

• 专论与综述 •

生物技术在药用真菌资源开发与保护中的应用

周选围^{1,2}, 陈文强¹, 邓百万¹, 王智¹, 彭浩¹, 林娟³

(1. 陕西理工学院 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723001; 2. 上海交通大学 植物生物技术研究中心, 上海 200030; 3. 复旦大学遗传研究所, 上海 200433)

摘要:生物技术的飞速发展给中医药科学研究带来了革命性的变化,药用真菌是中药的重要组成部分。综述了我国药用真菌资源的现状和开发利用概况;真菌生物技术包括基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程等基本内容及其在药用真菌资源开发、利用与保护中的应用。讨论了生物技术在传统药用真菌生产、地道药用真菌培育及选种鉴定、利用基因工程和细胞培养技术高效表达和生产天然活性成分或转基因真菌以及利用基因工程手段提高真菌代谢产物的含量、生物技术在药物筛选等方面的应用前景。

关键词:生物技术;药用真菌;开发利用

中图分类号:R282.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)03-0451-05

Application of biotechnology to exploitation and preservation of medicinal fungi

ZHOU Xuan-wei^{1,2}, CHEN Wen-qiang¹, DENG Bai-wan¹, WANG Zhi¹, PENG Hao¹, LIN Juan³

(1. Shaanxi Key Laboratory of Bio-Resources, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China;

2. Plant Biotechnology Research Center, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China;

3. Genetic Institute of Fudan University, Shanghai 200433, China)

Key words: biotechnology; medicinal fungi; exploitation and application

生物技术(biotechnology)又称生物工程(bioengineering),是指人们以现代生命科学为基础,结合先进的工程技术手段和其他基础学科的科学原理,按照预先的设计改造生物体或加工生物原料,为人类生产出所需要的产品或达到某种目的的一系列技术。药用真菌(medicinal fungi)是指对人体有保健作用、对疾病有治疗、预防作用的一类真菌。它可分为两大类:一类是药食兼用型,如香菇、姬松茸、木耳、猴头菌、金针菇、竹荪等;另一类是医药专用型,如灵芝、云芝、猪苓、麦角菌、冬虫夏草等^[1]。随着人们生活水平的提高,对生活质量与健康长寿的渴望日趋强烈,单纯依靠化学药物难以满足人们的要求,加上20世纪由于抗生素类药物的滥用而导致细菌抗药性的提高和对人体产生的不良反应,使人们越来越普遍地认识到天然药物的重要性,崇尚天然药物便成为一种世界性潮流,包括药用真菌在内的天然药物的合理开发和利用,以及有效的保护便成了科技工作者关注的热点。

1 我国药用真菌资源及生产概况

1.1 我国药用真菌资源现状:在自然界中现存的真菌大约有20~25万种,我国已报道的有8000多种,其中传统药及试验有药效的大型真菌和部分小型真菌多达400余种。目前在筛选新药及寻找抗癌药物方面,大型真菌作为重要的研究

对象,已引起国内外医药工作者的高度重视。现已确定有药用价值的真菌有298种,分布在41个科110属中,是药用低等植物中种数最多的一类。药用真菌主要分布在子囊菌纲和担子菌纲中,担子菌纲尤为突出,药用种数约占药用真菌的90%。担子菌纲中70%的药用真菌又主要集中在6个较大的科,即多孔菌科(27属74种)、口蘑科(18属45种)、红菇科(2属33种)、牛肝菌科(5属16种)、马勃科(6属13种)和蘑菇科(2属12种)。药用真菌分布较多的属有多孔菌属、羊肚菌属、红菇属、侧耳属等。灵芝属是研究最深入的一个属,灵芝属真菌全世界有100余种,中国有93种。中国是世界上灵芝种数最多的国家,海南省是中国的“灵芝王国”,有54种,云南次之有30种^[2],本属可药用的真菌有7种。担子菌中常用药用真菌有茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf、灵芝 *Ganoderma lucidum* (Leys. ex Fr.) Karst.、雷丸 *Polyporus myliittae* Cooke et Mass、马勃(头状马勃) *Calvatia craniiformis* (Schw.) Fr.、银耳 *Tremella fuciformis* Berk. 等,其他还有猴头菌 *Hericium erinaceus* (Bull. ex Fr.) Pers.、云芝 *Coriolus versicolor* (L. ex Fr.) Quel.、竹黄 *Shiraia bambusicola* Henn.、侧耳 *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quel.、木耳 *Auricularia auricula* (L. ex Hook.) Underw.、苦白蹄 *Laricifomes officinalis* (Vill. ex Fr.) Kotlabaet

