· 专论 ·

角类动物药质量控制模式与方法的创新和发展

鄢 丹¹, 周丹蕾^{1,2}, 唐慧英³, 肖小河^{1*}, 李宝才²

(1. 解放军中药研究所 解放军第302医院, 北京 100039; 2. 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650224;
3. 江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

摘要: 通过述评角类动物药质量控制模式与方法的现状, 针对角类动物药本身的特点进行分析, 探索从生物鉴定的角度建立角类动物药质量控制模式和方法的可行性, 并提出基于外观鉴别—物性鉴定—化学组分分析—生物效价检测序贯分析的角类动物药质量控制模式, 为从根本上解决长期制约角类动物药发展的瓶颈问题, 创建一套有效的内在质量控制方法提供新的理论依据与技术支持。

关键词: 角类动物药; 质量控制; 生物鉴定

中图分类号: R282.74 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)05-0673-04

Probe into innovation and development of pattern and method of quality control for animal cornu

YAN Dan¹, ZHOU Dan-lei^{1,2}, TANG Hui-ying³, XIAO Xiao-he¹, LI Bao-cai²

(1. PLA Institute of Chinese Materia Medica, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China; 2. College of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China;
3. Key Laboratory of Modern Preparation of Chinese Materia Medica, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: To explore a quality control mode of animal cornu based on bioassay, the present pattern and method of quality control for animal cornu are reviewed, which especially are analyzed according to the characteristic of animal cornu. A sequential analysis of identification of appearance—physical properties—chemical component analysis—bioassay is proposed as the new pattern of quality control for animal cornu. And this would provide theory foundation and technology support for the solution of those bottleneck problems which are restricting the development of animal cornu.

Key words: animal cornu; quality control; bioassay

角类动物药同属皮肤衍化物的组织,其结构和成分相似,均由角质细胞组成。具有活性强、疗效好、不良反应小、潜力大、应用广的特点,是一类特殊的动物药。动物药是以动物全体或器官入药的一类中药,有十分悠久的药用历史,早在3 000年前就已应用,是我国医药学遗产中的重要组成部分^[1]。角类动物药是动物药中重要的组成部分之一,仅在《中国药典》2005年版一部收载的含动物药的复方或单方中,角类动物药占最常用的前15位动物药中的30%^[2],并且均由胶质细胞组成,因其含有独特的角蛋白,有着其他动物药不可替代的作用。角类动物药有散热行血、消肿辟邪、益肾补肺、强精活血等功

效,从《神农本草经》到《本草纲目》中都有详细的记载和描述。现代药理研究表明还有:清热解暑、平肝行血、镇痛、定惊、强心、抗炎、增强免疫等作用^[3-5]。

角类动物药在动物药中有着示范性作用,表现为:首先,具有代表性,大多数角类动物药为名贵中药,其中鹿角、羚羊角等已列为国家重点保护野生动物药材品种,犀牛角已被水牛角代替;其次,角类动物药临床应用广泛,物质基础不明确,研究起来难度较大;最后,角类动物药有很强的生物活性,更具有研究意义,如果制约角类动物药发展的问题解决了,会很大程度上促进动物药的发展,为角类动物药的代用品或习用品是否能真正地代用及如何代用提供

* 收稿日期: 2008-12-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30873385); 国家杰出青年科学基金资助项目(30625042); “十一五”国家科技支撑计划重点项目(2006BAI08B03)

作者简介: 鄢丹(1975—), 男, 四川渠县人, 主要从事中药质量控制方法研究。

* 通讯作者: 肖小河 Tel: (010) 66933322 E-mail: pharmacy302@126.com

科学参考。

目前国内外对角类动物药的研究比较少,并且大多局限于对微量元素和氨基酸的测定分析,缺乏系统性、综合性和安全性评价。也有对动物角类的品种和质量鉴定方面的文献,但仅仅是理化、性状上的鉴别,不能从根本上解决制约角类动物药发展的质量控制问题。本文论述了角类动物药的药用价值和研究现状,指出当前角类动物药在质控制方面的不足,并对其生物活性进行系统性论述,探索其质量控制和评价的新方法,以期能建立一套切实可行的内在质量控制方法,解决制约角类动物药发展的瓶颈问题。

1 角类动物药质量控制方法存在的问题和不足

现行中药质量控制的基本模式是沿用植物药的质控方法,借鉴化学品质控模式建立的,化学定性定量分析是其主要内容。一般是鉴别和(或)测定某个或几个指标成分,但指标成分不一定是有效成分,即使是有效成分其量的高低也不一定与药效有直接关系,这是因为对于中医理论指导下的中药,检测任何一种或几种活性成分均不能体现其整体疗效。

