

雷公藤内酯的提取、分析和药理作用研究进展

吴少辉, 刘光明*

大理学院 药学院, 云南 大理 671000

摘要: 雷公藤内酯是雷公藤属多种植物中的主要有效成分之一, 由于其生理活性强, 具有显著的抗肿瘤、免疫调节、抗炎等作用, 在临床上得到广泛的应用。综述近几年来该化合物的提取方法, 包括溶剂法、超声提取法、超临界提取法等, 检测方法以及药理作用及其机制研究, 为该化合物的进一步开发、利用提供参考。

关键词: 雷公藤内酯; 提取; 分析; 抗肿瘤; 免疫调节; 抗炎

中图分类号: R282.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2011)01-0036-04

Advances in study on triptolide extraction, analysis, and its pharmacological effects

WU Shao-hui, LIU Guang-ming

College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Triptolide is one of the main effective constituents in plants of *Tripterygium* Hook. f. Based on active analysis, it had multiple pharmacological activities, such as, antitumor, immunoregulation, and anti-inflammatory activities. These pharmacological activities are effective in clinic. Researches on extract, such as solvent method, ultrasonic extraction, supercritical extraction, detection method, and pharmacological activities of triptolide were summarized in this paper, so as to provide scientific basis for exploitation of triptolide.

Key words: triptolide; extraction; analysis; antitumor; immunoregulation; anti-inflammation

雷公藤内酯 (triptolide), 又称雷公藤内酯醇、雷公藤甲素, 是从卫矛科雷公藤属植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f.、昆明山海棠 *T. hypoglaucom* Lévl Hutch.、苍山雷公藤 *T. forrestii* Diels 以及东北雷公藤 *T. regelii* Sprague et Takeda 中分离出来的一种具有 3 个环氧基团以及一个 α , β -不饱和五元内酯环结构的松香烷型二萜化合物^[1], 构型独特, 20 世纪 70 年代, 由 Kupchan 等^[2]首先从台湾产雷公藤中分得, 是雷公藤中的主要有效 (单体) 成分之一。药理实验和临床研究表明, 雷公藤内酯具有免疫抑制、抗炎、抗生育、抗肿瘤等多种生物活性。笔者主要综述该化合物的提取、分析和药理学等方面的研究。

1 提取

由于雷公藤具有较大的不良反应, 临床应用受到限制。提取、精制、合成出高效低毒的雷公藤内酯, 以提高雷公藤使用的安全性和应用价值十分重

要。雷公藤的提取方法主要有溶剂法、超声提取法、超临界萃取法等。

1.1 溶剂法

溶剂法是提取中草药有效成分的一种传统方法。王曙东等^[3-4]在该方法用于雷公藤内酯提取的研究中, 以雷公藤内酯为定量指标, 采用 HPLC 法测定, 主要比较了醇提水沉法、水提醇沉法对雷公藤内酯量的影响, 同时筛选了醇提方式。结果表明, 醇提水沉法不仅有利于保留雷公藤内酯, 而且沉淀物中雷公藤内酯的量也明显少于水提醇沉法, 在此基础上以醇回流为优, 时间短且提取较充分。通过比较不同的树脂或洗脱剂, 选择以 D-101 树脂吸附, 95%乙醇为洗脱剂及氧化铝柱除杂, 结果选择的树脂更适宜富集雷公藤内酯, 95%乙醇使雷公藤内酯的洗脱率较高^[5-6]。但溶剂法具有工艺流程繁琐, 耗能大, 周期长等缺陷^[7]。

1.2 超声提取法

收稿日期: 2010-07-19

作者简介: 吴少辉 (1984-), 男, 2009 级药物化学硕士研究生。

*通讯作者 刘光明 (1953-), 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: lgm888999@yahoo.com.cn

由于雷公藤内酯含有独特的三环氧结构及 α, β -不饱和五元内酯环, 同时雷公藤还含有其他多种具有药理活性的物质, 因此在该植物中雷公藤内酯进行超声提取中, 不仅要通过控制超声功率和提取时间以避免生物活性成分的主要基团环氧环开环, 使其丧失免疫抑制和抗炎等生物活性, 还要密切关注其分离效果^[8], 取得较高收率。

