

95,20(11)  
643-645

1995/95973X/020/011

·综述·

## 展望分子生物技术在生药学中的应用

黄璐琦

(中国中医研究院中药研究所 北京100710)

643-701  
R 282

**A 摘要** 分析了分子生物学与生药学结合的理论基础,对分子生物学技术在生药学中的应用进行了展望,认为其在药材鉴定、生产和有效成分获取等方面有着广泛的运用前景,提出了分子生药学(Molecular Pharmacognosy)的概念。

**关键词** 分子生物技术 生药学 分子生药学

生药学是研究生药(药材)的一门科学,是研究生药的名称、来源、形态、性状、组织、成分、效用及生产、采制、贮藏等的学科<sup>[1]</sup>;是一门边缘学科,也是一门应用性学科,它的发展是随着其他学科的发展而发展;当今,分子生物技术是生命学科中最重要也是最先进的技术,且已广泛地运用于生命学科各个领域,那么它是否也能在生药学科中得到应用呢?回答是肯定的,生药学的研究对象生药,一般认为是得自生物的药物,兼有生货原药之意,也就是说是由遗传物质 DNA 编码形成的生物,因此它与分子生物学有着结合的物质基础,这种物质基础为分子生物技术在生药学中的运用提供了理论上的依据。本文对分子生物技术在生药学中的应用进行了展望。

### 1 在鉴定方面的应用

我国药材种类繁多,资源丰富,然而来源复杂,品种混淆厉害,目前一直运用经典形态分类来研究药材来源,即鉴定生物物种,这种用形态分类学来划分物种是建立在个体性状描述和宏观观测水平上,得到的结论往往不完善,易引起争论<sup>[2]</sup>,这就使生药的正本清源产生了困难,随着分子生物学和分子克隆技术的发展,现在可以根据遗传物质 DNA 在不同生物个体的差异来鉴别生物物种,如可利用限制性内切酶酶切片段长度多态性(RFLP)来研究品种间、属间的 DNA 的变异情况,从而揭示不同品种间的亲缘关系<sup>[3,4]</sup>,为鉴别药材品种提供依据。同时

这种方法也能为寻找新的药用资源提供线索,如天花粉蛋白是从栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim 根中提取,因其具有抗癌、中期引产和抑制艾滋病病毒<sup>[5]</sup>等作用而引起世人的关注,很多学者正在寻找新的具有天花粉蛋白活性的蛋白,如香港中文大学的杨显荣等对葫芦科植物王瓜、木鳖、苦瓜等作了许多研究,发现有类似天花粉蛋白的引产活性<sup>[6]</sup>,而木鳖、苦瓜等都不是栝楼属植物。根据亲缘关系相近的植物类群有相似的化学成分,我们认为应该在同属植物中寻找,并且在国内的调查中发现作天花粉入药的栝楼属植物有19种之多,因此,为寻找新的活性蛋白,首先就要搞清这19种植物间的亲缘关系,只有这样才能做到有的放矢,减少盲目性。以上是在鉴定药材来源方面的运用。

在药材鉴定上,虽然药材(不含矿物药)多不是新鲜的,DNA 会有很大的降解,这似乎给 DNA 的分析带来了困难,但 Mullis 等1985年和1987年发展了1种聚合酶链式反应(PCR),能将原来痕迹量的 DNA 扩增到足以供实验人员方便进行检测与分析的数量,而且产物专一性强,不需进行特殊纯化,这种高速、高效、优质和全部自动化的优点使得 PCR 技术在短短几年中在分子生物学各个领域得到广泛应用,如90年代在 PCR 技术基础上发展起来的随机扩增的 DNA 多态性分析(RAPD)<sup>[7]</sup>,就可用于药材的鉴定,特别是贵重药材的鉴定,通过 RAPD 技术分析真伪药材的 DNA 多态性,找出真品特

定的 DNA 片段,对此进行测序,进而制备 DNA 探针,来检测相应的药材,为药理学提供一个新的、便捷、准确的鉴定方法,相信这种方法尤其能运用于动物药的鉴定。

这种分子生物技术来鉴别药材,可称为“分子标记鉴别”。

## 2 在生产方面的应用

生药中绝大部分是植物药,为了扩大药源,保障质量、生产出更多更好的药材,药用植物中很大一部分都已引种栽培,如何有效地防治病虫害是栽培过程中所遇到的难题,目前防治病虫害的主要措施是施撒农药,这种方法不但危害人畜、而且污染环境,现在通过分子生物技术能使植物自身获得抗病虫害的能力,从而避免了上述问题。

