

***In silico* seulonnan käyttö uusien johtolankamolekyylien seulonnassa perinteisen kiinalaisen lääketieteen luonnonainetietokannoista**

Tuomo Laitinen

Kuopion yliopisto, Farmaseuttisen kemian laitos, PL 1627, 70211 Kuopio

JOHDANTO

Luonnonainetietokannat ovat tärkeitä nykyaikaisen lääkekehityksen molekyyliarkistoja, koska esimerkiksi yli puolet nykyisistä syöpä ja tulehduslääkkeistä on jollain tapaa johdettu luonnonaineista.¹ Luonnonainetietokantojen merkittävin etu on siinä, että suurin osa niissä olevista yhdisteistä on aikojen kuluessa valikoitunut luonnonkiertokulussa suorittamaan jotain tehtävää. Näin ollen todennäköisyys löytää bioaktiivisia ja lääkeaineen kaltaisia molekyyliä on näistä tietokannoista paljon suurempi kuin esimerkiksi synteettisellä kombinatorisella kemialla luoduista molekyyli-tietokannoista.

Tietokoneiden suorituskyvyn nopea kasvu ja laskennallisten menetelmien kehitys on avannut uusia mahdollisuuksia suurienkin molekyyli-tietokantojen nopealle hyödyntämiselle uusien lääkeaineiden seulonnassa.² *In silico* virtuaaliseulonta on noussut nopeutensa ja tehokkuutensa ansiosta viime vuosina nykyaikaisen lääkekehityksen perustyökaluksi. Jos lääkeaineen sitoutumiskohteesta on saatavilla riittävästi kokeellista tietoa, voidaan virtuaaliseulonnalla rajata nopeasti ja luotettavasti suuresta määrästä molekyyliä mahdolliset lääkeainekandidaatit, joiden bioaktiivisuus on jo taloudellisesti ja ajallisesti mahdollista määrittää.

PERINTEINEN KIINALAINEN LÄÄKETIEDE

Perinteisellä kiinalaisella lääketieteellä on takanaan vuosituhansien perinteet. Nämä kansanperinteeseen pohjautuvat hoidot perustuvat pääasiassa kasvipäristöjen yrttilääkkeiden käyttöön. Tiettyä sairautta tai oiretta hoidetaan joko yhdellä luonnonrohoksella tai sekoittamalla lääke useista eri kasvien osista jauhetuista komponenteista (sekoituksessa yleensä 4-12 eri yrttiä).³ Koska tällainen seos sisältää suuren määrän yhdisteitä ja vaikuttaa siten lukuisiin eri kohteisiin elimistössä, ei lääketieteellisiä vaikutuksia ole useinkaan pystytty selittämään lääkeaineiden yksittäisten komponenttien avulla. Perinteisen kiinalaisen lääketieteen hoidot pyrkivätkin vaikuttamaan sekä ihmisen fysiologiaan ja mieleen yhtenä kokonaisuutena. Tämä onkin suurin ero perinteisen kiinalaisen lääketieteen ja länsimaisen molekylaarisen lääketieteen välillä. Perinteisiä kiinalaisia luonnonlääkkeitä ei ole juurikaan testattu länsimaisten kliinisesti kriteerien mukaan, mutta silti ne ovat viimeaikoina herättäneet mielenkiintoa myös länsimaisten kuluttajien parissa.⁴ Toisaalta perinteisen kiinalaisen lääketieteen menetelmät ovat paikallisen elintason nousun myötä jäämässä itse emämaassa ja länsimaisen lääketieteen ja lääkkeiden jalkoihin, koska kuluttajat ovat alkaneet vaatia tehokkaampia ja turvallisempia hoitoja kuin mitä perinteinen kiinalainen lääketiede voi tarjota.⁵ Kiinalaiset luonnonainetietokannat tarjoavat kuitenkin erittäin potentiaalisen mahdollisuuden uusien lääkkeiden löytymiselle ja kehittämiselle, mutta pääsy nykyaikaisilla kansainvälisille lääkemarkkinoille vaatii lääkkeiden kehityksen tekemistä länsimaisten standardien mukaan.⁶

