

天然药物化学发展的历史性变迁

杨秀伟

(北京大学药学院,北京 100083)

[关键词] 天然药物/化学;天然药物/历史;光谱分析;天然药物/分离和提纯

[中图分类号] R93 [文献标识码] A [文章编号] 1671-167X(2004)01-0009-03

生物与环境的相互作用造就了生态系统的平衡。自然选择成为生物进化的动力。人与自然环境的和谐统一,古人称为“天人合一”,这个“统一”也造就人体内的阴阳统一。这两个“统一”一旦失衡,人就要生病。中药和天然药物的作用机制之一就是纠正“失衡”,恢复“平衡”或达成新的“平衡”。在这些过程中,生命对生命、生命对非生命的适应起到了非常积极的重要作用。植物病虫害、动物疾病和人类疾病等使人们自觉和不自觉地采取某些手段恢复这些不正常的状态,药物是其中的手段之一。远古时代,人类就从自然界寻找被称为“药”的一类物质。这种来自天然的“物质”被称之为“天然药物”(natural medicines),并流传下来,无论哪个民族至今还有不少仍在使用。这些天然药物包括来自植物的,如阿片、人参、大黄等;来自动物的,如牛黄、鹿茸、蟾酥、海马等;来自人类的,如紫河车等;来自矿物的,如石膏、朱砂、雄黄等。诞生在古代埃及文化中的生药利用,传入希腊、阿拉伯文化中,嗣后纳入欧洲的近代医药学;诞生在中国和印度的自成体系的传统医药学发展到今天,其药物都属天然药物领域,生命体的内源性活性物质也属于天然药物领域。研究天然药物中的化学物质及其问题的一门学科,称为天然药物化学(natural medicines chemistry)。

公元前,尼罗河(Nile)、底格里斯河(Tigris-Euphrates)、印度河(Indus)和黄河等4大流域的发达文化,在经历了使用天然物质的漫长历史之后,于18世纪末,各种有机酸、甘油等被相继发现;到19世纪初,从阿片中分离吗啡,开创了生药有效成分利用的先河。人们开始尝试了解这些物质的生物活性作用。这些是天然药物化学形成的初期阶段,主要以发现和分离化学成分为特点。如:1769年酒石酸、乳酸、尿酸和甘油酯的分离;1777年将化学划分为无机化学和有机化学;1806年从阿片中分离出吗

啡;1815年发现蔗糖和酒石酸的光学活性;1820年从金鸡纳树皮中分离奎宁(quinine);1826年从血液中分离氯化血红素(hemin);1828年从烟草中分离烟碱(nicotine);1832年从人参中分离胡萝卜素(carotene);1885年从麻黄中分离麻黄碱(ephedrine);1901年获得结晶性肾上腺素(adrenaline);1910年发现维生素B₁(oryzanin);1928年发现青霉素(penicillin)等。吐根碱(emetine)、土的宁(strychnine)、秋水仙碱(colchicine)、小檗碱(berberine)、阿托品(atropine)、可卡因(cocaine)等生物碱也是在19世纪发现的。早在公元281年至341年,晋代葛洪就总结了“炼丹术”,写出“抱朴子”,实为天然药物化学的奠基人。

19世纪末,天然药物化学学科开始真正形成。当化学家从神话世界向现代科学飞跃之时,从天然获得的提取物的真正特性唤起科学家们的的好奇心,他们开始分离、纯化和最终分析生活细胞中产生的化合物。天然化合物的分离极大地促进了纯化技术的飞跃发展,这些纯化技术使微量物质的分离成为可能。结构确定是在结合反应模式和元素分析及降解到已知结构小碎片的条件下进行的。这些较早的工作带来了许多新的、有价值的反应和重排的发现。碎片结构的确定常常是通过精细的化学合成来完成的,全合成十分复杂。从实用和商业上来考虑,常常需要改变实验室的合成过程,由此带来了化学合成技术上的革命。一系列新的合成路线的设计和特异进行的天然化合物的化学合成极大地促进了有机合成的发展。此时期内,天然产物化学家和有机化学家确定了大量天然化合物的结构。但是,较早提出的化合物结构不是十分慎重的,除非通过化学合成方法已合成了这个化合物。另一方面,此时期内也极大地促进了天然化合物生物合成的研究,科学家们根据天然化合物的生物合成路线确定天然化合物

的结构。这一时期天然药物化学最明显的发展就是生物合成物质的识别。天然产物化学家和有机化学家对于已确定的大量天然化合物的结构按照生源、药理活性或结构进行分类,在快速而正确地决定结构过程中,早期的生物信息学起了积极作用。化学家们的创造性和直觉不断地揭示出不同化合物的生物合成途径,如:萜类有共同的合成材料——甲戊二羟的结构单元,生物碱源于 α -氨基酸等。因此,生活细胞合成天然化合物的奥秘被逐渐揭示。不同分类的化合物具有不同的生物合成途径。前体化合物和中间体的鉴定,揭示细胞内酶催化的反应有其离体相互对应的物质,其机制可以通过已知的有机化学反应机制来解释。仿生研究引导出新的、完美的合成过程,生物合成物质不断地被应用于结构确定上,用以修正错误的“非天然结构”。

