



评述

军事医学科学院中药现代研究的回顾与展望

周文霞^①, 蒋宁^①, 肖智勇^①, 王升启^②, 高月^②, 李云峰^①, 马百平^②,
崔承彬^①, 张永祥^{①*}^① 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850;^② 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850

* 联系人, E-mail: zhangyx@bmi.ac.cn

收稿日期: 2011-07-20; 接受日期: 2011-08-14

国家重点基础研究发展计划(批准号: G1999054401 和 2004CB518907)、国家高技术研究发展计划(批准号: 2003AA2Z2042, 2002AA2Z3131 和 2008AA0Z2402)、国家自然科学基金重点项目(批准号: 39730480, 30730112 和 81130067)、国家自然科学基金面上项目(批准号: 39570851, 30171154, 30300453, 30672629, 30271617, 30701073, 30973632, 20672142, 30572333, 30672640, 30300419, 81001653, 30371770 和 30070931)和国家“重大新药创制”科技重大专项(批准号: 2008ZX09101-Z-028, 2009ZX09102-106, 2009ZX09502-014, 2011ZX09102-101-07 和 2011ZX09102-002-09)资助项目
doi: 10.1360/052011-611

摘要 军事医学科学院建院 60 年来, 中药研究的学科建设在实践中迅速壮大和发展, 逐步形成了完善的多学科结合的现代中药研究体系, 在国家中药现代研究战略布局中占有重要地位, 在理论创新、技术创新、基础和应用基础研究及新药开发等方面均取得了丰硕的成果, 尤其在中药复方研究、中药单味药和活性成分研究、以“组学”技术及现代化学分离分析技术为代表的新技术和新方法在中药研究中的应用、中药质量控制和创新中药研究和开发等方面取得了明显进展, 本文谨对此进行综述.

关键词中药现代研究
中药复方
单味药
活性成分
多糖结构和功能
中药新药

中医药学是我国医学科学的特色, 具有系统理论与丰富实践经验和显著临床疗效, 是目前保存最为完整、影响力最大、使用人口最多的传统医药体系. 中医药学被认为是目前我国最有希望取得原始创新突破、对世界科技和医药发展产生重大影响的学科. 为此, 国家自 1996 年以来启动了中药现代化发展战略, 并在此基础上, 于 2002 年 11 月由国家科学技术部、国家计划委员会等 8 部委联合制定了《中药现代化发展纲要(2002~2010 年)》, 从国家战略高度对中药现代化工作进行了整体布局. 在此背景下, 中药现代研究成为了我国生命医药研究领域的重点方向之一, 新思路不断涌现, 新技术不断被应用, 呈现出百花齐放的崭新局面.

军事医学科学院建院 60 年来, 随着现代科学技术的不断发展和国家中药现代化战略部署的实施,

中药研究的学科建设在实践中迅速壮大和发展, 逐步形成了完善的多学科现代研究体系, 成为国家中药现代研究梯队的重要一员, 在国家中药现代研究战略布局中占有重要地位, 在理论创新、应用基础和开发等方面均取得了丰硕的成果.

1 中药现代研究的回顾

1.1 中药复方研究

1.1.1 活性导向的中药复方物质基础研究

中药化学成分的高度复杂性导致中药复方药效物质基础的不明确, 是中药药理学和复方化学研究共同的难点. 针对这一难题, 国内外学者尝试开展中药血清化学研究, 即以药物化学的研究手段和方法

为基础, 分析鉴定中药口服后吸收进入血清中的新成分, 研究其药效相关性, 确定中药药效物质基础并研究其体内过程. 亦有学者采用细胞模型的高通量筛选技术开展中药复方有效成分组学研究, 实现对方分离流分的微量快速药理活性筛选. 我国中西医结合中药药理研究的奠基人周金黄教授倡导采用活性导向评价对中药复方有效成分进行逐步分离和确定, 获得主要物质基础并进行深入的药理学研究^[1]. 据此, 在中药经典名方六味地黄汤的研究中, 以其主要药理作用为依据, 运用化学与药理密切合作的研究方法, 在活性评价的导向之下追踪分离六味地黄汤的活性物质, 使物质分离和活性分离同步进行. 获得多个活性部位后进一步分离获得了多个活性单体, 并进行了结构解析, 确定了其化学结构, 其中包括多糖、寡糖和苷类化合物. 然后对获得的上述活性成分和单体分别进行系统的免疫药理学研究, 从而比较全面地认识了六味地黄汤的药效物质基础和作用机理.