Tulevaisuuden visioita

Perinteisen kiinalaisen lääketieteen menestyksen jarruna on ollut alalla toimijoiden heterogeenisyys. Toimintatapojen standardoimiseksi ja luotettavuuden parantamiseksi Kiinalaiset yliopistot ovat viime aikoina esitelleet moderneja suunnitelmia verkostoitumisesta luodakseen uusia tapoja perinteisen kiinalaisen lääketieteen hyödyntämiseen sekä taloudellisesti että tieteellisesti.⁷ Yleensä Kiinalaisten tutkimushankkeiden pääasiallinen tavoite vaikuttaa olevan tunnettujen Kiinalaisten hoitotapojen standardisoiminen eli kliinisten testien läpivienti, sokkotestaukset, seosten kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen analysointi sekä erilaisten sormenjälkimenetelmien kehittämien tuotteiden laadun ja tuoteturvallisuuden varmistamiseksi.⁸ Näitä perinteisiä hoitoja on kuitenkin vaikea patentoida ja kaupallistaa, koska monet niistä pohjautuvat kansanperinteeseen. Länsimaisen molekylaarisen lääketieteen näkökulmasta mielenkiintoisimpia hankkeita ovat perinteisessä kiinalaisessa lääketieteessä

käytettyjen kasvipohjaisten lääkekomponenttien eristäminen ja keräämien sähköiseen muotoon tietokannoiksi, jolloin niitä pystytään hyödyntämään uusien johtolanka molekyylien seulonnessa ja uusien lääkkeiden kehityksessä.⁹

Luonnonyrteissä esiintyviä yhdisteryhmiä

Tavallisimpia yhdisteryhmiä ovat mm. alkaloidit, fenolit, tanniinit, kumariinit, kinolit, flavonoidit, terpenoidit, lektiinit ja steroidit.¹⁰

Kiinassa kehitettyjä tai eristettyjä lääkkeitä

Kansainvälisillä lääkemarkkinoilla on yllättävän vähän kiinalais-peräisiä lääkkeitä. Seuraavana on muutama esimerkki, joista kaksi viimeistä ovat merkinä pyrkimyksistä tuoda markkinoille perinteisiä kiinalaisia lääkkeitä.⁵

- efedriini (stimulantti) eristettiin 1880 luvulla kiinalaisesta mahuang-yrttilääkkeestä
- artemisiini (malaria lääke), eristettiin 1970 luvulla qinghaosta
- Trichosanthin (HIV)
- Iridubin (leukemia lääke)
- Kanglaite (kemoterapian sivuvaikutusten lievittäjä), II-faasin kliinisessä testauksessa
- Xue Bao PG2 on III-faasin kliinisissä testeissä oleva (2003) kemoterapiassa käytetty Kiinalainen yrttilääke

OLEMASSA OLEVIA PERINTEISEN KIINALAISEN LÄÄKETIETEEN LUONNONAINETIETOKANTOJA

SIRC/TCM Integrated database, Shanghai

Tietokannasta ei löytynyt viitteitä tieteellisistä julkaisuista, mutta Pekka Hyvösellä oli heidän oma epävirallinen kuvaus tietokannasta.

- tietokanta perustuu kirjallisuus lähteisiin
- tietokannassa on 50 000 kinalaista lääkereseptiä
- 11 000 lajia
- tiedot 25 000 kemiallisesta yhdisteestä

Tietokannan esittelijä näkee sen potentiaalisena uusien lääkeaineiden lähteenä ja tietokannan kehitystyössä on mukana asiantuntijoita seuraavilta aloilta: perinteinen kiinalainen lääketiede, bioinformatiikka, keminformatiikka

DCTMH-tietokanta (Database of Chinese Traditional Medicinal Herbs), Pekingin yliopisto⁹

Tietokanta on tarkoitettu nykyaikaiseen lääkeainesuunnitteluun ja johtolankamolekyylien seulontaan. Yhdisteiden tiedot on jaoteltu kolmeen kategoriaan: yhdisteiden perustiedot (nimet, CAS-numerot, ja fysikaaliskemialliset ominaisuudet), rakenteellinen informaatio (2D ja 3D rakenteet) ja lähteet luonnossa (yrtit, kasvinosat, lääkinnällinen käyttö)

