吴肇汉, 戴腾昌. 稳定性同位素在大鼠移植小肠吸收功能研究中的应用. 中华消化杂志, 1998, 19(1): 76
- 26 邵伯芹, 刘赛, 张健, 等. 贻贝多活素对小鼠心肌营养性血流量的影响. 青岛医学院学报, 1997, 33(2): 125
- 27 凌昌全, 李敏, 卢军华, 等. 参附汤对失血性休克大鼠糖皮质激素及其受体的影响. 第二军医大学学报, 1996, 17(3): 284
- 28 杜国光, 顾文聪, 顾文霞, 等. 中药固真方对促甲状腺素受体基因表达的调节作用. 生物化学杂志, 1996, 12(3): 299
- 29 黄晖, 颜正华, 徐秋萍. 填精补血化瘀方对老年大鼠脑内单胺递质和 M 受体的影响. 中国实验方剂学杂志, 1996, 2(1): 28
- 30 刘洁, 翁世艾, 曹永舒, 等. 知母对甲亢模型 β 受体-cAMP 系统的调节作用. 中药药理与临床, 1996, 12(4): 16

(1999-06-22 收稿 1999-08-15 修回)

(上接第 99 页)

- 15 Taylor R S, Ramirez R D, Ogoshi M, *et al.* Detection of telomerase activity in malignant and normal skin conditions. J Invest Dermatol, 1996, 106(4): 759
- 16 Kannan S, Tahara H, Yokozaki H, *et al.* Telomerase activity in premalignant and malignant lesions of human oral mucosa. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1997, 6(6): 413
- 17 Mutirangura A, Supiyaphun P, Triekapan S, *et al.* Telomerase activity in oral leukoplakia and head and neck squamous cell carcinoma. Cancer Res, 1996, 56(15): 3530
- 18 Mao L, El-Naggar A K, Fan Y H, *et al.* Telomerase activity in head and neck squamous cell carcinoma and adjacent tissues. Cancer Res, 1996, 56(24): 5600
- 19 Califano J, Ahrendt S A, Meiningner G, *et al.* Detection of telomerase activity in oral rinses from head and neck squamous cell cancer patients. Cancer Res, 1996, 56(24): 5720
- 20 Kagata H Y, Tsukuda M, Mochimatsu I, *et al.* Telomerase activity of tumors in the head and neck. Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho, 1998, 101(2): 205
- 21 Kang M K, Guo W, Park N H. Replicative senescence of normal human oral keratinocytes is associated with the loss of telomerase activity without shortening of telomeres. Cell Growth Differ, 1998, 9(1): 85
- 22 Ohnishi M, Yoshimi N, Kawamori T, *et al.* Inhibitory effects of dietary protocatechuic acid and costunolide on 7, 12-dimethylbenz[*a*] anthracene-induced hamster cheek pouch carcinogenesis. JPN J Cancer Res, 1997, 88(8): 111
- 23 Bednared A, Budunova I, Slaga T J, *et al.* Increased telomerase activity in mouse skin premalignant progression. Cancer Res, 1995, 55(20): 4566
- 24 董为人, 李进, 李福山. 以端粒酶为靶点的药物设计和基因治疗策略. 生理科学进展, 1997, 28(3): 274
- 25 Bestilny L J, Brown C B, Miure Y, *et al.* Selective inhibition of telomerase activity during terminal differentiation immortal cell lines. Cancer Res, 1996, 56(16): 3796

(1999-06-21 收稿 1999-07-29 修回)