

## 马兜铃酸发明专利技术给中药毒性成分研究开发的启示

杨 媛

中华人民共和国国家知识产权局专利局医药生物发明审查部中药一处, 北京 100088

**摘要:** 中药毒性成分是造成中药不良反应的重要原因之一。选择马兜铃酸作为中药毒性成分代表, 检索了含马兜铃酸发明专利申请文献, 对上述专利技术现状进行了梳理, 以期对中药毒性成分的研究开发提供参考, 达到减少中药不良反应发生的目的, 保障临床用药安全。

**关键词:** 马兜铃酸; 发明专利; 中药毒性; 不良反应

**中图分类号:** R282

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1674 - 6376 (2018) 05 - 0748 - 05

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.05.006

## Enlightenments of Aristolochic Acid Patented or patent-pending Technology to Research and Development of Toxicity Components of Traditional Chinese Medicine

YANG Yuan

State Intellectual Property Office of the PRC, Beijing 100088, China

**Abstract:** The toxic components is one of the important causes of adverse reactions of TCM. Aristolochic acid as a typical representative of the toxic components of TCM, we searched and combed more than a hundred patent applications about aristolochic acid, analyzed and researched above patent technology, obtain some enlightenments, which may provide reference for the research and development of toxic components of TCM and to reduce the occurrence of adverse reactions of TCM, so as to ensure the safety of clinical medication.

**Key words:** aristolochic acid; patent; toxicity components of traditional Chinese medicine; adverse reaction

中医药是中华文明的瑰宝, 几千年来为中华民族的繁衍生息作出了巨大贡献。党的十九大报告明确指出, 坚持中西医并重, 传承发展中医药事业。中药历史悠久且是多成分的复方制剂, 以疗效可靠、安全性好而著称, 但是中药也仍然存在不良反应, 隐藏在中药中的毒性成分便是中药不良反应的重要原因之一。比如“龙胆泻肝丸致肾损害”事件中的元凶马兜铃酸<sup>[1]</sup>, 最近由于被新发现具有肝毒性而再次处于风口浪尖, 公众也再次对中药的安全性提出质疑, 甚至有提议禁用含毒性成分的中药。那么, 中药毒性成分是否还值得研究? 在保障临床用药安全的前提下, 应该如何对其进行开发利用?

关于中药毒性成分的研究报道较多, 但是涉及到中药毒性成分发明专利文献分析方面的文章却鲜见。发明专利文献是申请人向希望得到专利保护的

国家或地区专利局提出发明专利申请时所提交的文献, 记录了有关该项技术方案的详细信息。对某项特定技术的专利文献进行统计分析, 往往能反映该技术的发展趋势和最新动态, 从而启迪和拓展研发思路。笔者选择了马兜铃酸作为中药毒性成分的代表, 对涉及马兜铃酸的发明专利申请(主要是国内申请)进行了检索和分析, 希望能给广大中医药工作者提供参考。

马兜铃酸(Aristolochic acid)类成分是指与nitrophenanthrene carboxylic acids结构相关的一类化合物, 在最新发现马兜铃酸会造成肝癌风险之前, 20世纪90年代, 欧洲报道部分患者由于使用中药减肥导致出现肾损害, 后证实病因为这些中药中含有的马兜铃酸类成分<sup>[2]</sup>。马兜铃酸类成分有明显的细胞毒性, 能够诱导肾小管上皮细胞凋亡, 造成肾

收稿日期: 2018-02-12

第一作者: 杨媛(1983—), 女, 硕士研究生, 主任科员, 工作领域: 中药专利审查。E-mail: yangyuan@sipo.gov.cn

间质细胞异常增生,最终导致肾小管萎缩、肾间质纤维化形成<sup>[3]</sup>。马兜铃酸具有致癌作用,研究表明,其可以导致胃癌、淋巴癌、尿道上皮癌和肾腺癌等,此外,马兜铃酸还具有生殖毒性,可引起动物胎仔死亡<sup>[4]</sup>。由此可见,马兜铃酸具有较强的毒性,临床应严格管理,限制其长期使用,国家食品药品监督管理局也于2003年和2004年发出通知,取消了含马兜铃成分的中药材青木香、关木通、广防己(马兜铃科)的药用标准(参见国药监注[2004]379和[2003]121号)。2017年10月18日,美国《科学转化医学》(Science Translation Medicine)期刊发表封面文章指出马兜铃酸与亚洲肝癌广泛相关<sup>[5]</sup>。