- koottu pääasiassa kirjallisuudesta
- sisältää 10 564 yhdistettä (vuonna 2002),
- molekyylien 3D-rakenteet on optimoitu Cerius2:lla käyttäen MMFF voimakenttää
- molekyylit voidaan tallentaa MDL sdf-muodossa

Tälle tietokannalla on tehty demonstraatio, jossa on haettu virtuaaliseulonnalla NS3-NS4 proteaasi-inhibiittoreita.⁹ Kyseinen entsyymi liittyy hepatiitti-viruksen leviämiseen ihmisen elimistössä ja siten estäjä molekyylien oletetaan olevan potentiaalisia lääkeaine kandidaatteja. Ensin on tehty haku perinteisen kiinalaisen lääketieteen CHMNIS- tietokannasta etsien perinteisiä kiinalaisia luonnonlääkkeitä hepatiittia vastaan. Tulokseksi on saatu 1100 yhdisteen 3D-tietokanta, jotka on telakoitu proteaasin aktiiviseen paikkaan (ryhmän omalla ohjelmistolla). Haluttuja kandidaattimolekyylejä on lähdetty eristämään perinteisestä yrttiseoksesta ja niiden bioaktiivisuuksia on alettu testaamaan kyseisellä proteaasilla. (Tulokset ovat lupaavia, mutta niitä ei ole toistaiseksi julkaistu).

CNPD-tietokanta, (Chinese Natural Products Database), Shanghai

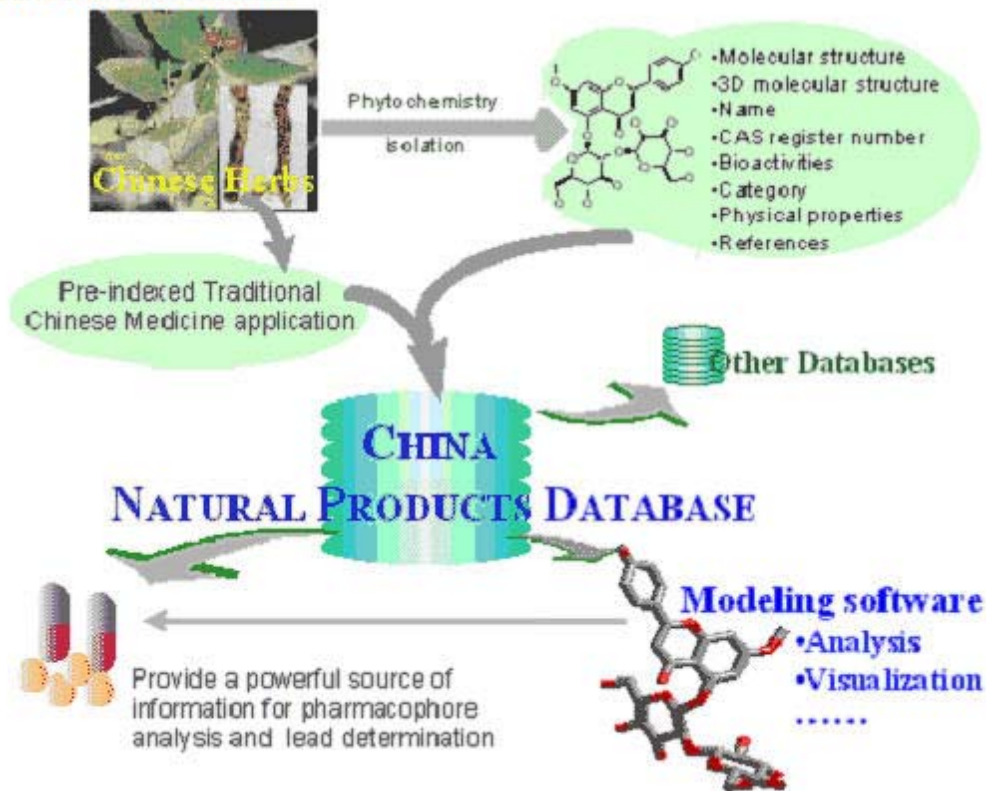
Tietokanta on kehitetty lääkeaineiden virtuaaliseulontaan.¹¹ Tietokanta on kehitetty Shanghain yliopistossa yhteistyössä Neotrident Technology Ltd:n kanssa.