收稿日期:2004-05-18

基金项目:陕西省教育厅省级重点实验室科研与建设项目资助(04JS32)

作者简介:周选围(1962—),男,陕西咸阳市人,陕西理工学院生物系教授,主要从事微生物资源的保护、开发和利用。

Pouzar^[5]、鸡枞 *Termitomyces albuminosus* (Berk.) Heim、香菇 *Lentinus edodes* (Berk.) Sing.、竹荪(短裙竹荪) *Dicthyophora duplicata* (Bosc.) Fischer 等。

子囊菌纲中的药用真菌主要集中在麦角菌科(5 属 10 种)、肉座菌科(4 属 4 种)、黑粉菌科(2 属 4 种)。虫草属是重要的属,中国共有 58 种。据报道,本属有药用价值并已利用或研究开发的有 20 种(包括无性型),主要有冬虫夏草 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.、蛹虫草(北冬虫夏草) *C. militris* (L. ex Fr.) Link.、蝉花 *C. sobolifera* (Hill) Berk. et Br.、大蝉草 *C. cicadae* Shing 等。中国台湾(22 种)、广东(17 种)、云南(13 种)等地虫草种类较多,资源较丰富。冬虫夏草主产于中国西南高海拔地区,过去完全靠采挖野生资源提供药用,货源紧张。经多年研究试验,人工培育冬虫夏草已获成功,并投入生产。属于子囊菌纲的药用真菌还有玉米黑粉菌、小麦散黑粉菌(麦奴)、谷子黑粉菌(粟奴)、麦角菌、稻曲菌、高粱黑粉菌等。

药用真菌在藻状菌纲和半知菌纲很少分布,只有粟白发(糠谷老)、白僵菌等有一定的药用价值。真菌的药用历史较久,古代本草多有记载,但种类不多。目前,药用真菌已引起广泛注意,有些种类如蜜环菌 *Armillaria mellea* (Vahl ex Fr.) Karst.、亮菌 *Armillariella tabescens* (Scop. ex Fr.) Sing. 等是近年才开始开发利用的。

1.2 药用真菌的开发利用概况:药用真菌的开发利用,目前主要体现在两个方面:一是把药用真菌开发成药品,直接用于疾病的治疗;二是把药用真菌开发成保健品,用于调节或改善机体功能。我国古代就有用真菌防病、治病的记载,但真正将其进一步开发成产品应用于人类防病、治病却始于 20 世纪 60~80 年代,这一时期药用真菌的研究步入了一个明显发展阶段,在此期间的开发主要是野生真菌如灵芝、银耳、猴头等的驯化培养和真菌有效成分的生产,开发了近 10 种新药。20 世纪 80 年代后期卫生部“新药审批办法”颁布后,用真菌为原料生产的新药都定为中药一类新药,有严格的研究开发要求,故此后的 10 余年仅 3 种真菌被正式批准药用,它们分别是虫草的发酵产品“金水宝”与“宁心宝”等;槐耳菌 *Trametes robiniohila* Murr. 的固体发酵产品“槐耳菌质”及制剂“槐耳颗粒”,黑柄炭角菌 *Xylaria nigripes* (Kl.) Sacc. 的液体发酵产品“护龄神”等。另外已证实有药用价值并正在开发待批准药用的品种有裂褶菌 *Schizophyllum commune* Fr.、蛹虫草、金耳 *Tremella aurantia* Schw. ex Fr. 等。据统计,我国正式入药的药用真菌总数仅 50 种左右,常用的不到 30 种,被收录于《中华人民共和国药典》的仅 6 种(若将有丰富营养或保健价值的品种合计在内约有 450 种)^[3]。

