

- [20] Liu N F, Meng D. Comparison of inhibitory effects on nonenzymatic glycosylation of *in vitro* by *Ginkgo biloba* extract and other four drugs [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem* (中国新药与临床杂志), 2002, 21(12): 705-708.
- [21] Liu X S, Xu Y J, Zhang Z X, et al. Effect of ligustrazine on protein kinase C signaling pathway in human peripheral blood lymphocytes [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2003, 19(4): 507-510.
- [22] Xu M B, Huang Y P, Sheng S S, et al. The effect of administered ligustrazine for the intracellular free calcium ($[Ca^{2+}]$) concentration in pancreatic acinar cell [J]. *Chin J Tradit West Med* (中华中西医杂志), 2003, 4(5): 655-657.
- [23] Huang Y, Chen S Q, Zhang G, et al. Effect of tetromethylprazine and aminoguanidine on renal nitric oxide of diabetic rats [J]. *Chin J Integrated Tradit West Nephrol* (中国中西医结合肾病杂志), 2003, 4(5): 265-267.
- [24] Xi X H, Jiang D Y, Tang L S, et al. The protection of silymarin and anisodamine on growth and DNA changes of bovine retinal capillary pericytes cultured in glycosylation products [J]. *J Tradit Chin Ophthal* (中国中医眼科杂志), 2000, 10(4): 187-190.
- [25] Pu Y L, Liang X C. Effect of traditional Chinese medicine on diabetic nephropathy [J]. *J Chin Practical Med* (中华实用医学), 2003, 5(13): 41-43.
- [26] Zhao T F, Deng H C, Zhao J P, et al. Effect of sodium ferulate on nonenzymatic glycation of aortic collagen in diabetic rats [J]. *Chin J Endocrinol Metab* (中华内分泌代谢杂志), 2003, 19(2): 139-140.

天然产物的生物转化研究进展

冯冰, 马百平*

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

摘要:以植物细胞培养、微生物和游离酶为生物催化剂的生物转化技术, 广泛用于天然产物的合成和对先导化合物的结构改造, 其反应包括水解、羟化、糖基化、酯化等多种类型, 在生物转化体系的筛选、转化条件的优化、转化率的提高及酶的分离纯化方面取得了一些进展。这对于增加天然产物结构多样性、寻找药物先导化合物、促进珍稀物种资源可持续利用、提高生产效率、降低成本等多个环节均有广泛的应用价值。

关键词:天然产物; 生物转化; 微生物; 游离酶; 细胞培养

中图分类号: R282.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)06-0941-05

Advances in studies on biotransformation of natural products

FENG Bing, MA Bai-ping

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Key words: natural products; biotransformation; microorganism; free enzyme; cell culture

生物转化(biotransformation)是利用植物离体细胞或器官、动物细胞、微生物及其细胞器, 以及游离酶对外源性化合物(exogenous substrate)进行结构修饰的生化反应。近年来, 随着基因工程、细胞工程、酶工程技术的不断发展和完善, 使该项技术广泛用于天然化合物的结构修饰和合成、有机化合物的不对称合成、药物前体化合物的转化、光学活性化合物的拆分和药物代谢研究等诸多领域。

酶及酶体系能将许多天然化合物转化为具有较高生物活性的物质。近年来开展的采用植物细胞、微生物和游离酶对天然化合物如人参皂苷、三七皂苷、大豆皂苷、甘草皂苷、甾体化合物等进行结构修饰的研究已取得可喜的进展。

1. 水解作用

研究显示, 糖链的结构对皂苷生物活性起着非常重要的作用。如含有从黄山药中提取的8种甾体皂苷的中药制剂——地奥心血康胶囊对冠心病、心绞痛、心肌缺血等症有显著疗效, 其中皂苷结构上的差异只是糖链的不同; 它们的苷元与薯蓣皂苷

元类似, 而薯蓣皂苷元却不具有上述疗效, 反而有明显的细胞毒性作用。甾体皂苷是植物中一类重要的生物活性物质, 具有多种生理活性。目前对其生物活性的研究已从溶血、抗生育等方面转向更有应用前景的抗癌、抗真菌、治疗心血管疾病、调节免疫以及治疗糖尿病等方面。由于甾体皂苷结构的复杂性, 合成难度较大。通过生物转化的方法得到高活性、低毒性的甾体皂苷已成为该领域的发展趋势。

