

• 专 论 •

天然药物化学史话：青蒿素——中药研究的丰碑

张铁军¹，王于方²，刘 丹²，李力更^{2*}，郭瑞霞^{2,3}，史清文^{2*}，董燕平¹

1. 河北省中医院 心血管科，河北 石家庄 050011

2. 河北医科大学药学院 天然药物化学教研室，河北 石家庄 050017

3. 石家庄学院化工学院 药物化学教研室，河北 石家庄 050035

摘 要：我国科学家屠呦呦研究员荣获 2015 年度诺贝尔奖填补了中国本土科学家在诺贝尔自然科学奖的空白。青蒿素的发现必将在世界科学史上留下一个辉煌的记录，是对我国科学界特别是天然药物工作者的巨大鼓舞。通过对历史文献的总结，回顾了青蒿素的研发历史，表达了对老一辈科学家的衷心敬佩，同时给年青科学工作者以激励。

关键词：青蒿素；屠呦呦；天然药物；诺贝尔奖；中药

中图分类号：R284 **文献标志码：**A **文章编号：**0253-2670(2016)19-3351-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.19.001

Historical story on natural medicinal chemistry: Artemisinin—a milestone of traditional Chinese medicine study

ZHANG Tie-jun¹, WANG Yu-fang², LIU Dan², LI Li-geng², GUO Rui-xia^{2,3}, SHI Qing-wen², DONG Yan-ping¹

1. Department of Heart Medicine, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China

2. College of Pharmaceutical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

3. Department of Medicinal Chemistry, College of Chemical Engineering, Shijiazhuang College, Shijiazhuang 050035, China

Abstract: 2015 Nobel Prize was awarded to Professor TU You-you, which fill the gap of Chinese scientists in the Nobel Prize in natural science. The discovery of artemisinin is a brilliant record in the history of science in the world. This is also a great inspiration for scientific community, especially for natural medicine researchers. This paper summarized the historical evolution of artemisinin, expressing the respects to the last generation of scientists and encouraging the younger researchers in this field. This article is one of the series of historical stories on natural product chemistry written by the authors.

Key words: artemisinin; TU You-you; natural medicine; Nobel Prize; Chinese materia medica

《诗经》：“呦呦鹿鸣，食野之苹。我有嘉宾，鼓瑟吹笙。呦呦鹿鸣，食野之蒿。我有嘉宾，德音孔昭。呦呦鹿鸣，食野之芩。我有嘉宾，鼓瑟鼓琴。”85年前，一位父亲从《诗经》“呦呦鹿鸣，食野之蒿”的诗句中为他的女儿取名屠呦呦，谁料想她真的同蒿草结下生命之缘。从“呦呦鹿鸣，食野之蒿”到85年后“呦呦鹿鸣，一鸣惊人”，屠呦呦的名字和《诗

经》里的青蒿结下了不解之缘。这首名扬千年历史的诗歌再一次伴随一个中国科学家的名字在大地传颂。2015年岁末，传来对我国科学界最振奋的消息，中国科学家屠呦呦与日本科学家大村智（Satoshi Omura）、爱尔兰科学家 William C. Campbell 共同荣获本年度诺贝尔生理或医学奖。3位科学家均是因在天然药物研究领域的突出贡献而获奖，其中屠呦呦

收稿日期：2016-05-20

基金项目：河北医科大学教育科学研究重点课题资助项目（2012yb-19，2014yb-21，2016yb-9）；2016年河北医科大学校内科研发展基金（kyfz111）；2012年全国名老中医药专家传承工作室建设项目；河北省中医药管理局计划项目（2015021）

作者简介：张铁军（1975—），男，河北定州人，硕士，副教授，主要研究方向为中西医结合内科治疗，近年已在国内外公开出版的学术期刊发表论文10余篇。Tel: (0311)69095156 E-mail: gzhangtiejun128@sohu.com

*通信作者 李力更（1963—），男，河北唐山人，教授，主要从事天然产物中活性成分的研究。Tel: (0311)86265634 E-mail: liligeng@hebm.edu.cn 史清文（1964—），男，河北沧州市人，教授，博士生导师，主要从事天然产物中活性成分的研究。

Tel: (0311)86261270 86265634 E-mail: shiqingwen@hebm.edu.cn

研究员是因为发现抗疟疾特效药物青蒿素 (qinghaosu、arteannuin、artemisinin) 的伟大贡献而获奖, 大村智和 Campbell 是因共同发明抗寄生虫特效药物阿维菌素 (avermectin) 等而获奖。屠呦呦此次获奖是我国科学家首次在自然科学领域获得诺贝尔奖, 无疑是对我国科学家做出巨大贡献的肯定, 特别是对我国天然产物研究领域的科技工作者以激励。本文通过对历史文献的总结, 回顾了青蒿素的研发历史, 同时对天然产物研究做简要展望, 以期青年科学工作者带来启示。

1 抗疟药物的研究背景

疟疾曾是一种严重危害人类生命健康的世界性流行病。据世界卫生组织报告, 全世界数 10 亿人口生活在疟疾流行区, 每年约 2 亿人患疟疾, 百余万人死于疟疾。2011 年 9 月 13 日纽约联合国总部发布了题为《十年伙伴关系和成果》的报告, 报告显示过去 10 年中, 全球投入了约 50 亿美元, 为抗击疟疾取得了显著成果, 由疟疾导致的死亡降低了 38%。11 个非洲国家的疟疾病例及死亡率都下降了 50% 以上。但在 20 世纪 60 年代初, 全球疟疾疫情仍难以控制。尽管同样来自于天然产物的抗疟药物奎宁 (quinine) 曾经为人类的健康做出了约 300 多年的杰出贡献^[1], 但是由于人体产生了耐药性, 使奎宁的抗疟作用大大降低, 而在二战期间研究的化学合成药物氯喹 (chloroquine) 也开始产生相当大的耐药性。

美国政府曾公开承认, 仅在 1967—1970 年, 在越战中美军因疟疾即减员 80 万人。是否拥有抗疟特效药成为决定战争胜负的关键。美国曾投入巨额资

金, 从 20 多万种化合物中进行药物筛选, 但没有找到理想的药物。当时中国正处于文化大革命时期, 鉴于防治疟疾的紧迫性与艰巨性, 必须集中和调动全国各地更多的技术力量, 才有可能尽快完成任务。经国家最高领导人毛泽东、周恩来批示, 国家科学委员会、卫生部、化工部、总后勤部、国防科技工业委员会和中国科学院组成了全国疟疾防治领导小组, 1967 年 5 月 23 日由国家科学委员会、解放军总后勤部负责招集在北京饭店召开了“疟疾防治药物研究工作协作会议”, 由国家部委、军队直属和 10 个省、市、自治区及有关军区的数 10 个单位组成了攻关协作组, 这就是中国国务院专门成立的赫赫有名的“523”项目, 协作组的常设机构为 523 办公室, 设于军事医学科学院, 由当时的总后卫生部长张剑芳任常务主任, 先后组织国内 60 多个研究机构、500 多名研究人员参加, 科研工作由 523 办公室统一部署下, 从生药、中药提取物、方剂、奎宁类衍生物、新合成药、针灸 6 个大方向寻求突破口。1969 年 2 月, 中国中医研究院中药研究所的 1 位年轻的实习研究员屠呦呦接受任务加入了“523”协作组并担任中国中医研究院“523”项目研究组的组长。