《中国药典》2005年版一部对角类动物药的质控仅限于外观性状、常规理化方法等方面,但是外观鉴别易受评判标准本身的影响,缺乏现代科技支撑,常规理化鉴别对于区分角类动物药的品种有一定作用,但没有涉及到其安全性和有效性的考察,难以对药材进行质量控制和品质评价。

目前,角类动物药的鉴定方法难以鉴别其品质优劣:首先,角类动物药在市场上多以粉状、丝状出现。不同规格的角类动物药,在外观上表现不出太大差异,但在价格上差别却很大,此时用外观鉴别已失去意义。其次,角类动物药在分类学上有种属亲缘关系,成分和结构相似程度高,且多为高分子化合物,尽管其主要成分都是角蛋白,但是物质基础不明确;角蛋白错综复杂,结构确定困难,相对分子质量千差万别,是多种角蛋白的混合物,常规方法难以区分,并且不同角类动物药中所含的微量元素也不相同,药理作用和效果也有差别;最后,对珍稀动物的角类来说,研究代用品是解决野生动物保护的主要途径,而当前的鉴别方法只是外观和理化鉴别,而没有从作用效果或生物活性上进行深层次鉴别,给代用品的研究带来很大困难。

近几年兴起的色谱及光谱技术,对角类动物药的质量控制有积极地促进作用,如色谱、二维红外、傅立叶红外、近红外、紫外光谱等技术分析和鉴别角

类动物药^[6-13]。但角类动物药的主要成分大多是高分子蛋白质,难以用常规的色谱或光谱等分析手段全面表征其质量,其安全性与有效性也就难以体现,而色谱及光谱技术本身的重现性、耐受性和谱效关系等也还有待深入研究。

临床疗效评价是角类动物药质量最终和最好的评价方法,常规动物药理实验也是评价动物药质量的有效方法,但是二者受干扰因素均较多,如人体、动物差异的影响等,且周期长、费用高,缺少灵敏且特异性强的检测指标,因而不适合作为角类动物药生物检定的常规方法。

2 角类动物药质量控制新模式、新方法的提出

2.1 动物药与生物制品和化学药品的质量控制模式的差异性与合理性

2.1.1 从药物来源看,动物药“近”生物制品而“远”化学药品:化学药品主要是以合成、半合成、拆分或从天然物质中获取的单体为原料药制成的;而动物药主要来自动物的全体、器官、组织、生理/病理产物、排泄物等,经传统加工制成;生物制品主要来自微生物、细胞、动物或人源组织和体液等,经传统加工和现代生物技术制成,二者来源相似,可以说具有同源性。

2.1.2 从物质内涵看,动物药“近”生物制品而“远”化学药品:化学药品几乎都是单一成分;而动物药与生物制品一般都由蛋白质、多肽等一类甚至多类化合物组成。

2.1.3 从内在质量控制模式和方法看,动物药“远”生物制品而“近”化学药品:化学药品以测定指标成分的量进行质控,化学成分的量与安全性和有效性相关;生物制品多以生物效价检测为主要质控手段和指标;动物药多采取化学定性定量分析进行内在质控,一般没有生物效价检测项规定。

因此,动物药不应“迎合”化学药品的质量控制模式,而应“接轨”生物制品的质量控制模式,即从生物活性或生物效价的角度,建立符合动物药特点的质量控制模式和方法,比目前主要基于化学定性定量分析的质量控制模式和方法具有更大的实际意义和优势,也将成为动物药质量控制模式和方法发展的新趋势。

2.2 生物鉴定法:生物效价检测是主要的生物鉴定法,也叫生物活性鉴定,它是在严格控制的试验条件下,通过比较标准品和供试品对生物体或离体器官与组织的特定生物效应,从而控制和评价供试品的质量或活性。适用于结构复杂或理化方法不能测定

其量,或者理化测定不能反映其临床生物活性的药物,在中药质量控制和评价中具有独特的优势。主要表现在:(1)直接评价中药的有效性和安全性;(2)量效关系确切,可为临床用药剂量的规范化提供参考;(3)不用关注中药具体的物质组成,不受物质基础研究进程的限制,符合中药物质基础研究现状;(4)生物检定不仅可量化中药的效价值,生物效应谱还可为中药品种、品质定性鉴别提供重要依据^[14,15]。

生物效价检测方法在中药质量控制和评价研究中已有应用。如《中国药典》2005年版一部中,水蛭就采用了生物效价检测方法控制其质量和毒性。益母草的缩宫素生物效价检测法^[16];板蓝根的凝集素活性检验法^[17];部分清热解毒中药的小鼠抗炎、镇痛、解热以及毒性致死等生物效价检测方法^[18]。

中药质量生物效价检测方法的选择应遵循以下原则:相关性(要与主要药理作用相关)、定量、灵敏、快速、客观、通用性等。目前常用的生物效价检测方法有:酶活力、凝集素活性、抗病毒测试、抗菌活性、抗炎活性等。这些方法的专属性较强,而通用性较差,有限的实验条件难以同时满足几百甚至上千种不同中药的质量控制和评价^[19]。

