

·学科进展与展望·

# 我国中药资源基础研究的现状与热点

刘 屏<sup>1</sup> 王昌恩<sup>2</sup>

(1 中国人民解放军总医院药材处,北京 100853;

2 国家自然科学基金委员会生命科学部,北京 100085)

**[摘 要]** 本文总结近5年(1999—2003年)国家自然科学基金资助中药资源基础研究的情况,并主要介绍植物遗传基因和生态环境影响药用成分的研究、植物次生代谢产物的生物合成调控研究、生物技术对中药材育种、评价和鉴定研究、太空环境对中药的遗传效应及变异机理研究、转基因药用植物研究等方面的基础研究进展。

**[关键词]** 中药资源,基础研究

据统计,目前治疗用药的一半是来自天然产物或经天然产物改造而得,我国的新药研究正在加速实现由“仿制”向“创新”的重大转变,许多中药(天然产物)具有新颖的化学结构和独特的生物活性,为我国新药的发现提供了广阔前景。中药是中医防病治病的物质基础,中药资源是创新药物的源头和基础的基础,国家在“七五”、“八五”、“九五”、“十五”期间及“攀登”计划都给予了支持。而中药资源作为一个独立的学科分支,在国家自然科学基金资助的中药基础研究中占有重要的地位,本文总结国家自然科学基金委员会(以下简称自然科学基金会)近5年(1999—2003年)对中药资源研究的资助情况。

## 1 概 况

自1983年起,国家组织全国的中药研究力量对全国的中药资源进行了艰苦的普查工作,查明我国现有的药物资源种类达12 807种,其中药用植物11 146种,药用动物1 581种,药用矿物80种<sup>[1]</sup>。从理论上讲,我国地域辽阔,天然药用资源丰富,但近年来由于各种原因造成我国中药资源遭受极大破坏,资源状况迅速恶化,一方面传统的贵重药材、地道药材资源剧减,如冬虫夏草、川贝、川黄连在市场上几乎绝迹,另一方面大量的伪劣药材充斥市场,给人民的健康带来严重危害。人们越来越认识到中药是一种有限的、不可再生的资源,亦越来越重视药用

资源的保护和中药与天然药物的可持续利用研究。国家在全国很多地区建立了自然保护区,同时在有条件的部门,投入大量的资金,建立中药与天然药物种质库,以利于中药与天然药物的保护<sup>[2]</sup>。

自然科学基金会在1999—2003年5年间,共受理有关中药资源保护和利用的申请项目129项,其中有17项(包括重点项目1项,国家杰出青年科学基金项目1项)得到资助,资助率约13.2%;投入资金447万元,面上项目的资助强度从1999年的10.25万元/项增至2003年19万元/项;承担中药资源基础研究项目的单位主要有中国医学科学院药用植物研究所、中国科学院植物研究所、解放军第一、第二军医大学、北京中医药大学、上海交通大学、复旦大学、南京农业大学、浙江林学院、江西中医学院、重庆中药研究院等。

## 2 研究进展

国家自然科学基金所资助有关中药资源项目的研究思路和研究内容非常丰富,大多数项目采用了物种生物学、遗传学、分子生物学、中药化学等多学科综合手段,针对目前濒危、奇缺、珍稀的中药和药用植物资源的保护、优化再生和可持续利用等领域进行了大量的研究工作,主要在以下几个方面进行了研究。

本文于2003年11月24日收到。

## 2.1 药用成分地理变异的基因和环境机制的研究

大量的研究工作肯定了植物遗传基因和生态环境对其药用成分含量的作用,药用成分含量的地理变异是生物基因型与环境之间相互作用的产物,药用成分含量的地理变异,从空间格局角度反映了道地药材的质量。在生物科学研究中,采用多地点多品种对比实验,可以量化区分植物基因和环境对其形态特征或生长量的作用,同时还可以比较品种间的优劣。即将不同品种(或地理种群或变异类型)种植在数个不同生态环境(不同地区)下测试,对观测数据进行特定的数学分析就可达到上述目的。但此研究技术尚未用于研究植物药用成分的地理变异方面<sup>[3]</sup>。

20世纪80年代末的调研表明,中国以甘草为建群种的群落面积比建国初期减少了50%,野生甘草的大量挖采,不仅引起了资源危机,还导致了草场破坏、土地沙化等严重的生态环境问题。发展甘草人工种植业已经成为解决甘草社会需求,维护生态环境的一项重要措施。但由于生态环境等因素的影响,目前人工培植的甘草普遍存在甘草酸偏低等质量问题,甘草酸含量一般在2%以下,达不到《药典》标准,而野生甘草的含量基本在3%以上<sup>[4]</sup>。

