

藏药佐太起效形式研究

张婷 贾雯靖 岳会兰 毕齐茂 刘辉 周国英 赵晓辉

(中国科学院西北高原生物研究所青海省青藏高原特色生物资源研究

重点实验室, 西宁 810000)

摘要: 藏药佐太是我国藏医药中配制珍宝类药物必不可少的佐辅剂, 藏医药理论认为佐太具有增强复方药物中诸药疗效的作用, 但其增效作用的起效形式和机制至今还未明确, 制约了佐太的应用和发展。本研究首次发现, 佐太能够在细胞、动物和人体中被生物有机体自体合成为核心粒径5nm~7nm的纳米颗粒, 外围包裹蛋白质, 整体粒径在40nm~190nm之间。佐太的增效作用可能与其在体内合成的纳米颗粒相关, 佐太可能以纳米载体的形式促进药物到达靶器官, 促进药物富集, 从而实现协同增效作用。

关键词: 藏药; 佐太; 单体药物; 纳米药物; 协同增效作用

中图分类号: R961

文献标识码: A

文章编号: 1005-9393(2021)01-0047-04

藏药佐太是藏医药中最重要的佐辅剂, 始记于公元8世纪藏医药经典著作《四部医典》, 是含重金属藏药的集中典型代表和核心制剂^[1-2]。佐太是由水银添加各种辅助药物后经过特殊复杂工艺加工炮制而得的一种具有独特作用的蓝黑色粉末制剂, 其主要成分为 β -HgS。藏医药理论认为佐太在藏药复方药物中具有减毒增效的作用, 能够增强复方中诸药的疗效。另外, 佐太还有调血、清热解毒和滋补强身的功效^[3-5]。一般作为佐辅剂用来配制“七十味珍珠丸”“仁青常觉”“仁青芒觉”等珍宝类复方药物^[4-7]。

尽管藏医药理论中一直宣称佐太具有增强诸药效果的作用, 但是其增效作用的效果及其机制缺少系统数据和现代理论支持, 相关研究仍属空白。因此, 佐太仍旧以“神奇、神秘”的作用在复方药中存在, 导致该类药物在青藏地区接受度较高, 而在东部地区很难接受, 甚至对其是否有增效作用产生质疑, 这就严重制约了含佐太类药

物的市场接受度。

目前利用生物有机体设计合成兼具优良生物相容性和靶向性纳米金属材料的研究已是当前的新兴领域。国内外在金属类纳米药物领域进行了一系列的研究^[8-15], 结果表明低等生物甚至高等生物能够将金属盐合成纳米颗粒, 这为佐太的增效作用研究提供了思路。佐太中的主要成分含有重金属, 那么佐太进入生物体后是否也能够被自体合成纳米颗粒? 是否是这些纳米颗粒促进药物增效? 通过对藏药佐太起效形式的研究, 为佐太的应用和发展提供科学依据。

1 佐太对复方药物和单体药物的促药物吸收富集和增效作用

1.1 佐太对两种复方药物中主要药效成分进入细胞内部的促进作用

选择七十味珍珠丸和仁青常觉两种含佐太的

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才(西部青年学者[2018]99); 青海省科技合作专项(2018-HZ-815)。

作者简介: 张婷(1996—), 女, 硕士生, 研究方向为中药药理学; 赵晓辉(1979—), 男, 博士, 副研究员, 研究生导师, 研究方向为天然产物研究。

藏药经典复方制剂，通过提取分离手段，提取主要成分并去除其中的佐太成分，得到七十味珍珠丸提取物(QSW)和仁青常觉提取物(RQCJ)。通过对比单独提取物给药和佐太联合QSW和RQCJ给药发现，添加佐太能够显著促进两种提取物进入HN4、K562和HepG2三种细胞内部，实现药物成分的胞内富集。该研究证实，佐太在复方药物中具有促进主要成分吸收的作用，其对复方药物的增效作用与促进药物吸收相关。

1.2 佐太对抗癌单体药物柔红霉素进入细胞内部的促进作用

由于藏药复方药物成分复杂，属于综合施治，很难确定起效成分及对应的疾病模型，因此很难确定佐太对藏药复方药物的增效作用。因此，本研究通过选用抗癌单体药物柔红霉素为研究对象，考察佐太促进药物进入癌细胞内部及促凋亡效果。研究结果显示佐太在体外能够促进药物进入