2 青蒿素研发过程简介

天然药物研发程序见图 1^[2]。青蒿素的研发程序也大致如此, 即采集药物→提取分离→药理实验→结构鉴定→全合成→衍生物合成等。

2.1 青蒿素的提取分离和药理初筛工作

屠呦呦在青蒿素的研发中主要做的是提取分离工作, 筛选出包括青蒿在内的 640 种中草药抗疟方药集, 并且在此基础上进行实验研究, 组织鼠疟筛

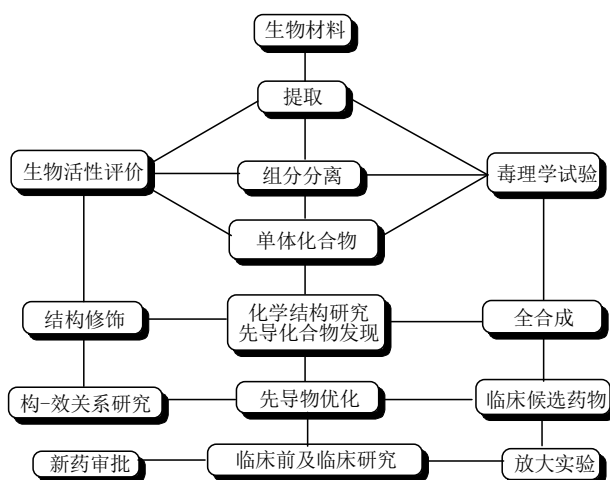


图 1 天然药物开发流程

Fig. 1 Flow chart for drug development from natural sources

选。在第1轮的药物筛选和实验中,青蒿提取物对疟疾的抑制率不高;在第2轮的药物筛选和实验中,青蒿的抗疟效果也不令人满意,因此在相当长的一段时间里,青蒿并没有引起大家的重视。

经过200多种中药的380多个提取物筛选,屠呦呦最终将焦点锁定在青蒿,是受东晋名医葛洪《肘后备急方》(图2)中“青蒿一握,以水二升,渍绞取汁,尽服之”可治“久疟”的启发,从植物青蒿里压出青蒿汁液,汁液里很可能有“抗疟”的化学成分。从现代植物学的角度考证,古书中的青蒿就是植物学意义上的黄花蒿 *Artemisia annua* Linn.。在反复阅读东晋葛洪《肘后备急方》后,发现其中记述用青蒿抗疟是通过“绞汁”,而不是传统中药“水煎”的方法来用药的,屠呦呦认为很可能是因为“高温”的原因破坏了其中的有效成分。据此,屠呦呦改用低沸点的溶剂乙醚来提取青蒿中的有效成分,所得青蒿的乙醚提取浓缩物确实对鼠疟效价有了显著提高。经过反复实验,最终分离获得的第191号青蒿中性提取物样品显示对鼠疟原虫有近100%抑制率的结果。屠呦呦研究组验证间日疟11例、恶性疟9例、混合感染1例,结果显示青蒿提取物能大幅杀灭疟原虫,疗效优于氯喹^[3-5]。1972年成功分离出一种无色结晶,后将其命名为青蒿素。

2.2 青蒿素的临床应用

广州中医药大学的科研人员使用青蒿素结晶对

141例脑型疟疾患者进行治疗,其中131例被治愈。1979年中国国家科学与技术委员会向青蒿素研究组颁发了国家发明证书,以确认其抗疟疾疗效^[6]。

广东海南抗疟临床研究协作组在海南岛的抗性疟区,采用 *po* 或 *im* 青蒿素的方法,对65例抗氯喹疟疾病例进行治疗和观察,结果显示该方案安全可行且疗效显著^[7]。广州中医药大学李国桥教授带领的青蒿素临床研究小组^[8]在1974—1976年用青蒿素治疗凶险型恶性疟疾48例,取得良好的治疗效果。青蒿琥酯是第1个水溶性的青蒿素衍生物,可以注射或静脉用药,适用于脑型疟及各种危重症疾的抢救^[9]。

随着青蒿素类药物在临床上的广泛应用,疟原虫对该类药物已出现抗药性,因此世界卫生组织推荐采用青蒿素组合法作为治疗简单恶性疟疾的首选方法^[10]。

2.3 青蒿素的结构鉴定工作

有关青蒿素结构鉴定工作有很多报道,也有相当大的争议。1973年初,北京中医研究院中药研究所屠呦呦研究小组拿到青蒿素单体结晶,寻找能够解析其化学结构的有机化学家。1974年北京中医研究院中药研究所与上海有机所寻求协作,最终由周维善研究员负责,而具体工作则是由上海有机所的吴照华和北京中药所的倪慕云和刘静明、樊菊芬一起进行结构测试等工作。青蒿素结构测定中的一个主要困难是如何在15个碳倍半萜骨架上安排5个氧原子,当时也考虑过可能是过氧化物,但是过氧化物不稳定的传统认识又否定了这个想法,青蒿素的结构鉴定进展缓慢。北京药物所于德泉研究员发现从民间治疗疟疾的有效草药番荔枝科植物鹰爪 *Artabotrys uncinatus* (L.) Merr. 根中分离的活性成分鹰爪甲素(yingzhaosu A, 图3)是一个含有过氧链的倍半萜衍生物^[11],这个结构给研究人员以启示。上海药物所吴毓林在实验室用青蒿素做了一个碘化钠的定性试验,明确了过氧基团的存在。在此基础上,吴照华通过过氧基团的定量分析,进一步确证了青蒿素是过氧化物。根据资料,吴毓林等对青蒿素结构测定的贡献应该是:①参考鹰爪素的结构,用化学方法明确了青蒿素是过氧化物;②根据青蒿素的波谱数据得出了青蒿素的片段结构,如内酯、3个甲基、4个次甲基等;③根据南斯拉夫Stefanovic从同一植物中分得的青蒿素B(arteannuin B)的结构,提出其与青蒿素结构可能有相似性;



图2 葛洪《肘后备急方》与吴其濬《植物名实图考》记载的青蒿和黄花蒿

Fig.2 *A. carvifolia* and *A. annua* recorded in *A Handbook of Prescriptions for Emergency* by GE Hong and *An Illustrated Book on Plants* by WU Qi-jun

