

## 发酵对中药减毒增效的研究进展

杨光明<sup>1</sup>, 涂霞<sup>2</sup>, 潘扬<sup>\*1,2</sup>

(1. 南京中医药大学 国家中医药管理局中药炮制标准重点实验室, 江苏 南京, 210023; 2. 南京中医药大学 药用菌与中药生物技术研究所, 江苏 南京, 210029)

**摘要:** 在当今中国, 应用毒性中药治疗疑难病症已经非常普遍, 但是毒性中药的毒性严重限制了其临床应用。这一难题通常可以通过中药炮制这项独特的技术来解决。发酵技术也是重要的传统中药炮制方法之一。发酵炮制与现代生物技术相结合, 正影响着中药的各个领域。作者在大量文献调研的基础上, 从动物、植物、矿物药三方面分别综述了发酵炮制在中药减毒增效方面的应用和发展。发酵炮制有毒中药不仅可以保护中药成分活性中心免遭破坏, 还可以对其中的毒性成分进行结构修饰, 产生新成分, 从而扩大毒性中药的适应症。发酵炮制为毒性中药减毒增效提供了一个崭新的途径。

**关键词:** 发酵; 中药炮制; 减毒; 增效

**中图分类号:** R 991 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)08—0785—08

## Research Progress on Fermentation Engineering to Attenuate Toxicity and Synergize Effect of Toxic Chinese *materia medica*

YANG Guang-ming<sup>1</sup>, TU Xia<sup>2</sup>, PAN Yang<sup>\*1,2</sup>

(1. Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Laboratory of Medical Fungi and Phyto-Biotech, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

**Abstract:** It is very common to apply toxic traditional Chinese medicines to the treatment of incurable diseases today. But the clinical application of toxic medicines is often limited by their toxicity. This problem is usually solved by the special technology called 'Chinese medicine processing'. Fermentation is one of the traditional methods of 'Chinese medicine processing'. Combined with modern biological techniques, it is affecting all areas of traditional Chinese medicine in China. Based on the analyses of the literatures, this paper suggests that processing by fermentation can be applied to three kinds of raw materials of toxic Chinese *materia medica*, i.e.,

收稿日期: 2012-11-08

基金项目: 江苏省高校自然科学基金基础研究项目(06 KJB360083); 南京中医药大学中药学一级学科开放课题资助项目; 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 2008 年江苏省青蓝工程项目。

作者简介: 杨光明 (1974—), 女, 江苏南京人, 理学博士, 副研究员, 主要从事中药炮制及中药质量标准方面的研究。

E-mail: ygmm0901@hotmail.com

\* 通信作者: 潘扬 (1964—), 男, 江苏扬州人, 理学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药生物技术方面的研究。

E-mail: y.pan2006@163.com

*plants, animals* and minerals, to attenuate their toxicity and synergize their effect. It can also be concluded that processing by fermentation could not only protect active centers of the original components from destruction, but also modify structures of the poisonous components, thereby expanding indications of the toxic Chinese medicines. So we think that fermentation processing provides a new approach of toxicity reducing and efficacy enhancing for toxic Chinese *materia medica*.

**Keywords:** fermentation, Chinese medicine processing, toxicity reducing, efficacy enhancing

中药有毒自古有之,《神农本草经》把中药分为上、中、下三品,指出下品“多毒,不可久服”;明代李时珍在《本草纲目》中列有毒草专列,仅此记载就有47种毒性药;《中华人民共和国药典》2010年版收载毒性中药82个,其中大毒品种10个,有毒品种41个,小毒品种31个。中药的毒性,在中医古籍中即中药的偏性。它与四气五味、升降浮沉等都属于中药性能的范畴。长期的中医药临床实践证明,毒性中药对于疾病的防治具有十分积极的意义,尤其在救治疑难重症方面每起沉疴,素有“以毒攻毒”之说。但有毒中药的毒性常常限制了其临床应用。有毒中药通常要经过特殊的方法加工,如加热、水处理、加辅料、制霜等,传统上称为“炮制”,以达到减毒增效的目的。

随着生物科技的发展,国内外逐步重视对现代发酵应用于中药的研究开发,并已取得了很大进展<sup>[1-4]</sup>。中药发酵根据其发展历史分为传统发酵与现代发酵。传统发酵是发酵工业中一项古老的工艺。目前所指的中药发酵基本上是现代发酵技术,其关键条件是纯种大规模集约化培养,发酵炮制是建立在传统炮制方法基础上的现代发酵技术,具有保护中药活性中心免遭破坏以及对中药毒性成分进行结构修饰以产生新成分的优势。发酵为毒性中药产生新药效,扩大适应症提供了一个崭新的途径,用发酵炮制中药使中药减毒增效的研究也越来越多。作者在大量文献调研的基础上,从动物、植物、矿物药三个方面分别详细综述了发酵炮制在中药减毒增效方面的应用和发展。