人参皂苷是人参中的主要活性成分。近年来, 人参皂苷以其独特的生理和药理活性, 特别是在抗癌、抗氧化及抗衰老方面的疗效使其成为最有开发潜力的化合物之一。由于含有不同糖链的人参皂苷生物活性和毒性不同, 因此, 希望通过酶的水解作用来对其进行结构改造, 以获得高活性的人参皂苷。金东史等^[1]利用人参皂苷- β -葡萄糖苷酶将人参中含量较高的皂苷——Rb、Rc 和 Rd 等原人参二醇皂苷转化, 得到具有高抗癌活性的人参皂苷 Rh₂; 董阿玲等报道了利用49种微生物菌株对人参皂苷 Rg₁ 进行生物转化研究, 发现

收稿日期: 2004-09-20

* 通讯作者 马百平(1966—), 男, 山东德州市人, 博士学位, 现于军事医学科学院放射医学研究所从事中药有效成分研究及新药研究开发。 Tel: (010)66930265 E-mail: ma_bp@sohu.com

小型丝状真菌黑曲霉 *Aspergillus niger* 3. 1858 和蓝色犁头霉 *Absidia coerulea* 3. 3583 能在 6 d 后将 R_{G1} C20 位的糖基水解, 完全转化为弱极性代谢产物 Rh₁——具有强抗瘤活性物质; 这种转化方式与以往报道的 R_{G1} 在小鼠胃、小肠以及人小肠内代谢的方式不同。并由此推测, 真菌酶体系中的水解酶对 R_{G1} C20 位的葡萄糖有特异的立体选择性, 而对 C6 的葡萄糖则选择较低。与此同时, 他们还利用 49 种微生物对三七中主要皂苷成分——人参皂苷 Rb₁、Rg₁、Rd、Rb₂、Re、Rg₂ 及三七皂苷 R₁ 进行了系统的生物转化研究, 通过反复探讨, 建立了 4 种能够大量培养, 对人参皂苷 Rb₁、Rg₁、Rd 和三七皂苷 R₁ (图 1) 进行生物转化的真菌转化体系, 并已从 4 种真菌体系中得到 8 个转化产物, 其中 Rd 和 Rh₁ 的转化率达 85% 以上, 转化产物人参皂苷 Rg₃、Rh₂、Rh₁ 在人参属

植物中都是微量成分, 具有强抗肿瘤活性, 这对稀有人参皂苷的生物转化制备、新药开发及进行工业化生产具有重要的应用价值。同时系统地比较了 8 种真菌转化体系对三七中 7 种主要皂苷类成分生物转化的底物特异性, 显示新月弯孢霉 *Curvularia lunata* (Wald.) Boed. 3. 1109 和 3. 4381、顶头孢 *Cephalosporium acremonium* Corda 3. 2058、*Cephalosporium aphidicola* Saccardo 3. 2059 只能转化原人参二醇型皂苷, 不能转化原人参三醇型皂苷; 少根根霉 *Rhizopus arrhizus* Fischer 3. 2896 和 3. 3538 主要转化原人参二醇型皂苷; 黑曲霉 *Aspergillus niger* V. Tiegh 3. 1858 和蓝色犁头霉 *Absidia coerulea* Bain 3. 3538 只能转化原人参三醇型皂苷, 而不能转化原人参二醇型皂苷。这些研究为进一步探讨酶的作用机制及转化规律奠定了坚实的基础^[2]。