## 1 涉及马兜铃酸类物质的发明专利技术现状分析

### 1.1 马兜铃酸类发明专利在全球总体申请情况概要

为全面分析涉及马兜铃酸的发明专利申请情况,本文在进行尽可能详尽检索的基础上完成,使用的数据库为国家知识产权局专利检索与服务系统中的中文数据库CNABS和英文专利数据库DWPI。截止检索日为2017年11月23日,向中国国家知识产权局提出的涉及马兜铃酸的发明专利申请共88篇,向其他国家专利局申请的外文专利申请共58篇(剔除中文同族专利)。可以看出,我国是马兜铃酸类发明专利的主要申请国,占总申请量的60.3%;其他国家或地区中,欧洲申请量最大,为22篇,占总申请量的15.1%;其次是美国,为15篇,占总申请量的12.3%(2016—2017年部分专利至今仍在18个月之内,即有部分2016—2017申请的专利处于未公开状态,本文数据不能真实反映上述年度申请量的真实情况)。作为传统的中医药大国,我国在中医药领域的研发实力雄厚,巨大的中医药市场蛋糕也是各大天然药物生产企业主要争夺的对象,因此我国成为马兜铃酸类发明专利的主要申请国也是情理之中。

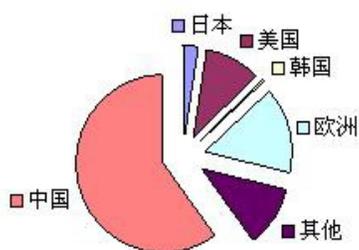


图1 马兜铃酸发明专利申请各国分布情况

Fig. 1 Distribution of patent applications for the invention of a patent for aristolochic acid

尽管人们对马兜铃酸的毒性危害认识日益清晰,但是含马兜铃酸的发明专利申请量并没有受此影响,2004年至今每年的申请量与2003年相比数量上均是在增长,在2013年达到20件的巅峰,虽然2014年和2015年出现回落,但总体仍然处于增长状态。广大企业和科研机构等单位对马兜铃酸的研发热情可见一斑。

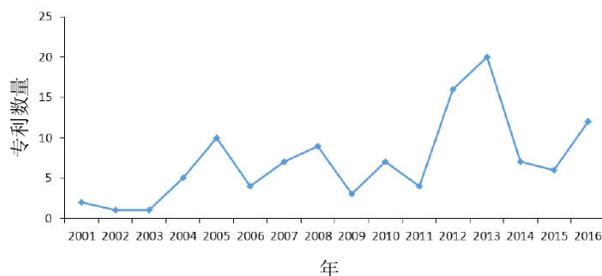


图2 中国马兜铃酸发明专利申请量变化趋势

Fig. 2 Change trend of patent application for aristolochic acid in China

## 2 在中国申请的马兜铃酸发明专利情况

在向中国国家知识产权局提出的涉及马兜铃酸的88篇发明专利申请中,46件涉及马兜铃酸的检测方法,占52.3%;14件涉及使用了马兜铃酸的医疗器械,占16.0%(上述发明专利的发明点不在于马兜铃酸,仅表示上述医疗器械具有运载各种药物的能力包括马兜铃酸,故在此不作分析讨论)。此外,还涉及中药中马兜铃酸的富集方法、含马兜铃酸的药物、含马兜铃酸的中药的炮制方法等等。

### 2.1 不同类型专利介绍

**2.1.1 检测方法类发明专利** 马兜铃酸的检测方法占据了涉及马兜铃酸发明专利申请总量的半壁江山。在上述涉及马兜铃酸检测方法的发明专利申请中,有采用气相、液相色谱法等传统的分析检测手段,也有采用了单克隆抗体等生物技术手段的检测方法;检测对象既有原料药、成药,更有血液等生物样品、化妆品等不同对象;既有单独检测马兜铃酸一种化学成分的方法,也有同时检测多种成分的检测方法,有的检测方法还包括了马兜铃酸的富集方法。

长沙安迪生物科技有限公司的申请号为CN201510313893专利<sup>[6]</sup>公开了一种马兜铃酸A快速检测卡。该快速检测卡主体结构为含抗马兜铃酸A单克隆抗体胶体金(或乳胶颗粒)标志物的玻璃纤维膜,应用免疫学的方法直接检测中药材或中成药中的马兜铃酸A残留量。该专利申请的发明点在

于制备含抗马兜铃酸 A 单克隆抗体胶体金(或乳胶颗粒)标志物并将其应用于中药材或中成药中的马兜铃酸 A 残留量检测。上述专利申请已经于 2017 年 1 月得到授权。