2001年资助的对甘草药用成分地理变异的基因和环境机制的研究项目,采用了对甘草的自然变异类型的多点对比实验,即以所收集的8个地区的乌拉尔甘草种群的自然变异类型为材料,通过在不同地区布置的对比实验,研究甘草药用成分含量地理变异的遗传基因和生态环境机制,基因和环境对药用成分积累的量化作用及其相互作用所产生的量化饰变效果。这可为研究药材质量形成的机制,为培育优良栽培品种,为培植高质量的栽培药材奠定理论和技术基础。

1999年资助的地区基金项目“江西道地药材车前营养生理与优质高产栽培技术的研究”即是通过车前生长发育规律、营养代谢重量和当地土壤类型、肥料种类和数量、种源、播种期、种植密度、病虫害等因子对车前产量和质量影响的研究,阐明车前高产优质栽培原理及其调控机理,制定一套较为完善的规范化栽培技术,对发展车前生产,保障车前临床疗效,建立优质高产生产基地,促进中药材生产管理规范化的进程都具有重要意义和广阔的应用前景。项目对道地药材形成机制的研究,对药用植物种质资源质量的研究,对优良品种的选育,对制定有效的栽培技术措施,以及对中药资源的可持续利用

和中药现代化都具有重要的理论价值和实际意义。

## 2.2 对植物次生代谢产物生物合成的分子调控研究

目前,全世界已对1000种植物进行过细胞培养的研究,生物技术在近年来的飞速发展,将给传统中药产业带来巨大变革,分子克隆和基因工程等高科技正成为解决中药资源问题的有效途径。青蒿素是我国学者在20世纪70年代初从中药青蒿分离得到的抗疟有效单体,是含有过氧基团的新型倍半萜内酯化合物,是唯一由我国科学家自主研发并在国际上注册的药品,是目前世界上唯一有效的治疗脑型疟疾和抗氯喹恶性疟疾的药物。

世界上青蒿素药物的生产主要是从青蒿植株中直接提取,虽然青蒿分布很广,但未能解决资源问题。未来国际市场的竞争关键仍是青蒿素的资源问题。其原因:1是天然青蒿中青蒿素含量过低,2是青蒿素生物合成高峰期在植株花蕾形成之际,故人们常在青蒿开花结实之前采收青蒿,这样势必造成天然资源的日趋贫乏,青蒿通常具自交不亲和性不同基因型间又具有DNA的多态型,故很难获得遗传稳定的高产株系,尽管青蒿素化学合成已经成功,但由于工艺流程复杂,成本太高而不能大量生产;此外,由于青蒿素合成与细胞高度分化密切相关,在细胞培养物种未能检测到青蒿素,因而采用生物技术手段工业化生产青蒿素也非常困难;目前国内外调控青蒿素生物合成的技术措施研究还难以打破青蒿素生物合成的限速步骤。

青蒿素是由类异戊二烯次生代谢途径形成的一种倍半萜类次生代谢物,法呢基焦磷酸(FPP)、倍半萜环化酶是该途径的限速酶,利用现代分子生物学和基因技术手段,克隆青蒿法呢基焦磷酸合酶编码基因,研究转同源法呢基焦磷酸合酶基因对青蒿素生物合成的调控规律,是打破青蒿素生物合成的限速步骤,大幅度提高青蒿素含量,最终达到利用植物生物技术工业化生产青蒿素必须解决的关键问题。另外的研究还表明,抑制鲨烯合酶可使原来属于甾体生物合成途径的碳流转向倍半萜类生物合成途径,从而增加倍半萜类生物类代谢途径的流量,进而达到增加青蒿素等倍半萜类化合物含量的目的<sup>[5]</sup>。

2001年资助的“青蒿法呢基焦磷酸合酶基因的克隆、功能和遗传转化研究”项目,即是克隆法呢基焦磷酸合酶基因,建立该基因在植物中的高效表达载体,并用农杆菌介导的方法导入青蒿植株中,以促进该基因的表达,筛选高效表达株系,阐明该基因对