在抗病毒方面,主要运用向植物转移病毒的外壳蛋白基因、利用植物病毒的卫星 DNA 基因及利用反义 RNA 等3种方法<sup>[8]</sup>,如向植物转移病毒的外壳蛋白基因防治病毒工作做得最多的是对烟草花叶病毒(TMV)<sup>[9]</sup>的防治,把烟草花叶病毒 U<sub>1</sub>株系的 RNA 中编码、外壳蛋白(CP)的部分克隆转录成 cDNA,把 cDNA 插入到带 CaMV35S 启动子的中间载体中,然后把这一中间载体引入根癌农杆菌,再用这种根癌农杆菌叶圆盘法转化烟草,再生的烟草(转基因烟草)高水平地表达了 TMV 的 CP 基因,对 TMV 表现出明显的抗性,这种转基因烟草已用于大田栽培,在继烟草花叶病毒外壳蛋白基因工程成功之后,现已有黄瓜花叶病毒(CMV)<sup>[10]</sup>,马铃薯 X 病毒(PVX)<sup>[11,12]</sup>的外壳蛋白基因分别在烟草、番茄和马铃薯中表达。在药用植物方面还未见报道,然而上述这些病毒对药用植物亦造成危害,据不完全统计,感染烟草花叶病毒的有白花曼陀罗,黄花败酱,八角莲;感染黄瓜花叶病毒的有太子参、丝瓜、白术、桔梗、毛当归、百合、车前草、牛蒡、蒲公英、青箱、马齿苋、虎杖等<sup>[13]</sup>,因此,用分子生物技术使药用植物获得抗病毒能力,将有很大的市场,能产生很高的经济效益。

在抗虫害方面,1987年比利时学者把金云

杆菌的  $\delta$  毒素基因通过根癌农杆菌的 Ti 质粒转移到烟草中并得到表达,这种  $\delta$  内毒素能杀死鳞翅目害虫,如烟草角虫在这种烟草上1天即停食,3天内死亡,并且  $\delta$  内毒素基因在转基因烟草中能稳定表达和遗传<sup>[14]</sup>,用这种方法已获得了抗虫的番茄和马铃薯等<sup>[15]</sup>。而药用植物花果所受虫害主要来源于鳞翅目害虫,如豆荚螟危害白扁豆、黄芪等豆科植物;梨小食心虫危害木瓜、贴梗海棠等;棉铃虫危害白扁豆、穿心莲、丹参、牛蒡、颠茄等;白术籽虫危害白术等<sup>[16]</sup>,因此,这种方法的运用对保护花果入药的药用植物的有着重要意义。

另外,在抗虫等方面,英国曾把豇豆编码胰蛋白酶抑制基因引入烟草,烟草具备制造胰蛋白酶抑制剂的能力,在昆虫吃了转化烟草后,虫体消化道内的胰蛋白酶活性得到抑制,蛋白在消化道内不能降解,害虫因得不到必需的营养而死去,这种方法可以防治各种害虫对植物的侵害<sup>[8]</sup>。

总之,目前用分子生物学技术使植物自身获得抗病虫害的能力,主要应用在农作物上,将其运用到药用植物上,相信也能取得同样可喜的成果。

另外在药材生产上,自古就存在着药材道地性问题,如何看待这个问题?笔者认为药材的道地性是由同一种植物不同居群之间的差异形成的,其物质基础是化学成分或含量的不同,然而化学成分可能是由遗传因子产生的,也可能是地理-生态因子形成的,如水菖蒲 *Acorus calamus* L. 根茎含油量和油中成分与染色体数有关,二倍体者芳香油中无  $\beta$ -细辛醚,三倍体者含20%~30% $\beta$ -细辛醚,四倍体中  $\beta$ -细辛醚比三倍体高2倍,说明根茎含油量是由遗传因子控制的,又如生长在东北三省,苏、鄂的一叶楸含有左旋一叶楸碱,而生长在北京近郊县的则多为右旋一叶楸碱,而一叶楸碱的旋光性和植物形态没有必然联系,其旋光性的差异可能是由于地理-生态因子的关系形成的<sup>[17]</sup>。因此,通过分子生物技术如 RFLP, RAPD 比较不同居群之间在遗传物质 DNA 上的变化,可为揭示“道

