

· 中药现代化论坛 ·

开展中药生物转化研究意义深远

杨红亚, 吴少华, 王兴红, 彭 谦*

(云南大学云南省微生物研究所 教育部微生物资源开放研究重点实验室, 云南 昆明 650091)

摘 要: 综合国内外文献, 结合笔者开展中药生物转化研究的体会, 介绍了国内外中药生物转化的研究现状以及在中药现代化研究中的意义, 提出了开展中药全成分转化的思路并分析了进行中药全成分转化研究的可行性及一般方法, 并就开展中药全成分转化研究存在的问题和今后需要加强的工作等进行了讨论。认为开展中药全成分生物转化研究对充分发挥中药的潜在价值和我国的中药资源优势开发、形成具有中国特色的生物转化研究体系、开发具有自主知识产权的新药具有重要意义。

关键词: 中药; 生物转化; 全成分

中图分类号: R 282.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)12-1321-04

Significance of biotransformation of Chinese materia medica

YANG Hong-ya, WU Shao-hua, WANG Xing-hong, PENG Qian

(Key Laboratory for Microbial Resources of Ministry of Education, Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: The significance and present research situation of biotransformation of Chinese materia medica (CMM) were reviewed in this article. Based on the references and our studies in biotransformation of CMM, the idea of biotransformation of CMM's total constituents was put forward. The feasibility and general method of biotransformation of CMM's total constituents were analyzed, and the existing problems and the work that should be emphasized were discussed significantly. Biotransformation of CMM's total constituents would be significant to give a full play to CMM's potential value and development of our country's dominant resources, to shape the biotransformation research system with Chinese characteristics and to develop new drugs of independent intellectual property.

Key words: Chinese materia medica (CMM); biotransformation; total constituents

中药是中华民族瑰宝,数千年来为中华民族的繁荣昌盛作出了不可磨灭的贡献,并越来越受到世界人民的关注和重视。但由于传统中医药理论与现代科学理论脱节、中药研究手段相对落后,使中药资源的开发潜力受到极大的影响。中药的开发目前主要局限于从现有中药中寻找有效成分。以现有中药资源为基础,提升中药的开发潜力,尚未引起人们的广泛重视。将传统中药的优势和与现代生物技术相结合,实现中药的现代化是促进中药发展的重要手段^[1]。用生物转化的方法处理中药中的化学成分,修饰它们的结构或活性位点,获得新的活性化合物用于新药开发,更好地发挥中药的药效作用,对充分

发挥我国中药的资源优势,开发具有自主知识产权的新药具有十分重要的意义。笔者对开展中药的生物转化研究的意义、研究现状、一般方法及其发展前景综述如下。

1 开展中药的生物转化研究意义深远

1.1 生物转化的概念:生物转化是指利用酶或有机体(细胞、细胞器)作为催化剂实现化学转化的过程,又称生物催化,是生物体系(包括细菌、真菌、植物组织、动物组织培养系或生物体系的酶制剂)对外源性底物进行结构性修饰所发生的化学反应^[2]。生物转化大多数是在室温、中性环境中作用,减少了产物分解、异构、消旋和重排反应,反应底物不需要基团保

* 收稿日期: 2004-03-27

基金项目: 云南大学理工科校级科研基金资助项目(2002T003SM)

作者简介: 杨红亚(1982-),女,河南郑州人,现为云南大学微生物研究所 2002 级研究生,研究方向为微生物药理学。

Tel: (0871)5033542 E-mail: yhy6018@163.com

护,具有无毒、无污染、低能耗、高效率、高选择性、环境友好等特点^[2]。生物转化的本质是生物体系中的酶对外源性底物的催化反应。由于微生物培养简单、种类繁多、酶系丰富,成为生物转化中最常用的有机体^[2]。

1.2 开展中药生物转化研究意义深远:以已知的天然活性成分为先导化合物,通过有机合成、结构改造等方法寻找和开发新的高效低毒药物,是被实践证明最行之有效的开发新药的途径之一^[3]。生物转化是创制药物新分子的重要手段之一,是新药研究中一个有用的工具,用生物催化技术来生产药物组份已成为当今生物技术研究热点课题。中药中一部分有效成分水溶性不好或稳定性不好,或毒副作用太强,影响了他们的应用,对这些化合物进行结构改造是非常必要的;通过对中药中有效成分进行修饰,同样可以获得更为有效的成分以提高治疗效果。虽然现有中药上万种,但随着药物筛选技术的发展,特别是高通量筛选技术的出现,从现有资源中发现结构新颖并有药用价值的先导化合物已越来越难,如何充分利用现有资源,充分扩展其资源价值已成为当务之急。用生物转化的方法处理中药,并将其用于复杂天然药物的筛选和研制,通过与高效快速药物筛选手段结合,是发掘具有自主知识产权、具有中国特色新的天然高效活性先导化合物的重要途径。