青蒿素生物合成的调控作用。

2003年所资助的“青蒿 FPS 基因的克隆、功能和遗传转化研究青蒿鲨烯合酶基因的克隆及其表达抑制对青蒿素生物合成的调控”的项目,即是克隆青蒿中的鲨烯合酶基因,通过基因工程手段抑制青蒿中鲨烯合酶基因的表达,研究该基因表达抑制对青蒿素生物合成的调控作用,最终获得转基因青蒿高产植株,该项目可为青蒿素生物合成调控的研究提供一条新的思路。

1994—2003年以来,中国科学院植物研究所有关青蒿素生物合成调控研究的项目已获得国家自然科学基金的4次资助。

### 2.3 采用分子标记技术对中药材选育优良品种、质量评价和鉴定

传统上主要应用形态标记和生理生化标记作为遗传标记,可以反映生物体和群体的特征,但它们大多数都不能用简便方法分析,而且容易受到环境影响。分子标记技术的出现使得人们能够从整个基因组范围内研究和利用各类遗传资源。它的飞速发展促进了物种的鉴定、保存、利用及各种生物遗传图谱的构建,可以提供基因组各基因间相互作用的全面信息,可以观察到群体内和群体间由于位点间相互作用而引起的变异分化。分子标记在基础理论、遗传育种和物种进化等方面都显示出重要的应用价值。筛选动植物重要形状的 DNA 分子标记,进行标记选择,是加快育种进程的一个重要手段,是分子育种的一项重要内容<sup>[6]</sup>。

国家自然科学基金资助了多项这方面的研究项目,例如2002年资助的“应用 AFLP 技术筛选与红花品质相关的分子标记”研究项目,就是采用 HPLC 法结合分群分类策略(BSA),对红花亲本及杂交 F<sub>2</sub> 代植株的品质(黄色素 A 含量)进行综合分析,提示其品质性状的遗传规律;采用 DNA-AFLP、cDNA-AFLP 分子标记技术,构建出 DNA 指纹图谱,筛选出与红花品质相关的分子标记,为探索红花品质形成的基因表达与调控机制奠定基础,为红花新品种的高效选育及药用植物品质的定向调控提供有效途径。

2003年资助的项目“肉苁蓉品质分子标记及优良基因资源保护”,采用 DNA 序列分析技术建立动、植物类药材及其伪、混品的序列数据库,设计具有高特异性的鉴别引物,研究药材 PCR 鉴别反应的标准程序和最佳参数,使之成为具有实用价值的 DNA 分子标记鉴别技术,以提高中药鉴定的水平。

从珍稀、名贵中药入手逐步建立我国特有的中

药材特征性基因库,保护中药材的基因资源,是中药可持续发展以及中药现代化的根本。本项目以肉苁蓉为实验材料,采用 ISSR 分子标记技术,通过对大量的包括不同产地(或栽培地)、寄主、不同品种的样本实验,筛选出与肉苁蓉药材品质相关的基因指纹图谱,建立肉苁蓉的特征性基因指纹图谱库;并筛选出荒漠肉苁蓉、管花肉苁蓉二级保护植物的特征性基因片断。项目可为优良中药材品种保护提供一个基因资源保护的途径,还可为中药材的质量评价、鉴定、优良品种选育奠定基础。

### 2.4 研究空间环境对中药的遗传效应及变异机理,选育优良品种

空间植物育种是一个崭新的学科,亦是空间生命科学的重要组成部分,研究植物在空间的生长条件以及空间条件对植物生长发育和遗传变异的影响,为开拓太空农业、医药业,探索新的育种途径提供新的科学依据。空间提供了地面绝无仅有的失重条件、宇宙射线、高真空、微重力节律变化等空间环境,引起生物发生形态、细胞、生理、生化和遗传变异,出现了某些不能获得的且有利于人类需要的变异<sup>[7]</sup>。

自1957年前苏联发射第一颗人造卫星以来,美、苏、日、欧洲等发达国家先后利用生物卫星、高空气球、空间实验站和空间站等各种空间飞行器,进行了一系列高等植物及微生物的空间实验,如通过“绿洲-1”空间站、“宇宙”号生物卫星、“礼炮”7号空间站、“和平”号空间站、“国际微重力实验室1号”、1167号宇宙飞行器等搭载了小萝卜、大白菜、小麦、燕麦、松树等,并成功获得优质的“空间蔬菜”和“空间种子”,后者在地面上稳定地繁殖。我国空间生物学的研究起步较晚,但进展很快。1987年成功发射两颗返地卫星,分别搭载了小麦、水稻、玉米、绿豆、黄瓜、青椒、油松、甘草等26种植物和药用植物。1994、1996年分别搭载了红花、桔梗等药用植物种子。搭载返回的红花、桔梗经研究发现了它们的抗逆性增强、活性成分提高的品质<sup>[8]</sup>。