## 1 发酵炮制在毒性中药减毒增效中的应用

我国早在北魏时期就已应用微生物发酵炮制中药,实现了增强中药药效、改变药性的目的。传统

中药的发酵炮制品有神曲、建神曲、半夏曲、沉香曲、采云曲、红曲、淡豆豉、百药煎、片仔癀等,在长期临床应用中均未出现毒性反应事件。现代药理毒理实验也证明中药发酵制剂的安全性。如韩春杨等<sup>[5]</sup>采用由黄芪、党参、茯苓、甘草、神曲、麦芽和山楂组成的复方发酵制剂经过实验认定该制剂在短期内使用安全,毒性级别应属于“实际无毒级”,是一种比较安全的制剂。蒋保季等<sup>[6-7]</sup>对人工发酵培育冬虫夏草进行毒性研究,人工发酵培育的冬虫夏草急性毒性和亚慢性毒性均未见异常,对实验动物体细胞、生殖细胞以及细菌均未见致突变作用,无遗传毒性,证明该物质毒理学上是安全的。王卫倩等<sup>[8]</sup>首次应用双向性固体发酵技术将雷公藤进行减毒,并将不同发酵时间的灵雷菌质进行急性毒性实验,充分表明双向性固体发酵技术是降低雷公藤毒性的有效途径。庄毅<sup>[9]</sup>研究的槐耳菌质所提的清膏经过动物急性毒性试验、长期毒性试验、特殊毒理试验等,表明槐耳菌质的安全性。槐耳菌质及其冲剂对中老年原发性肝癌有效,早已被批准为中药一类新药正式投产。急性毒性试验能证明发酵方法对中药解毒的可行性,但有毒中药经过发酵以后进行毒性比较的报道较少,值得重视。

### 1.1 发酵在毒性植物类中药中的应用

越来越多的研究报道发酵应用于炮制毒性植物药以实现减毒增效的目的。大黄中结合型蒽醌是泻下的主要成分,在很多情况下也可能引起副作用,而游离型蒽醌为抗菌、抗肿瘤等的主要有效成分,泻下作用极弱。戴万生、赵荣华<sup>[6]</sup>将发酵法应用于大黄炮制,大黄经酿酒酵母、面包酵母37℃分别发酵16d后,其总蒽醌含量仅略有降低,与传统炮制方法比较,保存了更多的大黄总蒽醌,其中起到泻下作用的结合型蒽醌含量降低至生品的一半左

右,而作为抗菌、抗肿瘤的主要成分的游离型蒽醌含量增加了6倍左右。说明发酵法能使大黄结合型蒽醌转化为游离型蒽醌,从而缓和大黄峻烈的泻下作用及对胃肠道的不良反应。还发现大黄发酵后可能被分解为蒽醌甙元。

五倍子含有五倍子鞣质、没食子酸等。有收敛止泻、止血作用,是一种常见的对肝脏有毒副作用的含鞣质类中药,具有敛肺降火、涩肠止泻、固精缩尿、止汗、止血的作用,其活性机理主要是由于它所含的鞣酸与细胞中的蛋白质结合成不溶于水的沉淀物,从而抑制了细胞分泌,促进水液的再吸收而发挥收敛作用。但鞣酸在肠道内会遇食物中的蛋白质,并与之结合,因而降低了它的作用。为了克服这一缺点,郑利华等<sup>[11]</sup>根据临床酶学的有关理论,采用含有根霉菌的酵母发酵五倍子,曲中还含有L-赖氨酸等物质。利用根霉菌能促进L-赖氨酸生成的作用形成更多的L-赖氨酸。L-赖氨酸能促进胃肠道粘膜吸收食物中的蛋白质,有效地减少大分子沉淀物的形成与对胃黏膜的刺激,因此能有效地避免鞣酸在胃肠道内竞争性消耗,从而提高了五倍子的收敛作用,并降低或消除了部分患者服用后食欲不振的副反应。瞿燕<sup>[12]</sup>测定了五倍子生品、发酵品和水解产物中五倍子鞣质和没食子酸的含量并进行了抗炎、抗菌、止咳、祛痰药理实验的对比。结果表明:发酵品和水解产物中没食子酸的含量高,抗菌和祛痰作用强于生品。

马钱子是一味中医传统使用的“有毒中药”。成人用5~10 mg即可发生中毒现象,30 mg可致死亡。马钱子有散结消肿、通络止痛的功效,常借其“毒药猛剂善起沉疴”,而用于风湿顽痹、麻木瘫痪、跌打损伤、疽痈肿痛等病证。现代研究证实,马钱子所含生物碱中土的宁(番木鳖碱)与马钱子碱(布鲁生)为其主要有效成分及毒性成分,含量各约为1~1.4%。马钱子碱药效只有土的宁的1/40,而毒性则有土的宁的1/20<sup>[13]</sup>。为了降低马钱子的毒性,临床上常采用砂烫、油炸、爆压法、甘草制、醋泡、醋炙、尿泡等,或同甘草、绿豆加水共煮等方法减毒。潘扬等<sup>[14]</sup>在庄毅<sup>[15]</sup>“双向固体发酵技术”基础上将马钱子(药材生品)与灵芝、槐耳、猴头等20种真菌共同培养,产生马钱子“药性菌质”。发现双向发酵后菌丝体生长良好的“药性菌质”中马钱子类生物碱成分发生了质和量的明显变化,土的宁、马钱子碱的含