近年来,本课题组研究发现,主要用于研究生命体系新陈代谢过程中能量转移和热变化的生物热动力学方法可作为一种十分有用的生物效价检测手段,具有通用性好、实时、在线、微量、高效、经济等特点,该方法在生物医学和物理化学领域已广泛应用^[19]。特别是本课题组在国家自然科学基金、国家杰出青年基金、国家中医药管理局科研基金等的资助下,该方法已经成功用于板蓝根、黄连、大黄的品质评价^[20-22]。

在中药质量控制和评价中,除了生物效价检测之外,生物鉴定还包括DNA分子鉴定、蛋白鉴定和免疫技术鉴定等。近年来,随着分子生物学技术的应用,中药材鉴别开始进入到细胞水平和分子水平。

DNA分子作为生物遗传信息的直接载体,同种药材的每一个个体的所有细胞均包含相同的遗传信息,具有相同的遗传物质DNA,它不受外界环境的影响,也不会随个体发育阶段或因组织器官的不同而不同。因此DNA分子标记技术为角类动物药的鉴别提供了新的技术途径^[23]。此外,以蛋白质电泳图谱^[24]、血清免疫技术^[25]、利用基因芯片鉴别中药材^[26]等方面均取得了一定的进展。中药材的分子鉴定以其准确性高、需要样品少、不受样品形态干扰

等优点,而表现出很好的发展前景。可以尝试用于角类动物药的质量控制和评价中。

2.3 质量控制新模式、新方法的提出:鉴于上述问题的分析,提出以《中国药典》中常规理化鉴定为基础,以化学分析、指纹图谱、定量测定为辅助,以生物鉴定为核心内容和手段,构建角类动物药质量控制新模式、新方法,并在动物药的质量控制中做示范性应用,以期能从根本上解决长期制约动物药发展的质量控制和评价的难题。

生物鉴定的角类动物药质控模式直接体现中药的有效性和遗传性,具如下特点和优势:首先,克服了现行“惟成分论”的中药质量控制模式的局限性。其次,既承载中医药的整体观念,也融合现代药物质量控制的基本要素;既突出生物检测,也不排斥化学测定;既有分子鉴别,又从宏观把握。最后,从常规、化学和生物多重角度共同把关中药质量,有望为解决中药质量控制难题提供新的理论和技术支撑。

3 结语与展望

通过分析角类动物药质量控制的现状,比较动物药与生物制品和化学药品的质量控制模式的差异性,针对角类动物药本身的特点,提出了以化学分析、指纹图谱、定量测定为辅助,生物鉴定为核心内容的角类动物药质量控制新模式,以期能从根本上解决制约角类动物药发展的瓶颈问题。

参考文献:

- [1] 李建平,林喆,邓明鲁. 中国动物药概况[J]. 中药研究与信息, 2003, 8(5): 24-27.
- [2] 张辉,胡嵘,林器,等. 对2005年版《中国药典》中动物药质量标准的商榷[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(3): 526-528.
- [3] 胡春萍,蒋加进,石磊,等. 牦牛角等6种角类药超细粉对发热家兔的影响[J]. 医学动物防制, 2006, 4(22): 235-238.
- [4] Kim K S, Choi Y H, Kim K H, et al. Protective and anti-arthritic effects of deer antler aqua-acupuncture (DAA), inhibiting dihydroorotate dehydrogenase, on phosphate ions-mediated chondrocyte apoptosis and rat collagen-induced arthritis [J]. *Int J Immunopharmacol*, 2004(4): 963-973.
- [5] 孙宝森. 动物角类的药用研究概况[J]. 中医药信息, 2004, 21(3): 25-26.
- [6] Woo Y A, Kim H J, Park S Y, et al. Feasibility of rapid and nondestructive determination of ash content in cornu cervi parvum using near-infrared spectroscopy [J]. *Microchem J*, 1999, 63: 154-160.
- [7] Li Y M, Sun S Q, Zhou Q, et al. Study of traditional Chinese animal drugs using FT-IR and 2D-IR correlation spectroscopy [J]. *Spectrochim Acta Part A*, 2006, 63: 565-573.
- [8] 索有瑞,李天才. 氢化物原子荧光法测定药用动物角中的微量砷和汞[J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 22(5): 850-852.
- [9] 杨秀伟. 花鹿茸、马鹿茸碱基成分的HPLC定量分析和其MAO活性抑制作用[J]. 中草药, 1995, 26(1): 17.
- [10] 仲崇林. 鹿茸不同部位多胺含量的比较研究[J]. 中草药, 1990, 24(2): 15.