- on kerätty pääasiassa (Kiinalaisista) kirjallisuus lähteistä.
- tietokantaan on tallennettu molekyylien 2D-rakenteet ja lisäksi laskennallisesti optimoidut 3D-rakenteet.
- tietokannan kaikki molekyylit ovat saatavissa sdf-muodossa (Isis-Base) ja josta tallennetut 3D-rakenteet voidaan muuntaa myös esim. Sybyl/mol2- tiedostoiksi
- tietokantaan on tallennettu yhdisteestä mm: CAS-numero, nimi, mihin kategoriaan yhdiste kuuluu, fysikaaliskemialliset ominaisuudet, alkuperäkasvi/kasvinosa ja käyttötavat perinteisessä kiinalaisessa lääketieteessä

- molekyylien bio-aktiivisuudet on tietokannassa maininta, mikäli ne on lähdekirjallisuudessa raportoitu
- yhdisteiden lukumäärä tietokannassa on 45 000 (2003), joista 12 521 yhdistettä on asiantuntijoiden manuaalisesti tarkistamaa.
- Hankkeeseen liittyy kaupallinen Neotrident Technology Ltd. yritys, joka toimii Shanghai-Pudongin alueen teknologiapuistossa. Yrityksen kotisivut internetissä ovat: http://www.neotrident.com/neotrident_def4_2.htm

CHINA NATURAL PRODUCTS DATABASE

The first and only comprehensive source of chemical, structural and bibliographic data on all known natural products in China.



Kuva 1. Neotrident Ltd:n tietokannan kuvaus internetissä.

Shen et al. ovat käyttäneet tätä tietokantaa virtuaaliselontaan kahdessa esimerkkitapauksessa.¹¹ Ensimmäisessä haussa on etsitty kaliumkanavan toiminnan estävää lääkettä.

- aluksi on rakennettu homologia-malli proteiinista
- seulonta on tehty telakoimalla ligandit mallitettuun rakenteeseen DOCK4.0 ohjelmalla
- telakoinnin tulokset on asetettu paremmuusjärjestykseen ”shape complementary scoring” funktiolla
- 200 lupaavinta molekyyliä on valittu rakenneoptimointi vaiheeseen
- 14 parasta molekyyliä on valittu bioaktiivisuuden testaukseen
- 4 yhdistettä oli tutkimusryhmän saatavilla puhtaina
- lopulliset tulokset julkaisematta

Toisessa esimerkissä Shen et al. kalastavat PPAR γ agonistia, jolla uskotaan olevan käyttöä 2-tyypin diabeteksen lääkinnässä.

- telakointi on tehty mallitettuun ja molekyylidynamiikalla optimoituun rakenteeseen
- löydetty 78 mahdollista lääkeainekandidaattia
- koska ryhmältä puuttuu kattava luonnonaineiden molekyylikirjasto, he käyttivät eräänlaista ligandin kalastustekniikka, jossa pylväaseen on kiinnitetty aktiivinen entsyymi ja pylvään läpi ajetaan rohdosta, jolloin saadaan lääkeaineet erotettua
- lopulliset tulokset julkaisematta

TCMD-tietokanta

Tietokannan materiaali on peräisin kirjasta: ”Traditional Chinese Medicine; Molecular Structures, Natural Resources, And Applications”.¹²

- <http://www.daylight.com/products/databases/tcm.html>
- tietokanta sisältää tiedot 6800 yhdisteestä, 1268 perinteisestä lääkkeestä ja 1548 kasvilajista.
- data on jaoteltu kolmeen perusosaan: Kiinalaiset lääkeaineet, alkuperäkasvit ja bioaktiiviset komponentit
- tietokantaan sisältyvät mm seuraavat tiedot: yhdisteen kemiallinen nimi, CAS-numerot, 2D-molekyyli rakenne, molekyylikaava, molekyyli paino, fysikaaliskemialliset ominaisuudet, kasviperäinen lähde

