

DOI:10.16305/j.1007-1334.2016.09.026

动物类中药中蛋白多肽成分的口服吸收机制及其研究进展

何忠梅¹, 李超华^{1,2}, 孙娅楠², 赵 静¹, 王 毅²

1. 吉林农业大学中药材学院(吉林 长春 130118); 2. 北京市中医药防治重大疾病基础研究重点实验室, 中国中医科学院医学实验中心(北京 100700)

【摘要】 综述动物类中药中蛋白多肽成分的口服吸收机制及其研究进展。通过查阅国内外文献总结蛋白多肽类物质主要是通过载体转运、胞饮作用和 M 细胞途径、细胞旁路、谷胱甘肽(GSH)转运系统这 4 种方式进行吸收转运,并分析了临床疗效显著的蛇毒、水蛭素、蚓激酶、鹿茸这 4 种动物类来源蛋白口服吸收入血途径及部分相关机制,对开发口服动物来源蛋白多肽类药物具有极大的应用价值和推广意义。

【关键词】 动物类中药;蛋白多肽;吸收机制;口服给药;综述

Advances in mechanism research on the oral absorption of protein polypeptide components in Chinese traditional medicine from animal

HE Zhong-mei¹, LI Chao-hua^{1,2}, SUN Ya-nan², ZHANG Jing¹, WANG Yi²

1. College of Chinese Medicine Materials, Jilin Agricultural University, Changchun, 130118; 2. Beijing Key Laboratory of TCM Basic Research on Prevention and Treatment of Major Disease, Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing, 100700

Abstract: This article reviewed the mechanism research progress on the oral absorption of protein polypeptide components in Chinese traditional medicine from animal. By consulting and summarizing the domestic and foreign literature, it suggested that the absorption and transportation of protein peptides were mainly performed through the carrier transport, pinocytosis and M cell pathway, cell bypass and glutathione (GSH) transport system. Meanwhile the process of oral absorption into the blood and relevant mechanisms of venom, hirudin, lumbrokinase, pilose antler, 4 kinds of protein from animal source with significant clinical effect were analyzed, which showed great application value and significance for the development of protein polypeptide drugs from animal source.

Keywords: Chinese traditional medicine from animal; protein polypeptide; absorption mechanism; oral administration; review

多年来人们一直认为,中药中的蛋白质物质口服后,大多数在肠腔内由胰蛋白酶和糜蛋白酶作用生成游离氨基酸和小肽;小肽在肽酶的作用下完全被水解成无活性游离氨基酸,并以游离氨基酸形式进入血液循环^[1]。但在传统的中药中,以蛋白为主要成分的动物药,如鹿茸、蜈蚣、蝎子、蛤蚧、蚯蚓等,在临床上有明确的药理作用。因此,动物药中的蛋白质类物质是不是药理活性物质,以何种形式被吸收,一直困扰着现代药理学家。

本文通过查阅国内外文献总结多肽和蛋白类物质口服吸收机制并发现部分蛋白类大分子物质口服后可经胃肠道吸收进入体内血液循环系统并发挥其疗效,为开发口服蛋白多肽类药物提供依据。

1 蛋白多肽类物质吸收转运机制

多肽与游离氨基酸的吸收存在着两种相互独立的转运机制。游离氨基酸借助中性、酸性、碱性、亚氨基酸与甘氨酸这 4 种载体按顺势浓度梯度进行转运,而肽的吸收是按照从低浓度向高浓度做跨膜运动的逆浓度进行的,其转运系统大致分为 4 类。

1.1 载体转运 蛋白多肽类药物口服给药经胃肠道消化吸收主要以 H^+ 浓度梯度和膜电位差为动力,经多肽载体转运进入基底膜内侧,需要消耗 ATP。由于 H^+ 与多肽共同通过上皮细胞膜,这一系统又称为 H^+ -依赖型肠多肽转运系统^[2]。但这种转运方式在缺氧或添

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373884);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金资助项目(ZZ2013005, ZZ0808011);吉林省科技发展计划项目(20140311029YY)