1.3 超临界流体萃取法

超临界CO₂流体萃取技术是近年来在国际上取得迅速发展的一种化工分离高新技术, 有着广阔的应用前景。与中草药传统提取方法相比, 超临界CO₂流体萃取技术具有广泛的适用性, 对原料成分无破坏, 对产品与环境没有或极少污染, 操作方便, 提取效率高等优点。研究表明, 在用该技术提取雷公藤内酯的过程中, 萃取温度、压力、时间和改性剂是影响萃取效果的重要因素, 此外原药材的粒度也是影响萃取效果的重要因素之一^[9]。

2 分析方法

由于雷公藤成分复杂, 其中雷公藤内酯的量又较低, 且其既是雷公藤中的主要活性成分, 也是毒性成分之一, 所以对该化合物的检测很重要。常见的检测方法有高效液相色谱(HPLC)法、高效薄层扫描(HPTLCS)法、毛细管电泳法及气相色谱-电子捕获法。

2.1 HPLC法

由于HPLC法分离效果好、准确等特点, 使其应用日益广泛。用HPLC法测定雷公藤内酯及其差向异构体的量, 结果表明该法简便、快速、灵敏, 稳定性好^[10-11]。

2.2 HPTLCS法

根据中药的特点, 在对中药分析中多采用HPTLCS法, 并以外标或内标定量。宁晓闽等^[12]以该方法测定雷公藤内酯的量, 最大吸收波长在225 nm。结果表明该方法快速, 重现性及准确度均满足实验要求。

2.3 毛细管电泳法

毛细管电泳法具有分离模式多、分离效率高、低耗、快捷、简便等诸多优点, 使其在中药研究领域得到了广泛应用。宋秀荣等^[13]用胶束毛细管电泳法分离和测定雷公藤中雷公藤内酯的量, 在优化分离条件下得到比较满意的分离效果。

2.4 气相色谱-电子捕获法

大量实验研究表明, 与上述几种分析方法比

较, 气相色谱-电子捕获法用于雷公藤内酯的测定, 具有重现性好、灵敏、无杂质干扰, 所得数据准确、可靠等优点^[14]。

3 药理作用

药理实验和临床研究表明雷公藤内酯具有抗肿瘤、免疫抑制、抗炎等生物活性^[15-17], 特别是抗肿瘤作用具有高效、广谱等特点, 成为近年来国内外抗肿瘤研究的热点。

3.1 抗肿瘤

在对多种恶性肿瘤的体内外模型研究中, 与雷公藤内酯结构相似的其他雷公藤多苷相比, 雷公藤内酯的抗癌活性最强, 在体内外均显示较强的抗肿瘤作用, 是比较有前途的抗肿瘤药物^[18]。1972年, Kupchan等^[2]首次发现雷公藤内酯的抗肿瘤活性: 该化合物在体内具明显的抗小鼠白血病和体外抗鼻咽癌的作用。该化合物还较强地抑制人早幼粒白血病细胞、T细胞淋巴瘤和人肝细胞癌的生长, 抑制乳腺癌和胃癌细胞系集落的形成, 阻断多种器官在不同p53状态下的肿瘤生长^[19]; 能单独或与其他药物协同诱导非小细胞肺癌H23、A549、纤维肉瘤HT1080、结肠癌和乳腺癌细胞系的凋亡等; 对60多种癌细胞均具有很好的杀伤作用, 与传统化疗药物相比, 在较低浓度即显示较强抗癌活性, 能与多种抗肿瘤药物发挥协同作用, 对部分耐药肿瘤也有较好的作用^[20]。雷公藤内酯抗肿瘤的作用机制涉及到多个信号传导途径, 如通过抑制细胞增殖^[21]、诱导细胞凋亡^[19]、抑制基质金属蛋白酶的表达、影响血管生成等多条途径发挥抗肿瘤作用^[22], 但尚未解决雷公藤内酯PG490(一种雷公藤内酯提取物, 雷公藤内酯质量分数为97%)是否存在靶受体以及传递致细胞凋亡信号具体转导途径等关键问题^[23]。