量均呈下降的趋势,与生品相比分别下降60%、30%左右。而土的宁氮氧化物、马钱子碱氮氧化物有不同程度的增加,且指纹谱中显示出5个新产生的或含量变化较大的未知成分,在对红栓菌发酵后的马钱子菌质的急性毒性研究中,发现红栓菌质的毒性已显著下降,一次性灌胃给药小鼠比未发酵者的LD<sub>50</sub>数值增加了16.6%。同时也观察了<sup>[16]</sup>另外6种不同真菌——裂褶菌、竹黄、单色云芝、鸡油菌、白僵菌和蝉花对马钱子毒性和镇痛、抗炎作用的影响。以半数致死量(LD<sub>50</sub>)为指标,测定马钱子生品和炮制品及6种不同发酵品经灌胃给药对小鼠的急性毒性;以双氯芬酸钠和生品为阳性对照,观察6种不同发酵品对腹腔注射醋酸所致小鼠扭体反应的抑制(镇痛)作用以及对外涂巴豆油所致鼠耳壳肿胀的减轻(抗炎)作用。结果表明,马钱子通过6种真菌发酵后毒性降低,与炮制品基本一致;且它保持了马钱子原有的镇痛和抗炎作用,提示发酵可以为马钱子的降毒保效提供一条新途径。潘扬等<sup>[17]</sup>还采用溶剂提取、硅胶柱色谱等方法对马钱子发酵品的生物碱成分进行分离纯化,根据化合物的理化常数和波谱数据鉴定其结构。结果从马钱子发酵品中共分离得到10个生物碱成分,分别鉴定为土的宁(1)、马钱子碱(2)、伪土的宁(3)、16-甲氧基土的宁(4)、番木鳖次碱(5)、土的宁氮氧化物(6)、马钱子碱氮氧化物(7)、土的宁氯甲氯化物(8)、马钱子碱氯甲氯化物(9)和喜树次碱(10)。提示马钱子发酵品的大部分化学成分仍然是吲哚类生物碱,其中仅有10是单萜吡啶生物碱,为首次从该种植物中分离得到;化合物4是首次从该植物的种子中分离得到;化合物8和9可能为氯仿提取过程中产生的人工加合物。迄今未见朱红栓菌中含有上述生物碱的报道。与生品相比,马钱子发酵品中生物碱成分发生了一定的变化,其中化合物4、6、7和10可能为发酵品新增成分,这些生物碱成分的鉴定为马钱子发酵“去毒存效”原理提供了理论依据。

雷公藤为植物卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook 的根,含雷公藤碱、雷公藤定碱等多种生物碱、二萜内酯、雷藤酮及卫矛醇等,清代赵学敏在《本草纲目拾遗》已详细记载了其毒性:“采之毒鱼,凡蚌螺亦死,其性最烈,以其草烟熏蚕子则不生”。有人误服其叶2~3片可中毒,服嫩芽7个或根皮30 g以上可以引起死亡,甚至食其花蜜也可发生



中毒。雷公藤能祛风除湿,活血通络,消肿止痛,杀虫解毒。雷公藤甲素抗肿瘤活性明显强于紫杉醇,对卵巢癌和胃癌细胞等作用尤其明显。王卫倩等<sup>[9]</sup>运用双向性固体发酵技术得到灵雷菌质,并对其进行急性毒性实验。发酵 30 d 的灵雷菌质急性毒性最低,这充分表明双向性固体发酵技术是降低雷公藤毒性的有效途径,同时还对灵雷菌质的药效进行了研究,发现灵雷菌质仍保持一定的免疫抑制作用。宁黎丽<sup>[18]</sup>利用微生物转化技术对雷公藤甲素进行生物转化,使用筛选出的短刺小克银汉霉对雷公藤甲素 1a 进行生物转化,得到四个新的转化产物,利用黑曲霉对雷公藤内酯酮 2a 进行生物转化,得到一个转化后的新产物,体外细胞毒活性实验结果表明对五个肿瘤细胞株具有一定的细胞毒活性。张普照等<sup>[19]</sup>以雷公藤(带皮的根)经药用真菌 G 发酵后的药性菌质为研究对象,采用两种检测手段探讨解毒持效发酵过程中化学成分的动态变化规律。雷公藤经药用真菌发酵后,改变了原药材的化学成分组成。结合毒理药效实验结果,发现药性菌质具有免疫抑制活性但比原药材急性毒性低,因此证明该方法在雷公藤解毒持效中的可行性。在药用真菌代谢中某些酶的催化下,雷公藤甲素的某个化学键断裂或者和别的化合物发生反应且反应速度快,因此雷公藤药材经药用真菌发酵后甲素含量急剧下降。

苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根,含有苦参碱和氧化苦参碱。苦参的根和种子都有毒。苦参碱具有抗癌活性,氧化苦参碱可防止小鼠因 MMC、环磷酰胺所致小鼠白细胞减少症。李雁群等<sup>[20]</sup>将苦参水煎汁接种灵芝发酵,采用细胞抑制试验初步评价了苦参水煎汁灵芝发酵液的药效学价值。作者观察到苦参的灵芝发酵液能减少细胞培养液上清中 HBsAg 和 HBeAg 的含量,这个结果显示苦参灵芝发酵液可能具有抗 HBV 的作用。试验还表明,苦参经过灵芝发酵以后,没有明显改变其抗 HBV 的药效作用,相反还降低了毒性。