采用相同的研究方法, 在其他工作中从多种中药和天然产物中分离得到具有抗应激作用的黄酮苷类化合物、具有镇痛活性的皂甙类化合物和具有较强免疫抑制作用的化合物, 为中药物质基础的阐明和进一步研制具有自主知识产权的创新药物奠定了基础.

1.1.2 “方证结合”的中药复方药理研究

由于中医和现代医学的产生背景和发展轨迹不同, 其理论体系也不同, 所以中医理论的科学内涵尚不能从现代医学的角度进行阐释, 给中药现代药理研究带来了很大的困难. 王永炎院士等认为, 中药现代研究应遵循病证结合、方证关联、理法方药统一的整体研究思路. 国内外学者从不同角度对肾虚、脾虚、血虚等证及经典中药复方进行了研究.

(1) 六味地黄方. 毒物药物研究所科研人员以中西医结合的学术思想为指导, 以中医整体观为主要依据, 根据中医对肾功能的描述, 认为中医所描述的肾的功能与现代医学神经内分泌免疫调节(NIM)网络的功能十分相似, 因而从 NIM 网络的角度对中药经典复方六味地黄汤“滋补肾阴”功效的现代药理学基础进行了系统研究. 从六味地黄汤药理作用及作用机理、活性物质、配伍原理、药代动力学、化学指纹图谱等多方面进行了深入探索, 获得了大量研究结果,

取得了明显进展, 绝大多数是新的发现. 更为重要的是, 该课题组围绕六味地黄汤作用机理及药效物质基础所开展的研究工作, 使人们对中药复方的科学内涵有了更为直观和深刻的认识, 在研究思路及研究方法等方面也积累了较为丰富的经验. 研究结果和结论对中医肾虚证的概念和中医补益理论等提出了新的认识和理解, 从现代医学的角度进行了初步诠释, 提出了肾虚的病理生理学基础反映了 NIM 网络平衡失调、六味地黄汤“滋补肾阴”和“异病同治”的现代药理学基础是调节 NIM 网络的学术观点.

(2) 复方丹参方. 放射与辐射医学研究所科研人员基于化学基因组学的策略, 从成分与靶标的关系研究出发, 较系统地研究了复方丹参方治疗血瘀证的方-证关系科学内涵. 在研究中首先结合蛋白质组和基因组的技术手段与传统中药理论, 将中药的药性、功能及主治与其对特定疾病相关基因、蛋白的表达和调控的影响关联起来, 系统地研究了复方丹参方活血化瘀作用的蛋白质表达谱和基因表达谱, 发现了多个复方丹参方活血化瘀作用的相关基因和蛋白, 在分子水平上诠释了传统中药理论及作用机制, 为基于分析水平的复方丹参方活血化瘀作用方证关系研究提供了重要信息. 然后在分子、细胞及动物模型上研究复方丹参方有效成分与靶标分子作用的特异性及对应关系. 通过对复方丹参方有效单体对动脉粥样硬化细胞模型, 心肌缺血模型和氧化损伤神经细胞模型的研究, 发现丹参来源有效成分隐丹参酮通过作用于血管内皮细胞 NF- κ B 分子, 抑制 ET-1 表达, 刺激内皮细胞 NO 的释放; 丹酚酸 B 通过 ERK 通路抑制转录因子 NF- κ B 和 AP-1 活性, 抑制血管内皮细胞的 PAI-1 表达; 丹酚酸 B 通过抑制 NADPH 酶诱导 ROS, 抑制血管平滑肌细胞 TNF- α 刺激的 MMP-2 表达; 原儿茶醛可以抑制炎症因子刺激增高的血管内皮细胞黏附分子 ICAM-1 和 VCAM-1 表达, 其抑制黏附分子 ICAM-1 和 VCAM-1 表达的作用与转录因子 NF- κ B 和 AP-1 有关. 来源于三七的有效成分人参皂苷 Rg1 可抑制 TNF- α 引起的人动脉平滑肌细胞增殖; 三七皂苷 R1 通过 ROS/ERK 通路呈剂量依赖性地抑制 TNF- α 引起的人动脉平滑肌细胞的 FN 基因的表达; 三七皂苷 R1 通过抑制 PKB 和 ERK 信号途径抑制 PAI-1. 冰片来源有效成分异龙脑异龙脑可显著降低 6-羟基多巴胺导致的 Caspase-3 活性升高, 抑制细胞色素 C 向胞质的移位, 并能降低 Bcl-x/Bax