[作者简介] 何忠梅,女,博士,副教授,硕士生导师,主要从事中药有效成分及作用机制研究

加代谢抑制剂的情况下被抑制^[3]。

1.2 胞饮作用和 M 细胞途径 蛋白多肽类物质与小肠黏膜受体结合形成吞噬体,可将 40 kDa 大小的完整蛋白质通过小肠壁转运至细胞内^[4]。但有很少一部分蛋白多肽类物质通过胞饮作用从血管外转运到小肠上皮细胞内,最典型的例子就是通过 M 细胞途径,M 细胞表面能吸附颗粒,它可将完整的抗原蛋白或病毒分子经胞吞、胞吐途径吸收并呈递给黏膜下免疫细胞^[5]。

1.3 细胞旁路 部分蛋白多肽类物质可以经过细胞旁路被动转运,不需要消耗能量,依靠肠上皮细胞两侧的药物浓度、电化学势的差别形成的^[6]。大多数药物都以简单的被动扩散方式通过细胞膜。被动扩散的特点是:顺浓度梯度转运;不需要载体,不受共存的类似物的影响,无饱和现象和竞争抑制现象,一般也无部位特异性;扩散过程和细胞代谢无关,故不消耗能量^[7]。

1.4 谷胱甘肽(GSH)转运系统 氨基酸还可通过谷胱甘肽的再合成机制向细胞内转运,该机制称“ γ 谷氨酰基循环”,也需消耗 ATP。在小肠黏膜、肾小管及脑组织上,细胞膜外侧 γ 谷氨酰转肽酶,催化谷胱甘肽的 γ 谷氨酰基与膜外氨基酸结合而带入细胞内释放。谷氨酰基则重新生成谷胱甘肽再进行循环。

2 动物类来源蛋白口服吸收入血

2.1 蛇毒 蛇毒是由蛇的毒腺分泌的一种天然毒蛋白,含有多重蛋白质、多肽、酶类和其他小分子物质,具有广泛的生物学活性。蛇毒神经毒素是一类碱性蛋白质,由 15~18 种氨基酸组成,其中含有 60~75 个氨基酸,相对分子质量为 6 kDa~12 kDa,pH 在 9 以上,是毒蛇毒液中毒性最大的成分^[8]。目前在镇痛方面运用广泛。

有关文献报道,口服蛇毒的药物活性以及其中的某些成分能够被保留直到到达作用部位发挥药效,而且口服蛇毒没有或很少产生毒副作用。中华眼镜蛇蛇毒中提取的神经毒素,分子量在 7 kDa 左右,通过口服能透过肠,并在血中发现^[9]。秦春泰等^[10]用碘 125 标记眼镜蛇神经毒素,发现眼镜蛇神经毒素可以透过家兔直肠黏膜吸收。这些研究表明,蛇毒中的一些蛋白多肽类物质可以通过口服吸收进入体内血液循环系统,并发挥其疗效,为开发蛇毒肠吸收提供实验依据。但由于蛇毒口服后其体内吸收过程极为复杂,在现有条件下无法准确地确定其是以何种方式在体内进行消化吸收,有待我们进一步研究。

2.2 蚓激酶 蚓激酶是从特种蚯蚓中提取的一种具有纤溶活性的高纯度丝氨酸蛋白酶,相对分子质量为 18~42 kDa,等电点为 3~5,是目前较为理想的溶栓药

物之一。

Fan 等^[11]通过制备抗蚓激酶抗体的方法发现,约 10% 的完整活性酶分子以特殊方法通过肠上皮转运进入血液并在血液中保持其生物活性,同时用免疫组化法可检测到该酶在肠上皮细胞中的存在。李玉华等^[12]采用体外扩散池法、十二指肠部位直接给药、在体循环灌注及肠段原位结扎等方法寻找蚓激酶经肠道吸收的最佳位置。研究发现,蚓激酶经灌胃给药后,在血清中可以检测到活性分子,但胃液可明显地破坏蚓激酶的生物活性,降低该酶的绝对生物利用度。若采用十二指肠给药方式来避免胃液的干扰,发现血清中存在活性整分子,表明蚓激酶能通过肠上皮转运进入血液循环系统并发挥其纤溶活性,同时发现肠吸收促进剂壳聚糖可增加其肠道吸收程度。王学清等^[13]采用免疫组化法和荧光标记法研究口服蚓激酶在大鼠肠道的转运情况,发现胃及十二指肠为其主要吸收部位;同时通过离体跨膜实验表明结肠部位转运能力最强,结肠给药有利于提高药物在胃肠道的稳定性及吸收,为制备其口服肠溶剂型提供实验依据。