近年来随着科技发展和研究手段的不断更新,在真菌中发现了具有药用价值的次生代谢产物,这为人类开发新型的医药、农药、保健食品、化妆品等提供了重要的新资源^[4]。在医药方面,随着微生物研究的深入以及分离和结构鉴定技术不断发展,在真菌中发现了许多酶、抗生素或其他具有药物活性的产物。其中,具有免疫调节和抗癌活性的真

菌多糖(真菌细胞壁的主要成分之一),成为人们研究的热点,如灵芝多糖中的(1→3)- β -D-葡聚糖具有抗癌作用,这些多糖成分极有可能成为一种新的抗癌药物;另据最新的研究显示,灵芝酸(ganoderic acids, GAs)具有抗肿瘤和抗艾滋病病毒的作用^[5,6]。菌物界(Mycosystema)的真菌种类大约有 150 万种,被描述的约有 20 万种,其中真菌门(Eumycota)占相当比例,若按估计的 40 万种计算,已开发入药的种类仅占 0.01%~0.1%,因此利用药用真菌开发新药,服务于人类生活具有十分巨大的发展潜力。

2 药用真菌生物技术的研究内容

生物技术是一门既古老又现代的应用技术。第 1 代生物技术是 19 世纪末到 20 世纪 30 年代以发酵产品为主干的工业微生物技术体系;第 2 代(近代)生物技术是以 20 世纪 40 年代抗菌素的提取,50 年代氨基酸的发酵到 60 年代酶制剂工程为线索;第 3 代即现代生物技术是一个跨学科的应用技术领域,它是以世界上第一家生物技术(genetech, 遗传技术)公司的诞生年(1976)为纪元。生物技术来自 biotechnology 译语,随着科技水平的发展,生物技术的概念也随之不断变化;生物技术包括基因工程(genetic engineering)、细胞工程(cell engineering)、酶和蛋白质工程(enzyme and protein engineering)、发酵工程(fermentation engineering)等技术。

2.1 基因工程技术:基因工程是指在基因水平上,采用与工程设计十分类似的方法,按照人类的需要进行设计,然后按设计方案创建出具有某种新的性状的生物新品系,并使之能稳定地遗传给后代。基因工程技术包括:目的基因的克隆、转基因载体系统的构建、遗传转化、外源基因的检测以及品种培育等技术。其核心技术是 DNA 的重组技术,也就是基因克隆(gene cloning)技术。重组(recombination)就是重新组合,即利用供体生物的遗传物质,或人工合成的基因,经过体外或离体的限制酶切割后与适当的载体连接起来形成重组 DNA 分子,然后将重组 DNA 分子导入受体细胞或受体生物,该种生物就可以按人类事先设计好的蓝图表现出另外一种生物的某种性状。如用植物来生产人的乳铁蛋白、抗凝血酶和白蛋白。

基因工程在药用真菌中的应用,主要包括以下两个方面:一是利用药用真菌作为新的基因工程的受体菌,即作为生物反应器(bioreactor)来生产人们所期望的外源基因编码的产品。由于药用真菌还具有很强的外泌蛋白能力,利用药用真菌作为新的受体菌将更为安全,更易被消费者接受;二是利用基因工程技术定向培育药用真菌的新品种,包括抗虫、抗病、优质(富含蛋白质、必需氨基酸或延长寿命等)的新品种,以及将编码纤维素或木质素降解酶基因导入药用真菌体内,以提高真菌菌丝对栽培基质的利用率或开拓新的栽培基质,最终提高药用真菌产量和质量。