比例的升高, 此外丹酚酸 B 在该模型上也有一定的神经损伤保护作用。继而基于机理(作用靶点组合)发现了一组具有抑制血管平滑肌细胞增殖的有效成分组合, 其药效在动物体内模型上与原方基本一致, 证实了研究构建的基于方证关系化学基因组学网络图的合理性, 同时提示针对血瘀证的某些证候, 基于机理可能设计成分配伍复方药物。上述研究系统地揭示了复方丹参方主要化学成分作用的靶分子及通路, 初步阐明了复方丹参方治疗血瘀证的“方-证”关系, 为复方丹参方功能、配伍及临床治疗提供了理论依据, 对其他方剂的“方-证”关系研究具有很好的借鉴作用。

(3) 四物汤。放射与辐射医学研究所科研人员以多学科理论为指导, 综合采用现代分析化学、系统生物学、药理学、计算数学及非线性科学等多学科交叉综合手段, 对四物汤进行了“方证结合”研究, 揭示了四物汤对血虚证的干预作用及其机制^[2]。首先以中医理论为指导, 采用中药药理学、中药化学组学和分子生物学等相关分析技术和方法, 观察了四物汤及其 16 个不同配伍组合对血虚证动物外周血象、骨髓干/祖细胞的数量和质量、CD34⁺细胞表达、细胞周期、细胞凋亡及造血相关基因和蛋白质表达等的影响, 结果显示四物汤全方在拆方中占主导地位, 各配伍组方在不同指标上各有特点, 如川芎对凋亡的影响, 白芍、川芎对细胞周期的影响, 白芍对外周血白细胞的影响等, 四物汤全方的效果均优于各配伍组方, 在对外周血的影响方面, 白芍确属反佐之品。基于四物汤的拆方实验数据, 利用粗糙集和信息熵理论, 建立四物汤的多方博弈, 并应用于三种常见配比的四物汤药效分析, 应用反应函数法, 得到《太平惠民和剂局方》中记载的四物汤配比是实验中两个靶点最优、其余靶点次优的最佳配伍之一; 基于反向分子对接对四物汤的作用机制进行预测并筛选了部分作用靶标。继而, 采用活性检测指导下的导向分离研究, 比较并选择最强活性成分进行追踪, 使物质分离和活性分离同步进行, 发现四物汤补血的有效物质基础为多糖、芍药苷、阿魏酸、川芎嗪等, 在此基础上确定了四物汤有效成分组方, 并首次揭示了果糖和芍药苷的补血活性。基于 UPLC Q-TOF MS 等技术, 对大鼠单剂灌服四物汤浓煎液后血清与未给药大鼠血清进行比较研究, 鉴别了四物汤大鼠灌服后血清中的主要药物相关成分。结果表明, 四物汤药后血清中可以检测到阿魏酸硫酸酯、芍药苷亚硫酸酯、芍药苷、芍药

内酯苷等成分。最后采用造血相关细胞因子基因芯片, 考察了四物汤及其有效部位对血虚证造血相关基因的作用, 结果表明四物汤主要通过调节细胞因子, 提升正向造血调控因子和免疫因子表达, 抑制负向调控因子表达, 促进造血调控相关的信号转导因子分泌, 影响整个造血调控网络, IL-17 和 IL-4R 可能是新发现的四物汤作用靶点。四物汤的差异蛋白表达谱分析表明血虚证相关蛋白质群在血虚证状态时发生变化而失去平衡, 四物汤的干预可使紊乱的证相关蛋白质群恢复平衡, 四物汤主要影响造血细胞的增殖、分化、迁移、凋亡等相关蛋白。基于核磁共振(NMR)的代谢组学研究结果表明四物汤的作用可能与改善线粒体功能, 纠正脂肪酸 β 氧化功能紊乱; 稳定细胞膜, 维持细胞内外渗透压平衡; 调节糖酵解, 促进机体正常能量代谢以及增强机体抗氧化能力、免疫力有关^[3]。芍药苷、阿魏酸、川芎嗪、果糖是四物汤作用的药效物质基础, 在四物汤作用的系统生物学分析基础上, 进而采用生化分析, 免疫组化, ELISA, Western 杂交, RT-PCR, EMSA, 小分子阻断等技术分析四物汤成分与作用靶点之间的对应关系。阿魏酸通过影响 PI3K 和 ERK 信号通路进而激活 Nrf2 的表达及向核内的转录从而发挥抗氧化活性, 通过 ERK 信号通路影响 Bcl-2, Bax, caspase-3 等凋亡相关分子; 芍药苷、阿魏酸可以通过阻断 JNK 信号通路抑制辐射引起的 ICAM-1, VCAM-1 等黏附分子的表达; 川芎嗪、阿魏酸可以通过 STAT 信号通路影响 G-CSF, Epo 的水平, 从而改善造血微环境。此外, 研究中还创建了中药复方差异活性筛选的技术平台, 为中药复方配伍规律、多靶点整合调节作用机制和药效物质筛选等研究提供了技术支撑。所建立的方证结合的研究模式, 将血虚证与四物汤等复方有机地结合起来, 从方证到理法的逆向辨证探求方剂与证候间的内在联系, 体现了中医药方证结合研究的特色和优势^[4]。