2.3 水蛭素 水蛭素是从医蛭的唾液腺中提取出来的一种小分子蛋白多肽,分子量约 7 kDa,含有 64~66 个氨基酸,通过抑制凝血酶催化纤维蛋白原裂解为纤维蛋白而起到抗凝血作用^[14-15]。水蛭素比较稳定,胰蛋白酶和糜蛋白酶并不破坏其活性,而且水蛭素的某些水解片段仍有抑制凝血酶的作用。

阎雪莹等^[16]通过研究口服 FITC 标记的重组水蛭素-2(FITC-rH2)在胃肠道的吸收分布情况,发现其在整个小肠段均有吸收,而且部分以原型活性形式被吸收到血液中,并产生抗凝血效应,说明口服水蛭素是有效可行的。同时组织学检测显示,远端回肠比空肠和近端回肠摄取能力更强,且活性内吞主要出现在远端回肠上皮细胞中,推测其肠道吸收机制为内吞。刘煜等^[17]采用体外肠外翻实验发现,口服 FITC 标记的重组水蛭素Ⅲ在整个肠内都有吸收且为被动吸收,而回肠是其最佳吸收部位,与闫雪莹等的检测结果一致。这些都说明口服水蛭素确定能以活性形式被吸收并发挥其作用,为开发口服水蛭素制剂奠定前期实验基础。

2.4 鹿茸 鹿茸为鹿科动物梅花鹿或马鹿的密生茸毛的未骨化的幼角,含无机元素、氨基酸、多肽、蛋白质、多糖、脂肪酸、磷脂等多种活性物质,其中蛋白类成份高达 55.26%^[18-19]。对心血管系统^[20]、神经系统^[21]、性功能^[22]均有正向调节作用,同时还有促进骨骼愈合,促进皮肤再生等药理作用。

张倩等^[23]通过体外肠囊外翻实验模拟人工胃液和肠液得知,鹿茸蛋白大分子中分子量小于 45KD 的蛋白

可以透过肠壁吸收;进一步研究发现,口服给予大鼠 FITC 标记的鹿茸蛋白,采用激光扫描共聚焦显微镜和扩散动态测量软件检测到血清中的荧光蛋白,说明 FITC 标记的鹿茸蛋白通过口服给予可部分以原型经胃肠道吸收入血并通过二级质谱搜库比对得到 4 种吸收入血的蛋白种类分别是成纤维细胞生长因子 10、肌联蛋白、胰岛素样生长因子 1、骨形态发生蛋白,与临床实践药理作用相吻合,为开发口服鹿茸制剂提供理论指导。

3 讨论

中药是天然的化学宝库,不但包含各种结构的小分子化合物,而且含有蛋白、多糖、糖肽等大分子成分,在中医理论的指导下多组分共同发挥作用。中药在我国有几千年的历史,并在近几年结合现代科学技术有了更广阔的发展空间。然而在以往的中医药学研究中,传统医学普遍将口服药物的有效成分定位在小分子上,认为蛋白是以氨基酸的形式吸收,在体内不具有生物学活性。近年来,已经有很多具有生理活性的多肽被发现并开发利用^[24]。这些生物活性肽都以非活性状态存在于蛋白质的长链之中,当用适当的蛋白酶水解时,它们的活性就被释放出来。这些生物活性肽能以完整的形式被吸收进入血液循环,从而参与摄食、消化、代谢,调节免疫系统、抗高血压、抗菌、抗血栓、抗病毒、抗癌、消除自由基及调节内分泌等^[25]。因此,对中药大分子整体水平上作用机制及生物学活性的探讨显得尤为重要。

蛋白类物质在治疗疾病中发挥着重要作用,而口服给药是最受欢迎的给药途径。但有些相关机制,如这些蛋白类大分子经口服后是以何种形式被吸收、吸收入血的物质是否具有生物学活性等均尚未可知,有待进一步深入研究^[26]。现已有离体实验证明,这类中药中的蛋白及多肽起药效学作用,但是一直没有在整体实验上得到证实,从而影响了这类药物的现代开发。因此寻找有效的示踪方法研究此类物质的口服胃肠道吸收作用机制对开发此类药物具有重要的指导意义。