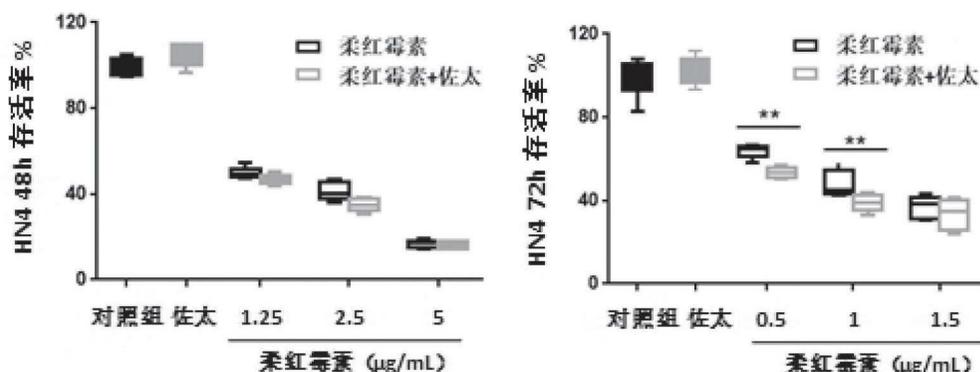
癌细胞内吸收富集，并且能够显著增加柔红霉素对HN4、K562和HepG2三种癌细胞的促凋亡作用；体内实验同样证实，佐太能够提高柔红霉素对K562移植瘤生长的抑制作用，说明佐太能够通过促进单体药物柔红霉素的吸收进而实现增效作用。通过对单体药物的体内外增效作用研究发现，佐太促进了单体药物在体内外的吸收富集从而达到协同增效目的，但佐太的起效形式和增效作用机制仍需深入研究。

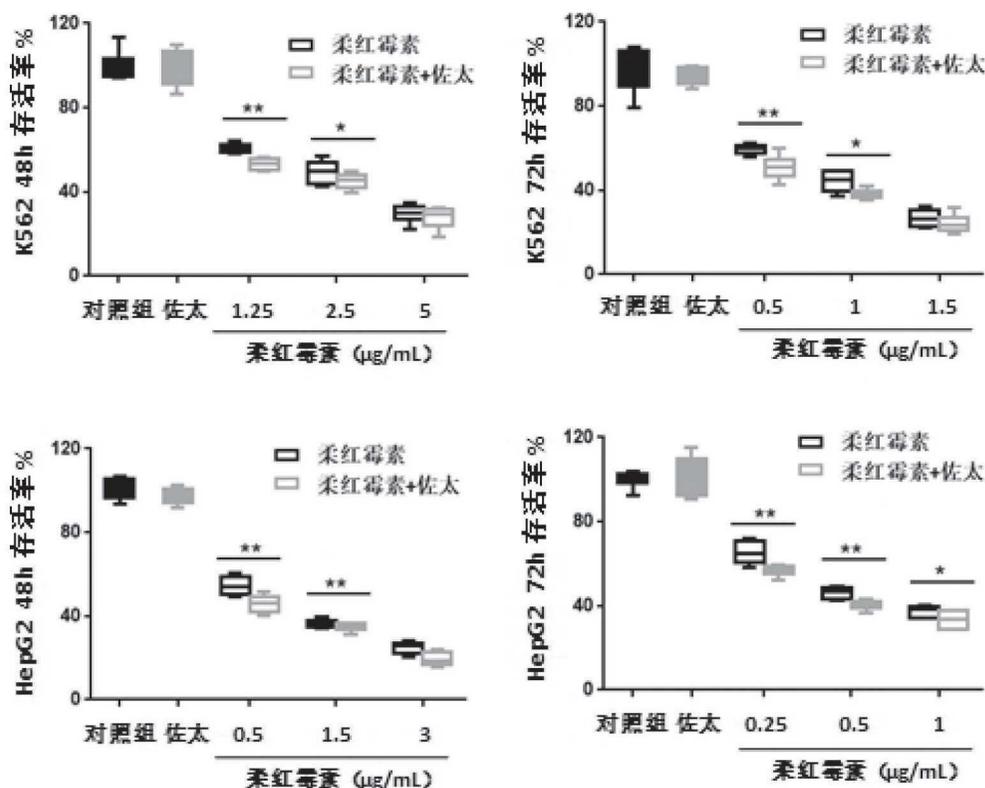
通过初步探究佐太对单体药物柔红霉素的增效作用发现，佐太促进了单体药物柔红霉素在体内外的吸收富集且达到协同增效目的，但佐太的起效形式和增效作用机制仍需深入研究。佐太的主要成分为HgS，作为金属类药物，其促进药物的吸收富集可能是通过纳米载体的形式实现的，为了验证这一想法，我们对佐太在体内的存在形态进行了观察。