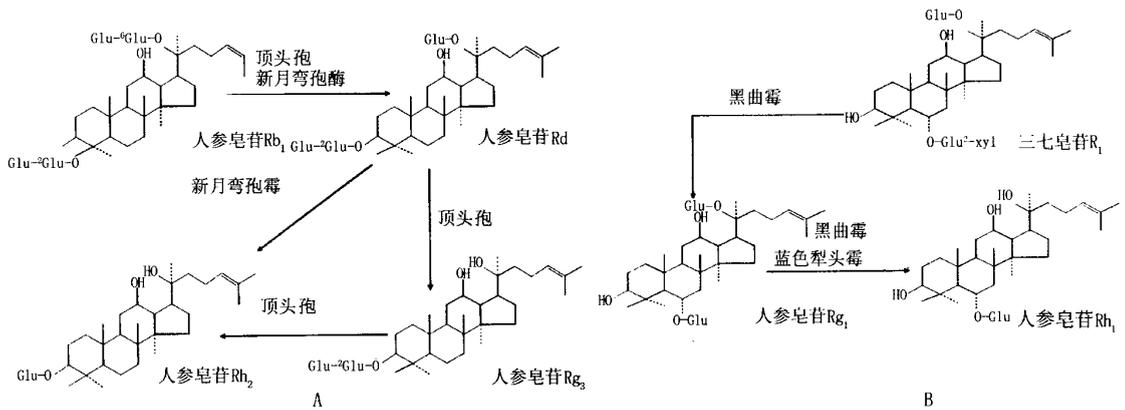


图 1 人参皂苷 Rb₁ 转化为人参皂苷 Rh₂(A)和三七皂苷 R₁ 转化为人参皂苷 Rh₁(B)

Fig. 1 Ginsenoside Rb₁ transformed to ginsenoside Rh₂(A) and *Panax notoginseng* saponin R₁ transformed to ginsenoside Rh₁(B) by fungi

大豆皂苷具有多种生理活性。许多研究表明大豆皂苷所带的糖分子数目越少, 其豆腥味越弱, 而生理活性越高。利用某些微生物体内的酶体系去除大豆皂苷的部分糖基, 不仅去除了豆制品的豆腥味, 而且还产生抗氧化、调血脂等特殊功效。田晶等利用 8 种霉菌菌株对 7 种大豆皂苷糖苷键的水解能力进行探讨, 筛选得到米曲霉 *Aspergillus oryzae* (Ahlb.) Cohn 39s、黑曲霉 848s 和米曲霉慢 s 3 种菌株所产的 β-葡萄糖苷酶活性较高, 均对大豆皂苷的糖基有水解作用, 使其转化成低糖基皂苷及苷元^[3]; 并且对酱油制曲过程中大豆皂苷的变化与 *A. oryzae* 39s、*A. oryzae* 42s 和 *A. niger* 848s 菌株对大豆皂苷酶解的变化进行了比较, 通过研究发现, 两种过程所产生的新皂苷很相似; 同时还发现, 酱油发酵过程中大豆皂苷组成和含量都发生变化。一方面, 由于酱油曲中含有水解大豆皂苷糖基的酶, 可以水解部分糖基, 产生低糖链、高活性的大豆皂苷; 另一方面, 大豆皂苷在酱油发酵过程中含量随时间增加, 由 10.40 mg/mL 增加到 30 d 时的 19.00 mg/mL。采用 *sp.* 848s 和 *sp.* 42s 菌株制曲(与实际酱油发酵工艺中所用菌株相同), 对这一变化规律研究发现, 两种菌株所产的糖苷类酶中, 除有水解大豆皂苷的水解酶外, 还有能连接上糖基的酶——糖基转移酶^[4]。说明大豆皂苷在

制曲过程中的变化机制与酶解作用相同, 都是在水解酶的作用下将大豆皂苷的糖基水解或在糖基转移酶的作用下得到糖基增加的皂苷。这一规律对酱油生产过程中有效控制发酵时间以便有效控制实际大豆发酵制品的生理功能非常有意义。

甘草皂苷是甘草中主要的活性成分, 具有多种生理活性。近年来研究发现甘草皂苷对艾滋病病毒(HIV)的增殖有显著的抑制效果, 甘草皂苷在 0.5 mg/mL 可抑制 98% 以上的 HIV 病毒的增殖。但因有蓄钠排钾的副作用, 过多服用导致人体电解质平衡失调而使临床应用受到限制。很多研究结果表明, 甘草皂苷的生物活性与其 β-葡萄糖醛酸基有密切的关系, 去除部分糖基往往能改变或提高其生理活性。如去除甘草皂苷 C3 位最末端一分子的 β-葡萄糖醛酸基, 可得到单葡萄糖醛酸基甘草皂苷(mono-β-glucuronide-glycyrrhizin, GAMG)。鱼红闪筛选出一种黑曲霉 *sp.* 48 菌株, 具有将甘草皂苷水解为 GAMG 的酶活力, 转化率达 10% 左右^[5]。吴少杰等利用米曲霉 39 和黑曲霉 UV-48 两种菌株将甘草皂苷转化为单葡萄糖醛酸基皂苷元, 但转化率还较低, 有待进一步改善^[6]。未转化的甘草皂苷利用树脂柱回收循环利用, 有效地提高了实际转化率。利用长春花植物细胞悬浮培养也能将