灵芝在我国有着悠久的历史,近年来由于过分采挖,野生灵芝越来越少,人工栽培由于菌种退化,导致灵芝产量不稳,质量下降,故亟待进行菌株的选育和优化。2002年资助的项目“飞船搭载的灵芝空间生物学效应及育种研究”正是基于空间提供地面绝无仅有条件,将空间育种技术用于药用真菌的育种。选用灵芝为材料,经1999年11月“神州”号宇宙飞船搭载处理后,2年来对比栽培试验结果

显示有增产效益(搭载菌株比地面增产8%;尤其灵芝孢子粉增产10%;酶带也有明显变化)的菌株,进行形态、产质量性状和生理生化及遗传稳定性等空间生物学效应和育种研究,特别从遗传学角度检测搭载灵芝与地面对照之间细胞水平和分子水平差异,其目的在于通过研究搭载菌株的生物学效应及遗传特性,探明空间环境对灵芝的遗传效应,揭示其变异机理,筛选发生遗传变异的灵芝突变菌株,选育出具有优良形状且遗传稳定的灵芝菌株。

## 2.5 转基因药用植物的研究

从20世纪80年代获得第一株转基因植物到现在,植物基因工程技术发展迅猛,已经成为高新技术领域中进展最快的领域之一。到目前为止,已有大量的基因工程植物从实验室走进了大田,甚至不少转基因植物已成为商品,走进市场。许多不同来源、不同功能的基因被转入植物,获得了抗虫、抗病毒、抗除草剂、利用植物产生异源蛋白以及改变植物质量形状等一系列转基因植物<sup>[9]</sup>。

由于基因工程是一个新领域,目前科学技术还难以完全准确的预测到转基因在受体植物遗传背景中的全部表现,人们对于转基因植物的新组合、新形状以及存在的危险性缺乏足够的预见能力,各国对所获转基因植物的中间试验、环境释放和商品化生产有相应的机构、法规和严格的措施对转基因产品虫实验研究到商品化生产进行安全性评价和监控<sup>[10]</sup>。

我国药用植物的转基因利用才刚刚兴起,与农作物转基因植物一样,面临许多安全性、有效性的问题,对于它们的临床利用需要进行更为严格的管理和检测。经过转基因技术改良的药用植物究竟是否与原植物一样能成为合理使用的药材?其成分、药理、毒理作用是否有变化?这些都是我国药学工作者所关注的焦点问题。自然科学基金会在中药资源的研究领域中,对药用植物的转基因研究项目持谨慎的态度,1999—2003年的5年间,仅资助过一项作为我国为数不多的正在进行研究的转基因药用植物——转基因菘蓝的研究。

菘蓝是我国历代常用中药,其根为板蓝根,叶为大青叶,国内外需求量都很大,在我国南北各地广为栽培。但在栽培过程中鳞翅目昆虫白粉蝶和小菜蛾引起的虫害相当严重,采用农药防治将导致药材板蓝根和大青叶残留一定浓度的农药,严重影响药材质量。2000年资助的“转抗虫基因菘蓝的品质评价”项目,是将具有强杀虫活力的苏云晶杆菌杀虫蛋

白CryIA基因转移到菘蓝基因组,将转与未转抗虫基因菘蓝在同一田块平行种植,在不同时期同时采收其根、叶,进行成分组成及含量的动态变化比较,以期证明菘蓝经转基因后成分组成及含量是否变化;同时进行毒理和药效研究,以确证转抗虫基因菘蓝药材大青叶、板蓝根的安全性和有效性,为今后大田试验、环境释放和商品化提供科学的理论依据,为其它转基因药用植物的应用树立示范作用。

## 2.6 其他

2000年资助的“半夏遗传多样性及其药材质量控制途径的研究”项目,运用物种生物学的研究方法,以形态、生态、细胞、植化及分子生物学等方面的数据综合分析中药物种自然居群的遗传多样性,阐明其各种下单位在植物学和地理学上变异的成因和特点,并依据中医理论,提出筛选优良种质的理论基础和指标。这对半夏(及其他物种)资源的保护、人工更新及传统中药材质量的控制均具有重要意义,同时可为我国正在制定和实施的GAP提供科学依据。