表1 流式细胞术检测佐太对药物促癌细胞凋亡的增效作用 (X±S, n=5)

组别	细胞凋亡率 (%)		
	HN4	K562	HepG2
对照组	10.05 ± 0.6181	7.014 ± 0.5129	6.64 ± 0.6506
佐太组	9.318 ± 0.4088	7.314 ± 0.617	6.914 ± 0.654
柔红霉素组	13.74 ± 0.489**△△	40.23 ± 1.035***△△△	15.2 ± 0.964***△△△
柔红霉素+佐太组	20.13 ± 0.777***△△△###	45.29 ± 1.166***△△△#	47.07 ± 1.06***△△△##

注：与对照组比较：**P<0.01, *** P<0.001；与佐太组比较：△△ P<0.01, △△△ P<0.001；与柔红霉素组比较：# P<0.05; ## P<0.01; ### P<0.001。





注：与柔红霉素组比较：*p<0.05, **p<0.01。

图1 MTT法检测佐太对药物促癌细胞凋亡的增效作用

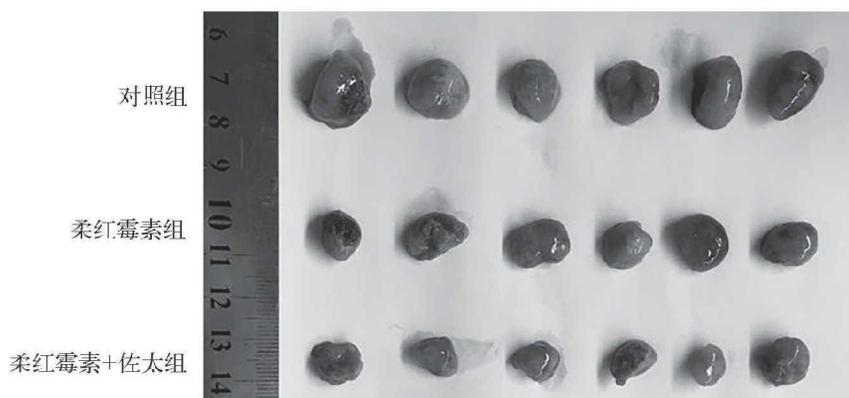


图2 BALB/c裸鼠移植瘤模型及各组裸鼠肿瘤体积

2 佐太纳米颗粒的发现

佐太的主要成分为 HgS，作为金属类佐辅剂，其促进药物吸收富集的作用是否以纳米载体的形式实现？为了验证这一想法，我们对佐太在体内的存在形态进行了研究。

经课题组研究证实小鼠或体外细胞给予佐太，能够自体合成佐太纳米颗粒，从服用佐太类药物的患者血液中也检测到了类似的纳米颗粒。生物合成的佐太纳米颗粒（ZT-NPs）经超高速梯度离心结合 HPLC 或透析方法进行分离纯化，利用 TEM、SEM 等手段进行结构表征。研究显示 ZT-NPs 整体粒径分布在 40nm~190nm 范围，

其核心粒径为 5nm~7nm, 且元素分析结果证实核心由 Hg 和 S 元素组成。本研究首次发现, 佐太能够在细胞、动物和人体中被生物有机体自体合成成为粒径均一的纳米颗粒, 这为佐太可能的起效