3.2 免疫抑制

药理实验表明, 雷公藤内酯具有显著的免疫抑制作用, 明显抑制由伴刀豆球蛋白A(Con A)、脂多糖(LPS)等致有丝分裂原诱导的小鼠淋巴细胞增殖和同种异体淋巴混合细胞反应, 而且对2,4-二硝基氟苯所诱导的小鼠迟发型超敏反应和多种细胞因子的表达也有很强的抑制作用, 特别在多种自身免疫性疾病、肾移植、排异反应的治疗中发挥着重要的作用^[24]。但由于雷公藤内酯作用机制的广泛性及机体免疫系统的复杂性, 其免疫调节的分子机制还不十分清楚, 就目前研究结果可知, 其作用机制主要有抑制T细胞增殖或诱导T细胞凋亡、影响

NF- κ B 活性^[25], 影响抗原提呈细胞、抑制巨噬细胞释放某些活性物质等。

3.3 抗炎

研究显示, 类风湿性关节炎中关节软骨和骨组织的损害主要由滑膜细胞的活化和过度增殖引起的。类风湿性关节炎患者的发病与细胞凋亡过程异常密切相关, 滑膜细胞过度增生是由滑膜细胞凋亡的相对不足而引起的。雷公藤内酯在低浓度时即可降低滑膜纤维原细胞的活性, 抑制其增殖, 并且诱导该细胞凋亡^[26]。邵雪婷等^[27]通过对人类风湿关节炎滑膜成纤维细胞体外培养的实验, 发现雷公藤内酯明显抑制因肿瘤坏死因子 (TNF- α) 刺激引起的类风湿关节炎滑膜成纤维细胞环氧化酶和诱生型一氧化氮合酶的表达及前列腺素 E₂ (PGE₂) 等物质的生成, 并呈浓度正相关。该化合物对渗出性和增殖性炎症也有良好的疗效, 对类风湿性关节炎的大量研究表明, 雷公藤内酯主要是抑制了 T 细胞的增殖和活化^[28], 同时选择性地抑制 IL-1、TNF- α , 减少细胞因子的表达和分泌并且诱导淋巴细胞和滑膜细胞凋亡, 达到减轻炎症的目的^[21]。

4 不良反应

作为雷公藤的毒性成分之一, 雷公藤内酯在临床应用中有抗生育、致血栓性浅静脉炎、局部刺激、肝损伤、药物性骨质疏松等不良反应。刘良等^[29]研究发现, 在 60 d 内, 隔天给昆明种小鼠腹腔注射雷公藤内酯 1 次, 以观察其对肾脏及睾丸的毒性。结果显示, 小鼠出现肾脏病变、肾小管病变与坏死, 同时睾丸病变明显, 出现睾丸萎缩等现象, 精子、精子细胞和次级精母细胞尤为敏感, 表明雷公藤内酯对睾丸具有蓄积毒性。雷公藤内酯在较高剂量时具有很强的毒性, 妨碍了其在临床治疗上的推广^[20]。林建峰等^[30]对雷公藤内酯致血栓性浅静脉炎及局部刺激进行了毒理学研究, 结果显示, 雷公藤内酯在诱导血小板聚集过程中, 使 5-羟色胺释放和氨基酸的量增加, 导致血小板聚集, 从而引起或加重血栓性浅静脉炎, 而且受损的内皮细胞具有促栓功能。雷公藤内酯引起消化系统不良反应最为常见, 多系其口服刺激胃黏膜所致; 还可致血谷丙转氨酶 (SGPT) 升高; 严重中毒者可产生肝肿大, 亚急性肝坏死^[31]。黄岚等^[32]观察到长期服用雷公藤可致女性患者腰椎骨密度下降, 造成其骨质疏松, 且服用微量时即显著抑制成骨细胞增殖, 并呈剂量相关。