1.2 中药单味药和活性成分研究

1.2.1 中药来源活性多糖结构与功能的研究

根据目前报道, 来源于中药的多糖已超过 100 种。研究发现, 多糖对免疫系统、凝血及造血系统、神经系统和内分泌系统等都有不同的影响^[5-9], 其中调节机体的免疫功能是绝大多数多糖的主要药理作用之一。虽然多糖的免疫调节靶细胞、靶细胞多糖作用位点及胞内信号通路研究已经有一定程度的报道, 但

是相对于化药、生物药的研究程度而言, 仍然处于起步阶段. 其主要原因一方面可能是由于多糖化学研究难度较大, 包括分离提取获得均一多糖的技术难度大、质量控制困难、多糖在溶液中的空间结构很复杂等; 另一方面可能与多糖的生物学效应极为复杂有关, 包括因其结构复杂带来的生物效应的复杂, 多糖作用特异性不强以及分子机制研究不深入等. 但毋庸置疑, 多糖作为生命的“第三链”, 不论在对机体生理功能的调节方面还是在病理状态的改善方面均可能发挥重要作用, 因此对其结构、功能及结构功能关系进行深入基础研究具有重要科学意义和应用价值.

早在 20 世纪 70 年代末, 毒物药物研究所科研人员就在周金黄教授的领导下, 开展了中药黄芪、淫羊藿、枸杞子、女贞子、地黄、首乌等多糖以及地黄寡糖、巴戟天寡糖的免疫药理作用研究, 阐释了其免疫药理作用的主要特点及机理. 近年来针对枸杞多糖和六味地黄汤来源酸性多糖结构与功能的关系开展了全面深入地研究. 通过与化学研究密切合作, 获得了多个不同结构特征的均一多糖, 然后针对多糖作用的靶细胞、细胞结合位点、活化淋巴细胞的离子通道位点、跨膜信号转导途径、药代动力学等进行了深入研究, 基本确定了其作用的主要靶细胞、与细胞的结合方式、作用位点, 阐述了活化淋巴细胞的跨膜信号的转导途径等, 对多糖结构与功能的关系有了更为深入地认识.

(1) 枸杞多糖. 枸杞子是一种重要的补益类中草药, 具有“滋阴补血、益精明目”之功效, 现代医学发现它的主要活性成分是枸杞多糖-蛋白复合物 (*Lycium barbarum* L. polysaccharide-protein complex, LBP)^[10], 具有免疫调节、抗肿瘤、抗疲劳、抗氧化应急及调节血糖等多种作用^[11].

毒物药物研究所科研人员通过与化学研究密切合作, 以活性为导向, 将 LBP 分为 LBPF1, LBPF2, LBPF3, LBPF4 和 LBPF5 几个部分. 该课题组在前期研究发现 LBPF4 免疫调节活性较强的基础上, 将 LBPF4 作为重点研究对象, 采用酶解法又把 LBPF4 中的蛋白成分去掉, 得到了多糖 LBPF4-OL. 采用高效凝胶渗透色谱法 (HPGPC) 观察 LBPF4-OL 糖链的均一性, 结果为单一对称峰, 表明所获得的 LBPF4-OL 是均一多糖. 免疫活性研究表明 LBPF4-OL 免疫刺激活性强度与 LBPF4 相近^[12]. 化学研究发现, LBPF4-OL

由 3 种单糖组成, 即鼠李糖、阿拉伯糖和半乳糖 (摩尔比为 0.05:1.33:1.0), 元素分析结果为 C: 39.06%, H: 5.73%, 不含 N. 用甲基化、部分酸水解及 NMR 技术确定了糖链主要结构, 结果表明, LBPF4-OL 主链重复单元为 β -(1,4) 连接的半乳糖, 主链上分别有不同的分支, 分支糖包括少量 β -(1,3) 半乳糖和大量的阿拉伯糖, 末端糖均为阿拉伯糖^[13].

LBPF4-OL 的作用靶细胞研究表明, LBPF4-OL 对脾细胞中 T 和 B 细胞增殖无直接影响, 但可在巨噬细胞或 LPS 存在时促进 B 细胞增殖, 并且明显诱导巨噬细胞型细胞因子 TNF- α 等释放. LBPF4-OL 体内给药也表明, LBPF4-OL 能明显增加 CD11b⁺CD86⁺ 细胞及 CD11b⁺I-A/I-E⁺ 细胞的数量, 活化巨噬细胞并增强其抗原递呈能力. 以上结果提示 B 淋巴细胞和巨噬细胞是其主要的免疫调节靶细胞.