此外,随着分子生物学技术的发展,基于 DNA 多态性的分子标记,如 RFLP(restriction fragment length polymorphism)、RAPD(random amplified polymorphism DNA)、AFLP(amplified fragment length polymorphism)、STS

(sequence tagged sites)、VNTR(variable number of tandem repeat)、SCAR(sequence characterized amplified region)等,在药用真菌的遗传育种、开发产品的鉴别中也逐步得到了应用^[7-9]。Terashima等^[10]应用 AFLP 技术对日本香菇的培养菌株进行了遗传多样性和菌株分型研究,评估了日本香菇主要培养菌株之间的 DNA 片断多态性的变化范围,评价了 AFLP 标记作为遗传标记在菌株分型上的实用性,并揭示了它们之间的遗传相关性。6 个 AFLP 引物在总共 15 株培养菌株中共检测出 304 个 DNA 片段,其中有 179 个 DNA 片段在 2 个或更多菌株间呈多态性。这些多态性 DNA 片段可以将所有的培养菌株区分开来。建立在 AFLP 数据基础上的群丛系统分析将它们分为了 2 个不同群组。同时,他们还在 203 个 AFLP 标记和 2 个结合型因子基础上建立了日本香菇的中密度遗传连锁图谱^[11]。

2.2 原生质体技术:原生质体技术是利用原生质体诱变、杂交、转基因等创造变异新类型的生物技术。最早报道真菌原生质体分离的是荷兰的 De Vries 和 Wessels,他们于 1972 年用从 *Trichoderma viride* Pers. 中制备的裂解酶分离了裂褶菌的原生质体,随后又分离了双孢蘑菇和草菇的原生质体。1980 年后,随着商品脱壁酶的出现,从大型真菌中分离原生质体的报道日益增多^[12]。研究内容包括:原生质体的分离与再生^[13]、原生质体的融合、融合子的鉴定及遗传应用等。

原生质体技术作为改良药用真菌菌种的一个途径,主要应用在单核体杂交育种,远缘杂交育种、诱变突变型^[14]、转基因研究、克服品种退化等方面。随着分子生物学技术的不断发展,药用真菌的原生质体技术在融合研究这一基础上与分子生物学技术相结合得到了更广泛的发展。以脱去细胞壁的裸露原生质体为材料,现已开展了外源基因的导入和转化、DNA 的分离和纯化、RFLP 和 PCR 技术的应用、基因文库的构建等多项研究。

2.3 发酵工程技术:发酵工程技术又称为微生物工程,是利用现代工程技术手段,利用微生物的特殊功能生产有用的物质,或直接将微生物应用于工业生产的一种技术。

药用真菌的发酵生产有固体发酵和液体发酵之分。固体发酵(solid fermentation)又称为“固体培养”,国外也曾有这种工艺,称为 solid substrate fermentation (SSF),即固体基质发酵。国内目前固体发酵的基质多采用农副产品,工艺有两类:①去渣型工艺:用甘蔗渣、玉米芯、麦麸、米糠等作为基质,如猴头等多数药用真菌的发酵产品采用此工艺生产;②无渣型工艺:发酵后直接烘干的玉米粉作为基质,如亮菌、蜜环菌等固体发酵的产品采用此工艺生产。在当前条件下,虽然多种菌体发酵的制剂疗效并不亚于深层发酵,但有些部门由于对它的理解不足而难以接受,严重影响了它的发展。尽管如此,药用真菌如猴头、云芝、蜜环菌等仍采取固体发酵的生产方式。

液体发酵(liquid fermentation)也称液体深层发酵(liquid submerged fermentation),是在抗生素发酵技术基础上发展起来的,沿用了传统发酵生产工艺。1984 年 Humfeld 首