甘草皂苷 C3 位的二分子葡萄糖醛基水解,生成甘草次酸(甘草皂苷元)^[7]。研究表明,陈甘草(其中甘草皂苷较多地分解为甘草皂苷元)对于治疗消化道溃疡更为有利,甚至认为甘草皂苷元是甘草皂苷中的活性成分。

一枝黄花皂苷 I 为 C3 位连有一分子葡萄糖和 C28 位连有 4 分子不同单糖的五环三萜类皂苷,可抑制酵母菌如白色念珠菌的生长,并有一定的细胞毒性作用。Gerd 等利用柚苷酶将其 C28 末端的鼠李糖水解;而利用商品 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶和桔皮苷酶,在相同条件下,均不能水解一枝黄花皂苷 I 的糖基。认为主要是由于这些酶具有很强特异性所致。研究还发现,利用 β -葡萄糖苷酶的粗酶能水解其 C3 位的葡萄糖基;再用柚苷酶,将其 C28 位末端的鼠李糖水解;然而,相反的转化顺序,即先用柚苷酶,再用 β -葡萄糖苷酶却得不到相同的转化产物。认为,酶的水解特异性和水解得到的终极产物不仅依赖于酶的类型,而且还依赖于酶联合使用时的顺序^[8]。

通常,某些酶和微生物很容易使呋甾 C26 脱去一个糖基而环合为相应的螺甾。而 JIN 等从小花盾叶薯蓣 *Dioscorea parviflora* C. T. Ting 的新鲜根茎中分离到一种 C3 位含有 4 个糖基和 C26 位含有一个糖基的呋甾甾型皂苷——小花盾叶薯蓣苷(parvifloside),通过不同酶降解研究发现, β -葡萄糖苷酶能使其 C26、C3 位同时脱糖,F 环重新环合得到相应的一系列脱糖基螺甾皂苷;而纤维素酶粗酶不但使其糖链逐个脱掉转化为相应的螺甾皂苷,而且能使其转化为一系列脱糖基呋甾皂苷。通过对酶解现象研究分析,认为 β -葡萄糖苷酶可能对呋甾皂苷 C26 位的 β -葡萄糖基有很强的区域选择性,而对 C3 位同样是 β -葡萄糖基且水溶性较差的三糖基螺甾皂苷选择性较低;而纤维素酶粗酶中的 β -葡萄糖苷酶活性可能较低,区域选择性较差,不仅能使小花盾叶薯蓣苷转化为相应的去糖基螺甾皂苷,而且能转化为一系列去糖基呋甾皂苷。这种纤维素酶粗酶的生物转化可能是建立甾体皂苷分子库的最佳方法,也可能是植物中甾体皂苷分子变化的重要途径^[9]。

植物细胞悬浮培养具有水解酯基的能力已有报道。烟草 *Nicotiana tabacum* L. 细胞悬浮培养对 α -萜品醋酸酯的水解具有对映选择性,这种选择性对外消旋化合物的光学拆分具有非常重要的意义。如烟草细胞悬浮培养对龙脑醋酸酯、异龙脑醋酸酯和异松茨烯醋酸酯进行转化,碳原子上具有酯基的 R-构型异构体优先被水解;少根紫萼 *Spirodela oligorrhiza* (Kurz) Hegelm. 细胞悬浮培养将 (RS)-1-苯乙基醋酸酯及其衍生物水解,仅得到 R-构型醇^[7]。烟草植物细胞悬浮培养能将香芹脎(carvoxime)和双氢香芹脎(dihydrocarvoxime)转化为相应酮。罂粟 *Papaver somniferum* L. 植物细胞悬浮培养也能将蒂巴因(Thebaine)转化为相应的醇^[7]。桔梗悬浮细胞培养将天麻素脱去葡萄糖残基,转化生成对羟基苯甲醇^[10]。