- käyttöliittymänä toimii internet selain

A Marine Natural Product Database, Peking¹³

- sisältää noin 6000 merellistä alkuperää olevaa yhdistettä
- sisältää: yhdisteiden 2D rakenteen, CAS-numerot, fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet, merellisen alkuperä ja biologiset aktiivisuudet
- ISIS tietokanta on generoitavissa
- tietokanta on kerätty kirjallisuudesta
- samoja kirjoittajia kuin TCMD-tietokannassa¹²

TCM-ID tietokanta, Singapore

Kyseessä on perinteisen kiinalaisen lääketieteellisen informaation tietokanta, josta voi hakea tietoa esim. sairauden, yrtin, vaikuttavan lääkeaineen, kohteen yms. mukaan.¹⁴

- koostumus 1194 perinteiselle kiinalaiselle lääkkeelle
- 1239 yrttiä
- 3D-molekyyliarakenteita 4468 kpl
- <http://xin.cz3.nus.edu.sg/group/tcmid/tcmid.asp>
- liittyy INVDOCK ohjelman kehitys työhön ja laskennalliseen lääkeainekohteiden etsimiseen pdb-tietokannoista.¹⁵ (Singapore, Department of Computational Science)

VIRTUAALISEULONTA

On laskennallinen menetelmä lääkeainekandidaattien seulontaan suuresta määrästä virtuaali-molekyylejä käyttäen hyväksi tietokannan muotoon tallennettuja tietoja. Käytetyt menetelmät voivat olla joko yksinkertaistettuja tai mahdollisimman tarkkoja riippuen ongelman laadusta.

2D-seulonta

Kaksiulotteista seulontaa käytetään pääasiassa etsittäessä lääkeaineen kaltaisia molekyylejä esimerkiksi HTS-seulonnan tarpeisiin. Esimerkkinä käytetyistä hakukriteereistä ovat esim. molekyylipaino, Lipinskin 5-sääntö tai lipofiilisyyys (Log P). Kaikki edellä mainitut ovat ominaisuuksia jotka voidaan laskea nopeasti esim. miljoonan yhdisteen tietokannalle.

Kiinalaisissa tietokannoissa tämä osa-alue käsittää paljon tietoa, koska niihin on 2D-rakenteiden lisäksi syötetty paljon perinteisestä kiinalaisen lääketieteestä johdettua informaatiota. Yhdisteitä voidaan etsiä mm. yrttien, perinteisten hoitojen, yms. ominaisuuksien perusteella. Toisaalta saatavilla olevissa Kiinalaisissa tietokannoissa on alle 50 000 yhdistettä, mikä ei ole laskennallisesti merkittävä kuorma ja siten vaadi välttämättä laajaa esikarsintaa.

Farmakofori- seulonta

Kokeellisten kohde-rakenteiden puuttuessa voidaan haku perustaa tietoon jostain tunnetusta lääkeainemolekyylistä. Menetelmässä luodaan farmakofori-malli eli malli lääkeaineen sitoutumisen kannalta oleellisista vuorovaikutusalueista, johon tietokannan 3D-molekyylejä verrataan.