此外, 多糖的生物活性与化学修饰, 以及多糖分子量的大小、聚合度、溶液中的高级构象改变等因素有关. 恰当的化学修饰会增强多糖活性, 反之还会使多糖活性丧失, 而分子量太大或太小也会影响多糖活性, 并且许多多糖的活性依赖于一定的分支度 (degree of branch, DB). LBPF4-OL 去除支链后及经酸裂解变为低聚寡糖后活性消失, 说明保留结构中的支链并维持一定的聚合度是 LBPF4-OL 活性所必需的.

(2) 六味地黄多糖 CA4-3. CA4-3 是毒物药物研究所科研人员在活性评价的导向下, 从中药经典方剂六味地黄汤 (LW) 中逐步分离获得的具有免疫调节活性和学习记忆改善作用的活性多糖. 在从 LW 汤剂中逐步分离的免疫活性部位 CA4 的基础上, 又进一步从中纯化得到酸性多糖 CA4-3. CA4-3 结构已基本阐明, 由半乳糖醛酸等组成, 杂质极少 (0.03%). 分子量为 30 kD 左右, 可在小肠上段以大分子的形式吸收, 在体内可能以大分子或原形的形式发挥作用^[14]. 药理学研究发现, 口服给予 CA4-3 可改善 AD 模式动物快速老化模型小鼠 (senescence accelerated mice, SAM) 学习记忆功能障碍, 促进阈下刺激大鼠海马齿状回颗粒细胞层长时程增强效应 (long-term potentiation, LTP) 的诱生, 是 LW 发挥益智作用的活性物质^[15]. 而且 CA4-3 对 LPS 诱导小胶质细胞炎性细胞因子分泌具有抑制作用, 这一作用与降低 NF- κ B 的表达和 p38MAPK 的磷酸化水平有关, 提示 CA4-3 可能通过调节天然免疫反应进而调节机体的学习记忆功能. 此外, CA4-3 具有拮抗应激损伤的作

用. CA4-3 对皮质酮所致 LTP 损伤有改善作用, 能明显对抗皮质酮抑制脾细胞增殖和减少细胞因子分泌的效应.

1.2.2 中药来源皂苷类物质结构与功能的研究

放射与辐射医学研究所科研人员对于中药复杂体系(单味药提取物及中药复方), 利用传统植化分离纯化手段, 结合药理筛选进行活性部位和成分研究, 并进行活性部位组成成分的表征及快速鉴定. 针对主要含甾体皂苷的一系列中药材, 如知母、重楼、黄精、麦冬等, 和临床疗效肯定的中药成药, 如地奥心血康胶囊、云南白药等, 进行化学成分系统分离纯化和结构鉴定, 共分离鉴定了 326 个单体化合物, 包括皂苷类化合物 251 个, 其中 78 个是新化合物. 形成了一套甾体皂苷类化合物快速分离纯化、结构鉴定的研究策略和方法, 对多糖基皂苷形成了利用 1D TOCSY, HSQC-TOCSY 等谱为主要手段进行碳、氢信号全归属的方法, 从而实现确切的结构鉴定. 建立了体外生物转化平台, 利用微生物和酶, 实现了甾体皂苷的糖基选择性水解、糖基化、羟化及异构化, 如利用商品化酶成功将淫羊藿苷转化为淫羊藿素和一系列衍生物, 并已可将淫羊藿苷完全转化为淫羊藿素, 用于淫羊藿素的开发. 通过对分离纯化及生物转化制备的一系列甾体皂苷的活性筛选及构效关系研究, 首次发现中药甾体皂苷具有显著上调胆碱能 N 受体数量、改善脑循环、防治老年性痴呆等作用; 确定呋甾皂苷单体化合物“9714”作为抗痴呆药物研究开发的目标化合物, 目前已完成新药临床前研究. 此项目已申请 4 个系列专利, 已授权国内外专利 16 项, 有望开发为作用于胆碱能 N 受体的新型抗痴呆药物. 此外, 进行了中药活性部位组成成分的表征及快速鉴定, 如利用 UPLC-MS 及离子淌度技术, 对比分析了黄精炮制前后化学成分的变化, 揭示了炮制后明显增加的是螺甾皂苷和一些生物碱类成分. 从重楼提取物的 UPLC-MS^E 指纹图谱上快速分析鉴定了 93 个化合物的结构, 其中 40 个可能为新化合物. 利用 UPLC/Q-TOF MS^E 对中成药芪苈强心胶囊的成分进行表征, 并鉴定了 40 个化合物, 归属了各化合物的组成药味来源; 对莲花清瘟胶囊, 在组成成分表征和主要成分鉴定的基础上, 还利用 UPLC-MS 指纹图谱进行不同批次成药质量一致性的分析.