地”药材的“地道”之本质提供线索,并为药材的培育选种产生指导作用。

### 3 在获取有效成分方面应用

生药学的重大任务就是生药有效成分的提取和测定,对某一药材经过一系列繁琐而艰辛的分离提取及测定后得知其所含的有效成分,然而有效成分往往是微量的,如长春花碱、美登木碱等,如何获得更多有效成分一直是生药学的一个研究目标。80年代以来,由于分子生物学的发展,为这一研究提供了新的方法,如转基因器官培养技术和反义技术等。转基因器官培养技术现主要是毛状根的培养,就是用发根农杆菌 *Agrotacterium rhizogeres* 转化植物,产生生长迅速,生产效能高而稳定的毛状根培养物,从而产生有效的次生物质,因为发根农杆菌含有 Ri-质粒,他在感染植物细胞过程中可通过 Vir 区(致病区)片段的作用,可将质粒上的 T-DNA 整合到植物细胞的 DNA 中,T-DNA 在被感染的植物细胞中表达的表现型是从被感染的部位长出毛状根,将毛状根分离作为培养系统就能产生与自然根一样甚至更多的次生物质,如绞股蓝是1种含有80多种皂甙,具有人参样生理活性的药用植物,费厚满等<sup>[18]</sup>为开发利用绞股蓝皂甙,用发根农杆菌的 R<sub>1600</sub>菌株感染绞股蓝叶外植体,使外植株切口处出现毛状根,毛状根经 Southern 分析后,证明确已转化,在无激素的 MS 培养基中悬浮培养20天,至使毛状根中总皂甙含量约为自然根的2倍,并且在悬浮培养过程中,培养物向培养基中分出一定量的皂甙。这种方法已经在很多药用植物中得到运用,如在赛苣蓿毛状根中分别得到了0.1%的东苣蓿碱和0.3%的苣蓿碱,含量均高于野生植株,在甘草毛状根培养物中检测到高于正常培养物含量的黄酮类化合物等<sup>[19,20]</sup>,另外在颠茄<sup>[21]</sup>和紫草<sup>[22]</sup>等也得到运用。

反义技术是根据碱基互补原理,用反义 DNA 或 RNA 片段导入植物细胞,控制某一代谢途径上的关键酶活性,使之受到抑制或增强,

而使活性成分含量提高,如木质素和黄酮类化合物都是苯丙氨酸代谢产物。用反义技术调节亚麻属植物 *Linum flavum* L. 毛状根中肉桂醇脱氢酶活性,抑制本质素的合成,使主要抗癌活性成分5-甲基鬼臼素含量提高<sup>[23]</sup>。

总之,分子生物学在生药学中的运用,在分子水平上研究生药的鉴定,生产和成分等,正如其在其它生命学科中运用一样,将使生药等的发展进入到一个崭新的发展阶段,并由此产生一门新的学科——分子生药学(Molecular Pharmacognosy)。

### 参 考 文 献

- [1]中国医学百科全书编辑委员会.中国医学百科全书(药理学与药理学).上海:上海科学技术出版社,1988:3
- [2]邓务国.生物学通报 1994;29(1):7
- [3]竞进军等.生物化学与生物物理进展 1986;4:12
- [4]程罗根等.生物学杂志 1994;3:7
- [5]Special Report. CDC AIDS Weekly 1989;4(24):3
- [6]汪猷.天花粉蛋白.北京:科学出版社,1990:134
- [7]Williams et al. Nucleic Acids Res 1990;18:6531
- [8]程玉忠.遗传 1991;13(4):45
- [9]Powell Abel P et al. Science 1986;232:738
- [10]Cuozzo M et al. Bio/Technology 1988;6:549
- [11]Hemenway C et al. EMBO J 1988;7:1273
- [12]Hoekema A et al. Bio/Technology 1989;7:273
- [13]中国医学科学院药用植物资源开发研究所.中国药用植物栽培学.北京:农业出版社,1991:185
- [14]Vaeck M et al. Nature 1987;328:33
- [15]孟建华.生物工程进展 1989;9(1):46
- [16]姚宗凡等.常用中药种植技术.北京:金盾出版社,1993:32
- [17]周荣汉.药用植物化学分类学.上海:上海科学技术出版社,1988:6
- [18]费厚满等.植物学报 1993;35(8):626
- [19]张荫麟.植物学报 1988;30(4):368
- [20]张荫麟等.中草药 1990;21(12):23
- [21]Kamada H et al. Plant Cell Rep 1986;5:239
- [22]Shimomura K et al. Plant Cell Rep 1991;10:282
- [23]张荫麟.中国医药情报 1995;1(3):168

1995—06—28收稿