张倩等^[23]结合了生物化学、药理学、生物光子学、蛋白质组学等学科的关键技术建立了中药中蛋白类大分子物质的活性示踪方法,探讨了未知组分的鹿茸蛋白混合物的离体与在体吸收过程。此法可推广到所有中药中的蛋白质大分子的研究中,从而解决中药蛋白口服能否被吸收的问题,为揭示中药大分子作用机制作出巨大贡献,为开发口服蛋白多肽类药物提供依据,并为促进中医药学发展奠定理论基础。同时,可针对吸收机制选择适合的药剂学方法,提高其生物利用

度。总之,中药开发是一个逐步发展、不断完善和充实的长期系统工程。中医药在我国民族生存和繁衍的几千年历程中起着至关重要的作用,具有自己的特色和优势,是中华民族的宝贵财富,既要继承,又要创新和发展。继承和发扬传统中医药,探索中药治病机制,使中医药逐步走向世界与国际接轨,是每个中医药从业者的责任和义务^[27]。

参考文献:

- [1] 林煌映. 小肽吸收机制研究进展[J]. 畜牧市场, 2005(8): 76-78.
- [2] 张文平, 杨久春, 吕正兵, 等. 多肽和蛋白质药物口服吸收机制及策略的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(5): 903-907.
- [3] 黎观红, 乐国伟, 施用晖. 动物蛋白质营养中小肽的吸收及其生理作用[J]. 生物学通报, 2004, 39(1): 20-22.
- [4] Reddy ST, Berk DA, Jain RK, *et al.* A sensitive in vivo model for quantifying interstitial convective transport of injected macromolecules and nanoparticles[J]. Appl Physiol, 2006, 101(4): 1162-1169.
- [5] Toorisaka E, Watanabe K, Ono H, *et al.* Intestinal patches with an immobilized solid-in-oil formulation for oral protein delivery[J]. Acta Biomater, 2012, 8(2): 653-658.
- [6] Borchardt T, Aubé J, Siahaan TJ, *et al.* Improvement of oral peptide bioavailability: peptidomimetics and prodrug strategies[J]. Adv Drug Deliv Rev, 1997, 27(2-3): 235-256.
- [7] 孙万晶. 基于小肠特殊转运方式探讨黄连吴茱萸药对配伍机理[D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.
- [8] 李凤君, 韩丽萍, 蒋琳兰, 等. 蛇毒神经毒素的研究进展[J]. 药物生物技术, 2013, 20(6): 564-568.
- [9] Jiang WJ, Liang YX, Han LP, *et al.* Purification and characterization of a novel antinociceptive toxin from Cobra venom (*Naja naja atra*) [J]. Toxicon, 2008, 52(5): 638-646.
- [10] 秦泰春, 俞丽霞, 王泽时.¹²⁵I 标记眼睛蛇神经毒素透过家兔直肠吸收实验研究[J]. 浙江中医学院学报, 2001, 25(5): 55-56, 82.
- [11] Fan Q, Wu C, Li L, *et al.* Some features of intestinal absorption of intact fibrinolytic enzyme III-1 from *Lumbricruberellus* [J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1526(3): 286-292.
- [12] 李玉华, 张默, 王坚成, 等. 吸收促进剂对蚓激酶肠道吸收的影响[J]. 药学报, 2006, 41(10): 939-944.
- [13] 王学清, 张源, 潘荣, 等. 蚯蚓纤溶酶口服后在大鼠胃肠道的转运分布特点[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(5): 1360-1364.
- [14] Markwardt F. Past, present and future of hirudin [J]. Haemostasis, 1991, 21(Suppl 1): 11-26.
- [15] Bossi A, Rightt PG, Visco C, *et al.* Investigation on minor degraded derivatives of the recombinant variant HM2 from *Hirudinaria manillensis* isolated by isoelectric focusing in multicompartment electrolyzer[J]. Electrophoresis, 1996, 17(5): 932-937.
- [16] Yan XY, Zhang XN, Zhang Q, *et al.* Absorption of recombinant hirudin in rats GI tract [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2004, 39(1): 77-80.
- [17] Liu Y, Wan B, Yan TH, *et al.* Effect of Recombinant Hirudin Variant III Emulsive Microparticles on Thrombosis and the study on its oral absorption mechanism[J]. Chinese CJNM, 2010, 8(6): 474-480.