2 羟化作用

碳氢化合物中非活泼 C—H 键的羟化是一种非常重要

的生物转化反应,传统有机化学合成几乎不能进行这样的直接羟化反应。自 1952 年微生物法合成糖皮质激素进入商品化生产以来,羟基化的生物转化技术成为甾体药物或其中间体合成路线中不可缺少的关键技术。

微生物及其酶体系能够在甾体化合物的 C1 至 C21 和 C26 位进行羟基化,以提高其生物活性和制备中间体。对甾体化合物 11 α -、11 β -、15 α -和 16 α -位羟基化技术,已应用于甾体药物的工业化生产,主要生产肾上腺皮质激素及其衍生物。对于甾体化合物的生物转化进展,Fernandes 等已做了详细的综述^[11,12]。

青蒿素是我国从中药中自主开发的抗疟药物,有文献报道,青蒿素类成分的水溶性与其活性有关,陈有根等分别利用灰色链霉菌 *Streptomyces griseus* (Krainsky) Waksman et Henrici 在青蒿素及其衍生物蒿甲醚结构中引入了羟基,得到 9 α -羟基青蒿素,而其抗疟作用活性中心过氧桥并未发生任何改变,体外抗疟实验表明该化合物具有抗恶性疟原虫 FCC-1 的作用^[13],这在有机合成中是较难做到的,对新药的开发具有重要的现实意义。占纪勋等利用中华根霉 *Rhizopus chinensis* Saito 和雅致小克银汉霉 *Cunninghamella elegans* Lendn 对青蒿素转化得到去氧青蒿素(deoxyartemisinin I)、3 α -羟基去氧青蒿素(3 α -hydroxydeoxyartemisinin II)和 9 β -羟基青蒿素(9 β -hydroxyartemisinin IV),前两种化合物同时过氧桥断裂而丧失抗疟活性,空白试验显示,底物在不加微生物的相同培养条件下依然能转化为去氧青蒿素。提示青蒿素对氧桥断裂失去一个氧原子成为去氧青蒿素可能是土豆培养基中铁元素的作用所致^[14]。利用植物细胞培养也能实现青蒿素的生物转化。对青蒿素在掌叶大黄毛状根培养体系中转化为去氧青蒿素^[15];利用长春花和银杏植物悬浮培养均能将青蒿素 C3 位羟化,同时中心过氧桥断裂失去一个氧原子形成 3 α -羟基去氧青蒿素^[16]。尽管这些研究结果并未达到预期的目的,但对进一步生物转化研究有非常重要的参考价值。

植物细胞悬浮培养对外源性目标化合物进行羟化反应的区域选择性和立体选择性非常重要^[17,18]。烟草植物细胞悬浮培养能将里哪醇(linalool)、双氢里哪醇(dihydrolinalool)及其醋酸酯结构中 isopropylidene 部分的反式甲基羟化,得到相应的 8-羟基衍生物;同样,能在萜类化合物丙烯基的双键上羟化,形成相应的烯醇。表明特定的植物细胞悬浮培养具有较强的区域选择性^[7]。植物细胞悬浮培养的羟化反应几乎都有一定的立体选择性。萜类化合物的羟化通常发生在:(1) β -萜品醇及其醋酸酯的 C-4 位,形成反式异构体结构的羟基化合物;(2) α -萜品基醋酸酯内环联接的羟化形成反式二醇构型;(3) γ -萜品基醋酸酯羟化后得到与 1-醋酸基成反式构型的二醇^[7]。对映选择性的研究表明(4R)- α -萜品醇及其醋酸酯 C6 位羟化形成其(4S)-对映体构型;另一方面,(4S)- α -萜品醇及其醋酸酯乙烯基羟化形成其(4R)-对映体结构。因此,利用植物细胞悬浮培养可以辨别底物和转化产物的对映体构型。这种发生在双键丙烯位及双键上的羟化对映选择性可能是由培养细胞不同的酶体系催化所致^[7]。