3D-seulonta

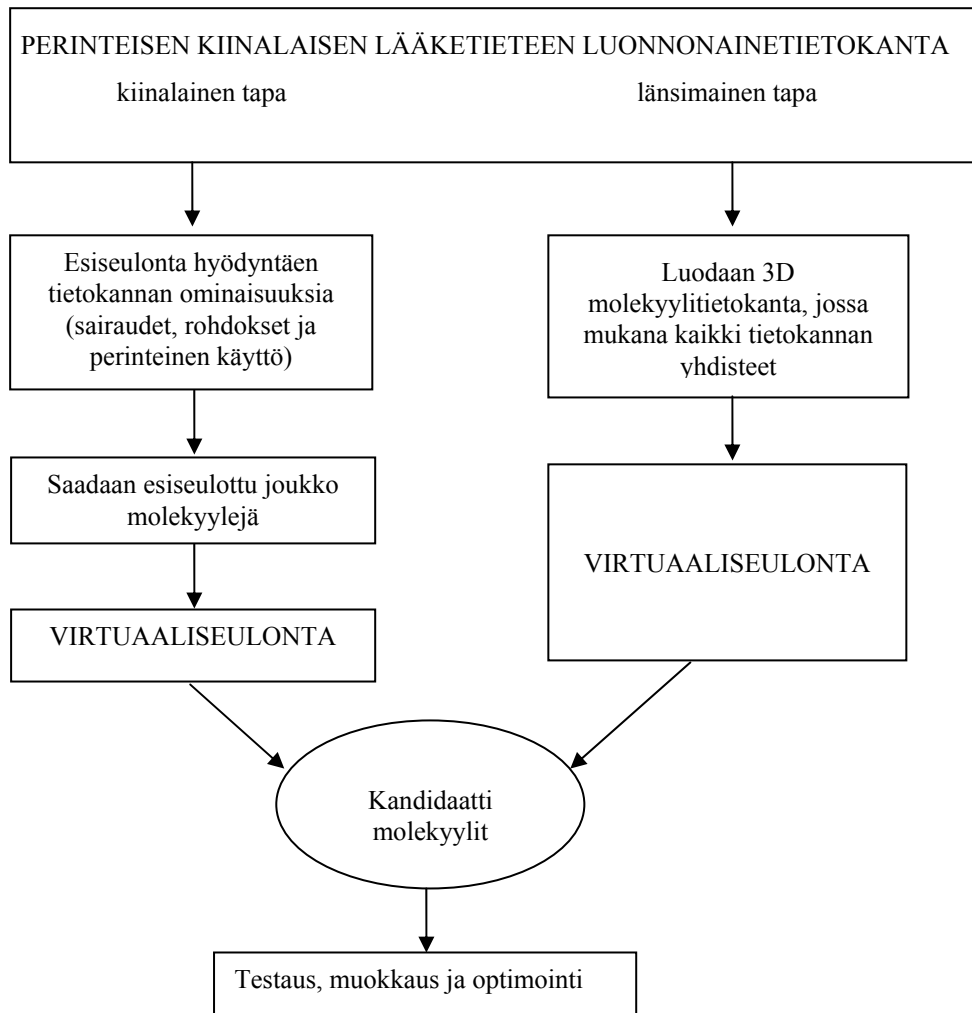
Telakointi on tarkin virtuaaliseulonnan menetelmä, joka vaatii hyvän 3D-molekyylitietokannan sekä tietoa kohteen kolmiulotteisesta rakenteesta. Tietokannan kolmiulotteiset rakenteet voidaan laskennallisesti generoida vastaavista kaksiulotteisista rakenteista. Itse seulonta vaatii mielellään kokeellista tietoa lääkeainekohteen sitoutumispaikan kolmiulotteisesta rakenteesta eli riittävän tarkan aktiivisen paikan kuvauksen. Ideaalitapauksessa on käytettävissä pdb-rakenne reseptorin ja ligandin välisestä kompleksista (mitattu yleensä röntgen diffraktiolla tai joskus NMR-llä), jolloin voidaan tehdä seulonta perustuen reseptorin aktiivisen paikan rakenteeseen ligandien telakointi ohjelmalla. Molekyylien sopivuutta kohteeseen arvioidaan laskennallisilla menetelmillä ja parhaiten aktiiviseen paikkaan sopivat molekyylit otetaan jatkokäsittelyyn.

Biologisen aktiivisuuden testaus

Viimeisenä vaiheena virtuaaliseulonnassa on valikoitujen molekyylien hankkiminen kapallisista lähteistä tai muuta kautta bioaktiivisuuksien mittausta varten.

- tarvitaan puhtaat eristetyt aineet
- jos joudutaan eristämään yrteistä, niin kuluu aikaa ja rahaa.
- testausta varten oltava mielellään valmis testi

Yksi tai useampi potentiaalinen lääkeaine-kandidaatti valintaan näiden aktiivisuusmittausten perusteella johtolanka molekyyliksi ja sen ominaisuuksia optimoidaan edelleen synteettisen farmaseuttisen kemian keinoin.