5 结语

雷公藤内酯作为具有显著抗炎、抗肿瘤、免疫调节、抗生育等作用的天然产物, 近年来逐渐成为中药现代化研究的热点, 并在临床上得到了广泛应用。提取该化合物的溶剂法、超声提取法、超临界提取法等方法也在不断地得到深入研究, 为提高提取率、进一步实行工业化生产打下坚实的基础。雷公藤内酯除了具有多种生物活性和药理作用外, 也具有较强的不良反应, 因此如何在保持其生物活性的前提下, 将该化合物进行改造, 制备出新的衍生物, 开发出特异性强、不良反应小的小分子药物成为雷公藤内酯的重要研究方向。

参考文献

- [1] 李 征, 李援朝. 结构多样性与构效关系——雷公藤新药研究与开发 [J]. 化学进展, 2009, 21(12): 2483-2491.
- [2] Kupchan S M, Court W A, Dailey R G J, et al. Triptolide and triptdiolide, novel antileukemic diterpenoid triepoxides from *Tripterygium wilfordii* [J]. *J Am Chem Soc*, 1972, 94(20): 7194-7195.
- [3] 王曙东, 汤 溟, 李 克. 不同提取工艺对雷公藤内酯醇含量影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(4): 289-290.
- [4] 李 克, 袁倚盛, 戴晓莉, 等. 反相高效液相色谱法测定雷公藤提取物中雷公藤甲素含量 [J]. 色谱, 1998, 16(4): 356-357.
- [5] 王曙东, 汤 溟, 李 克. 不同树脂富集雷公藤内酯醇的比较 [J]. 医学研究生学报, 2007, 20(6): 572-573.
- [6] 江再茂, 李遐方, 王曙东, 等. 不同极性洗脱液对雷公藤内酯醇含量的影响 [J]. 制剂技术, 2008, 17(2): 41-42.
- [7] 王曙东, 腾英博, 谢虞昇, 等. 大孔吸附树脂富集雷公藤内酯醇的研究 [J]. 医学研究生学报, 2005, 18(3): 204-205.
- [8] 段 冶, 魏 晨, 张学强. HPLC 法检测雷公藤超声提取物中雷公藤内酯醇的含量 [J]. 中医药信息, 2009, 26(1): 79-80.
- [9] 王诗宏, 杨祥良, 韩定献, 等. 超临界二氧化碳萃取雷公藤中有效成分的研究 [J]. 时珍国医国药, 2002, 13(11): 641-642.
- [10] 夏志林, 邓思珊, 郭舜民. 雷公藤内酯醇与表雷公藤内酯醇的 HPLC 测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2002, 33(11): 562-563.
- [11] 林 绥, 邓思珊, 阙慧卿, 等. HPLC 法测定雷公藤内酯醇生物贴中雷公藤内酯醇 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1478-1480.
- [12] 宁晓闽, 王宝奎, 刘锡钧. 高效薄层扫描法测定雷公藤