先提出用发酵法来培养真菌菌丝体。1958 年 Szuets 第一个用发酵缸来培养羊肚菌。从此药用真菌的生产跨入了大规模工业化生产领域。国内较早报道的是 1960 年上海生理研究所的陈美聿等人进行的香菇深层发酵研究。20 世纪 80 年代后,国内外纷纷开展了有关药用真菌液体发酵(主要是深层发酵)应用研究。适合液体发酵的药用真菌目前有 70 余种。除余知知^[15]提到的 60 余种适合液体发酵的药用真菌外,还有平菇、松乳菇、层卧孔菌、黑柄碳角菌、滑菇、构菌、玉蕈离褶伞和金钱菌等。药用真菌的液体发酵,既可快速大量生产制备出多糖、多肽、生物碱、萜类化合物、甾醇、苷类、酚类、酶、核酸、氨基酸、蛋白质、维生素等多种生物物质;同时,还可生产出菌龄整齐一致、生活力强、数量巨大的液体菌种,满足扩大生产的需要。

药用真菌深层发酵生产工艺流程沿用了传统的发酵生产工艺,即试管斜面菌种→一级摇瓶种→二级种→三级种→发酵罐。有关培养基配方方面的研究包括碳源、氮源、碳氮比、pH 值、无机盐、微量元素、维生素、生长因子、增黏剂等;有关发酵过程中参数控制的研究包括接种量、温度、搅拌速度、空气流量、糖含量、pH 值、纯度、活力、菌丝形状、发酵液中菌丝体个数和质量等。

2.4 酶工程技术:酶工程是利用酶的催化作用进行物质转化的技术,是将酶学理论与化工技术结合而形成的新技术,也就是利用酶或者微生物细胞、动植物细胞、细胞器的特定功能,借助工程学手段来提供产品的一项技术。药用真菌成分复杂,有药用成分,也有如蛋白质、果胶、淀粉、纤维等非必须成分。这些成分一方面影响真菌细胞中药用成分的浸出,另一方面也影响中药液体制剂的澄清度。传统的提取方法(如煎煮、有机溶剂浸出和醇处理方法)提取温度高、提取率低、浪费乙醇、成本高、不安全;而选用恰当的酶,可通过酶反应较温和地将真菌组织分解,加速有效成分的释放提取,选用相应的酶可将影响液体制剂的杂质如淀粉、蛋白质、果胶等分解去除,也可促进某些极性低的脂溶性成分转化为糖苷类或易溶于水的成分而有利于提取。这是一项很有前途的新技术,完全适于工业化大生产。

酶工程主要包括各类自然酶的生产开发技术,酶的分离、纯化和鉴定技术,酶的固定化技术,酶分子改造技术,固定化酶反应器的研制技术,酶的应用技术等。在药用真菌中,能够通过工业化生产获得天然单一产物是人们追求的目标,但天然化合物结构复杂,常有多个不对称碳原子,合成难度较大或合成条件苛刻;而酶工程为这类成分的获得提供了新的途径。酶工程技术在药用真菌的开发利用中如何发挥其作用,是今后值得研究的一个方向。

3 生物技术在药用真菌研究和开发中的应用前景

目前生物技术在中药中的应用还十分有限,除了在细胞工程和发酵工程方面有一定进展以外,基因工程刚刚起步,而酶工程和蛋白质工程尚未涉及。因此,加强生物技术在中药基础和应用中的研究显得十分必要。药用真菌作为我国中药宝库中的一部分,生物技术在其开发利用中具有广阔的发

展前景。

3.1 传统药用真菌的生产:与传统的生产方式相比,应用生物技术进行传统药材生产和品质改进有明显的优点。生物技术在药用真菌生产中的应用主要体现在防病虫害、优化品质、减少农药和重金属污染等方面。通过转基因技术,使药用真菌获得自身的抗虫、抗病毒能力,减少栽培过程中农药的使用,保证中药的天然、安全,从而促进出口和应用。目前野生珍贵药用真菌因过度开采已出现濒临灭绝的危机,采用生物工程技术对其进行研究开发,通过细胞工程、染色体工程、细胞融合等技术,可以培养出天然药用成分含量高的新的药用真菌。同时建立适宜于低温液氮冷冻保存技术,对物种进行保存,供进一步的研究。