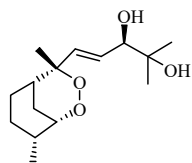


图 3 鹰爪甲素的化学结构

Fig. 3 Chemical structure of yingzhaosu A

④为当时已收集了青蒿素单晶X衍射数据正要进行计算的中国科学院生物物理所提供的一个青蒿素初步的结构,并作为他们计算时的参考。

最终在 1975 年的 12 月,中国科学院生物物理所确定了青蒿素的相对构型,并根据青蒿素 B 的结构推测了绝对构型;1979 年由中国科学院生物物理所通过 X 衍射分析最终肯定了青蒿素的绝对构型(图 4)。其实结构测定工作在 1976 年就基本结束了,

因为卫生部保密的要求,3 年后有关论文《青蒿素的结构和反应》才发表在 1979 年 5 月出版的《化学学报》上^[12-13],但非常遗憾的是没有申请专利。

2.4 青蒿素的全合成工作

1982 年,瑞士 Hoffmann La Roch 公司的研究员 Schmid 和 Hofheinz 以薄荷醇(menthol)为原料首次完成了青蒿素的人工全合成(图 5)^[14]。1983 年,上海有机所的周维善、许杏祥等研究人员从青蒿酸出发实现了青蒿素的半合成,1984 年实现了以香茅醛(citronellal)为原料完成了青蒿素的全合成(图 5)^[15]。这些合成工作具有鲜明的接力合成和仿生合成的特点,也为了解青蒿素更多的化学性质以及构-效关系研究、衍生物的合成奠定了基础,特别是周维善等的全合成工作代表了当时我国有机合成化学的水平。

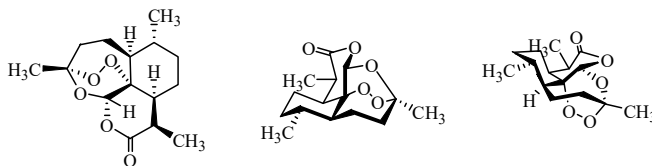


图 4 青蒿素的化学结构

Fig. 4 Chemical structures of artemisinin

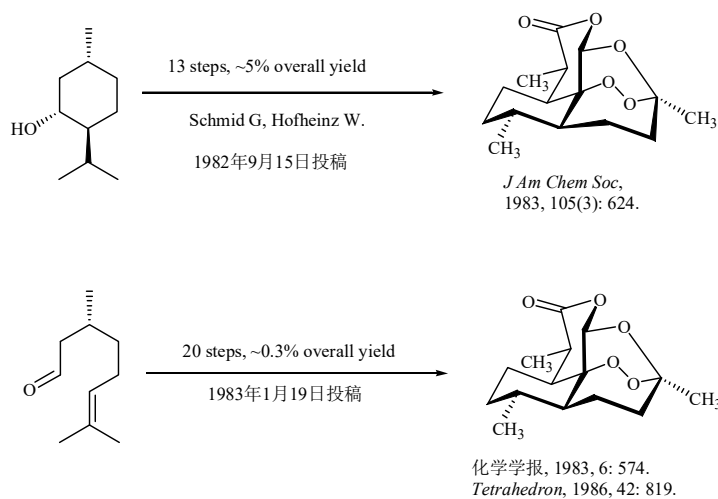


图 5 青蒿素的全合成

Fig. 5 Total synthesis route of artemisinin

20 世纪 80 年代我国科学家、上海有机所的汪猷院士等根据青蒿植物中存在高含量青蒿酸(artemismic acid, 图 6)的情况,通过实验确证青蒿酸是青蒿素生物合成过程中间体的假设。此后国内外不少实验室也确定青蒿酸是青蒿素的生物前体物质。2006 年加利福尼亚大学伯克利分校一个研究团

队报道了通过工程酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 发酵生产了前体青蒿酸。这样微生物制备的半合成青蒿酸可以纯化并化学转化成青蒿素,在借助合成生物学的理论,使用了一种改进的甲羟戊酸途径,使酵母细胞工程化来表达紫穗槐-4,11-二烯合成酶(amorpha-4,11-diene synthase)和细胞色素

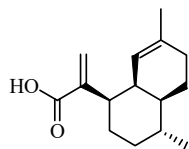


图 6 青蒿酸的化学结构

Fig. 6 Chemical structure of artemic acid

P450 氧化酶 (CYP71AV1), 2 种酶均来源于工程菌大肠杆菌, 将紫穗槐-4,11-二烯 (amorpha-4,11-diene) 经历 3 步氧化得到青蒿酸。2010 年, 荷兰 Wageningen 大学一个研究团队报道了工程化一种近缘的烟草 *Nicotiana benthamiana* Karel Domin 也能产生青蒿酸^[16]。

2010 年, Yadav 等^[17]以香茅醛为原料, 经不对称 1,4-加成、分子内羟醛缩合、格氏反应、立体选择性硼氢化、氧化、光氧化等反应合成了青蒿素, 该合成路线关键中间体 A 的合成需要 8 步, 总收率可达 13%, 但是由于最后一步光致氧化的收率只有 25%, 总收率为 3.25%, 该方法是目前为止最短的合成路线, 无需进行官能团的保护 (图 7)。

近年来, 上海交通大学张万斌教授领衔的科研

团队, 历时 7 年, 研发出一种常规的化学合成方法^[18], 首次实现了抗疟药物青蒿素的高效人工合成 (图 8), 使得青蒿素有望实现大规模工业化生产。同年 Zhu 等^[19]从廉价易得的环己烯酮出发也合成了青蒿素。至今已报道有 10 余种青蒿素全合成路线。这些路线的起始物包括薄荷酮、3-萜烯和环己烯酮^[20-21]。

2.5 青蒿素的衍生物研究工作

目前临床应用的青蒿素衍生物主要包括水溶性的青蒿琥酯 (artesunate) 和脂溶性的蒿甲醚 (artemether)、蒿乙醚 (arteether)、二氢青蒿素 (dihydroartemisinin, dihydroqinghaosu), 结构见图 9, 此外各国研究者还合成了大量的青蒿素衍生物, 以期提高青蒿素的抗疟活性、抗肿瘤活性及其药动学性质。

1977 年, 桂林制药厂刘旭从上海药物所对蒿甲醚的研究中受到启发, 于 1977 年 5 月 21 日也开始做青蒿素的结构改造工作, 以青蒿素为原料将其还原, 然后和丁二酸酐 (琥珀酸酐) 反应得到青蒿琥酯, 其不但具有良好的水溶性, 而且抗疟疾的疗效提高了 5 倍, 是第一个水溶性的青蒿素衍生物, 可以静脉滴注^[22-23]。