开展中药生物转化研究,也有利于加深对中药作用机制的认识。中药以口服为主,必然在消化道中与肠道菌接触,肠道菌的代谢对中药的作用不容忽视,有些中药可能通过人体的消化酶或肠道菌的代谢后才起作用。如消化道对天然药物中的糖苷吸收较差,首先必须经肠道菌水解为相应的苷元才能被吸收,柴胡皂苷在大鼠体内经肠道菌转化成代谢产物后才能被吸收并发挥其药理作用。淫羊藿苷的肠道菌代谢产物对 IL-6 产生的促进作用比原药更强。口服人参皂苷的抑瘤效应源于人参皂苷被肠细菌转化的代谢物 20(S)-原人参萜二醇-20-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(M1),能抑制肿瘤新生血管的形成,抑制黑色素瘤 B16-F10 细胞的生长和转移,诱导 Lewis 肺癌细胞凋亡^[4~6]。目前,已研究了肠道菌对苦杏仁苷类、香豆素类、黄酮类、蒽醌类以及萜类化合物的代谢作用,并鉴定了其代谢产物,提示:通过研究肠道菌对中药的转化作用,可以开发出可被人体直接利用的中药制剂,如注射剂,满足一些特殊的用药需求,提高中药的使用价值。

2 国内外对中药生物转化的研究现状

中药的生物转化古已有之。发酵是中药的炮制手段之一,如神曲是由辣蓼、青蒿、杏仁等多种药物加入麦粉或麸皮经发酵制成的曲剂,能促进消化液分泌而助消化。但传统的发酵中药利用的是自然的微生物菌群,没有对微生物进行广泛的药理筛选,也不能抑制有害杂菌的生长,影响了这一技术在中药炮制中的广泛应用。

已有一些学者开始注意到开展中药生物转化研究的巨大价值并付诸实践,并取得了较好的研究成果,由于中药的生物转化研究引起人们重视的时间不久,不同的学者提出了不同的观点,但实质上都是以中药中的原有成分为基础,以微生物或其他生物体系或者生物体系中的酶为工具,形成新的活性成分。余伯阳将天然药物的生物转化研究与组合化学理论相结合,提出“中药生物组合化学”的概念,并将其用于复杂天然药物的筛选和研制,提出具有中国特色的新的高活性先导化合物的想法,并利用微生物对延胡索中镇痛成分延胡索乙素进行了转化,有 2 个菌株的转化物活性高于底物,经进一步分离,最终得到了 2 个活性明显高于延胡索乙素的转化产物^[3]。庄毅建议以不同的中药材料为固体基质,通过接种不同的真菌获得不同的“药性菌质”,通过对“药性菌质”用药理模型筛选后可以获得不同的中药产品,达到对中药增效、扩用、解毒的作用,并在这一思路指导下进行了槐耳菌发酵中药,获得的发酵菌质药用效果比常规培养的槐耳菌质明显增强,临床疗效 HBeAg 转阴率由 33% 提高到 50%^[7]。王兴红等也认为可以借助不同真菌产生的丰富酶系来炮制中药,达到产生新的药用成分、提高有效成分含量、降低毒副作用的效果,这是中药现代化的研究内容之一^[8]。他通过对薏苡仁的转化,能提高薏苡仁抗癌成分——薏苡仁油得率 50%,还得到了一个水溶性抗癌成分。吴炳新等也提出了类似的观点,认为中药经发酵后可以达到有利于有效成分的提取、吸收和增加新活性成分的作用,也认为是中药现代化的重要手段,并在这一思路指导下开发了辅助抗癌药三株赋新康,证实未经发酵的中药抑瘤率为 31%,经双歧杆菌等肠道菌发酵后其抑瘤率达 60% 以上^[9]。

国内外一些研究者对中药中某种单一有效成分的转化研究较为深入,得到了一些新化合物,部分化合物的活性超过了母体化合物。雷公藤在传统中药中用于治疗多种疾病,包括风湿性关节炎、肾炎、系统性红斑狼疮和皮肤病,也应用于男性节育,从其中分离到的雷公藤内酯是雷公藤的主要活性成分,但