形式研究奠定了基础。佐太促药物的增效作用可能与其在体内合成的纳米颗粒相关, ZT-NPs 可能以纳米载体形式实现药物的靶向递药和协同增效作用。

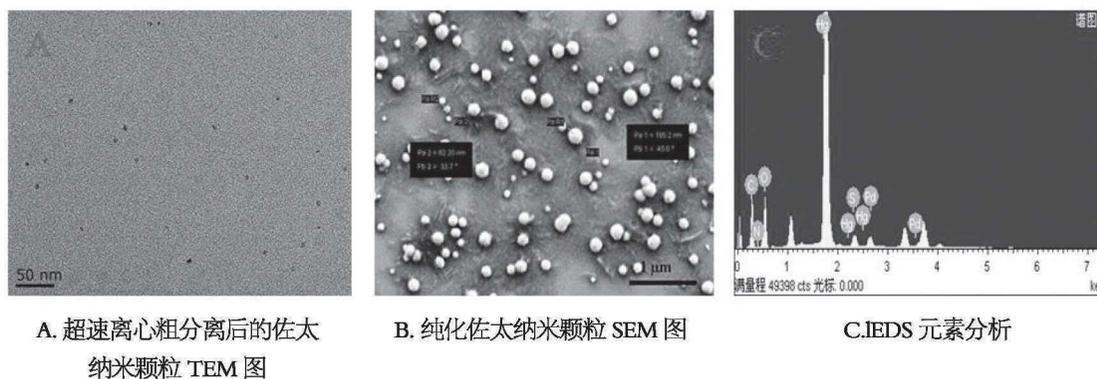


图 3 ZT-NPs 的体内形态及结构表征

3 展望

近年来, 化学合成金属纳米颗粒在药物的靶向给药、可控释载药和医学影像学等方面表现出众多优势, 具有良好的应用前景^[16]。本研究对藏药佐太的增效作用和起效形式进行了研究, 证实佐太能够促进复方药物和单体药物的吸收而实现增效作用, 并且首次发现其增效作用可能与其在体内合成的纳米颗粒相关。该研究使我们有可能揭示佐太的协同增效作用机制, 用科学数据和理论佐证藏医药理论对佐太增效作用的阐述, 也可能为中医药中重金属制剂应用的合理性提供用药理论依据, 并且生物自体合成纳米颗粒与化学合成纳米载体相比具有众多优势, 这可能为佐太的合理开发和更广泛应用奠定理论基础。

参考文献:

- [1]李岑.藏药佐太中硫化汞大鼠胃肠转化形态与吸收研究[D].西宁:西北高原生物研究所,2014.
- [2]宇妥·元丹贡布,等.四部医典[M].上海:上海科学技术出版社,1987.
- [3]王曼曼,吕叶子,索朗,等.藏药水银洗炼法与藏药的发展现

状及对策[J].中国民族医药杂志,2018,24(12):26-28.

- [4]LIU J, ZHANG F, RAVIKANTH V, et al. Chemical compositions of metals in Bhasmas and Tibetan Zuotai are a major determinant of their therapeutic effects and toxicity[J].Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,2019(4):1-13.
- [5]蓝高武,陈忠杰,李文虎,等.藏药“佐塔”的成分分析[J].时珍国医国药,2011,21(12):3209-3211.
- [6]杨梦,周雪姣,李向阳.藏药佐太的研究现状与进展[J].药学研究,2016,35(11):663-667.
- [7]LIANG L Z, HAI J C, QIANG Q H, et al. Evaluation of hepatotoxicity potential of a potent traditional Tibetan medicine Zuotai[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2019, 234(4):112-118.
- [8]STURZENBAUM S R, HOCKNER M, PANNEERSELVAM A, et al. Green M. Biosynthesis of luminescent quantum dots in an earthworm[J]. Nature Nanotechnology, 2012, 8(1):57-60.
- [9]JAFARIRAD S, MEHRABI M, DIVBAND B, et al. Biofabrication of zinc oxide nanoparticles using fruit extract of Rosa canina and their toxic potential against bacteria: a mechanistic approach[J]. Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications, 2016, 59:296-302.