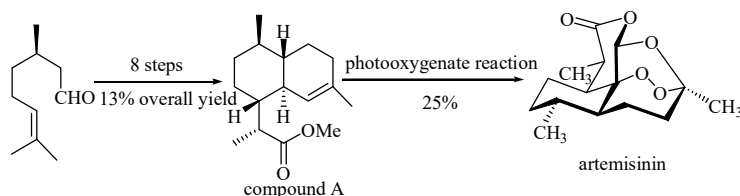


图 7 Yadav 全合成青蒿素路线示意图

Fig. 7 Yadav's total synthesis route of artemisinin

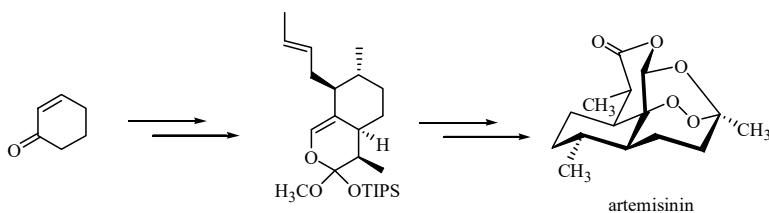


图 8 张万斌全合成青蒿素路线示意图

Fig. 8 Zhang's total synthesis route of artemisinin

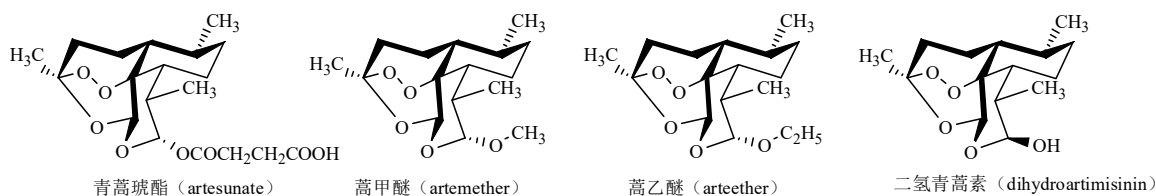


图 9 青蒿素衍生物的化学结构

Fig. 9 Chemical structures of artemisinin derivatives

1979 年,李英等^[24]将青蒿素催化氢化,然后再用硼氢化钠还原得到二氢青蒿素,抗疟效果是青蒿素的 2 倍。二氢青蒿素在三氟化硼的催化下,与甲醇或乙醇反应得蒿甲醚、蒿乙醚^[24],其中蒿甲醚比蒿乙醚抗疟疗效更好,此外蒿甲醚还具有广谱的抗癌作用。1982 年,李英以 DCC 为缩合剂合成了一系列的青蒿素羧酸酯和碳酸酯衍生物(图 10),在鼠疟抗氯喹原虫株上筛选发现,其中不少化合物比青蒿素的抗疟疾活性高 10 倍^[25]。泰国科学家 Paitagatat 等^[26]将青蒿素经有机硒消除,9 位引入双键,该中间体与亲核试剂进行麦克尔加成,合成了一系列 C-16 取代青蒿素类似物(图 11),它们均有很好的抗疟活性。云南理工大学的 Xiao 等^[27]将二氢青蒿素和壳聚糖以共价键相连,药物的水溶性有很大的提高,有望将其开发成抗疟疾前药(图 12)。

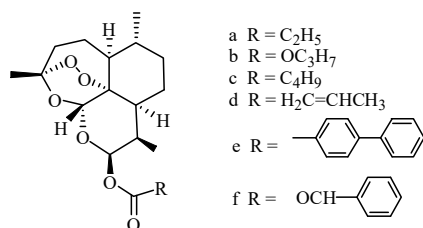


图 10 青蒿素碳酸酯和羧酸酯衍生物

Fig. 10 Artemisinin carbonate and carboxylic acid ester derivative

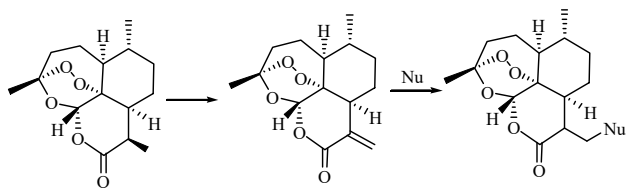


图 11 青蒿素 C-16 取代类似物

Fig. 11 C-16 substituted analogues of artemisinin

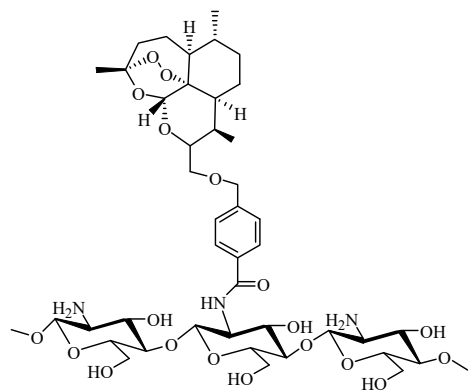


图 12 青蒿素壳聚糖结合物

Fig. 12 Artemisinin-chitosan conjugation

除了传统的抗疟疾活性外,研究发现青蒿素及其衍生物还具有一定的抗肿瘤活性,大部分研究都是以二氢青蒿素为母核对其 10 位进行结构修饰,以提高青蒿素的抗肿瘤活性和药动学性质。这其中以香港大学的 Liu 等^[28]合成的二氢青蒿素的酰胺衍生物(图 13)和 Li 等^[29-30]合成的二氢青蒿素的醚类化合物(图 14)对人肝癌肿瘤细胞 HepG2 的增殖抑制活性最高,二者的 IC₅₀ 值分别为 0.46、0.01 μmol/L,而青蒿素对人肝癌肿瘤细胞 HepG2 的 IC₅₀ 值为 97 μmol/L。

在对青蒿素衍生物抗肿瘤活性研究中,为了制备结构更加多样的青蒿素衍生物,Liu 等^[31]先将青蒿素用有机硒还原,在 9 位引入双键,然后用异恶唑烷和异恶唑啉与其反应,得到了一系列结构新颖的螺环青蒿素类似物,图 15 所示化合物活性最好,对 3 种人肿瘤细胞(鳞状细胞癌 KB 细胞、耐长春新碱 KB/VCR 细胞、人类肺癌 A549 细胞)的 IC₅₀ 值都比较低,抗肿瘤活性分别是青蒿素的 4、7、14 倍。