3 糖基化作用

糖基化可促使水不溶或溶解性不好的化合物转化为水溶性化合物。由于化学合成和微生物体系较难完成糖基化反应,因此,植物细胞体系在这一反应中起着重要的作用。同时外源化合物被植物悬浮细胞培养糖基化后,理化性质与生物活性也发生较大改变,如丁酸通过灰叶烟草 *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. 悬浮细胞培养糖基化得到其糖苷,增加了在体内的半衰期。洋地黄毒苷元(digiloxigenin)糖基化后其药理活性更强,副作用更小。水杨酸转化为水杨酸氧苷后,小鼠口服给药作用更快更强且长期给药不会诱导胃癌。

氢醌(hydroquinone)是酪氨酸酶活性抑制剂,但刺激性强、副作用大,仅在临床中限量使用。赵明强等利用人参毛状根在培养 22 d 后,加入氢醌培养 24 h,使其转化为熊果苷,转化率达 89%。研究表明,人参毛状根生长迅速、遗传稳定、皂苷含量高、培养方便,是一种新型的培养体系。转化机制研究认为,氢醌可能在毛状根中尿苷二磷酸葡萄糖(uridine diphosphate glucose,UDPG)糖基转移酶作用下,其富含的葡萄糖高能活化形式—UDPG 与氢醌生物合成为熊果苷,苷元既可以是植物次生代谢产物,也可以是从环境中吸收。氢醌转化为熊果苷后,其水溶性增强,毒性降低,扩大了使用范围^[19]。由于糖基化条件可控,产量高且稳定,为工业化开发人参属植物所不能合成的天然化合物奠定了基础。

Xu 等发现在库页红景天 *Rhodiola sachalinensis* 细胞中含有的酪醇(tyrosol)葡萄糖基转移酶(TGase)具有很高的酶活性,通过将 3 mmol/L 的酪醇在库页红景天细胞中培养,几乎 95% 的酪醇被转化为柳得酪苷(salidroside);研究还发现,过高的底物浓度由于对植物细胞的毒性作用而阻碍生物转化反应。该转化产物具有抗氧化、抗微波辐射和抗疲劳等药理活性^[20]。

Kawaguchi 等用夹竹桃科的旋花羊角拗 *Strophanthus gratus* (Wall. et Hook. ex Benth.) Baill. 和 *S. amboensis* DC. 混合悬浮细胞培养,将洋地黄毒苷元同时羟化和糖基化,生成洋地黄毒苷的异构体 17βH-杠柳苷元-β-D-葡萄糖洋地黄毒苷(17βH-periplogenin-β-D-glucoside)^[21]。

Hirata 等利用烟草植物细胞悬浮培养将羟基香豆素转化为相应的 β-D-葡萄糖苷。转化机制研究显示,在培养过程中,羟基香豆素能使植物细胞 DNA 断裂,细胞内的植物抗毒素、东莨菪素被分泌,继而羟基香豆素被转化为相应的糖苷,而转化产物——β-D-葡萄糖苷则不引起植物细胞 DNA 的断裂。由此推论,这种糖基化作用可能是植物细胞抵御羟基香豆素毒性的一种反应^[22]。

Shimoda 等利用长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 植物细胞悬浮培养对 2-、3-、4-羟基苯甲醇和 2-、3-、4-羟基苯甲酸作为反应底物研究发现:①长春花植物细胞悬浮培养能将羟基苯甲醇转化为相应的糖苷,樱草糖苷(primeveroside)和巢菜糖苷(vicianoside);这种糖基化反应具有区域选择性,主要进攻苯甲基的羟基基团,转化特异性顺序为 3-羟基衍生物>2-、4-羟基衍生物。②长春花植物细胞悬浮培养

能使 3-、4-羟基苯甲酸的羟基和羰基糖基化;另一方面,也能使 2-羟基苯甲酸的 C5 位羟化,转化为 2,5-二羟基苯甲酸;由此推测,在长春花植物生物体内可能存在着由水杨酸转化为 2,5-二羟基苯甲酸的合成方式^[23]。