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thumb. 的干燥块根,其藤茎称“夜交藤”。结合型蒽醌是何首乌致泻和肝毒性的主要成分。现代医学证实,何首乌中的蒽醌类物质,具有降低胆固醇、降血糖、抗病毒、强心、促进胃肠蠕动等作用,还有促进纤维蛋白溶解活性作用,对心脑血管疾病有一定的防治作用;动物实验证明,何首乌

还有抗肿瘤作用。杜晨晖等<sup>[21]</sup>对不同菌株发酵的何首乌样品及其发酵前后的化学成分进行比较分析,并筛选出可以专一性降解何首乌中蒽醌类成分而不破坏其有效成分二苯乙烯苷的菌种。为降低何首乌的毒副作用,建立了一种炮制何首乌的新方法。

三七具有散瘀止血,消肿定痛之功效。三七总皂苷肌肉注射 450 mg/kg 对大鼠具有明显的肝脏、肾脏毒性<sup>[22]</sup>。李国红等<sup>[23]</sup>联合采用枯草芽孢杆菌对三七根进行发酵后,在对其中的皂苷成分的研究中发现,从发酵后的三七中分离到了人参皂苷 Rh<sub>4</sub>,这种化合物未在发酵前检测到,说明这种化合物是通过发酵产生的,可能是在发酵的过程中,三七须根的某些皂苷被微生物转化为人参皂苷 Rh<sub>4</sub>。马伟光等<sup>[24]</sup>采用曲霉菌、根霉、毛霉和酵母菌为主要的发酵菌种,对粉碎的滇产三七根茎进行了固态生物转化实验,认为发酵法是发现和创新三七药理活性的重要途径。

喜树碱和 10-羟基喜树碱是从珙桐科落叶乔木喜树果实中提取的,喜树碱具有较强的抗肿瘤活性,但同时又具有严重的胃肠毒性,如抑制骨髓功能和引起出血性膀胱炎等,制约了它的进一步应用,10-羟基喜树碱目前除应用于消化道肿瘤、肺癌、生殖系统肿瘤外,还对白血病等其他肿瘤也有良好的治疗作用,活性高且毒性低,是极富前景的抗癌药物。但它在喜树中的含量仅为十万分之二,提取分离费时、费力,朱关平<sup>[25]</sup>采用无毒黄曲霉菌株 1100T-419 将喜树碱转化为 10-羟基喜树碱,转化率 50% 以上。其中就是运用微生物发酵技术将喜树碱转化为 10-羟基喜树碱,但是迄今为止尚未对喜树的各用药部位,尤其是抗癌活性很强的果实进行过液体或固体生物发酵研究,相信开展这方面的工作可能会有除 10-羟基喜树碱含量增高之外的新发现。

长春花有凉血降压,镇静安神功效,长春碱的主要毒性为抑制骨髓功能;长春新碱对神经系统、胃肠道的毒性较突出。从长春花不同部位分离出 100 多种生物碱,但这些生物碱在植物体内含量低,且植物生长缓慢,资源短缺,限制了抗癌药物的进一步开发。人们又转而进行植物组培研究,但植物组培成本高,生产难度大,有效成分含量低,也未能成功应用于生产。由于植物真菌对植物某些药效成分的形成有重要影响,甚至会产生和其寄主相同或相似的生理活性。杨显志等<sup>[26]</sup>从长春花叶中分离出一株无孢菌群菌株 97CY3,从该菌的发酵液中发现

了长春新碱化合物,经 HPLC 分析其质量浓度达到 0.205 g/L。张玲琪等<sup>[23]</sup>首次报道从长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 茎的韧皮部中分离出尖孢镰刀菌,为该植物的一种内生真菌,并用 TLC 和 HPLC 对该菌的 97CG3 菌株培养物进行了分析,初步结果表明,该真菌能产生抗癌药长春新碱成分。

潘扬等<sup>[28]</sup>通过急性毒性实验及致炎、溶血作用比较了巴豆经炮制与发酵后的毒性效应,结果表明,炮制和发酵处理均可使巴豆毒性降低,但巴豆灵芝菌和白僵菌发酵品毒性更低。

### 1.2 发酵在毒性动物类中药中的应用

事实上,与植物类中药相比,发酵应用于毒性动物类中药的研究报道很少。斑蝥主要含斑蝥素、脂肪等成分,临床用于破血消癥,功毒蚀疮,引赤发泡。斑蝥素对多种实验动物肿瘤有一定抑制作用,尤其当腹水型肿瘤接种的瘤细胞数较少时,可见小鼠生存期延长。其作用机制可能是抑制蛋白质与核酸的合成。临床上对皮肤、粘膜有强烈的刺激性,能引起充血,起泡,口服毒性很大,米炒能降低其毒性及矫正其气味。李晓飞等<sup>[29]</sup>从锯角豆芫菁 *Epicauta gorhami* Marseul 幼虫虫体身上分离得到的白色真菌,经鉴定为球孢白僵菌 *Beauveria bassian*,球孢白僵菌可以有效地降解斑蝥素,降解率达 90.45%,可以利用这一研究来安全合理地应用斑蝥素,并可以深入研究斑蝥素的生物降解产物的药物活性。叶敏等<sup>[30]</sup>往桔梗悬浮培养体系中加入斑蝥素培养 6 d,培养液分离纯化得到混合存在的两个转化产物,鉴定为一对差向异构体 1 $\beta$ -羟基斑蝥素和 1 $\alpha$ -羟基斑蝥素,且均为未见报道的新化合物。