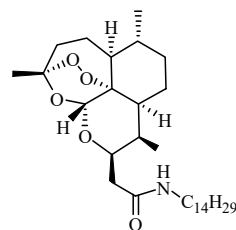


图 13 青蒿素酰胺衍生物

Fig. 13 Artemisinin amide derivative

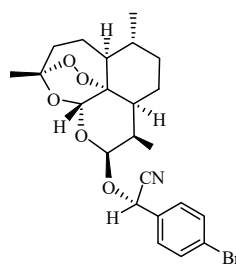


图 14 青蒿素醚类衍生物

Fig. 14 Artemisinin ether derivative

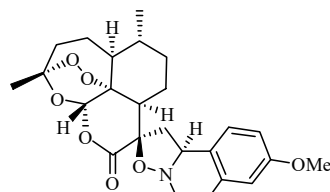


图 15 螺环青蒿素类似物

Fig. 15 Spirobicyclic artemisinin analogue

中国科学院上海药物研究所的左建平和与李英等人历时15年,自主研发的马来酸蒿乙醚胺于2015年被确定为治疗系统性红斑狼疮的1.1类候选新药,研究证实其能够抑制自身免疫异常反应,恢复机体的免疫平衡^[32]。

3 屠呦呦研究员在青蒿素研发工作中的贡献

屠呦呦(图16)现为中国中医科学院终身研究员兼首席研究员,2001年当选为博士生导师。屠教授因发明和研制了新型抗疟药青蒿素和还原青蒿素,于1978年青蒿素抗疟研究课题荣获全国科学大会“国家重大科技成果奖”,1979年获国家科学委员会授予的发明奖,1984年被中华医学会等评为“建国35年以来20项重大医药科技成果”之一。青蒿素还曾经与杂交水稻、汉字激光照排、人工合成胰岛素等一起被评为建国以来影响中国建设进程的中国当代的“新四大发明”。



图16 屠呦呦研究员

Fig. 16 Prof. TU You-you

青蒿素是从全国常见的一种蒿属植物黄花蒿 *A. annua* Linn. 叶子(图17)中分离出来的天然产物。青蒿素的发现过程也非常有趣,目前有多个版本从不同角度描述,如2011年3月31日中央电视台第10套节目《探索与发现》栏目曾连续5集播出《抗疟记》,以科普的形式简要介绍了青蒿素类药物的研发历程。

无可争议的是,最初发现黄花蒿提取物具有抗疟活性并且只有在低温提取才有效以及首先拿到其中青蒿素单体(图17)的是屠呦呦研究员。无疑这个发现在整个青蒿素的发现过程中起了最为关键的作用,有了这一发现才有了后面青蒿素的许多成果。此前,国内其他科研人员曾经筛选过4万多种化合物和中草药,以期寻找具有抗疟活性的药物,但是没有得到令人满意的结果。在加入“523”项目组后,屠呦呦从系统整理历代医籍、本草、地方药志的单方复方验方入手,走访老中医专家,搜集有关群众来信,整理了包含植物、动物和矿物等2 000余种药方,结集出一册《抗疟单验方集》,从中又筛选出

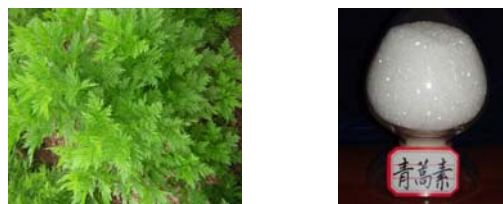


图17 黄花蒿和青蒿素

Fig. 17 *A. annua* and artemisinin

包括青蒿在内的640种中药抗疟方药集,并且在此基础上进行实验研究,组织鼠疟筛选。

经过200多种中药的380多个提取物筛选,屠呦呦最后将焦点锁定在青蒿(黄花蒿)。受东晋名医葛洪《肘后备急方》中“青蒿一握,以水二升,渍绞取汁,尽服之”可治“久疟”的启发,从青蒿里压出青蒿汁液,汁液里很可能有“抗疟”的化学成分。在不断地探索中发现青蒿抗疟是通过“绞汁”,而不是传统中药“水煎”的方法来用药的,屠呦呦领悟到很可能是因为“高温”的原因破坏了其中的有效成分。据此,屠呦呦改用低沸点的溶剂乙醚来进行青蒿素中有效成分的提取研究,所得青蒿的乙醚提取浓缩物确实对鼠疟效价有了显著提高。经过反复实验,最终分离获得的第191号青蒿中性提取物样品,显示对鼠疟原虫有近100%抑制率。在经历了190多次实验失败之后,屠呦呦课题组终于从植物青蒿的成株叶子的中性提取部分获得对鼠疟、猴疟原虫几乎100%抑制率的乙醚提取物。

1972年3月,屠呦呦以研究小组代表的身份报告了青蒿中性提取物的实验结果。1973年,青蒿提取物的抗疟功效在云南地区实际应用得到证实,“523”项目办公室于是决定将青蒿提取的结晶物正式命名为青蒿素,作为新药进行研发。

至今屠呦呦提取得到青蒿素的方法被认为是当时发现青蒿素的关键所在。总之,青蒿素的发现被称为“二十世纪下半叶最伟大的医学创举”,没有青蒿素,地球上每年将有数百万人死于疟疾。青蒿素也是到目前为止中国人研制成功的在全球唯一得到承认的药物。由于青蒿素是如此重要,被誉为“中国神药”。目前青蒿素复方已成为世界上治疗疟疾的标准疗法,载入世界基本药物目录。

屠呦呦研究团队一直致力于青蒿素类化合物的研究,青蒿素类化合物除具有抗疟作用外还具有其他多种生理活性,该研究团队经过数10年的研究,发现双氢青蒿素具有免疫调节作用。2016年4月12日,屠呦呦负责的“双氢青蒿素治疗红斑狼疮”研

究通过国家食品药品监督管理局审批, 获得药物临床试验批件。双氢青蒿素在治疗疟疾的同时, 将有望为人类治疗免疫学疾病作出新贡献^[33]。

4 青蒿素走向世界的步伐

1977—1979 年, 连续 3 篇有关青蒿素研究的论文公开发表^[12,34-35]。1979 年, 国家科委将“国家发明奖”颁给青蒿素研究小组, 其中屠呦呦为第一发明单位的第一发明人。1979 年 8 月, 由宋庆龄创办的中国的英文外宣刊物《中国建设》发表了一篇短文: “一种新型抗疟药物”的文章, 这让西方的科研人员第一次了解到来自中国的青蒿素研究成果。1985 年, *Science* 发表了 1 篇关于青蒿素的综述文章“Qinghaosu (artemisinin): An antimalarial drug from China”^[36], 但并未提及青蒿素的发现人。2006 年, 美国 NIH 专家 Hsu 公开发表文章“The history of qing hao in the Chinese materia medica”, 其中也没有确定青蒿素的发明者^[37]。2009 年, 中国中医科学院研究员廖福龙在 *Molecules* 上发表文章, 明确指出青蒿素的发现归功于屠呦呦^[38]。2011 年, 美国 NIH 专家 Miller 与同事苏新专经过 5 年左右的调查后, 在生命科学领域最有影响力的期刊 *Cell* 上发表文章^[39], 认为发现青蒿素最大的功劳应该归功于屠呦呦。2011 年, 屠呦呦研究员在 *Nature Medicine* 发表文章回忆了青蒿素的发现过程^[40]。