20世纪是天然药物化学迅速发展和“药味”浓郁的时期,以色谱技术用于天然化合物的分离、纯化,谱学技术渗透到结构鉴定和生物活性试验普遍开展为特点。

1906年俄国植物学家茨维特(Tsweet)使用碳酸钙为吸附剂、石油醚为洗脱剂,通过柱色谱技术研究植物叶的化学成分,得到3种颜色的6个色带,并首次提出了“色谱”概念。此后的20年间,没有人关注这一伟大的发现。1931年德国的Kuhn和Lederer再现了茨维特的某些实验,用氧化铝和碳酸钙分离了 β -、 γ -和 δ -胡萝卜素,从此色谱技术开始得到重视。1940年提出了液-液色谱法。1941年提出用气体代替液体作流动相的可能。由于James和Martin提出了从理论到实践都比较完整的气-液色谱方法而获得1952年的诺贝尔化学奖。继后,毛细管柱气相色谱于1957年问世,树立了现代色谱技术的第一个里程碑。20世纪60年代末出现高效液相色谱法,80年代初出现超临界流体色谱法,90年代出现毛细管区带电泳法。色谱技术将在21世纪的天然药物化学领域发挥其不可替代的重要作用。

1944年,Perkin-Elmer公司生产了世界上第一台红外光谱仪,并于上世纪50年代初开始应用于天然化合物的结构研究,开创了现代谱学技术应用于天然化合物结构研究的第一个里程碑。1952年从蛇根木[*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz]分离出结晶性利血平(reserpine)。其后美国杰出化学家Woodward在他合成的利血平论文中发表30多幅红外光谱图,并评价:“不管反应所得到的混合物纯度多差,或生成预期产物的希望何等渺茫,

如果采用红外光谱对它们做常规检测,往往会为重大的发现提供某些线索,这是其它方法难以胜任的……”。目前,各种型号傅立叶变换红外光谱仪的相继问世,使检测样品量少至微克级。

20世纪初质谱仪诞生,从EI、CI到FAB、ESI、MALDI等软电离技术的出现及后两者与TOF检测的搭配,质谱仪对于测定天然化合物的分子量和分子组成表现出了明显的优势和不可替代性。

从1953年出现第一台30 MHz连续波核磁共振波谱仪(CW-NMR)到上世纪70年代初推出的脉冲傅立叶变换核磁共振波谱仪(PFT-NMR),NMR经历了30、60、90、100、300、400、500、600、800及900 MHz的发展过程,今天已在天然药物化学领域广泛应用。虽然仅50余年历史,但其成就非常惊人,已经两次获得诺贝尔奖。一次是布洛赫(Felix Bloch)因为“发展了核磁精密测量的新方法以及一些有关的发现”与珀塞尔分享1952年度诺贝尔物理学奖,使NMR用于物质结构分析等领域,引发了20世纪70年代波谱仪的革命;另一次是恩斯特(Richard R. Ernst)由于“在高分辨率核磁共振波谱学研究中作出的划时代的贡献”而获1991年度诺贝尔化学奖。由于NMR能够提供有关化学结构及分子动力学的信息,所以已成为分子结构解析的一个有力工具,尤其是现在用多核、多维NMR方法来确定蛋白质、多糖、核酸等的三维空间构象。由于NMR技术在天然产物化学成分结构解析上的应用,使天然药物化学结构研究手段发生了革命性变化。目前,几乎没有一个新的天然化合物的结构确定不是由NMR来完成的。回顾NMR应用历史,正如恩斯特所言:NMR象一棵大树,发展最早和应用最早的领域是在物理学即树根,然后是在化学有机分子结构领域的应用即树干,再后来是枝繁叶茂的生物化学和医学应用。NMR技术使我们取得越来越多的丰硕成果。

目前,气相色谱-傅立叶变换红外光谱联用技术(GC-IR)、气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)、高效液相色谱-傅立叶变换红外光谱联用技术(LC-IR)、高效液相色谱-质谱/质谱联用技术(LC-MS/MS)、高效毛细管电泳与电喷雾电离质谱的在线耦合、高效液相色谱-核磁共振波谱联用技术(LC-NMR)等已在天然药物化学研究中有了不同程度的应用。