山东阿如拉药物研究开发有限公司的申请号为 CN201210523974 的专利<sup>[7]</sup>公开了一种藏药组合物的质量检测方法,其中涉及到采用高效液相色谱法对马兜铃酸 A 进行检测。该高效液相色谱检测法以体积分数比 40:60 的甲醇-体积分数比 1%冰醋酸水溶液为流动相,检测波长为 315 nm,理论板数按木香马兜铃酸峰计算应不低于 3 000,对照品和供试品采用甲醇处理。该藏药组合物风湿塞隆胶囊中马兜铃酸 A 的含量不得高于 10  $\mu\text{g/g}$ 。该专利申请的发明点在于排除中药制剂中辅料和其他原料药的干扰,采用高效液相色谱法对马兜铃酸 A 进行检测。上述专利申请已经于 2016 年 4 月获得授权。

吉林烟草工业有限责任公司的申请号为 CN201310189673 的专利<sup>[8]</sup>公开了一种同时检测水杨酸、马兜铃酸 A、甜蜜素和  $\beta$ -萘酚的方法,该方法在萃取过程中,屏蔽掉待测样品中部分干扰物质对水杨酸、马兜铃酸 A、甜蜜素和  $\beta$ -萘酚测定的干扰,而且在进行质谱检测时,采用电喷雾电离负离子模式和多反应监测扫描,通过对二级离子碎片的定量测定,能够更加准确的测定待测样品中水杨酸、马兜铃酸 A、甜蜜素和  $\beta$ -萘酚的含量。该专利申请的发明点在于,对烟用添加剂中的多种成分“马兜铃酸 A、甜蜜素和  $\beta$ -萘酚”同时进行快速定量筛查与评价。该专利申请已经于 2015 年 3 月获得授权。

西安交通大学的申请号为 CN201710017956 的专利<sup>[9]</sup>公开了一种从中成药龙胆泻肝丸中富集与检测微量马兜铃酸 A 的方法。先进行硅胶的活化,然后进行硅胶表面改性,再在硅胶表面合成分子印迹聚合物,用分子印迹聚合物装柱,以甲醇活化得到分子印迹-固相萃取柱,用分子印迹-固相萃取柱检测富集中成药龙胆泻肝丸中的马兜铃酸 A。该专利申请的发明点在于排除辅料和其他原料成分的干扰,从中成药富集和检测微量马兜铃酸 A。上述专利申请目前正处于等待实质审查阶段。

可以看出检测方法类发明专利是目前马兜铃酸发明专利申请的主要方向,这与人们对药品食品安全性日益提升的重视程度是密不可分的。目前关于马兜铃酸检测方法类专利的数量较多、种类分布较广,如果想在该领域技术研发上取得成绩,则需要

在技术的深度上下功夫。

**2.1.2 药物类发明专利** 使用了马兜铃酸单体的药物类发明专利在马兜铃酸类发明专利中数量不多,他们具有的共同点是在进行药效试验的同时均对该药物的肾毒性进行了观察评定。需要说明的是,含马兜铃酸的中药材“青木香”、“关木通”、“广防己”,具有较为严重的肾毒性,国家食品药品监督管理局已发出通知,取消青木香、关木通、广防己(马兜铃科)的药用标准(参见国药监注[2004]379 和 [2003]121 号)。鉴于上述青木香等原料药的使用会给公众的健康造成危害,妨害公共利益,如果专利申请请求保护的技术方案包含了上述中药材,那么该专利申请会由于不符合专利法第 5 条的规定而得不到授权。而对于其他含马兜铃酸的中药材,国药监注[2004]379 和 [2003]121 号中还规定“凡含有马兜铃、寻骨风、天仙藤和朱砂莲的中药要严格进行管理”,因此,涉及中药材马兜铃、寻骨风、天仙藤和朱砂莲的专利申请虽然不涉及不符合专利法第 5 条缺陷的问题,但是必须提供相关的实验资料保证其安全性。

孔徐生、刘洋和孔翔的申请号为 CN201310054582 的专利<sup>[10]</sup>公开了马兜铃酸在制备治疗类风湿性关节炎的药物中的应用,说明书中公开的马兜铃酸外用凝胶剂可有效抑制类风湿性关节炎且无肾毒性反应。该专利申请的发明点在于马兜铃酸的新用途。上述专利申请已经于 2016 年 8 月视为撤回。