5 屠呦呦研究员的获奖路程

2011 年 9 月 7 日屠呦呦研究员获得葛兰素史克 (GSK) 中国研发中心设立的生命科学杰出成就奖。这个奖项对屠教授有非常重要的意义, 因为在此以前虽然很多人知道青蒿素, 但很少人知道屠呦呦。早在 2008 年澳大利亚人 William Burns 就在博客 (qinghaosu.blogspot.com) 中预测未来诺贝尔奖可能授予青蒿素的发现者。

2011 年 9 月, 中国科学家屠呦呦荣获拉斯克基金临床医学研究奖, 以表彰她发现了青蒿素——一种治疗疟疾的药物, 在全球特别是发展中国家挽救了数百万人的生命。拉斯克奖素有“美国的诺贝尔奖”之美誉, 是美国最具声望的生物医学奖项, 也是医学界仅次于诺贝尔奖的一项大奖。自该奖项设立以来, 全世界共有 300 多位科学家获奖, 屠呦呦是第 1 位荣获此奖的中国大陆科学家。

正是由于 1997 年以来的诺贝尔生理学或医学奖获得者中, 有近一半曾经是拉斯克奖得主, 因此人们认为屠呦呦距离获得诺贝尔奖仅有一步之遥。

这种推测不仅仅基于拉斯克奖是诺贝尔化学奖的风向标, 更是基于: ①青蒿素结构属于倍半萜内酯, 更有自然界罕见的过氧桥但没有氮原子, 结构上完全不同于临床常用的奎宁、氯奎宁, 打破了传统上认为抗疟药必须含氮原子的假说。全新的化学结构导致青蒿素没有耐药性, 是其他抗疟药没有的特点, 这是抗疟药中的一个里程碑式成就。②在诺贝尔奖历史上抗菌药青霉素、磺胺类药物、胰岛素、链霉素, 以及发现前列腺素、胆固醇的科学家都先后分别单独拿过诺贝尔奖, 甚至因发现百年老药阿司匹林作用机制的科学家也获得了诺贝尔奖。青蒿素作为一个全新的药物发现, 拯救了数以万计的生命, 在整个药物发展史上也是屈指可数, 有足够的理由获得诺贝尔生理学或化学奖。但是, 从获得拉斯克奖到获得诺贝尔奖之间有明显的时间差, 最快的获得拉斯克奖 (2006 年) 后 3 年获诺贝尔奖 (2009), 最长的等了 31 年之久。“呦呦鹿鸣, 食野之蒿”, 4 年后屠呦呦荣获诺贝尔奖这一美好愿望终于成为现实。

6 与青蒿素研发有关的其他科学家

在青蒿素的发现过程中, 数位科学家都曾做出过重大贡献, 参与完成结构测定和化学全合成的周维善院士、吴毓林教授和吴照华教授, 做抗疟临床实验的广州中医药大学李国桥教授, 合成蒿甲醚的李英研究员, 研发复方蒿甲醚的周义清和研发蒿甲醚与苯芴醇复方药物的邓蓉仙, 完成单晶 X 衍射的中国科学院北京生物物理所李鹏飞、梁丽, 完成培养青蒿素晶体生长的北京中药研究所钟裕蓉以及屠呦呦研究小组的余亚纲、倪慕云等, 还包括如云南省药物研究所的罗泽渊研究员、山东中医药研究所的魏振兴、田樱研究员等, 都在各个不同领域作出了重大贡献, 此外还有很多默默无闻的研究组成员和协作组的管理协调人员。

据文献报道, 早在 1972 年获知屠呦呦小组青蒿粗提物有效的信息后, 山东寄生虫病研究所与山东省中医药研究所合作、云南省药物研究所分别独立进行青蒿中有效成分的提取分离工作。山东省中医药研究院的前身山东省中医药研究所魏振兴研究员为代表的一大批中药化学、中药药理科研人员也参与到这项科研工作中。山东省中医药研究所和云南省药物研究所经过辛苦研究工作, 也分别获得抗疟有效单体青蒿素, 并分别命名为“黄花蒿素” (山东) 和“黄蒿素” (云南), 山东省中医药研究所还申请

了青蒿素提取工艺的专利。1974 年初, 北京的青蒿素、山东的黄花蒿素和云南的黄蒿素被认为是相同的化学成分。广州中医药大学李国桥教授做临床研究的样品主要来源于云南省药物研究所, 李国桥教授也是抗疟药临床研究贡献最大、持续时间最长的人。

特别提及的是已于 1999 年去世的魏振兴先生(图 18), 1986 年受中国青蒿素及其衍生物研究开发指导委员会的委托到经济落后的重庆土家族苗族自治县酉阳担任原武陵山制药厂总工程师, 指导协助酉阳建成世界第一个吨位级的工业化生产青蒿素的工厂。2004 年 7 月, 世界卫生组织从酉阳购买 1 亿剂量的青蒿素类药物, 以消除疟疾这个世界第 2 号“杀手”。青蒿素的工业化生产不仅让酉阳人民脱贫, 也让中药产业国际化进程向前迈进了一大步, 同时也使得黄花蒿成为目前我国唯一一种被世界卫生组织认可、按化学药标准生产的中药材。据《每日经济新闻》报道, 目前我国为全球青蒿素最大的原料供应基地, 承担着全球 7 成以上的青蒿素原料生产供应, 在四川、重庆等西南地区有多家从事蒿草种植的企业, 全球 80% 的青蒿产自酉阳。重庆酉阳还被誉为“世界青蒿之都”, 年产值近亿元, 黄花蒿成为酉阳人民致富的“绿金”, 魏振兴研究员也成了“酉阳青蒿”的拓荒者。为了纪念魏振兴研究员, 酉阳人民在酉阳县城桃花源广场建立了魏振兴研究员塑像。



图 18 魏振兴研究员

Fig. 18 Prof. WEI Zhen-xing

从事青蒿素提取工作的单位还有云南省药物研究所。1973 年初, 受屠呦呦研究小组的启发, 云南药物所的罗泽渊尝试制备了苦蒿(与黄花蒿同属)不同溶剂的提取物并顺利地获得了数种结晶体。1973 年 4 月分离得到抗疟有效单体(结晶体 3), 并命名为“苦蒿结晶 III”(后改称为黄蒿素)。从事药效学筛选工作的黄衡发现编号为结晶体 3 的化合物能彻底杀灭小鼠血片中的疟原虫。经过进一步的药效学、药理学研究, 研究组证实了 3 号结晶体确实具有高效、低毒抗鼠疟的特点。与此同时, 云南