进入20世纪,天然药物化学研究的进展越来越依赖于药理学家们的配合,生药中生物活性物质的研

究逐渐成为热点,从单纯的化合物活性研究发展到跟踪分离。早期的活性跟踪分离主要采取了:(1)单项技术、单一靶标筛选。如:用四氧嘧啶性糖尿病大鼠模型筛选生药中抗糖尿病活性成分,用蛙心模型筛选强心活性成分等。(2)单项技术、多靶标筛选。如:采用整体未麻醉大鼠对生药进行多种靶标的筛选,观察中枢神经抑制活性、安定活性、交感神经兴奋活性、副交感神经兴奋活性、周围血管扩张活性、利尿活性、代谢性毒性等。(3)特异性活性筛选。如以多种离体器官为模型的筛选。(4)特异性和多靶标结合的活性筛选。如:对生药进行一般的活性筛选、测定长期给药的作用和试验化学治疗的潜力。尽管靶标在更新,但活性跟踪分离的基本思路是一致的。至 20 世纪 80 年代,随着长期药物研究经验的积累和科技的进步,尤其是分子生物学、分子药理学、分子病理学、微电子技术以及基因组学、蛋白质组学、糖组学的出现和发展,水到渠成地出现了创新药物的高通量筛选 (high throughput screening, HTS) 或大规模集群式筛选。在 HTS 中的 5 个子系统(高容量的样品库、化合物库系统,自动化的操作系统,高灵敏度的检测系统、高效率的数据处理系统、高特异性的药物筛选系统)中,高容量的样品库、化合物库系统非常适合于天然产物。首先,天然产物是人类赖以生存的条件,对人类友好,是朴素药物的来源;其次,天然产物具有生物多样性 (biodiversity, biological diversity),为药物筛选提供了天然的样品库;再次,天然产物具有化学多样性 (chemodiversity),为药物筛选组建了高容量的化合物库,使药物类型、活性、构效关系的研究集约式高度一体化。HTS 引导的天然药物化学研究为天然药物化学学科的发展创造了良好的机遇,尤其对于几世纪

以来用于人体治疗的传统天然药物,可以认为在开始生物活性筛选之前就已经成功地完成了针对各种治疗目的的临床试验。天然产物研究者的主要任务是如何确定、分离和鉴定有用的化学活性成分。

21 世纪将是天然药物化学有史以来发展最快的时期,其主要任务包括:(1)用现代科学技术方法对传统药物进行再评价,使经验实验化、定性和量化,质量标准制定的化学和生物活性“指纹”化。(2)生药基源动物、植物、矿物和近源物种化学成分的研究,并探讨其生物活性(包括有效性和毒性)的差异,开发新的药用资源,走可持续性利用之路。(3)以经验和生物活性为线索,寻找创新药物研究的候选化合物。(4)以天然化合物为工具,探讨生物活性作用靶点,发展新的天然药物筛选模型。(5)以天然化合物为工具药物,服务于疾病的发生和发展机制的探讨。(6)以有生物活性的化合物为工具,指导天然化合物提取、分离和纯化的合理工艺设计。(7)根据天然化合物的亲缘性和生物合成途径及模拟生物酶催化机制,进行仿生合成设计。(8)根据化学物种的进化,从分子水平探讨生物进化。(9)研究天然化合物在动物、人体等的吸收、分布、代谢、排泄和有效性/毒性,进行合理的药物设计。对有用药物代谢酶进行体外异源表达,发展先导化合物结构的体外生物酶优化工艺。(10)充分利用天然手性化合物资源,开展手性药物研究。

总之,20 世纪末和 21 世纪世界科学技术的发展为天然药物化学发展创造了前所未有的机遇,促进了天然药物化学学科发展新的变迁。

(志谢:本文承蒙北京大学药学院天然药物学系赵玉英教授和艾铁民教授审改、润色,并提出宝贵意见,在此深表谢意。)

(2003-10-09 收稿)

(本文编辑:任英慧)

消息 ·

2003 年度北京大学医学部科研工作成绩喜人

北京大学医学部所获科研基金在 2002 年成绩的基础上再次刷新,今年共获批准部级以上项目 183 项,总经费超过 6 300 万元(不完全统计)。其中国家自然科学基金资助项目共 107 项,批准总经费 3 130 万元,项目数比去年又增加了 19 项,经费数比去年增加了 1 386 万元,其中有 6 项重点项目获得批准。

以北京大学医学部为第一完成单位的 SCI 论文共 257 篇,与 2002 年相比增幅超过 28%,244 篇 SCI 研究论文的平均影响因子为 1.982,其中影响因子大于 5.0 的共 19 篇。

在 SRAS 研究工作中取得突出成绩,获得各类专项基金 14 项,共 1 010 万元;承建“中国高校 SARS 攻关网络中心”

已启动运行;7 月 12 至 13 日成功举办 SARS 国际研讨会。

完成科技成果鉴定 38 项、科技成果登记 54 项。获省部级以上科技成果奖 20 项。申报及获得授权各类专利 42 项。

“十五”、“211 工程”建设工作正式启动。流行病学教育部重点实验室获批准立项建设。

2003 年 12 月 1 日,接受国家审计署教育审计局对医学部“教育振兴行动计划”一期建设项目的检查,组织召开医学部“教育振兴行动计划”一期建设项目的工作汇报会,并取得圆满成功;“985”工程二期建设进入论证立项阶段。

2003 年 9 月 22 日,启动“医学部学科发展规划调研”软课题。(北京大学医学部科研处)