1999年资助的重点项目“种质资源在中药材品质形成中的作用与调控”,是在广泛收集人参、柴胡、板蓝根、浙贝母、元胡、桔梗等中药材种质资源的基础上,利用遗传学、分子生物学、中药化学等多学科的综合手段鉴定和评价中药材种内种质变异和品质差异状况,以此作为进行种质分类、选择和纯化的依据。同时,利用数量遗传学的方法手段研究品质的遗传规律,及品质形成的生态调控机制,为新品种选育和规范化栽培提供理论依据。

此外,从居群和分子水平角度,依靠分子生物学等方法定性定量地研究贵重中药的物种多样性、药性品质差异、其生态遗传变异和药性品质分化规律,为珍贵中药资源的发掘、保护及优化再生和持续利用提供理论依据。

## 3 结 语

我国是生物多样性最丰富的国家之一,但目前正遭受严重的破坏。这将直接威胁药用动、植物的生存和中药业的发展,是关乎中医中药走向兴盛还是走向衰败的大事。应积极宣传保护中药资源、维护生态平衡的积极作用,以及破坏资源的严重后果,强调保护野生药用动、植物资源的重要性和必要性。

自然科学基金会在国家科技发展战略框架体系下,与国家其他的科技计划形成衔接与互补关系,促进我国中医药的基础研究和持续发展能力的提高。

自然科学基金会鼓励广大科学工作者积极关注中药资源的科学研究,开展稀有、濒危种的保护、人工扩繁研究和地道药材质量形成机制的研究;建立稀有、濒危药用物种和主要道地药材物种的种质资源的保护基地、种子库和基因库;同时希望培养一批在中药资源综合评价、中药鉴定学、中药信息学等领域具有影响力和知名度的中青年专家。

### 参 考 文 献

- [1] 果德安,吴镭主编. 我国中药基础研究现状与未来. 2000 药理学前沿与发展方向. 北京:中医药科技出版社, 2000, 117.
- [2] 吴镭,叶鑫生,江虎军. 加强我国重要生物资源的保护和持续利用. 中国科学基金, 2000, 14(6):344—346.
- [3] 黄璐奇,张瑞贤. 道地药材的生物学探讨. 中国药理学杂志, 1997, 32(9):563—566.
- [4] 王文全. 甘草生态学特性及生态环境对其药材质量的影响. 北京林业大学. 博士学位论文.
- [5] Yoshioka H, Yamada N, Doke N. cDNA cloning of sesquiterpene cyclase and squalene synthase, and expression of the genes in potato tuber infected with phytophthora infestans. Plant Cell physiol., 1999, 40: 993—998.
- [6] Quagliaro G, Rubist A. Identification of wild and cultivated sunflower for breeding purposes by AFLP markers. J. Hered 2001, 92 (1):38—42.
- [7] Cowles J, Vose P, Ayel M et al. Seedling growth and development on space shuttle. Adv., Space RES, 1994, 14(11):3—12.
- [8] 高文远. 空间环境对红花等生理状况的影响. 中国中药杂志, 1999, 24(2):7—9.
- [9] 罗伯特. 梅. 基因改良食品:事实、担忧和公众的信心. 生物技术通报, 1999, 19(3):31—33.
- [10] 农业生物基因工程安全性评价有关申报事宜. 生物技术通报, 1999, 19(2):37—43.

## OVERVIEW AND HOTSPOTS OF THE FUNDAMENTAL RESEARCH ON TRADITIONAL CHINESE MEDICINE RESOURCE IN CHINA

Liu Ping<sup>1</sup>      Wang Changen<sup>2</sup>

(1 Department of Medical Material of General Hospital of PLA, Beijing 100853;

2 Department of Life Science, NSFC, Beijing 100085)

**Abstract** The current status of the fundamental research projects on Traditional Chinese Medicine resource supported by National Natural Science Foundation of China from 1999 to 2003 is overviewed in this paper, which focuses mainly on the progress of the following researches: the effects of plant gene and environment on the active components in plants, control on the biosynthesis of secondary metabolizable substance in plants, application of biotechnology to the breeding, evaluation and identification of Chinese medical herb, the effect of space shuttle on the heredity and differentiation of Chinese medicine and the medical plants of gene transfer, etc.

**Key words** the resource of Traditional Chinese Medicine, fundamental research