Kaavio 1. Virtuaaliseulonnan toteutustapoja

Edellytyksiä virtuaaliseulonnan hyödyntämiselle

Kiinalaisten tietokantojen laatu

- englanninkielinen vai kiinankielinen
- 2D/3D-virtuaalikirjasto
- tietokantojen saatavuus akateemiseen tutkimukseen
- kattava määrä yhdisteitä eri yhdisteryhmistä

biologisen aktiivisuuden testauksen edellytyksiä

- ovatko yhdisteet saatavina eristettyinä ja puhtaina aineina
- onko olemassa valmista bioaktiivisuuden testiä valituille kohteille

SHANGHAIN JA SEN LÄHIYMPÄRISTÖN KUVAUS

Erityisesti Jiangsun maakunta, joka on Etelä-Suomen sisarmaakunta, on ollut Kiinan avautumisen jälkeen suomalaisten yritysten suorien sijoitusten pääkohde maassa.¹⁶ Alueen etuina on listattu mm seuraavia seikkoja.¹⁶

- alueella toimi vuonna 2002 noin 70 suomalaisyritystä (80 yritystä vuonna 2004), joista 20:llä oli tuotannollista toimintaa
- yritykset työllistävät noin 6000 henkilöä
- henkilösuhteet alueen ja Suomen välillä ovat hyvät myös korkealla poliittisella tasolla
- Kiinan muita alueita monipuolisemmat palvelut
- vähäisempi byrokratia kuin muualla Kiinassa
- lahjakkuusreservit ovat alueella poikkeuksellisen suuret
- alueella on noin 50 korkeakoulua ja yliopistoa
- alueen tutkimustaso on monilla aloilla varsin korkea USA:sta palaavien tutkijoiden ansiosta
- alueen ihmiset ovat ulospäin suuntautuneita ja avoimia

Mahdollisia yhteisiä lääkeaine kohteita Shanghaiin yliopiston kanssa

Shanghaiin delekaation vierailun yhteydessä (syksyllä 2003) käydyissä keskusteluissa listattuja yhteisiä lääketieteellisen kiinnostuksen kohteita.¹⁷

- Alzheimerin tauti
- 2-tyypin diabetes
- osteoporoosi
- liikalihavuus
- maksasyöpä (Kiinalaisten oma ongelma, koska saavat pavuista paljon toksiineja)

YHTEENVETO

Lupaavia perinteisen kiinalaisen lääketieteen luonnonainetietokantoja on olemassa tai kehitteillä useissa kiinalaisissa yliopistoissa. Yliopistoilla on suunnitelmia verkostojen luomisesta, mutta ei ole tietoa ovatko kyseiset tietokannat jo yhteiskäytössä vai täysin erillisiä, koska tietokannoista ja niiden käytöstä on saatavilla kirjallisuudessa vain suhteellisen pinnallista tietoa. Tietokantojen soveltuvuutta lääkeaineseulontaan saattaa rajoittaa puhtaiden yhdisteiden saatavuus.

KIINALAISIA INTERNET OSOITTEITA

Shanghai/Pudong alue

- Pudong Government: <http://english.pudong.gov.cn/>
- Pudong New Area: <http://pudong.shanghaichina.org/>
- SIOC: <http://www.sioc.ac.cn/esioc/1.htm/>
- Zhangjiang Hi-Tech Park: <http://www.zjpark.com/english/index.html>
- The National Center for Drug Screening: <http://screen.org.cn/> (Chinese)
- Bicoll yritys: <http://www.bicoll-group.com/>
- SIRC/TCM: <http://www.sirc-tcm.sh.cn/index.htm> (Chinese)
- Jiangsu Simcere Pharmaceutical Company: <http://www.simcere.com/english/>