水蛭素(hirudin)因最早从水蛭中分离得到而得名。天然水蛭素由 65 个氨基酸残基组成,相对分子质量 7 000。水蛭素能同凝血酶的催化中心及纤维蛋白原结合中心发生不可逆的结合,使凝血酶失活,为目前发现的最强有力的凝血酶抑制剂。研究表明,水蛭素在肿瘤治疗中也能发挥作用,它能防止肿瘤细胞的转移,已证明有效的肿瘤有纤维肉瘤、骨肉瘤、血管肉瘤、黑素瘤、淋巴瘤和白血病细胞等。水蛭素配合化学治疗和放射治疗,可促进肿瘤中的血流从而增强疗效。然而,水蛭素能阻止凝血酶的作用,引起内脏广泛出血。有肾毒性,可导致肾脏损害。莫炜等<sup>[31]</sup>构建了重组双功能水蛭素(r-RGD-Hirudin)cDNA 的表达质粒 RGD-Hirudin.

pPIC9K,转化入毕赤酵母中,经筛选得到高表达的阳性克隆。种子菌经过 3 d 发酵培养,其培养液上清液经超滤浓缩、凝胶过滤层析和离子交换层析后,得到纯度大于 97%、比活性为 12 000 ATU/mg 的 r-RGD-Hirudin,回收率大于 60%,发酵产率为 1 g/L。纯化后 r-RGD-Hirudin 经过 SDS-PAGE,抗凝血酶活力分析、抗血小板聚集分析、质谱分析及等电聚焦分析等方法鉴定,证明该表达产物为水蛭素的衍生物,具有抗凝血酶和抗血小板聚集双重功能。周祥山等<sup>[32]</sup>研究重组毕赤酵母高密度发酵表达水蛭素过程中产生了 4 种具有较高比活的水蛭素异构体,毕赤酵母发酵过程中水蛭素存在降解,Hir 65 降解产生了 Hir 62 和 Hir63。

刘高强等<sup>[33]</sup>研究了几种药用昆虫对灵芝深层培养过程中细胞生长和三萜产物形成的影响。结果表明,蛻螂虫粉的添加,能显著促进灵芝胞外三萜的形成( $P<0.01$ )。刘高强等<sup>[34]</sup>还研究了几种昆虫的水提物和醇提物对灵芝深层发酵生产菌体和多糖的影响。结果表明,松毛虫水提物能促进灵芝菌体的生长,其中斑蝥提取物对灵芝菌体的生长表现出明显的抑制作用。蛻螂水提物能显著提高灵芝胞内多糖的产量,地鳖虫醇提物以及松毛虫醇提物对胞内多糖的生产也具有促进作用。此外,蛻螂醇提物对胞外多糖的生产具有促进作用。刘高强等<sup>[35]</sup>采用体外高通量筛选技术检测了补加药用昆虫蛻螂前后灵芝发酵产物的体外抗肿瘤活性。在补加蛻螂发酵后,胞外三萜样品对 BEL7402 细胞的抑制作用得到了增强,提示 lucidone C 可能增强了补加蛻螂后灵芝胞外总三萜对 BEL7402 细胞的抑制作用。以上都是研究昆虫对灵芝发酵后的影响,中药很多毒类药材都有毒性,如斑蝥、青娘子、红娘子、全蝎和蜈蚣等,这方面的发酵解毒研究值得期待。

### 1.3 发酵在毒性矿物类中药中的应用

要不是通过商业产品的生物浸出而回收金属的技术,发酵应用于毒性矿物类中药几乎不可能<sup>[36]</sup>。雄黄是常用的矿物药,雄黄和含雄黄中成药有多种疗效,在中药中具有举足轻重的地位。但是雄黄常以未溶解状态的粗糙矿物原粉入药,造成用量大、毒性严重超标,常有使用雄黄造成不良反应者。因而雄黄和含雄黄中成药在国际市场上受到了限制。杜文静利用分离鉴定的一株高活性的氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*,简称 At. f)对矿

物药雄黄进行浸出处理,比较普通氧化亚铁硫杆菌和经耐砷驯化后的氧化亚铁硫杆菌对雄黄的浸出效果,测定雄黄微生物浸出液的急性毒性,并初步研究雄黄微生物浸出液的体外、体内抑菌作用。谢亲建研究采用微生物对雄黄进行生物浸出处理以提高其溶解度和生物利用度;以白血病 K562 和 K562ADM 细胞为模型,研究了雄黄的浸出液对肿瘤细胞增殖的影响及其诱导细胞凋亡的作用;采用毛细管电泳分析法对雄黄生物浸出液进行分离分析以期确定它的药效成分;对雄黄生物浸出液的急性毒性和药物动力学进行考察。李红玉研究的雄黄微生物浸出液在制备抗肿瘤药物中的应用已经申请专利。

