

微生物转化苷类中药的机理及应用*

□徐萌萌 王建芳 徐 春 白家峰 何 晨 薛慧玲 孙启玲**

(四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室 成都 610064)

摘 要:众多研究表明,苷类中药需经肠道中的微生物转化为苷元后方能产生药效,利用微生物发酵过程中产生的酶系,建立苷类中药体外转化模型,将苷类物质转化为相应的苷元,能有效提高活性成分的生物利用度。利用微生物将药材中的苷类成分转化为中间体苷元,过程简单,成本较低,不但可以将中间体开发为新剂型,而且符合中药炮制现代化的客观要求,也符合中药生产现代化和产品国际化的发展要求。

关键词:微生物转化 苷类中药 苷元

近年来,中药苷类成分因其重要的生理活性越来越受到研究者的重视。苷(Glycosides),又称配糖体,是由糖或糖的衍生物的半缩醛羟基与另一非糖物质中的羟基以缩醛键脱水缩合而成的环状缩醛衍生物,水解后能生成糖与非糖化合物,非糖部分称为苷元(Aglycone)。许多药代动力学研究证明,苷类成分在肠道内难以吸收、生物利用度低、肠内滞留时间较长,在人体内难以直接发挥药效作用,因此绝大多数需经肠道细菌酶分解为苷元而发挥疗效。本实验室利用微生物的生长代谢和生命活动,在体外实现苷类成分的转化,提高了苷类中药中苷元含量,增强了疗效,符合中药现代化发展的方向。

一、苷类中药的吸收机理

脂溶性大的物质易被小肠绒毛吸收,穿过肠壁,

进入血液。苷由于结合一个糖分子,极性增加,脂溶性降低,而苷元脱去糖基,极性减小,脂溶性增加。因此苷元在人体内的吸收比苷要快,摄入人体后,能迅速通过小肠吸收,进入血液循环,较快达到所需血药浓度,发挥其药效作用。

苷元大多以苷的形式存在于中药材中,当人体服用中药后,摄入的是其中的苷。某些中药化学成分,尤其是苷类化合物属前药形式,它们需通过肠内微生物转化或代谢为苷元发挥药效。小桥恭一首次研究证明^[1],具有泻下作用的番泻苷、芦荟苷经口服后,几乎不被吸收,而在消化道下部受肠道细菌有选择地分解,产生出真正的泻下活性成分蕃泻苷元和芦荟大黄素而被吸收。近20多年来国内外学者对肠道菌转化天然药物中的苷类物质进行了大量研究。

以京尼平苷(Geniposide)为例,它是从梔子果中提取的一种环烯醚萜苷,在大鼠体内转化为京尼平(Genipin)(图1),后者能够促进胆汁分泌起抗炎利胆

收稿日期:2005-11-17

修回日期:2006-02-10

* 四川省中医药管理局科研项目(200510020761.4): β -葡萄糖苷酶高产菌株发酵梔子的研究,负责人:孙启玲。

** 联系人:孙启玲,副教授,主要从事微生物中药转化、多聚氨基酸、多糖、酶制剂等代谢产物的微生物育种及发酵工程研究,Tel:028-89514593,E-mail:qlsun@126.com。

之功效。

用含有 β -葡萄糖苷酸酶和脂酶的大鼠肝匀浆液水解京尼平苷,未发现转化成京尼平,说明肠道细菌代谢是其利胆的主要机制。京尼平苷利胆作用仅限于口服给药,静脉注射无效,注射京尼平则有利胆作用,证明京尼平苷的药理作用是通过肠道菌水解产生的^[2,3,6]。又如牛蒡子的主要药效功能与牛蒡子苷的体内代谢过程有一定相关性,牛蒡子苷在进行动物体内试验尤其是口服时表现出生物活性,牛蒡子苷在消化道中,被肠道菌转变为苷元的脱甲基化物,此脱甲基化物在肝脏儿茶酚-O-甲基转移酶 (COMT) 的作用下恢复为苷元,苷元被血液输送到各个器官发挥作用(图2)^[4]。