由于其剧烈的毒性而使其应用受到限制。用小克银汉霉 AS3.970 转化雷公藤内酯,转化 5 d 后,用色谱法获得了 4 个新化合物且都具有对人肿瘤细胞株的细胞毒效应^[10]。早莲木的果实(喜树果)中含有多种喜树碱,以 10-羟基喜树碱疗效最好、毒性低,但 10-羟基喜树碱的含量甚微,仅有十万分之二,难以开发利用。用微生物将喜树碱转化成 10-羟基喜树碱,转化率可达 50% 以上^[3,11]。用华根霉和雅致小克银汉霉转化青蒿素,可以得到去氧青蒿素、3 α -羟基去氧青蒿素和 9 β -羟基青蒿素,其中 9 β -羟基青蒿素为新化合物^[12]。悬浮培养长春花和银杏细胞也能将青蒿素转化为 3 α -羟基去氧青蒿素^[13]。利用大肠杆菌和脆壁酵母来源的 β -半乳糖苷酶可以对异紫杉脂素进行修饰,极大提高了异紫杉脂素的水溶性^[14]。天麻素为天麻的主要有效成分,用植物细胞悬浮培养细胞进行转化后也可得到不同的转化产物^[15]。

中药的生物转化研究也为认识中药的形成机制提供了有力手段。Kikuchi 从僵蚕中分离到 4 个具有 4-O-甲基葡萄糖结构单元的芳香化合物,据推测,他们是植物、昆虫、微生物相互作用的产物。白僵菌能转化不同的有机化合物,将羟基引入底物而产生相应的醇衍生物,氧化双键产生一个环氧化物或二醇。用白僵菌来进行 β -4-O-甲基糖基化已被广泛用于含酚羟基的底物的生物转化。研究表明这 4 个芳香化合物都由白僵菌转化桑叶的前体化合物而形成^[16]。

3 开展中药的全成分转化是形成具有中国特色的活性成分生物转化研究的重要途径

对中药的单一有效成分的转化是将中药中的某一特定有效成分提取出来,经生物转化后,寻找新的化合物,然后通过对新化合物的药理筛选来确定转化是否有益。这种研究思路不利于有效成分还不十分清楚的中药,也不适于一些靠复合成分起作用的中草药,也不利于将中药中的一些无活性的前体转化后形成活性成分。

鉴于一些中药具体的活性成分和其作用机制还不是很清楚,有些成分是口服后经过人体内消化酶的作用、体内微生物的代谢、人体代谢后才起作用,有些中药是多个成分协同起作用,机械地采用对单一有效成分的转化研究对中草药的生物转化来说有其不利的一面。不以特定成分为转化目标的中药转化研究,而是对中草药的全成分进行转化,然后通过药理筛选模型来确定转化前后药效的变化是否有益,进而研究转化产物能否应用于治疗实践较为适

合中草药的实际情况。这一方法的实质是通过对活性组份中不同成分的变化与活性强度消长关系的分析来确定某种转化是否有益^[3]。故能否建立快速、高效、廉价的药物筛选模型是中药全成分转化能否成功的重要因素。中药的全成分转化是一个需要多学科参与的研究课题,需要中药学、微生物学、化学、药理学多学科参与。对中药进行全成分转化研究流程可以概括为以下几个主要步骤。

中药预处理(粉碎或提取) → 转化中药 → 转化物
生物转化材料培养或提取转化酶
药理活性实验 → 有效成分分离、分析 → 转化酶性质研究 → 发酵工艺条件研究 → 转化物或其提取物应用于医药实践研究

如何简便、快速的从转化基质中分离通过转化形成的新化合物是开展中药全成分转化的难点之一,特别是活性变化不明显的化合物将不容易被发现。如何根据现代中医药理论来开发转化后的中药,即如何确定不同的微生物转化后对中药药性的影响,避免完全走西药式的开发,以及如何在中医药理论指导下进行发酵组合设计都是急需解决的问题。

中药全成分转化研究也可以从现代生物转化成果中吸取有益的经验应用于中药的生物转化中,以促进中药生物转化研究的快速发展,如对于活性成分比较明确的中药,可以根据活性成分的类型,有针对性选择对该类化合物具有较好转化能力的转化菌或转化酶。对中药的转化研究,不仅可以开展一种酶或一种生物体系对某种中药的转化,也可以利用多种生物体系对某种中药进行多重转化,或者对中药复方进行转化,以进一步扩大中草药的资源价值。

4 结语

我国在生物转化和生物催化技术等现代生物工程技术应用方面与西方发达国家有 20 年的差距,集中体现在研究的生物转化反应类型和原始创新项目较少。以中药为出发点,充分发挥中药的优势,应用现代生物技术开展中药的全成分转化研究,辅之以药理筛选,对形成具有自主知识产权的新药具有极其广阔的前景,该种研究思路是一般化学转化所无法完成的,能在短时间内形成具有中国特色的生物转化研究体系,也是中药现代化的重要途径。我国有悠久的中药用药历史,也有丰富的生物资源,两者有机的结合,必将为中药资源开发推向新的阶段,促进中药新的发展。