药物所的罗开均将苦蒿的植物标本送至中国科学院昆明植物研究所植物学家吴征镒教授鉴定, 确定这种苦蒿为黄花蒿的变型, 学名大头黄花蒿 *Artemisia annua* L. f. *macrocephala* Pamp.。因此, 他们将该结晶命名为黄蒿素(青蒿素)。这是“523”项目中首次得到纯的青蒿素单体, 并发现了优质青蒿产地、发明了后来广泛应用的溶剂汽油提纯法, 为进行药效、毒理、药理及临床试验提供了充足的青蒿素, 极大地加速了整个项目的进展。

广州中医药大学首席教授李国桥(图 19)是著名的抗疟专家, 临床验证青蒿素有效的第一人, 也是我国青蒿素类药临床研究主持人。1967 年, 中国政府启动了“523”项目, 意在集中全国科技力量联合研发抗疟新药。当时中医药协作组分别在针灸和中药 2 个方向上进行探索, 而承担针灸治疗疟疾研究的正是广州中医药大学(原广州中医学院)教师李国桥带领的科研小组。加入“523”项目后, 李国桥带着小组成员深入疟疾高发地区进行治疗^[41]。1982 年 8 月, 李国桥等撰写的论文“甲氟喹与青蒿素的抗疟作用”发表在世界著名的英国的《柳叶刀》医学杂志上, 被国际学术刊物引用 160 多次。从此, 青蒿素成为全球抗疟专家的关注的焦点。李国桥为了让中国人发明的青蒿素能尽快在全球普及推广而奔走于世界各地。

在过去 51 年里, 李国桥一直活跃在抗疟前线, 并首先证实青蒿素治疗恶性疟疾的速效低毒作用, 开创了中外医学史上的先河。他的学术见解和实践, 挽救了数百万疟疾患者生命。因抗疟方面的突出贡献, 他先后获得越南、柬埔寨等政府奖项——“金质骑士勋章”(2006 年获柬埔寨王国政府颁发)、“为了人民健康奖章”(2007 年获越南卫生部颁发)。这是我国医药卫生界首次获得来自越南、柬埔寨的最高级别荣誉。

美国科学院院士路易斯米那(Louis Mina)在公开场合曾说:“青蒿素的发明是一个接力棒式的过程,



图 19 李国桥教授

Fig. 19 Prof. LI Guo-qiao

屠呦呦第一个把青蒿带到课题组并发现了青蒿提取物有效;罗泽渊第一个从菊科的黄花蒿里获得了供临床研究的抗疟单体青蒿素;李国桥第一个临床验证青蒿素疗效。”这一说法得到在场大多数“523”项目老科学家的认可。从奖励源头创新的理念出发,诺贝尔奖颁发给屠呦呦研究员也是名至实归。

7 天然药物研究展望

自然界的生物在其漫长的进化过程中合成了许多结构复杂新颖的次生代谢产物,这些天然次生代谢产物结构的多样性不但极大丰富了分子数据库,还可以为化学合成和结构修饰提供灵感,天然产物在抗癌、抗感染、免疫和中枢神经系统药物等方面已经显示巨大优势,已成为发现治疗重大疾病的药物或重要先导化合物的主要源泉之一。

我国横跨热带、温热带和亚寒带,不仅陆地面积辽阔而且海岸线绵长,地形多变、气候条件复杂,孕育和生长了大量珍贵的生物资源,已经证实的药用植物有12 000多种,为发现有效生物活性成分、筛选先导化合物提供了极其有利的自然条件。特别是中医药在我国有几千年的悠久历史,经过一代代人的实践应用和总结归纳,既有完整的理论体系又有临床经验,基本明确了部分植物、动物、矿物以及微生物等的药理效应和毒性反应,为筛选先导化合物提供了宝贵的信息和基础。正如屠呦呦在拉斯克颁奖典礼时感言:“在青蒿素发现的过程中,古代文献在研究的最关键时刻给予我灵感”。

据报道,虽然中国为世界贡献了7成以上的青蒿素原料,但中国企业在这一产业的竞争力却十分有限,利润丰厚的下游部分被国际巨头把控,青蒿素的发现给我国带来了荣誉,但并没有带来与之相应的巨大经济效益。近30年来国家科研经费投入大幅增加,如2009年国家就投入500亿元支持新药开发,但确没有更好的新药发现。

历史上大量应用治疗疟疾的著名药物至少有3个,其中2个来自天然药物,即喹啉和青蒿素,另1个是化学合成药物氯喹。生存环境的巨大差异意味着生物种类的多样性、次生代谢产物结构的多样性、作用机制的多样性及人类无法想象的巨大收益。在现代药物研究中,每一次具有轰动效应的药物出现一般都伴随着一种新类型天然产物的发现,不但推动了科学的发展,也推动了人类的健康进步。2015年屠呦呦研究员获得诺贝尔生理或医学奖打开了我国本土科学家获得诺贝尔自然科学奖的大门,在不

远的将来会有更多的本土科学家摘取诺贝尔自然科学奖。诺贝尔奖并非高不可攀,但需要扎实的工作。

本文是天然药物化学史话系列系列文章^[42-49]之一,最初原文2011年9月30日发表于河北医科大学学报,应《中草药》杂志的邀请,在屠呦呦研究员获奖1周年之际重新整理而成,以示纪念。本文大部分图片来源于网络,特此感谢。