1.3 中药研究的新技术和新方法

1.3.1 “组学”技术应用于中药药理研究

人类基因组计划的实施和完成, 催生了一大批新生物技术, 如基因组、蛋白质组及代谢组学技术, 为中医理论研究、中药复杂物质基础及作用机理研究提供了新的平台及切入点. 中药由于其成分复杂, 作用环节和靶点的网络化也比较广泛和复杂, 且多种成分间可能存在协同作用, 使生物活性研究难以准确的全面覆盖. 中药进入体内发挥作用的基本环节是药物分子与生命分子之间的直接或间接的相互作用, 从而引起从遗传信息到整体功能实现中的分子、细胞、器官、整体多个层面的结构与功能状态的改变, 而决定这些层面的结构与功能的基础是基因, 其直接的决定因素主要是蛋白质. 因此, 以基因(蛋白质)表达为指标, 以基因(蛋白质)调控改变和功能修饰为研究方向, 进行中药复方的多环节、多靶点调整作用的研究, 为阐释中药复方的作用机理提供了新的策略和手段. 我院在这一研究领域取得的主要进展如下:

(1) 按照“从基因功能到药物发现”的研究思路, 通过抑制消减杂交、DNA 芯片等基因组学方法, 以快速老化模型小鼠为研究对象, 在筛选老年性痴呆(AD)致病基因并开展基因功能研究的基础上, 研究功能主治不同但均应用于 AD 治疗的多种中药复方的药物反应基因群和蛋白群, 发展基于致病基因调控通路和网络的药物研究, 为深入研究中枢学习记忆功能的调控机制以及揭示神经退行性疾病发生的分子机理提供了新的线索, 并从基因层次探索了中药复方及其活性成分的作用机理.

(2) 采用中药化学组和蛋白质组技术考察了四物汤对射线诱发血虚证小鼠血清蛋白质改变的影响, 研究该药治疗血虚证的物质基础和分子作用机理, 获得了四物汤 6 种提取部位的化学组成的信息, 发现芍药苷是四物汤的重要补血成分; 发现四物汤通过调节细胞因子, 提升正向造血调控因子和免疫因子表达, 抑制负向调控因子表达, 促进造血调控相关的信号转导因子分泌, 影响整个造血调控网络^[2].

(3) 采用蛋白质组学手段, 比较滋补肾阴的六味地黄汤和滋补肾阳的八味地黄汤对血清、下丘脑、垂体、肾上腺和海马反应蛋白的异同, 从功能蛋白角度分析两方的作用特点和异同. 同时, 应用基于核磁

共振技术的代谢组学方法, 研究比较了六味地黄汤、三补组分和三泻组分对 SAM 尿液代谢物的作用. 结果表明, SAMP8 体内糖代谢、蛋白质和氨基酸代谢、能量代谢以及脂代谢出现了明显紊乱, 六味地黄汤全方及各组分可通过不同环节, 不同程度地改善 SAMP8 代谢的紊乱. 六味地黄汤全方、三补和三泻组分既有相同的作用又有各自特异的作用, 三补和三泻组分通过相互协同或相互制约, 产生了综合作用, 体现了六味地黄汤配伍高度的科学内涵. 该研究从代谢物变化的角度研究了六味地黄汤的配伍规律, 为深入研究并最终揭示其配伍规律提供了线索和依据^[16].

(4) 通过考察复方丹参方对心血管疾病蛋白质组和基因组的影响, 筛选出复方丹参方及其有效单体抗动脉粥样硬化的作用靶蛋白和靶基因, 构建了其药理作用“化学成分—作用靶标”网络图.

1.3.2 现代化学分离分析技术应用于先导化合物的发现与研究

中药化学研究, 包括中药和天然产物活性成分的提取分离、结构鉴定、化学合成及结构改造等方面, 是中药现代研究中的一个重要组成部分, 为揭示传统中药的药效物质基础和作用原理, 实现中药的规范化、标准化, 提供了强有力的技术支持. 随着化学分离、分析和制备理论和技术的迅速发展, CO₂ 超临界萃取、色谱-质谱联用、高效逆流色谱、超微量结构分析等新技术被应用于中药活性物质的研究, 对中药现代研究产生了重要影响, 发挥了极大的推动作用. 通过高效液相色谱与质谱、核磁共振、活性筛选装置的联用, 实现了微量中药活性成分的快速分离、鉴定和活性评价, 极大地加快了发现新天然活性物质的速度. 近年我院陆续发现了具有抗病毒、抗抑郁、免疫抑制、镇痛、抗老年性痴呆等药效活性的多个新化合物. 举例如下:

(1) 从多种中药和上市中成药中进行了一系列甾体皂苷单体化合物的分离纯化、结构鉴定, 并进行了生物转化和化学修饰研究, 同时系统筛选和评价了甾体皂苷的抗痴呆、抗癌及心血管相关活性, 发现了一些具有较强活性和作用特点的甾体皂苷.