新乡医学院的申请号为 CN201610527936 的专利<sup>[11]</sup>公开了一种治疗动脉粥样硬化的药物组合物,包含下列原料:毛蕊异黄酮苷、白芷甲素、马兜铃酸。该组合物可以治疗动脉粥样硬化模型大鼠血清胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白升高,治疗动脉粥样硬化模型大鼠动脉斑块形成、动脉粥样硬化模型大鼠动脉内膜损伤、动脉粥样硬化模型大鼠动脉内皮细胞损伤。该专利申请的发明点在于原料药的组合,但是在说明书中没有记载任何有关安全性的实验资料。上述专利申请目前正处于等待实质审查阶段。

**2.1.3 其他** 涉及马兜铃酸类的发明专利申请中还包括了中药材的炮制方法、马兜铃酸类化合物的合成方法等。特别值得一提的是中药材的炮制减毒技术,虽然是历史悠久的传统瑰宝,但是申请量不大,仅 3 件。

通化东宝药业股份有限公司的申请号为 CN200810302284 的专利<sup>[12]</sup>公开了一种细辛的炮制方法。步骤如下：(1) 细辛或细辛适当切段；(2) 用 5%氨水或饱和石灰水溶液 10 倍量药材浸泡 1~2 次，每次 12 h，取出水洗至水洗液为中性，阴干，即得。该专利申请的发明点在于 5%氨水或饱和石灰水浸泡细辛的处理方法，细辛经过上述方法炮制可以去除有毒成分马兜铃酸，同时又不影响细辛挥发油的含量。该专利申请于 2011 年 4 月获得授权。

沈阳药科大学的申请号为 CN201010568145 的专利<sup>[13]</sup>公开了一种北细辛中制备无毒提取物的制备工艺。该方法主要步骤为将北细辛全草用热水煎煮提取，滤液冷却，加入 HCl、NaOH 调节 pH 值，通过阳离子、阴离子交换树脂等提纯步骤，将北细辛药材中挥发性的黄樟醚、非挥发性成分马兜铃酸、

乌头碱和去甲乌头碱等有毒成分去除，而有效保留其中的有效成分的方法。该专利申请的发明点在于其对北细辛药材的处理方法，该方法可同时将北细辛药材中的多种有毒有害成分一并去除，可明显缩短生产周期、降低生产成本。该专利申请于 2011 年 12 月获得授权。

## 2.2 主要申请人的申请概况

马兜铃酸类发明专利的申请人中，个人申请仅 14 件，占 15.9%，其余申请人均为科研机构和企业。北京大学与汉莫堤克股份有限公司申请了 5 件马兜铃酸发明专利，并列第一，其次是微创心脉医疗科技（上海）有限公司和广西壮族自治区花红药业股份有限公司，均申请了 4 件，并列第二。可见，除了科研机构，医药企业对涉及马兜铃酸产品、方法的研发热情也很高。

表 1 北京大学申请马兜铃酸类发明专利情况

Table 1 Application of patent for aristolochic acid by Peking University

申请号	申请日	发明名称
CN201210144881	20120511	一种抗马兜铃内酰胺 FI 和马兜铃酸 IVa 单克隆抗体的制备方法及其应用
CN201210144885	20120511	一种分析马兜铃酸肾病生物标记物的激光共聚焦显微镜法
CN201510276449	20150527	同时测定组织中两种马兜铃酸-DNA 加合物的 HPLC-FLD-DAD 分析方法
CN200410033845	20040419	含马兜铃酸及其内酰胺类成分血液样品预处理方法
CN200510117113	20051101	含马兜铃酸及其内酰胺类成分的体内样品的测定方法

表 2 花红药业股份有限公司申请马兜铃酸类发明专利情况

Table 2 Application of patent for aristolochic acid by Huahong Pharmaceutical Co. Ltd

申请号	申请日	发明名称
CN200710196893	20071211	细辛药材和消肿止痛酊中马兜铃酸 A 的质量控制方法
CN200910246586	20091126	细辛药材和消肿止痛酊中马兜铃酸 A 的质量控制方法
CN201110000922	20110104	消肿止痛酊中马兜铃酸 A 的质量控制方法
CN201110000910	20110104	消肿止痛酊中马兜铃酸 A 的提取方法