参考文献

- [1] 郭瑞霞,李力更,付炎,等.天然药物化学史话:奎宁的发现、化学结构以及全合成[J].中草药,2014,45(19):2737-2742.
- [2] 史清文,李力更,霍长虹,等.天然药物化学研究与新药开发[J].中草药,2010,41(10):1583-1589.
- [3] 王满元.青蒿素类药物的发展历史[J].自然杂志,2012,34(1):44-47.
- [4] 屠呦呦.青蒿及青蒿素类药物[M].北京:化学工业出版社,2009.
- [5] Tu Y Y. Chemical studies on qinghaosu [J]. *J Tradit Chin Med*, 1982, 2(1): 3-8.
- [6] 卢义钦.青蒿素的发现与研究进展[J].生命科学研究,2012,16(3):260-265.
- [7] 广东海南抗疟临床研究协作组.青蒿素治疗抗氯喹疟疾65例的效果观察[J].新医药学杂志,1979(1):12-16.
- [8] 李国桥.青蒿素治疗凶险型恶性疟48例临床报告[J].新医药学杂志,1979(1):17-20.
- [9] White N J, Pukrittayakamee S, Hien T T, et al. Malaria [J]. *Lancet*, 2014, 383(9918): 723-735.
- [10] 骆伟,刘杨,丛琳,等.青蒿素及其衍生物的研究进展[J].中国药物化学杂志,2012,22(2):155-166.
- [11] 梁晓天,于德泉,吴伟良,等.鹰爪甲素的化学结构[J].化学学报,1979,37(2):129-132.
- [12] 青蒿素结构研究协作组.一种新型的倍半萜内酯—青蒿素[J].科学通报,1977(3):142.
- [13] 刘静明,倪慕云,樊菊芬,等.青蒿素(Artemisinin)的结构和反应[J].化学学报,1979,37(2):129-143.
- [14] Schmid G, Hofheinz W. Total synthesis of Quinghaosu [J]. *J Am Chem Soc*, 1983, 105(3): 624-625.
- [15] Xu X X, Zhu J, Huang D Z, et al. Total synthesis of artemisinin and deoxyartemisinin [J]. *Tetrahedron*, 1986, 42(3): 819-828.
- [16] 孔建强,王伟,程克棣,等.青蒿素的合成生物学研究进展[J].药学报,2013,48(2):193-205.
- [17] Yadav J S, Thirupathaiah B, Srihari P. A concise stereoselective total synthesis of (+)-artemisinin [J]. *Tetrahedron*, 2010, 66(11): 2005-2009.
- [18] 张万斌,刘德龙,袁乾家.一种由青蒿酸制备青蒿素的方法:中国,CN102718773 A [P]. 2012-06-05.

- [19] Zhu C Y, Cook S P. A Concise synthesis of (+)-artemisinin [J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(33): 13577-13579.
- [20] 周维善, 许杏祥. 抗疟倍半萜过氧化物青蒿素和鹰爪素 A 的全合成 [J]. *化学学报*, 2000, 58(2): 135-143.
- [21] Yadav J S, hirupathaiah B, Srihari P. A concise stereoselective total synthesis of (+)-artemisinin [J]. *Tetrahedron*, 2010, 66(11): 2005-2009.
- [22] 刘旭. 青蒿素衍生物的研究 [J]. *药学通报*, 1980, 15(4): 183.
- [23] 刘旭. 抗疟药青蒿琥酯的研究 [J]. *药学进展*, 1999, 23(1): 46-52.
- [24] 李英, 虞佩琳, 陈一心, 等. 青蒿素衍生物的合成 [J]. *科学通报*, 1979, 24(14): 667-669.
- [25] 李英, 虞佩琳, 陈一心, 等. 青蒿素类似物的研究 [J]. *化学学报*, 1982, 40(6): 557.
- [26] Paitayatat S, Tarnchompoo B, Thebtaranonth Y, et al. Correlation of antimalarial activity of artemisinin derivatives with binding affinity with ferroprotoporphyrin IX [J]. *J Med Chem*, 1997, 40(5): 633-638.
- [27] Xiao D, Yang B, Chen Y J, et al. Synthesis of water soluble C-10-phenoxy artemisinin-chitosan conjugate [J]. *Asian J Chem*, 2013, 25(8): 4654-4656.
- [28] Liu Y, Wong V K W, Ko B C B, et al. Synthesis and cytotoxicity studies of artemisinin derivatives containing lipophilic alkyl carbon chains [J]. *Org Lett*, 2005, 7(8): 1561-1564.
- [29] Li Y, Shan F, Wu J M, et al. Novel antitumor artemisinin derivatives targeting G1 phase of the cell cycle [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11(1): 5-8.
- [30] Li Y, Wu J M, Shan F, et al. Synthesis and cytotoxicity of dihydroartemisinin ethers containing cyanoarylmethyl group [J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11(6): 977-984.
- [31] Liu G, Song S S, Shu S Q, et al. Novel spirobicyclic artemisinin analogues (artemalogues) synthesis and antitumor activities [J]. *Eur J Med Chem*, 2015, 103(1): 17-28.
- [32] 杨西刚. 马来酸蒿乙醚胺的合成工艺和代谢产物研究及新型青蒿素衍生物的合成 [D]. 上海: 华东理工大学, 2014.
- [33] 林龙勇, 张海燕. 青蒿素又挑战红斑狼疮屠呦呦研究团队新成果获批开展临床试验 [N/OL]. 2016-04-13. <http://gd.people.com.cn/GB/n2/2016/0413/c123932-28133800.html>.
- [34] 生物物理研究所青蒿素协作组. 青蒿素的晶体结构及其绝对构型 [J]. *中国科学*, 1979(11): 1114-1128.
- [35] 刘静明, 倪慕云, 樊菊芬, 等. 青蒿素的结构和反应 [J]. *化学学报*, 1979, 37(2): 129-142.
- [36] Klayman D L. Qinghaosu (artemisinin): An antimalarial drug from China [J]. *Science*, 1985, 228(4703): 1049-1055.
- [37] Hsu E. The history of qing hao in the Chinese materia medica [J]. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, 2006, 100(6): 505-508.
- [38] Liao F L. Discovery of artemisinin (Qinghaosu) [J]. *Molecules*, 2009, 14(12): 5362-5366.
- [39] Miller L H, Su X Z. Artemisinin: Discovery from the Chinese herbal garden [J]. *Cell*, 2011, 146(6): 855-858.
- [40] Tu Y Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine [J]. *Nat Med*, 2011, 17(10): 1217-1220.
- [41] 李明, 郝宁. 青蒿素背后的故事 [J]. *生物物理学报*, 2011, 27(12): 989-991.
- [42] 史清文. 天然药物化学史话: 紫杉醇 [J]. *中草药*, 2011, 42(10): 1878-1884.
- [43] 郭瑞霞, 李鹭, 李力更, 等. 天然药物化学史话: 银杏内酯 [J]. *中草药*, 2013, 44(6): 641-645.
- [44] 李鹭, 刘诣, 李力更, 等. 天然药物化学史话: 岩沙海葵毒素的全合成 [J]. *中草药*, 2013, 44(18): 2630-2633.
- [45] 郭瑞霞, 李力更, 王磊, 等. 天然药物化学史话: 河豚毒素 [J]. *中草药*, 2014, 45(9): 1330-1335.
- [46] 付炎, 李力更, 王于方, 等. 天然药物化学史话: 维生素 B12 [J]. *中草药*, 2015, 46(9): 1259-1264.
- [47] 郭瑞霞, 李力更, 王于方, 等. 天然药物化学史话: 天然产物化学研究的魅力 [J]. *中草药*, 2015, 46(14): 2019-2033.
- [48] 郭瑞霞, 李力更, 王于方, 等. 天然药物化学史话: 甾体化合物 [J]. *中草药*, 2016, 47(8): 1251-1264.
- [49] 王思明, 王于方, 李勇, 等. 天然药物化学史话: 来自海洋的药物 [J]. *中草药*, 2016, 47(10): 629-1642.