(2) 从中药中分离获得了具有良好抗乙型肝炎病毒和抗 HIV 作用、并对多种原因引起的肝损伤有显著保护作用的活性成分, 已申请国内外专利多项.

(3) 对繁缕的主要活性成分进行了分析和研究, 在确定主要成分为黄酮碳苷的基础上, 研究了活性部位的质量控制指标, 进行工艺优化, 并申报了国家发明专利.

(4) 从紫杉属植物中分离得到 11 个紫杉烷类化合物, 同时发现, 分子中不具有以往认为决定紫杉醇抗癌活性的化学基团的化合物也有较好的抗肿瘤活性.

(5) 用电喷雾-串联质谱(ESI-MS/MS)及冷喷雾质谱(CSI-MS)技术, 探讨了黄连与黄芩共煎产生沉淀物的组成和沉淀形式, 其主要组成为黄连碱、小檗碱、巴马亭, 黄芩苷和汉黄芩苷.

新的分离分析技术的不断发展和推出对中药的研究方法、领域和深度等都带来了巨大的改变, 但同时需注意各种分离分析技术本身的局限性, 应该注意把各种分离分析手段灵活运用、互相补充, 并与经典分离方法有机而理性地结合.

1.4 中药指纹图谱与中药质量控制

由于中药成分十分复杂, 很难把质量控制建立在研究清楚每个内含成分的基础上, 因此要求在尚不清楚全体化学成分的情况下, 实现对物质群整体的控制, 而现代色谱、光谱、波谱、质谱等仪器分析所得物质群的指纹图谱组, 提供了技术可行性. 中药指纹图谱包括各类色谱、光谱以及 DNA 谱, 具有整体、宏观和模糊分析等特点, 可以适应于中医药传统理论和现代研究的需要. 虽然对图谱中每个特定峰的成分并不了解, 但仍可以判断物质群归属性和一致性. 这样不仅可以定性鉴别, 还可以进行半定量分析. 随着对指纹图谱的深入研究, 将逐步建立其与中药有效性的相关性, 即“谱效关系”. 目前国内外已经广泛开展了指纹图谱在中药品种鉴定、质量控制以及谱效关系的应用研究.

在建立六味地黄汤的化学指纹图谱研究中, 鉴于六味地黄汤为水煎剂, 主要含有极性较大的水溶性成分, 成分复杂, 各类化合物的理化性质相差悬殊, 因此选择具有代表性的中等极性的小分子化合物糖苷类化合物部位进行指纹图谱研究, 建立六味地黄方的化学指纹图谱, 并选择了销售量较大的多种六味地黄产品进行指纹图谱分析, 对中药指纹图谱在质量控制方面的可行性和实用性进行了探索.

1.5 中药新药研究

中药新药研究最主要的成绩是建院初期抗疟药青蒿素的研究和发现。“九五”以来,尤其是1998年11月我国正式加入WTO后,充分发挥我国传统医药优势,加速创新中药研制的进程受到我国政府和医药研究机构的进一步高度重视。我院在中药应用基础研究中,不断发现新线索,为创制中药新药奠定了基础。

(1) 在对中药经典复方六味地黄汤药理作用、物质基础和作用机理深入研究的基础上,开发研究了既保留原方特点又服用方便、成分清楚的新型现代中药“六味地黄苷糖片”,目前已获得SFDA的临床研究批件,正在开展临床研究。

(2) 在抗抑郁药物研究中,以受体竞争实验为导向,从无毒棉花籽中追踪分离得到了具有抗抑郁抗焦虑作用的单体化合物CTN986,已申请3项国家发明专利和PCT专利,具有开发一类新药的前景。此外,毒物药物研究所在多种动物及离体实验模型中研究发现中药巴戟天的寡糖提取物具有抗抑郁作用,并证明其活性成份为菊淀粉型寡糖,其不但在多种动物模型上显示抗应激、抗抑郁作用,而且具有增强免疫的效应。2005年巴戟天寡糖作为中药五类新药获得临床批件,目前已完成三期临床实验,证实它具有显著的抗抑郁疗效,目前即将上市。