二、微生物转化苷类中药的必要性

大多数天然药物以口服为主,经肠道菌分解后才以相应的苷元形式被吸收入血。因此,消化道对天然药物中糖苷的吸收较差、较慢。随着现代医疗事业的发展,抗生素的滥用已经严重损害了人体内的正常肠道菌群,使肠道菌群失去平衡,不能正常分泌其各种独特的糖苷酶,因此不能有效地对摄入人体后的糖苷进行分解代谢,使人体不能有效吸收,最终达不到其应有的疗效。

目前,如何将中药材中的苷在体外转化为苷元,已经成为研究热点,现已有化学法与酶解法等,而这两种方法都存在一些不足:化学法在水解过程中,会因强烈的酸碱分解反应,而引起苷类物质结构和构型的改变,导致其产物不稳定或药效消失;酶解法转化苷类中药的主要原料底物是苷提取物,而催化剂是昂贵的糖苷水解酶,工艺过程复杂,成本高,不利于工业化生产。

利用微生物发酵法转化苷类中药是通过模仿肠道微生物转化苷的过程,建立体外微生物炮制模型,在体外把原型药物-苷,转化为人体能迅速吸收的有效成分-苷元。微生物在常温、常压等较为温和的条件下进行苷的转化,能最大限度保护中药化学成分免遭破坏,同时有利于环境的保护,降低生产成本。在发酵过程中,植物组织内大多数有效成分也充分

有效地溶出和转化,大幅度提高了其含量。若用苷元直接作用于人体,有利于阐明药物在体内的吸收、运输、分布、存储、代谢等药代动力学问题,使用药机制更加明确。

三、微生物转化炮制苷类中药的机理

植物把具有生理活性的二次代谢产物苷元和糖结合起来,形成生物活性较低的苷类而储存在植物的各种组织中,人吞服苷后,借助肠道微生物将苷转变为苷元,药理活性得到增强。苷的药效是由苷元决定的,苷元与糖结合成苷后,其理化性质改变,影响了药代动力学过程、药效强度和持续时间。药物的药理活性取决于靶部位的药物浓度,及靶组织对药物的敏感性,脂溶性扩散是药物跨膜的主要方式,苷亲脂性低,不易转运到靶部位,而苷元的亲脂性高,易于转运到靶部位,产生较强活性。

微生物可以利用中药中的氨基酸、蛋白质、微量元素、维生素等多种营养成分,并将苷类物质降解生成的糖作为营养物质,进行自我繁殖。对微生物来说,若以苷的糖为碳源,就相应地被诱导产生出用于分解该种苷类的酶。微生物在发酵过程中可以分泌几十种胞外酶到培养基中,而微生物进行生理活动

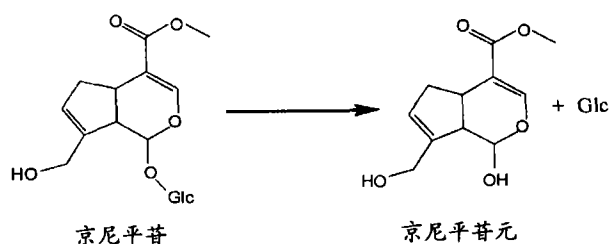


图1 京尼平苷的转化

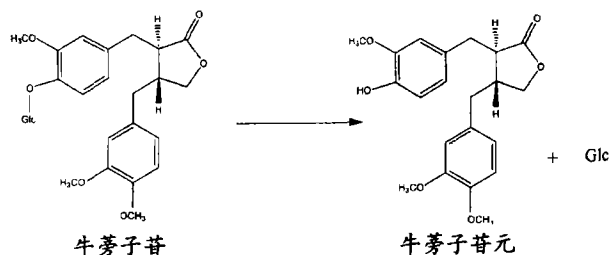


图2 牛蒡子苷微生物转化

所产生的胞内酶更是成百上千,这些丰富而强大的酶系是使中药发生化学反应的物质基础,可将药物成分分解转化形成新成分。通过微生物生长代谢和生命活动来炮制中药,可以比一般的物理或化学的炮制手段更大幅度地改变药性,提高疗效,降低毒副作用,扩大适应症。这就是微生物可以用来发酵炮制中药的理论根据。其中真菌在微生物中具有种类多、酶系丰富、次生代谢产物多、培养条件较简单等特点,是发酵中药的主要功能菌。