华蟾毒精是蟾蜍中的主要蟾蜍甙类成分。体外实验表明,它们对多种肿瘤细胞株均具有较强的抑制作用。叶敏等利用长春花植物细胞悬浮培养对华蟾毒精进行生物转化研究表明,长春花细胞体系对华蟾毒精具有很强的转化能力,可以选择性的对华蟾毒精 C-16 位进行糖基化修饰,经过 6 d 与长春花细胞培养的底物几乎全部发生转化。研究发现,蟾蜍甙天然的结合方式均为与有机酸形成酯键,而未见有与糖基形成苷键的化合物^[24]。因此,利用外源性植物酶体系的糖基化能力,催化天然产物生成糖苷,体现了生物转化的优势。

4 结语

生物转化是一门以有机化学为主与生物科学密切交叉的前沿学科,它涉及到微生物学、生物化学、遗传学、生物化工、化学及化工等诸多领域。人们对天然产物生物转化的研究目前还多集中于生物催化的生物、植物细胞及其酶的筛选上,对生物转化的机制、酶的分离及酶的性质研究还不多,生物转化的底物选择性、立体选择性的深入的规律性研究就更少,还很难达到有目的地进行定向转化的应用境地。天然药物大多为分子结构复杂的有机化合物,将生物转化和生物催化技术引入天然药物的研究,包括药物设计、资源开发以及新天然活性先导化合物的发现与筛选等各环节,从而研发出具有自主知识产权、有中国特色的创新药物,或开发新型药物原料资源有重要的理论意义和实用价值。

References:

- [1] Jin D S, Cui Z, Yu H S, et al. Ginsenoside Rh₂ prepared from enzyme reaction [J]. *J Dalian Inst Light Ind* (大连轻工业学院学报), 2001, 20(2): 99-104.
- [2] Dong A L. Active saponins on promoting NO emitting from Chinese materia medica Radix Notoginseng and their microbial transformation [D]. Beijing: Peking University Publishing House, 2001.
- [3] Tian J, Su Z G, Xu L Q, et al. Study on enzymatic hydrolysis of soybean saponin sugar-moiety [J]. *Food Sci* (食品科学), 2001, 22(4): 14-17.
- [4] Tian J, Su Z G, Wang J H, et al. Comparison between enzyme hydrolysis of soybean saponin and its change in soy sauce koji making [J]. *J Dalian Inst Light Ind* (大连轻工业学院学报), 2001, 20(2): 112-115.
- [5] Yu H S. *Enzyme Hydrolysis of Saponin-Sugarside and its Reaction* [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 1999.
- [6] Wu S J, Yang Z J, Zhu L H, et al. Study on biotransformation of glycyrrhizin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(6): 516-518.
- [7] Ishihara K, Hamada H, Hirata T, et al. Biotransformation using plant cultured cells [J]. *J Mol Catal B: Enzymas*, 2003, 23: 145-170.
- [8] Cerd B, Victor W, Ulrich J, et al. Enzymatic hydrolysis of the cytotoxic triterpenoid glycoside virgaureasaponin I [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(1): 153-156.
- [9] Jin J M, Liu X K, Teng R W, et al. Enzymatic degradation of parvifloside [J]. *Acta Bot Sin*, 2002, 44(10): 1243-1249.
- [10] Dai J G, Lu D D, Cui Y J, et al. Biotransformation of gastrodin by cell suspension culture of *Platycodon grandiflorum* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(12): 942-943.
- [11] Fernandes P, Cruz A, Angelova B, et al. Microbial conversion of steroid compounds: recent developments [J]. *Enzyme*