朱砂是常用的镇静安神药,在中药中具有举足轻重的地位。但是朱砂常以未溶解状态的粗糙矿物原粉入药,造成用量大、毒性严重超标,常有使用朱砂造成不良反应者。因而朱砂和含朱砂中成药在国际市场上受到了限制。苏丽春<sup>[35]</sup>利用分离鉴定的一株高活性的 *At. f* 对矿物药朱砂进行浸出处理,研究其摇瓶浸出的最佳实验条件,对朱砂浸出液的镇静安神和抗惊厥药效实验进行了初步的探讨,并初步检验了朱砂浸出液的抑菌效果。

## 2 展望

中药经过发酵有很多优点,目前对优良菌种的

筛选、优化发酵终点的判断,对已有活性成分和新成分的提取分离等研究较多,而对发酵减毒增效机理研究较少,建立发酵制品推广应用大规模生产的质量标准尚属空白。天然培养基中添加适量中药成分的混合培养基研究有望成为未来的研究热点。

我们认为对发酵中药的研究可以从以下几个方面开展工作:1)加强功能性微生物的菌种选育工作;2)毒性中药发酵减毒增效分子机理研究;3)中药发酵技术及设备的研究;4)复合微生物发酵技术的研究;5)研究在发酵中药过程中如何实现中医理论的指导并采纳现代中医药的新技术、新成果。

对中药的成分进行生物转化,通过药理筛选模型来确定转化前后药效的变化,需要中药学、微生物学、分析化学、药理学等多学科参与。随着多学科的交叉发展,微生物发酵在有毒中药的研究中必将取得长足的发展,微生物发酵中药也必将表现出强大的生命力。应用现代生物技术大规模提取中药的有效成分、将发酵技术应用于有毒中药的炮制是一项很有前景的课题。同时,利用微生物发酵便于实现产业化和与国际标准接轨,对扩大中药治疗范围、剂型改进、创制新药方面提供新的技术手段,有利于提高我国中药综合利用的现代化水平,给中药研究注入新的内容和活力,为中药走向世界、造福全人类起着进一步的推动作用。

## 参考文献:

- [1] 王兴红,李祺德,曹秋娥. 微生物发酵中药应成为中药研究的新内容[J]. 中草药,2001,32(3):267-268.  
WANG Xing-hong, LI Qi-de, CAO Qiu-e. New field for study of Chinese medicines through fermentation by microbe[J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 2001, 32(3): 267-268. (in Chinese)
- [2] Takayuki S, Toshifumi H. Biotransformation of exogenous substrates by plant cell cultures[J]. **Phytochemistry**, 1990, 29: 2393.
- [3] 杨海龙,章克昌. 以薏苡仁为基质的灵芝液体发酵——II. 主要活性成分分析[J]. 中国食品学报, 2006, 6(5): 105-110.  
YANG Hai-long, ZHANG Ke-chang. The production of *Ganoderma lucidum* by submerged fermentation using Coix lachryma-jobi as substrate-II. Analysis of the main active component[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2006, 6(5): 105-110. (in Chinese)
- [4] 吴志勇. 发酵中药——现代生物技术与传统中药配方的结合[J]. 现代中医药, 2003, 2(10): 22-27.  
WU Zhi-yong. Fermented Chinese medicines—combination of modern biological technology and traditional Chinese preparations [J]. **Modern Traditional Chinese Medicine**, 2003, 2(10): 22-27. (in Chinese)
- [5] 韩春杨,林德贵,刘翠艳,等. 复方中药发酵制剂急性毒性试验[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(2): 52-53.  
HAN Chun-yang, LIN De-gui, LIU Cui-yan, et al. Acute toxicity experiment of fermented preparation of Chinese herbal formula [J]. **Chinese Journal of Veterinary Medicine**, 2008, 44(2): 52-53. (in Chinese)
- [6] 蒋保季,孔祥环,王惠琴,等. 发酵培育冬虫夏草毒性研究急性和亚慢性毒性研究[J]. 首都医学院学报, 1995, 16(3): 198-203.