据以上理论基础,本实验室采用微生物法发酵转化苷类中药,将中药中的苷类物质尽可能转化成其相应的苷元,显著提高有效成分苷元的含量。微生物能有效地将牛蒡子、甘草、栀子、黄芩等中药中的苷类物质转化成其相应的苷元,从本实验室对中药发酵前后的 HPLC 图谱鉴定结果看出,通过微生物的转化,苷元含量大大提高(图 3,图 4)。同时经药效学实验证明,发酵品起效时间提前,同一剂量下给药,其药效明显强于未发酵的生品(表 1)。说明利用上述理论进行微生物发酵转化苷类中药是可行、成功的。

四、微生物发酵转化苷类中药的应用意义

微生物发酵转化苷类中药符合中药炮制现代化发展的要求。微生物发酵转化苷类中药技术是现代生物技术与传统中药炮制技术相结合的产物,对传统中药炮制取其精华,去其糟粕,并加入了现代生物发展的最新技术,在可调控条件下进行大规模微生物发酵转化苷类中药,显著提高有效成分含量,使中药炮制在 GMP 要求下实现自动化、现代化。

微生物发酵转化苷类中药利于中药中间体生产的现代化。苷类中药经微生物发酵转化,苷元含量显著提高,中药原有组织结构变得较疏松,利于中药中间体-苷元的分离提取。同时使中药中间体的生产工艺简化、成本降低、产值增加,还可利用得到的中药

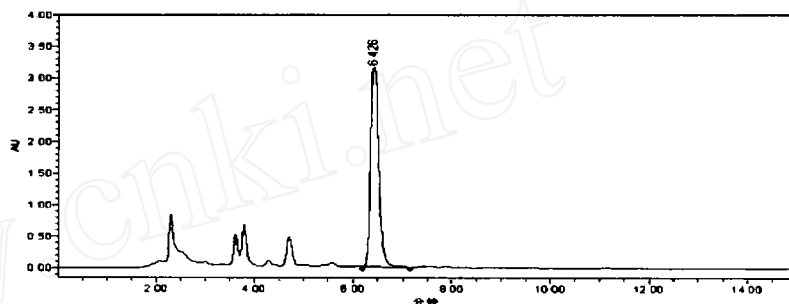


图 3 栀子京尼平苷未转化 HPLC 图谱

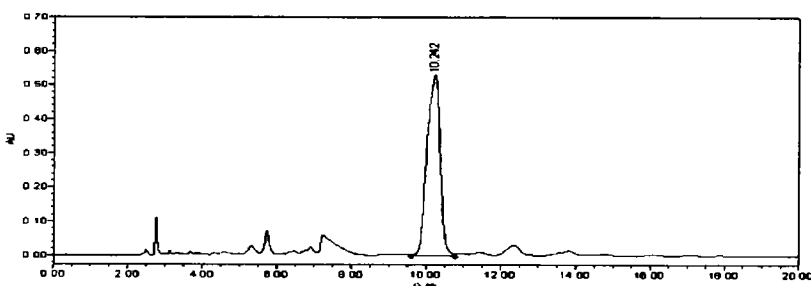


图 4 栀子京尼平苷转化为京尼平 HPLC 图谱

(通过 HPLC 图谱,保留时间 6.426 的京尼平苷全部转化为保留时间为 10.242 的新物质,此新物质经过核磁共振、红外等鉴定为京尼平。)

表 1 发酵苷类中药急性耳廓抗炎实验

药材	快速造模组 [▲] 耳廓肿胀度	
	发酵前	发酵后
牛蒡子	10.2±1.2	7.7±1.2*
甘草	9.6±1.1	6.4±1.3*
黄芩	9.8±1.2	7.1±0.6*
栀子	10.3±10.6	7.4±0.8

▲为给药 30min 后进行造模,*与空白组比较,P≤0.05

中间体制备新剂型-注射剂等,使中药更易于临床应用。

微生物发酵转化苷类中药符合未来工业集约化发展的方向。微生物发酵转化苷类中药技术为一项绿色环保技术,与化学法转化苷类中药相比,它不需要利用强酸、强碱进行转化,不会因强酸强碱对环境造成污染,且整个工艺过程没有“三废”的产生,因此能够在最小成本下获得最大利益,对环境、能源不会造成太大压力,符合未来工业发展的方向。