Hongkong alue Hi-Tech Park

- Hi Tech Park: <http://www.hkstp.org/eindex.php>
- Applied Research: http://www.cityu.edu.hk/applied_research/introduction.html
- Hong Kong Biotechnological Sites: <http://www.polyu.edu.hk/~abct/link/ab.htm>
- IMT: http://imt.chem.hku.hk/research/central_lab.shtml

Pekingin alue:

- Suomen lähetystö: <http://www.finland-in-china.com/>

VIIITEET

-
- ¹ Newman, J.D., Cragg, G.M., Snader, K.N., "Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002" (2003), *J. Nat. Prod.* **66**, 1022-1037.
- ² Waszkowycz, B., Perkins, T.D.J., Sykes, R.A., Li, J., "Large-scale Virtual Screening for Discovering Leads in the Postgenomic Era" (2001), *IBM Systems Journal*, **40**, 360-376.
- ³ Lee, K-H.. "Research and Future Trends in the Pharmaceutical Development of Medicinal Herbs from Chinese Medicine" (2000), *Public Health Nutrition*, **3**, 515-522.
- ⁴ Pach, D., Willich, S.N., Becker-Witt, C., "Availability of Research Results on Traditional Chinese Pharmacotherapy" (2002), *Forsch Kompletärmed Klass Naturheilkd*, **9**, 352-358.
- ⁵ Normile, D., "The New Face of Traditional Chinese Medicine" (2003) *Science*, **299**, 188-190.
- ⁶ Efferth, T., Davey, M., Olbrich, A., Rycker, G., Gebhart, E., Davey, R., "Activity of Drugs from Traditional Chinese Medicine toward Sensitive and MDR1- or MRP1-Overexpressing Multidrug-Resistant Human CCRF-CEM Leukemia Cells" (2002), *Blood Cells Mol. Dis.* **22**, 2-9.
- ⁷ Chen, H., Wu, Z., Huang, C., Xu, J., "Towards a Grid-Based Architecture for Traditional Chinese Medicine", In: International Workshop on Challenges of Large Applications in Distributed Environments June 21 - 21, 2003. Seattle, Washington
- ⁸ Liu, S-Y.,Woo, S-O., Koh, H-L., "HPLC and GC-MS Screening of Chinese Proprietary Medicine for Undeclared Therapeutic Substances" (2001), *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **24**, 983-992.
- ⁹ Qiao, X., Hou, T., Zhang, W., Guo, S., Xu, X., "A 3D Structure Database of Components from Chinese Traditional Medicinal Herbs" (2002) *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **42**, 481-489.
- ¹⁰ Plant Resources of South-East Asia, Medicinal and Poisonous Plants, Eds. de Padua, L.S., Bunyaphatsara, N., Lemmens, R.H.M.J., Prosea, Bogor Indonesia 1999.
- ¹¹ Shen, J., Xu, X., Cheng, F., Liu, H., Luo, X., Shen, J., Chen, K., Zhao, W., Shen, X., Jian, H., "Virtual Screening on Natural Products for Discovering Active Compounds and Target Information" (2003) *Curr. Med. Chem.*, **10**, 2327-2342.
- ¹² He, M., Yean, X., Zhou, J., Xie, G., "Traditional Chinese Medicine Database And Application on the Web" (2001) *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **41**, 273-277.
- ¹³ Lei, J., Zhou, J., "A Marine Natural Product Database" (2002) *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **42**, 742-748.
- ¹⁴ Department of Computational Science, National University of Singapore , (2002) *BIDD Pharminformatics Databases*, Available: <http://xin.cz3.nus.edu.sg/group/tcmid/tcmid.asp>
- ¹⁵ Chen, X., Ung, Y. C., Chen, Y., "Can an In Silico Drug-Target Search Method be used to Probe Potential Mechanism of Medicinal Plant Ingredients" (2003), *Nat. Prod. Rep.*, **20**, 432-444.
- ¹⁶ Muistio: Pasi Rutanen " Shanghai/Pudong-Kuopio ja Teknia-Zhangjiang Hi-Tech Parkin yhteistyön mahdollinen kanavointi pilottiprojektina kansalliselle tasolle" (30.10.2002)
- ¹⁷ Puhelin keskustelu Minna Hendolinin kanssa