3.2 地道药用真菌培育选种鉴定:主要利用 DNA 分子标记技术进行生药鉴定,选育地道药用真菌。药用真菌中作为药用的部位称为基原,它的真伪鉴别是中药质量研究、品质评价以及药材学、炮制学、化学、药理学研究,乃至临床应用中必不可少的前提条件。传统的药用真菌鉴别主要依据的是药材外观性状,而近代生药学主要从生物分类学(基原鉴别)、细胞组织学(显微鉴别)、化学(理化鉴别)角度建立了相对客观的质量鉴别标准。DNA 是最稳定的遗传信息,生物个体不同组织器官的部位以至细胞都具备相同的遗传信息,利用基因与药物成分相关性的原理,可以更好的保护、利用及寻找新的生药资源。通常采用 RAPD 技术及 RFLP 技术鉴定不同物种,并通过建立 DNA 指纹图谱,确立地道药材的分子指征(特异的 DNA 片段),并以其制备特异探针来检测相应的药材,为中药质量标准化奠定了基础。

3.3 利用基因工程和细胞培养技术高效表达和生产天然活性成分或转基因真菌:利用转基因技术,将特异基因导入快速生长繁殖的药用真菌中,生产外源基因编码的药用多肽和蛋白,是优化种质、解决药用真菌资源短缺问题的一个重要途径^[16]。对于药用成分明确但含量极低或生长周期较长的药材,可以选取适宜的真菌表达系统,通过转基因技术高效表达外源基因,从而获得高效表达的药用成分,创造新的药用真菌资源。

3.4 提高代谢产物的含量,获取更多的有效成分:具有中国特色的生物技术医药工业中应用最广泛的就是中草药及其药用成分的发酵生产。利用发酵技术人工生产人们所需的药用成分是目前较受欢迎的方法,因此建立具有能够生产药用成分较高的细胞系,采用适宜的发酵基质以及选用高效方法对药用成分进行分离、纯化是该领域的技术关键和研究核心问题。真菌的药用成分绝大部分为次生代谢产物,通过组织培养技术和发酵技术,可生产高效表达的天然药用成分。在药用真菌发酵过程中通过添加适合的诱导剂及前体物,促进和扩大代谢产物的产量。发酵技术在真菌类药物生产中应用尤为广泛。此外,基因工程产物的扩大生产也主要是通过这一技术,生产多肽及蛋白类药物成分。目前的难点和重点在于如何更好的分离、纯化下游产物中的药用成分。反义技术可以控制某一代谢途径关键酶基因,抑制或激活酶活性,使

药用成分含量增加,从而定向调控药用真菌的品质。焦点在于次生代谢途径中关键的酶和基因的定位、分离及克隆。

3.5 药用筛选:应用细胞培养技术,从细胞水平筛选药用成分,进而在基因水平上确定其作用机制。中药主要通过调节机体的整体机能,即通过对多靶点基因的表达调控而起作用,单味药和复方药都可通过其对相关药效基因表达的影响(即药物基因组学),在分子水平上建立中药活性检测系统。利用高通量的基因芯片技术,可以快速、准确进行高效药物的筛选。同时可对药物作用的靶基因进行鉴别,进一步检测该药物是否会致畸或造成其他危险,加快特效复方药研制。也可以利用 DNA 芯片分析用药前后整个机体的不同组织、器官基因表达差异。再用 mRNA 构建 cDNA 表达文库,然后用得到的肽库制作肽芯片,即可以从众多的药物成分中筛选到起作用的部分物质。