微生物发酵转化苷类中药符合中药用药发展的要求。随着现代生活节奏的逐渐加快,在临床上人们

越来越需要一些起效迅速的新药,利用微生物发酵后的炮制品或中药中间体制备其他剂型新药,可使有效物质能在进入人体后被迅速吸收,在短时间内达到所需的血药浓度,快速起效。

微生物发酵转化苷类中药能够使中药产品更迈向国际市场。传统中药中有效物质基础不清,作用机理不明是阻碍中药现代化发展的关键,也是国际上对中药产生怀疑态度的原因,现利用微生物发酵转化苷类中药技术使中药产品有效物质基础确定、作用机理明确,同时也有效避免了传统中药制品“大、黑、多”的缺点,为中药产品迈向国际市场提供了保证。

五、总结

基于中药苷类物质在肠道内代谢的原理,使微生物在体外转化中药前体物质,并利用菌株的高酶解能力对中药进行前期处理,有效增大中药成分的溶出率,为中间体的分离、提纯提供了新方法,并作为一种新型的炮制方法,为将中药开发成配方颗粒、注射剂、保健品等研究,以及提高中药药效和速效提供了思路和途径。因此,利用微生物发酵苷类中药便于大规模实现产业化和与国际标准接轨,有利于提高我国中药综合利用的现代化水平。

参考文献

- 1 小桥恭一.中药有效成分与肠道细菌的关系.医学与哲学,1995,16(11):598.
- 2 Kang JJ, Wang HW, Lin TY, et al. Modulation of cytochrome P-450 dependent monooxygenases, glutathione and glutathione S-transferase in rat liver by geniposide from *Gardenia jasm. inoides*. Food Chem Toxicol, 1997, 35(10-11):957-965.
- 3 朱振家,钱之玉,陆莉华等.栀子提取物京尼平苷和西红花苷利胆作用的研究,中草药,1999,30(11):841-843.
- 4 米靖宇,常用中药牛蒡子的化学、体内外代谢及质量控制研究,上海中医药大学博士论文,2002,37-39.
- 5 Zheng H Z, Dong Z H, Yu J. Modern research and application of Chinese Traditional Medicine. (中药现代化研究与应用). 北京:学苑出版社,2000,3166-3172.
- 6 Hye-Jin Koo, Yun Seon Song, Hee-Jeong Kim, et al. Antiinflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia. Eur J Pharmacol, 2004, 495:201-208.
- 7 Wu Z M, et al. Study on Isolation and Fermentation of Germ Strains Producing β -glucosidase. Modern Food Science and Technology, 2002, Vol.21 No.3:53-57.
- 8 许晶,张永忠,孙艳梅. β -葡萄糖苷酶的研究进展.食品研究与开发,2005,6:183-186.
- 9 舒仕瑜,白藜芦醇苷生物活性及药理作用,儿科学杂志,2002,8(1):9-11.
- 10 车庆明,黄新立,李艳梅,等.黄芩苷的药物代谢产物研究.中国中药杂志,2001,26(11):768-769.

Microbial transformation of glycosides in traditional Chinese medicine: Mechanism and application

Xu Mengmeng, Wang Jianfang, Xu Chun, Bai Jafeng, He Chen, Xue Huiling, Sun Qiling

(College of Life Science, Sichuan University, Chengdu Shichuan 610064)

Various studies in the literature have demonstrated that traditional Chinese medicine (TCM) with glycosides as active components come into effect only when the glycosidic ingredients are transformed into the corresponding aglycones by the intestine microbes. With utilizing the microbial enzymes produced in the fermentation of microorganisms, the external transformation of glycosides in TCM could be carried out. In addition, by the means of transforming glycosidic compounds to the corresponding aglycones, the bioavailability of the active principles could be improved effectively. Such a process is simple and economic, and could not only lead to the development of new formulations for the resultant intermediates but also confirm with the requirements of the modernization of the preparation and production, and the internationalization of TCM.

Key words: Microbial transformation of glycosides, TCM with glycosides, aglycones.

(责任编辑:林木,责任编审:叶祖光,责任译审:廖永红)

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 27