上述主要申请人的专利申请情况可以看出：以北京大学为代表的科研机构的研发领域主要围绕着生物样品中马兜铃酸的检测展开，且多运用了如单克隆抗体等生物领域的先进技术，这与上述机构在化学、生物等基础学科领域具有技术优势有一定关系；医药企业为促进产品深度开发、减少潜在不良反应发生、保障用药安全，关于马兜铃酸类产品的研发通常均围绕着自己的核心产品在生产实践中的需要而展开，如花红药业针对消肿止痛酊中马兜铃酸 A 的一系列提取方法和检测方法。

## 3 启示和建议

综上所述，对于马兜铃酸类有毒成分的研究方兴未艾，并没有因为肾毒性而将其打入冷宫。通过上述对马兜铃酸类发明专利技术现状的梳理和分析，对于中药毒性成分的研究，可以得到下列启示：(1) 围绕中药毒性成分的相关分析检测手段研究是研发热点，技术进步较快。中药成分复杂，即使含有毒性成分，也不必谈毒色变因噎废食，可以通过检测手段让中药中存在的对人体有害的成分无处遁藏，降低不良反应发生的风险，从而为临床用药安全提供保障。检测手段方面，除传统的高效液相色谱、气相色谱等单一的化学类检测手段之外，还可

以与生物等其他技术领域的检测手段相结合,如单克隆抗体、酶联免疫法等。检测对象的范围也可以扩大,由传统的药品扩大到食品、化妆品,以及血液、器官组织等生物样品,并且尝试寻找新的检测标记物,提高检测的灵敏度。(2)涉及中药毒性成分的研究与开发时,要遵守药监等有关部门的规定,并密切关注其安全性。(3)对毒性中药材进行炮制减毒是中医药的特色,但目前研究热度不高,技术发展停滞,期待未来在此深入研究,充分挖掘传统瑰宝、填补技术空白。

中国第一位获得诺贝尔奖的女科学家屠呦呦说过“中医药学是一个伟大的宝库,应当努力发掘,加以提高,通过继承发扬,一定会有所发现,造福于人类”<sup>[6]</sup>。希望我国的中医药工作者加强对中药毒性成分研究,减少不良反应的发生,保障临床用药安全,让中医药成为世界的瑰宝,为人类健康作出贡献。

#### 参考文献

- [1] 常红军,齐晓涟.龙胆泻肝丸致马兜铃酸肾病[J].药物不良反应杂志,2003(1):42-43.
- [2] 熊静悦,谭正怀.马兜铃酸的主要毒性作用及其相关机制[J].四川中医,2011,29(9):39-42.
- [3] 彭晓兰,董晓凯.马兜铃酸I诱导肾小管上皮细胞凋亡的检测[J].中国畜牧兽医,2011,38(11):61-65.
- [4] 郭晓昕,程鲁榕.马兜铃酸毒理学性研究与启示[J].中国新药杂志,2005,14(3):83-86.
- [5] Awt N, Poon S L, Huang M N, et al. Aristolochic acids and their derivatives are widely implicated in liver cancers in Taiwan and throughout Asia [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(412): eaan6446.
- [6] 周 坚,汤朝阳,李云峰.一种马兜铃酸A快速检测卡及其检测方法 [P]. 中国专利: CN201510313893, 2015-09-09
- [7] 郑亭亭,江玉娟,任松鹏,等.一种藏药组合物风湿塞隆制剂的质量检测方法 [P]. 中国专利: CN201210523974, 2014-06-11
- [8] 刘金霞,黄 飞,李宝志,等.一种同时检测水杨酸、马兜铃酸 A、甜蜜素和  $\beta$ -萘酚的方法 [J]. 中国专利: CN201310189673, 2013-09-11.
- [9] 傅 强,葛燕辉,余 佩,等.从中成药龙胆泻肝丸中富集与检测微量马兜铃酸 A 的方法 [P]. 中国专利: CN201710017956, 2017-05-31.
- [10] 孔徐生,刘 洋,孔 翔.马兜铃酸在制备治疗类风湿性关节炎的药物中的应用 [P]. 中国专利: CN201310054582, 2014-08-20.
- [11] 余海亚,蔡玉兵,洪旭华,等.一种治疗动脉粥样硬化的药物组合物 [P]. 中国专利: CN201610527936, 2016-10-12.
- [12] 陈 红.细辛的炮制方法 [P]. 中国专利: CN200810302284, 2008-12-17.
- [13] 孙博航.北细辛无毒提取物的制备工艺 [P]. 中国专利: CN201010568145, 2011-03-30.
- [14] 王 璐,屠呦呦.理想治愈世界 [M]. 北京: 红旗出版社, 2016.