- Microb Technol*, 2003, 32: 688-705.
- [12] Manosroi J, Abe M, Manosroi A. Biotransformation of steroidal drugs using microorganisms screened from various sites in Chiang Mai, Thailand [J]. *Bioresource Technol*, 1999, 69: 67-73.
- [13] Chen Y G, Yu B Y. Optimization studies of fermentation condition for bioconverting artemisinin to 9 α -hydroxyartemisinin [J]. *Pharm Biotechnol* (药物生物技术), 2001, 8(2): 90-93.
- [14] 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.
- [15] Li L X, Su Y F, Liu X F, et al. Biotransformation of artemisinin by hairy cultures of *Rheum palmatum* L. [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2002, 11(4): 122-124.
- [16] 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.
- [17] Hamada H, Miyamoto Y, Nakajima N, et al. Highly selective transformation by plant catalase [J]. *J Mol Catal B: Enzyme*, 1998, 5: 187-189.
- [18] Giri A, Dhingra V, Giri C, et al. Biotransformation using plant cell, organ cultures and enzyme system: current trend and future prospects [J]. *Biotechnol Adv*, 2001, 19: 175-199.
- [19] Zhao M Q, Ding J Y, Liu J, et al. Studies on the arbutin biosynthesis by hairy root of *Panax ginseng* C. A Mayer [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(12): 819-822.
- [20] Xu J F, Su Z G, Feng P S. Activity of tyrosol glucosyltransferase and improved salidroside production through transformation of tyrosol in *Rhodiola sachalinensis* cell cultures [J]. *J Biotechnol*, 1998, 61: 69-73.
- [21] Kawaguchi K, Koike S, Hirofumi M, et al. Biotransformation of digitoxigenin by cultured strophanthus hybrid cell [J]. *Phytochemistry*, 1998, 47(7): 1261-1265.
- [22] Hirata T, Shimoda K, Fujino T, et al. Biotransformation of hydroxycoumarins by the cultured cells of *Nicotiana tabacum* [J]. *J Mol Catal B: Enzyme*, 2000, 10: 477-481.
- [23] Shimoda K, Yamane S, Hirakawa H, et al. Biotransformation of phenolic compounds by the cultured cells of *Catharanthus roseus* [J]. *J Mol Catal B: Enzyme*, 2002, 16: 275-281.
- [24] Ye M, Dai J G, Guo H Z, et al. Glucosylation of cinobufagin by cultured suspension cells of *Catharanthus roseus* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2002, 43: 8535-8538.

单克隆抗体在中草药研究中的应用前景

朱学泰¹, 马瑞君^{1*}, 谢 臻²

(1. 西北师范大学 生命科学学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 兰州生物制品研究所, 甘肃 兰州 730046)

摘要:单克隆抗体技术作为一项成熟的生物学技术,在医学和生物学领域应用普遍,但在中草药研究领域中的应用国内鲜有报道。对单克隆抗体应用于中草药研究的可行性进行分析认为,中草药中的许多有效成分都可以通过杂交瘤技术得到其单克隆抗体。利用免疫学技术,单克隆抗体以其灵敏、精确、迅速和简便等特点,可用于药物原材料的分析、中草药有效成分的纯化以及药物分析方法的建立等诸多方面,可望在中药研究和加速中药现代化的进程中起重要的作用。

关键词:单克隆抗体;中草药;免疫技术

中图分类号:R282.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)06-0945-03

Application prospect of monoclonal antibody in Chinese herbal medicine study

ZHU Xue-tai¹, MA Rui-jun¹, XIE Zhen²

(1. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China;

2. Lanzhou Institute of Biological Products, Lanzhou 730046, China)

Key words: monoclonal antibody; Chinese herbal medicine; immunotechnology

1 单克隆抗体的特点及其研究进展

单克隆抗体是指由一个B淋巴细胞克隆产生的抗体。每一个B细胞表面的抗原受体只特异性的识别一种抗原决定簇,因此,一个B细胞克隆产生的抗体是同一克隆的。但由于B淋巴细胞在体外很难培养,单克隆抗体便无法大量获得。1975年,Kohler和Milstein发现将小鼠骨髓瘤细胞和经绵羊红细胞免疫的小鼠的脾细胞进行融合,形成杂交细胞,然后对杂交细胞进行细致的筛选,得到既可产生相应抗体又可

无限增殖的杂交瘤细胞克隆,从而创立了杂交瘤技术。应用杂交瘤技术,单克隆抗体的大量获得成为可能,这一技术此后在生物学和医学研究及临床上得到了普遍的应用,并发挥了重要的作用。单克隆抗体因为是由同一个B细胞克隆产生的,因此具有纯度高、特异性强、利于试验标准化及可大量生产供应等优点。建立在单克隆抗体基础之上的免疫定性、分离、分析检测技术,如免疫沉淀技术、免疫荧光技术及胶体金技术等,在实验、临床及生物制品生产过程中都发挥着重要

收稿日期:2004-10-28

作者简介:朱学泰(1979—),男,甘肃金昌人,助教,硕士,主要从事免疫学研究。 E-mail:zhuxutai@163.com

* 通讯作者 马瑞君 Tel:(0931)7971530