- [11] 刘奎钊, 宋启军, 张龙军, 等. 新疆野生动物角进行微量元素和氨基酸的成分分析 [J]. 新疆大学学报: 自然科学版, 1994, 3(11): 76-80.
- [12] 洪筱坤, 范广平, 王智华, 等. 广角、水牛角和黄牛角中无机元素的比较研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(2): 76-77.
- [13] 何连锋. 鹿茸片的真伪鉴别 [J]. 传统医药, 2005, 14(8): 1210.
- [14] Zhao Z Z, Hu Y N, Liang Z T, et al. Authentication is fundamental for standardization of Chinese medicines [J]. *Planta Med*, 2006, 72(10): 865-874.
- [15] 王伽伯, 李会芳, 肖小河, 等. 生物鉴别方法控制中药质量的思考 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2007, 6(9): 36-39.
- [16] 杨明华, 杨苏蓓, 金祖汉, 等. 益母草药材生物鉴定方法的研究(II) — 缩宫素、益母草量效关系和检定适用效应模式的建立 [J]. 中药材, 2002, 25(6): 409-411.
- [17] 胡兴昌, 程佳蔚. 板蓝根凝集素效价与抑制感冒病毒作用关系的实验研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2001, 15(3): 56-57.
- [18] 张贵君. 常用中药生物检定 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [19] 肖小河, 金城, 赵中振, 等. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(14): 1377-1381.
- [20] Wu Y W, Gao W Y, Xiao X H. Calorimetric investigation of the effect of hydroxyanthraquinones in *Rheum officinale* Baill on *Staphylococcus aureus* growth [J]. *Thermochim Acta*, 2005, 42: 167-170.
- [21] Yan D, Jin C, Xiao X H. Investigation of the effect of berberines alkaloids in *Coptis chinensis* Franch on *Bacillus shigae* growth by microcalorimetry [J]. *Sci China Series B: Chem*, 2007, 50: 624-639.
- [22] 赵艳玲, 王伽伯, 肖小河. 微量热法研究板蓝根的生物热力学特征 [J]. 中草药, 2007, 38(2): 193-196.
- [23] 范俊安, 王继生, 夏永鹏, 等. 分子生物学技术在中药领域的应用及其对中药新药研究的影响 [J]. 重庆中草药研究, 2005, 6(1): 36-40.
- [24] 朱薇, 胡蓓莉, 唐蕾等. 角类药材的 PAGE 鉴别 [J]. 中成药, 1998, 20(4): 34-35.
- [25] 冯振波, 乔宛虹, 郭柏, 等. 应用免疫学方法进行虎骨鉴别的研究 [J]. 中国中药杂志, 1992, 17(4): 196-199.
- [26] Shi M M. Enabling large-scale pharmacogenetical studies by high-throughput mutation detection and genotyping technologies [J]. *Chin Chem*, 2001, 47: 164-172.

利用生物转化法制备稀有人参皂苷的研究进展

崔玉娜, 张怡轩, 赵余庆*

(沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 近些年来, 稀有人参皂苷的各种生物活性越来越受到人们的重视。但是由于其天然含量低, 使其在药物开发方面受到了限制。而利用生物转化法对人参皂苷的糖链进行结构修饰, 已成为获得稀有人参皂苷的重要途径。对产稀有人参皂苷的微生物转化和稀有人参皂苷制备相关的研究进行综述, 为稀有人参皂苷的获得、开发与利用提供参考。

关键词: 稀有人参皂苷; 生物转化; 微生物细胞; 酶; 制备

中图分类号: R282.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2009)05-0676-05

Advances in studies on preparation of rare ginsenosides by biotransformation

CUI Yu-na, ZHANG Yi-xuan, ZHAO Yu-qing

(Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Recent years, bioactivities of rare ginsenosides have been paid more and more attention to, but the low content or even no existence in nature makes them difficult to be utilized in pharmaceutical development. However, biotransformation that modifies the structure of ginsenosides sugar chains has become an important way to obtain rare ginsenosides. Studies on production of rare ginsenosides by micro-biotransformations and preparations of rare ginsenosides were reviewed in this article which provides the references for obtainment, exploitation, and utilization of rare ginsenosides.

Key words: rare ginsenosides; biotransformation; microorganic cells; enzym; preparation

人参皂苷按照苷元的结构不同分为 4 类: 二醇型 人参皂苷(PPD)、三醇型人参皂苷(PPT)、Octolillo 型

* 收稿日期: 2008-12-09

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(20062031, 20062069); “省级工程中心建设”基金资助项目(2002403004); 沈阳市科技攻关资助项目(1032042-3-01)

作者简介: 崔玉娜(1981—), 女, 辽宁省抚顺市人, 博士研究生, 研究方向为天然活性成分的发现与构效关系研究。

* 通讯作者: 赵余庆 Tel: (024) 23986522 E-mail: zyzq4485@126.com