4 结语

随着科学技术的飞速发展、各种先进技术的产生与建立,为药用真菌的研究开辟了更加广阔的领域,特别是在生物技术领域,分子生物学已成为现代生命科学的共同语言,它不断地与其他学科进行广泛而深入的横向联系与交叉融合^[17],为中医药(包括药用真菌)的发展与创新提供了强大的推动作用。将人类基因组学、生物信息等前沿交叉学科的一些先进研究方法和手段如 DNA 分子标记技术、生物芯片技术等应用到中医药研究领域,也将是中药现代化发展的新方向^[18],对药用真菌的开发利用与保护也是一个有益的启迪。

References:

- [1] Zhang K C. The situation and feature of research and development of pharmaceutical fungi [J]. *J Food Sci Biotechnol* (食品与生物技术), 2002, 21(1): 99-103.
- [2] Zhou X W, Lin J. Resources of wild *Ganoderma* spp. in China and their development and utilization [J]. *Acta Edul Fungi* (食用菌学报), 1999, 6(1): 58-64.
- [3] Zhuang Y. Review of medicinal fungi from China [J]. *Edib Fungi China* (中国食用菌), 2001, 20(2): 3-5.
- [4] Lorenzen K, Anke T. Basidiomycetes as a source for new bioactive natural products [J]. *Curr Organ Chem*, 1998, 2: 329-364.
- [5] Wu T S, Shi L S, Kuo S C. Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* triterpenes [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64: 1121-1122.
- [6] Tang Y J, Zhong J J. Role of oxygen supply on submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* for production of *Ganoderma* polysaccharide and ganoderic acid [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2003, 32: 478-484.
- [7] Ma F Y, Luo X C. Application of molecular markers in genetic and breeding of edible mushroom [J]. *Mycosystema* (菌物系统), 2002, 21(1): 147-151.
- [8] Hu L Xu Y. Application of AFLP to fungi research [J]. *Biotechnology* (生物技术), 2003, 13(4): 43.
- [9] Jiang Q P, Ji H, Zhu Z H, et al. The technique of RAPD and its application in the studies of edible and medicinal fungi [J]. *J Hebei Acad Sci* (河北科学院学报), 2003, 20(1): 59-64.
- [10] Terashima K, Matsumoto T, Hasebe K, et al. Genetic diversity and strain-typing in cultivated strains of *Lentinula edodes* (the shii-take mushroom) in Japan by AFLP analysis [J]. *Mycol Res*, 2002, 106(1): 34-39.
- [11] Terashima K, Katsumoto T, Hasebe K, et al. A genetic linkage map of *Lentinula edodes* (shiitake) based on AFLP makes [J]. *Mycol Res*, 2002, 106(8): 911-917.
- [12] Liu Z T, Luo X C. *The Biotechnology and Application of*

- Mushroom (食用真菌生物技术及应用) [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2002.
- [13] Cui Z Q, Luo X C. Protoplast isolation and regeneration of *Morchella* [J]. *Mycosystema* (菌物系统), 2003, 22(3): 498-501.
- [14] Li G, Yang F, Li R X, et al. A study on the breeding of new *Ganoderma* varieties by UV induced mutagenesis [J]. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2001, 41(2): 229-233.
- [15] Yu Z Z. Mushrooms and biotechnology [J]. *Acta Edul Fungi* (食用菌学报), 1998, 5(3): 52-58.
- [16] Xu T F, Zhang H M, Zhang L, et al. Application of biotechnology to improvement of character, preservation and identification of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2003, 38(3): 166-170.
- [17] Yu Q Y. Study and development of modernization for traditional Chinese medicine [J]. *J Shenyang Med Coll* (沈阳医学院学报), 2003, 5(2): 134-135.
- [18] Jin W, Ma Y S, Cheng H P. Bio-chip and its application in pharmaceutical science [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(11): 1054-aii.