- 搽剂中雷公藤内酯醇含量 [J]. 时珍国医国药, 1999, 10(2): 86-87.
- [13] 宋秀荣, 杨更亮, 赵敬湘, 等. 毛细管电泳分离雷公藤有效成分(英文) [J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2001, 21(2): 183-187.
- [14] 杨丽莉, 张 昕, 袁倚盛. 气相色谱-电子捕获法测定血浆中雷公藤甲素 [J]. 色谱, 2001, 19(1): 58-59
- [15] 高小平, 李伯刚, 周 建, 等. 雷公藤内酯醇体外抗肿瘤作用和诱导细胞凋亡的研究 [J]. 天然产物研究与发展, 1999, 12(1): 18-21.
- [16] 张 纯, 崔国惠, 刘 芳, 等. 雷公藤内酯醇对非霍奇金淋巴瘤基质细胞衍生因子-1 及其特异性受体生物学轴效应的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1350-1355.
- [17] 刘 媛, 陈 燕, 赵 菲, 等. 雷公藤内酯醇对多发性骨髓瘤 RPMI8226 细胞周期及 P21wip/cip1 和 P27kip1 表达的影响 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 1819-1823.
- [18] 刘 媛, 陈 燕, 张 纯. 雷公藤内酯醇抗肿瘤作用机制 [J]. 临床血液学杂志, 2010, 23(1): 57-59.
- [19] 张鹏宇, 张 瑞, 王雅贤. 雷公藤内酯醇抗肿瘤分子机制研究进展 [J]. 中医药学报, 2009, 37(3): 79-82.
- [20] Chang W T, Kang J J, Lee K Y, *et al.* Triptolide and chemotherapy cooperate in tumor cell apoptosis. A role for the p53 pathway [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(3): 2221-2227.
- [21] 王国平, 尹成进, 欧阳曙明, 等. 雷公藤内酯醇对人胃癌细胞 SGC7901 增殖及表达血管内皮生长因子的影响 [J]. 实用医学杂志, 2008, 24(1): 17-19.
- [22] Chen W H, Chen Y, Cui G H, *et al.* Effect of TNF-alpha and curcumin on the expression of VEGF in Raji and U937 cells and on angiogenesis in ECR304 cells [J]. *Chin Med J*, 2005, 118(24): 2052-2057.
- [23] 罗 波, 胡永红. 雷公藤甲素诱导细胞凋亡的研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(6): 728-730.
- [24] Yang S X, Gao H L, Xie S S, *et al.* Immunosuppression of triptolide and its effect on skin allograft survival. [J]. *Int J Immunopharmacol*, 1992, 14(6): 963.
- [25] Zhu W B, He S M, Li Y, *et al.* Anti-angiogenic activity of triptolide in anaplastic thyroid carcinoma is mediated by targeting vascular endothelial and tumor cells [J]. *Vasc Pharmacol*, 2010, 52 (1/2): 46-54.
- [26] Kusunoki N, Yamazaki R, Kitasato H, *et al.* Triptolide, an active compound identified in a traditional Chinese herb, induces apoptosis of rheumatoid synovial fibroblasts [J]. *BMC Pharmacol*, 2003, doi:10.1186/ar947.
- [27] 邵雪婷, 冯 磊, 姚航平, 等. 雷公藤内酯醇抑制滑膜成纤维细胞 COX-2 和 iNOS 表达 [J]. 2004, 33(2): 160-165.
- [28] Tao X, Schulze-Koops H, Ma L, *et al.* Effects of tripterygium wilfordii hook F extracts on induction to cyclooxygenase 2 activity and prostaglandin E₂ production [J]. *Arthritis Rheum*, 1998, 41(4): 130.
- [29] 刘 良, 王占勇, 黄光照, 等. 雷公藤甲素慢性中毒对昆明种小鼠肾脏及睾丸的影响 [J]. 同济医科大学学报, 2001, 30(3): 214-217.
- [30] 林建峰, 朱 惠, 郑幼兰. 雷公藤内酯醇诱导的血栓性浅静脉炎 [J]. 海峡药学, 2001, 13(3): 35-37.
- [31] 梅之南, 杨亚江, 徐辉碧, 等. 固体脂质纳米粒降低雷公藤内酯醇肝毒性的实验研究 [J]. 中草药, 2003, 34 (9): 1817-820.
- [32] 黄 岚, 冯树芳, 王洪复, 等. 雷公藤多甙对体外成骨细胞增殖的影响 [J]. 上海医科大学学报, 2000, 27(1): 51-53.

《现代药物与临床》杂志过刊征订

《现代药物与临床》(2009年1月由原《国外医药·植物药分册》改刊名)现有少量《国外医药·植物药分册》1996—2001、2004—2005年年度合订本,每年一本,每本80元(含邮资);2002、2003年散本每年70元;2006—2008年年度合订本,每年一本,每本90元(含邮资);2009—2010年《现代药物与临床》年度合订本,每年一本,每本100元(含邮资)。

地址:天津市南开区鞍山西道308号
邮编:300193
电话:022-23006823
网址:www. 中草药杂志社. com

电子信箱: dc@tiprpress. com
开户银行: 兴业银行天津南开支行
帐号: 441140100100081504
户名: 天津中草药杂志社