对某一具体的中药开展全成分研究,需做好以下工作:1)建立快速有效的筛选模型是中药全成分转化能否成功的关键;2)应用现代化学分析技术,建

立快速灵敏的分析检测技术是深入研究中药全成分转化的重要手段;3)如何在中药全成分转化中应用中医药理论是中药全成分转化物能否应用于中医药治疗实践的重要环节;4)蛋白质工程和基因工程是提高中药全成分生物转化效率的重要措施。可以预见,通过对中药生物转化的深入研究,必将促进中药的极大发展。

References:

- [1] Yu B Y. Advances in study on biological technology of Chinese materia medica and natural drugs [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 33(5): 359-363.
- [2] Alexander M K. Improving enzymes by using them in organic solvents [J]. *Nature*, 2001, 409(11): 241-246.
- [3] Yu B Y. Biotransformation of natural bioactive compounds and the development of creative drugs [J]. *World Sci Technol Res Dev* (世纪科技研究与发展), 2001, 21(5): 36-39.
- [4] Weng X G. Product of ginsenosides' biotransformation can inhibit rat melanoma B16-F10 cell's growth and metastasis [J]. *Foreign Med Sci—Tradit Chin Med Drugs* (国外医药·中医中药分册), 2002, 24(1): 41-42.
- [5] Shi Q. The inhibition of tumor-induced new vein's formation by intestinal flora metabolite of protopanaxadiol saponins [J]. *Foreign Med Sci—Tradit Chin Med Drugs* (国外医药·中医中药分册), 2002, 24(1): 42-43.
- [6] Wang D. Apoptosis of Lewis lung cancer cells were induced by intestinal flora metabolite of protopanaxadiol saponins [J]. *Foreign Med Sci—Tradit Chin Med Drugs* (国外医药·中医中药分册), 2002, 24(1): 43-44.
- [7] Zhuang Y. New type solid fermentation engineer of pharmaceutical fungi [J]. *Edib Fungi China* (中国食用菌), 2002, 21(4): 3-6.
- [8] Wang X H, Li Q D, Cao Q E. New field for study of TCM through fermentation by microbe [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(3): 267-268.
- [9] Wu B X, Niu J J, Sun X L, et al. Pharmaceutical technique of CMM by fermentation [J]. *Shandong J Chin Med* (山东中医杂志), 2001, 20(3): 179-180.
- [10] Li L N, Ji X Z, Gui Q Q, et al. Biotransformation of trip-tolide by *Cunninghamella blakesleana* [J]. *Tetrahedron*, 2003, 59: 4209-4213.
- [11] Fan R X. Method of manufacturing hydroxycamptothecin by biotransformation [P]. CN: 85100520 A, 1985-04-01.
- [12] Zhan J X, Guo H Z, Han J, et al. Biotransformation of artemisinin by fermentation of *Rhizopus chinensis* and *Cunninghamella elegans* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(10): 869-872.
- [13] Han J, Dai J G, Cui Y J, et al. Biotransformation of artemisinin by *Catharanthus roseus* and *Ginkgo biloba* cell suspension cultures [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(2): 166-168.
- [14] Yang Y B, Wang M, Liang Y, et al. Transgalactosylation of isotaxiresinol by β -galactosidase [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 33(6): 526-528.
- [15] Dai J G, Gong Z, Zhu D M, et al. Biotransformation of gastrodin by cell suspension culture of *Catharanthus roseus* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 41(3): 377-378.
- [16] Haruhisa K, Nahoko T, Yoshiteru O. Novel aromatics bearing 4-O-methylglucose unit isolated from the oriental crude drug *Bombyx batryticatus* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2004, 45: 367-370.

中国植物学会药用植物和植物药专业委员会

顾问: 孙汉董 裴盛基

主任: 艾铁民

副主任: (按姓氏笔画排序)

王有为 王锋鹏 张志耘 李维林 杨秀伟 杨峻山 陈浩桢 秦路平 瘦石山

委员: (按姓氏笔画排序)

丁小余 万德光 卫莹芳 孔令义 叶祖光 田恒康 石建功 刘文芝 刘启新

刘孟军 刘德虎 孙启时 朱兆云 朱俊儒 何开家 何顺志 吴继洲 张本刚

张英涛 张晓峰 张铁军 李隆云 肖小河 苏力坦·阿巴白克力 苏来曼·哈克力

邱明华 邱德有 陈常青 陈锡林 周日宝 罗光明 郑毅男 郝武常 栾 龙

秦民坚 谈献和 郭宝林 梁 鸿 董 伟 董成明 黎跃成

秘 书: 李大辉