微型胶囊技术在中药制剂中的应用及研究进展

张韻慧, 许建辰, 肖莉, 李宁

(天津大学药学院, 天津 300072)

摘要: 论述了微型胶囊技术在中药制剂领域的应用; 讨论了各种囊材、制备工艺及其特点, 并探讨了常规及特殊的应用规律, 介绍了质量控制的常见方法。详细综述了近年来中药现代化研究领域微型胶囊的研究进展和应用现状, 展望了微型胶囊技术在中药制剂现代化中的应用前景。

关键词: 中药制剂; 微型胶囊技术; 纳米微粒

中图分类号: R283.3

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)03-0455-04

Application and development of microencapsulation technique in Chinese materia medica preparations

ZHANG Yun-hui, XU Jian-chen, XIAO Li, LI Ning

(College of Pharmacy, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Key words: Chinese materia medica preparation; microencapsulation technique; nanoparticle

微型胶囊技术是利用天然的或合成、半合成的高分子材料(囊材)将固体、液体或气体(囊心物)制备成微型囊或微型球的过程, 简称微囊化。微囊、微球、毫微囊、毫微球及纳米微粒皆属于此范畴, 一般统称为微粒。药物微囊化后可制成散剂、片剂、颗粒剂、胶囊剂、注射剂等不同剂型, 被认为是药物达到缓、控释及提高靶向性的有效手段。目前已有多种西药采用此技术, 在中药制剂领域也已普遍得到重视并取得了一定的成果。本文结合近年该领域应用实例进行综述, 以期对这一领域的深入研究有所启迪。

1 中药微囊化的应用

1.1 靶向制剂

1.1.1 普通注射剂: 这类微球经 iv 或 ip 后, 由于粒径的不同而产生被动靶向。粒径为 0.1~0.2 μm 的微粒, 可被巨噬细胞吞噬而达肝脾等器官; 粒径为 7~12 μm 的微粒可被肺机械摄取, 主要集中于肺。曾凡彬等^[1]制备的盐酸川芎嗪明胶微球平均粒径为 12 μm, 与溶液对照组相比肺内的分布提高近 6 倍。

1.1.2 动脉栓塞剂: 注射大于 12 μm 的微球于癌变部位的

动脉血管内, 微球随血流阻滞在癌体周围的毛细血管中, 甚至可使小动脉暂时栓塞, 既可切断肿瘤的营养供给, 也可使载药的微球滞留在病变部位, 提高局部浓度, 延长作用时间。这方面的应用报道较多, 近年来仅作为肝动脉栓塞剂的微球就有白芨微球^[2]、斑蝥素微囊^[3]、莪术油微球^[4]、羟基喜树碱微球^[5]、华蟾酥精微球^[6]和去氢骆驼蓬碱微球^[7]等。

1.1.3 磁导向制剂: 将磁性微粒包入微球中, 利用体外磁场效应, 引导药物在体内定向移动和定位聚集, 此类微球在靶向给药方面提供了一个全新的开发途径。刘晓华等^[8]采用疗效较好的中药复方浸膏与 5-氟尿嘧啶复合, 在体外磁场的定向引导下, 浓集在靶区组织上, 定位释放药物, 提高靶区药物浓度数十倍之多, 从而提高了疗效。张仲海等^[9]将毒性较大的中药有效单体——秋水仙碱, 用人血清蛋白包埋制成磁性微球, 用于乳腺癌的治疗, 经证明此微球对于定位治疗乳腺癌有较好疗效。

另外靶向制剂中还有对微粒表面进行修饰从而达到主动靶向的方式。由于制备工艺的限制, 目前此类制剂在中药微囊化中的应用还比较少。总之, 应用微囊化技术制成的靶

收稿日期: 2004-05-24

作者简介: 张韻慧(1945—), 女, 教授, 博士生导师, 先后主持和完成多项省、部级科研项目, 获得省、部级科技进步奖 4 项, 研究方向为药剂学、药物的缓控释体系、药物纳米技术、药物现代分析技术。 Tel: (022)27401186