[18] Kim YK, Kim KS, Chang KH, *et al.* Inhibitory effects of deer antler aqua-acupuncture, the pilose antler of Cervus Korean TEMMINCK var mantch-uricus Swinhoe, on type II collagen-induced arthritis in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2003, 3(7):1001-1010.

[19] 鄢德俊, 刘霞, 吕淑琴. 鹿茸的化学成分与药理作用的研究概述 [J]. *上海中医药杂志*, 2004, 38(3):63-65.

[20] Fraser A, Haines SR, Stuart EC, *et al.* Deer velvet supplementation decreases the grade and metastasis of azoxymethane-induced colon cancer in the male rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(5):1288-1292.

[21] Li Y, Kima TH, Kwak HB, *et al.* Chloroform extract of deer antler inhibits osteoclast differentiation and bone resorption [J]. *J Ethnopharmacology*, 2007, 113(2):191-198.

[22] Kim HS, Lim HK, Park WK. Antinarcotic effects of the velvet antler water extract on morphine in mice [J]. *J Ethnopharmacology*, 1999, 66

(1):41-49.

[23] 张倩, 胡剑江, 周秋丽, 等. 荧光标记鹿茸蛋白提取物胃肠道吸收离体实验研究 [J]. *药学报*, 2011, 46(12):1526-1529.

[24] 温超. 鹿茸多肽提取分离纯化及免疫活性的初步研究 [D]. 济南: 山东农业大学, 2008.

[25] 刘正中. 促进貉生长的中药组方筛选及应用 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.

[26] 金芳, 李垚, 刘红南, 等. 黄酮类化合物对动物蛋白质吸收的影响 [J]. *饲料博览*, 2012(8):15-18.

[27] 朱大元. 中药活性成分研究是中药现代化的重要组成部分 [J]. *化学进展*, 2009, 21(1):24-29.

编辑: 张立艳

收稿日期: 2015-11-15

(上接第 44 页)

[6] 杨霓芝, 刘旭生. 糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准(试行方案) [J]. *上海中医药杂志*, 2007, 41(7):7-8.

[7] 曾娟花, 唐红, 杨华, 等. 祛痰活血通络法对痰瘀互结型糖尿病肾病Ⅲ期患者血管内皮生长因子的影响 [J]. *上海中医药大学学报*, 2014, 28(6):37-40.

[8] 黎雾峰, 路建饶, 王新华, 等. 中医辨治糖尿病肾病炎症状态的研究进展 [J]. *上海中医药杂志*, 2014, 48(2):91-93.

[9] 米秀华. 叶景华平衡法思想在慢性肾脏病治疗中的应用 [J]. *上海中医药杂志*, 2011, 45(4):3-5.

[10] 唐英, 朱伟, 王东, 等. 黄芪、丹参有效单体对慢性肾功能衰竭大鼠肾组织转化生长因子 β_1 和结缔组织生长因子 mRNA 的影响 [J]. *中医杂志*, 2014, 55(2):144-147.

[11] 杨宏莉, 杨宏馨, 李兰会, 等. 山药多糖对体外培养大鼠胰岛细胞活性及胰岛素分泌的影响 [J]. *河北大学学报*, 2010, 30(4):408-413.

[12] 李友元, 肖洒. 黄精多糖调脂作用的实验研究 [J]. *中国新药杂志*, 2003, 12(2):108-110.

[13] 周钰娟, 廖前进, 张秋菊, 等. 金樱子对大鼠糖尿病肾脏的实验研究 [J]. *南华大学学报:医学版*, 2007, 35(3):332-335.

[14] 戈娜, 李顺民, 孙惠力, 等. 地龙对糖尿病肾病大鼠肾脏保护作用的研究 [J]. *上海中医药杂志*, 2010, 44(6):103-105.

[15] Magnatri P, Fisher SJ, Globus RK. Extracellular matrix remodeling by metalloproteinases and plasminogen activator [J]. *Kiey Int*, 1995, 47(Supp 1):12-14.

[16] 谢贻亿. 蜈蚣为主治疗小儿急性肾炎 36 例 [J]. *浙江中医杂志*, 1994, 29(4):162.

编辑: 肖元春

收稿日期: 2016-05-10