(3) 抗病毒新药二咖啡酰奎尼酸具有作用强而持久、毒性小的特点,特别是其对HIV整合酶具有特异的抑制作用,为新结构类型的抗HBV及HIV化合物,已进入临床研究。

(4) 抗痴呆中药新药甾体皂苷单体化合物9714

的临床前研究已近完成,有望成为具有我国自主知识产权、安全有效的新型抗痴呆药物。

(5) 通过药物筛选获得具有抗血栓形成作用的某中药总皂苷部位(TSA),其中单体化合物呋甾皂苷II和螺甾皂苷III是TSA的主要活性成分,二者作用靶点不同,以一定比例组方,可达到多靶点抑制血栓形成的效果,已开展新药临床前研究。

2 展望

几十年的中药研究实践说明,中药的现代化和科学发展必须充分继承和发挥中医药特色和优势,以创新为核心,吸纳多种现代先进科学技术,包括信息技术、生物技术及植物药研发技术等先进技术手段,加强理论创新、技术创新及产品创新,加快创新平台建设,在创新中发展,在发展中创新。

生物科学、基因工程、纳米技术等新成果不断涌现,中医药学与自然科学的交融已成为历史的必然。系统生物学、复杂性科学等理论和理念也逐步融入中药现代化研究的进程中,为中药的腾飞提供了前所未有的历史机遇。《中药现代化发展纲要》明确指出,在中药基础理论研究中应加强多学科交叉配合,深入进行中药药效物质基础、作用机理、方剂配伍规律等研究,积极开展中药基因组学、蛋白组学等的研究。同时,应重视中医药基础理论的研究与创新,特别是与中药现代化发展密切相关的理论研究,如证候理论、组方理论、药性理论,探索其科学内涵,为中药现代化提供发展源泉。

参考文献

- 1 张永祥, 赵毅民. 六味地黄汤现代药理学与化学研究. 北京: 科学出版社, 2006
- 2 高月, 杨明会, 马百平. 四物汤现代研究与应用. 北京: 人民卫生出版社, 2011
- 3 霍超, 马增春, 王穆, 等. 综合放血法所致血虚证小鼠模型及四物汤反证的代谢组学研究. 中国中药杂志, 2010, 23: 3194-3198
- 4 高月, 马增春, 梁乾德, 等. 四物汤的方证结合研究. 世界科学技术——中医药现代化, 2010, 12: 211-216
- 5 Zhu J, Zhao L H, Zhao X P, et al. Lycium barbarum polysaccharides regulate phenotypic and functional maturation of murine dendritic cells. Cell Biol Intl, 2007, 31: 615-619
- 6 Pangestuti R, Kim S K. Neuroprotective properties of chitosan and its derivatives. Mar Drugs, 2010, 8: 2117-2128
- 7 Da Silveira Cruz-Machado S, Carvalho-Sousa C E, Tamura E K, et al. TLR4 and CD14 receptors expressed in rat pineal gland trigger NFκB pathway. J Pineal Res, 2010, 49: 183-192
- 8 Chang R C, So K F. Use of Anti-aging herbal medicine, *Lycium barbarum*, against aging-associated diseases. What do we know so far? Cell Mol Neurobiol, 2008, 28: 643-652
- 9 Lu G, Zhang S H, Yang X L, et al. Immunomodulation and antitumor activity by a polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum*. Int Immunopharmacol, 2004, 4: 563-569

- 10 Luo Q, Cai Y, Yan J, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sci*, 2004, 76: 137–149
- 11 齐春会, 张永祥, 赵修南, 等. 枸杞粗多糖的免疫活性. *中国药理学与毒理学杂志*, 2001, 15: 180–184
- 12 齐春会, 黄琳娟, 张永祥, 等. 枸杞糖缀合物及糖链的化学结构与免疫活性. *中国药理学与毒理学杂志*, 2001, 15: 185–90
- 13 黄琳娟, 田庚元, 齐春会, 等. 枸杞子糖缀合物 LbGP4 糖链的结构及其免疫活性的研究. *高等学校化学学报*, 2001, 22: 407–11
- 14 郑年新, 阮金秀, 张永祥, 等. 六味地黄多糖在小鼠体内的吸收. *中国药理学通报*, 2000, 16: 403–405
- 15 周建政, 张永祥, 周金黄. 六味地黄汤对快速老化模型小鼠(SAM)学习记忆能力的改善作用. *中国实验方剂学杂志*, 1999, 5: 29–33
- 16 蒋宁, 周文霞, 张永祥. 快速老化模型小鼠血清蛋白质组学分析比较. *高等学校化学学报*, 2006, 27: 1–4