(下转第60页)

3.3 政府牵线, 积极推进产学研创的深度融合

鼓励企业、高校、科研机构或其他科研组织建立科研联盟, 明确产学研合作方式和各自权责, 在科研项目中加大企业的参与度, 各方共同享受利益共同承担风险。政府适当减少科技研究前期补助比例, 增加中试环节的资金补助, 降低企业科研成本, 通过市场机制为生产企业服务, 为高校熟化科技成果。同时财政资金应减少对生产企业研发活动的直接支持, 鼓励其在提高自身研发能力的同时, 向技术开发型企业购买成果和服务, 促进高新技术成果快速地横向流动。

3.4 创新人才流动机制

为科研工作者提供更多地深入企业的机会, 让科研人员为企业提供技术保障、技术服务等工作, 在实际工作中一方面科研人员更了解企业的需求, 做起研究来更接地气, 另一方面让成果转化起来更容易。对于已经有好成果的研究人员, 高校也应该为他们创造良好的外部条件, 可以离岗创业或者在企业挂职、兼职等方式推动科研成果转化工作, 并对高校的专家、学者等科研人员离岗期限与待遇等做出明确的规定^[6]。建立成果转化尽职免责机制, 营造激励转化、宽容失败的浓厚氛围, 打消高校及项目负责人开展科研成果转化工作的顾虑。

3.5 改革科研评价体系, 侧重成果的中长期效益

对科研人员进行考核时, 为有效地促进高校科研工作人员对科研成果转化的积极性, 可以改变职称评定导向, 譬如将成果转化转移和服务企业等纳入分类评价机制, 重视标志性成果, 侧重中长期社会价值, 加大对成果实用性和产生效益的重视, 将学术和实际应用充分结合起来, 构建一套有效地促进科研人员科技成果转化的科研评价体系。

参考文献:

- [1]杨君宝. 高校科技成果转化效率的制约因素及对策探索[J]. 产业与科技论坛, 2020, 19(7): 129-130.
- [2]牛文科. 高校科技成果转化模式创新研究[J]. 中国科技产业, 2020(12): 39-41.
- [3]李志红. 粤港澳大湾区科技成果转化路径浅析[J]. 科技与金融, 2020(12): 33-35.
- [4]陈颖. 高校院所科技成果转化提档加速[J]. 决策探索, 2020(12): 20-23.
- [5]罗茜, 顾晓燕. 高校院所科技成果转化收益分配管理机制的解析与运行[J]. 金陵科技学院学报(社会科学版), 2006(2): 6-9.
- [6]钱智, 刘钢, 宋琰, 等. 上海高校科技成果转移转化的问题与对策[J]. 科学发展, 2020(11): 5-12.
- [10] AMBIKA S, SUNDRARAJAN M. Green biosynthesis of ZnO nanoparticles using Vitex negundo L. extract: spectroscopic investigation of interaction of interaction between ZnO nanoparticles and human serum albumin[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology, 2015, 149(5): 143-148.
- [11] SANGEETHA G, RAJESHWARI S, VENCKATESH R. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: structure and optical properties[J]. Materials Research Bulletin, 2011, 46(12): 2560-2566.
- [12] Wang J L, Zhang G, Li Q W, et al. In vivo self-bio-imaging of tumors through in situ biosynthesized fluorescent gold nanoclusters[J]. Scientific Reports, 2013, 3(5): 1157-1163.
- [13] GAO S P, CHEN D H, LI Q W, et al. Near-infrared fluorescence imaging of cancer cells and tumors through specific biosynthesis of silver nanoclusters[J]. Scientific Reports, 2014, 4(3): 4384-4390.
- [14] Kang Y J, Wu Y Z, Hu X Y, et al. Multicolor bioimaging with biosynthetic zinc nanoparticles and their application in tumor detection[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 45313-45324.
- [15] WU Y Z, SUN J, YANG H W, et al. Biosynthetic mechanism of luminescent ZnO nanocrystals in the mammalian blood circulation and their functionalization for tumor therapy[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 10(1): 105-113.
- [16] 李珺, 李晓桐, 赵明. 无机纳米材料及其在生物医学方面的应用研究[J]. 医疗卫生装备, 2015(7): 97-101.

(上接第50页)