- JIANG Bao-ji, KONG Xiang-huan, WANG Hui-qin, et al. Toxicological study of *Cordyceps sinensis* cultivated by artificial fermentation on its safety evaluation I. Acute and sub-chronic toxicity studies [J]. **Journal of Capital University of Medical Sciences**, 1995, 16(3): 198-203. (in Chinese)
- [7] 孔祥环, 蒋保季, 王惠琴, 等. 发酵培育冬虫夏草毒理研究致突变性研究[J]. 首都医学院学报, 1995, 16(4): 256-258.
- KONG Xiang-huan, JIANG Bao-ji, WANG Hui-qin, et al. Toxicological study of *Cordyceps sinensis* cultivated by artificial fermentation on its safety evaluation II. Mutagenicity study[J]. **Journal of Capital University of Medical Sciences**, 1995, 16(4): 256-258. (in Chinese)
- [8] 王卫倩, 戴丹丹, 罗闯丹, 等. 灵雷菌质的急性毒性实验研究[J]. 中国食用菌, 2008, 27(3): 36-37.
- WANG Wei-qian, DAI Dan-dan, LUO Hong-dan, et al. Experimental study of the acute toxicity of fungal fermentation substance on *Tripterygium*[J]. **Edible Fungi of China**, 2008, 27(3): 36-37. (in Chinese)
- [9] 庄毅. 抗癌新药槐耳冲剂的研究[J]. 中国药理学杂志, 1998, 33(5): 273-275.
- ZHUANG Yi. Study of an anticancer new drug-Huaier granule[J]. **Chinese Pharmaceutical Journal**, 1998, 33(5): 273-275. (in Chinese)
- [10] 戴万生, 赵荣华. 发酵法对大黄蒽醌类成分含量的影响[J]. 云南中医中药杂志, 2005, 26(1): 38-39.
- DAI Wan-sheng, ZHAO Rong-hua. Influence of fermentation on contents of Rhubarb anthraquinones [J]. **Yunan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica**, 2005, 26(1): 38-39. (in Chinese)
- [11] 郑利华, 焦素珍. 五倍子发酵炮制简介[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(1): 26-27.
- ZHENG Li-hua, JIAO Su-zhen. Introduction to fermentation processing of *Galla chinensis* [J]. **China Journal of Chinese Materia Medica**, 1998, 23(1): 26-27. (in Chinese)
- [12] 谢亲建. 雄黄的微生物浸出液抗肿瘤作用研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2009.
- [13] 柯铭滑. 中草药有效成分理化与药理特性-修订本(第2版)[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1982: 274, 323.
- [14] 潘扬, 张弦, 蒋亚平, 等. 双向发酵前后马钱子生物碱含量及其 HPLC 指纹谱的比较[J]. 南京中医药大学学报: 自然科学版, 2006, 22(6): 362-365.
- PAN Yang, ZHANG Xian, JIANG Ya-ping, et al. A comparison of content of alkaloid of *Semen strychni* and its HPLC fingerprint chromatography before and after bidirectional fermentation[J]. **Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine: Natural Sciences Edition**, 2006, 22(6): 362-365. (in Chinese)
- [15] 庄毅, 谢小梅. 药用真菌新型(双向性)固体发酵工程对雷公藤解毒持效的初步研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(16): 2083-2087.
- ZHUANG Yi, XIE Xiao-mei. Primary studies of toxicity-reducing and efficacy-maintaining action of fungal fermentative products in *Tripterygium wilfordii* by a novel bi-directional solid state fungal fermentation[J]. **China Journal of Chinese Materia Medica**, 2009, 34(16): 2083-2087. (in Chinese)
- [16] 陈龙, 施铮, 曹亮, 等. 6种真菌发酵对马钱子降毒保效作用的初步研究[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(3): 476-480.
- CHEN Long, SHI Zheng, CAO Liang, et al. Pilot study on effects of *Semen strychni* fermented by six different fungi on toxicity, analgesia and anti-inflammation[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010, 29(3): 476-480. (in Chinese)
- [17] 潘扬, 张弦, 刘亮镜, 等. 马钱子发酵品中生物碱化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(3): 452-457.
- PAN Yang, ZHANG Xian, LIU Liang-jing, et al. Alkaloids from fermentation product in *Semen strychni*[J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 2012, 43(3): 452-457. (in Chinese)
- [18] 宁黎丽. 雷公藤甲素和雷公藤内酯酮的生物转化[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2003.
- [19] 张普照, 舒任庚, 谢小梅. 双向固体发酵后雷公藤菌质化学成分研究[J]. 中国食用菌, 2008, 27(1): 41-42, 47.
- ZHANG Pu-zhao, SHU Ren-geng, XIE Xiao-mei. Study on chemical compositions in *Tripterygium wilfordii* Hook. f after bi-directional solid fermentation[J]. **Edible Fungi of China**, 2008, 27(1): 41-42, 47. (in Chinese)
- [20] 李雁群, 张莲芬, 张志斌, 等. 苦参灵芝发酵液在 2.2.15 细胞中抗 HBV 作用[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(2): 98-100.
- LI Yan-qun, ZHANG Lian-fen, ZHANG Zhi-bin, et al. The inhibitory effects of fermentation broth of *Ganoderma lucidum* in the 2.2.15 cell with addition of *Radix sophorae flavescentis* on HBV [J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry**, 2004, 23(2): 98-100. (in Chinese)
- [21] 杜晨晖, 王兴红, 赵荣华, 等. 发酵法炮制何首乌的初步研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20: 540-544.

- DU Chen-hui, WANG Xing-hong, ZHAO Rong-hua, et al. The primary studies on preparation of *Polygonum multiflorum* Thumb by fermentation method[J]. **Natural Product Research and Development**, 2008, 20: 540–544. (in Chinese)
- [22] 韩刚, 孙辉业, 董延生, 等. 三七总皂苷对大鼠肝脏肾脏的毒性作用[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(24): 2115–2118.
- HAN Gang, SUN Hui-ye, DONG Yan-sheng, et al. Rats' hepatic and renal toxicity of total saponins from *Panax notoginseng*[J]. **Chinese Journal of New Drugs**, 2006, 15(24): 2115–2118. (in Chinese)
- [23] 李国红, 沈月毛, 王启方, 等. 发酵三七中的皂苷成分研究[J]. 中草药, 2005, 36(4): 499–500.
- LI Guo-hong, SHEN Yue-mao, WANG Qi-fang, et al. Study on saponins of fermented *Radix Notoginseng* [J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 2005, 36 (4): 499–500. (in Chinese)
- [24] 马伟光, 赵云丽, 汪霞, 等. 滇产三七固态生物转化产物的初步药理研究[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(3): 260–263.
- MA Wei-guang, ZHAO Yun-li, WANG Xia, et al. Primary pharmacological studies on the saponins from the solid fermented roots of *Radix Notoginseng* produced in Yunnan province[J]. **China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy**, 2008, 23(3): 260–263. (in Chinese)
- [25] 朱关平. 用生物转化生产 10-羟基喜树碱的方法[P]. 中国专利: 85100520. 1986–08–13.
- [26] 杨显志, 张玲琪, 郭波, 等. 一株产长春新碱内生真菌的初步研究[J]. 中草药, 2004, 35(1): 79–81.
- YANG Xian-zhi, ZHANG Ling-qi, GUO Bo, et al. Preliminary study of a vincristine-producing endophytic fungus isolated from leaves of *Catharanthus roseus*[J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 2004, 35(1): 79–81. (in Chinese)
- [27] 张玲琪, 郭波, 李海燕, 等. 长春花内生真菌的分离及其发酵产生药用成分的初步研究[J]. 中草药, 2000, 31(11): 805–807.
- ZHANG Ling-qi, GUO Bo, LI Hai-yan, et al. Preliminary study on the isolation of endophytic fungus of *Catharanthus roseus* and its fermentation to produce products of therapeutic value[J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 2000, 31(11): 805–807. (in Chinese)
- [28] 潘扬, 吴晓峰, 涂霞, 等. 中药巴豆经炮制与发酵后毒性效应的比较[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(5): 788–792.
- PAN Yang, WU Xiao-feng, et al, JIANG Ya-ping. Toxicological comparison between defatted croton seed powder and two fermentation products of *Fructus crotonis*[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 30(5): 788–792. (in Chinese)
- [29] 李晓飞, 陈祥盛, 侯晓晖. 芫菁寄生菌降解斑蝥素[J]. 昆虫知识, 2008, 45(4): 608–610.
- LI Xiao-fei, CHEN Xiang-sheng, HOU Xiao-hui. Biodegradation of cantharidin by parasitic fungus of *Meloidae* [J]. **Chinese Bulletin of Entomology**, 2008, 45(4): 608–610. (in Chinese)
- [30] 叶敏, 戴均贵, 果德安. 桔梗细胞悬浮培养体系对斑蝥素的生物转化研究[J]. 中草药, 2003, 34(10): 869–871.
- YE Min, DAI Jun-gui, GUO De-an. Biotransformation of cantharidin by cell suspension cultures of *Platycodon grandiflorus* [J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 2003, 34(10): 869–871. (in Chinese)
- [31] 莫伟, 张艳玲, 王龙生, 等. 重组双功能水蛭素的发酵、纯化和鉴定[J]. 生物工程学报, 2004, 20(1): 126–129.
- MO Wei, ZHANG Yan-ling, WANG Long-sheng, et al. Fermentation, purification and identification of recombinant RGD-Hirudin[J]. **Chinese Journal of Biotechnology**, 2004, 20(1): 126–129. (in Chinese)
- [32] 周祥山, 周卫斌, 范卫民, 等. 重组毕赤酵母高密度发酵表达水蛭素过程中产物的生成和降解 [J]. 中国生物制品学杂志, 2003, 16(1): 24–27.
- ZHOU Xiang-shan, ZHOU Wei-bin, FAN Wei-min, et al. Production and degradation of hirudin during expression in *Pichia pastoris* by high density fermentation[J]. **Chinese Journal of Biologicals**, 2003, 16(1): 24–27. (in Chinese)
- [33] 刘高强, 丁重阳, 章克昌. 蛭螂对灵芝发酵菌丝体生长和三萜产物形成的影响[J]. 菌物学报, 2008, 27(5): 757–762.
- LIU Gao-qiang, DING Chong-yang, ZHANG Ke-chang. Effects of powdered dung beetle (*Catharsius molossus*) on cell growth and triterpenoid production of *Ganoderma lucidum*[J]. **Mycosystema**, 2008, 27(5): 757–762. (in Chinese)
- [34] 刘高强, 章克昌. 几种昆虫水提和醇提物对灵芝深层发酵生产多糖的影响(英文)[J]. 菌物学报, 2006, 25(2): 308–315.
- LIU Gao-qiang, ZHANG Ke-chang. Effects of water and ethanol extracts of insects on polysaccharide production by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum*[J]. **Mycosystema**, 2006, 25(2): 308–315. (in English)
- [35] 刘高强, 丁重阳, 章克昌. 药用昆虫蛭螂对灵芝发酵产物体外抗肿瘤活性的影响[J]. 菌物学报, 2008, 27(6): 964–972.
- LIU Gao-qiang, DING Chong-yang, ZHANG Ke-chang. Effects of medicinal ossified *Catharsius molossus* on in vitro anti-tumor activity of *Ganoderma lucidum* fermented products[J]. **Mycosystema**, 2008, 27(6): 964–972. (in Chinese)
- [36] BRIEFLY Corale L. Microbiological mining[J]. **Science of American**, 1982, 247(2): 44–53.